

**התמודדות עם מזיקים מרכזיים בחקלאות – פיתוח עמידות גנטית לכנימת עש הטבק באבטיח
ובעגבנייה**

Development of genetic resistance to whiteflies in watermelon and tomato

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

משה לפידות מדעי הצמח, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, lapidotm@volcani.agri.gov.i
אילן לוי, מדעי הצמח, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, vclevini@volcani.agri.gov.il
יעקב תדמור, מדעי הצמח, מינהל המחקר החקלאי, נווה יער, tadmory@volcani.agri.gov.il
שי מורין, הפקולטה לחקלאות, האוניברסיטה העברית, shai.morin@mail.huji.ac.il

תקציר

1. הצגת הבעיה: כנימת עש הטבק (כע"ט) הינה אחד המזיקים העיקריים בגידולי ירקות בארץ ובעולם. כע"ט גורמת לנזק ישיר על-ידי מציצת נוזלי הצמח והפרשת טל-דבש המשמש מצע גידול לפטריית הפייחת. בנוסף וחמור מכל אלה, כע"ט משמשת כווקטור של מחלות וירוס בעלות חשיבות כלכלית רבה. אין ספק כי פיתוח עמידות גנטית טבעית לכע"ט היא הדרך הטובה והיעילה ביותר להתמודדות עם מזיק מפתח זה.
2. מטרת המחקר: בתוכנית תשתיתית זו, הצענו לשלב כלים צמחיים, גנטיים ומטבוליים לפיתוח עמידות גנטית יעילה כנגד כע"ט בעגבנייה ובאבטיח. שלבי העבודה:
 - א. זיהוי מקורות עמידות לכע"ט במיני בר.
 - ב. החדרת מקורות העמידות שנבחרו למיני התרבות.
 - ג. פיתוח קוי עגבנייה ואבטיח עמידים לכע"ט.
 - ד. פיתוח תשתית מחקרית לזיהוי סמנים מולקולריים ולמיפוי האתרים המבקרים את העמידות.
3. שיטות העבודה: רמת הדחייה של מיני הבר נבחנה במבחני אין ברירה - נבחנה התפתחות בוגרים ודרגות צעירות של כע"ט כאשר מיני הבר משמשים כמאכסנים. בשלב שני, לאחר פיתוח קוי תרבות עמידים בעגבניה, רמת הדחייה של הקוים הללו נבחנה במבחני ברירה – כנימות עש הנושאות את וירוס צהבון האמיר של העגבניה פוזרו באופן חופשי מעל צמחי עגבניה עמידים ורגישים, ונבדקה רמת ההדבקה של הצמחים בוירוס.
4. תוצאות עיקריות: עגבניה – זיהינו 11 קוים של מיני בר אשר הראו עמידות לכע"ט. נבחרו 4 קוים אשר נלקחו לריבוי ולהכלאות עם מיני תרבות. בהמשך נשארנו עם שני מקורות עמידות יציבים שמתוכם המשכנו לקדם אחד וכיום יש בידינו אוכלוסיית BC_1F_3 קרובה לתרבותית בעלת עמידות לכע"ט.

אבטיח – זיהינו מקורות עמידות מבטיחים לכע"ט, אשר נלקחו להכלאות עם אבטיח תרבותי. אולם לצערנו תוצרי ההכלאה בין מין הבר לתרבותי נתגלו כבעלי בעיית פוריות קשה. לאור זאת הוחלט לעצור את העבודה.

5. מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: קודם חומר גנטי בעל עמידות טובה לכע"ט, אך מומלץ לשלב חומר גנטי זה עם חומר גנטי בעל עמידות לוירוס צהבון האמיר על מנת לחולל עמידות נרחבת וברת קיימא.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדו"ח המדעי

1. דר' אביב דומברובסקי,

2. דר' עינת צחורי-פיין,

3. דר' עמית גל-און

הצהרת החוקר הראשי:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

תאריך: 20.1.2017



חתימת החוקר:

תוכן עניינים

נושא	עמוד
דף שער	1
תוכן עניינים	3
מבוא	3
מטרות המחקר	5
פירוט עקרי הניסויים ותוצאות המחקר (שיטות ותוצאות)	6
דיון	18
סיכום מיזם	19
רשימת פרסומים	20
ביבליוגרפיה	20
סיכום עם שאלות מנחות	22

מבוא

כנימת עש הטבק

כנימת עש הטבק (כע"ט) (*Bemisia tabaci*) היא מזיק מפתח בגידולי ירקות בארץ ובעולם. הכנימה גורמת לנזקים קשים ביותר לירקות הגדלים בשטח פתוח, ובמידה פחותה לגידולים במבנים. כע"ט הינה מזיק רב-פונדקאי באזורים הטרופיים והסוב-טרופיים. היא גורמת נזק למינים רבים של ירקות, צמחי נוי, גידולי-שדה ועצי פרי. בשנים האחרונות הפכה כע"ט לאחד המזיקים הבעייתיים ביותר בחקלאות (Lapidot et al., 2014). כע"ט גורמת לנזקים ישירים הנובעים ממציצת כמויות גדולות של מוטמעי הצמח מצינורות ההובלה שלו, דבר הגורם להיחלשות הצמח. טל-הדבש המופרש על-ידי הכנימה משמש מצע גידול לפטריות הפייחת, המכסות את העלים בצבע שחור וגורמות להפרעה חמורה בתהליך ההטמעה ברקמות ירקות של הצמח.

בנוסף, גורמת הכנימה לתופעות פיסיולוגיות כמו הכספה בקישואים (הנגרמת ע"י זחלי הכנימה) ולהבשלה לא אחידה בעגבניות. אולם הנזק הקשה ביותר הנגרם ע"י כנימת העש הוא נזק עקיף – העברת וירוסים. כע"ט יכולה לשאת ולהעביר לצמחים למעלה ממאה וירוסים שונים המשתייכים ברובם לשלוש משפחות (Jones 2003). ביניהם וירוסים בעלי חשיבות כלכלית רבה – וירוס צהבון האמיר בעגבניה, וירוס הגימרון הכלורטי של האבטיח באבטיח ובמלון, ועוד.

מחזור חיי הכנימה

נקבת כע"ט מטילה ביצים על גבי הצד התחתון של הצמח הפונדקאי. כנימה אחת יכולה להטיל 100 עד 500 ביצים במשך חייה. מהביצה בוקע זחלן, שהוא נייד, ולאחר שהוא בוחר מקום מתאים על פני העלה להתיישב, הזחלן נועץ את החדק שלו בעלה ואינו נע יותר. הזחלן מתפתח דרך ארבע דרגות נימפה, דרגת הנימפה האחרונה היא בעלת עיניים אדומות ונקראת גם גולם, עד שמגיה בוגר. תנאי הסביבה, ובעיקר טמפרטורה, משפיעים על אורך מחזור החיים של הכנימה. בתנאים המועדפים על

הכנימה, למשל בטמפרטורה של 25 מעלות צלזיוס, מחזור החיים אורך כשלושה שבועות בלבד. בתנאי האקלים בישראל כע"ט יכולה להשלים כ-12 ומעלה מחזורי חיים בשנה, היינו בחודשי הקיץ והסתיו אוכלוסיית הכנימות בשדה יכולה להגיע למספרים גבוהים מאד, דבר המקשה מאד על ההתמודדות עם כע"ט בתנאי שדה (Lapidot et al., 2014).

התמודדות עם כע"ט

ניתן להתמודד עם נזקי הכנימה על ידי שלוש דרכים ממשקיות עיקריות – שיטות פסיקליות, הדברה כימית והדברה ביולוגית.

שיטות פסיקליות – השימוש במחסומים פיזיים כגון יריעות פלסטיק או רשתות 50 מש החוסמות פיזית הגעה של כע"ט לצמח מקובל מאד בארץ וברחבי המזרח התיכון. כמו כן הודגם כי שימוש ביריעות וברשתות הבולעות קרינה אולטרה-סגולה מעכב חדירה של כע"ט (וחרקים אחרים) למבנים המחופים ביריעות אלו (Antignus et al., 2001). אולם השימוש ביריעות וברשתות מייקר את הגידול, וגורם לבעיות של חימום יתר בתוך המבנים, הצללה ולחות גבוהה.

