פרקים באקולוגיה של הצב הרך (*Trionyx triunguis*) בנחל אלכסנדר

מאת: אורן רוזנר

עבודת גמר מחקרית (תיזה) המוגשת כמילוי חלק מהדרישות
לקבלת התואר "מוסמך האוניברסיטה"

אוניברסיטת חיפה
הפקולטה למדעים והוראתם
החוג לביולוגיה אבולוציונית וסביבתית

ינואר, 2007

פרקים באקולוגיה של הצב הרך (*Trionyx triunguis*) בנחל אלכסנדר

מאת: אורן רוזנר
בהנחיית: אורי שיינס, Ph.D.

עבודת גמר מחקרית (תיזה) המוגשת כמילוי חלק מהדרישות
לקבלת התואר "מוסמך האוניברסיטה"

אוניברסיטת חיפה
הפקולטה למדעים והוראתם
החוג לביולוגיה אבולוציונית וסביבתית

ינואר, 2007

מאושר על ידי _____ תאריך _____
(מנחה העבודה)

מאושר על ידי _____ תאריך _____
(יו"ר הוועדה החוגית למ"א)

תודות

רבים האנשים אשר נטלו חלק בעבודה זו, ולכולם אני חב תודה. ראשית ברצוני להודות לדר׳ אורי שיינס, אשר הנחה אותי במחקר זה ללא ליאות, תמך, יעץ והאיר.

לדר׳ רחל בן שלמה (אקלי), שסייעה לי לצלוח את תחום הגנטיקה.

לדר׳ (V.M.D) כתריאל אלרון, שפעל בהתנדבות בתור הווטרינר הצמוד של המחקר, ולליאון, אשר ביחד היוו את הצוות עליו יכולתי לסמוך בעבודת השדה.

לליאור לעשהאל ולעודד, אשר חלקו עימי את המעקב הטלמטרי (המתסכל...), וסייעו רבות בכלל עבודת השדה. לשרית על הסיוע הטכני והנפשי במעבדה. לעמית דולב, על הייעוץ לאורך הדרך. לרון אלעזרי וצוות הגן הזואולוגי בתל אביב, על שיתוף הפעולה המלא בשימוש בפרטים שבגן. לחיים לוי אשר עבד שעות נוספות במאמץ לפתח אמצעי לזקיפה של אנטנת המשדר הטלמטרי.

ברצוני להודות לרשות הטבע והגנים, אשר השתתפה במימון עבודה זו, ובפרט לעובדי הרשות, אשר סייעו ותמכו במהלך המחקר: ראשית תודה גדולה ליפתח סיני, אקולוג העמקים במחוז צפון, שהיה איש הקשר, סייע בעבודת השדה, ייעץ, תמך, גישר, ותמיד היה נכון לעזור בכל דרך. ליניב לוי שנידב את זמנו, נסיונו, את המרכז להצלת צבי ים, ואפילו את אביו..., ליואב כהן ולעמי לזר, אשר יחד עם צוות הגן הלאומי נחל אלכסנדר לקחו על עצמם את התמיכה בסריקות הבוקר. לביל וודלי ויגאל מילר, שסייעו בכל תחום הטלמטריה. לזאב קולר שלקח חלק בהגדרות המחקר ומטרותיו, וכמובן לדידי קפלן, אשר ליווה את המחקר מהורתו.

כמו כן ברצוני להודות ללירון שפירא, על בניית רשת הלכידה, וליאיר להב מג׳ונסון את ג׳ונסון, אשר תרם את חוטי הנירוסטה להצמדת הסימונים והמשדרים.

אחרונות חביבות, אפרת שחר ורותם, משוש חיי, שליוו, תמכו, יעצו וויתרו.

תוכן העניינים

	תודות	**I**
	תוכן עניינים	**II**
	תקציר	**VI**
	רשימת טבלאות	**VII**
	רשימת איורים	**VIII**
.1	**מבוא**	**1**
.1.1	**כללי**	**1**
.1.2	**TRIONYX TRIUNGUIS**	**1**
.1.3	**תפוצה ודמוגרפיה**	**2**
.1.3.1	תפוצה	2
.1.3.2	גודל אוכלוסיית נחל אלכסנדר	3
.1.3.3	מבנה האוכלוסייה – גילאים	4
.1.3.4	מבנה אוכלוסיה – זוויגים	4
.1.4	**רביה**	**5**
.1.4.1	התפתחות מינית	5
.1.4.1.1	קביעת זויג	5
.1.4.1.2	התבגרות מינית	6
.1.4.2	הטלה וקינון	6
.1.4.2.1	טריפת קינים וגורמי סיכון נוספים	6
.1.4.3	השפעות א-ביוטיות על התפתחות העובר	7
.1.4.3.1	טמפרטורה	7
.1.4.3.2	לחות	8
.1.5	**גנטיקה**	**8**
.1.5.1	שונות גנטית	8
.2	**מטרות המחקר**	**10**
.2.1	**דמוגרפיה**	**10**
.2.2	**רביה**	**10**
.3	**חומרים ושיטות**	**11**
.3.1	**סטטיסטיקה – כללי**	**11**
.3.2	**דמוגרפיה**	**11**
.3.2.1	הערכת גודל אוכלוסיה	11
.3.2.2	מבנה האוכלוסיה- זויגים	12
.3.2.2.1	דיסקציות	13
.3.2.3	מבנה האוכלוסיה – גילאים	13
.3.2.4	לכידה	13
.3.2.4.1	הטיפול בצב שנלכד	14

3.2.4.1.1.	מדידות מורפולוגיות	15
3.2.4.1.2.	דגימת דם	15
3.2.4.1.3.	דגימת עור	16
3.2.4.1.4.	דגימת ציפורן	16
3.2.4.1.5.	סימון ויזואלי בתג ייחודי	16
3.3.	**רביה**	**18**
3.3.1.	איסוף נתונים וסטטיסטיקה	18
3.3.2.	אתרי קינון	18
3.3.3.	איתור קינים ומעקב אחריהם	19
3.3.3.1.	פתיחת קן	20
3.3.3.2.	מדידת לחות בקן	20
3.3.3.3.	מדידת טמפרטורה בקן	21
3.3.3.4.	הגנת הקן מפני טורפים	22
3.3.4.	עונת ההטלות 2004	23
3.3.5.	עונת ההטלות 2005	24
3.4.	**גנטיקה**	**24**
3.4.1.	הפקת DNA	24
3.4.2.	בדיקת כמות ואיכות ה- DNA	25
3.4.3.	שונות DNA גרעיני: AFLP	26
3.4.3.1.	חיתוך ה- DNA באנזימי רסטריקציה	26
3.4.3.1.1.	הכנת אדפטורים	26
3.4.3.1.2.	ליגציה	26
3.4.3.1.3.	הגברה ראשונה של ה-DNA (Pre AFLP):	27
3.4.3.1.4.	שלבי ראקצית ה- PCR (Pre-AFLP)	27
3.4.3.1.5.	סימון תחל (Primer) ב- ^{33}P-ATP	27
3.4.3.1.6.	ראקצית ה- AFLP (Selective AFLP amplification)	28
3.4.3.1.7.	שלבי ראקצית ה- PCR (AFLP)	28
3.4.3.1.8.	אלקטרופורזה	29
3.4.4.	שונות DNA מיטוכונדריאלי (MTDNA)	29
3.4.4.1.	תכנון פריימרים	29
3.4.4.2.	הגברה של מקטע Cytochrome b (mtDNA)	30
3.4.4.2.1.	שלבי ראקצית ה- PCR	31
3.4.4.2.2.	הכנת הדגימות לריצוף	32
3.4.4.2.3.	הגברה של מקטע (mtDNA) אזור הבקרה	32
3.4.4.3.	עיבוד המידע	32
3.5.	**איזור המחקר – נחל אלכסנדר**	**33**
4.	**תוצאות**	**36**
4.1.	**דמוגרפיה**	**36**

4.1.1.	גודל האוכלוסייה	36
4.1.2.	מורפולוגיה	37
4.1.2.1.	הבדלים מורפולוגיים בין אוכלוסיות	38
4.1.2.2.	קורלציה בין מדדים מורפולוגיים	38
4.1.3.	יחס זוויגי	39
4.1.4.	יחס גילאים (התפלגות לגדלים)	42
4.2.	**רביה**	**43**
4.2.1.	פירוט קינים – עונת 2004	43
4.2.1.1.	השפעת אתר ההטלה	46
4.2.1.2.	השפעת סוג הקרקע	46
4.2.1.3.	השפעת מועד ההטלה	47
4.2.1.4.	טמפרטורה בקינים	49
4.2.2.	לחות	51
4.3.	**גנטיקה**	**52**
5.	**דיון**	**54**
5.1.	**דמוגרפיה**	**54**
5.1.1.	גודל האוכלוסייה	54
5.1.2.	מבנה האוכלוסייה – גילאים	55
5.1.2.1.	זיהום המים בנחל אלכסנדר כגורם למיעוט פרטים צעירים	55
5.1.2.2.	טריפת קינים כגורם למיעוט פרטים צעירים	56
5.1.2.3.	חוסר פוריות ביצים, ואי בקיעת קינים שלמים, כגורמים למיעוט פרטים צעירים	58
5.1.2.4.	היכן מסתתרים הצעירים?	58
5.1.3.	מבנה האוכלוסייה – זוויגים	60
5.2.	**רביה**	**60**
5.2.1.	השפעות על שיעור הבקיעה	61
5.2.1.1.	השפעת טמפרטורה	61
5.2.1.2.	השפעת הלחות	62
5.2.1.3.	השפעת האתר	62
5.2.1.4.	השפעת מועד הטלה	62
5.2.1.5.	השפעת עומק התטולה	63
5.2.1.6.	השפעת סוג הקרקע	63
5.2.2.	סיכום	64
5.3.	**גנטיקה**	**64**
6.	**רשימת מקורות**	**68**
7.	**נספחים**	**75**
7.1.	**דיסקציות**	**75**

.7.2 רצף ה- CYTOCHROME B של T. TRIUNGUIS 77
.7.3 CYTOCHROME B – השוואה ל- OUT GROUP 80
.7.4 מעקב ברדיו טלמטריה 81
.7.4.1 המשדר 81
.7.4.2 הצמדת משדר 82
.7.4.3 פרטים ממושדרים 83
.7.4.4 שיטת הסריקה הטלמטרית 84
.7.4.5 תנועה 85
. **ABSTRACT (ENGLISH) 86**

פרקים באקולוגיה של הצב הרך (*Trionyx triunguis*) בנחל אלכסנדר

שם המחבר: אורן רוזנר

תקציר

הצב הרך (*Trionychidae, Trionyx triunguis*) הוא מהגדולים בצבי המים המתוקים, ושחיין מובהק. אורכו מגיע למטר ומשקלו ל- 50 ק״ג. הוא נפוץ ביבשת אפריקה, ובאזורינו מצוי באגן המזרחי של הים התיכון, בעיקר בתורכיה ובישראל. ההערכות הן כי בעשרות השנים האחרונות מצטמצמת תפוצתו באזורינו. כיום, מגדירים ארגוני שמירת הטבע את הצב הרך באגן הים התיכון כמצוי בסכנת הכחדה קריטית (CR). עם זאת, הידע הקיים על הצב הרך מצומצם ביותר, ופעולות הממשק המבוצעות לשימורו נאלצות להסתמך על הערכות בלתי מבוססות. מחקר זה עסק בהיבטים של דמוגרפיה (כולל גנטיקה של אוכלוסיות) ופוריות של הצב הרך. גודל האוכלוסייה בנחל אלכסנדר הוערך, בשיטת Mark-ReSight, בתחום של 173-107 פרטים. נתגלה כי באוכלוסיית נחל אלכסנדר רוב הפרטים הם גדולים וענקיים לעומת אוכלוסיית אגם סולפורוס בדלמן, תורכיה, שם רוב הפרטים הם בינוניים, ואילו פרטים גדולים נעדרים כמעט כליל. בשתי האוכלוסיות לא נצפים כמעט כל פרטים צעירים, בפרט צבונים. אולם, למרות שנים רבות של דיווח על חוסר תצפיות בצעירים, והחשש מהתנוונות של האוכלוסייה, עד כדי הכחדתה, מצביע מחקר זה על האפשרות כי אוכלוסיית נחל אלכסנדר צומחת, ועל כי צעירים אינם מתרכזים באתרים ספציפיים, אלא דווקא נמנעים מאתרים ספציפיים: אלה בהם מרוכזים הבוגרים, ובפרט ״גשר הצבים״. על פי השערה זו הצעירים אינם נצפים בעיקר מאחר ורובן המכריע של התצפיות מתקיימות בגשר הצבים. שיטת האבחנה בין זכרים לנקבות על פי המדד המקובל של אורך זנב, הוכיחה עצמה במחקר זה כבלתי יעילה, ודימורפיזם מיני אחר לא נתגלה.

מעקב אחר הטלות נערך בשנים 2005-2004. בשתי עונות ההטלה היתה בעיה משמעותית של טריפת קינים, והמיגון היחיד שמנע טריפה הנו גידור מוקפד וגבוה של אתר ההטלה כולו. בדיקות לחות וטמפרטורה בקן הראו את יעילותו הרבה כאינקובטור המבודד מתנאי הסביבה, אולם לא נתגלו קורלציות בין התנאים הא-ביוטיים בקן לבין פרמטרים שונים של הצלחת הקן (דוגמת שיעור בקיעה, שיעור צבונים חיים). יתכן כי הדבר נובע מגודל מדגם לא מספיק, אך אפשרות נוספת היא כי למרות ההבדלים בין האתרים השונים, הם נמצאים כולם בתחום התנאים המתאימים להתפתחות עוברי הצב הרך.

מחקר לגילוי השונות הגנטית באוכלוסיית נחל אלכסנדר, ולהשוואת השונות בין אוכלוסייה זו לבין אוכלוסיית אגם סולפורוס בדלמן, תורכיה, באמצעות ריצוף הגן המיטוכונדריאלי Cytochrome b, מראה כי אין הבדל בשיעור השונות בין הפרטים מישראל לבין הפרטים מתורכיה, וכי הדמיון בין כולם עומד על 99-100%. השוואה לפרט של *T. triunguis* מליבריה, אפריקה, מראה את אותו שיעור דמיון גם איתו (99-100%). השוואה ל- *Apalone ferox*, מין של צב רך מצפון אמריקה, אשר נבחר כקבוצה חיצונית (out group), מראה שונות של 16.7%.

רשימת טבלאות

טבלה 1 : צבים שנדגמו במחקר, ומקום לכידתם/ איסופם 14

טבלה 2 : רשימת ופירוט הפריימרים עבור Cytochrome b 30

טבלה 3 : רשימת ופירוט הפריימרים עבור מקטע הבקרה (D-Loop) 30

טבלה 4 : חישוב גודל האוכלוסייה בנחל אלכסנדר 37

טבלה 5 : מדדים מורפולוגיים שונים של T. triunguis 37

טבלה 6 : ערכי מבחן השוואת שונויות למדדים מורפולוגיים 38

טבלה 7 : מידת הקורלציה בין מדדים מורפולוגיים שונים 39

טבלה 8 : נתונים כלליים של הקינים בעונת ההטלות 2004 44

טבלה 9 : נתונים מפורטים של הביצים בעונת ההטלות 2004 44

טבלה 10 : נתונים כלליים של הקינים בעונת ההטלות 2005 45

טבלה 11 : נתונים מפורטים של הביצים בעונת ההטלות2005 45

טבלה 12 : נתוני קינים לפי סוג קרקע 47

טבלה 13 : הבדל בין מועדי הטלה (Tukey) 48

טבלה 14 : הבדל בין מועדי הטלה (Bonferroni) 48

טבלה 15 : נתונים סטטיסטיים של מדידות שיעור לחות בקינים (ב-%) 51

טבלה 16 : הערכות של גודל אוכלוסיית הצב הרך בנחל אלכסנדר 54

טבלה 17 : נתונים מורפולוגיים של גוויות צבים 56

טבלה 18 : נתונים אחדים של שיעור טריפת קינים 57

טבלה 19 : מועד ההטלה ומספר הביצים בקינים שלא בקעו 58

טבלה 20 : פירוט המשדרים ותדריהם 84

רשימת איורים

איור 1 : צב שזוהה על פי הזנב כנקבה, עם פניס שלוף 12
איור 2 : לכידת צבים מסירה, באגם סולפורוס, תורכיה 13
איור 3 : שחרור למים של פרט שנלכד, עם תום הטיפול בו 14
איור 4 : אופן דגימת דם מהוריד הקאודאלי 15
איור 5 : צב מסומן בתג בקר, המוצמד לקרפס 17
איור 6 : מפת שטח המחקר בנחל אלכסנדר, עם סימון אתרי ההטלה 19
איור 7 : עקבות צבה בחול, עם מראה הקן 20
איור 8 : קן טרוף, עם מיגון מדור א'. 22
איור 9 : קן ממוגן במיגון מדור ג' 23
איור 10 : אתר ההטלה "חופית", לאחר גידורו 23
איור 11 : דוגמת ג'ל אגארוז לבדיקת כמות DNA 25
איור 12 : ג'ל אגארוז לבדיקת כמות DNA בדגימות mtDNA 31
איור 13 : השינוי בעומס המזהמים בנחל אלכסנדר 34
איור 14 : מבט כללי על קטע מאזור המחקר 34
איור 15 : התפלגות תוצאות החישוב של גודל אוכלוסייה 36
איור 16 : השוואת אורך זנב, ממויין לפי אורך מפלסטרון 40
איור 17 : השוואת אורך זנב, ממוין לפי אורך מקלואקה 40
איור 18 : השוואת אורך זנב, ממוין לפי אורך מקרפס 41
איור 19 : השוואת אורך זנב מפלסטרון ומקלואקה, מחולק למשקל 42
איור 20 : פרט קטן אשר נלכד בנחל נעמן 42
איור 21 : התפלגות לגודל של הצבים שנצפו בנחל אלכסנדר ובתורכיה 43
איור 22 : משך הדגירה של הביצים בקן, כפונקציה של מועד ההטלה 49
איור 23 : הטמפרטורה בקן במיקומים, זמנים ובאתרים שונים 50
איור 24 : שיעור הלחות בקרקע בשלושת אתרי ההטלה 52
איור 25 : גופת צב לקראת דיסקציה, מבט כללי 75
איור 26 : פתיחת גופת צב 75
איור 27 (מימין) : ריאה. ניתן לראות את המבנה השטוח, הצמוד לקרפס 76
איור 28 (משמאל) : התפצלות הטרכיאה ל- 2 טרכיאות 76
איור 29 (מימין) : מבט קאודו-רוסטרי מהקלואקה (משמאל) : פניס 76
איור 30 : מבט כללי על אזור אברי הרביה בזכר 76
איור 31 : איור 30 (משמאל) : פניס 76
איור 32 : משדר רדיו טלמטריה מחובר למצוף, עם אנטנה מחוזקת 82
איור 33 : פרט ממושדר במשדר בעל מערכת משופרת לזקיפת האנטנה 82
איור 34 : פרט ממושדר ("אדום") עולה לגדה בעת האכלה על ידי מטיילים 83
איור 35 : צב מתנכל לאנטנת המשדר של פרט ממושדר 85

1. מבוא

1.1. כללי

הצב הרך המצוי (*Trionyx triunguis*) שייך למשפחת הצבים הרכים (*Trionychidae*). זוהי קבוצה של צבי מים מתוקים, החיים לרוב במקווי מים רדודים, כולל נחלים וביצות. הם מאופיינים בשריון עגול שטוח וחלק, בעל שוליים רכים, המכוסה מעטה אפידרמיס. צווארם ארוך וגמיש, אפם חרטומי, דמוי חדק, ורגליהם מותאמות לשחייה באמצעות קרומי שחיה בין האצבעות. לצבים הרכים שלושה טפרים חזקים, והם שהקנו לקבוצה את שמה המדעי (Pough et al., 1998).

מבנה גופם מאפשר לצבים הרכים לשכון על קרקעית רדודה של מקווה המים, כאשר צווארם הארוך מזדקר כלפי מעלה והאף והעיניים מחוץ למים (ארבל, 84). מעטה העור שעל השריון מאפשר שיחלוף גזים עם הסביבה המימית, תכונה המקנה לצבים הרכים יכולת צלילה ממושכת (Prassack et al., 2001).

הם מצטיינים בזריזותם, נשכנים ותוקפניים. בתזונתם הינם אומניבורים, אך ניזונים בעיקר במזון מהחי: סרטנים, חרקים, דגים ופגרים שהם מוצאים במים (ארבל, 84).

מאובנים של צבים רכים מתוארכים החל מסוף עידן היורה (לפני כ- 150 מליון שנה), ובסך הכל נתגלו כ- 300 מינים שונים, שנפוצו בכל היבשות, למעט אנטארקטיקה. כיום לעומת זאת, מוכרים 22-23 מינים בלבד, המשויכים ל- 13 סוגים, ותפוצתם מוגבלת לאסיה, אפריקה, צפון אמריקה והארכיפלג האינדו-אוסטרלי (Pough et al., 1998). באזורינו, איזור האגן המזרחי של הים התיכון, נתגלו בסדימנטים מתקופת המיוקן, מאובנים של הסוג *Trionyx*, אשר ניתן לקבוע כי הם קרובים ל- *T. triunguis* של ימינו. ממצאים כאלה נתגלו בתורכיה, בקפריסין, ואף בעירק. נראה שהמקור להתפשטות באזורינו הוא באפריקה (Tuna, 1988). בישראל נתגלו מאובני *T. triunguis* בעמק הירדן, מלפני כמיליון שנה, ובתל אביב (תל קסילה), מלפני כ- 3000 שנה (חכם, 1989).

1.2. *Trionyx triunguis*

המין המצוי בישראל, הצב הרך המצוי (להלן: "צב רך"), *Trionyx triunguis* (Common name: Nile\ African SoftShell turtle) הוגדר לראשונה על ידי Forskål (1775). על פי העדכון שביצע Meylan (1987), מוגדר המין *Trionyx triunguis* כמין יחיד בסוג *Trionyx*, וכיום זוהי ההגדרה המקובלת (שי 2002, Pough et al., 1998).

T. triunguis הנו מהגדולים שבצבי המים המתוקים. אורך שריונו (carapace) מגיע לכדי מטר (Moll & Moll, 2004), ומשקלו לכ- 50 ק"ג (ארבל, 84). ארבל (1973) מדווח על צבה שנלכדה בנחל אלכסנדר, אשר אורך הקרפס שלה הגיע ל-94 ס"מ. תוחלת החיים של הצב הרך לא ידועה, אך מתועד פרט, בגן חיות בוושינגטון, אשר גילו הינו 50 שנה לפחות (שי, 2002). לשם זהירות, ראוי להזכיר את מחקרם המקיף של Gibbons and Semlitsch (1982) על תוחלת החיים של המין *Pseudrmys scripta*, בו הם מגיעים למסקנה כי אורך החיים של הצבים מוערך באופן מוגזם, וכי בטבע הוא נמוך משמעותית מאשר בשביה. במין שנחקר, מדווחים החוקרים כי גיל הצבים מגיע לכדי 30 שנה בלבד, ולא ל- 75 שנה, כפי שנהוג היה לחשוב (Gibbons and Semlitsch, 1982).

בית גידולו האופייני של הצב הרך הינו גופי מים מתוקים, אולם הוא חודר גם למי הים המלוחים, וכנראה שאף מסוגל להתקיים בים תקופות ארוכות (ארבל, 84, MEDASSET, 2000). Keller (2005) מדווח על סקר שנערך בתורכיה, ב- 5 סירות דיג בים התיכון, בשנים 7-1996. במהלך תקופה זו נלכדו 437 צבים רכים, רובם בעומק של 30-11 מ' מתחת לפני המים. סלע (1970) מדווח כי דייגים במפרץ חיפה פוגשים צבים רכים באופן קבוע, וכן מדווח על תיעוד של צב רך בוגר, אשר נלכד בחכה, במפרץ חיפה, בעומק של 6 מ' מתחת לפני המים (6/10/63). סלע מציין כי מציאת הצבים בעומקים אלו מחזקת את הסברה שהצבים שוהים בים בנוחיות, ולא רק נסחפים אליו בשטפונות, כפי שסברו, וכן כי הילכדות בחכה מעידה על נסיון לצוד, ומכאן על מצב כללי טוב.

1.3. תפוצה ודמוגרפיה

1.3.1. תפוצה

תפוצתו של הצב הרך (*T. triunguis*) כוללת חלקים נרחבים באפריקה, בפרט במערכת נהר הנילוס, ושפכי הנהרות במערב אפריקה, וכן אגם טורקנה בצפון קניה, אך לא באגמים אחרים בקניה. זאת כנראה בשל קשר היסטורי קדום של אגם זה למערכת הנילוס (שי, 2002). נראה שדרך הנילוס חדר הצב הרך לים התיכון, ושם התפשט לכיוון האגן המזרחי, למצרים, ישראל, לבנון, סוריה, ועד לתורכיה ויוון (שי, 2002, Tuna, 1988).

עד מחצית המאה ה- 20, נפוץ היה הצב הרך בנחלי החוף בכל מזרח הים התיכון, אולם הערכות עדכניות מדברות על לא יותר מכ- 500 פרטים בכלל אגן הים התיכון, ולמעט תצפיות נדירות בפרטים בודדים, נראה שהצבים הרכים נעלמו כמעט לחלוטין ממצרים, לבנון, סוריה ויוון. קיימות רק 3 אוכלוסיות משמעותיות: שתיים בתורכיה, באזור Dalaman, וב- Seyhan River, והשלישית בישראל, בנחל אלכסנדר (Kasparek & Kinzelbach, 1991, Kasparek, 1999; 2001).

בין הגורמים המסכנים את אוכלוסיית הצב הרך, ניתן למנות ציד ספורדי, מינים פולשים, זיהום, תנועת סירות בנחלים בהם הם חיים, וכריית חול (Moll & Moll, 2004b).

הארגון הבין לאומי להגנת צבים TCF (Turtle Conservation Fund, מיסודו של IUCN) הכריז על אוכלוסיית הצב הרך באגן הים התיכון כעומדת בסכנת הכחדה קריטית, בקטגוריה CR-C2a (כתוצאה מפרגמנטציה, צמצום, ושינוי שטחי בית הגידול) (Moll & Moll, 2004c). כך הוכרז גם בספר האדום של החולייתנים בישראל (דולב ופרבולוצקי, 2002). הארגון למניעת סחר במינים שבסכנת הכחדה CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna), הכריז על הצב הרך כמוגבל למסחר באפריקה, בקטגוריה iii (Moll & Moll, 2004a).

בישראל, לפני קום המדינה, היה הצב הרך נפוץ בכל נחלי החוף (ארבל, 1984), למעט ואדי רובין (נחל שורק), ובעיקר בירקון, בקישון, ובנחל אלכסנדר (מנדלסון, 1989b).

בעקבות הזיהום החמור בנחל אלכסנדר, הוחלט כבר בראשית שנות ה- 60 על העתקת צבים לבתי גידול אחרים, בינהם גם שמורת החולה, ומה שפחות ידוע – הכנרת (מנדלסון, 1989a). למרות שמין זה נעדר ממערכת הירדן מזה מליון שנים (ארבל, 1984), קיווה מנדלסון ליצור שם "גרעין רביה טבעי", מוגן

מהזיהומים של נחלי החוף (שי, 2002). תצפיות מלמדות שאוכלוסיה זו נקלטה ומתרבה היטב (אורון וחובריה, 2004), זאת למרות ההחלטה שנתקבלה ברשות שמורות הטבע (כיום: רשות הטבע והגנים) כבר בשנות ה- 80-70, "להרחיק את הצב הרך משמורת החולה" (רשות שמורות הטבע, מזכר פנימי, 1982). ראוי לציין כי בניגוד להתנגדות שהתפתחה ברשות הטבע והגנים לקיומם של הצבים בחולה, דבק פרופסור מנדלסון בדעתו כי החולה אכן מהווה בית גידול מתאים לצב הרך, והמשיך להמליץ על תגבור האוכלוסייה שם (מנדלסון, 1989c). אתרים נוספים אליהם הועתקו צבים רכים הם בריכות עטה, גדור וגן שמואל, אגם הקישון, אגם תענך ואגם זוהר (ארבל, 1973, שי, 2002). המעקב אחר פרטים אלה היה אפסי, אך במקרים אחדים נמצאו הפרטים מתים. בסך הכל כנראה שלא התבססו אוכלוסיות חדשות (חכם, 1989). נכון לשנים האחרונות, ידוע על אוכלוסיות יציבות בנחל אלכסנדר, נחל נעמן ושמורת עין אפק, והחולה. בנוסף לכך קיימות תצפיות ספורדיות בצבים בנחל תנינים, בירקון ובמערכת הקישון (שי, 2002, אורון וחובריה, 2004). בסקר שנערך בשנת 2006, נתגלו 3 קינים בנחל תנינים (בתעלת הכברה) ושניים בקישון (במאגר שריד, ובנחל עדשים) (סיני, 2006). החל משנת 2004, מבוצע מעקב אחר הטלות בשמורת החולה, הביצים נאספות ומודגרות, ומבוצע שחרור צבונים בנחלים שונים. מאות צבונים שוחררו בנחלים שורק, ירקון, קישון ונעמן (אורון וחובריה, 2004, סיני 2006)

1.3.2. גודל אוכלוסיית נחל אלכסנדר

בראשית שנות ה- 70' עורר הזיהום בנחל אלכסנדר חרדה לגורלם של הצבים הרכים שבו, ונעשה נסיון להעביר "את כל הפרטים החיים" לבתי גידול אחרים (אילני, 1973). הועברו בארוע זה 21 צבים, ובסך הכל תועדה העתקה של 25 פרטים בשנים 1975-1972 (חכם, 1989).

בתחילת שנות ה- 80 הוערך גודל האוכלוסייה בנחל אלכסנדר, באמצעות תצפיות ספורדיות, בכ- 100 פרטים (אייל, 1983a, גזית, 1982). עשר שנים לאחר מכן, במחקר של אייל שי, הוערך גודל האוכלוסייה ב- 200 פרטים (שי, 1991). היתה סברה כי אוכלוסיית הנחל גדלה באופן לא טבעי, בזכות האכלה אינטנסיבית בפגרי תרנגולי הודו, אשר התבצעה על ידי חקלאים ממושבי הסביבה במשך שנים רבות (קולר, 1988, Kasparek & Kinzelbach, 1991).

ב- 25/1/1992 עברה אוכלוסיית הצב הרך בנחל אלכסנדר קטסטרופה דמוגרפית, כאשר בעקבות שטפון חזק נשטפו לים ומתו כ- 180 צבים (קולר, 1992), או על פי גרסת ווטרינר שטיפל בארוע, כ-250 צבים (בן יקיר, 1992). אנשי רשות שמורות הטבע, בסיוע מתנדבים תושבי האזור, אספו את הצבים שנסחפו בחוף הים באזור השפך של נחל אלכסנדר. מתוך כלל הפרטים שנאספו, עמד מספר החיים על כ- 80 (קולר, 1992, בן יקיר, 1992). מספר הצבים החיים ששוחררו, לאחר כ- 3 שבועות של טיפול, עמד על 8, ולא ידוע אם מי מהם שרד. על פי בן יקיר (1992), נפגעו הצבים מזיהום חיידקי, אשר חדר לגופם בעקבות פציעות עוריות, שנגרמו להם במהלך הסחפותם בשטפון, והפך למגיפה עקב תנאי הצפיפות בהם הוחזקו עד לשחרורם. לדעתו הם קיבלו טיפול תרופתי שגוי, והוא אשר גרם בסופו של דבר למותם. לעומתו סבור מנדלסון (1992), כי בעקבות החשיפה לקור נחלשו הצבים, ואולי אף פיתחו דלקת ריאות, וכי הקור הינו סיבת המוות הישירה: על פי ניסויים שהוא ערך, מסוגל הצב הרך לעמוד, לזמן קצר בלבד, בטמפרטורה של 6°C.

לאחר אותו ארוע עמדה אוכלוסיית נחל אלכסנדר, בהערכה לא מדויקת, על כ- 60-50 פרטים (שי, 2002).

1.3.3. מבנה האוכלוסייה – גילאים

לפי הערכות שונות, חיו בישראל, ב- 1948, מאות פרטים בוגרים, ואלפי צעירים (ארבל, 84). מנדלסון (1988) מדווח כי בשנות ה- 40 של המאה ה-20, היה בנחל אלכסנדר ייצוג לכל הגילאים. בשנים האחרונות לעומת זאת, מספר התצפיות בפרטים צעירים מועט, וכן נצפית תופעה של אי בקיעת קינים שלמים (שי, 2002).
כבר בשנת 1981 (אייל, 1981) עלה ברשות שמורות הטבע הצורך לחקור את מיעוט התצפיות בצבונים צעירים. התופעה מוזכרת גם על ידי לשם (1983) ומנדלסון (1988). בסקר שערכו איל, גפני וקלר בנחל אלכסנדר בשנת 1983, נספרו 102 פרטים גדולים וענקיים, ואף לא צעיר אחד (אייל, 1983b). גילם הוערך במעל 15 שנה (איל וגזית, 1983).
בתחקור של שמוליק וייס, דייג ותיק ממכמורת (חכם, 1989), הוא מדווח על מציאות ריכוזים של צעירים (15-20 ס״מ) בנפרד מהבוגרים, במעלה הנחל ולעיתים במורדו.
גם בתורכיה בולטת התופעה של מיעוט תצפיות בפרטים צעירים, ובסקר שנערך ב- Dalyan ב- 1988, למשל, לא נצפה אף צעיר או תת בוגר, אלא בוגרים בלבד (שי, 2002). כך גם לאחרונה ב- Dalaman וב- Dalyan, תורכיה (Bride, 2004).
גורמים למיעוט הצעירים יכולים להיות רגישותם לזיהום הכימי בנחל, קניבליזם של הבוגרים (פחות סביר) (מנדלסון, 1988, ספריאל 1989), חוסר מזון, אולי על רקע הפחתת הזיהום האורגאני (מנדלסון, אצל ספריאל, 1989 , פרנקברג, 1988), טריפה על ידי שפמנונים (מנדלסון, 1989c), מיעוט ביצים (איל וגזית 1983), או חוסר פוריות ביצים (שי, 2002).
קיים חשש שאוכלוסיית הצב הרך באגן הים התיכון הינה אוכלוסייה מזדקנת אשר מהווה שריד לאוכלוסיית עבר מפותחת (Kasparek, 1999, Bride, 2004, שי, 2002). יתרה מזאת, הגנה על קינים וביצים, אפילו במספרים גדולים, עלולה להיות בעלת השפעה שולית בלבד על גודל האוכלוסייה הבוגרת (Gibbs & Amato , 2000).
בניגוד לחששות אלה, מציין Bury (1979), כי אופייני ששיעור הצעירים בצבי מים הוא נמוך, ושרוב האוכלוסייה מורכבת מבוגרים מאריכי חיים. Bury (1979) מציג מספר מחקרים, ששיעור הצעירים המינימאלי בהם הוא 10%, והממוצע הוא 31%. לעומתו טוענים Gibbs & Amato (2000), כי יחס הבוגרים לצעירים וביצים יכול להגיע מ- 10 :1 עד 1000 :1 (נראה כי ההבדל בינהם נובע מההשוואה למספר הביצים, אצל Gibbs, לעומת התייחסותו של Bury (1979) לתצפיות באוכלוסיה חופשית). ורנר (1988) מציין כי ידועים בעלי חיים, כמו קרפדה ירוקה, בהם הצעירים כמעט לא נראים בטבע, בין אם מסיבות דמוגרפיות, של שרידות נמוכה של צעירים, והצטברות בוגרים, ובין אם בשל הימצאותם בנישות שונות, נסתרות (כמו בספנודון). גם בצבי ביצה שחקר ורנר בנחל הקישון, היו הצעירים מרוכזים ביובלים צדדים ובשולי ביצות רדודים.

