

5.1.2012

אל: אברי קדמון, קק"ל avryk@kkl.org.il
דוד פרגמנט, מנהל רשות הירקון
דן הרמן
חגית לוי hagitl@kkl.org.il
דוד ברנט

מאת: אלישע תל-אור, הפקולטה לחקלאות

הנדון: דו"ח 2011 ותוכנית מקדמית 2012, אגן ירוק, הוד השרון

נכבדי,
אני שולח אליכם במצורף את דו"ח 2011, ואת התוכנית המקדמית ל-2012.
אני מקווה שניתן יהיה להמשיך ולפתח את תכנית המחקר בשנה הקרובה.
שני תלמידים מעוניינים להצטרף לתכנית המחקר ואני מקווה שתמצא עניין בדו"ח ובגישה
להמשך המחקר.

בברכה,

אלישע תל-אור.

פרויקט האגן הירוק בהוד השרון תשע"ב 2012

מטרות מחקר אפשריות לקבוצת המחקר של פרופסור אלישע תל-אור בפקולטה לחקלאות: האפיון הכמותי והאיכותי של אוכלוסיית החיידקים באגן הירוק בהוד השרון היה תחום העניין המרכזי בעבודת המחקר שלקחנו על עצמנו בשנת 2011, תשע"א.

במפרט העבודה המתואר בדו"ח פיתחנו גישה מחקרית לדיגום, בידוד, ספירה ואפיון של חיידקי סביבת השורש, וחיידקי הביופילם של שכבת החצץ.

אפשרות אחת היא להמשיך את מגמת המחקר הנוכחית בשנת המחקר הבאה, כדי לבחון איכותית מיהם החיידקים העיקריים והדומיננטיים במרקם החצץ ובסביבת השורש של צמחים דומיננטיים כמו גומא הירקון, סמר ושנית. במעקב זה נבחן את מספר החיידקים בכל מרקם, השפעת השורש בצמחים על התרבותם והתפלגות השנתית של החיידקים בהתאם לטמפרטורה, ולזמינות הנוטריינטים הקיימים בקולחים שניוניים במט"ש כפר-סבא והוד השרון.

אפשרות שנייה, שהיא המעניינת יותר מבחינתנו, וגם חשובה לגבי טיב הטיפול במים, היא מעקב אחרי תכולה של תרופות והורמונים הומאניים במי האגן הירוק. בהנחה שמי האגן הירוק מוזרמים לירקון, בהיקף של עשרות אלפי מטרים מעוקבים ליממה, ובהנחה שאוכלוסיית ספקי השפכים העירוניים של כפר-סבא והוד השרון צורכת תרופות שמרביתן משתחררת לשפכים ביתיים, והאוכלוסייה משחררת הורמונים נשיים- פרוגסטרון וגבריים- טסטוסטרון, יהיה חשוב מאוד לקיים מעקב אחרי חומרים תרופתיים דומיננטיים וההורמונים הנוכחים במי המט"ש הנכנסים לאגן הירוק, ובמי האגן הירוק המוזרמים לירקון. **המחקר המוצע** יקבע את **החומרים התרופתיים** בשתי שיטות:

1- אפיון ע"י שיטות הפרדה של HPLC ו-GC של החומרים התרופתיים ואנליזה כמותית ואיכותית שלהם.

2- שיטה באמצעות אנליזה אלקטרוכימית של חומרים תרופתיים שניתן לפתח כלפיהם נוגדנים, ואז לסמן את הנוגדן באנזים המאפשר אנליזה כמותית של החומרים התרופתיים העיקריים, בעיקר אלה שהם לא פריקים בתהליך טהור שפכים. המחקר המוצע יכול להשתמש באותה שיטה לאפיון כמותי ואיכותי של ההורמונים הנשיים והגבריים במי המט"ש ומידת פירוקם באגם הירוק, לפני הזרמתם באפיק הירקון. זוהי גישה חדשנית וחשובה, בעיקר לגבי שפכים המוזרמים לגוף מים כמו הירקון שעובר תהליך של השבחה, ויש צורך לקבוע את האפשרות להשתמש בירקון למטרות נופש ופנאי.

מבצעי המחקר:

המחקר יתבצע במעבדת פרופסור אלישע תל-אור בשיתוף עם פרופסור בני חפץ, מהמחלקה לקרקע ומים, בפקולטה לחקלאות ברחובות, ובשיתוף פרופסור יהודית רשפון, מהמחלקה לביוטכנולוגיה, במכון למדעי החיים של אוניברסיטת תל-אביב.

