המרכז הארצי להצלת צבי ים
פרסומים מדעיים 2023

הקדמה

המרכז הארצי להצלת צבי ים הוקם לצורך שיקום צבי ים פגועים והשבתם לטבע ולמחזור הרבייה כחלק מתכנית הממשק של רשות הטבע והגנים. תכנית זו נועדה לשמירה על אוכלוסיות צבי הים אשר נמצאים בסכנת הכחדה וכחלק מהתחייבויות המדינה מול אמנות בינלאומיות. מעבר לטיפול הישיר בצבי הים והתפקוד כבית חולים, מרכז ההצלה מהווה מקור להגברת מודעות ובסיס למחקרים רבים ושיתופי פעולה עם חוקרים בארץ ובעולם.

מרכז ההצלה מקבל דיווחים על צבי ים מתים ופצועים, הפצועים מגיעים לטיפול בבית החולים. החזקה של צבי ים מהטבע לתקופת השיקום מאפשרת לנו הצצה מקרוב על בעלי חיים מרתקים אלו אשר חיים את חייהם בים וההיתקלויות של האדם מולם מעטות ונדירות יחסית. אי לכך, גם הידע עליהם מועט והשימוש בחלון הזדמנויות זה מהווה בסיס נהדר למחקרים שאינם פוגעניים למטרות שמירת טבע ולשיפור מאמצי השימור. בזכות יוזמות ומחקרים משותפים, המרכז משמש פלטפורמה דינמית לקידום הבנתנו את הביולוגיה, האקולוגיה וצרכי השימור של צבי הים. ביצוע מחקר בהיבטים השונים של התנהגות צבי ים, פיזיולוגיה ודינמיקה של בתי גידול, משפר את יכולתנו לפתח אסטרטגיות שימור ממוקדות ושיטות ניהול.

להלן, רשימת מאמרים מדעיים שפורסמו בשנת 2023 במגזינים מדעיים כחלק ממחקרים הפועלים במרכז ההצלה לצבי ים

תוכן עניינים

אבולוציה של גנים חושיים וחיסוניים שונים בצבי ים עם דמוגרפיה והיסטוריית חיים מנוגדת 2

עיוורון הנגרם כתוצאה מנגיעות בטפיל דם *Learedius learedi* בצב ים ירוק *Chelonia mydas* בצפון ים סוף 3

טיפול בפנאומוצלום ובקריסת ריאות משנית בצב ים (*Caretta caretta*) שנפלט במזרח הים התיכון, ישראל 4

רמות הורמוני פלזמה של צב הירוק *Chelonia mydas* מפרטים שגודלו בשבי ככלי לחיזוי הזדווגות וביציות. 5

פיתוח בדיקת אלייזה לקביעת ריכוזי פלסמת FSH בצב ים ירוק (*Chelonia mydas*), באמצעות גונדוטרופינים רקומביננטיים 6

מקורות 7

הגנום של צב הים הירוק פותח מדגימות צבי גרעין הרבייה ותרם למחקר הבא בשיתוף פעולה עם חוקרים בגרמניה, ברזיל וישראל (פרופסור ירון טיקוצ'ינסקי):



צבי גרעין הרבייה "מתחרדנים" ומתקשרים צילום: יניב לוי

אבולוציה של גנים חושיים וחיסוניים שונים בצבי ים עם דמוגרפיה והיסטוריית חיים מנוגדת
(Bentley et al., 2022)

צבי הים מייצגים שושלת עתיקה של בעלי חוליות ימיים שהתפתחו מאבותיהם הקדמונים היבשתיים מעל 100 מיליון שנים. הבסיס הגנומי של התכונות הפיזיולוגיות והאקולוגיות הייחודיות המאפשרות למינים אלה לשגשג בבתי גידול ימיים מגוונים נותר ברובו לא ידוע. בנוסף, אוכלוסיות רבות הצטמצמו באופן דרסטי עקב פעילויות אנתרופוגניות במאתיים השנים האחרונות, והתאוששותן נמצאת כיום בעדיפות עולמית גבוהה לשימור. יצרנו וניתחנו גנום להשוואה באיכות גבוהה עבור צב הים הגלדי וצב הים הירוק, המייצגים את שתי משפחות צבי הים הקיימות. גנומים אלה הם מאוד סינטנים והומולוגיים, אך אזורים מקומיים של אי-קולינאריות היו קשורים למספר העתקים גבוה יותר של גנים של קולטני חיסון, אצבע אבץ וקולטני ריח (OR) בצבים ירוקים, כאשר ORs הקשורים לריחות הנישאים במים התרחבו מאוד בצבים ירוקים. הממצאים שלנו מצביעים על כך שאבולוציה שונה של משפחות גנים מרכזיות אלה עשויה לעמוד בבסיס התאמות אימונולוגיות וחושיות המסייעות לניווט, אכלוס של סביבות נריטיות לעומת פלגיות והתמחות בתזונה. קולינאריות מופחתת הייתה נפוצה במיוחד במיקרוכרומוזומים, עם תכולת גנים גדולה יותר, הטרוזיגוזיות ומרחקים גנטיים בין מינים, מה שתמך בתפקידם הקריטי בהסתגלות אבולוציונית של בעלי חוליות. לבסוף, המגוון וההיסטוריה הדמוגרפית עמדו בניגוד מוחלט בין המינים, מה שמצביע על כך שצב הים הגלדי בעל גודל אוכלוסייה אפקטיבי נמוך אך יציב, הציג מגוון נמוך מאוד בהשוואה לזוחלים אחרים, ונושא עומס גנטי גבוה יותר בהשוואה לצב הים הירוק, מה שמחזק את החשש לגבי התמדתם בתרחישי אקלים עתידיים. גנומים אלה מספקים משאב שלא יסולא בפז לקידום הבנתנו את האבולוציה ואת שיטות העבודה המומלצות לשימור בשושלת חולייתנים בסכנה.