אמצעי נוסף המיושם בגידולי שטח פתוח הוא חיפוי הקרקע ביריעות פלסטיק צהובות אשר מושכות אליהן את הכנימה וע"י כך מונעות את נחיתתן על הצמח והדבקתו. נמצא כי יריעות החיפוי גורמות לקטילת החרק בשל החום הגבוה הנפלט מהן (Cohen et al., 1974). אולם השיטה יעילה רק כל עוד הצמחים הם צעירים, היינו לתקופה של 2-3 שבועות לאחר השתילה. עם הזמן הצמח גדל והוא מכסה את היריעה ואז נעלם אפקט ההגנה.

הדברה כימית - ע"י שימוש בקוטלי חרקים ניתן להתמודד ביעילות יחסית עם הנזקים הישירים הנגרמים ע"י כע"ט כאשר אוכלוסיית המזיק נמוכה, אולם קוטלי חרקים אינם יעילים מספיק הן במניעת הפצת וירוסים המועברים ע"י כע"ט והן כאשר אוכלוסיית המזיק גבוהה. כמו כן עלות קוטלי החרקים היא גבוהה יחסית, חומרי ההדברה אינם סלקטיביים ועלולים לפגוע בחרקים מועילים ועם הזמן הכנימות מפתחות עמידות לקוטלי החרקים. לשימוש המסיבי בחומרי הדברה יש השפעה שלילית על הסביבה, הגוברת עם הגדלת המינונים בעקבות התפתחות העמידות בעוד שהשווקים היום דורשים תוצרת שהיא נקייה משאריות של חומרי הדברה.

הדברה ביולוגית - שימוש באויבים טבעיים נגד הכנימה. ידועים כיום שלושה אויבים טבעיים המראים יעילות טובה. הראשון הוא צרעה טפילית, צרעת המונדוס (*Eretmocerus mundus*) אשר תוקפת את דרגות הנימפה של הכנימה, עם העדפה לדרגות הנימפה השנייה והשלישית. הצרעה מטילה ביצה מתחת לנימפת כע"ט, זחל הצרעה הבוקע נכנס לתוך נימפת כע"ט ומתפתח בתוכה. האויב הטבעי השני הוא אקרית טורפת, אקרית סבירסקי (*Amblyseius swirskii*). האקרית ניזונה באופן טבעי על גרגרי אבקה של צמחים אך טורפת גם את דרגות הביצה והזחלן של כע"ט. האויב הטבעי השלישי הוא רכנף טורף (*Nesidiocoris tenuis*) הטורף את הכנימה בכל שלבי חייה. יש לציין כי האויבים הטבעיים נוסו בעיקר בצמחים ממשפחת הסולניים (בעיקר בעגבנייה ובפלפל) ובבתי צמיחה. האויבים הטבעיים טרם נוסו בגידול בשטח פתוח וגם לא בצמחי אבטיח.

לכל אחת מגישות ההדברה יעילות מוגבלת ותופעות לוואי בלתי רצויות כגון, התחממות יתר במחסומים פיזיים, זיהום סביבתי בהדברה כימית ויעילות מוגבלת בהדברה ביולוגית. כל אחת מגישות אלו כרוכה בהגדלת התשומות הפוגעת בהכנסות החקלאי ומעלה את מחיר התוצרת. בנוסף, היכולת של כע"ט להעביר וירוסים מרכזיים בגידולי ירקות מקשה מאד על יישום תכניות הדברה במיוחד בגידולי עגבניות ואבטיח בשל העובדה שהרמות הנסבלות של המזיק הן אפסיות. **אין ספק כי פיתוח עמידות גנטית טבעית בצמחים כנגד כע"ט היא הדרך הטובה והיעילה ביותר להתמודד אתה.**

עמידות גנטית

בתוך מיני התרבות מצויות עמידויות מוגבלות למזיקים ולמגישי הצעת המחקר הנוכחית לא ידועים מקורות עמידות בתוך זני העגבניות והאבטיחים המגודלים כיום. הצמחים בטבע, בהם מיני הבר של צמחי התרבות, משתמשים במנגנונים שונים כדי להתגונן מפני מגוון של מזיקים. תכונות אלו קשורות לפעמים במטבוליטים (לדוגמא: רעלנים או חומרי דחייה), או במחסומים פיזיים (לדוגמא: קליפה עבה וקשה, שעירות יתר). במהלך התירבות של צמחים (domestication) ובמהלך טיפוח הזנים המודרניים (breeding) נעלמו מרבית התכונות המבקרות מנגנונים אלו, אם כתוצאה מסלקציה כנגדן (טעם רע או מראה לא רצוי) או בהיעדר סלקציה בעדן. ישנם דיווחים בספרות המראים כי בסוגים שונים של מיני בר של העגבנייה והאבטיח יש כאלו המראים עמידות נגד כע"ט (Firdaus et al., 2012, Simmons and Levi 2002). בסריקת החומרים המופרשים בעלים של מיני בר הגורמים לדחיית כנימות עש נמצאו הסקווויטרפנים zingiberene ו-curcumene והמונוטרפנים p-cymene ו- α -terpinene (Freitas et al., 2002, Bleeker et al., 2009). phellandrene כבעלי הפעילות החזקה ביותר (Bleeker et al., 2012) וכי צמחי עגבנייה העמידים לכע"ט אך הרגישים לוירוס צהבון יתרה מזו, לאחרונה הודגמו הקשר בין תכולת zingiberene בעלה לבין מידת העמידות של צמחי עגבניה לכע"ט (Bleeker et al., 2012) וכי צמחי עגבנייה העמידים לכע"ט אך הרגישים לוירוס צהבון האמיר לא נדבקו בוירוס כאשר נחשפו לכע"ט נושאות וירוס, וזאת מכיוון שהכנימות לא ניזונו על הצמחים העמידים (Rodríguez-López et al., 2011, 2012).

מטרות המחקר

בתוכנית תשתיתית זו, הצענו לשלב כלים צמחיים, גנטיים ומטבוליים לפיתוח עמידות גנטית יעילה כנגד כע"ט בעגבנייה ובאבטיח. העבודה בוצעה בשלבים הבאים:

1. זיהוי מקורות עמידות לכע"ט במיני בר.
2. החדרת מקורות העמידות שנבחרו למיני התרבות.
3. פיתוח קוי עגבנייה ואבטיח עמידים לכע"ט.
4. פיתוח תשתית מחקרית לזיהוי סמנים מולקולריים ולמיפוי האתרים המבקרים את העמידות.

פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

שיטות

מבחני אין ברירה – כנימות עש מסונכרנות (5 זוגות של כנימות בוגרות צעירות אשר הגיחו ב-72 השעות האחרונות לצמח) נכלאו בכלוב עלים וניזונו מהצמחים הנבדקים למשך 4 ימים. בסיום ההזנה הבוגרים סולקו, מספר הביצים שהוטלו נספר, והצמחים גודלו בחממה מוגנת מחרקים ל-3 שבועות נוספים. בסיום שלושת השבועות נספרו הכנימות הבוגרות אשר התפתחו על כל צמח – נספרו נימפות בדרגה 4 (עיניים אדומות) ("גולם"), ונשלים ריקים אשר נשארים לאחר הגחת הבוגר. בסיום הניסוי חושב אחוז השרידות של כע"ט על כל עלה – מספר הבוגרים שהתפתחו חלקי מספר הביצים שהוטלו. צמחים אשר נמצאו מבטיחים – התפתחות של 50% ומטה של כע"ט לעומת ביקורת (זן מסחרי של אבטיח או עגבנייה) נלקחו לריבוי ולהכלאות. בדור הבא הצמחים נבדקו פעם נוספת במבחני אין ברירה, כאשר עקבנו אחר כל שלבי מחזור החיים של הכנימה – מספר ביצים המוטלות, מספר הנימפות, מספר הבוגרים וכו'.

בניסויים הראשוניים שנעשו במיני בר של אבטיח היה קושי רב לספור את מספר ביצי כע"ט אשר הוטלו וזאת עקב צורת העלים של מיני הבר, ולכן בניסויים אלו נספרו מספר הבוגרים אשר הגיחו על כל עלה לעומת מספר הבוגרים שהגיחו על צמח הביקורת התרבותי.