הערכת עלויות

1) המשך מחקר המיקרוביאלי: דיגום אחת לשבועיים, ספירת חיידקים, בידודם ואפיונם. המחקר דורש השתתפות תלמידת למוסמך בהיקף של 50% בעלות של 20,000 ₪ לשנה. עלויות האנליזה: 15,000 ₪ לשנה תקורה: 7,000 ₪

סה"כ: 42,000 ₪

2) מחקר תכולת תרכובות תרופתיות והורמונים הומאניים במט"ש הוד השרון: דיגום אחת לחודש של מי המט"ש בכניסה וביציאה, ע"י תלמידת מוסמך או עוזר מחקר, וביצוע אנליזת תרכובות תרופתיות בשיטות כרומטוגרפיה.

עלויות מחקר: 35,000 ₪

עלויות האנליזה: 20,000 ₪

תקורה: 11,000 ₪

סה"כ: 66,000 ₪

אנליזת ההורמונים תדרוש שיתוף פעולה עם מעבדתה של פרופסור יהודית רשפון באוניברסיטת תל-אביב בהיקף מוערך של 36,000 ₪, כולל תקורה.

לסיכום:

1) ניתן להחליט על המשך המחקר המיקרוביאלי בלבד בעלות של 42,000 ₪ לשנה.

2) ניתן להחליט על מחקר תכולת תרופות והורמונים בהיקף של 102,000 ₪ לשנה.

דוח מסכם לשנת 2011

מוגש ע"י פרופ. אלישע תל-אור

המכון למדעי הצמח בפקולטה לחקלאות, האוניברסיטה העברית

בנושא: האגן הירוק בהוד השרון – התבססות האוכלוסייה המיקרוביאלית באגן 1 בחצץ ובשרשי הצמחים

תקציר: מאז הפעלתו של האגן הירוק בהוד השרון המורכב משלושה אגנים נפרדים, מיקדנו את המחקר באגן מס' 1, הגדול משלושתם. לאחר התבססות הצמחיה התמקדנו במחקרנו בדגימות שורשי שלושה צמחים: שנית, גומא הירקון וסמר. במקביל דגמנו באיזורי חצץ לא שתול וכן את המים הנכנסים לאגן. במודל הדגימות המתואר בדוח עקבנו מאז ינואר על פרופיל מס' החיידקים לגרם שורש או גרם חצץ, מס' החיידקים למ"ל של מים נכנסים, ועקבנו אחר התבססות האוכלוסייה המיקרוביאלית. המטרה העיקרית בעבודה בשנה הראשונה הייתה לבחון האם לשורשי הצמחים תפקיד מרכזי בהתבססות מס' החיידקים ובמיני החיידקים המופיעים.

במהלך השנה הראשונה חלו שינויים דינמיים במופע הצמחים באגן כך שחלק מהצמחים התבססו והשתלטו, כמו גומא הירקון, סמר, תלתן ואחרים, וחלק מהצמחים התפתחו מהר אך לקראת הסתיו חלה נסיגה בגידול ובשגשוג כמו במקרה של צמח השנית. מכאן הבחירה במעקב אחרי המינים שניטרנו.

לדעתנו, אוכלוסיית הצמחים מגיבה לשינויים עונתיים של טמפ', עוצמות אור ויתכן גם שינויים כימיים המתהווים בתוך מצע החצץ (שינויים מינרליים). האוכלוסייה המיקרוביאלית יכולה לסייע או לעכב התפתחות צמחים מסויימים באגן.

חשוב לציין כי המחקר שהתבצע קבע דרכי פעולה והביא לאפשרות לבסס תוכנית מחקר העוקבת אחר תפעולו של הגן בשיפור איכות המים המושבים הזורמים בו. מחקר כזה חייב להתבסס ולהעמיק, בכדי להשתמש באגן הירוק של הוד השרון כמודל למערכת טיפול משלים למט"שים בישראל ולהשלמת ליטושם של קולחים להשבה למקווי מים כגון הירקון.