Bentley, B. P., Carrasco-Valenzuela, T., Ramos, E. K. S., Pawar, H., Souza Arantes, L., Alexander, A., Banerjee, S. M., Masterson, P., Kuhlwilm, M., Pippel, M., Mountcastle, J., Haase, B., Uliano-Silva, M., Formenti, G., Howe, K., Chow, W., Tracey, A., Sims, Y., Pelan, S., … Komoroske, L. M. (2023). **Divergent sensory and immune gene evolution in sea turtles with contrasting demographic and life histories.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *120*(7), 2017. https://doi.org/10.1073/pnas.2201076120

נוריאלה – נקבת צב ים ירוק שהגיעה למרכז ההצלה לטיפול, ד"ר דני מוריק.



נוריאלה במהלך סריקת CT במרפאת כל חי

צילומים: יניב לוי

עיוורון הנגרם כתוצאה מנגיעות בטפיל דם *Learedius learedi* בצב ים ירוק *Chelonia mydas* בצפון ים סוף (Morick, Bachmann, et al., 2023)

טפילי דם ספירורכידים (Spirorchiid) נפוצים בצבי ים, גורמים למחלות ותמותה באוכלוסיותיהם, עם שכיחות גבוהה בימים ואוקיינוסים שונים. מלבד היותם הגורמים הטפיליים המובילים להחפה של צבי ים באזורים שונים בעולם, טפילים אלו עלולים לגרום לאנדוקרדיטיס, וסקוליטיס, פקקת, גרנולומות ביצים מיליאריות ומפרצת, מה שבסופו של דבר עלול לסכן את הישרדותם של צבי הים הירוקים. מקרים חמורים יותר עלולים לגרום גם לדלקת קרום המוח גרנולומטית מולטיפוקלית או דלקת ריאות, שתיהן יכולות להיות קטלניות. כאן אנו מדווחים על מקרה ראשון של צב ים ירוק נגוע בטפיל דם *Learedius learedi* בצפון ים סוף, שגרם לצב לעיוורון דו צדדי. בנתיחה שלאחר המוות נחשפו גרנולומות מרובות עם ביצי תולעים שטוחות בתוך עצב הראייה, בעיניים, בטחול, בשריר הלב ובריאות. הטפיל זוהה כ-*Learedius learedi* באמצעות פריימרים ספציפיים של הגנום הריבוזומלי ורצפי COI שהתקבלו והושוו לרצפים מ-GenBank. ממצאים אלה מדגישים את החשיבות של הכרה באופי המערכתי של הזיהום המסוים הזה, על מנת להגן בסופו של דבר על חייהם של בעלי חיים ימיים אלה ולהבטיח את קיומם של מינים אלה בטבע.

Morick, D., Bachmann, V. M., Shemesh, E., Botero-Anug, A. M., Zemach-Shamir, Z., Aizenberg, Z., Davidovich, N., Goldberg, D. W., Kan, G., Ofri, R., Tchernov, D., & Levy, Y. (2023). **Case report: Blindness associated with Learedius learedi trematode infection in a green sea turtle, Chelonia mydas, of the northern Red Sea.** *Frontiers in Veterinary Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1258522

קארין 26/10/2021 נפלטה בחיפה עם בעיות ציפה והובאה לטיפול רפואי במרכז ההצלה לצבי ים, ד"ר דני מוריק.



