



2000-2002

תקופת המחקר:

256-0580-02

קוד מחקר:

**Subject:** DEVELOPING INTER-SPECIFIC HYBRIDS IN ORNITHOGALUM

**Principal investigator:** AVNER COHEN

**Cooperative investigator:** ABED WATAD, EURAL ION, , DORIT SANDLER-ZIV, KORNELIO PINTA

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

**שם המחקר:** פיתוח שיטות ליצירת מכלואים בין-מיניים בנץ חלב

**חוקר ראשי:** אבנר כהן

**חוקרים שותפים:** עבד ותד, אאורל יון יון, מרנינא כוכבא, דורית סנדלר-זיו, קורנליו פינטה

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

### תקציר

**הצגת הבעיה:** הסוג נץ חלב (*Ornithogalum*) הפך בשנים האחרונות למרכיב חשוב בסל פרחי הבצל והפקעת בשוק העולמי. מרבית המינים במסחר המכונים "כוכב בית לחם" הם בעלי צבעי פרח לבנים. בשנים האחרונות הכניסו מגדלי ישראל מין חדש, (*O. dubium*) בעל צבעי פרח צהובים-כתומים, שמקורו מדרום אפריקה. מגדלי ישראל שלהם ישנו מעמד כמעט בלעדי בשוק, הגיעו להישגים יפים בשיפור איכות הפרח, הקדמת הפריחה, שיפור באחידות של חומר הריבוי ובגובה התפרחות בנץ החלב הכתום. למרות זאת קיימת עדיין שונות רבה מאוד בחומר השתילה לגבי מרבית התכונות שהן בעלות ערך כלכלי. מרבית הגבעולים אינם מגיעים לגובה הרצוי. בכדי לקבל יותר גבעולים גבוהים נשתלים הצמחים בהצללה חלקית והם מרוססים בגייברלין מספר פעמים בעונה. טיפולים אלה מאריכים את הגבעולים אך הם בעלי השפעה שלילית על איכות המוצר. המינים הלבנים הקיימים במסחר הם בעלי גבעול גבוה וזקוף העושה אותם מתאימים לקטיף. בין המינים השונים קיימים מחסומי רבייה ומנגנוני אי התאם המונעים כמעט לחלוטין קבלת צאצאים פוריים.

**מטרות המחקר כללו:** פיתוח השיטות לקבלת מכלואים בין-מיניים בנץ חלב על מנת לאפשר הכנסת מינים נוספים של נץ חלב לשם העשרת הרקע הגנטי ויצירת צירופים גנטיים חדשים וצירופי תכונות ממינים שונים, כגון צבעי פרח שונים וגבעול גבוה וזקוף. התגברות על מחסומי אי ההתאם הבין מיני, הכפלת מספר הכרומוזומים ויצירת טיפוסים פוליפלואידים בכדי להחזיר לפוריות מכלואים עקרים ולאפשר יצירת דורות מתקדמים. התאמת שיטות הריבוי הווגטטיבי לקלונים שונים.

**מהלך העבודה:** נוסו הכלאות בין מיניות בין שבעה מינים שונים. ותרבות חילוץ עוברים בכדי לעקוף את מנגנון אי ההתאם. ניסו להכפיל את הכרומוזומים בעזרת טיפולים לקאלוסים וקטעי עלים באוריזלין וקולכיצין. בוצעו הכלאות חוזרות לדור F1 והכלאות בין אחים לקבלת F2. כוילה שיטה לריבוי בתרבות של קלונים נבחרים. תוצאות: הניסיון להכפלת הכרומוזומים שנעשה בעזרת טיפולי אוריזלין לקטעי עלים בתרבות לא הניב צמחים שבהם הוכפל מספר הכרומוזומים. הניסיון להחזיר פוריות ע"י טיפולי קולכיצין לקטעי עלים ולקאלוסים בתרבות הניב מאות צמחונים. העיכוב הראשוני עקב טיפולי הקולכיצין האט מאוד את קצב הגדילה

והצמחים עשויים לפרוח רק כעבור שנתיים מהתחלת הגידול בתרבית. לעומת זאת התקבלו מכלואים בין מיניים חדשים שהתפתחו אחרי חילוץ עוברים בתרבית. חלק ממכלואים אלה היה בעל פוריות חלקית ואפשר קבלתם של הכלאות חוזרות והכלאות בין אחים בדור השני. למרביתם צבעי ביניים וחלקם בעלי גבעול גבוה וזקוף. ישנם בידנו צמחונים מדור זה שהועתקו לחממה. מספר קלונים נמסרו למעבדה מסחרית לשם ריבוי לפני רישום ושחרור לחקלאים. קלונים נוספים מוכנים עתה לרישום ושחרור לקראת העונה הבאה.

**מסקנות והמלצות:** במכלואים הבין מיניים היה עדיין צורך להשתמש בתרבית חילוץ עוברים גם בדור השני. אם לא בוצע חילוץ עוברים הייתה הפלה של הצאצאים. בחלק מהצירופים לא מקבלים חנטה ואילו באחרים ישנה חנטה חלקית. מרבית הצאצאים הם בעלי פוטנציאל לשמש כחורים בהמשך עבודת טיפוח ורק מעטים יכולים לשמש כזנים כמו שהם. הפסקת התמיכה בעבודה תגרום לאיבוד חומר גנטי חשוב. המשך העבודה מתבקש בעקב מאחר וישראל היא הספק הבלעדי בשוק של נץ החלב הכתום.

דו"ח מסכם לתוכנית מחקר מספר 256-0580-02

פיתוח שיטות ליצירת מכלואים בין מיניים בגן החלב

The development of methods for interspecific hybridization in Ornithogalum

מוגש לקרן המדען הראשי

ע"י

המחלקה לצמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי	אבנר כהן
המחלקה לצמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי	דורית סנדלר-זיו
המחלקה לצמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי	האורל יון
המחלקה לצמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי	קורנליו פינטה

Avner Cohen, Dept. Ornamental Horticulture, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan,

50250. E-mail: vhacohen@volcani.agri.gov.il"

Dorit Sandler-Ziv, Dept. Ornamental Horticulture, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan,

50250. E-mail: dorit@volcani.Agri.gov.il"

Aurel Ion, Dept. Ornamental Horticulture, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan 50250,

E-mail: aurel@volcani.agri.gov.il"

Korneliu Fintea, Dept. Ornamental Horticulture, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan

50250

אפריל 2003

ניסן תשס"ג

האם הנך מאשר את ציון הפסקה הבאה בדף הפתיחה לדו"ח כן/לא (מחק את המיותר)  
הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים.

חתימת החוקר.....