מרץ 2011

מגישה: עדי חביב

פרויקט אגן ירוק- הוד השרון

פרק ראשון: החיידקים באגן הירוק

דיגום החיידקים וספירתם: מלקיחת הדגימה בשטח עד לבדיקת הדגימה במעבדה

בשטח

אתר הדיגום: האגן הירוק בהוד השרון.
מגיעים לאתר הדיגום עם ציוד מתאים: מבחנות פלקון 50 מ"ל, כפפות, מקדח ידני (ספירלה), משאבה ידנית או צינור פלסטיק, טוש לרישום.
הדגימות נלקחות מ: שורשי הצמח- גומא הירקון וסמר, חצץ- ללא שורשים ומי ביקורת- צפון ודרום.
על מנת לקחת דגימות מהשורשים של צמחי הירקון: יש לחפור בעזרת המקדח סביב השורש, להוציא שורשים ולמלא מבחנה.
על מנת לקחת דגימות מהחצץ, ללא שורשים, יש לקחת חצץ מחלקה ללא צמחים ולמלא מבחנה.
על מנת לקחת דגימות ממי ביקורת, יש להיעזר במשאבה הידנית או בצינור פלסטיק בכדי לשאוב מים ממי הביקורת הנמצאים בצינורות התקועים עמוק במצע החצץ.
לאחר לקיחת הדגימות אנו מכניסים את המבחנות לקירור, במידה והשימוש בהם לא נעשה באותו יום.
יש לרשום במחברת את שעת הדיגום, את מצב הבריכה ומומלץ לצלם תמונות (של האגן, של השורשים וכו').
*באתר נמצאים צינורות שהוכנסו למצע החצץ בעומק של כ- 40 ס"מ (ע"י פרופ' אלישע תל אור). משם אנו רוצים לקחת דגימות מים. כרגע לא נלקחו משם דגימות בגלל שלא הצלחנו להוציא מים. יתכן שדרך הוצאת המים או הצינורות עצמם יעברו שינוי.

במעבדה

הכנת המצע

יש להכין מצע לזריעה של הדגימות.
המרכיבים שממם מכינים את המצע: טריפטון- 3g, שמרים- 1.5g, NaCl- 1.5g, אגר- 4.5g, הוספת 300 מ"ל מים מזוקקים בעזרת משורה. כמות כזו מספיקה לכ- 10 צלחות פטרי, לכן מומלץ להכין כמות כפולה או משולשת.
את החומרים שנשקלו והוכנסו לבקבוק ארלנמייר (לסגור עם פקק ביולוגי ונייר אלומיניום), מכניסים לאוטוקלב (התוכנית נמשכת כשעה, לפני שימוש חשוב לשאול על הוראות הפעלה).
כשהמצע מוכן בצורתו הנוזלית, שופכים את המצע לצלחות פטרי במנדף הביולוגי (לאחר שניקינו את משטח העבודה במנדף באלכוהול וכמו כן גם את הידיים). שפיכת המצע לצלחות צריך להתבצע ליד הלבזור ויש לחטא באש את פיית הבקבוק לפני השפיכה לצלחות. יש לחכות עד שהמצע מתקרר ומתקשה ולא נותרו אדים. רק אז ניתן לסגור את הצלחת במכסה, לערום את הצלחות על צידן ההפוך ולהכניס אותן לקירור במידה ולא משתמשים בהן באותו יום.

ביום הזריעה: לוקחים את המבחנות מחדר קור ומוציאים אותם לזמן מה החוצה להשוואת טמפרטורות עם טמפרטורת החדר. כמו כן, גם את הצלחות עם המצע נוציא מחדר קור להשוואה לטמפרטורת החדר.

ציוד מעבדה לביצוע הזריעה: פיפטורים, מקל דריגלסקי, להביור, אלכוהול 70%, כפפות, חלוק מעבדה, טוש לרישום, צלחת פטרי ריקה.

זריעה

כפי שצוין קודם, לפני כל עבודה במנדף הביולוגי יש לחטא את משטח העבודה באלכוהול וכמו כן את הידיים.

שופכים אלכוהול לצלחת פטרי ריקה (לחיטוי מקל דריגלסקי), מדליקים את הלהביור. יש להשתמש בפיפטורים מתאימים (מיקרוליטר ומיליליטר לפי הנפחים הדרושים).

ניתן לחטא את פיית המבחנה בעזרת הלהביור לפני לקיחת נפח מים.

ראשית, יש למהול את הדגימות- על כל 1 גרם שורש/חצץ מוסיפים 3 מ"ל מים מזוקקים+סבון (להוצאת החיידקים מהשורשים ומהחצץ), לאחר מכן מוציאים נפח של 20 מיקרוליטר ומשלימים ל- 2 מ"ל של מים מזוקקים+סבון. לבסוף לוקחים נפח של 10 מיקרוליטר, שאותו זורעים בצלחת על המצע.

אנו מוהלים את דגימות השורשים והחצץ במיהול של 1:100 לפי המוסבר לעיל ואת מי הביקורת ניתן למהול במיהול של 1:10.

