

המוסד החינוכי מבואות עירון

עבודת גמר בנושא: ביולוגיה 5 יח"ל, עבודה לא צמודה

השפעות תנאי עקה תאורתיים על עידוד ייצור הפיגמנט

Fucoxanthin

באצה

Isochrysis galbana

מגיש העבודה: הראל זוט בן-שבת

כתובת: עצמון 3 פרדס חנה כרכור

ת.ז.: 314835406

טלפון: 0509559055

מנחה: גל דישון

שנה"ל תשע"ו- תשע"ח

העבודה בוצעה בחווה החקלאית "החממה" בעין שמר-מנשה



תודות

ברצוני להודות על האפשרות האדירה שניתנה לי לעשות עבודת גמר זו, וחשוב מכל לאנשים המדהימים שפגשתי לאורך הדרך. כנראה שלא הייתי מגיע אליכם לולא עבודה זו וזה היה לפספוס אדיר מבחינתי.

לעיריית דרומי ז"ל, אשר החתירה למצוינות, עבודות הגמר והתלמידים היו לכל עולמה. על ההכוונה הראשונית עם כל המקצועיות, הרצינות והאהבה.

לד"ר גל דיסון, מנחה הניסוי מהחממה ולנועם גבע מנחה הכתיבה מהחממה, על חמש שנים של לימוד, תמיכה, עזרה, הדרכה, והשקעה רבה לכל אורך הדרך, ועל כך שיעצתם לי את העצות שחשבתם שאצטרך ולא את אילו שחשבתם שארצה לשמוע. זכיתי להכיר אנשים כמוכם.

לד"ר אביטל גבע מייסד החממה, על הכול. על נקודת המבט הייחודית והמוסיפה, על האפשרות לבצע את כל שרציתי ועל כך שהראת לי שאם כולם חושבים אותו דבר כנראה שמישהו לא חושב.

לקובי גרוסמן ורחלי ברטל האחראים על עבודות הגמר מטעם בית הספר תודה על המסירות, הקדשת הזמן, ההתעניינות והאכפתיות האין סופית.

לד"ר אורן איילון ולאיתי עברי, על העזרה, התמיכה, ההשקעה ועל הידע חוצה הגבולות שלכם בתחום. אם אני מכיר את החוקים, אתם ללא ספק מכירים גם את כל היוצאים מהכלל.

לד"ר מיכל אוקו מהמכון לחקר ימים ואגמים אילת על אספקת האצות {שבע פעמים אם אני לא טועה 😊} על העזרה והיעוץ, בלעדיך כל זה לא היה מתאפשר.

ולכל צוות החווה החקלאית "החממה האקולוגית" עין שמר-מנשה, על העזרה הרבה בכל, ועל האפשרות לבצע ניסוי כל כך מעניין, מורכב, פורץ דרך ומעורר תקווה.

תוכן עניינים:

4	1. תקציר.....
5	2. מבוא וסקירת ספרות.....
12	3. מהלך המחקר – שיטות.....
12	3.א. תיאור החומר החי
12	3.ב. שיטות וחומרים.....
45	3.ג. מהלך הניסויים.....
18	ניסוי 1- פוטוסינתזה בתאורות שונות.....
20	ניסוי 2- השפעת צבע האור על ריכוזי פיגמנטים באצה.....
20	ניסוי 2.1- השפעת הלבד הכחול על ריכוזי Fucoxanthin.....
21	ניסוי 3 - השפעת עוצמת האור על ייצור Fucoxanthin- ניאון.....
22	ניסוי 4 - השפעת עוצמת לבד כחול על ייצור Fucoxanthin.....
23	4. תוצאות.....
24	תוצאות ניסוי 1.....
26	תוצאות ניסוי 2.....
27	תוצאות ניסוי 2.1.....
28	תוצאות ניסוי 3.....
29	תוצאות ניסוי 4.....
30	5. דיון וסיכום.....
33	6. ביבליוגרפיה.....
34-40	7. נספחים.....

1. תקציר

הפיגמנט פוקוקסנטין צבר במרוצת השנים מוניטין רב בשל סגולותיו הייחודיות והרבות, וביניהן גרימה לאפופטוזיס (התאבדות) של תאים סרטניים (באופן סלקטיבי), ונמצא בשימוש בימים אילו בכל רחבי העולם לרבות אירופה, לצרכי הרזייה, כנוגדי חמצון, קוסמטיקה וחומרים פעילים בתוספי תזונה. בשל סגולות אלו והימצאותו המועטה והתלויה באתני הטבע (מיוצר כיום ברובו ממאקרו אצות חומיות הגדלות האופן טבעי במימי האוקיינוס), שוויו כ- 80,000 דולרים לקילוגרם פיגמנט.

בעבודה זו חקרתי כיצד ניתן להגביר את ייצורו במיקרו-אצה *Isochrysis galbana*, על ידי גידולה של אצה זו בתנאי קיצון תאורטיים.

במהלך הניסויים בדקתי את השפעת סוג האור, צבעו ועוצמתו על ייצור מוגבר של פיגמנט פוקוקסנטין באצה, ומצאתי כי לתאורת הגידול השפעה ניכרת על ריכוזי הפיגמנט באצה ועל קצב גידולה. בתאורת ניאון בעצמה $200 \mu E$ גדלה האצה בקצב המהיר ביותר, אך הגיעה לריכוזי פיגמנט נמוכים בהרבה לעומת אצות שגדלו בתאורת לד כחולה. בהסתמך על תוצאות הניסוי, נראה שהדרך הנכונה והטובה ביותר לגידול אצה זו הינה בתאורת ניאון בעוצמה של $200 \mu E$, שכן בטיפול זה האצות מתרבות בדרך המהירה ביותר, ולאחר מכן להעבירן לתאורת הלבד הכחולה, בה האצות כמעט ולא מתרבות אך אחוז הפיגמנט בהן עולה בצורה דרסטית. למחקר ערכים סביבתיים רבים, והעיקרי שבהם הינו צריכת המשאבים המינימלית הנדרשת לביצועו. בשל העובדה שהאצה *Isochrysis* גדלה במי ים, ניסוי זה עשוי להביא להקמת חוות גידול אשר לא דורשות כלל מים מתוקים, שטח חקלאי או משאבים מיותרים אחרים.

2. מבוא:

אצות הינן קבוצה הטרוגנית של אורגניזמים, בעלות חשיבות למערכת האקולוגית ולאדם. האצות הינן יצרן ראשוני: הן מבצעות פוטוסינתזה, ועל ידי כך מייצרות חומרים אורגניים מחומרים אנאורגניים, ומהוות בסיס לשרשרת המזון. האצות מייצרות כחמישים אחוז מהחמצן באטמוספירה ומייצרות כמות אדירה של פחמן אורגני, ובשל מספרן הרב, ישנם מחקרים הטוענים שהן אף משפיעות על הטמפרטורה בכדור הארץ. טווח הגדלים שלהן נע ממיקרו אצות חד-תאיות מגודל של 0.5 מיקרון, לאצות רב-תאיות ענקיות המגיעות ל 50 מטר. ישנן אצות המתרבות ברבייה מינית וכאלו המתרבות ברבייה א-מינית, ושייכות לקווים אבולוציוניים שונים (אתר (Graham et al, 2009, oilgae).

מספר מיני האצות המשוער נע בין עשרות אלפים עד למעלה מ-10 מיליון מינים. כל מין מייצג שילוב ייחודי של תכונות ולכן ממלא תפקיד חיוני כזה או אחר בסביבה הביולוגית שלו (דובינסקי 1983).

האצות הן לרוב פוטוסינתטיות, מייצרות חמצן וחיות בסביבה מימית. בנוסף, לאצות אין את מבנה הגוף ומנגנוני הרבייה של צמחי יבשה אשר מייצגים התאמה לסביבה יבשתית. האצות מתחלקות למיקרו אצות (מיקרוסקופיות) ומקרו אצות (ניתן לראותן בעין) (אתר (Graham et al, 2009, oilgae).

האצות משמשות את האדם למגוון צרכים: להפקת חומרי גלם לרפואה, כתוספי מזון (חלבון ואומגה 3), כחומרי צבע טבעיים, בתעשיית החקלאות הימית וכמזון במערכות גידול דגים או במכוני רבייה של דגים וצדפות. האצות מהוות פוטנציאל כמקור מזון זול לגידול, עתיר בערכים תזונתיים, שכמות יחסית קטנה ממנו עשויה להאכיל כמות רבה של אנשים ובזכות סגולות אלו להציל בני אדם, בעיקר במדינות עולם שלישי. הדלק המחצבי (דלק פוסילי) המשמש אותנו כיום, נוצר בחלקו הגדול ממרכיבים אורגניים של אצות שחיו בעבר הרחוק. כבר עשרות שנים שמושקעים מאמצים רבים לפיתוח שיטות חדשות לייצור דלקים כמקור אנרגיה מתחדשת בעזרת אצות בשל תכולת השומן הגבוהה בהן וקצב גידולן המהיר. בעזרת אצות ניתן לטפל בזיהומים במערכות ביוב ובמערכות מים חקלאיות לפני החזרתם לטבע (דובינסקי 1983).

לאצות חשיבות רבה במערכת האקולוגית. בתור יצרן ראשוני, הן מהוות את הבסיס לשרשרת המזון הימית וקיומן הכרחי לקיום האורגניזמים הימיים. מאחר וכדה"א ברובו מכוסה בימים, האצות מייצרות כמות חמצן זהה לזו שמייצרים צמחי היבשה. מצד שני, אצות יכולות גם לגרום לנזקים. בתנאים מסוימים, אצות מסוימות יכולות לשחרר רעלים לסביבתם (Graham et al, 2009, oilgae דובינסקי 1983).

ניתן לחלק את האצות לשתי קטגוריות: מיקרו-אצות ומאקרו-אצות. חלק גדול מאצות המיקרו הינן חד תאיות, ומופיעות במגוון צורות, כאשר הצורה הכדורית (coccoid) הינה הנפוצה ביותר. המבנה הכדורי של חלק גדול מהאצות החד תאיות, התפתח באופן בלתי תלוי במספר מיני אצות. אצות אחרות מופיעות במבנה של מספר תאים המאורגנים במושבות. מושבות אלו יכולות להיות מאורגנות למחצה או מאורגנות ברמת ארגון גבוהה. חלק מהאצות החד תאיות ו/או המושבתיות מונעות בעזרת שוטונים. חשוב לציין שלא כל בעלי השוטונים הינם אצות (ישנם מינים רבים של אורגניזמים בעלי שוטונים שאינם פוטוסינתטיים). מבנה אצתי מצוי נוסף, הוא מבנה החוטי (filament) - סידור קווי של תאים המחוברים אחד לשני

ולעיתים חולקים דופן משותפת. רוב האצות הללו (מיקרו-אצות) שוחות או צפות במים הפתוחים ונקראות בשם פיטופלנקטון (Graham et al. 2009).

מאקרו-אצות הינן אצות שבהן מספר תאים גדול, וניתן לראותם בעין. בקבוצה זו קיימים מיני אצות הבנויות מתאים בעלי גרעיני תא רבים (multinucleate cell). דוגמה למאקרו-אצה הינה האצה הידועה בשם giant kelp, אצה בעלת גוף ויכולה להגיע לגודל של 50 מטר (Graham et al. 2009).

אצות מתרבות בדרכים שונות, הן ברבייה מינית והן ברבייה אל מינית. ברבייה אל מינית אין איחוי של גמטות או מיזזה שהינן תכונות הכרחיות לרבייה מינית. חלק מהאצות מתרבות רק ברבייה אל מינית, אך רובם מתרבות הן ברבייה מינית והן ברבייה אל מינית. לשני סוגי הרבייה יתרונות שונים: רבייה מינית מאפשרת לאוכלוסיות להגדיל את השונות הגנטית, אשר מאפשרת את היכולת של האצות להגיב לתנאי סביבה משתנים דרך האבולוציה. בנוסף, מינים רבים של אצות משתמשים במבנים קשים ועמידים שנוצרו ברבייה המינית על מנת לשרוד בתקופות קשות לגידול. בניגוד לרבייה המינית, ברבייה אל מינית, בתנאי גידול מועדפים, האצות יכולות להתרבות (להשתכפל) בקצב גבוה מבלי לייצר גמטות וללא הצורך למצוא בן זוג. לכן קצב גידול אוכלוסייה מהיר מאוד. (Graham et al. 2009).

לאורך שנים אצות שימשו ככלי מחקר בסיסי בביולוגיה והובילו לגילויים חשובים. למשל, תכונות המבנה של המיקרוטובולים התגלו לראשונה באצה. RNA שליח- (messenger) RNA התגלה לראשונה במחקר על התפתחות אצות ענק אצטיבולריה (Acetabularia). ספקטרום הבליעה של הפוטוסינתזה התגלה לראשונה באצות. התוצר הראשוני של קיבוע הפחמן בתהליך הפוטוסינתזה התגלה באצת כלורלה (Chlorella). אצות מיקרו רבות ממשיכות להוות כלי מחקר בביולוגיה עקב קצב הגידול המהיר שלהם, זמן מחזור החיים הקצר שלהם והקלות שבה ניתן לגדלם בתנאי מעבדה. מסיבה זו, מאות מיני מיקרו אצות נשמרות באוספי תרבויות כמקור למחקר. בשל השתייכותן לקווים אבולוציוניים שונים מסוגלות האצות להפיק חומרים רבים, את חלקם קשה ואף בלתי אפשרי להשיג באופן אחר (Graham et al. 2009).

במחקר זה אחקור את המיקרו-אצה *Isochrysis*, סוג של מיקרו אצה ימית חומה-צהובה (haptophytes). הוא כולל את המינים: *Isochrysis galbana*, *Isochrysis litoralis* . *Isochrysis maritima*

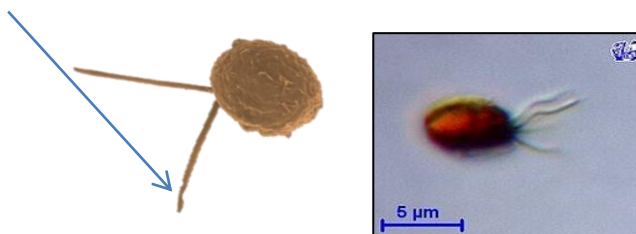
אצה זאת נראית בצורת ביצה, קוטרה 4 עד 6 מיקרומטר. היא מצוידת בשני שוטונים גמישים העוזרים לה לנוע בצורה סיבובית (ספירלית) הודות לערכים התזונתיים שלה וביניהם חומצות שומן שונות כגון: חומצה *stearidonic* וחומצה אלפא-לינולנית, *lutea* מכיל שומני betain פוספוליפידים. *docosahexaenoic –DHA* הוא אחד המינים הנפוצים ביותר ומשמש להאכלת החרות, הצדפות והסרטנים. (מקור אינטרנטי: Wikipedia *Isochrysis*).

צבעה החום של *Isochrysis* נובע מהרכב הפיגמנטים שבה ובייחוד מנוכחותו של הפיגמנט Fucoxanthin.

פיגמנט הוא חומר המשפיע על צבע האור הפוגע בו על ידי החזרה ובליעה סלקטיביים.

בביולוגיה, פיגמנט הוא כל תרכובת צבעונית המצויה בתאיהם של בעלי חיים. כמעט כל סוגי התאים בבעלי חיים כמו תאי עור, עין, פרווה ושיער מכילים פיגמנטים. יצורים שיש להם חסר חמור בפיגמנטציה מכונים לבקנים (מקור אינטרנטי: Wikipedia Pigment) יצורים פוטוסינתטיים נעזרים בפיגמנטים על מנת לקלוט את אנרגיית האור או להיפך להיפטר מאור עודף (Graham et al. 2009).