## תקציר

**הצגת הבעיה :** הסוג נץ חלב (*Ornithogalum*) הפך בשנים האחרונות למרכיב חשוב בסל פרחי הבצל והפקעת בשוק העולמי. מרבית המינים במסחר המכונים "כוכב בית לחם" הם בעלי צבעי פרח לבנים. בשנים האחרונות הכניסו מגדלי ישראל מין חדש, (*O. dubium*) בעל צבעי פרח צהובים-כתומים, שמקורו מדרום אפריקה. מגדלי ישראל שלהם ישנו מעמד כמעט בלעדי בשוק, הגיעו להישגים יפים בשיפור איכות הפרח, הקדמת הפריחה, שיפור באחידות של חומר הריבוי ובגובה התפרחות בנץ החלב הכתום. למרות זאת קיימת עדיין שונות רבה מאוד בחומר השתילה לגבי מרבית התכונות שהן בעלות ערך כלכלי. מרבית הגבעולים אינם מגיעים לגובה הרצוי. בכדי לקבל יותר גבעולים גבוהים נשתלים הצמחים בהצללה חלקית והם מרוססים בגייברלין מספר פעמים בעונה. טיפולים אלה מאריכים את הגבעולים אך הם בעלי השפעה שלילית על איכות המוצר. המינים הלבנים הקיימים במסחר הם בעלי גבעול גבוה וזקוף העושה אותם מתאימים לקטיפה. בין המינים השונים קיימים מחסומי רבייה ומנגנוני אי התאם המונעים כמעט לחלוטין קבלת צאצאים פוריים. **מטרות המחקר** כללו: פיתוח השיטות לקבלת מכלואים בין-מיניים בנץ חלב על מנת לאפשר הכנסת מינים נוספים של נץ חלב לשם העשרת הרקע הגנטי ויצירת צירופים גנטיים חדשים וצירופי תכונות ממינים שונים, כגון צבעי פרח שונים וגבעול גבוה וזקוף. התגברות על מחסומי אי ההתאם הבין מיני, הכפלת מספר הכרומוזומים ויצירת טיפוסים פוליפלואידים בכדי להחזיר לפוריות מכלואים עקרים ולאפשר יצירת דורות מתקדמים. התאמת שיטות הריבוי הווגטטיבי לקלונים שונים. **מהלך העבודה:** נוסו הכלאות בין מיניות בין שבעה מינים שונים. ותרבות חילוץ עוברים בכדי לעקוף את מנגנון אי ההתאם. ניסו להכפיל את הכרומוזומים בעזרת טיפולים לקאלוסים וקטעי עלים באוריזלין וקולכיצין. בוצעו הכלאות חוזרות לדור F1 והכלאות בין אחים לקבלת F2. כוילה שיטה לריבוי בתרבית של קלונים נבחרים. תוצאות: הניסיון להכפלת הכרומוזומים שנעשה בעזרת טיפולי אוריזלין לקטעי עלים בתרבית לא הניב צמחים שבהם הוכפל מספר הכרומוזומים. הניסיון להחזיר פוריות ע"י טיפולי קולכיצין לקטעי עלים ולקאלוסים בתרבית הניב מאות צמחונים. העיכוב הראשוני עקב טיפולי הקולכיצין האט מאוד את קצב הגדילה והצמחים עשויים לפרוח רק כעבור שנתיים מהתחלת הגידול בתרבית. לעומת זאת התקבלו מכלואים בין מיניים חדשים שהתפתחו אחרי חילוץ עוברים בתרבית. חלק ממכלואים אלה היה בעל פוריות חלקית ואפשר קבלתם של הכלאות חוזרות והכלאות בין אחים בדור השני. למרביתם צבעי ביניים וחלקם בעלי גבעול גבוה וזקוף. ישנם בידנו צמחונים מדור זה שהועתקו לחממה. מספר קלונים נמסרו למעבדה מסחרית לשם ריבוי לפני רישום ושחרור לחקלאים. קלונים נוספים מוכנים עתה לרישום ושחרור לקראת העונה הבאה. **מסקנות והמלצות:** במכלואים הבין מיניים היה עדיין צורך להשתמש בתרבית חילוץ עוברים גם בדור השני. אם לא בוצע חילוץ עוברים הייתה הפלה של הצאצאים. בחלק מהצירופים לא מקבלים חנטה ואילו באחרים ישנה חנטה חלקית. מרבית הצאצאים הם בעלי פוטנציאל לשמש כהורים בהמשך עבודת טיפוח ורק מעטים יכולים לשמש כזנים כמו שהם. הפסקת התמיכה בעבודה תגרום לאיבוד חומר גנטי חשוב. המשך העבודה מתבקש בעקר מאחר וישראל היא הספק הבלעדי בשוק של נץ החלב הכתום.

### פרסומים:

התוצאות דווחו ביום עיון למחקרים במימון המדען הראשי, 1 בינואר 2003.  
ישום: בשנה האחרונה נמסרו מספר קלונים, תחת חוזה מיוחד, למעבדה מסחרית לשם ריבוי ווגטיבי לקראת רישום ושחרור למגדלים.

### ב. מבוא

הסוג נץ חלב (*Ornithogalum*) הפך בשנים האחרונות למרכיב חשוב בסל פרחי הבצל והפקעת בשוק העולמי. עד לשנת 1993 היו כל הפרחים ששווקו בעלי גווני פרח לבן, או לבן-קדם כאשר הבולטים שבהם היו מהמינים: *O. thyrsoides*, נץ-החלב הערבי *O. arabicum*, ו- *O. sandersii* (סה"כ 32.4 מליון פרח). בשנת 1993 נמכרו בבורסות בהולנד טיפוסים חדשים של נץ-החלב בעלי פרחים צהובים-כתומים מהמין *O. dubium* שנשלחו כמשלוח ניסיוני מהארץ (21 אלף פרח בסה"כ). הפרחים ממין זה שמקורו הבוטני בדרום אפריקה, התקבלו בצורה חיובית ע"י השוק ופדו מחירים גבוהים למרות שמרבית הפרחים לא הגיעו לגודל הנדרש בד"כ מפרחי קטיפ. משנת 1994 ואילך הולכת הכמות הנמכרת ועולה: 1.75 מליון פרחים ב- 1996/97, למעלה מ- 7 מליון ב- 1996/97 ו- 10.43 מליון ב- 1997/98. בשנת 2002, נרשמו בשלושת הבורסות ההולנדיות בלבד, מכירות של למעלה מ- 41 מליון פרחי נץ החלב, 12.5 מליון מהם של נץ החלב הכתום (נתונים מדוי"ח המחלקה לחקר שווקים, משרד החקלאות, דצמבר 2002). מלבדם נמכרים גם עציצים פורחים של נץ החלב הזה בבורסות וגם בעסקי מכירה ישירה לקניינים. מגדלי ישראל נהנים בשלב זה ממעמד של ספק כמעט בלעדי של נץ החלב הכתום לבורסות ההולנדיות. נץ החלב מהמינים בעלי הפרחים הלבנים המכונה גם "כוכב בית לחם" נמכר כפרחים קטופים בלבד. למרביתם גבעול גבוה וזקוף העושה אותם מתאימים בעיקר לקטיפ.

כתוצאה ממאמציהם של מגדלים מסחריים הגיעו מגדלי ישראל להישגים יפים בשיפור איכות הפרח, הקדמת הפריחה, שיפור באחידות של חומר הריבוי ובגובה התפרחות. למרות זאת קיימת עדיין שונות רבה מאוד בחומר השתילה לגבי מרבית התכונות שהן בעלות ערך כלכלי. מרבית הגבעולים אינם מגיעים לגובה הרצוי. בכדי לקבל יותר גבעולים גבוהים נשתלים הצמחים בהצללה חלקית והם מרוססים בגיברלין מספר פעמים בעונה. טיפולים אלה מאריכים את הגבעולים אך הם בעלי השפעה שלילית על איכות המוצר.

בעוד מרבית האספקה של נץ החלב הכתום במסחר הפרחים הבינלאומי מקורה בישראל, הרי עיקר המסחר הבינלאומי הוא עדיין של זני נץ החלב בעלי הפרחים הלבנים הידועים בכינוי "כוכב בית לחם". מרבית זנים אלה מצטיינים בגבעול גבוה וזקוף, חיי מדף ארוכים והם מתאימים בהחלט לקטיפ פרחים. בשנים האחרונות התבססה, גם אצל מגדלים בארץ, אוכלוסייה של נץ חלב המתקרא במסחר *Ornithogalum 'Nova'* או *'White Giant'* בעל פרחים צהובים וגבעול זקוף וגבוה (80-120 ס"מ). בתוכנית מחקר קודמת הצבנו לעצמנו כאחת המטרות להתגבר על מחסומי אי-התאם בין-מיני ולבצע הכלאות בין מינים רחוקים של נץ-החלב. כתוצאה ממאמצינו התקבלו מכלואים ראשונים בין המין *O. dubium* בעל צבעי הכותרת הכתומים והגבעול הקצר, יחסית לבין הטיפוס המתקרא *'Nova'* בעל הגבעולים הארוכים והזקופים ופרחיו הצחורים. המכלואים הנדירים יחסית, התקבלו תוך שימוש בטכניקות חילוץ-עוברים בתרבות. המכלואים שהתקבלו הגיעו לפריחה, גבעוליהם גבוהים (60-80 ס"מ) אולם עלי הכותרת בצבעי ביניים בהירים יחסית והם עקרים לחלוטין. על מנת לאפשר קבלת צרופים גנטיים כמו פרח גבוה וזקוף יחד עם צבעים עזים של עלי הכותרת יש צורך ליצור

"החזרה לפוריות" אותה ניתן לבצע ע"י הכפלת מספר הכרומוזומים בעזרת חומרים כמו Oryzoline, שיעילותו הוכחה בשושן, המשתייך לעל-משפחת השושניים, או בעזרת האלקלואיד קולכיצין - המקובל בשימוש למטרה דומה בצמחים רבים. החזרה לפוריות עשויה לאפשר גם קבלת צרופים גנטיים נוספים עם מיני נץ חלב נוספים, ביניהם גם כאלה שהובאו על ידנו מדרום אפריקה.

