

דוח סופי לתכנית מחקר מספר 132126308

## פיתוח עמידות לעלקת מצרית בעגבניות

### Development of Tomato Lines Resistant to Egyptian Broomrape

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

יוסי הרשנהורן	המחלקה לפיטופתולוגיה וחקר עשבים, מרכז מחקר נוה יער, מינהל המחקר החקלאי
יבגניה דור	המחלקה לפיטופתולוגיה וחקר עשבים, מרכז מחקר נוה יער, מינהל המחקר החקלאי
יורם קפולניק	המחלקה לגידולי שדה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן
סמדר וינינגר	המחלקה לגידולי שדה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן

Joseph Hershenhorn, Weed Research Dept., ARO, Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021 Ramat Yishay 30095. E-mail: [josephhe@volcani.agri.gov.il](mailto:josephhe@volcani.agri.gov.il)

Evgenia Dor, Weed Research Dept., ARO, Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021 Ramat Yishay 30095. E-mail: [evgeniad@volcani.agri.gov.il](mailto:evgeniad@volcani.agri.gov.il)

Yoram Kapulnik, Institute of Field & Garden Crops, ARO, Beit Dagan 50250  
kapulnik@volcani.agri.gov.il

Smadar Viningger, Institute of Field & Garden Crops, ARO, Beit Dagan 50250

אוקטובר 2009

חשון תש"ע

**הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.**

**הניסויים אינם מהווים המלצות לחקלאים**

**חתימת החוקר**

רשימת פרסומים

## תקציר

**הצגת הבעיה (חשיבות, מטרות) -** בעיית העלאת בישראל מחריפה משנה לשנה. עיקר הבעיה מתמקדת בעלאת מצרית בעגבניות. העלאת גורמת לנזקים חמורים בגידול זה ואין כיום פתרון יציב ויעיל לבעיה זו. השיטה הטובה ביותר לפתרון בעיית העלאת היא זנים עמידים, אך עד היום לא ידוע על קיום או זנים בעלי רקע של עמידות לעלאת בעגבניות. המטרה של תוכנית זו היא יצירת קוי עגבניה עמידים באמצעות מוטגנזה.

**מהלך ושיטות עבודה -** לשנה א' של תוכנית זו הוגדרו ביצוע השלבים הבאים: א. כיוול מערכת מוטגנזה הגורמת ל-50% תמותה של זרעי העגבניה המטופלים. ב. כיוול שיטת סריקה זולה ומהירה בעציצונים לזיהוי צמחי עגבניה עמידים. ג. יצירת 10,000 צמחים מוטנטים ואיסוף זרעיהם כור  $M_2$ . לשנה ב' ו-ג' הוגדרו ביצוע סריקת מוטנטים לעמידות לעלאת ולקוטל העשבים אימוזאמוקס המשמש להדברת עלאת בגידולים העמידים לקוטל עשבים זה.

**תוצאות עיקריות -** בשנה א מצאנו כי ניתן לגרום ל-50% תמותת זרעים באמצעות תמיסת EMS בריכוז של 3.5%. הסריקה המהירה, הזולה והאמינה ביותר התקבלה בעציצונים שגודלם 8X7X7 ס"מ. הוכנו 12,000 שתילים מוטנטים שישתלו בשדה בנוה יער ליצירת דור  $M_2$ . בשנה זו גודל שדה של 10,000 צמחים מוטנטים. הפירות נאספו מכל צמח בנפרד והזרעים הופקו מכל צמח כך שהתקבלו כ-10,000 שקיות המכילות את הזרעים. בנוסף נאספו כל הפירות שנשרו על הקרקע במהלך הקטיף והזרעים מהם הופקו במרוכז (Balck). בשנה ב' נסרקו 5 צמחים בממוצע מכל משפחה שנלקחו מה-Balck, לעמידות לאימוזאמוקס. נמצא צמח אחד שהיה עמיד ברמה גבוהה לקוטל העשבים. צמח זה עבר ריבוי באמצעות יחורים ופירות וכרגע יש ברשותינו כ-1000 זרעים מצמח זה. עמידותו נבדקה פעמיים בעקומות כיוול ונמצא כי הוא עמיד עד רמה של 120 סמ"ק לדונם של אימוזאמוקס. מינון היעד של קוטל עשבים זה להדברת עשבים עומד על 40-60 סמ"ק לדונם.

