

דו"ח מדעי מסכם לתוכנית מדען מס' 255-0752-08

לימוד מנגנון העמידות לקימחון בתות שדה והורשת התכונה, ככלי לטיפוח מושכל של זני תות עמידים לקימחון

מאת:

ניר דאי¹, נדב דוד^{1*}, כרמית ליפשיץ^{1*}, שרה סלוצקי¹, זכריה תנעמי¹, דליה רב-דוד² ויגאל אלעד².

¹ המחלקה לחקר ירקות, המכון למדעי הצמח, מרכז וולקני

² מחלקה לפתולוגיה של צמחים ומדעי העשבים, מרכז וולקני

* מלגאים לתואר שני בהדרכת דר' יגאל אלעד ודר' ניר דאי.

Studying the mechanism and the inheritance of resistance to powdery mildew in strawberry for the developed of resistant cultivars.

Nir Dai¹, Carmit Lifshitz¹, Nadav David¹, Sara Slotzky¹, Zecharia Tanami¹, Dalya Rav-david² and Yigal Elad²

Institutes of Plant Sciences¹ and Plant Protection², Agricultural Research Organization
Volcani Center,

Nir Dai E-mail: nirdai@volcani.agri.gov.il

Yigal Elad E-mail: elady@volcani.agri.gov.il

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקר _____

רשימת פרסומים:

Lifshitz C., David N., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., and Dai N. (2008) Inheritance of powdery mildew resistance in strawberry lines from the Israeli germplasm collection. P. 70-74. In: Takeda, F., D.T. Handley, and E.B. Poling (ed.). *Proc. 2007 N. American Strawberry Symposium*. North American Strawberry Growers Association, Kemptville, ON Canada.

Lifshitz C., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., and Dai N. **Heritability Studies and DNA Markers for Powdery Mildew Resistance in Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duchesne)**. Proceedings of the VI International Strawberry Symposium, Heulva, Spain (2008). *Acta Hort.* (in press)

תקציר

מחלת הקימחון הנה פגע חמור בתות שדה בארץ ובעולם. בגידול תות-שדה בארץ מהווה קימחון התות בעיה מרכזית עקב תנאים מיטביים להתפתחות המחלה המתקיימים בסתיו והאביב החמים ורגישותם היתרה של רוב הזנים המסחריים כיום. הדברת הקימחון במשתלות ובשטח המניב מושגת כיום ע"י יסום מגוון תכשירי הדברה, בריסוסים חוזרים ונשנים וברור שעמידות גנטית תעזור רבות בהתמודדות עם מחלה זו. בשלב ראשון במחקר זה סרקנו, במספר ניסויי הדבקה, את כל האוסף הגנטי של זני תות-שדה שברשותנו למידת עמידתו להדבקה בקימחון. עמידות יפה לקימחון, שנמצאה בעיקר בקווים שאינם מסחריים, אפשרה את המשך המחקר כאשר הזנים הרגישים והעמידים ביותר שימשו לימוד מנגנון העמידות וכהורים לטיפוח. בהמשך מצאנו ששלב חדירת נחשוני הפטרייה לצמח הוא השלב בו הצמחים העמידים נבדלים באופן מובהק מהרגישים. בבדיקת ביטוי חלבוני ה-PR מהקבוצות השונות, נמצא שנוכחות חלבונים המקודדים לכיטינאזות ואנדוגלוקנאזות גבוהה יותר בצמחים עמידים בהשוואה לרגישים. ביטוי חלק חלבונים אלו אף עולה בצמחים העמידים כתוצאה מהדבקה בקימחון וכנראה מגביר את יכולת התגוננות הצמח לחדירה והתבססות של קורי הפטרייה בעלי הצמח. בהמשך המחקר יצרנו 7 אוכלוסיות מתפצלות לעמידות לקימחון בהם אופיינו הצאצאים למידת ההדבקה בקימחון. נמצא שהורשת העמידות לקימחון בתות-שדה היא כנראה תכונה פוליגנית בעלת תורשתיות של 50% ומעלה. תורשתיות של כ 60% נמצאה בחישוב שהתבסס על קורלציות של ניסויי הדבקה משנתיים עוקבות.

