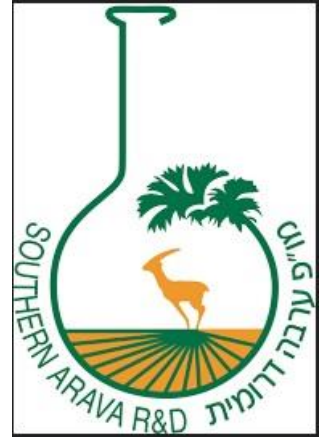




מו"פ ערבה דרומית – דו"ח שנתי 2024 – תוכנית נמשכת

מוקד מחקר: 81137

שנת המחקר: 2 מתוך 3 שנים

סקירת אצות מקומיות בערבה ואיתור אצות בעלות פוטנציאל לגידול מסחרי

Screening of local algae and identification of algae species for commercial production in the Southern Arava

מוגש לקרן קיימת לישראל

ע"י

ד"ר יאיר כהן – חקלאות מים, מו"פ ערבה דרומית

ד"ר ציפורה טייטל - מנהל המחקר – גילת

1. מו"פ ערבה דרומית - דוח שנתי

מוקד מחקר: 81137

שם התוכנית – סקירת אצות מקומיות בערבה ואיתור אצות בעלות פוטנציאל לגידול מסחרי

חוקר ראשי ושותפים:

ד"ר יאיר כהן – חקלאות מים, מו"פ ערבה דרומית

ד"ר ציפורה טייטל - מנהל המחקר – גילת

סטטוס התוכנית - נמשכת

-מועד התחלה וסיום התוכנית – 1.1.23 – 1.1.26

2. תקציר: מיקרואצות משמשות בתחומים רבים בחקלאות מים, תעשיית המזון ותעשיית הפארמה. איתור של מינים חדשים הוא בעל עניין רב לתעשייה שמתמקדת כיום במספר מינים מצומצם בלבד. מיקרואצות הגדלות בתנאי קיצון מפתחות באופן טבעי מנגנוני שרידה והתגוננות שמתאפיינים פעמים רבות בייצור של חומרים בעלי ערך מסחרי. מחקר זה מתמקד באיסוף וזיהוי מינים הגדלים במקורות מים בחבל אילות במטרה לאתר מינים בעלי פוטנציאל גידול מסחרי. בשנה הראשונה, בודדנו וזיהינו אצה ירוקה (*Tetraselmis Verrucosa*) שיש לה שימושים ידועים בהזנה בחקלאות מים. בנוסף בודדנו מין חדש מסדרה חדשה של ציאנובקטריה שאינו ידוע למדע. בשנה השנייה בודדנו 5 מינים פוטנציאליים נוספים מאזור יטבתה, ביצענו ייבוש ואנליזות של אצות שבודדנו בשנה הראשונה והתחלנו בעריכת ניסויי עקה ובניית מערך פוטוביוראקטורים להגדלת נפחי גידול האצות.

3. רקע ותיאור הבעיה

חקלאות מים היא ענף הגדל במהירות בשנים האחרונות (עלייה ממוצעת של כ-8% בשנה). אצות המיוצרות בחקלאות מים משמשות במזרח הרחוק בעיקר למאכל. אבל לאצות ישנן שימושים רבים אחרים, כתוספי מזון וכמקור לחומרים ותוספים בתעשיות המזון, הקוסמטיקה והפארמה. בשנים האחרונות אצות משמשות גם בתעשיות האנרגיה החלופית, הביוטכנולוגיה והביו-רפואה. באופן כללי, ישנה השקעה רבה בתחום זה בעולם המערבי וחקלאות אצות כבר אינה רק נחלתן של ארצות המזרח הרחוק כפי שהיה במשך שנים רבות. אצות יהוו מקור למזון שחשיבותו תעלה עם הזמן בגלל העלייה בדרישה למזון מחד וההגבלה ביכולת הייצור של מקורות המזון הקיימים מאידך. לכן, תחום חקלאות