בשנים ב ו-ג נסרקו כ-3000 משפחות לעמידות לעלאת. כרגע עומדים ברשותינו 3 קוים העמידים לעלאת.

**מסקנות והמלצות -** התוכנית התנהלה כסדרה, למעט:

- א. רמת המימון היתה נמוכה מדי ולכן לא ניתן היה לסרוק את כל המשפחות.
- ב. חלק מהמשפחות יצרו כמות קטנה של זרעים. כדי לא לאבד מאגר גנטי רב ערך זה יש לרבות את הקוים האלה. ולכן אין תקציב.

## מבוא

הסוג הבוטאני עלאת (*Orobanche spp.*) כולל מיני צמחים חסרי כלורופיל הנטפלים לשורשי צמחים עילאיים. העלאת גורמת לנזקים חמורים ליבול ואיכותו בירקות, פרחים, גרגרים, מספוא, תבלינים ועוד (Parker and Riches, 1993).

בארץ נפוצים 5 מיני עלאת שהחשובה בהם היא עלאת מצרית (*O. egyptiaca*). עלאת זו תוקפת מגוון גידולים אך הגידול העיקרי הסובל מעלאת זו בארץ הוא עגבניות לתעשייה. בתמונה אפשר לראות שדה עגבניות באושה המאולח קשות בעלאת מצרית. שדה כזה מתמוטט ולא יניב יבול כלל. סך הנזק הישיר הנגרם על ידי הטפיל בעגבניות תעשייה מגיע לסכום של כחמישה מליון ₪ בשנה. רמת האילוח של

הקרקעות המשמשות לגידול עגבניות לתעשייה הלכה ועלתה עם השנים. החקלאים ששדותיהם נפגעו מעלקת מצרית זנחו את האדמות הנגועות. תהליך מתמשך זה הביא לכך שכבר לפני כ-20 שנה חדלו לגדל עגבניות בעמק בית נטופה ולפני שנתיים לא גידלו יותר עגבניות ברמת הגולן, ואיזורים בגליל העליון. יש לזכור כי בעבר גידלו ברמת הגולן כ-6000 דונם מדי שנה. הצפי הוא כי בעמק יזרעאל, עמק בית שאן והגליל המערבי יפסיקו לגדל עגבניות לתעשייה בגלל העלקת ב-2010.

הדברת העלקת קשה במיוחד בגלל הקשר האנטומי-פיזיולוגי הנוצר בינה לבין הפונדקאי. אחת הדרכים היעילות ביותר לפתור את בעיית העלקת היא זנים עמידים כפי שהוכח בחמניות ובבקיה (Alonso, 1999; Cubero and Moreno, 1999; Goldwasser et al., 1997). משך חייהם של זנים אלה קצר יחסית (5-10 שנים) בגלל יכולתה של העלקת להתגבר על מנגוני העמידות בהם, שקרה במזרח אירופה, טורקיה וספרד עם עלקת חמנית בחמנית. למרות זאת, קצב יצור הזנים העמידים בחמנית באיזורים אלה מדביק את קצב שבירתם כך שלמעשה אין צורך באמצעים נוספים כדי להתגבר על הבעיה (Gontcharov et al., 2004). גם העמידות הידועה של בקיה שדות נשברה על ידי גזע אלים חדש של עלקת חרוקה שהתגלה בארץ לאחרונה ונמצא כבר בכמה מוקדים (יואל ופורטנוי, 1997). ולכן שימוש בזנים עמידים דורש פיתוח מתמיד של זנים עמידים חדשים.

