

138-0292-98

קוד מחקר:

נושא: מנגנון העמידות של זני פלפל ובקיה לעלקת

חוקר ראשי: מר יעקב גולדווסר מוסד: מינהל המחקר החקלאי

חוקרים שותפים: 5

תקופת מחקר: 1996-1998

מאמרים: 3

תקציר

מטרות המחקר: מיני העלקת (*Orobancha* spp.) הם טפילי שורש מוחלטים הנטפלים לצמחים דו-פסיגיים. בישראל נפוצים 5 מיני עלקת הגורמים נזק רב לגידולים חקלאיים. הבקיה (*Vicia* sp.) הנה קטנית המשמשת כגידול מספוא לשחת. בקיה זו נפגעת קשה על ידי עלקת מצרית (*O. aegyptiaca*) ועלקת חרוקה (*O. crenata*). הזן העיקרי המגודל בארץ היינו 'יובל' השייך למין בקיה מצויה (*V. sativa*) והוא רגיש לעלקת מצרית ולעלקת חרוקה. הדברת העלקת קשה עקב הקשר החזק והתת-קרקעי של הטפיל המוחלט אל שורשי הפונדקאי. רוב אמצעי הדברה הנקטים הם קשים לביצוע, יקרים או בלתי יעילים. מכאן החשיבות של המחקר העוסק בהבהרת המנגנונים המקנים לצמחים עמידות לעלקת.

מהלך ושיטות עבודה: גנוטיפים של בקיה ופלפל אשר דווחו או נמצאו עמידים לעלקת נבדקה ב- 3 מערכות עיקריות:

1. שקיות פוליאאתילן- בהם נזרעה הבקיה על נייר נטול סיבית שעליו פוזרו זרעי עלקת מצרית. הנייר הושם בשקית והוזן על ידי תמיסת מזון. השקיות הועמדו בתוך ארגז שחור בחדר צמיחה או בתאי צמיחה מבוקרים.
 2. עציצים- בחממה ובבית רשת בהם גודלה בקיה באדמה מאולחת בזרעי עלקת מצרית.
 3. הקשר בין הטפיל לפונדקאי נבחן בחומר חי ברמה המיקרוסקופית באמצעות בינוקולר. חתכים חיים של שורשי בקיה וחתכים אשר עברו פיקסציה וצביעה נבחנו באמצעות מיקרוסקופ אור.
- תוצאות עיקריות: במחקר זה הוחלט להתרכז במחקר בבקיה. גנוטיפים עמידים גורמים להנבטה גבוהה של זרעי עלקת ונמדדו מספר רב יותר של התחברויות הטפיל לשורשי הפונדקאי. חיבורים אלו הפכו נקרוטיים עם הזמן והטפילות נבלמה. בגנוטיפים הרגישים, מספר התחברויות קטן הוביל לחיבורים פונקציונליים ובהמשך לשלבי טפילות מתקדמים עד התמוטטות הצמח הפונדקאי. בניסויים מבוקרים נמצא כי העמידות לעלקת יציבה במשטרי טמפרטורה שונים. נמצא כי בשורשי גנוטיפים של בקיה הרגישים לעלקת, מצץ העלקת חודר ישירות מהאפידרמיס דרך הקורטקס אל צינורות ההובלה בגליל המרכזי ומתחבר אליהם לצורך שאיבת מוטמעים ומינרלים. בבקיה עמידה לעלקת, מצץ הטפיל חודר את האפידרמיס והקורטקס אך נעצר באזור שכבת תאי האנדודרמיס כך שאינו חודר לגליל המרכזי. תופעה זו מלווה בהפרשת חומר חום אדמדם סביב המצץ החודר ובהמשך נוצר כתם נקרוטי סביב אזור החדירה המוביל להתייבשות המצץ ולמותו. בדיקות ביוכימיות של מיצוי שורשי בקיה רגישים ועמידים לעלקת, מאולחים וללא אילוח בעלקת הוכיחו כי תוצרים ואנזימים הקשורים במסלול הביוסינטזה הפנילפרופנואידי עוברים אינדוקציה בעקבות אילוח בעלקת של הגנוטיפ העמיד. מאידך, האנזים PAL

אינו מושרה כתוצאה מאילוח בעלקת בצמח העמיד אך פעילותו גבוהה יותר בגנוטיפים עמידים לעומת הגנוטיפים הרגישים. במחקר זו הוכחה עמידותם של גנוטיפים של בקיה ארגמנית ושעירה לעלקת מצרית והובהר כי עמידות זו מתקבלת כנראה כתוצאה מצרוף של מספר גורמים: פעילות קונסטיטיבית גבוהה של האנזים PAL בגנוטיפ העמיד משמש כפרקורסור לליגניפיקציה של דפנות תאי השורש, ליצירת שכבת אנדודרמיס בלתי חדירה וליצירת טוקסינים הפוגעים במצץ העלקת החודר. מצץ העלקת מצליח לחדור את אפידרמיס וקורטקס השורש, אך נבלם באזור האנדודרמיס. לא נמצאה השפעה של משטרי טמפרטורות שונים על עמידות זו.

מסקנות והמלצות: הידע על גורמי העמידות לעלקת שנצבר במחקר זה יתרום לפיתוח זני גידולים עמידים לעלקת. בעקבות המחקר יצאה המלצה לחקלאים להפסיק את השימוש בבקיה מצויה ולעבור לגדל בקיה ארגמנית העמידה לעלקת. יש גם לבדוק גידול מסחרי של זני בקיה שעירה.

מנגנון העמידות של זני פלפל ובקיה לעלקת

דו"ח מסכם לתכנית מחקר 96-0292-138

תקציר

מיני העלקת (*Orobancha* spp.) הם טפילי שורש מוחלטים הנטפלים לצמחים דו-פסיגיים ושואבים מהם מוטמעים, מים ומינרלים. המזרח התיכון ואזור אגן הים התיכון נחשבים כאזור המוצא של העלקת, ואכן באזורים אלו נגרמים נזקים כבדים לגידולים חקלאיים. הנתקפים על ידי הטפיל. בישראל נפוצים 5 מיני עלקת הגורמים נזק רב לגידולים חקלאיים ובשנים האחרונות יש עליה באילוח שטחים ובנזק הנגרם על ידי העלקת. הבקיה (*Vicia* sp.) הנה קטנית המשמשת כגידול מספוא לשחת. בקיה זו נפגעת קשה על ידי עלקת מצרית (*O. aegyptiaca*) ועלקת חרוקה (*O. crenata*). הזן העיקרי המגודל בארץ היינו 'יובל' השייך למין בקיה מצויה (*V. sativa*) והוא רגיש לעלקת מצרית ולעלקת חרוקה. הדברת העלקת קשה עקב הקשר ההדוק והתת-קרקעי של הטפיל המוחלט אל שורשי הפונדקאי. כמו כן קיימים מנגנונים מורכבים של הפצה, נביטה והשתמרות ממושכת של הזרעים המקשים גם הם על ההדברה. רוב אמצעי ההדברה הנוקטים הם קשים לביצוע, יקרים או בלתי יעילים. מכאן החשיבות של המחקר העוסק בהבהרת המנגנונים המקנים לצמחים עמידות לעלקת. מאמץ רב הושקע בחקר מנגנוני עמידות של צמחים כנגד פתוגנים שונים אך מספר המחקרים העוסקים בחקר עמידות צמחים לעלקת קטן.

תגובת גנוטיפים של בקיה ופלפל אשר דווחו או נמצאו עמידים לעלקת נבדקה ב- 3 מערכות עיקריות:

1. שקיות פוליאתילן- בהם נזרעה הבקיה על נייר נטול סיבית שעליו פוזרו זרעי עלקת מצרית. הנייר הושם בשקית והוזן על ידי תמיסת מזון. השקיות הועמדו בתוך ארגז שחור בחדר צמיחה או בתאי צמיחה מבוקרים.
2. עציצים- בחממה ובבית רשת בהם גודלה בקיה באדמה מאולחת בורעי עלקת מצרית.
3. הקשר בין הטפיל לפונדקאי נבחן בחומר חי ברמה המיקרוסקופית באמצעות בינוקולר. חתכים חיים של שורשי בקיה וחתכים אשר עברו פיקסציה וצביעה נבחנו באמצעות מיקרוסקופ אור.