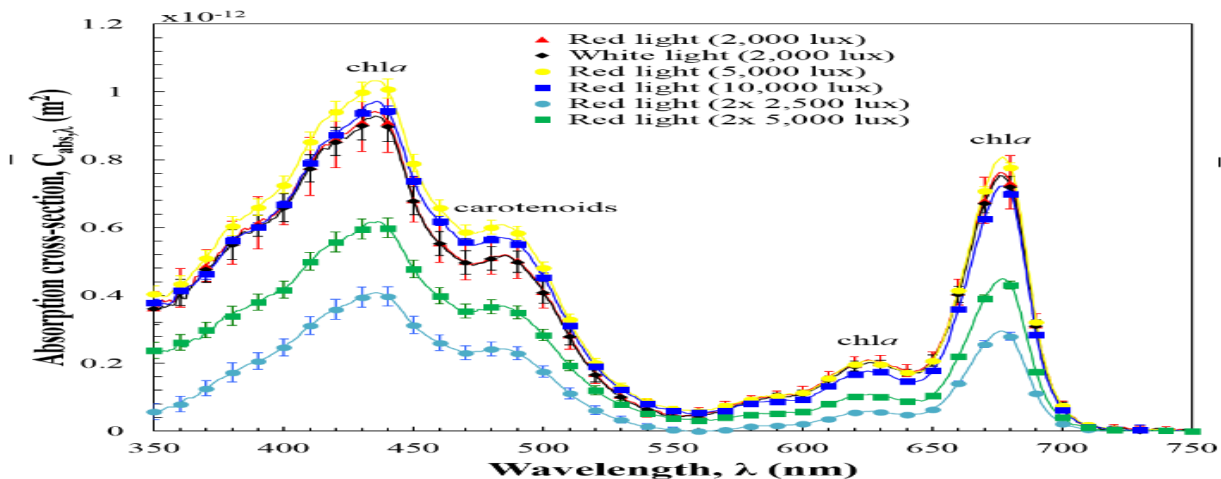
אבריי התנועה של האצה -
שוטונים



איור 1- מציג את מבנה האצה *Isochrysis* (א) הגדלת מקרוסקופ
(ב) הדמיה

הפיגמנט העיקרי באצות הינו פיגמנט הכלורופיל המחולק לארבעה סוגים: **כלורופילים: a.b.c.d** (כלורופיל הוא פיגמנט ירוק הנמצא ברוב הצמחים והאצות ובכמה סוגים של חיידקים). כלורופיל a הוא הפיגמנט הפוטוסינתטי הראשוני (קולטן האור במערכת הפוטוסינתטית). ריכוזו באצות נע בין 0.3 – 3 אחוז. יש לו שני אזורי בליעה: האחד באזור האדום באורך גל 663 nm והשני באזור הכחול באורך גל 430 nm. בעוד שכלורופיל a נמצא בכל האצות, לכלורופילים האחרים יש תפוצה מוגבלת והם פעילים כפיגמנטי עזר (פיגמנטים הקולטים אנרגית אור ומעבירים אותה לכלורופיל a).

כלורופיל b נמצא ב- ירוקיות, עינניות הוא פועל כקולט את אנרגית קרינת האור ומעביר אותה לכלורופיל a. כלורופיל c נמצא ב- חומיות, (להוביות, זהוביות), כריזופיאה, פרימיניזופיאה, בזילריופיאה, וקסנתופיאה, כנראה משמש כעזר למערכת אור II. לכלורופיל c יש שתי תרכובות ספקטרליות c1 – c2. הבליעה העיקרית של c1 באורכי הגל 452, 634, 635, 658, 635 ו- 440. הבליעה המכסימלית של כלורופיל c2 586, 635 ו- 452. כלורופיל d נמצא מעט ברוב האדומיות כמרכיב מועט תפקידו אינו ידוע. הבליעה ב- 696, 456 ו- 400. **פיקובילים** הם פיגמנטים כחולים (פיקוציאנין) או אדומים (פיקואריתרין) המסיסים במים. הנמצאים באדומיות וכחוליות. הם נמצאים מחוץ או בתוך התילקואידים (תילקואיד הוא קרום, הנמצא בתוך הסטרומה- הנוזל הפנימי של הכלורופלסטים וכן בציאנובקטריה. בתילקואידים מתבצעות הריאקציות של שלב האור בפוטוסינתזה) הם נחשבים לחלבונים צבעוניים. **קרטנואידים** הם פיגמנטים צהובים, כתומים ואדומים הנמצאים בדרך כלל בתוך הפלסטידה אך יכולים להיות גם מחוץ. הקרטנואידים מתחלקים לשני סוגים: קרטנים וקסנתופילים. יש מגוון רחב של קסנתופילים. בירוקיות יש קסנתופילים הדומים לאלה בצמחים, פוקוקסנתין באצות חומות- זהובות (חומיות, כריסופיאה, בזילריופיאה) (Beta-carotene באתר האוניברסיטה של מרילנד).



איור 2- בליעת אור ספקטראלית של האצה ננוכלורופסיס שגודלה תחת תנאי תאורה שונים. אזורי הבליעה של הכלורופיל והקרטנואידים מסומנים בגרף. (מקור אינטרנטי: <https://www.seas.ucla.edu/~pilon/NocculataOpticalProp.html> כניסה אחרונה בתאריך: 26.1.17).

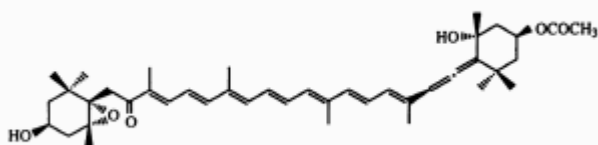
בין הפיגמנטים בעלי הערך המסחרי הרב ביותר נמנים הקרוטנואידים כמו למשל בטא-קרופן ו-Fucoxanthin. **בטא-קרופן (β -Carotene)** הוא צבען בעל צבע אדום-כתום עז, המצוי בשפע בצמחים שונים, בעיקר בפירותיהם. זוהי תרכובת אורגנית המסווגת כפחמימן. הוא שייך לקבוצת הקרוטנואידים. (Beta-carotene באתר האוניברסיטה של מרילנד).

בטא-קרופן משמש כחומר מוצא לוויטמין A. מולקולה אחת של קרוטן נחצית לשתיים (באמצעות אנזים- חלבון המזרז תהליכים כימיים ביצורים חיים), וכך נוצרות שתי מולקולות של ויטמין A או של רטינל (מולקולה ממשפחת הקרטינואידים הנוצרת מחמצון של ויטמין A) או של חומצה רטינואית (נגזרת של ויטמין A) (Beta-carotene באתר האוניברסיטה של מרילנד).

נעשה בו שימוש כצבע מאכל כפרו ויטמין A במזונות לבעלי חיים, כתוסף קוסמטי, כמרכיב במזונות בריאות שונים ובטיפול רפואי במחלות תורשתיות כגון: המחלה רטיניטיס פיגמנטוזה. מרבית הבטא קרוטין הזמין בשוק הוא סנטתי ומיוצר באופן כימי, עוד משנת 1950, לפי פיתוח של חברת התרופות הגדולה Hoffmann La Roche. המוצר הסינטטי נמכר בכ-600 דולר לקילוגרם, בשוק המוערך בסביבות 200 מיליון דולר לשנה. בטא קרוטין טבעי המופק מאצת הדונליאלה נמכר עבור מחיר הכפול מזה. לאחרונה הראו מחקרים על מחלות שונות, בתוכן מחלת הסרטן, שריכוזים נורמאליים וגבוהים של בטא קרוטין, עשויים להגן על הגוף מפניהן. העניין במקורות של בטא קרוטין גדל ככל שנצבר יותר ידע הקשור לשימוש בקרוטנואידים כתרופות ולמניעת מחלות שונות (Ben-Amotz, and Avron 1990).

Fucoxanthin- פיגמנט זה שייך למשפחת הקרוטנואידים- פיגמנטים אורגניים המצויים בעיקר בצמחים, שצבעם נע בין אדום לצהוב. צבעיהם של פירות וירקות שונים כמו גזר, עגבנייה, מנגו ושסק נובעים מהקרוטנואידים שבהם. חלק מהחומרים משמשים חומרי מוצא לתרכובות ביולוגיות. באדם, קרוטנואידים חשובים לבריאות העיניים, העור, העיכול, המערכת החיסונית וריריות שונות. הקרוטנואידים משמשים כנוגדי חמצון חזקים, וישנם מחקרים המצביעים עליהם גם כעוזרים במניעת סרטן בצורה מובהקת (על סגולה זו אפרט בהמשך) (Peng et al. 2011).

Molecular structure



איור 3- איור זה מציג את המבנה המולקולרי של פיגמנט Fucoxanthin.

גישת המחקר

האצה *Isochrysis* מסוגלת לייצר פיגמנט Fucoxanthin כשהיא נמצאת במצבי קיצון (כלומר תנאי אור, טמפרטורה קיצוניות, תנאי "מזון" שונים, מליחות גבוהה או מחסור בדשן). בנוסף, מכילה האצה את הפיגמנט שערכו רב ויכול אף להציל חיים. במחקר זה אבחן כיצד משפיעים תנאי אור, תנאי "מזון" שונים, או מחסור בדשן על יכולת האצה לייצר כמויות גדולות יותר של Fucoxanthin.

מכיוון ש-Fucoxanthin מיוצר לעיתים כתגובה למצבי עקה תאורתיים (מדובר על תאורה שאיננה מתאימה למנגנון קליטת האור הרגיל המבוסס על כלורופיל), אבדוק האם ריכוזו של ה-Fucoxanthin עולה, כאשר מפעילים על האצה תנאים מלאכותיים הדומים למצבי העקה התאורתיים.

במקביל, אבדוק האם תאורה באורך גל (צבע) הנקלט היטב על ידי קרוטנואידים (אור LED כחול המאיר באורך גל 460 ננומטר) תוביל לגידול אצות מהיר במקביל לייצור פיגמנט מוגבר.

הייחוד של ניסוי זה הינו הפקת הפיגמנט Fucoxanthin אשר ערכו גבוה הן בפן הכלכלי והן בפן הרפואי בתוך אצת ה-*Isochrysis* אשר ערכה כיום נמוך יחסית ומשמשת להאכלת אורגניזמים ימיים במכוני גידול (תקשורת אישית עם איתי עברי חבר דירקטוריון בחברת לטימריה בע"מ בתחום אגרוביטכנולוגיה). בנוסף, מחקרים מראים כי ריכוזי Fucoxanthin באצה *Isochrysis* עשויים להיות גבוהים בהרבה (עד פי 15) מאשר במאקרו-אצות מהן מפיקים את הפיגמנט כיום (Gómez-Loredo et al. 2015).

למחקר ערכים סביבתיים רבים, והעיקרי שבהם הינו צריכת המשאבים המינימלית הנדרשת לביצועו. בשל העובדה שהאצה *Isochrysis* גדלה במי ים, ניסוי זה עשוי להביא להקמת חוות גידול אשר לא דורשות כלל מים מתוקים, שטח חקלאי או משאבים מיותרים אחרים. בנוסף גידול בהקמת חוות לגידול אצות יגדיל את מספר היצורים הפוטוסינתטיים בעולם ובהשפעה ישירה ישפיע על גידול בכמות החמצן באטמוספירה.

גולת הכותרת עבורי במחקר זה, הינה הערך הבריאותי החדשני לבני האדם. תוצר הניסוי הינו הפיגמנט Fucoxanthin המעכב את גידולם של התאים הסרטניים בגוף. בנוסף, מחקרים מראים כי הייחודיות של פיגמנט זה הינה יכולתו לגרום לתאים סרטניים להתאבד באופן סלקטיבי (רק לתאים הסרטניים), ולכן נחשב כתרופה מבטיחה לסרטן

(Kumar et al. 2013, Kotake-Nara et al. 2005, Hosokawa et al. 2004).

שאלות המחקר:

- באיזו מידה משפיעה עצמת האור על קצב גידול אצת ה *Isochrysis* ועל ריכוז ה Fucoxanthin בה?
- באיזו מידה משפיעה איכות האור (LED בצבעים שונים) על קצב גידול אצת ה *Isochrysis* ועל ריכוז ה Fucoxanthin בה?

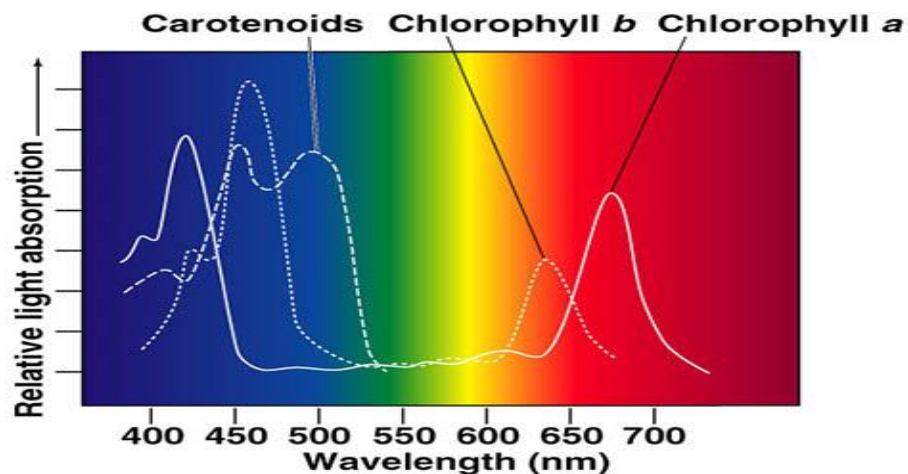
ההיפותזות- השערות:

- ככל שתעלה עצמת התאורה קצב התרבות האצות יעלה אך כמות ה- Fucoxanthin בהן תרד.

מבחינת איכות האור, גידול האצות המיטבי יתקבל תחת תאורת LED כחולה או אדומה. בתנאי תאורה כחולה ייצרו האצות כמויות Fucoxanthin גדולות בהשוואה לתאורה לבנה. השערתנו זו מבוססת על הבסיס הביולוגי המוצג באיור המסביר כי בליעת האור וקצב הפוטוסינתזה המרבית ביותר יתקבלו באזור הכחול ובאזור האדום (בכל הפיגמנטים שמוצגים בגרף זה באופן גורף). לעומת זאת, באורך הגל של הלב הלבד הכחול (460 ננומטר) בליעת הכלורופיל נמוכה בהרבה מזו של הקרוטנואידים, ולכן אצפה שתאורה כזו תעודד ייצור קרוטנואידים.

הביסוס הביולוגי להשערותיי:

השערותיי נשענות על הבסיס הביולוגי הגורס כי בתאורה שאינה מספקת ימצא יתרון לאצה המכילה ריכוזי פיגמנט גבוהים יותר. תאורה באורך גל של 460 ננו-מטר נבלעת במידה מועטה על ידי כלורופיל ובמידה רבה יותר על ידי קרוטנואידים ולכן שיערתי כי בתנאי תאורה חלשה מהסוג הזה (לבד כחול) ימצא יתרון לאצות המכילות ריכוזי קרוטנואידים גבוהים (שהעיקרי שבהם באצת האיזוכריזיס הינו הפיגמנט פוקוקסנטיין).



איור 4- בליעה ספקטראלית של פיגמנטים שונים בתאורת שונות. (מקור אינטרנטי:

http://projects.ncsu.edu/project/bio183de/Lab/photosynthesis_lab/absorption2.html כניסה אחרונה בתאריך: 3.12.17).

