

855

2004-2006

תקופת המחקר:

132-1176-06

קוד מחקר:

Subject: DETECTION AND CHARACTERIZATION OF OROBANCHE CUMANA RACES IN ISRAEL

Principal investigator: Daneil Joel

Cooperative investigator: Joseph Hirshenhorn

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

שם המחקר: איתור ואיפיון גזעים של עלקת החמנית בישראל.

חוקר ראשי: דניאל יואל

חוקרים שותפים: יוסף הרשנהורן

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

הצגת הבעיה: עלקת החמנית היא ממזיקי החמנית העיקריים בארץ. אחת הדרכים להקטנת נזקיה היא שימוש בחמניות עמידות. בשנים האחרונות הופיעו בשדות גזעים חדשים של הטפיל שתקפו את החמניות העמידות. הכרת אוכלוסיות העלקת ואבחון דרושים על מנת לפתח זני חמנית המתאימים לגידול בארץ. מטרתנו הייתה: לברר את מגוון אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ, להשוותן לגזעים מארצות אחרות, ולחפש סמנים לאבחונם.

מהלך ושיטות עבודה: (א) ערכנו מבחני אלימות לאוכלוסיות עלקת החמנית מאזורי הגידול העיקריים של החמנית בארץ. (ב) בררנו לאיזה גזעים הם משתייכים בקונטסט האירופאי. (ג) חקרנו את השונות הגנטית בהן וביניהן. (ד) בררנו את תגובות זרעי האוכלוסיות השונות לגירויי הנבטה. (ה) בררנו את רגישות הנבטים לטוקסינים מחמניות עמידות. (ו) חקרנו את זהות עלקת החמנית שתוקפת צמחי עגבנייה בשדות. (ז) חיפשנו סמנים מולקולאריים לאוכלוסיות אלימות.

תוצאות עיקריות: עלקת החמנית בארץ מתאימה כיום באופן כללי לגזעים D ו-E הידועים מאירופה, בעוד שבעבר אובחנה רק עלקת מגזע C. נמצאו ההבדלים מורפולוגיים ופנולוגיים בין אוכלוסיות עלקת החמנית. נמצאה שונות בין-האוכלוסיות בתגובה לסטימולנטים של נביטה. עלקת החמנית יכולה לתקוף עגבנייה על כרב חמנית בלבד. לא נמצאו הבדלים משמעותיים בתגובת נבטים מאוכלוסיות שונות לטוקסין משרשי חמנית עמידה. במבחני interSSR נמצאה שהשונות בתוך-האוכלוסיות הייתה נמוכה והקשתה על מציאת סמני interSSR לאוכלוסיות האלימות, אך עם זאת נמצא סמן מולקולארי לאוכלוסיה האלימה מגוון.

מסקנות והמלצות: זני חמנית לפיצוח בארץ אינם עמידים לאוכלוסיות עלקת החמנית שהופיעו בשנים האחרונות. במקביל לפיתוח זני חמנית שמן באירופה שעמידים למרבית הגזעים האלימים של עלקת, יש צורך לפתח בארץ זני חמנית לפיצוח שיהיו עמידים לעלקת מגזע E ו-F שנמצאו במחקר זה. לצורך זה ניתן להשתמש במקורות העמידות הקיימים בחמניות-שמן. למניעת החמרת הבעיה יש להקפיד גם על סניטציה נאותה שתמנע התפשטות הגזעים האלימים ותגביל את הסכנה לחדירת גזעים נוספים מחו"ל.

דוח סופי לתכנית מחקר מספר 132-1176-06

איתור ואיפיון גזעים של עלקת החמנית בישראל

Detection and characterization of *Orobanche cumana* races in Israel

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

דני יואל, דינה פלקהין, יוסי הרשנהורן וחנן איזנברג. מינהל המחקר החקלאי, ביה יער

DM. Joel, D. Plakhine, J. Hershenhorn, and H. Eizenberg

Weed Research, ARO, Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021 Ramat Yishay 30095, Israel.

E-mail: dmjoel@volcani.agri.gov.il

ניסן תשס"ז מרץ 2007

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: כן/לא

חתימת החוקר

תקציר

הצגת הבעיה: עלקת החמנית היא ממזיקי החמנית העיקריים בארץ. אחת הדרכים להקטנת נזקה היא שימוש בחמניות עמידות. בשנים האחרונות הופיעו בשדות גזעים חדשים של הטפיל שתקפו את החמניות העמידות. הכרת אוכלוסיות העלקת ואיבחון דרושים על מנת לפתח זני חמנית המתאימים לגידול בארץ. מטרתנו היתה: לברר את מיגוון אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ, להשוותן לגזעים מארצות אחרות, ולחפש סמנים לאיבחוןם. מהלך ושיטות עבודה: (א) ערכנו מבחני אלימות לאוכלוסיות עלקת החמנית מאזורי הגידול העיקריים של החמנית בארץ. (ב) בררנו לאיזה גזעים הם משתייכים בקונטקסט האירופאי. (ג) חקרנו את השונות הגנטית בהן וביניהן. (ד) בררנו את תגובות זרעי האוכלוסיות השונות לגירויי הנבטה. (ה) בררנו את רגישות הנבטים לטוקסינים מחמניות עמידות. (ו) חקרנו את זהות עלקת החמנית שתוקפת צמחי עגבניה בשדות. (ז) חיפשנו סמנים מולקולריים לאוכלוסיות אלימות.

תוצאות עיקריות: עלקת החמנית בארץ מתאימה כיום באופן כללי לגזעים E ו-D הידועים מאירופה, בעוד שבעבר אובחנה רק עלקת מגזע C. נמצאו ההבדלים מורפולוגיים ופנולוגיים בין אוכלוסיות עלקת החמנית. נמצאה שונות בין אוכלוסייתית בתגובה לסטימולנטים של נביטה. עלקת החמנית יכולה לתקוף עגבניה על כרב חמנית בלבד. לא נמצאו הבדלים משמעותיים בתגובת נבטים מאוכלוסיות שונות לטוקסין משרשי חמנית עמידה. במבחני interSSR נמצאה שונות תוך-אוכלוסייתית נמוכה. גם השונות הבין-אוכלוסייתית היתה נמוכה, והקשתה על מציאת סמני interSSR לאוכלוסיות האלימות, אך נמצא סמן מולקולרי לאוכלוסיה האלימה מגוון.

מסקנות והמלצות: זני חמנית לפיצוח בארץ אינם עמידים לאוכלוסיות עלקת החמנית שהופיעו בשנים האחרונות. במקביל לפיתוח זני חמנית שמן באירופה שעמידים למרבית הגזעים האלימים של עלקת, יש צורך לפתח בארץ זני חמנית לפיצוח שיהיו עמידים לעלקת מגזע E ו-F. שנמצאו במחקר זה. לצורך זה ניתן להשתמש במקורות העמידות הקיימים בחמניות-שמן. למניעת החמרת הבעיה יש להקפיד גם על סניטציה נאותה שתמנע התפשטות הגזעים האלימים ותגביל את הסכנה לחדירת גזעים נוספים מחו"ל.

מבוא

עלקת החמנית (*Orobancha cumana*) מהווה את אחד הפגעים הקשים בחמניות באזורים רבים בארץ ובכללם בנגב, בעמקים ובגליל. היא גורמת פגיעה איכותית בזרעונים והפחתה ביבול החמנית שיכול להגיע עד לאובדנו המלא. שימוש נרחב במספר זני חמנית שעמידים לעלקת הביא להקטנה משמעותית בנזק שנגרם על ידי הטפיל. אך עמידות הזנים העמידים נשברה לאחרונה כאשר הם נתקפו על ידי אוכלוסיות אלימות של עלקת החמנית שלא היו ידועות עד כה בארץ.

בדיקת פרופיל דנ"א של אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ שהתבצעה על ידינו לפני כשמונה שנים הראתה שונות מאד נמוכה הן בתוך האוכלוסיות והן ביניהן. עד לפני כחמש שנים מצאנו גם אחידות מורפולוגית רבה בין אוכלוסיות העלקת, למרות פיזור גיאוגרפי ניכר. ממצאים אלה מרמזים על כך שאוכלוסיות עלקת החמנית שנמצאו עד אז בארץ התפתחו ממקור יחיד.