עקב הממצאים הראשוניים כי העמידות לעלקת חזקה ויציבה יותר בבקיה, הוחלט להתרכז במחקר בפונדקאי זה. גנוטיפים של בקיה העמידים לעלקת הנביטו זרעי עלקת לפחות כמו או יותר מאשר גנוטיפים רגישים לעלקת. בעקבות ההנבטה הגבוהה בגנוטיפים העמידים, נמדדו מספר רב יותר של התחברויות הטפיל לשורשי הפונדקאי אך חיבורים אלו הפכו נקרוטיים עם הזמן והטפילות נבלמה. בגנוטיפים הרגישים, מספר התחברויות קטן הוביל לחיבורים פונקציונליים ובהמשך לשלבי טפילות מתקדמים עד התמוטטות הצמח הפונדקאי. בניסויים אשר נערכו בתאי צמיחה מבוקרים נמצא כי העמידות לעלקת יציבה במשטרי טמפרטורה שונים. בחינת הקשר טפיל-פונדקאי הראתה כי בשורשי גנוטיפים של בקיה הרגישים לעלקת, מצץ העלקת חודר ישירות מהאפידרמיס דרך הקורטקס אל צינורות ההובלה בגליל המרכזי ומתחבר אליהם לצורך שאיבת מוטמעים ומינרלים. בשורשי גנוטיפים של בקיה העמידים לעלקת, מצץ הטפיל חודר את האפידרמיס והקורטקס אך נעצר באזור שכבת תאי האנדודרמיס כך שאינו חודר לגליל המרכזי. תופעה זו מלווה בהפרשת חומר חום אדמדם סביב המצץ החודר ובהמשך נוצר כתם נקרוטי סביב אזור החזירה המוביל להתייבשות המצץ ולמותו. בדיקות ביוכימיות של מיצוי שורשי בקיה רגישים ועמידים לעלקת, מאולחים וללא אילוח בעלקת הוכיחו כי תוצרים ואנזימים הקשורים במסלול הביוסינתזה הפנילפרופנואידי עוברים אינדוקציה בעקבות אילוח בעלקת של הגנוטיפ העמיד. מאידך, האנזים PAL אינו מושרה כתוצאה מאילוח בעלקת בצמח העמיד אך פעילותו גבוהה יותר בגנוטיפים עמידים לעומת הגנוטיפים הרגישים. במחקר זה הוכחה עמידותם של גנוטיפים של בקיה ארגמנית ושעירה לעלקת מצרית והובהר כי עמידות זו מתקבלת כנראה כתוצאה מצורך של מספר גורמים: פעילות קונסטיטיבית גבוהה של האנזים PAL בגנוטיפ העמיד משמש כפרקורסור לליגניפיקציה של דפנות תאי השורש, ליצירת שכבת אנדודרמיס בלתי חדירה וליצירת טוקסינים הפוגעים במצץ העלקת החודר. מצץ העלקת מצליח לחדור את אפידרמיס וקורטקס השורש, אך נבלם באזור האנדודרמיס ולא מצליח לחדור לגליל המרכזי בכדי להתחבר לצינורות ההובלה של הפונדקאי. לא נמצאה השפעה של משטרי טמפרטורות שונים על עמידות זו. הידע על גורמי העמידות לעלקת שנצבר במחקר זה יתרום לפיתוח זני גידולים עמידים לעלקת. בעקבות המחקר יצאה המלצה לחקלאים להפסיק את השימוש בבקיה מצויה ולעבור לגדל בקיה ארגמנית העמידה לעלקת. יש גם לבדוק גידול מסחרי של זני בקיה שעירה.

מנגנון העמידות של זני פלפל ובקיה לעלקת

י. גולדווסר, י. הרשנהורן, ד. פלקחין, ד. יואל וי. קליפלד.

מינהל המחקר החקלאי, המחלקה לחקר עשבים, נוה יער – מרכז מחקר צפון, ת.ד. 1021 רמת ישי 30095.

פקס: 04-9836936. דואר אלקרוני: weedres@netvision.net.il.

בהשתתפות: ב. רובין - האוניברסיטה העברית בירושלים, המחלקה לגידולי שדה, ירקות וגנטיקה, הפקולטה לחקלאות
מזון ומדעי הסביבה, ת.ד. 12, רחובות. פקס: 08-9362083. דואר אלקטרוני: rubin@huji.agri.ac.il

Mode of resistance to broomrape in vetch and pepper varieties.

Y. Goldwasser, J. Hershenhorn, D. Plakhine and Y. Kleifeld.

Department of Weed Research, Newe-Ya'ar Research Center, A.R.O., P.O. Box 1021, Ramat Yishay,
Israel 30095. Fax: 04- 989986. Email: weedres@netvision.net.il

B. Rubin, Participant - Department of Field Crops, Vegetables and Genetics, Faculty of Agriculture, Food
and Environmental Sciences, The Hebrew University of Jerusalem, P.O. Box 12, Rehovot, Israel 76100.

Fax: 08-9362083. Email: rubin@agri.huji.ac.il

1. מבוא

תופעת צמחים טפיליים שכיחה בעולם הצמחים ועד היום זוהו לפחות 17 משפחות בוטניות שונות בהם צמחים עילאיים
נטפלים לצמחים עילאיים אחרים. צמחים טפיליים נבדלים מצמחים אחרים בכך שהם נקשרים למערכות ההובלה של
הצמחים הפונדקאים דרך איבר מיוחד הנקרא מצץ (haustorium), דרכו הם יונקים מהם מוטמעים, מינרלים ומים.
משפחת העלקתיים (*Orobanchaceae*) כוללת 14 סוגים ובניהם הסוג עלקת (*Orobanche*), הכולל כ- 130 מיני צמחים
טפילי שורש מוחלטים, חסרי כלורופיל הנטפלים לשורשיהם של צמחים דו-פסיגיים וגורמים נזק בגידולים חקלאיים
רבים. השם *Orobanche* מקורו ביוונית: Orobo - בקיה, Anchein - חונק. מיני העלקת נפוצים בעיקר באזורים
ממוזגים וחמים של חצי הכדור הצפוני, כאשר אגן הים התיכון והמזרח התיכון נחשבים כאזורי התפוצה העיקריים של
טפילים אלו.

העלקת בישראל מדווחת כמזיק מאז תחילת החקלאות המודרנית. בשנים האחרונות ישנה התפשטות והתגברות של
הטפיל עד כדי נטישת שטחים על ידי החקלאים. השלמה עם אובדן יבולים כתוצאה מהאילוח בעלקת מתרחשת בארצות
השכנות לנו והארצות השוכנות באגן הים התיכון. הדברת העלקת מלווה בקשיים בגלל הקשרו התת-קרקעי ההדוק של
הטפיל לשורשי הפונדקאי. גם מנגנוני צמח מורכבים של הפצה, נביטה והשתמרות ממושכת של הזרעים בקרקע מקשים
על ההדברה.

בישראל ידועות 9 מיני עלקת מהם 5 בעלי חשיבות חקלאית:

עלקת מצרית (*Orobanche aegyptiaca*): פוגעת בגידולים רבים בכל עונות השנה בכל רחבי הארץ.

עלקת ענפה (*Orobanche ramosa*): אזורי תפוצתה מצומצמים והיא פוגעת בעיקר בתפוז"א ברמת הגולן.

עלקת חרוקה (*Orobanche crenata*): פוגעת בעיקר בגידול קטניות בעונת החורף בכל רחבי הארץ.

עלקת החמנית (*Orobanche cumana*): פוגעת בחמניות בכל רחבי הארץ.

עלקת נטויה (*Orobanche cernua*): אזורי תפוצתה מצומצמים והיא פוגעת בעיקר בגידולים סולניים

בעונת הקיץ בצפון הארץ, בבקעת הירדן ובערבה.

העלקת המצרית היא הנפוצה ביותר בישראל, בעלת טווח הפונדקאים הרחב ביותר וגורמת את הנזק הרב ביותר. עיקר
פגיעתה בגידולים ממשפחת הסולניים, הקטניות והסוככיים. הגידולים החקלאיים העיקרים הנפגעים על ידה הם:

עגבנייה, תפוח אדמה, טבק וחציל ממשפחת הסולניים; בקיה, פול, עדשים ואגוזי אדמה ממשפחת הקטניות; גזר, סלרי ופטרוזיליה ממשפחת הסוככים וחמנית ממשפחת המורכבים.

הבקה (*Vicia spp.*) מסדרת הקטניות (*Leguminosae*) משפחת הפרפרניים (*Papilionaceae*), שבת הביקיים (*Vicieae*) משמשת כגידול מספוא לשחת. רוב מיני וקווי בקיה רגישים לעלקת מצרית ולעלקת חרוקה. הטפילות גורמת לפחיתה ביבולים ופגיעה באיכות השחת. תפרחות הטפיל הנאספות בתוך חבילות השחת ומוסעות עמו ומפזרות זרעים לאורך כבישים ובאתרים מרוחקים מאזורי האילוח. יתר על כן, פיזור זבל לא מעובד שמקורו בבעלי חיים שאכלו שחת מאולחת בתפרחות עלקת, גורם לפיזור נוסף של זרעי הטפיל. זרעי בקיה שמקורם בשדות מאולחים בעלקת תורמים אף הם להפצת הטפיל בשדות בקיה. גנוטיפים של בקיה העמידים לעלקת בוררו בספרד בסוריה ובישראל. הגנוטיפים הספרדיים והסוריים הנם קוים של המין *V. sativa* שבהם נמצאה עמידות מוחלטת לעלקת חרוקה. מנגנון תורשת העמידות נקבע כמודל אדיטיבי-דומיננטי.

בישראל מגדלים שני זני בקיה: הזן 'יובל' השייך למין *V. sativa* הינו רגיש לעלקת מצרית ועלקת חרוקה; הזן התקבל בעקבות ברור מקומי מתוך אינטרודוקציה של זרעים מסיציליה. הזן 'שדות', זן ישראלי העמיד לעלקת מצרית וחרוקה, התקבל מהכלאה בין בקיה ארגמנית *V. atropurpurea* וקו לא ידוע אשר התקבל מאוסטרליה.

הפלפל (*Capsicum annum*) שייך למשפחת הסולניים (*Solanaceae*) הכוללת מינים רגישים לעלקת מצרית, ענפה ונטויה. הפלפל ידוע כפונדקאי לא מוצלח של עלקת אך בעבודות קודמות מצאנו רגישות שונה של קבוצות פלפל שונות. גם בתוך קבוצות הפלפל יש הבדלי רגישות לעלקת ואנו בחרנו להתמקד בזני הפלפל המתוק בהם יש זנים רגישים ביותר וגם עמידים.

עקב הקשיים בהדברת עלקת, הוצאתו הקרובה מהשימוש של מתיל ברומיד והמגמה להפחתת השימוש בקוטלי עשבים, ישנה חשיבות עליונה במחקר ובפיתוח זני גידולים עמידים כחלק מהמלחמה נגד טפיל זה. ידועים מנגנוני עמידות של צמחים נגד פתוגנים אשר חלקם קיים כנראה גם במערכת של עלקת-פונדקאי אך מחקרים מעטים עוסקים בבחינת מנגנוני עמידות של צמחים כנגד עלקת. אין מחקרים כלל בנושא מנגנון העמידות של בקיה ופלפל כנגד עלקת ומירב העבודות שפורסמו בנושא עוסקות בעמידות חמניות לעלקת החמנית (*O. Cumana*). מחקרים אלו מתארים מנגנוני עמידות של ליגניפיקציה של שורשים והפרשת פיטואלקסינים בתגובה לחדירת עלקת.