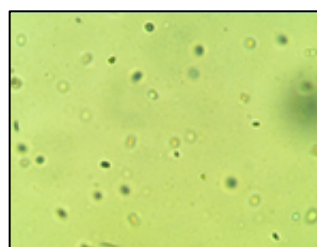
3. מהלך המחקר - שיטות

3.א. תיאור החומר החי

תרבות אצות מהסוג *Isochrysis* נלקחה מהמכון לחקר ימים ואגמים באילת (מעבדת ד"ר מיכל אוקו). התרבות אוקלמה במעבדת האצות בחממה האקולוגית בעין שמר להמשך עבודה וניסויים. במהלך עבודת המחקר מתו תרבויות האצות מספר פעמים ובכל פעם הובאה תרבות חדשה מאילת.



איור 6- תרבות האצות.



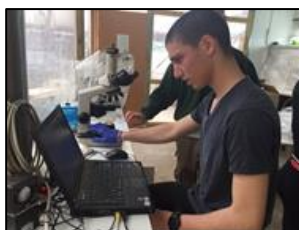
איור 5- תרבות האצות בהגדלת מיקרוסקופ פי 1000.

3.ב. שיטות וחומרים

צפיפות אצות: נמדדה באמצעות מכשיר ספקטרו-פוטומטר המודד את בליעת האור. המדידה התבצעה באורך גל של 680 ננו-מטר (שיא בליעה של כלורופיל). המכשיר אופס בתחילת המדידות על דוגמאות מים מזוקקים. מדידה ישירה של צפיפות האצות התבצעה באמצעות ספירה מיקרוסקופית על גבי פלטה המו-ציטומטרית ונערך כיוול בין תוצאות הספקטרו-פוטומטר לבין תוצאות ספירת האצות (איורים 7,8,9 מציגים את הספירה ההמו-ציטומטרית) בנוסף ניתן לראות את עקומת הכיול לספירת האצות (איור 10).



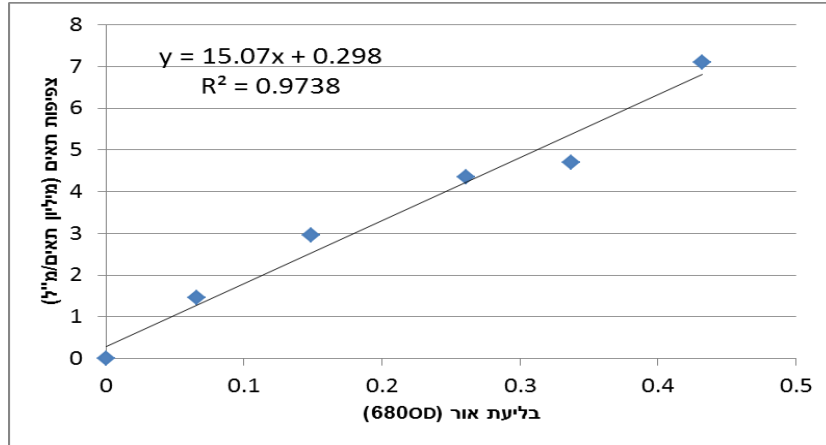
איור 7- העברת התרבות מכלי הגידול לפלטה ההמו-ציטומטרית.



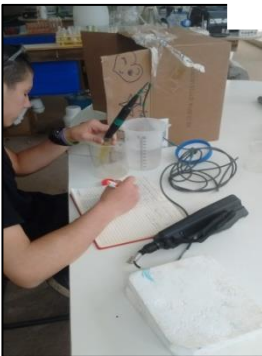
איור 8- ספירה המו-ציטומטרית.



איור 9- שידור ממצלמת המיקרוסקופ לצורך ספירת האצות.



איור 10- כיול מדידות בליעת אור בספקטרו-פוטומטר לספירת תאים במיקרוסקופ.



איור 11- מדידת חמצן.

קצב פוטוסינתזה: חושב על ידי מדידות ריכוזי חמצן (מיליגרם לליטר) במבחנות 50 מיליליטר מלאות עד סופן. מדידת החמצן התבצעה על ידי אופטרודת חמצן של חברת YSI לפני ואחרי אינקובציה בתנאי תאורה שונים (איור 11). הפעילות הפוטוסינתטית מעלה את ריכוז החמצן בדוגמה וההפרש בריכוזי החמצן חלקי זמן האינקובציה נותן את קצב הפוטוסינתזה (מיליגרם חמצן לליטר לדקה).



איור 12- סירקוז בצנטרפוגה.

ריכוזי פיגמנטים: באמצעות פיפטור הועברו 1.5 מ"ל מתרבית כל בקבוק למבחנת אפנדורף. כל מבחנות האפנדורף סורכזו במכשיר הצנטריפוגה (של חברת MRC) (איור 12) בחמשת אלפים סיבובים לדקה במשך חמש דקות. בכל מבחנה התקבלו אצות מרוכזות בתחתית המבחנה ומים בשאר המבחנה. המים בכל מבחנה הוחלפו באצטון 90% ועורבלו בוורטקס (של חברת MRC) במשך 15 שניות לכל מבחנה. לאחר מכן כל כן המבחנות הוכנס לחושך למשך שעה בדיוק על מנת לאפשר מיצוי הפיגמנט באצטון אך

למנוע פגיעה בפיגמנט הנגרמת מתאורה חזקה.



איור 13- הקיוטות שהוכנסו למכשיר הספקטרו-פוטומטר.

לאחר שעה מהכנסת מבחנות האפנדורף לחושך, כל מבחנה עורבלה במכשיר הוורטקס וסורכזה בשנית באותו אופן.

לאחר הסירקוז התקבל נוזל "נקי" אשר הופרד באופן מובהק משאריות האצות אשר הצטברו בתחתית המבחנה, נוזל זה הועבר לקיוטות (איור 13) אשר הוכנסו למכשיר הספקטרו-פוטומטר (של חברת SPECTRONIC) ונמדדו בשני אורכי גל האחד 444 ננו-מטר משמש לחישוב ריכוזי Fucoxanthin באצטון והשני הינו 664 ננומטר אשר משמש לחישוב ריכוזי כלורופיל באצטון.

הנוסחה לחישוב הריכוז של Fucoxanthin היא:

$$C(\text{ug/ml}) = 1000 * A444 / 166$$

כאשר:

C- ריכוז Fucoxanthin במיקרוגרם למ"ל

A444 – בליעה בספקטרו-פוטומטר באורך גל 444 ננו-מטר

כדי לבדוק האם האצות ייצרו יותר Fucoxanthin חולקו ריכוזי Fucoxanthin בתוצאות צפיפות האצות בכל מבחנה. מכיוון שבחלק מהמידות היה ספק לגבי יעילות המיצוי נבדק גם היחס בין כלורופיל לפוקוקסנטיין כמדד לייצור מוגבר של הפיגמנט.

מדידות אור: אחד האלמנטים המשמעותיים ביותר בגידול אצות ולריכוז הפיגמנטים בהן הינו עוצמת התאורה ולכן בעבודה זו נמדדה עוצמת התאורה בעת העמדת כל אחד מהניסויים. מידת האור הרלוונטית ביותר לפוטוסינתזה הינה PAR. יחידת מדידת האור (PAR - photosynthetically active radiation) מתייחסת רק לפוטונים בין 400-700 ננו-מטר (טווח ספקטראלי זה הינו פחות או יותר הטווח הנראה לעין אדם). פוטונים אלו מסוגלים יצורים פוטוסינטיים להשתמש בתהליך הפוטוסינתזה. פוטונים באורך גל ארוך או קצר יותר אינם נושאים אנרגיה מתאימה על מנת לייצר פוטוסינתזה.

מכיוון שפוטוסינתזה הינה תהליך קוונטי התלוי יותר במספר הפוטונים מאשר באנרגיה הכלולה בהם, ביולוגים נוטים לכמת PAR באמצעות מספר הפוטונים בטווח שבין 400-700 ננו-מטר שנמצאו על משטח מסוים בפרק זמן מסוים (שטף פוטונים).

את עצמת האור מדדתי ביחידות של שטף פוטונים ($\mu \text{ mol photons m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$). כחלק ממכניקת הקוונטים של איינשטיין המתארת את התנהגות החומר בקני מידה קטנים ביותר, הוא גילה כי ניתן להסתכל על אור בתור מספר של פוטונים (חלקיקים יסודיים נושאי אנרגיה) הנעים במרחב, ובשל כך קבע כי ההתייחסות לכך תהייה כמדידה של מספר הפוטונים שייעברו במעין "חלון" בגודל של מטר בריבוע בשנייה אחת, מספר זה מתעתד להיות בעל מספר עצום של כ-23 אפסים ולכן ייקרא בהמשך כ-MOL.

3.ג. מהלך הניסויים

ניסויים מקדימים (נערכו על מנת לבדוק את תנאי הגידול האופטימליים לאצה)

בשלב הראשון של המחקר רציתי ללמוד על האצה *Isochrysis* – איזה דשן הוא הדשן האופטימאלי לגידולה. ב3.3.17 קיבלתי תרבית אצות ממכון חקר ימים ואגמים אילת. את התרבית שהגיעה מאילת חילקתי לשלושה חלקים:

כלי מספר אחד: גידול ללא שום שינויי .

לשני החלקים הבאים הוספתי 0.5 ליטר מים (לכל בקבוק) במליחות של 40 PPT (תוספת מלח בישול)

כלי מספר שתיים: דשן BG11 (פירוט בטבלה 1).

כלי מספר שלוש: דשן שפר ריכוז ml1 ל L1 (פירוט בטבלה 2).

לאחר חלוקת האצות לכלים השונים נמדדה צפיפות האצות בעזרת מכשיר הספקטרו-פוטומטר באורך גל 680 ננו-מטר. בנוסף נלקחו דוגמאות למדידת חיוניות האצות- בבחינה מיקרוסקופית.

BG11 - פירוט מרכיבי דשן 1 טבלה.

Trace metal mix A5:

(המשך לטבלה 1)

H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222 g
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.39 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079 g
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	49.4 mg
Distilled water	1.0 L

NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	0.04 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036 g
Citric acid	0.006 g
Ferric ammonium citrate	0.006 g
EDTA (disodium salt)	0.001 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g
Trace metal mix A5	1.0 ml
Agar (if needed)	10.0 g
Distilled water	1.0 L

טבלה 3- דשן BLUE.

אחוזים (%)	דשן מיקרו BLUE תכולה ב1 ליטר אלמנט
0.097	בורון (B)
0.050	מנגן (Mn)
0.005	אבץ (Zn)
0.015	מוליבדן (Mo)
0.001	נחושת (Cu)
0.001	קובלט (Co)

אחוזים (%)	דשן מינור BLUE תכולה ב1 ליטר אלמנט
3.3	חנקן (N)
3.3	תחמוצת זרחן (P ₂ O ₃)
1.5	גופרית (S)
8.6	נתרן (Na)
5.4	אשלגן (K)

אחוזים (%)	דשן מג'ור BLUE תכולה ב1 ליטר אלמנט
0.99	מגנזיום (Mg)
0.94	קלציום (Ca)
0.10	ברזל (Fe)

טבלה 2- פירוט מרכיבי דשן שפר 7-3-7+3

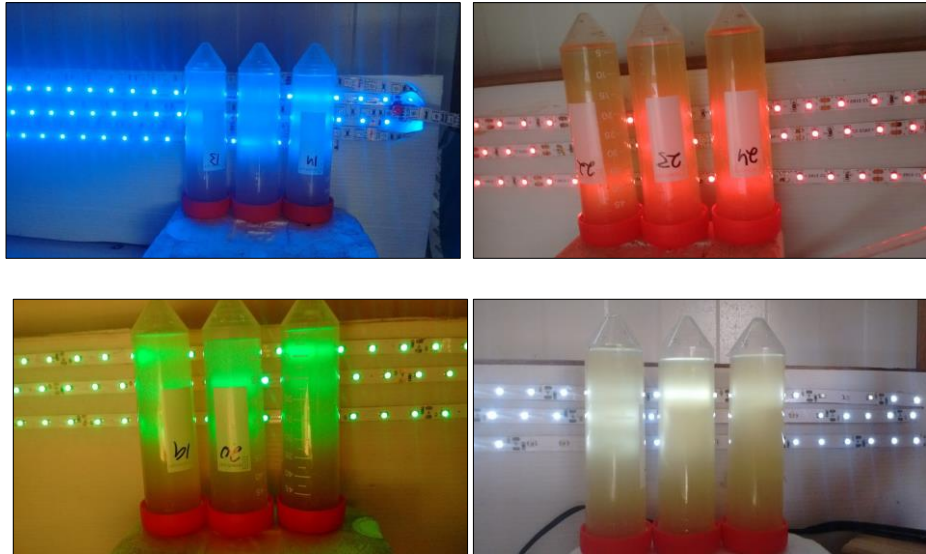
אחוזים (%)	אלמנט
<u>7</u>	<u>N</u>
4.2	NO ₃
2.8	NH ₄
<u>3</u>	<u>P₂O₅</u>
<u>7</u>	<u>K₂O</u>
0.03	Fe
0.015	Mn
0.0075	Zn
0.0011	Cu (נחושת)
0.0008	מוליבדן

טבלה 4- דשן F2.

Stocks	per litre
NaNO3	75g
NaH2PO4.2H2O5	65g
(Trace elements (chelated	
NA2 EDTA	4.16 g
FeCl3. 6H2O	3.15 g
CuSO4.5H2O	0.01 g
ZnSO4.7H2O	0.022 g
CoCl2.6H2O	0.01 g
MnCl2.4H2O	0.18 g
Na2MoO4.2H2O	0.006 g
Vitamin mix	
Cyanocobalamin (Vitamin B12)	0.0005 g
Thiamine HCl (Vitamin B1)	0.1 g
Biotin	0.0005 g

ניסוי 1 – פוטוסינתזה בתאורות שונות:

בחודש פברואר קיימתי ניסוי ראשון, בניסוי זה בדקתי את השפעת צבע האור ועוצמתו על ייצור חמצן בפוטוסינתזה. בחלק זה של הניסוי תרבית אצות חולקה לעשרים וארבע מבחנות בנפח 50 מ"ל אשר כל רצף של שלוש מבחנות מהווים טיפול אחד (סך הכול שמונה טיפולים-טבלה 5). המבחנות חולקו לתאי תאורה (בצבעי לד לבן, אדום, ירוק וכחול בעוצמת אור של 5 μE) (איור 14) ושלושה טיפולים חולקו לתאורת ניאון (בעוצמות אור של 100, 200 ו-300 μE).



איור 14- סידור מבחנות בתאי תאורת LED שונים לצורך מדידת קצב פוטוסינתזה.

טבלה 5: סוגי אור שונים בטיפולים שונים

מספר טיפול	סוג אור	עוצמת אור (μE)
1	חושך	0
2	ניאון	100
3	ניאון	200
4	ניאון	300
5	כחול	5
6	לבן	5
7	ירוק	5
8	אדום	5

לאחר כשעה (ניתן לראות טבלת זמני שהייה מדויקים בנספחים) הוצא כל טיפול וכל מבחנה עברה מדידת חמצן אשר נערכה באמצעות מד חמצן (של חברת YSI).

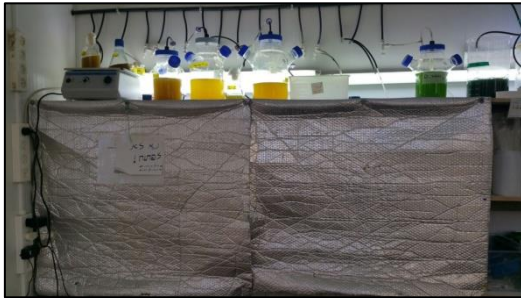
עיבוד נתונים: קצב פוטוסינתזה (מיליגרם חמצן לליטר לדקה) חושב לפי השלבים הבאים:

1. חושב ההפרש בין המדידה הראשונית למדידה הסופית עבור כל מבחנה.