האצות הוא בעל פוטנציאל כלכלי עצום וביכולתו להשפיע משמעותית על אופי החקלאות בערבה הדרומית. טענה זו מתחזקת לאור החלטת הממשלה שפורסמה לאחרונה המזהה באופן ברור את חשיבותה של חקלאות המים כמנוע צמיחה כלכלי בישראל ובחבל אילות/אילת בפרט. בערבה הדרומית פועלות שתיים מהחברות הוותיקות והמצליחות ביותר בתחום גידול האצות בישראל המייצרות אצות שמכילות קרוטנואידים בעל ערך כלכלי רב (אסטקסנטין ובטא קרוטן). היקף הייצור של אצות אלה בישראל מוערך ב 80 טון ובפדיון של כ 120 מיליון ₪ המהווה כ 65% מסך הפדיון הארצי מייצור אצות. חברות אלגטק ו נ.ב.י.טי. מהערבה הדרומית הם היצרניות העיקריות של אצות אלה. תנאי הגידול בערבה מהווים יתרון משמעותי בגידול מבחינת כמות ימי השמש, הבידוד ממקורות מזהמים והשטחים הגדולים המאפשרים גידול נרחב.

לאור הפוטנציאל הטמון בענף וההחלטות האסטרטגיות שהתקבלו מו"פ ערבה דרומית החל לפני מספר חודשים לעסוק בתחום חקלאות המים. אחד מהשלבים החשובים הראשונים בטווייט אפיקי המחקר היישומי בתחום לשיטתנו, הוא אפיון התנאים והאורגניזמים המקומיים. זאת מתוך התפיסה כי אורגניזמים שגדלים באופן טבעי באזור הסתגלו לתנאי הקיצון ולכן סיכויי ההצלחה בגידול של אורגניזמים אלה במערכות מסחריות גדולים יחסית. בנוסף, אצות הגדלות באופן טבעי בתנאי קיצון נוטות לפתח מנגנוני וחומרי הגנה מפני תנאים אלה כגון, חום, יובש ומליחות (Varshney et al. 2015). חומרים אלה מהווים עניין לייצור מסחרי (לדוגמה: ייצור מוגבר של בטא-קרוטן באצת הדונליאלה). לסקירה שאנו מציעים יש חשיבות כפולה: (1) תרומה מדעית במיפוי ובזיהוי מינים מקומיים ובבניית מאגר ("בנק") אצות מקומי, ושימוש במאגר זה למחקרי המשך וליישומים מסחריים אפשריים. נכון להיום, מידע זה ומאגר של אצות מקומיות לא קיימים בחבל אילות. (2) תרומה חקלאית/מסחרית; בכוונתנו לאתר, במסגרת המחקר המוצע, מספר מצומצם של מיני אצות (עד 3) בעלות ערך מסחרי פוטנציאלי לגידול בנפחים המאפשרים ניסויי אופטימיזציה לייצור ביומסה וחומרים בעלי עניין מסחרי, אותם ניתן יהיה לגדל ולהפיק בערבה הדרומית, לטובת חקלאי האזור. תוצאות מחקר זה יוכלו להיות מיושמות כגידול חקלאי בתוך זמן קצר יחסית (עד שנתיים מסיום הפרויקט) ולעודד עיסוק בפיתוח וגידול אצות נוספות כאלטרנטיבה לגידולים הקיימים.

4. מטרות המחקר כפי שהופיעו בתוכנית המקורית

למחקר זה שתי מטרות כלליות:

1. יצירת אוסף מיקרו-אצות של מינים הגדלים באופן טבעי במקורות מים בערבה הדרומית
2. איתור של עד 3 מינים של אצות מהערבה הדרומית למטרת גידול מסחרי ביישובי חבל אילות.

מטרות ספציפיות:

איסוף מיקרו אצות ממקורות מים קבועים ועונתיים בערבה הדרומית.

בידוד האצות לתרביות של מין אחד.

זיהוי האצות המבודדות.

בחירה של עד 3 מינים פוטנציאליים לגידול מסחרי.

עריכה של סדרת בדיקות לבחינת הפוטנציאל המסחרי של האצות הנבחרות.

עריכת ניסויים לאופטימיזציה של גידול האצות הנבחרות לביומסה.