כל זמן שכמות הפרחים המשווקת אינה מספקת את הדרישה יש להניח שרמת המחירים תישאר גבוהה והשוק יהיה מוכן לקלוט גם מוצר בעל איכות ירודה יותר. יש לצפות שעם העלייה בכמויות יגיע השוק לרוויה יחסית ותעלה הדרישה למוצר איכותי. פרחי קטיפ נמוכים, למשל, כמו גם משלוחים לא אחדים, לא יקלטו ע"י השוק או שיפדו מחירים נמוכים בהרבה. יש להיערך לכן למצב שבו ידרשו ע"י השוק לקטיפ פרחים אך ורק פרחים בעלי תפוחת איכותית וגבעול גבוה ויציב. האחדות באופי הגידול ובתגובה לתנאי הסביבה היא הכרח בגידולים חקלאיים ובמיוחד בגידול פרחים. אחדות כזו מושגת אם ע"י טיפוח של זרעי מכלוא או ע"י ריבוי ווגטיבי של קלונים נבחרים. כמעט כל זני הפרחים המיוצאים מהארץ מקורם בריבוי קלונלי. הדבר נכון גם בסוגים שבעבר גידלו מזרעים, כמו מיני עדעד, ליאטריס, אקוניטום ועוד. גם ממינים אחרים של נץ חלב כל הזנים בשוק הבינלאומי הם מריבוי ווגטיבי. יש לצפות שעם העלייה בכמויות יגיע השוק לרוויה יחסית ותעלה הדרישה למוצר אחד ואיכותי. פרחי קטיפ נמוכים מדי למשל, כמו גם משלוחים לא אחדים, לא יקלטו ע"י השוק או שיפדו מחירים נמוכים בהרבה. יש להיערך לכן למצב שבו השוק ידרוש פרחים בעלי תפוחת איכותית, אחדות בצבע ובמבנה, וגבעול גבוה ויציב מזנים המשווקים כפרחי קטיפ. במקביל יש לפתח קלונים אחדים המתאימים לשוק כעציצים פרחים. יש להניח שגם בזנים של נץ החלב הכתום המגודל הן לקטיפ והן לעיצוץ יוחלף בהדרגה חומר השתילה הוריאבילי בקלונים מוגדרים. במקביל לברור קלונים, יש צורך לכייל גם את שיטת הריבוי בתרבות ולהתאימה לקלונים הנבחרים בכדי לאפשר שחרורם המהיר לגידול מסחרי.

במקביל לתוכנית זו מתבצעת גם תוכנית להקניית עמידות למחלות וירוס בשיטות ביוטכנולוגיות ויצירתם של צמחים טרנסגנים. הקניית עמידויות כמו גם החדרתם של תכונות אחרות מחייבות קיומה של **תוכנית טיפוח פעילה וארוכת טווח** שתברור זנים שיוכלו לשמש כזני מטרה. גם קבלת תקציבי מחקר מקרנות בינלאומיות ליצירת צמחים טרנסגנים מותניית בקיום תוכנית פעילה שתספק זנים כאלה.

המעמד של ישראל כספק כמעט בלעדי של נץ החלב הכתום הוא מעמד המחייב להמשך שיפור איכות המוצר. בענף הפרחים אין מצב של ריק. בשנים האחרונות כבר נכנסו לשוק זני נץ-חלב כתום וטיפוסים בעלי פרח לבן, מריבוי ווגטיבי שנרשמו ע"י מטפחים בארה"ב. אם לא נאתר את נקודות התורפה ונפעל לתיקונם יש לצפות לנגיסה במעמד של מגדלי ישראל ע"י ספקים מתחרים. המטרה שהצבנו בתוכנית המחקר הוגדרה כפיתוח השיטות לקבלת מכלואים בין-מיניים בנץ החלב על מנת לאפשר:

1. קבלת טיפוסים גנטיים חדשים שיבטאו צירופי תכונות ממינים שונים כגון גבעול גבוה וזקוף יחד עם צבעי כותרת צהובים-כתומים, גווני פרח חדשים וכו'.

2. הכפלת מספר הכרומוזומים ויצירת טיפוסים פוליפלואידים (בעיקר טטרפלואידים וטרופלואידים). פועל יוצא מעליית רמת הפלואידיות היא החזרה לפוריות של מכלואים עקרים ולאפשר יצירת דורות מתקדמים וכמו כן קבלת פעמונים בקוטר גדול יותר ועלי כותרת בעלי מסה מוגברת.

3. פתיחת האפשרויות להכנסת מינים נוספים של נץ חלב לשם העשרת הרקע הגנטי ויצירת צירופים גנטיים חדשים.

4. שיפור איכות המוצר ואחידותו.

### ג. פירוט הניסויים והתוצאות, כולל מסקנות:

#### 1. הכלאות בין מיניות:

1.1.1. אסטרטגיית העבודה: לאור ניסיון קודם בהכלאות בין מיניות בשושן, סיפן, נרקיס, היפאסטרוס ונץ חלב גיבשנו אסטרטגיית עבודה המסוכמת באיור 1. התוכנית כללה ממספר שלבים השלב הראשוני כלל הכלאות בין המינים השונים כאשר ההורה מייצר הזרע ים (ההורה הנקבל) משתנה בין ההכלאות (הכלאות בכוון אחד והכלאות רציפרוקליות). בחלק מההכלאות הבין מיניות צפינו לקבל חנטה ראשונית שתחייב תרבות חילוף עוברים בכדי לעקוף את מנגנוני אי ההתאם ואפשר קבלה של צמחי F1. לאחר הפריחה של צמחי הדור הראשון תוכנה בחינה לפוריות של הצמחים והכלאות של

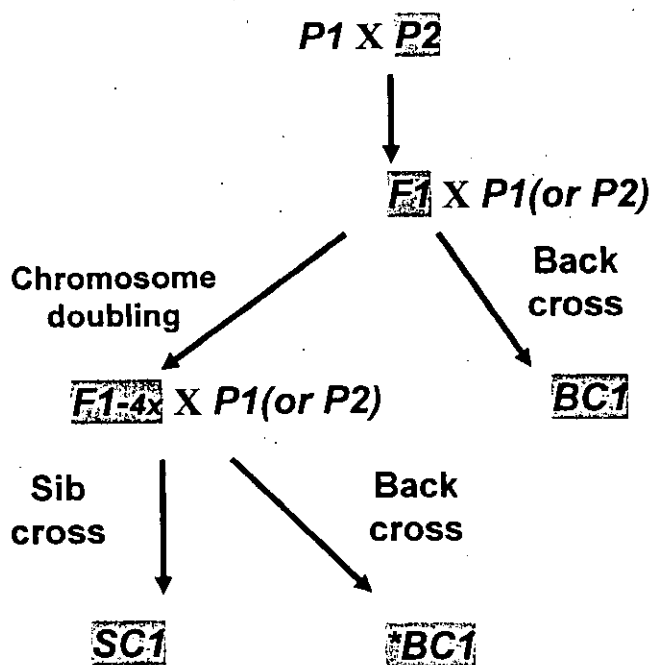
הטיפוסים הפוריים, או הפוריים חלקית, לאלה שימצאו פוריים יבוצעו הכלאות חוזרות בכדי להדגיש תכונות שמקורן באחד ממיני ההורים (הורה חוזר). לטיפוסים שאינם פוריים, תוכנה החזרה לפוריות ע"י הכפלת הכרומוזומים וביצוע הכלאות חוזרות ברמה פוליפלואידית או הכלאות בין אחים. סימני השאלה היו איך להכפיל את מספר הכרומוזומים בנץ החלב, שהוא, כללית, בעייתי מאוד בצמחי בצל. באיזה חומר צמחי להשתמש ובאיזה חומר כימי לבחור. שאלה נוספת היא כמה זמן ייקח לרקמה מטופלת להתמין לצמחונים ואח"כ להתפתח לצמחים פורחים.

#### 2.1. מספר מינים שמקורם

בדרום אפריקה הוכנסו לניסיונות לקבלת מכלואים בין-מיניים. המינים שנעשו בהם ניסיונות הכלאה עם מינים אחרים כללו, בין היתר, את המינים: *O. conicum*, *O. dubium*, *O. arabicum*, *O. thyrsoides*, *O. secunda*, *O. suaveolens*.