בעגבניות לא ידועה עמידות כלשהי לעלקת. בעולם דווח על עמידות בעגבניות לעלקת על ידי Avdeyev and Shcherbini (1977) אך לא ניתן היה לאמת ממצאים אלה (Jacobsohn, 1986). בעבודה שנעשתה בתחילת שנות ה-90 של המאה הקודמת על ידי דר' ראובן יעקובסון נמצא שמתוך 160 זני עגבניות שנבדקו בישראל לא נמצא אף זן אחד העמיד לעלקת מצרית הן בזני הבר והן בזנים הנמצאים בשימוש חקלאי. הנסיון שהצטבר במיני עלקת אחרים בארצות שונות היה רצוף בעיות שנבעו מהשונות הגנטית הגדולה בין אוכלוסיות העלקת ובתוכן (Román et al., 2002; Pietrse and Verkleij 1991; Verkleij et al., 1991a,b). ובגלל שבירה מהירה של העמידויות (Cubero, 1986).

על רקע נתונים אלה ניתן להבין מדוע יש חשיבות במציאת דרכי פעולה חדשים שיאפשרו יצירת מנגוני עמידות בצמח לפיתוח זני העמיד העמידים לעלקת מצרית. במסגרת תוכנית מדען ראשונית שמומנה בשנים 1999-2002 הוכח כי ניתן לפתח מקורות עמידות לעלקת באמצעות מוטגנזה בעגבניה. בשנים אחרונות פיתחנו באמצעות שיטה זו על בסיס הזן M-82 עגבניות עמידות לעלקת. אבל בגלל סכנת ה"שבירת עמידות" בזן זה, חייבים להתחיל בהכנת זנים עמידים חדשים. שילוב של מספר עמידויות בזן אחד יכולה להביא לפתרון בעיית העלקת בצורה יעילה ביותר.

מטרת המחקר הנוכחי היא לפתח מקורות עמידות חדשים, יעילים יותר, שיהוו חומר מוצא ליצירת זני עגבניות עמידים לעלקת. שילוב מספר עמידויות, שכל אחת מבוססת על מנגון שונה, ימנעו לגמרי או יאט מאוד את התגברות העלקת על צמחים עמידים אלה.

#### **מטרות המחקר לשנה א:**

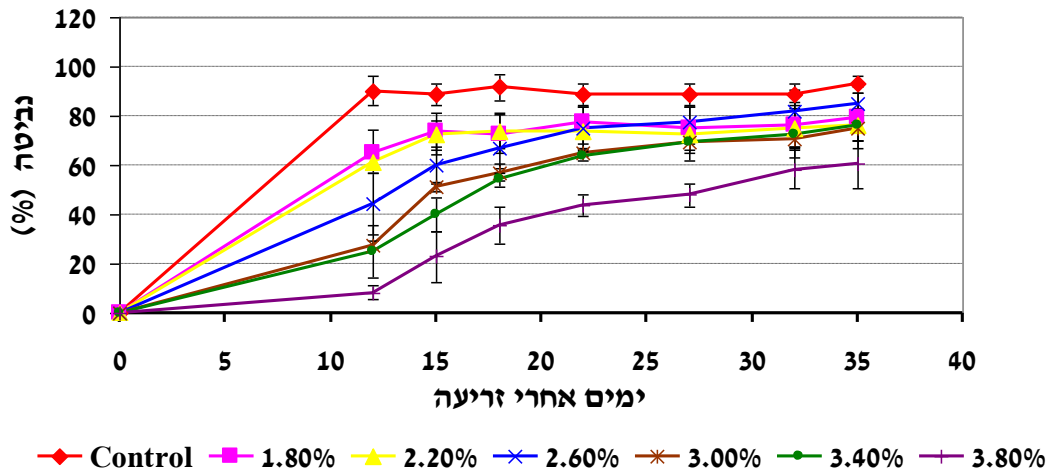
1. כיוול שיטת מוטגנזה כימית על ידי EMS לזרעי עגבניה
2. ביצוע מוטגנזה ויצירת אוכלוסית מוטנטים מזרעים של הזן M-82 (דור M1)
3. שתילת צמחי M1 בשדה ויצירת זרעים של דור 2
4. פיתוח שיטה לסריקה מהירה של צמחי M2 לעמידות לעלקת מצרית