1.3.4. מבנה אוכלוסיה – זוויגים

כבר דארווין שם לב ליחס הזוויגים הקבוע ברוב אוכלוסיות בעלי החיים, העומד על 50% זכרים ו- 50% נקבות, אולם הוא הותיר לפישר (1930, ע״פ מילכטייך, 1995) להראות את היתרון האבולוציוני הכרוך באוכלוסיה מאוזנת. בניגוד לכך, זוחלים בהם נקבע הזוויג על ידי תנאי הסביבה (ESD – Environmental Sex Determination, או TSD – Temperature Sex Determination), בפרט צבים וקרוקודילים, מראים

לעיתים קרובות יחסי זוויגים מוטים, לכיוון של ריבוי נקבות. הדבר מגיע למידה קיצונית בצבי ים (שיעור נקבות עד כדי 90% מהאוכלוסייה), אך גם בצבי מים מתוקים נראו שיעורי נקבות של 60-80%. אחד ההסברים גורס שהסיבה לכך היא שאין המדובר במנגנון של תורשה מנדלית, אלא בתורשה תרבותית (Dawkins, 1976), כשהנקבות מורישות לבנותיהן את הנאמנות לאתר ההטלה, ובהשתחררן ממערכת האילוצים של החוקים המנדליים, זוכות באפשרות ל"העדיף את מינן" באוכלוסיה (Freedberg & Wade, 2001). כפי שיוצג להלן (בסעיף: 1.4.1.1. קביעת זויג), *T. triunguis* הוא כנראה בעל מנגנון גנטי (GSD) לקביעת זויג, ואיננו בעל TSD, כך שאין הוא צפוי להראות יחס זוויגים מוטה. עם זאת, קיימים גם מקרים אחרים של הטיית יחס הזוויגים, למשל עקב דריסה של נקבות בדרכן לאזורי הטלה, במקרים בהם עובר כביש בינו לבין אזור המחיה. Gibbs & Steen (2005), מעלים סברה שדריסות מהוות גורם משמעותי, הגורם לירידה בשיעור הנקבות, אשר נמשכת במקביל להתפתחות התחבורה ורשת הכבישים בארה"ב.

1.4. רביה

1.4.1. התפתחות מינית

1.4.1.1. קביעת זויג

המנגנון העיקרי לקביעת הזוויג ברוב מחלקות החולייתנים הנו גנטי (GSD – Genetic Sex Determination), כאשר הכרומוסומים הזכריים והנקביים המתחברים בגמטה קובעים את מסלול ההבשלה של הגונדות. במחלקת הזוחלים לעומת זאת, ברבים מהצבים, בחלק מהלטאיים, ובכל הקרוקודילים שנחקרו עד כה, קיים מנגנון של קביעת זוויג פנוטיפית (TSD– Temperature Sex Determination) (Kuchling, 1999). במנגנון זה לא נתגלה הבדל כרומוזומאלי בין הזוויגים, למעט יוצאי דופן בודדים, דוגמת החומט האוסטרלי *Bassiana duperreyi*, Scincidae (Shine et al., 2002). בצבים, גם בין אלה שמקיימים GSD, נתגלתה הטרומורפיות כרומוזומאלית בין זוויגית רק בכ- 5 מינים (Eraz et al., 2006), מהם אף אחד אינו צב רך (Sato & Ota, 2001).

כל הצבים הרכים (Trionychidae) שנחקרו עד כה מקיימים GSD (Kuchling, 1999) ולא TSD. בניהם *Apalone spinifera* , צב רך מצפון אמריקה (Greenbaum & Carr , 2001), ו- *Pelodiscus sinensis*, צב רך מאסיה (Ji et al., 2003). עם זאת, תוצאות מחקרים אחרים ב- *P. sinensis* (Zu, 2002, Nie, 2002, שניהם על פי Ji et al., 2003), מטילות ספק מסוים במסקנה זו, ומעלות את הצורך במחקר נוסף.

לגבי *T. triunguis*, טרם בוצע מחקר אשר יוכיח באופן חד משמעי את מנגנון קביעת הזוויג.

1.4.1.2. התבגרות מינית

מינים רבים של צבים מגיעים לבגרות מינית לאחר גיל 10 שנים (Gibbs & Amato , 2000). עם זאת, ברוב מיני הצבים, הגורם המרכזי הקובע את מועד הבגרות המינית איננו הגיל, אלא גודל הגוף. במינים רבים, ביניהם גם מינים ממשפחת הצבים הרכים (Trionychidae), הזכרים מתבגרים מינית בגודל קטן יותר מאשר הנקבות (Moll, 79). מנדלסון (1971) מציין על סמך תצפיותיו בצבים רכים (*T. triunguis*) בשביה, בגן הזואולוגי בתל אביב, כי הצבים מגיעים לבגרות מינית בגיל 10-12, כשאורך הקרפס עומד על כ- 50 ס״מ בלבד. הוא סבור כי יתכן שבטבע ההגעה לבגרות היא בגיל צעיר יותר, וזאת מאחר וקצב הגידול של הפרטים בשביה נמוך יותר מאשר בטבע (הצפיפות בשבי מעכבת את הגידול).

1.4.2. הטלה וקינון

תקופת ההזדווגות של הצב הרך מתרחשת בחודש מאי. הנקבה מטילה בממוצע 40 ביצים, בעומק של 30-40 ס״מ, בקן אותו היא חופרת בקרקע היבשה, מחוץ למים (Gibbs & Amato , 2000) בין אמצע מאי לאמצע יולי (ארבל, 84). האינקובציה נמשכת 10-11 שבועות. הביצים בוקעות במהלך תקופה של 2-3 שבועות בסביבות אמצע אוגוסט (לשם, 1983). מאפיינים אלה משייכים את הצב הרך, כרוב צבי המים הגדולים, לטיפוס I (pattern I) של תטולה, אותו מאפיינות תטולות מרובות (לעונה), של ביצים רבות וקטנות יחסית, במהלך תקופת הטלה מוגדרת (ומוגבלת), וקן הבנוי בתבנית מדויקת, וממוקם באתר הטלה מוגדר וקבוע (Moll, 1979). מספר הביצים המקסימלי המדווח הוא כ- 50 (ארבל, 84, שי, 2002, כהן, 2004). בתורכיה מדווח על גודל תטולה מקסימאלי של 59 ביצים, עם ממוצע של 31 לקן (Gidis & Kaska, 2004).
צבות שגודלו בגן הזואולוגי בתל אביב הטילו לעיתים מספר פעמים בעונה (ארבל, 84). אחת מהן נהגה להטיל 3 פעמים מדי שנה, 100-120 ביצים בסך הכל (ארבל, 1973).
גם במינים אחרים של צבים רכים, מדווח על בין 2 ל- 5 הטלות בעונה (תלוי במין) (Moll, 79).
הקן נחפר בקרקע, בדרך כלל בגדה חולית, במרחק של כ- 5-15 מ׳ מהחוף, בגובה 1-1.5 מ׳ מעל פני המים (חכם, 1989).
מאפיינים דומים של אתר הקינון של *T. triunguis* קיימים גם ב- Kukurt Golu, תורכיה, וב- Lac Oguemoue, גבון, אפריקה. בגבון, אתר שאיננו חולי אלא מדרון מכוסה עשב, נבדל מהמאפיינים הנזכרים קודם בגובה מעל פני המים של הקרקע בה ממוקמים הקינים : 3.5-4 מ׳ (Gramentz, 2005).
הצבונים הבוקעים יוצאים בכוחות עצמם מקן ההטלה אל פני השטח ומשם לעבר המים (ארבל, 84).
בוסקילה (1982) מדווח כי בקיעת הקן נמשכת 4 ימים ואף יותר, כאשר עיקר (אך לא כל) הגיחות של צבונים מהקרקע מתרחשות בלילה. כמו כן הוא מדווח כי לעיתים הצבונים אינם הולכים לכיוון המים, אלא בכיוון אחר, ולעיתים נמצאים מיובשים בחולות.

1.4.2.1. טריפת קינים וגורמי סיכון נוספים

ביצים וצבונים בוקעים של צבים רכים נתונים לסכנת טריפה מטורפים יבשתיים ביניהם : שועלים, זאבים, צבועים, רקונים, חתולים, חזירי בר, חסידות, פריגטות, שחפים, דורסים, סרטנים, נחשים, תנינים, דגים שונים ועוד (Moll & Moll, 2004a). Kasparek (1999) מציין כי טריפת קינים הפכה לגורם משמעותי

בהישרדות הצב הרך באזורינו. ניתן להתמודד עם בעיה זו באמצעות שליטה באוכלוסיית הטורף, או על ידי העתקת קינים לחווה מגודרת, או על ידי הגנת קינים באמצעות גידור נקודתי, על גבי הקן (Moll & Moll, 2004a).

בישראל, קיימת טריפה רבה של קינים בעיקר על ידי שועלים ונמיות, וכדי להתגבר על הבעיה הוחלט לסרוק את אזורי ההטלה מידי בוקר, ולהעתיק את כל הקינים המתגלים, לחווה מגודרת היטב (כהן, 2004). Bride (2004) מדווח, כי כל הקינים שנתגלו בחוף מסוים בתורכיה, נטרפו על ידי שועלים. שי (2002) מדווח כי גם בארה"ב מאיימת הסכנה של טריפת קינים על אוכלוסיות צבים רכים.

השיטה הפשוטה ביותר להגן על הביצים היא מיגון ספציפי של הקן באמצעות פיסת גדר המונחת מעל התטולה (Moll & Moll, 2004b). בשיטה זו השתמש בוסקילה (1982), ודיווח על תוצאות טובות. Gidis & Kaska 2004 השתמשו ב"כובע" עשוי גדר רשת המונח מעל לתטולה.

בנחל אלכסנדר נעשה שימוש בעבר ב"כובעים" עשויים גדר רשת, אולם הם לא מנעו טריפות, ובעקבות כך הוחלט לעבור להעתקה של כל הקינים לחוות קינים מגודרת היטב, אשר בה אכן לא התרחשו כל טריפות.

גורם סיכון משמעותי נוסף להצלחת הקינון של צבי מים שונים הוא הצפה, אשר באזורים שונים בעולם מהווה סיכון גדול יותר מטריפה (Doody et al. 2004). עם זאת, יש מינים בהם יכולות הביצים לשאת הצפה במשך מעל 30 יום, ללא ירידה בחיוניות שלהן (Polisar, 1996).

במקרים רבים מפריד כביש בין מקווה המים לבין אתר (או איזור) ההטלה. במקומות כאלה, עלולה דריסה על ידי כלי רכב, להוות גורם משמעותי: במחקר שנערך במשך 6 שנים, בניו גרסי, בצבים מסוג Diamondback terrapin (*Malaclemys terrapin*), נספרו 4020 צבים דרוסים, לאורך 35 ק"מ של כביש (Moll & Moll, 2004).

1.4.3. השפעות א-ביוטיות על התפתחות העובר

1.4.3.1. טמפרטורה

מעבר למקרים בהם קובעת הטמפרטורה את הזויג, הרי שבכל המקרים משפיעה טמפרטורת הדגירה של הביצים בקן על פרמטרים כגון: משך האינקובציה, הצלחת הבקיעה, ניצול האנרגיה על ידי העובר, גודל הצבון הבוקע וגדילתו בתחילת חייו, מורפולוגיה, רזרבות אנרגיה, התנהגות ויכולת תנועתית (Du & Ji, 2003). Du &Ji (2003) הראו כי בצב רך אסייתי (*Pelodiscus sinensis*), משך הדגירה התקצר עם העליה בטמפרטורה, מ- 97.2 יום ב- 23°C, ל- 39.4 יום ב- 34°C. שיעור הבקיעה היה 81.7-96.9% בטמפרטורות הביניים, לעומת 44% ב- 23°C ו- 73.7% ב- 34°C. טמפרטורת הדגירה השפיעה גם על משקל ורוחב הקרפס של הצבונים הבוקעים, כשהקטנים ביותר הם אלה שהתפתחו ב- 23°C. בהדגרה בטמפרטורה משתנה, האמורה לדמות ככל האפשר תנאים טבעיים, היו הצבונים שהודגרו בטמפרטורת ביניים (26.5° C) בעלי משקל גבוה יותר משל אלה שהתפתחו בטמפרטורות הקיצוניות (34°C, 33°C, 24°C). בבדיקת ריצה מיד לאחר הבקיעה, היה חסרון לצבונים שהתפתחו בטמפרטורה של 24°C, יחסית לשאר הקבוצות, ובבדיקת קצב הגידול, היה יתרון לצבונים שהתפתחו ב- 26.5°C על אלה שהתפתחו ב- 34°C (24°C לא נבדקו).

Leshem & Dmi'el (1986), אשר חקרו את השפעת הטמפרטורה על התפתחות העובר ב- *T. triunguis*, מדווחים על שיפור בשיעור הבקיעה מעל 24C°, וירידה מעל 33C°.

1.4.3.2. לחות

Leshem & Dmi'el (1986) בדקו את השפעת הלחות בקן על התפתחות העוברים ב- *T. triunguis* ב- 3 קינים in situ, ומצאו וריאביליות גדולה באחוז לחות הקרקע, בשכבה העליונה של הקן. כמו כן גילו Leshem & Dmi'el (1986) רמזים לכך שעוברים שהתפתחו בלחות גבוהה יותר, בקעו כצבונים גדולים יותר (על פי אורך קרפס – CCL) מאלה שהתפתחו בלחות נמוכה. לשם (1983) מצטטת מ- Packard שגילה גידול מועט של צבוני (*Chrysemys picta*) Painted Turtle, שהם בעלי קליפת ביצה רכה, בסביבה יבשה. Miller et al. (1987) מדווחים על יתרון בתנועתיות, לצבונים של (*Chelydra serpentina*) snapping turtles אשר התפתחו בלחות גבוהה יותר.

לעומת זאת, בעוברים עם קליפה קשה (כדוגמת *T. triunguis*), מדווח Booth (2002), כי בצב המים *Chelodina expansa* לא נמצאה השפעה של הלחות על משך האינקובציה של העובר.

בשל החשיבות הרבה שיש למיקום הספציפי של הקן מבחינת הפרמטרים הא-ביוטיים שבו, הרי שלהתנהגות האם בבחירת מיקום הקן יש חשיבות קריטית להצלחת העוברים והצבונים (Morjan, 2003).

1.5. גנטיקה

1.5.1. שונות גנטית

בנוסף לסכנת הכחדה מיידית, עומדים בפני מינים רבים איומים הנובעים מהצטמצמות גודל האוכלוסייה. אלו כוללים תופעות כמו זיווגי שארים (inbreeding) וסחיפה גנטית שגורמים לירידה בשונות הגנטית, עקב אובדן אללים (Montgomery et al., 2004 ,Frankham, 1996 ,O'brien, 1994). השונות הגנטית היא המאפשרת לקבוצה הגנטית להתמודד מול תנאי הסביבה, ולהתפתח בתגובה לגורמים כגון: מחלות חדשות, פרזיטים, תחרות או טריפה, זיהום, ואפילו התחממות גלובאלית, או הדלדלות שכבת האוזון. מנגד, מחקרים הראו כי אובדן של שונות גנטית ו- Inbreeding, מתבטאים בתופעות כגון ירידה בפוריות (למשל עקב ירידה באיכות הזרע בזכרים או תמותה גבוהה של עוברים/ צעירים), ריבוי ליקויים גופניים, ועלייה ברגישות למחלות (O'brien, 1994). אי לכך, הוגדרה השונות הגנטית על ידי ארגון השימור הבינלאומי, ה- IUCN, כאחת מ-3 רמות של מגוון ביולוגי הדורשת שימור (Frankham, 1996). ראוי לציין בהקשר זה, כי מאגר גנים קטן מהווה בעיה בעיקר עבור אוכלוסיה קטנה, שהיתה גדולה בעבר. הוא פחות בעייתי לאוכלוסיה שהיתה תמיד קטנה, כי בה רוב האללים הבעייתיים נופו במהלך השנים (Moll & Moll, 2004b).

DNA מיטוכונדריאלי (mtDNA), מהווה אתר נוח ומקובל לבדוק בו שונות גנטית. זהו גנום קטן, בן כ- 20Kbp, מונופלואידי, חסר רקומבינציות כמעט לחלוטין (Cacalli-Sforza, 1998) , ואשר קצב המוטציות בו, גבוה פי 3-4 מאשר ב- DNA גרעיני (Ballard & Whitlock, 2004).

במחקר שביצעו Johns & Avise (1998), להשוואת מרחקים גנטיים בין מינים בקבוצות פילוגנטיות שונות, הם השתמשו כמדד בגן המיטוכונדריאלי Cytochrome b , בהיותו הגן שרוצף הכי הרבה בחולייתנים (2821 רצפים הושוו במחקר זה), שהאבולוציה והביוכימיה של החלבון שלו מוכרים היטב, ובעיקר, בשל היותו אינפורמטיבי ברמות הפילוגנטיות הנמוכות, וללא נטייה לסטורציה של התמרות (substitution) נוקלאוטידים. תוצאות מחקר זה, עמדו בקנה אחד עם הידע שהיה קיים על שונות גנטית באמצעות שימוש באלוזימים.

ברוב החולייתנים, קצב השינוי ברצף ה- mtDNA, עומד על כ- 2% למליון שנה. מיני החולייתנים החורגים מקצב זה הם ברובם פויקלותרמיים, שקצב השינוי ברצף אצלם הוא איטי יותר. נתונים אלה מחזקים ידע קודם לגבי צבים: Avise et al. (1992) סקרו 6 עבודות גנטיות קודמות, אשר נערכו ב- 6 סוגים, המשתייכים ל- 3 משפחות שונות של צבים (לא כולל צבים רכים - Trionychidae). עבודות אלה בוצעו באמצעות חיתוך הגנום המיטכונדריאלי באנזימי רסטריקציה (90-40 אתרי חיתוך), וחישוב של שונות לפי הימצאותם או העדרם של אתרי הרסטריקציה השונים. הם הראו, כי קצב המיקרואבולוציה בגנום המיטוכונדריאלי של צבים, איטי פי 8, בממוצע, מקצב השינוי ברצף זה אצל רוב המינים האחרים של חולייתנים. עקב חוסר וודאות לגבי אחדות מההנחות העומדות בבסיס המסקנה (למשל מועד קיומם של ארועים סביבתיים שונים, על פיהם מחושב קצב השינוי), הם הסתייגו מלהציע "שעון" חלופי עבור קצב המיקרואבולוציה המיטוכונדריאלי בצבים. ועם זאת, הציעו הערכת קצב של כ- 0.25% למיליון שנה, לעומת, כאמור, כ- 2% למיליון שנה ברוב החולייתנים האחרים. הם מעלים השערה כי ייתכן ויש לכך קשר למשך החיים (ומשך הדור) הארוך בצבים, או לקצב המטבוליזם האיטי שלהם, וכן שהדבר יכול להיות קשור לאיכות התיקון ב- mtDNA בצבים (Avise et al., 1992).

בניגוד למסקנתם של Avise et al. (1992), מציגים Weirsrock & Janzen (2000) נתונים על צבים רכים, אשר סותרים (ברובם) את הטענה של קצב מיקרואבולוציה נמוך ב- mtDNA של צבים. מחקר זה בדק את הגן המיטוכונדריאלי Cytochrome b, ב- 3 מינים של צבים רכים בצפון אמריקה: *Apalone mutica, A. ferox,* ו- *A. spinifera* . צבים אלה קרובים ביותר, מבחינה טקסונומית, ל- *T. triunguis* (Meylan, 1987), ואכן במחקר זה השתמשו ב- *T. triunguis* (ממקור לא ידוע) כ- out group. Weisrock & Janzen (2000) מציגים רמה גבוהה של שונות תוך מינית ב- 2 מתוך 3 המינים שנחקרו: שתי אוכלוסיות נפרדות של *A. ferox* לא הראו שונות, ולעומת זאת, במין *A.mutica*, נמצאה שונות של 4% בין אוכלוסיות רחוקות, ושל 1% בין אוכלוסיות קרובת, ובמין *A. spinifera* נתגלתה שונות של 5.5% בין אוכלוסיות רחוקות ושל 0.1-0.2% בין אוכלוסיות קרובות. ממצאים אלו תומכים בשימוש ב Cyt b לבדיקה של השונות הגנטית בצב הרך *T. triunguis*.

2. מטרות המחקר

מטרת המחקר היא להבין את הבעיות הניצבות בפני אוכלוסיית הצב הרך בנחלי החוף בישראל, וכן לנסות ולאפיין גורמי הצלחה, אותם ניתן יהיה ליישם על מנת להשיב את הצב הרך לנחלים מהם נעלם.
המחקר התחלק לשני חלקים מרכזיים:

2.1. דמוגרפיה

- הערכת גודל האוכלוסייה (מספר פרטים) ומבנה האוכלוסייה (יחס הזוויגים, יחס הגילאים) בנחל אלכסנדר, ובמידת האפשר, השוואתו למבנה אוכלוסיות אחרות.
- הגדרת השונות הגנטית בתוך אוכלוסיית נחל אלכסנדר, ובין אוכלוסיות שונות בארץ ובתורכיה .

2.2. רביה

- זיהוי גורמים המשפיעים על הצלחת הרביה, בהתמקדות על שלב הקינון.

3. חומרים ושיטות

3.1. סטטיסטיקה – כללי

איסוף נתונים ועיבוד נתונים בסיסי בוצעו באמצעות תוכנת Microsoft Office Excel 2003. חישובים סטטיסטיים נעשו באמצעות תוכנת SPSS 13.0 for Windows.

לבדיקת התפלגות המשתנים, ביצעתי את מבחן Kolmogorov-Smirnov, ומבחן Shapiro-Wilk. במקרים של נסיון לנרמל התפלגויות לא נורמליות, ביצעתי טרנספורמציות LOG ו- 1/X.

לבדיקת קורלציות בין פרמטרים המתפלגים באופן נורמלי, ביצעתי מבחן פירסון, ועבור בעלי התפלגות לא נורמלית, ביצעתי מבחן ספירמן. לזיהוי הבדל בין ממוצעים, בין 2 קטגוריות, עבור משתנים המתפלגים נורמלית, ביצעתי מבחן T, ובמקרה של יותר מ- 2 קטגוריות, ביצעתי מבחן ANOVA. אם נתגלה הבדל מובהק, השתמשתי במבחני Post Hoc של Tuckey ושל Bonferroni. להשוואת ממוצעים בין משתנים בעלי התפלגות לא נורמלית, השתמשתי במבחן Mann – Whitney. עבור השוואות הטמפרטורה בין אזורים שונים בתוך הקן, לא היו המבחנים הרגילים יעילים, זאת מאחר ולמרות ההבדלים המשמעותיים בתנודתיות של הטמפרטורה בין תוך הקן לבין החוץ, הרי שהממוצעים יכולים בהחלט להיות דומים. מה שחשוב במקרה זה זו אך ורק השוואת השונויות, ולשם כך השתמשתי במבחן Levene's להשוואת שונויות (Levene's Test for Equality of Variances).

3.2. דמוגרפיה

על מנת להגיע להערכה איכותית של גודל ומבנה האוכלוסייה, ביצעתי לכידה של צבים, וערכתי מדידה של מדדים מורפולוגיים המעידים על גיל וזויג. כמו כן סימנתי את הפרטים. את התצפיות לצורך הערכת גודל ומבנה האוכלוסייה ערכתי במהלך שנת 2005. הערכה של גודל האוכלוסייה חישבתי בשיטת mark-re-sight.

3.2.1. הערכת גודל אוכלוסיה

בסך הכל, לכדתי וסימנתי בנחל אלכסנדר 28 צבים רכים (7 נוספים סומנו בנחל נעמן ובשמורת עין אפק, צב אחד בנחל שורק). 23 פרטים נלכדו במהלך סתיו 2004, ו- 5 פרטים נוספים באביב – קיץ 2005. 2 פרטים נוספים זוהו באמצעות סימנים מורפולוגיים מובהקים, ונחשבו ל"מסומנים", כך שבסה"כ היו 30 פרטים מסומנים בנחל אלכסנדר.

ביצעתי כ- 70 ספירות בנחל, והערכתי את גודל האוכלוסייה באמצעות חישובים חוזרים של מדד לינקולן - פיטרסון (Lincoln-Peterson ratio estimator):

$$N = \frac{(C+1)(M+1)}{R+1} - 1$$

N – גודל האוכלוסייה

M – מספר הפרטים שסומנו

C – מספר הפרטים שנצפו בתצפית ה"שניה"

R - מספר הפרטים המסומנים שנצפו בתצפית ה"שניה"

3.2.2. מבנה האוכלוסיה- זויגים

על פי המוזכר בספרות (Atatür, 1979), נבדלים הזויגים זה מזה בגודל הזנב, שאצל הזכר הנו ארוך יותר, וחורג מעבר לקרפס, ואילו אצל הנקבה הזנב קצר יחסית, ואינו בולט אל מעבר לקרפס. בעבודה זו נמדד אורך הזנב בשני אופנים: מהפלסטרון לקצה הזנב, ומהקלואקה לקצה הזנב. לקראת סוף המחקר, בלכידות צבים שבוצעו בתורכיה, נמדדה בנוסף גם מידת החריגה של הזנב אל מעבר לקרפס (מקצה הקרפס עד קצה הזנב). אחד הפרטים שלכדתי, אשר זוהה כנקבה, שלף את הפניס שלו במהלך הטיפול, ויצר את הצורך לחדד את יכולתי להבחין בין הזויגים (איור 1).

איור 1: צב שזוהה על פי הזנב כנקבה, עם פניס שלוף.

3.2.2.1. דיסקציות

בעקבות הספק שהתעורר לגבי האמינות של גודל הזנב כמדד לאבחנה בין זוויגית, ביצעתי דיסקציות, במטרה לזהות את זויג הגוויות באופן אנטומי, ולנסות לזהות סימנים של דימורפיזם זוויגי, לצורך אבחנה בין הזויגים בשטח.

במהלך חורף 2005, אספתי 4 גוויות של צבים אשר נסחפו לחוף הים סמוך לשפך נחל אלכסנדר. ב- 3 מהם ביצעתי דיסקציה מקפת, בעזרתו של הוטרינר דר׳ (VMD) כתריאל אלרום. הרביעי נותח בשטח על ידי בלבד.

3.2.3. מבנה האוכלוסיה – גילאים

במסגרת עבודה זו נעשה נסיון להבין את המבנה הבסיסי של התפלגות הגילאים באוכלוסיית הצב הרך של נחל אלכסנדר. לצורך כך, במהלך התצפיות בנחל, בוצעה הערכה של גודל הצבים. התפלגות ה״גילאים״ חושבה על סמך גודל הפרטים, בהסתמך על הטענה כי ההתבגרות המינית בצבים מושפעת מגודל הגוף יותר מאשר הגיל הכרונולוגי. בכך הופך הגודל לפרמטר משמעותי יותר מהגיל בטבלת החיים.

3.2.4. לכידה

לצורך לכידת צבים השתמשתי ברשת לכידה: רשת דיג בעלת חורים בגודל 3X3 ס״מ, עשויה חוט כותנה בעובי 3 מ״מ. הרשת חוברה למסגרת מתכת מלבנית, בגודל 80X60 ס״מ, והמסגרת חוברה למוט נשיאה באורך של 130 ס״מ (מעין גרסה מוגדלת של רשת ללכידת חרקים).

הלכידה עצמה בוצעה בשתי שיטות:

1) בנחל אלכסנדר, בגשר הצבים, מורגלים הצבים להתקרב לגדה לשם האכלה. עובדה זו אפשרה לפתות את הצבים להתקרב עד לגדה ממש, באמצעות פתיון מזון: לחם או בשר. בעמידה על הגדה לכדתי את הצב באמצעות הטלת רשת הלכידה על הצב ומשיכתו לגדה. המשך הטיפול בצב בוצע על הגדה.
2) בתורכיה, ב- Lake Sulphurous, Dalaman, אין גדה שניתן לעמוד עליה לצורך הלכידה. אי לכך השתמשתי בסירה, ממנה הושלך מזון על מנת לפתות את הצבים להתקרב. צב שהגיע לקרבת הסירה נשלה באמצעות הרשת הנ״ל. הטיפול בצב בוצע על גבי הסירה (איור 2).

איור 2: לכידת צבים מסירה, באגם סולפורוס, תורכיה.

במהלך המחקר, לכדתי/ אספתי 37 צבים בישראל, ו- 10 צבים נוספים ב- Lake Sulphorous, בתורכיה. כמו כן אספתי 4 גוויות של צבים מתים, לאחר שטפונות, בחוף הים סמוך לשפך נחל אלכסנדר (טבלה 1).

טבלה 1 : צבים שנדגמו במחקר, ומקום לכידתם/ איסופם

מקום הלכידה	מספר צבים
הגן הזואולוגי באוניברסיטת תל אביב	3
החולה	3
אגם הכנרת	1
נחל אלכסנדר	28
נחל נעמן	2
גוויות בחוף הים, סמוך לשפך נחל אלכסנדר	4
סך הכל בישראל	41
Kukurtle (sulphorous) lake, Dalman, תורכיה	10
סך הכל במחקר	**51**

3.2.4.1. הטיפול בצב שנלכד

כל צב שנלכד, מוספר, סומן בתג ייחודי, במספר מקרים מושדר במשדר טלמטריה, ועבר מספר בדיקות ודגימות כמפורט להלן. כל הטיפול בצב בוצע במקום הלכידה, וארך בדרך כלל עד כ- 15 דקות, או עד כ- 30 דקות במקרה של משדור. עם סיום הטיפול שוחרר הצב חזרה לנחל (ראה איור 3).

איור 3 : שחרור למים של פרט שנלכד, עם תום הטיפול בו.

3.2.4.1.1. מדידות מורפולוגיות

הבדיקה המורפולוגית כללה מדידות אורך ומשקל. מדידות אורך בוצעו בעזרת סרט מדידה גמיש. מדידת משקל בוצעה באמצעות משקל תליה סטנדרטי, לטווח משקלים של 0-50 ק״ג. להלן הנתונים שנמדדו:

1. אורך ורוחב של Carapace (שריון עליון) (בוצעו תוך החזקת הצב צמוד לקרקע).
2. אורך ורוחב של Plastron (שריון תחתון) (בוצעו כשהצב הפוך על גבו או מוחזק בניצב לקרקע, בדרך כלל כשראשו כלפי מטה).
3. אורך הזנב(*) מאמצע הקלואקה, ועד קצה הזנב (בוצע תוך כדי מתיחת הזנב).
4. אורך הזנב(*) מהפלסטרון ועד קצה הזנב (בוצע תוך כדי מתיחת הזנב).
5. ב- 8 פרטים בתורכיה, נמדד גם אורך הזנב(*) מהקרפס ועד קצה הזנב (בוצע תוך כדי מתיחת הזנב).
6. משקל הצב נמדד באמצעות משקל תלוי על מוט עץ, שמתחתיו נתלית רשת הלכידה, כאשר הצב בתוכה (ראה תמונה 2). את הרשת שקלתי בנפרד והפחתתי את משקלה מהמשקל הכולל.
7. צילום: למעט חריגים, צולם כל צב במצלמה דיגיטאלית, במבט מלמעלה, באופן שמאפשר לראות את תג הסימון שלו.

(*)- זנב כהגדרתו בזוחלים כולל רק את הקטע המתחיל בקלואקה. למרות זאת, למען הנוחות, התייחסתי בעבודה זו כ״זנב״ לכל המבנה המורפולוגי המתחיל בפלסטרון וממשיך ב״זנב״.

3.2.4.1.2. דגימת דם

דגמתי דם כאשר הצב מוחזק עם ראשו כלפי מטה, בזוית של כ- 60-80°, ראשו בתוך השריון, והשריון עומד על הקרקע על גבי ריפוד בד, למניעת פגיעה.

דגמתי מהוריד הקאודאלי (Caudal vain), בחלקו הדורסאלי – פרוקסימאלי של הזנב (הצד העליון, בחלק הקרוב לגוף), באמצעות מזרק 5cc, מחובר למחט 22G או 19G, כולם סטרילייים, תוך שימוש בכפפות לטקס. מקום הדקירה חוטא באלכוהול 70%.

את המחט מיקמתי בצד הפרוקסימאלי של הזנב, בחיבור הזנב לחלקו הוונטראלי של הקרפקס. החדרתי את המחט בזוית 45°, בדיוק מעל ציר חוט השדרה. תוך כדי החדרת המחט לעבר צידו הדורסאלי של חוט השדרה, שאבתי שאיבה עדינה במזרק, עד למציאת הוריד (איור 4).

איור 4: אופן דגימת דם מהוריד הקאודאלי.

את הדם השאוב העברתי מיד למבחנה מסחרית של ליתיום - הפרין בנפח 10ml (של חברת Estar), מסומנת במספר של הצב, אותה ניערתי היטב, והכנסתי אותה מיד לתיבה מקוררת (צידנית עם קרח/ קרחומים).
את רוב הדגימות העברתי למעבדה בתוך שעות אחדות, ושם הפרדתי את דגימות הדם בצנטרפוגה למשקע וסרום. את הדגימות העברתי להקפאה (-18°C). אחדות מהדגימות לא הפרדתי למשקע וסרום, והעברתי את הדם המלא ישירות להקפאה.

כמות הדם ששאבתי היתה עד 3ml, אך לעולם לא יותר מ- 1% ממשקל גוף הצב (בהתאם להמלצות הווטרינאריות של: Heard, 2001).

אחדים מהדיגומים, ובפרט הראשונים שבהם, בוצעו בעזרת הוטרינר דר' (V.M.D.) כתריאל אלרום.

3.2.4.1.3. דגימת עור

מאחר והקרפס בצבים הרכים מכוסה אפידרמיס, ניתן היה להפיק דגימת עור בקלות יחסית. בעת שנלכד צב, ניקיתי ביסודיות את אזור הקרפס, באמצעות פד גזה טבול באלכוהול. לאחר מכן גרדתי מעט עור באמצעות סקלפל, עד להיחשפות רקמה פנימית (גוון ורוד/ אדמדם של דמם קל) והעברתי את הרקמה למבחנת אפנדורף מסומנת במספר של הצב, מלאה בופר SDS+STE. את המבחנה אחסנתי בארגז מקורר (קרח/ קרחומים), ובתוך מספר שעות העברתי את המבחנה להקפאה (-18°C).
שיטה ניסיונית לגירוד עור כללה שימוש במוט טלסקופי באורך של כ- 2.5 מ', המחובר בקצהו לסכין גילוח חד פעמית. בעזרת אמצעי זה ניתן היה בקלות רבה לקבל גרד עור מצבים שהתקרבו לחוף להאכלה, וזאת ללא לכידתם. יעילות מקסימאלית הושגה בעזרת שימוש בלהבי גילוח שטוחים מהסוג הישן, כאלה המורכבים לתוך תושבת שנסגרת באמצעות הברגת הידית לתוכה.
בשיטה זו, לא ניתן היה לנקות את עור הצב לפני הגירוד. לאחר הגירוד, הצטברה רקמת עור בצמוד לסכין, בתוך התושבת, והיא הועברה למבחנה כמפורט למעלה. למניעת ערבוב DNA בין פרטים, נעשה שימוש בלהב חדש לכל צב, והתושבת נוקתה בפד גזה עם אלכוהול.
השוואת דגימות מאותו פרט, של DNA שהופק מעור עם DNA שהופק מדם, באמצעות AFLP (ראה פירוט להלן), גילתה הבדל משמעותי ביניהם, ללא קשר אם העור עבר ניקוי (כמפורט למעלה) או לא.
ההשערה היא כי העור נגוע באצות או בקטריות, אשר מזהמות את ה- DNA הצבי, וכי גם הניקוי שביצעתי לא הצליח להסיר אותן. אי לכך, לא נעשה לבסוף שימוש ב- DNA שהופק מהעור.

3.2.4.1.4. דגימת ציפורן

מכל צב שנלכד, נלקחה דגימת ציפורן לשם בדיקות עתידיות. בעזרת קטר, נחתכה פיסה באורך של 3-6 מ"מ מאחת הציפורניים. הציפורן הועברה למבחנת אפנדורף מסומנת במספר ייחודי לצב, ונשמרה בארגז מקורר ולאחר מכן בהקפאה (-18C°).

3.2.4.1.5. סימון ויזואלי בתג ייחודי

לצורך זיהוי הפרטים, דרוש היה לסמן אותם בתג בולט לעין. בעבר, בוצעו סימונים של צבים בנחל אלכסנדר, אולם אין תיעוד מסודר שלהם. ער (1983) מדווח על המלצה להשתמש בתגי אוזן של בקר, ולחברם בחלק הקדמי של השריון, אולם לא ברור באיזו דרך. כמו כן בוצע בשנות ה- 80 ניסוי שכלל סימון

צבונים באמצעות חריצים בשולי הקרפס שלהם (גזית, 1983), אולם לא ברורות תוצאותיו. בספרות מדווח כי סימון כזה הוא אפשרי גם בצבים רכים, אולם החריצים נסתמים, ולאחר זמן מה קשה מאוד לאתרם. באופן כללי מדווח כי סימון הצבים הוא בעייתי מאוד (Plummer, 1979). במחקר זה החלטתי לסמן את הצבים באמצעות תג פלסטיק, שהוצמד לקרפס בחלקו האחורי, בחלק המהווה מעין שמלת סחוס, ללא פלסטרון תחתיו. הפרטים הראשונים סומנו בפיסת פלסטיק צבעוני ללא מספר. זיהויים התבצע לפי צורת התג (עיגול/ מרובע), צבעו, ומיקומו על גבי הקרפס. לצורך הגדרת מיקום התג, מאחר והזיהוי התבצע מרחוק, הגדרתי 3 מיקומים בלבד : מעל רגל שמאל, מעל הזנב, מעל רגל ימין. לאחר מספר נסיונות ראשונים, עברתי להשתמש בתגי פלסטיק המשמשים לסימון בקר : תגים ממוספרים, באחד משני צבעים (ירוק או צהוב), אותם גזרתי בצורת עיגול סביב המספר (איור 5).