זני בקיה מצויה מסחריים העמידים לעלקת חרוקה פותחו בספרד מהקו העמיד 473-A. במחקר של ה-International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) במעבדה ובשדה בסוריה, נמצאו קוים של בקיה מצויה ובקיה שעירה שהראו עמידות לעלקת חרוקה. בישראל טופח באקראי זן עמיד לעלקת בשם 'שדות', אשר אחד מהוריו היה בקיה ארגמנית והורה אחד לא מזוהה.

ישנם דווחים נוספים על עמידות זנים של חציל נגד עלקת נטויה, של חרדל ולפתית כנגד עלקת מצרית. בצמחים קיימים מנגנוני הגנה רבים ומגוונים המופעלים כנגד פתוגנים או גורמי עקה. לעתים כמה מנגנוני הגנה פועלים במשולב להגנה מפני הגורם התוקף. המנגנונים יכולים להיות קיימים בצמח לפני חשיפתו לגורם הנזק (constitutive) או אלה המושרים כתגובה לחשיפה (inductive). חלק נכבד ממנגנוני ההגנה הידועים קשורים למסלול הביוסינטטי של פנילפרופנואידים, המתחיל בפניל אלנין ונגמר ביצירת פנולים, ליגנין, סוברין, פלבנואידים, איזופלבנואידים, קומרינים, ואסטרנים מסיסים. אנזימים עיקריים הכלולים במסלול זה הנם PAL, POX, CoA ligase, 4-coumarate ו-4-coumaroyl-CoA.

מטרות מחקר זה היו:

1. איתור מערכות ההגנה של זני בקיה ופלפל המגלים עמידות לעלקת.
2. בחינת השפעת תנאי הסביבה על מנגנון העמידות של בקיה ופלפל.
3. אפיון המנגנונים הפיסיולוגיים, הביוכימיים והאנטומיים המעורבים בתגובת גנוטיפים של בקיה ופלפל עמידים לעלקת, לעומת גנוטיפים בלתי עמידים לטפיל.

שני שתילי בקיה בני 10 יום אשר הוכנו בוורמקוליט נשתלו בכל שקית ומכל זן נשתלו 6 שקיות. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 54 יל"ש.

בהמשך לניסוי הקודם נבדקה במערכת ה-PEB הרגישות לעלקת של כל הגנוטיפים השייכים למין בקיה מצויה אשר דווחו כעמידים לעלקת. התוצאות המובאות בטבלה 4. בכל הגנוטיפים השייכים למין בקיה מצויה שנבדקו נצפתה רגישות לעלקת.

טבלה 4. בדיקת רגישות בקיה מצויה לעלקת מצרית במערכת ה-PEB. ערכים בכל טור המלווים באותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית על פי מבחן תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$.

גנוטיפ בקיה	הנבטת זרעי עלקת ^א	טפילות		עלקת			
		חיבורים		פקעיות	עכבישים	עמודי תפרחת סה"כ	
		(מספר לסמ"ר ^א שורש ^ג)				(מספר לצמח בקיה) ^ה	
MED	58.1 a	1.2 a	4.1 a	4.6 a	13.2 a	3.3 a	21.1 a
MEZ	60.7 a	1.1 a	5.8 a	4.9 a	7.1 b	1.8 b	13.8 b
2037	55.7 a	0.0 b	1.3 b	2.3 b	5.4 b	2.2 b	9.9 b
2541	69.1 a	0.4 b	1.2 b	2.1 b	4.2 b	1.2 b	7.5 b

^א 28 יל"ש. ^ב נביטה מקסימלית ממוצעת של זרעי עלקת מצרית כפי שנבדק בהשראת GR₂₄

בצלחות פטרי - $4.0 \pm 55.6\%$. ^ג סמ"ר שורש - שטח של סמ"ר שסומן על השקית במרכז מערכת

השורשים. ^ה 28 יל"ש. ^ז 42 יל"ש.

2.1.3 בקיה שעירה

בעקבות דווח על קווי בקיה שעירה שגילו עמידות לעלקת בניסויי שדה ראשוניים של ד"ר יעקובסון ממנהל המחקר החקלאי, נערך ניסוי מסודר בשקיות פלסטיק לבדיקת העמידות של קווים אלו וכן זן נוסף שהתקבל מפולין.

1. 55-700 - קו מתורכיה.

2. 55-705 - קו מתורכיה.

3. 55-706 - קו מתורכיה.

4. 55-707 - קו מתורכיה.

5. 'Rea' - זן מפולין.

6. 1033 - קו *V. sativa* רגיש אשר שימש כביקורת.

שני שתילי בקיה בני 8 יום אשר הוכנו בוורמקוליט נשתלו בכל שקית ומכל זן נשתלו 5 שקיות עם עלקת וחמש שקיות ללא אילוח בעלקת. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 55 יל"ש.

תוצאות אחוז הנביטה, מספר ההתחברויות, הפקעיות, העכבישים ועמודי התפרחת של ניסוי זה מובאים בטבלה 5. לא נמצאו הבדלים מובהקים בשעורי הנבטת העלקת אך בקו 706 נצפתה רגישות לעלקת בדומה לזו שנצפתה בגנוטיפים של בקיה מצויה. שאר הקווים גילו עמידות אשר דמתה במופעה לעמידות של בקיה ארגמנית אך באחת החזרות של קו 707 הופיעו פקעיות בודדות.

טבלה 3. השוואת רגישות גנוטיפים של בקיה מצויה ובקיה ארגמנית לעלקת מצרית במערכת ה-PEB. ערכים בכל טור המלווים באותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית על פי מבחן תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$.

גנוטיפ בקיה	הנבטת זרעי עלקת ^א (% ממקס.) ^ב	טפילות		עלקת		
		נקרוטיים (מספר לסמ"ר ^ג שורש) ^ד	לא נקרוטיים (מספר לסמ"ר ^ג שורש) ^ד	פקעיות (מספר לצמח בקיה) ^ה	עכבישים עמודי תפוחת סה"כ	עלקת
POP	87.1 a	15.1 a	6.2 a	0.1 b	0.0 b	0.1 b
SDT	58.3 b	4.5 b	4.1 b	0.2 b	0.0 a	0.2 b
YVL	37.8 c	0.0 c	2.5 b	12.9 a	3.0 a	16.4 a
VST	36.2 c	0.0 c	4.1 b	10.3 a	3.5 a	14.1 a

^א 21 יל"ש. ^ב נביטה מקסימלית ממוצעת של זרעי עלקת מצרית כפי שנבדק בהשראת GR₂₄ בצלחות

פטרי - $4.0 \pm 55.6\%$. ^ג סמ"ר שורש- שטח של סמ"ר שסומן על השקית במרכז מערכת השורשים.

^ד 21 יל"ש. ^ה 43 יל"ש.

פקעיות - גופים בלוטיים המתפתחים בעקבות התחברויות העלקת בתהליכי טפילות נורמליים. פקעיות עלקת הופיעו בזנים YVL ו-VST כבר 21 יל"ש: נמצאו 13 ו-10 פקעיות בממוצע לכל סמ"ר שורש בעוד בזנים POP ו-SDT היו פקעיות בודדות. בהמשך נמצאו פקעיות נקרוטיות ובלתי נקרוטיות אשר התפתחו בזנים YVL ו-VST במספר הרב ביותר ללא הבדלים מובהקים ביניהם. יש לציין כי ב-50 יל"ש צמחי הזן VST התייבשו עקב הטפילות הגבוהה של העלקת ועל כן אין נתונים במועד זה. בזנים POP ו-YVL נמצאו רק פקעיות בודדות במהלך כל הגידול.

עכבישים - שלב הטפילות של עלקת שבו הפקעית מוציאה דמויי שורשונים. עכבישי עלקת לא הופיעו כלל בזן POP ורק בודדים התפתחו בזן SDT. בזנים YVL ו-SDT התפתחו עכבישים החל מ-28 יל"ש, אשר חלקם התייבשו בהמשך, כך שב-43 יל"ש נצפו בממוצע 3 עד 3.5 עכבישים לכל צמח בקיה, ללא הבדלים מובהקים בין שני הזנים.

עמודי תפוחות עלקת - שלב מתקדם של טפילות העלקת בו מפתח עכביש העלקת עמוד תפוחות. עמודי תפוחות של עלקת הופיעו בזנים YVL ו-VST החל מ-28 יל"ש ומספרם הגיע לשיא בסוף הגידול ללא הבדל מובהק בין שני הזנים. בזנים POP ו-SDT, לא התפתחו עמודי תפוחות כלל.

2.1.2 בקיה מצויה

בהמשך לניסוי הקודם נערך ניסוי דומה לבחינת זני בקיה מצויה אשר דווחו כעמידים לעלקת חרוקה בספרד ובסוריה לעומת הזן הישראלי הרגיש:

1. '473-A' (VST) - קו מספרד.
2. 'Medina' (MED) - זן מספרד.
3. 'Mezquita' (MEZ) - זן מספרד.
4. 2037 - קו מסוריה.
5. 2541 - קו מסוריה.
6. 'יובלי' (YVL) - זן הידוע כרגיש כביקורת.

שני שתילי בקיה בני 10 יום אשר הוכנו בוורמקוליט נשתלו בכל שקית ומכל זן נשתלו 6 שקיות. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 54 יל"ש.