מטרות המחקר היו:

1. אפיון גזעים של עלקת החמנית הקיימים בשדות החקלאות בישראל.

2. קביעת שייכות אוכלוסיות העלקת לגזעים מוכרים מחו"ל.

3. פיתוח כלים לאיבחון הגזעים בארץ.

עיקרי הניסויים שבוצעו

- א. בחינת מידת האלימות של האוכלוסיות הנ"ל על זני החמנית החשובים בארץ (שלושה ניסויי חממה).
 - ב. מבחן התאמת האוכלוסיות לגזעים ידועים מחו"ל, בעזרת דיפרנציאלים (ניסוי פיטורון, תחת קרנטינה, בעזרת דיפרנציאלים שהתקבלו מצרפת).
 - ג. בחינת מידת האלימות של האוכלוסיות הנ"ל על זני החמנית החשובים בארץ (שני ניסויי חממה).
 - ד. מבחנים פיסיולוגים להשלמת מבחן הגזעים : תגובת זרעים לסטימולנטים ולטוכסינים.
 - ה. מבחני הנבטה של זרעי עלקת החמנית בתנאים שונים (ארבעה ניסויי מעבדה).
 - ו. ניתוח השונות בתוך האוכלוסיות וביניהן על סמך אנליזה של דנא בשיטת inter SSR.
 - ז. חיפוש סמנים מולקולריים לאוכלוסיות האלימות.
- צמחי עלקת החמנית נאספו מ- 23 שדות חמנית בגולן, עמק החולה, גליל תחתון, גליל מערבי, עמק יזרעאל, שרון, שפלה דרומית ונגב (טבלה 1). בכל שדה נגוע נאספו באקראי לפחות 20 גבעולי עלקת לתיעוד מורפולוגי ולמיצוי דנ"א. כמו כן נאספו בשדה זרעי עלקת לצורך ניסויי הנבטה ומבחני אלימות.

טבלה 1 : אתרי האיסוף של עלקת החמנית

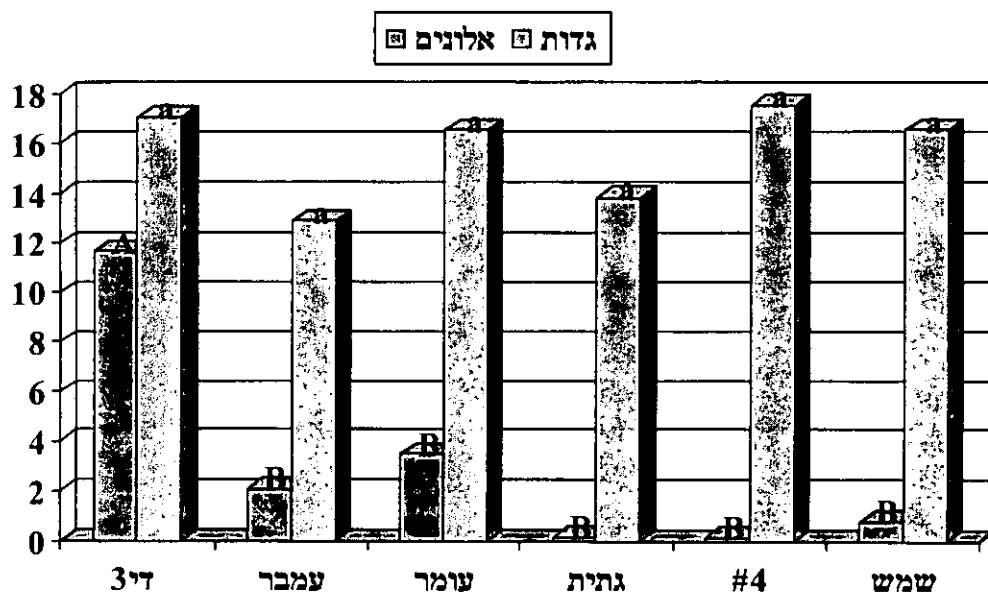
מס'	מקום האיסוף	מס' איסוף
1	רמת הגולן	6175
2	דפנה	61101
3	בית הלל	61108
4	אילת השחר 1	61100
5	אילת השחר 2	6110
6	גדות 1	6187
7	גדות 2	6191
8	גדות 3	6199א
9	גדות 3	6199ב
10	אפק	6186
11	אלונים	6181
12	בלפוריה	6170
13	חענכים	6193
14	טל שחר	61110

61111	לטרוץ	15
61113	חות עזרס	16
6114	חות טל אור	17
61107	רבדים	18
61102	עזתה	19
61106	רעים	20
61105	נירים	21
61104	שובל	22
61103	שדה תימן	23

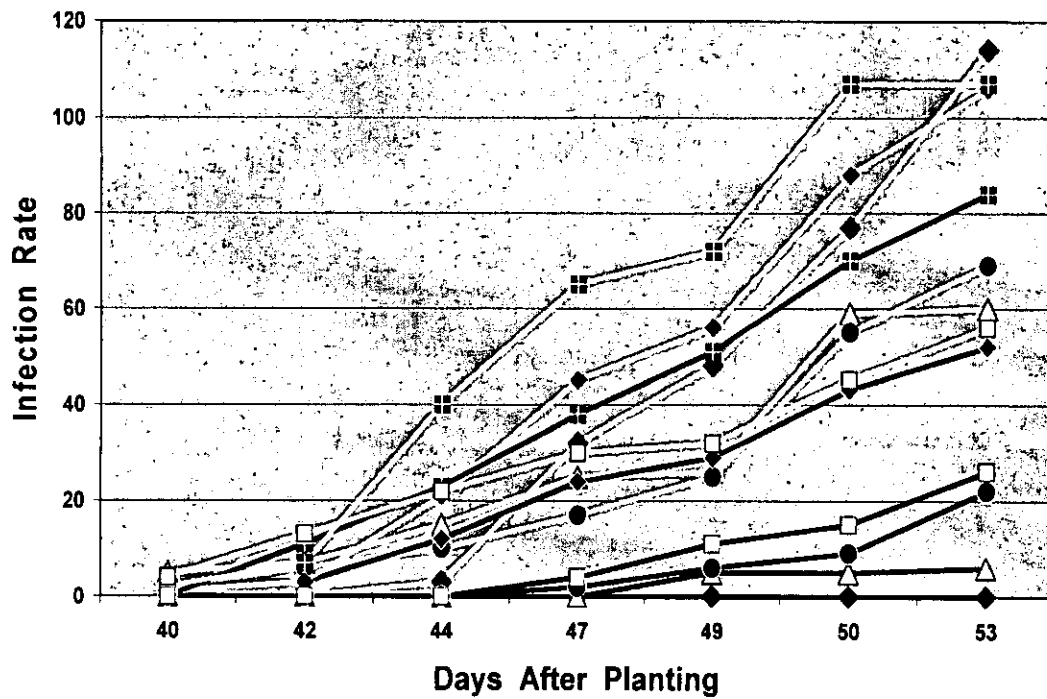
עיקרי והתוצאות:

בניסויים המבוקרים הראשונים לבחינת אלימות כל האוכלוסיות שנדגמו בארץ מצאנו הבדלים משמעותיים במידת הנגיעות שלהן על זני חמנית עמידה (שמש, הזרע 4, גיתית, עומר, עמבר) וחמנית רגישה (ד"י3). התוצאות שמוצגות בגרף 1 מראות כי עלקת החמנית מגדות תקפה את כל זני החמנית שנבחנו, כולל חמניות שנחשבו עמידות לעלקת, בניגוד לעלקת החמנית מאלונים שתקפה בהצלחה רק את הזן הרגיש ד"י3.