עריכת ניסויים בתנאי עקה להגברת ייצור חומרים בעלי ערך מסחרי מהאצות הנבחרות

5. מהלך המחקר ושיטות העבודה תכנון לעומת ביצוע לפי פירוט המשימות

כללי: העבודה הסטרילית במעבדה מתבצעת במנדף למינארי. כלי המעבדה עוברים עיקור באוטוקלאב ובאתנול לפני כניסה למנדף. פנים המנדף מחוטא ע"י מנורת UV לפני תחילת העבודה. המדיות עברו עיקור באוטוקלאב לאחר הכנתן. דגימות האצות מוחזקות במדפי תאורה עם עוצמת אור 10,000-20,000 LUX.

איסוף דגימות ממקורות המים: נאספו דגימות ממת"ש יטבתה ב 14.8.24. חלק מדגימות נשמר במצב המקורי והועבר לגידול ראשוני בארלנמייר סטרילי על שייקר בתאורה נמוכה, החלק הנותר (~30 מ"ל) חולק בין 3 ארלנמיירים נוספים שהכילו 3 מדיות שונות (F/2, ACB, BG11, SIGMA).

הפרדת דגימות וזיהוי האצות: עם הגעתן למעבדה, הדגימות עברו סינון במשאבת וואקום ונייר פילטר (N.1) להפרדת לכלוך וזואופלנקטון. לאחר שבוע של גידול, חלק מהדגימות נשמרו בארלנמיירים לגיבוי וחלק הועברו לדילול סדרתי בצלחת באריות עד ליחס של 10^{-6} :1. לאחר הדילול, הדגימות נבדקו במיקרוסקופ ונזרעו בצלחות פטרי (2% אגר + המדיה התואמת) (צילום 1). חמש דגימות של אצות שבודדו במדיות השונות, נשלחו לד"ר רות קפלן ממרכז האצות הלאומי, המעבדה לחקר הכנרת, המכון לחקר ימים ואגמים. הדגימות נשלחו בצלחת פטרי לזיהוי מורפולוגי וגנטי.

להלן תקציר שיטות העבודה כפי שדווחו ע"י ד"ר קפלן:

זיהוי מורפולוגי

גידול במצע נוזלי למשך שבוע ואז צפייה במיקרוסקופ, תמונות המיקרוסקופ צולמו בעזרת מצלמת Leica (עם תוכנת Leica Application Suite). האצות זוהו לרמת המין או הסוג. מדידות של גודל התאים התבצעו במיקרוסקופ הפוך. בדיקת פיגמנטים ראשונית בתאים התבצע במיקרוסקופ פלואורסנטי.

הפקת DNA גנומי (gDNA) וברקוד גנטי

חומר חי נאסף מצלחות הפטרי באופן סטרילי אל תוך מבחנת 1.5 מ"ל להפקת gDNA בעזרת DNeasy (Thermo Scientific). תאים של המין הרצוי נאספו למבחנת PCR בשיטת המיקרומניפולציה. ההגברה של מקטעי ה-DNA הרצויים התבצעה בריאקציית PCR תוך שימוש בפריימרים. תוצר ה-PCR נבדק באלקטרופורזה כאשר 10% מהריאקציה הועמסה על ג'ל של 1% אגרוז. לאחר ההגברה מקטע ה-DNA שובט לתוך פלסמיד במערכת ה-Vector Easy T-@pGEM (1360A Promega), והוחדרו לתוך חיידקי JM coli. E 109 בשיטת שוק חום. מושבות חיוביות לשיבוט נבדקו בעזרת PCR תוך שימוש בפריימרים אוניברסלי, שיבוט חיובי גודל ליליה במצע גידול LB עם אנטיביוטיקה. DNA פלסמידי הופק ונשלח לריצוף למעבדות חי בשיטת Sanger.

תחזוק הדגימות והמשך דיגום: הדגימות שהוחזקו במעבדת המו"פ נזרעו מחדש בצלחות פטרי אחת לחודש. בנוסף הדגימות גם הוחזקו בארלנמייירים על שייקר ובקבוקים סטריליים עם בעבוע אויר. אחת לשבוע הוספנו נוזלים לדגימות אלה (כל דגימה עם המדיום שלה) כדי לשמר את הנפח שירד כתוצאה מאידוי.

