

פיתוח מוצרי רוסקוס חדשים

Development of new Ruscus products

256099816

קוד מימון 20-10-0056

דו"ח סופי- שנה ג

חוקרים ושותפים למחקר

משה ראובני – המחלקה לפרחים, מכון וולקני, vhmoshe@agri.gov.il, ניהול הפרויקט
מיכל אורן-שמיר - המחלקה לפרחים, מכון וולקני, vhshamir@agri.gov.il שיתוף בניהול וביצוע
הפרויקט

יערית קוטשר – המחלקה לפרחים, מכון וולקני, ריבוי, פיתוח ומעקב
עדה ניסים- המחלקה לפרחים, מכון וולקני, ריבוי, פיתוח ומעקב
יאיר תמרי – שרות הדרכה, פרחים, יעוץ בבחירת פנוטיפים רלוונטיים

תקציר

הצגת הבעיה

רוסקוס היפופילום (*Ruscus Hypoglossum*) הוא שיח ירוק עד, רב שנתי, ממשפחת ה-*Liliaceae*. לרוסקוס ענפונים דמויי עלים (פילוקלדים) גלדניים ומבריקים, והצמח מגיע לגובה של 0.5-1 מטר. צמח הרוסקוס הובא לישראל הוא צמח גן מאוד נפוץ בגינות ציבוריות באזורים מוצלים. אחת התכונות הבולטות של ענף הרוסקוס, היא יכולת הישרדות לאחר קטיף, גם בתנאים קשים. תכונה זו הפכה את הרוסקוס לענף קטיף לזרים המקנה מופע ירוק רענן לזר. ענף הרוסקוס הקטוף מחזיק מעמד שבועות בתוך אגרטל עם מים ושומר על מראה טרי. למרות הקשיים בענף בשנים האחרונות, מספר ענפי הרוסקוס המיוצאים נשאר גבוה ויציא ב-2013 שווקו ליצוא כ-126 מיליון ענפים בערך של כ-12 מיליון אירו וזאת משטח של כ-2000 דונם.

שיטות העבודה

שיטת העבודה היא ריבוי רקמת רוסקוס בתרבית רקמה ליצירת כמות גדולה של מריסטמואידים מתחלקים. רקמה מתחלקת נחשפה לקרינת גמא בעוצמות משתנות. לאחר ההקרנה בקרינת גמא גודלו הצמחונים מהרקמה הזו, הועברו להשתרשות, הקשחה, והעברה לעציצים. לאחר העיצוץ יבררו פנוטיפים ויזואליים ויועברו לגידול מסחרי.

תוצאות עיקריות לתקופת המחקר

פיתחנו מערכת ריבוי מהיר של רוסקוס בתרבית רקמה. ריבוינו חומר צמחי בתרבית להקרנות. פיתחנו פרוטוקול השתרשות לצמחונים של רוסקוס בתרבית. הוצאנו צמחים מוקרנים ומושרשים לחממה לגידול בבית דגן לבחינת פנוטיפים והוצאנו צמחים מהחממה למגדלים על מנת לגדל

ולבחון את הצמחים. קיבלנו צמחים שמראים שונות במופע אבל קטנים מדי וצריכים לגדול מספר שנים אצל מגדלים על מנת לקבל צמים יציבים לבדיקה.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות

אין עדיין מסקנות ליישום.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח

1 סימה קגן

2 יעקב בן יעקב

הצהרת החוקר הראשי הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. ניסויים מהווים המלצות לחקלאים: **לא**

חתימת החוקר

מבוא

רוסקוס- גידול רווחי ויציב לייצוא ענפים קטופים

רוסקוס היפופילום (*Ruscus Hypoglossum*) הוא שיח ירוק עד, רב שנתי, ממשפחת ה-*Liliaceae*. לרוסקוס ענפונים דמויי עלים (פילוקלדים) גלדניים ומבריקים, והצמח מגיע לגובה של 0.5-1 מטר העלים האמתיים של הצמח הם קטנים גלדניים, לא-פוטוסינטטיים, ומצויים במרכז הפילוקלדים, שם גם נמצא הפרח הלבן, שגם הוא קטן מאוד (**Stamps, 1997**). חנטת פרי נדירה בצמח זה, והפירות הם גרגרים אדומים. רוסקוס הוא גידול רב שנתי, המפתח קני שורש מעובים. ריבוי הצמחים נעשה בחלוקת גוש הצמח לגוש שנושא מספר ענפים ושורשים מעובים. הצמח גדל בתנאי צל בקרקעות שונות או במצעי גידול, ורגיש לעודפי מים, לקרקע גירית, לקרינה גבוהה ולטמפרטורות קיצוניות. מוצא הרוסקוס מדרום מערב אירופה, אך ניתן למצוא זנים שונים בבר, ממערב אירופה ועד לאירן. בישראל זן הבר נקרא עצבונית החורש או עצבונית קטנת עלים. צמח הרוסקוס הובא לישראל כצמח גן על ידי הטמפלרים, והפך לצמח מאוד נפוץ בגינות ציבוריות באזורים מוצלים. אחת התכונות הבולטות של ענף הרוסקוס, היא יכולת הישרדות לאחר קטיף, גם בתנאים קשים. ענף צמח הרוסקוס הקטוף מחזיק מעמד שבועות בתוך אגרטל עם מים ושומר על מראה טרי. בתחילת שנות השישים החלו בניסיונות לשווק ענפי רוסקוס שנקטפו מגינות, באמצעות חברת אגרסקו. כאשר החלה ההתעניינות בענפים אלו כענפים ירוקים קטופים בשווקים באירופה להתגבר בתחילת שנות השבעים. נשתלו החלקות המסחריות הראשונות בארץ, וב-1979 היקף הגידול הגיע כבר לכ-250 דונם. עד לשנות ה-2000, היקף שטחי צמחי הרוסקוס גדל לכ-2000 דונם. למרות הקשיים בענף בשנים האחרונות, מספר ענפי הרוסקוס המיוצאים נשאר גבוה ויציב ב-2013 שווקו ליצוא כ-126 מיליון ענפים בערך של כ-12 מיליון אירו.