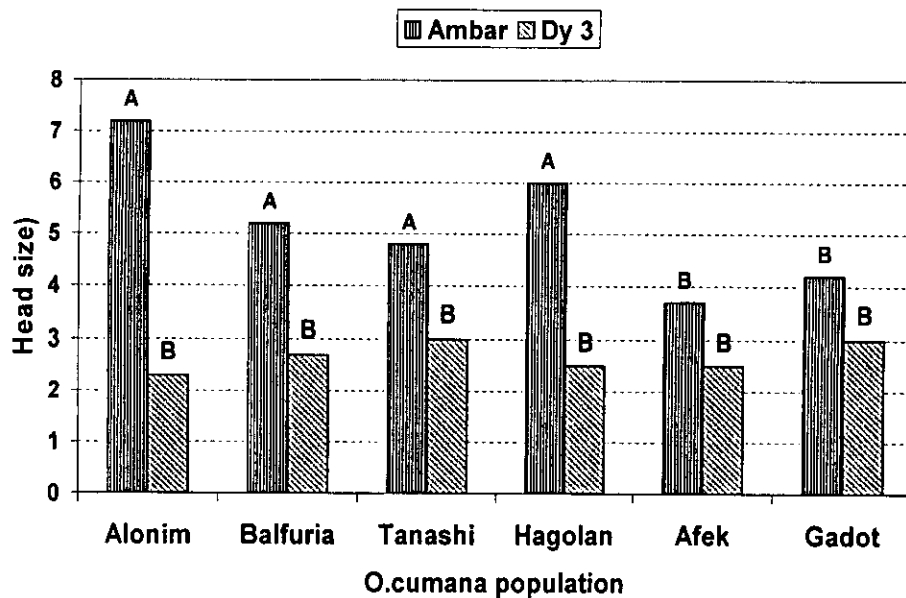
גרף 1: מידת האלימות של אוכלוסיות עלקת החמנית מאלונים ומגדות על זני חמנית שונים.



ניסויי עיצים בחממה בנוה יער הראו כי קיימים הבדלים משמעותיים באלימות אוכלוסיות שונות של עלקת החמנית מאזורי הארץ השונים כלפי החמנית העמידה מן עמבר. גם מידת ההתפתחות של צמחי החמנית, שמתבטאת בגודל הקרקפת, הושפעה משמעותית על ידי העלקות האלימות יותר (גרף 2). זרעי החמנית מזן זה התקבלו בשעתו מד"ר ברוך רטיג ז"ל, שפיתח את הזן.

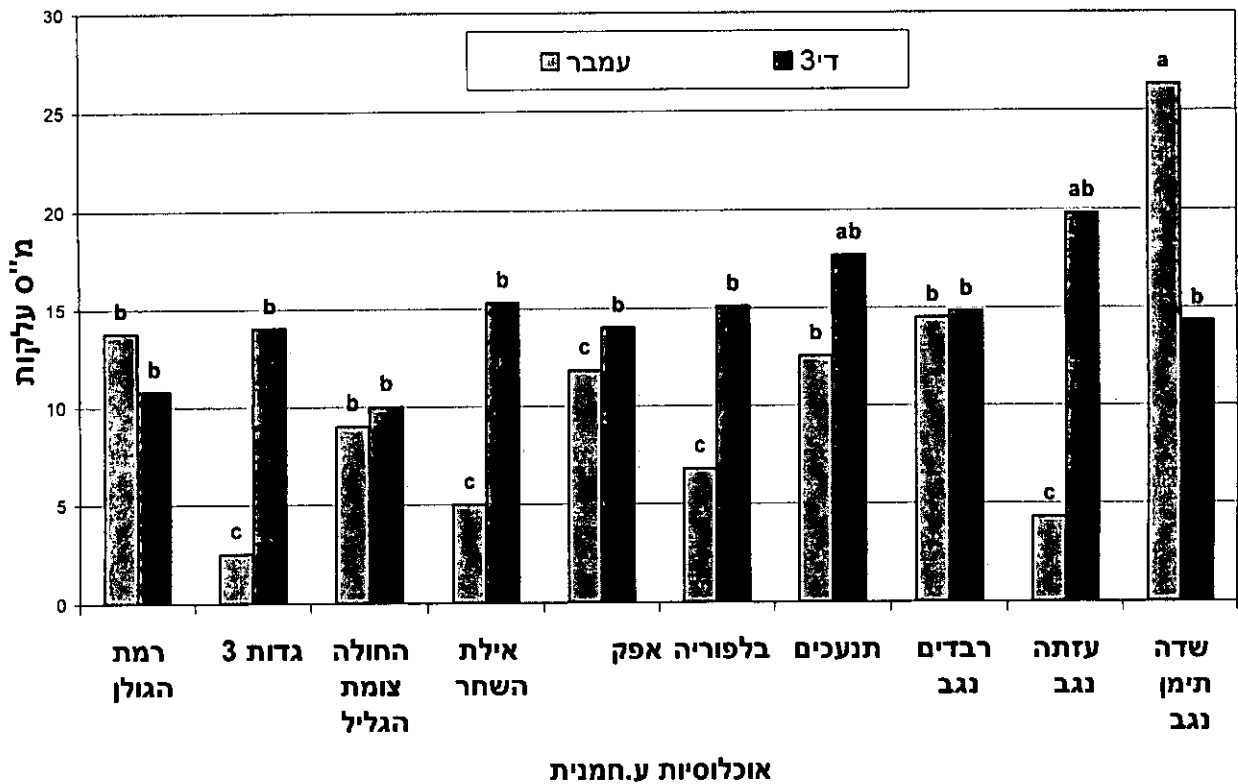


גרף 2. מידת הנגיעות של חמנית מזון עמבר (כחול) ומזון ד"י 3 (לבן) על ידי אוכלוסיות עלקת שונות.



גרף 3. הגודל היחסי של קרקפות החמנית עמבר (ירוק) ו-ד"י 3 (סגול) הנגועים באוכלוסיות השונות.

על מנת למנוע השפעת גורמים אקלימיים על תוצאות מבחני האלימות נבחנה התנהגות אוכלוסיות עלקת החמנית גם בתנאים מבוקרים, בפיטוטרום שבבית דגן. גם כאן נבחנה רמת האלימות של האוכלוסיות על הזן העמיד עמבר ועל הזן הרגיש די3 (גרף 4).



גרף 4. מידת הנגיעות של חמנית מזן עמבר ומזן די3 על ידי אוכלוסיות עלקת בפיטוטרום.

מניסוי הפיטוטרום התברר כי:

1. אין הבדלים משמעותיים ברמת האלימות של האוכלוסיות השונות לזן הרגיש די3.
2. קיימות שתי קבוצות של האוכלוסיות שנבדלו משמעותית ברמת האלימות כלפי הזן העמיד עמבר. האוכלוסיות מבפוריה, מגדות 3, מאילת השחר ומעזתה לא תקפו משמעותית את הזן העמיד. כל האוכלוסיות האחרות פגעו בזן העמיד ברמה שאיננה שונה מתקיפתן את הזן הרגיש. האוכלוסיות האלימות מפוזרות בארץ מעמק החולה, רמת הגולן, הגליל, ועד צפון הנגב. אוכלוסית העלקת משדה תימן היתה האלימה ביותר כלפי הזן עמבר.
3. קיימים הבדלים מורפולוגיים ופנולוגיים בין האוכלוסיות השונות, בעיקר בפיגמנטציה של הפרח ובמועד ההצצה. אוכלוסיות אחדות מפתחות פרחים לבנים, בעוד שלאחרות פרחים בעלי פיגמנטציה כחולה. במקביל, מצאנו שאוכלוסיות אחדות מקדימות את האחרות במועד הפריחה ובחנטת הפירות (תמונות 1-2).
4. עלקת החמנית שנאספה משדות עגבניה מעדיפה את החמנית כפונדקאי.