איור 5 : צב מסומן בתג בקר, המוצמד לקרפס.

את התג הצמדתי באמצעות חוט נירוסטה סטרילי (Ethicon Steel Wire 7, M624 של חברת Johnson & Johnson), המיועד במקור לתפירת רקמות קשות בניתוחים הומניים (בפרט את הסטרנום). לחוט מוצמדת מחט בקצהו, והיא מאפשרת לתפור את התג לקרפס, כאשר החוט יוצר לולאה המושחלת דרך הקרפס ודרך התג. עם סיום החדרת החוט, בולטים שני קצותיו בצד הדורסאלי של הקרפס, מעל לתג. שם ליפפתי את שני הקצוות זה בזה, ושיטחתי את הקשר באמצעות פלייר. לבסוף כיסיתי את הליפוף, ובפרט את הקצוות החדים של החוטים, בדבק אפוקסי, למניעת שריטות של צבים אחרים אשר עשויים להתחכך בתג. בשלב מסוים, מאחר ונוצר ספק לגבי מידת החוזק של החיבור, הופסק השימוש בליפוף לצורך חיבור החוטים, ובמקומו השתמשתי בטבעת מעיכה ("פלומבה") : שני קצות החוטים הוכנסו לתוך טבעת נחושת בקוטר 8 מ"מ, נמתחו עד להידוק מקסימאלי על התג, והושחלו שנית לתוך הטבעת (תוך יצירת ליפוף סביב גוף הטבעת). לבסוף נמעכה הטבעת בעזרת פלייר. כל זאת על מנת למנוע התרופפות של החוט וכתוצאה מכך של התג.

גם במקרה זה, כיסיתי את טבעת המעיכה ואת קצות החוטים, בדבק אפוקסי.

3.3. רביה

את המעקב אחר רביית הצב הרך, ביצעתי באמצעות סיורים שנערכו בבוקר, בעזרת צוות הגן הלאומי נחל אלכסנדר, בתקופת ההטלות (ממאי עד יולי). בסיור עוברים בכל אתרי ההטלה המוכרים של הצב הרך, ומחפשים עקבות של צבות אשר יצאו להטיל. במקרה של גילוי עקבות, מאתרים את הקן בעזרת דקר. בעבר הועברו הקינים לחווה במורד הנחל אך בתקופת המחקר הושארו הקינים in situ, ומיגנתי אותם באמצעים שונים (ראה סעיף 3.3.3.4 הגנת הקן מפני טורפים).
במסגרת מחקר זה, עקבתי אחר קינים במשך שתי עונות הטלה, בשנים 2004-2005.

3.3.1. איסוף נתונים וסטטיסטיקה

הנתונים שנבדקו בקינים נבחרו מתוך מחשבה כי הם עשויים להיות קשורים למידת הצלחת הקן, המתבטאת בשיעור גבוה של צבונים בוקעים (ומגיחים). נתונים אלו כוללים: אתר ההטלה, מועד הטלה, טריפה, מס' ימים מהטלה לבקיעה ,מס' ימים עד פתיחה הקן ,עומק ביצה עליונה (בס"מ) ,עומק ביצה תחתונה (בס"מ), מס' ביצים כללי, מספר ביצים לא מפותחות ,מספר עוברים מפותחים למחצה ,מס' ביצים שבקעו, ומספר צבונים מתים בקן. כמו כן חושבו שיעור בקיעה ושיעור צבונים חיים, ונמדדו נתוני טמפרטורה ולחות בקינים. נתונים נוספים שעקבתי אחריהם לצורך ייעול שיטות העבודה, הם מספר ביצים שנפגעו מדקר, ומספר צבונים חיים בתוך הקן, בעת פתיחת הקן. נתון זה חסר עניין סטטיסטי, ומעניין רק ערך המקסימום שלו, המעיד על משך הזמן שנמשך תהליך הבקיעה בכלל הביצים בקן.
בדיקת התפלגות של משתני הקן העלתה כי המשתנים הבאים הם בעלי התפלגות נורמלית:
זמן דגירה, עומק ביצה עליונה, עומק ביצה תחתונה, מספר צבונים חיים שנתגלו בקן, מספר הביצים המנוונות, מספר הביצים הפוריות, אחוז הצבונים החיים, אחוז הבקיעה, מספר הביצים הכללי (הנתון של מספר ביצים מפותחות למחצה אינו בר בדיקה עקב מספר דגימות קטן מדי), שיעור הלחות. לעומת זאת הנתונים הבאים אינם בעלי התפלגות נורמלית: מספר צבונים מתים בפתיחת הקן, מספר ביצים שבקעו, מספר ביצים שנפגעו מדקר, וטמפרטורה. טרנספורמציות LOG ו- 1/X לא הביאו להתפלגות נורמלית.

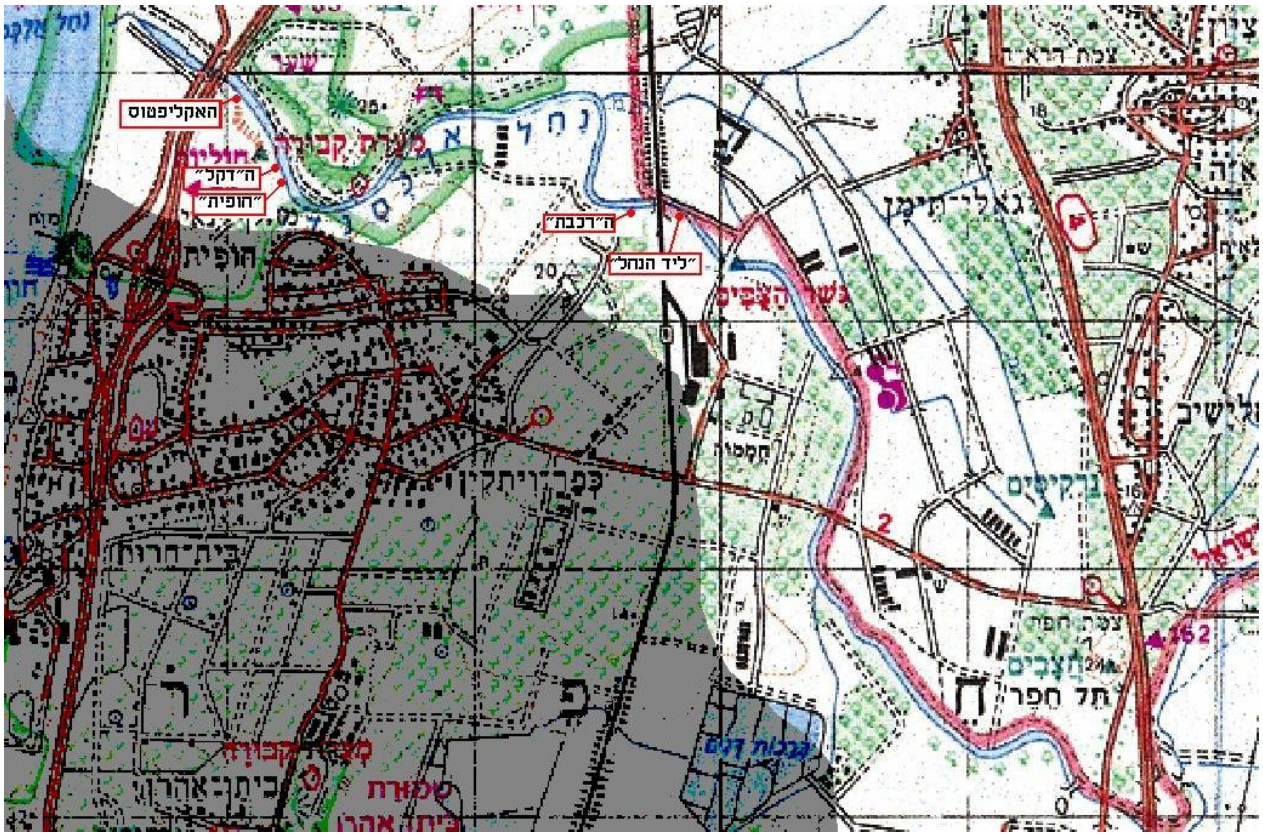
3.3.2. אתרי קינון

מזה שנים אחדות עורכת רשות הטבע והגנים מעקב אחר הטלות הצבים הרכים בנחל אלכסנדר. במספר אתרים על גדת הנחל מבוצע מדי שנה חישוף של הצמחיה לקראת תחילת עונת ההטלות. מעקב אחר מספר ההטלות בכל אתר מביא להחלטה האם להמשיך לתחזק אתר זה. בתקופת המחקר הוכנו 5 אתרים להטלה:

1. **האקליפטוס:** (בעונת 2006 בלבד): אתר קטן (אורך 8 מ', רוחב 10 מ'), חולי, בקרבת כביש החוף.
2. **הדקל**: אתר גדול (אורך 20 מ', רוחב 15 מ'), חולי, יחסית נטול הפרעת אדם.
3. **חופית**: אתר גדול (אורך 20 מ', רוחב 15 מ'), חולי, יחסית נטול הפרעת אדם.
4. **הרכבת**: (בעונת 2006 בלבד): אתר קטן (אורך 3 מ', רוחב 10 מ'), אדמתי, בקרבת דרך עפר ומסילת רכבת.

5. **ליד הנחל**: אתר גדול (אורך 20 מ', רוחב 15 מ'), אדמתי - חולי, בקרבת דרך עפר ומסילת רכבת, ומולו בצד השני של הנחל, גן ארועים בו מתקיימות חתונות כמעט מדי לילה.

איור 6 מציג את אתרי ההטלה, המסומנים בנקודה אדומה לצד שמם (המוקף ריבוע אדום).



איור 6: מפת שטח המחקר בנחל אלכסנדר, עם סימון אתרי ההטלה.

כל אתר מסומן בנקודה אדומה, וממנה קו אדום המוביל אל ציון שמו (במסגרת אדומה).

3.3.3. איתור קינים ומעקב אחריהם

המעקב אחר הטלות בוצע על ידי סריקות באתרים שפורטו. הסריקות בוצעו מדי בוקר, בשעות 06:00-08:00, מתחילת מאי ועד לבקיעת אחרון הקינים (סוף אוגוסט – תחילת ספטמבר), בעזרתם של פקחי רשות הטבע והגנים ובעזרת מתנדבים.

הסריקה כללה סיור באתרי ההטלה ובדיקת עקבות של עליית צבות לגדה. כשזיהיתי עקבות, עקבתי אחריהן לשם זיהוי נקודת חפירת הקן, אשר זוהתה על פי אופי העקבות (איור 7).

איור 7: עקבות צבה בחול, עם מראה הקן. באתר זה, החל מעומק של כ- 15 ס"מ, משתנה החול לקרקע חומה כהה, כך שנראה בבירור כיוון הוצאת העפר בעת החפירה (אורך הסרגל הצהוב: 1 מ').

לשם וידוא ראשוני כי מדובר בקן, דקרתי את הקרקע בעדינות באמצעות דקר. בודק מיומן מסוגל לחוש האם הקרקע הנבדקת בתולית, או שנחפרה וכוסתה (על ידי הצבה). במידה והנקודה התגלתה כבעלת סבירות גבוהה להמצאות קן חפרתי ביד עד לזיהוי הביצה הראשונה. אזי מדדתי את העומק שלה ("עומק ביצה עליונה") באמצעות סרט מדידה, ומיד לאחר מכן כיסיתי את הקן חזרה, בקרקע המקורית. מעל הקן הצבתי "כובע הגנה" (ראה להלן), רשמתי את הקן בדף תצפית, וסימנתי בשטח את מספרו סידורי. עם תום הביקור באתר טשטשתי את עקבות הצבה, על מנת למנוע את זיהוין שוב למחרת, בסיור הבא.
לקראת סוף תקופת הדגירה של הביצים, הקדשתי תשומת לב רבה למראה הקרקע המכסה את הקן, בחיפוש אחר סימנים המעידים על בקיעת הביצים. סימנים אלה כללו שקיעת הקרקע מעל הביצים, ובהמשך עקבות של צבונים היוצאות מהקן.

3.3.3.1. פתיחת קן

הסימנים לבקיעה היו שקיעת פני החול מעל הקן, ועקבות צבונים, שזוהו באמצעות טשטוש יומיומי של החול סביב הקינים. מספר ימים לאחר גילוי סימני בקיעה ראשונים, פתחתי ידנית את הקן. בעת פתיחת קינים, נתגלו צבונים חיים בתוך הקן עד כדי שבוע לאחר בקיעת הצבים הראשונים. זמן ההמתנה מגילוי סימנים ראשונים של בקיעה, נועד לאפשר לאחרוני הצבונים הבוקעים לצאת בעצמם, ומאידך גיסא לא לחכות עד שצבונים שתקועים ימותו בפנים. מאחר ואחרי יותר משבוע כבר כל מי שתקוע בפנים מת, נקבע זמן ההמתנה על 3-6 ימים. שרידי קליפות הביצים נאספו ומוינו ליצירת ביצים "שלמות", לצורך ספירה, ולבדיקות כימיות עתידיות. צבונים מתים אספתי לדגימת DNA. במקרה של גילוי צבונים חיים, הם שולחו למים. ביצעתי רישום של מספר הביצים הכללי, ומתוכן מספר הביצים שבקעו, מספר הביצים שהחלו אך לא השלימו את התפתחותן, מספר הביצים העקרות, ומספר הצבונים המתים והחיים שנתגלו בתוך הקן או לידו. בנוסף, בוצעה מדידה של לחות הקרקע בקן.

3.3.3.2. מדידת לחות בקן

מדידת לחות בקינים בוצעה בשתי שיטות.

1. בעונת 2004, דגמתי עבור כל קן 6 דגימות (סמוך להטלה, באמצע תקופת הדגירה, ולאחר פתיחת הקן), של כ- 300 גרם קרקע, מעומק 15 ס״מ ו 300 גרם נוספים מעומק 30 ס״מ. את הדגימות העברתי למעבדה בשקית ניילון אטומה, ושם שקלתי אותן (במשקל מסוג Weco 3630, לתחום 1-2000g, בדיוק של ±0.1g). לאחר מכן הכנסתי אותן לתנור (Memmert UL-50) בטמפרטורה של 60°C, למשך שבוע. לאחר שבוע הן נשקלו שוב, ועל פי הפרש המשקלים בוצע חישוב של שיעור הלחות בקרקע. הדגימות נלקחו מסמוך לקינים. המדידות בוצעו אחת לחודש. בסך הכל נדגמו 9 קינים, מתוכם 4 נטרפו. לגבי 3 דגימות נוספות מתוך ה – 9, התעורר חשש לגבי מידת אמינות הבדיקה. אי לכך, החלטתי לא להשתמש בנתוני שנה זו.
2. בעונת 2005, השתמשתי במד לחות קרקע (oil Moisture Meter, model HH2, Eijkelkamp Equipment Agriserach). המדידות נעשו מדי שבוע ובוצעו בסמוך לקינים, בעומק 10-15 ס״מ ובעומק 30 ס״מ. עם פתיחת הקן בוצעה מדידה בתוך הקן, מתחת למיקום הביצים.

מבחן לבדיקת התפלגות נתוני הלחות (מבחן Kolmogorov-Smirnov, ומבחן Shapiro-Wilk) מראה כי נתוני הלחות מתפלגים באופן נורמלי.

3.3.3.3. מדידת טמפרטורה בקן

מדידת טמפרטורה בקינים בוצעה בשתי שיטות.

בעונת 2004, מדדתי את הטמפרטורה באופן ידני, מידי סיור בשטח, באמצעות מכשיר תרמוקפל (Wescor TH-65 Digital TC Termometer). חוטי התרמוקפל היו של נחושת – טונגסטן. בכל קן הוטמנו 2 חוטים, אחד הוחדר בין הביצים, לעומק של כ- 20-30 ס״מ, והשני הוטמן מעל הביצים, בעומק של כ- 10-20 ס״מ. אחת לשבוע חובר מכשיר המדידה לחוטים, ובוצעה מדידה. בסך הכל בוצעה מדידה ב- 11 קינים (מתוכם נטרפו 5). מאחר והמדידות היו צמודות למועדי הסיורים, אותם קיימתי בבוקר בחיפוש אחר הטלות, מספר הנתונים הוא קטן יחסית, והרוב המכריע של המדידות הוא משעות הבוקר המוקדמות, כאשר טמפרטורת הסביבה נמוכה. לא נתגלה הבדל מובהק בין תוך הקן לבין הסביבה. אולם תוצאה זו נראית לי כארטיפקט, הנובע משעת המדידה הקרירה. מסיבות אלה החלטתי לא להשתמש בנתוני 2004.

בעונת 2005, נעשה שימוש באוגרי נתונים (Multilog DB526). המכשיר נעטף ונקבר באדמה במרחק של 1-2 מ׳ מהקן. גשש הוטמן בין הביצים בקן, בעומק של 20-30 ס״מ, ובחלק מהמקרים הוטמן גם גשש שני, מעל הביצים, בעומק כ-10 ס״מ. במקרה אחד הוטמן גשש שלישי, סמוך לפני הקרקע, בעומק כ- 3 ס״מ. מדידות טמפרטורה נערכו במחזורים של כ- 80 שעות כל פעם (קרוב ל- 3.5 יממות), במהלכן התבצעה מדידה מדי שעה. בסך הכל נערכו 5 מחזורים, מהם אחד (קן בחופית, בתאריך 1/6/05) בו נמדדה הטמפרטורה במקביל בתוך הקן (בין הביצים), מחוץ לקן בעומק דומה (כ- 20 ס״מ), ועל פני הקרקע (בעומק כ- 3 ס״מ). ב- 2 מחזורים (קן בחופית, בתאריכים 22/6/05, 1/7/05) נמדדה הטמפרטורה במקביל בתוך הקן ומחוץ לקן, בעומק דומה (כ- 20 ס״מ). ב-2 מחזורים נמדדה הטמפרטורה רק בתוך הקן (קן ב״ליד הנחל״, בתאריכים 22/6/05, 1/7/05).

מבחן לבדיקת התפלגות נתוני הטמפרטורה (מבחן Kolmogorov-Smirnov, ומבחן Shapiro-Wilk) מראה כי הם אינם מתפלגים באופן נורמלי. טרנספורמציות LOG ו- 1/X גם כן לא הביאו לנירמול ההתפלגות.

3.3.3.4. הגנת הקן מפני טורפים

טריפת קינים, מהווה בעיה קשה באזור המחקר, כשבשנת 2001, למשל, נטרפו כל הקינים שנתגלו. נסיון טוב היה לבוסקילה (1982) בהגנת קינים באמצעות רשת מתכת שנפרשה מעל הקן. בשנים האחרונות, הוגנו הקינים באמצעות כובעי רשת, בהצלחה חלקית. בשנתיים שקדמו למחקר זה, נאספו התטולות לחוות קינים. לצורך מחקר זה, קיבלתי את אישור רשות הטבע והגנים להשאיר את התטולות במקומן, ולמגן אותן באופן מיטבי.

1. מיגון דור א׳: בשלב הראשון הוכן כיסוי הגנה בצורת כובע רחב שוליים, עשוי גדר בעלת חורים בגודל 10X5 ס״מ. גובה הכובע 30-50 ס״מ, קוטר הגליל כ- 40 ס״מ, והשוליים בולטים כ- 15 ס״מ סביב הגליל המרכזי. הכיסוי הונח מעל הקן, וקובע למקומו באמצעות יתדות באורך 40 ס״מ עשויות ברזל בניין. שיטה זו לא הצליחה למנוע טריפה (איור 8).

איור 8: קן טרוף, עם מיגון מדור א׳.

בעקבות זאת, עברתי לשיטת מיגון משופרת:

2. מיגון דור ב׳: אותו כיסוי מגן כבסעיף ׳1׳, אלא שהקיבוע לקרקע בוצע בהקפדה, באמצעות יתדות ברזל בצורת ׳ח׳, כשהמרחק בין רגלי ה-׳ח׳ 8-10 ס״מ, והיתדות מרוחקות זו מזו 8-10 ס״מ. באופן זה נוצר סביב הקן סורג ברזל שחדר לקרקע עד לעומק של כ- 40 ס״מ. למרבה הצער גם מיגון זה נכשל, ועברתי למיגון דור ג׳.
3. מיגון דור ג׳: מעל הקן הונח משטח רשת (גדר) בגודל 1X1 מ׳, כשהוא מושקע לעומק 5 ס״מ. סביב הקן נתקעו יתדות כבסעיף ב׳, ולבסוף כוסה המשטח באדמה המקומית (איור 9). גם מיגון זה לא צלח.

איור 9: קן ממוגן במיגון מדור ג'

4. מיגון דור ד': השלב האחרון היה לגדר את כל אתר ההטלה. גם שלב זה היה מחולק ל-2: בתחילה נבנתה גדר בגובה כ- 120 ס"מ, עם "שמלה" הפונה כלפי חוץ וקבורה בקרקע בעומק כ-20 ס"מ. לאחר שהתברר כי שועלים מצליחים לטפס מעל הגדר, הגיע השלב הבא, ובעזרת רשות הטבע והגנים, נבנתה גדר קשיחה, בגובה 170 ס"מ, הקבורה 30 ס"מ באדמה (איור 10).

איור 10: אתר ההטלה "חופית", לאחר גידורו.

3.3.4. עונת ההטלות 2004

עונת ההטלות של אביב - קיץ 2004 נפתחה ב- 3/5/04, ונסתימה ב- 25/6/04. בתקופה זו אותרו 13 קינים, ב- 3 אתרים: "הדקל", "חופית" ו"ליד הנחל". קן נוסף אותר על ידי פקחי רשות הטבע והגנים בחוף מעגן מיכאל, והועתק ל"הדקל". האתרים "חופית" ו"הדקל" לא היו מגודרים כלל, ואתר "ליד הנחל" היה מגודר בגדר ישנה, שבגובהה המינימאלי ירדה לגובה של כ- 0.5 מ'. איור 6 מציג את מפת נחל אלכסנדר ואתרי ההטלה שבו. במהלך תקופת הדגירה נטרפו כל הקינים ב"הדקל" וכל הקינים ב"חופית", ובסך הכל 8 קינים. החשד הוא כי כל הקינים נטרפו על ידי שועלים. באתר "ליד הנחל" לא נטרף אף קן. בסך הכל שרדו 6 קינים, שהם כלל הקינים ב"ליד הנחל", ורק מהם ניתן היה להפיק מידע. כלקח מעונת 2004, גודרו

"חופית" ו"הדקל" בגדר רשת קשיחה, גבוהה, שחלקה התחתון שקוע בקרקע לעומק של כ-30-20 ס"מ. ב"ליד הנחל" שופרה והוגבהה הגדר.
בעקבות הטריפה המשמעותית בעונת 2004, נותרו נתונים מעטים מאוד, והתמונה שנותרה לגבי עונה זו היא כה חלקית, עד שנראה היה לי כי היא עלולה להוות גורם מטעה בשלב ניתוח התוצאות, והעדפתי להשאיר את קיני 2004 מחוץ לניתוח.

3.3.5. עונת ההטלות 2005

עונת ההטלות של אביב - קיץ 2005 נפתחה ב- 12/5/05, ונסתימה ב- 29/6/05. בתקופה זו אותרו 23 קינים, ב- 4 אתרים. 8-5 קינים נוספים, כולם ב"ליד הנחל", לא אותרו, ונתגלו בעקבות טריפתם. בשנה זו היו 3 האתרים ממוגנים בגדר גבוהה. קן אחד אותר באתר לא ממוגן ("אקליפטוס"), והועתק ל"חוות קינים" על ידי פקחי רשות הטבע והגנים (לא בוצע אחריו מעקב). בשל פירצה בגדר, שלא התגלתה במהלך העונה, נטרפו כל 13 הקינים שנתגלו ב"ליד הנחל", כולם בסביבות תום תקופת הדגירה. בנוסף נתגלו ב"ליד הנחל" 8 חפירות טורפים נוספות, מהן 5 היו בוודאות קינים שנטרפו (על פי שרידי ביצים שנתגלו), ו- 3 בסימן שאלה. לא הייתה אף טריפה באתרים האחרים (הדקל, חופית). החשד הסביר הוא שמדובר בשועלים. 2 קינים בקעו ונפתחו לביקורת לפני שהספיקו להיטרף. 3 קינים נפתחו על ידי טורף, אך לא נטרפו, והביצים נמצאו במקומן המקורי כשהן חשופות אך שלמות. תופעה זו איננה ברורה כלל, בפרט בהיותה מוכרת גם מעונת 2004, וכן מוכרת לאנשי רשות הטבע והגנים משנים קודמות (יניב לוי, מידע בע"פ). 8 קינים נטרפו לפני שפתחתי את הקן לבדיקה. 8 חפירות נוספות בוצעו על ידי טורפים ב"ליד הנחל".

3.4. גנטיקה

על מנת לבדוק את השונות הגנטית במין *T. triunguis*, ולהשוות בין אוכלוסיית ישראל לבין אוכלוסיית תורכיה, ניסיתי להשתמש ב- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), ולבדוק את השונות הגנטית על פני הגנום הגרעיני בכללותו. בשל קשיים טכניים מרובים לא הגעתי לתוצאות משביעות רצון, ובעקבות כך עברתי לבדיקת השונות בגנום המיטוכונדריאלי (mtDNA). להלן אפרט את שתי שיטות העבודה.

3.4.1. הפקת DNA

מצבים שנלכדו בישראל הופק DNA מדגימות דם (על סמך היתר טיפול בחיות בר מרשות הטבע והגנים). מצבים שנלכדו בתורכיה הופק DNA מדגימות סחוס (על סמך היתר מהמשרד התורכי לאיכות הסביבה), ומצבונים מתים שנאספו בתורכיה (במסגרת מחקרם של Gidis & Kaska, 2004) הפקתי DNA מדגימות רקמה פנימית (בעיקר שריר). כמו כן הפקתי DNA מדגימות עור. השוואה בין DNA שהופק מעור, לבין DNA שהופק מדם (באותם פרטים), העלתה הבדלים ניכרים בין הדגימות, ועוררה חשד כי העור מזוהם ב- DNA זר. מסיבה זו החלטתי לא לעשות שימוש בדגימות העור.

בעקבות הנסיון עם דגימות העור, נקטתי זהירות מיוחדת בהפקת ה- DNA מדגימות סחוס ומדגימות שריר, אשר היו מכוסות עור. לפני הפקת ה- DNA, ניקיתי את כל שרידי העור מהרקמה הפנימית, תחת בינוקולר, תוך שטיפה אינטנסיבית.

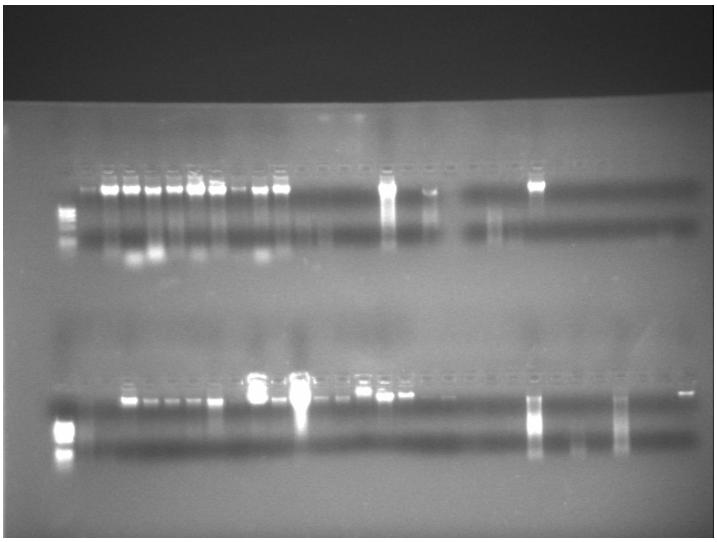
הפקת ה- DNA נעשתה בעזרת ערכה מסחרית מסוג DNeasy Mini Kit, של חברת QIAGEN Gmbh (הילדן, גרמניה), על פי פרוטוקול הערכה. ה- DNA שהופק נשמר בקירור (4°C) עד לאנליזה.

3.4.2. בדיקת כמות ואיכות ה- DNA

על מנת לוודא כי אכן התקבל DNA, ולאמוד את כמותו ואיכותו, דגמתי מהתוצר כמות של 3µl, והוספתי ל- 7 µl מים ול- 2 µl סמן צבע LB (Loading Buffer: 40% Sucrose solution + 0.25% Bromophenol Blue + 0.25% Xylene Cyanol). את הדגימות טענתי בג'ל אגרוז 1.5%, בנוכחות אטידיום ברומיד בריכוז 10mg/ ml, בבופר TBE (445mM Tris base, 445mM Boric acid, 10mM EDTA) והרצתי בשדה חשמלי של 60V, למשך כ- 60 דקות.

לצד דגימות ה- DNA טענתי סמן אורך (λ DNA-*Hin*d III Digest, של חברת New England Biolabs) (סמן האורך הוא פחות משמעותי בהרצה ראשונית זו, אולם בג'לים שבהמשך התהליך ביצעתי בעזרתו הערכה מדויקת של אורך המקטע ושל כמות ה- DNA).

את הג'ל קראתי באור UV (באמצעות מכשיר UV של חברת Bio-RAD, עם תוכנת Quality One ver.4.4.1). כתם קורן בעוצמה הבולטת לעין (לפחות בעוצמת קרינה של פרגמנט 4 ב- Data Sheet של סמן האורך), של חומר בעל משקל מולקולרי גבוה, היווה הוכחה מספקת לקיומו של DNA באיכות ובכמות טובים (איור 11).



איור 11: דוגמת ג'ל אגארוז לבדיקת כמות DNA.

3.4.3. שונות DNA גרעיני: AFLP

3.4.3.1. חיתוך ה- DNA באנזימי רסטריקציה

לשם ביצוע החיתוך באנזימי רסטריקציה, לקחתי מכל אחת מ-63 דגימות ה- DNA של *T. triunguis* אשר הופקו במסגרת מחקר זה, כמות של 250-300ng DNA (בנפח של עד 31 µl DNA, בהתאם לריכוז ה-DNA בדגימה). למבחנת אפנדורף 200 מיקרוליטר הוספתי:

- 0.5µl *Eco*RI (20U/µl)
- 0.5µl *Mse*I (10U/µl)
- 4µl 10xBuffer (NEB#2)
- 4µl BSA
- 31µl H_2O + DNA

את הדגימות הדגרתי ב- 37^oC למשך 3-4 שעות.

3.4.3.1.1. הכנת אדפטורים

למבחנות 1.5ml הוספו:

:*Eco*RI- adapter

- 1.7µl (1µg/µl) *Eco*RI-oligo
- 1.5µl (1µg/µl) *Eco*RI-oligo
- 3µl 10xBuffer (NEB#2)
- 58.3µl H_2O

:*Mse*I - adapter

- 4µl (1µg/µl) *Mse*I –oligo 1
- 3.5µl (1µg/µl) *Mse*I –oligo 2
- 10µl 10xBuffer (NEB#2)
- 6.75µl H_2O

המבחנות הודגרו ב- 95^oC במשך 5 דקות וקוררו לאחר מכן באיטיות לטמפרטורת החדר.

3.4.3.1.2. ליגציה

למבחנות עם תוצרי החיתוך של ה-DNA הוספתי 10µl של תערובת הליגציה:

- 1µl *Eco*RI- adapter
- 1µl *Mse*I - adapter

- 1µl Ligation buffer + ATP (x10)
- 0.5µl Ligase (400 U/ µl)
- 6.5µl H_2O.

התערובת הודגרה ב- 37^oC במשך הלילה.

3.4.3.1.3. הגברה ראשונה של ה-DNA (Pre AFLP):

את ריאקצית ה- PCR ביצעתי בנפח של 13µl בעזרת PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads מתוצרת חברת Amersham Biosciences. לריאקציה הוספו:

- 0.5 Bead
- 11µl H_2O
- 0.5µl E1-Primer (50ng/ µl)
- 0.5µl M1-Primer (50ng/ µl)
- 1µl DNA (ligation product)

3.4.3.1.4. שלבי ראקצית ה- PCR (Pre-AFLP)

1. 94^oC, 2 min
2. 94^oC, 30 sec
3. 50^oC, 30 sec
4. 72^oC, 1 min
5. repeat steps 2 to 4, 34 times
6. 72^oC, 6 min
7. end 4^oC

לאחר ביצוע האמפליפיקציה בדקתי את כמות ה- DNA בדגימות (ראה סעיף 3.4.2 -. בדיקת כמות ואיכות ה- DNA, ואיור 11) בהתאם לריכוז ה-DNA מהלתי את תוצרי ה-PCR פי 10 או 20.

3.4.3.1.5. סימון תחל (Primer) ב- ^{33}P-ATP

במעבדה המאושרת לעבודה רדיואקטיבית, עם מונה גייגר פתוח, הוספתי למבחנה של 200µl:

- 18 µl *Eco*RI primer
- 10µl H_2O
- 10µl 5xKinase buffer
- 10µl [γ-^{33}P]ATP (2,000 Ci/mmol')

- 2µl T4 polynucleotide kinase

הדגרתי את המבחנות למשך שעה, ב- $37^{o}C$. לאחר מכן הדגרתי אותן למשך 10 דקות ב- $70^{o}C$, לסיום הראקציה (heat inactivation).

3.4.3.1.6. ראקצית ה- AFLP (Selective AFLP amplification)

במעבדה המאושרת לעבודה רדיואקטיבית, עם מונה גייגר פתוח, ביצעתי ריאקצית PCR בנפח של 15µl, בעזרת PuReTaq Ready-To-Go™ PCR Beads מתוצרת חברת Amersham Biosciences.

למבחנה של 200µl הוספתי:

- 0.5 Bead
- 8.0µl H_2O
- 4.5µl *Mse*I Primer (+ dNTPs)
- 0.5µl *Eco*RI [^{33}P] labeled Primer
- 2µl DNA (pre-AFLP product)

3.4.3.1.7. שלבי ראקצית ה- PCR (AFLP)

מחזור אחד:

94°C, 30 sec

65°C, 30 sec

72°C, 1 min

12 מחזורים, שבכל אחד מורידים את טמפרטורת ה- annealing ב- 0.7°C, לקבלת אפקט touch down.

23 מחזורים:

94°C, 30 sec

56°C, 30 sec

72°C, 1 min

ולסיום: $4^{\circ}C$

כל דגימה הוגברה בעזרת שלוש קומבינציות של פריימרים, על בסיס אנזימי הרסטריקציה *Eco*RI (E1) או *Mse*I(M1), בתוספת 3-4 בסיסים (כמפורט להלן), אשר נבחרו כאינפורמטיביות ביותר:

E1+ACC x M1+CAC

E1+ACC x M1+CTG

E1+AGG x M1+CAGG

מכל קומבינציה של פריימרים, כ-10% מהדגימות הוגברו פעמיים (בשתי ריאקציות PCR) כדי לוודא כי דגם הפסים חוזר על עצמו.

3.4.3.1.8. אלקטרופורזה

תוצרי ה- AFLP הופרדו בג'ל אקריל אמיד דנטורטיבי אנכי ארוך (60 ס"מ)

לכל דגימה הוספתי 10µl סמן צבע (תמיסת Foramide buffer: 98% formamide, 10 mM EDTA, + Brpmophenol blue & Xylene cyanol).

הכנתי ג'ל אקריל אמיד (6% acrylamide/bisacryiamide 1:19, 7.5 M urea, 1 x TBE, בתוספת APS ו- TEMED לקרישה), במגש של חברת BIO-Rad.

טרם הטענת הדגימות בג'ל, הפעלתי את השדה החשמלי (2000V, 60mA) עד שהג'ל הגיע לטמפרטורה של כ- 40-45°C, והדגרתי את הדגימות לדנטורציה ב-$94^{o}C$ למשך 5 דקות.

הרצתי את הג'ל תחת מתח חשמלי גבוה (2000V, 60mA) במשך כ- 3.5 שעות עד הגעת סמן הצבע למרחק של כ-28 ס"מ מתחתית הג'ל.

לאחר תום ההרצה הצמדתי את הג'ל לנייר סופג, וייבשתי אותו במכשיר Gel Dryer Model 583 של BIORad.