מבחני ברירה והדבקה - קיים אשר נמצאו כעמידים במבחני אין הברירה נבחנו גם במבחני ברירה, כאשר כנימות עש מסונכרנות במספר מדוד (כ-10 כנימות לצמח) שוחררו בכלוב בו הושמו צמחים עמידים ורגישים בצורת שתי וערב, כאשר ספרנו את מספר הכנימות פר צמח. במבחן זה הכנימות בוחרות באופן חופשי את הצמח ממנו הן תיזונה. במבחנים שאנו ערכנו שילבנו במבחני הברירה גם במבחני הדבקה והעברה של שני וירוסים מרכזיים המועברים על ידי כנימת עש הטבק – וירוס צהבון האמיר של העגבנייה, ווירוס הגימרון הכלורוטי של האבטיח. הכנימות הוכנסו ל-48 שעות של הזנת רכישה, עם צמחי עגבניה הנגועים בוירוס צהבון האמיר של העגבניה או עם צמחי אבטיח הנגועים בוירוס הגימרון הכלורוטי של האבטיח. בסיום הזנת הרכישה, הכנימות נושאות הוירוס הוכנסו לכלוב עם צמחי בוחן צעירים בשלב העלה האמיתי הראשון. צמחי הבוחן נזרעו במגשי "חישתיל" בצורת שתי וערב – צמח עמיד ואחריו צמח רגיש וכן הלאה. הכנימות נושאות הוירוס הושארו ל-48 שעות הזנת הדבקה עם הצמחים הנבחים. בסיום הזנת הדבקה הצמחים רוסו, והועברו לחממה מוגנת חרקים להמשך גידול. לאחר 21-28 יום הצמחים נסקרו להתפתחות תסמיני מחלה ומספר הצמחים הנגועים בוירוס בכל טיפול נספר, כמו גם המספר הכללי של הצמחים, ונקבע אחוז ההדבקה של כל גנוטיפ.

עגבניה

מאחר ובתחילת המחקר לא היו בידינו כל מידע על מקורות עמידות לכע"ט בעגבניה, בצענו סריקת ספרות מקיפה שבעקבותיה זוהו 66 מקורות גנטיים מהבר בעלי פוטנציאל עמידות כנגד כע"ט (טבלה 1). הבסיס לזיהוי היה: (1) עפ"י אזור גיאוגרפי, עם התמקדות על מקורות גנטיים שנאספו מאיי

הגלאפגוס שם דווח בעבר על מציאותם של מיני בר הדוחים כע"ט; ו- (2) מיני בר בעלי מבני טריכומות ייחודיים בשל מעורבותן בהפרשת חומרים נדיפים בעלי פוטנציאל להרחקת כע"ט. כל אחד מ- 66 המקורות הגנטיים שלעיל נזרע ב- 4 חזרות (כל חזרה – צמח). הצמחים נבדקו במבחי אין ברירה - כנימות מסונכרנות נכלאו בכלוב עלים והוזנו מהצמחים הנבדקים למשך 4 ימים. בסיום ההזנה הבוגרים סולקו, והצמחים המשיכו בגידול לשלושה שבועות נוספים. בסיום נספרו הכנימות הבוגרות אשר התפתחו על כל צמח, כל זאת מתוך כוונה לזהות צמחים מבטיחים – התפתחות של 50% ומטה של כע"ט לעומת ביקורת (הזן מסחרי של עגבניה M82 נמצא בניסויים אלה כבעל שרידות ממוצעת של 58.5%).

במהלך הניסויים הראשונים נתקלנו בשתי בעיות עיקריות: (1) קושי בהנחת כלובי עלים על מיני הבר ממקור *S. galapagense* בשל פריכות העלים ו- (2) קושי חלקי בריבוי הצמחים שנמצאו בעלי עמידות חלקית או מלאה. יחד עם זאת, זוהו 11 קווים בעלי פוטנציאל עמידות להמשך עבודה (טבלה 2). חלק ניכר מהקווים הללו נזרעו שוב לאימות התוצאות. כמו כן, 11 הקווים המבטיחים גודלו בחממות מוגנות מחרקים הן למטרת ריבוי והן להכלאות עם מינים תרבותיים של העגבניה. חשוב לציין כבר כאן את שני הקווים המובילים LA0436 ו- LA0438, שניהם ממקור *S. galapagense* אשר הציגו עמידות מלאה לכע"ט. שני קווים אלו המשיכו להציג ביצועי עמידות טובים מאוד גם בהמשך הפרויקט והם אלו המומלצים לכל עבודה עתידית בתחום זה.

טבלה מספר 1. מקורות העמידות שנבחנו בשנה הראשונה לפרויקט.

Code	Accession	Species
WF-001	LA0166 (12L4019 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-002	LA0292 (05L3518)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-003	LA0317 (08L9002 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-004	LA0420 (05L3582 op)	<i>S. pimpinellifolium</i>
WF-005	LA0421 (09L9946 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-006	LA0422 (04L0730 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-007	LA0423 (04L1357 self)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-008	LA0426 (00L2052 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-009	LA0428 (06L5001 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-010	LA0429 (12L4020 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-011	LA0434 (00L2054 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-012	LA0436 (00L2055 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-013	LA0437 (04L0001 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-014	LA0438 (04L0002 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-015	LA0480A (04L2248 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-016	LA0483 (05L4523 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-017	LA0521 (08L9003 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-018	LA0522 (10L1084 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-019	LA0524 (10L1002 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-020	LA0526 (05L4524 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-021	LA0527 (00L2059 self)	<i>S. galapagense</i>

WF-022	LA0528 (06L5002 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-023	LA0528B (06L5003 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-024	LA0529 (04L0003 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-025	LA0530 (04L1684 mass op)	<i>S. galapagense</i>
WF-026	LA0532 (05L5004 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-027	LA0746 (97L6175 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-028	LA0747 (05L4525 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-029	LA0748 (04L2250 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-030	LA0749 (01L4099 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-031	LA0927 (04L2256 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-032	LA0929 (07L7005 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-033	LA0930 (04L004 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-034	LA0932 (09L9928 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-035	LA1035 (03L8019 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-036	LA1036 (01L4100 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-037	LA1037 (042251 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-038	LA1039 (04L2252 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-039	LA1040 (08L9004 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-040	LA1041 (02L8021 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-041	LA1042 (05L2253 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-042	LA1043 (04L2254 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-043	LA1044 (07L7006 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-044	LA1136 (02L6068 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-045	LA1137 (06L5019 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-046	LA1138 (11L3000 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-047	LA1139 (06L5024 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-048	LA1141 (04L2257 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-049	LA1427 (08L9005self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-050	LA1447 (07L7001 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-051	LA1448 (07L7007 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-052	LA1449 (00L2086 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-053	LA1450 (05L4528 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-054	LA1452 (08L9006 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-055	LA1508 (07L7003 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-056	LA1627 (07L7004 self)	<i>S. galapagense</i>
WF-057	LA2123A (05L3723 self)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-058	LA2123B (05L3723 self)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-059	LA2135 (10L1695 op)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-060	LA2139A (07L7428-1-5 op)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-061	LA2140A (07L7429 op)	<i>S. lycopersicum var. cerasiforme</i>
WF-062	LA2857 (10L1475 self)	<i>S. pimpinellifolium</i>
WF-063	LA3123 (00L2974 self)	<i>S. pimpinellifolium</i>
WF-064	LA3124 (05L5020 self)	<i>S. cheesmaniae</i>
WF-065	LA3718 (10L1426 op)	<i>S. lycopersicum</i>
WF-066	PI127826	<i>S. habrochaites</i>

טבלה מספר 2. ממוצע שיעור השרידות של כע"ט ב-11 מיני הבר אשר נמצאו עמידים באורח מובהק בסריקה הראשונית בהשוואה לקו הביקורת הרגיש M-82 [אותיות שונות מעל ממוצע השרידות מצינות הבדלים מובהקים סטטיסטית, $[P(F)<0.05$].