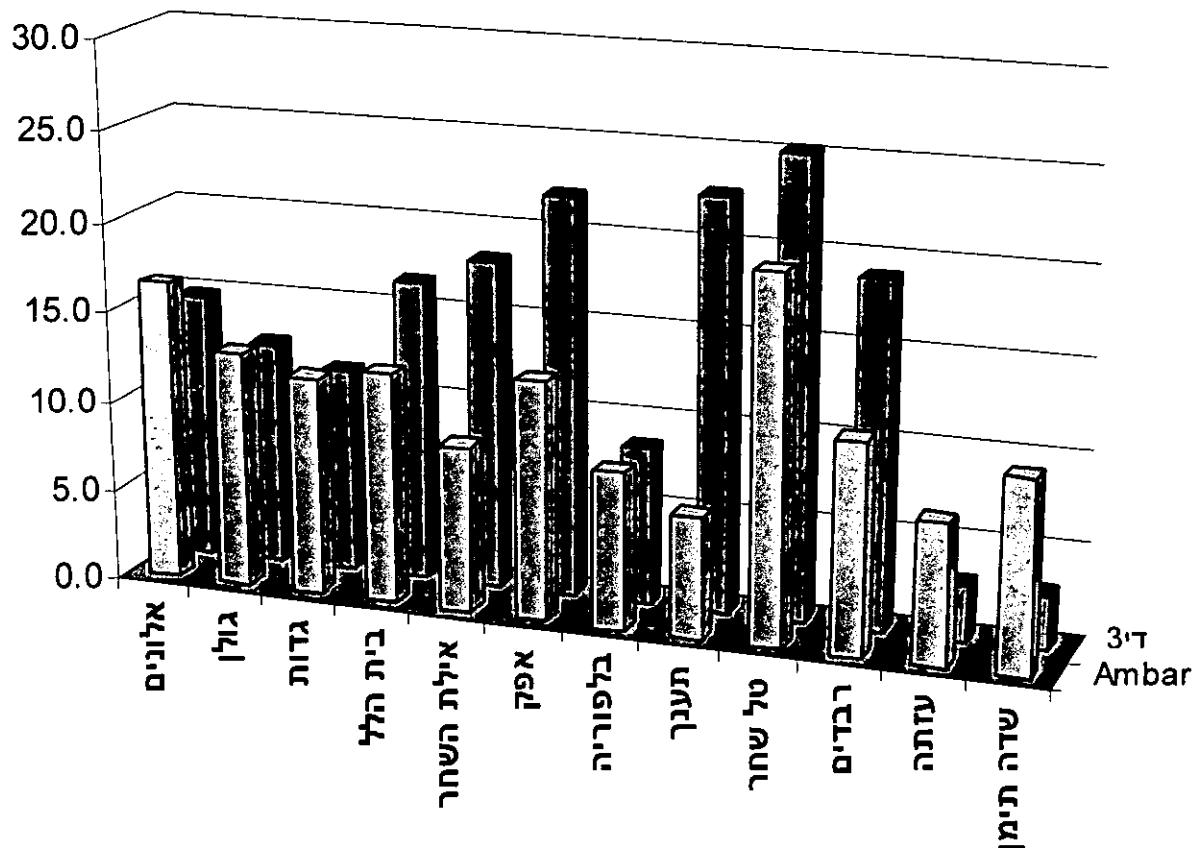


תמונה 1. הבדלים בפיגמנטציה ובגיל של צמחי עלקת החמנית מאוכלוסיות שונות שגדלו בפיטוטרון. שצמחי העלקת ברבדים ומעזתה בעלי פיגמנטציה כחולה, הצמחים מאפק לבנים. הצמחים מאיילת השחר בסוף הפריחה בעוד שהצמחים מרבדים רק בתחילתה



תמונה 2 : השוואת פרחי עלקת החמנית מעזתה (ימין) עם פרחים מאפק (שמאל).

בניסוי חוזר לבחינת יחסי הגומלין בין אוכלוסיות עלקת החמנית לבין קוי חמנית מייצגים, שנערך שנה אחר-כך, הראה כי זרעי החמנית מזן עמבר איבדו את העמידות לעלקת החמנית (גרף 5). בגלל מחסור בזרעים טריים מזן זה (עקב פטירתו של די"ר ברוך רטיג ז"ל שפיתח את הזן) השתמשנו בזרעים ישנים, ואנחנו מניחים שזו הסיבה להעדר העמידות. אובדן העמידות אומת בניסויים נוספים שנערכו בנוה יער עם אותם זרעים. זהו ממצא מעניין הדורש בירור.



גרף 5: התפתחות תפרחות עלקת מאוכלוסיות שונות על צמחי חמנית מזן ד"ר 3 ועל צמחי חמנית שנבטו מזרעים ישנים מן הזן עמבר.

מבחן התאמת אוכלוסיות העלקת בארץ לגזעים ידועים מחו"ל (טבלה 1-2).

לצורך מבחן זה הצלחנו לקבל מצרפת זרעים של הדיפרנציאלים (Véronési et al. 2005). גידולם נעשה תחת תנאי הסגר בפיטוטרון. מאחר והתקבלו רק זרעים מעטים, שחלקם נבטו בשיעור נמוך בלבד, ומאחר והשרותים להגנת הצומח נטלו צמחים לבדיקות פיטופתולוגיות, לא הצלחנו למלא את כל המשבצות בטבלה. ובכל זאת בעזרת הדיפרנציאלים יכולנו לגלות שבארץ קיימת כעת עלקת חמנית המתאימה לגזע D וגזע E מאירופה. מאידך לא נמצאו עלקות מגזע F שידוע זה כמה שנים באירופה.

קוי חמנית דיפרנציאלים	אוכלוסיות עלקת החמנית						
	אלונים	גדות	בית הלל	אילת השחר	אפק	רבדים	שדה תימן
2603	31 a	12.5 a	13 b	17.8 a	19.5 ab	18.8 a	9.8 a
K41		12.5 a	14 ab	10.5 b	16 ab		9 ab
HA89	2 b c	1 b	7.5 bc	12 b		7 b	
Record MP186	9 b c	3 b	23.4 a	8.5 b	5.4 cd	10.2 ab	9.2 a
PH-BC2- 56A	7.7 b c	3 b	8.5 bc	9.5 b	2 d	5.5 b	1 ab
LC1093	0 c	0 b	0 c	0 c	0 d	0 c	0 b
Kremnis MP1288	0 c	0 b	0 c	0 c	0 d	0 c	0 b

טבלה 1: מספר ממוצע של תפרחות עלקת החמנית מאוכלוסיות מייצגות על דיפרנציאלים של חמנית.

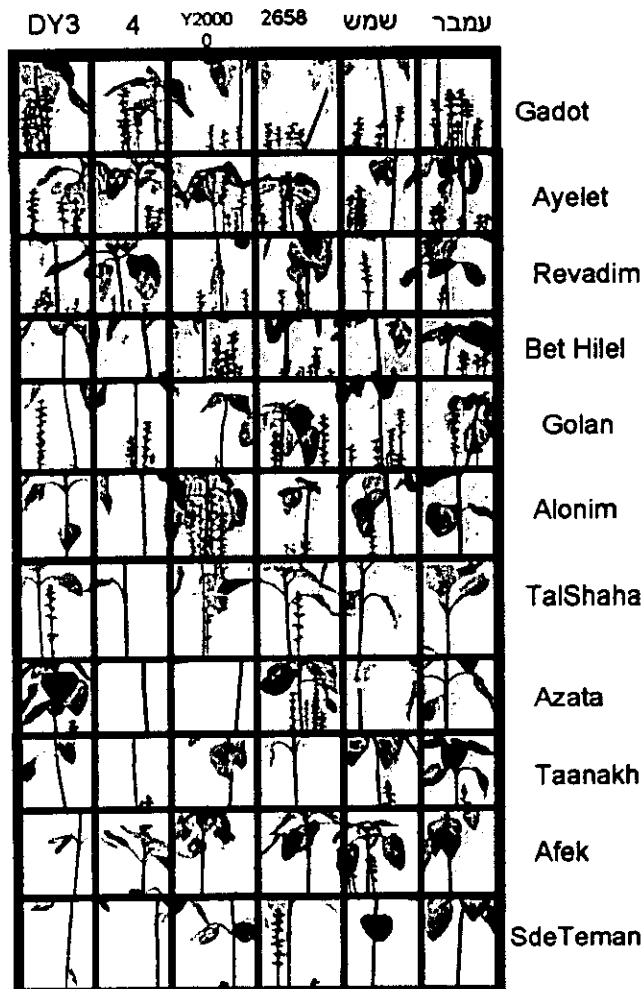
Sunflower line	Resistance gene	Effective against races
2603	None	None
K41	Or1	A
Ha89	Or2	A+B
Record	Or3	A+B+C
PH-BC2-56	Or4	A+B+C+D
LC1093A	Or5	A+B+C+D+E
Kremnij	Or6	A+B+C+D+E+F

טבלה 2: תכונות העמידות של קוי חמנית המשמשים כדיפרנציאלים לאיבחון גזעים של עלקת החמנית.

