

גידול דגיגי בורי במי הגליל העליון
**Acclimation and cultivation of the grey mullet (*Mugil cephalus*) in the
hypotonic water of the Upper Galilee**

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות
ע"י

עיינה פרלברג – משרד החקלאות, אגף הדיג, תחנת מחקר דור.
אבנר כנעני - מינהל המחקר החקלאי, המח' לעופות ומדגה, בית דגן.
ריטה סמירנוב - משרד החקלאות, אגף הדיג, המעבדה המרכזית לבריאות דגים
אבשלום הורביץ – מו"פ צפון, מיג"ל קריית שמונה

Ayana Perelberg – Ministry of Agriculture, Dept. of Fisheries Research Station, Dor, M.P.
Hof HaCarmel 30820. E-mail: ayanab@moag.gov.il

Avner Cnaani - Agricultural Research Organization, Dept. of Poultry and Aquaculture, Bet
Dagan 50250. E-mail: avnerc@volcani.agri.gov.il

Margarita Smirnov – Ministry of Agriculture, Dept. of Fisheries, The Central Laboratory for
Fish Health, Nir David, M.B. Beit Shean Valley, 10803. E-mail: ritas@moag.gov.il

Avshalom Hurvitz, Dan Fish Farms, Upper Galilee 12245. E-mail:
hurvitz.avshalom@gmail.com

נובמבר 2012

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא



חתימת החוקר

תקציר

גידול בורי *Mugil cephalus* בגליל העליון יוכל להפוך לענף כלכלי אם ימצא פתרון לשרידותו הנמוכה בשלב האקלום למים עניי יונים והאימון העוקב. במחקר זה נקבעו פרטי הממשק אשר יאפשרו שרידה מקסימאלית וקצב גדילה מיטבי של בורים בשלבי האקלום והאימון, תוך הבנת המנגנונים האוסמורגולטורים המעורבים בהסתגלות של דג קטדרומי זה למים אלו. הובהר כי הגורם לתמותות בשלב האימון נובע מתהליך ההסתגלות למי הגליל העליון ובעקבות זאת נמצא ממשק אקלום ונקבעו ערכים קריטיים הנדרשים לשרידות מקסימאלית כגון מוליכות, קצב מיהול המים והרכב היונים בתמיסת המעבר. יישום ממשק זה הביא לעליה של כ 40% בשרידות הדגיגים במהלך 60 הימים שלאחר האכלוס והוא מתבסס על הוספת מלחים למים ליצירת "תמיסת מעבר", אשר נמהלת בהדרגה עד להגעה למי המקור. ניתוח היסטולוגי הבהיר כי דגים אשר שורדים את האקלום נושאים שינויים במבנים היסטולוגיים ברקמת הזימים. תוספת נתון כלורי למי תמיסת המעבר משפר את יכולת ההסתגלות של הדגיגים והדבר מתבטא בהתייצבות של רקמת הזימים ועצירת השינויים המורפולוגיים הללו. דגיגים אשר עברו אקלום מדורג באמצעות תמיסת מעבר הראו קצבי גידול משביעי רצון במהלך החודשיים הראשונים בהם שהו במי הדין. נמצא כי המעבר למים עניי יונים מתבטא בירידה בפעילות משאבות נטרן אשלגן (NKA) בזימים של דגיגי קיפון. בדיקת ריכוזי אלקטרוליטים בדם דגיגים שגודלו במי דן לעומת דגיגים מסביבות אחרות מצביעים על האפשרות כי בסביבה דלת יונים, פגיעה בפעילות משאבות NKA מפירה את מאזן האלקטרוליטים הנורמאלי בדם. מדדים אלו נבדקו בפעם הראשונה בדג הקיפון במסגרת מחקר זה. השפעת תוספת נתון כלורי למזון לא נמצאה משמעותית בגידול דגיגי בורים במי הכנרת, אולם תצפית ראשונית מהאכלת דגיגים במזון מועשר במלח במהלך אקלום למי הדין הראתה שיפור ניכר בשרידה ולכן מצדיקה בחינה חוזרת של ממשק זה בגליל העליון. פרוטוקול אקלום דגיגי קיפון למי הגליל העליון אשר נכתב במסגרת המחקר מפרט את הממשק הפרקטי ביותר אליו הובילו תוצאות הניסויים. פרוטוקול זה יושם במשק מודל בהיקף חצי מסחרי והביא לשרידה גבוהה ולקצבי גידול משביעי רצון. בנוסף נבחנה היתכנות של שימוש בטכנולוגיית המסת סלעים קרבונטיים כתחליף למינון מלחים ליצירת תמיסת המעבר. בראייה לעתיד יכולה טכנולוגיה זו להיות פתרון זול, ומוצדק מההיבט הסביבתי, לאימון בורים בתמיסת מעבר בנפחים גדולים בגליל העליון. תוצאות המחקר מצדיקות בחינה מחדש של היקפי ייצור הקיפון בגליל העליון.

א. שנת המחקר הראשונה

א.1. מבוא

התכנית לשנת המחקר הראשונה התמקדה באפיון ההבדלים הפיזיולוגיים הנובעים מהשוני בין מי המדגה בגליל העליון לבין המים בעמק בית שאן ומישור החוף. נאספו דגימות על מנת לעקוב אחר מדדים פיזיולוגיים במהלך מעבר הדגיגים ממים מליחים למים עניי כלורידים בתהליך האקלום, כשינוי אקוטי. במקביל נבדקו מספר ממשקי אקלום ראשוניים בתנאי ניסוי על מנת לאתר את החלופה אשר תקיים את שיעורי השרידה הגבוהים ביותר, ולקבוע את התנאים הנדרשים לשרידות מקסימאלית.

א.2. פירוט עיקרי הניסויים – שיטות ומהלכי הניסוי מפורטים בדו"חות השנתיים

א.2.1. סקירה מפורטת של ריכוזי הקטיונים והאניונים במקורות מים רלוונטיים

על מנת להבין את ההבדלים בין הרכב המים באזור הגליל העליון לבין אזורים בהם מגודלים בורים בהצלחה, נערכה סקירה כימית של מס' מקורות מים בעלי משמעות למחקר זה: מי קידוח מקומי בתחנת המחקר בדור (קידוח מי אקוויפר), מי אוסמוזה הפוכה בדור, מי נחל הדן, מי נחל תמסח (מדגה מעגן מיכאל), מי נחל דליה (מדגה מעיין צבי), מי נחל האסי (מדגה ניר דוד), מי הים התיכון, מי קידוח שמיר בגליל העליון (טבלה 1).

טבלה 1.

	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	K (mg/l)	Na (mg/l)	EC (ds/m)	CaCO ₃ (mg/l)	Cl (mg/l)	SO ₄ (mg/l)	pH
R. osmosis water Dor	3	0.6	-	16	0.1	20	18	0	8
Dor	171.4	95.1	10.4	372.8	3.3	270	783.8	32.6	7.4
Dan	57.9	5.9	0.2	3.7	0.4	171	8.10	2.1	7.8
Maagan									
Michael (Timsach)	176.6	120.1	23.9	947.2	5.6	277	1425.7	67.6	-
Maayan-Zvi (Dalia)	157.7	122.5	20.9	762.4	4.6	235	1270.3	54.3	-
Nir-David (Asi)	178.4	85.6	10.1	496.5	3.4	283	804.1	39.9	7.1
Sea water									
Med	441.5	1556	526	10875		135	21473	907.78	8
Shamir	256.7	58.4	5.3	30.5	1.5		22.3	204.1	

א.2.2. הערכת התגובה הפיזיולוגית של דגיגי בורי לאקלום ממים מליחים למי הגליל העליון:

בניסויים אלו אומתה ההשערה כי שיעור השרידה של דגיגי הקיפון מושפע בעיקר מתהליך ההסתגלות והאקלום של הדגיגים למי הגליל. ההשערה נבדקה במערכת מבוקרת בדור ובמערכת סמי מסחרית במדגה משגב עם. גם במערכת המבוקרת וגם במערכת סמי מסחרית הייתה השרידה בקבוצה אשר עברה איקלום ישיר למי הדן (15%, ו 30.4% בהתאמה) נמוכה באופן מובהק מהשרידה במקרים בהם נעשה אקלום מדורג באמצעות "תמיסת מעבר" מלאכותית (70-81%).

א.2.3. קביעת המוליכות האופטימלית של תמיסת מעבר לאקלום מדורג

ניסוי זה נערך במטרה לקבוע מהי המוליכות המינימאלית הדרושה לקיים שרידות מקסימאלית של דגיגים בתהליך האקלום למי הגליל. לערך זה יכולות להיות השלכות ממשקיות וכלכליות. נבדקו כמה תמיסות במוליכות הולכת ויורדת. קבוצת הביקורת הייתה מי קידוח דור. התמיסה היעילה ביותר הנה תמיסה C שמאפייניה מובאים בטבלה 2. הדגיגים אשר הוחזקו בתמיסה זו הראו שיעורי שרידה גבוהים וזהים לאלו אשר הוחזקו במי קידוח דור.

טבלה 2.