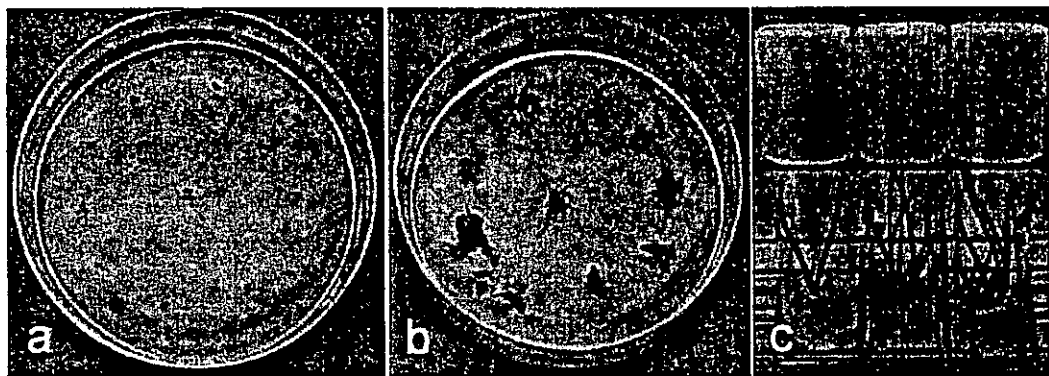
*O. conicum* בנוסף למינים שנוסו בעבר כהורים בהכלאות ("Nova" "White Giant"), *O. thyrsoides*.

*O. dubium* מין נוסף שנוסה היה *O. arabicum* שנחשב, בטעות, כמין מקומי. מין זה מוכר במסחר הפרחים ובספרות ההורטיקולטורית והוא מצטיין ביכולתו לשרוד שנים רבות מבלי להראות סימני התנוונות למרות נגיעותו בוירוס. תיאור ויזואלי של המינים מופיע בלוח 1 יעילות הפריה במכלואים



איור 1. תרשים אסטרטגיית העבודה בהכלאות הבין מיניות בנץ החלב. P1 ו-P2 מציינים את מיני ההורים, BC1, SC1, בהתאמה, מציינים הכלאות בין אחים והכלאות חוזרות, בהתאמה, \* מסמנת הכלאה ברמה פוליפלואידית. הנקודות המודגשות מציינות אתרים בהם נעשתה ברירה של טיפוסים נבחרים.

הבין מיניים שהשתמשו בהם הייתה נמוכה ביותר. בחלק מהמקרים היו ההלקטים ריקים לחלוטין ובחלקם חנטו זרעים בודדים. הניסיון להשתמש בטוקסינים לשיפור החנטה ע"י אפליקציה של טיפת תמיסת אוקסין (IAA, 4CPA) בבסיס השחלה, בחלק האדאקסיאלי של בסיס עלי העטיף, לא נתנה כל שיפור באחוזי החנטה. בהכלאות הבין מיניות, במקרים בהם החלו ההלקטים להצהיב או כאשר החלה הפסקה בולטת בהתפתחותם הורדו ההלקטים בין 10-12 יום לאחר ההאבקה. הזרעים בהלקטים שנאספו מאוחר יותר השחירו ובמרבית המקרים לא נבטו גם כאשר ההלקטים נראו ירוקים. זרעים מתפתחים שהתפתחו על ההורה האימהי דובים הם קטנים ביותר, כחצי מ"מ בלבד ולא ניתן מעשית לבדוד עובר לא מפותח מזרע כה קטן. לפיכך, הוצאו החנטות ונשתלו בתרבית "In ovulo" על מצע מזון מלאכותי #202 (full MS + full MS microelements + 1/2 MS macroelements + vitamins). חלקם התפתח כעבור מספר שבועות לצמחונים שהועתקו, בתחילה כצמחים בודדים למבחנות וכאשר גודלם הפיסי אפשר זאת, להמשך גידול בארגזים ואח"כ בחממה עד שהגיעו לפריחה. טכניקת חילוף העוברים בתרבית מתוארת באיור 2



איור 2. חילוף עוברים בהכלאות בין מיניות בנץ החלב. עוברים שחולצו מהלקטים מתפתחים הושמו על גבי מצע מוצק בצלחות פטרי (a) התפתחו כעבור מספר שבועות לצמחונים (b) שהועתקו, לאחר שגודלם הפיסי אפשר זאת, למבחנות (c) להמשך גידול לפני העברתם לבית הצמיחה.

במקרים רבים התפתחו לאחר ההאבקות הבין מיניות, הלקטים שנראו "מלאים מדי" שבהם אחוז החנטה היה גבוה ביותר, הזרעים המתפתחים הוצאו מהלקטים אלה ונשתלו בתרבית כנ"ל. בשנה השנייה הגיעו תוצרי חילוף העוברים לפריחה וניתן היה להעריך את מידת ההצלחה של הניסיונות לבצע הכלאות בין מיניות בין המינים. התוצאות, לאחר בחינת הצאצאים, מרוכזות בטבלה 1. לאחר בחינת הזרעים הוברר שכמעט בכל המקרים בהם הייתה חנטה מוגברת התקבלו, כמו שחשבנו. פרטים שהיו זהים לצמח ההורה האימהי. על פי האחדות שהתקבלה, סביר להניח שלפחות בחלק מהמקרים התפתחות ההלקטים הייתה תוצאה של חנטה אפומיקטית. היו הבדלים בין הצרופים הרציפרוקליים בקבלת המכלואים הבין מיניים. למשל, בהכלאה בין נץ החלב המכבדני (O. thyrsoideus) לבין נץ החלב הכתום (O. dubium), התקבלו צאצאים כאשר נץ החלב הכתום היה ההורה הנקבי ולא בהכלאה הרציפרוקלית. לעומת זאת, בהכלאה בין נץ החלב הכתום ובין "Nova" התקבלה חנטה דווקא כשהאחרון היה ההורה הנקבי. אחת מהתופעות התמוהות הייתה קשורה לחוסר חנטה



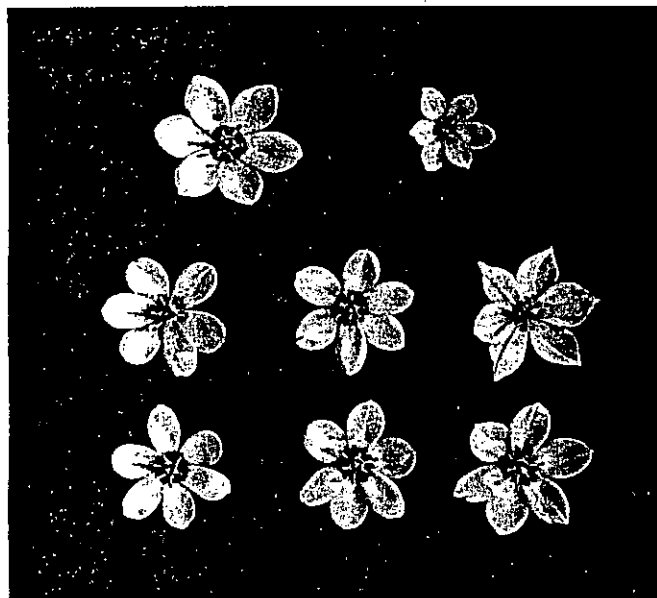
מוחלט בהכלאות עם נץ החלב הערבי (*O. arabicum*). מין זה אינו חונט זרעים למרות שגרירי האבקה שלו נצבעים כמעט ב 100% והם מסוגלים לנבט על מצע מלאכותי. מקורו של מין זה אינו ברור ויש סברה שהובא ארצה ע"י הצלבנים. מאוד יתכן שאי חנטת זרעים נובעת מעצם היותו קלון יחיד שהא בעל אי-התאם עצמי, תופעה שקיומה ידוע גם במינים אחרים של נץ החלב, אבל זה אינו מסביר מדוע אין מקבלים חנטה בהכלאות עם מינים אחרים.

**טבלה 1.** תוצאות של ניסיונות קבלת מכלואים ממינים שונים של נץ החלב. הצאצאים בהכלאות הבין-מיניות התקבלו בטכניקה של חילוץ עוברים. הכלאות שהניבו צאצאים מסומנות ב +, אלה שלא הצליחו מסומנות ב (-) משבצת ריקה מייצגת צרוף שלא בוצע.