כדי לנסות ולמצוא את הגורם הגנטי האחראי לעמידות לקימחון בתות סורקנו 37 סמני SSR אשר פותחו לאוכלוסיית המיפוי הדיפלואידית *F.vesca x F.nubicula* והותאמו לעבודה על צמחי התרבות האוקטפלואידים. אף על פי שנמצאה בהרבה מקרים שונות ברורה בין צמחי ההורים, ששימשו להכנת האוכלוסיות המתפצלות לעמידות לקימחון, עם התקדמות הסריקה נוכחנו לדעת, שסמני ה SSR ברקע אוקטפלואיד נותנים תבנית מקטעים מסובכת מאוד, שאינה מאפשרת עשיית קורלציה בין מופעי הסמן ומידת רגישותם של צאצאי ההכלאות. אפילו באלקטרו פורזה עם גילים מיוחדים והפרדה טובה קשה היה לנתח את תבנית רב האללית המסובכת שהתקבלה. חלק מסמני ה SSR נעשו בהמשך עם פרימרים פלוארוסנטים כך שזיהוי הטוב ביותר של תבנית האללים המורכבת התקבל במכשיר ה Genetic analyzer בנווה יער. בסמנים שאל אף הקושי הצלחנו לנתח לא נמצאה תאחיזה לעמידות לקימחון בצאצאים העמידים והרגישים ביותר להדבקה בקימחון. חיפוש סמנים בכיוון אחר הוליד בידודם של 42 גנים אנלוגים לעמידות (RGA) מ cDNA ו DNA גנומי של תות-שדה ע"י שימוש בפריימרים דגנרטיביים לאיזורים שמורים בקבוצת גנים אלו. רצפי ה RGA's חולקו ל 14 תת-קבוצות בעץ פילוגנטי ולכל קבוצה פותח סמן המפריד בין האללים בתוך הקבוצה. לאחר סריקת כל הסמנים לתאחיזה לקימחון נמצא רק אלל אחד (FaRGA13) שנוכחותו הורידה את מידת הרגישות באופן מובהק, ביותר מאוכלוסיה אחת ובשנתיים עוקבות. הסיבות האפשריות לתאחיזה החלקית שהתקבלה בסמן זה הן ריחוק של הסמן מהגן הקובע את העמידות והיות התכונה מורכת מכמה לוקוסים בגנום. בהמשך פותח סמן זה עבור האוכלוסיה הדיפלואידית ונשלח למיפוי בארה"ב. סמנים נוספים באזור שימופה יעזרו לאמת את קרבת הסמן הנ"ל לעמידות לקימחון. בהמשך לתוכנית מחקר זו נבדוק את מעורבותם של גנים קנדידטים נוספים במטרה למצוא תאחיזה לעמידות ולפתח כלי עזרה לברירת הזריעים העמידים בטיפוח.

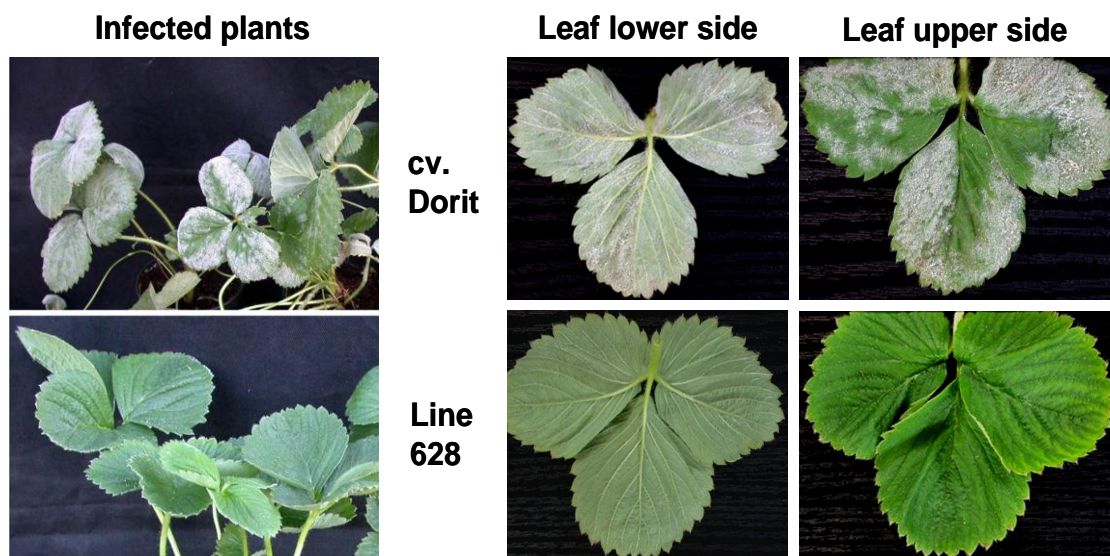
מבוא

מחלת הקימחון הנה פגע חמור בתות שדה בארץ ובעולם. בגידול תות-שדה בארץ מהווה קימחון התות בעיה מרכזית עקב תנאים מיטביים להתפתחות המחלה המתקיימים בסתיו והאביב החמים. רוב הזנים המסחריים כיום הינם רגישים למחלה והדברתה מושגת ע"י ריסוסים חוזרים ונשנים של תכשירי הדברה שונים. במחקר קודם שנעשה במעבדתו של דר' יגאל אלעד ע"י ליאת אמסלם נמצאו התנאים המיטביים להדבקה והתפתחות מחלת הקימחון בתות (אמסלם וחוב' 2005, Amsalem et al., 2006). בשנת המחקר הראשונה התמקדנו בעיקר בלימוד מנגנון עמידות הצמח לפתוגן הקימחון. בשלב ראשון זה סרקנו, במספר ניסויי הדבקה, את כל האוסף הגנטי של זני תות-שדה שברשותנו למידת עמידותו להדבקה בקימחון. הקווים והזנים הרגישים והעמידים ביותר נלקחו להמשך לימוד מנגנון העמידות כפי שיוצג בתוצאות בהמשך. מציאת עמידות טובה לקימחון באוסף הזנים של מכון וולקני, אפשר כבר מתחילת מחקר זה להשתמש בו להכלאות ולהכניסו לתוכנית הטיפוח בניסיון לברור זנים איכותיים עמידים לקימחון. במקביל יצרנו אוכלוסיות מתפצלות למידת העמידות הצאצאים לקימחון ובהם נבחר את התורשתיות של העברת העמידות לקימחון ממקורות העמידות השונים באוסף. לבסוף, נבחר שתי כיוונים לאיתור סמן האחוז לעמידות בצמח, 1. סריקת סמני SSR שמופו באוכלוסיה דיפלואידית ו 2. חיפוש גנים קנדידטים מתוך קבוצה של גנים אנלוגים למחלות בצמחים (RGA's).