יחד עם זאת התברר שהדיפרנציאלים האירופאים לא נותנים מענה למיגוון העלקות שנמצאו בארץ. כך למשל, העלקת שנאספה בבית הלל תוקפת חמנית עם גן העמידות Or_4 , אבל כמעט ולא תוקפת חמנית עם Or_3 . ויותר מכך, עלקת החמנית מגדות, שהראתה אלימות משמעותית כלפי מגוון זני חמנית עמידים בארץ (גרף 1), לא הראתה אלימות כלפי מרבית הדיפרנציאלים, ולכאורה שייכת לגזע B (טבלה 1). מכאן שאוכלוסיות עלקת החמנית בארץ שונות מהגזעים המאובחנים בעזרת הדיפרנציאלים הנ"ל. משיחות שניהלנו עם עמיתים באירופה מתברר שגם העלקות בארצותיהם כבר לא מתאימים למערכת זו, שפותחה ברומניה בסוף שנות השבעים (Vrânceanu et al. 1980).

השוואת התנהגות אוכלוסיות עלקת החמנית כלפי זני החמנית המשמשים בחקלאות בארץ

בניסויים נוספים ערכנו בחינה השוואתית של אוכלוסיות עלקת החמנית, ע"י חשיפתן לזני חמניות שונים השכיחים בשדות החקלאות בארץ. תמונה 3 מראה הבדלים ניכרים במידת האלימות של האוכלוסיות. ההבדלים התבטאו במספר העלקות שהצליחו לתקוף את החמניות השונות, בגודל צמחי העלקת, וכן במידת הנזק לצמחי החמנית, שהתבטא בגובהם.



תמונה 3. התפתחות עלקת החמנית מאוכלוסיות שונות על צמחי חמנית מזנים שונים. ניכרים הבדלים במספר העלקות, בגודלן, ובגובה צמחי החמנית.

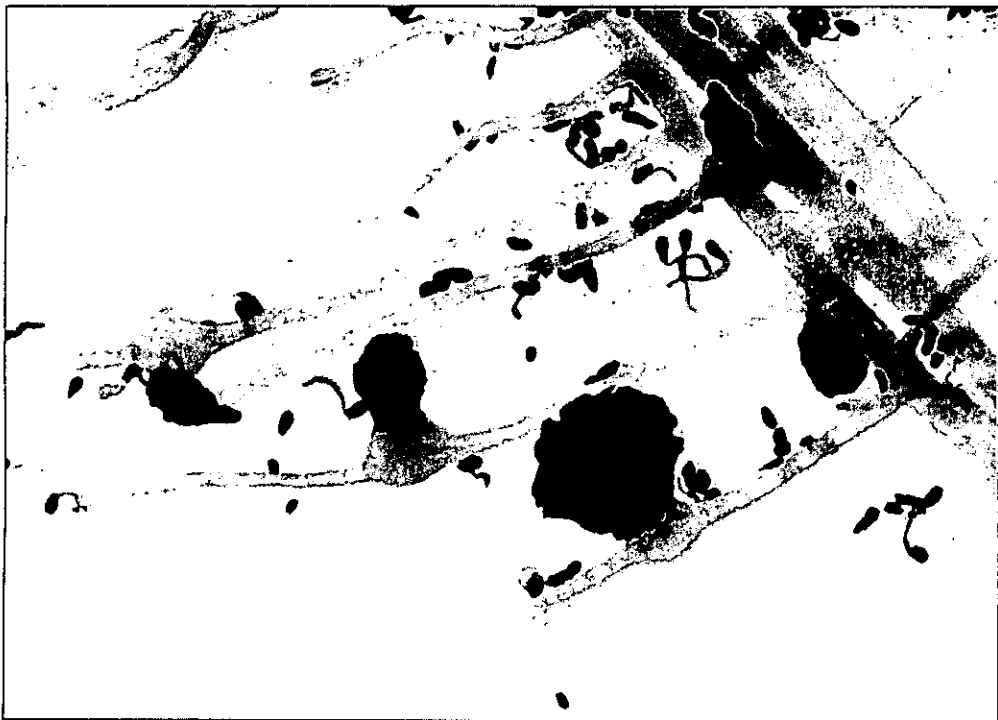
מניסויים אלה התברר כי קיימת שונות גבוהה בהתנהגות אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ. מידת הנזק לפונדקאי היתה אופינית לכל אחת מאוכלוסיות העלקת. לא נמצא זן חמנית שהיה עמיד לכל אוכלוסיות הטפיל. אמנם קיימות אוכלוסיות עלקת אלימות יותר או פחות, אך גם בין האוכלוסיות האלימות קיימים הבדלים בהתייחסותן לחמניות השונות. כך, למשל, צמחי עלקת החמנית מגדות, שתקפו את כל החמניות שנבדקו, היו יותר גדולים על חמנית מהזן עמבר, הזרע 4 וד"י 3, בעוד שעלקת מאיילת השחר שתקפה גם כן את כל החמניות שנבדקו, היתה יותר גדולה דוקא על שרשי הזנים יושקו 2000 ו-2658 (תמונה 3). במקביל, ניתן לראות הבדלים בתגובת צמחי החמנית לאוכלוסיות העלקת השונות. לדוגמה, צמחי חמנית עמבר

שנתקפו על ידי עלקת מגדות היו גבוהים יותר מהצמחים שנתקפו על ידי העלקת מאיילת השחר, וזאת ביחס הפוך לגודל צמחי העלקת (תמונה 3).

השוואה פיזיולוגית של אוכלוסיות עלקת החמנית

באופן כללי ניתן לחלק את אוכלוסיות העלקת לשתי קבוצות עיקריות. בקבוצה אחת התגלה אחוז נפלים גבוה על שרשי החמנית, ואילו בקבוצה השנייה שיעור הנפלים היה נמוך. ברוב המיקרים התנוונה העלקת ללא נקרוזה או השחמה באזור החדבקה בשורש החמנית (תמונה 4).

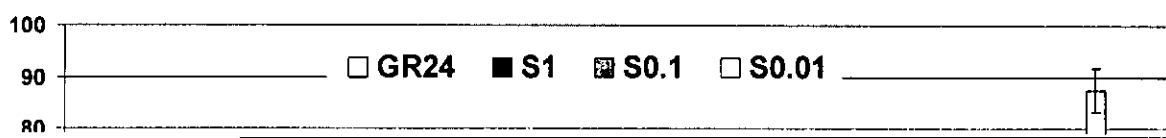
ההבדלים במספר תפרחות העלקת מהאוכלוסיות השונות שהתפתחו על זני החמנית השונים היו ביחס הפוך למספר הפקעיות המנוונות מתחת לפני הקרקע.



תמונה 4. פקעיות עלקת החמנית על שרשי חמנית עמידה מהזן עמבר. מרבית פקעיות העלקת נמצאות בשלבים שונים של התנוונות המתבטאת בהשחמה. אין סימני נקרוזה בשרשי החמנית.

מאידך לא נמצא מיתאם בין שיעורי נביטת זרעי העלקת לבין מידת האלימות של האוכלוסיות. כמה אוכלוסיות של עלקת החמנית הגיבו לגרוי מי-שרשים בשיעור נביטה יותר גבוה בהשוואה לגרוי על ידי הסטימולנט המלאכותי GR24. בעוד שמרבית אוכלוסיות העלקת הגיבו בעיקר למי השורשים המקורי ולמיהול 10X של מי השורשים, רק אוכלוסיות בודדות הגיבו למיהול X100 של מי השורשים (גרף 4). תגובה זו לריכוזים הנמוכים של הסטימולנט הטבעי של החמנית מאפשרת נביטה במרחק יותר גדול משרשי הפונדקאי.