לאחר הייבוש העברתי את הג'ל המיובש ללוח קיבוע ובו פילם של חברת Kodak למשך 3 ימים, ולאחריהם פיתחתי את הפילם.

3.4.4. שונות DNA מיטוכונדריאלי (mtDNA)

3.4.4.1. תכנון פריימרים

לבחינת השונות הגנטית ב- DNA המיטוכונדרי נבחרו שני אתרים המופיעים תדיר בספרות: מקטע מהגן Cytochrome b, ומקטע מאזור הבקרה (D-loop).

עבור Cytochrome b, איתרתי ב- Gene Bank רצפים של DNA מיטוכונדריאלי של *T. triunguis*, וכן של מספר מינים אחרים של צבים רכים (Trionychidae): *Pelodiscus sinensis*, *Apalone ferox*, *Apalone mutica*, *Apalone spinifera aspera*, *Apalone spinifera emoryi*. עבור מקטע הבקרה, השתמשתי רק ברצפים של Pelodiscus sinensis ושל Dogania subplana. השוויתי בין רצפים אלה באמצעות התוכנות ClustalX (Thompson et al., 1997) ו- GeneRunner (לשעבר Hastings Sofware, כיום "abandonware"), על מנת לאתר רצפי קונסנזוס שישמשו כפריימרים להגברת מקטע הגן Cytochrome b, ומקטע אזור הבקרה (D-Loop).

הקריטריונים לבחירת מקטע קונסנזוס כפריימר היו:

1. קטע באורך כ- 18-23 בסיסים, שזהה או כמעט זהה בכל המינים שנבדקו (עד 5 בסיסים שונים).
2. כ- 50-60% בסיסים מסוג Guanine ו- Cytosine.
3. קטע ללא אפשרות למבני Hairpin.

מבין המקטעים שנמצאו כעונים לקריטריונים, איתרתי את אלה שבינהם מקטע בן מספר מאות בסיסים (כ- 400-900).

לבסוף בחרתי 4 פריימרים עבור ה- Cytochrome b, ו-4 עבור ה- D-loop, כשמכל רביעיה, 2 מצויים באזור ההתחלה, ו- 2 באזור הסוף של המקטע. עבור הפריימרים ש"בסוף", בניתי את הרצף המשלים (באמצעות תוכנת GeneRunner), וכתבתי אותו מ- '5 ל- '3. הפריימרים הוזמנו מחברת IDT (Integrated DNA Technologies Inc., Coralville, IA, USA) המשווקת בישראל על ידי חברת חי-לאב, רחובות. פירוט הפריימרים שנבחרו מופיע בטבלה 2 ובטבלה 3.

טבלה 2 : רשימת ופירוט הפריימרים עבור Cytochrome b.

Primer	Loci*	Length	#GC(%)	Sequence
Orcytb1	211-230	20	50	ACCCGRGAYGTACAATACGG
Orcytb2	288-305	18	50	CCTWCAYATYGGACGAGG
Orcytb3	1013-1030	18	50	CTGGTTGDCCTCCAATTC
Orcytb4	1051-1072	22	50	GGATGGAGGCTRYYTGTCCRAT

* - מיקום המקטע ברצף הידוע של *T. triunguis* (Gene Bank Accession number: AY259564)

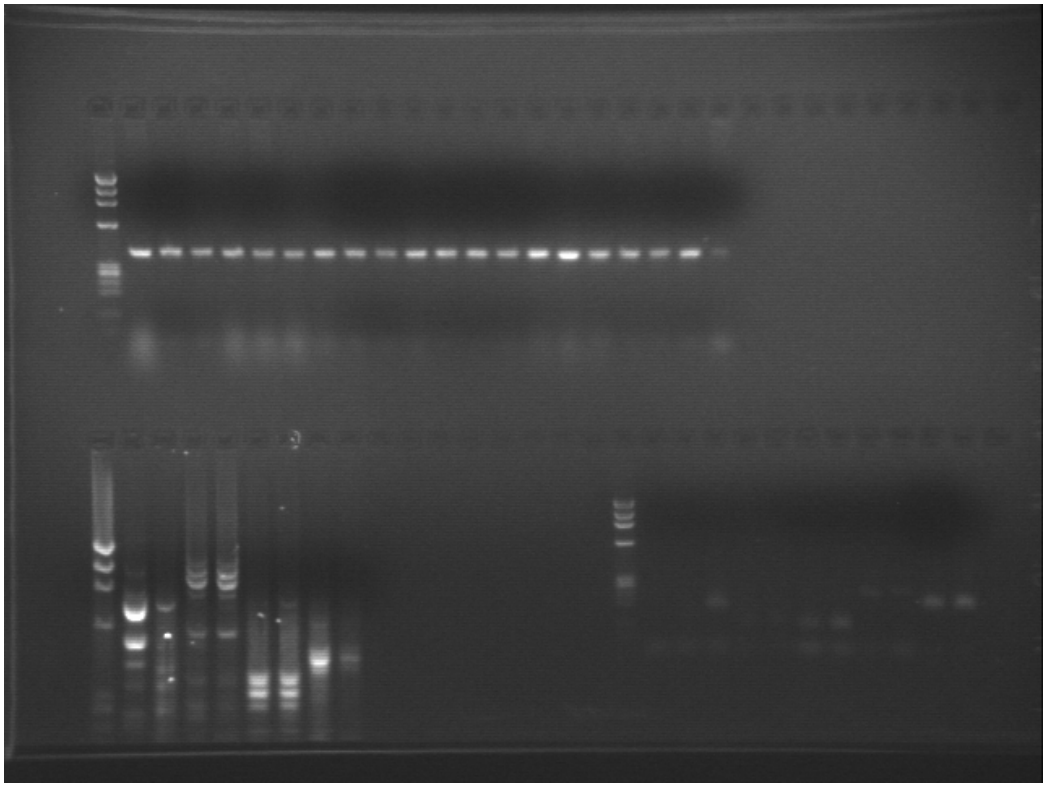
טבלה 3 : רשימת ופירוט הפריימרים עבור מקטע הבקרה (D-Loop).

Primer	Locus*	Length	#GC(%)	Sequence
Ordlp1	P-3; D-13	21	52	TCTCCCGCRCCCAAAGRGAYA
Ordlp2	P-3; D-4	20	50	TTTTCYTCTCCCGCRCCCAA
Ordlp3	P-1; D-1	20	45	SCGCGWWATTYANTGTYGTG
Ordlp4	P-1; D-1	18	50	TTRCGSTGTGTSCTGTGT

* - מספר המופעים של המקטע ברצף הידוע של *Dogania subplana* (Gene Bank Accession number: AY366350) (D) ושל *Pelodiscus sinensis* (Gene Bank Accession number: AY687385) (P)

3.4.4.2. הגברה של מקטע Cytochrome b (mtDNA)

לשם הגברה של המקטע המיטוכונדריאלי של Cytochrome b, ביצעתי ל- DNA ראקציית PCR, בנוכחות 2 פריימרים, אחד מאזור ההתחלה של מקטע ה- Cytochrome b (orcytb1 או orcytb2), ואחד מאזור סוף המקטע (ocytb3 או ocytb4). על מנת לבחור את התוצר האינפורמטיבי ביותר, ביצעתי PCR לכל אחד מ-4 זוגות הפריימרים האפשריים (1+3 ; 1+4 ; 2+3 ;2+4), כשהתוצר הטוב ביותר היה לשילוב הפריימרים 1+4 (איור 12), ובאמצעותם בצעתי אחר כך את כל ההגברות.



איור 12: ג'ל אגארוז לבדיקת כמות DNA בדגימות mtDNA.

שורה עליונה: מקטעי Cytochrome b, מוגברים באמצעות הפריימרים orcytb1 + ocytb4.

שורה תחתונה, משמאל: מקטעי D-Loop, מוגברים באמצעות שילובי פריימרים שונים.

הריאקציה בוצעה במכשיר PCR (מסוג Bio RAD MyCycler Thermal cycler), בעזרת PureTaq Ready-To-Go^{tm} PCR Beads, של חברת Amersham Biosciences, וכללה:

- 0.5 Bead
- 9µl H_2O
- 1µl Primer orcytb1 (50ng/ µl)
- 1µl Primer orcytb 4 (50ng/ µl)
- 1µl DNA

3.4.4.2.1. שלבי ראקצית ה- PCR

1. 94°C, 2 min
2. 94°C, 1 min
3. 50°C, 1 min
4. 72°C, 1 min
5. repeat steps 2 to 4, 30 times
6. 72°C, 6 min

7. end $4^{o}C$

3.4.4.2.2. הכנת הדגימות לריצוף

לאחר ביצוע האמפליפיקציה ביצעתי בדיקה לכמות ואיכות ה- DNA (כמפורט בסעיף "בדיקת כמות ואיכות ה- DNA", למעלה).

לבסוף ניקיתי את הדגימות באמצעות הערכה QIAquick PCR Purification kit, של חברת QIAGEN Gmbh (הילדן, גרמניה), על פי פרוטוקול הערכה.

עבור כל פרט, נשלחה דגימת התוצר הסופי לריצוף של מקטע ה- Cytochrome b (בחברת Danyel Bioetch). כל דגימה רוצפה פעמיים, באמצעות כל אחד מהפריימרים בנפרד.

3.4.4.2.3. הגברה של מקטע (mtDNA) אזור הבקרה

לשם הגברה של המקטע המיטוכונדריאלי של אזור הבקרה (D-Loop), ביצעתי ל- DNA ראקצית PCR, בנוכחות 2 פריימרים, אחד מאזור ההתחלה של מקטע ה- D-Loop (ordlp1 או ordlp2), ואחד מאזור סוף המקטע (ordlp3 או ordlp4). על מנת לבחור את התוצר האינפורמטיבי ביותר, ביצעתי PCR לכל אחד מ-4 זוגות הפריימרים האפשריים (1+3 ; 1+4 ; 2+3 ;2+4). הריאקצייה בוצעה בדומה לזו של Cytochrome b, בשינוי הפריימרים (לאלו של ה- D-Loop). כצפוי, בכל הדגימות היה ריבוי בנדים (איור 12). מאחר והתוצר הכיל כמות DNA קטנה מדי, ביצעתי נסיון הגברה נוסף, בגרדיאנט טמפרטורות (50 -62°C). הטמפרטורה האופטימלית היתה, לפריימרים 1+3 : 61°C ; ל- 1+4 : 57°C ; ל- 2+3 ול- 2+4 : 60°C ; כמות ה- DNA שהתקבלה היתה קטנה והתקבלו מספר תוצרי הגברה לפרט. חתכתי את הבנדים הזוהרים ביותר (העשירים ביותר ב- DNA) מהג'ל, וניקיתי את ה- DNA באמצעות הערכה QIAquick PCR Purification kit, של חברת QIAGEN Gmbh (הילדן, גרמניה), על פי פרוטוקול הערכה. נסיון לרצף דגימות אלה לא הניב תוצאות משביעות רצון, והיה צורך לשפר את התהליך. בשלב זה, החלטתי לדחות את ריצוף מקטע ה- D-Loop ולא לקיים אותו במסגרת עבודה זו.

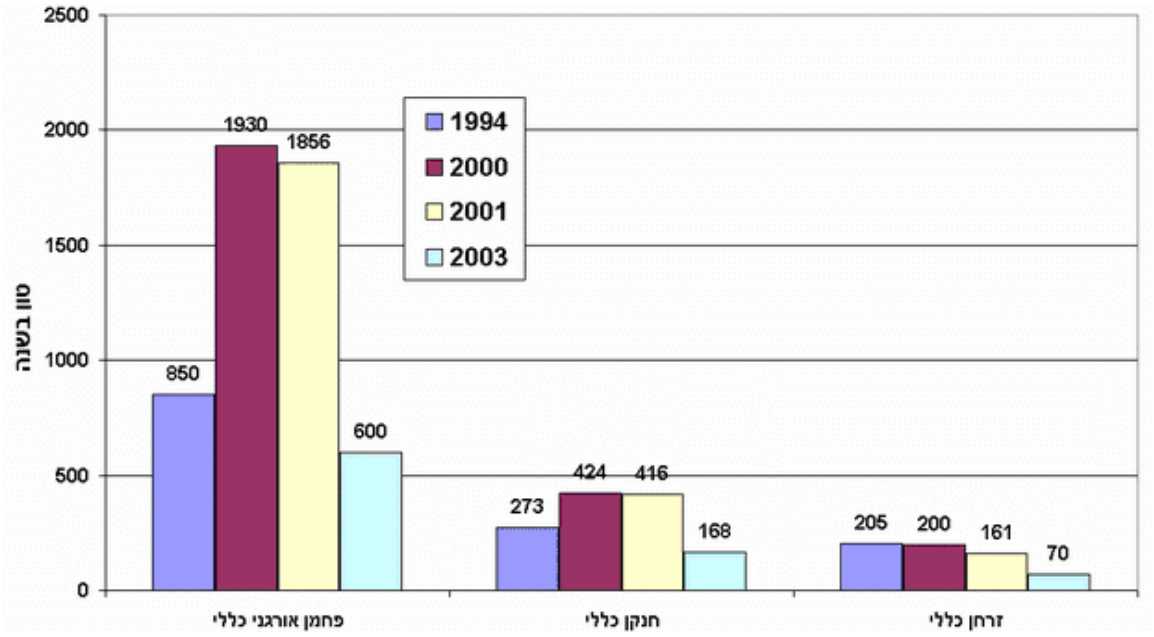
3.4.4.3. עיבוד המידע

עבור כל פרט התקבלו שני רצפים (sense ו- anti sense). תוצרי הריצוף היו רחוקים מלהניח את הדעת, אולי בשל העובדה שרוצפו ישירות תוצרי PCR, אשר הוגברו בעזרת פריימרים המכילים בסיסים דג'נרטיביים. מאחר והיתה ווריאבליות גבוהה באיכות הרצפים, השוויתי כל אחד מהרצפים לרצף של *T. triunguis* הקיים ב-Gene Bank (Accession number: AY259564), באמצעות שליחת הרצף ל- NCBI BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) (Altschul et al., 1997). אזורים שהראו התאמה אפסית לרצף הקיים ב- GB, התייחסתי אליהם כ"בעייתיים". לאחר מכן ביצעתי התאמה בין שני הרצפים, באמצעות תוכנת CLUSTAL X (Thompson et al., 1997), והעליתי את הכרומטוגרם של הבסיסים בכל רצף, באמצעות תוכנת Chromas Lite (version 2.01, Copyright © 2005 Technelysium Pty Ltd).

באזורים בהם הראה Clustal X התאמה לא מושלמת, ביצעתי תיקון ידני, על סמך השוואה בין שני הרצפים, ועל סמך מידת החד משמעותיות של הבסיסים, כפי שמשתקף בגרף של בסיסי הרצף.
לבסוף, לבדיקת מידת השונות בין הרצפים המתוקנים, ביצעתי השוואה בין כולם, באמצעות Clustal X. לשם השוואה בין אוכלוסיית ישראל לאוכלוסיית תורכיה, בניתי עץ פילוגנטי באמצעות תוכנת TreeView (Eisen et al., 1998). שיעור השונות בין *T. triunguis* לבין הקבוצה החיצונית (*A. ferox*) חושב באמצעות תוכנת MEGA גרסה 3.1 (Kumar et al., 2004).

3.5. איזור המחקר – נחל אלכסנדר

אורכו של נחל אלכסנדר כ 44 -ק״מ, ואגן ההיקוות שלו, ששטחו 565 קמ״ר, כולל את אזור שכם ומרכז השומרון, וכן חלק משפלת החוף. יותר ממחצית שטחו נמצאת מעבר לקו הירוק. מוצאו של הנחל בהרי עיבל וגריזים והוא נשפך לים בקרבת מכמורת. בעבר ניזון חלקו התחתון של הנחל מנביעות רבות לאורך האפיק וממי תהום גבוהים שהיו בביצות סביבו. ניצול אינטנסיבי של מי התהום וניקוז שטחי הביצות הורידו את מפלס מי התהום, ורוב הנביעות שהזינו את הנחל יבשו. כיום, נובעים מים שפירים בעיינות חוגלה ובמספר רב של נביעות קטנות המפרנסות שטחים ביצתיים לחים באזור עיינות חוגלה, ביצות חורף והשפך לים. עד לאמצע שנות ה- 50 היה הקטע האחרון בנחל ראוי לרחצה, אולם ירידת השפיעה בנביעות, בשילוב הזרמה של שפכים עירוניים ותעשייתיים, הפכו את איכות המים לגרועה ביותר. במטרה לשפר את מצב הנחל, הוקמה בשנת 1995 המנהלת לשיקום נחל אלכסנדר. במקביל, הופסקה הזרמת קולחין לנחל: ב- 1995 הופסקה הזרמת קולחי נורדיה, קלנסווה, נתניה (בהדרגה, בין השנים 1995 -2000), ובהמשך עין החורש (1996), כפר יונה (2000), יד חנה ומפעל ״הוד לבן״ (2001), בחן, בורגתא, משמר השרון, והמעפיל (2003). חלק משמעותי מהזיהום הגיע מעבר לקו הירוק, והטיפול דרש שיתוף פעולה בין ישראל והרשות הפלשתינאית. בשלב ראשון, כפתרון זמני לשפכים המגיעים עם נחל שכם, נבנה בשנת 2003 סכר בקו הירוק, ליצירת אגם בחלק העליון, אשר טופל נקודתית (המשרד לאיכות הסביבה, 2005a). בנוסף, נבנו בהמשך הנחל סכרים מחלחלים (שקי יוטה ממולאים בחצץ), שמטרתם לסנן את המים (צוק, 2002). ב- 2005 נחנך מתקן לטיהור שפכי טול כרם (המשרד לאיכות הסביבה, 2005a). השיפור המשמעותי באיכות המים משתקף באיור 13 (המשרד לאיכות הסביבה, 2005c).



איור 13 : השינוי בעומס המזהמים בנחל אלכסנדר : נתוני השנים 1994, 2000, 2001, 2003 (המשרד לאיכות הסביבה, 2005c)

פרוייקט השיקום של נחל אלכסנדר זכה בפרס ראשון בתחרות "Riverprize" שהתקיימה באוסטרליה בשנת 2003 (ויקיפדיה). למרות המאמץ הרב המושקע על ידי גורמים רבים, מפעם לפעם מתרחשים ארועים חד פעמיים של זיהום חמור בנחל, המאיימים על כל המערכת האקולוגית שלו. דוגמאות אחדות הן זיהום מזוט, שפגע בקטע של כ- 10 ק"מ בינואר 2005 (המשרד לאיכות הסביבה, 2005b). והרעלה, כנראה של זרחן אורגני, אשר נשפך לנחל ב- מאי 2005, וקטל עשרות אלפי דגים באזור שפך הנחל (בן צור, 2005). בשני המקרים נראה כי לא היתה השפעה ישירה על הצבים הרכים (המשרד לאיכות הסביבה, 2005b, בן צור, 2005, בהתאמה).

המחקר הנוכחי נערך בקטע הנחל הקרוב לשפך, שאורכו כ- 4 ק"מ (ראה איור 6 ו- 14).

איור 14 : מבט כללי על קטע מאזור המחקר.

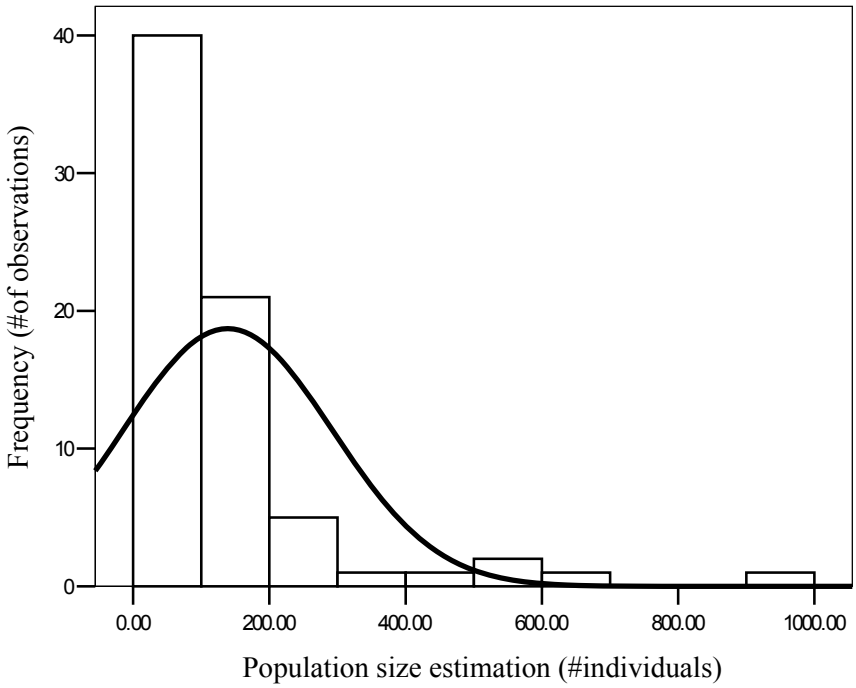
קטע זה מתחיל בכביש מס׳ 4 ומסתיים בשפך הנחל לים, בקטע החוף שבין בית ינאי למכמורת. סמוך לכביש מס׳ 4 נבנה מפל מלאכותי שרומו 2.1 מ׳ מעל פני הים, ומתחתית המפל ועד לשפך, קרקעית הנחל נמוכה מרום פני הים. מי הנחל הזורמים מהמעלה מתערבבים במי ים ובמי נביעות הקיימות באפיק הנחל. קטע זה הינו רחב יחסית, וגדותיו נשארו במצבן הטבעי (צוק, 2002). רוחב הנחל בקטע זה עולה על עשרה מטרים. גדותיו עשירות בצמחייה, בעיקר קנים, אך גם צמחים אחרים דוגמת המטפס חנק מצוי. בין בעלי החיים השכיחים באזור ניתן למצוא טורפים, כגון השועל המצוי, שאוכלוסייתו נמצאת ככל הנראה בהתפרצות, הנמייה, עופות מים רבים, זוחלים ומכרסמים.

4. תוצאות

4.1. דמוגרפיה

4.1.1. גודל האוכלוסייה

גודל האוכלוסייה בנחל אלכסנדר הוערך בשיטת Mark-Resight, כשהתוצאה הממוצעת ± שגיאת התקן היא: 139±18. התפלגות ההערכות של גודל האוכלוסייה, ב- 72 תצפיות שנערכו, היתה בטווח: 31-946 (איור 15).



איור 15: התפלגות תוצאות החישוב של גודל אוכלוסייה בצב הרך בנחל אלכסנדר (Mark-Resight). 95% מההערכות הן בתחום של 0 – 527. הערכות גבוהות הן נדירות יותר.

מספר הפרטים הגדול ביותר שנצפה בתצפית ישירה היה, בשנת 2004: 53 צבים, ובשנת 2005: 66 צבים (שתי התצפיות התקיימו ב"גשר הצבים"). מאחר והדבר תוחם גבול תחתון לגודל האוכלוסייה, ניתן לחשב את ממוצע גודל האוכלוסייה ללא כל ההערכות הקטנות מ-66. כמו כן, 5 הערכות הן גבוהות במיוחד (946, 651, 589, 527 ו- 403). 95% מההערכות הן קטנות מ- 527, כך שלפחות 4 מתוך ההערכות החריגות יכולות להיות חשודות כשגויות (946, 651, 589 ו- 527). למעשה, רק החל מההערכה של 310 פרטים ישנו רצף הערכות "צפוף יותר" (ראה איור 15). בהתאם לנתונים שהוזכרו, חישבתי את הממוצע במספר אופנים, כשהרעיון הוא לא להוסיף לחשבון ערכים חריגים ו/או בלתי סבירים (טבלה 4).

טבלה 4 : חישוב גודל האוכלוסייה בנחל אלכסנדר. ממוצע, שגיאת תקן ומספר הספירות (חזרות) של כלל הספירות, ושל הספירות ללא תוצאות חריגות.

	N	ממוצע	שגיאת תקן
כלל התצפיות	72	139	18
ללא 946	71	127	14
ללא 946, 651,589,527	68	107	16
ללא 946 וללא קטנות מ- 66	44	173	11
ללא ה-4 הגבוהות וללא קטנות מ-66	14	143	11

אם מפחיתים את ההערכה החריגה ביותר, 946, ואת ההערכות הנמוכות מגבול גודל האוכלוסייה התחתון (66), הרי שגודל האוכלוסייה הוא 66- 651, ובממוצע ±שגיאת תקן : 11±173 פרטים.
אם מפחיתים את כל ה-4 החריגות ואת הקטנות מ- 66, גודל האוכלוסייה הוא 66- 403, ובממוצע± שגיאת תקן : 11±143 פרטים.

4.1.2. מורפולוגיה

טבלה 5 : מדדים מורפולוגיים שונים של *T. triunguis*. ממוצעים וסטיות תקן, על פי מקום לכידה/ איסוף של הצב (אורך קרפס –CCL, רוחב קרפס -CCW, אורך פלסטרון -PL, רוחב פלסטרון -PW, אורך זנב מפלסטרון -T1, אורך זנב מקלואקה -T2. אורך זנב מקרפס -T3).

מקום איסוף/ לכידה	משקל	CCL	CCW	PL	PW	T1	T2	T3
החולה/כנרת	11.1±9 (N=4)	52±14.7 (N=4)	32.3±6.4 (N=4)	36±4.7 (N=4)	36 (N=1)	17±8.9 (N=4)	3.4±2.5 (N=4)	
נ.אלכסנדר (כולל גוויות)	28.7±9.1 (N=30)	68.0±11.0 (N=32)	53.6±7.3 (N=32)	47.0±6.9 (N=30)	50.2±9.0 (N=26)	25.8±6.8 (N=32)	6.5±2.0 (N=32)	
נחל נעמן	16.5±19.1 (N=2)	54±25.5 (N=2)	41±18.4 (N=2)	37.5±17.7 (N=2)	41.5±19.1 (N=2)	16±7.1 (N=2)	3.8±2.5 (N=2)	
גן זואולוגי	34±21.8 (N=3)	76.2±21.3 (N=3)	59.5±7.8 (N=2)	46.7±9.5 (N=3)	60.5±4.9 (N=2)	25.7±10.1 (N=3)	6.5±3.8 (N=3)	
ממוצע ישראל	26.6±12.3 (N=36)	67.4±13.3 (N=37)	50.5±10.8 (N=36)	45±8.3 (N=35)	50.8±7.7 (N=26)	24.1±7.6 (N=37)	5.6±2.2 (N=37)	
Kukurtle, תורכיה	17.9±1.9 (N=10)	58.3±5.6 (N=10)	48.9±3.1 (N=10)	40.2±2.4 (N=10)	47.9±3.8 (N=10)	21.8±3.2 (N=10)	5.7±1.2 (N=10)	6.7±1.5 (N=8)
ממוצע כללי	25.1±11.2 (N=49)	65.0±12.8 (N=51)	50.7±9.3 (N=50)	44.5±7.6 (N=49)	50.3±6.8 (N=40)	24.1±7.1 (N=51)	6.0±2.2 (N=51)	6.7±1.5 (N=8)

4.1.2.1. הבדלים מורפולוגיים בין אוכלוסיות

לזיהוי הבדלים מורפולוגיים בין אוכלוסיות ישראל ותורכיה, ביצעתי מבחן T למשתנים המתפלגים נורמלית, ומבחן Mann – Whitney למשתנים שאינם בעלי התפלגות נורמלית. מבחני השוואת השונויות הראו הבדל מובהק בין האוכלוסיות במדדים של משקל, אורך ורוחב קרפס (CCL, CCW), אורך פלסטרון (PL), אורך זנב מפלסטרון לקצה (T1), אך לא של רוחב פלסטרון (PW) ולא של אורך זנב מקלואקה לקצה (T2) (טבלה 6).

טבלה 6: ערכי מבחן השוואת שונויות למדדים מורפולוגיים (מבחן T למשתנים בעלי התפלגות נורמלית, מבחן Mann – Whitney למשתנים בעלי התפלגות לא נורמלית)

T-test	
weight	$t = 2.295, df = 47, p < 0.005$
PW	$t = 1.309, df = 38, p > 0.05$
T1	$t = 1.092, df = 49, p < 0.005$
Mann – Whitney test	
CCL	$(N1 = 41, N2 = 10), Z = -2.970, p < 0.005$
CCW	$(N1 = 40, N2 = 10), Z = -2.089, p < 0.05$
PL	$(N1 = 39, N2 = 10), Z = -3.082, p < 0.005$
T2	$(N1 = 41, N2 = 10), Z = -0.886, p > 0.05$

4.1.2.2. קורלציה בין מדדים מורפולוגיים

מאחר וחלק מהמשתנים אינם בעלי התפלגות נורמלית (CCL, CCW, PL, T2, T3), בצעתי מבחן קורלציה של ספירמן.

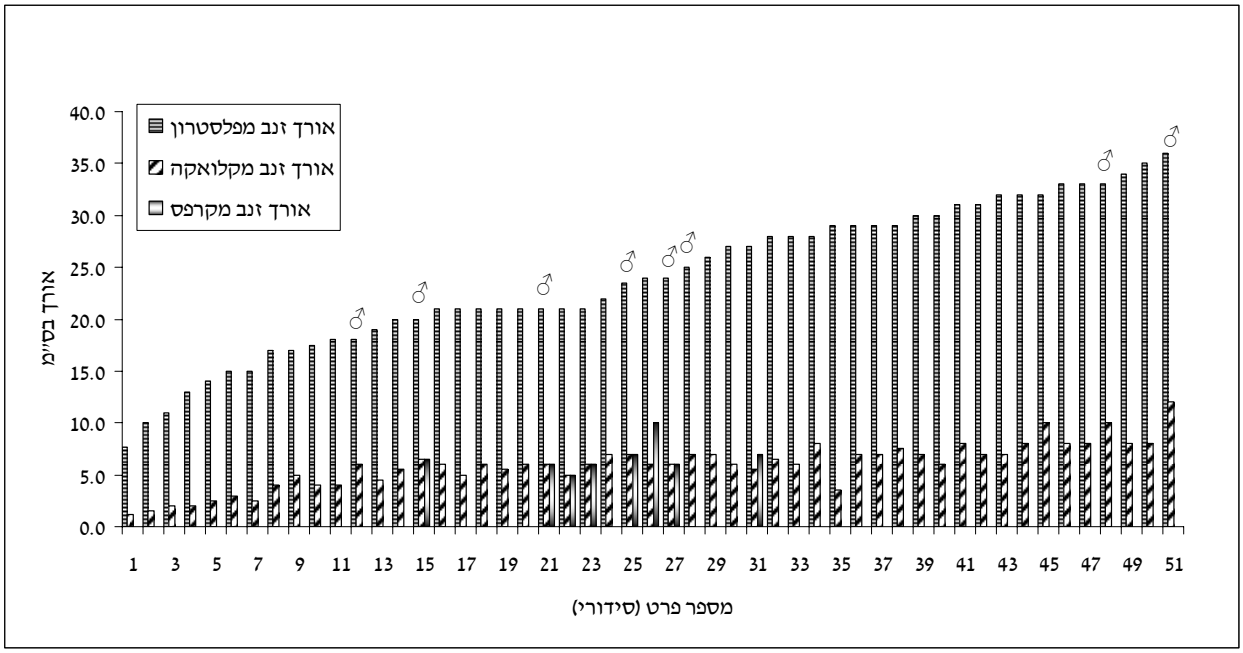
נמצא כי כל מדדי הגודל (למעט P3), נמצאים בקורלציה חזקה זה לזה (R=0.6-0.8 בקירוב), במובהקות של $\alpha<0.001$. הקשר החזק ביותר הוא בין משקל לבין אורך, הן של קרפס והן של פלסטרון, ואחריו בין משקל לבין רוחב קרפס, ובין משקל לבין רוחב פלסטרון (טבלה 7).

טבלה 7: מידת הקורלציה בין מדדים מורפולוגיים שונים, על פי מבחן ספירמן (אורך קרפס –CCL, רוחב קרפס -CCW, אורך פלסטרון -PL, רוחב פלסטרון -PW, אורך זנב מפלסטרון -T1, אורך זנב מקלואקה -T2. אורך זנב מקרפס -T3).

גורם 1	גורם 2	מקדם ספירמן	מובהקות
מקום לכידה	משקל	-0.419	0.003
מקום לכידה	CCL	-0.429	0.002
מקום לכידה	CCW	-0.298	0.035
מקום לכידה	PL	-0.445	0.001
משקל	CCL	0.86	<0.001
משקל	PW	0.808	<0.001
משקל	T1	0.759	<0.001
משקל	T2	0.641	<0.001
משקל	CCW	0.819	<0.001
משקל	PL	0.865	<0.001
CCL	PW	0.762	<0.001
CCL	T1	0.676	<0.001
CCL	T2	0.566	<0.001
CCL	CCW	0.691	<0.001
CCL	PL	0.758	<0.001
PW	T1	0.642	<0.001
PW	T2	0.634	<0.001
PW	CCW	0.685	<0.001
PW	PL	0.683	<0.001
T1	T2	0.874	<0.001
T1	CCW	0.692	<0.001
T1	PL	0.69	<0.001
T2	CCW	0.647	<0.001
T2	PL	0.669	<0.001
CCW	PL	0.841	<0.001
PL	T3	0.755	0.03

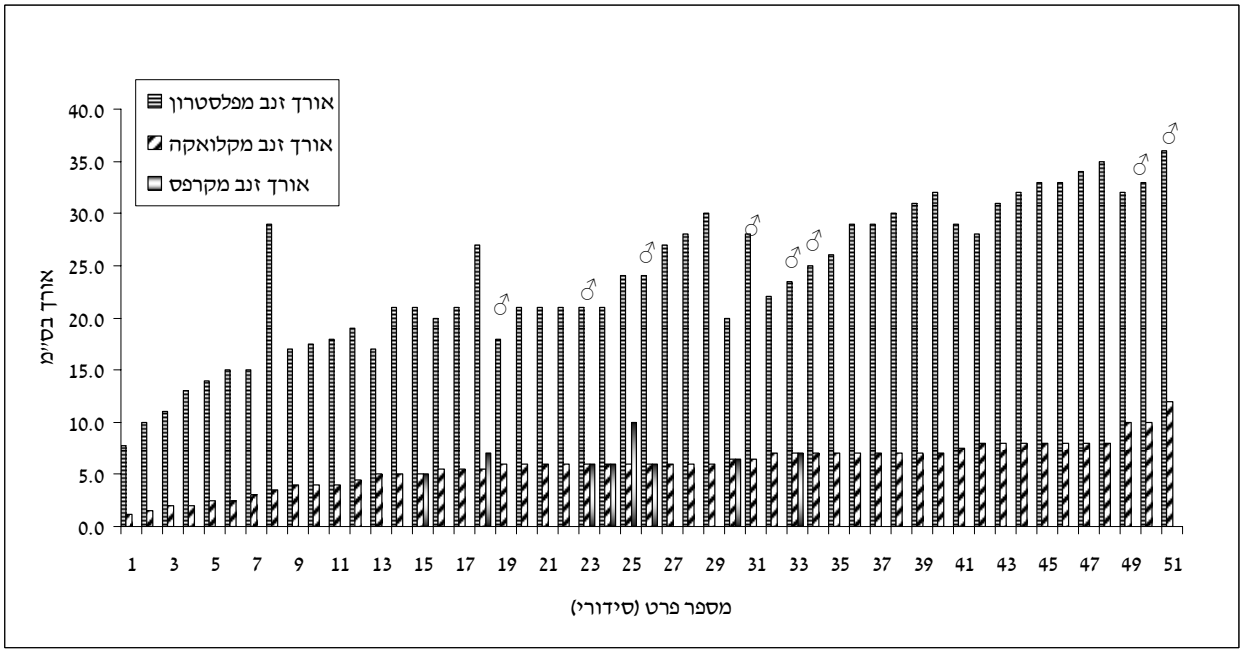
4.1.3. יחס זוויגי

על מנת להעריך את יחס הזוויגים, נעשה נסיון לזהות את הזוויג באמצעות הבדל באורך הזנב. אורך הזנב של צבים שנבדקו במחקר מוצג להלן לפי 3 מדדים: אורך זנב מפלסטרון (N=51), אורך זנב מקלואקה (N=51), אורך זנב מקרפס (N=8). לצורך ניתוח מעמיק ככל האפשר, מוצגים כל המדדים בכל הגרפים, אולם בכל גרף סדר הפרטים ממויין ע"פ פרמטר אחר: על פי אורך הזנב מהפלסטרון (איור 16), אורך זנב מהקלואקה (איור 17), ואורך זנב מהקרפס (איור 18).