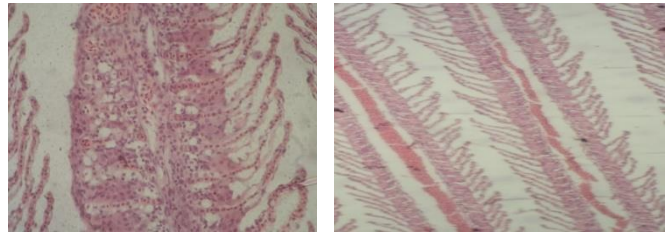
	Ca mg/l	Mg mg/l	K mg/l	Na mg/l	EC ds/m	CaCO ₃ mg/l	Cl mg/l	SO ₄ mg/l
A (Dor)	171.38	95.10	10.35	372.80	3.310	270	783.8	32.663
B	75.924	13.113	0.695	255.810	1.601	39	445.9	1.635
C	32.207	2.693	0.514	167.436	0.909	55	225.7	0.986
D	25.627	2.653	0.473	34.556	0.303	33	65.2	0.826
E	5.767	< 0.05	0.302	7.928	0.060	12	11.1	0.215
Dan	57.90	5.90	0.24	3.70	0.371	171	8.10	2.100

א.2.4. ממצאים היסטולוגיים

כמעט בכל הרקמות אשר נדגמו לאורך הניסוי בדור נצפו תופעות מבניות המעידות על רמת עקה כלשהיא, ביניהן ריבוי והגדלה של תאים, התעבות של שכבות אפיתל, גודש והפרעות בכלי דם קטנים. מבין שלושת הרקמות שנדגמו, זימים, מעי וכליה, נמצא כי הזימים היא הרקמה היחידה אשר הניבה ממצאים הניתנים לניתוח, וזאת בשלושה מדדים:

1. הדבקות של למלות בזימים (Lamella fusion) – תופעה זו נצפתה רק אצל דגיגים אשר אוקלמו ישירות למי הדן (איור 1). בדגיגים הללו החלה תמותה ביום הדיגום עצמו והגיעה עד שיעור של 83% תוך 24 שעות. בדגימות שנלקחו במקביל מדגים אשר אוקלמו למי דור או לתמיסה מלאכותית, לא נצפתה כלל התופעה.
2. ריבוי והגדלה של תאי כלור (Chloride cells proliferation/ hypertrophy) – תופעה זו נצפתה אצל רוב הדגיגים, אך בעוצמות משתנות בהתאם לאתגר האוסמורגולטורי שהועמד בפניהם.
3. ריבוי של תאי ריר (Mucous cells proliferation) – תופעה זו נצפתה בשלבים המאוחרים של תהליך האקלום ממים מלאכותיים למי הגליל וכן בקבוצת הביקורת בה אוקלמו דגים למי דור. יש לציין כי גם בדגים בוגרים אשר נדגמו ממאגרי הגליל נצפתה תופעה זו בזימים באופן בולט. הועלתה השערה כי הגברת ייצור תאי הריר בזימים מהווה מחסום בפני איבוד מלחים מהזימים אל המים המתוקים ולכן ניתן ליחס אותה להסתגלות הדג לסביבת המים המתוקים, אולם בהמשך המחקר לא נמצאו חיזוקים נוספים לכך.

איור 1. למלות זימים במצב נורמאלי (ימין), הדבקות הלמלות בדגים שעברו אקלום ישיר למי הדן (שמאל).



א.2.5. קביעת קצב המיהול האופטימאלי בתהליך האקלום

לקצב המיהול של תמיסת מעבר בתהליך האקלום (מתמיסת מעבר למי דן) יש חשיבות ממשקית וכלכלית. הקצב האופטימאלי מבחינת הממשק אמור להתאים לספיקות הקיימות במשקי מדגה מסחריים, ולהיות הדרגתי מספיק על מנת לאפשר הסתגלות טובה של הדגיגים אשר תתבטא בשרידה גבוהה והתייצבות אוסמוגרלטורית. נבדקו שני קצבי מיהול, החלפת 50% מנפח המיכל ביממה והחלפת 20% מנפח המיכל ביממה. המיהול הושלם תוך 14 יום והמעקב אחר שרידה נמשך כשבועיים נוספים לאחר מכן. לא נמצאו הבדלים בשרידה (מעל 80%) 20 יום לאחר ההגעה למוליכות מי דן בשני קצבי המיהול. עם זאת יש לקחת בחשבון כי החלפת מים בקצב של 50% מנפח הבריכה ביממה אינה פרקטית כאשר מדובר בסדרי גודל מסחריים ועל כן יתכן כי קצב המיהול המתאים לפרוטוקול האקלום הינו 20% מנפח הבריכה ביממה.

ב. שנת המחקר השניה

ב.1. מבוא

התכנית לשנת המחקר השנייה התמקדה בבחירת תמיסת המעבר הפרקטית והיעילה ביותר לאקלום מוצלח ובניתוח רקמות במטרה לקבוע מהם המרכיבים בעלי ההשפעה הגדולה ביותר על בריאות הדגיגים בעת האקלום. באמצעות השוואה של נתוני השרידה, נתוני הניתוח ההיסטולוגי נתונים סרולוגיים ונתוני פעילות אנזימטית ניסינו לקבל תמונה המתארת את הסיבות הפזיולוגיות לפחתי ההסתגלות למי הגליל העליון ולהתגבר עליהם ע"י מילוי החסרים.

ב.2. פירוט עיקרי הניסויים – שיטות ומהלכי הניסוי מפורטים בדו"חות השנתיים

ב.1.1. ניתוח היסטולוגי של זימים בשלבי אקלום שונים לסביבת מים דלת כלורידים

במהלך ניסוי בו אוקלמו דגיג בורי ממי האסי (מליחות 1070 חל"מ כלורידים, מוליכות 3800 ms/cm) לסביבות מים שונות על מנת לקבוע את המוליכות האופטימלית של תמיסת המעבר, נדגמו זימים משלושה טיפולים: מי תחנת דור (A), מים מאוסמוזה הפוכה (E), ותמיסת מעבר מלאכותית (C). המאפיינים הכימיים של שלושת התמיסות מופיעים בטבלה 2. המטרה הייתה לבדוק האם חלו שינויים מבניים (מורפולוגיים), כתוצאה מחשיפת הדגים, לסביבה בעלת הרכב מים ידוע.

במי דור (A), לאחר 24 שעות נראתה התעבות של אפיתל בין הלמלות, הגדלה של תאי כלור והתקצרות למלות. לאחר 72 שעות נראה גם ריבוי של תאי כלור, אך לא החמרה בתהליכים הראשונים. בתום 20 יום לא היה שינוי נוסף. בקבוצה זו הייתה שרידה של 100%.

בתמיסה מלאכותית (C), לאחר 24 שעות נראתה התעבות ברורה של אפיתל בין הלמלות והגדלה של תאי כלור. לאחר 72 שעות נראה ריבוי של תאי כלור, אך לא החמרה בתהליכים הראשונים. בתום 20 יום נראית

גם התקלפות של אפיתל הלמלות והיווצרות גודש בקצות הלמלות. בקבוצה זו הייתה שרידה של 97% ומעלה. התמותה אירעה בשבוע הראשון לאחר האקלום.

במי אוסמוזה הפוכה (E) לאחר 4 שעות מסוף האקלום ניתן לראות הפרעות בכלי דם קטנים וגודש בקצות הלמלות והתחלה של התעבות האפיתל בין הלמלות. תהליך זה החמיר לאחר 24 שעות, בשלב זה ניתן גם לראות ריבוי והגדלה של תאי כלור והתקצרות של למלות הזימים המשניות. לאחר 72 שעות יש החמרה נוספת בהתעבות האפיתל בין הלמלות. בנוסף לייתר השינויים מופיעה גם התנפחות של הלמלות. לאחר 20 יום – התקלפות של אפיתל מהלמלות. בטיפול זה ארעה תמותה של כ 90% עד ליום השביעי (כ 70% במהלך היממה הראשונה).

נראה כי במי דור הדגים עברו תהליך של איקלום לאחר 72 שעות, אשר התבטא בהתייצבות הרקמה ללא שינויים נוספים. לעומת זאת בתמיסה המלאכותית השינויים המורפולוגיים המשיכו זמן ארוך יותר אך ללא החמרה ואילו במי אוסמוזה הפוכה הוסיפו השינויים להתפתח ולהחמיר כל משך הניסוי. חומרת השינויים ומידת התייצבות הרקמה תואמים את נתוני השרידה בכל אחד מהטיפולים ולכן ניתן להניח קשר נסיבתי בין התמותה לשינויים המבניים ברקמת הזימים.

ב.2.2. שרידה וקצבי גידול בתמיסות מעבר מלאכותיות בעלות הרכב יונים משתנה

על סמך תוצאות השנה הקודמת נבחר ערך המוליכות האופטימאלי של תמיסת המעבר. במטרה לבדוד מרכיבים במים שהינם בעלי פוטנציאל להשפעה על תפקוד פיזיולוגי תקין של דגיג בורי המאוקלמים למי הגליל העליון תוכננו ויוצרו תמיסות מעבר בעלות מוליכות זהה והרכב יונים משתנה, באמצעות שינוי במינון כימיקלים, ונבחנה התאמתן לאקלום הדגיגים. נבחנו הרכבי יונים פרקטיים וזמינים אשר נגזרו ממאפייני מקורות המים המנוצלים לחקלאות מים בישראל (טבלה 3), ונמדדה השפעת הרכב היונים על שרידה ומדדי התפקוד של מערכות אוסמורגולציה לאחר האקלום.

טבלה 3.