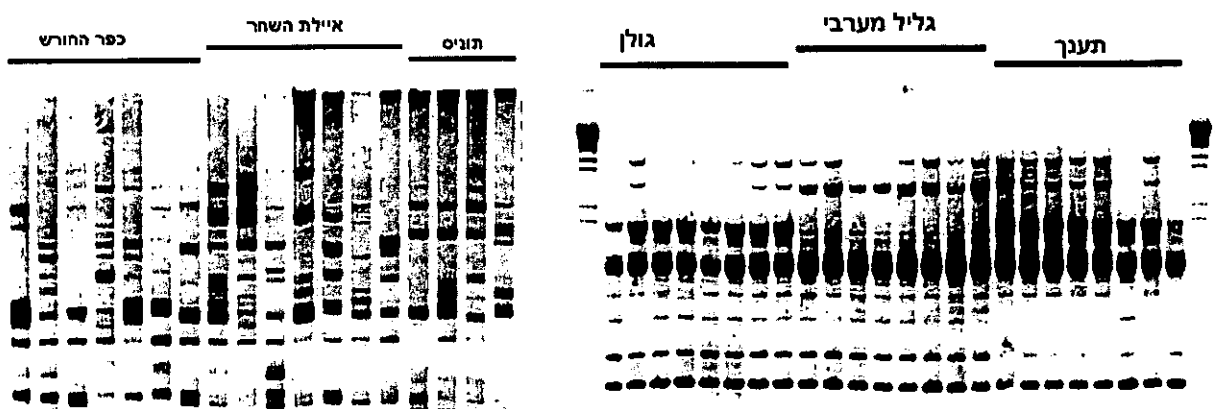
Effect of GR24 and Sunflower's roots exsudate on seed germination of *O.cumana* populations



גרף 4. תגובת זרעי עלקת החמנית מאוכלוסיות שונות לסטימולנט המלאכותי GR24 ולמהולים שונים של מי-השרשים של צמחי חמנית (S). T=תענך, 1N=עזתה, R=רמת הגולן, A=אלונים, 5N=רבדים, K=אפק, E=איילת השחר, 2N=שדה תימן, H=חולה, G=גדות, TSH=טל שחר.

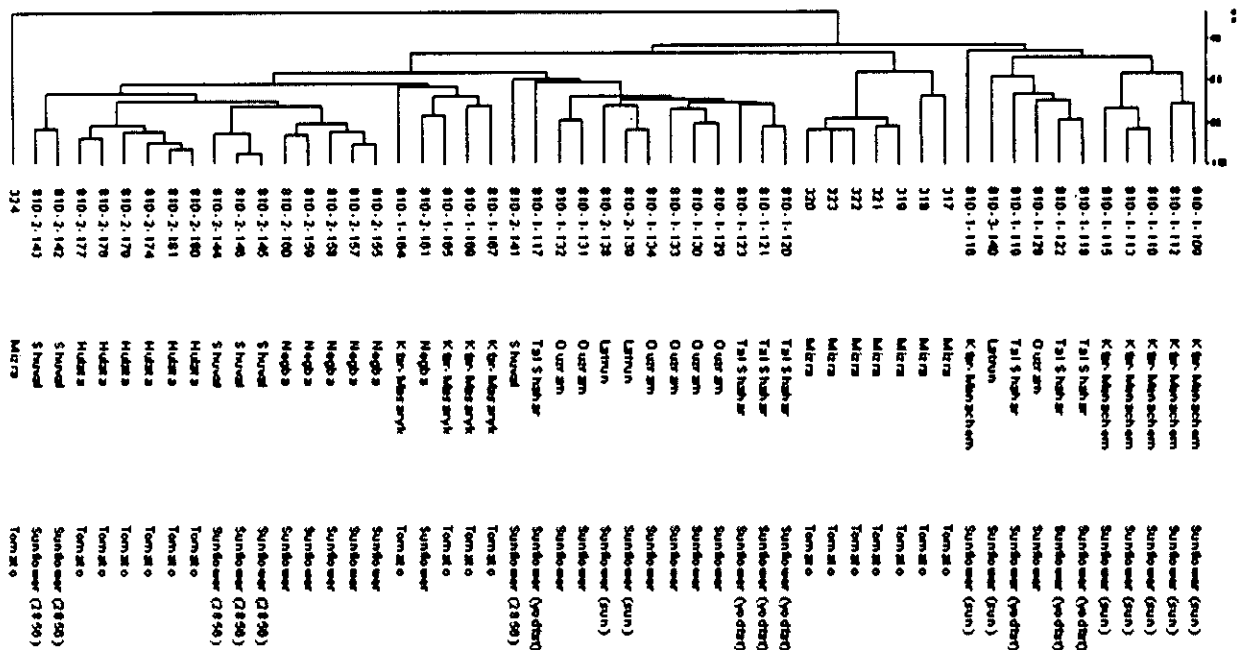
ניתוח השונות של אוכלוסיות העלקת.

דוגמאות דנא מהאוכלוסיות השונות הורצו ב-PCR בעזרת פריימרים נבחרים של iSSR. מהתוצאות ניכרת שונות פנוטיפית נמוכה מאד בתוך האוכלוסיות וביניהן, שמתאימה להאבקה העצמית שאופיינית למין זה, בניגוד למצב בעלקת החרוקה שם קיימת האבקה חדדית על ידי חרקים ובמקביל גם שונות גבוהה (רי דוגמאות אופייניות בתמונה 5).



תמונה 5. השואת השונות הפנימית באוכלוסיות עלקת החמנית (ימין) בהשוואה לשונות באוכלוסיות ע. חרוקה (שמאל). InterSSR עם פריימר 801.

Cluster analysis של כלל התוצאות מראה כי ניתן לקבץ אוכלוסיות עלקת שבהן הדמיון בין הפרטים גדול מהדמיון בין אוכלוסיות. בלטה במיוחד הייחודיות של אוכלוסיות עלקת החמנית שהתפתחו בשדות עגבניה, ונמצאו הבדלים בין אוכלוסיות עלקת החמנית שהתפתחו על עגבניה במקומות שונים, יותר מאשר בין האוכלוסיות האחרות (גרף 5).

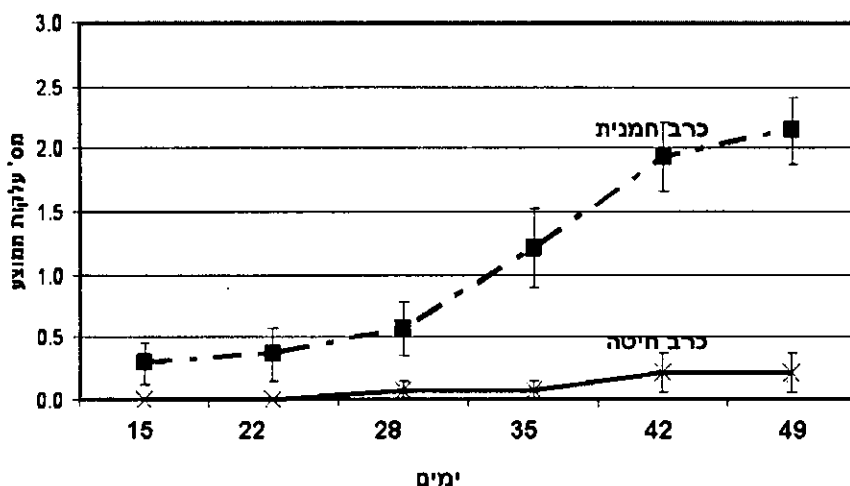


גרף 5. מידת הדמיון בין אוכלוסיות עלקת החמנית על סמך אנליזת InterSSR.

השפעת כרב חמנית על נגיעות עגבניה בעלקת החמנית

בניסויים קודמים התברר שעלקת החמנית נוטה לתקוף צמחי עגבניה אם הם נשתלים על כרב חמנית בשדה נגוע.

גרף 6. נגיעות עגבניה בעלקת החמנית על כרב חמנית וכרב חמנית



בגרף 6 מוצגות תוצאות ניסוי בו לא התפתחה עלקת החמנית על עגבניות בעציצים עם אדמה מכרב חמנית, לעומת העציצים עם אדמה מכרב חמנית בהם התפתחה עלקת על שרשי עגבניה. כל העציצים אולחו במידה שווה בזרעי עלקת החמנית ועמדו בפיטורון יחד עם צמחי החמנית המתוארים למעלה.