לאחר הזריעה, לוקחים מקל דריגלסקי ומורחים את הדגימה על כל הצלחת וזאת כמובן לאחר חיטוי המקל באלכוהול (ששפכנו בצלחת הפטרי הריקה) ובאש. סוגרים את המכסה, מניחים בצד את הצלחת על צידה ההפוך. חשוב לעשות דופליקטים לכל דגימה. יש לרשום בתחתית הצלחת את התאריך ושם הדגימה. לסיום, לוקחים פאראפילם ואוטמים את הצלחת סביב.

לאחר זריעת כל הצלחות יש להעביר אותן לחדר טמפרטורה כשהן פרוסות אחת ליד השנייה (ולא אחת מעל השנייה) ועל צידן ההפוך. מחזירים את המבחנות לחדר קור. לאחר מספר ימים (כ- 3 ימים) ניתן לספור מושבות ולרשום תוצאות באופן מסודר. ניתן להיעזר בשולחן האור שבמעבדה.

זריעת בידוד

לאחר קבלת מושבות מהזריעה הקודמת, לוקחים צלחת בהתאם לבחירתנו ונוגעים קלות (גירוד עדין ביותר) במושבה אחת בעזרת מקל זריעה ומורחים בצלחת חדשה עם מצע (מריחה של זריעת בידוד). עושים זאת למספר מושבות שונות. לאחר מספר ימים בודקים האם הצלחנו לבודד לחלוטין סוג אוכלוסייה אחת ואת התוצאות הללו ניתן לשלוח לזיהוי.

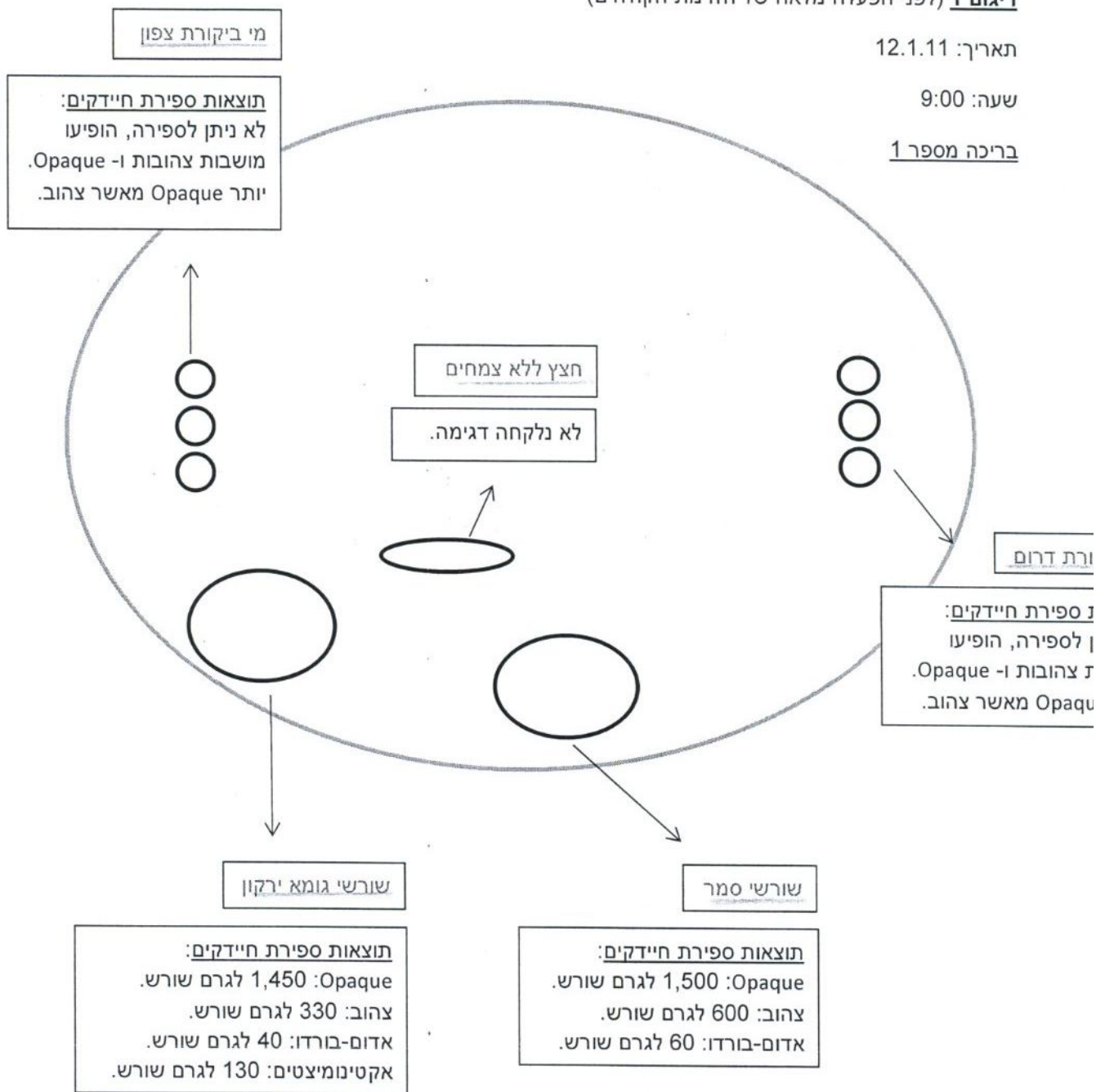
*לאחר ספירת המושבות מחזירים את הצלחות לחדר קור, עד מתי שאין בהם צורך יותר.
*לאחר ספירת המושבות מחשבים ספירת חיידקים לפי מספר מושבות*מיהול*נפח זריעה (מגיעים ל-1 מ"ל 1 גרם שורש 1 גרם חצץ).