		הורה זכרי						
		<i>dubium</i>	"Nova"	<i>conicum</i>	<i>thyrsoides</i>	<i>suaveolens</i>	<i>arabicum</i>	<i>secundum</i>
הורה נקבי	<i>dubium</i>	+	-	-	+	-	-	-
	"Nova"	+	+		-	-	-	-
	<i>conicum</i>	-	-	+	-+	-	-	-
	<i>thyrsoides</i>	-		-	+	-	-	
	<i>suaveolens</i>	-	-	-	-	+	-	-
	<i>arabicum</i>	-	-	-				
	<i>secundum</i>	-				-		+

לאחר בחינת הזרעים הוברר שכמעט בכל המקרים בהם הייתה חנטה מוגברת התקבלו, כמו שחשבנו. פרטים שהיו זהים לצמח ההורה האימהי. על פי האחדות שהתקבלה, סביר להניח שלפחות בחלק מהמקרים התפתחות ההלקטים הייתה תוצאה של חנטה אפומיקטית. היו הבדלים בין הצרופים הרציפרוקליים בקבלת המכלואים הבין מיניים. למשל, בהכלאה בין נץ החלב המכבדני (*O. thyrsoides*) לבין נץ החלב הכתום (*O. dubium*), התקבלו צאצאים כאשר נץ החלב הכתום היה ההורה הנקבי ולא בהכלאה הרציפרוקלית. לעומת זאת, בהכלאה בין נץ החלב הכתום ובין "Nova" התקבלה חנטה דווקא כשהאחרון היה ההורה הנקבי. אחת מהתופעות התמוהות הייתה קשורה לחוסר חנטה מוחלט בהכלאות עם נץ החלב הערבי (*O. arabicum*). מין זה אינו חונט זרעים למרות שגרירי האבקה שלו נצבעים כמעט ב 100% והם מסוגלים לנבט על מצע מלאכותי. מקורו של מין זה אינו ברור ויש סברה שהובא ארצה ע"י הצלבנים. מאוד יתכן שאי חנטת זרעים נובעת מעצם היותו קלון יחיד שהא בעל אי-התאם עצמי, תופעה שקיומה ידוע גם במינים אחרים של נץ החלב, אבל זה אינו מסביר מדוע אין מקבלים חנטה בהכלאות עם מינים אחרים.

ג.1.3. השונות במכלואים בין מיניים: מיני הבר של נץ החלב שמתרבים בטבע מזרעים הם. כאמור, בעלי דרישה אבסולוטית להאבקה זרה. ניתן היה לצפות שבהכלאות בין מיניות עשויים לקבל התפצלות של תכונות רבות. השונות בלטה כבר ב - F1. המכלואים בין נץ החלב (כחורה אימהי) לבין נץ החלב הכתום (המוצגים בלוח 2) נתנו הבדלים במבנה הפרח ובגובהו בין הפרטים השונים, אם כי כולם היו בעלי גבעול זקוף וגבוה. אבל



איור 3. אחיזת פסטיפית בין צאצאי הורה נבחר ("תרבות") מטיפוס נץ החלב המכבדני *O. thyrsoideus* (שורה עליונה משמאל), ובין טיפוס הבר מאותו מין שהובא מדחם אפריקה (שורה עליונה מימין)

צבעי הפרח היו אחידים יחסית לעומת השונות שנצפתה בין הצאצאים במכלואים בין נץ החלב המכבדני ונץ החלב הכתום (המוצגים בלוח 3). גם במקרה זה היו לפרחים גוויי ביניים בין אלה של שני ההורים. אולם השונות ביניהם הייתה גבוהה יחסית כפי שניתן לראות בהשוואה בין לוח 2 ללוח 3, עובדה המצביעה על אופייה הכמותי של הורשת הצבע בנץ החלב הכתום ועל המצב ההטרוזיגוטי של לפחות חלק מהאללים בנתיב הביוכימי היוצר את צבעי הפרח (קרוטנואידים). הדבר בולט במיוחד נוכח העובדה שההורה בעל הכותרת הלבנה בהכלאה זו, סלקציה מתוכנית ההשבחה מהמין *O. thyrsoideus*, נתן בהכלאות עם *O.*

*thyrsoideus* שנאסף מן הבר בדרום אפריקה, צאצאים אחידים מאוד במרבית התכונות הפנוטיפיות כפי שמוצג באיור 3. המכלואים במקרה זה התקבלו בהכלאה רגילה מבלי שהיה צורך להזדקק לתרבות חילוץ עוברים. כל הצאצאים היו פוריים לחלוטין, נאספו מהם זרעים חיוניים שנבטו בזריעה רגילה. ג.1.4. חיוניות גרגרי האבקה במכלואים בין מיניים: כמעט כל המכלואים הבין מיניים עם נץ

החלב הכתום היו בעלי צבעי ביניים, כפי שזה נראה בדוגמאות המוצגות בלוחות 2 ו-3. במטרה להעשיר את עוצמת הצבע ואת מגוון הצבעים הצענו לבצע הכלאות חוזרות בין F1 לבין טיפוסים של *O. dubium*. הצלחת הכלאות כאלה מותנית בכך שה - F1 הוא פורה. בכל הדוגמאות שידועות לנו בצמחים, השיבושים בחלוקה המיטית המביאים לחוסר פוריות גרגרי האבקה הם חזקים יותר מאלה שחלים בהתפתחות תאי הביצית בשחלות. לפיכך, כאשר מוצאים גרגרי אבקה פוריים, סביר להניח שתהיה גם פוריות, אפילו ברמה גבוהה יותר, גם באיברים הנקביים. בכדי לבדוק אוכלוסייה של צמחי F1, הנוח ביותר הוא לבחון, לפחות בשלב הראשון, את פוריות גרגרי האבקה ורק אח"כ לבצע הכלאות חוזרות או הכלאות בין אחים (sib-crosses) בין הפרטים שבהם יש גרגרי אבקה פוריים. בדרך זו חוסכים את הצורך בעבודה נוספת של החזרת פוריות ע"י הכפלת מספר הכרומוזומים. המוסיפה גם את ההכרח לגדל דור נוסף לפני שאפשר לבצע הכלאות. קבלת דור נוסף כזה, כפי שהתברר לנו בעבודה זו, עשוי לקחת שתי עונות גידול. במקום עונה אחת שלוקח לקבל פריחה בהכלאות רגילות המניבות זרעים נורמאליים.

הבחינה של גרגירי האבקה על ידי צביעה באצטוקרמין מאפשרת בחינה מהירה של פרטים באוכלוסייה. גרגירי אבקה שאינם נצבעים הם לבטח לא פוריים. גרגירי אבקה נצבעים הם פוריים בד"כ אם כי הייתה דרושה הוכחה נוספת אם ע"י בחינת נביטת האבקה ע"ג מצע מלאכותי, או בבחינה הסופית של קבלת צאצאים לאחר האבקה מעשית. בבחינות נביטת אבקה על מצע מלאכותי שכלל 100 מ"ג לליטר חומצה בורית, 300 מ"ג לליטר  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 200 מ"ג לליטר  $\text{MgSO}_4$ , ו-100 מ"ג לליטר  $\text{KNO}_3$  בתוספת 10% סוכרוז מצאו קורלציה גבוהה בין האבקה הנצבעת ובין אבקה נובטת, ובעיקר בין התוצאות בצביעת אלכסנדר לבין הצביעה באצטוקרמין. קיימת בעיה בתוצאות הנביטה על נזל מלאכותי מאחר וקצב הנביטה של גרגירי אבקה שונים והתגובה שלהם לאותו מצע נביטה אינו אחיד. במקרים בהם קיימת נביטה אטית עשויה להתקבל תמונה מסולפת. לעתים לא הייתה אחידות בתוצאות שקבלנו בפרחים שונים מאותו צמח. לפיכך, הבדיקה של צביעת האבקה באצטוקרמין נראתה לנו כפתרון מניח את הדעת ומאפשר בדיקה מהירה של כל המכלואים. דוגמה לתוצאות שהתקבלו בבחינת צביעת אבקה של מספר צאצאים בהכלאה בין נץ החלב הכתום ונץ החלב המכבדני. מוצגת בלוח 4. בחלק מהצאצאים היו המאבקים ריקים לחלוטין ולא הכילו אפילו שרידים של גרגירי אבקה. צאצאים אחרים הכילו גרגירי אבקה ריקים (ghosts) בגדלים שונים. בפרחים של פרטים אחרים נמצא אחוז מסוים של גרגירי אבקה נורמאליים באחוזים משתנים (בין 3% ל-94%) בחלק מהצביעות נמצאו אחוזים נכרים של גרגירי אבקה הגדולים בכ-50% מגרגירי האבקה הנורמאליים. קבלת גרגירים כאלה אופיינית בהכלאות בין מיניות בצמחים רבים ומציינים גמטות לא-מופתחות המכילות כפולות של מספר הכרומוזומים הבסיסי. גמטות כאלה אחראיות, במידה רבה למעבר של צמחים לרמת פלואידיות גבוהה יותר ולהחזרה לפוריות שהייתה אחראית ליצירת טיפוסים גדולים יותר כחלק מתהליך הביות בגידולים חקלאיים רבים.