S	Ca	Mg	K	Na	Cl	Alk	Ec	
mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l CaCO ₃	ds/m	תמיסה
41.6 ±0.5	112.6 ±2.4	48.8 ±0.16	1.1 ±0.15	21.4 ±0.94	218.6 ±0.7	28 ±13.4	0.970 ±0.009	1 CaMgSO
2.6 ±0.14	169.9 ±8.1	0.8 ±0.7	0.9 ±0.17	23.6 ±3.8	282.5 ±3.8	27.4 ±2.6	0.977 ±0.017	2 Ca
1.2 ±0.12	15.9 ±8	1 ±0.3	1 ±0.13	191.7 ±6.7	284.7 ±9.1	28.9 ±7.4	0.971 ±0.005	3 Na
7.4 ±0.18	94 ±1.8	0.9 ±0.05	1 ±0.03	120.3 ±0.19	281 ±2.12	34.06 ±4.4	1.009 ±0.02	4 NaCaSO
9.2 ±0.3	62.1 ±0.9	25.3 ±0.96	3.2 ±0.07	110.7 ±3.5	220.7 ±5.9	107.8 ±1.9	0.944 ±0.02	C 1/3Dor

27.2	167.2	89.5	9.7	348.8	792	276.2	2.890	מי קידוח דור
------	-------	------	-----	-------	-----	-------	-------	-----------------

הניסוי נמשך 26 יום במהלכם נעשה מעקב אחר שיעור השרידה. ביום ה-24 של הניסוי נלקחו דגימות מרקמת הזימים מכל טיפול לניתוח היסטולוגי ובדיקת פעילות אנזימטית. שיעורי השרידה בתמיסות המלאכותיות לא נבדלו באופן מובהק משיעור השרידה במי קידוח דור המהולים פי שלוש, ולא נראו הבדלים מובהקים בין התמיסות לבין עצמן. תמיסת מלח בלבד (3) וכן התמיסה בה מגנזיום דומיננטי (1) הראו את קצב הגידול האיטי ביותר. תמיסת קלציום כלוריד (2) ותמיסת קלציום סודיום לא נמצאו שונות מהביקורת.

ניתוח היסטולוגי של רקמת הזימים בטיפולים השונים:

כביקורת שימשו דגים אשר שהו במי קידוח דור במשך חודש לפחות, אליה הושוו זימים שנאספו מדגי הטיפולים C (מי דור מהולים במי אוסמוזה הפוכה ביחס של 1:3), טיפול 2 (קלציום כלוריד בלבד, C-Ca) וטיפול 3 (סודיום כלוריד בלבד, C-Na). תמונת הזימים של קבוצה C-Na לאחר 24 יום הייתה דומה לזו של קבוצת הביקורת, פרט להופעת התנפחות למלות בעוצמה נמוכה. בקבוצה C-Ca נראו ריבוי והגדלה של תאי כלור, וכן התקלפות של אפיתל מהלמלות המשניות. בקבוצה C נצפתה רק התעבות של האפיתל בין הלמלות והתקצרות של הלמלות. בשלושת הקבוצות הייתה שרידה של כ-90% ולא היו הבדלים מובהקים בגודל הדגיגים. נראה שתוספת הנתרן גרמה למיתון השינויים, בהשוואה לקבוצות דומות ללא תוספת זו. לעומת זאת, תוספת סידן לא גרמה למיתון השינויים המורפולוגיים בזימים. הירידה בריכוז הנתרן והכלור מכ 350 ו-800 חל"מ בהתאמה במי דור ל 191 ו-280 חל"מ בתמיסת C-Na לא גרמה לשינויים משמעותיים בעוד המעבר לתמיסות בעלות מוליכות דומה אך ריכוז נתרן של 110 חל"מ ומטה גרמה לשינויים מבניים בזימים המעידים על קשיי הסתגלות לסביבה החדשה. לפי התוצאות נראה כי נתרן הוא היון בעל ההשפעה המשמעותית ביותר על יכולת האקלום למים עניים ביונים.

2.3.ב. פיתוח מערכת לבדיקת רמת פעילות משאבות נתרן אשלגן בזימים

משאבות נתרן אשלגן נמצאות על ממברנת תאי הכלור והן הכח המניע מאחורי היכולת של תאים אלו להעביר יונים בין הדם לסביבה המימית כנגד מפל הריכוזים. למעבר הדגים מסביבת מים מליחים לסביבת מים עניי כלורידים תתכן השפעה על פעילות משאבות נתרן אשלגן בזימים. על מנת לבדוק את רמת פעילות האנזים $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ כריאקציה ביוכימית נעשתה התאמה של מערכת בדיקה לדגיגי בורי במעבדה במכון וולקני. נעשה שימוש בחלק מהדגימות שנאספו במהלך ניסויים קודמים על מנת להגיע לכיול והתאמת תמיסות סטנדרט לבדיקה. בשיטה הנידונה, הידרוליזה של Adenosine Triphosphate (ATP) המבוצעת על ידי המשאבות, מקושרת אנזימטית לחימצון של (NADH) nicotinamide adenine dinucleotide ל NAD^+ ; השינוי בעוצמת פליטת האור בעקבות החמצון נמדד ישירות בקורא פלטות. הייצור של ADP בנוכחות משאבות $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, גורם לחמצון של NADH ביחס ישר ולירידה בעוצמת פליטת האור. בעזרת מערכת זו נעשה ניסוי שמטרתו לקבוע השפעת הרכב המים על פעילות משאבות נתרן אשלגן בדגיגי בורי. התוצאות הראו פעילות נמוכה יותר של משאבות נתרן אשלגן בדגים אשר הוחזקו במי אוסמוזה הפוכה ביחס לדגים אשר הוחזקו במי קידוח דור ($p < 0.05$).

ב.2.4. השוואת אוסמולריות והרכב אלקטרוליטים בדם של דגיג בורי אשר הוחזקו בתמיסות שונות

מים מתוקים מהווים סביבה היפואוסמוטית לדגים. בשל הפרשי הריכוזים בין המלחים המומסים בדם והמלחים המומסים במים ישנו איבוד של יונים, בעיקר הממברנות החדירות בזימים, הנמצאות במגע עם הסביבה החיצונית לצורך נשימה והפרשת תרכובות חנקן. המעבר של כל אחד מהאלקטרוליטים הנמצאים בדם אל הסביבה החיצונית תלוי בהפרש הריכוזים של היון הספציפי, הלחץ האוסמוטי (הפרש הריכוזים של כלל המומסים) והמתח החשמלי, כשסך כל הכוחות מכונה "הפוטנציאל האלקטרוכימי". ההרכב הספציפי של האלקטרוליטים בדם, והמתח החשמלי הנובע מכך, הינם בעלי חשיבות לתפקוד תקין של תאים ורקמות ויכול להשתנות בין אורגניזם אחד למשנהו על פי ההתפתחות וההסתגלות לתנאי מחייה שונים. הכרה של הרמות התקינות בדג הקיפון, ושל ההשפעה המשתנה שיכולה להיות למים בריכוזי והרכבי מלחים שונים, תסייע בהבנת המערכת האוסמורגולטורית ובמציאת פתרונות שיעזרו לשמירה על הומאוסטזיס בתנאי סביבה שונים. דוגמאות דם נאספו מקבוצות דגים אשר הוחזקו מס' חודשים בסביבות שונות מבחינת הרכב המים שלהן (טבלה 4), במטרה לעקוב אחר שינויים באוסמולליות ובריכוזי אלקטרוליטים בדם בהשפעת הרכב המים (טבלה 5).

טבלה 4. הרכב האלקטרוליטים בתמיסות שנבחנו.

	Na mg/l	Cl mg/l	K mg/l	EC ds/cm
Sea	10,875	21,473	526	
Dor	373	784	10	3,310
Sol N	192	285	1	971
Sol Ca	24	282	1	977
R Osmo	8	11	0.3	60
Dan	4	8	0.24	371

טבלה 5. יחסי אלקטרוליטים בדם דגי בורי שהוחזקו בתמיסות שונות.

מי ים	מי דור	תמיסת נתרן	תמיסת סידן	מי דן
נתרן בדם	168	170	168	141
אשלגן בדם	3.57	2.5	3.5	4.75
כלור בדם	195	178	188	187
אוסמולליות	325	351	347	288

ניתן לראות שדג הקיפון שומר על רמות כלור גבוהות מאד בדם. הערכים הממוצעים שמוצגים בטבלה אף נמוכים לעומת הרמות האמיתיות, שכן בחלק מהדגים הרמות עולות על מגבלות המדידה של המכשור שבידינו. הערכים שנמדדו בדג הקיפון גבוהים בכ 30-40% מהערכים המוכרים מדגים כמו אמנון, דקר וסלמון. ברוב מיני הדגים שבהם נערכו מדידות כאלה ערכי הנתרן גבוהים מערכי הכלור והיחס ביניהם

נשמר סביב 1.1, בעוד שבדג הקיפון אנו רואים שהיחס הוא תמיד נמוך מ 1 ויכול לרדת עד ל 0.75 (טבלה 5). עדיין איננו יודעים מה המשמעות הפיזיולוגית המלאה של נתון זה, אך ברור לנו שיש לו השפעה ישירה על מפל הריכוזים האלקטרוכימי שבין הדם לסביבה החיצונית ובהתאם לכך על מעבר יונים מהדם לתאים ולסביבה החיצונית. רמות האשלגן בדם נמצאות ביחס הפוך לרמות הנתרן. אחת האפשרויות המסבירות תופעה זו היא פגיעה בתפקודי אוסמורגולציה המתבטאת בירידה בפעילות משאבות נתרן-אשלגן וכתוצאה מכך הנתרן מצטבר בתאים והאשלגן נשאר בדם. השערה זו נתמכת על ידי התוצאות של ניסוי ב.2.3, בו נראתה ירידה בפעילות משאבות נתרן-אשלגן במי אוסמוזה הפוכה.

רמות האוסמולליות האופטימליות בדג הקיפון הן כ 250-325, והאוסמולליות נמצאת ביחס ישר לרמות הנתרן, ופחות עם רמות הכלור. מעיון בטבלה 5, נראה שנתרן, והשמירה על רמתו בדם, הוא גורם קריטי בדג הקיפון. הרמה האופטימלית היא כ 170 ובמים בהם יש ריכוז נתרן נמוך נצפו חריגות מרמה זו. דגים שחיו במים עם רמת מלחים נמוכה אך מורכבת ברובה מנתרן (ראה טבלה 4), היו בעלי ערכי אלקטרוליטים דומים לאלו של מי דור ומי ים. לעומת זאת, דגים שחיו באותה רמת מליחות, אך מורכבת ברובה מסידן, הראו חריגה משמעותית באוסמולליות ורמות המלחים בדם. ההשפעה של תמיסה מבוססת סידן הייתה שונה מההשפעה של מים ענני מינרלים כמו מי דן, ועל כן יש מקום לבדוק את ההשפעות של יוני הסידן על מערכות אוסמורגולציה.