פירוט תוצאות המחקר

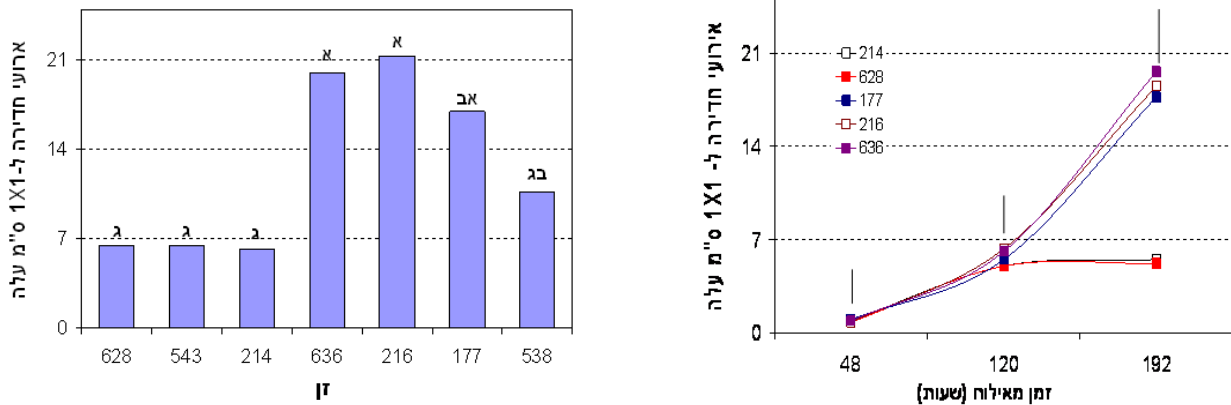
1) מציאת הקווים העמידים והרגישים ביותר לקימחון

במספר ניסויים להערכת מידת העמידות לקימחון בזני האוסף נמצאו הזנים העמידים והרגישים ביותר להדבקה בקימחון תמונה 1. הזנים הרגישים: תמר (328), דורית (216) ו Toyonaka (636) והעמידים: קו 214, קו 628 ו Selva (229) שימשו כחומר מוצא להמשך לימוד הגורמים הצמחיים המשפיעים על העמידות. ממצאים אלו מעידים על עמידות טובה לקימחון הקיימת בזני התרבות *Fragaria x ananassa*, אותה נצל למציאת גורמי העמידות ולטיפוח של זנים עמידים יותר למחלה.



תמונה 1: עוצמת המחלה בזן הרגיש דורית בהשוואה לקו 628 העמיד שלא נדבק כלל.

2) תדירות חדירת נחשוני הפטרייה נמוכה באופן מובהק בזנים העמידים בהשוואה לרגישים. בקווים 636, 216 ו-177 הרגישים גדול מספר אירועי החדירה פי 3 בהשוואה לקווים 628, 543 ו-214 העמידים (גרף מימין). בגרף משמאל אפשר לראות שכעבור 5 ימים מאילוח מס' אירועי החדירה שווה בערך בין הקווים הרגישים והעמידים. לעומת זה בשלוש יממות לאחר מכן עולה מס' חדירות קורי הפטרייה בצמחים הרגישים באופן ניכר בעוד שבקווים העמידים מס' אירועי החדירה אינו משתנה. עקומה זו יכולה להעיד על המצאות מערכת הגנה אקטיבית הנרכשת בזנים העמידים ולא ברגישים לאחר ההדבקה בפתוגן.



3) לא נמצאו הבדלים בעובי קוטיקולת העלים בזנים העמידים והרגישים לקימחון.

4) בבדיקת חלבוני הגנה (PR protein) מהקבוצות השונות בצמח, נמצאו מספר כטינאזות (CHT2-2, CHT2-1) ואנדוגלוקנאז (PR2) שביטויים ונוכחותם גבוהים יותר בקווים העמידים בהשוואה לרגישים. ההבדל הרב בביטוי חלבוני הגנה אלו בין הזנים העמידים והרגישים בהחלט יכול להשפיע על מידת ההדבקה והתפתחות מחלת הקימחון בתות.

5) לימוד הורשת העמידות לקימחון לשם לימוד הורשת העמידות יצרנו 8 אוכלוסיות מתפצלות, 6 אוכלוסיות של זן רגיש עם קו עמיד ו 2 אוכלוסיות של שני הורים עמידים (טבלה 1). בתות שדה אוכלוסייה מתפצלת מושגת ב F1 בגלל ריבוי האללים ואופיו ההטרוזיגוטי של התות (open pollinated). צאצאי ההכלאות השונות עברו ריבוי וגטטיבי ל 4 חזרות בהם נבדקה מידת הרגישות להדבקה בקימחון. השונות בין החזרות של אותו זרע ובין ממוצאי החזרות שימשו לניתוח התורשתיות בתוכנת JMP5.