Accession	Species	ממוצע שרידות
M-82	<i>S. lycopersicum</i> Susceptible Control	58.5 ^A
LA0317 (08L9002 self)	<i>S. galapagense</i>	8.8 ^B
LA0420 (05L3582 op)	<i>S. pimpinellifolium</i>	7.3 ^B
LA0422 (04L0730 self)	<i>S. cheesmaniae</i>	14.2 ^B
LA0436 (00L2055 self)	<i>S. galapagense</i>	0.0 ^C
LA0438 (04L0002 self)	<i>S. galapagense</i>	0.0 ^C
LA0524 (10L1002 self)	<i>S. cheesmaniae</i>	11.1 ^B
LA0528B (06L5003 self)	<i>S. cheesmaniae</i>	13.1 ^B
LA1040 (08L9004 self)	<i>S. cheesmaniae</i>	11.9 ^B
LA1136 (02L6068 self)	<i>S. galapagense</i>	10.1 ^B
LA2857 (10L1475 self)	<i>S. pimpinellifolium</i>	16.1 ^B
LA3123 (00L2974 self)	<i>S. pimpinellifolium</i>	16.7 ^B

החדרת מקורות העמידות שניבחרו למיני התרבות

כאמור, צמחים מ-11 מיני הבר המבטיחים נזרעו במטרה לרבות אותם ולהכליאם עם המין התרבותי של עגבניה. תוצרי ההכלאה, יחד עם קווי ההורים, נבחנו שוב עפ"י הפרוצדורה שתיארנו לעיל על מנת לקבוע את מרכיב ההורשה הדומיננטי/רצסיבי של התכונה. לדוגמא: הקו LA2857 ממקור *S. pimpinellifolium* אשר הראה בניסויים הראשוניים שרידות ממוצעת של 16.1%, הוכלא עם המין התרבותי לקבלת זרעי F₁. צמחי ה-F₁ שנתקבלו מזרעים אלה נבחנו יחד עם שני קווי ההורים. בסה"כ נבחנו 6 צמחים. צמחים אלו הראו שרידות ממוצעת של 13.6%, דבר אשר יכול להעיד על הורשה דומיננטית. יחד עם זאת, שיעורי השרידות של הצמחים הבודדים נעו בטווח רחב שבין 0-65.9%, דבר העלול להעיד כי תכונת השרידות מתפצלת בקו המקורי LA2857. במטרה להעריך את יציבות התכונה ומספר הגנים המפקחים עליה, ריבינו ארבעה מתוך ששת הצמחים העמידים שהוזכרו לעיל לקבלת צמחי F₂. צמחי F₂ אלו נבחנו שוב, בסה"כ 27 צמחים. מתוכם, ששה צמחים הראו שרידות בטווח 0-14.3% ונחשבו לעמידים. כל השאר הראו שרידות שבין 37.7-90.1% ונחשבו לרגישים. שיעור הצמחים העמידים שנתקבלו, 22.2%, עלול להעיד על הורשה פוליגנית (תחת ההנחה שהתכונה אכן מורשת באורח דומיננטי). בשל מורכבות וחוסר יציבות התכונה בקו זה (LA2857) החלטנו לרבות את צמחי ה-F₂ העמידים שלעיל לקבלת צמחי F₃. צמחי ה-F₃ הללו נבחנו שוב, בסה"כ 11 צמחים. להוציא שני צמחים חריגים, שאר הצמחים הראו רמות שרידות נמוכות. מרביתם בין 2.9-11.1%. באופן דומה המשכנו עם קווי בר עמידים נוספים. מכל קו נבחרו הצמחים העמידים ביותר ומהם הפקנו זרעים לצורך בדיקה נוספת בדור מתקדם יותר על מנת לבחון את יציבות תכונת העמידות. בדיקות אלה העידו כי התכונה יציבה רק בארבעה מתוך 11 המקורות הגנטיים: האחד LA2857 ממין

הבר *Solanum pimpinellifolium*, שכבר הזכרנו לעיל, השני LA0524 ממין הבר *Solanum cheesmaniae* ושניים, LA0436 ו-LA0438 ממין הבר *Solanum galapagense*. הקו LA0524, שמקורו ממין הבר *S. cheesmaniae*, נראה מבטיח מאוד. בבדיקה שערכנו על צמחי F₁ שמקורם בהכלאה בינו לבין המין התרבותי, התקבל דגם של הורשה דומיננטית, בדומה ל-LA2857.

שני מקורות עמידות נוספים שהמשכנו לקדם הם LA0436 ו-LA0438 ממין הבר *S. galapagense*. מקורות העמידות האלה הם המבטיחים ביותר מאחר שהציגו עמידות מלאה – על צמחים אלו לא התפתחו כלל כנימות ושניהם בטאו שרידות של 0%. בדיקת צמחי F₁ שמקורם מהכלאה בין שני מיני הבר המבטיחים האלה לבין המין התרבותי הניבו רמות שרידות גבוהות מאלו של מקורות העמידות המקוריים. שמונה צמחי F₁ ממקור LA0436 הניבו שרידות ממוצעת של 46.4% ואילו ששה צמחי F₁ ממקור LA0438 הניבו שרידות ממוצעת של 23.8%. אף לא אחד מ-14 צמחי ה-F₁ שנבחנו הראה רמת שרידות של 0%. מכאן הנחנו כי העמידות בשני קווי *S. galapagense* אלה היא בעלת מאפיינים רצסיביים.

במטרה להעריך את יציבות תכונת העמידות לכע"ט שמקורה בארבעת המקורות שלעיל, ריבינו את צמחי ה-F₂ העמידים ביותר מכל מקור ובחנו את צאצאיהם שוב יחד עם מקורות העמידות הראשוניים. התוצאות שקיבלנו הובילו אותנו לזנוח את שני מקורות העמידות ממיני הבר *S. pimpinellifolium* ו-*S. cheesmaniae*, בעיקר עקב מספר רב מידי של צמחים רגישים וצמחים שאובחנו כעמידים רק באופן חלקי אשר נתקבלו בדור F₃. לעומת זאת, צמחי F₃ שנתקבלו משני מקורות הבר ממקור *S. galapagense* נראו מבטיחים יותר. על אף שהתפצלו עדיין לעוצמת העמידות לכע"ט, ניתן היה לזהות ביניהם צמחים רבים מאוד בעלי עמידות מלאה – כע"ט כלל לא התפתחו על צמחים אלו, וזאת למרות שנבחנו במבחני אין בררה, שהוא המבחן המחמיר יותר. בשל התפצלויות בלתי צפויות אלו, הפקנו זרעים מצמחי F₃ אלו ובחנו 16 צמחים מצאצאיהם שוב לעמידות לכע"ט. אכן, בדור זה, F₄, נראה כי הצלחנו לייצב את העמידות לכע"ט מאחר **שכל 16 צמחי ה-F₄ הציגו עמידות מלאה** (ראה טבלה מספר 3 אשר מציגה את צמחי דור F₄). יתרה מזו, בחלק מהצמחים כע"ט הבוגרות שהונחו על הצמחים כדי להיזון מהם לא שרדו אף הם, דבר שמצביעה על רמת עמידות גבוהה – לא רק שכע"ט אינן מתפתחות כיאות על צמחים אלו, הן גם לא ניזונות מהן בצורה נאותה.

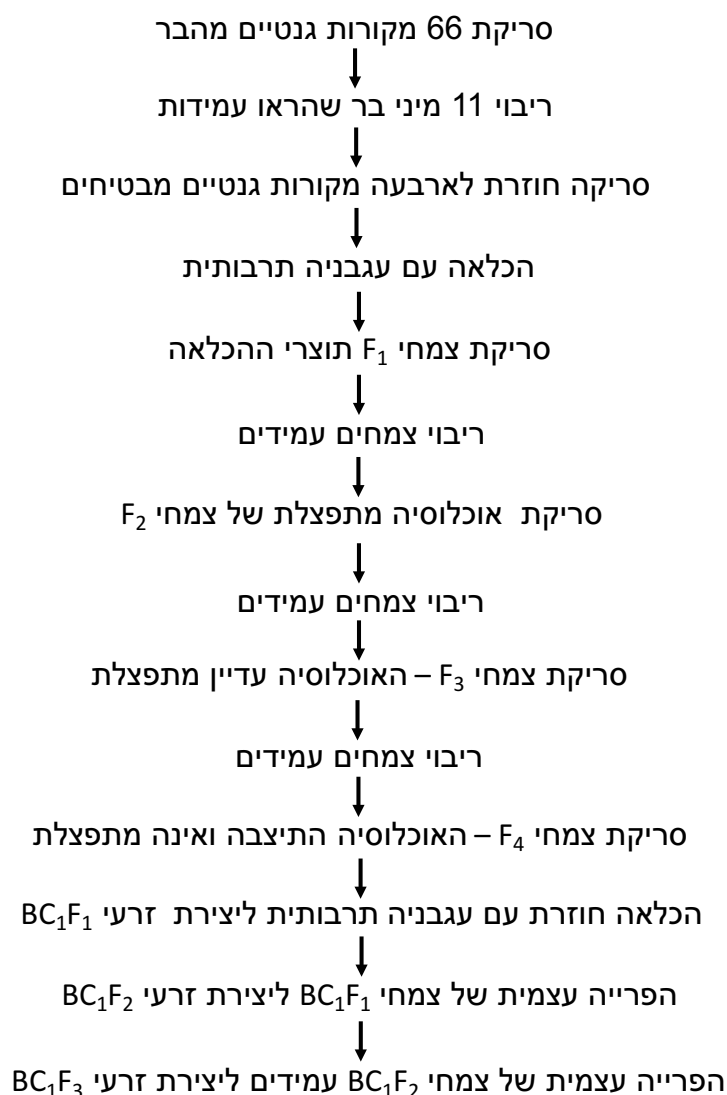
טבלה מספר 3. בדיקת 16 צמחי דור F_4 צאצאי ההכלאה הראשונית בין LA0438) S. *galapagense* לבין המין התרבותי לעמידות לכע"ט במבחן אין ברירה (אין הטלת ביצים וכמובן שאין התפתחות בוגרים על צמחים אלו).