תנאי הצללה אופטימאליים לגידול ענפי רוסקוס לשיווק הם תחת הצללה כבדה. הצללה כבדה משפרת את איכות הפיגמנטציה של העלים, ומעלה את קצב ההתארכות שלהם כך שהמוצר איכותי יותר (Stamps 1997). בניסוי שנערך במשק ניר קדם במושב חוגלה, נבחנה השפעת רשתות באחוזי הצללה קבועים בצבעים שונים (אדומה שחורה ואפורה) על גידול רוסקוס ונמצא שלא היו הבדלים משמעותיים ביבול ומשקל הענפים בתנאי הצללה השונים, אבל הצמחים תחת הרשת האדומה היו בעלי ענפים ארוכים באופן משמעותי מהרשת השחורה והאפורה. תוצאות אלו דומות לתוצאות ראשוניות שערכנו בניסוי במושב שדמה, בה בחנו את השפעת רשתות צל צבעוניות על מספר גידולים לענפי קישוט, פיטוספורום, רוסקוס ושרך עלה העור (Oren-Shamir et al., 2001).

שיווק ענפי רוסקוס מתפרס לאורך כל חודשי השנה, בעיקר לאירופה וגם ליפן, ארה"ב וקנדה. ניסיונות שנעשו במהלך השנים לגדל רוסקוס באופן מסחרי במקומות אחרים בעולם נכשלו ברובם, ועד כה לא קמו מתחרים מסחריים לרוסקוס הישראלי. חלק מהסיבות ליתרונה המשמעותי של ישראל בגידול רוסקוס ולהצלחת גידול זה הן: א. רוסקוס זקוק למנוחת קיץ ולכן ישנה חשיבות לעונת קיץ יבשה, ב. להתפתחות מרבית של הצמחים יש צורך בטמפרטורות גידול מתונות. טמפרטורות נמוכות פוגעות באיכות הגידול, וטמפרטורות גבוהות מונעות פריצות של ענפים חדשים, ג. רוסקוס רגיש מאוד למחלות פטריה ובקטריה בתנאי לחות גבוהה. מכאן שארצות אפריקה, שמתחרות בישראל במספר רב של צמחים לענפים קטופים, אינה מהווה איום מתחרה לגידול רוסקוס עקב עונת הקיץ היבשה.

ענף הפרחים בישראל רעב למוצרים חדשים מתאימים לגידול בתנאים מקומיים בשיטות יעילות וידידותיות לסביבה. אמנם ניכרת האטה מסוימת בהתפתחות הענף בשנים האחרונות, אך ישראל עדין חזקה בייצור וייצוא של פרחים וצמחי נוי. קיים קונצנזוס בקרב אנשי הענף שהדרך לשיקום הענף היא החדרת זנים חדשים לגידולי נישה בעלי יתרון יחסי, הניתנים להגנה באמצעות זכויות יוצרים. צוואר הבקבוק העיקרי הוא מהירות החדרה של מוצרים חדשים.

הנחת היסוד המרכזית להצעה זו היא שגידול רוסקוס לענפי קטיפה ימשיך להיות יציב ורווחי לאורך שנים, כפי שהיה עד עתה, ושהיתרון הברור שיש לישראל בייצור ענפי רוסקוס ימשך. בהתבסס על הנחה זו, מחקר ופיתוח של צמחי רוסקוס כדאי, בניגוד לגידולים רבים בענף הנוי שזמן החיים שלהם כגידולים רווחיים מוגבל מאוד. פה אנו מציעים לפתח זני רוסקוס בעלי מופעים ייחודיים כמו עלווה מגוונת או עלים בעלי צורות שונות מהרוסקוס המוכר, לפיתוח גידולי נישה והרחבת סל המוצרים הכללי ומגוון צמחי רוסקוס בפרט על ידי השראת מוטציות בצמחים הגדלים בתרבותית רקמה.

מטרות המחקר

- מטרת המחקר היא לפתח זני רוסקוס בעלי מופעים ייחודיים כמו עלווה מגוונת או עלים בעלי צורות שונות מהרוסקוס המוכר. זנים אלו יהוו גידולי נישה, בנוסף לזן המסחרי המקובל, ויתרמו בהרחבת סל המוצרים של ענפי נוי קטופים. מטרה זו תואמת את היעד המרכזי של ענף הפרחים של פיתוח מוצרי נוי חדשים על פי דרישות השוק.

פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

מטרות המחקר לשנה השלישית היו להמשיך בריבוי רוסקוס בתרבית על מנת לייצר חומר ריבוי מוקרן. לסיים לפתח פרוטוקול השתרשות של צמחוני רוסקוס מתרבית. להעביר צמחוני רוסקוס לחממה ומשם למגדלים להמשך תצפיות.

