

מעיינות החיים בים המוות

דני יונסקו, סטפן האוסלר, כריסטיאן סיברט, באטריז נוריגה-אורטגה

הקדמה

ים המלח הוא מגופי המים המלוחים ביותר בעולם. אידוי מוגבר ואינטראקציה עם הסלעים בסביבה לאורך תקופות ארוכות שינו את הרכב המלחים באגם, וכיום היונים העיקריים באגם הם Ca^{2+} ו- Na^+ , Mg^{2+} (Oren, 2010). ים המלח קרוי לעתים תכופות ים המוות, אך כבר יותר מ-80 שנה ידוע שהגדרה זו אינה נכונה, לפחות כל עוד מדובר במיקרואורגניזמים. מאז ועד היום בודדו חוקרים חיידקים רבים, בקטריה וארכיאה, ממי האגם (Wilkansky, 1936). עם זאת ים המלח אינו ניהן בעושר המינים ובריכוזי החיידקים המוכרים מסביבות מלוחות אחרות. לא אחת אנו נתקלים בארץ ובעולם בכריכות על-מלוחות שצבען ורוד. צבע זה נובע מריכוז גבוה של ארכיאה ובקטריה הלופילים (אוהבי מלח), המכילים פיגמנטים של רודופסין וקרוטנואידים שונים. חיידקים אלו מתמודדים בקביעות עם ריכוזי מלחים הדומים לאלו שבים המלח אך בעלי הרכב שונה. יוני המגנזיום והסידן רעילים במיוחד ליצורים חיים, ורק מספר מצומצם יחסית של מיקרואורגניזמים יכול להתמודד עם הריכוזים המצויים בים המלח. נוסף על הרכב המלחים הייחודי, זרחן הוא גורם המגביל גדילת חיידקים בים המלח. בעונות גשומות מאוד, כמות המים שנכנסים לים המלח דרך הירדן או דרך הוואדיות המקיפים את האגם גורמת למיהול של שכבת המים העליונה. ירידה זו

* ד"ר דני יונסקו הוא פוסט-דוקטורנט במכון מקס פלאנק למיקרוביולוגיה ימית, ברמן, גרמניה; סטפן האוסלר הוא דוקטורנט במכון מקס פלאנק למיקרוביולוגיה ימית, ברמן, גרמניה; כריסטיאן סיברט הוא חוקר במכון הלמהולץ למחקר סביבתי, האלה-סאלה, גרמניה; באטריז נוריגה-אורטגה היא דוקטורנטית במכון מקס פלאנק למיקרוביולוגיה ימית, ברמן, גרמניה.

במליחות המים, יחד עם החדרה של זרחן ממקור יבשתי, גורמות לשינוי באוכלוסיית המיקרואורגניזמים באגם. אירועים כאלו תועדו בשנים 1964, 1980-1982 ו-1992 (Oren and Gurevich, 1995). עם הירידה במליחות מתרחשת פריחה של אצה הלופילית, חד-תאית – *Dunaliella sp.* עד לאחרונה הייתה דונליאלה היצרן הראשוני היחיד המוכר מים המלח. במחקרנו מוצגים נתונים חדשים, שיידונו בהמשך. עלייה בריכוז החיידקים ההלופילים (בעיקר ארכיאה) נצפית במהרה יחד עם פריחת הדונליאלה. ריכוז החיידקים דועך חודשים מספר לאחר קריסתה של פריחת האצות וחוזר לריכוז הרקע הנמוך תוך שנה עד שנתיים. מחקר מטה-גנומי שנערך בשנת 2007 השווה בין אוכלוסיית החיידקים הטיפוסית לים המלח בשנים יבשות לבין זו שנדגמה בחורף 1992 בעת פריחה של דונליאלה וארכיאה (Bodaker et al., 2010). הממצאים הראו ששתי האוכלוסיות שונות זו מזו; בעונות גשומות גדלה אוכלוסיית חיידקים סתגלניים (אופורטוניסטיים), אשר אינה מרכיב בעל משמעות באוכלוסיית החיידקים באגם במצבו הרגיל, בעונות יבשות. גילויים של המעיינות התת-מימיים בחופי ים המלח (Ionescu et al., 2012) היה הפתח למחקר המתואר כאן, בהנחת העבודה הבאה: אם מיהול של מי ים המלח מוביל לפריחה של חיידקים ואצות, הרי שלמעיינות יש פוטנציאל להיות נקודת מוקד (hotspot) לחיים בים המלח.

המעיינות

מערכות של מעיינות תת-מימיים פזורות לאורך חופי האגם בצדו המערבי והמזרחי כאחד. עם זאת טרם נודמנה לנו אפשרות לדגום בצדו המזרחי של האגם. בצד המערבי בדקנו שלוש מערכות: מול שמורת עין פשחה, באזור קנה-סמר (נחל דרגות) ובעין קדם. עיקר העבודה, ובהתאם לכך התוצאות המוצגות כאן, נעשתה באזור דרגות. את מערכת המעיינות הזו אנו מפצלים לשתי תת-מערכות, צפונית ודרומית, המצויות כ-500 מטר זו מזו. המעיינות הצפוניים שונים מורפולוגית מאלו הדרומיים (איור 1). בחלק הצפוני המעיינות נובעים מקרקעיתם של פירים דמויי בולענים. עומקם וקוטרם של הפירים נעים בין חמישה מטרים ל-25 מטרים, ובקרקעית כל פיר יכולות להימצא כמה נביעות. לעתים כמה פירים מחוברים בשרשרת אנכית לחוף. עומק הנביעות שנצפו אינו עולה על 35 מטרים, ופירים המרוחקים מן החוף



איור 1: תיאור סכמטי של מורפולוגיית המעיינות בחלקים הצפוני והדרומי של המערכת המצויה באזור דרגות. החלק הצפוני מאופיין על ידי פירים עמוקים אשר מים נובעים מקרקעיתם. בחלק הדרומי המעיינות נובעים מסדימנט חולי ללא יצירת פירים. כמו כן, בחלק הדרומי בלבד יש נביעות רחבות היקף, ללא גבול ברור, ובהן זרם המים אטי מאוד. הכתם החום בחלק הדרומי מציין את מרבדי הצורניות המצויות באזור זה.