ב.2.5. השפעת תוספת מלחים במזון לדגיג בורי על שיעורי שרידה וגדילה במי כינרת

מזון הדגים עשוי להוות מקור חשוב למינרלים הדרושים לאוסמורגולציה במים מתוקים. תוספת מלחים למזון על מנת לסייע באוסמורגולציה יכולה להפחית את כמות האנרגיה שמושקעת בתהליך זה. מטרת הניסוי הייתה לבדוק את השפעתה של תוספת מלח במזון על מדדי שרידה וגדילה של דגיג בורי במי הכנרת. הוכנו שני מזונות ניסיוניים, צפים, בגודל של 2.5 מ"מ. הרכב חומרי הגלם והתכולה התזונתית של שני המזונות מופיעים היו דומים מאוד פרט לתוספת המלח. בניסוי זה לא נמצאה השפעה לתוספת המלח במזון על קצב הגדילה והשרידה של דגי בורי שגודלו במי הכנרת. במדד FCR נמצאו הבדלים בין הטיפולים אך כל הערכים היו גבוהים באופן קיצוני ושיקפו נצילות ירודה ביותר של המזון. עקב כך יתכן שקיים גורם מגביל נוסף שהשפעתו משמעותית יותר מזה של המלח. בנוסף יש לזכור כי מי הכנרת מתאפיינים בערכי מליחות ומוליכות גבוהים מאלו של מי הדן באופן משמעותי, ויש לשקול חזרה על ניסוי זה בסביבה של מי הדן.

ג. שנת המחקר השלישית

ג.1. מבוא:

בשנה זו בוצעו שלושה ניסויים אשר התמקדו בהיבטים יישומיים של השימוש בפרוטוקול המוצע לאקלום דגיג בורי במי הגליל העליון: השפעת אימון בתמיסת מעבר על קצב הגידול של הדגיגים, בדיקת חלופות כדאיות ליצירת תמיסת המעבר ע"י מינון כימיקלים ישיר, ויישום פרוטוקול האקלום בקנה מידה חצי מסחרי במשק מודל.

ג.2. פירוט עיקרי הניסויים

ג.2.1. השפעת הרכב מים על ביצועי גדילה באימון בורים.

מטרת הניסוי:

השוואת ביצועי גדילה של דגיגי בורי בשלב אימון (החל מ 3 גרם) בארבעה הרכבי מים שונים, בהתייחס למי הגליל העליון (נחל דן).

מהלך הניסוי:

הניסוי החל בתאריך 05.05.11 ונמשך 77 יום. מערכת הניסוי כללה 20 מכלי פלסטיק עגולים (כולל כיסוי) בתוך חממה, נפח תפעולי 700 ליטר, סטנד פייפ במרכז, ניקוז מהמרכז. ביופילטר לכל מיכל, ואורור. דגיגים – נרכשו ממעגן מיכאל במשקל ממוצע של 3.09 גרם, לאחר אקלום מהים למים מליחים. הדגיגים אוכלסו בצפיפות של 100 דגיג למיכל. נערכו ארבעה טיפולים, ארבע חזרות לכל טיפול. ארבע תמיסות הניסוי הוכנו מראש (טבלה 6) והדגיגים אוקלמו אליהן, בשלב הראשון ממי המקור למי דור למס' ימים, בצפיפות של 1000 דגיגים לממ"ק מים. לאחר אקלום ראשוני זה (במהלכו נבדקה נגיעות בטפילים והדגיגים טופלו בהתאם לממצאים) הועברו הדגיגים לכל אחת מתמיסות הניסוי תוך שלוש שעות. האקלום נעשה במיכלי פלסטיק בנפח 50 ליטר, מאווררים, בהם הוחלפו 40% ממי המקור במי התמיסה כל 15 דקות. עם תום תהליך זה הועברו הדגיגים לכל אחד מהמיכלים אשר הכילו את תמיסות הניסוי. לאחר האכלוס החל מעקב יומיומי אחר תמותה, סימנים קליניים וקצב גידול.

הטיפולים:

ביקורת - מי קידוח דור

- מי קידוח דור מהולים במי אוסמוזה הפוכה עד לקבלת $EC = 1000ms/cm$.
- תמיסה מלאכותית C-Na, הוכנה ע"י הוספת NaCl למי אוסמוזה הפוכה עד לקבלת מוליכות כשל טיפול 2. לתמיסה הוסף קרבונט על מנת להגיע לרמת אלקליניות $170mg/l CaCO_3$. (זוהי רמת האלקליניות של מי הדן). מאפייני תמיסה זו: $Na - 180-190ppm$, $Cl - 280-290ppm$. התמיסה הוכנה מ $NaCl + Na_2CO_3$.
- מי דן – הובאו בהובלה מיוחדת מקיבוץ דן, ונאגרו במיכל של 5 קוב בתוך החממה. שקילות מדגמיות נערכו החל מ 14 יום לאחר האקלום וכל כ 14 יום לאחר מכן. אחת לחודש נשקלו ונספרו כל הדגיגים בכל מיכל על מנת לקבוע את שיעור השרידה. שקילה כזו מחייבת החלפה של כל נפח המים בכל אחד ממכלי הניסוי. בשקילת הפירוק נשקלו ונספרו כל הדגיגים. מכל טיפול הוקרבו 20 דגים לדגימת רקמות הזימים. סוג המזון, ממשק ההזנה וקביעת המנה היו אחידים לכל הטיפולים. נעשה שימוש בסטרטר אוכלי כל (צמח 804-806) פירורים אקסטרזיה שוקע. ההזנה התבצעה פעמיים ביום באופן ידני, לפי טבלת הזנה אשר פותחה במלח"י (ד"ר אינגריד לופטש) ומבוססת על מי ים בטמפ' של 22-24 מעלות.

טבלה 6. הרכב היונים בתמיסות הניסוי.

S	P	Na	Mg	K	Ca	Alk	Cl	EC	
mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l CaCO3	mg/l	ds/m	יחידות
38.1	1.8	367.0	76.8	14.7	154.0	237.3	830.7	3.9	דור 1
37.9	1.7	369.4	76.6	15.2	154.0	229.2	827.4	4.0	דור 2
37.8	1.9	376.6	77.2	15.2	154.0	243.6	844.2	4.0	דור 3
38.3	2.0	369.4	77.1	15.9	151.0	238.6	854.3	4.0	דור 4
15.4	2.8	141.5	28.8	8.7	57.4	58.2	305.4	1.6	שליש דור 5

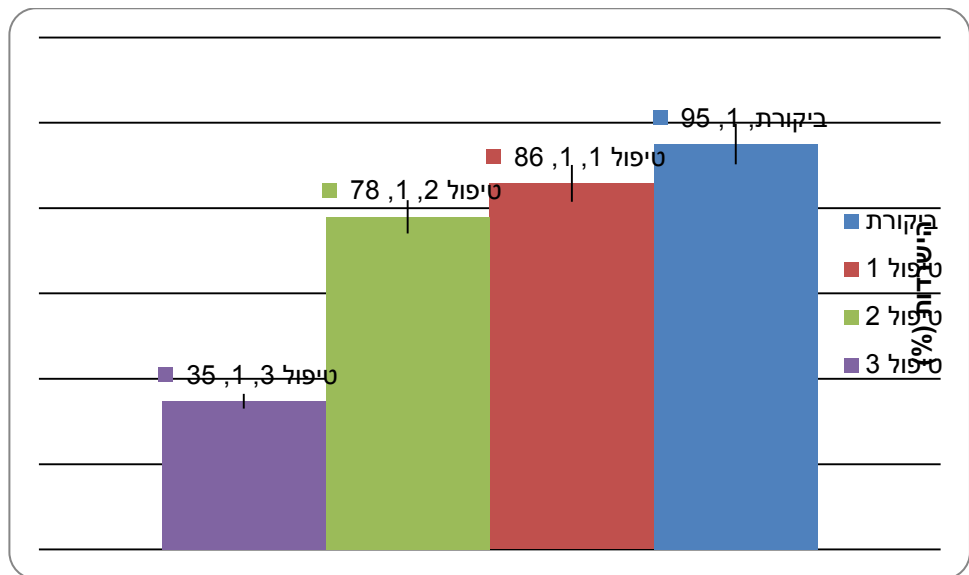
16.6	3.3	147.5	30.4	9.1	63.0	59.6	318.8	1.7	שליש דור 6
15.9	3.1	143.9	29.2	8.6	58.7	55.0	312.1	1.6	שליש דור 7
15.8	3.5	143.9	29.0	8.8	58.0	51.8	305.4	1.6	שליש דור 8
4.1	3.4	195.4	5.7	6.3	30.0	92.8	259.6	1.4	מלאכותית 9
3.4	2.8	197.7	4.5	5.6	30.8	97.6	257.0	1.4	מלאכותית 10
3.3	2.9	187.0	3.9	5.9	30.2	97.5	239.5	1.3	מלאכותית 11
3.1	2.2	185.8	3.8	4.9	29.1	100.9	242.2	1.3	מלאכותית 12
5.5	2.8	12.5	4.8	3.9	40.7	56.5	21.9	0.4	דן 13
5.5	2.9	8.9	4.5	3.6	41.4	51.1	18.6	0.4	דן 14
6.0	2.6	13.1	5.5	4.0	42.8	60.4	17.9	0.4	דן 15
10.4	2.6	64.2	15.4	4.8	53.8	74.0	134.1	0.9	דן* 16
0.2	0.0	12.8	0.5	< 0.05	2.0	9.0	19.7	0.1	RO
34.6	0.0	358.6	71.8	9.9	151.0	282.6	800.4	3.5	דור (מקור)
3.0	0.1	8.9	3.5	< 0.05	42.8	170.3	21.3	0.4	דן (מקור)

*נראה שדוגמא זאת הזדהמה במי דור.