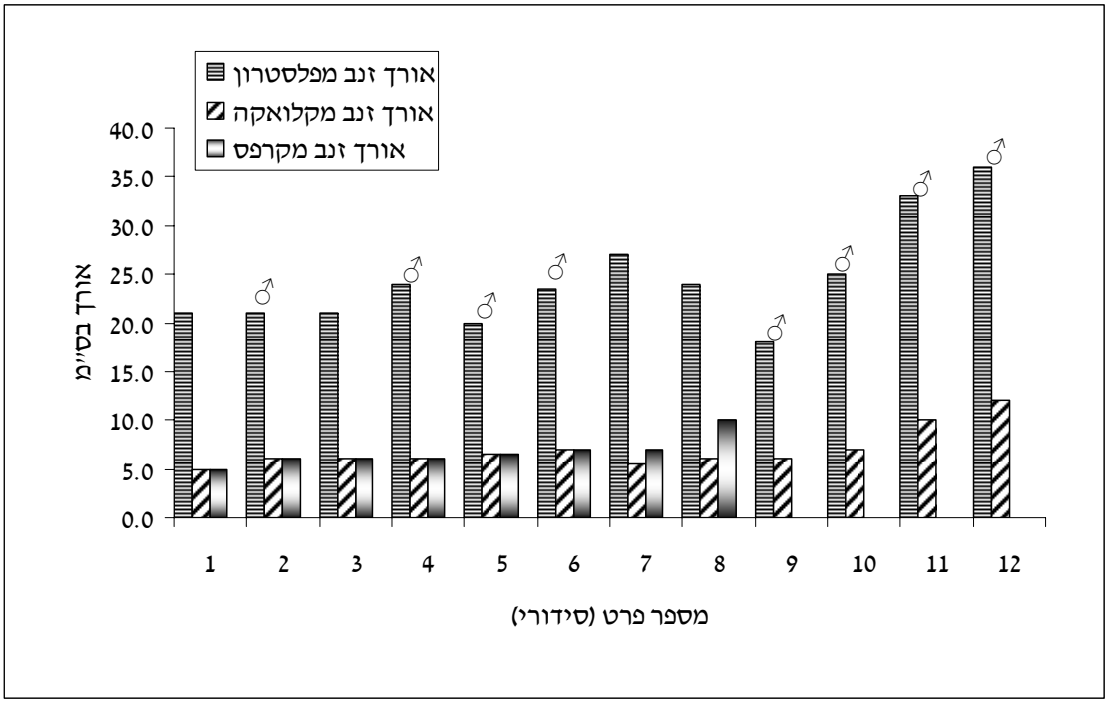
איור 16 : השוואת אורך זנב, ממויין לפי אורך מפלסטרון.

מוצגים אורכי זנב מפלסטרון, מקלואקה ומקרפס, של 51 צבים רכים. '♂' מציין פרטים שזויגם זוהה בוודאות (זכרים בלבד).



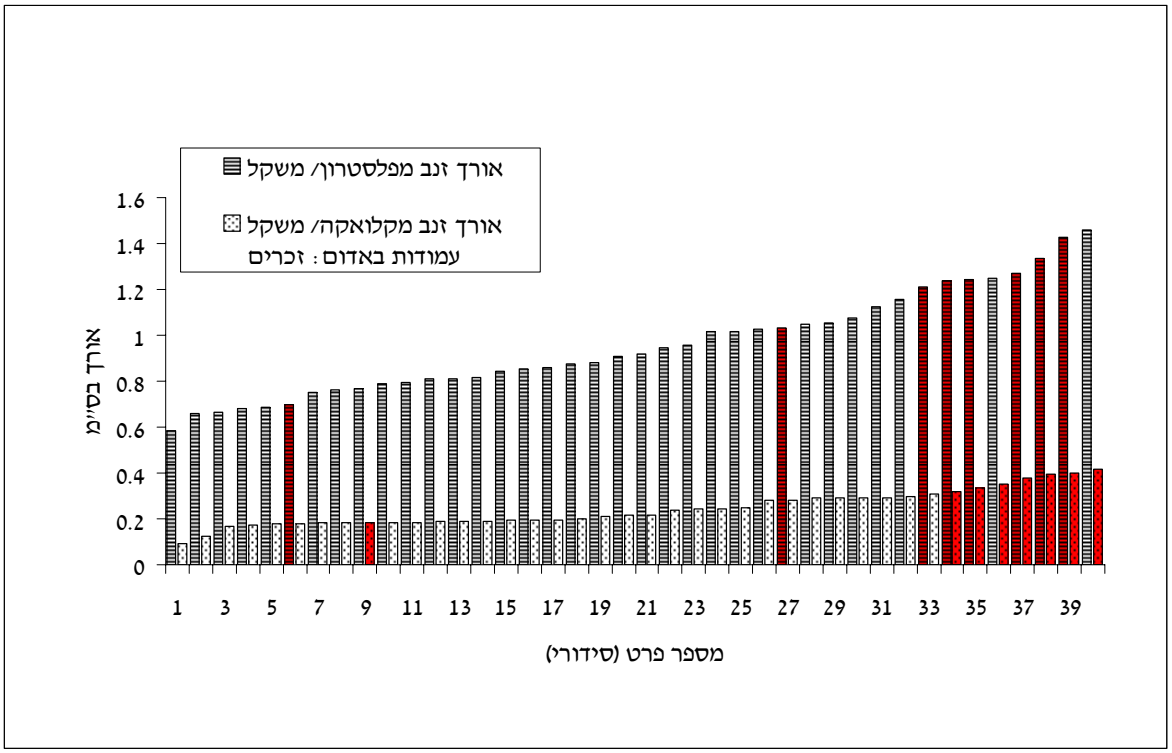
איור 17 : השוואת אורך זנב, ממוין לפי אורך מקלואקה.

מוצגים אורכי זנב מפלסטרון, מקלואקה ומקרפס, של 51 צבים רכים. '♂' מציין פרטים שזויגם זוהה בוודאות (זכרים בלבד).



איור 18: השוואת אורך זנב, ממוין לפי אורך מקרפס.
מוצגים אורכי זנב מפלסטרון, מקלואקה ומקרפס של 12 צבים רכים. זנב מקרפס נמדד ל- 8 פרטים בלבד. לצורך השוואה, מוצגים 4 הפרטים הנוספים שזוהו כזכרים. הנתונים ממוינים לפי אורך זנב מקרפס. '♂' מציין פרטים שזויגם זוהה בוודאות (זכרים בלבד).

במהלך המחקר, 8 פרטים זוהו בוודאות כזכרים, 4 באמצעות דיסקציה (כל הפרטים שנותחו היו זכרים), ו- 4 לאחר ששלפו את הפניס בזמן הטיפול בהם. ליד פרטים אלה מצוין הזויג ('♂'). ההנחה היא, כי אם גודל הזנב מהווה פרמטר לאבחנה בין זויגית, הרי שהוא צפוי לגלות התפלגות מובהקת לשתי קבוצות. אולם כפי שניתן להתרשם, אורך הזנב הוא גודל רציף, ואינו יוצר הפרדה לשתי קבוצות. עם זאת, מאחר וגודל הזנב פרופורציוני לגודל הגוף (ראה פרק מדידות מורפולוגיות), יש לבדוק אותו ביחס לגודל הגוף. פרמטר נוסף שיש לקחת בחשבון בהתיחסות לזנב כמאבחן לזויג, הוא הגודל האבסולוטי של הפרט (משקל, או CCL, או CCW – שלושתם במתאם מאוד גבוה, (טבלה 7) מאחר וייתכן שמדד זה נכון רק לגבי פרטים בוגרים. קשה לקבוע בברור מה גודל הסף לבגרות מינית, אולם מאחר ורוב הפרטים שזוהו כזכרים שוקלים 16-20 ק"ג, נראה משקל של 16 ק"ג כבחירה פונקציונלית יעילה. איור 19 מציג את אורך הזנב ביחס למשקל הגוף, עבור פרטים גדולים מ 16 ק"ג, ועבור פרטים גדולים מ- 24 ק"ג.

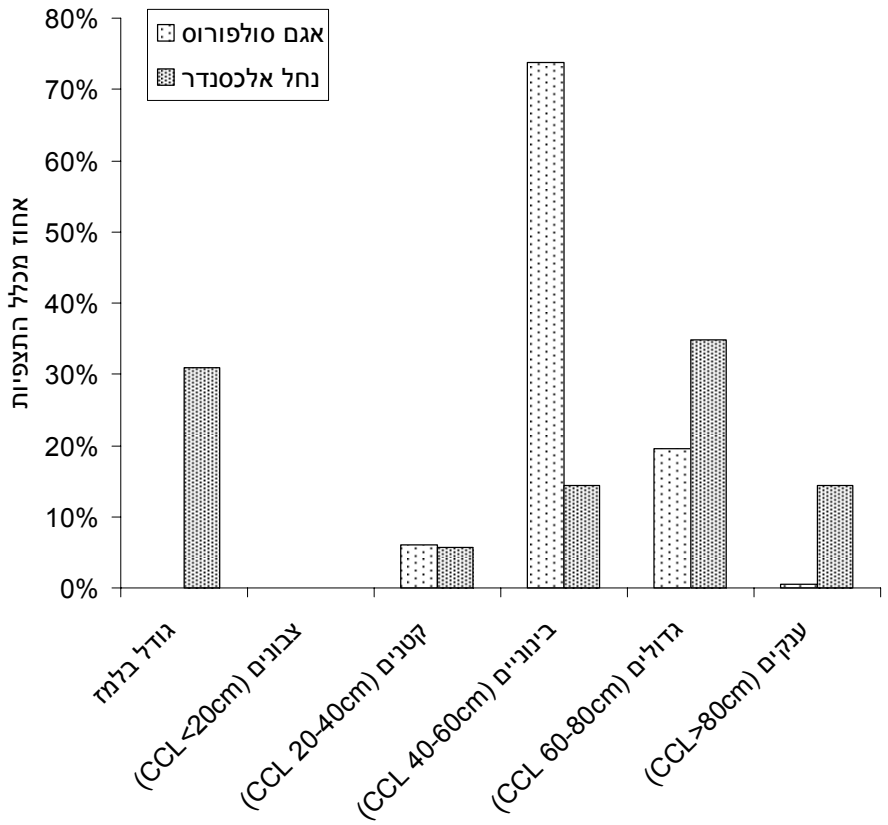


איור 19 : השוואת אורך זנב מפלסטרון ומקלואקה, מחולק למשקל, ב- 40 צבים רכים שמשקלם גדול מ-16 ק"ג. כל סדרה ממוינת בנפרד (!) לפי גודל. באדום - פרטים שזויגם זוהה בוודאות (זכרים בלבד).

4.1.4. יחס גילאים (התפלגות לגדלים)

בנחל אלכסנדר ניכר שרוב הפרטים גדולים, עם מספר גדול יחסית של פרטים ענקיים. ב Lake Sulfurous בתורכיה, נמצא שגודל הפרטים בינוני, ולא נמצאו שם פרטים ענקים. בשני האתרים היה שיעור נמוך של פרטים קטנים (ראה לדוגמא איור 20), ובשניהם לא נצפו כלל פרטים צעירים בגודל של עד 20 ס"מ (איור 21).

איור 20 : פרט קטן אשר נלכד בנחל נעמן. אורך קרפס (CCL) : 36 ס"מ.



איור 21: התפלגות לגודל של הצבים שנצפו בנחל אלכסנדר ובתורכיה (באגם סולפורוס, דלמן), על פי אורך קרפס (CCL - Curved Carapace Length). כולל תצפיות חוזרות. בלמ"ז- בלתי מזוהה.

4.2. רביה

4.2.1. פירוט קינים – עונת 2004

עונת ההטלות של אביב - קיץ 2004 נפתחה ב- 3/5/04, ונסתימה ב- 25/6/04. בתקופה זו אותרו 13 קינים ב- 3 אתרים: "הדקל", "חופית" ו"ליד הנחל". מספר הביצים בקינים ששרדו היה 15-27, ובממוצע ± שגיאת תקן: 20.7±2.4. בסך הכל נספרו 124 ביצים, מתוכן בקעו 62. מספר הצבונים החיים שהגיחו מהקינים עמד על 44. באחוזים, בקעו 57.8%, ואחוז הצבונים החיים עמד על 49.5%. נתוני העונה המלאים מפורטים בטבלה 8 ובטבלה 9.

טבלה 8 : נתונים כלליים של הקינים בעונת ההטלות 2004

(מוצגים נתונים ממוצעים לקן ± שגיאת תקן. בסוגריים : מספר הקינים הנבדקים).

אתר	מספר קינים	תאריך הטלה ראשונה	תאריך הטלה אחרונה	טורף "פתח" בלי לפגוע (N)	קן נטרף (N)	מס' ימים עד פתיחה	עומק ביצה עליונה (ס"מ)	עומק ביצה תחתונה (ס"מ)
הדקל	5	03/5/04	15/6/04	1$	5	-	-	-
חופית	2	27/5/04	09/6/04	2$	2	-	-	-
ליד הנחל	6	19/5/04	25/6/04	-	-	91	18.2±3.2 (N=6)	34.3±1 (N=6)

$- בהמשך נטרף הקן במלואו.

טבלה 9 : נתונים מפורטים של הביצים בעונת ההטלות 2004

(מוצגים נתונים ממוצעים לקן ± שגיאת תקן. בסוגריים : מספר הקינים הנבדקים)

אתר	נפגעו מדקר*	ביצים לא מפותחות *	עובר מפותח למחצה*	מס' ביצים שבקעו*	צבונים מתים בקן*	אחוז בקיעה*	אחוז צבונים חיים*	מס' ביצים*
הדקל	-	-	-	-	-	-	-	-
חופית	-	-	-	-	-	-	-	-
ליד הנחל	6	7.3±2.6 (N=6)	-	10.3±3.5 (N=6)	2±1.6 (N=6)	57.8%±14.8% (N=6)	49.5%±14.9% (N=6)	20.7±2.4 (N=6)

* - מחושב רק עבור N קינים, שעבורם קיימים נתונים מלאים.

עונת ההטלות של אביב - קיץ 2005 נפתחה ב- 12/5/05, ונסתימה ב- 29/6/05. בתקופה זו אותרו 23 קינים, ב- 4 אתרים. 8-5 קינים נוספים, כולם ב"ליד הנחל", לא אותרו, ונתגלו בעקבות טריפתם.

מספר הביצים בקינים היה 44-2, ובממוצע ± שגיאת תקן : 18.8±2.5. בסך הכל נספרו 395 ביצים, מתוכן בקעו 120. מספר הצבונים החיים שהגיחו מהקינים עמד על 98. באחוזים, בקעו 30.4%, ואחוז הצבונים החיים עמד על 24.8%. נתוני העונה המלאים מפורטים בטבלה 10 ובטבלה 11.

טבלה 10 : נתונים כלליים של הקינים בעונת ההטלות 2005

(מוצגים נתונים ממוצעים לקן ± שגיאת תקן. בסוגריים : מספר הקינים הנבדקים)

אתר	מספר קינים	תאריך הטלה ראשונה	תאריך הטלה אחרונה	טורף "פתח" בלי לפגוע (N)	קן נטרף (N)	מס' ימים מהטלה לבקיעה*	מס' ימים עד פתיחה	עומק ביצה עליונה (ס"מ)	*עומק ביצה תחתונה (ס"מ)*
הדקל	6	26/5/05	29/6/05	0	0	61.8±4.5 (N=4)	64.2±5.0 (N=6)	20.8±5.1 (N=4)	*33.7±3.6 (N=3)*
חופית	3	1/6/05	11/6/05	0	0	41.3±8.5 (N=2)	52.5±0.4 (N=3)	14.4±0.0 (N=1)	*22.7±0.0 (N=2)*
ליד הנחל	22	12/5/05	24/6/05	3	18	54.2±5.1 (N=10)	59.6±5.0 (N=13)	16.3±1.0 (N=13)	*30.3±0.9 (N=8)*
סיכום	31	12/5/05	29/6/05	3	18	56.6±3.4 (N=16)	61.8±3.1 (N=22)	17.8±1.2 (N=19)	31.2±1.0 (N=13)

*- ע״פ סימן ראשון שנתגלה (עקבות יציאה/ שקיעה)

טבלה 11 : נתונים מפורטים של הביצים בעונת ההטלות2005

(מוצגים נתונים ממוצעים לקן ± שגיאת תקן. בסוגריים : מספר הקינים הנבדקים)

אתר	נפגעו מדקר*	ביצים לא מפותחות*	עובר מפותח למחצה*	מס' ביצים שבקעו*	צבונים מתים בקן*	אחוז בקיעה*	אחוז צבונים חיים*	מס' ביצים*
הדקל	0.8±0.3 (N=6)	16.7±5.2 (N=6)	0.2±0.2 (N=6)	6.8±2.5 (N=6)	5.0±4.2 (N=2)	25.2%±9.3% (N=6)	21.2%±9.3% (N=6)	24.2±6.5 (N=6)
חופית	2.3±1.1 (N=3)	2.7±1.6 (N=3)	0.7±0.8 (N=3)	10.3±12.0 (N=3)	2.6±0.0 (N=1)	38.9%±29.7% (N=3)	38%±28.6% (N=3)	15.7±12.6 (N=3)
ליד הנחל	0.4±0.4 (N=5)	0.4±0.4 (N=5)	0.0±0.0 (N=5)	7.6±3.3 (N=5)	2.8±1.7 (N=4)	44.4%±19.2% (N=4)	33.9%±16.7% (N=4)	22.6±3.2 (N=5)
סיכום	1.0±0.3 (N=14)	7.9±3.0 (N=14)	0.2±0.2 (N=14)	7.9±2.4 (N=14)	9.2±2.4 (N=14)	34.3%±8.3% (N=13)	29%±7.7% (N=13)	21.8±3.4 (N=14)

* - מחושב רק עבור N קינים, שעבורם קיימים נתונים מלאים.

מעקב רציף איפשר איתור בקיעות באמצעות עקבות, וכך ניתן היה לקבל אומדן טוב של משך האינקובציה, אשר היה 31 עד 75 יום, ובממוצע ±שגיאת תקן : 56.6±3.4 יום.

להלן תוצאות בדיקת מתאם בין הגורמים השונים אשר מראים מתאם מובהק.

באמצעות מבחן פירסון למשתנים בעלי התפלגות נורמלית :

	גורם 1	גורם 2	מקדם פירסון	מובהקות	גודל מדגם
1)	עומק ביצה עליונה	עומק ביצה תחתונה	0.647	$p < 0.05$	$n = 13$
2)	עומק ביצה עליונה	אחוז ביצים שבקעו	-0.566	$p < 0.05$	$n = 13$
3)	עומק ביצה תחתונה	מספר ביצים כללי	0.814	$p < 0.005$	$n = 10$
4)	אחוז הביצים שבקעו	אחוז צבונים חיים	0.962	$p < 0.001$	$n = 14$
5)	מספר ביצים כללי	ביצים מנוונות	0.568	$p < 0.05$	$p = 14$

באמצעות מבחן ספירמן למשתנים בעלי התפלגות לא נורמלית:

	גורם 1	גורם 2	מקדם ספירמן	מובהקות	גודל מדגם
6)	צבונים מתים בקן	צבונים חיים בקן	0.872	$p < 0.001$	$p = 14$
7)	צבונים מתים בקן	ביצים שבקעו	0.838	$p < 0.001$	$p = 14$
8)	צבונים מתים בקן	סה"כ ביצים בקן	0.677	$p < 0.01$	$p = 14$
9)	ביצים שבקעו	צבונים חיים בקן	0.846	$p < 0.001$	$p = 14$
10)	ביצים שבקעו	אחוז צבונים חיים	0.716	$p < 0.005$	$p = 14$
11)	ביצים שבקעו	אחוז ביצים שבקעו	0.806	$p < 0.001$	$p = 14$
12)	ביצים שבקעו	סה"כ ביצים בקן	0.704	$p < 0.01$	$p = 14$

4.2.1.1. השפעת אתר ההטלה

נתוני ההצלחה של הקינים (שיעור ביצים לא מפותחות או מפותחות למחצה, מספר ביצים כללי, ומספר ביצים שבקעו, שיעור בקיעה, שיעור צבונים חיים, שיעור מתים בקן) מראים לכאורה הבדלים ניכרים, לפי חלוקה לאתר (טבלה 11). אולם, במבחן סטטיסטי שבוצע להשוואה בין הממוצעים (One Way ANOVA), לא נמצא הבדל מובהק בין שלושת אתרי ההטלה עבור אף אחד מהפרמטרים.

4.2.1.2. השפעת סוג הקרקע

שניים מאתרי ההטלה, "חופית" ו"הדקל", נמצאים בקרקע חולית. באתר השלישי, "ליד הנחל", הקרקע הינה אדמה כבדה, מכוסה שכבת חול דקה (של 20-2 ס"מ). נתוני הביצים באתר ליד הנחל, ולעומתו בצמד האתרים חופית והדקל, מוצגים בטבלה 12.

טבלה 12: נתוני קינים לפי סוג קרקע: קינים באדמה כבדה ("ליד הנחל") לעומת קינים בחול ("הדקל"+"חופית")

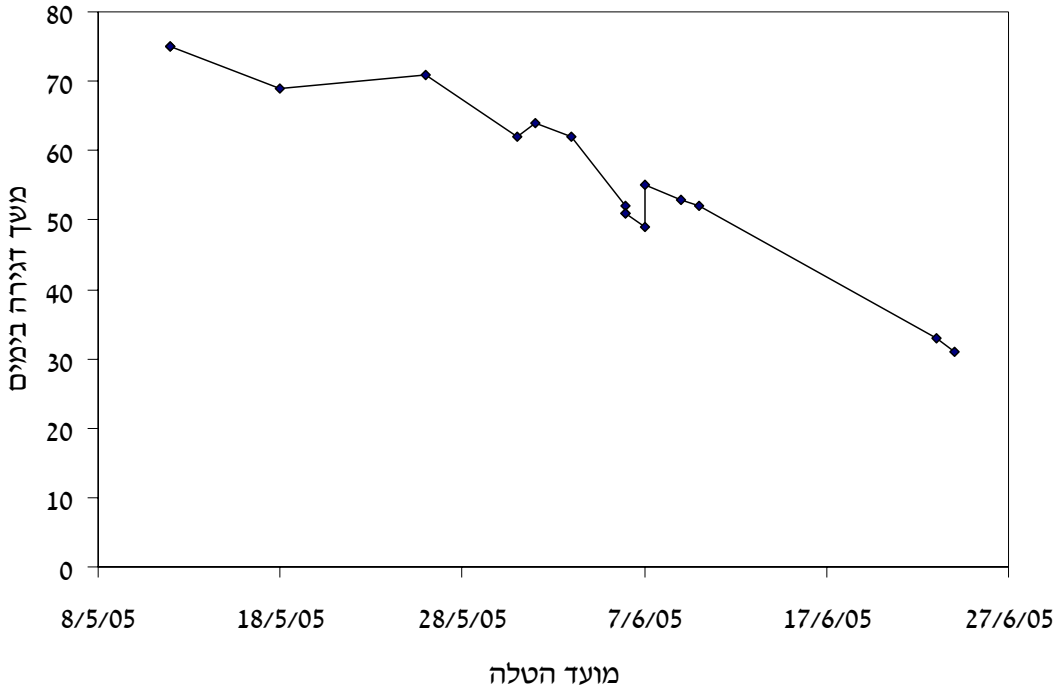
קרקע	אתר	ביצים לא מפותחות*	עובר מפותח למחצה*	מס' ביצים שבקעו*	צבונים מתים בקן*	אחוז בקיעה*	אחוז צבונים חיים*	מס' ביצים*
חול	הדקל+ חופית	15.43±4.07 (N=7)	1.5±0.5 (N=2)	12±3.99 (N=6)	3.67±2.19 (N=3)	30±9 (N=9)	27±9 (N=9)	21.33±5.03 (N=9)
אדמה כבדה	ליד הנחל	0.4±0.4 (N=5)	0.0±0.0 (N=5)	7.6±3.3 (N=5)	2.8±1.7 (N=4)	44.4±19.2 (N=4)	33.9±16.7 (N=4)	22.6±3.2 (N=5)

* - מחושב רק עבור N קינים, שעבורם קיימים נתונים מלאים.

כמו עבור חלוקת הנתונים לפי אתר, גם עבור חלוקה זו של הנתונים, ניכרים הבדלים לכאורה, בין הפרמטרים השונים של הצלחת הקינים. עם זאת, במבחן סטטיסטי שבוצע להשוואה בין הממוצעים (One Way ANOVA), לא נמצא הבדל מובהק בין שני סוגי הקרקעות, עבור אף אחד מהפרמטרים.

4.2.1.3. השפעת מועד ההטלה

משך הדגירה של הקינים היה מ- 31 יום, לקן שהתגלה לפני אחרון, אשר הוטל ב- 24/6/05, ועד 75 יום, ל- 2 הקינים הראשונים שהתגלו, אשר הוטלו ב- 12/5/05. תהליך הבקיעה של קן נמשך מספר ימים, ובעת פתיחת הקינים, ימים מספר לאחר גילוי סימני בקיעה ראשונים, נתגלו צבונים חיים בתוך הקן עד כדי שבוע מתחילת הבקיעה. איור 22 ממחיש את היחס בין מועד ההטלה לבין משך הדגירה.



איור 22: משך הדגירה של הביצים בקן, כפונקציה של מועד ההטלה.
(עבור 14 קינים, עבורם ידוע בברור מועד הבקיעה, עד כדי קירוב של ימים בודדים)

לבדיקת ההשפעה של מועד ההטלה (מבחינת תיזמון במהלך העונה) על הפרמטרים השונים, חולקו החודשים לשלישים, וכל יחידת זמן כזו נחשבה לקטגוריה. בוצע מבחן One Way ANOVA, עבור כל אחד מהפרמטרים. עבור הפרמטרים הבאים נתגלה הבדל מובהק:

משך דגירה (קיימים נתונים לפרמטר זה רק עבור קטגוריות 0,1,2,4) $F_{3,12} = 31.99$ $p < 0.001$.

מבחן Post Hoc של Tuckey מוצא הבדל ($p < 0.05$) רק בין קטגוריות 0 לבין 2 ו- 4, ובין 4 לבין כל השאר (טבלה 13). אולם מאחר והקטגוריות למעשה מיצגות משתנה רציף, הרי המשמעות היא שאומנם אין הבדל מובהק בין כל שליש חודש לשליש הבא מיד אחריו, אולם בדילוג של שליש חודש, כן קיים הבדל מובהק בין כל שליש, לבין כל השלישים האחרים. יתרה מזאת, מבחן Post Hoc של Bonferroni מוצא הבדל מובהק בין כל הקטגוריות (טבלה 14).

טבלה 13: הבדל בין מועדי הטלה (Tukey)

מבחן Post Hoc, Tukey לזיהוי הקטגוריות של מועד הטלה, הנבדלות במובהק מבחינת משך הדגירה (הקטגוריות: '0'- 11-20/5; '1'- 21-31/5; '2'- 1-10/6; '3'- 11-20/6; '4'- 21-31/6).

Lay date	Lay date	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
0	1	6.5000	4.42923	.485	-6.6499	19.6499
	2	18.6667(*)	3.23465	<0.001	9.0633	28.2700
	4	41.0000(*)	4.42923	<0.001	27.8501	54.1499
1	0	-6.5000	4.42923	.485	-19.6499	6.6499
	2	12.1667(*)	3.79296	.033	.9057	23.4276
	4	34.5000(*)	4.85198	<0.001	20.0950	48.9050
2	0	-18.6667(*)	3.23465	<0.001	-28.2700	-9.0633
	1	-12.1667(*)	3.79296	.033	-23.4276	-.9057
	4	22.3333(*)	3.79296	<0.001	11.0724	33.5943
4	0	-41.0000(*)	4.42923	<0.001	-54.1499	-27.8501
	1	-34.5000(*)	4.85198	<0.001	-48.9050	-20.0950
	2	-22.3333(*)	3.79296	<0.001	-33.5943	-11.0724

טבלה 14: הבדל בין מועדי הטלה (Bonferroni)

מבחן Post Hoc, Bonferroni לזיהוי הקטגוריות של מועד הטלה הנבדלות במובהק מבחינת משך הדגירה (הקטגוריות: '0'- 11-20/5; '1'- 21-31/5; '2'- 1-10/6; '3'- 11-20/6; '4'- 21-31/6).

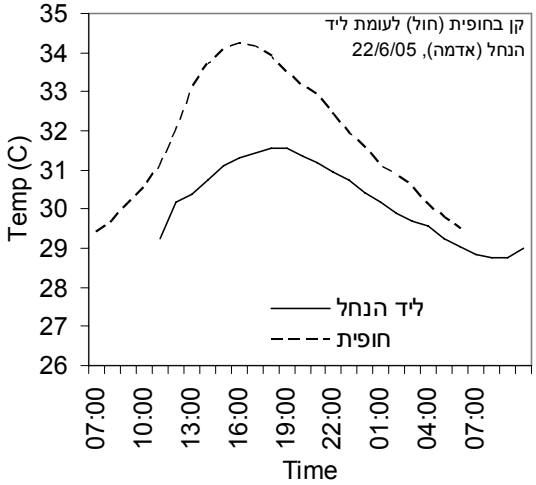
Lay date	Lay date	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
0	1	6.5000	4.42923	1.000	-7.4639	20.4639
	2	18.6667(*)	3.23465	<0.005	8.4688	28.8645
	4	41.0000(*)	4.42923	<0.001	27.0361	54.9639
1	0	-6.5000	4.42923	1.000	-20.4639	7.4639
	2	12.1667(*)	3.79296	.045	.2087	24.1247
	4	34.5000(*)	4.85198	<0.001	19.2033	49.7967
2	0	-18.6667(*)	3.23465	.001	-28.8645	-8.4688
	1	-12.1667(*)	3.79296	.045	-24.1247	-.2087
	4	22.3333(*)	3.79296	<0.001	10.3753	34.2913
4	0	-41.0000(*)	4.42923	<0.001	-54.9639	-27.0361
	1	-34.5000(*)	4.85198	<0.001	-49.7967	-19.2033
	2	-22.3333(*)	3.79296	<0.001	-34.2913	-10.3753

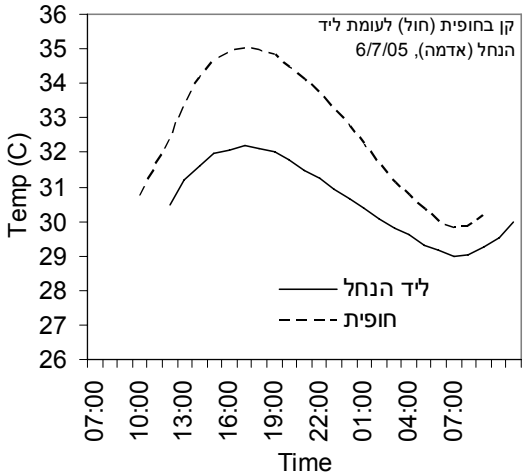
לא נמצאה השפעה של מועד ההטלה על עומק ביצה עליונה, עומק ביצה תחתונה, מספר הצבונים החיים שנתגלו בקן, מספר ביצים מנוונות, אחוז צבונים חיים, אחוז ביצים שבקעו ומספר ביצים כללי (אין מספיק נתונים לבצע את הבדיקה עבור מספר עוברים מפותחים למחצה).

עבור משתנים בעלי התפלגות לא נורמלית, בוצע מבחן Kruskal Wallis. במבחן זה לא נמצאה השפעה של מועד ההטלה על מספר הצבונים המתים שנמצאו בקן, על מספר הביצים שבקעו, ועל מספר הביצים שנפגעו מדקר.

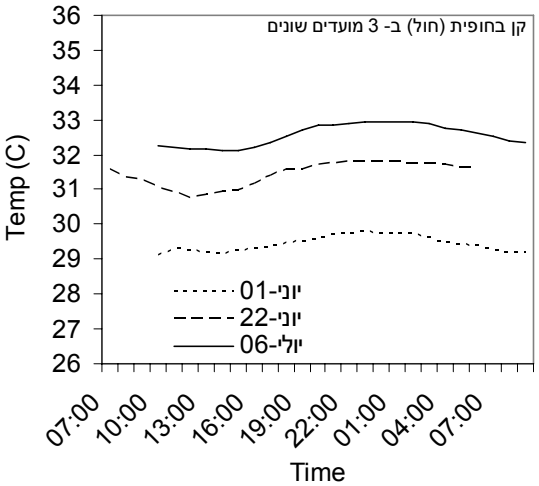
4.2.1.4. טמפרטורה בקינים

מדידות טמפרטורה שנערכו בקינים מראות הבדלים ניכרים בין אזורים שונים (בתוך הקן ומחוץ לקן בעומק דומה, סמוך לפני הקרקע), בקינים באתרים שונים, ובמועדים שונים (איור 23).

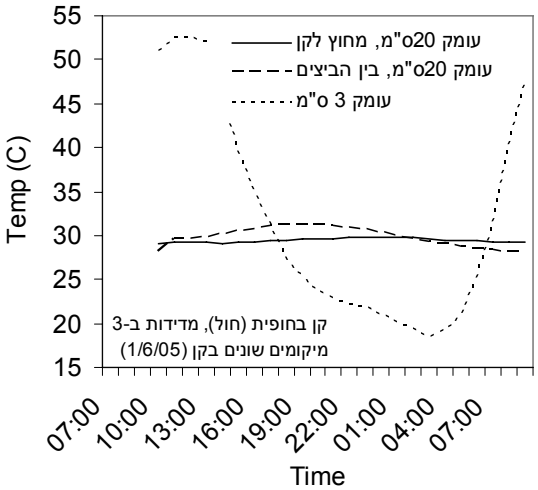




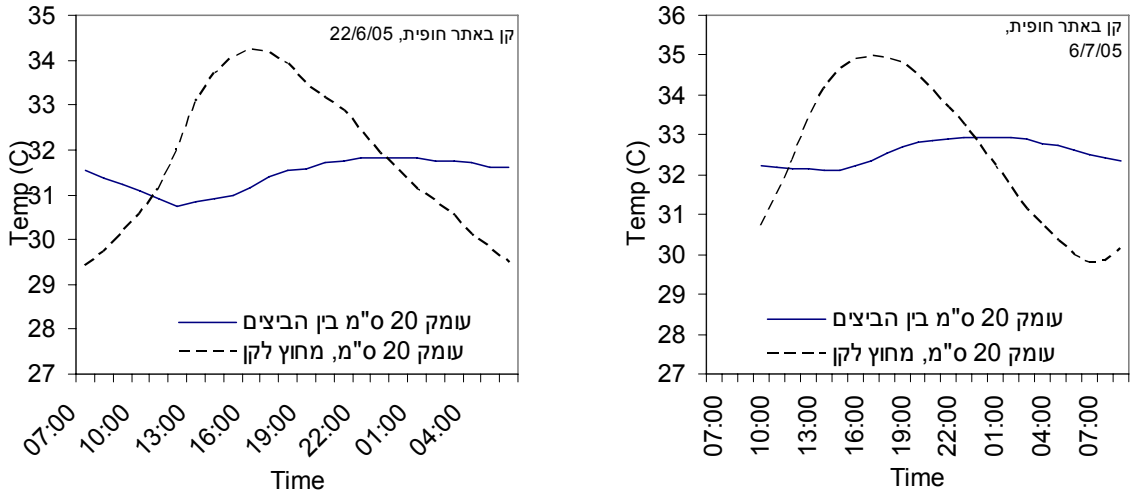
איור 23א': שני ניסויים של מדידת טמפרטורה בו זמנית, בשני קינים שונים, בין הביצים (אחד בקרקע חולית, באתר "חופית" והשני באדמה כבדה, באתר "ליד הנחל", 22/6/05, 6/7/05).



איור 23 ב': טמפרטורה בקן חולי אחד (באתר "חופית"), עומק 20 ס"מ בין הביצים, ב-3 מועדים שונים: 1/6, 22/6, 6/7.



איור 23 ג': טמפרטורה ב-3 מיקומים שונים בקן, במקביל (קן חולי, באתר "חופית").



איור 23 ד׳: טמפרטורה בתוך הקן, לעומת מחוץ לקן, באותו עומק. בוצע בשני מועדים שונים (קן ב״חופית״, 22/6/05, 6/7/05).

איור 23: הטמפרטורה בקן במיקומים, זמנים ואתרים שונים. כל נקודה בגרף מייצגת ממוצע של 3 מדידות אשר נערכו באותה שעה, ב- 3 או 4 יממות עוקבות.