סיכום תוצאות שנה ראשונה ובחירת מינים להמשך: מהבדיקות שנעשו במהלך השנה הראשונה נבחרה אצה אחת שזוהתה כ- *Tetraselmis Verrucosa f. rubens* וציאנובקטריה ממין חדש שאינו מוכר למדע. שני אורגניזמים אלו מתוחזקים במעבדת האצות של המו"פ וגודלו בנפחים גדולים יותר. כמו כן נגדיל ב-2025 עוד את נפחי הגידול, נבחן את הפרופיל הביוכימי של מינים אלה ונבצע בהם ניסויי עקה בתנאי מליחות ועוצמת אור שונים (ראה בהמשך).

ייבוש אצות למטרת אנליזות ביוכימיות

שני המינים הנבחרים שנאספו מאגם תמנע גודלו בנפחים גדולים יותר עד ל-4 ליטר בבקבוקים עם אוורור במטרה להפיק כ-1 גרם אצה יבשה לאנליזות ביוכימיות במעבדתה של ד"ר ציפורה טייטל בגילת. הייבוש נבדק בשתי שיטות: ייבוש בהקפאה (freeze dry), לאחר ריכוז ראשוני בצנטריפוגה, רכז האצות נמזג לארבע צלחות שקילה מאלומיניום. נעשה שימוש במכשיר ייבוש בהקפאה Virtis Sentry 2.0. הדוגמאות הוקפאו לטמפ' של -80C בוואקום של כ-10-20 mTor. תהליך הייבוש ארך כ-50 שעות.

בנוסף, נעשה שימוש בתא הייבוש של אינקובטור Memmert. הדוגמאות הונחו במבחנות בהן נעשתה הצנטריפוגה במעמד מבחנות בתא הייבוש ארך 24 שעות בטמפ' 30C.

דגימות של 1 גרם אצה יבשה נשלחו למעבדה בגילת לאנליזה ביוכימית.

ניסויים לטווחי מליחות – ציאנובקטריה

במהלך תחזוק הציאנובקטריה שמצאנו באגם תמנע, היה נראה שלמין זה יש סבילות גדולה לשינויים במליחות, לכן אנו מבצעים בימים אלה ניסוי שמטרתו בדיקת העמידות של הציאנובקטריה בטווח מליחיות שונות (משימה זו לא הייתה בתכנון ונוספה השנה). הניסוי הראשון החל בתאריך 5.2.25, 50 מ"ל של ציאנובקטריה בריכוז של ~500 אלף תאים למ"ל פוזרו ב 12 בקבוקי ארלנמיייר. הטיפולים השונים כללו מליחיות של 2.5 (ביקורת) שהיא המליחות המקורית שהציאנובקטריה גדלה בה לאחר איסוף מאגם תמנע, 20, 50 ו 100 (EC), כל טיפול ב 3 חזרות על שיקר. ריכוז התאים ייספר כל יומיים (המוציטומטר במיקרוסקופ אור ומצלמה על מסך מחשב). הניסוי יימשך כשבועיים.

הגדלת נפח הגידול ל100 ליטרים בהדרגה- הקמת מערך פוטוביוראקטורים

בזמן כתיבת דוח זה, המופ החל בבניית 3 פוטוביוראקטורים למטרת הרחבת נפח ייצור האצות ל 600 ליטר לערך (מקסימום). מערכות אלה ישמשו לייצור של האצות שזוהו כבעלות עניין מדעי ו/או מסחרי כדי לאפשר עריכת ניסויים בהיקף מוגבר, ייבוש של אצות וכתובת פרוטוקולים לגידול בנפחים גדולים ביחס לגידול מעבדתי.

בדיקת מאפייני האצה

נבחנו שתי שיטות ייבוש- חימום באינקובטור וייבוש בהקפאה (ליופיליזר). הסריקה התזונתית כללה תכולת קרוטנואידים (נוגדי חמצון מסיסי שומן), כלורופיל, פעילות נוגדת חמצון בשיטת DPPH (הידרופילית (HAA) וליפופילית (LAA)), פעילות נוגדת חמצון בשיטת ABTS (הידרופילית), תכולת חלבון, תכולת פוליפנולים (נוגדי חמצון הידרופיליים) ופלורוטנינים (נוגדי חמצון הידרופיליים ייחודיים לאצות).