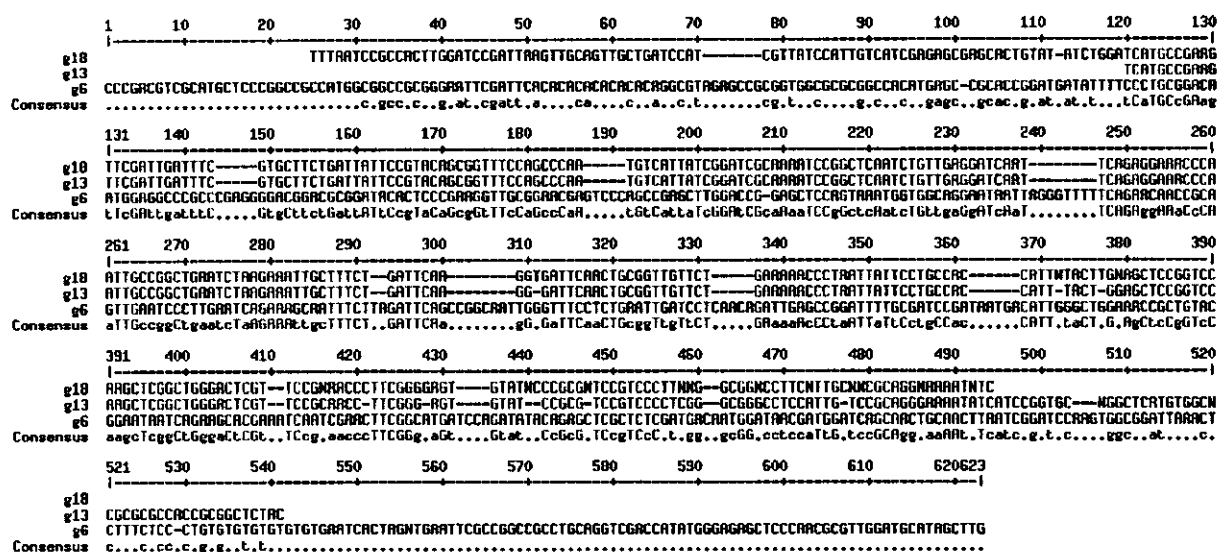
ח. חיפוש סמנים לאוכלוסיות האלימות.

השונויות הנמוכה בין אוכלוסיות עלקת החמנית, כפי שמתבטאת באנליזת interSSR, הקשתה על מציאת סמנים מולקולאריים לאוכלוסיות העלקת האלימות. סמן מולקולרי אחד (תמונה 6) נמצא אופייני לאוכלוסיית עלקת החמנית האלימה שנאספה בגדות. הסמן נמצא בכל הפרטים שנבדקו מאוכלוסית עלקת החמנית בגדות ולא היה אופייני לשום אוכלוסייה אחרת.



תמונה 6. גל interSSR עם דוגמאות דנא מאוכלוסיות שונות של עלקת החמנית, ובו בנד ספציפי לדנא של האוכלוסיה האלימה של עלקת החמנית מגדות.

בריצוף שעשינו לבנד זה (תמונה 7) לא הגענו ל-consensus sequence, ולכן לא יצרנו בינתיים פריימרים הספציפיים לאוכלוסיה חשובה זו. ריצוף של קלונים נוספים מאותו סמן יאפשר בעתיד פיתוח של פריימרים ספציפיים לאוכלוסיה זו.



תמונה 7. תוצאות ריצוף של קלונים מהבנד הספציפי לאוכלוסיית גדות, שנלקחו משלושה פרטים שונים מאותה אוכלוסיה.

דיון

אוכלוסיות עלקת החמנית הנפוצות כיום בשדות ישראל שונות מהותית מן האוכלוסיות שתקפו חמנית לפני עשר שנים. בעוד שבעבר היתה נפוצה עלקת החמנית השייכת לגזע C, התברר במחקר זה שרוב אוכלוסיות עלקת החמנית הנפוצות היום בארץ משתייכות לגזעים D ו-E. ממצא זה חשוב במיוחד עבור מטפחי החמניות בארץ, שחייבים עתה להוסיף לגידול גם עמידות כנגד גזעים חדשים אלה. עמידויות כנגד הגזעי E והגזע F (שאיננו ידוע עדיין בארץ) כבר הוכנסו לחמניות שמן באירופה (ר' למשל Perez-Wich et al 2004), אך עד כמה שידוע לנו עמידויות אלה עדיין לא הוכנסו לחמניות לפיצוח.

במבחני האלימות של אוכלוסיות העלקת מצאנו הבדלים גדולים מאד בהתנהגות האוכלוסיות השונות כלפי זני החמנית שנמצאים כיום בשימוש בארץ. האוכלוסיות מגדות בצפון הארץ ומרבדים בדרום נמצאו אלימות במיוחד.

תוצאות מבחני האלימות של אוכלוסיות העלקת כלפי זני החמנית שנמצאים כיום בשימוש בארץ תאמו באופן כללי את התוצאות הנ"ל: לא נמצא זן חמנית שהיה עמיד לכל אוכלוסיות העלקת. ההבדלים במידת האלימות של אוכלוסיות העלקת אינם נובעים מהבדלים באחוזי הנביטה שלהם, אלא גם ובעיקר ביכולתם להתגבר על מנגנוני העמידות של החמנית. מצאנו מיתאם שלילי בין שיעור תמותת העלקת בשלבי התפתחות מוקדמים על שורשי חמנית לבין מספר תפרחות העלקת שמגיחות מעל פני הקרקע.

מעניין לציין כי זרעי העלקת מאוכלוסיות אחדות מגיבים בעוצמה חזקה יותר לסטימולנט של החמנית בהשוואה לתגובתם ל-GR24 שנחשב כסטימולנט נביטה אוניברסלי לעלקתיים. ממצא זה מתאים לממצא קודם שלנו שהראה כי הסטימולנט העיקרי שמשתחרר משורשי חמנית שונה מהסטימולנטים המוכרים השייכים כולם לקבוצת הסטריגולקטונים שהם תוצרי מסלול הקרוטנואידים (Matusova et al. 2005). סטימולנט החמנית הוא ססקיטרפן-לקטון (Chaudhuri et al. 2006). יתכן שסטימולנטים משתי הקבוצות הנ"ל מופרשות על ידי שרשי חמנית, ושההבדלים בנביטה בין אוכלוסיות עלקת החמנית נובע מהבדלים ברגישות היחסית שלהם לשתי קבוצות הסטימולנטים. לאחרונה הצלחנו לקבל כמויות קטנות של סטימולנטים נקיים משתי הקבוצות הנ"ל, ובכוונתנו לבחון בעתיד הקרוב את ההיפותיזה בעזרתם. כמו כן אנחנו מתכוונים לבחון את פרופיל הסטימולנטים משורשים של זני חמנית שונים בעזרת LC/MS/MS.

בעקבות ממצאים קודמים שהראו שחמנית עמבר מייצרת טוכסין הפוגע בנבטי ע. החמנית, הנחנו כי יתכן שזרעי העלקות שתוקפות חמנית עמידה חסינים בפני הטוכסין. בסדרת ניסויים התברר שנבטי העלקת מכל האוכלוסיות נפגעים במידה דומה מהטוכסין. משום כך נדחה הרעיון להשתמש במבחן הטוכסין כסמן למידת האלימות של אוכלוסיות עלקת החמנית.

למרות שהשונות באוכלוסיות עלקת החמנית בארץ נמוכה מאד, יחסית לשונות במיני עלקת אחרים שתוקפים גידולים חקלאיים, מצאנו כי בשנים האחרונות חלה עליה בשונות שמאפשרת להבחין מולקולרית בין אוכלוסיות ב-cluster analysis. עליה זו בשונות המולקולארית מתאימה לעליה בשונות ההתנהגותית של אוכלוסיות עלקת החמנית בשדות.

מעניין לציין את היבדלות עלקת החמנית שנמצאה על עגבניה מאוכלוסיות עלקת החמנית שגדלו על חמנית. בניסויי נביטה הוכח כי הסטימולנט של שרשי חמנית יותר אפקטיבי בהנבטת הטפיל בהשוואה לסטימולנט משרשי עגבניה. במבחן פונדקאים הוכח בבירור כי עלקת החמנית שנמצאה על עגבניה מעדיפה את החמנית כפונדקאי על פני העגבניה, ויכולתה לתקוף את העגבניה תלויה בתכונות קרקע (כרב חמנית) שמאפשרות את נביטת הטפיל ליד שרשי עגבניה. תוצאות אלה מאשרות ממצא קודם שלנו בהקשר זה (Joel 1988).