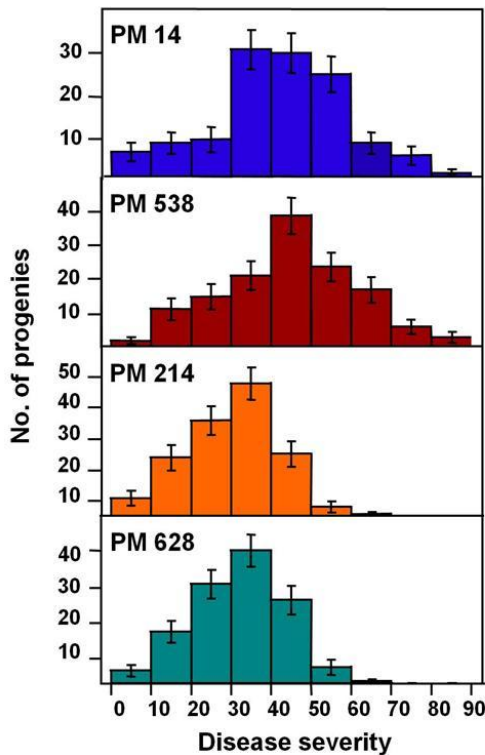
טבלה 1. רשימת קווי ההורים ומס' צאצאים באוכלוסיות המתפצלות השונות.

Population ID	Susceptible parent	Resistant parent	No. of progenies
PM 10	Tamar	Line 214	108
PM 24	Tamar	Line 628	142
PM 15	Dorit	Selva	23
PM 538	Tamar	Buba	138
PM 14	Tamar	Irvine	120
PM 212	Tamar	Fern	51
Population ID	Resistant parent	Resistant parent	No. of progenies
PM 628	Irvine	Line 628	124
PM 214	Irvine	Line 214	123

התפלגות האוכלוסיות ומידת התורשתיות

באיור 3 מוצגות ארבע אוכלוסיות נבחרות. שתי האוכלוסיות העליונות מייצגות הכלאה של זן רגיש בקו עמיד ולכן יש התפלגות נורמאלית עם ממוצע הדבקה של 41.4 ו 43.7 אחוזים באוכלוסיות, PM14 ו PM538 בהתאמה. לעומתם, באוכלוסיות, תוצרי הכלאת שני קווים עמידים יורד הממוצע לסביב 30 אחוזי הדבקה ורק מעט צאצאים עוברים את 50% הדבקה. הערכת התורשתיות H^2 מתבצעת מחישובי השונות בין הקבוצות (מודגש, עליון) לשונות הכללית (מספר תחתון). התורשתיות שנמצאה באוכלוסיות השונות נעה בין 46-56% (איור 3). השונות בין החזרות של אותו צאצא (באמצע) היא השונות הסביבתית שגם היא סביב 50% ומטה. מניתוח זה ניתן ללמוד שתנאי הסביבה חשובים ביותר להיווצרות והתפתחות המחלה אשר לא מתפתחת בקור או בשיא הקיץ כשחם והקרינה חזקה. 50% הורשה גנטית של הקימחון זו לא הורשה גבוהה במיוחד ולכן צריך לקחת אוכלוסיות מספיק גדולות ולהעריך את ההדבקה בעונות המעבר בהם שוררים תנאים מיטביים להתפתחות הקימחון.

פיזור האוכלוסייה במידת הרגישות לקימחון



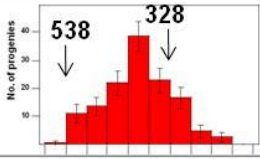
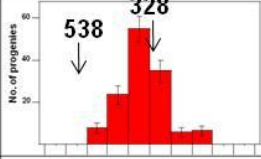
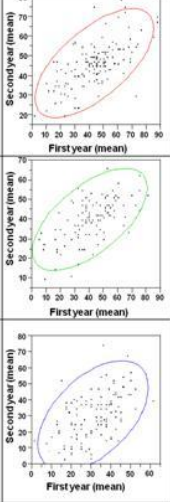
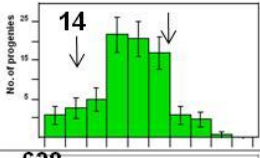
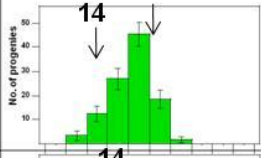
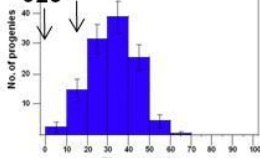
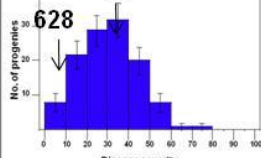
	Mean	Std Err Mean	Variance Components	H^2
PM 14	41.38	1.47	216.04 181.01 397.05	0.54
PM 538	43.69	1.49	253.63 196.34 449.96	0.56
PM 214	29.44	1.08	112.26 133.78 246.04	0.46
PM 628	30.82	1.04	110.88 98.47 209.34	0.53

איור 3. התפלגות אוכלוסיות הצאצאים לחומרת הקימחון, ניתוח השונות בתוך ובין הקבוצות וחשוב התורשתיות של מידת העמידות

חישוב התורשתיות על פי מידת הקורלציה בין חומרת הקימחון בשנתיים עוקבות

לשם אימות התוצאות משנה ראשונה וחיזוקם ערכנו מבחן ההדבקה נוסף בקימחון. ההדבקה והערכתה נעשו על אותם צאצאים ממספר אוכלוסיות שנבחרו. בתמונה 4 מוצגות ההתפלגויות של צאצאי הכלאות במידת רגישותם לקימחון בשנתיים עוקבות. מחישובי התורשתיות על פי השונויות אפשר לראות שערכי התורשתיות ירדו בשנת הבדיקה השנייה ונעו בין 24% ל 42% (H^2 second year). ממצע זה נבע כנראה ממצב השתילים והקושי להעריך את הקימחון על צמחים זקנים. לעומת חישובים אלו התורשתיות שחושבה

על פי הקורלציות בין שתי הערכות הקימחון על אותם צאצאים נמצאה גבוהה ונעה בין 52% ל 65% (איור 4 מימין). חישוב תורשתיות זה הינו מקובל ומחזק את הממצעים הראשוניים בהם נמצא שמידת ההדבקה בקימחון של צמחי תות-שדה נובעת כ 60% מעמידות גנטית (מהגנוטיפ) ותנאי הסביבה תורמים רק כ-40% לפנוטיפ הסופי.