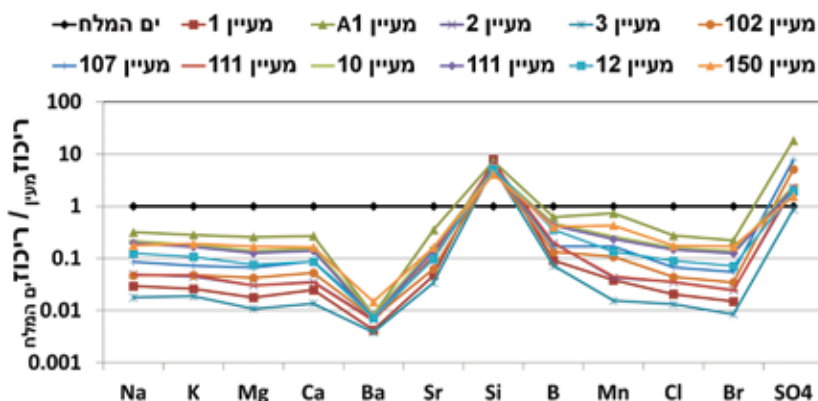
יהיו לרוב רדודים יותר. באזור הדרומי יש שני סוגי נביעות: (א) נביעות שטוחות מכוסות אבנים, ששטחן אינו עולה על מטרים רבועים בודדים; (ב) נביעות רחבות, ללא גבולות מוגדרים, המפעפעות מתוך קרקעית האגם. הסוג הראשון מצוי בעומק 10-12 מטר, ואילו הסוג השני מצוי בעומק שבין שמונה ל-30 מטר. נתונים חדשים מעלים אפשרות של הימצאות מעיינות באזור הדרומי עד לעומק של 80 מטרים לפחות. מי המעיינות שונים זה מזה בתכונות הכימיות-פיזיקליות שלהם (לוח 1). כל המעיינות מתאפיינים במליחות נמוכה בשיעור ניכר מזו של ים המלח. המעיינות הדרומיים הם בקירוב במליחות מי ים, ואילו הצפוניים מלוחים פחות ובהם יוצא דופן אחד (מעיי 1A). הרכב המלחים של המעיינות תואם ברובו ערבוב מים מאקוויפר חבורת יהודה התחתון (Lower Judea Group Aquifer) עם מי נקבים (pore water) או עם תמלחות עתיקות מטיפוס קדם (Qedem brine [איור 2]). יוצאי דופן הם יוני הסולפט (SO_4^{2-}) והסיליקה (SiO_2), אשר ערכיהם גבוהים מן הצפוי להתקבל על ידי ערבוב בלבד. ריכוז הסולפט הגבוה הוא ככל הנראה תוצאה של המסת גבס,

לוח 1

	µM														mM														pH
	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄	TDN	DOC	H ₂ S	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Br ⁻	Cl ⁻	Mn ^{***}	B ³⁺	Si [*]	Si ²⁺	Ba ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺								
סדנבלח	NA	NA	NA	0.432	0.884	1.37	0	NA	NA	1.39	81.2	6164	0.047	3.11	0.084	3.89	0.432	508	1951	200	1460	6.16							
מעייזן	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.012	3.35	NA	1.22	127	0.002	0.28	0.662	0.18	0.002	12.6	34.7	5.23	42.9	7.44							
מעייזן	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.004	2.77	25.5	17.9	1692	0.035	1.94	0.612	1.37	0.004	136	502	56.7	464	6.75							
מעייזן	0.42	0.03	0.8	0.079	0.077	0.73	0.135	0.011	4.32	3.14	2	217	0.002	0.62	0.564	0.44	0.003	17.8	59.3	9.06	72	7.23							
מעייזן	0.23	0.17	4.58	0.021	0.024	0.21	0.03	0.012	4.43	1.22	0.69	81.4	0.001	0.25	0.465	0.13	0.002	6.92	21.1	3.77	26.2	7.37							
מעייזן	0.1	0	0.18	0.078	0.033	0.27	0.01	0.015	5.03	7.13	2.82	269	0.005	0.41	0.419	0.24	0.003	26.8	82.8	9.61	68.8	7.25							
מעייזן	1.73	0	3	NA	0.106	0.57	0.057	0.01	4.28	10.7	4.43	414	0.008	0.53	0.492	0.38	0.004	44.6	129	14.5	125	7.08							
מעייזן	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.016	7.79	3.5	1.98	215	0.002	0.61	0.558	0.437	0.003	17.6	59.3	9.51	70.3	7.16							
מעייזן	0.75	0.01	0.78	0.156	0.23	0.49	0.048	0.004	3.05	3.39	11.2	986	0.012	1.47	0.412	0.63	0.004	78.9	271.3	36.2	315	6.7							
מעייזן	0.77	0	1.7	0.157	0.208	0.44	0.063	0.003	2.77	3.04	10.1	906	0.011	1.33	0.364	0.55	0.003	70.9	246	33.3	286	6.7							
מעייזן	0.54	0	1.1	0.107	0.126	0.34	0.054	0.005	3.13	2.68	5.78	552	0.006	1.1	0.436	0.38	0.003	44	148	21.5	181	6.91							
מעייזן	0.23	0.01	1.29	0.68	0.125	0.33	NA	0.011	5.56	2.13	13.7	1080	0.02	1.26	0.345	0.63	0.006	83.1	329	38.3	259	6.93							

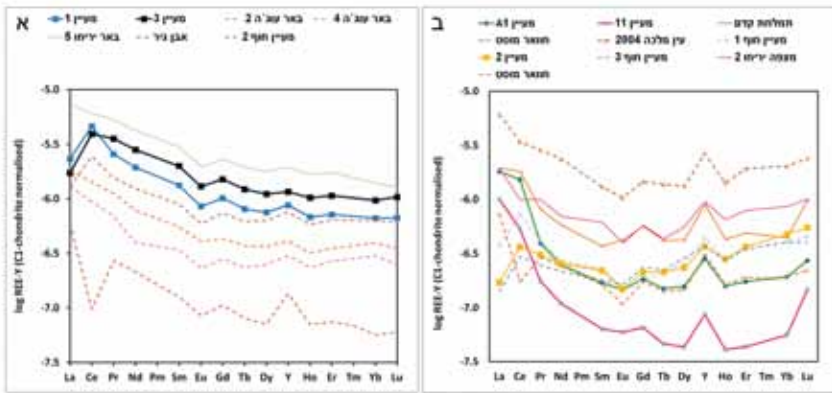
לוח 1: אפיון כימי של מל המעיינות בחלקי הצפוני והדרומי של המרעה בהשוואה לדוגמת מים מלם המלח. מים המלח נדגמו מעוזבוק של נוטר אחד במרחק של יותר מ-100 מטר מקולומטר מהחוף, באזור ללא מעיינות.
 Mn(VII) ו-Mn(IV), Mn(II) כולל Si³⁺** Mn(III) ו-Si(II) כולל Si^{1*}

הנפוץ במשקעי ים המלח. עלייה בריכוזו הסיליקה היא כנראה תוצאה של בליית חול או חרסיות.



איור 2: ריכוזי יונים מרכזיים במי המעיינות מנורמלים לריכוזיהם בים המלח ומוצגים בסקלה לוגריתמית. ים המלח מיוצג על ידי הקו השחור הממוקם על הערך 1. הקווים השטוחים לאורך רוב הגרף מצביעים על תהליכי ערבוב בין מי ים המלח (מי נקבים) לבין מים מאקוויפר הדר. יוצאי דופן במיוחד הם צורן (Si) וסולפט (SO_4). הסיליקה היא כנראה תוצאה של בליית חול (weathering) ואילו הסולפט של המסת גבס.

ניתוח של יסודות נדירים (Rare Earth Elements) ואיטריום (Yttrium) משמש למעקב אחר גופי מים שונים ותהליכים החלים עליהם במהלך הזרימה. בדקנו יסודות אלו במי המעיינות בהשוואה למי האקוויפר ההררי, מים מבארות דיגום בין הרי יהודה לבין ים המלח, מי תמלחות מאזור ים המלח ומי ים המלח. האנליזה הראתה שניתן לחלק את מי המעיינות לשתי קבוצות עיקריות (איור 3). מעיינות הקבוצה הראשונה (מעיינות 1 ו-3) שומרים על מאפייני האקוויפר ההררי, כלומר מים אלו זורמים במהרה לים המלח. פרק הזמן הזה אינו ארוך דיו כדי לאפשר תגובה בין המים לתווך שהם זורמים בו, אשר תשנה את הריכוז והיחסים בין היסודות הנדירים השונים. הקבוצה השנייה (מעיינות 1A, 2 ו-11) היא בעלת תבנית שונה מאוד מזו של מי האקוויפר, עובדה המצביעה על זרימה אטית יחסית ואינטראקציה ממושכת בין מי המעיינות לבין התווך שבו הם זורמים. המעניין הוא שמעיינות משתי הקבוצות השונות נובעים לעתים במרחק של מטרים ספורים זה מזה, עובדה המצביעה על תווך זרימה מורכב, הדורש המשך מחקר לצורך הבנתו.