תוצאות מסכמות לשלוש השנים

בשנה הראשונה סיימנו את פיתוח מערכת הריבוי בתרבית והתחלנו לצבור צמחונים בתרבית על מנת להקרין אותם בקרינת גמא. בסוף השנה הראשונה הוקרנו הצמחונים הראשונים וקביעת טווח ההקרנה, נקבע מצע השתרשות ותמותת הרקמה המוקרנת.

בשנה שניה בנוסף לריבוי וצבירת החומר הצמחי התחלנו בהקרנות החומר הצמחי בעוצמה נמוכה יותר והעברות החומר המוקרן בתרבית על מנת לבדוד צמחים בודדים לבדיקה פנוטיפית. נצברו צמחים בתרבית ונעשו מדידות של כמות שורשים כפונקציה של הקרנת הצמחים.

בשנה השלישית הוצאו צמחים לגידול אצל חקלאים. נצפו מספר מוטציות שגאה שחוזרות על עצמן. בשנה זו נבדקה השפעת מצע העציץ על כמות שורשים ועל שרידות הצמחים.

ריבוי רוסקוס בתרבית

בשלב הראשון פיתחנו מחדש תרבית רקמה של רוסקוס ובוצעה אופטימיזציה של הרכב המצע בהסתמך על ניסיון מוקדם שלנו בצמחים אחרים. החומר הצמחי ממנו פותחה התרבית הוא קנה השורש. בצמחי רוסקוס הגדלים בקרקע, לרוב רק מריסטמה אחת מהמספר הרב של המריסטמות הרדומות על קנה השורש מתפתח לצמח בעונה. המריסטמות הרדומות מהוות את המקור לריבוי מריסטמות אדוונטיביות בתרבית.

השלב הראשון בהכנת התרבית היא חיטוי ראשוני של קני השורש. קנה השורש נשטף ועובר חיטוי ראשוני. אחרי חיטוי ראשוני קנה השורש מחולק למקטעים עם מריסטמות רדומות. מקטעי המריסטמות עוברים חיטוי נוסף יסודי לפני הכנסתם למצע התרבית. חיטוי המקטעים הוא שלב קריטי בהצלחת התרבית (מוצא חומר הריבוי הוא הקרקע) וכולל:

1. חיתוך מקטעי שורש וגבעול מעובה קרצוף ושטיפה במים וסבון.
2. השריה במי סבון ושטיפה תחת מי ברז זורמים למשך 1 שעה.
3. ערבול בפונגיצידיים 0.2% merphane and 0.2% benlate למשך 75 דקות.
4. שטיפת המקטעים במי ברז מהפונגיצידיים.
5. ערבול באתנול 70% למשך 10 דקות.
6. ערבול באקונומיקה 2% חומר פעיל + tween 20 למשך 25 דקות.
7. 3 שטיפות במים מזוקקים סטריליים.

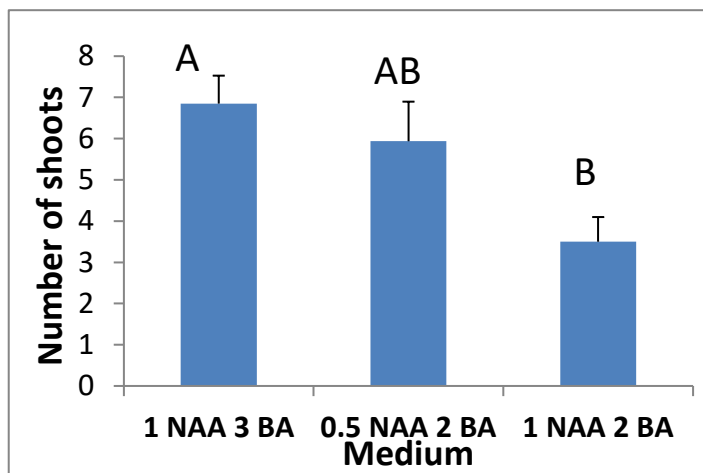
המקטעים השטופים מונחים על קרקע מזון (MS) המכיל אוקסין וציטוקינין במקרה זה בניסוי פרלימינרי נמצא שהאוקסין הטוב ביותר הוא NAA והציטוקינין האופטימלי הוא BA. לאחר ניפוי החומר הנגוע, המריסטמות הועברו למצע טרי. לאחר מספר העברות כל 4-5 שבועות ניתן לראות התחלת ריבוי מריסטמטי. כעבור מספר שבועות נוצרים מספר של ניצרונים מכול מקטע קנה שורש.

כפי שניתן לראות באיור 1 נוצרים בין 3 ל- 6 נצרונים מכל מריסטמה ראשונית שלא הזדהמה. המצע האופטימלי לריבוי היה בשלב הראשוני 1 NAA ו- 3 BA (איור 1). בשלב ניסיונו להוסיף



למצע אדנין סולפט והתברר שהוספה של אדנין סולפט (0.5 mg/L) מקטינה את ריכוז ה NAA וריכוז ה BA במצע ללא פגיעה במקדם הריבוי.