צילום: יניב לוי



צילום: צחי אייזנברג

טיפול בפנאומוצלום ובקריסת ריאות משנית בצב ים (*Caretta caretta*) שנפלט במזרח הים התיכון, ישראל (Morick, Levy, et al., 2023)

מחקר זה מתאר מקרה של קריסת ריאות ותיקונה המוצלח בצב ים חום, תוך שימוש בניקוז מבוקר של אוויר מחלל הצלום דרך האזור הקדם-פמורלי. צב הים נמצא במצב של ציפה צידית בים, אובחן באמצעות סריקת טומוגרפיה ממוחשבת, טופל בהצלחה והוחזר לים לאחר תקופת שיקום של 6 שבועות.

Morick, D., Levy, Y., & Davidovich, N. (2023). ***Pneumocoelom and secondary lung collapse treatment in a stranded loggerhead sea turtle (Caretta caretta) in the eastern Mediterranean Sea , Israel. July 2022.*** https://doi.org/10.1002/vrc2.665

גרעין הרבייה של צב הים הירוק נדגם מדי שנה משנת 2017. מטרת הדיגום הינה לאבחן את המצב הבריאותי, לאפיין לראשונה בעולם את המחזור ההורמונלי של מין זה. העבודה מתבצעת על ידי החוקר דר. יוסי אייזן ותלמידותיו אולגה רובין ואושר סופר.



ד"ר יוסי אייזן וד"ר יניב לוי דוגמים צב מגרעין הרבייה צילום: אמיר כהן

רמות הורמוני פלזמה של צב הירוק *Chelonia mydas* מפרטים שגודלו בשבי ככלי לחיזוי הזדווגות וביציות (Rubin et al., 2023)

ריכוזי אסטרדיול (E2), טסטוסטרון (T), פרוגסטרון (P4) וביוכימיה של הדם נוטרו בנקבת הצב הירוק *Chelonia mydas* משנת 2017 באופן רציף בבריכות הרבייה של צבי הים בישראל. הגורמים שנבדקו נותחו ביחס לפעילות הרבייה של הנקבה בעונת הרבייה שלאחר מכן: מטילות עתידיות (FN)ולא מטילות .(NN) הניתוח שלנו הראה שינויים משמעותיים בכל שלושת הסטרואידים המיניים, E2, T, P4, וב- 13 פרמטרים ביוכימיים בדם בין שתי קבוצות הנקבות שנבחנו. כל הנקבות הציגו פרופילי E2 עקביים משנה לשנה, עם עלייה אחת בספטמבר בנקבותFN . ריכוזי P4 בנקבות המטילות היו גבוהים באפריל (הזדווגות) וגבוהים יותר לקראת תחילת יוני בשל הביציות, נקבות שהציגו ריכוזים מעל 1 ננוגרם למ"ל היו בעלות הטלות מוצלחות (8 נקבות: נקבה אחת בשנת 2018, 5 בשנת 2019 ו-2 בשנת 2020). פרופילי ה-T היו גבוהים בתחילת הויטלוגנזה לקראת נובמבר ושוב גבוהים במהלך אפריל. הצלחנו לחזות אילו נקבות יכנסו לתהליך ההטלה עם פרופיל ספציפי שנראה רק אצל נקבות - FN ריכוזי P4 גבוהים מפברואר עד יוני ועלייה בריכוזי המטבוליטים, אלקטרוליטים וריכוזי גמא-גלוטמיל טרנספראז (GGT) לקראת נובמבר. בעתיד, חיזוי זה יאפשר בחירה סלקטיבית של זוגות הזדווגות כדי להבטיח שהשונות הגנטית של אוכלוסיית הים התיכון תישמר. מספר ההטלות לנקבה היה בין 2 ל-6, עם 25 בסך הכל. הנקבות הטילו בממוצע 91 ± 7 ביצים (טווח 39-139 ביצים) לקן עם שיעור בקיעה של ~10% (0-58%). באופן כללי, אותה מגמה בריכוזי סטרואידים במחזור הדם התגלתה לאורך השנים אצל הנקבות שהגיעו להטלות רק כאשר הושג סף מסוים. במחקר זה כל הגורמים שהוזכרו לעיל יכולים להצביע על הטלה עתידית לפחות 6 חודשים מבעוד מועד כפי שניתן לראות בניתוח PCA. מידע זה יכול לתרום להצלחת תכניות הרבייה של צבי ים ירוקים בשבי ובתקווה יסייע למרכז ההצלה הישראלי לחזות ולהיערך לפעילות הרבייה בשנים הבאות.