בהמשך לניסוי הקודם נבדקה במערכת ה-PEB הרגישות לעלקת של כל הגנוטיפים השייכים למין בקיה מצויה אשר דווחו כעמידים לעלקת. התוצאות המובאות בטבלה 4. בכל הגנוטיפים השייכים למין בקיה מצויה שנבדקו נצפתה רגישות לעלקת.

טבלה 4. בדיקת רגישות בקיה מצויה לעלקת מצרית במערכת ה-PEB. ערכים בכל טור המלווים באותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית על פי מבחן תחום מרובה של Duncan, $P = 0.05$.

גנוטיפ בקיה	הנבטת זרעי עלקת ^א (% ממקס.) ²	טפילות		עלקת			
		חיבורים		פקעיות	עכבישים	עמודי תפרחת סה"כ	
		נקרוטיים לא נקרוטיים		(מספר לסמ"ר ¹ שורש) ⁷	(מספר לצמח בקיה) ⁷		
MED	58.1 a	1.2 a	4.1 a	4.6 a	13.2 a	3.3 a	21.1 a
MEZ	60.7 a	1.1 a	5.8 a	4.9 a	7.1 b	1.8 b	13.8 b
2037	55.7 a	0.0 b	1.3 b	2.3 b	5.4 b	2.2 b	9.9 b
2541	69.1 a	0.4 b	1.2 b	2.1 b	4.2 b	1.2 b	7.5 b

^א 28 יל"ש. ² נביטה מקסימלית ממוצעת של זרעי עלקת מצרית כפי שנבדק בהשראת GR₂₄

בצלחות פטרי - $4.0 \pm 55.6\%$. ¹ סמ"ר שורש - שטח של סמ"ר שסומן על השקית במרכז מערכת

השורשים. ⁷ 28 יל"ש. ⁷ 42 יל"ש.

2.1.3 בקיה שעירה

בעקבות דווח על קווי בקיה שעירה שגילו עמידות לעלקת בניסויי שדה ראשוניים של ד"ר יעקובסון ממנהל המחקר החקלאי, נערך ניסוי מסודר בשקיות פלסטיק לבדיקת העמידות של קווים אלו וכן זן נוסף שהתקבל מפולין.

1. 55-700 - קו מתורכיה.

2. 55-705 - קו מתורכיה.

3. 55-706 - קו מתורכיה.

4. 55-707 - קו מתורכיה.

5. 'Rea' - זן מפולין.

6. 1033 - קו *V. sativa*. רגיש אשר שימש כביקורת.

שני שתילי בקיה בני 8 יום אשר הוכנו בוורמיקוליט נשתלו בכל שקית ומכל זן נשתלו 5 שקיות עם עלקת וחמש שקיות ללא אילוח בעלקת. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 55 יל"ש.

תוצאות אחוז הנביטה, מספר ההתחברויות, הפקעיות, העכבישים ועמודי התפרחת של ניסוי זה מובאים בטבלה 5. לא נמצאו הבדלים מובהקים בשעורי הנבטת העלקת אך בקו 706 נצפתה רגישות לעלקת בדומה לזו שנצפתה בגנוטיפים של בקיה מצויה. שאר הקווים גילו עמידות אשר דמתה במופעה לעמידות של בקיה ארגמנית אך באחת החזרות של קו 707 הופיעו פקעיות בודדות.

טבלה 5. בדיקת רגישות בקיה שעירה לעלקת מצרית במערכת ה-PEB. ערכים בכל טור המלווים באותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית על פי מבחן תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$.

נוטיפ קיה	הנבטת זרעי עלקת ^א	טפילות		עלקת		
		חיבורים		פקעיות	עכבישים	עמודי תפרחת סה"כ
	(% ממקס.) ^ב	נקרוטיים לא נקרוטיים	נקרוטיים	(מספר לצמח בקיה) ^ג	(מספר לצמח בקיה) ^ג	(מספר לצמח בקיה) ^ג
70	55.3 b	3.6 a	1.5 b	0.1 b	0.0 b	0.0 a
70	57.4 b	0.8 a	2.4 b	3.1 a	4.2 a	0.2 a
70	66.2 b	1.9 a	3.8 a	0.6 b	0.8 b	0.1 a
RE	89.5 A	2.3 a	1.9 b	0.9 b	0.0 b	0.0 a
33	43.7 b	0.6 a	1.4 b	4.2 a	6.0 a	0.2 a

^א 26 יל"ש. ^ב נביטה מקסימלית ממוצעת של זרעי עלקת מצרית כפי שנבדק בהשראת GR₂₄ בצלחות פטרי - 4.0 ± 55.6%. ^ג סמ"ר שורש - שטח של סמ"ר שסומן על השקית במרכז מערכת השורשים. ^ד 26 יל"ש. ^ה 39 יל"ש.

2.1.4 בחינת השפעת טמפרטורה על התבטאות העמידות לעלקת

לאחר שהוכח כי גנוטיפים של בקיה מצויה רגישים לעלקת מצרית בעוד גנוטיפים של בקיה ארגמנית עמידים ובעקבות דווחים על השפעת משטרי טמפרטורה שונים על עמידות לעלקת, נלקח גנוטיפ מייצג של בקיה מצויה וגנוטיפ מייצג של בקיה ארגמנית לבחינת השפעת משטרי טמפרטורה שונים על העמידות לעלקת.

בניסוי זה נבחנה השפעת 3 משטרי טמפרטורה על הרגישות לעלקת מצרית של:

1. בקיה YVL - זן שהוכח כרגיש בניסיונות הקודמים שנערכו בשקיות פלסטיק ובעציצים.

2. בקיה POP - זן שהוכח כעמיד בניסיונות הקודמים שנערכו בשקיות פלסטיק ובעציצים.

משטרי הטמפרטורה שנבדקו (לילה/יום):

1. 17/12°C.

2. 22/17°C.

3. 27/22°C.

הניסוי נערך בתאי צמיחה⁵ בתנאי הארה של 14 שעות אור ביממה ו- 8 שעות חושך, בעוצמת אור של $200 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

ארבעה שתילי בקיה בני 7 יום אשר הוכנו בוורמקוליט נשתלו בכל שקית ומכל זן נשתלו 10 שקיות עם עלקת ו-10

שקיות ללא עלקת. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 57 יל"ש.

בדיקת נביטה מקסימלית של זרעי עלקת בצלחות פטרי נערכה במקביל בכל אחד מתאי הצמיחה.

הנבטת זרעי עלקת - בטמפרטורה האופטימלית של 22/17°C חלה נביטה מקסימלית (74% מנביטה מקסימלית) על

שורשי שני הגנוטיפים. כמו בהנבטה בצלחות פטרי ללא פונדקאי, גם כאן חלה ירידה בנביטה עם העלייה או הירידה

בטמפרטורה (ציור 1). הזן YVL הגיב פחות לשינויי הטמפרטורה ובטמפרטורה הנמוכה נבטו יותר זרעי עלקת על שורשי

ה- YVL מאשר על שורשי ה-POP, אך ההפרש ביניהם לא היה מובהק.

ארבעה טיפולים קבועים נלקחו לבדיקות הביוכימיות:

1. YVL - צמחי בקיה YVL רגישים ללא אילוח בעלקת.
2. YVL+ - צמחי בקיה YVL רגישים מאולחים בעלקת.
3. POP - צמחי בקיה POP עמידים ללא אילוח בעלקת.
4. POP+ - צמחי בקיה POP עמידים מאולחים בעלקת.

זרעי הבקיה מארבעת הטיפולים נזרעו בשקית (4 זרעים לשקית) והוכנסו לחדר גידול מבוקר בטמפרטורה של $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ בעצמת אור של $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. עשרים יום לאחר הזריעה הוספו באמצעות מזרק 5 מ"ל GR_{24} בריכוז 5 ppm לכל שקית בכדי להגביר ולאחד את מועד נביטת זרעי העלקת. שורשי בקיה נלקחו לאנליזה במועדי התפתחות שונים של המערכת טפיל-פונדקאי כמתואר בטבלה 1. במועדי הדגימה נחתכו באמצעות סכין גילוח קטעי שורש מאזור מרכז מערכת השורשים, הופרדו ונוקו מאיברי עלקת, נספגו על נייר סופג, נארוזו בתוך נייר אלומיניום בחבילות של 0.2, 0.5 ו-1.0 גר' והוכנסו למקרר בטמפרטורה של 20°C עד ללקיחתם לאנליזה.

טבלה 1. מועדי הדגימה של שורשי בקיה לבדיקות ביוכימיות.

מועד דגימה	זן בקיה	שלב התפתחותי	יל"ט ^א	יל"ץ ^ב
I	YVL	התחברות עלקת ¹	4	24
	POP	התחברות עלקת ²	6	26
II	YVL	טפילות ראשונית ³	8	28
	POP	מופע עמידות ראשוני ⁴	12	32
III	YVL	טפילות מתקדמת ⁵	25	45
	POP	מופע עמידות מתקדם ⁶	25	45

^א יל"ט - ימים לאחר טיפול ב- GR_{24} .

^ב יל"ץ - ימים לאחר זריעת בקיה.

¹ התחברות עלקת- חדירה ראשונית של מצץ העלקת לתוך אפידרמיס שורש הבקיה.

² טפילות ראשונית- היוצרות פקעיות עלקת על שורש הבקיה.

³ מופע עמידות ראשוני- תחילת היוצרות רקמת שורש בקיה נקרוטית באזור חדירת מצץ העלקת.

⁴ טפילות מתקדמת- היוצרות דמויי-שורש על פקעיות העלקת ("עכבישים").

⁵ מופע עמידות מתקדם- רקמת שורש בקיה נקרוטית מפותחת סביב אזור חדירת מצץ העלקת.