דיגום 1 (לפני הפעלה מלאה של הזרמת הקולחים)

תאריך: 12.1.11

שעה: 9:00

בריכה מספר 1



*בדגימות של שורשי הצמחים נעשה מיהול של 1:100.

*נזרע נפח דגימה של 10 מיקרוליטר.

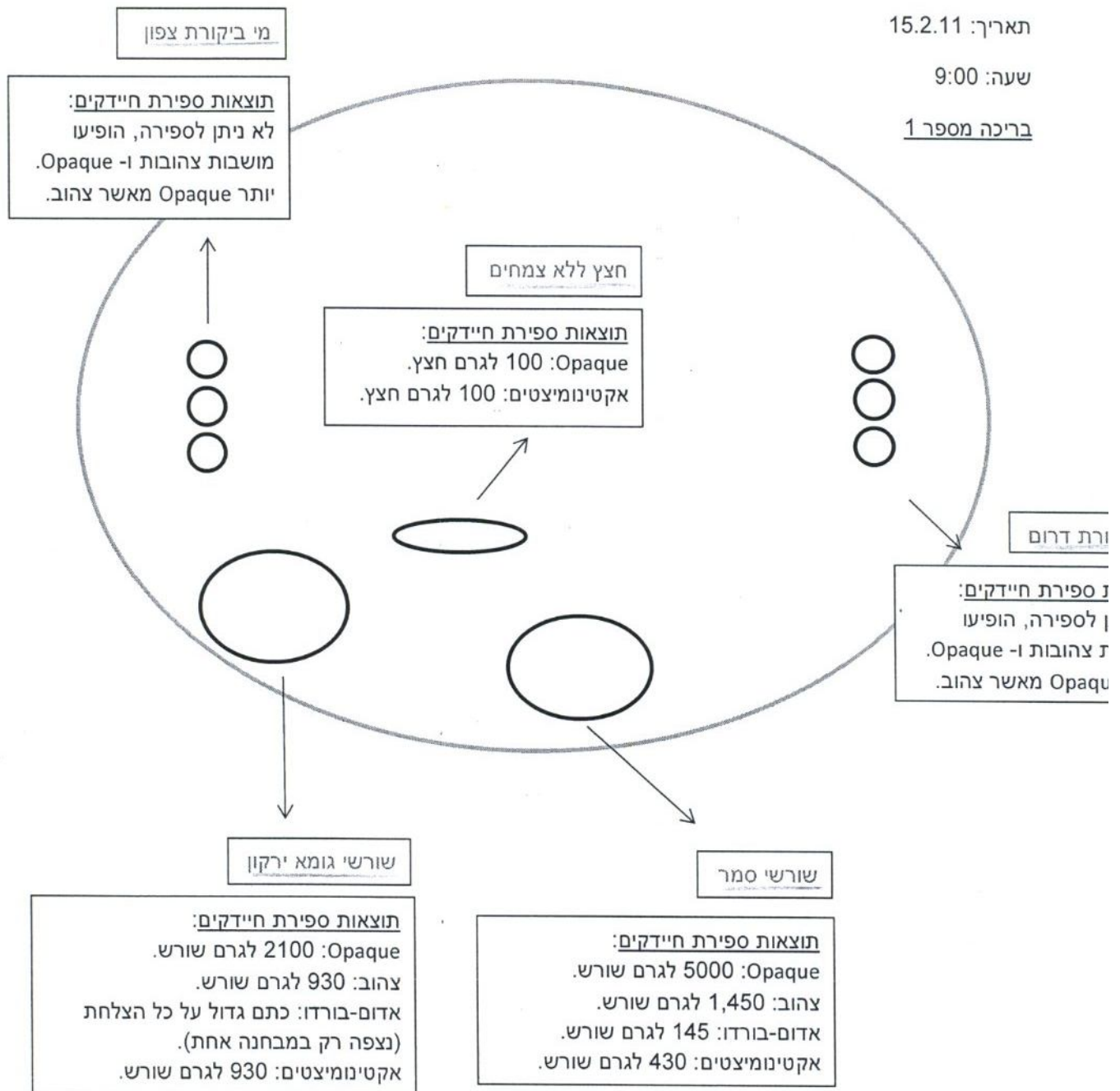
*התוצאות נרשמו כממוצע.