מאפייני שרידות					
הערות*	שרידות	עיניים אדומות	הגחת בוגרים	ביצים	צמח
	0	0	0	0	1
	0	0	0	0	2
	0	0	0	0	3
	0	0	0	0	4
	0	0	0	0	5
	0	0	0	0	6
בוגרים מתים	0	0	0	0	7
בוגרים מתים	0	0	0	0	8
בוגרים מתים	0	0	0	0	9
בוגרים מתים	0	0	0	0	10
בוגרים מתים	0	0	0	0	11
בוגרים מתים	0	0	0	0	12
בוגרים מתים	0	0	0	0	13
בוגרים מתים	0	0	0	0	14
בוגרים מתים	0	0	0	0	15
	0	0	0	0	16
	0	0	0	0	סה"כ

* בוגרים מתים – מתייחס לכע"ט הבוגרים אשר הושבו מלכתחילה על הצמחים.

S. מניתוח של התוצאות שנתקבלו בדורות השונים עבור העמידות לכע"ט שמקורה ב- *galapagense*, עם דגש על LA0438 אשר הציג תוצאות טובות יותר בדור F_1 , אנו מניחים מנגנון הורשה דומיננטי חלקי, כאשר תכונת העמידות נשלטת ע"י שני גנים, אחד רצסיבי ואחד דומיננטי, כמסוכם להלן: הכלאה של מקור המקור LA0438 עם העגבניה התרבותית הניב צמחי F_1 בעלי רמת שרידות כע"ט ממוצעת של 23.8%. מאחר והמין התרבותי הציג בניסויים מקבילים שרידות ממוצעת של 50%, ניתן להסיק כי תכונת העמידות ממקור זה נשלטת ע"י מנגנון דומיננטי חלקי. צמחי F_2 שנתקבלו מהכלאה עצמית של צמחי ה- F_1 היו ברובם עמידים עם שרידות שואפת לאפס. לכן ניתן להניח כי תכונת העמידות נשלטת ע"י שני גנים, אחד רצסיבי והשני דומיננטי, המבקרים את העמידות לכע"ט באופן ניכר ובלתי תלוי.

מאחר ונאלצנו, כאמור לעיל, להתקדם עד דור F_4 על מנת לייצב את תכונת העמידות, חל פיגור מה בקצב התקדמות התוכנית. בהמשך ביצענו הכלאה חוזרת נוספת למין התרבותי על מנת ליצר זרעי BC_1F_1 לצורך המשך החדרת התכונה למין התרבותי. סדר ההכלאות שבצענו מוצג בתרשים הזרימה של ההתקדמות הגנטית (איור מספר 1).



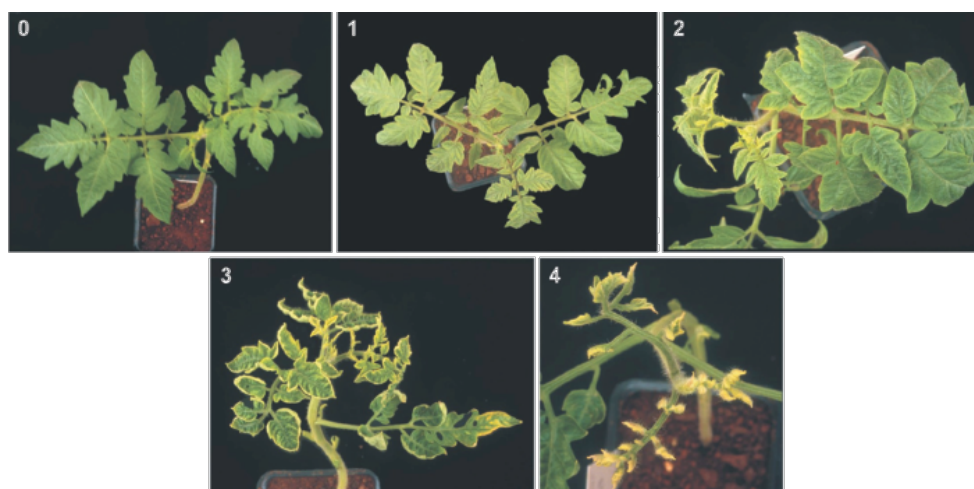
איור מספר 1. תרשים זרימה לפיתוח עגבניות עמידות לכע"ט, מתחילת הפרויקט - שלב הסריקה הראשוני ועד לסיומו, פיתוח זרעי BC_1F_3 עמידים לכע"ט.

ניסויי ברירה

על מנת לבחון את הורשת תכונת העמידות לאחר דור נוסף של הכלאה מחזירה, הכלאנו את הקו העמיד המיוצב WF-161, המהווה דור F_3 של הכלאה בין *S. galapagensis* (LA0438) לקו רגיש לכנימות עש הטבק, עם הקו הרגיש R13. צמחים שנתקבלו מזרעי הכלאה זו שמשו לקבלת זרעי BC_1F_2 כמקור לאוכלוסייה המתפצלת WF-174. זרעים אלו, כמו גם זרעי הקו הרגיש R13 והקו העמיד WF-161 נזרעו שתי וערב לצורך בדיקה בניסוי ברירה – כנימות עש רכשו את וירוס צהבון האמיר של העגבניה, ואז הוגבו באופן חופשי עם צמחים החשודים כעמידים לכנימות, אשר עורבבו, כאמור לעיל, עם צמחי ביקורת הרגישים לכנימת עש. עד כה הצמחים נבדקו בהתאמתם להתפתחות כע"ט כאשר הם ניזונים מצמחים אלו, ועכשיו אנו בודקים האם העמידות מספקת כדי לדחות כע"ט מצמחים אלו כך שהם לא יודבקו בוירוס צהבון האמיר של העגבניה. למותר לציין שהצמחים העמידים

לכע"ט נבדקו קודם לכן והם רגישים לוורוס. הצמחים שנתקבלו הודבקו לאחר 25 יום מזריעה ואופיינו כחודש לאחר ההדבקה בשני אופנים: (1) כימות מספר הצמחים אשר הראו סימפטומים כלשהם, ו-(2) אפיון הצמחים לרמת סימפטומים בסקאלה חצי כמותית (תמונה מספר 2).

תמונה מספר 2. דירוג חומרת תסמיני המחלה בצמחים נגועים בוורוס צהבון האמיר של העגבנייה במבחני האין ברירה. דרגה 0- צמח ללא סימפטומים; דרגה 1- סימפטומים קלים מאוד, הכוללים הצהבת עלים קלה; דרגה 2- סימפטומים בדרגת ביניים, כוללים קיפול עלים; דרגה 3- סימפטומים קשים, כוללים קיפול והצהבת עלים, עיכוב או עצירת הצימוח; דרגה 4- סימפטומים קשים מאוד, כוללים קיפול והצהבת עלים, צריבת קודקוד הצמיחה ועצירת הצימוח.



תוצאות כימות הצמחים אשר הראו סימפטומים כלשהם מופיעות בטבלה מספר 4. בעוד שבקו הרגיש R13 כל הצמחים, להוציא צמח בודד אשר חמק מהדבקה, הראו תסמיני מחלה ברורים, כל צמחי הקו העמיד לכנימות WF-161 לא הראו סימפטומים כלל. צמחי האוכלוסייה המתפצלת WF-174 התפצלו כצפוי לחומרת הסימפטומים ביחס אשר לא שונה סטטיסטית מ- 1:3 (כ- 74% מהצמחים לא הראו סימפטומים בעוד ש- 26% מהצמחים הראו סימפטומים). יחס זה מראה כי לאחר ייצוב התכונה במהלך שלוש דורות ותחת מבחני ברירה היא מתפצלת כגן בודד.