2.3.1 מיצוי וקביעת פנולים חופשיים

מיצוי וקביעת פנולים חופשיים נערכו באמצעות ריאגנט Folin-Ciocalteu's על פי Kofalvi and Nassuth, 1995. ריכוז הפנולים מוצג בערכים של p-coumaric acid.

בבדיקות שנלקחו לאורך כל תקופת הגידול נמצאו רמות נמוכות וקבועות של פנולים חופשיים בשורשים הבלתי מאולחים של YVL ו-POP. בעקבות האילוח בעלקת, רמת הפנולים בשורשי שני הזנים עלתה במקביל להתפתחות צמחי הבקיה, אך בעוד שב- YVL נמדדה עליה מתונה שהביאה בסוף הגידול לרמה של פי 2.5 מהביקורת הלא מאולחת, הרי ב- POP נרשמה עליה חדה שהביאה 25 ילי"ש לרמה של פי 4 מהביקורת הלא מאולחת. (ציור 13).

לא נמצאו הבדלים מובהקים בביומסה של העלוקת שהתפתחה על שורשי שני הגנוטיפים הרגילים- עיקר הביומסה היתה תת-קרקעית (ציור 6).

2.2.2 בקיה מצויה

במקביל לניסוי בשקיות 2.1.2 נערך ניסוי בעציצים בחממה מחוממת. הגנוטיפים שנבדקו:

1. 'Medina' (MED).

2. 'Mezquita' (MEZ).

3. 2037.

4. 2541.

5. 'יובל' (YVL) - זן *V. sativa* רגיש כביקורת.

כל גנוטיפ נזרע ב- 10 עציצים מאולחים בזרעי עלוקת וב- 10 עציצים ללא עלוקת. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 63 יליש.

כל הגנוטיפים גילו רגישות לעלוקת ונמצאו על שורשיהם עכבישים, עמודי תפרחת ותפרחות (ציור 7) משקל הצמחים נפגע קשה בעקבות האילוח בעלוקת- הפחתה במשקל הירוק של 63 עד 90% של הנוף ו- 71 עד 97% של השורשים. הפגיעה במסה של השורשים היתה גבוהה יותר ב- 7 עד 13% מאשר הפגיעה בנוף בכל הגנוטיפים (ציור 8). הפגיעה במשל היבש בעקבות האילוח בעלוקת התבטאה בהפחתה של 46 עד 69% של הנוף ו- 42 עד 98% של השורשים.

2.2.3 בקיה שעירה

במקביל לניסוי בשקיות 2.1.3 נערך ניסוי בעציצים בחממה מחוממת. הגנוטיפים שנבדקו:

1. 55-700.

2. 55-705.

3. 55-706.

4. 55-707.

5. 'Rea'.

6. 'Kwarta' - זן *V. sativa* רגיש מפולין אשר שימש כביקורת.

כל גנוטיפ נזרע ב- 10 עציצים מאולחים בזרעי עלוקת וב- 10 עציצים ללא עלוקת. תצפיות נערכו מדי שבוע והניסוי הסתיים 63 יליש.

כל הגנוטיפים גילו עמידות טובה לעלוקת מצרית ורק אברי עלוקת בודדים נצפו על שורשיהם, בהשוואה לאילוח של מעל 25 עלקות לעציץ בבקיה המצויה (KWA) אשר שימש כביקורת בניסוי זה (ציור 10). עמידות זו התבטאה גם במשקל שצברו צמחי הבקיה: המשקל הטרי והיבש של הנוף לא נפגע למרות האילוח בעלוקת לעומת פגיעה של 70% בבקיה המצויה המאולחת. במשקל השורשים היתה פגיעה של 21% רק ב-גנוטיפים 706 ו- REA לעומת פגיעה חמורה של 80% בבקיה המצויה המאולחת (ציור 11). משקל העלוקת על הגנוטיפים של הבקיה השעירה היה זניח בעוד שעל הבקיה המצויה נמדדו 15 גר' לעציץ (ציור 12).

2.3 אנליזה ביוכימית של שורשי בקיה

בכדי להבהיר את מנגנוני העמידות של בקיה כנגד עלוקת, נערכה סדרת אנליזות ביוכימיות לשורשי הבקיה. בכדי לקבל שורשי בקיה מתאימים לאנליזות ביוכימיות, גודלו צמחי בקיה בשיטת ה- PEB השלב השני. השקיות הוכנו כמתואר ב- 2.1 אך נערכה זריעה למישרין של זרעים בשקית ולא שתילת שתילים.

ארבעה טיפולים קבועים נלקחו לבדיקות הביוכימיות:

1. YVL - צמחי בקיה YVL רגישים ללא אילוח בעלקת.
2. YVL+ - צמחי בקיה YVL רגישים מאולחים בעלקת.
3. POP - צמחי בקיה POP עמידים ללא אילוח בעלקת.
4. POP+ - צמחי בקיה POP עמידים מאולחים בעלקת.

זרעי הבקיה מארבעת הטיפולים נזרעו בשקית (4 זרעים לשקית) והוכנסו לחדר גידול מבוקר בטמפרטורה של $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ בעצמת אור של $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. עשרים יום לאחר הזריעה הוספו באמצעות מזרק 5 מ"ל GR_{24} בריכוז 5 ppm לכל שקית בכדי להגביר ולאחד את מועד נביטת זרעי העלקת. שורשי בקיה נלקחו לאנליזה במועדי התפתחות שונים של המערכת טפיל-פונדקאי כמתואר בטבלה 1. במועדי הדגימה נחתכו באמצעות סכין גילוח קטעי שורש מאזור מרכז מערכת השורשים, הופרדו וווקו מאיברי עלקת, נספגו על נייר סופג, נארזו בתוך נייר אלומיניום בחבילות של 0.2, 0.5 ו-1.0 גר' והוכנסו למקרר בטמפרטורה של 20°C עד ללקיחתם לאנליזה.

טבלה 1. מועדי הדגימה של שורשי בקיה לבדיקות ביוכימיות.

מועד דגימה	זן בקיה	שלב התפתחותי	יליט ^א	יליץ ^ב
I	YVL	התחברות עלקת ^א	4	24
	POP	התחברות עלקת ^א	6	26
II	YVL	טפילות ראשונית ^א	8	28
	POP	מופע עמידות ראשוני ^ה	12	32
III	YVL	טפילות מתקדמת ^א	25	45
	POP	מופע עמידות מתקדם ^א	25	45

^א יליט - ימים לאחר טיפול ב- GR_{24} .

^ב יליץ - ימים לאחר זריעת בקיה.

^א התחברות עלקת - חדירה ראשונית של מצץ העלקת לתוך אפידרמיס שורש הבקיה.

^ה טפילות ראשונית - היוצרות פקעיות עלקת על שורש הבקיה.

^ה מופע עמידות ראשוני - תחילת היוצרות רקמת שורש בקיה נקרוטית באזור חדירת מצץ העלקת.

^א טפילות מתקדמת - היוצרות דמויי-שורש על פקעיות העלקת ("עכבישים").

^א מופע עמידות מתקדם - רקמת שורש בקיה נקרוטית מפותחת סביב אזור חדירת מצץ העלקת.

2.3.1 מיצוי וקביעת פנולים חופשיים

מיצוי וקביעת פנולים חופשיים נערכו באמצעות ריאגנט Folin-Ciocalteu's על פי Kofalvi and Nassuth, 1995. ריכוז הפנולים מוצג בערכים של p-coumaric acid.

בבדיקות שנלקחו לאורך כל תקופת הגידול נמצאו רמות נמוכות וקבועות של פנולים חופשיים בשורשים הבלתי מאולחים של YVL ו-POP. בעקבות האילוח בעלקת, רמת הפנולים בשורשי שני הזנים עלתה במקביל להתפתחות צמחי הבקיה, אך בעוד שב- YVL נמדדה עליה מתונה שהביאה בסוף הגידול לרמה של פי 2.5 מהביקורת הלא מאולחת, הרי ב- POP נרשמה עליה חדה שהביאה 25 יליש לרמה של פי 4 מהביקורת הלא מאולחת. (ציור 13).

2.3.2 מיצוי וקביעת פנולים קשורים

במשקע השורשים שנותרו לאחר מיצוי הפנולים החופשיים נערכו מיצוי וקביעת פנולים קשורים באמצעות ריאגנט Folin-Ciocalteu's על פי Kofalvi and Nassuth, 1995. כמו בפנולים החופשיים, גם כאן נמצאו רמות נמוכות וקבועות של פנולים קשורים בשורשים הבלתי מאולחים של YVL ו-POP. בבדיקות לאורך כל תקופת הגידול. בעקבות האילוח בעלקת, רמת הפנולים בשורשי שני הזנים עלתה במקביל להתפתחות צמחי הבקיה, אך בעוד שב- YVL נמדדה עליה מתונה שהביאה בסוף הגידול לרמה של פי 2 מהביקורת הלא מאולחת, הרי שב- POP נרשמה עליה חדה שהביאה ב- 25 יל"ש לרמה של פי 4 מהביקורת הלא מאולחת (ציור 14).

2.3.3 מיצוי וקביעת ליגנין

מיצוי וקביעת ליגנין בוצעו על פי Cahill and McComb, 1992. שאריות השורשים שהתקבלו מבדיקת הפנולים מוצו על ידי Thioglycolic acid ותכולת הליגנין נקבעה על ידי מדידת הבליעה של Lignin thioglycolic (LTGA). אילוח בעלקת של הזן הרגיש YVL לא גרם לשינויים ברמות הליגנין בשורשי בהשוואה לשורשים של צמחי YVL הבלתי מאולחים. אילוח בעלקת של הזן העמיד POP גרם לעליה חדה ברמות הליגנין בשורשי החל מ- 12 יל"ש, כך שבסוף הגידול 25 יל"ש נמדדו רמות כפולות של ליגנין לעומת שורשי ה- POP ללא אילוח (ציור 15).