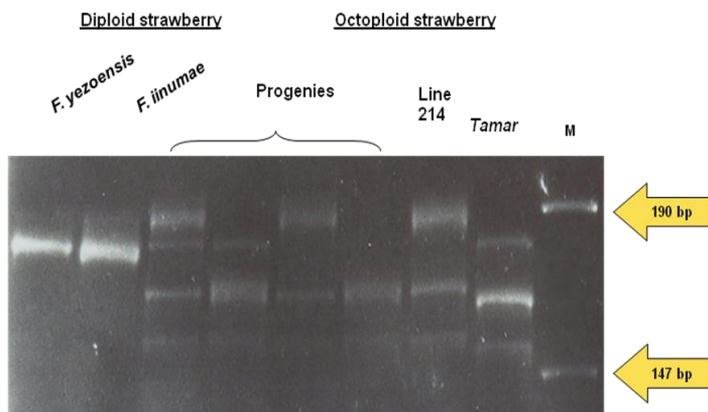
Population ID	First year			Second year			Broad sense H ²				
	Mean	SE mean	Distribution	Mean	SE mean	Distribution	First year		Second year		Correlation
							Variance Components	H ²	Variance Components	H ²	
PM 538	43.73	1.46		46.42	0.97		237.04		70.59		
PM 14	40.77	1.56		40.06	1.01		222.10		54.73		
PM 628	31.14	1.04		30.26	1.29		105.49		145.71		

איור 4. הערכת התורשתיות H² לעמידות לקימחון לפי נתוני ההדבקה של שנתיים

6) חיפוש סמן תאחיזה לעמידות לקימחון

סריקת סמני SSR

בשלב זה סרקנו 37 סמני SSR הממוקמים על שבעת קבוצות התאחיזה שמופו לאחרונה עבור תות הבר הדיפלואידי. העברת הסמנים לרקע אוקטפלואידי דרשה כיולים והתאמות, בעיקר של שיטות ההפרדה. כרמית השתמשה בגילים של אגרוז, אקרילאמיד ו Spreadex כדי להפריד את תבנית הבנדים המורכבת שהתקבלה. באיור 5 אפשר לראות הפרדה טובה של סמן ה SSR בגיל Spreadex מימין קווי ההורים



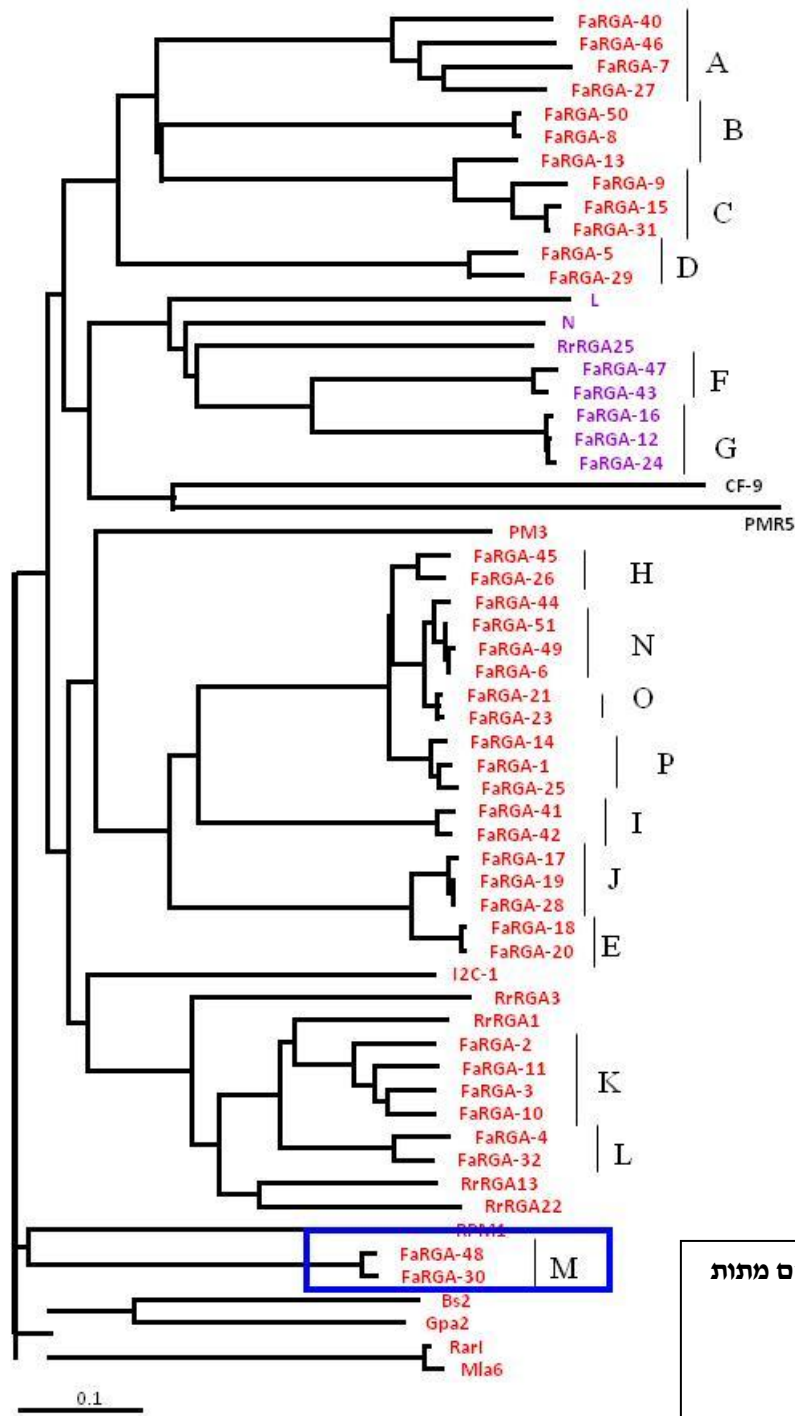
תמר ו 214, באמצע 4 צאצאים ומימין שני קווי בר דיפלואידים. בעוד שלוני הבר 1-2 אללים לכול גנום קווי התרבות מכילים עד 8 אללים פוטנציאליים עם תבנית מורכבת. הפרדה המתקבלת במכשיר ה Genetic analyzer היא הטובה ביותר לסמנים מורכבים אלו בתות. בעזרת השיטות השונות הצליחה כרמית לשלול אפשרות תאחיזה של כ 20 סמני SSR מתוך 37 שנסרקו.