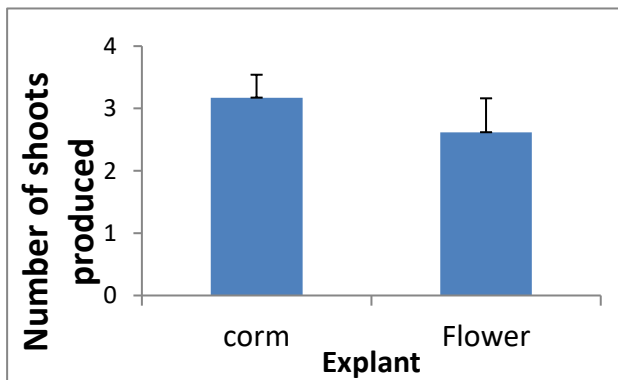
תמונה 1: צמחוני רוסקוס על מצע המכיל אדנין סולפט.



איור 1: אופטימיזציה של הרכב פיטו-הורמונים במצע לקבל מקסימום פריצות ניצרונים. הניסוי נעשה בחמש חזרות ובוצעה אנליזה סטטיסטית של שונות (JMP).

בנוסף לקנה השורש בדקנו גם את יכולת הרגנרציה של העלים הפילוקלאידים, פרחים, והענפונים עצמם. בעוד

שהעלים והענפונים לא הראו יכולת רגנרציה, הצלחנו לקבל רגנרציה מפרחים כאשר באותו ניסוי ברגע שהפרחים החלו לייצר נצרונים מקדם הריבוי לא היה שונה סטטיסטית ממקדם הריבוי של קנה שורש (איור 2).



איור 2: מקדם ריבוי של רוסקוס מקנה שורש או פרח. מקדם הריבוי מקנה שורש היה 3.2 נצרונים למריסטמה או 2.6 נצרונים לפרח על מצע עם 1 מג/ליטר NAA ו 2 מג/ליטר BA.

הקרנת החומר הצמחי

המריסטמות המעוררות בהן התחיל הריבוי וחלוקות התאים הן חומר הגלם לניסויי ההקרנות. כיומיים לפני ההקרנה המריסטמות הופרדו מחלקי הקנה השורש ויושמו על מצע ריבוי של מריסטמות בודדות. ההקרנות נעשו ועל ידי קרינת גמא במנות עולות של Gray (Gy) 0,5,10,20,40,80 ממקור של ^{60}Co בכור האטומי בנחל שורק. לפי הפרוטוקול הבא:

1. נשלחו להקרנה 4 סטים של צלחות פטרי, כל סט מכיל 3 צלחות פטרי עם כחמש עשרה גושי מריסטמות

2. המנה שנבחרו היו 10Gy, 20Gy, 40Gy, 80Gy קרינת גמה

3. צלחות פטרי הוקרנו ב"תא גמה" בכור מחקר בשדה קרינה ממקור ^{60}Co

4. כל שלישית צלחות פטרי הוקרנו במקביל בזמן שווה, במרחקים שונים ממקור הקרינה כך שקצה הדוזה יהיה בפקטור 2. (מכון שעוצמת ההקרנה תלוי בריבוע המרחק שלטנו

בעוצמת הקרינה על ידי שליטה במרחק הצלחות ממקור הקרינה) קצב הדוזה המוערך הינו 1.7Gy/h בעמדה הקדמית ו 0.84Gy/h בעמדה האחורית

5. צלוחיות של 80Gy, 40Gy הוקרנו מיום א (19.3) שעה 15:00 עד יום ג בשעה 14:00 בקירוב 47 שעות .

6. צלוחיות 20Gy, 10Gy הוקרנו מיום ג בשעה 20:35 עד יום ד בשעה 8:20 בקירוב 12 שעות .

7. לאחר מדידה מדויקת שנערכה מיד לאחר הקרנת הדוגמה האחרונה בעזרת גביש TLD, הוקרן הגביש למשך 19 דקות ונמצא כי קצב הדוזה בעמדה הקדמית הינו 1.64Gy/h ובעמדה האחורית 0.71Gy/h

8. סיכום : הוקרנו 4 סטים בדוזות הבאות :

a. 3 צלוחיות בדוזה של 78.5Gy

b. 3 צלוחיות בדוזה של 33.4Gy

c. 3 צלוחיות בדוזה של 19.6Gy

d. 3 צלוחיות בדוזה של 8.4Gy

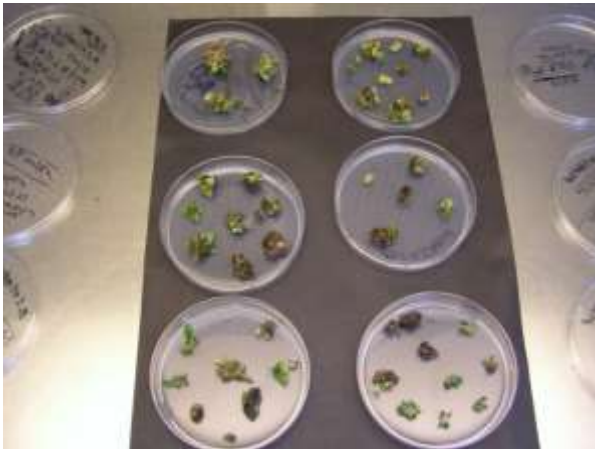
המנה מתייחסת לצלחת הפרי המרכזית, בשתי הצלחות האחרות צפויה ירידה של כ-5% .

אי-הדיוק הכללי מוערך ב 10% לכל היותר.