Rubin, O., Soffer, O., Levy, Y., & Aizen, J. (2023). **Plasma hormone levels in the green turtle Chelonia mydas reared under captivity as a tool to predict mating and oviposition.** *Frontiers in Marine Science*, *10*(February), 1–11. https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1132573



זקיקים מפותחים של נקבת צב ים ירוק צילום: יניב לוי

פיתוח בדיקת אלייזה לקביעת ריכוזי פלסמת FSH בצב ים ירוק (*Chelonia mydas*), באמצעות גונדוטרופינים רקומבינננטיים(Soffer et al., 2023)

הורמון מגרה זקיקים (FSH) מעורב בוויסות של תהליכי רבייה חיוניים כגון Gametogenesis וצמיחת זקיקים. כיום אין בדיקות למדידת FSH בצבים. לאחרונה ייצרנו בצב ים ירוק (*Chelonia mydas*) חלבון רקומבינננטי FSH (r) כפוליפפטיד בעל שרשרת אחת באמצעות מערכת ביטוי שמרים מתילוטרופיים ,Pichia pastoris ונוגדנים עבור FSH רקומבינננטי. בעבודה זו פיתחנו בדיקת אלייזה תחרותית (ELISA) למדידת ריכוזי FSH בדגימות פלזמה מצבי ים ירוקים. השתמשנו ב - rFSHβα לעקומת הכיול rFSHβ, לציפוי ונוגדן .cmFSHβ הרגישות של המבחן הייתה 0.13 ננוגרם/מ"ל ומקדמי השונות בתוך המבחן והבין-מבחני היו 5.54% ו-13.52% בהתאמה. נצפתה הקבלה בין עקומות הכיו של FSH לבין מיהולים סדרתיים של דגימות פלזמה של צבי ים ירוקים. כמו כן, ראינו מקבילות בין הסטנדרטי הליניארי לבין מהילים סיראליים של דגימות פלזמה מצב הים החום (*Caretta caretta*) צב הים הקרני (*Eretmochelys imbricate*) והצב הרך (*Trionyx triunguis*). ה ELISA תשמש לחקר ריכוזי פלסמת FSH במהלך מחזורי הרבייה ויחד עם השוואה לריכוזי סטרואידים הורמונליים (טסטוסטרון, אסטרדיול ופרוגסטרון). מצאנו מתאם חיובי בין FSH וריכוזי אסטרדיול בנקבות; ריכוזי האסטרדיול עלו מיד לאחר העלאת FSH. בנוסף, נקבות מטילות הציגו עלייה בריכוזי FSH לפני עליית פרוגסטרון בחודשים ינואר עד אפריל, מעט לפני הטלת הביצים. פיתוח ELISA זו תגביר את הבנתנו את בנושא תפקידי הגונדוטרופין, ואת השפעתם על רבייה בצב הים הירוק.

Soffer, O., Rubin, O., Levy, Y., & Aizen, J. (2023). **Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for determining FSH plasma concentrations in green sea turtle (Chelonia mydas), using recombinant gonadotropins**. *Frontiers in Marine Science*, *10*(September), 1–14. https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1260205

מקורות

Bentley, B. P., Carrasco-Valenzuela, T., Ramos, E. K. S., Pawar, H., Souza Arantes, L., Alexander, A., Banerjee, S. M., Masterson, P., Kuhlwilm, M., Pippel, M., Mountcastle, J., Haase, B., Uliano-Silva, M., Formenti, G., Howe, K., Chow, W., Tracey, A., Sims, Y., Pelan, S., … Komoroske, L. M. (2023). Divergent sensory and immune gene evolution in sea turtles with contrasting demographic and life histories. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *120*(7), 2017. https://doi.org/10.1073/pnas.2201076120

Bentley, B. P., Carrasco-Valenzuela, T., S., R. E. K., Pawar, H., Souza, L., Arantes, Alexander, A., Banerjee, S. M., Masterson, P., Kuhlwilm, P., Pippel, M., & Mountcastle, J. (2022). *Differential sensory and immune gene evolution in sea turtles with contrasting demographic and life histories*. https://doi.org/10.1101/2022.01.10.475373

Morick, D., Bachmann, V. M., Shemesh, E., Botero-Anug, A. M., Zemach-Shamir, Z., Aizenberg, Z., Davidovich, N., Goldberg, D. W., Kan, G., Ofri, R., Tchernov, D., & Levy, Y. (2023). Case report: Blindness associated with Learedius learedi trematode infection in a green sea turtle, Chelonia mydas, of the northern Red Sea. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1258522

Morick, D., Levy, Y., & Davidovich, N. (2023). *Pneumocoelom and secondary lung collapse treatment in a stranded loggerhead sea turtle (Caretta caretta) in the eastern Mediterranean Sea , Israel*. *July 2022*. https://doi.org/10.1002/vrc2.665

Rubin, O., Soffer, O., Levy, Y., & Aizen, J. (2023). Plasma hormone levels in the green turtle Chelonia mydas reared under captivity as a tool to predict mating and oviposition. *Frontiers in Marine Science*, *10*(February), 1–11. https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1132573

Soffer, O., Rubin, O., Levy, Y., & Aizen, J. (2023). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for determining FSH plasma concentrations in green sea turtle (Chelonia mydas), using recombinant gonadotropins. *Frontiers in Marine Science*, *10*(September), 1–14. https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1260205