2. ההפרש חולק בזמן האינקובציה (בדקות).

3. ממוצעים וסטיות תקן חושבו בתכנת EXCEL לכל טיפול (3 מבחנות).

4. גרפים הכוללים ממוצעים וסטיות תקן שורטטו בתוכנת אקסל.

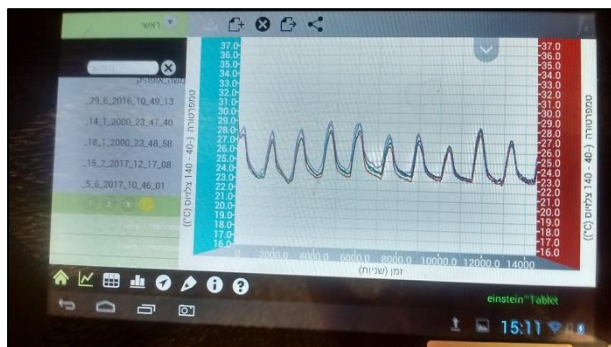


איור 15- ניסוי תאורות שונות – בתמונות ניתן לראות את תאי התאורות השונים ובפינה השמאלית של התמונה הימנית את צג הבקרה ועיבוד הנתונים של כל התאים.

ניסוי 2 – השפעת צבע האור על ריכוזי פיגמנטים באצה.

בחודש פברואר קיימתי ניסוי שני, במהלכו בדקתי את ההשפעה של תאורת הLED בצבעים השונים על ייצור מוגבר של הפיגמנט Fucoxanthin.

התרבית חולקה לשניים עשר בקבוקי זכוכית (150 מ"ל תרבית אצות בכל בקבוק). שניים עשר הבקבוקים חולקו לארבעה תאים, בכל תא צבע תאורת הLED שונה (לבן, אדום, ירוק וכחול). עוצמת הLED בכל טיפול הינה 5 איינשטיין (נמדדה באמצעות מד אור PAR של חברת APOGEE). לתרבית נוסף דשן הכולל את כל המינרלים הדרושים מלבד חנקן זרחן ואשלגן על מנת ליצור הרעבת חנקן. טמפרטורת הניסוי בתאים השונים נמדדה לאורך כל הניסוי בהפרשים של 10 דקות על ידי מדי טמפרטורה שהוצבו בתוך בקבוק המכיל 150 מ"ל מים וצינורית אויר כמו בקבוקי הניסוי. מדי הטמפרטורה חוברו לאוגר נתונים EINSTEIN של חברת FURIER (איורים 15-17).



איור 16 - אוגר הנתונים EINSTEIN של חברת FURIER.

לאחר שבוע בדיוק מתחילת הניסוי נלקחו דגימות מכל בקבוק ונמדדו ריכוזי הפיגמנטים באופן המתואר למעלה.



איור 17 – ייצירת הרעבת החנקן על ידי הוספת דשן מחולק (דשן BLUE) אשר רכיביו ניתנים להוספה באופן ידני וסלקטיבי.

ניסוי 2.1 השפעת סוג האור על ריכוזי הפיגמנטים באצה

מכיוון שבהשערת המחקר שיערתי כי אור LED כחול יגרום לייצור Fucoxanthin מוגבר, ערכתי ניסוי נוסף הבוחן ספציפית את יעילותו של טיפול זה. ניסוי זה נערך באותם כלים ושיטות כמו הניסוי הקודם אבל כלל רק שישה בקבוקי ניסוי שהונחו בתאורת ניאון ובתאורת LED כחול (שלושה בכל טיפול). ריכוזי האצות והפיגמנטים נמדדו בתחילת הניסוי (יום 0) וביום 1, 7 ו 11 מתחילת הניסוי.

ניסוי 3 – השפעת עצמת אור על ריכוזי פיגמנטים באצה

בחודש פברואר קיימתי ניסוי שלישי. בניסוי זה בדקתי את השפעת עוצמת האור על התרבית שמדדיה: שלוש קריאות ספקטרו-פוטומטריות שונות באורך גל של 680 ננו-מטר נתנו את הערכים הבאים: 468,473 ו 476 ולכן ממוצע הבליעה הספקטרו-פוטומטרית באורך גל של 680 ננו-מטר מתרבית זו עומד על 472.333. ספירת מיקרוסקופית הראתה כי ממוצע ספירת האצות מתרבית זו עומד על 16,865,000 אצות במ"ל.

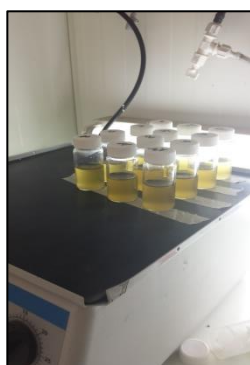
תרבית זו חולקה לשניים עשר בקבוקי סנטילציה בנפח של 20 מ"ל (12 מ"ל תרבית אצות בכל בקבוק).

בבקבוקי הסנטילציה הועמדו על מכשיר הטילטול של חברת MRC במרחקים שונים מתאורת הניאון כאשר הבקבוקים שמספרם 1,2, ו-3 הועמדו בקירוב לנורת הניאון (ביחס לשאר הבקבוקים) ולכן "ספגו" את כמות האור הגבוהה ביותר (כפי שניתן לראות באיור 18).

הבקבוקים שמספרם 4,5,6 הועמדו אחריי הבקבוקים שמספרם 1,2,3.

הבקבוקים שמספרם 7,8,9 הועמדו אחריי הבקבוקים שמספרם 4,5,6.

הבקבוקים שמספרם 10,11,12 הועמדו אחריי הבקבוקים שמספרם 7,8,9.



איור 18 בקבוקי הסנטילציה על מכשיר הטילטול של חברת MRC.

עוצמות האור במרחקים השונים מפורטות בטבלה שלהלן:

טבלה 6: מדידת עוצמת האור במרחקים השונים-

מספרי הבקבוקים	אור אשר נמדד ליד הבקבוק (μE)	אור אשר נמדד מאחורי הבקבוק (μE)
1,2,3	125	52
4,5,6	70	22
7,8,9	40	12
10,11,12	30	9

לאחר שבוע ימים נמדדו ריכוזי הפיגמנטים באצות.

ניסוי 4- השפעת עוצמת הליד הכחול על ייצור הפיגמנט Fucoxanthin באצה Isochrysis

בחודש נובמבר קיימתי ניסוי חמישי. בניסוי זה בדקתי את השפעת עוצמת הליד הכחול על ייצור הפיגמנט Fucoxanthin באצה *Isochrysis*.

תרבית ה*Isochrysis* טופלה באופן הבא: ראשית עורבבה עם מדיום דשן מסוג F2 (הדשן הטוב ביותר לאצה זו עד כו לא עבדנו עם דשן זה מתוך העדפה לעבוד עם דשן שמוכר לנו ושהיה בשימוש בחממה בעבר). ולאחר מכן חולקה לתשע בקבוקים בנפח של 100 מ"ל תרבית אצות בכל בקבוק.

בבקווי התרבית הועמדו בתא הליד הכחול במרחקים שונים מפסי הלדים כך שבקבוקים שמספרם 1,2,3 הועמדו בקירוב לתאורת הליד ויהיו חשופים לעוצמה של 55 μE . בקבוקים שמספרם 4,5,6 הועמדו אחריהם והיו חשופים לתאורה בעוצמה של 40 μE . ובקבוקים שמספרם 7,8,9 הועמדו במרחק הרב ביותר מתאורת הליד הכחולה ולכן היו חשופים לעוצמה של 15 μE בלבד.

מתרבית האצות שבכל בקבוק נלקחו המדידות הבאות: ראשית נלקחה מדידת צפיפות אצות- מדידה ספקטרו-פוטומטרית באורך גל של 680 ננו-מטר. בנוסף נמדד ריכוז הפיגמנט לפי פרוטוקול למדידת ריכוז הפיגמנט (מפורט תחת כותרת שיטות וחומרים).

כעבור שלושה ימים מהעמדת הניסוי נלקחו דגימות אלו בשנית (מדידה ספקטרו-פוטומטרית 680 ומדידת ריכוז פיגמנט) לצורך השוואת תוצאות אילו לתוצאות שהתקבלו ביום העמדת הניסוי.



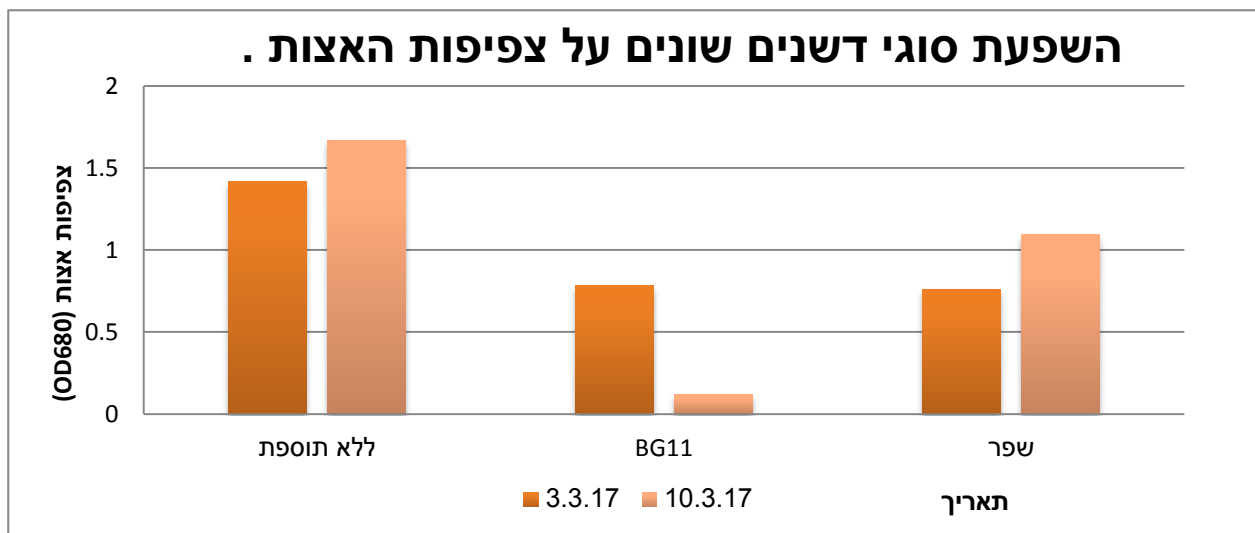
איור 19- העמדת הניסוי בתא הליד הכחול.

4. תוצאות

קדם ניסוי: השפעת סוגי דשנים על צפיפות האצות.

על מנת לבחון את סוג הדשן המתאים ביותר לגידול איזוכריזיס, בעת הגעתם לראשונה לחממה, נבחנה השפעתם של שני סוגי דשנים (BG11 ודשן שפר 7+3-7-3) על גידול האצות.

מתוצאות ניסוי זה ניתן לראות כי שבוע לאחר תחילת הניסוי (10.3.17) נצפתה גדילה בתרבית ללא תוספת הדשן ובתרבות שבה נוסף גם דשן שפר ואילו דשן מסוג BG11 פגם בגידול ובהתרבות האצות (איור 20). בהמשך העבודה התבצעו ניסויים עם דשנים המיועדים לגידול אצות אשר לא היו בזמינות בתחילת עבודת גמר זאת. לדוגמה דשן BLUE (של חברת ג'נפיט) ודשן F/2 (Guillard and Ryther 1962). חשוב לציין כי בדיקת דשנים זו לא תוכננה ובוצעה כניסוי ולא הכילה חזרות, אלא נעשתה במטרה לגשש אחר פרוטוקול הגידול המתאים לקליטת האצות החדשות שלא גודלו בחממה עד כה.



איור 20- השפעת סוגי דשנים על קצב גידול האצות. העמודות הכתומות מציגות מדידות ראשונות ואילו העמודות הוורודות מציגות מדידות לאחר שבוע.

ניסוי 1: השפעת צבע אור ועצמתו על ייצור חמצן בפוטוסינתזה

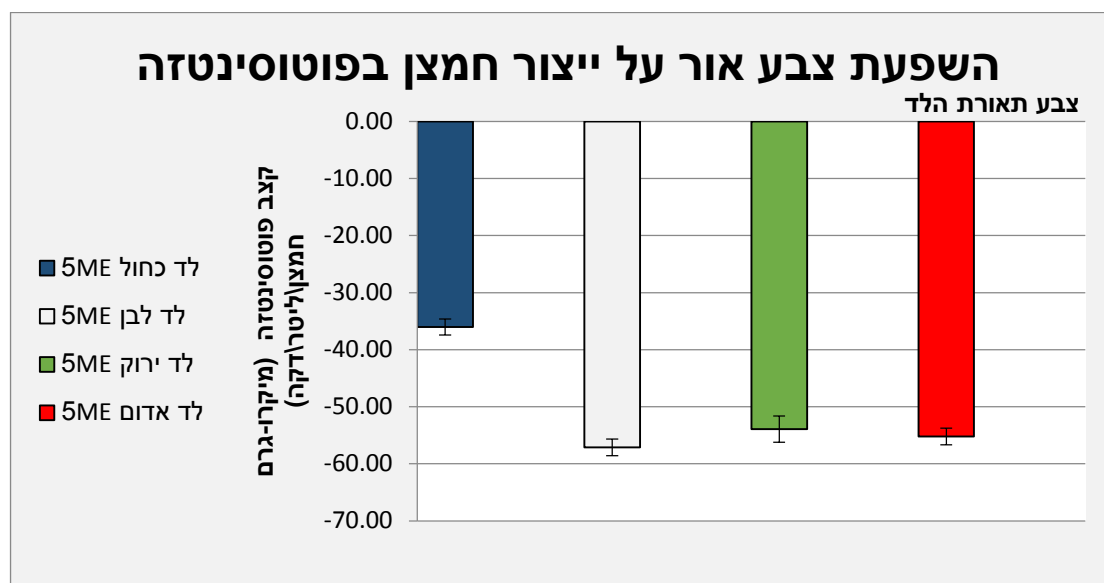
ניסוי זה נערך על מנת לבחון את השפעת צבע האור ועוצמתו על ייצור חמצן בפוטוסינתזה.

תוצאות הניסוי הראו על קשר חיובי בין עוצמת האור (ניאון) לקצב הפוטוסינתזה שביצעו האצות. יחד עם זאת ההשפעה הניכרת ביותר הינה בעוצמות תאורה הנמוכות ($0-100 \mu E$) ומתנתת עם העלייה בעוצמת האור ($100-200 \mu E$) ובעוצמות תאורה הגבוהות במיוחד ($200-300 \mu E$) לא ניתן לראות עלייה מובהקת בקצב הפוטוסינתזה (איור 22).