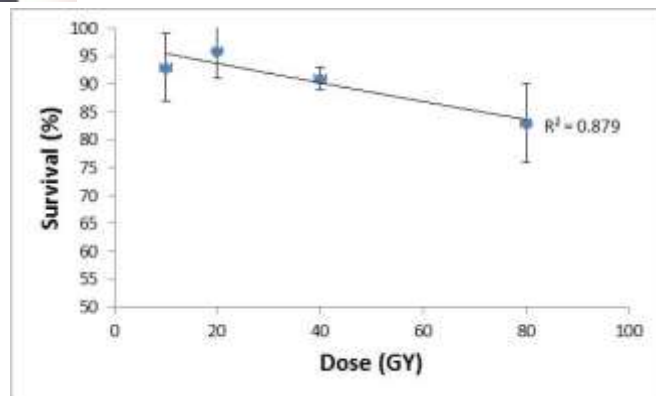
בכל רמת קרינה 3 צלחות כשבכל צלחת לפחות 15 מריסטמות. החומר הצמחי המוקרן גדל ומתחלק כעת ואני מרבים אותם ובוחנים אם קרו שינויים במופע הצמחים.

מיד לאחר ההקרנה הועברו חתיכות הרקמה המוקרנות לצלחות מצע חדשות ונספרו לאחר

6 שבועות על המצע (תמונה 2). אחוז חתיכות הרקמה החיות לאחר 6 שבועות מצוין באיור 3.



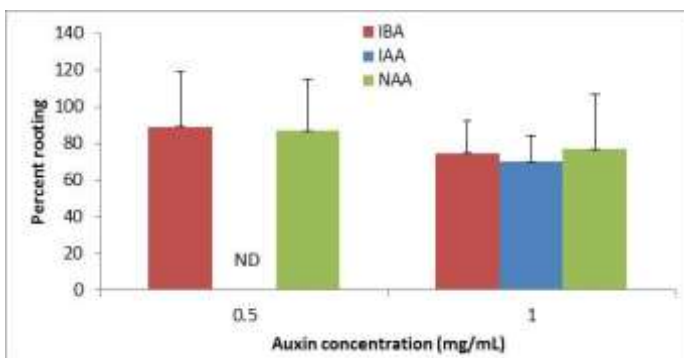
תמונה 2: הפרדה של רקמת רוסקוס מוקרנת 6 שבועות לאחר הקרנה. כל זוג צלחות היו במקור צלחת מוקרנת אחת.



איור 3: אחוז הרקמה החיה 6 שבועות לאחר ההקרנה. חיות נקבעה לפי מידת ההשחמה של הקרמה לאחר 6 שבועות.

השתרשות צמחוני רוסקוס

במשך שנה בדקנו את פרוטוקול ההשתרשות והקשחה של הצמחים מתרבית על ידי בחינת של אוקסינים שונים (IAA, ABA, NAA). כאשר הניצורונים המגיעים לאורך של 3-4 ס"מ לפחות מועברים למצע השתרשות. בדיקת השתרשות נעשתה לאחר 3 חודשים שהצמחונים היו על מצע ההשתרשות. לא מצאנו הבדלים משמעותיים בין האוקסינים השונים וכולם גרמו להשתרשות באחוזים גבוהים (מעל 70%).

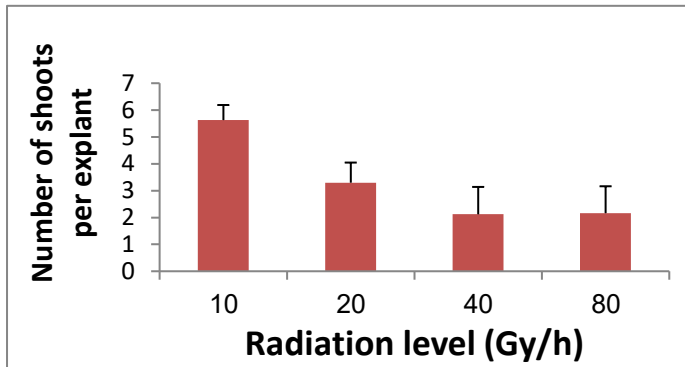


איור 4: אחוז השתרשות של צמחוני רוסקוס על אוקסינים שונים. 9-10 צמחונים הושמו בצנצנות עם מצע MS 1/2 בשלוש חזרות. אחוז הצמחונים המושרשים נספר לאחר 3 חודשים על המצעים השונים.

ריבוי רוסקוס לאחר הקרנה

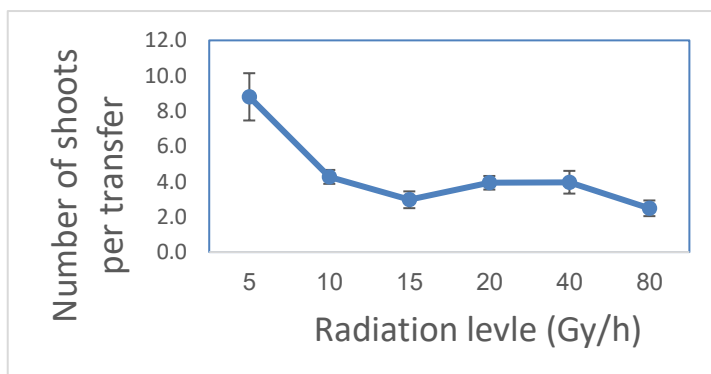
רקמת רוסקוס מתחלקת הוקרנה תחילה בארבע רמות שונות על מנת לבדוק את יעילות הקרינה בשינוי תכונות הרקמה. שישה שבועות לאחר העברה הרקמות המוקרנות ועם התחלת ביצבוץ עלים הועברו הרקמות לצנצנות. חודשיים לאחר העברה לצנצנות נספרו הצמחונים שגדלו בצנצנות.