2.3.4 מיצוי וקביעת פנילאלנין אמוניה-ליאז (PAL)

PAL נבדק תחילה על שורשי POP ו- YVL שגודלו ב-PEB, מאולחים וללא אילוח בעלקת, במקביל לבדיקות הביוכימיות האחרות. בעקבות תוצאות בדיקות אלו, נבדקה הפעילות הקונסטיטוטבית של PAL במספר גוטיפים של בקיה שגודלו בוורמקוליט בעצצים ללא אילוח בעלקת.

2.3.4.1 מיצוי וקביעת PAL בשורשי POP ו- YVL ב-PEB, מאולחים וללא אילוח בעלקת.

מיצוי וקביעת PAL נערכו על ידי דיאליזה בבופר בוראט בהתאם לשיטה אשר הוצעה על ידי Lamb et al., 1979. פעילות האנזים נמדדה ב- נומולים של Cinnamic acid שהופקו בשעה אחת על ידי 1 גר' משקל טרי של שורשי בקיה. פעילות PAL בשורשי הזן הרגיש YVL היתה נמוכה ולא הושפעה על ידי אילוח בעלקת. בדומה לכך, לא נמצאו הבדלים גדולים בפעילות PAL בשורשי הזן העמיד POP עם וללא אילוח בעלקת. אבל, פעילות PAL בשורשי POP היתה פי שלושה עד חמשה גבוהה יותר מהפעילות ב- YVL בתחילת תקופת הגידול (מ- 5 עד 12 יל"ש) (ציור 16).

2.3.4.2 בדיקת PAL בבקיה שגודלו בוורמקוליט בעצצים ללא אילוח בעלקת.

בכדי לבדוק את הפעילות הקונסטיטוטבית של PAL נערכה בדיקה של גוטיפים ללא אילוח בעלקת. זרעים מחוטאים של הגוטיפים SDT, POP, YVL, MED, MEZ, 700, 706, ו- 707 נזרעו לתוך וורמקוליט בעצצים בנפח 500 סמ"ק, 10 עצצים מכל גוטיפ. העצצים הושמו באותו חדר גידול שבו הושמו השקיות. 12, 18, 24 ו- 32 יל"ש לאחר הזריעה, הצמחים הוצאו מהעצצים, ושורשיהם נחתכו ונשטפו בעדינות במים סטריליים. מכל גוטיפ נלקחו 3 חזרות של 1 ג' והמשך הטיפול והבדיקה הביוכימית של שורשי הבקיות נערכה בהתאם למתואר ב- 2.3.4.1.

בעקבות זיהוי פעילות גבוהה ובלתי אינדוקטיבית של פעילות PAL בגוטיפ העמיד לעומת פעילות נמוכה ובלתי אינדוקטיבית בגוטיפ הרגיש, נבדקו רמות האנזים בגוטיפים נוספים ללא אילוח בעלקת. הבדיקות הראו כי הפעילות הרבה ביותר של PAL הנה בבדיקה הראשונה (12 יל"ש) ובבדיקות העוקבות יש ירידה ליניארית בפעילות. תוצאות ההשוואה של פעילות PAL 12 יל"ש מובאות בציור 17. הפעילות של PAL בגוטיפים של בקיה ארגמנית היו גבוהות מאד וגבוהות במובהק מהפעילות בגוטיפים של שאר הבקיות. פעילות האנזים בגוטיפים של בקיה שעירה היתה

2. Goldwasser, Y, Hershenhorn, J, Plakhine, D., Kleifeld, Y., and Rubin, B. (1999). Biochemical factors involved in vetch resistance to *Orobanche aegyptiaca*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 54: 87-96.

המצץ והטפיל מתנוונים ומתייבשים. גם כאן זוהה חומר כזה באינטרפזה בין תאי הטפיל לתאי והפונדקאי באזור צוואר החדירה של המצץ ובחללים אפופלסטיים בטפיל ובפונדקאי הסמוכים לאזור החדירה, כולל דפנות תאים של צינורות ההובלה של שורש הבקיה.

בחתכים דומים שנערכו בשורש בקיה YVL הרגישה, נראה מצץ העלקת חודר את השורש בצורה אנכית וישרה דרך האפידרמיס, הקורטקס והאנדודרמיס ישירות אל תוך הגליל המרכזי שם הוא מתחבר אל צינורות ההובלה לביסוס המשך הטפילות. לא זוהה חומר הפרשה בטפיל או בפונדקאי באזור צוואר החדירה.

3. מסקנות והשלכות

1. הוכחה עמידותה של בקיה ארגמנית לעלקת מצרית וחרוקה.

2. התגלה מין בקיה נוסף העמיד לעלקת: בקיה שעירה.

3. נחשפו המנגנונים האנטומיים והביוכימיים האחראיים למנגנון העמידות:

החומצה הצינמית הנוצרת על ידי PAL היא הפרקורסור של כל מסלול הביוסינטזה הפנילפרופונואיד. תוצרי מסלול זה הנם בעצמם הפרקורסורים של חומרים צמחיים רבים הכוללים פנולים, ליגנין, פלבנואידים, איזופלבנואידים, קומרינים וסטילבנים. תוצאות מחקר זה מעידות כי פעילות קונסטיטוטיבית גבוהה של PAL בגוטיפים של בקיה עמידה אחראית ליצור הפרקורסורים לסינטזה של פנולים, ליגנין ואולי גם פיטוטוקסין בתגובה להדבקה בעלקת מצרית. ההצטברות הגבוהה של פנולים וליגנין יוצרת מחסום מכני וכימי על ידי הגנה על דפנות תאים מפני התקפה אנזימתית ומכנית. בעקבות מחקר זה הומלץ לחקלאים לגדל בקיה ארגמנית במקום בקיה מצויה. בנוסף לכך יש לבדוק גידול מסחרי של בקיה שעירה. מנגנוני העמידות שנתגלו לראשונה במחקר זה ישמשו בעתיד במחקר ופיתוח של גידולים עמידים לעלקת.

4. פרסומים מדעיים

דו"חות מחלקתיים

1. הדברת עלקת בירקות ובגידולי שדה. דו"ח ניסויים בשנת 1996.

2. הדברת עלקת בירקות ובגידולי שדה. דו"ח ניסויים בשנת 1997.

3. הדברת עלקת בירקות ובגידולי שדה. דו"ח ניסויים בשנת 1998.

בכנסים

1. י. גולדוואסר, י. הרשנהורן, ב. רובין, א. זמסקי, ד. פלקחין וישעיהו קלייפלד. מחקרים בנושא עמידות בקיה ארגמנית (*Vicia atropurpurea*) לעלקת מצרית (*Orobanche aegyptiaca*). 1998. הוועידה ה-15 של האגודה הישראלית למדע העשבים, בית-דגן.

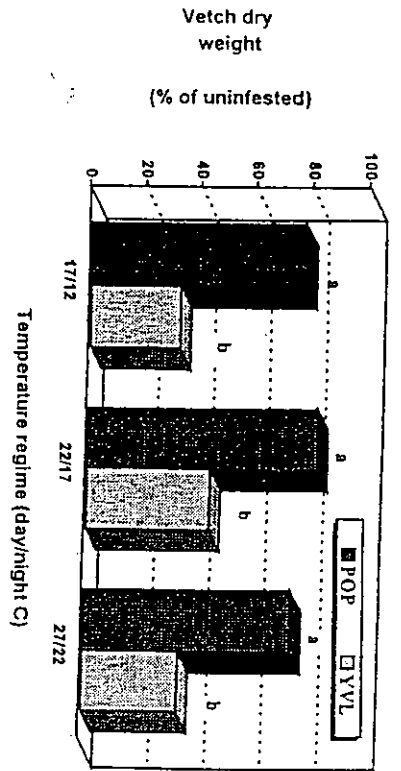
2. Goldwasser, Y., Kleifeld, Y., Joel, D. M., Plakhine, D. and Rubin, B. (1996). Variations in vetch (*Vicia* spp.) response to *Orobanche aegyptiaca* Pers. pp. 615-623 in Moreno, M. T., Cubero, J. I., Berner, D., Joel, D., Musselman, L. J. and Parker, C. (eds.) Proceedings of the Sixth International Parasitic Weed Symposium, Cordoba, Spain.

3. Goldwasser, Y., Hershenhorn, J., Rubin, B., Zamski, E., Plakhine, D. and Kleifeld, Y. (1999). Factors involved in resistance of *Vicia atropurpurea* to *Orobanche aegyptiaca*. p. 320 in: Current problems of *Orobanche* Researchers. K. Wegman, L. Musselman and D. Joel. (eds.). Abstracts of the Fourth International Workshop on *Orobanche* Research, Albena, Bulgaria.

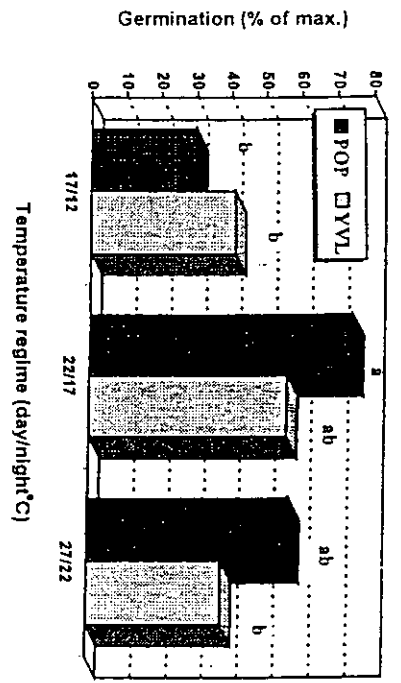
בעיתונות המקצועית

1. Goldwasser, Y., Kleifeld, Y., Plakhine, D. and Rubin, B. (1997). Variation in vetch (*Vicia* spp.) response to *Orobanche aegyptiaca*. Weed Sci. 45: 756-762.