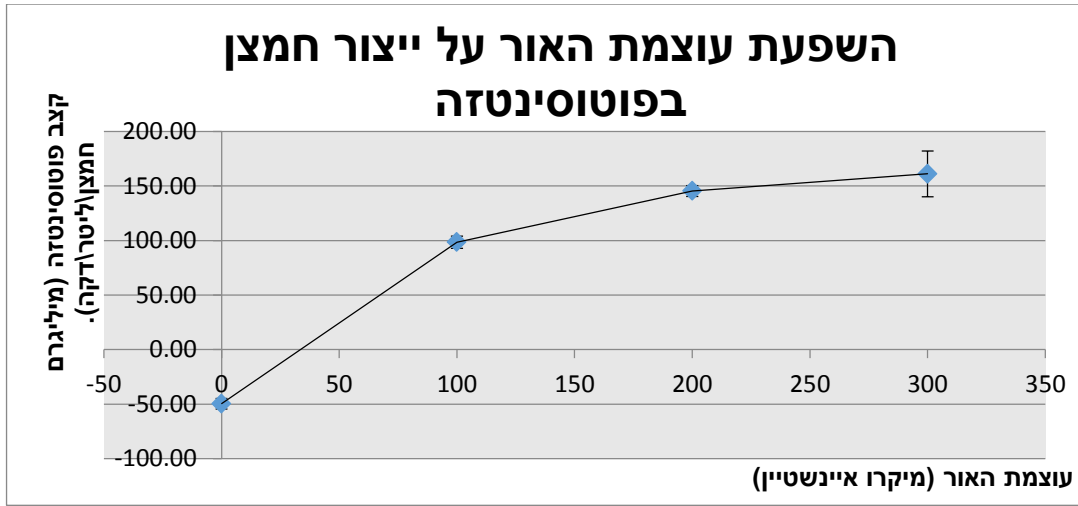
בחושך נראה קצב פליטת חמצן שלילי ($0-50$ מיליגרם חמצן/ליטר/דקה) המצביע על קצב נשימה תאית הגדול מקצב פליטת החמצן בפוטוסינתזה, המשוערת להיות 0 בהעדר תאורה.

מתוצאות ניסוי השפעת צבע אור על ייצור חמצן בפוטוסינתזה, ניתן לראות כי בתאורת ניאון בעוצמת $300 \mu E$ יוצרה הכמות הגבוהה ביותר של חמצן בפוטוסינתזה, אך בדבר הלדים בתאורת השונות (שעוצמת תאורתם נמוכה פי 60 מעוצמת הניאון $300 \mu E$) צבע הלדים הכחול הוביל לייצור כמות החמצן הגבוהה ביותר ביחס לשאר צבעי הלדים (בתוצאות הניסוי רואים ירידה בכמות החמצן במהלך הניסוי בתרבויות אשר שהו בצבעי הלדים השונים וזאת בשל שימוש החמצן לצורכי נשימה תאית) (איור 21).

מכאן עולה השאלה, מה יקרה כאשר אגדיל את עוצמת הלדים ואקרבה לעוצמת הניאון (את שאלה זו אבדוק בניסוי 5)



איור 21- תוצאות ניסוי פוטוסינתזה בתאורות שונות. קצב פוטוסינתזה נמדד כהפרשים בריכוזי חמצן במשך שעה. כל טיפול מכיל שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

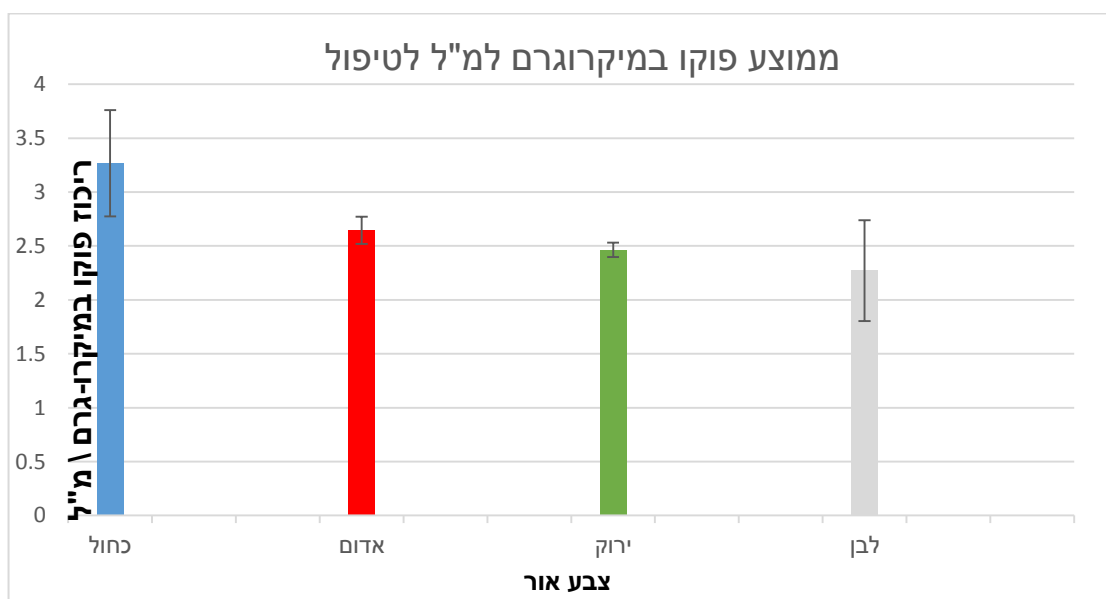


איור 22- תוצאות ניסוי פוטוסינתזה העוצמות אור שונות. קצב פוטוסינתזה נמדד כהפרשים בריכוזי חמצן במשך שעה. כל טיפול מכיל שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

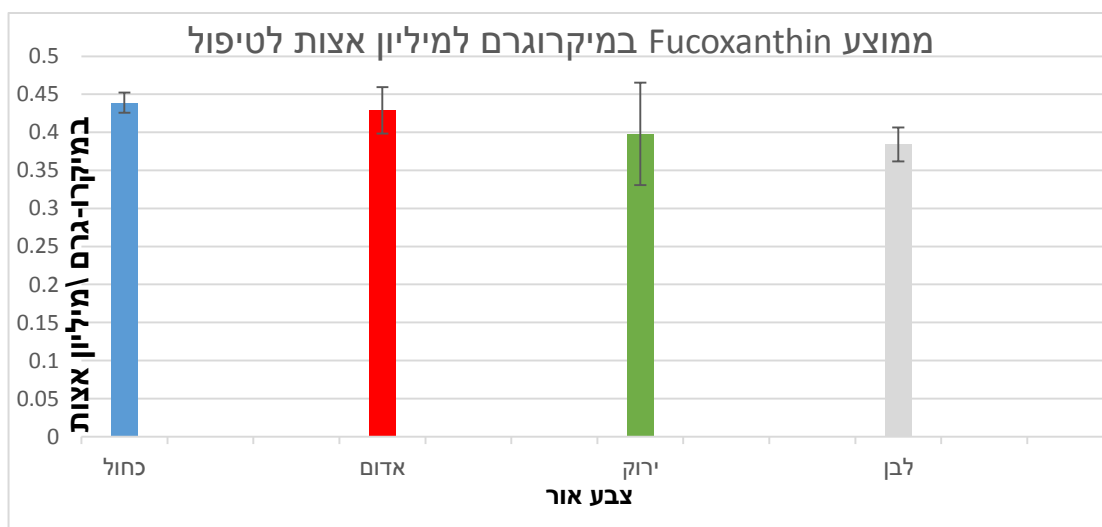
ניסוי 2: השפעת צבע אור על גידול ייצור Fucoxanthin באצה

ניסוי זה נערך על מנת לבחון את השפעת צבע האור על ייצור מוגבר של הפיגמנט Fucoxanthin באצה *Isochrysis*.

מתוצאות ניסוי השפעת צבע אור על ייצור מוגבר של Fucoxanthin באצה *Isochrysis* ניתן לראות כי תאורת הלבד הכחול גרמה לייצור הגבוה ביותר של פיגמנט Fucoxanthin ביחס לשאר הטיפולים בניסוי זה, בנוסף ההבדל המשמעותי ביותר נראה בין הטיפול בתאורת הלבד הכחולה לבין הטיפול בתאורת הלבד הלבנה הבדל זה הוא של כ 995 מיקרו-גרם למ"ל (לטובת תאורת הלבד הכחולה) (איור 23). יחד עם זאת, חישוב ריכוזי הפיגמנט חלקי צפיפות האצות מראה כי העלייה בפיגמנט נובעת מצפיפות אצות גבוהה יותר ולא מייצור פיגמנט מוגבר בכל אצה (איור 24).



איור 23- תוצאות ניסוי ריכוזי Fucoxanthin בתאורות לד שונות לכל טיפול שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

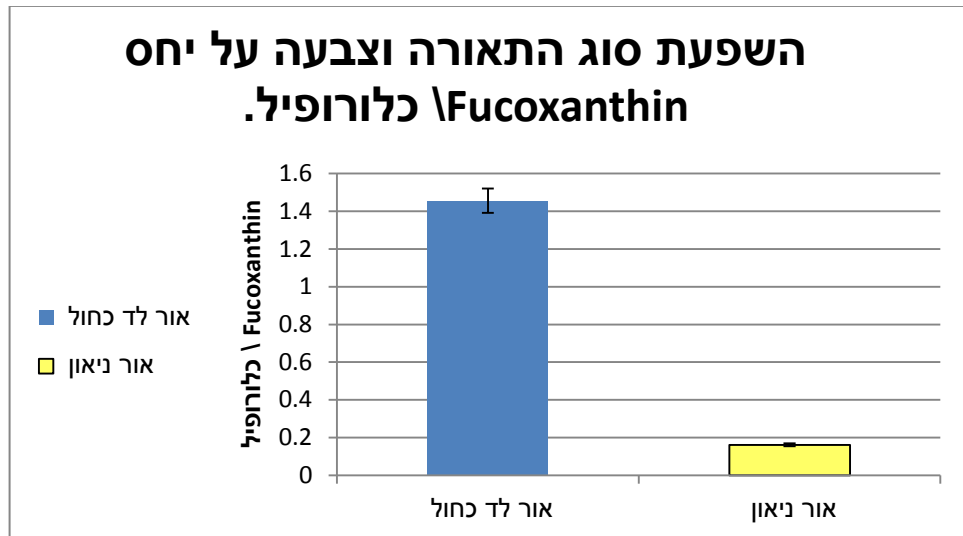


איור 24- תוצאות ניסוי ריכוזי Fucoxanthin מחולקים בצפיפות אצות בתאורות לד שונות לכל טיפול שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

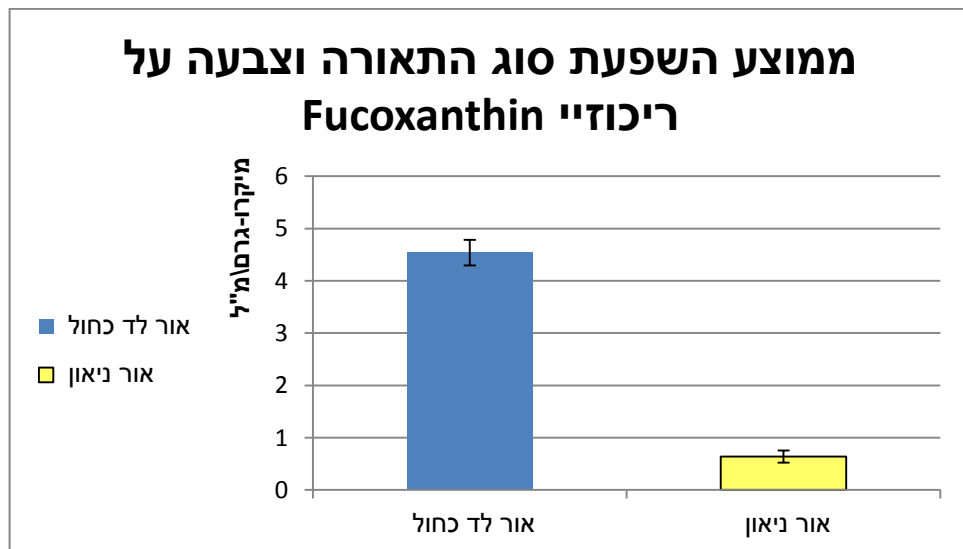
ניסוי 2.1 השפעת הלב הכחול על ריכוזי Fucoxanthin

ניסוי זה נועד על מנת להשוות את הלב הכחול (אשר נראה בניסוי הקודם כמשפיע במידה הרבה ביותר על ריכוזי הפיגמנט) לתאורת הניאון המשמשת לעיתים קרובות בחדרי גידול אצות.

משני האיורים ניתן לראות בבירור יתרון משמעותי ביותר לטובת תאורת הלב הכחולה. בבדיקת היחס הממוצע בין Fucoxanthin לכלורופיל נצפתה עלייה משמעותית בתרבית אשר גודלה באור הלב הכחול לעומת התרבית אשר גודלה באור הניאון (איור 25). בנוסף לכך תוצאות דומות נראו גם בחישוב ממוצע תכולת Fucoxanthin במיקרו-גרם למיליליטר (איור 26).



איור 25- השפעת סוג התאורה וצבעה על ריכוזי Fucoxanthin \ כלורופיל. לכל טיפול שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

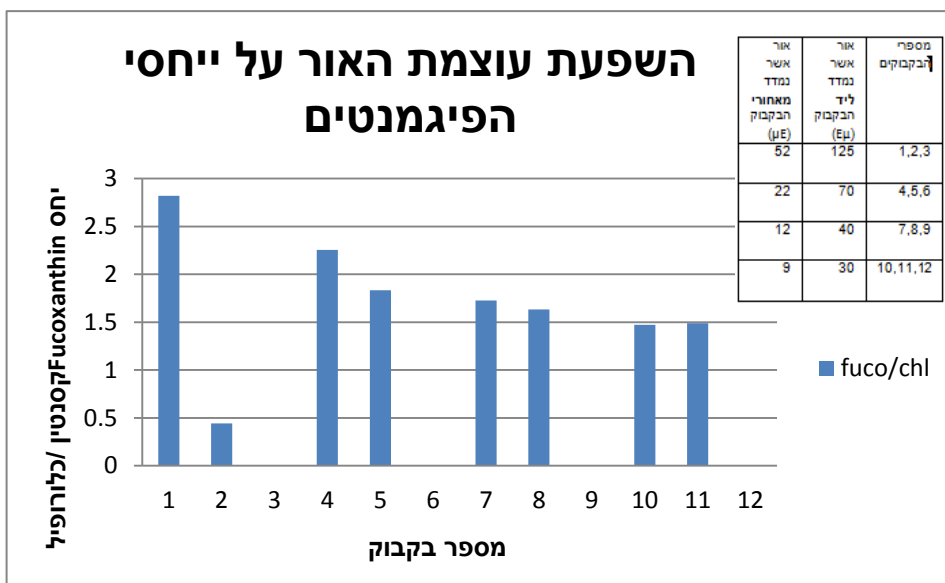


איור 26- השפעת סוג התאורה וצבעה על ריכוזי Fucoxanthin (אשר נמדד ביחידות מיקרו-גרם/מיליליטר). לכל טיפול שלוש חזרות קווי השגיאה מייצגים את סטיית התקן.

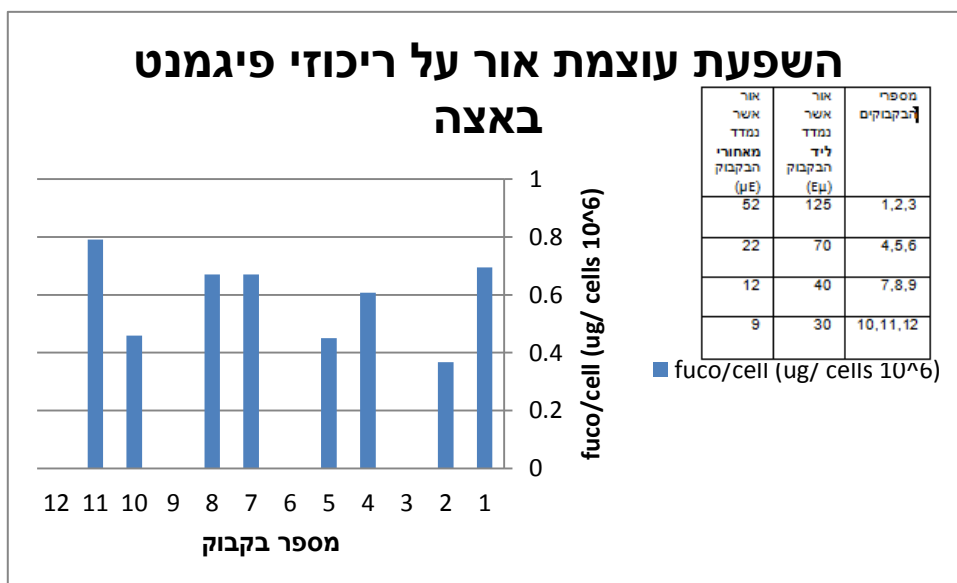
ניסוי 3- השפעת עוצמת האור על ייצור Fucoxanthin – ניאון- 16.07.17

ניסוי זה נועד על מנת לבחון את מידת ההשפעה (במידה וקיימת) של עוצמת האור על ייצור מוגבר של פיגמנט Fucoxanthin באצה *Isochrysis*.