תוצאות אפיון הצמחים לרמת סימפטומים בסקאלה חצי כמותית, המוצגת בטבלה מספר 5, הייתה מרשימה הרבה יותר. בעוד שהקו הרגיש R13 התאפיין ברמת סימפטומים גבוהה במיוחד ומובהקת סטטיסטית בהשוואה לשאר הקווים הגנטיים בניסוי, הקו העמיד לכנימות WF-161 כלל לא הראה סימפטומים. בצמחי האוכלוסייה המתפצלת WF-174 רמת הסימפטומים הייתה ברמה הסטטיסטית בין שני קווי ההורים, אך קרובה מאוד בערכה הכמותי לקו העמיד WF-161. ההתפלגות הכמותית של תכונת העמידות, כפי שמשקפת באוכלוסייה המתפצלת, מעידה על מרכיב נוסף בבקרה הגנטית של תכונת העמידות הקשורה לקצב איטי יותר של התפתחות המחלה. ייתכן מאוד כי קצב איטי זה קשור לכמות הכנימות שבפועל נוטות או מסוגלות להדביק את הצמחים מהאוכלוסייה המתפצלת לעמידות.

הצמחים העמידים מהאוקלוסייה המתפצלת BC₁F₂ נשתלו לריבוי, כך שיהיו בידינו בתקופה הקרובה, צמחים עמידים מאוקלוסיית BC₁F₃.

טבלה מספר 4. מס' הצמחים שהראו סימפטומים ומס' הצמחים שלא הראו סימפטומים מתוך כלל הצמחים שהודבקו בוורוס צהובן האמיר במבחני ברירה שנערכו על האוקלוסייה המתפצלת WF-174 [(BC₁F₂ (R13 X WF-161)] וקווי ההורים ששמשו ביצירתה.

מס' הצמחים שלא הראו סימפטומים	מס' הצמחים שהראו סימפטומים	מס' הצמחים שהודבקו	קו גנטי
1	63	64	R13 (קו רגיש)
17	0	17	WF-161 (קו עמיד F ₃)
34	12	46	WF-174 (אוקלוסייה מתפצלת (BC ₁ F ₂)

טבלה מספר 5. ממוצע רמת הסימפטומים (DSI) במבחני ברירה שנערכו על האוקלוסייה המתפצלת [(WF-174 [BC₁F₂ (R13 X WF-161)] ובקווי ההורים ששמשו ביצירתה (אותיות שונות מעל ממוצע הסימפטומים מציינות הבדלים מובהקים סטטיסטית ברמת המובהקות המופיעה בתחתית הטבלה).

רמת סימפטומים	קו גנטי
3.7 ^A ±0.1	R13 (קו רגיש)
0.5 ^B ±0.1	WF-174 (אוקלוסייה מתפצלת BC ₁ F ₂)
0.0 ^C ±0.0	WF-161 (קו עמיד F ₃)
$P(F) = 1.3 \times 10^{-51}, R^2 = 0.85$	

אבטיח

מיני בר של אבטיח אשר נאספו ע"י צוות האבטיח בנווה יער, נסרקו לעמידות לכע"ט במבחני אין ברירה. טבלה מספר 6 מסכמת את כל קווי האבטיח אשר נבדקו במהלך התוכנית לעמידות לכע"ט. בניסויי הקדמי שבוצע לפני תחילת התוכנית, זיהינו כי קו מין הבר wt Hazeva אשר נאסף ע"י חוקרי נוה יער הראה עמידות לכע"ט, ולכן צמחים מקו זה נבדקו פעם נוספת. כצמח ביקורת שימש זן האבטיח התרבותי (CS) Crimson Sweet. טבלה מספר 7 מראה את תוצאות הניסוי הראשון, כאשר נסרקו שישה צמחים מכל קו/מין בר, ונמצאו מספר קווי בר אשר ענו על הקריטריון שקבענו – מספר הכנימות אשר התפתחו עליהם היה מחצית או פחות מהמספר שהתפתח על קו הביקורת התרבותי. מקוים אלו הצמחים שנראו הכי מבטיחים - הצמחים המסומנים בצהוב - נבחרו להמשך העבודה, ונלקחו לריבוי ולהכלאות עם זן עלית של אבטיח. גם צמחי wt Hazeva אשר נבחנו פעם נוספת (טבלה

מספר 7) נמצאו עמידים, כאשר בממוצע מספר הכנימות ששרדו היה 47, לעומת 102 על הביקורת הרגישה, היינו שרידות של 46%. מהקו הזה בחרנו את שלושת הצמחים הטובים ביותר, אשר הראו שרידות כע"ט של 7 ו- 28% (מסומנים בצהוב).

בדומה לניסויי העגבניה, גם בניסויי האבטיח נתקלנו בצמחים מסוימים בתופעה שהושבת כלוב העלים עליהם גרמה לפגיעה בהתפתחות העלה, לעיתים עד כדי מוות של העלה, ולכן אי אפשר להתייחס לתוצאות שהתקבלו מצמח זה. כמו כן ניסויי ארך כחודשיים שלושה וזאת עקב קשיים בהנבטת מיני בר באופן מסונכרן עם מין תרבות, והזמן הדרוש להתפתחות כנימות העש.

טבלה מספר 6. מקורות העמידות שנבחנו במהלך הפרויקט.

Code/Line	Description
PI 270564	<i>C. colocynthis</i>
PI270548-8	<i>C. colocynthis</i>
PI270308-4	<i>C. colocynthis</i>
PI374216	<i>C. colocynthis</i>
PI386014	<i>C. colocynthis</i>
PI482318	<i>C. colocynthis</i>
wt Hazeva	<i>C. colocynthis</i>
PI386019	<i>C. colocynthis</i>
PI220778A	<i>C. colocynthis</i>
Cil. Jordan	<i>C. colocynthis</i>
16-1	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-2	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-3	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-4	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-5	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-8	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-9	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-10	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-11B	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-12A	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-13	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-15	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-17	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-18	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-19	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-20B	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-21	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-23	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-24	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-26	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-29	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-30a	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-32	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-33	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-34	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-35c	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-37b	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-37c	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-43	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-50	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3

16-55	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-68	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-70	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F3
16-4-17	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F4
16-4-19	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F4
16-4-20	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F4
16-4-26	wt.hazeva*Sweet Scarlet, F4
17-24-1	PI270564*Sweet Scarlet, F3
17-24-2	PI270564*Sweet Scarlet, F3
17-24-3	PI270564*Sweet Scarlet, F3
Crimson Sweet	<i>C. lanatus</i> (Susceptible control)

טבלה מספר 7. מספר כנימות עש בוגרות אשר התפתחו על מקורות עמידות שנבחנו.

CS	קו גנטי							צמח
	wt	PI	PI	PI	PI	PI	PI	
	Hazeva	482318	386014	374216	270308-4	270548-8	270564	
141	7	175	85	67	143	170	34	1
132	28	216	עמ*	38	125	215	0	2
82	28	185	42	40	עמ*	176	55	3
84	100	143	73	21	142	131	88	4
76	70	186	51	41	129	145	עמ*	5
97	52	195	45	64	180	עמ*	עמ*	6
102	47.2	143.8	59.2	45.2	143.8	167.4	44.2	ממוצע

* עמ – עלה מת

גם באבטיח ניסינו לבדוק ניסויי ברירה על ידי הדבקת בירוס הגימרון הכלורוטי של האבטיח, אשר מועבר ע"י כנימת עש הטבק. אולם מין הבר wt Hazeva נמצא עמיד לוירוס. זו אומנם אינפורמציה משמחת אשר תאפשר פיתוח צמחים בעלי עמידות הן לכנימה והן לוירוס, אולם תוצאה זו גרמה להאטת קצב העבודה שכן לא יכולנו להשתמש בניסויי ברירה באבטיח.

מאחר ומין הבר wt Hazeva נמצא כעמיד לכע"ט הן בעבודה מקדימה והן במהלך עבודה זו, חשבנו שניתן לנסות ולחסוך בזמן ולבחון אוכלוסיות שהן תוצרי הכלאה של wt Hazeva עם אבטיח תרבותי (Sweet Scarlet). אוכלוסיות אלו נוצרו בנוה יער ללא קשר לעבודה הנוכחית. מאחר וההכלאות הבן-מיניות אורכות זמן רב, ומאחר ומספר הזרעים של צמחי ה-F₂ היה נמוך החלטנו לסרוק קוי F₃ אשר נוצרו מההכלאה בין wt hazeva לבין אבטיח תרבותי. סרקנו כ-40 קוי F₃ שונים, 6-10 צמחים מכל קו, בתלות בכמות הזרעים אשר עמדה לרשותנו. דוגמא לסריקה כזו מתוארת בטבלה מספר 8, כאשר נראה היה שאכן יש עמידות בקרב אוכלוסיות אלו, אולם העמידות אינה מיוצבת. הצמחים שהראו עמידות גבוהה (טבלה 8, מסומנים בצהוב) נלקחו להמשך ריבוי בנוה יער.