## תוצאות

### 1. כיוול שיטת מוטגנזה כימית על ידי EMS לזרעי עגבניה

נבדקה השפעת טיפול ב- EMS בריכוזים שונים על נביטת זרעים עגבניות (איור 1).  
 EMS בריכוזים נמוכים מ- 1.8% לא השפיע על הנביטה. נביטת הזרעים בביקורת הגיעה ל- 95%.  
 כשלושה שבועות אחרי הזריעה (הטיפול) ירד אחוז הנביטה בכ- 50% בטיפול EMS בריכוז שבין 3.4 עד 3.8%.  
 לכן לשם ביצוע תהליך המוטגנזה בחרנו ב- EMS בריכוז של 3.5%.

### איור 1. נביטת זרעי עגבניות המטופלים ב- EMS



2. ביצוע מוטגנזה ויצירת אוכלוסית מוטנטים מזרעים של הזן M-82 (דור  $M_1$ )  
 בוצע טיפול ב- EMS בריכוז של 3.5% ל- 25.000 זרעים מזן M-82. הטיפול גרם לירידה באחוז הנביטה בשעור של 45% (טבלה 1).

### טבלה 1. השפעת טיפול ב- EMS בריכוז של 3.5% על נביטת זרעי עגבניות

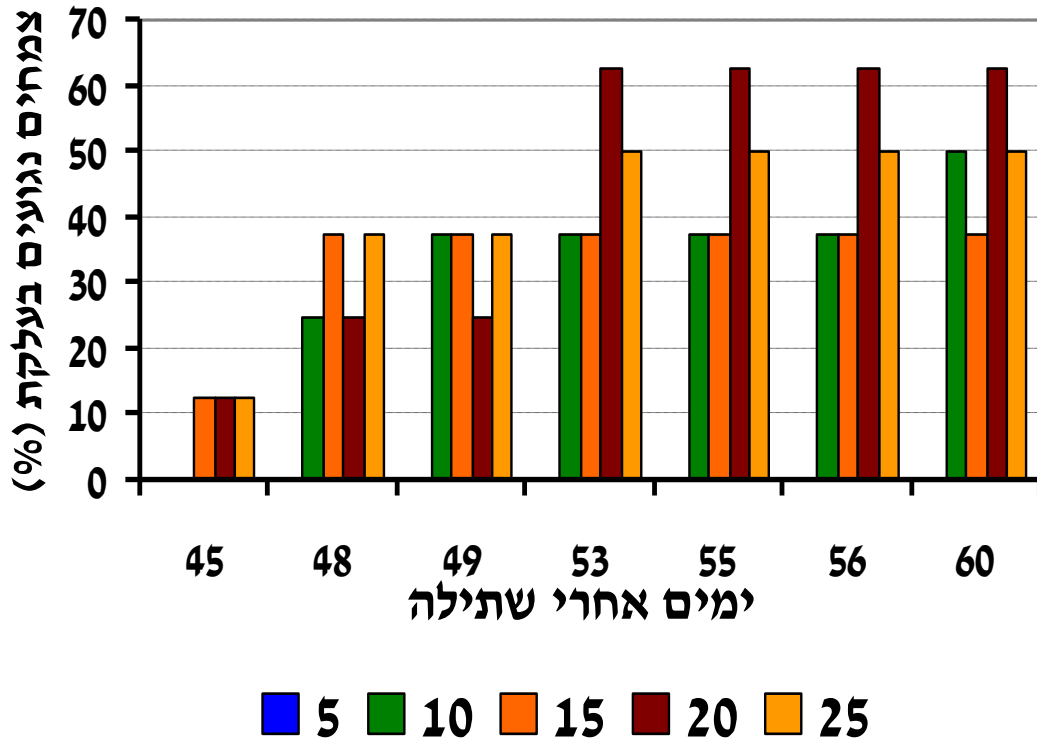
נביטה (%)	טיפול
$93.06 \pm 3.44$	ביקורת
$51.04 \pm 1.99$	3.5% EMS