איור 3: ריכוזי יסודיות נדירים ואיטריום בדגימות מים מהמעיינות, מאקוויפר ההר, ומתמלחות מאזור ים המלח, מגורמלים לסטנדרט כונדריט ומוצגים בסקלה לוגריתמית. המעיינות באיור 3א (קווים מלאים) שומרים על אותה תבנית כמו זו של אקוויפר ההר (Auja 2, Auja 4, Jericho 5), כלומר זרימתם מהירה ואינם מושפעים רבות מאינטראקציה עם מינרלים בדרך. לעומתם, המעיינות באיור 3ב בעלי תבנית שונה, המצביעה על זרימה אטית. יש דמיון בין מעיינות אלו לבין מי תמלחות מסביבת ים המלח. מעניין שמעיינות 1 ו-1A וכן מעיינות 2 ו-3 נובעים במרחק של שניים ושלושה מטרים זה מזה, בהתאמה.

עוד אנו למדים מהכימיה של המים על תהליכים מיקרוביאליים המתרחשים בתווך הזרימה. העיקרי בהם הוא חיזור סולפט. המסת מינרלים משחררת סולפט (SO_4^{2-}) אשר מחוזר על ידי חיידקים לסולפיד (H_2S). תהליך זה מסביר את ריכוזי הסולפיד שנמדדו במי המעיינות ונתמך על ידי אוכלוסיית החיידקים במים (ראו דיון בהמשך), וכן על ידי אנליזות איזוטופים יציבים של גפרית במי המעיין. מדידת היחס $^{34}S/^{32}S$ בסולפט ובסולפיד הראתה שהסולפיד קל באופן ניכר (30%-50%) מהסולפט (נתונים לא מוצגים כאן), דבר הנובע מ'העדפתם' של איזוטופים קלים על ידי חיידקים.

מקור החיידקים במי המעיינות ובאזור נביעתם

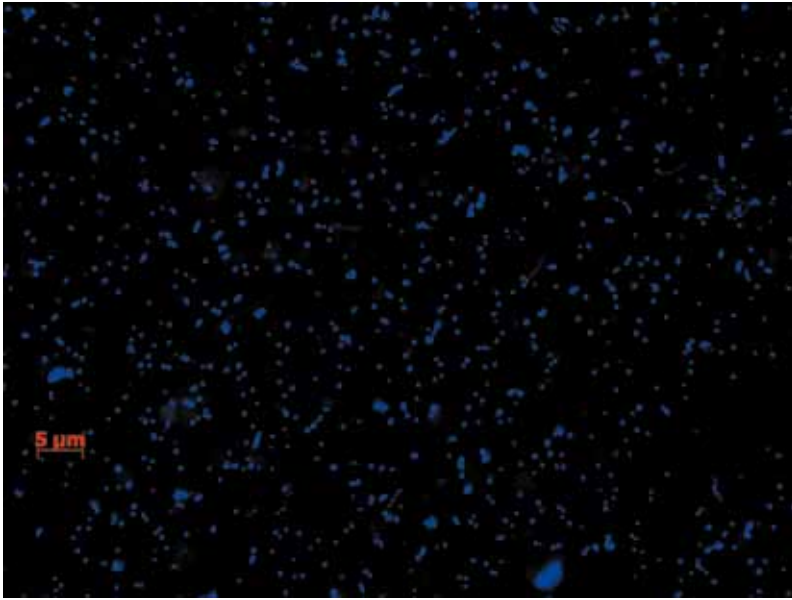
החיידקים במי המעיין הם אסופה של אוכלוסיות המצטברת במים בעודם זורמים בסדימנט שבין ההר לים המלח. חיידקים אשר מקורם באקוויפר ההררי כנראה אינם מגיעים כלל לים המלח.

טקסונומיה ופילוגנזה של החיידקים יכולה לעתים לרמוז על תפקידם של המיקרואורגניזמים בסביבה שממנה נדגמו. הגן המקודד ליחידה הקטנה של ה-*rRNA* הריבוזומלי (16S *rRNA*) מצוי בכל החיידקים, ולמרות היותו שמור מכיל מספיק מידע כדי להפריד בין קבוצות חיידקים שונות לרמת הסוג או המין (*genus, species*). גן ה-*rRNA* 16S רוצף בטכנולוגיית Roche 454 pyrosequencing מדגימות DNA שהופקו ממים, סדימנט וביופילם ממעיינות שונים. כן רוצף הגן מ-DNA שהופק מסדימנט ים המלח, שנדגם באזור ללא מעיינות. כמו כן הוגבר מכל דוגמאות ה-DNA הרצף המחבר בין היחידה הריבוזומלית הקטנה לגדולה (23S *rRNA*) ה-ITS (Intergenic Transcribed Spacer). רצפו של ה-ITS שמור הרבה פחות מזה של ה-*rRNA* 16S או ה-*rRNA* 23S הן בהרכב הבסיסים והן באורכו. בזכות זה ניתן להשתמש בו לקביעת 'טביעת האצבע' של אוכלוסיית חיידקים מסוימת.

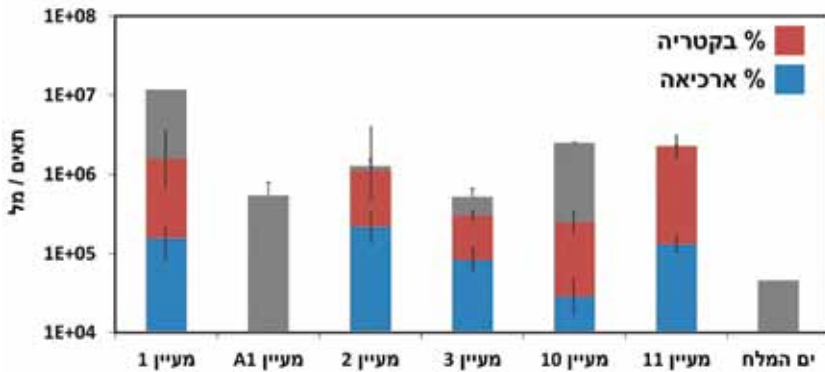
שני כלים מולקולריים אלו מספקים מידע על השונות באוכלוסייה או על זהות החיידקים בדגימה, אך אין אלו נתונים כמותיים. כדי לכמת את כלל החיידקים במי המעיינות ביצענו צביעת DAPI. ה-DAPI הוא צבען הנקשר ל-DNA בתא. כאשר הוא מוקרן באור אולטרה סגול (358 nm), הוא פולט אור כחול (461 nm [איור 4]). ספירת התאים נעשתה במיקרוסקופ אפי-פלוואורסצנט. כדי לקבל מידע כמותי על נוכחות קבוצות טקסונומיות שונות, ביצענו CARD-FISH (CAtalyzed Reporter Deposition Fluorescence In Situ Hybridiyation) עם סמן (probe) ייחודיים לבקטריה ולארכיאה בהתאמה.