מניסוי השפעת עוצמת האור על יחסי הפיגמנטים (איור 27) ניתן לראות מגמת עלייה כך שכל שעוצמת האור הייתה גבוהה יותר כך עלו גם ריכוזי הפיגמנטים בהתאמה. לעומת זאת בניסוי הבודק את השפעת עוצמת אור על ריכוזי פיגמנט באצה (איור 28) לא ניתן לראות מגמה ברורה (אולי בשל חוסר אחידות ביעילות המיצוי).



איור 27- השפעת עוצמת האור על יחסי הפיגמנטים.

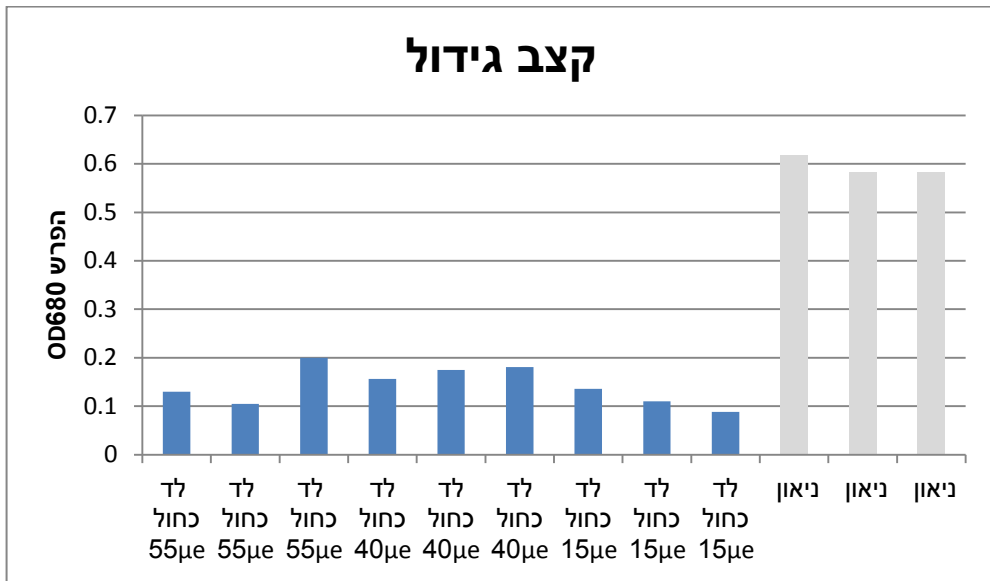


איור 28- השפעת עוצמת אור על ריכוזי פיגמנט באצה.

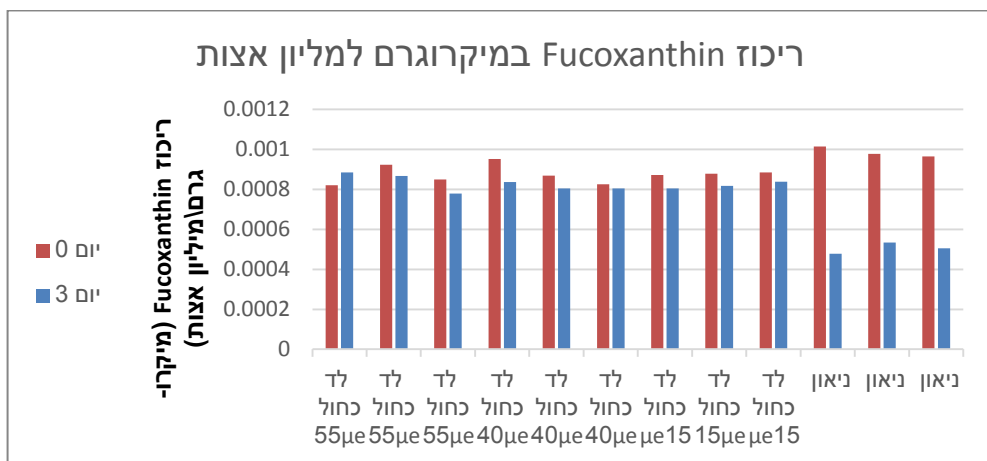
ניסוי 4: השפעת עוצמת לד כחול על ייצור Fucoxanthin באצה Isochrysis

ניסוי זה נערך על מנת לבחון את השפעת עוצמת הלד הכחול על ייצור מוגבר של הפיגמנט Fucoxanthin באצה Isochrysis.

מתוצאות ניסוי זה ניתן לראות בבירור כי האצות שגודלו בתאורת הלד הכחולה גדלו בקצב איטי ביחס לאילו שגדלו בתאורת הניאון. יחד עם זאת, לא נראה שינוי משמעותי בגידול האצות בין עוצמות תאורת הלד השונות (55-15 μE) (איור 29). כמו כן מניסוי זה ניתן לראות כי אומנם קצב הגידול של האצות אשר גודלו בתאורת הלד נמוך יותר אך ריכוז ה-Fucoxanthin שבהן נשמר בניגוד לאצות שגודלו בתאורת הניאון (איור 30). ממצא זה חשוב מאין כמותו, ואפרט לגביו בפרק דיון ומסקנות.



איור 29- גרף המציין את קצב הגידול של האצות בתאורת שונות לפי ההפרש במדידות OD680.



איור 30- ריכוזי Fucoxanthin (מיקרו גרם למיליון אצות) באצות שגודלו שלושה ימים בתנאי תאורה שונים. העמודות האדומות מציגות את הריכוזים בתחילת הניסוי ואילו הכחולות את הריכוזים ביום השלישי.

5. דיון ומסקנות

מטרת המחקר הייתה לגרום לעידוד ייצור הפיגמנט *Fucoxanthin* באצה *Isochrysis*.

במחקר נבדקה השפעתם של צבע האור, עוצמתו, והרעבת האצה לחומרי דשן מסוימים (לדוגמת החנקן), על כמות הפיגמנט באצה.

בעבודה זו נמצאו הממצאים הבאים:

- לעוצמת האור השפעה חיובית על קצב הפוטוסינתזה באצה *Isochrysis*. ככל שעוצמת האור גדולה יותר כך קצב הפוטוסינתזה באצה עולה, עד לעוצמת אור של $300 \mu E$. שיפוע הגרף הולך ומתמתן. עד עוצמה של $200 \mu E$ השיפוע חד יחסית ולאחר מכן הופך להיות מתון יותר ויותר.
- טווח עצמת האור האופטימלי לגידול הפיגמנט באצה *Isochrysis* היה $40 \mu E$ ומעלה. הטיפולים בעוצמה של $40 \mu E$ ו- $55 \mu E$ הראו תוצאות דומות, גבוהות משמעותית מהטיפול הנמוך של עוצמה $15 \mu E$.
- מבין ארבעת הצבעים שנבחנו: אדום, ירוק, לבן וכחול, נמצא כי האור הכחול היה בעל ההשפעה החיובית ביותר על קצב הפוטוסינתזה שמבצעת האצה, מדד הקשור בד"כ גם להתרבות האצה. חשוב לציין כי מכיוון שהניסוי היה פיילוט על אצה זו בחממה באופן כללי השתמשנו בעוצמת אור נמוכה מידי בניסוי ספציפי זה. עובדה זו לא פוגעת במסקנה הנ"ל.
- מבין ארבעת הצבעים שנבחנו: אדום, ירוק, לבן וכחול, נמצא כי האור הכחול היה בעל ההשפעה החיובית ביותר על ריכוזי הפיגמנט בגידול (במיקרו-גרם למ"ל תרבית). לאחר מכן בסדר יורד, הצבע האדום, הירוק ולבסוף הלבן. סטיות התקן בצבע הכחול והלבן היו גדולות יחסית.
- בהשוואה בין הלב הכחול לבין תאורת הניאון נמצא כי הלב הכחול משפיע בצורה טובה יותר באופן משמעותי על ריכוזי הפיגמנט באצה. הצבע הכחול נבחר על בסיס ניסויים מוקדמים (ניסוי 2)

לממצאי המחקרים שערכתי ערך רב בקביעת העמדה כי ניתן לעודד ייצור של פיגמנט ה *Fucoxanthin* באצת ה *Isochrysis*, כפי שניתן לראות בתוצאות ניסוי מספר 4 (איור 30) ובתוצאות ניסוי 2.1 (איורים 25, 26). לממצאים אלו חשיבות כלכלית לה משמעות בתחומי הבריאות והסביבה, בשל היות האצות גידול חקלאי המתאפשר במי-ים (ללא שימוש במים מתוקים).

תוצאות קדם הניסוי (סוגי דשנים), הראו כי הדשן המתאים ביותר לצורך המשך הניסויים הינה דשן שפר או ללא תוספת. טיפולים אילו הראו את הגידול המשמעותי ביותר של האצות בתרבית (איור 20). חשוב לציין כי מחקר זה הינו המחקר הראשון שנעשה על אצה זו בחממה האקולוגית, דבר המחייב אותנו להתעדכן, ללמוד מטעויות ומאחרים ולבצע את השינויים המתאימים (כדוגמת החלפת סוגי הדשנים במהלך המחקר מדשן שפר לדשן BLUE ולבסוף לדשן F\2). תהליך זה היה כחלק מפיתוח פרוטוקול גידול *Isochrysis* במעבדת האצות בחממה. על מנת לקבוע בוודאות מהו הדשן המתאים ביותר, מומלץ להעמיד ניסוי

נוסף המשווה את הדשנים שנבדקו לדשנים המאוחרים יותר שנעשה בהם שימוש במחקר זה (F\2 (BLUE).

מהו טווח עצמת האור האופטימלי לגידול האצה *Isochrysis* וייצור הפיגמנט?

תוצאות ניסוי הפוטוסינתזה בעוצמות תאורה שונות הראו כי ככל שעולה עצמת התאורה עולה קצב הפוטוסינתזה, עד לעצמה של $200 \mu E$, ומעל עוצמת תאורה זו, לא נראתה עלייה בקצב פוטוסינתזה (איור 12). בנוסף לכך נראתה מגמת עלייה בריכוז Fucoxanthin עם העלייה בתאורה עד לעוצמה של $125 \mu E$ (איור 27).

בהסתמך על היחס שנמצא בין עצמת התאורה לפוטוסינתזה (איור 22 ניסוי ראשון) עצמת הקרינה המינימלית לפוטוסינתזה שתגבר על נשימה ותאפשר גדילת אצות נמצאה בסביבות $40 \mu E$ (איור 22). מומלץ לגדל את האצות בתאורה עד לעצמה של כ- $200 \mu E$ אך בעצמות גבוהות יותר גידול האצות לא יואץ ולכן אינו שווה את השקעת האנרגיה הנוספת. לעומת זאת מבחינת ייצור הפיגמנט נראתה מגמת עלייה (אם כי לא מובהקת), עם העלייה בעוצמת התאורה וייתכן שעלייה זו עשויה אף להמשיך בעוצמות תאורה גבוהות מ- $200 \mu E$. תוצאות אלו הולמות את תוצאות מחקרם של Gómez-Loredo et al. (2015), שהראו כי קצב הגידול באצה עולה עם עצמת התאורה, אך אינן מתאימות לממצאיהם כי ריכוזי הפיגמנט אינם עולים בהתאמה לתאורה. לפיכך מומלץ להוסיף ולחקור את ייצור הפיגמנט בעצמות תאורה שונות ובפרט בעוצמות תאורה הגבוהות מ- $125 \mu E$ (היכן שלפי ממצאי עבודה זו אמורה להתחזק מגמת עלייה בייצור הפיגמנט).

השפעת צבע האור על גידול האצות וייצור הפיגמנט

במהלך המחקר בוצעו שני ניסויים הבוחנים את השפעתם של צבעי תאורה שונים על האצה *Isochrysis* ועל ריכוזי הפיגמנטים שבה (ניסויים 1,2 איורים 21-24). מתוצאות ניסויים אילו הוכח כי יעילותו של הלב הכחול עולה באופן משמעותי (בסביבות ה-40%) על יעילותם של הלבנים האחרים שנבדקו (אדום, לבן, ירוק).

בהשוואת תאורת הלב הכחול לתאורת הניאון (ניסוי 2.1 איור 25,26) ניתן לראות הפרש משמעותי הרבה יותר לטובת הלב הכחול. בניסוי אשר בדק את השינוי בפיגמנט לאורך זמן בתאורת אילו (ניסוי 4), נתגלה כי ההפרש בכמות הפיגמנט נובע כנראה מעלייה משמעותית ביכולת שמירת האצות על ריכוזי הפיגמנט הגבוהים המצויים בהן (בניגוד לתאורת הניאון בה ערכי ה- Fucoxanthin ירדו בכ- 50% בכל טיפול). ממצא זה הינו ללא ספק הממצא המשמעותי ביותר בעבודה זו, כיוון שנזק מאפשר למגדל להימנע מירידה משמעותית בריכוזי הפיגמנט שנתגלתה בגידול סטנדרטי בתאורת ניאון. את המנגנון הביולוגי אשר עשוי לעמוד מאחורי הממצא ניתן לתאר כך: כאשר ניתן לאצה אור באורך גל של כ- 460 ננו-מטר (באזור הכחול), אור אשר אינו מיטבי לקליטה על ידי הכלורופיל, האצה ייצרה פיגמנט המתאים לקליטת אורך גל זה כדוגמת ה- Fucoxanthin. לעומת זאת תחת תאורת ניאון לבנה (המכילה תאורה בטווח אורכי גל רחב) ייצרה האצה בעיקר את הפיגמנט כלורופיל שהוא הפיגמנט העיקרי לקליטת אור במערכת הפוטוסינתטית. למסקנות דומות הגיעו Cordoba- Matson et al. (2013) שחקרו את השפעתה של תאורת לבן אדומה ולבנה על גידול

Isochrysis ומצאו כי תאורת ניאון טובה יותר לגידול האצה. לפי פרשנותם, בלד האדום והלבן היו חסרים אורכי גל המתאימים לקליטה על ידי Fucoxanthin.