ג. 1. 4. הכלאות בדורות מתקדמים: בעקבות צביעת גרגירי האבקה זוהו מבין צאצאי FI כאלה שנראו מבטיחים לשמש כהורים בהכלאות חוזרות ובהכלאות בין אחים. צמחים אלה הואבקו באבקה המתאימה. בחלק מהם התקבלה חנטה ראשונית של הלקטים. מרבית ההלקטים הורדו כעבור 10-12 יום ממועד ההכלאה (המועד שנמצאו על ידנו כימים הקריטיים לפני הפלת העוברים) ונשתלו *In ovulo* על מצע ממתאים (מצע #200) כפי שתואר לעיל (איור 2). מכל צירוף הושארו הלקטים יחידים בכדי לוודא אם ניתן לקבל זרעים חיוניים גם ללא שימוש בטכניקת חילוץ עוברים. אף לא אחד מבין ההלקטים שהושארו הצליח לסיים את התפתחותו וחנט זרעים. בכולם נפסקה ההתפתחות והם הצהיבו לאחר 14-20 ממועד ההפריה. גם בדור השני חייבים לבצע תרבית חילוץ עוברים בכדי לקבל צאצאים עם תוצרי מכלוא בין מיני. מבין ההורים שהצלחנו לקבל מהם צאצאים היו גם כאלה שבבדיקת האבקה שלהם נמצאו עקרים. בחלק מהם הגמטות הנקביות היו פוריות, לפחות חלקית ואפשרו קבלת צאצאים. עשרות מכלואים חדשים בדור השני נמצאים בריבוי. חלק מהצאצאים הועבר לגידול בבית הצמיחה. הפריחה של מכלואים אלה צפויה בחורף 2004.

ג. 2. ניסיונות בהכפלת כרומוזומים: רוב המכלואים הבין מיניים בין *O. dubium* לטיפוס

"Nova" שהתקבלו לאחר התגברות על מחסומי אי-התאם נמצאו עקרים לחלוטין. מבחינה הורטיקולטורית הם בעלי גבעול גבוה וזקוף (60-70 ס"מ) אך כותרתם בעלת צבעי ביניים "מהולים" וקוטר הפרחים גם הוא קוטר ביניים. אחד מהם, שקיבל את השם הזמני H-13 הוא בעל צבע יציב, גבעול גבוה ותפרחת מרשימה. קלון זה נמסר למעבדה מסחרית לריבוי והוא יוגש כנראה לרישום בעונה

הבאה. המשך ההתקדמות בפעולות הטיפול מותנה בהחזרת פוריות למכלואים הבין מינים בכדי שאפשר יהיה להכליאם הכלאה חוזרת לטיפוסים בעלי כותרת בצבעים עזים או להכליא ביניהם ולקבל התפצלות גנטית ב F<sub>2</sub>. השיטה המקובלת להחזרה לפוריות היא ע"י הכפלה של מספר הכרומוזומים ועבודה ברמה הטטרפלואידית. בניסיונות הראשונים שבצענו להכפלת מספרי הכרומוזומים חשפנו קטעי עלים של המכלואים הבין מיניים לאורזילין, שהוכיח את יעילותו בהכפלת כרומוזומים בשושן. לאחר הטיפול באורזילין התקבלו מאות צמחים אך לא קיבלנו צמחים שבהם הוכפל מספר הכרומוזומים. לפיכך חזרנו לעבודה עם קולכיצין. השתמשנו ברקמה צמחית משני סוגים: קטעי עלים 5X5 מ"מ וקאלוס, מאותם הקלונים שהתפתח בחושך מקטעי עלים כנ"ל על מצע 226 שכלל מרכיבי מצע MS שהועשר ב-1.5 מ"ג לליטר Picloram. קטעי העלים, מצמחים שגודלו בתרבית הושמו על מצע רגנרציה 206 באור או מצע לקאלוס (226) בחושך. לאחר כ-4 שבועות נטבלה הרקמה, בכמות המספיקה לכסוי מלא, בתמיסת קולכיצין בריכוז 0.2% בבקבוקי סינטילציה שטולטלו ע"י מטלטלת במהירות 100 סל"ד במשך 48 שעות. לאחר הטיפול נשטפו קטעי העלים 3 פעמים במים ונשתלו על מצע פרוליפרציה 206: MS basic medium + 0.1mg/l NAA + 2 mg/l BA או על מצע MS נטול חומרי צמיחה (מצע 10) להמשך ההתפתחות. בעקבות הטיפול בקולכיצין קיבלנו מאות צמחונים, אך נצפתה פגיעה מסוימת בחומר הצמחי והאטה ברגנרציה לצמחונים. הצמחונים הועברו לגידול בחממה כאשר עיקר הפריחה שלהם צפויה במאי 2003. אלה מהם שהאבקה שלה תהיה חיונית, כאינדיקציה להחזרת פוריות יוכנסו למעגל ההכלאות עם נץ החלב הכתום בכדי להעשיר את עוצמת צבע הפרח בצאצאים. כמו כן יבוצעו הכלאות בין-אחים במטרה לאתר התפצלות תכונות ב F<sub>2</sub>.

ג. 3. שחרור קלונים נבחרים: בשנה זו נמסרו לחברה מסחרית מספר קלונים נבחרים לשם ריבוי לקראת הפצה לחקלאים. אחד מהקלונים הוא תוצר מכלוא בין מיני. אחרים הם טיפוסי הורים נבחרים. בשנת 2003 נעביר לריבוי קלונים נוספים.

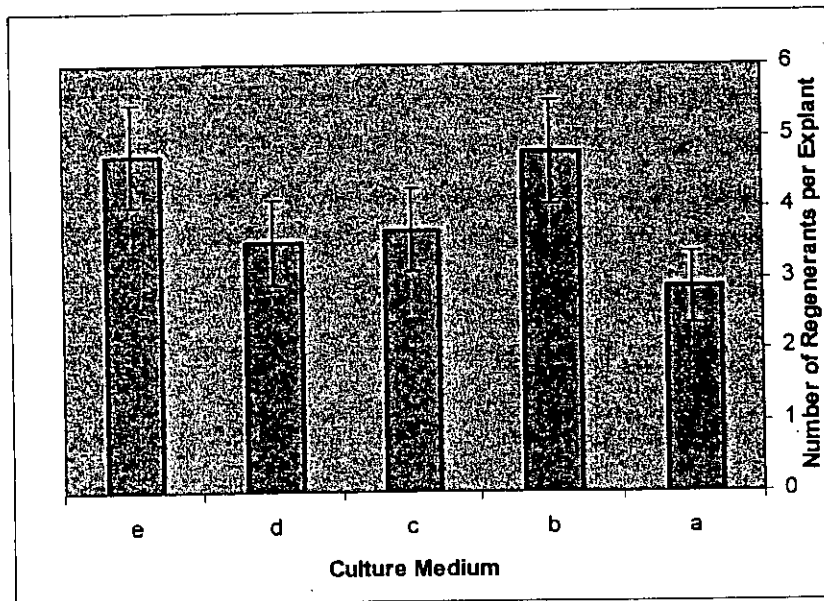
ג. 4. ריבוי קלונים נבחרים. בפרסומים מדעיים שונים מופיעים מצעי מזון המאפשרים גידול של נץ חלב בתרבית. מאחר וכל אחד מהחוקרים, עבד על קלונים שונים ואף על מינים שונים יש לבצע כיוול של מערכת הרגנרציה בכל פעם שמכניסים קלון או זן חדש. אופטימיזציה של ההתמיינות הופכת חשובה עוד יותר כאשר מטפלים ברקמה בחומרים כימיים או מוטגנים כמו קולכיצין שלהם יש ממילא, השפעה שלילית על חיוניות הרקמה, או כאשר חושפים את הרקמה לתנאי סלקציה (למשל, עמידות לקוטלי עשבים או לחומרים אנטיביוטיים) אחרי ניסיונות טרנספורמציה. למרות האמור לעיל ישנם מצעי גידול הנותנים ריבוי ברמה מתקבלת על הדעת בטווח רחב של קלונים.