טבלה מספר 8. מספר כנימות עש בוגרות אשר התפתחו על קוי F_3 צאצאי הכלאת wt Hazrva עם אבטיח תרבותי.

צמח	קו גנטי										
	CS	16-1	16-2	16-3	16-4	16-5	16-8	16-9	16-10	16-11	16-12
1	51	48	51	56	45	17	24	40	10	52	32
2	62	41	41	37	79	32	12	14	50	28	44
3	31	73	30	64	39	37	16	41	עמ*	27	25
4	26	90	77	32	24	30	43	30	עמ*	17	58
5	24	103	25	55	עמ*	45	10	46	33	48	עמ*
6	45	38	41	עמ*	58	72	29	20	עמ*	עמ*	53
ממוצע	39.8	65.5	44.2	48.8	49.0	38.8	22.3	31.8	31.0	34.4	42.4

* עמ – עלה מת

טבלה מספר 9. שרידות כנימות עש אשר התפתחו על קוי F_3 צאצאי הכלאת PI270564 עם אבטיח תרבותי (אותיות שונות מעל ממוצע השרידות מציינות הבדלים מובהקים סטטיסטית ברמת המובהקות $(R^2=88\%, P(F)=1.2 \times 10^{-7})$).

קו	16-24-3			16-24-2			16-24-1			CS		
	שרידות (%)	בוגרים .מס.	ביצים .מס.	שרידות (%)	בוגרים .מס.	ביצים .מס.	שרידות (%)	בוגרים .מס.	ביצים .מס.	שרידות (%)	בוגרים .מס.	ביצים .מס.
1	74	35	47	62	54	87	48	27	56	77	117	151
2	97	92	95			עמ*	36	43	120	72	93	129
3	96	91	95	55	58	106	33	35	107	71	105	147
4	81	89	110	51	36	70		עמ*	56	75	117	157
5	96	119	115	46	53	115		עמ*	119	73	112	153
6			עמ*	60	27	45	46	47	103	70	134	192
ממוצע	89^A			53^C			41^D			73^B		

* עמ – עלה מת

לצערנו, כל צאצאי ההכלאות הבין מיניות אשר בצענו נמצאו כבעלי בעיה קשה בפוריות. רוב הזרעים כלל לא נבט, והמיעוט הקטן שנבט נבדק לעמידות ונלקח להמשך גידול. טבלה מספר 9 מתארת סריקה של שלושה קוי F_3 שהם תוצרי ההכלאה בין צמח PI 270564 שנמצא עמיד בהתחלת הפרוייקט (טבלה מספר 7) לבין אבטיח תרבותי. בניסוי זה ספרנו את מספר הביצים אשר הוטלו על כל עלה, את מספר הבוגרים אשר התפתחו מהביצים שהוטלו, וחישבנו את אחוז השרידות (מספר בוגרים שהתפתחו חלקי מספר הביצים שהוטלו) על כל עלה. ניתן לראות כי קו אחד (16-24-3) לא הראה כל

עמידות אלא להיפך, היה יותר רגיש מקו הביקורת – 89% ממוצע שרידות של כע"ט לעומת 73% על קו הביקורת הרגיש. אולם שני קווי ה- F_3 האחרים הראו עמידות ברורה לכע"ט – 41% ו-53% שרידות ממוצעת לעומת 73% בקו הביקורת הרגיש. אולם ברור שיש לחזור על התוצאות במספר גבוה יותר של צמחים פר קו.

כאמור, עקב בעיית הפוריות לא יכולנו להמשיך במבחני העמידות. בצענו מספר ניסויים כדי לפתור את בעיית הפוריות של זרעי ההכלאות, ומצאנו שניתן לקבל נביטה לאחר קילוף קליפת העלה והנבטת הזרעים בתנאי מעבדה. אולם בשלב זה הוחלט על הפסקת המחקר באבטיח והמימון המוקצב לחלק זה הופסק.

דין

במסגרת עבודה זו הרכבנו מאגר של קוי מיני בר של עגבניה בעלי פוטנציאל לשמש כמקור עמידות לכע"ט. סרקנו את מקורות העמידות במיבחן האין ברירה, ובחרנו מתוכם 11 קוים מבטיחים להמשך העבודה (טבלה מספר 2). כקריטריון ראשוני לרמת עמידות החלטנו להתייחס לצמחים שכאשר שמשו לאיכלוס ע"י כע"ט, הכנימות הראו שרידות הנמוכה מ-50%. צמחים מ-11 הקוים המבטיחים נזרעו, רובו והוכלאו עם עגבניה תרביתית. תוצרי ההכלאות נבחנו שנית לעמידות לכע"ט, תוך שימוש במיבחן האין ברירה. מכל קו נבחרו הצמחים העמידים ביותר ומהם הפקנו זרעים לצורך בדיקה נוספת בדור מתקדם יותר על מנת לבחון את יציבות תכונת העמידות. מ-11 מקורות העמידות בחרנו ארבעה מקורות גנטיים אשר תכונת העמידות שלהם היתה היציבה ביותר. מארבעת הקוים המשכנו עם שני מקורות עמידות ממין הבר קווי *S. galapagense* אשר הראו את העמידות הטובה והיציבה ביותר. שוב, עקב הצורך להמשיך ולייצב את העמידות הגענו בסופו של דבר לשני קוים עמידים אשר בדור F_4 הצמחים הראו עמידות טובה לכע"ט וללא התפצלויות. כיום יש בידינו אוכלוסיית BC_1F_3 קרובה לתרביתית בעלת עמידות לכע"ט מאחד משני המקורות הללו.

מניתוח של התוצאות שנתקבלו בדורות השונים עבור העמידות לכע"ט שמקורה ב- *S. galapagense*, אנו מניחים מנגנון הורשה דומיננטי חלקי, כאשר תכונת העמידות נשלטת ע"י שני גנים, אחד רצסיבי ואחד דומיננטי. זהו מנגנון עמידות פשוט יחסית, ולכן ניתן להשתמש בקו העמיד שהתקבל להעברת תכונת העמידות עם מיני עילית של עגבניה בקלות יחסית. מאחר והעמידות אינה מושלמת, מומלץ לחבר אליה עמידות ליורוס צהבון האמיר של העגבניה, וכך ליצור זני ומיני עגבניה בעלי עמידות נרחבת וברת קיימה – צמחים "סופר" עמידים.

בחרנו לסרוק את קווי הבר השונים לעמידות בשימוש במבחן האין ברירה, שכן זהו המבחן המחמיר ביותר – הכנימה נאלצת להיזון מהצמח הנבחן, ואין לה אפשרות לעבור לצמח אחר. כאמור, היתרון של שיטה זו הוא שהיא מאד מחמירה, ולצמחים רגישים לכע"ט קשה מאד להתחמק מהכנימות. מצד שני שיטה זו דורשת טיפול בכל צמח בנפרד, ואורכת זמן רב. היינו היא מאד בעייתית לסריקת מספר רב של צמחים. בשלב השני בדקנו את עמידות הקוים העמידים שהתקבלו מההכלאות במבחן ברירה, אולם שלבנו בו פרמטר מחמיר נוסף – הדבקה ביורוס צהבון האמיר של העגבניה.

כע"ט מסוגלת להעביר את הוירוס גם בהזנות קצרות מאד (דקות) על צמחי מבחן. כאשר בחנו צמחי F₃ עמידים במבחן ברירה הכולל הדבקה בוירוס, **אף לא צמח אחד הודבק בוירוס**, בניגוד לצמחי הביקורת הרגישה שנדבקו בוירוס ביעילות של 98%. היינו, יש להניח שניתן לגדל את הצמחים העמידים בשדה הפתוח ללא חשש מהדבקות מאסיביות בוירוס צהבון האמיר, שהוא כיום הגורם המגביל הראשי בגידול עגבניות בשדה הפתוח

אומנם תכננו לבחון את הצמחים העמידים במבחן שדה, אולם הסריקות לעמידות התארכו בהרבה מעל למצופה, וביחד עם הצורך לייצב את העמידות במשך מספר דורות, גרמו לחריגה מתוכנית המחקר. אולם למרות החריגה בזמנים, היעד המרכזי של התוכנית הושג – פיתוח קוי עגבניה בעלי עמידות גנטית לכע"ט.