### 4. פיתוח שיטה לסריקה מהירה של צמחי M2 לעמידות לעלקת מצרית

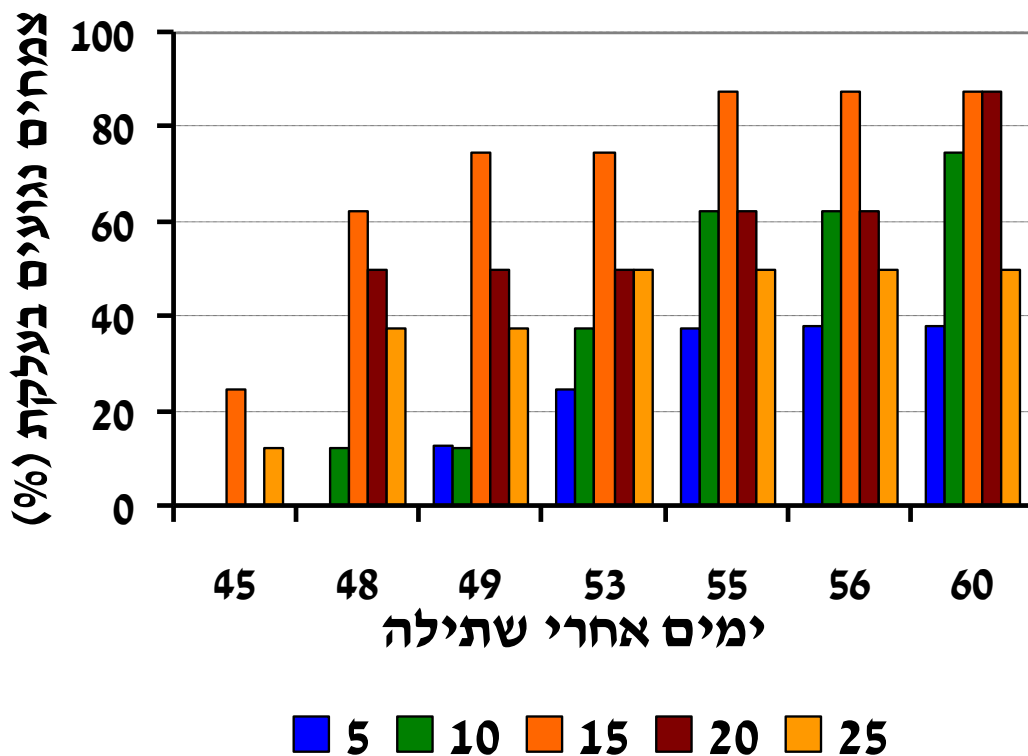
נבדקה נגיעות צמחים בעלקת בעציצים קטנים, בינוניים וגדולים ברמות אילוח שונות של האדמה בעלקת. נגיעות הצמחים בעלקת בעציצים הקטנים הגיעה ל- 60% (איור 2). בעציצים הבינוניים הגיעה

נגיעות הצמחים ל- 90% (איור 3). התוצאות המהירות והברורות ביותר התקבלו בריכוז זרעי עלקת בקרקע ברמה של 15 ppm. בעציצים הגדולים התקבלו תוצאות דומות, אך השימוש בהם דורש כמות אדמה ובמיוחד כמויות גדולות של זרעי עלקת ולכן השימוש בעציצים בינוניים (8X7X7 ס"מ) נבחר לביצוע העבודה (איור 4).