דיגום 2 (לפני הפעלה מלאה של הזרמת הקולחים)

תאריך: 15.2.11

שעה: 9:00

בריכה מספר 1



*בדימות של שורשי הצמחים והחצץ נעשה מיהול של 1:100.

*נזרע נפח דגימה של 10 מיקרוליטר.

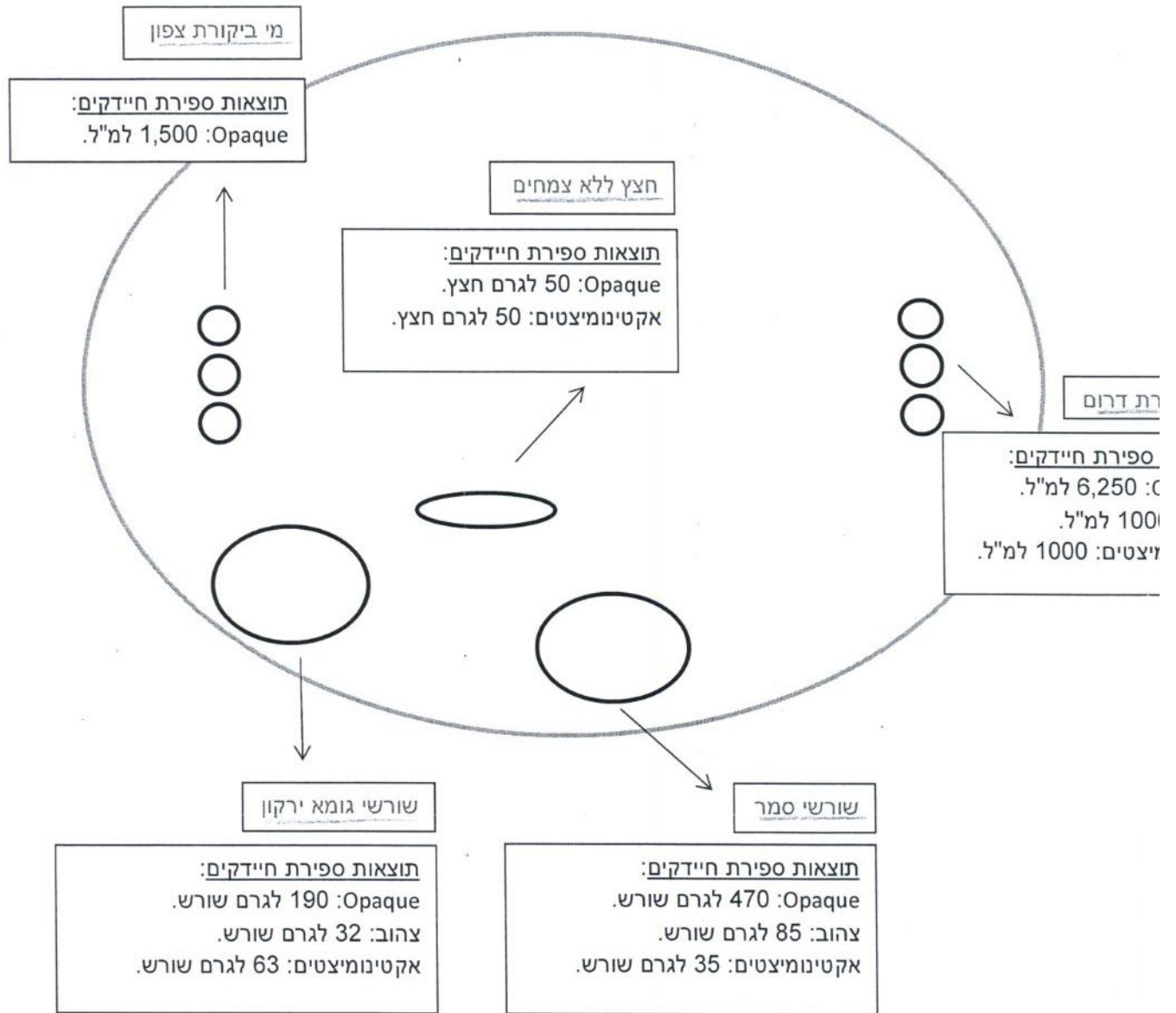
*התוצאות נרשמו כממוצע.