על מנת לבחון האם קיים הבדל בטמפרטורה בין הקינים, בוצע מבחן סימן (Sign Test), להשוואת מדגמים מזווגים עבור משתנים א-פרמטריים. המבחן הראה הבדל מובהק עבור:

1. השוואה בין טמפרטורה בתוך הקן (בין הביצים), בין קינים איור 23א׳):
   I. 22/6/05, קן בחופית לעומת קן בליד הנחל: $Z=-6.3, P<0.001$
   II. 6/7/05 קן בחופית לעומת קן בליד הנחל: $Z=-8.062, P<0.001$

2. השוואת הטמפרטורה בתוך הקן (בין הביצים), במועדים שונים (איור 23ב׳):
   I. קן בחופית, 1/6/05 לעומת 22/6/05: $Z=-8.889, P<0.001$
   II. קן בחופית, 22/6/05 לעומת 6/7/05: $Z=-8.314, P<0.001$
   III. קן בחופית, 1/6/05 לעומת 6/7/05: $Z=-8.945, P<0.001$

השוואה בו זמנית של הטמפרטורה במקומות שונים באותו קן (בתוך הקן, או סמוך לפני הקרקע), איננה יכולה להתבצע באמצעות מבחן להשוואת ממוצעים. הרי הממוצע סמוך לפני הקרקע, למרות התנודות החריפות של הטמפרטורה בחוץ, יכול בהחלט להיות דומה מאוד לממוצע בעומק הקרקע - בתוך הקן! ההבדל החשוב הוא התנודתיות, קרי, השונות. לכן בוצע במקרה זה מבחן Levene's להשוואת שונויות (Levene's Test for Equality of Variances). כל ההשוואות הראו הבדל מובהק בין השונויות:

1. השוואה בין הטמפרטורה בתוך הקן (בין הביצים), לבין מחוץ לקן (באותו עומק), ולבין הטמפרטורה בעומק 3 ס״מ (איור 23ג׳), חולקה ל- 3 מבחנים שונים:
   I. בין הטמפרטורה בתוך הקן (בין הביצים), לבין מחוץ לקן (באותו עומק):
   $F=24.124, P<0.001$

II. בין הטמפרטורה מחוץ לקן, לבין הטמפרטורה בעומק 3 ס״מ: $F=218.969, P<0.001$

III. בין הטמפרטורה בתוך הקן, לבין הטמפרטורה בעומק 3 ס״מ: $F=303.525, P<0.001$

2. טמפרטורה בתוך הקן (בין הביצים), לבין מחוץ לקן (באותו עומק) (איור 23ד'):
$F=179.548, P<0.001$.

4.2.2. לחות

לשם השוואת ממוצעים (טבלה 15) בין הלחות בעומק 10 ס״מ לבין הלחות בעומק 30 ס״מ, בוצע מבחן t

טבלה 15: נתונים סטטיסטיים של מדידות שיעור לחות בקינים (ב-%).

אתר ועומק המדידה	N	מינימום	מקסימום	ממוצע	שגיאת תקן
חופית, 10 ס״מ	6	1.70	2.90	2.2500	0.42308
חופית, 30 ס״מ	7	2.50	3.50	3.0143	0.36710
הדקל, 10 ס״מ	9	1.90	2.80	2.2667	0.29580
הדקל, 30 ס״מ	12	2.10	10.30	3.2333	2.25039
ליד הנחל, 10 ס״מ	12	4.50	11.10	6.1833	1.76575
ליד הנחל, 30 ס״מ	21	5.90	39.80	25.1429	10.86152

מזווג, אשר הראה הבדל מובהק בין העומקים:

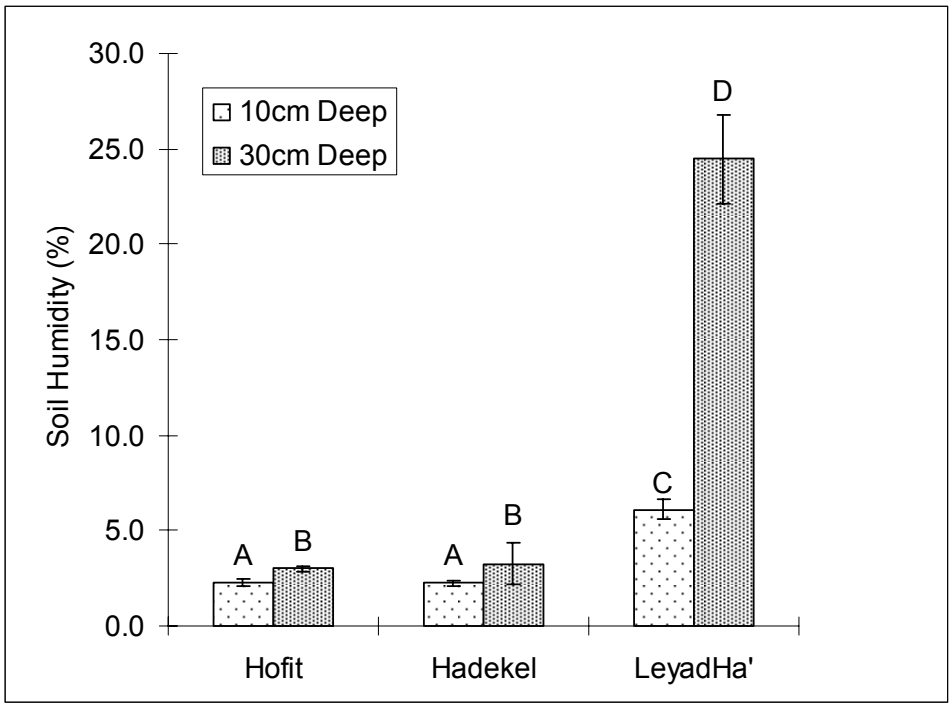
בחופית: $t = -3.048, df = 5, p < 0.05$;

בדקל: $t = -3.337, df = 8, p<0.05$;

בליד הנחל: $t = -4.706, df = 11, p < 0.05$;

באתרים חופית והדקל, יש קרקע חולית דומה. לעומת זאת, באתר ליד הנחל, הקרקע היא אדמה כבדה, מכוסה שכבת חול דקה מעליה (20-2 ס״מ). על מנת להשוות ביניהם, נבדק ההבדל בשיעורי הלחות בעומק 10 ס״מ ובעומק 30 ס״מ בין שלושת האתרים. מבחן ANOVA להשוואת שיעור הלחות הממוצע ב- 3 האתרים (הדקל, חופית, ליד הנחל), בעומק 10 ס״מ, מראה הבדל מובהק בין הממוצעים:

$F_{2,22} = 33.314 \quad p < 0.001$ (איור 24).



איור 24: שיעור הלחות בקרקע בשלושת אתרי ההטלה (חופית, הדקל, ליד הנחל), בעומק 10 ס״מ ובעומק 30 ס״מ. הקווים בעמודות מציינים את גודל שגיאת התקן. האותיות מסמנות את קבוצות המובהקות.

מבחן Post Hoc של Tukey, מראה כי אין הבדל מובהק בין חופית לבין הדקל, אולם קיים הבדל מובהק בין חופית והדקל לבין ליד הנחל.

מבחן ANOVA להשוואת שיעור הלחות הממוצע ב- 3 האתרים (הדקל, חופית, ליד הנחל), בעומק 30 ס״מ, מראה גם כן הבדל מובהק בין הממוצעים:

$F_{2,37} = 36.938 \quad p < 0.001$.

מבחן Post Hoc של Tukey, מראה כי גם לגבי עומק 30 ס״מ, אין הבדל מובהק בין חופית לבין הדקל, אולם קיים הבדל מובהק בין חופית והדקל לבין ליד הנחל.

4.3. גנטיקה

החלק האיכותי המשותף לכל הרצפים כלל 500 בסיסים. השוואת קטע זה בין 17 פרטים, ביניהם 12 מישראל ו- 5 מתורכיה, גילה 16 אתרים המראים פולימורפיזם. בכל אחד מאתרים אלה, היה רק פרט אחד, אשר נבדל מכל היתר. האיכות של חלק גדול מהרצפים היתה ירודה, בעוד אחדים היו באיכות בינונית, ורק מעטים היו באיכות סבירה. כל הרצפים נזקקו לתיקונים ידניים (ראה שיטות). אי לכך, האתרים בהם התגלתה שונות, אינם וודאיים: למשל, אחת הדגימות, אשר הריצוף שלה היה באיכות גרועה מאוד, אחראית ל- 10 מהאתרים הפולימורפים. האתרים האחרים מתפלגים בין דגימות שונות. שיעור השונות בין הרצפים הוא כ- 3% (16/500 בסיסים), אולם אם נוציא מההשוואה את הרצף ה״בעייתי״, הרי ששיעור השונות יורד לכדי 1%. סביר להניח ששיעור השונות האמיתי נמוך עוד יותר, ובסך הכל ניתן

להעריך את שיעור הזהות ברצף ה- Cytochrome b של הצב הרך בין אוכלוסיית ישראל לבין אוכלוסיית תורכיה, ב - 99-100%.

מתוך 16 האתרים הפולימורפיים, ניתן למנות 13 מוטציות insertion, מוטציית deletion אחת, ו- 2 point mutation, אשר כל אחת מהן כוללת רצף של 3 בסיסים (שתיהן אינן ברצף הגרוע הנזכר למעלה).

מאחר ובכל אחד מהלוקוסים הפולימורפים יש רק רצף אחד אשר נבדל מכל היתר, קל לראות רצף קונסנזוס של הגן Cytochrome b ב- *T. triunguis*.

לצורך השוואה לקבוצות ביקורת בוצעה השוואה בין רצף ה- Cytochrome b של הפרטים ממחקר זה, לבין רצף של פרט מאותו מין (*T. triunguis*) שמוצאו בליבריה (GeneBank accession number: AY259564), וכן בין הפרטים ממחקר זה לבין פרט של *Apalone ferox*, מין של צב רך מצפון אמריקה (GeneBank accession number: AY259555), המשמש כקבוצה חיצונית (out group). *T .triunguis* האפריקני איננו נבדל אף לא בבסיס אחד מרצף הקונסנזוס של הפרטים ממחקר זה. *A.ferox*, נבדל מרצף הקונסנזוס בשיעור של 16.7%. נספח 7.2 מציג השוואת רצפים של פרטים של *T. triunguis* שנבדקו במחקר זה. נספח 7.3 מציג את ההשוואה בין רצף הקונסנזוס ובין הקבוצה החיצונית (*A.ferox*).

5. דיון

5.1. דמוגרפיה

5.1.1. גודל האוכלוסייה

עד קום המדינה, הוערך גודל אוכלוסיית הצבים הרכים בנחל אלכסנדר, באלפי פרטים (ארבל, 1984). גם בהמשך, בשנות ה- 50, היתה כנראה אוכלוסיה גדולה, בעלת ייצוג לכל הגילאים (מנדלסון, 1989b).
לא ברור מה היה גודל האוכלוסייה בשנות ה- 70, אולם עד סוף שנות ה- 80 ותחילת שנות ה- 90, הגיעה האוכלוסייה לכדי 200 פרטים. בשנת 1992 התחולל שטפון אשר קטל כ- 200 פרטים, אשר באופן תיאורטי היוו את כלל האוכלוסייה בנחל. עם זאת ההערכות המאוחרות יותר מדברות על קיומם של 50-60 פרטים בנחל, כשאמיר (2000) מדווח על 31 פרטים בשנת 2000, ועל 40-50 פרטים בשנת 2002 (אמיר, 2002). כמעט 100% מהפרטים המדווחים, בעשרות השנים האחרונות, הם בוגרים. טבלה 16 מציגה את גודל האוכלוסייה המוערך בנחל אלכסנדר בנקודות זמן אחדות במהלך השנים, מקום המדינה ועד לאחרונה.

טבלה 16: הערכות של גודל אוכלוסיית הצב הרך בנחל אלכסנדר מקום המדינה ועד לאחרונה.

שנה	גודל אוכלוסיה	הערות	מקור
שנות ה- 40-50	מאות פרטים	כל הגדלים	ארבל, 1984, מנדלסון, 1988
1982	50-100 פרטים	חלקם צעירים – 20-30 ס"מ	גזית, 1982
1983	102 פרטים	גדולים וענקים בלבד	אייל, 1983
1990	200 פרטים	95% בוגרים ותת בוגרים	שי, 1991, שי 2002
שטפון 1992	כ- 200 מתים		קולר, 1992, שגיב, 1992
1992-2000	50-60 פרטים		שי, 2002
2005	100-150 פרטים		מחקר זה

הנתונים הדמוגרפיים הקודמים למחקר זה מציגים תמונה ברורה, של אוכלוסיה גדולה ובריאה, בת מאות פרטים, שהתקיימה בנחל אלכסנדר לפני עשרות שנים, ואשר הצטמצמה בעקבות זיהום לגודל של כ- 200 פרטים (אולי אף לכדי 100 פרטים, וגדלה שוב בשנות ה- 80). בעקבות קטסטרופה (שטפון) עברה האוכלוסייה צמצום נוסף לכדי כ- 50 פרטים. בתמונה זו אין הצטרפות של פרטים חדשים לאוכלוסיה הבוגרת, ומתעורר חשש משמעותי כי האוכלוסייה הולכת ומתנוונת, וכי היא נמצאת בסכנת הכחדה חמורה.
ואולם, תוצאות מחקר זה מאירות את תמונת המצב באור שונה:
על פי תוצאות מחקר זה, עומד כיום מספר הצבים בנחל אלכסנדר, על כ- 100-150 פרטים. מספר זה מציג לכאורה גידול של האוכלוסייה במהלך 15 השנים האחרונות.
מתוך כלל הפרטים אשר נצפו במחקר זה, הוערך הגודל של 75% (373 פרטים מתוך 500, כולל תצפיות חוזרות). מתוך הפרטים שהוערך גודלם, 8% הם פרטים "קטנים", בעלי קרפס באורך 20-40 ס"מ. ראשית, שיעור כזה של פרטים צעירים אינו רחוק בהרבה מהנתונים שמציג Bury (1979), על שיעור צעירים באוכלוסיות של צבי מים העומד בממוצע על 31%, והיורד לעיתים עד לכדי 10%. יתרה מזאת, מנדלסון (1971) מדווח כי ההתבגרות המינית בצבים רכים בשביה, מתרחשת בגודל קרפס של כ- 50 ס"מ, וכי גיל

הצבים בגודל זה בשביה עומד על כ- 10 שנים. על סמך זאת ניתן להעריך את גיל הפרטים הקטנים במחקר זה, בפחות מ- 10 שנים. קבוצת הגודל הבאה במחקר זה כוללת פרטים בעלי קרפס באורך של 60-40 ס״מ, המוגדרים כבינוניים. המשמעות היא כי פרטים אלה הם בני כ- 10 שנים, ובכל אופן, בסבירות גבוהה מאוד, בני פחות מ- 15 שנים, וניתן לקבוע כי הם נולדו לאחר השטפון של 1992. מספר הצבים הבינוניים שנצפו במהלך מחקר זה עומד על 79 (כולל תצפיות חוזרות באותם פרטים), ובתוספת הפרטים הקטנים, הרי שנספרו במהלך מחקר זה 109 פרטים קטנים ובינוניים (כולל תצפיות חוזרות), המהווים 29% מכלל האוכלוסייה. שיעור זה הוא זהה, למעשה, לערך הממוצע של שיעור צעירים באוכלוסיות צבי מים (31%) אותו מציג Bury (1979).

מתוך נתונים אלה (ובהנחה שאין הגירה חיובית), עולה התמונה הבאה: האוכלוסייה בנחל אלכסנדר עומדת כיום על כ- 140 פרטים.

29% מהפרטים נולדו לאחר השטפון של 1992 (בו נספו כ- 200 פרטים), והשאר, כ- 100 פרטים, נולדו לפניו. מכאן, שעד 1992 מנתה האוכלוסייה קרוב ל- 300 פרטים, לא הרבה יותר מהגודל המוערך, של 200 פרטים (שי, 1991). לאחר שכ- 200 פרטים נספו בשטפון של 1992, נותרה בנחל אוכלוסיה בת כ- 100 פרטים, שוב, לא הרבה יותר מהגודל המוערך של 60-50 פרטים (שי, 2002). ב- 15 השנים שחלפו מאז השטפון, גדלה האוכלוסייה בכ- 40%.

5.1.2. מבנה האוכלוסייה – גילאים

בשנות ה- 50-40 של המאה ה- 20, אוכלוסיית הצב הרך בנחל אלכסנדר כללה פרטים מכל הגילאים (ארבל, 1984, מנדלסון, 1988). ואולם מזה עשרות שנים, כל הדיווחים מתארים פרטים בוגרים בלבד, ומספר הפרטים הצעירים הנצפים נראה זניח. יתרה מזאת, החל משנות ה- 70 ואילך, הולכים ומתרבים הדיווחים השליליים לגבי אוכלוסיית הצבים הרכים בנחל אלכסנדר, ומתוארים הזיהום הקשה (אילני, 1973), תופעה הולכת וגוברת של טריפת קינים (שי, 1991), חוסר פוריות של ביצים ואי בקיעת קינים שלמים (שי, 2002). כל התופעות הקשות הללו מובילות לגיוס נמוך של פרטים צעירים לאוכלוסיה, שמשמעותו התנוונות האוכלוסייה, עד לכדי הכחדתה. באין נתונים ברורים שיסתרו כיוון זה, הלכה וגברה, בקרב חוקרים ואנשי מקצוע העוסקים בצב הרך, התחושה כי מצב האוכלוסייה הוא בכי רע, וכי שאלת גורלם של הצבים הצעירים היא שאלת המפתח בדיון על עתיד הצב הרך בנחל אלכסנדר (גזית, 1988). להלן אתייחס לתופעות השונות שנזכרו לעיל, על מנת להגיע לכדי דיון מעמיק בשאלה המרכזית: ״היכן הצעירים?!״

5.1.2.1. זיהום המים בנחל אלכסנדר כגורם למיעוט פרטים צעירים

הזיהום בנחל אלכסנדר החל כנראה בשנות ה- 50, עם שפכי קיבוץ מעברות. שמוליק וייס, דייג ותיק ממכמורת, מדווח כי עד שנות ה- 60׳ היו מי הנחל צלולים (חכם, 1989). בשנות ה- 70 החריף הזיהום, כשבשנת 1973 מדווח אילני (1973) על רצון (ונסיון) לפנות את כל אוכלוסיית הצבים מהנחל. בשלבים הראשונים היה הזיהום ממקור אורגאני בלבד, והדבר הביא לשגשוג של אוכלוסיית הצב הרך (מנדלסון, 1988, ספריאל, 1989). באותה תקופה היה ייצוג לכל הגילאים (מנדלסון, 1988). מאוחר יותר התווסף גם זיהום כימי, ובשלב זה הדלדלו מקורות המזון של הצבים (פרנקברג, 1988). מנדלסון סבור, כי הזיהום פגע בעיקר בפרטים הצעירים, במישרין או דרך פגיעה בהתפתחות המזון שלהם (למשל כירונימידים) (אצל ספריאל, 1989), וכי השרדות הבוגרים התאפשרה רק בזכות האכלה קבועה בפגרי עופות, שהתבצעה על ידי

תושבי האזור (מנדלסון, 1988), וכן, בתקופות מסוימות (למשל בשנות ה- 80), על ידי רשות שמורות הטבע (פרנקברג, 1988).

שיקום הנחל והפסקה של הזרמת השפכים אליו החלו באמצע שנות ה- 90.

אם נחזור להערכות ההיסטוריות של גודל האוכלוסייה (טבלה 16), הרי שבין 1982 ל- 1990, נוספו לאוכלוסיה כ- 100 פרטים בוגרים (קרי: בני 15 ויותר), בהגדילם את גודל האוכלוסייה ב- 100%. פרטים אלה נולדו והתבגרו בתקופת הזיהום החמור של הנחל, מאמצע שנות ה- 70' ועד סוף שנות ה-80'!

הזדמנות לבחון את מבנה האוכלוסייה של הצב הרך באותה תקופה, מספק לנו שרון יאיר, הפקח האזורי של רשות שמורות הטבע בתקופת השטפון הגדול של שנת 1992. יאיר ביצע מדידות מורפולוגיות של אחדים מהצבים שנמצאו מתים בחוף הים, בעקבות השטפון (טבלה 17) (יאיר, 1992).

טבלה 17: נתונים מורפולוגיים של גוויות צבים אשר נמצאו מתים בחוף הים בעקבות השטפון בשנת 1992 (ע"פ יאיר, 1992)

מספר פרטים	אורך קרפס (CCL) (ס"מ)	רוחב קרפס (CCW) (ס"מ)	משקל (ק"ג)
2	13-14 ס"מ	11-13	0.15-0.2
3	20-23 ס"מ	17-20	0.5-1
1	33 ס"מ	27	2.7
2	40 ס"מ	33	4.8 ו- 5.8
1	54 ס"מ	42	11
1	62 ס"מ	47	13
1	68 ס"מ	54	21.7
1	73 ס"מ	56	23.5

שרון מתאר כי ביצע "בדיקה מדגמית", אולם למען הזהירות אניח, שבאופן מדגמי (ומקרי) נבחרו רק הצבים הבינוניים והגדולים, שהיו פזורים בשטח בעשרות רבות. ואילו שהפרטים הקטנים, היו יחסית נדירים ויוצאי דופן, ושאלו נמדדו כולם, ללא יוצא מן הכלל. בסך הכל, מדווח שרון בדו"ח זה על 137 פרטים שנמצאו בחוף. בינהם 2 צבונים, בגודל 0-20 ס"מ (CCL) המהווים 1.5% מכלל ה- 137. כמו כן 5 פרטים בגודל 20-40 ס"מ (CCL) המהווים 4.4%. בסך הכל מהווים הצבים הקטנים במדגם זה 6%. במחקר שלי, עמד שיעור הצבים הקטנים על 8%. שיעורים קרובים אלה מעלים את האפשרות שמבנה האוכלוסייה בשנות ה- 90 היה דומה למבנה האוכלוסייה כיום. גם השערה זו, משמעה שפרטים צעירים הצטרפו לאוכלוסיה במהלך תקופות הזיהום, מאמצע שנות ה- 70' ועד שנת 1990.

5.1.2.2. טריפת קינים כגורם למיעוט פרטים צעירים

טריפת קינים מהווה בעיה חמורה בכל מיני הצבים (Moll & Moll, 2004a). כאמור, קיים דיווח מתורכיה על חוף מסוים בו נטרפו כל הקינים על ידי שועלים (Bride, 2004), וגם בארה"ב מאיימת הסכנה של טריפת קינים על אוכלוסיות צבים רכים (שי, 2002). אי לכך, אין סיבה לקוות שהצב הרך באזורינו יהיה חריג בעניין זה. עם זאת, מדווח Kasparek (1999) כי תופעה זו הפכה לגורם משמעותי בשנים האחרונות, משמע, נעשתה חמורה יותר מבעבר. מובן שלכך יכולה להיות השפעה מרחיקת לכת של התמעטות כמות הצעירים.

בנסיון לבחון טענה זו, חיפשתי אחר נתונים של טריפת קינים בעשרות השנים האחרונות, אולם מצאתי מידע מועט, רובו מהשנים האחרונות, ואשר ביכולתו לספק רק תמונה חלקית מאוד על המצב (טבלה 18).

טבלה 18: נתונים אחדים של שיעור טריפת קינים באתרי הטלה שונים של הצב הרך *T. triunguis*.

שנה	אתר	מס' קינים	מספר קינים שנטרפו	% קינים שנטרפו	הערות	מקור
1981	נ.אלכסנדר	12	--- (נתון לא ידוע)	---	(לא בטוח שזה המספר המלא)	הצבי ואשכנזי, 1981
1982	נ.אלכסנדר	30	כנראה אף טריפה	0		בוסקילה, 1982
1995	נ.אלכסנדר	39	---	---		שי, 2002
1999	נ.אלכסנדר	24	---	---		
2000	נ.אלכסנדר	34	19	56		אמיר, 2000
2001	נ.אלכסנדר	57	כולם!	100		אמיר, 2002
2002	נ.אלכסנדר	24	3	13	הקינים הועתקו לחוות קינים	אמיר, 2002
2002	Sulphurous Lake, Muğla Turkey	22	8	36		Gidis & Kaska, 2004
2003	נ.אלכסנדר	28	0	---	הקינים הועתקו לחוות קינים	כהן, 2004
2004	נ.אלכסנדר	13	7	54	הוגנו	מחקר זה
2004	החולה	46	11	24	הועתקו למדגרה	אורון וחובריה, 2004
2005	נ.אלכסנדר	29-32	12-16	41-50	הוגנו	מחקר זה
2005	החולה	36	2	5	הועתקו למדגרה	אורון וחובריה, 2005

הטורף העיקרי בנחל אלכסנדר הם שועלים (*Vulpes vulpes*) ונמיות (*Herpestes ichneumon*) (אמיר, 2002), בחולה בעיקר נמיות (אורון וחובריה, 2004), וב- Sulphurous Lake, Turkey, כלבי פרא וסמורים (*Mustela nivalis*) (Gidis & Kaska, 2004). בסך הכל, אם להתייחס לתחום של 20-30 השנים האחרונות, אינני רואה סיבה לחשוב ששיעור הטריפה של קינים גדל באופן משמעותי. אזור נחל אלכסנדר היה ועודנו אזור חקלאי, בו צפויה להיות אוכלוסיית שועלים גדולה (עמית דולב, מידע בע"פ). בהתייחס לכמות הלולים הנטושים הנמצאים באזור הנחל, נראה שכמות פגרי העופות בסביבה דווקא קטנה, וכך גם האטרקטיביות לשועלים. ואולם, כפי שניתן להתרשם מכמות הנתונים, הרי שהמעקב אחר הטלות הצב הרך נעשה אינטנסיבי יותר בעשור האחרון, ונתוני הטריפה אכן נראים מדאיגים. ראוי לחזור בהקשר זה להערכתם של Gibbs & Amato (2000), על יחס בין בוגרים לבין צעירים וביצים, אשר יכול להגיע מ- 1:10 עד 1:1000. כלומר,

אוכלוסיה בריאה בת 100 בוגרים, יכולה להעיד על 1000 עד 100,000 ביצים וצעירים! ברור, עם כל הצער, כי כל אותם ביצים וצעירים שאינם מגיעים לבגרות צריכים להיאכל על ידי מישהו...
לסיכום נושא זה, למרות שהנתונים אינם מאפשרים מסקנה ברורה, הרי תחושתי היא שלא קיימת התגברות משמעותית של תופעת טריפת קינים, אשר בעטיה יש התמעטות של פרטים צעירים.

5.1.2.3. חוסר פוריות ביצים, ואי בקיעת קינים שלמים, כגורמים למיעוט פרטים צעירים

תופעות של חוסר פוריות ביצים, ואי בקיעת קינים שלמים, מדווחות בשנים האחרונות בקיני נחל אלכסנדר (אמיר, 2002, כהן, 2004, שי, 2002), ובמידה והן שכיחות, הן בהחלט מעוררות דאגה. עם זאת, מהתבוננות בנתוני הקינים של השנים האחרונות (טבלה 19) ניתן להתרשם כי תופעה זו איננה שכיחה.

טבלה 19 : מועד ההטלה ומספר הביצים בקינים שלא בקעו.

מועד הטלה	מס' ביצים	מקור
מאי 2004	18	מחקר זה
יוני 2005	2	מחקר זה
יוני 2005	8	מחקר זה

מהנתונים המוצגים בעבודה זו, מסתמן קשר אפשרי בין קינים לא פוריים, לבין מיעוט ביצים, וקשר זה ראוי למחקר נוסף. ואולם בהקשר זה, ראוי להזכיר את דיווחו של מנדלסון (1989b), כי בגן הזואולוגי בתל אביב היתה נקבה שנהגה להטיל 4 פעמים מדי שנה, וביצי התטולה הראשונה היו תמיד לא פוריות.
Leshem et al. (1991) מדווחים כי קינים בטמפרטורה נמוכה מ- 24C° אינם מגיעים לבקיעה, והדבר אופייני לקינים של תחילת העונה. מדיווחים אלה עולה האפשרות שהקינים הלא פוריים המתגלים, הם קינים שהוטלו בתחילת העונה, וכי הם אינם מעידים על פתולוגיה כלשהי, אלא מהווים חלק ממבנה נורמלי של האוכלוסייה.
לסיכום נושא זה, אני מעז לשער כי החששות מתופעה של חוסר צעירים בנחל אלכסנדר אינם בעלי בסיס מוצק. ואולם, אם קיימים פרטים צעירים בנחל, מתחדדת השאלה מדוע אין רואים אותם.

5.1.2.4. היכן מסתתרים הצעירים?

שמוליק וייס (ע"פ חכם, 1989), דייג וותיק ממכמורת, מספר כי בעבר, כאשר נהג לראות פרטים צעירים, הם היו תמיד מרוכזים בנפרד מהבוגרים, במורד הנחל או במעלהו, וכי לעיתים ראה התנהגות תוקפנית של בוגרים כלפי צעירים. שי (2002), מציין את התנהגותם האגרסיבית של הצבים הרכים הבוגרים, ומעלה השערה כי היא מהווה גורם להיבדלות של הצעירים מריכוזים של פרטים בוגרים. גם מנדלסון (1981) מדווח על התנהגות אגרסיבית, סוליטארית וטריטוריאלית של הצב הרך. הוא מתאר כי בערך מגיל שנתיים מתחילות מלחמות בין הפרטים, אשר מסתיימות בפציעות, ולדעתו האגרסיביות התוך מינית אצל הצב הרך היא גורם כה משמעותי, עד כי הוא רואה אותה כגורם, שהביא להאטה משמעותית בגדילה של פרטים צעירים בגן הזואולוגי. ראוי לציין כי בגני חיות רבים נוהגים להחזיק את הצבים הרכים שברשותם במיכלי

מים נפרדים (Krause et al., 1999). עדויות אלה יוצרות כולן תמונה ברורה, לפיה לא ימצאו פרטים צעירים בחברת פרטים בוגרים. מכאן ברור מדוע אין נצפים פרטים צעירים באזור גשר הצבים של נחל אלכסנדר, אתר המהווה, למעשה, תחנת האכלה, ומרכז כמות גדולה של פרטים בוגרים.

במחקר זה, ערכתי את רוב התצפיות, ואת רוב הספירות לחישוב mark-resight, בגשר הצבים. לכאורה זהו אתר אידיאלי למטרה זו, בספקו שפע תצפיות "טובות", של פרטים רבים בכל פעם, הנצפים בבירור ולמשך זמן ארוך. בניגוד לכך, סיור אחיד לאורך אפיק הנחל, נותן תוצאות דלות, לעיתים ללא כל תצפיות בצבים, או במקרה הטוב - תצפית בפרטים בודדים. גם הפרטים שכן נצפים לאורך הנחל, נראים בדרך כלל ממרחק גדול (יחסית לגשר הצבים, שם התצפית היא ממרחק 10 מ'), לעיתים למשך שניות ספורות בלבד, כאשר הסימון, אותו הצמדתי לחלק האחורי של הקרפס, בדרך כלל איננו ניתן לאבחנה.

עיון במסמכי הארכיון של רשות הטבע והגנים, המכיל חומר רב על ההיסטוריה של מחקר הצב הרך בישראל, מעלה כי גם חוקרים בעבר העדיפו לקיים את תצפיותיהם בתחנת ההאכלה שבגשר הצבים, למשל הערכת גודל האוכלוסייה שבוצעה על ידי שי (1991), בוצעה בגשר הצבים, או אילני (1973) שצפה מסירה והגיע למסקנה שזוהי שיטה לא יעילה.

מנדלסון (1988) מדווח, כי הוא חדל לראות פרטים צעירים בנחל, מעת שהחל הזיהום הכימי, ולכן רואה בו את הגורם להיעלמות הצעירים. יתכן כי אכן קשר זה קיים. אולם לי יש חשד כי בשנות ה- 60 התבססה תחנת ההאכלה ב"גשר הצבים", וכי מאותה עת עברו רוב התצפיות להתקיים מהגשר. אני סבור, כי מרגע שהחלו התצפיות להתקיים במקום בו יש רק בוגרים, ואחוז זעום של צעירים, פסקו התצפיות בצעירים. לחיזוק סברה זו, מיפיתי את הפרטים בהם צפיתי במהלך המחקר לפי גודלם, והמקום בו נצפו.

מתוך 500 צבים שנצפו בסך הכל במהלך המחקר, 29 בלבד נצפו במרחק גדול מ- ½ ק"מ מגשר הצבים. מתוך פרטים אלה, 3 היו בגודל בלתי מזוהה. מבין ה- 26 הנותרים, היו 14 בגודל קטן ובינוני (עד 60 ס"מ), ו- 12 גדולים עד ענקיים! משמע: 54% קטנים עד בינוניים, וזאת לעומת 29% בכלל המחקר. חשוב להדגיש כי לנתון זה אין תוקף סטטיסטי, מאחר ולא ביצעתי תצפיות מסודרות לאורך הנחל, למעט לצורך מעקב אחר פרטים ממושדרים. ואולם, מספר דיווחים שהועברו אלי בדבר פרטים קטנים שנצפו בנחל אלכסנדר, היו כמעט באופן מוחלט הרחק מגשר הצבים. נחל אלכסנדר הוא האתר היחיד בארץ בו התצפיות בצבים רכים אינן מפוזרות באופן אקראי במרחב, אלה מרוכזות בנקודה אחת. עם זאת, באתרים אחרים בארץ בהם נצפים צבים רכים, לא ידוע על בעיה של חוסר פרטים צעירים, והתצפיות האקראיות (והנדירות) הן בצבים בכל הגדלים. כך המצב בעין אפק ובנעמן, בנחל תנינים (יפתח סיני, מידע בע"פ), ואפילו בירקון (מליחי, 2005) ובקישון (יפתח סיני, מידע בע"פ), אשר סבלו מזיהומים קשים במשך שנים רבות.

השוואה למצב בתורכיה מחזקת את ההשערה כי צבים צעירים פשוט מתרחקים מהבוגרים: בנהר Seyhan, בו התצפיות מקריות ונדירות יחסית, ולכן גם רוב הדיווחים מגיעים מדייגים, נמסר על פרטים בכל הגדלים (MEDASSET, 2000). לעומת זאת באגם התרמי סולפורוס, שבדלמן, מוגלה (Sulphurous Lake, Muğla), כן מוכרת הבעיה של חוסר פרטים צעירים (Gidis & Kaska 2004, מידע בע"פ). אתר זה הוא פופולרי ביותר לתצפית ומחקר של צבים רכים, מאחר והוא נוח מאוד, וכמו ב"גשר הצבים" שבנחל אלכסנדר, גם שם ניתן בכל עת לצפות בפרטים רבים. גם שם מוצבת מרפסת תצפית לרווחת המטיילים, והצבים מואכלים באופן קבוע, בעיקר בלחם. בתצפית שערכתי באתר זה בסתיו 2005, ספרתי כ- 40 פרטים, בינהם אף לא צעיר אחד. שם, בניגוד למבנה האוכלוסייה בנחל אלכסנדר, רוב הפרטים הם בגודל בינוני (איור 21). אולם למרות העדרותם של פרטים קטנים מהאוכלוסייה המוכרת בדלמן, הרי קיומם של פרטים רבים בגודל בינוני מעיד באופן חד משמעי על קיומם של צעירים המצטרפים לאוכלוסיה. אני סבור כי גם באגם סולפור שבדלמן, כמו בנחל אלכסנדר, הבעיה היא שכל התצפיות נערכות בתחנת ההאכלה, ואולם הפרטים הצעירים נעדרים ממנה. אתר נוסף בסביבת דלמן בו מוכרת אוכלוסיית צבים רכים, אולם לא מתקיימת בו האכלה מסודרת,

הוא הנהר Dalyan. באתר זה ביצעתי סיור בסירה במשך כשעתיים, אולם למעט גוייה של צב אחד בוגר, לא ראיתי אף פרט.

לסיכום נושא זה, השערתי היא שצבים רכים צעירים אינם "מסתתרים" באתר מסוים, אלא שכמו הבוגרים, הם מצויים בכל רחבי נחל אלכסנדר. ההבדל היחיד הוא שבניגוד לבוגרים, הנוטים להתרכז בתחנת ההאכלה שבגשר הצבים, הרי שהצעירים מתרחקים משם. לבדיקת השערה זו דרוש סקר שיתבצע לאורך ערוץ נחל אלכסנדר, מהגדה או תוך שייט בסירה, ואשר יבדוק את שיעור הפרטים הקטנים מתוך סך הפרטים שייצפו לאורך הנחל, שלא בקרבת גשר הצבים.