המים הזורמים אוספים בדרכם אוכלוסיות חיידקים מן הסדימנט שבין ההר לים המלח. ספירת החיידקים במי המעיינות הניבה תוצאות מפתיעות של בין 10^5 ל- 10^7 חיידקים למיליליטר (איור 5). זהו מספר גבוה פי 10 עד פי 1,000 מריכוזי חיידקים המצויים בדרך כלל במי תהום (Goldscheider et al., 2006). יוצאי דופן הם מאגרי מי תהום מזוהמים, אך ככל הידוע לנו האקוויפר ההררי אינו מזוהם. היעדר זיהום נתמך גם על ידי ניתוח של חומר אורגני שנעשה מספקטרומטר מסות בעל רזולוציה גבוהה (מידע לא מוצג). על כן אנו גורסים שמקורם של החיידקים במי המעיינות הוא באוכלוסיות חיידקים הנמצאות בדרך ומתפתחות בזכות המים המתוקים וחומר אורגני המצוי בסדימנט.

תוצאות ה-CARD FISH מצביעות על כך שיותר מ-50% מן החיידקים במי המעיינות הם ארכיאה (איור 5). קבוצה זו של חיידקים, שכיום ברור שאינם אקסטרמופילים בלבד (אוהבי תנאים קיצוניים), אינה נפוצה במי תהום (O'Connell et al., 2003).

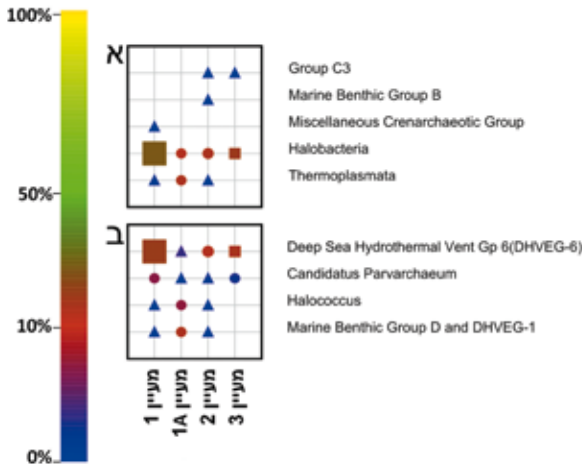


איור 4: תמונת חיידקים ממעיין 2 מסומנים בצבען הפלואורסצנטי (4,6-diamidino-2-phenylindole) DAPI. התמונה צולמה במיקרוסקופ אפילואורסצנטי.



איור 5: ריכוז החיידקים למיליליטר במי המעיינות ושיוכם לממלכות ארכיאה ובקטריה, כפי שנספר על ידי שימוש בסמנים פלואורסצנטיים ייחודיים (Fluorescent In Situ Hybridization). סטיית התקן בספירה הכללית מוצגת על ידי קווים עם סיומת, ואילו זו של הצביעה הספציפית מוצגת על ידי קווים ישרים בלבד. מסיבות טכניות אין חלוקה לממלכות עבור מעיין 1A ומי ים המלח.

תדירות רצפים



איור 6: שיוך

טקסונומי של ארכיאה

ממי המעיינות

ברמת המשפחה

(א) ורמת הסוג

(ב). כל סמל מייצג

קבוצה טקסונומית.

צבעו של הסמל

הוא סימן לנפיצות

רצפים המשוויכים

לאותה קבוצה

מבין כלל הרצפים

שהתקבלו מאותה

דוגמה (sequence

frequency). גודלו

של כל סמל יחסי

לשונות באותה קבוצה

באותה דוגמה, כלומר

יחסי לכמות היחידות הטקסונומיות התפעולית (Operational Taxonomic Units) אשר חושבו לפי דמיון רצפים קטן מ-99%. צורת הסמל מסמנת את כמות הרצפים הכלולים באותה קבוצה טקסונומית: ריבוע – יותר מ-1,000 רצפים, עיגול – 100-1,000 רצפים, משולש – פחות מ-100 רצפים.

מרבית הארכיאה במי המעיינות שייכת ל-Halobacteria (איור 6). זו קבוצת חיידקים הלופיליים הזקוקים לריכוז מלחים של 15% לפחות כדי לשרוד. עובדה זו מעידה על כך שהארכיאה במעיינות מקורם במי נקבים (pore water) מלוחים, שנשארו בסדימנטים המלח לאחר ירידת מפלסו. עם זאת קיימת אפשרות נוספת. בתוך ה-Halobacteria, הארכיאה במי המעיינות משתייכים לקבוצה שבודדה לראשונה ממעשנות (hydrothermal vents) בקרקעית באוקיינוס (איור 6א). ייתכן אפוא שמקור הארכיאה במי המעיינות הוא במקור מים נוסף המגיע מן העומק, אזור שבו יש פעילות טקטונית.

אפיון החומר האורגני במי המעיינות גם מראה שמקור החיידקים במי המעיינות אינו מן האקוויפר ההררי אלא מן הסדימנט המצוי בין החר לים המלח. זאת ניתן להסיק מהריכוז של פפטידים ושל חומצות שומן רוויות שבמי האקוויפר, הנמוך לעומת זה שבמי המעיינים (לוח 2). פפטידים, שרשראות קצרות של חומצות אמינו, הם

סממן טוב לאוכלוסיית חיידקים פעילה. חיידקים יכולים להגיע לריכוז גבוה ולהיות נתונים לבקרה (פירוק) של וירוסים. תוצרי הפירוק של החיידקים יימצאו אז במים. באופן דומה נמצא את חומצות השומן הרוויות, שהן מרכיב עיקרי בממברנת התא. כל זה מוביל אותנו למסקנה שאוכלוסיית החיידקים באקוויפר ההר אינה גדולה ואינה משגשגת. לעומת זאת, מצב האוכלוסייה בסדימנט העתיק של ים המלח (שאותה אנו דוגמים מפתח המעינות) טוב יותר.

לוח 2

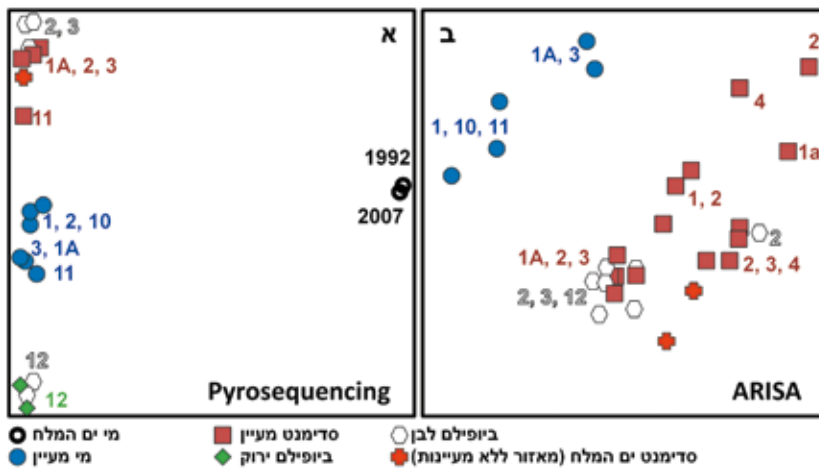
אקוויפרים	מעיינות	ים המלח	
n=30	n=27	n=40	
10-720	220-1720	1220-2180	פחמן אורגני מומס (μM)
מספר חומרים שונים			
127	210	5	פחמן שחור
404	170	6	פוליפנולים
984	533	8	בלתי רוויים
233	427	9	אליפטים בלתי רוויים
26	220	1	חומצות שומן רוויות
20	39	0	סוכרים
50	309	1	פפטידים

לוח 2: ריכוזי חומר אורגני מומס (DOM) והרכבו בדוגמאות מים מאקוויפר ההר, מהמעיינות התת-מימיים ומים המלח. מים מאקוויפר ההר נדגמו לאורך מסלול זרימתו לעבר ים המלח מבארות של חברת מקורות ונביעות טבעיות. הרכב החומר האורגני מתואר על ידי מספר החומרים השונים בכל קבוצת חומרים. אף על פי שאין זה תיאור כמותי של ריכוז החומרים השונים אלא פירוט המורכבות של החומר האורגני, יש התאמה בין השונות לבין ריכוז החומרים בדוגמאות הללו.