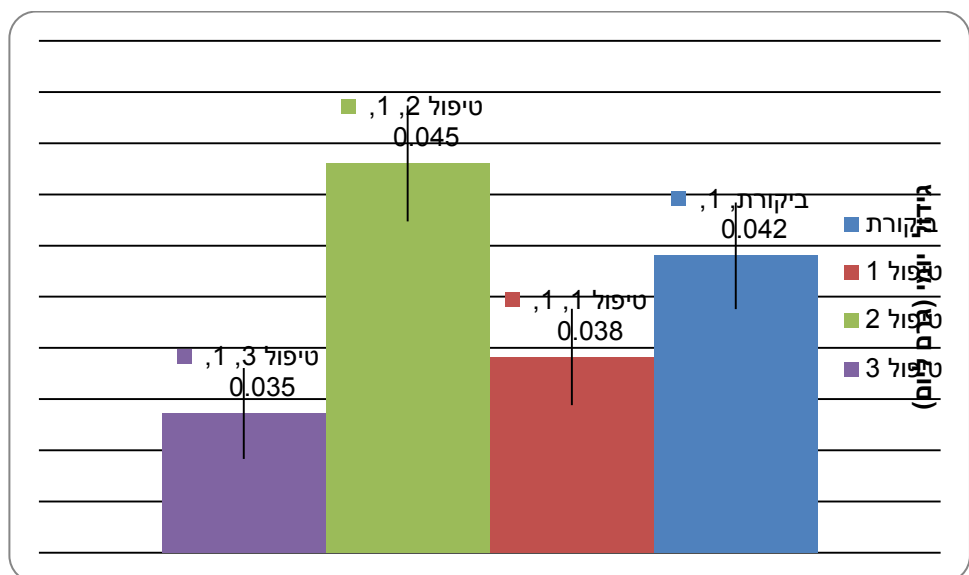
תוצאות:

עיקר התמותה אירעה במהלך השבוע הראשון. מספר המתים בשבוע זה עמד על 1.25 דגיגים מתים בממוצע ליום בקבוצת הביקורת, 3.25 דגיגים מתים בממוצע בשליש מי דור, 3.75 דגיגים מתים בממוצע בתמיסה המלאכותית ו 20.75 דגיגים מתים בממוצע במי הדן. אקלום איטי ומדורג של הדגים, כפי שנעשה בטיפולים 1 ו 2 (כלומר אימון הדגים במים במליחות וקשיות גבוהים ממי הדן), הביא להישרדות גבוהה באופן משמעותי (86%-ו 78% בהתאמה) ביחס לאיקלום למי דן (35%). נתוני השרידה בסוף תקופת הניסוי מוצגים באיור 2. תוצאות שיעור השרידה מחזקות תוצאות קודמות במחקר זה לפיהן אקלום ישיר למי הדן גורם לשרידה נמוכה פי שניים, ואף יותר, מאקלום לתמיסות מעבר. בנוסף לכך, שיעור השרידה בקבוצת התמיסה המלאכותית נמוך משמעותית מקבוצת הביקורת וקבוצת מי דור המהולים. ייתכן כי ריכוז המגנזיום הנמוך בתמיסה המלאכותית (ראה טבלה 6) אחראי להבדלים אלו. דגיגי התמיסה המלאכותית גדלו בקצב הגבוה ביותר, כפי שמוצג באיור 3. בתום הניסוי עמד המשקל הממוצע בקבוצת הביקורת על 6.184 גרם. משקלם של הדגים אשר שהו במיכלי התמיסה המלאכותית – (טיפול מס' 2), עמד על 6.147 גרם. המשקל הממוצע במי דור מהולים פי 3 היה 5.916 גרם, ואילו משקלם של הדגיגים אשר שרדו במי הדן היה הנמוך ביותר, רק 5.396 גרם.

איור 2. שרידה ממוצעת לאורך תקופת הגידול בארבעת הטיפולים השונים: ביקורת (מי קידוח דור), מי קידוח דור מהול פי 3 (טיפול 1), תמיסה מלאכותית (טיפול 2), מי נחל הדן (טיפול 3).



איור 3. קצב הגידול היומי הממוצע בארבעת הטיפולים השונים: מי קידוח דור (ביקורת), מי קידוח דור מהול פי 3 (טיפול 1), תמיסה מלאכותית (טיפול 2), מי נחל הדן (טיפול 3).



ניתוח הרכב היונים בתמיסות השונות מראה כי שני המרכיבים הבולטים ביותר בחסרונם במי הדן הם יוני הכלוריד והנתרן, המופיעים בריכוזים של 21.3 מג"ל ו 8.9 מג"ל בהתאמה במים אלו בעוד שבמי דור, למשל, ריכוזיהם גבוהים בערך פי 40. עם זאת, גם כאשר ריכוזי הכלוריד והנתרן במים נמוכים בהרבה, נשמרה סביבה המתאימה לאימון הדגיג, כפי שניתן לראות בתוצאות טיפולים 1+2. נראה כי ריכוז הסידן אשר יושם בטיפול 2, כ 30 מג"ל, אינו מהווה גורם המקשה על התמודדות הדג עם תנאי הסביבה. יש לבחון האם הגדלת ריכוז הסידן ו/או ריכוז המגנזיום עשויה לבוא כתחליף לירידה בריכוזי יונים אחרים. מסקנה נוספת שעלתה מניתוח ריכוזי היונים בתמיסות השונות, הייתה שליוני האשלגן, הזרחן והגופרית לא הייתה השפעה על הישרדות וקצב גידולם של הדגיגים. ריכוזיהם נעו בין 1 ל 10 מג"ל, ריכוזים נמוכים מכדי

להשפיע על הסביבה המימית בהקשר האוסמוטי. ניתוח היסטולוגי של רקמות הזימים הראה שוב עלייה בכמות תאי הכלור ובהפרפולסיה ככל שהתמיסה ענייה יותר בכלורידים.

ג.2.2. בדיקת שרידה של דגיגי בורי בתמיסה המופקת באמצעות המסת דולומיט, ובמי קידוח "שמיר" כתחליפים אפשריים לתמיסת מעבר.

מטרת הניסוי:

לבחון את התאמתם של מי המסת דולומיט ומי קידוח שמיר כתמיסת מעבר לאקלום ואימון בורים בגליל העליון.

רקע: פרוטוקול אקלום דגיגי בורי למי הגליל העליון אשר הוכן במסגרת המחקר מבוסס על הכנת תמיסת מעבר באמצעות מינון כימיקלים ישירות אל מי דן. יחד עם זאת קיימת מודעות לבעייתיות הסביבתית והכלכלית של שיטה זו במידה ומדובר בנפחי מים גדולים על כן הושקעה מחשבה במציאת חלופות לשיטה זו. אחת הדרכים להוסיף יונים לתמיסה היא המסת סלעי משקע קרבונטיים. ריאקציית המסת הסלע מתרחשת בשטח המגע בין המוצק למים, בתנאים חומציים ובתלות ב pH המים ובריכוזם של כלל הצורונים הפחמניים. בשיתוף פעולה שנרקם במסגרת מחקר זה תוכנן, נבנה והופעל ריאקטור ניסויי להמסת קלציט ודולומיט במעבדת פרופ' אורי להב, בפקולטה להנדסה סביבתית בטכניון, כחלק מעבודת המאסטר של הסטודנט אמיר זיוון, במטרה לפתח שיטה כלכלית וסביבתית להעלאת ריכוזי המלחים במי הגליל העליון לצורך אקלום וגידול של דגיגי הבורי. ההנחה היא כי באמצעות טכניקה זו ניתן ליצור "תמיסת מעבר" בצורה זולה בהרבה מאשר מינון ישיר של כימיקלים, ע"י הזרמת מי הדן דרך מערכות המסה של אבני דולומיט וקלציט. המסת הסלע ושחרור היונים למים באופן מתוכנן ומבוקר תאפשר שליטה על איכות המים בבריכה בעת האקלום. בניסוי זה נעשה שימוש בתמיסות המדמות את התמיסות שהוכנו באמצעות הריאקטור, זאת עקב קשיים טכניים בבניית ריאקטור נוסף בתחנת המחקר בדור.

מי קידוח שמיר הנם מים גאותרמיים תת קרקעיים בעלי פוטנציאל הפקה בהיקפים גדולים ומצויים בזמינות גבוהה בגליל העליון. מקור המים הוא מרשת של שלושה קידוחים ארטזיים (קידוח אשר המים פורצים ממנו עקב לחץ תת-קרקעי ללא צורך בשאיבה) הממוקמים בקרבת קיבוץ שמיר שבאצבע הגליל. מים אלה נובעים מבטן האדמה באמצעות קידוח (ללא שאיבה) לעומק של כ 1500 מ', בטמפ' של כ 48 מעלות צלזיוס וספיקתם נכון להיום יכולה להגיע לכדי 15 מיליון מ"ק בשנה. כפי שניתן לראות בטבלה 7, מים אלה עשירים בסידן ומגנזיום, ועשויים להיות יעילים בשלב אימון דגיגי הבורי למי נחל הדן. בניסוי זה נבחנה לראשונה השפעת מים אלו על שרידת דגיגי בורי בשלב האקלום, כתחליף למינון כימיקלים ישיר. חשוב לציין שריכוז הברזל במים אלה עומד על כ 3-5 מג"ל, ולכן, טרם הבאתם לתחנת המחקר בדור, הושהו המים במיכל מרכזי תוך כדי איזורור בכדי לגרום לשיקוע ברזל.