איור 5: מראה הסמן EMFn128 לאחר הפרדה בגיל EL-500 Spreadex™

המסקנה, שחיפוש סמני SSR על רקע אוקטפלוואידי היא מסובכת ביותר ואולי בלתי אפשרית, הובילה אותנו להתחיל לפתח אוכלוסייה דיפלואידית מתפצלת לעמידות לקימחון. מצאנו הבדלים ניכרים ברגישות זני הבר אבל הכלאות ביניהם אינן פשוטות ואנו עושים את כל המאמצים לקבל מספר מכלואים.

שיבוט ואנליזת רצפי RGA's

דרך אלטרנטיבית לחיפוש סמנים (אללים) לעמידות לקימחון היא חיפוש מתוך משפחת הגנים לעמידות בצמחים המכילים אזורים שמורים וביניהם עשוי להימצא גן המקנה עמידות לפטרייה. על יד פריימרים דגנרטיביים לאזורים שמורים

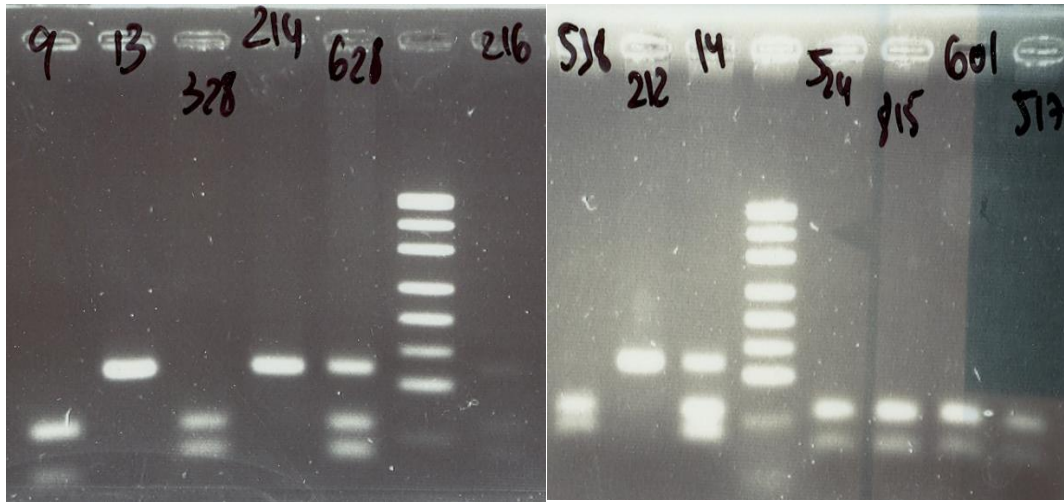


GLPL ו NBS בודדה
 כרמית 42 גנים מהמשפחה
 וצירפה אותם לעץ פילוגנטי
 יחד עם עוד גנים לעמידות
 מצמחים אחרים (איור 6). כדי
 לחפש תאחיזה של סמן
 מסוים לעמידות פיתחה
 כרמית סמני PCR
 המבדילים בין קבוצות הגנים
 השונות בעץ (איור 6), קבוצות
 (A-P) ובין האללים בתוך
 הקבוצה.

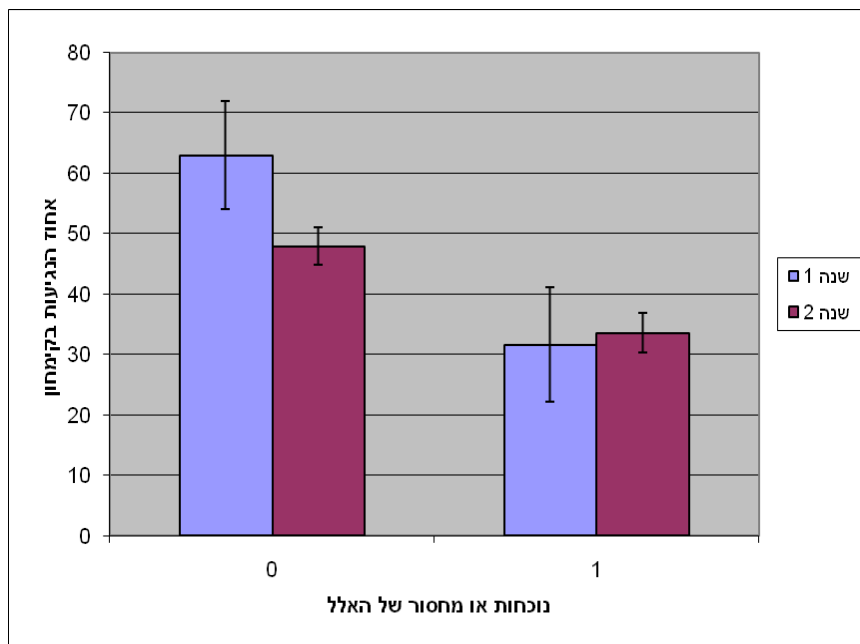
איור 6: עץ פילוגנטי של רצפי RGA השונים מתות וגנים נוספים לעמידות מצמחים.