מקורם של החיידקים בסדימנט המעינות הוא בים המלח. ניתוח של רצפי ה-16S rRNA ושל התבניות המתקבלות בניתוח (cluster analysis) מקטע ה-ITS (אזור א7) מראה שסדימנט המעינות וסדימנט ים המלח מאזור ללא נביעות דומים זה לזה ומתקבצים לקבוצה אחת. מנגד, אוכלוסיית החיידקים ממי ים המלח בזמן פריחה

(1992) ובעונות יבשות (2007) שונה לגמרי מזו של הסדימנט ומי המעיינות. שתי האוכלוסיות הללו (ים המלח בזמן פריחה ובעונה יבשה) שונות גם זו מזו, אך לא במידה בעלת משמעות ביחס להבדל בין שתי אוכלוסיות אלו לבין אוכלוסיות החיידקים במעיינות (איור 7).

מקורם של חיידקי הסדימנט במעיינות מסדימנט ים המלח מצביע על כך שהנביעות יוצרות סביבת מחיה נוחה יותר למיקרואורגניזמים אלו. סביבה זו היא בעלת מליחות מופחתת, וזו כנראה הסיבה העיקרית לשגשוג החיידקים. נוסף על כך נהנים החיידקים מערך הגבה (pH) גבוה מזה של ים המלח וכן מאספקה של סולפיד, סולפט וחומר אורגני. שילוב של כל התנאים הללו יחדיו מאפשר היווצרות של מרבדי חיידקים המתפרסים על פני שטחים נרחבים או על סלעים.



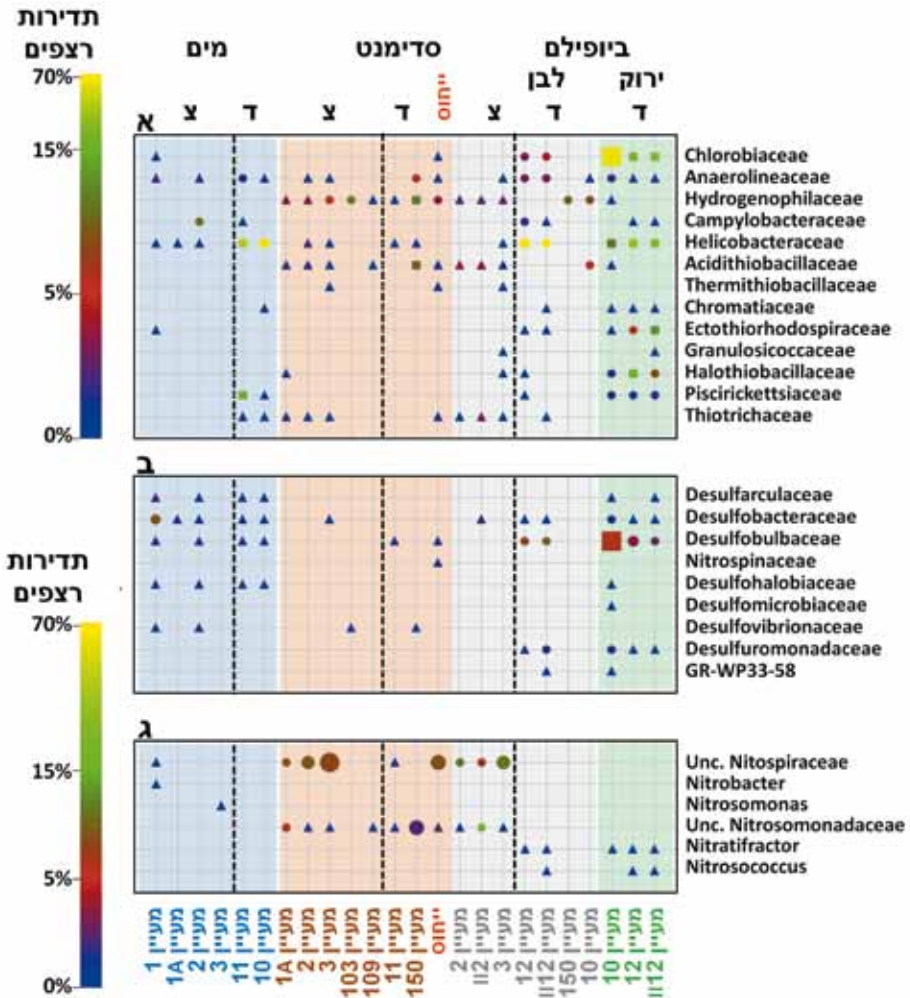
איור 7: ניתוח התקבצות (cluster analysis) בשיטת Non metric Multi Dimensional Scaling (Dimensional Scaling Intergenic) rRNA מהמעיינות ומים המלח ועל (ב) אורכים של מקטעי ה-ITS (Transcribed Spacer) התפעולית (Operational Taxonomic Units) אשר חושבו לפי דמיון רצפים קטן מ-99%. רצפים הייחודיים לדוגמה אחת בלבד הושמטו. אורך מקטעי ה-ITS התקבל על ידי שימוש בשיטת ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis). בשתי צורות הניתוח מי המעיינות מופרדים מדוגמאות הסדימנט והביופילם. כמו כן, בשני המקרים דוגמאות מסדימנט ים המלח מאזור ללא מעיינות מתקבצות יחד עם דוגמאות מסדימנט מהמעיינות.