5.1.3. מבנה האוכלוסייה – זוויגים

בנושא זה, לא הגעתי במסגרת מחקר זה לכדי נתונים על מבנה הזוויגים באוכלוסיה, אלא עיקר העבודה היתה בנסיון למצוא דרך לאבחנה בין הזויגים. Atatür (1979) מתאר אבחנה על פי החריגה של הזנב אל מעבר לקרפס. במסגרת הבדיקות המורפולוגיות שהתבצעו במחקר זה, התכוונתי ליישם אבחנה זו באמצעות מדידת אורך הזנב בחלק שאמור להראות ווריאביליות בין זוויגית - הקטע שמהפלסטרון עד לקלואקה. לפי Atatür (1979), קטע זה ארוך יותר אצל זכרים, שזנבם חורג אל מעבר לשולי הקרפס, ואילו אצל נקבות, הזנב מכוסה כולו על ידי הקרפס. אבחנה זו תואמת את הידוע בצבים אחרים, בפרט צבי ים (Wyneken, 2001). אולם במסגרת מחקר זה, לא הוכיח עצמו אורך הזנב כמדד לאבחנה בין זוויגים, ולמעשה לא מצאתי דרך יעילה להבחין בין הזוויגים. במסמכי רשות הטבע והגנים, בדוחות של תצפיות והעתקות, מתוארים פרטים רבים כזכרים או כנקבות, אולם לא ברור באיזו שיטה אובחן הזוויג. דיווח של גיורא אילני (1988), מתאר תמונת צב רך המצולם כשהוא שוחה במים, והוא מזהה אותו "ללא כל ספק" כזכר, על פי עובי הצוואר. ייתכן שזהו מדד יעיל, אולם הוא לא נבדק במחקר זה, וכן לא מצאתי מקורות נוספים לשיטת אבחנה זו. יתכן כי כיוון אפשרי לחיפוש של פרמטר יעיל לאבחנה בין זויגית הוא בצב הרך האסייתי (*Pelodiscus sinensis*). מין זה הוא בעל דמיון מורפולגי ל- *T. triunguis*, ובמזרח הרחוק הוא מגודל באופן מסחרי בחוות רביה. שם יש מן הסתם ידע מעשי רב בתחום זה.

5.2. רביה

למרות גודלו המרשים ונוכחותו המשמעותית באקולוגיה של בית גידולו, *T. triunguis* נחקר עד כה מעט מאוד. ייתכן ואחת הסיבות לכך היא הקושי הרב לצפות בו ולחקור אותו: במועדים ובאתרים מסוימים יוצא הצב הרך אל האור, שם הוא חשוף לעין כל, ואילו רוב הזמן הוא שרוי תחת מעטה העכירות המוחלטת של מי הנחל הברקיים (brackish), שם הוא מנהל חיים סודיים עליהם לא ידוע כמעט דבר. *T. triunguis* אוכל במים, מזדווג במים, ואפילו (באופן חלקי), נושם במים. אולם על מנת להתרבות, חייב הוא לצאת החוצה, ולהטיל את ביציו ככל הצבים- בקרקע היבשה. אי לכך, תחום הרביה הוא (יחסית) פשוט יותר למחקר, וניתן בקלות יחסית לאסוף מידע על חלק זה באקולוגיה של מין ייחודי זה.

במסגרת מחקר זה בוצע מעקב אחר הרביה של *T. triunguis* בשתי עונות עוקבות, בשנים 2004-2005. בוצע מעקב אחר הטלות, מעקב אחר הקינים, ולבסוף מעקב אחר בקיעת הצבונים. מטרת מעקב זה היתה לשפר

את הבנתנו בדבר הגורמים המשפיעים על הפוריות בצב הרך, ולאתר את אותם גורמים העשויים לשפר את מידת ההצלחה של רבייתו. תשומת הלב ניתנה למציאת קשר בין נתונים א-ביוטיים של הקן (סוג קרקע, אתר הקינון, עומק התטולה, טמפרטורה ושיעור לחות בקן), לבין נתונים ביוטיים שלו (מועד ההטלה, מספר הביצים בקן, משך הדגירה, שיעור הבקיעה).

5.2.1. השפעות על שיעור הבקיעה

5.2.1.1. השפעת טמפרטורה

הטמפרטורה בקן והשפעותיה על הביצים, היא גורם שנחקר רבות, כולל במין *T. triunguis* (Leshem et al., 1991), אולם רק מעט עבודה נעשתה in situ.

במחקר זה נתגלו הבדלים במספר ניסויים של מדידות טמפרטורה:

1. בין הטמפרטורות בקינים, בין שני אתרים שונים (איור 23א'). הבדל מובהק זה בטמפרטורה בין שני אתרים, בפרט בהיותם קרובים זה לזה גאוגרפית, מבליט את חשיבות תפקידה האבולוציוני של הנקבה בבחירת אתר הקינון.
2. בין הטמפרטורות בקן במהלך העונה (איור 23ב'). תוצאה זו, שהיא צפוייה למדי, מסבירה כנראה את התקצרות משך הדגירה של הביצים, אשר נצפה מתקצר בקינים שהוטלו באחרית העונה, לעומת קינים שהוטלו בראשיתה.
3. בין הטמפרטורה בתוך הקן לבין מחוצה לו, באותו עומק, וכן בינהם לבין הטמפרטורה סמוך לפני הקרקע (עומק 3 ס"מ) (איור 23 ג'-ד'). תוצאות אלה מעידות על המיקרוהביטט שיוצרת נקבת ה- *T. triunguis* עבור ביציה, ואת התנאים הייחודיים השוררים בו.

למרבה הצער, אחד משני הקינים שבינהם בוצעה ההשוואה נטרף, כך שלא ניתן להשוות במישרין בין שיעורי ההצלחה שלהם. עם זאת, מאחר ובאתרים השונים הקינים סמוכים זה לזה, והתנאים הסביבתיים שלהם זהים למדי, ניתן להקיש מכל אחד מהקינים שנמדדו, לגבי כלל הקינים באתר בו הוא נמצא, ולנסות ללמוד מתוך ההבדלים שבין שני האתרים. יתרה מזאת, האתר השלישי שנחקר בעבודה זו, "הדקל", אשר בו לא בוצעה מדידת טמפרטורה, מצוי במרחק של כ- 100 מ' מאתר "חופית", והוא בעל מאפיינים זהים ל"חופית". אי לכך, ניתן להרחיב את הדיון ולהתייחס להשוואה בין טמפרטורת קינים באתרים החוליים, לעומת הטמפרטורה באתר האדמתי. השאלה המעניינת היא שאלת הקשר בין הטמפרטורה לבין שיעור ההצלחה של הקינים. כפי שכבר הוזכר, טמפרטורת האינקובציה של הביצים קשורה קודם כל לשיעור בקיעתן, ובנוסף גם לפרמטרים שונים של התפתחות העובר (Du & Ji, 2003, Leshem et al., 1991). אולם, מאחר ולא ניתן להפריד בין גורם הטמפרטורה, לבין יתר הגורמים הסביבתיים באתרים, יש לדון בנושא תחת הסעיף "השפעת האתר" (5.2.1.3).

5.2.1.2. השפעת הלחות

בכל שלושת האתרים, שיעור הלחות נבדל באופן מובהק בין תחתית הקן לבין חלקו העליון. השוואת שיעור הלחות בכל אחד מהעומקים, בין האתרים השונים, הראתה הבדל מובהק בין אתר "ליד הנחל", לבין האתרים "חופית" ו"הדקל", אשר כאמור, נבדלים בינהם בסוג הקרקע (אדמה כבדה וחול, בהתאמה).
במסמך פנימי של רשות שמורות הטבע, בו מדווח ער על ביקור בנחל אלכסנר של דר' אקרמן, חוקר צבים אמריקני, התפלא מאוד האחרון לראות את אתרי ההטלה החוליים, שנראו לו לכאורה יבשים מדי עבור קינון של צבי מים (ער, 1983).
אולם נתוני מחקר זה מצביעים על כך שגם היבשים שבקיני נחל אלכסנדר, אינם יורדים לרמות הלחות המדווחות כמסוכנות להתפתחות העובר.
כמו במקרה של הטמפרטורה, גם השפעת הלחות על שיעור ההצלחה של הקינים, איננה ניתנת להפרדה משאר גורמי האתר, והיא תידון תחת הסעיף "השפעת האתר" (5.2.1.3).

5.2.1.3. השפעת האתר

השפעת האתר מהווה בעצם כותרת למגוון גדול של פרמטרים, א-ביוטיים בעיקרם, אשר לא בוצעה בינהם אבחנה במסגרת מחקר זה. בינהם ניתן למנות גורמים כגון שיפוע המדרון וכיוונו, מבנה הקרקע, הכולל גורמים כגון סוג הקרקע, צבעה, והרכבה, וכן כיסוי של צומח, ושל גורמי הצללה נוספים. נראה כי ניתן לשער, שמרבית הגורמים הללו משפיעים על הקינים בעיקר דרך השפעה על הטמפרטורה בקן, ועל שיעור הלחות בו. ועם זאת, כאמור, מאחר ובמחקר זה לא נעשה נסיון להפריד בין הגורמים, הרי שנכון ביותר להתייחס להשפעה של כולם בכפיפה אחת. מאחר וכל אחד מהאתרים נראה אחיד בתכונותיו, הרי שניתן לנתח את הקשר שבין "האתר", על מגוון תכונותיו, לבין הנתונים הממוצעים של הקינים באתר. ואולם, למרות הריכוז של נתונים רבים תחת כותרת זו, ולמרות נתונים ממחקרים קודמים המצביעים על השפעה משמעותית של גורמים סביבתיים, במיוחד לחות וטמפרטורה, הרי שלא נראו השפעות כאלה במחקר זה.
עם זאת, המדגם במחקר זה היה מצומצם למדי, ונושא רגיש זה ראוי למחקר נוסף. יתכן שאילו היה מתבצע מעקב אחר הצבונים הבוקעים, לפי פרמטרים הידועים כמושפעים מרמת הלחות והטמפרטורה בקן, היו כן מתגלים הבדלים.

5.2.1.4. השפעת מועד הטלה

במחקר זה החלו ההטלות, בשתי העונות, באמצע – סוף חודש מאי. בשנים קודמות, היו הטלות שהחלו אף בסוף אפריל. ההטלות האחרונות בנחל אלכסנדר, מנתוני השנים 2000 – 2005 (לגבי 2001 חסרים נתונים), הסתיימו עד סוף יוני, או הימים הראשונים של יולי.
בשמורת החולה אותרו הטלות מאמצע מאי, ועד תחילת יולי (אורון וחובריה, 2004, 2005). גם בתורכיה, באגם סולפורוס שבדלמן, דווח לאחרונה (2004) על תחילת הטלות במאי (עם 4 הטלות בחודש זה), כשרוב ההטלות מתרחשות ביוני (36 קינים), והשאר בתחילת יולי (27 קינים) (Gidis & Kaska, 2004). חוקרים אחדים מדווחים כי הקינים בתחילת העונה אינם פוריים. כך מנדלסון (1989b), על הטלות בשביה, ואמיר (2000, 2002), על שיעורי בקיעה נמוכים מאוד בהטלות שהתקיימו בנחל אלכסנדר לפני אמצע מאי (בעונות 2000, 2002), עם זאת, בעונת 2003, מדווח כהן (2004) על שיעורי בקיעה גבוהים (80-90%) ברוב מתוך 15

קינים שהוטלו במאי. מספר מחקרים מראים כי פוריות הביצים עולה עם העליה בטמפרטורה, בתחום של 23-33°C בקירוב (Du & Ji, 2003, Leshem et al., 1991). Leshem et al. (1991) מדווחים גם כי בטמפרטורה נמוכה (24°C), נעצרת התפתחות הביצים לאחר כ- 60 יום. מהאמור לעיל ניתן להקיש כי הטמפרטורה הנמוכה יחסית, המאפיינת את תחילת עונת ההטלה ב- *T. triunguis* (אפריל- מאי), מהווה גורם לפוריות נמוכה של הביצים בתטולות של תחילת העונה, לעומת אלו של המשך העונה. למרות זאת, במחקר זה לא נתגלה קשר בין מועד ההטלה לבין שיעור פוריות הביצים. ייתכן וקשורה לכך העובדה שבשתי העונות שנחקרו, היו ההטלות הראשונות מאוחרות יחסית, באמצע מאי, זאת לעומת עונות אחרות בהן ההטלות מתחילות, כאמור, אפילו באמצע אפריל. השמרנות והעקביות שמראות נקבות הצב הרך במועד ההטלה, מרמזות אולי על הצורך להמתין לעליית הטמפרטורה, מה שתואם את מוצאו הטרופי של מין זה. מעניין בהקשר זה, שלפחות מתוך הנתונים המצומצמים של עונה אחת, אשר הצגתי כאן לגבי תורכיה, ניתן להתרשם מגרדיאנט (לכאורה) של איחור במועד ההטלה, עם המעבר צפונה (ישראל לעומת תורכיה).

5.2.1.5. השפעת עומק התטולה

ידוע כי למיקום הקן השפעה רבה על שיעור הבקיעה בו, ומכך כי לבחירת מיקום ההטלה, על ידי הנקבה המטילה, חשיבות אבולוציונית רבה (Morjan, 2003). באותו אופן, צפויה השפעה גם לעומק התטולה, בהיותו בעל השפעה ישירה על הטמפרטורה והלחות בקן. הנתונים שנאספו במחקר זה על עומק הקינים (עומק ביצה עליונה ועומק ביצה תחתונה), הם בעלי שונות נמוכה, ודומים לנתונים שנאספו באגם סולפורוס בתורכיה (Gidis & Kaska, 2004). נתונים שנאספו בשמורת החולה, מראים כי הקינים שם רדודים יותר, ועומק הביצה התחתונה עומד על כ- 26 ס״מ, לעומת 34 ס״מ בנחל אלכסנדר ובאגם סולפורוס. יתכן והדבר נובע משוני בסוגי הקרקע: שהקרקע שם קשה לחפירה, או שהנקבות מזהות את התנאים בתוך הקן, כמספיקים כבר בעומק רדוד יחסית.

מנתוני מחקר זה עולה כי עומק החלק העליון של הקן (״עומק ביצה עליונה״) עומד ביחס הפוך לשיעור הביצים שבקעו ($r=-0.566, N=13, p<0.05$). הדבר עשוי להעיד על רגישות גבוהה של החלק העליון בקן למשתני הסביבה (בפרט טמפרטורה ולחות). כמו כן, נתגלה מתאם חיובי חזק בין עומק הביצה התחתונה לבין מספר הביצים בקן ($r=0.814, N=10, p<0.005$), מה שרומז כי ככל שמספר הביצים גדול יותר, חופרת הנקבה את הקן עמוק יותר בקרקע, כך שעומק הביצים שבחלק העליון של הקן אינו קטן. עם זאת, בניגוד לקשר זה, קיים גם מתאם בין עומק הביצה העליונה לעומק הביצה התחתונה ($r=0.647, N=13, p<0.05$). אולם, קשר זה הוא חלש יותר, ונראה שהוא מבטא את ההשפעה נטו של עומק הקן על עומק הביצים, בלי לסתור את ההשערה שהנקבה חופרת עמוק יותר ככל שמספר הביצים גדול יותר.

5.2.1.6. השפעת סוג הקרקע

גם סוג הקרקע, במחקר זה, לא הראה השפעה מובהקת על הפרמטרים השונים של הצלחת הקן. אולם ההבדלים בממוצעים הם גדולים מאוד, וייתכן שמעקב מפורט in situ, במשך מספר שנים, יאפשר מדגם

גדול מספיק, שיוכל להראות תוצאות מובהקות. כפי שמשתמע לכאורה מתוצאות מחקר זה, הקינים באדמה הכבדה מצליחים יותר, עם ממוצע שיעור בקיעה של 44±19, לעומת 30±9 בקרקע החולית.

5.2.2. סיכום

תוצאות פרק זה אינן מראות קשר בין המשתנים הא-ביוטיים, לבין שיעור הצלחת הקינים. חוסר קשר זה יכול להיות ארטיפקט שקשור לכמות נתונים בלתי מספקת, אולם הוא עשוי גם להיות תוצאה אמיתית. אפשרות זו היא מעניינת במיוחד, לאור השינויים באתרי ההטלה בנחל אלכסנדר: מעקב אחר ההטלות בשנים האחרונות, הראה לעיתים הפסקה של ההטלות באתר מסוים (למשל אתר "סמרה" ואתר מעברות), ומעבר להטלה באתרים אחרים, ובפרט באתרים שהוכשרו לכך בידי רשות הטבע והגנים. עובדה זו מעידה לכאורה על חוסר נאמנות של נקבות הצב הרך לאתר ההטלה (בניגוד, למשל, לצבי ים), ומעלה את החשד שהנתונים הא-ביוטיים הם טובים מספיק "בכל מקרה", בפרט תוך הקפדה של הצבה על מספר כללים. ריכוז ההטלות באתרים אותם מכשירה רשות הטבע והגנים באמצעות חישוף השטח מצמחיה, יכול להעיד על אחד הכללים, והוא הטלה בשמש ולא בצל.

בתחום ההשפעה של תנאי הסביבה על הפוריות בצב הרך הגיע מחקר זה לתוצאות ראשוניות בלבד. אולם הגידור האיכותי של אתרי ההטלה, והאפשרות הבטוחה להשאיר את הקינים באתר, פותחים את הפתח לפעילות רבת שנים של איסוף נתונים איכותיים, אשר יאפשרו לימוד מעמיק של נושא זה - in situ.

5.3. *גנטיקה*

כאמור במבוא, מדווחים Johns & Avise (1998) כי ה- Cytochrome b היווה באותה עת את הסמן הנפוץ ביותר לחקר שונות גנטית. הוא אינפורמטיבי (מבחינה פילוגנטית), ואינו מועד להשפעה משמעותית של סטורציה, או התרבות התמרת (substitution) נוקלאוטידים. מעבר לזאת, התוצאות של רצפי Cytochrome b ב- mtDNA, מחזקות את הידע שהיה קיים כבר לגבי קבוצות חולייתנים, באמצעות אלוזימים. Krenz et al. (2005) מדווחים על האינפורמטיביות הגדולה של Cytochrome b, אשר במחקרים רבים נמצא יעיל ביותר. למשל אצל Shaffer et al. (1997, ע"פ Krenz et al., 2005) היה Cytochrome b אינפורמטיבי לפילוגנזה, פי 8 יותר ממורפולוגיה, פי 4 יותר מ- rDNA (ריבוזומאלי), וכן יותר אינפורמטיבי מ- RAG-1 (גן ב- DNA הגרעיני). כמו כן, מדווח Austin (2000), כי Cytochrome b התברר ככלי יעיל למציאת שונות בזוחלים.

שיעור הזהות ברצף ה- Cytochrome b, בין פרטים של *T. triunguis* מנחל אלכסנדר, לבין פרטים מתורכיה, הוא גבוה מאד ועומד על 99-100% (השוואה מפורטת של הרצפים מופיעה בנספח 7.1).

מתוך האתרים הפולימורפיים, 14 מעידים לכאורה על מוטציות indel (13 insertions, 1 deletion) ו- 2 על point mutation, שכל אחת מהן כוללת רצף של 3 בסיסים. בגן מקודד חלבון צפוי שמרבית המוטציות תהיינה synonymous mutations, אשר אינן גורמות לשינוי בהרכב חומצת האמינו (Austin, 2000). מוטציות indel, של בסיס או שניים גורמות ל- frame shift ומשנות את מבנה החלבון מנקודה זו ואילך,

ולכן שיעור גבוה של מוטציות כאלו איננו סביר , והוא גם אינו עומד בקנה אחד עם תוצאות מחקרים אחרים (למשל Austin, 2000 בנחשים, Randi et al., 2001 בעופות, Glenn et al., 2002 בקרוקודילים). במחקרים אחרים (למשל Engstrom et al., 2004, Avise et al. 1992), קיומה לכאורה של אפילו מוטציית indel אחת, גרמה לפסילה של הרצף. גם שני האתרים הפולימורפים הנוספים, בהם מופיע רצף של שלושה SNP, יתכן שנובע מרעש בתהליך הריצוף, ולא ממוטציה אמיתית. ניתוח זה מותיר את כל 17 הרצפים של *T. triunguis* ממחקר זה, בצירוף הפרט האפריקני, בזהות מוחלטת (100.0%) של רצף ה-Cytochrome b.

ראוי לציין כי קיימת גם אפשרות שהרעש בריצוף אינו מהווה ארטיפקט, אלא נובע מהטרופלסמיות - ריבוי הפלוטיפים של ה- mtDNA (במקטע הנבדק- Cytochrome b). אולם, לא מצאתי רמזים להטרופלסמיות אצל צבים (Avise et al., 1992, מזכירים הטרופלסמיות ביחס למינים אחרים שסקרו במאמרם, אולם אינם מזכירים צבים המגלים תופעה זו).

קיים גם חשש, שמוטציות ה- indel מעידות על כך שהרצף שבודדתי איננו הגן האמיתי מהמיטוכונדריה, אלא פסאודו גן – מקטע שעבר טרנסלוקציה לגרעין. אולם חשש זה אינו סביר, מאחר והרצף שבודדתי זהה לרצף ה- Cytochrome b ממחקרם של Engstrom et al. (2004), אשר וידאו בשיטות שונות שאין המדובר בפסאודו-גן : בכל מקרה של גילוי indel בוצעה השוואה של המקטע לפסאודו גנים מוכרים, וכן רוצפו כ-2Kbp נוספים מעבר ל- Cytochrome b, הכוללים את הגן ND6, וחלק מאזור הבקרה, והושוו לרצף ה-mtDNA האמיתי הצפוי.

למרות הבעיתיות שנתגלתה בבדיקת הרצפים, וגם אם אתייחס לכל ההבדלים שהתקבלו כאל הבדלים אמיתיים, רמת הזהות בין הפרטים במין *T. triunguis*, שנדגמו בשלושה איזורים שונים בעולם (ישראל ותורכיה בעבודה זו וליבריה כפי שנמצא ברצף הפרט המצוי בבנק הגנים) גבוהה במיוחד. ברוב מיני החולייתנים, לא קיים דמיון מוחלט בין הפרטים באוכלוסיה, ועל אחת כמה וכמה בין אוכלוסיות שונות. דמיון רב מאוד, בשיעור המתקרב ל- 100%, הוא תופעה מיוחדת הדורשת התייחסות, והיא יכולה להיות מוסברת על ידי גורמים שונים. להלן אפרט גורמים כאלה, ואדון בכל אחד מהם בהקשר למחקר זה (מבוסס בעיקר על : Glenn et al., 2002, Engstrom et al., 2004) :

1) הלוקוס המיטוכונדרי שנבדק במחקר זה, Cytochrome b, הוא לוקוס שמור במיוחד, המראה שונות נמוכה.

I. בהיותו גן המקודד חלבון חשוב (בשרשרת העברת האלקטרונים שבמיטוכונדריה), ה-Cytochrome b הוא כמובן לוקוס שמור. ואולם מחקרים רבים בגנטיקה של אוכלוסיות עשו שימוש בגן Cytochrome b, וגילו בו שונות ברמות שונות. לאור התוצאות, כדאי כמובן לבדוק את השונות באמצעות מקטע הידוע בווריאביליות רבה יותר, למשל ה- D-loop (control region). מעניין עם זאת לציין בהקשר זה מחקר של שונות בין אוכלוסיות של הצב *Emys marmorata*, בו גילה גן מיטוכונדריאלי אחר (ND4), ווריאביליות רבה יותר מאשר אזור ה-D-Loop (Spinks and Shaffer, 2005).

2) בטעות רוצף מקטע mtDNA אשר עבר טרנסלוקציה לגרעין. בהיותו חלק מה- DNA הגרעיני, צפוי מקטע כזה להיות בעל שיעור נמוך של התמרות, לעומת המקטע המקורי . אולם קיומם של indels בו הוא סביר יותר מאשר בגן אמיתי לחלבון.

I. רוב הדגימות במחקר זה הופקו מדם, שהוא רקמה ענייה יחסית במיטוכונדריות, מה שמגביר את החשש שפסאודו-גן ממקור גרעיני יוגבר ב- PCR. למרות זאת, טעות זו לא נראית סבירה, מאחר ועבור כל פרט במחקר התבצעו שני ריצופים, באמצעות שני פריימרים שונים (מ- 3' ומ- 5'), ושניהם נתנו רצפים זהים (לאחר תיקון) לפרט אפריקני, אשר רוצף במחקר אחר (Engstrom et al., 2004), Engstrom et al. ווידאו כי אין מדובר בפסאודו-גן, כמתואר למעלה.

II. הריבוי לכאורה של מוטציות insertion , איננו סביר ברצף של גן, ועלול להעיד על פסאודו-גן. אולם סביר יותר, בעיקר לאור האיכות הירודה של הרצפים, כי ריבוי ה- insertions הוא ארטיפקט גרידא.

3) מדגם קטן מדי ולא מייצג.

I. תמיד טוב להגדיל את המדגם, ואף יתכן שהרחבת המדגם תגלה הפלוטיפים נוספים. אולם מאחר ובמחקר זה נבדקו פרטים מאזורים גאוגרפיים מרוחקים מאד (2 יבשות שונות), ונמצאו זהים, הרי שגם למול גודל המדגם שבוצע כאן, הסבירות שתתגלה שונות בעלת משמעות ביולוגית רבה היא קטנה.

4) השונות הנמוכה הינה תוצאה של התרחבות גודל האוכלוסייה, לאחר צוואר בקבוק שחל בעת (האבולוציונית) האחרונה.

I. צוואר בקבוק היסטורי הוא גורם פופולרי להסברת שונות גנטית נמוכה, ומהווה טיעון שקשה להפריך אותו. אולם במקרה של *T. triunguis*, נראה הסבר זה בלתי סביר. השונות האפסית התגלתה לא רק בין אוכלוסיות נפרדות (לכאורה) של אגן הים התיכון, אלא גם בין אוכלוסיות הים התיכון לבין פרט מליבריה. מקובל לחשוב שאוכלוסיית הים התיכון קיימת באזור מזה למעלה מ- 5 מליון שנה (Tuna, 1988). ניתן לטעון כי האוכלוסייה באזורינו עברה הכחדה, ואחר כך עברה רה-אינטרודוקציה. אולם טיעון זה נראה דחוק, בפרט לאור רצף של ממצאים פלאונטולוגיים (Tuna, 1988) מחד גיסא, ופרהיסטוריים (ארבל, 1984, חכם, 1989) מאידך גיסא, אשר נותנים תמונה די רציפה של הימצאות *T. triunguis* (או לפחות מין קרוב אליו) באזורינו. להשוואה, ניתן להציג מחקר שנערך באליגטור האמריקני, ודגם 25 פרטים מכל תחום התפוצה שלו (בצפון אמריקה). מחקר זה גילה ב- Cytochrome b פרט אחד בלבד אשר נבדל מההפלוטיפ של כל היתר, וזאת במוטציה שקטה אחת. תוצאות בדיקה של D-loop, הראו 3 הפלוטיפים, על בסיס שונות ב- 2 בסיסים. החוקרים מסבירים שונות נמוכה זו על סמך צוואר בקבוק שחל בסוף הפלייסטוקן – לפני כ- 10K שנים (Glenn et al., 2002).

5) בצב הרך *T. triunguis*, מידת השונות הגנטית ב- mtDNA, או לפחות בגן Cytochrome b, היא נמוכה במידה יוצאת דופן .

I. Avise et al. (1992) מתארים תמונה קולקטיבית של קצב שינוי נמוך ב- mtDNA של צבים, ביחס לחולייתנים אחרים. במחקר זה נסקרו ששה מינים שנחקרו (בינהם אף לא נציג אחד ממשפחת הצבים הרכים), ונבדקה מידת השונות הגנטית שלהם (ב- Cytochrome b) , תוך קורלציה לארוע סביבתי שגרם לפיצול אוכלוסיות. מידת השונות הגנטית באוכלוסיה חושבה

ביחס להערכת הזמן מארוע זה, והתוצאה מתורגמת לקצב האבולוציה המיטוכונדריאלי. כאמור, הוערך קצב השעון המולקולרי ה"רגיל" בחולייתנים, ב- 2% למליון שנה. סדרת מחקרים הנסקרים על ידי(1992) .Avise et al, מציגה תמונה של קצב שינוי איטי יחסית בצבים. עם זאת .Avise et al נזהרים מלהציע "שעון צבי" (turtle clock) אמין לאבולוציה מיטוכונדריאלית, בין היתר עקב חוסר בטחון בתיארוך הארועים הסביבתיים המחוללים את פיצולי האוכלוסיה. ובכל זאת, הם מציעים קצב משוער לאבולוציה של ה- mtDNA בצבים, בשיעור של כ- 0.25% במליון שנה - פי 8 לאט יותר מה"רגיל". המחברים מציעים הסברים פוטנציאליים רבים לתופעה זו, אך גם כאן שומרים על זהירות, ואינם תומכים באף אחד מהם. מעניין לשים לב כי ע"פ קצב זה, הרי שאם ה- *T. triunguis* (או בן משפחתו הקרוב) נמצאים באזורינו מזה 5 מליון שנה, הרי שבקצב של 0.25% לשנה ניתן לצפות לשיעור שונות של 1% בין האוכלוסיות. מספר התואם למדי את התחום 0-3% שנתגלה במחקר זה (3% אם כוללים את כל ההבדלים שנתגלו, 0% אם לא כוללים אף אחד).

ההיפותיזה שמעלים (1992).Avise et al בדבר "אבולוציה איטית בצבים" צברה פופולריות רבה. אולם קיימים גם ממצאים שאינם תומכים בהיפותיזה זו. Weisrock & Janzen (2002) חקרו את השונות הגנטית בלוקוס Cytochrome b של 3 מינים של צבים רכים, השייכים לסוג *Apalone*, אשר *T. triunguis* נחשב לאבי ה- clade שלו (Meylan, 1987). ממחקרים קודמים שביצעו, הם מדווחים מחד גיסא על חוסר שונות באוכלוסיית *A. mutica*, ומאידך גיסא על שונות גבוהה בין אוכלוסיות הן של *A.mutica* והן של *A.spinifera*. במחקר המדובר, אף כי לא נתגלתה שונות בין אוכלוסיות של *A.ferox* (מה שמוסבר בצוואר בקבוק), נתגלתה שונות גבוהה בין אוכלוסיות של *A.mutica* (4% בין אזורים מרוחקים, 1% בין תת אוכלוסיות סמוכות), ובין אוכלוסיות של *A.spinifera* (5.5% בין אזורים מרוחקים, 0.1-0.2% בין אוכלוסיות סמוכות). הם מעלים השערה כי השונות אשר נתגלה ב- *Apalone*, וזאת בשונה ממיני צבים אחרים, נובעת מגילו המבוגר של סוג זה (מעל 65 מליון שנה), הגדול יותר מרוב מיני הצבים האחרים.

6. רשימת מקורות

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D. J. (1997). Gapped LAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402.

Atatür, M.K. (1979). Investigation on the morphology and osteology, biotope and distribution in Anatolia of *T. triunguis* (Reptilia, Testudines), with some observations on its biology (in Turkish, Abstract in English). Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Monograf. Izmir: 1-75.

Austin C.C (2000). Molecular phylogeny and historical biogeography of pacific island boas (Candoia). Copeia (2):341-352.

Avise J. C., Bowen B. W., Lamb T., Meylan A. B. (1992). Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rate in the Testudines. Mol. Biol. Evol. 9(3):457-473.

Ballard J.W.O., Whitlock M.C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. Mol. Ecol. 13:729-744.

Booth D. T. (2002). Incubation of rigid-shelled turtle eggs: do hydric conditions matter? J Comp Physiol [B]. 2002 Oct;172(7):627-33.

Bride, I. (2004). *Trionyx triunguis* in Dalyan and Dalaman (Turkey). Report by MEDASSET to the 24th Meeting of the Standing Committee of the Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats (Bern Convention).

Bury R. B. (1979). Population ecology of freshwater turtles. In: Harless, M. & Morlock, H. (Eds). Turtles perspectives and research. Wiley, New York. pp. 571-602.

Cacalli-Sforza L.I. (1998). The DNA revolution in population genetics. Trends. Genet. 14(2):60-65.

Dawkins, R. (1976). The selfish gene. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.

Doody J.S., Georges A., Young J.E. (2004). Determinants of reproductive success and offspring sex in a turtle with environmental sex determination. Biol. J. Linn. Soc., 81:1–16.

Du W-G., Ji X. (2003). The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. J. of Therm. Biol. 28:279–286.

Eisen, M. B., Spellman, P. T,. Brown, P. O., Botstein, D. (1998). Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:14863-14868.

Engstrom T.N., Shaffer H.B., Mccord W.P. (2004). Multiple data sets, high homoplasy, and the phylogeny of softshell Turtles (Testudines: Trionychidae). Syst. Biol.53(5):693-710.

Ezaz T., Valenzuela., Grützner F., Miura I., Georges A., Burke R.L., Marshall Graves J. A. (2006). An XX/XY sex microchromosome system in a freshwater turtle, *Chelodina longicollis* (Testudines: Chelidae) with genetic sex determination. Chrom. Res. (2006) 14:139–150.

Frankham, R. (1996). Relationship of genetic variation to population size in wildlife. Conserv. Biol. 10(6):1500-1508.

Freedberg S., Wade M. J. (2001). Cultural inheritance as a mechanism for population sex-ratio bias in reptiles. Evolution 55(5):1049-1055

Galois, P., M. Leveille, L. Bouthillier, C. Daigle and S. Parren. (2002). Movement patterns, activity, and home range of the eastern spiny softshell turtle (*Apalone spinifera*) in northern Lake Champlain, Quebec, Vermont. J. Herpetol. 36(3): 402-411.

Gibbons, J.W., Semlitsch, R.D. (1982). Survivorship and Longevity of a Long-Lived Vertebrate Species: How Long do Turtles Live? J. Anim. Ecol. 51(2): 523-527.

Gibbs, J. P. & Amato, G. D. (2000). Genetics and demography in turtle conservation. In: Klemens M. W. (ed.) Turtle Conservation, Smithsonian Institution Press, Washington, DC. pp. 207-218

Gibbs, J. P., Steen, D. A. (2005). Trends in sex ratios of turtles in the United States: Implications of road mortality. Conserv. Biol. 9(2):552-556.

Gidis, M. & Kaska, Y. (2004). Population size, reproductive ecology and heavy metal levels in eggshells of the Nile Soft Shelled turtle (*Trionyx triunguis*) around thermal Lake Kukurtlu (Sulphorous), Mugla-Turkey. Fres. Envir. Bull. 13(5): 405-412.

Glenn, T.C., Staton, J.L., Vu, A.T., Davis, L.M., Alvarado Bremer J.R., Rhodes W.E., Brisbin I.L.Jr., Sawyer R.H. (2002). Low mitochondrial DNA variation among American alligators and a novel non-coding region in crocodilians. J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.) 294:312–324.

Gramentz, D. (2005). Die NilWeichschildkrote *Trionyx triunguis*, Chimaria Buchhandelsgesellschaft mbH, Frankfort (in German).

Greenbaum E., Carr J.L (2001). Sexual differentiation in the spiny softshell turtle (*Apalone spinifera*), a species with genetic sex determination, J. Exp. Zool. 1;290(2):190-200.

Heard, D. (Ed.) (2001). Zoological restraint and Anesthesia. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY (www.ivis.org).

Ji X., Chen F., Du W.G., Chen, H.L. (2003). Incubation temperature affects hatchling growth but not sexual phenotype in the Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis* (Trionychidae), J. Zool. Lond. 261, 409–416.

Johns G.C., Avise J.C. (1998). A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. Mol. Biol. Evol. 15(11):1481–1490.

Kasparek M., Kinzelbach R. (1991). Distribution and bionomics of the Nile Soft-Shelled Turtle, *Trionyx triunguis*, in the Eastern Mediterranean. – Zeitschrift für angewandte Zoologie 78(2): 137–159.

Kasparek, M. (1999). An assessment on the status of the Nile Soft-shelled Turtle (*Trionyx triunguis*) in Turkey with recommendations for conservation. Testudo, 5(1): 40-52.

Kasparek M. (2001). Priorities for the conservation of the Nile Soft Shelled turtle, *Trionyx triunguis*, in the Mediterranean, Testudo 5(3): 45-49.

Keller M. (2005). The Nile Soft-shelled Turtle *Trionyx triunguis* in Turkey, an overview. Prepared on behalf of the Aktionsgemeinschaft Artenschutz e.V. (AgA), Tulpenstrasse 1, 70825 Korntal-Münchungen, Germany.

Krause M.A., Burghardt G.M., Lentini A. (1999). Object provisioning for Nile Soft-Shelled Turtles (*Trionyx triunguis*). Lab Animal 28(7):38-41.

Krenz, J.G., Naylor, G.J.P., ShaVerb, H.B., Janzen, F.J. (2005). Molecular phylogenetics and evolution of turtles. Mol. Phylogenet. Evol. 37: 178–191.