ג. 4. 1. רגנרציה של צמחים מקטעי עלים בתרבית: בראשית המחקר בחננו את השפעתם של חמישה מצעי גידול שונים על הריבוי מקטעי עלים של נץ החלב. שלושה מהמצעים היו מקובלים על חוקרים אחרים ושניים מהם הם פרי ניסיונו. המצעים כללו הרכבים שונים של חומרי הצמיחה בנוזל אמינופורין (BA) וחומצה נפתלן אצטית (NAA). חמשת המצעים שנוסו היו:

- |                                    |                     |
|------------------------------------|---------------------|
| a. MS + 1 mg/l BA                  | (Griesbach, #220);  |
| b. MS + 0.1mg/l BA + 1mg/l NAA     | (Watad, #221)       |
| c. MS + 2mg/l BA + 0,1 mg/l NAA    | (Cohen's, #206)     |
| d. MS + 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA | (De Villiers, #222) |
| e. MS + 2mg/l BA + 0.5 mg/l NAA    | (Cohen's #223)      |

מקטעי עלים 5X5 מ"מ שנלקחו מצמחים שגודלו בתרבית הונחו על גבי מצע מוצק בצלחות פטרי.

בקוטר 50 מ"מ, 10 מקטעי עלים לצלחת. תוצאות הריבוי על חמשת המצעים: a – e מוצגים באיור 5.



מצעים b (221) ו- e (223)

בלטו במספר הצמחונים שהתפתחו ממקטעי העלים. על מצע מס 223 הייתה התפתחות מהירה של צמחונים בעוד שבמצע 221 נצפתה התפתחות של שרשים בהתחלה ורק לאחר כחודש החלה התפתחות של צמחונים. מצע 223 נמצא לכן כמצע המומלץ לריבוי ולרגנרציה ממקטעי עלים.

**איור 5.** רגנרציה של נצרונים ממקטעי עלים של נץ החלב הכתום (קלון ATD) על מצעים שונים בתרבות חודשיים לאחר השתילה (הקווים מסמלים את סטית התקן).

ג. 4. 2. רגנרציה מקאלוס: במסגרת הניסיונות למצוא רקמה מתאימה לטיפול קולכיצין קיבלנו התפתחות מהירה ונמרצת של קאלוס פריך (friable) ממקטעי עלים שגודלו בחושך על מצע 226 מוצק שכלל MS salts and vitamins + 1.5 mg/l Picloram. הקאלוס שהתפתח כעבור 4-6 שבועות על מצע זה התמייך לדשא של צמחונים עם העברתו לאור והעתקתו למצע MS ללא תוספת חומרי צמיחה. זוהי שיטה המתאימה לריבוי מהיר והמוני של נץ החלב הכתום ושל מרבית המכלואים הבין מיניים שניסו. שיטה זו, כמו גם המצעים האחרים שהתאימו לריבוי ממקטעי עלים לא התאימו לריבוי של נץ החלב הערבי.

#### ד. מסקנות והשלכות על המשך ביצוע המחקר:

המחקר המוצג כאן מציין ניסיון לביצוע מיכלואים בין מיניים במטרה לעקוף מחסומי אי-התאם בין מיני ולאפשר הכנסת גנים חדשים ושונויות מחודשת לחומר הגנטי של נץ החלב. להגברת השונויות יש משמעות גדולה מאוד בעבודות השבחה עתידית. העבודה נמצאת בשלב זה בראשיתה. החזרה לפוריות של תוצרי המכלוא והמשך ההתפתחות מצדיק להמשיך ולהתקדם בעבודת השבחה עם החומר הצמחי הראשוני שהתקבל. בישראל אין מגדלים או חברות מספיק גדולות ומבוססות כלכלית שיכולות לתמוך בעבודות השבחה של זנים. הבودדות שישנן מסוגלות לתמוך בגידולים בודדים בלבד ברמת תמיכה מינימלית. גם בהולנד, שם קיימות חברות רבות העוסקות בגידול ושווק של חומר ריבוי פרחי בצל ופקעת ופרחים אחרים, ישנה דרישה להחזיר את המחקרים בטיפול למימון ממשלתי בכדי לספק לחברות המסחריות מוצרים חצי-מוגמרים להמשך העבודה. משך החיים של זנים בפרחים הוא מוגבל למספר שנים מצומצם. קיים צורך בהכנסה של זנים חדשים בצורה מתמשכת בכדי לא לגרום לנפילה

של הגידול מסל הפרחים. המשך העבודה חשוב במיוחד לנוכח העובדה שלמגדלי ישראל יש מעמד של ספק כמעט בלעדי של פרחי נץ החלב הכתום. מעמד שעשוי להתערער אם לא יהיה רענון של מבחר הזנים בשוק והכנסה של תכונות נוספות, כגון עמידות לוירוסים ולמחלות, לחומר הריבוי בזנים החדשים. למדיניות הנקוטה היום שלא לתמוך בעבודת טיפוח עלולה להיות השלכות הרות אסון גם בטווח הרחוק. מספר החוקרים העוסק בטיפוח הולך ומצטמצם. גם מספר הסטודנטים הלומדים גנטיקה והמתמחים בהשבחה הוא מצומצם ביותר מאחר ובחירה בהתמחות זו תעמיד אותם בקשיים כאשר ינסו להשיג בעתיד תקציבי מחקר. גם הטיפוח באמצעים ביוטכנולוגיים מתבסס על קיומם של זנים שפותחו בעבודות של השבחה קלאסית ואינו יכול להתקיים בלעדיו. הפסקת המימון בשלב עשויה לגרום שחומר גנטי חשוב ועבודה רבה ירדו לטמיון, כפי שקרה גם בגידולים אחרים.

#### ה. פרסומים:

אבנר כהן וחובריו. דו"חות לתוכנית המחקר 256-0580 לשנים 2001, 2002, פיתוח שיטות ליצירת מכלואים בין מיניים בנץ החלב.

אבנר כהן וחובריו, דו"ח לתוכנית המחקר, יום עיון בתי צמיחה א' למחקרים במימון המדען הראשי 1 בינואר 2003.

ישום: ישום: בשנה האחרונה נמסרו מספר קלונים, תחת חוזה מיוחד, למעבדה מסחרית לשם ריבוי ווגטטיבי לקראת רישום ושחרור למגדלים.

### 3. סיכום לדו"ח המחקר

**מטרות המחקר:** א. הרחבת מגוון הצבעים בזני נץ-חלב. קבלת טיפוסים גנטיים חדשים שיבטאו צירופי תכונות ממינים שונים ופיתוח זנים צהובים וכתומים המתאימים לקטיפת פרחים ולעיצוץ, ע"י הכלאות בין-מיניות. ב. הכפלת מספר הכרומוזומים ויצירת טיפוסים פוליפלואידים (בעיקר סטרפלואידים וטריפלואידים). ג. החזרה לפוריות של מכלואים עקרים שתאפשר יצירת דורות מתקדמים וכמו כן קבלת פעמונים בקוטר גדול יותר ועלי כותרת בעלי מסה מוגברת. ד. פתיחת האפשרויות להכנסת מינים נוספים של נץ חלב לשם העשרת הרקע הגנטי ויצירת צירופים גנטיים חדשים. ה. שיפור וייעול הריבוי הווגטטיבי של הורים בהכלאות ושל קלונים נבחרים.

**עיקרי הניסויים והתוצאות:** התקבלו מכלואים בין-מיניים חדשים תוך שימוש בטכניקת חילוץ-עוברים בתרבות. המכלואים היו בצבעי ביניים בין ההורה בעל הכותרת הכתומה ואלה לבני הפרח. בחלק מצאצאים נמצאה אבקה שנראית פורייה. אחרים הם עקרים לחלוטין. הכלאות בין הטיפוסים הפוריים חלקית הביא להתפתחות צמחים בדור שני שהתפתחו גם הם רק לאחר תרבות חילוץ עוברים. נעשה ניסיון להכפלת הכרומוזומים ע"י טיפולי קולכיצין במקטעי עלים בשלב הראשון של הרגנרציה ובקאלוס רגנרטיבי. צמחים שהתפתחו לאחר טיפול קולכיצין יגיעו לפריחה באביב 2003. הותאמו שיטות ריבוי בתרבות וכולו מצעים לקלונים נבחרים.

**המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום והמשך:** בהעדר סמן גנטי יש צורך לגדל הן את המכלואים והן את התוצרים של הניסויים להכפלת הכרומוזומים עד לפריחה לפני שאפשר לבחון את התוצאות ולבצע הכלאות חוזרות ברמה הדיפלואידית והטטרפלואידית. חלק מהצירופים בין המינים השונים לא חנט זרעים כלל ויש לבחון שיטות נוספות לקבלת צאצאים ולהכניס מינים נוספים למעגל ההכלאות. קלונים שונים מגיבים למצעים שונים בצורה שונה. יש לכייל את שיטת הריבוי בנפרד לכל אחד מהקלונים הנבחרים.

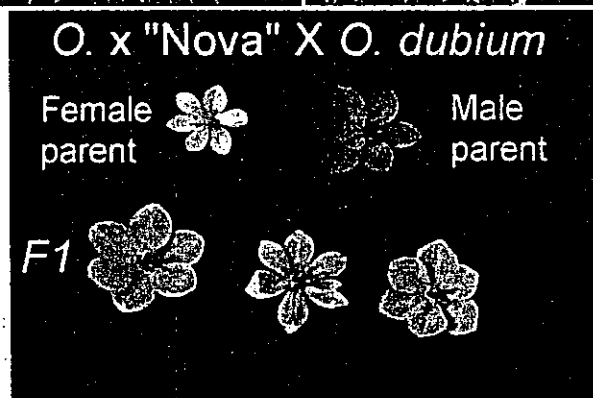
**הבעיות שנתרו לפתרון:** המכלואים שמראים סימנים של פוריות יוכלאו ביניהם וכן נבצע הכלאות חוזרות להורה הכתום בכדי להעלות את עוצמת הצבע בדורות הבאים. גם בהכלאות אלה יש להניח שיהיה צורך להיעזר בטכניקת חילוץ עוברים בכדי לקבל צאצאים. תוצרי הטיפול בקולכיצין צפויים לפרוח רק באביב 2003. לגבי הצירופים הקיימים לא ניתן יהיה להגיע לצירופי תכונות חיוביות ללא חזרה לפוריות זה יהיה ניתן לעשות לאחר הכפלה של מספר הכרומוזומים וביצוע הכלאות ברמה הטטרפלואידית. העבודה נמצאת בשלב זה בראשיתה. החזרה לפוריות של תוצרי המכלוא והמשך ההתפתחות מצדיק להמשיך ולהתקדם בעבודת השבחה עם החומר הצמחי הראשוני שהתקבל.

**האם הוחל בהפצת הידע בתקופת הדו"ח?** התוצאות דווחו ביום עיון למחקרים שמומנו ע"י המדען הראשי, 1 בינואר 2003. ישום: נמסרו מספר קלונים לריבוי ווגטטיבי תחת חוזה מיוחד למעבדה מסחרית לריבוי ווגטטיבי לקראת רישום ושחרור למגדלים.



לוח 1. מינים שונים של נץ החלב שנוסו בהכלאות השונות.  
 a. *O. conicum* , b. *O. arabicum* , c. *O. secundum* , d. *O. dubium* , e. *O. suaveolens*  
 f. *O. thyrsoidea* , g. *O. "Nova"* .





לוח 2. מכלואים בין-מיניים בגן החלב. ההכלאה בין נץ החלב "Nova" כהורה אימהי (P1) ונץ החלב הכתום (P2) כהורה הזכרי הניבה דור ראשון של צאצאים שתקבלו לאחר תרבות חילוף עוברים. צאצאים אלה הם בעלי צבעי ביניים ולכולם גבעול גבוה וזקוף. בחלק התחתון מוצגים 2 מהמכלואים הנבחרים.



*O. dubium* X *O. thyrsoide*s

Female  
parent

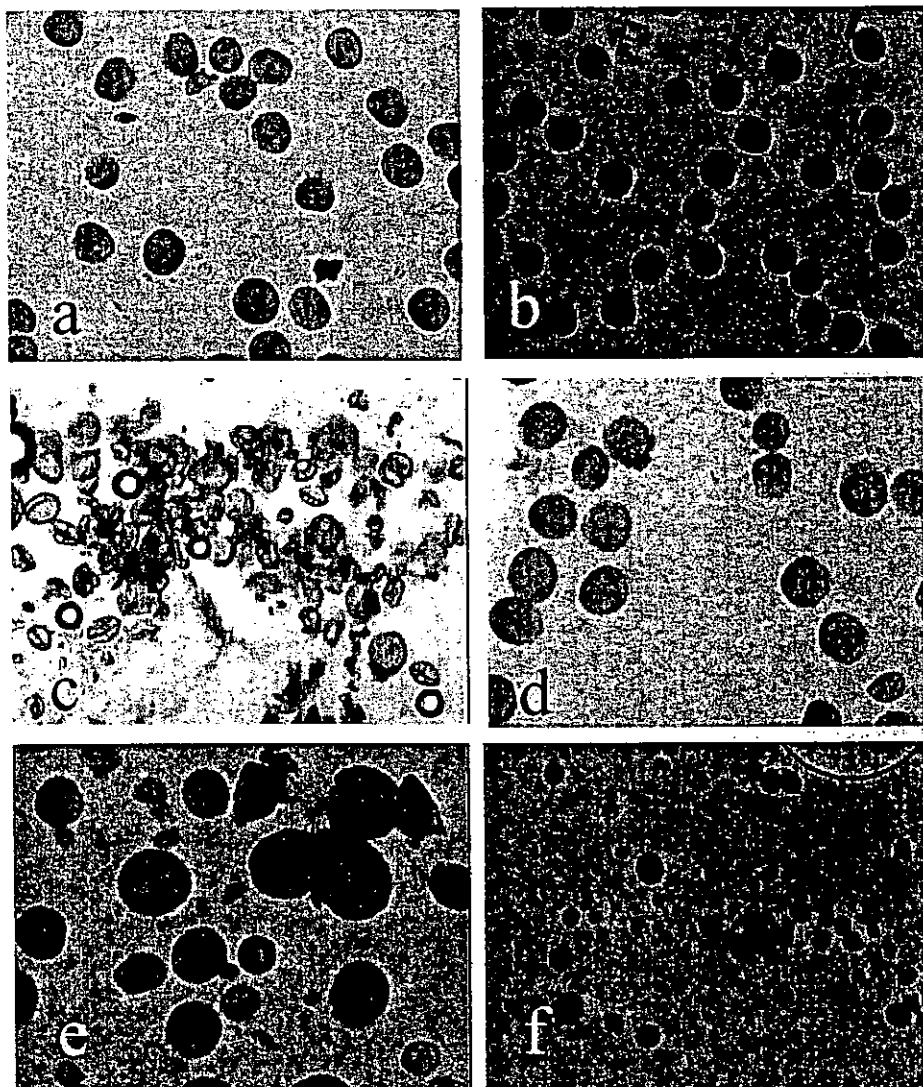


Male  
parent

F1



לוח 3 . מכלואים בין-מיניים בנץ החלב. ההכלאה בין נץ החלב הכתום כהורה אימהי (P1) ונץ החלב המכבדני (P2) כהורה הזכרי הניבה דור ראשון של צאצאים שהתקבלו לאחר תרבות חילוף עוברים. צאצאים אלה הם בעלי צבעי ביניים ולכולם גבעול גבוה וזקוף. בחלק התחתון מוצגים 3 מהמכלואים הנבחרים.



לוח 4. צביעת גרגרי אבקה בהכלאות בין מיניות בין נץ החלב הכתום (*O. dubium*) ונץ החלב המכבדני (*O. thyrsoidea*). (a) אבקה נצבעת (93%) בנץ החלב הכתום בעלת גודל "נורמלי". (b) אבקה נורמלית בנץ החלב המכבדני (98% נצבעת). (c) F1 בין שני ההורים הנ"ל ללא גרגרי אבקה חיוניים. (d) F1 בעל אבקה נצבעת נורמלית (94%). (e) F1 בעל אבקה נצבעת בחלקה (50%), חלק מגרגרי האבקה הנצבעים הם בעלי גודל נורמלי וואילו האחרים הם בעלי קוטר גדול האופייני לגמטות לא מופחתות. (f) דוגמה ל-F1 עם מעט מאד אבקה, חלק ממנה נצבע נורמלי למרות הגודל הממוצע הקטן מהנורמלי.