פעילות מיקרוביאלית באזור הנביעות

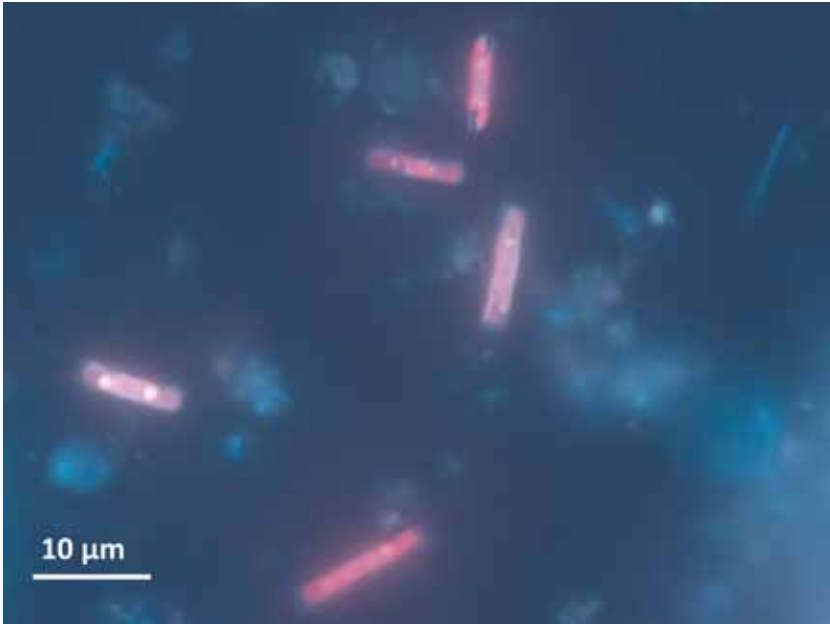
על פי המידע הפילוגנטי החיידקים החיים באזור הנביעות כוללים כחוליות (Cyanobacteria), חיידקים מחמצני גפרית, מחזורי סולפט, מחמצני אמוניה, מחמצני ניטריט ומחזורי ניטראט. כן התקבלו רצפים של חיידקים המעורבים במחזור הברזל, אך מספרם נמוך. היות שנוכחות DNA ושיוך פילוגנטי של רצפים אינם סמנים לפעילות, אנו מדדנו פוטוסינתזה, חמצון גפרית וחיזור סולפט.

פוטוטרטפיות

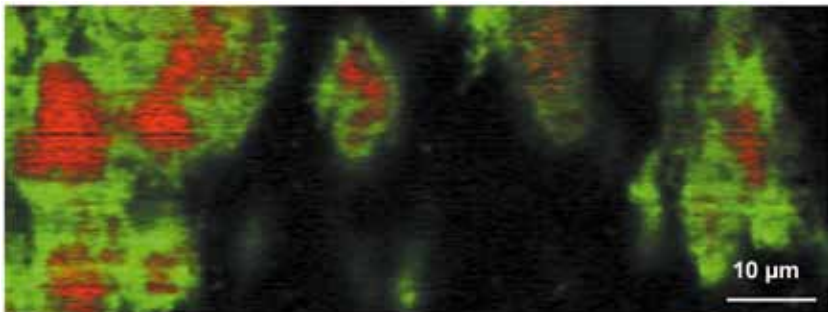
האורגניזם הפוטוסינתטי היחיד המוכר מים המלח הוא האצה הירוקית (*Dunaliella* sp.), היוצרת פריחות מסיביות בחורפים גשומים במיוחד. המעיינות הם המקרה הראשון שבו מתועדים פוטוטורפים מקרקעית ים המלח. מיקרוסקופיה וניתוח פילוגנטי של הדגימות מהמעיינות מצביעים על נוכחות של פוטוטורפים אוקסיגנים ואנאוקסיגנים כאחד (איור 8א, 9), והאצה *Dunaliella* אינה מצויה ביניהם. על פני הסדימנט ניתן למצוא מרבדים של כחוליות וצורניות. על פני סלעים ניתן למצוא מרבדים של חיידקי גפרית ירוקים החיים בקרבה רבה לכחוליות (איור 10). פוטוסינתזה אוקסיגנית נמדדה בהצלחה רק במרבדים מבודדים שעל פני הסדימנט (איור 11). אורגניזמים אלו שומרים על פעילותם גם לאחר שנחשפו למי ים המלח. עובדה זו מסבירה את שרידותם למרות תנודות בזרימת המעיינות. מרבית האורגניזמים הפוטוסינתטיים מצויים עד עומק של 12 מטר, שם עצמת האור מגיעה בשיא היום ל- $30 \mu\text{E}$. אף על פי שגם אור נמוך מזה יכול להספיק לקיום אורגניזמים פוטוסינתטיים, האיכות הספקטרלית של האור יורדת, כלומר אור באורכי גל רלוונטיים ליצורים פוטוטורפיים נבלע עד עומק זה (מידע לא מוצג). מרבדי הצורניות יכולים להיות תוצר של ריכוז הסיליקה המוגבר המובא לאזור על ידי המעיינות.



איור 8: שיוך טקסונומי של בקטריה לפי סוג מטבוליום: (א) מחמצני סולפיד; (ב) מחזורי סולפט; (ג) מחמצני אמוניה וניטריטי. כחוליות (Cyanobacteria) לא נכללו באיור זה עקב מיעוט רצפים. כל סמל מייצג קבוצה טקסונומית. צבעו של הסמל הוא סימן לנפיצות רצפים המשויכים לאותה קבוצה מבין כלל הרצפים שהתקבלו מאותה דוגמה (sequence frequency). גודלו של כל סמל יחסי לשונות באותה קבוצה באותה דוגמה, כלומר יחסי לכמות היחידות הטקסונומיות התפעוליות (Operational Taxonomic Units) אשר חושבו לפי דמיון רצפים קטן מ-99%. צורת הסמל מסמנת את כמות הרצפים הכלולים באותה קבוצה טקסונומית: ריבוע – יותר מ-1,000 רצפים, עיגול – 100-1,000 רצפים, משולש – פחות מ-100 רצפים.



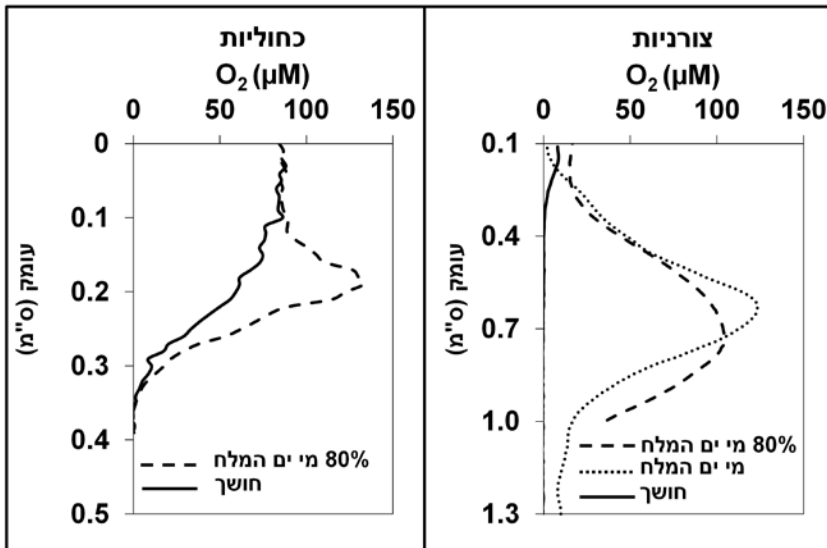
איור 9: תמונת אוטו־פלווארסצנציה של צורניות. הדוגמה נלקחה ממרבדי צורניות בחלקה הדרומי של מערכת המעיינות באזור דרגות.



איור 10: תמונה מלאכותית, תוצר של סריקת ביופילם ירוק ממעיין 10 על ידי מצלמה היפר־ספקטרלית (hyperspectral camera). התמונה נוצרה על ידי שילוב התמונה המתקבלת באורך גל של 740 nm ובאורך גל של 665 nm, המתאימים לשיא הבליעה של בקטריוכלורופיל c (ירוק) וכלורופיל a (אדום) בהתאמה. הצבע הירוק מסמל על כן את חיידקי הגפרית הירוקים *Prosthecochloris* והצבע האדום מסמל כחוליות (Cyanobacteria).