מהלך הניסוי:

הניסוי נמשך 45 יום, מרגע חלוקת הדגים למיכלי הטיפול השונים ועד לריקון המיכלים. במהלך תקופה זו נספרו הדגים המתים על בסיס יומי וכן בוצעה שקילה בתום תקופת הגידול. מערכת הניסוי כללה 20 מכלי פלסטיק עגולים (כולל כיסוי) בתוך חממה, נפח תפעולי 700 ליטר, סטנד פייפ במרכז, ניקוז מהמרכז, ביופילטר לכל מיכל, ואזורור.

הדגיגים אוכלסו בצפיפות של 100 דגיגים למיכל. נערכו שלושה טיפולים וקבוצת ביקורת בארבע חזרות. ארבע תמיסות הניסוי הוכנו מראש והדגים אוקלמו אליהן, בשלב הראשון ממי המקור למי דור למס' ימים, בצפיפות של 1,000 דגיגים ל 1 קוב. לאחר אקלום ראשוני זה (במהלכו נבדקה נגיעות בטפילים והדגים טופלו בהתאם לממצאים) הועברו הדגיגים לכל אחת מתמיסות הניסוי תוך שלוש שעות. האקלום נעשה במיכלי פלסטיק בנפח 50 ליטר, מאווררים, בהם הוחלפו 40% ממי המקור במי התמיסה כל 15 דקות. עם תום תהליך זה הועברו הדגים לכל אחד מהמיכלים אשר הכילו את תמיסות הניסוי. לאחר האכלוס החל מעקב יומיומי אחר תמותה, סימנים קליניים וקצב גידול.

הטיפולים:

קבוצת ביקורת – מי קידוח דור

1. מי "שמיר" – מי קידוח שמיר.

2. דולומיט – תמיסה המדמה תמיסה שנוצרה מהמסת דולומיט באמצעות ריאקטור

3. דולומיט + נתן – תמיסה המדמה תמיסה שנוצרה מהמסת דולומיט באמצעות ריאקטור. NaCl

הוסף בכדי לבדוק את השפעת ריכוז הנתן במים על הישרדות הדגים. השפעת ריכוז הנתן על הישרדות הדגיגים, כמשתנה הנבדק נבחר בשל מרכזיותו בתהליכי אוסמורגולציה של הבורי, כפי שהתברר בעקבות בדיקת מדדים פיזיולוגיים ושינויים היסטולוגיים בניסויים קודמים במחקר זה.

תוצאות:

היונים אשר נמדדו במים בטיפולים אלה מוצגים בטבלה 7.

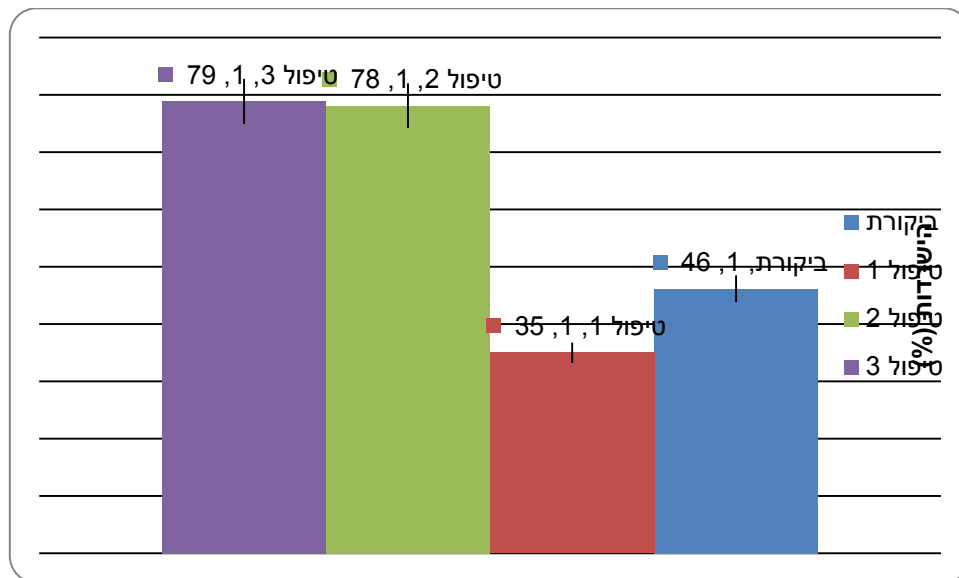
אחוז תמותה גבוה מאד נרשם בקבוצת הביקורת ובטיפול מס' 1. ניסוי קבוצת הביקורת וטיפול מס' 1 סבלו במהלך השבוע הרביעי לניסוי מעלייה חדה בריכוז הניטריט במים, אשר לוותה בתמותה משמעותית של דגים. החלפת מים מאסיבית במיכלים אלה הצליחה להפחית את ריכוז הניטריט ולהחזיר את המצב לקדמותו. עם זאת, בשבועיים הראשונים לניסוי, המוגדרים כשלב הקריטי לאקלום הדגים, לא נרשמה תמותה חריגה, ונספרו כשלושה דגים מתים בשבוע. לא ניתן לייחס את התמותה בשבוע הרביעי להשפעות הסביבה האוסמוטית על הדגיגים בשלב האימון. עוד עולה מתוצאות הניסוי, שאימון הדגיגים במים המדמים מי המסת דולומיט, לאחר אקלום איטי ומדורג ממים מליחים, עשוי להביא לאחוזי הישרדות גבוהים, וכי הריכוזים הנמוכים של יוני הנתן והכלוריד במים אלו לא השפיעו לרעה על הישרדות הדגיגים (איור 4). יש לציין כי ריכוזי הנתן והכלוריד בטיפול 2 היו עדיין גבוהים פי שניים ויותר מריכוזי יונים אלו במי הדן (טבלה 7). לפיכך קיימת אפשרות כי המחסור ביונים אלו הנו קריטי לקיום הדגים רק מתחת לסף מסוים. תוצאות הניסוי לא אפשרו לקבוע האם המים מקידוח שמיר עשויים להתאים לאימון דגיגי הבורי, אך התנהגות הדגים בשבועיים הראשונים לניסוי ואחוזי ההישרדות הגבוהים בתקופה זאת, משאירים פתח לאופטימיות בקשר לכך. לעומת זאת ניתן לקבוע חד משמעית שמי המסת דולומיט יכולים להוות סביבה מתאימה לדגיגי הבורי בשלב האימון למי הדן ממים מליחים.

טבלה 7. הרכב היונים בתמיסות הניסוי.

Cl	Alk gran	S	Na	Mg	Ca
----	----------	---	----	----	----

mg/l	mg/l as CaCO ₃	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	יחידות
879.4	241.8	39.9	361.6	91.3	164.9	דור 1
926.7	147.0	38.5	359.6	89.7	119.9	דור 2
859.1	280.9	37.4	357.1	89.0	161.6	דור 3
845.5	248.0	37.2	357.8	89.5	148.1	דור 4
33.3	6.8	145.0	37.4	41.3	99.4	שמיר 1
36.3	16.0	144.0	37.9	41.3	103.8	שמיר 2
34.5	24.4	145.0	37.1	41.0	105.9	שמיר 3
33.8	9.2	145.0	35.9	40.9	98.2	שמיר 4
58.4	33.7	117.0	34.5	56.1	60.7	דולומיט 1
54.4	46.6	109.0	31.6	49.4	64.6	דולומיט 2
57.1	37.7	122.0	33.8	57.7	66.0	דולומיט 3
58.2	31.7	117.0	34.0	54.6	63.0	דולומיט 4
97.4	47.6	114.0	61.6	52.8	68.5	דולומיט+נתרן 1
94.7	39.7	113.0	59.6	52.2	60.9	דולומיט+נתרן 2
97.4	27.8	112.0	61.1	51.4	62.3	דולומיט+נתרן 3
92.0	40.0	110.0	58.0	50.5	59.3	דולומיט+נתרן 4

איור 4. הישרדות הדגיגים הממוצעת לאורך תקופת הגידול בארבעת הטיפולים השונים: מי קידוח דור (ביקורת), מי קידוח שמיר (טיפול 1), מי המסת דולומיט (טיפול 2), מי המסת דולומיט ונתרן (טיפול 3).



ג.2.3. תכנית להמשך בחינת שימוש בריאקטור ההמסה בעת אקלום הדגים למי הדן

ממצאי הניסויים שהוצגו עד כה חיזקו את ההשערה כי הזרמת מי הדן דרך ריאקטורים להמסת דולומיט וקלציט תגרום להעלאת ריכוזי הסיידן והמגנזיום, באופן כזה שיאפשר להתגבר על המכשולים והמגבלות הפיזיולוגיות של דגי הבורי בעת אקלום למי הדן. אימון הדגים אמור להתרחש בבריכה אשר המים בה יופקו מראש ע"י שימוש בריאקטור ההמסה ותוספת מים טריים, במידת הצורך, תסופק גם היא דרך הריאקטורים. הריאקטורים יותקנו בקונפיגורציה טורית כך שהמים מועברים תחילה דרך ריאקטור המסת הדולומיט ואחריו ריאקטור המסת הקלציט. חלק ממי הדן יוזרמו דרך הריאקטורים ובאמצעות מינון חומצה תתרחש המסת המינרלים כך שריכוזי הסיידן והמגנזיום יגיעו לערכים הרצויים ובהמשך ימהלו המים המטופלים עם יתרת המים ויוזרמו לבריכת הדגים. אקלום הדגים מתוכנן להתחלק לשני שלבים: הראשון החלפת המים במיכל הדגים (אפשרי כי יהיה זה המיכל בו הובלו הדגים אל יעדם) במשך כשעתיים, עד להגעה לריכוז סידן של 140 מג"ל וריכוז מגנזיום של 35 מג"ל. החלפת המים תתבצע ע"י הזרמת מים מבריכת האימון למיכל האקלום באופן כזה שלאחר שעתיים תוחלף כל כמות המים במיכל האקלום. בתום השלב הראשון, יועברו דגי הבורי לבריכת האימון. השלב השני ימשך כחודש או יותר בהתאם להתנהגות הדגים, בהנחה של תמותת דגים זניחה, אכילת מזון יציבה ועלייה קבועה במשקל. במהלך תקופה זאת יועברו חלק ממי הדן באופן רציף דרך הריאקטורים וימהלו עם יתרת המים המוזרמים לבריכת הדגים. הזרמת מי הדן דרך הריאקטורים תיפסק בתום תקופת האימון, ותנותב ישירות לבריכת הגידול. הפעלת מערכת ההמסה מצריכה מדידת הפרמטרים הבאים: יחס הסיידן והמגנזיום במחצב הדולומיט בו יעשה שימוש, ריכוז הסיידן, המגנזיום והאלקליניות במי המקור, pH, EC, וטמפ' המים. כמו כן על המשתמש לדעת את ספיקת המים העומדים לרשותו ואת נפח הריאקטורים.