דיגום 3 (אחרי הזרמה תקינה של הקולחים)

תאריך: 7.3.11

שעה: 8:00

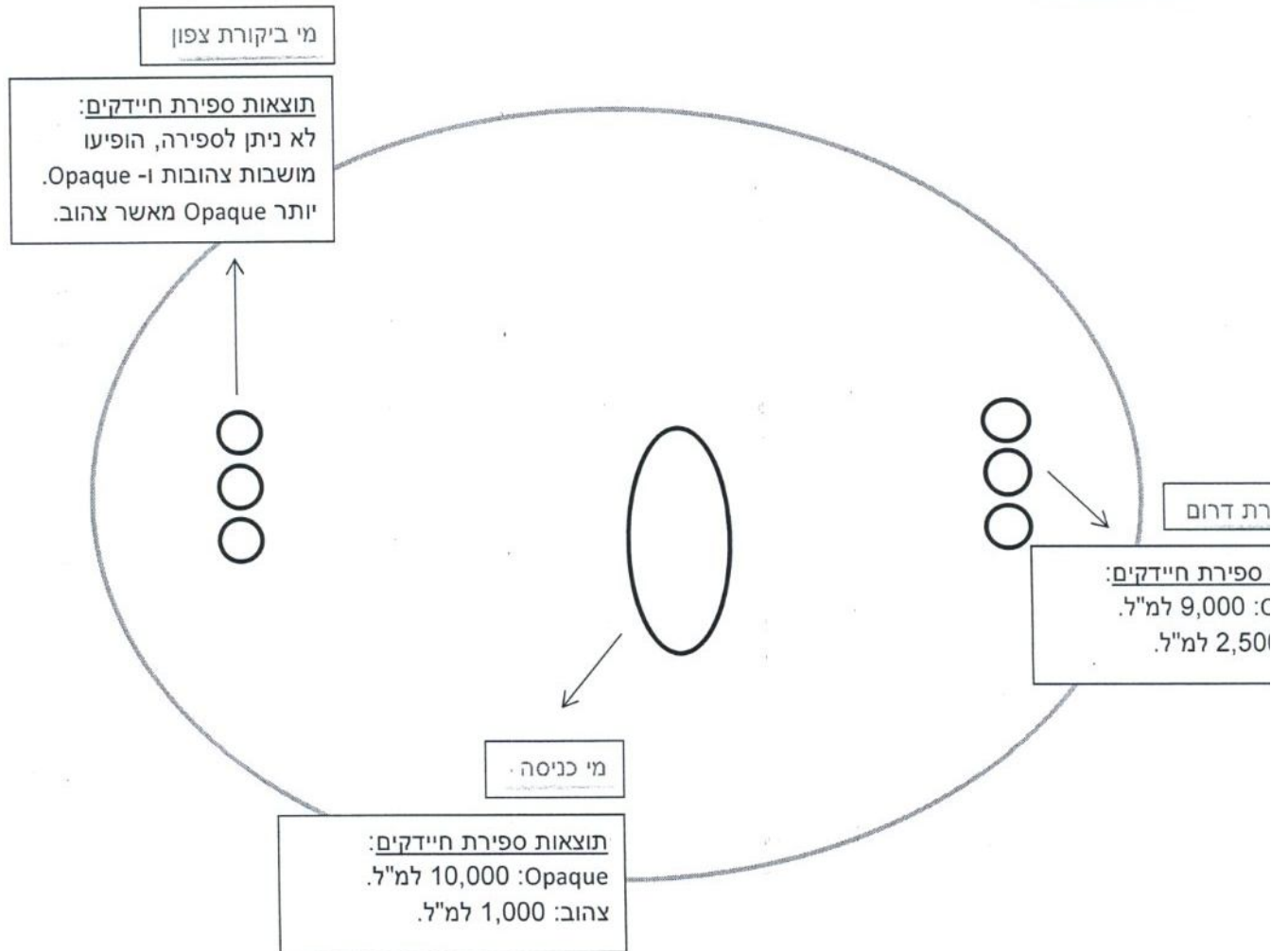
ברכה מספר 1



*בדיגמות של שורשי הצמחים והחצץ נעשה מיהול של 1:100, בדגימות של מי ביקורת נעשה מיהול של 1:10.