מחזור הגפרית במעיינות

חמצון גפרית הינו המטבוליזם העיקרי בכיופילמים השונים במעיינות. אבנים במעיינות 10, 11 ו-12 מכוסות בחלקן העליון במרבד *Prosthecochloris* (Green sulfur bacteria). בחלקן התחתון מכוסות האבנים במרבד לבן המכיל ברובו חיידקים מחמצני גפרית השייכים ל-*Epsilonproteobacteria: Sulfurimonas* ו-*Sulfurovum* (איור 8). חיידקים אלו מצויים גם בחלק מהמרבדים הלבנים המכסים את הסדימנט במעיינות הדרומיים, אך עיקר החיידקים המחמצנים סולפיד במרבדים אלו הם *Halothiobacillus*, השייכים ל-*Gammaproetoacteria* (איור 8). אלו גם החיידקים השולטים במרבדים של מחמצני הסולפיד במעיינות הצפוניים. לסולפיד, הנחוצ לקיומם של חיידקים אלו, יש שני מקורות. המקור הראשון הוא כאמור חיזור סולפט במהלך זרימת המים. המים המתוקים זורמים מאקוויפר ההר וממיסים מינרלים המכילים סולפט, בעיקר גבס. הסולפט מחוזר על ידי חיידקים לסולפיד, המגיע בסופו של דבר למרבדי החיידקים באזור הנביעות בים המלח. הימצאותם של מחמצני סולפיד במי המעיינות מצביע על כך שחלק מן הסולפיד



איור 11: פרופילי חמצן שנמדדו באור ובחושך בריכוזי מלח שונים במרבדי כחוליות וצורניות. פרופיל החושך נמדד בריכוז המלח הגבוה ביותר לאותה דוגמה.

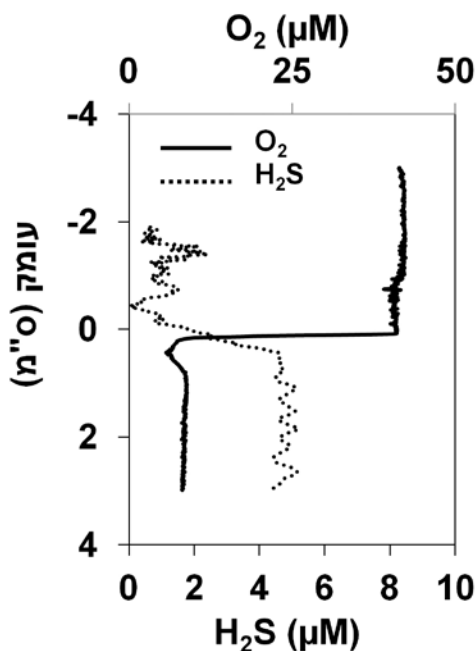
המיוצר במים מחומצן טרם הגעתו לים המלח. המקור השני הוא חיזור סולפט במרבדי החיידקים עצמם. רצפי 16S rRNA של חיידקים מחזרי סולפט נמצאו גם במרבדים (איור 18), עובדה המרמזת על קיום מחזור גפרית פנימי במרבדים אלו.

חמצון סולפיד נמדד על ידי מיקרוסנסורים (Santegoeds et al., 1998) גם במרבדים על פני הסדימנט וגם במרבדים על פני אבנים (איור 12). הן פרופיל החמצן והן פרופיל הסולפיד המתקבלים מעידים על כך שמדובר בצריכה ולא בפעפוע. עם זאת לא ניתן לחשב את שטפי הצריכה באופן מדויק, משום שהמליחות באזור שבו נמדד הפרופיל אינה ידועה ולכן קבוע הפעפוע אף הוא אינו ידוע. חישוב שטף החמצן עם קבוע דיפוזיביות המתאים למים מתוקים או עם זה המתאים לים המלח נותן תוצאות שונות זו מזו בחמישה סדרי גודל ($8.1 \cdot 10^{-3}$, $4.43 \cdot 10^2$ בהתאמה). נוסף על כך, בכדי לקבוע צריכת סולפיד דרוש ה-pH, זאת היות שהמיקרוסנסור מודד H_2S ואילו כלל הסולפיד כולל גם HS^- .

חיזור סולפט נמדד על ידי שימוש באיזוטופים רדיואקטיביים (Kallmeyer et al., 2004). המדידות בוצעו בסדימנטים מים המלח באזור ללא מעיינות, באזור מרבדי הצורניות ובמרבדי ה-*Halothiobacillus*. הקצבים הגבוהים ביותר נמדדו באופן מפתיע דווקא בסדימנטים המלח, שאינו מושפע ממי המעיינות. עובדה זו מפתיעה, שכן חישובים תרמודינמיים חזו שחיזור סולפט אינו אפשרי במליחותים המלח היות שאינו מספק די אנרגיה עבור אוסמורגולציה. קצב החיזור ($20 \text{ nmol SO}_4^{2-} \text{ cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) הנו בגבול התחתון של קצבי חיזור סולפט בסדימנטים ימיים אחרים, אך גבוה בהרבה מקצבים הנמדדים בים העמוק.

מחזורים נוספים

רצפי ה-DNA מרמזים על קיומם של שני מחזורי חומרים נוספים בים המלח ובאזור המעיינות: מחזור החנקן (איור 18) ומחזור הברזל, אך טרם בוצעו מדידות כדי לבדוק אם אכן קיימת פעילות מיקרוביאלית. מחזור החנקן מעניין במיוחד היות שתהליך הניטריפיקציה (חמצון אמוניה לניטריט וניטריט לניטראט) אינו צפוי להימצא בים המלח משיקולים תרמודינמיים (Oren, 1999). עם זאת שתי קבוצות חיידקים האחראיות יחדיו לתהליך מצויות הן במעיינות והן בסדימנטים המלח מאזור שאינו מושפע מהמעיינות. מצד אחד, ייתכן שריכוז האמוניה הגבוה בים המלח (בסביבות



איור 12: פרופילי חמצן וסולפיד אשר נמדדו מתחת למים בביופילם של *Halothiobacillus*. הפרופילים הם דוגמה מתוך מדידה רציפה במשך 24 שעות. עלייה בריכוז החמצן בתוך הסדימנט (ערכים חיוביים בציר ה-Y) היא תוצר של תאי קונוקציה הנוצרים בגלל זרימת המים.

הוא שמאפשר חמצון אמוניה. מצד אחר, מחקרים שונים הראו שבדרך כלל pH נמוך מוריד באופן ניכר את קצב הניטריפיקציה. מאחר שה-pH של ים המלח הוא 6~ בהשוואה ל-8.2~ באוקיינוסים, הקצב עשוי להיות נמוך מכדי לאפשר קיום.