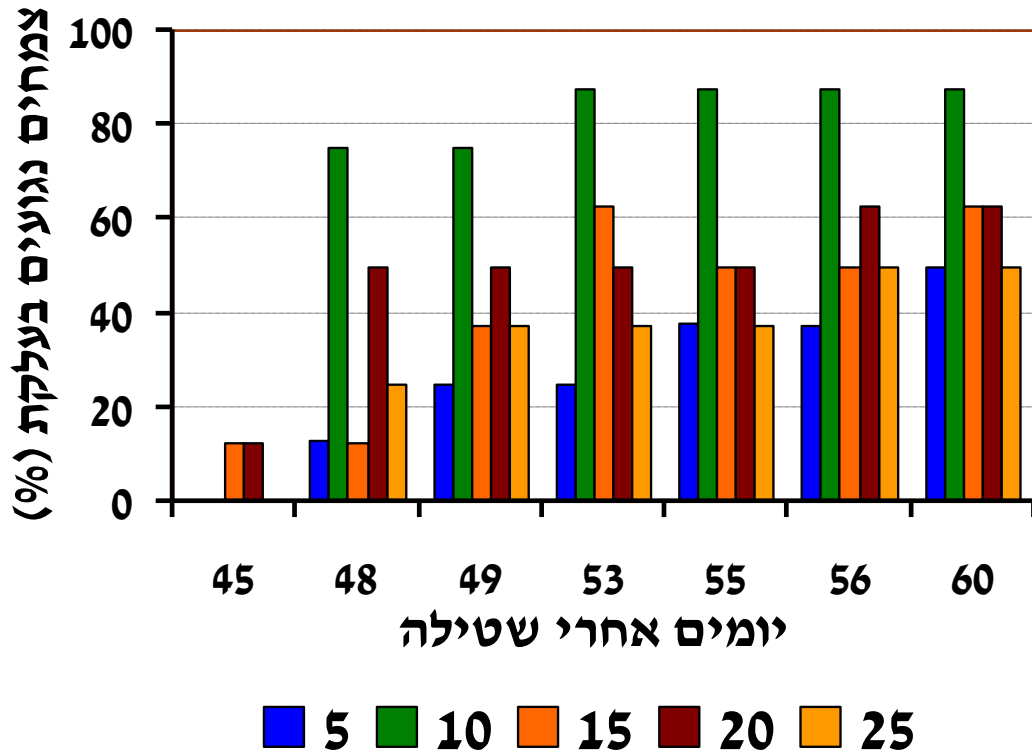
איור 2. אחוז נגיעות הצמחים בעלקת בעציצים הקטנים



איור 3. אחוז נגיעות הצמחים בעלקת בעציצים הבינוניים



איור 4. אחוז נגיעות הצמחים בעלקת בעציצים הגדולים



**5. פיתוח קו עגבניה עמיד לקוטל העשבים אימזמוקס**

זרעים שנאספו ב-Balck נזרעו בחישתלים. סה"כ נזרעו כ- 105.000 זרעים. בהגיעה הנבטים לשלב של שני עלים אמיתיים הם רוססו בקוטל העשבים אימזמוקס במינון של 120 סמ"ק לדונם, כפליים מהמינון המומלץ. לאחר שלושה שבועות, רוב הצמחים היו בשלבי גסיסה שונים, למעט כמה צמחים שנראו בריאים ורעננים. מתוכם בלט לטובה צמח אחד. הצמחים החשודים כעמידים הועברו לעציצים בבית רשת ובהגיעם לגודל מתאים הוכנו מהם יחורים. כל הפירות מהצמחים נאספו והופקו מהם זרעים. זרעים אלה שימשו לבדיקה חוזרת. רק הצמח שבלט לטובה בשלב הראשוני התברר כעמיד לאימזמוקס.