ניסויי אופטימיזציה לביומסה ותנאי עקה

הניסוי הראשון החל בתאריך 23.2.25. מטרת ניסוי זה היא לבחון את עמידות האצה *Tetraselmis* מאגם תמנע למליחיות שונות בטווחים של 1 – 60 (PPT) ולבחון את השפעת מליחיות אלה על ייצור הקרוטנואידים באצה. ניסוי זה כולל 4 טיפולים (3+ביקורת) במליחיות של 1, 30, 45 ו 60 (PPT). הטיפול של 30 PPT הוא הביקורת כיוון שזוהי המליחות של המדיה שבה גודלה האצה לאחר שהדגמה

באגם תמנע. כל טיפול נעשה ב 3 חזרות. המליחות של הטיפולים השונים שונתה בהדרגה ע"י הוספת מלח בשיעור של 0.5 גרם ליום או דילול הדרגתי (ע"י הוספת מים מזוקקים) עד PPT1. החזרות בוצעו בארלנמיירים עם מדיה במליחות המתאימה בנפח של 50מ"ל (לכל חזרה) על שייקר. בכל יומיים נספור את מספר התאים למ"ל ונשווה את קצבי הגידול, הניסוי יימשך כשבועיים. לאחר מכן, נגדיל את נפחי הגידול ל 4 ליטר לכל לטיפול כדי לייצר מינימום של 1 גרם יבש מכל טיפול הדרוש לאנליזה ביוכימית. האנליזה תבוצע במעבדתה של ד"ר ציפורה טייטל.

6. תוצאות ביניים לפי המשימות שהוגדרו בתוכנית המקורית לאותה שנת דיווח או לכל השנים בדוח המסכם, כולל איורים ותיאורים גרפיים במידת הצורך:

זיהוי מורפולוגי והפקת DNA גנומי (qDNA) וברקוד גנטי

דגימות של אצות שבודדו מאתר המת"ש של קיבוץ יטבתה נשלחו לזיהוי במעבדה של ד"ר רות קפלן בנובמבר 24, אנחנו עדיין מחכים לתוצאות.

ייבוש אצות למטרת אנליזות ביוכימיות

גרם של ציאנובקטריה מאגם תמנע נשלחה לזיהוי למעבדה בגילת. בזמן כתיבת הדוח ביצענו ייבוש של אצת *Tetraselmis* מתמנע שממתינה לביצוע אנליזות במעבדה. להלן תוצאות האנליזות על הציאנובקטריה:

התוצאות מוצגות בטבלה 1. ההבדלים לא נמצאו מובהקים בשל מיעוט חזרות, אולם נראה שהשיטות לא נבדלות משמעותית. כן נצפו הבדלים ברמת החלבון, כנראה בשל הרגישות הנמוכה של השיטה.

על פי התוצאות לא ניתן לקבוע כי קיימים הבדלים עקביים בבין השיטות המשקפות יתרון לשיטה אחת על פני האחרת. עם זאת, מרקם הדוגמאות היה שונה לחלוטין- המיצוי של הדוגמאות שיובשו באינקובטור היה נוקשה ודביק, והדוגמאות שיובשו בהקפאה היו אבקתיות. כיוון שלא נמצאו הבדלים בין השיטות, אולם העבודה עם החומר שיובש בהקפאה היתה נוחה יותר, נעדיף להשתמש בעתיד בשיטה 12.

	Incubation	Freeze-dry	
Carotenoids (mg β -carotene/g)	5.71 $\pm$ 0.01	2.7 $\pm$ 0.4	
Chlorophyll [mg/100 g]	1.131988	2.123469	טבלה 1. סריקת פרופיל תזונתי של דוגמאות שיובשו בשתי שיטות- חימום באינקובטור וייבוש בהקפאה
DPPH HAA (mg TE/g)	3.82 $\pm$ 0.006	1.81 $\pm$ 0.01	
DPPH LAA (mg TE/g)	1.54 $\pm$ 0.004	2.18 $\pm$ 0.41	
ABTS HAA (mg TE/g)	5.35 $\pm$ 0.004	2.97 $\pm$ 0.57	
Protein (mg/g)	33.17 $\pm$ 0.129	22.59 $\pm$ 0.27	
Polyphenol (mg GAE/g)	1.32 $\pm$ 0.007	1.08 $\pm$ 0.04	
Phlorotannin(phloroglucinol mg/g)	3.53 $\pm$ 0.015	3.07 $\pm$ 0.16	

תוצאות אלה יהוו בסיס להשוואה בין טיפולי העקה בניסויים המתוכננים.