פרוטוקול הגידול המתאים ביותר לצורכי העשרת ה *Isochrysis* ב Fucoxanthin

לאור ממצאי המחקר שביצעת, הכיוונים שאציע להמשך המחקר יתבססו על פרוטוקול הגידול שבנית במהלך העבודה, אשר נמצא המתאים ביותר לצורכי העשרת ה *Isochrysis* ב Fucoxanthin. הפרוטוקול קובע את התחלת הגידול בתאורת הניאון בעוצמת 200 μE - 300 μE (בתאורה זו האצות מבצעות את הפוטוסינטזה בקצב המהיר ביותר) בתוספת מדיום מסוג 2f עד לצפיפות מירבית, ולאחר מכן להעבירה לתאורת לד כחולה (אשר נמצאה כמשפיעה ביותר מבין כל צבעי התאורה שנבדקו), על מנת לשמור על ערכיה הגבוהים, דבר שאינו מתאפשר בתאורת הניאון. **לאור ממצאי עבודה זו שיטת גידול כזו עשויה להגדיל פי 2 את כמות הפיגמנט המופקת בשטח נתון בהשוואה לגידול סטנדרטי באור ניאון.**

הישגים נוספים במקביל לתהליך המחקר:

במהלך עבודה זו כתבתי שני ערכים בויקיפדיה, בעקבות הידע שצברתי בנושאים השונים. ערך ראשון הינו על אצת האיזוכרוזיס, עליה לא מצאתי מידע מקדים בעברית, מה שהביא אותי לקרוא כמות גדולה מאוד של מחקרים בשפה האנגלית, לצורך בניית דפוס תואם והגדרת האצה בצורה המיטבית והנכונה ביותר. גם לגבי הערך השני שכתבתי, יחידות מדידת הקרינה הפוטו סינטטית האקטיבית - PAR, כמו על אצת האיזוכרוזיס, גם כאן מידע מקדים בעברית לא היה בנמצא, דבר שהוביל לתרגום מחקרים באנגלית וקביעת קו תואם בין כולם (את הערכים שכתבתי בגרסתם המקורית ניתן לראות בפרק נספחים).

חשוב להוסיף כי במהלך התקופה בה ביצעתי את עבודת הגמר ולאור ממצאיה יוצאי הדופן נפתחה חברת סטרט-אפ לייצור פיגמנט הפוקוקסנטיין בשם Algae health ובראשה נימצא ד"ר אורן איילון אשר ליווה את עבודת הגמר במהלך כל תקופת המחקר.



איור 31- אני מסביר על הניסוי לפרופסור אוגטה מיטרה מרצה בכיר באוניברסיטת ניו-קאסל- אנגליה, אשר גילה כי תפקודן של מולקולות אורגניות נקבע על ידי המבנה של המרחבי שלהן, יותר מאשר על ידי הרכבן האטומי.



איור 32- פרופסור אוגטה מיטרה ואני ליד מיתקן האצות שבנית במהלך עבודת הגמר (פירוט על מתקן האצות נמצא בפרק נספחים).



איור 33- תהליך המחקר בעיתון.

6. ביביליוגרפיה

מאמרים


- דובינסקי, צ. (1983). הפרחת הביוב-באצות. "מדע" – עיתון מדעי לכל כרך כ"ז חוברת מספר 2
- Ben-Amotz, A., & Avron, M. (1990). The biotechnology of cultivating the halotolerant alga *Dunaliella*. *Trends in Biotechnology*, 8, 121-126
- Cordoba-Matson, M. V. (2013). Evaluation of growth, cell size and biomass of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-ISO) with two LED regimes. *The All Results Journals: Biol*, 4(1), 7-15.
- Gómez-Loredo, A., Benavides, J., & Rito-Palomares, M. (2016). Growth kinetics and fucoxanthin production of *Phaeodactylum tricornutum* and *Isochrysis galbana* cultures at different light and agitation conditions. *Journal of applied phycology*, 28(2), 849-860.
- Guillard, R. R., & Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella* Nana Hustedt, and *Detonula* Confervacea (CLEVE) Gran. *Canadian journal of microbiology*, 8(2), 229-239.
- Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T., & Miyashita, K. (2004). Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1675(1), 113-119
- Kotake-Nara, E., Sugawara, T., & Nagao, A. (2005). Antiproliferative effect of neoxanthin and fucoxanthin on cultured cells. *Fisheries Science*, 71(2), 459-461
- Kumar, S. R., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2013). Fucoxanthin: A marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Marine drugs*, 11(12), 5130-5147
- Peng, J., Yuan, J. P., Wu, C. F., & Wang, J. H. (2011). Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine drugs*, 9(10), 1806-1828.

אתרים

- Algae properties-size,structure,temperature - Oilgae - Oil from Algae. (n.d.). Retrieved December 14, 2017, from <http://www.oilgae.com/algae/ap/ap.html>
- Fucoxanthin. (2017, December 02). Retrieved December 14, 2017, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Fucoxanthin>
- Beta-Carotene. (2017, December 02). Retrieved December 14, 2017, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Fucoxanthin>
- Beta-carotene. (n.d.). Retrieved December 31, 2017, from <http://www.umm.edu/health/medical/altmed/supplement/betacarotene>
- Pigment. (2017, December 20). Retrieved December 31, 2017, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Pigment>.
- *Isochrysis*. (2017, December 26). Retrieved December 31, 2017, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Isochrysis>.

7. נספחים

נספח 1 – ערך בויקיפדיה שכתבתי במהלך העבודה (איזוכריזיס).



צילום מיקרוסקופי של אצת איזוכריזיס בהגדלת מיקרוסקופ

איזוכריזיס

"איזוכריזיס" (Isochrysis) הינה סוג של מיקרו אצה ימית חומה-צהובה (haptophytes). הוא כולל את המינים: Isochrysis galbana, Isochrysis littoralis ו-Isochrysis maritima. אצת Isochrysis maritima אצה זאת נראת בצורת ביצה, קוטרה 4 עד 6 מיקרומטר. היא מצוידת בשני שוטונים גמישים העוזרים לה לנוע בצורה סיבובית (ספירלית) הודות לזרעים התזזתיים שלה וביניהם חומצת שומן שונות כגון: חומצה stearidonic וחומצה אלפא-ליולנית, lutea שומני betain פוספוליפידים, ו-DHA-docosahexaenoic. הוא אחד המינים הנפוצים ביותר ומשמש להאכלת הלוזות, הגדפות והטרנסים לרבות במכוני רבייה.

אצות [עריכת קוד מקור | עריכה]

אצות הינן קבוצה טורגנית של אורגניזמים, וזן בעלות חשיבות למערכת האקולוגית ולאדם. האצות הינן יצרן ראשוני: הן מבצעות פוטוסינזה, ועל ידי כך מייצרות חומרים אורגניים מחומרים אטומרגניים, ומהוות בסיס לשרשרת המזון. האצות מייצרות כמישים אחד מהחמצן באטמוספירה כמות אדירה של פחמן אורגני, ובשל מספרן הרב, ישנם מחקרים הטוענים שהן אף משפיעות על הטמפרטורה בכדור הארץ. טווח הגדלים שלהן נע ממיקרו אצות חד-תאיות מגודל של 0.5 מיקרון, לאצות רב-תאיות ענקיות המגיעות ל 50 מטר. ישנן אצות המתרבות ברבייה מינית ואלו המתרבות ברבייה א-מינית, ושייכות לקווים אבולוציוניים שונים. כתוצאה מכך מסוגלות האצות להפיק חומרים רבים, את חלקים לאצות רב-תאיות ענקיות המגיעות ל 50 מטר. ישנן אצות המתרבות ברבייה מינית ואלו המתרבות ברבייה א-מינית, ושייכות לקווים אבולוציוניים שונים. כתוצאה מכך מסוגלות האצות להפיק חומרים רבים, את חלקים קשה להשיג באופן אחר. מספר מיני האצות המשוער נע בין מספר עשרות אלפים עד למעלה מ-10 מיליון מינים. כל מין מייצג שילוב ייחודי של תכונות ולכן ממלא תפקיד חיוני כזה או אחר בסביבה הביולוגית שלו. האצות הן לרוב פוטוסינתטיות, מייצרות חמצן וחיות בסביבה מימית. בנוסף, לאצות אין את מבנה הגוף ומנגוני הרבייה של צמחי יבשה אשר מייצגים התאמה לסביבה יבשתית. האצות מתחלקות למיקרו אצות (מיקרוסקופיות) ומקרו אצות (ניתן לראותן בעין).

האצה (Isochrysis) מסוגלת כאמור לייצר פיגמנט (Fucoxanthin) כשהיא נמצאת במצבי קיצון (כלומר תנאי אור, טמפרטורה, תנאי "אוכל" שונים, מליחות גבוהה או מחסור בדשן). בנוסף, מכילה האצה את הפיגמנט שערכו רב ויכול אף להציל חיים.

(c) הראל זוט בן-שבת

ויקיפדיה

האנציקלופדיה החופשית

עמוד ראשי
ברזים הבאים
שידורים אחרונים
ערכים מומלצים
דיווח על טעות
פירושים
עריכת אירועים
תחומה לויקיפדיה

סיפ

כדי להגיע מערך מסוים לערך המקביל בוויקיפדיה בשפה אחרת, לחצו על שם השפה הרצויה בנבחרת שפות אחרות. הכר המניין התחתון של המפרך.

קהילה
שער הקהילה
עזרה
ייעוץ
מזנון
כיצד הערך
חדשות
לוח מודעות

נספח 2 – ערך בויקיפדיה שכתבתי במהלך העבודה (PAR).

https://he.wikipedia.org/wiki/PAR:קרנה פוטוסינטטית,אקטיבית,PAR

הרצל זוט בן שבת

קרנה פוטוסינטטית

עורכים צעירים בגילאי 12 - 17 - עמותת ויקימדיה ישראל ממזינה אתכם למפגש מיוחד לבני העורכים בוויקיפדיה המפגש יתקיים במשרדי העמותה בתל אביב, **ביום חמישי, 14 בדצמבר 2017, החל מהשעה 11:00** לפרטים נוספים ולהרשמה, לחצו כאן

PAR קרנה פוטוסינטטית אקטיבית

PAR (photosynthetically active radiation) הנר יחידת למדידת קרנה פוטוסינטטית אקטיבית.

יחידה זו מגדירה את הערך הספקטוראלי (אורך גל) של קרנה סולארית בין 400-700 ננו-מטר אשר ייצורים פוטוסינטטיים מסוגלים להשתמש בה בתהליך הפוטוסינזה. טווח ספקטוראלי זה הנו פחות או יותר הטווח הנראה לעין אדם. פוטונים באורך גל ארוך יותר אינם נושאים אנרגיה מספקת על מנת לייצר ביצוע של פוטוסינזה.

יחידות [עריכת קוד מקור | עריכה]

יחידות PAR יכולות להימדד כיחידות אנרגיה (W/m²) עובדה זו חשובה למאמן האנרגיה בהתחשב ביצורים פוטוסינטטיים. בנוסף פוטוסינזה הינה תהליך קוונטי ותגובת הכימיקליים שלה יותר במספר הפוטונים מאשר באנרגיה הכלולה בהם. בשל סיבה זו ביולוגים נוטים לנמדד PAR באמצעות מספר הפוטונים בטווח שבין 400-700 ננו-מטר שנמצאו על משטח מסוים בפרק זמן מסוים.

הראל זוט בן שבת

ויקיפדיה

האנציקלופדיה החופשית

עמוד ראשי
ברזים הבאים
שידורים אחרונים
ערכים מומלצים
דיווח על טעות
פירושים
עריכת אירועים
תחומה לויקיפדיה

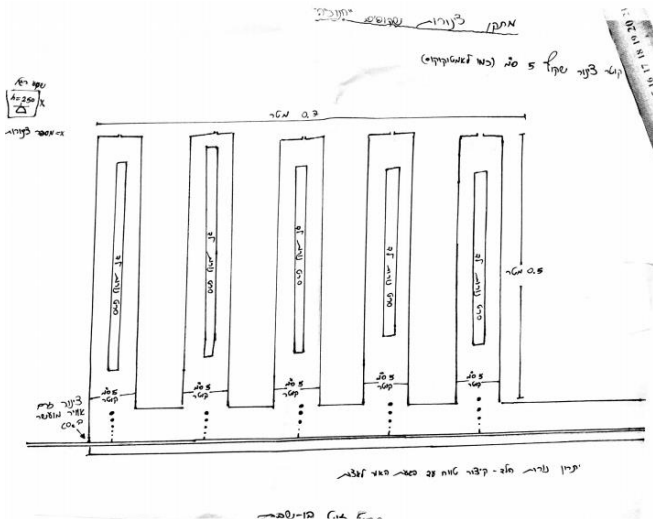
קהילה
שער הקהילה
עזרה
ייעוץ
מזנון
כיצד הערך
חדשות

נספח 3- מתקן אצות

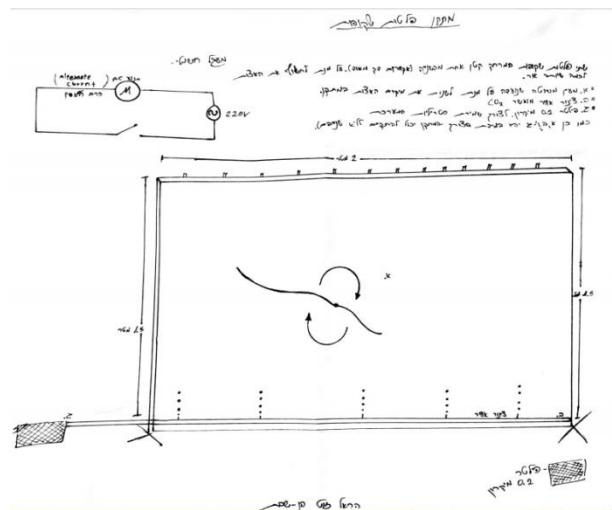
במהלך עבודתי נתקלתי בבעיה טכנית- כל פרק זמן, או מטיפול שגוי או מפאת יום שרבי הטמפרטורה במעבדה הייתה עולה ואיתה טמפרטורת התרבית, דבר שהביא למוות של התרבית בכל פעם מחדש (לפעמים גם תוך כדי ניסוי). דבר שמעכב את כל התהליך עד קבלת תרבית חדשה מאילת וכל זאת עוד מבלי להזכיר את שעות העבודה שירדו לטמיון עם מות התרבית וכישלונות הניסויים.

אבל יש האומרים כי בכל קושי תמונה הזדמנות ולכן,

בעיה זו גרמה לי לפתח (כולל דפי תוכניות, התייעצויות רבות עם מומחים ושעות על גבי שעות של עבודה) מספר אבות טיפוס, אשר בסופו של תהליך הביאו לפיתוח המערכת המדוברת. הרעיון המרכזי מאחוריה היה פיתוח מערכת אשר תוכל להיות כבנק אצות זמין ובמקרה של מחסור באצות אוכל להשתמש ישירות באצות אשר גדלות ומתרבות בבנק האצות שלי.



סקיצת מתקן "פלטות החנוכיה" שימש כאב טיפוס לרעיון מתקן האצות הראשוני. כולל פירוט נתונים.



סקיצת מתקן "פלטות השקופות" שימש כאב טיפוס לרעיון מתקן האצות הראשוני. כולל מעגל חשמלי ופירוט נתונים.

קצת על המערכת.

המערכת בנויה מפלטת זכוכית בצורת שולחן שעליה זורמות האצות אופן קבוע. האצות מוזרמות על ידי סירקולציה של מים אשר נוצרת באמצעות המשאבה אשר אותה לא ניתן לראות בתמונה זו. בנוסף "שקית האינפוזיה" העצומה שניתן לראות בתמונה משמשת לבקרת כמות הדשן הניתנת לאצות (כאשר הפעלתי מערכת זו הזרמתי דשן בטפטוף קבועה בשל הכמות האדירה של תרבית האצות אשר גודלה במערכת זו).

שקית האינפוזיה הגדולה הנראית בתמונה הינה תוספת הדשן המבוקרת על ידי מפעיל המערכת.

למה שהאצות יוזרמו כל הזמן ולא יעמדו במקומם?

הזרמת האצות חשובה בשל מספר גורמים אשר העיקרי שבהן הינו חשיפתן של אצות אילו לאור. כיוון שאצות אילו בעלות פיגמנטים (אינן שקופות) ובשל כך גם זקוקות לאור, כל האצות אשר ימצאו במרכז האקווריום לא יזכו לאור מספיק וימותו תוך זמן קצר.