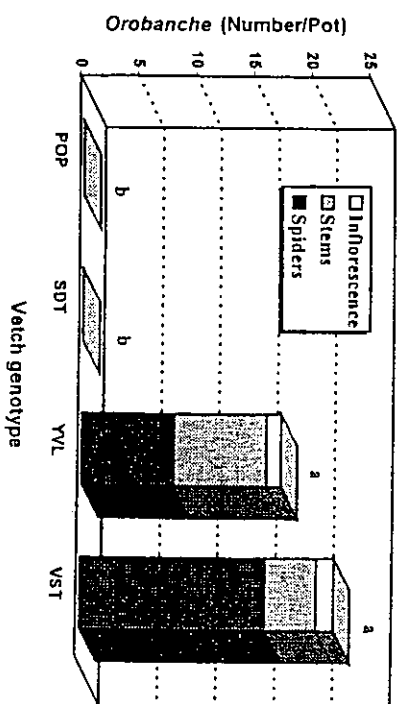
2. Goldwasser, Y, Hershenhorn, J, Plakhine, D., Kleifeld, Y., and Rubin, B. (1999). Biochemical factors involved in vetch resistance to *Orobanche aegyptiaca*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 54: 87-96.



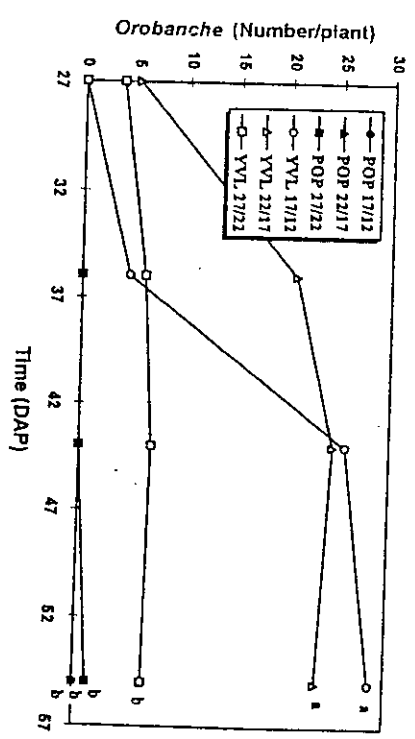
ציר 3. היבסה של בקות POP ו-YVL מאלוהת נלקח מפרט שגודל כ- PEB במשטח טמפרטורה לילה/יום של 17/12, 22/17, 27/22°C. עמדות שמעליהן אותיות זהות אין נבדלות סטטיסטית לפי מבחן תומס מרובה של Duncan, $P = 0.05$.



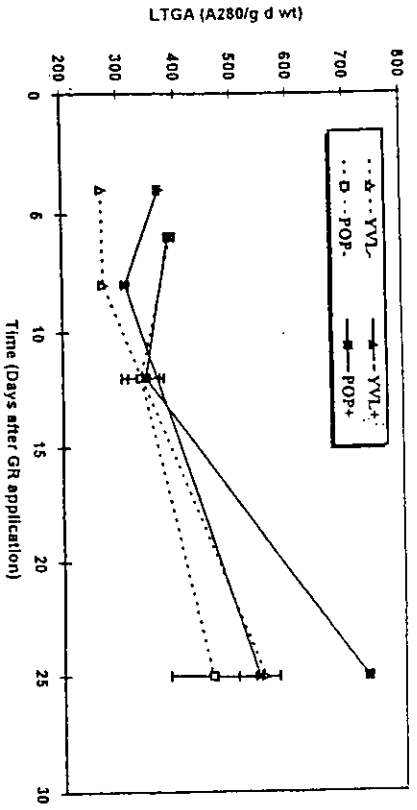
ציר 4. גרסה של בקות POP ו-YVL שגודל כ- PEB בעמדה משטח טמפרטורה לילה/יום של 17/12, 22/17, 27/22°C. עמדות שמעליהן אותיות זהות אין נבדלות סטטיסטית לפי מבחן תומס מרובה של Duncan, $P = 0.05$.



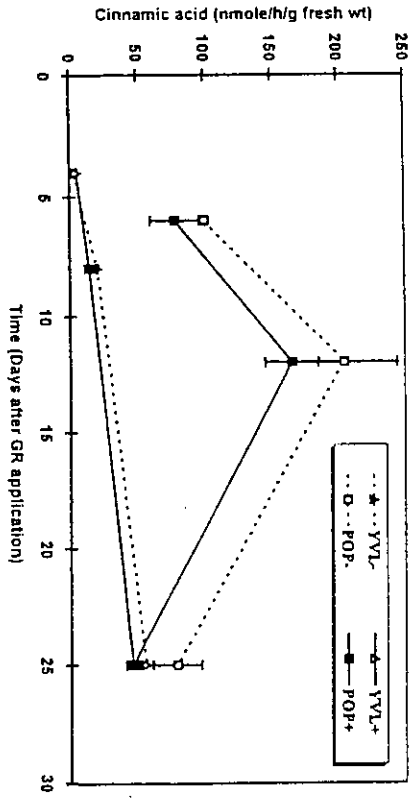
ציר 4. התפוצות עלקת מפרט על בקות POP, SDT, YVL ו-VST אשר גודל בעמדות עמדות שמעליהן אותיות זהות אין נבדלות סטטיסטית לפי מבחן תומס מרובה של Duncan, $P = 0.05$.



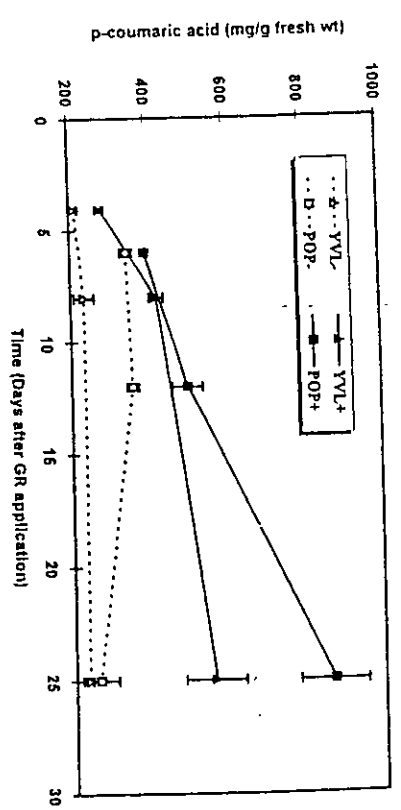
ציר 5. התפוצות עלקת מפרט על שורש בקות POP ו-YVL שגודל בעמדות משטח טמפרטורה לילה/יום של 17/12, 22/17, 27/22°C. עמדות שמעליהן אותיות זהות אין נבדלות סטטיסטית לפי מבחן תומס מרובה של Duncan, $P = 0.05$.



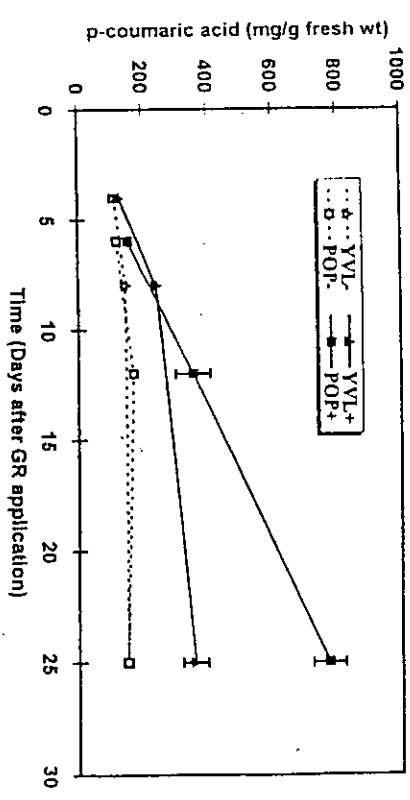
צורה 15. רמת לינען בבקיות YVL ו-POP מאולקס ולא אולק בעלוקת מצרית.
- ללא אולק בעלוקת, + מאולק בעלוקת. קווים אנכים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



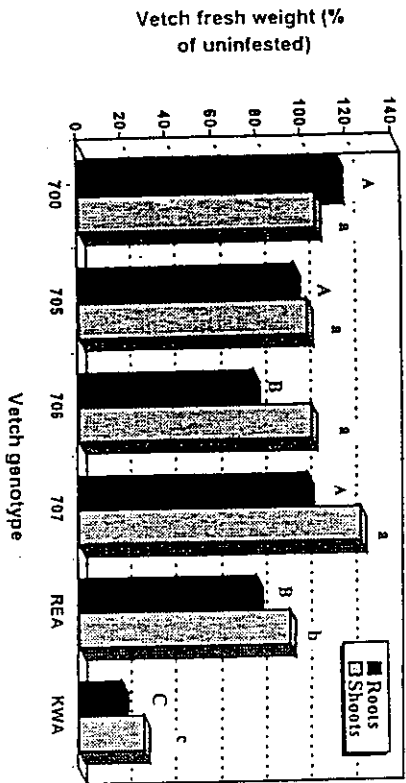
צורה 16. פעילות PAL בבקיות YVL ו-POP מאולקס ולא אולק בעלוקת מצרית.
- ללא אולק בעלוקת, + מאולק בעלוקת. קווים אנכים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