הנחנו שלצמחי אוכלוסיה אלימה יש מוצא משותף ששונה ממוצאם של צמחי עלקת החמנית שהיו ידועים בארץ לפני הופעת הגזעים האלימים ושנוכל למצוא מאפיינים מולקולריים על פי מאפייני אוכלוסיות המוצא, שיוכלו לשמש סמנים לאיבחון יעיל של האוכלוסיות האלימות. אמנם מצאנו עלקות המתאימות לגזע E-D ואך ההתאמה שלא היתה מלאה, יחד עם השונות ההתנהגותית הבין-אוכלוסייתית, תומכות בדחיית האפשרות שהאוכלוסיות האלימות התפתחו ישירות (Founder effect) מאינטרודוקציה של עלקת מארצות אחרות. העדר התאמה מלאה עם הדיפרנציאלים מאירופה מרמז שהאוכלוסיות האלימות התפתחו בארץ באופן עצמאי, אולי תוך תרומה חיצונית למאגר הגנים המקומי על ידי חדירה של זרעי עלקת מן הזנים E-D מארצות אחרות כמו ספרד, רומניה וטורקיה. סביר להניח שהשימוש התכוף בזנים העמידים שהיו נהוגים בארץ בעשור האחרון, שמבוססים על מנגנון עמידות יחיד, ושעמידותם היתה יחסית ולא מוחלטת שאיפשרה התפתחות של עלקות בודדות למרות העמידות, גרם לסלקציה לטובת העלקות שהצליחו לפרות, ולהתפתחות גזעים אלימים שונים בכל רחבי הארץ. תהליך כזה לא כרוך בשינויים גנטיים רבים ולכן כנראה השונות הנמוכה בעלקת החמנית שהאבקתה בעיקר עצמית. שונות נמוכה שמבוססת על סלקציה ולא על מוטציות רצנטיות זו מותרה רק סיכוי קלוש למציאת סמנים מולקולריים הספציפיים לאלימות. ובכל זאת מצאנו סמן אחד שאופייני לאוכלוסית עלקת החמנית האלימה ביותר, מגדות. בריצוף שעשינו לא הגענו ל-consensus sequence, ולכן לא הגענו בינתיים ליצירת פריימרים הספציפיים לאוכלוסיה חשובה זו. דרוש ריצוף של קלונים נוספים מאותם הבנדים, אותו נוכל לבצע בעתיד בכפוף לזמינות תיקצוב למטרה זו.

התפתחות גזעים חדשים של עלקת מגבילה את יעילות השימוש בזני חמנית עמידים. אם לא יינקטו אמצעים לצמצום צפויה הגדלה של הבעיה בטווח הארוך. האמצעים להקטנת הסיכוי להתפתחות גזעי עלקת חדשים צריכים לכלול איתור מוקדם של מוקדי אלימות, שינויים בממשק השימוש בחמנית עמידה בשילוב שיטות הדברה אלטרנטיביות, ומניעת חדירה של עלקות חדשות.

התרומה העיקרית של המחקר היא ההכרה שבארץ קיים מיגוון רחב מאד של אוכלוסיות עלקת החמנית הנבדלות בהתנהגותן. המסקנה העיקרית ממצא זה היא שטיפוח זני חמנית עמידים דורש בחינה שלהם עם מיגוון זרעים של עלקת החמנית מרחבי הארץ.

הממצא החשוב השני במחקר זה הוא שאין בארץ עלקת מגזע F. המסקנה המתבקשת מכך היא שיש לשלב בתוכניות הטיפול עמידות לעלקת עם הגן Or5 ו-Or6 שכבר משמשים בהצלחה במניעת נזקי עלקת בחמניות בארצות שונות כספרד ורוסיה.

תודה

אנו מודים להראל איתם על ביצוע החלק המולקולארי של העבודה, ולד"ר ראדי עלי והילה שומין על עזרתם בריצוף הסמן המולקולארי.

ספרות מצוטטת

- Chaudhuri, S.K., Joel D.M. and Steffens J.C. (2006) Does the germination stimulant for *Orobancha cumana* differ from strigolactones? Proc. COST849 Workshop on Parasitic Plant Management in Sustainable Agriculture. Oeiras-Lisbon, Portugal.
- Joel, D. M. (1988). The role of plants in preconditioning of *Orobancha* seeds. *Phytoparasitica* 16: 374.
- Matusova, R., K. Rani, F.W.A. Verstappen, M.C.R. Franssen, M.H. Beale, H.J. and Bouwmeester. 2005. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobancha* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol.* 139:920-934.
- Perez-Vich B, Akhtouch B, Knapp SJ, Leon AJ, Velasco L, Fernandez-Martinez JM, Berry ST. 2004. Quantitative trait loci for broomrape (*Orobancha cumana* Wallr.) resistance in sunflower. *TAG* 109(1):92-102.
- Véronési C, Bonnin E, Benharrat H, Fer A, Thalouarn P. 2005. Are pectinolytic activities of *Orobancha cumana* seedlings related to virulence towards sunflower? *Israel J. Plant Sci.* 53: 19-27.
- Vrânceanu, A.V. V.A. Tudor, F.M. Stoenescu, and N. Pirvu. 1980. Virulence group of *Orobancha cumana* Wallr., differential host and resistance sources and genes in sunflower. Vol. 1, p. 74–82. In: *Proc. IXth Int. Sunflower Conf.*, Torremolinos, Spain,

סיכום עם שאלות מנחות

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

<p>1. <u>מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</u> ניתוח אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ בהקשר של רמת אלימותן כלפי זני החמנית בשדות החקלאות בישראל, השוואתן לגזעים של הטפיל מאירופה, וחיפוש סמנים לאוכלוסיות האלימות.</p>
<p>2. <u>עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.</u> עלקת החמנית אובחנה בארץ כגזע D וגזע E. אופיינה מידת האלימות של אוכלוסיות עלקת החמנית בארץ כלפי זני החמנית שבשימוש חקלאי. נבחנה מידת המעורבות של הרגישות לסטימולנטים בקביעת רמת האלימות של אוכלוסיות העלקת. נבחנה השונות הגנטית בין ובתוך אוכלוסיות עלקת החמנית. אופיין הקשר בין עלקת החמנית לצמחי עגבניה, והוכח כי הטפיל תוקף צמחי עגבניה רק על כרב חמנית. נמצא סמן מולקולרי לאוכלוסיה אלימה.</p>
<p><u>המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.</u> מטרות המחקר הושגו. שימוש בגנים Or5 ו-Or6 בתוכניות הטיפוח יקנו לחמנית עמידות כלפי אוכלוסיות העלקת הקיימות כיום בישראל. הגיוון הרב באלימות עלקת החמנית בארץ דורש מבחני עמידות במיגון רחב של אוכלוסיות עלקת המפורט בדוח. אין לשלב עגבניות במחזור מיד לאחר חמנית בשדות הנגועים בעלקת החמנית. הוכנה תשתית הידע לפיתוח סמן גנטי לאוכלוסיה אלימה של עלקת החמנית.</p>
<p><u>הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים): התייחסות המשך המחקר לגביהן.</u> הסמן המולקולרי שמצאנו דורש המשך ריצוף כדי להגיע ל-consensus sequence.</p>
<p>5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - <u>יש לפרט:</u> פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, הרצאות יומי עיון - יש לפרט מקום ותאריך. הרצאות: International Botanical Congress, Vienna, July 2005 כנס מגדלים, שדה אליהו 10 באוקטובר 2005. כנס מגדלים גליל מערבי 9 בינואר 2006. כנס מגדלים העמק המערבי 16 בינואר 2006. כינוס דו-לאומי ישראלי-יפאן, מרכז וולקני, 13 במרץ 2007.</p>
<p>פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות) רק בספריות < ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) < לא לפרסם <</p>