בשל עובדה זו חשבתי כי הדרך הנכונה ביותר לחשוף את אצות אילו לאור תהיה פריסתן על משטח זכוכית אשר בו קליטת האור לאצה תהייה גם מהחלק העליון (הפתוח לסביבה) וגם מהחזר של האור דרך הרצפה (מהחלק התחתון).

המלצות למפעילי המערכת אחרי

ראשית, על מנת לשפר את המערכת (ולא להיפך) אני ממליץ להכיר אותה על בוריה ולהבין למה כל דבר נמצא במקומו.

שנית, בפן הטכני אמליץ לתת העשרה ב CO_2 מהחלק העליון של האקווריום הגדול כיוון שאצה הינה ייצור פוטוסינטטי ועל כן זקוקה לפד"ח לביצוע הפוטוסינטזה.

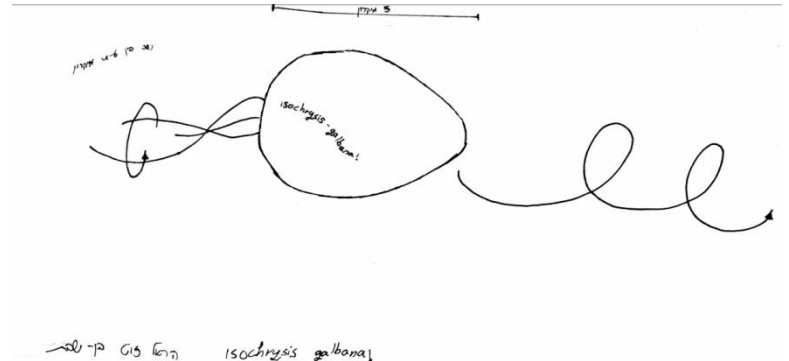
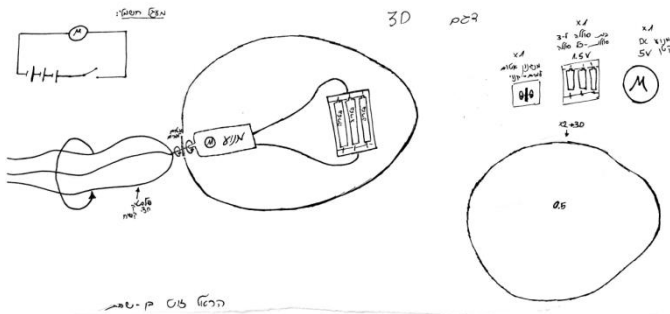


נספח – שרטוטים

במהלך עבודתי זו נעזרתי בשרטוטים רבים לצורכי תכנון והמחשה, שרטוטים אילו שימשו אותי בשני אופנים מרכזיים, האחד הינו בביצוע המשימות אשר הטלתי על עצמי (כדוגמת מתקן האצות) והשני הינו המחשת מבנה האצה ותנועתה (כדוגמת השרטוטים המופיעים מטה) בפרזנטציות (הצגות הנושא) הרבות שביצעתי במהלכו.

שרטוטים אילו הינם רק דוגמא קטנה לידע הנוסף שרכשתי במהלך העבודה כדוגמת:

1. הדפסה בתלת מימד.
2. עבודה מול אנשי מקצוע (כדוגמת חוקרת האצות ד"ר מיכל אוקו).
3. ניהול משברים וכישלונות.
4. חשמלאות ואלקטרוניקה (לצורכי הקמת המערכות וחיבורי הלדים) בעזרתו הרבה של רועי גלס- מנחה תוכנית "מייקרים" בחממה האקולוגית עין שמר.
5. שיווק- לצורך גיוס תלמידים לנושא זה לשנים הבאות.
6. עמידה מול קהל והצגת הנושא הנחקר בפרזנטציות בפני אישיות מוערכות ביותר בתחומן בארץ ובעולם.



סקיצת אב הטיפוס לרעיון המחשת צורת האצה ותנועתה במים לצורכי הדפסה במדפסות ה D3 העומדות לרשותנו ב"חממה". כולל מעגל חשמלי ופירוט נתונים.

סקיצת מתקן צורת האצה ותנועתה.

נספח – טבלאות נתונים

נספח- קדם ניסוי סוגי דשנים.

תאריך	בקבוק מספר 1	בקבוק מספר 2	בקבוק מספר 3
3.3.17	1.415	0.781	0.76
10.3.17	1.668	0.116	1.091
	ללא תוספת	BG11	שפר

נספח- ניסוי 1 פוטוסינתזה בתאורות שונות.

ניסוי ראשון : השפעת עוצמת אור על ייצור פוטוקסנטין באצה איזוכרדיס, והשפעת צבע האור על ייצור הפוטוקסנטין באצה ז.

תאריך התחלה: 7.4.17
תאריך סיום: 7.4.17

טיפולים:
 טיפול 1: בקבוקים 1-3 : חושך
 טיפול 2: בקבוקים 4-6 : ניאון 100μ אינשטיין
 טיפול 3: בקבוקים 7-9 : ניאון 200μ אינשטיין
 טיפול 4: בקבוקים 10-12 : ניאון 300μ אינשטיין
 טיפול 5: לד כחול 5μ אינשטיין
 טיפול 6: לד לבן 5μ אינשטיין
 טיפול 7: לד ירוק 5μ אינשטיין
 טיפול 8: לד אדום 5μ אינשטיין

טבלה מספר 1: השפעת עוצמת אור על ייצור פוטוקסנטין באצה איזוכרדיס, והשפעת צבע האור על ייצור הפוטוקסנטין באצה ז.

מבחנה	עוצמת אור	טיפול	DOO שעה 0	Dot שעה t	הפרש חמצן (mg/L)	הפרש שעה (דקות)	קצב תהליך הפוטוסינתזה (mg/L/דקה)	קצב תהליך הפוטוסינתזה (mg/L/דקה)	ממוצע קצב תהליך הפוטוסינתזה (mg/L/דקה)	סטיית תקן
1	0	חושך	8.91	10:37	6.35	11:28	-2.56	51.00	00:51	0.004869
2	0	חושך	8.71	10:39	6	11:29	-2.71	50.00	00:50	0.004869
3	0	חושך	8.67	10:39	6.4	11:30	-2.27	51.00	00:51	0.004869
4	100	ניאון	8.82	10:40	13.85	11:31	5.03	51.00	00:51	0.005491
5	100	ניאון	8.61	10:41	13.35	11:32	4.74	51.00	00:51	0.005491
6	100	ניאון	8.8	10:43	14.1	11:34	5.3	51.00	00:51	0.005491
7	200	ניאון	8.67	10:43	16.4	11:36	7.73	53.00	00:53	0.005004
8	200	ניאון	8.66	10:44	16.1	11:37	7.44	53.00	00:53	0.005004
9	200	ניאון	8.98	10:44	17.1	11:38	8.12	54.00	00:54	0.005004
10	300	ניאון	8.77	10:45	18.95	11:40	10.18	55.00	00:55	0.021046
11	300	ניאון	8.66	10:46	17.23	11:42	8.57	56.00	00:56	0.021046
12	300	ניאון	8.99	10:47	17.28	11:44	8.29	57.00	00:57	0.021046
13	לד כחול	5ME	8.55	10:47	6.5	11:46	-2.05	59.00	00:59	0.001415
14	לד כחול	5ME	8.5	10:48	6.39	11:47	-2.11	59.00	00:59	0.001415
15	לד כחול	5ME	8.68	10:48	6.39	11:49	-2.29	61.00	01:01	0.001415
16	לד לבן	5ME	8.46	10:49	5.05	11:50	-3.41	61.00	01:01	0.001448
17	לד לבן	5ME	8.52	10:50	5	11:52	-3.52	62.00	01:02	0.001448
18	לד לבן	5ME	8.63	10:50	4.93	11:53	-3.7	63.00	01:03	0.002301
19	לד ירוק	5ME	8.36	10:51	4.95	11:54	-3.41	63.00	01:03	0.002301
20	לד ירוק	5ME	8.2	10:52	4.9	11:56	-3.3	64.00	01:04	0.002301
21	לד ירוק	5ME	8.42	10:52	4.77	11:57	-3.65	65.00	01:05	0.001454
22	לד אדום	5ME	8.26	10:53	4.6	11:58	-3.66	65.00	01:05	0.001454
23	לד אדום	5ME	8.24	10:53	4.5	12:00	-3.74	67.00	01:07	0.001454
24	לד אדום	5ME	8.29	10:54	4.7	12:01	-3.59	67.00	01:07	0.001454

נספח – ניסוי 2 השפעת צבע האור על ריכוזי פיגמנטים באצה.

ניסוי השפעת צבע האור על ריכוזי פיגמנטים באצה (אומג'ין)											
האריך המשולב											
האריך שני											
השפעת											
ניסוי 1: בנקובים 1-3 דלי כולל											
ניסוי 2: בנקובים 4-6 דלי אצות											
ניסוי 3: בנקובים 7-9 דלי עין											
ניסוי 4: בנקובים 10-12 דלי עין											
מבנה ניסוי 4: השפעת צבע האור על ריכוזי פיגמנטים באצה (אומג'ין)											
מספר	מבחנה	צבע האור	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת	השפעת
1	1	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066
2	2	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149	0.149
3	3	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261	0.261
4	4	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337	0.337
5	5	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
6	6	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
7	7	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
8	8	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
9	9	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
10	10	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
11	11	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432
12	12	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432	0.432

נספח – ניסוי 2.1 השפעת סוג האור על ריכוזי פיגמנטים באצה.

avg 10 ⁶ cells/ml	count5	count4	count3	count2	count1	OD680	dilution
1.45	7	3	8	4	7	0.066	1
2.95	9	9	10	17	14	0.149	2
4.35	17	13	21	22	14	0.261	3
4.7	19	17	13	21	24	0.337	4
7.1	29	32	26	30	25	0.432	5
0					0	0	0

נספח- ניסוי 3 השפעת עוצמת אור על ריכוזי פיגמנטים באצה.

ניסוי שלישי: השפעת עוצמת אור על ייצור פוקוסנטין באצה איזוכריזיס

תאריך התחלה: 10.7.17
תאריך סיום: 17.7.17

טיפולים:
טיפול 1: בקבוקים 1-3 : מקבלים את כמות האור הגדולה ביותר (ליד הבקבוק 125 מאחורי הבקבוק 52)
טיפול 2: בקבוקים 4-6: כמות האור שקולטים נמוכה משל טיפול 1 (ליד הבקבוק 70 מאחורי הבקבוק 22)
טיפול 3: בקבוקים 7-9: כמות האור שקולטים נמוכה משל טיפול 2 (ליד הבקבוק 40 מאחורי הבקבוק 12)
טיפול 4: בקבוקים 10-12: כמות האור שקולטים נמוכה משל טיפול 3 (ליד הבקבוק 30 מאחורי הבקבוק 9)

טבלה מספר 3: השפעת עוצמת אור על ייצור פוקוסנטין באצה איזוכריזיס

מספר בקבוק	OD680	OD664	OD444	OD444/OD664	OD444/OD680	cells densi	fuco (ug/m	chl a (ug/m	fuco/cell (u	chl a/cell (u	עצמת אור	ספירת תאינ	ספירת תאינ	ספירת תאינ	ספירת תאינ	מליו
1	106	219	41	2.066038	1.8986	1.8986	1.319277	0.46781	2.820113	0.694868	125	5	8	8	1.75	
2	115	124	148	1.078261	2.0345	2.0345	0.746988	1.68868	0.44235	0.36716	125	7	10	9	2.166667	
3	173	0	0	0	2.9103	2.9103	1.620482	0.71883	2.254333	0.607218	70	14	12	18	3.666667	
4	157	269	63	1.713376	2.6687	2.6687	2.325301	1.34638	1.727076	0.670309	40	21	20	16	4.75	
5	137	177	51	1.291971	2.3667	2.3667	2.162651	1.32356	1.633965	0.670091	40	21	20	16	4.75	
6	194	0	0	0	3.2274	3.2274	2.325301	1.34638	1.727076	0.670309	40	21	20	16	4.75	
7	210	386	118	1.838095	3.469	3.469	2.325301	1.34638	1.727076	0.670309	40	21	20	16	4.75	
8	194	359	116	1.850515	3.2274	3.2274	2.162651	1.32356	1.633965	0.670091	40	21	20	16	4.75	
9	250	0	0	0	4.073	4.073	2.325301	1.34638	1.727076	0.670309	40	21	20	16	4.75	
10	322	393	141	1.220497	5.1602	5.1602	2.36747	1.60881	1.471566	0.458794	30	21	20	16	4.75	
11	296	626	222	2.114865	4.7676	4.7676	3.771084	2.53302	1.48877	0.790982	30	21	20	16	4.75	
12	258	0	0	0	4.1938	4.1938	3.771084	2.53302	1.48877	0.790982	30	21	20	16	4.75	

נספח- ניסוי 4 השפעת עוצמת הלב הכחול על ריכוזי פיגמנטים באצה.

ניסוי רביעי: השפעת צבע אור על ייצור פוקוסנטין באצה איזוכריזיס

תאריך התחלה: 9.11.17
תאריך סיום: 12.11.17

מידה ראשונה: 9.11.17
מידה שנייה: 12.11.17

טיפולים:
טיפול 1: בקבוקים 1-3 : לב כחול 55µm
טיפול 2: בקבוקים 4-6: לב כחול 40µm
טיפול 3: בקבוקים 7-9 : לב כחול 15µm
טיפול 4: בקבוקים 10-12: ניאון

טבלה מספר 4: השפעת עוצמת לב כחול על ייצור פוקוסנטין באצה איזוכריזיס

חשוב חשוב - הבקבוקים שמספרם 1,2,3 התחממו מתאורת הלב ולכן יכולה להראות ירידה או פגיעה בערכים

מספר מבחן טיפול	הוכנס לחושך	ספקטרום OD 680 לאצות עצמן	ספקטרום OD 680 לאצות עצמן	OD 444	OD 444	OD 444	OD 664	OD 664	ריכוז פוקו במיקרוגרם למ"ל	ריכוז פוקו במיקרוגרם למ"ל	קצב גדול	הפרש 444
1	למשך שעה בדיוק	0.9	0.77	1.625	2.039	0.745	0.965	0.745	0.13	0.414	0.13	0.414
2	למשך שעה בדיוק	0.855	0.75	1.781	1.901	0.828	0.768	0.828	0.105	0.12	0.105	0.12
3	למשך שעה בדיוק	0.96	0.76	1.661	1.912	0.8	0.778	0.8	0.2	0.251	0.2	0.251
4	למשך שעה בדיוק	0.911	0.755	1.849	1.95	0.794	0.877	0.794	0.156	0.101	0.156	0.101
5	למשך שעה בדיוק	0.95	0.775	1.731	1.954	0.766	0.874	0.766	0.175	0.223	0.175	0.223
6	למשך שעה בדיוק	0.959	0.778	1.651	1.975	0.743	0.901	0.743	0.181	0.324	0.181	0.324
7	למשך שעה בדיוק	0.886	0.75	1.681	1.825	0.801	0.74	0.801	0.136	0.144	0.136	0.144
8	למשך שעה בדיוק	0.873	0.763	1.723	1.83	0.804	0.79	0.804	0.11	0.107	0.11	0.107
9	למשך שעה בדיוק	0.85	0.762	1.733	1.828	0.782	0.75	0.782	0.088	0.095	0.088	0.095
10	למשך שעה בדיוק	1.001	0.382	1.022	1.223	0.413	0.5	0.413	0.619	0.201	0.619	0.201
11	למשך שעה בדיוק	0.985	0.403	1.035	1.345	0.417	0.477	0.417	0.582	0.31	0.582	0.31
12	למשך שעה בדיוק	0.993	0.41	1.04	1.281	0.435	0.465	0.435	0.583	0.241	0.583	0.241