ג.2.4. יישום פרוטוקול אקלום דגי בורי למי הגליל העליון במשק מודל (מדגה דן) ובדיקת ההשפעה

של תוספת מלח במזון בתקופה זו.

מטרת הניסוי:

יישום פרוטוקול אקלום דגיגי בורי למי הגליל העליון בקנה מידה מסחרי במשק מודל, ובחינת ההשפעה של תוספת מלח במזון על שרידה וקצב גידול בתקופה זו.

מהלך הניסוי:

הניסוי התבצע בחודשים יוני עד ספטמבר 2012, במהלך תקופת הניסוי הגיעו הדגיגים ממשקל ממוצע של 3.3 גרם ל 31 גרם. הדגיגים (כ 30,000) נרכשו ממדגה קיבוץ חפציבה שבעמק בית שאן, והוחזקו תחילה בבריכות עפר בתחנת המחקר בדור (מי קידוח דור) עד הגיעם למשקל ממוצע של 3.3 גרם. הדגיגים הובלו מתחנת דור למדגה דן במיכל הובלה בנפח של 10 קוב, כאשר הם שוהים במי קידוח דור. עם הגיעם הוחלפו בהדרגה מי מיכל ההובלה במי תמיסת מעבר אשר הוכנו מראש בתהליך שארך כשלוש שעות. לאחר מכן הועברו כל הדגיגים לבריכה בנפח של 30 קוב שהכילה תמיסת מעבר מוכנה, ובה מתקני אוורור, בצפיפות של כ 800 דגיגים לקוב. לאחר 24 שעות החלה הזרמת מי דן אל בריכה זו בספיקה של כ 200 ליטר לשעה. מדדי מליחות נמדדו מידי יום עד הגעת המים למאפייני מי הדן, כשבוע לאחר תחילת המיחול. במהלך תקופה זו נעשה מעקב אחר שיעור התמותה והשרידה של הדגיגים. בסוף שלב זה נדגמו רקמות ודם לניתוח פתוהיסטולוגי ומדידת אוסמולליות ואלקטרוליטים בדם. בשלב הבא פוצלו הדגיגים לשתי קבוצות, כל קבוצה אוכלסה בצפיפות של 11,000 דגיגים לדונם בבריכה ששטחה 1 דונם. אחת הקבוצות הוזנה במזון מסחרי מפורר רגיל (שיווק רענן, מס' מזון 8220) ואילו השנייה במזון זהה עם תוספת של 3% מלח. שני המזונות יוצרו ע"י חברת שיווק רענן. המלח הוסף במהלך ייצור המזון עבור הניסוי. הדגיגים הוזנו לפי טבלת הזנה אשר פותחה במלח"י עבור גידול בורי במי ים (ד"ר אינגריד לופטש). לאחר 33 יום נספרו כל הדגיגים ונשקלו. הדגיגים אוכלסו להמשך גידול מסחרי בבריכת עפר ששטחה כ 10 דונם (צפיפות של כ 1500 דגיגים לדונם). 46 יום לאחר האכלוס בוצעה שקילה מדגמית להערכת המשקל הממוצע וקצב הגידול. הרכב חומרי הגלם בשני המזונות בטבלה 8.

טבלה 8 – הרכב חומרי גלם במזון כאחוז משקלי מחומר רטוב.

חומר גלם	% במזון 8220	% במזון 3140
מלח		3.0
חיטה	20.0	20
כוספת חמניות	5.0	5.0
כוספת סויה	38.5	38.7
סובין	3.8	-
DCP	1.0	1.0
שמן	8.0	7.0
קמח דגים	8.0	8.0
קמח נוצות	5.3	5.3
קמח עוף	10	13.3
ויטמינים ומינרלים	0.5	0.5

תמיסת המעבר:

תמיסת המעבר הוכנה ע"י הוספת NaCl למי דן עד לקבלת מוליכות של כ 1000 ms/cm. מאפייני תמיסה זו: Na – 180-190 ppm, Cl – 280-290 ppm. התמיסה הוכנה על ידי המסה של 284 גרם NaCl לקוב מים, 24 שעות לפני אכלוס הדגיגים. מוליכות, טמפ', אמוניה, ניטריט וחמצן נמדדו לפני אכלוס הדגיגים.

תוצאות:

לאחר ההובלה והאקלום הראשוני אוכלסו לתמיסת המעבר 25,800 דגיגים. לאחר 7 ימים של החלפת המים הסתכמה התמותה בכ 10% מהדגים שאוכלסו, דהיינו שרידה של 90%. משקלם הממוצע של הדגים נותר 3.3 גרם. לאחר 33 ימי אימון בבריכות של דונם אחד התקבלו התוצאות הבאות:

טיפול	% שרידה	משקל ממוצע	FCR
מזון ללא תוספת מלח	63	10.7 גרם	1:2.9
תוספת מלח במזון 3%	82	9.54 גרם	1:1.8

בשל מגבלות ממשקיות לא היו חזרות בשני הטיפולים ולכן התוצאות הן בגדר תצפית בלבד. בנוסף לכך, במהלך תקופת האימון הנ"ל הייתה נגיעות בטפילים בעיקר בקבוצה אשר הואכלה במזון ללא תוספת מלח. הדגים טופלו באמצעות הוספת מי חמצן במינון של 25 ppm אל מי הבריכה. טיפול זה אינו דורש החלפה מהירה של המים היות ומי החמצן מתפרקים במהירות יחסית לחמצן ולמים. בשל כך לא ניתן ליחס את ההבדל בשרידת הדגיגים להבדל בנגיעות בטפילים או למזון השונה בשני הטיפולים. עם זאת, ולמרות תוצאות ניסוי 5 שנערך במי הכינרת, התצפית מצדיקה בחינה מחודשת של השפעת תוספת מלח במזון על שרידה של דגיגי בורי במי הדן. חשוב לציין כי בתום התצפית אוכלסו הדגיגים לבריכה מסחרית ששטחה 10 דונם ובה מי דן. בשקילות שנערכו כעבור 46 יום חושב קצב גידול של 0.45 גרם ליום. זהו קצב גידול משביע רצון בקנה מידה מסחרי. המסקנה מכך היא כי דגיגי בורי מסוגלים לגדול בקצב נורמאלי במי הדן בתנאי שלא יגרם להם נזק פיזיולוגי בשל אקלום ישיר.

סיכום ודין

למי הגליל העליון מאפיינים ייחודיים ושונים מאוד ממי העמקים ומישור החוף. שני המדדים הבולטים בהם מתבטא שוני זה הם מליחות וקשיות. מדדים אלו נמוכים באופן קיצוני במי הגליל בהשוואה למי העמקים ומי מישור החוף בהם גידול הבורי מוצלח וכלכלי. אקלום ישיר ממים מליחים למי הגליל העליון עניי היונים גורם לתמותה בשיעור גבוה במהלך 72 השעות הראשונות (70% ומעלה). בבדיקות היסטולוגיות התבטא המעבר הישיר ממים מליחים למי הגליל העליון בהדבקות למלות בזימים, שינוי לטאלי המסביר את התמותות שאירעו. תוספת יונים באמצעות הוספה מלאכותית (מינון) של מלחים כגון NaOH ו- CaCl₂ למי הגליל גרמה לעליה בשיעורי השרידה במהלך האקלום הראשוני. ממשק בו האקלום הראשוני מתבצע באמצעות תמיסת מעבר מלאכותית ולאחר מכן מיהול הדרגתי של תמיסה זו במי הגליל נמצא יעיל בצמצום תמותות דגיגי הבורי. על מנת להגיע לפרוטוקול ממשקי שיהפוך הליך כזה לכלכלי מחד וידידותי לסביבה מאידך נקבעו מאפייניה של תמיסת מעבר מלאכותית וקצב המיהול האופטימאלי בתהליך האקלום המדורג (20% ביום). נראה כי היונים נתרן וכלור הנם המרכיבים המגבילים בהסתגלות הדגים למי הגליל העליון אך

המחסור ביונים אלו הנו קריטי לקיום הדגים רק מתחת לסף מסוים. משתי תצפיות שנעשו במערכות סמי מסחריות (מדגה משגב עם ומדגה דן) עולה כי לאחר אקלום מוצלח והעברת הדגים למי דן מתקבלים קצבי גידול שאינם נופלים מהגידול במים מליחים בשלבים אלו, 0.44 ו 0.45 גרם ליום בהתאמה. פרוטוקול אקלום דגי קיפון למי הגליל העליון אשר נכתב במסגרת המחקר מפרט את הממשק הפרקטי ביותר אליו הובילו תוצאות הניסויים. פרוטוקול זה יושם במשק מודל בהיקף חצי מסחרי והביא לשרידה גבוהה ולקצבי גידול משביעי רצון (ראה נספח). למרות שתמיסה המבוססת על הוספת נתרן כלורי נמצאה יעילה ביותר עבור תהליך האקלום, בניסוי שנערך במי הכנרת לא נמצאה השפעה לתוספת נתרן כלורי במזון על שרידה וקצבי גידול. בניגוד לכך, בתצפית שנערכה במשק מודל במי הדן, הראתה תוספת כזו יתרון משמעותי בשרידה ולפיכך יש לבדוק את הפוטנציאל הטמון בממשק זה ולהתמקד בהשפעתו על דגים המגודלים במים ענני יונים כדוגמת מי הדן.