Kuchling G. (1999). The Reproductive Biology of the Chelonia, Springer – Verlag, Berlin, pp.150-155

Kumar S., Tamura K., Nei M. (2004). MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Brief. Bioinform. 5:150-163.

Leshem A, Dmi'el R. (1986). Water loss from *Trionyx triunguis* eggs incubating in natural nests. Herpetol. J. 1:115-117.

Leshem A., Ar A., Ackerman R. A. (1991). Growth, water, and energy metabolism of the soft-shelled turtle (*Trionyx triunguis*) embryo: effevts of temperature. Physio. Zool. 64(2):568-594.

MEDASSET (2000). Status of the Nile Soft-shelled Turtle, *Trionyx triunguis*, in Turkey. An assessment in the Çukurova Delta. 6p.

Meylan, P. A. (1987). Phylogenetic relationships of soft-shelled turtles. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 186:1-101.

Miller K., Packard G. C., Packard M.J. (1987). Hydric conditions during incubation influence locomotor performance of hatchling Snapping Turtles. F.Exp.Biol. 127:401-412.

Moll, D. & Moll E. O. (2004a). Traditional exploitation methods, efficiency, and consequences for river turtles. In: Moll, D. & Moll E. O (Eds). The Ecology, Exploitation, and Conservation of River Turtles, Oxford University press, NY. pp. 151-167.

Moll, D. & Moll E. O. (2004b). Conservation, management and rehabilitation. In: Moll, D. & Moll E. O (Eds). The Ecology, exploitation, and conservation of river turtles, Oxford University press, NY. pp. 264-328.

Moll, D. & Moll E. O. (2004c). River turtle diversity adaptations, and roles in the river ecosystem. In: Moll, D. & Moll E. O (Eds). The ecology, exploitation, and conservation of River Turtles, Oxford University press, NY. pp. 77-82.

Moll, E. D. (1979). Reproduction and development. In: Harless, M. & Morlock, H. (Eds). Turtles perspectives and research, Wiley, New York. . pp. 305-331.

Montgomery M. E., Woodworth L. M., Nurthen R. K., Gilligan D. M., Briscoe D. A. and Frankham R. (2004). Relationships between population size and loss of genetic diversity: comparisons of experimental results with theoretical predictions. Conserv. Genet. 1(1): 33-43.

Morjan C. L. (2003). How rapidly can maternal behavior affecting primary sex ratio evolve in a reptile with environmental sex determination? Am Nat. 162(2):205-19.

O'brien S. J. (1994). A role for molecular genetics in biological conservation. Proc. Nati. Acad. Sci. USA 91:5748-5755.

Plummer, M. V. (1979). Collecting and Marking. In: Harless, M. & Morlock, H. (Eds). Turtles perspectives and research, Wiley, New York. pp.45-60.

Polisar J. (1996). Reproduction biology of a flood season nesting freshwater turtle of the northern neotropics: *Deratemys mawii* in Belize. Chel. Cons. Biol. 2(1)13-25.

Pough, F.H., Andrews, R.M., Cadle, J.E., Crump, M.L., Savitzky, A.H., & Wells, K.D. (1998). Herpetology. Prentice-Hall. NJ.

Prassack, S. L. Bagatto, B. & Henry R. P. (2001). Effects of temperature and aquatic P(O2) on the physiology and behaviour of *Apalone ferox* and *Chrysemys picta*. J. Exp. Biol.204: 2185-95.

Randi E, Lucchini V, Hennache A, Kimball RT, Braun EL, Ligon JD (2001). Evolution of the mitochondrial DNA control-region and cytochrome b genes, and the inference of phylogenetic relationships in the avian genus Lophura (Galliformes). Mol. Phyl.Evol. 19: 187–201.

Sato H, Ota H. (2001). Karyotype of the Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*, from Japan and Taiwan, with chromosomal data for *Dogania subplana*. Curr Herpetol 20: 19-25.

Shine R., M. J. Elphick, S. Donnellan (2002). Co-occurrence of multiple, supposedly incompatible modes of sex determination in a lizard population. Ecol. Lett. 5:486-489.

Spinks P.Q., Shaffer H.B. (2005). Range-wide molecular analysis of the western pond turtle (*Emys marmorata*): cryptic variation, isolation by distance, and their conservation implications. Mol. Ecol. 14:2047–2064.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F.,Higgins, D. G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res. 24:4876-4882.

Tuna V. (1988). The remains of a fossil Soft-shelled Turtle (*Trionyx*) from the Bayraktepe area (Turkey). Zool. Middle East. 2: 63-67.

Weisrock, D.W., Janzen, F.J. (2000). Comparative molecular phylogeography of North American Softshell Turtles (Apalone): implication for regional and wide-scale historical evolutionary forces. Mol. Phylogenet. Evol. 14 (1): 152-164

Wyneken, J. (2001). The anatomy of sea turtles. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. 1-172 pp.

אורון, ט., מלכה, י., סיני, י. (2004). פרויקט הצב הרך בעונת ההטלה 2004, סיכום פעילות במחוז צפון, מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

אורון, ט., מלכה, י., סיני, י. (2005). פרויקט הצב הרך בעונת ההטלה 2005, סיכום פעילות שמורת החולה, מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

אייל, י. (1981). הצבת מלכודות לצבים צעירים – דו"ח פנימי, רשות שמורות הטבע.

אייל, י. (1983a). מזכר פנימי, רשות שמורות הטבע.

אייל, י. (1983b). סיור בנחל אלכסנדר, 12-3-1983 (יורם איל, ג. גפני, אריה קלר). דוח פנימי, רשות שמורות הטבע.

אייל, י., גזית, א. (1983). אקולוגיה של הצב הרך בנחל אלכסנדר : דוח ביניים.

אילני, ג. (1973). כיצד ניצלו (אולי) הצבים הרכים, טבע וארץ, טו (6) : 305.

אילני, ג. (1988). מדור תצפיות מהשטח, טבע וארץ, ל (7) : 43.

אמיר, ר. (2000). עידוד רביית הצב הרך בנחל אלכסנדר – קיץ 2000. מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

אמיר, ר. (2002). עידוד רביית הצב הרך בנחל אלכסנדר – קיץ 2002. מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

ארבל, א. (1973). טבע וארץ, טו (2) : 75-76.

ארבל, א. (1984). זוחלים ודו חיים. החי והצומח של ארץ ישראל, אנציקלופדיה שימושית מאוירת. כרך 5. משרד הביטחון, החברה להגנת הטבע.

בוסקילה, ע. (1982). דוח מרכז מידע לזוחלים. טבע וארץ. כה (1) :43.

בן יקיר, ש. (1992). דוח מסכם לפרשת טיפולים בצבים רכים בתאריכים 7-17/3/92. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

בן צור, י. (2005). (כניסה : 15/12/2006). http://www.ynet.co.il/articles/1,7340,L-3085215,00.html

גזית, א. (1982). מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

גזית, א. (1983). מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

גזית, א. (1988). דיון מקצועי בממשק הצב הרך. מכתב לאוריאל ספריאל. ארכיון רשות הטבע והגנים.

דולב, ע., פרבולוצקי, א. (2002). הספר האדום של החולייתנים בישראל. הוצאת רשות הטבע והגנים, החברה להגנת הטבע.

המשרד לאיכות הסביבה, 2005a (עודכן: 5/5/2005) (כניסה: 15/12/2006):

http://www.sviva.gov.il/bin/en.jsp?enPage=BlankPage&enDisplay=view&enDispWhat=Zone&enDispWho=alex&enZone=alex

המשרד לאיכות הסביבה, 2005b (עודכן: 19/1/2005) (כניסה: 15/12/2006):

http://www.environment.gov.il/bin/en.jsp?enPage=BlankPage&enDisplay=view&enDispWhat=Object&enDispWho=News%5El2336&enZone=news

המשרד לאיכות הסביבה, 2005c (עודכן: 4/7/2005) (כניסה: 15/12/2006):

http://www.sviva.gov.il/Enviroment/bin/en.jsp?enPage=BlankPage&enDisplay=view&enDispWhat=Object&enDispWho=Articals^l887&enZone=alex

הצבי כ., אשכנזי ש. (1981). סיכום עונת הטלה 1981. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

ויקיפדיה, נחל אלכסנדר (כניסה: 15/12/2006): http://he.wikipedia.org/wiki/נחל אלכסנדר.

ורנר, י. (1988). הצב הרך. מכתב לאוריאל ספריאל, ארכיון רשות הטבע והגנים.

חכם, ע. (1989). סקירת תולדות אוכלוסיית הצב הרך בישראל מקום המדינה ועד היום. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

יאיר ש. (1992). דוח ארוע- הצלת צבים רכים בשפך נחל אלכסנדר 1/3/92. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

כהן, י. (2004). עידוד רביית הצב הרך בנחל אלכסנדר – קיץ 2003. מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

לשם, ע. (1983). הצעת מחקר. הוגשה לרשות שמורות הטבע.

מילכטייך, י., (1995) משחקים. גלילאו, 8 (http://www.snunit.k12.il/heb_journals/galileo/008012.html כניסה: 15/12/2006)

מליחי, י. (2005). סיכום פגישה בנושא: שחרור צבים רכים בירקון. מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1971). מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1981). מכתב ליורם אייל, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1988). *Trionyx*, מכתב לאוריאל ספריאל, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1989a). מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1989b). מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1989c). מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

מנדלסון, ה. (1992). מסמך פנימי, ארכיון רשות הטבע והגנים.

סיני, י. (2006). סיכום דיון עונת הצב הרך 2006. מסמך פנימי, רשות הטבע והגנים.

סלע י. (1970). טבע וארץ, יב (6): 266-267.

ספריאל, א. (1989). ממשק הצב הרך בארץ. תמצית דיון צוות מקצועי והחלטות, מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

ער, ע. (1983). דוח על סיור עם דר׳ אקרמן. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

פרנקברג, א. (1988). הצב הרך, נייר לדיון בצוות מקצועי. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

צוק, ש. (2002). אדם טבע ודין, נחל אלכסנדר, הספריה הוירטואלית של מט״ח (כניסה: 15/12/2006): http://lib.cet.ac.il/pages/item.asp?item=1155&author=719.

קולר, ז. (1988). ממשק אוכלוסיית הצב הרך בנחל אלכסנדר. מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

קולר, ז. (1992) מסמך פנימי, רשות שמורות הטבע.

שי, א. (1991). סיכום מעקב אחר האכלת הצב הרך בנחל אלכסנדר, בקיץ – סתיו 1991. ידיעון רשות שמורות הטבע 41: 30-33.

שי, א. (2002). תוכנית ממשק לצב הרך בישראל. מסמך לרשות הטבע והגנים.

7. נספחים

7.1. דיסקציות

כל 4 הפרטים היו במצב רקבון (לדוגמא איור 25), אולם ניתן היה להפיק מידע מהאופרציה.

איור 25: גופת צב לקראת דיסקציה, מבט כללי.

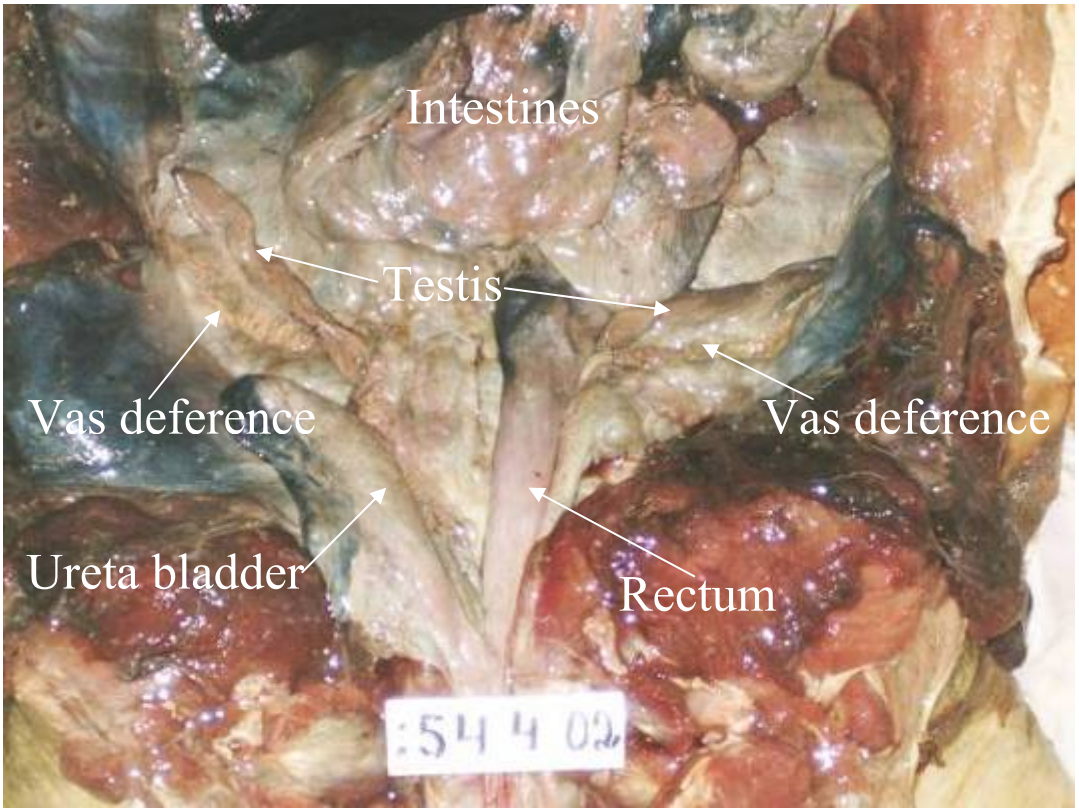
הנתיחה בוצעה על ידי חיתוך והפרדת הפלסטרון מהקרפס, באמצעות סכין (איור 26).
עם חשיפת האיברים הפנימיים, בוצע זיהוי כללי של האיברים הפנימיים, ואובחן הזויג (איורים 27-31). כל 4 הפרטים שנותחו היו זכרים. בכל 3 הפרטים שעברו נתיחה יסודית, אובחנו חבלות פנימיות וקרעים בפריטוניאום. אצל כולם זוהה חול בחלל הבטן. לכולם היה מזון במעיים. אצל 2 מתוכם ניתן היה לזהות בקיבה תוכן שכלל עצמות קטנות, כנראה של דגים (תוכן המעיים נשלח לאנליזה אולם היא נכשלה והחומר אבד).

איור 26: פתיחת גופת צב.

איור 27 (מימין): ריאה. ניתן לראות את המבנה השטוח, הצמוד לקרפס.

איור 28 (משמאל): התפצלות הטרכיאה ל- 2 טרכיאות.

איור 29 (מימין): מבט קאודו-רוסטרי מהקלואקה (לכיוון תוך הגוף). בחלק התחתון ניתן לראות את תעלת הפניס, ובחלק המפושק את פתחי הביב. איור 30 (משמאל): פניס.



איור 31: מבט כללי על אזור אברי הרביה בזכר.

7.2. רצף ה- Cytochrome b של *T. triunguis*

מוצגים פרטים מישראל (IL) ומתורכיה (TK). לשם השוואה צורף רצף של *T. triunguis* (TT_AF), שמקורו בליבריה, אפריקה (NCBI accession: AY259564). טורים מסומנים בכוכבית במקרה שכל הבסיסים בטור זהים.

```
IL_14     AAACCTACTATCA-CCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_24     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL-01     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TK_12     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_18     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TT_AF     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TK_08     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_76     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_21     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_20     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_16     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TK_10     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL-69     ARACSTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TK_06     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
TK_04     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_74     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_78     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
IL_72     AAACCTACTATCAGCCGTCCCCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGG
equal     * ** ******** ************************************

IL_14     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_24     TCTGAGGAGGCTTCTCACGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL-01     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
TK_12     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_18     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
TT_AF     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
TK_08     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_76     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_21     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_20     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_16     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
TK_10     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL-69     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCNTAACACGATTCTTCAC
TK_06     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
TK_04     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_74     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_78     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
IL_72     TCTGAGGAGGCTTCTC-CGTAGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCAC
Equal     *************** *************** ***************

IL_14     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_24     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL-01     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TK_12     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
```

```
IL_18     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TT_AF     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TK_08     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_76     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_21     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_20     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_16     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TK_10     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL-69     CGATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TK_06     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
TK_04     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_74     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_78     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
IL_72     C-ATACACTTCCTACTTCCATTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACAT
Equal     * ************************************************

IL_14     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_24     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL-01     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TK_12     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_18     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TT_AF     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TK_08     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_76     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_21     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_20     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_16     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TK_10     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL-69     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TK_06     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
TK_04     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_74     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_78     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
IL_72     CTACTATTCCTACACGAAACTGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTC
Equal     ************************************************

IL_14     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_24     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL-01     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TK_12     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_18     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TT_AF     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TK_08     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_76     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_21     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_20     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_16     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TK_10     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL-69     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TK_06     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
TK_04     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_74     AAACACAGACAAMATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
IL_78     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
```

```
IL_72     AAACACAGACAAAATCCCGTTCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTAC
Equal     ************ ************************************

IL_14     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_24     TGGGCCTAANTGTAATACATAACCACAACTACTATCTATCGCCATATTTT
IL-01     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TK_12     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_18     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TT_AF     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TK_08     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_76     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_21     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_20     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_16     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TK_10     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL-69     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TK_06     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
TK_04     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_74     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_78     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
IL_72     TGGGCCTAACTGTAATAC-TAACCACA-CTACTATCTATCGCCATATTTT
Equal     ********* ******** ******** **********************

IL_14     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_24     ACCCAAACCTAATTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL-01     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TK_12     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_18     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TT_AF     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TK_08     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_76     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_21     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_20     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_16     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TK_10     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL-69     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TK_06     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
TK_04     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_74     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCRGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_78     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
IL_72     ACCCAAACCTA-TTGGGGGACCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACT
Equal     *********** *********** **************************

IL_14     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_24     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCAATA
IL-01     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TK_12     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_18     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TT_AF     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TK_08     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_76     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_21     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_20     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
```

```
IL_16     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TK_10     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL-69     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TK_06     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
TK_04     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_74     ATCCACCCCGCCCCACATCAGAACAGAMT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_78     ATCCACCCCGNCCCACATCAAACCAGANNTGATACTTTCTATTCGCA-TA
IL_72     ATCCACCCCGCCCCACATCAAACCAGAAT-GATACTTTCTATTCGCA-TA
Equal     ********** ********* * ****   ***************** **
```

7.3. Cytochrome b – השוואה ל- out group

השוואת רצף Cytochrome b בין *T. triunguis* לבין *A.ferox* כקבוצה חיצונית (out group).

טורים מסומנים בכוכבית במקרה ששני הבסיסים בטור זהים.

```
TT_AF    AAACCTACTATCAGCCGTCC
AF_AM    AAACCTACTCTCAGCCATCC
         ********* ****** ***

TT_AF    CCTATATCGGCACCACAATAGTACAATGGGTCTGAGGAGGCTTCTCCGT
AF_AM    CCTACATTGGCAACACACTAGTACAATGGGTATGAGGGGGATTTTCCGT
         **** ** **** **** ************* ***** ** ** *****

TT_AF    AGACAATGCCACCCTAACACGATTCTTCACCATACACTTCCTACTTCCA
AF_AM    AAACAATGCCACCCTAACACGATTCTTTACCCTACACTTCTTACTTCCA
         * ************************* *** ******** ********

TT_AF    TTCATAATCGCAGGAATAACCATAGTACATCTACTATTCCTACACGAAAC
AF_AM    TTCATAATCCTAGGACTTGCAATAATCCACCTACTCTTCCTCCACGAAAC
         *********  **** *  * *** * ** ***** ***** ********

TT_AF    TGGATCAAACAACCCAATAGGACTTAACTCAAACACAGACAAAATCCCGT
AF_AM    CGGATCAAACAACCCAACAGGACTTAACTCAAACACCGACAAAATCCCAT
          **************** ****************** *********** *

TT_AF    TCCATCCCTACTTCTCATACAAAGACCTACTGGGCCTAACTGTAATACT
AF_AM    TTCACCCCTACTTCTCATACAAAGACCTACTAGGATTTATAGTAATACT
         * ** ************************** **  * *  ********
```

```
TT_AF    AACCACACTACTATCTATCGCCATATTTTACCCAAACCTATTGGGGGA
AF_AM    CACCATACTCCTATCAATCGCCATATTCTACCCAAACTTACTAGGAGA
          **** *** ***** *********** ********* ** * ** **

TT_AF    CCCAGACAACTTCACGCCAGCCAACCCACTATCCACCCCGCCCCACATCA
AF_AM    CCCAGACAACTTCACACCAGCTAACCCACTATCTACACCCCCACACATCA
         *************** ***** *********** ** ** ** *******

TT_AF    AACCAGAATGATACTTTCTATTCGCATA
AF_AM    AACCAGAATGATACTTCCTATTCGCCTA
         **************** ******** **
```

7.4. מעקב ברדיו טלמטריה

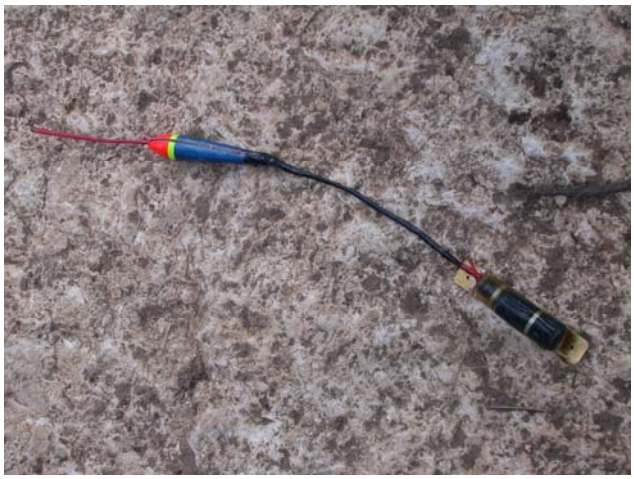
במסגרת מחקר זה נעשה נסיון למעקב אחר פרטים ממושדרים במשדרי רדיו טלמטריה. למרבה הצער לא הניב חלק זה תוצאות משמעותיות, אולם מאחר ובמסגרת העבודה שנעשתה נצבר נסיון מסוים, הוא מצורף לעבודה זו.

7.4.1. המשדר

משדרתי את הצבים במשדרי רדיו בתדר VHF, של חברת AVM מארה"ב. קודם להזמנת המשדרים, ביצעתי סריקה טלמטרית יסודית של הסביבה, עד למרחק של כ-5 ק"מ ממזרח לגשר כביש 4, ועד למרחק של כ- 2-3 ק"מ מצפון ומדרום לערוץ הנחל, לאורכו, מהים ועד לכביש 4. בסריקה זו איתרתי תדרים הנמצאים כבר בשימוש של משדרי רדיו טלמטריה: משאבות מים וכיו"ב. לאחר מכן הזמנתי משדרים בתדרים שנמצאו פנויים, בתיאום עם מאגר המידע של משדרים בחיות בר, המשותף לכל גופי המחקר ושמירת הטבע בישראל. במשדרים מסוג זה נעשה שימוש במחקרים קודמים על צבים, במדינות שונות.

שידור בתדרי VHF אינו חודר דרך מים מלוחים (מי ים), ולא דרך מים עתירי חלקיקים מרחפים. מי נחל אלכסנדר סובלים הן מהמלחה במי ים, והן מריבוי מרחפים. ואכן, בבדיקה שקדמה לרכישת הציוד מצאתי שאות השידור עובר דרך המים, כל עוד עומק האנטנה אינו עולה על כ- 40 ס"מ. בספרות, מוזכרת נטיית הצבים לרבוץ על קרקעית הנחל, במים הרדודים, באופן שראשם יוכל להגיח אל מחוץ למים (ארבל, 1984). בכוונה לנצל התנהגות זו על מנת להעלות את הסיכוי לשידורים מוצלחים, הזמנתי משדרים עם אנטנה גמישה באורך של כ- 40 ס"מ, המזדקרת כלפי מעלה. כך, שכשהצב רובץ על הקרקעית, יזדקר קצה האנטנה אל מחוץ למים, וישדר ישירות לאויר. המשדרים הגיעו עם אנטנת חוט גמישה, ללא יכולת לעמוד זקוף בזכות עצמה, ונאלצתי לבצע בהם שיפורים. ראשית, על מנת למנוע תלישה של האנטנה על ידי צבים

שכנים, חיזקתי את חוט האנטנה במיתר מצנח דק וחזק. את המיתר קשרתי לבסיס המשדר, והצמדתי לחוט האנטנה על ידי ליפוף שני החוטים בסרט הדבקה פלסטי ("איזולירבנד"). הצמה שנוצרה (חוט האנטנה + המיתר) צופתה בשכבה של דבק אפוקסי גמיש ועמיד למים. בנוסף, על מנת לזקור את קצה האנטנה אל מחוץ למים, הצמדתי לקצה הצמה מצוף דיג, באופן שמאפשר לקצה חוט האנטנה, אשר בולט מעבר למצוף, לבלוט אל מחוץ למים (איור 32).



איור 32 : משדר רדיו טלמטריה מחובר למצוף, עם אנטנה מחוזקת

לאחר שהצמדתי משדרים מסוג זה לשני פרטים, נוצר ספק לגבי יעילות המתקן, ואזי פותח ונבנה עבור המחקר, על ידי איש הפיתוח חיים לוי, בסיס קפיצי, שהוצמד לגוף המשדר, ואשר זוקף את האנטנה מכל מצב (איור 33).

איור 33 : פרט ממושדר במשדר בעל מערכת משופרת לזקיפת האנטנה.

7.4.2. הצמדת משדר

הצמדת המשדר לצב הרך עוררה בעיה טכנית קודמת לנושא זקירת האנטנה. בעולם בוצעו מחקרים טלמטריים רבים בצבים, אולם רובם הגדול היה במשפחות צבים אחרות ולא בצבים רכים . כך שיטת

החיבור השכיחה הינה הדבקה של המשדר לקרפס באפוקסי. בצבים הרכים אפשרות זו היא בעייתית. במחקרים קודמים שבוצעו בעולם בצבים רכים, חיברו את המשדרים לחלק האחורי של הקרפס באזור ה"שמלה" הסחוסית. המשדרים חוברו באמצעות חוט נירוסטה, באופן דומה לחיבור תגי הזיהוי שבוצע במחקר זה, או באמצעות ברגי נירוסטה שנקדחו דרך הקרפס. Galois et al. (2002), אשר מישדרו, בקנדה, צבים רכים מהמין *Apalone spinifea*, העדיפו שימוש בברגים, מאחר וחוט הנירוסטה גרם במקרים אחדים לקריעת הסחוס, ולאובדן המשדר (Bouthillier, מידע בע"פ). אולם במקרה של *T. triunguis*, עובי הקרפס, בפרט בחלקו הקאודאלי (האחורי), הסחוסי, גדול בהרבה משל ה- *Apalone spinifera*, ולא היה חשש משמעותי לקריעתו. לעומת זאת עלה חשש כי עובי הסחוס עלול לעשות אותו מועד להזדהמות עקב חדירת לכלוך שיצטבר בחריצי ההברגה שבבורג. בנוסף לכך, כבר נצבר נסיון בחיבור תגי זיהוי באמצעות חוט נירוסטה, ולבסוף זוהי השיטה שהעדפתי: חוט נירוסטה שתופר את המשדר דרך הקרפס. גם כאן, בתחילה חוברו קצות החוטים באמצעות ליפופם זה בזה, ובהמשך נעשה שימוש בטבעת מעיכה ממתכת ("פלומבה").

על מנת להקטין את אפשרות ההפרעה של חוט הנירוסטה לתנועת הרגל (בצד הדורסאלי של הקרפס), מוקם המשדר מעל בסיס הרגל, באחת הרגליים האחוריות. איור 34 מציג פרט ממושדר בעת עלייה לגדה.

איור 34: פרט ממושדר ("אדום") עולה לגדה בעת האכלה על ידי מטיילים.

7.4.3. פרטים ממושדרים

בסך הכל מושדרו 3 פרטים. "אדום", "לבן" ו"ירוק", ושני משדרים נוספים שנרכשו נשמרו לשימוש בהמשך (טבלה 20).

טבלה 20 : פירוט משדרים ותדריהם

צבע קצה האנטנה	תדר
אדום	150.810
לבן	150.940
ירוק	150.700
כתום	150.990
צהוב	150.740

לאחר כל פעולת משדור, סרקתי את אזור הנחל כל יום עם מקלט טלמטריה על מנת לאתר את הפרט הממושדר. בהמשך סרקתי מספר פעמים בשבוע (2-4), במשך שלושה שבועות נוספים.
הסריקות הטלמטריות לא הניבו כמעט כל איתורים של פרטים, וגם אלה שאותרו, היה זה אך ורק בגשר הצבים או בטווח של 100-200 מ׳ ממנו. הפרט השלישי שמושדר, אותר מיד לאחר מישדורו, ולאחר מכן לא אותר יותר ולו פעם אחת. לאור תוצאות דלות אלה, הוחלט לוותר על משדורם המתוכנן של שני פרטים נוספים.

7.4.4. שיטת הסריקה הטלמטרית

מעקב אחר מיקומם של הצבים הממומשדרים, נעשה באמצעות מקלט רדיו – טלמטריה מדגם R1000 של חברת Communication Specialist. השתמשתי ב-3 סוגי אנטנות לסירוגין :
אנטנה גמישה רב כיווניות, מקורית של המכשיר, המורכבת אליו בחיבור ישיר.
אנטנה רב כיוונית בעלת בסיס מגנטי, המוצמדת לגג הרכב, של חברת AVM.
אנטנה כיוונית בעלת 3 פרקים, של חברת Telonyx.
את סריקות המעקב אחר צבים ממושדרים ערכתי לאורך נחל אלכסנדר, החל בחוף הים, ועד לגשר כביש 4 (כביש תל אביב – חיפה ״הישן״). סרקתי את קטע הנחל שמהים ועד לכביש החוף, בהליכה רגלית על דרך עפר, העוברת במרחק של 10-50 מ׳ מצפון לערוץ הנחל, תוך שימוש באנטנה רב כיוונית מקורית של המקלט, או באנטנה כיוונית.
את קטע הנחל שמכביש החוף עד לגשר הצבים סרקתי תוך נסיעה ברכב על דרך עפר העוברת במרחק של 10-200 מ׳ מצפון לערוץ הנחל, תוך שימוש משתנה בכל סוגי האנטנות, על פי הצורך.
את הקטע שמגשר הצבים ועד כביש 4, סרקתי בהליכה רגלית או בנסיעה בגלגיליות, על שביל אופניים סלול העובר במרחק של כ- 10מ׳ מצפון לערוץ נחל אלכסנדר, תוך שימוש באנטנה רב כיוונית מקורית של המקלט, או באנטנה כיוונית.
בעונת הרביה, בחודשים מאי עד אוגוסט, סרקתי 2-3 פעמים בשבוע. בספטמבר- אוקטובר סרקתי 1-2 פעמים בשבוע. בשאר חודשי השנה סרקתי 1-4 פעמים בחודש. את רוב הסריקות ערכתי בשעות הבוקר והצהריים. פעמיים סרקתי בלילה. מיד לאחר משדור של כל פרט, סרקתי במשך שבוע, כל יום במשך כל שעות האור. הסריקה נערכה תוך שימוש במצב ״scan״ במקלט, המתוכנת מראש לסריקת תדרי המשדרים המותקנים בשטח, במחזוריות של 5 שניות לתדר.

צבים שנקלטו זוהו על פי התדר הייחודי של המשדר המוצמד להם, ועל פי תדירות האות (אחד לשניה, בניגוד לאיתות של משאבות מים או משדרים נוספים העלולים להיות בסביבה, אשר בדרך כלל משדרים בתדירות גבוהה יותר).

7.4.5. תנועה

כאמור, הפרטים הנקלטים נקלטו פעמים ספורות בלבד: "אדום" 2 פעמים, "לבן" נקלט 11 פעמים, ירוק לא נקלט כלל למעט בעת שחרורו שלאחר המשדור. בין איתור לאיתור היו רווחי זמן של ימים עד שבועות. מיקום הפרטים בכל הפעמים היה בגשר הצבים ממש, למעט מקרה אחד בו נקלט "לבן" במרחק כ- 150 מ' ממזרח לגשר.

סביר שנתונים אלה אינם מצביעים על שהפרטים ממוקמים בקביעות בגשר הצבים, אלה על כך שרק שם הם נמצאו סמוך מספיק לפני המים, באופן שאיפשר את קליטתם.

נראה כי המשדרים לא שידרו באיכות מספקת מתוך המים, וכן כי צבים שכנים תלשו את המשדרים מגב חבריהם (ראה איור 35). במקרה מסויים צפיתי בצב "ממושדר לשעבר", אשר זוהה באמצעות תג הסימון, ללא המשדר על גבו. כנראה שגם "ממושדר" נוסף נצפה ללא המשדר (שוב, ע"פ תג הסימון), הפעם על ידי לוי עובדיה, מנאמני נחל אלכסנדר, ומהמתנדבים שסייעו במחקר זה.

איור 35: צב מתנכל לאנטנת המשדר של פרט ממושדר.

מחקר מקיף יותר בתחום זה, באמצעות ציוד יעיל יותר, יוכל לשפוך אור על היבט מרתק זה באורח החיים של *T. triunguis*.

Aspects of the Ecology of the Nile Softshell Turtle (*Trionyx triunguis*) in the Alexander River

By: Oren Rosner

ABSTRACT

The Nile Softshell Turtle (*Trionychidae, Trionyx triunguis)*, is among the largest freshwater turtles, and a capable swimmer. Its length reaches up to 100 cm, and its weight up to 50 kg. Its distribution includes the African continent, and the eastern basin of the Mediterranean sea, mostly in Israel and Turkey. The distribution of *T. triunguis* in the Mediterranean appears to decline in the last few decades, and today *T. triunguis* in the Mediterranean is defined by the IUCN as Critically Endangered. Nevertheless, current knowledge of the *T. triunguis* biology is extremely limited, and therefore conservation acts are not supported often on rigid data.
This study dealt with aspects of demography (including population genetics) and reproduction of *T. triunguis* in the Alexander River. Population size was estimated, using a Mark-Resight method, in the range of 107-173 individuals. It was found that in the Alexander River population, most individuals are in the upper scale of body size, while in the Turkish population of Lake Sulphurous, Dalaman, most individuals are medium size, and unlike in the Alexander River, extremely big individuals are nearly absent. In both populations, young individuals, especially offsprings, are hardly ever seen. However, in spite of many years of reports that emphasize the lack of young individuals, and the fear of population degradation down to extinction, this research points the possibility that the Alexander River population is growing. I suggest that young individuals avoid those sites that are occupied by adults, especially the popular "Turtle Bridge" above Alexander River where most of the population estimations have been carried out in recent years.
The well known male – female distinction by tail length has proven inefficient in this study, and no other apparent sexual dimorphism was found.
Nesting was tracked during 2004-2005. In both nesting seasons there was a significant predation problem, and the only means of protection to prevent further predation was the construction of a tall robust fence that surrounds the dry side of the nesting site. Humidity and temperature readings within the nests had shown that the turtle's nest is an efficient incubator isolating the eggs from the environment's conditions. However, no correlations were found between a-biotic conditions and parameters of nest success (e.g. hatching and live hatchling

emergence success). This may be due to insufficient sample size, but it is also possible that in spite of the differences between the different nesting sites, they are all in the range of appropriate conditions for the development of *T. triunguis* embryos. A study of the genetic variation within the Alexander population, and in comparison to the population of Sulfurous Lake, Dalaman, Turkey, using the mitochondrial Cytochrome b gene, revealed no difference within the populations and between the populations of Israel and Turkey. Similarity among all individuals in the 2 populations was 99-100%. Comparison to an African individual (from Liberia) shows exactly the same similarity. Comparison to *Apalone ferox*, as an out group, shows variations of 16.7%. I suggest that further research should be carried out, using other genetic marker to better define the populations of the eastern basin of the Mediterranean Sea.

Aspects of the Ecology of the Nile Softshell Turtle (*Trionyx triunguis*) in the Alexander River

By: Oren Rosner

Supervised by: Uri Shanas, Ph.D.

THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE MASTER DEGREE

University of Haifa
Faculty of Science and Science Education
Department of Evolutionary and Environmental Biology

January, 2007

Aspects of the Ecology of Nile Softshell Turtle (*Trionyx triunguis*) in the Alexander River

By: Oren Rosner

THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE MASTER DEGREE

University of Haifa
Faculty of Science and Science Education
Department of Evolutionary and Environmental Biology

January, 2007