**6. פיתוח קו עגבניה עמידים לעלקת**

הוכנו עציצי שתילי עצים חרוטיים שמולאו באדמת נוה יער המכילים זרעי עלקת בריכוז של 20 ח"מ. העציצים הונחו על שולחנות מתכת ונזרעו מכל משפחה מוטנטית מספר זרעים בכל אחד מ- 12 עציצים. לאחר הנביטה דוללו השתילים לשתיל אחד לעציץ כך שהתקבלו 12 עציצים ובהם 12 צמחים מכל משפחה. כל צמח שהופיעה בו עלקת הוצא מהעציץ. בצורה זו נסרקו כ- 3000 משפחות מהאוסף של 10,000 משפחות שהוכנו בשנה הראשונה של הפרוייקט.

מבין שלושת אלפים משפחות אלה, נמצאו שלוש משפחות שכל הצאצאים שנבחנו היו עמידים לחלוטין לעלקת.

**סיכום עם שאלות מנחות:**

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה
פיתוח זני עגבניה עמידים לעלקת ולקוטלי עשבים היעילים בהדברת עלקת. הפיתוח התבסס על יצירת רבגניות גנטית באמצעות השריית מוטציות. בעגבניות אין מקורות עמידות לעלקת והיה צורך ליצר מקור כזה לעמידות.
השערת העבודה הוכיחה את עצמה. באמצעות השריית מוטציות בריכוז גבוה (ביחידות של עוצמת מוטגנזה לפי אחוז תמותה מושרה. מדובר ב- 50% תמותה). ושימוש במספר גדול מאד של משפחות מוטנטיות – כ- 10,000 משפחות הושגה המטרה.
עיקרי הניסויים והתוצאות.
א. כוילה מערכת מוטגנזה הגורמת לתמותה של 50%.
ב. כוילה מערכת סריקה בעצמים קטנים שיעילותה בזיהוי המוטנטים הרצויים גבוהה
ג. נסרקו כ- 100,000 צאצאים לעמידות לקוטל עשבים ונמצא צמח אחד עמיד לאימומוקס
ד. נסרקו 3000 משפחות שהניבו 3 קוים עמידים לעלקת
ה. האוסף הגנטי (המשפחות) נוצלו על ידי חוקרי המינהל לסריקה לחנטת העגבניה בטמפ' גבוהות. נמצאו מספר קוים היוצרים עגבניות פרטנוקרפיים (ללא זרעים). נראה כי לקוים כאלה כדאיות כלכלית גבוהה מאד.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח? התוצאות שהושגו עד כה עולות על המצופה. מהתוצאות עולה כי יצירת אוכלוסיה מספיק גדולה של מוטנטים כאשר אחוז המוטגנזה גבוה מספיק, מתקבלת אוכלוסיה שיש סיכוי גבוה מאד למצא בה תכונות הרצויות לנו כמו עמידות לפסטיצידיים, לפתוגנים ולתנאי עקה.
בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) (שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר? הערכתנו הכספית לגבי עלות ביצוע התוכנית היתה שגויה. תהליך הכנת המשפחות (כיול המוטגנזה, הכנת השתילים, גידול של 6 דונם עגבניות, קטיף נפרד של כל צמח, הפקת הזרעים בנפרד מכל צמח) היה יקר בהרבה ממה שתמחרנו בעת הכנת התוכנית. כתוצאה מכך נוצר עיכוב בסריקת המוטנטים כך שעד היום סרקנו רק כשליש מהאוכלוסיה. בעיה נוספת היא ריבוי המשפחות הנמצאות בחסר.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: <b>פרסומים בכתב</b> - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; <b>פטנטים</b> - יש לציין שם ומס' פטנט; <b>הרצאות וימי עיון</b> - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.
אין פרסומים או פטנטים
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח סמן אחת מהאופציות
X ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן - *לא-
אני מתלבט האם להגיש בקשה לעוד שנתיים ובה נסיים את סריקת המשפחות ונרבה את המשפחות החסרות.

\*יש לענות על שאלה זו רק בדוח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בדוח שנה שניה במחקר שאושר לשלוש שנים