*נזרע נפח דגימה של 10 מיקרוליטר.

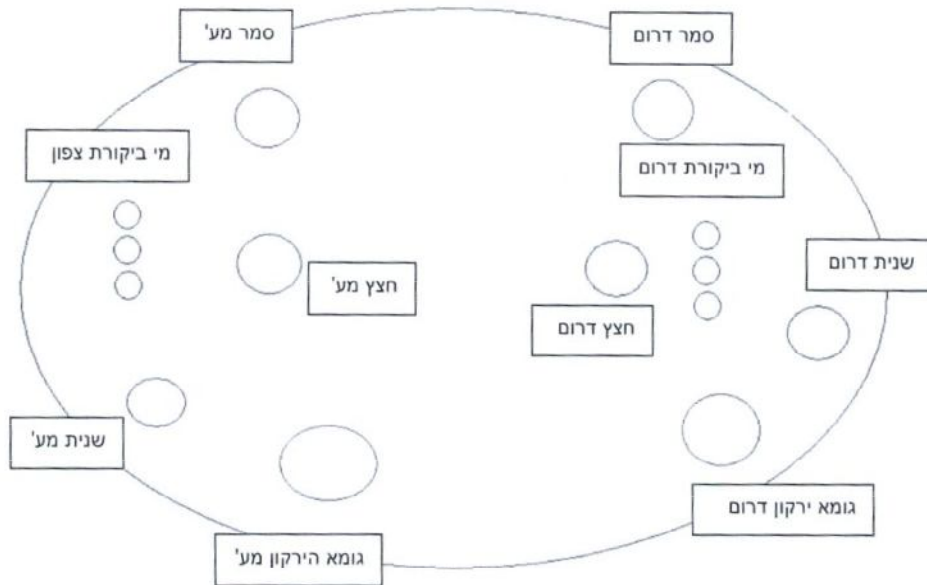
*התוצאות נרשמו כממוצע.



בדגימות של בריכה 3 לא נעשו מיהולים.
נזרע נפח דגימה של 10 מיקרוליטר.
התוצאות נרשמו כממוצע.

תוצאות ספירת חיידקים- אגן ירוק, הוד השרון

ברכה מס' 1



תאריך דיגום: 7.9.11

ענקיות	גדולות כתום	גדולות קרם	גדולות צהוב	קטנות	
15000			135000	165000	שנית מערב
150000	75000	2385000		1080000	גומא ירקון מערב
45000		75000	240000	15240000	חצץ מערב
30000			210000	3480000	חצץ פני שטח
		405000		75000	סמר צפון
		25500			מים צפון
	3000		18000	1437000	מי כניסה
		3105000		660000	סמר דרום
6000			81000	525000	מים דרום
	15000		1830000	2310000	שנית דרום
		3900000	135000	255000	גומא ירקון דר

תאריך דיגום: 14.10.11

ענקיות	גדולות כתום	גדולות קרם	קטנות	
45000	30000	660000	15000	גומא מע
15000		60000	75000	שנית מע'
	30000	30000	480000	סמר מע'
15000		30000	75000	חצץ מרכז
1500	3000	10500		מים מע
1500	3000	10500		מים דרום
15000			90000	סמר דרום
-	-	-	-	חצץ דרום
7500	1500	52500	25500	גומא מז'

תאריך דיגום: 7.11.11

ענק כתום- ורוד cfu/ml*(gr or ml)	ענק צהוב cfu/ml*(gr or ml)	ענק שקוף cfu/ml*(gr or ml)	גדולות כתום-ורוד cfu/ml*(gr or ml)	גדולות שקוף cfu/ml*(gr or ml)	גדולות opaque cfu/ml*(gr or ml)	קטנות cfu/ml*(gr or ml)	
				105000	405000	6120000	ירקון
					30000	390000	מע
60000	30000		510000	60000	690000	2520000	נ מע'
					225000	660000	מע'
		1500			15000	31500	צפון
					15000	36000	דרום
					30000	150000	דרום
				45000	420000	360000	דרום
					360000	645000	דרום
		15000			495000	3000000	ירקון
				105000	405000	6120000	ירקון

בדגימות השורשים והחצץ המיהול נעשה לפי 1:100

בדגימות מי הביקורת המיהול נעשה לפי 1:10

נזרע נפח דגימה של 10 מיקרוליטר

חישוב נעשה לפי ממוצע משתי חזרות