איור 5 מראה את השפעת ההקרנה על גדילת הייחורים המוקרנים שלושה וחצי חודשים לאחר ההקרנה. נספרו רק מריסטמות אשר גדלו או פתחו ענפונים חדשים. נספרו רק הענפונים החדשים שגדלו כולל המריסטמה המקורית שהוקרנה.



איור 5: מספר הצמחונים ליחידת מריסטמה ראשונית שלושה וחצי חודשים לאחר ההקרנה.

ניתן לראות שההקרנה הורידה את כמות הצמחונים שהתפתחו לאחר שלושה וחצי חודשים. גם הקרנה בעוצמה של 10 הורידה את קצב ריבוי הצמחונים ביחס לקבוצת הביקורת (6.8 ± 0.7) צמחונים בביקורת ל (5.5 ± 0.9 בעוצמה 10). במהלך החודשים האלו ביצענו הקרנות נוספות ברמות נמוכות יותר וגם בהם ספרנו את מספר הצמחונים שהתפתחו שלושה וחצי חודשים לאחר ההקרנה. איור 6 מסכם את שורת ההקרנות הללו, שוב הביקורת לטיפולים אלו הייתה כפי שרשום למעלה.



איור 6: מספר הצמחונים שלושה וחצי חודשים לאחר ההקרנה ליחידת מריסטמה ראשונית.

השתרשות רוסקוס לאחר הקרנה

כחצי שנה לאחר ההקרנה (כ 4 העברות על מצע ריבוי) הועברו צמחונים בגודל של 4 ס"מ לפחות למצע השתרשות (IBA 0.5 MS+). חודש עד חודשיים לאחר העברה למצע השתרשות

נספרו הצמחונים שהשרישו ובכל צמחון מספר השורשים שהנצו. כל הצמחונים שהוקרנו במנה של 80 לא השרישו כלל, מספר השורשים בצמחים המוקרנים בהקרנות השונות היה לפי טבלה 1.

טבלה 1: מספר השתרשות צמחוני רוסקוס שמונה חודשים לאחר ההקרנה. אותיות לטיניות מסמנות קבוצה שונה סטטיסטית.

מספר צמחונים	מספר שורשים לצימחון	רמת קרינה
32	^A 9.0±0.8	0
174	^C 5.5±0.2	5
393	^C 6.4±0.2	10
95	^{BC} 6.9±0.4	15
68	^{AB} 8.0±0.4	20
74	^{BC} 6.8±0.4	40
45	^D 0±0	80

ברור מהתוצאות שלמרות שהקרנה שלא נראתה קטלנית לרקמה פגמה ביכולת של הצמחונים להשריש רק במעט. מספר השורשים לצימחון לא הושפע באופן משמעותי לאחר ההקרנה ולמרות שרמת הקרנה של 20 נספרו יותר שורשים לצימחון, ההבדל ללא משמעות סטטיסטית, למעט ההבדל בין קבוצת הביקורת למריסטמות שהוקרנו ברמה של 80. מה שברור שברגע שיש לצמחונים יכולת השתרשות, כמות השורשים שהם מייצרים כ-6.6 שורשים לצימחון בממוצע.

השפעת ההקרנה על צורת עלווה ברוסקוס.

צמחים מושרשים של רוסקוס לאחר הקרנה הועברו לעציצים להמשך גדילה. לאחר התבססות הצמחים בעציצים, נבחנו הצמחים לשינויים בעלווה ובתמונה 1 ישנם כמה מהשינויים שנצפו ויערך מעקב פרטני לגביהם. שאר הצמחים יגדלו ולאחר שיגיעו לגודל מתאים למעבר לאדמה יועברו לבחינה נוספת.



עלים בצורת לב



עלים עגולים



עלה סגור



עלה צר



עלה צר עם עוד תוספת בבסיס



עלים נורמלים

תמונה 3: תמונות של צמחי רוסקוס מוקרנים בעציצים בחממה בוולקני תחת רשת צל.

בדקנו את השפעת מצע העציץ על חיות ומספר השורשים. נבדקו ארבע מצי גידול, אדמת גן, פרלייט, ג'יפי וחול ים. טבלה 2 מראה שצמחי רוסקוס מוקשחים לא שרדו בחול ים אבל לא היה הבדל גדול בין אדמת גן לג'יפי או פרלייט. פרלייט היה המצע הטוב ביותר גם להעברה לאדמה אצל המגדלים אבל בגלל מחירו הוא לא תרם ערך מוסף.



תמונה 4: צמחי רוסקוס בשטח בית רשת בכפר ויתקין. הצמחים גדלים במכלי קלקר מלאים טוף המנותק מהקרקע.

הועברו למגדלים כ 1000 צמחים מוקרנים ומושרשים לשתילה במיקומים שונים. חומר מוקרן נשתל במושב קידרון בקרקע מקומית כבדה, ובמושב כפר ויתקין בארגזי קלקר המכילים טוף. על מנת לראות השפעת המיקום אם יש סוג הקרקע.