תאחיזה חלקית של האלל FaRGA13 מקבוצה C לעמידות לקימחון

לאחר חיפוש תאחיזה בין אללים ספציפיים למופע הצאצאים מהכלאות שונות נמצא אלל אחד FaRGA13, שהימצאותו מקנה ירידה בנגיעות בקימחון באופן מובהק (איור 8). באיור 7 ניתן לראות את מראה הסמן שפותח לאזור C בעץ הפילוגנטי המבדיל בין אללים 9 ל 13. אפשר גם לראות את השונות בוני התות ששימשו להכלאות, 328 ו 538 הומוזיגוטים לאלל 9, 214 ו 212 הומוזיגוטים לאלל 13 וצמחים 14 ו 628 הם הטרוזיגוטים. בדיקת הסמן בצאצאים הראה תאחיזה חלקית בין הצאצאים המוגדרים רגישים או עמידים (איור לא מוצג). על אף התאחיזה החלקית אלל 13 מסביר ירידה משמעותית ומובהקת בנגיעות (איור 8) ויתכן שנמצא בתאחיזה לאחד הלוקוסים המקנה עמידות לקימחון בתות.



איור 7: תבנית חיתוך רצפי RGA 9 ו 13 מאזור C עם האנזים AluI. אלל 9 נחתך בעוד שאלל 13 לא נחתך. מראה השונות בהרכב האללים בצמחי ההורים 14, 212, 538, 628, 216, 214, 328.



איור 8: ממוצאי הנגיעות בקימחון בשנתיים עוקבות בצאצאי האוכלוסייה PM14 המכילים את אלל RGA13 (מסומן 1) ושאינם מכילים אותו (מסומן 0).

מסקנות המחקר

בשנות המחקר הראשונה נמצאה עמידות טובה לפתוגן הקימחון בסריקת האוסף הגנטי של קווי התרבות (*F.x ananassa*) האוקטאפלואידים ואין צורך להעבירו ממיני הבר הדיפלואידים בתהליך ארוך ומסובך יותר. הקווים העמידים שנמצאו ישמשו להעברת העמידות בטיפוח ולהמשך לימוד מנגנון העמידות. מתוצאות המחקר עולה כי שלב חדירת נחשוני הפטרייה לצמח הוא השלב בו מתבטאת העמידות וחדירה זו מופחתת משמעותית בצמחים העמידים. בנוסף נמצאו מספר חלבוני הגנה (PR) כעשויים לפעול במנגנון ההגנה האקטיבי של הצמח נגד פטריית הקימחון. כמובן שטיפוח לעמידות נעשה לכל אורך תקופת המחקר ונעזר בכלים ניסויים אותם אנו מפתחים במחקר ובלימוד מנגנון העמידות.

בהמשך המחקר נמצא באוכלוסיות מתפצלות שהורשת העמידות לקימחון נעה סביב 50%. התפלגות אוכלוסיית הצאצאים בעמידות לקימחון מרמזת על הורשה פוליגנית של התכונה. כמובן שהורשה פוליגנית היא קשה יותר לניתוח ולמציאת סמני תאחיזה. למרות ממצא זה עדיין קיימת האפשרות שיש גן אחד או לוקוס עיקרי לעמידות ושאר הגנים תורמים פחות לעמידות הכללית. תחילת סריקה של סמני SSR ברקע האוקטפלואיד העלתה מיד את הבעייתיות הקיימת בדרך זו. ריבוי האללים בגנוטיפים האוקטפלואידים מסבך את אפשרות הפרדתם וניתוח תבנית ה-SSR המתקבלת. ניתוח סמני SSR בתות תרבותי אפשרית אם בכלל רק בעבודה עם פרימרים פלוארוסנטים במכשיר ה-Genetic analyzer. מעורבותם של כ-42 גנים קנדידטים ממשפחת ה-Resistance gene analogs (RGAs) בהקניית העמידות לקימחון נבדקה בעבודת המסטר של כרמית ואלל FaRGA13 נמצא בעל תאחיזה חלקית לעמידות ונוכחותו בצמחי אוכלוסיית F2 תורם לירידה מובהקת בנגיעות הצמחים. בהמשך נמצאה השונות בסמן זה (איזור C) בטיפוסי ההורים הדיפלואידים ששימשו להכנת אוכלוסיית המיפוי והסמן ימופה בארה"ב על מפת תאחיזה של תות הבר. כיום בהמשך למחקר על העמידות לקימחון אנו עושים כל מאמץ לפתח אוכלוסייה דיפלואידית מתפצלת לקימחון מהמינים *F. vesca* ו-*F. iinumae* הרגישים ועמידים בהתאמה לקימחון. כמו כן תיבדק מעורבותם של PR2 ו-PR5 שנמצאו קשורים בעמידות לקימחון במיני וורדניים אחרים ועוד גנים הומולוגיים לגנים לעמידות בצמחים אחרים.