סיכום מחקר אינטגרטיבי

מיזם זה נכתב (לפני 2012) כתוכנית מחקר אינטגרטיבית אחת, ולא כחיבור של מספר קבוצות מחקר. היינו, אין מטרות מחקר ייחודיות לקבוצות המחקר השונות אלא כולן חולקות את אותן המטרות. ולכן שינינו את הטבלה המבוקשת והתייחסנו לשטח הפעולה של כל חוקר כפי שנכתב בהצעה שהוגשה ואושרה.

אין ספק כי השילוב של גנטיקאי המתמחה באבטיח, גנטיקאי המתמחה בעגבניה, אנטומולוג המתמחה בכנימת עש ווירולוג המתמחה בכנימת עש ובווירוסים המועברים על ידה, תרמו ישירות להצלחת התוכנית ולכך שבסופו של יום יש בידינו קו עגבניה תרבותי בעל עמידות לכנימת עש הטבק. לצערנו במהלך העבודה באבטיח התגלתה בעיית פוריות בזרעי ההכלאות של מיני הבר עם האבטיח התרבותי. למרות שבסופו של יום הצלחנו למצוא פיתרון לבעיה הוחלט על עצירת המחקר באבטיח.

קבוצה	שטח פעולה	תוצאות וממצאים	מסקנות ולקחים	סטיות ושינויים מתוכנית המחקר המקורית
יעקב תדמור	גנטיקה באבטיח	זוהו מקורות עמידות במיני בר, בוצעו הכלאות עם קווים תרבותיים, אולם התגלתה בעיית פוריות בתוצרי ההכלאות.	המחקר הופסק לפני שניתן היה להגיע למסקנות.	העבודה הופסקה עקב בעיית הפוריות שהתגלתה בתוצרי ההכלאות.
משה לפידות	עמידות לכנימות עש והדבקה בוירוסים	זיהינו 11 קוים של מיני בר אשר הראו עמידות לכע"ט. נבחרו 4 קוים אשר נלקחו לריבוי	למרות שהמחקר הצליח, שלבי העבודה לקחו יותר זמן	לאור התארכות העבודה מעבר לתחזית, רק התחלנו להכין את התשתית

<p>המחקרית לזיהוי סמנים מולקולריים ולמיפוי האתרים המבקרים את העמידות (אוכלוסיית ה-BC₁F₂ המתפצלת), ולא הצלחנו להגיע לבחינת הקו העמיד בניסוי שדה.</p>	<p>משהערכנו, כפי הנראה ההערכה שלנו הייתה אופטימית מדי.</p>	<p>ולהכלאות עם מיני תרבות. בהמשך נשארנו עם מקור עמידות יציב אחד, וכיום יש בידינו אוכלוסיית BC₁F₃ קרובה לתרבותית בעלת עמידות לכע"ט</p>	<p>גנטיקה בעגבניה עמידות לכנימות עש</p>	<p>אילן לוין שי מורין</p>
---	--	---	---	---------------------------

רשימת פרסומים מדעיים

אין בשלב זה פרסומים מדעיים.

ביבליוגרפיה

- Antignus, Y., Nestel, D., Cohen, S. and Lapidot M. 2001. Ultraviolet-Deficient Greenhouse Environment Affects Whitefly Attraction and Flight-Behavior. *Environ. Entomol.* 30:394-399.
- Bleeker, P.M., Diergaarde P.J., Ament K., Guerra J., Weidner M., Schutz S., de Both M.T.J., Haring M.A., and Schuurink R.C. 2009. The Role of Specific Tomato Volatiles in Tomato-Whitefly Interaction. *Plant Physiology* 151:925–935,
- Bleeker, P.M., Mirabellaa, R., Diergaardeb, P.J., VanDoornb, A., Tissierc, A., Kantd, M.R., Prins, M., de Vosb, M., Haringa, M.A. and Robert C. Schuurinka, 2012. Improved herbivore resistance in cultivated tomato with the sesquiterpene biosynthetic pathway from a wild relative. *PNAS* 109:20124-20129.
- Cohen, S., Melamed-Madjar, V., & Hameiri, J. 1974. Prevention of the spread of tomato yellow leaf curl virus transmitted by *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera, Aleyrodidae) in Israel. *Bull. Entomol. Res.* 64, 193–197.
- Firdaus, S., van Heusden, A.W., Hidayati, N., Darmo, E., Supena, J., Visser, R.G.F. and Vosman, B. 2012. Resistance to *Bemisia tabaci* in tomato wild relatives. *Euphytica* 187:31–45.
- Freitas, J.A.d., Maluf, W.R., das Graças Cardoso, M., Gomes, L.A.A. and Bearzotti, E. 2002. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. *Euphytica* 127: 275–287.
- Jones, D. R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Euro. J. Plant Pathology* 109:195-215.
- Lapidot, M., Legg, J.P., Wintermantel, W.M. and Polston, J.E. 2014. Management of whitefly-transmitted viruses in open-field production systems. In: Loebenstein G, Katis N, editors. *Advances in Virus Research*. Burlington: Academic Press, Vol 90, pp. 147–206.
- Rodríguez-López, M. J., Garzo, E., Bonani, J. P., Fereres, A., Fernández-Muñoz, R.,

and Moriones, E. 2011. Whitefly resistance traits derived from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* affect the preference and feeding behavior of *Bemisia tabaci* and reduce the spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 101:1191-1201.

Rodríguez-López, M. J, Garzo E, Bonani JP, Fernandez-Munoz R, Moriones E, et al. 2012. Acylsucrose-Producing Tomato Plants Forces *Bemisia tabaci* to Shift Its Preferred Settling and Feeding Site. *PLoS ONE* 7(3): e33064.
doi:10.1371/journal.pone.0033064

Simmons A.M. and Levi A. 2002. Sources of whitefly (homoptera:Aleyrodidae) resistance in *Citrullus* for improvement of cultivated watermelon. *HortScience* 37:581-584.

סיכום עם שאלות מנחות

לשכת המדען אומנם פרסמה טבלה חדשה של "סיכום עם שאלות מנחות", אולם מאחר ותוכנית זו הוגשה ב-2012 היא אינה מתאימה לטבלה החדשה – למשל בזמנו לא היתה טבלת משימות ואבני דרך, וכן הלאה. לכן החלטתי להגיש את הסיכום עם שאלות מנחות לפי הטבלה שהיתה עד השנה.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה
העבודה התבצעה בשלבים הבאים: א. זיהוי מקורות עמידות לכע"ט במיני בר, ב. החדרת מקורות העמידות שנבחרו למיני התרבות, ג. פיתוח קוי עגבנייה ואבטיח עמידים לכע"ט, ד. פיתוח תשתית מחקרית לזיהוי סמנים מולקולריים ולמיפוי האתרים המבקרים את העמידות.
אלו ממטרות המחקר הושגו בעבודת המחקר הנוכחית
עגבניה – כל מטרות המחקר הושגו. אבטיח – הגענו עד מטרה ג, כאשר התברר לנו שלקווי האבטיח שהתקבלו מהכלאות בין מיני בר למיני התרבות יש בעיית נביטה קשה, והחלק של האבטיח בפרויקט הופסק.
עיקרי התוצאות
אבטיח – זוהו מקורות עמידות במיני בר, בוצעו הכלאות עם קווי תרבות, התגלתה בעיית פוריות בזרעי תוצרי הכלאות, הוחלט על הפסקת העבודה. עגבניה – זוהו מקורות עמידות במיני בר, בוצעו הכלאות עם קווי תרבות, העמידות יוצבה והגענו לאוכלוסיית BC ₁ F ₃ תרבותית בעלת עמידות לכנימת עש הטבק.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח?
עגבניה – מטרות המחקר הושגו, וניתן להשתמש בקו העמיד למטרות השבחת זני עגבניה עמידים לכע"ט. כמו כן, אוכלוסיית ה- BC ₁ F ₂ המתפצלת יכולה לשמש כתשתית מחקרית לזיהוי סמנים מולקולריים ולמיפוי האתרים המבקרים את העמידות. אבטיח – מטרות המחקר לא הושגו, המחקר הופסק בטרם עת לאור הבעיות שהתגלו במהלכו.
בעיות שנתרו לפתרון, התייחסות להמשך המחקר
מומלץ להמשיך בפיתוח סמנים מולקולריים ולמפות את האתרים המבקרים את העמידות לכע"ט בעגבניה, ואף לנסות ולזהות את הגנים מבקרי העמידות. מכמו כן מומלץ לשלב את העמידות לכע"ט עם עמידות לוירוס צהבון האמיר של העגבניה וכך ליצור זני עגבניה בעלי עמידות כפולה.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח
תוצאות המחקר לא הופצו.
פרסום הדו"ח
אפשר לפרסם.