ניסויים לטווחי מליחות – ציאנובקטריה

הניסוי יסתיים במרץ 25, תוצאות יוגשו בדוח הסופי

ניסויי אופטימיזציה לביומסה ותנאי עקה

הניסוי הראשון החל בחודש פברואר 25, תוצאות ניסוי זה ושאר הניסויים המתוכננים (4-6 ניסויים בסה"כ) יוגשו בדוח המסכם.

8. סיכום עם שאלות מנחות

א. פירוט עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדוח

אספנו ובודדנו 5 דגימות של אצות שנשלחו לזיהוי, ייבשנו וביצענו אנליזות לציאנובקטריה, ייבשנו Tetraselmis ושלחנו לאנליזות ואנו מבצעים 2 ניסויי מליחות בשני מינים אלה.

ב. פירוט כיצד הושגו מטרות המחקר בתקופת הדוח או חלק מהן

בנוסף לנכתב לעיל, אנו בונים את מערך הפוטוביוראקטורים להגדלת נפחים

ג. בהתאם להצעה המקיפה, ציין מה התבצע מתוך טבלת המשימות ואבני דרך

כנ"ל

אבני דרך:

כתיבת פרוטוקולי גידול בתנאים אופטימליים לאצות הנבחרות (24 חודשים)

ביססנו את גידול שני המינים שמצאנו בשנה הראשונה בשלוש שיטות שונות (צלחות פטרי, בקבוקי ארלנמייר ובקבוקים מאווררים) ועד נפח של 4 ליטרים.

ד. מהן המסקנות המדעיות ומהן ההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו

מהשנה השנייה, אנו ממתינים לתוצאות האנליזות המלאות ולתוצאות הזיהוי כדי שנוכל להסיק מסקנות נוספות. הגענו לגידול יציב של שנה לשני המינים שבודדנו מאגם תמנע בשיטות שונות ועד נפחים של 4 ליטר.

ה. מהן הבעיות שנותרו לפתרון ואו שינויים טכנולוגיים שיווקיים ואחרים שחלו במהלך העבודה ומה

אמורה להיות התייחסותך להמשך

לא עלו בעיות מיוחדות בבידוד או גידול האצות בתנאי מעבדה

ו. פעילויות שנעשו במו"פ במהלך תקופה (סיורים, ביקורים, הרצאות, כינוסים, פיתוחים חדשים וכו')

בוצעו מספר סיורים והסברים על המעבדה והמחקר לאנשי משרד החקלאות כולל שר החקלאות שביקר במעבדה, קק"ל, חברי הנהלת המו"פ, חוקרים וסטודנטים ממכון ערבה.

ז. פרסומים בעיתונות מבוקרת או בעיתונות בעברית שנבעו מהמחקר

לא היו פרסומים רלוונטים, אנו עובדים בשיתוף עם ד"ר קפלן על פרסום מאמר על גילוי המין החדש של ציאנובקטריה מאגם תמנע.

ח. ציון השפעת המחקר על כלכלת החקלאות באזור, או תרומה מעשית למארג האגרו-אקולוגי באזור

איתור של מיני אצות מקומיות שגדלות באופן טבעי בתנאי הקיצון של חבל אילות הוא בעל פוטנציאל מסחרי משמעותי במיוחד באזור זה שפועלות בו 2 מחברות ייצור האצות המצליחות ביותר בישראל. הייחודיות של מיני אצות אלה בצירוף עם הפעילות והידע הקיימים יכולים לשמש כפלטפורמה לגידולים נוספים של אצות ביישובי האזור.

ט. עם אילו מו"פים נוספים מתוכנן שת"פ במחקר הנוכחי או בעתיד כהמשך למחקר הנידון

שיתוף הפעולה נעשה עם ד"ר ציפורה טייטל מוולקני שביצעה אנליזות ותמשיך בעבודתה גם בשנה השלישית

י.א המלצות להמשך המחקר או שינוי במחקר

השנה נתרכז בהגדלת נפחים עד 100 ליטר לאצה ועריכת ניסויי עקה באצות שבודדנו

י. פטנטים שנבעו מהמחקר

כרגע אין פטנטים.