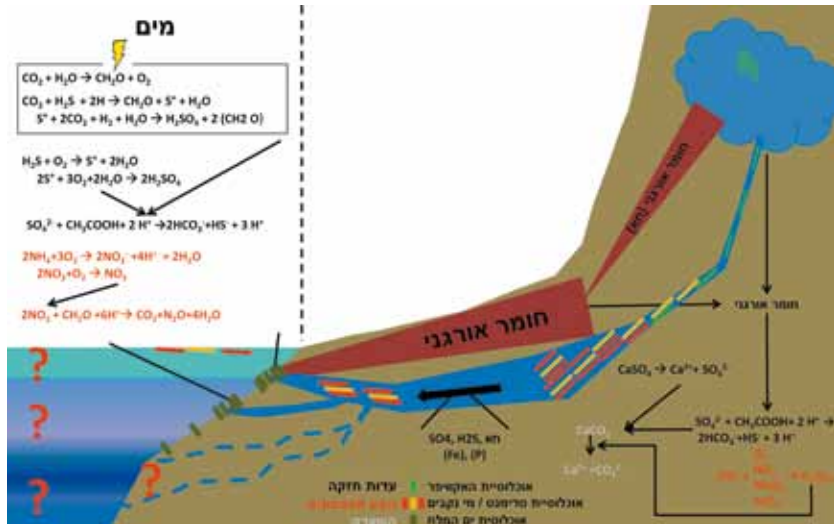
משמעות המעיינות לים המלח ולסביבתו

תעלת הימים, האמורה לחבר בין ים סוף לבין ים המלח, עדיין על הפרק. יש שיקולים סוציו-אקונומיים לא מעטים בעד חפירת התעלה ומגוון שיקולים אקולוגיים מנגד. היקף המעיינות בים המלח עדיין אינו ידוע, אך סביר להניח שתרומתם למאזן המים באגם היא נמוכה. כמו כן לא ידוע אם המעיינות ימשיכו להזרים מים לים המלח אם מפלסו יעלה. עם זאת כל עוד המעיינות זורמים, הם מכניסים לים המלח חומר אורגני, נוטריאנטים וחיידקים בריכוז גבוה. רובם המוחלט של חיידקים אלו אינו שורד במי האגם, אך אם תיווצר שכבת מים עליונה בעלת ריכוז מלחים נמוך יותר,

ייתכן שזו תספק תנאי גידול טובים עבורם. עד עתה נערכו ניסויים שנועדו לבדוק את המתרחש כאשר מערבבים מי ים סוף עם מי ים המלח בריכוזים שונים. התוצאות הראו פריחת חיידקים ופריחת אצות המתרחשות בריכוזי מלח שונים. הוספה של מי מעיינות למשוואה זו טרם בוצעה, אך לדעתנו זהו צעד חשוב טרם קבלת החלטה סופית בדבר כריית התעלה.

למערכת המעיינות עשויה להיות השפעה לא רק על ים המלח אלא גם על סביבתו. ייתכן שלחיידקים החיים במי המעיינות בסדימנט יש תפקיד בהאצת התהליך של יצירת הבולענים באזור ים המלח. הנחה זו טרם הוכחה, אך היא מבוססת על תהליכים מיקרוביאליים האחראים ליצירת מערות קרסטיות בעולם (Sulfuric Acid). Engel et al., 2004; Campbell et al., 2006 (Spaleogenesis)

סיכום



איור 13: סיכום התהליכים המתרחשים במערכת המעיינות בסדימנט שבין האקוויפר לבין ים המלח וכן בים המלח עצמו. תהליכים אשר נמדדו בפועל כתובים בשחור. תהליכים שעליהם מצביעים הנתונים הקיימים אך טרם נמדדו מצוינים באדום. תהליכים היפותטיים כתובים באפור. כמו כן מסומלת התחלופה בחומר האורגני והשינוי באוכלוסיית החיידקים לאורך זרימת המים מאקוויפר ההר לים המלח דרך הסדימנט.

איור 13 מסכם את האופן שבו אנו רואים כיום את מערכת המעיינות ואת התהליכים המיקרוביאליים המתרחשים במהלך הזרימה בים המלח. בסביבת הנביעות בים המלח נתגלו מחזורים מטבוליים ואורגניזמים אשר לא תוארו בעבר מים המלח. חלק מן התהליכים, כגון חיזור סולפט וחמצון אמוניה, נחשבו עד עתה בלתי אפשריים בסביבות על-מלוחות. הימצאותם בים המלח מוכיחה שמיקרואורגניזמים מסוגלים למצוא פתרון למצבים שאותם אנו מתארים כבלתי אפשריים מבחינה תרמודינמית. בניגוד לתהליכים המתרחשים באגם עצמו, שאותם אנו מסוגלים לדגום, תפקיד המעיינות במהלך זרימת המים בסדימנט אינו ברור די הצורך. מחקר נוסף דרוש כדי לאתר את אוכלוסיות החיידקים הזורמים במים ולבחון את פעילותם.

רשימת מקורות וקריאה נוספת

- Bodaker, I., Sharon, I., Suzuki, M.T., Feingersch, R., Shmoish, M., Andreishcheva, E., Sogin, M.L., Rosenberg, M., Maguire, M.E., Belkin, S., Oren, A. & Béjà, O. 2010. 'Comparative Community Genomics in the Dead Sea: An Increasingly Extreme Environment', *The ISME Journal* 4 (3): 399–407, doi: 10.1038/ismej.2009.141.
- Campbell, B.J., Engel, A.S., Porter, M.L. & Takai, K. 2006. 'The Versatile Epsilon-Proteobacteria: Key Players in Sulphidic Habitats.: Nature Reviews', *Microbiology* 4 (6): 458–68.
- Engel, A.S., Stern, L.A. & Bennett, P.C. 2004. 'Microbial Contributions to Cave Formation: New Insights into Iulfuric Acid Speleogenesis', *Geology* 32 (5): 369.
- Goldscheider, N., Hunkeler, D. & Rossi, P. 2006. 'Review: Microbial Biocenoses in Pristine Aquifers and an Assessment of Investigative Methods', *Hydrogeology Journal* 14 (6): 926–941.
- Ionescu, D., Siebert, C., Polerecky, L. & Munwes, Y. 2012. 'Microbial and Chemical Characterization of Underwater Fresh Water Springs in the Dead Sea: *PloS one*.
- Kallmeyer, J., Ferdelman, T.G., Weber, A., Fossing, H. & Jørgensen, B.B. 2004. 'A Cold Chromium Distillation Procedure for Radiolabeled

Sulfide Applied to Sulfate Reduction Measurements: Limnology and Oceanography, methods', *ASLO* 2: 171–180.

- O'Connell, S.P., Lehman, R.M., Snoeyenbos-West, O., Winston, V.D., Cummings, D.E., Watwood, M.E. & Colwell, F.S. 2003. 'Detection of Euryarchaeota and Crenarchaeota in an Oxidic Basalt Aquifer', *FEMS Microbiology Ecology* 44 (2): 165–73.
- Oren, A. 1999. 'Bioenergetic Aspects of Halophilism Why Certain Physiological Groups Of Microorganisms are Absent', *Society* 63 (2): 334–348.
- Oren, A. 2010. 'The Dying Dead Sea: The Microbiology of an Increasingly Extreme Environment: Lakes & Reservoirs', *Research & Management* 15 (3): 215–222, doi: 10.1111/j.1440-1770.2010.00435.x.
- Oren, A. & Gurevich, P. 1995. 'Dynamics of a Bloom of Halophilic Archaea in the Dead Sea', *Hydrobiologia* 315: 149–158.
- Santegoeds, C.M., Schramm, A. & de Beer, D. 1998. 'Microsensors as a Tool to Determine Chemical Microgradients and Bacterial Activity in Wastewater Biofilms and Flocs', *Biodegradation* 9 (3–4): 159–67.
- Wilkensky, B. 1936. 'Life in the Dead Sea', *Nature* 138 (3) 467–489.