סיכום עם שאלות מנחות

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
א. סריקת אוסף הזנים למידת עמידות הצמחים להדבקה בקימחון.
ב. לימוד מנגנון העמידות לקימחון ומציאת השלב בו נעצרת המחלה בצמחים העמידים.
ג. הכנת אוכלוסיות מתפצלות לקימחון ואיפיון כ-2800 צאצאים.
ד. מציאת התבנית של הורשת התכונה (מונוגנית או פוליגנית), חישוב התורשתיות לעמידות מהשונות בתוך ובין קבוצות הצאצאים. והערכת התורשתיות גם מקורלציה בשנתיים עוקבות.
ה. סריקת סמני SSR לתאחיזה לעמידות לקימחון.
ו. חיפוש גן לעמידות בצמחים (RGA) המעורב בהקניית העמידות לקימחון בצמח.

<p>2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.</p>
<p>נמצאה עמידות טובה לקימחון במספר צמחים מאוסף הזנים הקיים במכון. אם כי העמידות אינה מוחלטת נמצא הבדל ניכר בין צמחים רגישים ועמידים.</p> <p>תוצאות השנתיים הראשונות של המחקר מרמזות על מנגנון עמידות אקטיבי נרכש של ביטוי חלבוני הגנה (PR protein) המונעים את המשך חדירת הפטרייה לאפידורמיס והתפתחות המחלה.</p> <p>תבנית הורשת העמידות לקימחון נראית פוליגנית בכל 8 האוכלוסיות מתפצלות שהוכנו. התורשתיות שחושבה להקניית העמידות בצאצאים נעה בסביבות 50% ומעלה.</p> <p>למרות התאמה די טובה של סמני SSR מהרקע הדיפלואידי, נכשלה סריקת הסמנים על רקע אוקטפלואידי. נמצא אחוז לעמידות לקימחון ונוכחותו גרמה לירידה מובהקת ברגישות הצמח למחלה.</p>
<p>3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.</p>
<p>א. העמידות היא נרכשת באופן אקטיבי ולא פיסי. מידע זה ממקד את החיפוש לגנים קנדידטיים</p> <p>ב. הורשה פוליגנית עשויה להקשות על מציאת סמן בדיד לעמידות. עדיין מסובך לעשות QTL על רקע פוליפלואידי.</p> <p>ג. רק כ- 50% במופע התכונה (מידת העמידות/רגישות) מוסבר גנטית ולכן יש משמעות חשובה לתנאי הסביבה בערכי העמידות החלקית המוערכת בקווי ההורים ובצאצאים.</p> <p>ד. כתוצאה מכישלון שימוש בסמני SSR על רקע אוקטפלואידי אנו מפתחים כיום אוכלוסיה דיפלואידית המתפצלת לקימחון.</p> <p>ה. אנו מקווים שהאלל FaRGA13 שנמצא יהווה בסיס למציאת סמנים לעמידות לקימחון בהמשך.</p>
<p>4. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר.</p>
<p>הקושי באיתור סמנים על הרקע האוקטפלואידי הוביל אותנו להביא קווים דיפלואידיים, להגדיר בהם את מידת הרגישות לקימחון ולפתח מהם אוכלוסיות מתפצלות לקימחון. חיפוש סמן תאחיזה באוכלוסיות אלו פשוט בהרבה ויהיה קרוב לוודאי בר שימוש ברקע האוקטפלואידי.</p> <p>בדיקת גנים קנדידטים עשויה להוביל למציאת גן לעמידות לקימחון בתות-שדה.</p> <p>המשך מתמיד של שילוב הורים עמידים לקימחון בטיפוח וברירת זנים חדשים עמידים לקימחון.</p>
<p>5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.</p>
<p>תוצאות המחקר עד כה הוצגו ביום דיווח שנתי של ועדת היגוי "דחיקת חומרי הדברה" במוסדות המדען הראשי.</p>
<p>תוצאות המחקר פרסומו ב:</p>
<p>נדב דוד - לימוד מנגנון העמידות למחלת הקימחון בתות-שדה הנגרמת ע"י הפטרייה <i>Podosphaera aphanis</i>. עבודת מוסמך, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון והסביבה, האוניברסיטה העברית בירושלים, 2008</p> <p>כרמית ליפשיץ - לימוד הורשת העמידות לקימחון ואיתור סמן גנטי האחוז לעמידות בזני תות-שדה. עבודת מוסמך, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון והסביבה, האוניברסיטה העברית בירושלים, 2009</p>
<p>Lifshitz C., David N., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., and Dai N. (2007)</p> <p>Inheritance of powdery mildew resistance in strawberry lines from the Israeli germplasm collection. P.</p>

70-74. In: Takeda, F., D.T. Handley, and E.B. Poling (ed.). Proc. 2007 N. American Strawberry Symposium. North American Strawberry Growers Association, Kemptville, ON Canada.

Lifshitz C., Shalit N., Slotzky S., Tanami Z., Elad Y., and Dai N. **Heritability Studies and DNA Markers for Powdery Mildew Resistance in Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duchesne)**. Proceedings of the VI International Strawberry Symposium, Heulva, Spain (2008). *Acta Hort.* (in press)

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)