טבלה 2: השפעת מצע העציץ על מספר השורשים.

מצע הגידול	מספר שורשים
אדמת גן	6.3±0.1
ג'פי	7.0±0.2
חול	0±0
פרלייט	7.7±0.7



תמונה 5: תמונות של צמחי רוסקוס מוקרנים בשטח בית רשת תחת רשת צל 50%. פנוטיפ פילוקלדים צרים.

תמונה 5 מראה את הפנוטיפ הנפוץ ביותר בצמחים ואלו פילוקלדים צרים לעומת הפילוקלדים האובלים הרגילים (ראה ביקורת בתמונה 6C). ישנה שונות ברמת רוחב הפילוקלדים כפי שמודגם בין תמונה 5A לעומת תמונה 5B. תמונה 6 מראה פנוטיפ חדש שלא נראה קודם. במקום שני פילוקלדים האובלים הרגילים (ראה ביקורת בתמונה 6C) היוצאים מנקודת המפגש על הגבעול יוצאים במוטנט שלוש (תמונה 6A, 6B). ישנה שונות ברוחב הפילוקלדים כפי שמודגם בין תמונה 6A לעומת תמונה 6B. מכיון ששוני ברוחב נפוץ בחומר המוקרן. בשלב זה אנו מחכים לעונה נוספת על מנת לקבל חומר באורך שיווק לבדוק את הפוטנציאל של החומר.

יעילות המוטציות הוויזואליות הייתה עד כה ברמה של 1%. חלק מהמוטציות חוזרות על עצמם ומוטציות שלא מתבטאות פנוטיפית לא נבדקו. ישנו חשד שישנם כמה צמחים שהמוטציה בהן גורמת לעיכוב גדילה או גמדות, דבר שיבחן בהמשך הגידול. עדיין אין נתונים על יציבות המוטציות כי על מנת לקבל הערכה ראשונית בלבד אנו חושבים שצריך לעבור לפחות עוד עונת גידול נוספת בשטח (כלומר חורף נוסף לפחות).



תמונה 6: תמונות של צמחי רוסקוס מוקרנים בשטח בית רשת תחת רשת צל 50%. חץ שחור מסמן את מקום החיבור של הפילוקלידים לגבעול. 6A ו 6B הן תמונות של המוטנט ותמונה 6C היא צמח ביקורת.

דיון

הצעת המחקר הזו התבססה על הרעיון להגביר את המגוון צמחי עלווה (מה שמכונה ירוקים) לשיווק על ידי יצירת מוטציות בצמח הרוסקוס שהינו צמח עלווה עיקרי המשווק מהארץ לחו"ל ובשוק מקומי. ניתן כמובן להקרין קנה שורש ישירות ולחכות שיצאו צמחים חדשים ולבדוק האם יש מוטציות חדשות. על מנת להגביר את האפשרות של מוטציות בחרנו להשתמש בצמחונים המתרבים בתרבית רקמה כי מקדם הריבוי גבוה יותר ומהיר יותר מקנה שורש וניתן לרכז הרבה מריסטמות יחדיו כמטרה להקרנה. בעוד שבקנה שורש רוב המריסטמות נשארות רדומות ורק בודדות מתעוררות בעונת גידול, בריבוי מתרבית רקמה הריבוי מהיר כי יותר מריסטמות מתעוררות וגדלות ורב הסיכוי לזהות מוטנטים.

בשלב הראשון פיתחנו וייצבנו מערכת לריבוי מהיר של רוסקוס עם רקמה מתמיינת במהירות על מנת לייצר מטרה להקרנות. מטרה זו הושגה בשנה הראשונה וכעת יש לנו מערכת ריבוי מהירה שמייצרת צמחונים במהירות ואף משתרשת באחוז גבוה.

תחילה הקרנו רקמה מתחלקת של רוסקוס ברמה קרינה גבוהה יותר על מנת לזהות רמות קרינה קטלניות. אחר כך, לאחר שזיהינו שרמות מעל 20 Gy/h לא ממש עושות טוב לצמחים התחלנו להקרין מריסטמות ברמות נמוכות יותר. במהלך הזמן מתחילת העבודה מצאנו שלמרות שבהתחלה הרוסקוס הראה עמידות יפה לקרינה מסתבר שישנם נזקים שבאים לידי ביטוי חודשים ואף שנה לאחר ההקרנה. נזקים אלו מתבטאים בהפסקת צימוח ומוות, או באי השתרשות ומות הצמחונים שהגיעו מרקמה שקיבלה מנת קרינה גבוהה.

תוצאות אנליזת ההשתרשות של צמחי רוסקוס מוקרנים הראו הבדל במספר השורשים של הצמחים המשתרשים במנת קרינה של 20 (טבלה 1) אבל אין מובהקות סטטיסטית בין הטיפולים בין מנות קרינה של 5 עד 40 Gy/h. ההבדל הבולט הוא בין הביקורת לרמת קרינה של 80 Gy/h שאר הטיפולים הראו ירידה במספר השורשים אבל לא היה הבדל מובהק ביניהם. המסקנה שאנו מסיקים היא שקרינה נמוכה אכן פוגעת בכושר ההשתרשות של הצמחים אבל לא באופן קריטי.