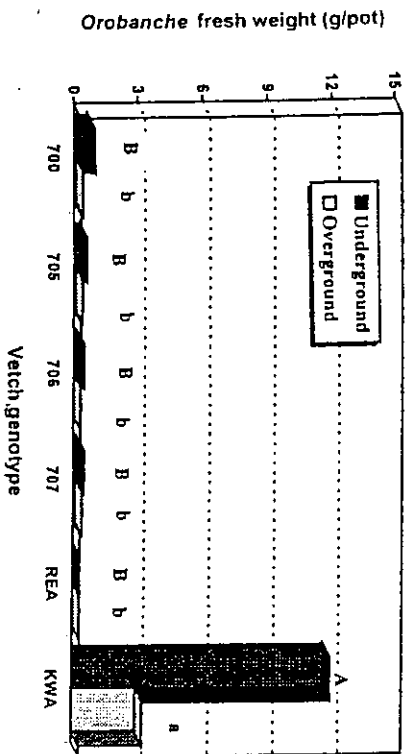
צורה 13. רמת פנילים קשורים בבקיות YVL ו-POP מאולקס ולא אולק בעלוקת מצרית.
- ללא אולק בעלוקת, + מאולק בעלוקת. קווים אנכים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



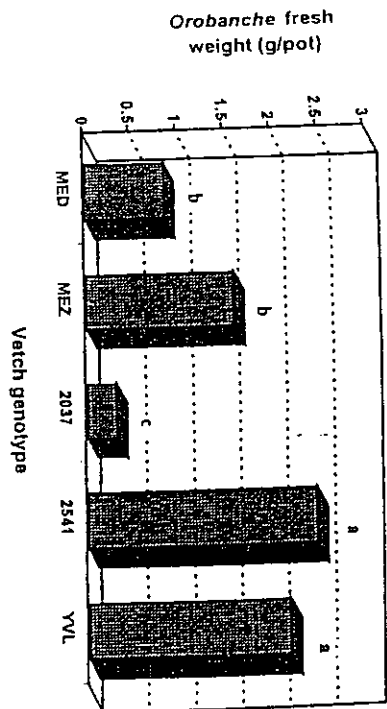
צורה 14. רמת פנילים קשורים בבקיות YVL ו-POP מאולקס ולא אולק בעלוקת מצרית.
- ללא אולק בעלוקת, + מאולק בעלוקת. קווים אנכים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



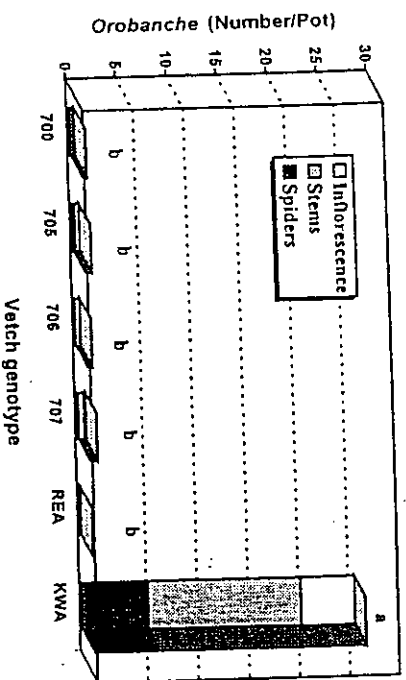
ציר 11. כמות של גוטיים על בקות שצרה אשך נודול בעציצים מואילים בלכות מוצר. עמודות שמעלין אותיות זהות אינן נבדלות סטטיסטית על פי תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$. אותיות נדולות - שורשים; אותיות קטנות - ק"ו של בקות מוצר אשך שמש בכקורת.



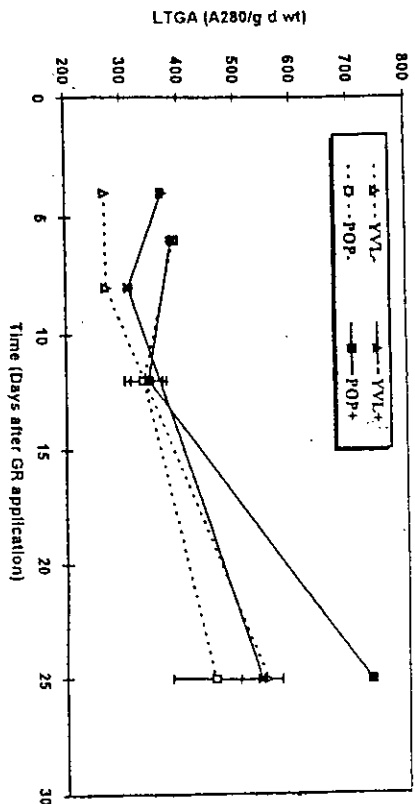
ציר 12. כמות של עקבות מוצר שחממה על גוטיים של בקות שצרה אשך נודול בעציצים. עמודות שמעלין אותיות זהות אינן נבדלות סטטיסטית על פי תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$. אותיות נדולות - איברי עקבות מת-ק"ו קטנים; אותיות קטנות - איברי עקבות על-ק"ו קטנים. KWA - ו של בקות מוצר אשך שמש בכקורת.



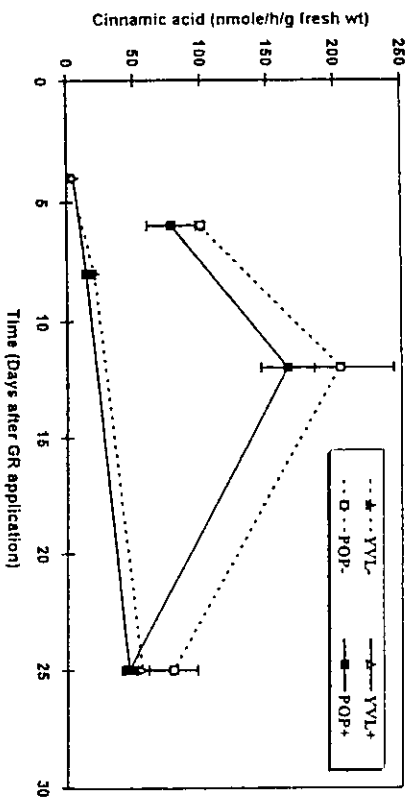
ציר 9. כמות של עקבות מוצר שחממה על גוטיים של בקות מוצר אשך נודול בעציצים. עמודות שמעלין אותיות זהות אינן נבדלות סטטיסטית על פי תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$.



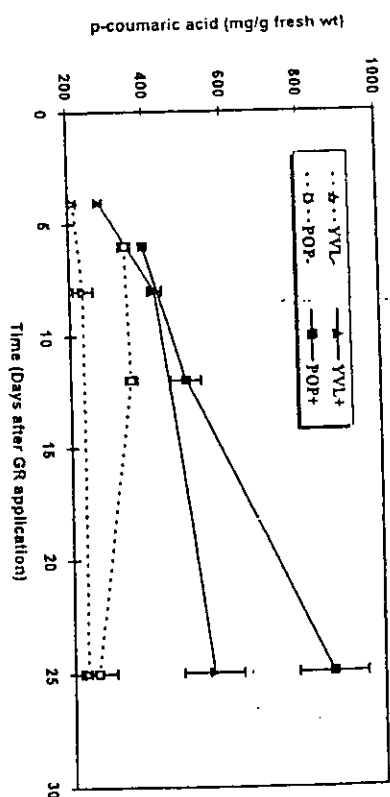
ציר 10. חתמת עקבות מוצר על גוטיים של בקות שצרה אשך נודול בעציצים. עמודות שמעלין אותיות זהות אינן נבדלות סטטיסטית על פי תחום מרובה של Duncan, $P=0.05$. KWA - ו של בקות מוצר אשך שמש בכקורת.



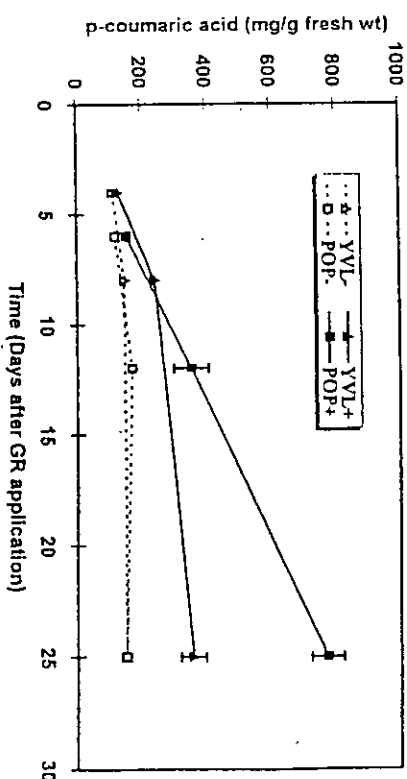
ציר 15. רמת ליגון בבקיות YVL ו-POP מאוחסנים וללא אלוט בעלוקת מצרית.
- ללא אלוט בעלוקת, + מאוחסן בעלוקת. קווים אנכיים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



ציר 16. פעילות AL בקביות YVL ו-POP מאוחסנים וללא אלוט בעלוקת מצרית.
- ללא אלוט בעלוקת, + מאוחסן בעלוקת. קווים אנכיים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



ציר 17. רמת פולרס חומציים בבקיות YVL ו-POP מאוחסנים וללא אלוט בעלוקת מצרית.
- ללא אלוט בעלוקת, + מאוחסן בעלוקת. קווים אנכיים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.



ציר 18. רמת פולרס חומציים בבקיות YVL ו-POP מאוחסנים וללא אלוט בעלוקת מצרית.
- ללא אלוט בעלוקת, + מאוחסן בעלוקת. קווים אנכיים העוברים דרך נקודות הערכים מבטאים את ± סטיית התקן של ממוצע הערך.