במחקר נבחנה הייתכנות של המסת סלעים קרבונטיים כגון קלציט ודולומיט באמצעות ריאקטור כימי, על מנת לייצר תמיסות מעבר לאקלום בורים בנפחים גדולים ובאופן כלכלי וידידותי לסביבה. ממצאי הניסויים חיזקו את ההשערה כי הזרמת מי הדן דרך ריאקטורים להמסת דולומיט וקלציט תגרום להעלאת ריכוזי הסיידן והמגנזיום, באופן כזה שיאפשר להתגבר על חלק מהמגבלות הפיזיולוגיות של דגי הבורי בעת אקלומם למי הדן. כמו כן נבחנה לראשונה השפעת מי קידוח "שמיר" על שרידת דגי בורי בשלב האקלום, כתחליף לתמיסת מעבר שתופק ע"י מינון כימיקלים ישייר. התוצאות לא אפשרו לקבוע האם המים מקידוח שמיר עשויים להתאים לאימון דגי הבורי, אך התנהגות הדגים בשבועיים הראשונים לשהייתם במים אלו, ואחוזי ההישרדות הגבוהים בתקופה זאת, משאירים פתח לאופטימיות בקשר לכך. לעומת זאת, ניתן לקבוע חד משמעית שמי המסת דולומיט יכולים להוות סביבה מתאימה לדגי הבורי בשלב האקלום למי הדן. אחת המטרות שהוצבו במחקר זה הייתה הבנת מנגנונים אוסמורגולטוריים הקשורים לאקלום דגי קיפון למים ענני יונים. התברר כי דגים אשר שורדים את האקלום נושאים שינויים במבנים היסטולוגיים ברקמת הזימים. שינויים אלו מבטאים בעיה כרונית. התאקלמות מוצלחת מתבטאת בהתייצבות של רקמת הזימים ועצירת השינויים המורפולוגיים הללו. תוספת נתרן לתמיסת המעבר גרמה למיתון השינויים המבניים בזימים אשר המשיכו להופיע ולהתפתח בתמיסות בהן ריכוז הנתרן היה נמוך.

כמו כן הובהר כי המעבר למים ענני יונים מתבטא בירידה בפעילות משאבות NKA בזימים של דגי קיפון. זאת, יחד עם העובדה כי ריכוז הנתרן בדם של דגים אשר גודלו במי הדן היה נמוך באופן מובהק מבידום של דגים שגודלו במים מליחים ומי ים, מצביעים על האפשרות כי פגיעה בפעילות משאבות NKA בתנאי מחסור באלקטרוליטים בסביבה מפירה את מאזן האלקטרוליטים הנורמאלי בדם. במחקר הנוכחי נבדקו לראשונה מדדים מסוג זה בדג הקיפון ובדיקות אלה מהוות בסיס נתונים ראשוני לרמות אלקטרוליטים בדם של דג זה. הקיפון שומר על רמות כלור גבוהות מאד בדם. הערכים שנמדדו במחקר זה גבוהים בכ 40-0% מהערכים המוכרים מדגים כמו אמנון, דקר וסלמון. בניגוד לרוב מיני הדגים שבהם היחס השכיח בין נתרן לכלור נוטה לכיוון הנתרן (גדול מ 1), בקיפון אנו רואים יחס נמוך מ 1 ויכול לרדת עד ל 0.75 (טבלה 5). עדיין איננו יודעים מה המשמעות הפיזיולוגית המלאה של נתון זה, אך ברור לנו שיש לו השפעה ישירה על מפל הריכוזים האלקטרוכימי שבין הדם לסביבה החיצונית ובהתאם לכך על מעבר יונים מהדם לתאים ולסביבה החיצונית. רמות האשלגן בדם נמצאות ביחס הפוך לרמות הנתרן. אחת האפשרויות המסבירות

תופעה זו היא פגיעה בתפקודי אוסמורגולציה המתבטאת בירידה בפעילות משאבות נתרן-אשלגן וכתוצאה מכך הנתרן מצטבר בתאים והאשלגן נשאר בדם. נראה שנתרן, והשמירה על רמתו בדם, הוא גורם קריטי בדג הקיפון. הרמה האופטימלית היא כ-170 ובמים בהם יש ריכוז נתרן נמוך נצפו חריגות מרמה זו. דגים שחיו במים עם רמת מלחים נמוכה אך מורכבת ברובה מנתרן, היו בעלי ערכי אלקטרוליטים דומים לאלו של מים מליחים ומי ים. לעומת זאת, דגים שחיו באותה רמת מליחות, אך מורכבת ברובה מסיידן, הראו חריגה משמעותית באוסמולליות ורמות המלחים בדם. ההשפעה של תמיסה מבוססת סידן הייתה שונה מההשפעה של מים ענני מינרלים כמו מי דן, ועל כן יש מקום לבדוק את ההשפעות של יוני הסידן על מערכות אוסמורגולציה. יש להוסיף וללמוד את המדדים האוסמורגולטוריים של דג הקיפון ואת המשמעות הפיזיולוגית של מדדים אלו על מנת להבין את השפעתם על שיעורי שרידה וגדילה, דבר שעשוי להוביל לשיפור ממשק הגידול.

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
<p>המטרה המרכזית של המחקר הייתה פיתוח פרוטוקול לאקלום וגידול בורי במי הגליל העליון. המטרה הושגה ע"י:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. אפיון ההשפעה של הרכב המינרלים במים על תפקוד מערכות אוסמורגולציה בדג הבורי. 2. בחינת היכולת להשפיע על תפקוד פיזיולוגי של מערכות אוסמורגולציה על ידי ממשק איקלום, הזנה וגידול. לכל אחת משלושת שנות המחקר הוצבו מטרות ביניים: <p>שנה א' – מציאת מדדים היסטולוגיים ופיזיולוגיים הקשורים לתהליך ההסתגלות של הדגים לסביבת הגידול המאפיינת את הגליל העליון, בדיקת ממשקי אקלום ניסויים וקביעת ערכים קריטיים לפרוטוקול האקלום.</p> <p>שנה ב' – אפיון המנגנונים האוסמורגולטוריים המעורבים בתהליך האקלום בעקבות ניתוח מאפייני המדדים ההיסטולוגיים, התאיים והמולקולאריים, בדיקת השפעתן של דיאטות המכילות תוספות מינרלים על תהליך האקלום, וכתיבת פרוטוקול לאקלום בורי במי הגליל העליון.</p> <p>שנה ג' – יישום פרוטוקול האקלום במשק מודל בקנה מידה מסחרי, בדיקת השפעת פרוטוקול האקלום על קצבי גדילה, ובדיקת טכנולוגיות לשיפור פרוטוקול האקלום בהיבטי כלכליות ואיזון סביבתי.</p>
עיקרי התוצאות
<p>נקבע הרכב האלקטרוליטים בתמיסה היעיל ביותר לצמצום פחיתים בתהליך האקלום ממים מליחים למי הגליל העליון, וכן נקבע קצב המעבר האופטימאלי ממים מליחים למים אלו. נאסף בסיס נתונים ראשון מסוגו של ריכוזי אלקטרוליטים בדם ופעילות משאבות NKA בדגי קיפון. תוארו שינויים היסטולוגיים ופיזיולוגיים המאפיינים מעבר של דגי קיפון ממים מליחים למים ענני יונים. נקבעו המדדים המשמעותיים ביותר לשיפור הסתגלות הדגים לסביבת מים ענני יונים. על סמך כל זאת נכתב פרוטוקול ממשקי לאקלום דגי בורי למי הגליל העליון. הפרוטוקול יישם בהצלחה בתנאים סמי מסחריים.</p>

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח?
פרוטוקול אקלום יישומי של דגיגי קיפון ממים מליחים למי הגליל העליון נכתב, יושם במשק מודל ואף הניב את התוצאות המצופות. בכך הושגה מטרתו המרכזית של המחקר, בהיותו מחקר יישומי. המעבר למים ענני יונים כדוגמת מי הדין מתבטא בשינויים מבניים ברקמת הזימים וכן בירידה בפעילות משאבות NKA ובהפרת מאזן האלקטרוליטים בדם. הדרגתיות האקלום למים אלו הוא המפתח להקניית הסתגלות ואיזון מחודש של הרקמות. כמו כן תוספת אלקטרוליטים לסביבה או למזון מסתמנת כפתרון לבעיית ההסתגלות של הדגיגים. בסיס הנתונים אשר נאסף במחקר זה מהווה נקודת זינוק להבנה עמוקה יותר של המנגנונים האוסמורגולטוריים הפעילים אצל דג הבורי.
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?
ניתן לפתח את השימוש בריאקטור כימי להמסת סלעים קרבונטיים כפתרון טכנולוגי ליצירת תמיסת המעבר האופטימאלית בנפחים גדולים. יש לחזור על בחינת תוספת מלחים במזון לדגיגים אשר אוקלמו למי הדין. יש להרחיב את בסיס הנתונים הפיזיולוגיים (אלקטרוליטים בדם ופעילות משאבות NKA) עד כמה שניתן. כמו כן יש לבדוק ביטוי מולקולארי של השינוי בפעילות האוסמורגולטורית.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח:
פרסום פרוטוקול יישומי לאקלום דגיגי בורי ממים מליחים למי הגליל העליון.
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח בספריות ובאינטרנט
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? לא