הוצאנו מספר גדול של צמחים לחממה לגדילה ואף הבחנו בכמה מוטנטים צורניים של עלווה (תמונה 3) בצמחים בחממה בבית דגן. מכון שאנו עושים מראש סלקציה לטובת צמחים אשר משתרשים הרי שמוטנטים של השתרשות לא יהיו לנו וכמו כן עדיין לא הגענו לשלב של פריחה אז לא נצפה שום צמח מוטנטי בפרח. ברור שישנם מוטנטים בצורת העלה פילוקלדי אשר ממשיכים להפגין את התכונה בעציץ. כעת אנו בוחנים את יציבות המוטנטים הללו לאחר שהעברנו אותם למגדלים באזור גדרה ובכפר ויתקין, אנו ממשיכים בייצור מוטנטים נוספים שוב בדגש על העלוה הפילוקלדית. עדיין אין לנו מושג על יציבות המוטציות הנצפות מכון שכל קנה שורש מוציא גבעול אחד חדש אנו צריכים כמה עונות אצל המגדל על מנת לדעת שאכן כל קנה השורש מוטנטי ומוציא פילוקלדים אחידים. רוסקוס גדל כבר מאות שנים באזורנו וריבוי נעשה על ידי פיצול קנה שורש בוגר ועבה אין ריבוי מזרעים. לפיכך אין ניסיון בגידול צמח הרוסקוס צעיר ללא קנה שורש המקביל להנבטה מזרע. התברר שצמחי רוסקוס הגדלים בתרבית מייצרים קנה שורש קטן מאוד או בכלל לא ולכן לחלק מהצמחים שנשתלו לא היה קנה שורש כלל אלא רק שורשים רגילים. בניגוד לניסיון העבר שהיה לנו עם קניפופיה וקיפודן שצמחו לגובה סביר לאחר העברה לקרקע, לאחר ההקשחה מתרבית מסתבר שצמח הרוסקוס צריך, כנראה, כמה עונות לייצר קנה שורש עבה על מנת להפיק גבעולים ארוכים מספיק. לפיכך יחלפו כמה עונות גידול עד שיהיו גבעולים מספיק ארוכים להערכה ולבדיקה של יציבות המוטציות שאנו סימנו בדו"ח. ישנם כמה מוטציות מבטיחות והראנו תמונות שלהם בדו"ח הסופי. אנחנו עוקבים אחרי הצמחים הללו ושאר הצמחים גם לאחר סיום המחקר מתוך הכרה בחשיבותו לחקלאים.

הראנו במחקר זה שניתן לייצר מוטנטים במופע של צמח שהריבוי שלו וגטטיבי ונמכר כמוצר טרי ירוק. ניתן להשתמש בטכניקה זו לעוד צמחים מהקטגוריה כגון מגינית. יעילות המוטציות במופע הוויזואלי הייתה עד כה ברמה של 1%. חלק מהמוטציות חוזרות על עצמם ומוטציות שלא מתבטאות פנוטיפית לא נבדקו. ישנו לנו חשד שישנם כמה צמחים שהמוטציה בהן גורמת לעיכוב גדילה או גמדות, דבר שיבחן בהמשך הגידול בשנים הבאות. בצמח האלסטורמריה נעשתה הקרנה בקרני X של אלפי קני שורש על ידי קבוצת מחקר במטרה לקבל זנים חדשים במשך 10 שנים כתוצאה מהקרנות אלו קיבלו החוקרים 5 זנים חדשים. תדירות המוטציות הייתה פחות מ 1% (Broertjes and Verboom 1974). לשם השוואה במערכת אחרת הוקרנו קני שורש של אלסטורמריה הגדלים בתרבית רקמה בקרינת גמה, לא דווחה שונות ממערכת הקודמת של קני שורש שלא בתרבית (Aros et al. 2012). אין לנו השוואה דומה ברוסקוס בין השאר כי קני שורש

של רוסקוס בוגר הם גדולים מאוד וניתן לקבל צפיפות מריסטמות מועטה ליחידת שטח מוקרן. לעומת אלסטרומריה או רוסקוס דווח בספרות שהקרנה של חרציות בתרבית רקמה הושגה תדירות של מוטנטים מעל 10% (Datta et al. 2005).

המגרעת של תכנית המחקר שהיא נמשכת רק שלוש שנים ועל מנת לייצב למצוא מוטנטים יציבים צריך יותר זמן. היה יותר טוב אם על אותו תקציב, המחקר היה ארוך יותר, ניתן לעשות זאת על ידי חלוקה תקציבית שונה שהרי שלב הגידול אצל המגדלים הוא זול ביותר וניתן להאריך אותו לכמה שנים.

רשימת ספרות

- Stamps RH (ED). (1997) Cut Foliage Grower, 12, 1-6.
- Oren-Shamir M. Gussakovsky E. E. Shpiegel E. Nissim-Levi A. Ratner K. Ovadia R. Giller Y. and Shahak Y. (2001). Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. J. of Hort. Sci. and Biotech., 76: 353-361.
- Broertjes C. and Verboom H. 1974 Mutation breeding of *Alstroemeria Euphytica* 23: 39-44.
- Aros D. Olate E. Valdés S. and Infante R. 2012 Gamma irradiation on *Alstroemeria aurea* G. *in vitro* rhizomes: an approach to the appropriate dosage for breeding purposes. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, 44: 191-197.
- Datta, S. K. Mishra, P. and Mandal, A. K. A., 2005, In vitro mutagenesis – a quick method for establishment of solid mutant in chrysanthemum. Current Science, 88:155-158.