

בעיות בפרתנוקרפיה של תמר

יובל כהן – המכון למטעים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן

טריפלר אפי – מו"פ ערבה דרומית

רעיה קוריצ'ינסקי - המכון למטעים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן
וצ'סלב (סלבה) גורביץ - המכון למטעים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן

אורי לביא – המכון למטעים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן

גדעון זיו – קיבוץ יטבתה

תקציר

בארץ קיימים למעלה מ-3,500 עצי תמר מזן 'ברהי' שמקורם ממספר שתילי תרבות רקמה. למרבית עצים אלה בעיות חנטה. בחינה של פרחים וחנטים בעצים לקויי חנטה גלתה שינויים מבניים בחלק מהפרחים והחנטים. בעצים צעירים נוצרו פרחים וחנטים מעוותים המכילים מספר רב (4-6) של אברים דמויי שחלות. בתפרחות מעצים בוגרים יותר בעלי בעיות חנטה התגלו פרחים רבים בהם היו עיוותים במבנה הצלקות. לאחר האבקת פרחים אלה באבקה תקינה הייתה צמיחתם של נחשוני גרגרי האבקה בשחלות לקויה. נמצא שבמהלך השנים 2000-2003 חל שיפור מתמיד בחנטת העצים, ועצים רבים (כ-50% מהעצים) בני כ-10 שנים הניבו כמו עצים נורמאליים שמקורם בחוטרים. נמצאה שונות גנטית נמוכה מאוד בין עצים מחוטרים, עצים בעלי בעיות חנטה ועצים אחרים שמקורם במעבדות שונות ליצור שתילי תרבות רקמה. באנליזה המוגבלת שערכנו, לא מצאנו סמנים ייחודיים המאפיינים עצים ממקורות יצור מסוימים, או עצים בעלי בעיות חנטה וריבוי שחלות. תוצאות אלה מצביעות על אפשרות שהשונות הסומקולונית נובעת משינויים אפיגנטיים.

מבוא

ריבוי של התמר המצוי (*Phoenix Dactylifera* L.) נעשה באופן מסורתי על ידי חוטרים. שיטה זו מוגבלת לחוטרים בודדים הצומחים בשנים הראשונות מסביב לכל עץ (1-20 חוטרים לעץ בהתאם לזן). הצורך בהרחבת מטעי התמרים הביא לפיתוח טכניקות לריבוי התמר בתרבות רקמה. לשיטת ריבוי זה יתרונות רבים. אולם, בין שתילי תמר שמקורם מתרבות רקמה מתגלים גם עצים לא טיפוסיים. כיום נטועים בארץ כ-30,000 עצי תרבות רקמה, המהווים את מרבית העצים הצעירים וכ-10% מכלל העצים הנטועים. בארץ קיימים למעלה מ-3,500 עצים מזן ברהי שמקורם ממספר מעבדות ליצור שתילי תרבות רקמה. למרבית עצים אלה בעיות חנטה. בעצים אלה מרבית הפירות המתקבלים הינם פירות פרתנוקרפיים משולשים חסרי זרע. לפירות אלה אין כל ערך כלכלי. במבט ראשון עצים אלה נראים זהים לעצים שמקורם מחוטרים. אולם, בעצים רבים מאוד חנטת הפירות גרועה. בחלק מהמטעים תופעה זו מקיפה את רוב עצי המטע. לעיתים עד כ-100% מהפרחים אינם חונטים פרי. חקלאים רבים שוקלים לעקור עצים אלה ולא להשתמש עוד בשתילי תרבות רקמה. מטרת עבודה זו הינה לאפיין את תופעת חוסר החנטה בעצי תרבות הרקמה, להעריך את עצמת הבעיה ואת סיכויי העצים לחנוט טוב יותר עם התבגרותם.

תוצאות

1. בחינת נתוני החנטה בעצי 'ברהי' בחלקות נבחרות של תרבות רקמה ושל חוטרים בעונת 2003
בשנת 2003 נבחנו נתוני החנטה במספר חלקות תרבות רקמה, ממקורות יצור שונים (בעבודה זו מוגדרים מקורות התרבות השונים כ- D-A), מגילאים שונים במספר משקים בארץ (טבלה I). כביקורת נבחנה החנטה גם בעצים שמקורם מחוטרים בגילאים דומים. נבחנו 3-6 סנסנים ב-3-6 אשכולות מייצגים (2) אשכולות בכל אחד משלושת דורי הפריחה) במספר עצים מייצג בכל חלקה. אחוז הפרחים שנשרו, החנטה, אחוז הפירות הפרתנוקרפיים הבודדים, המשולשים וחנטים מעוותים מרובי השחלות נמדדו. נמצאו חלקות רבות בהן העצים אינם חונטים ביעילות. בעצים אלה התקבלה תופעה של ריבוי פירות פרתנוקרפיים משולשים, הנשארים על הסנסנים. תופעה זו מתרחשת בחלק מהעצים מתרבות רקמה, אך לא בעצים שגודלו מחוטרים. התגלתה ואריאציה רבה במידת החנטה בין מטעים שיוצרו במעבדות יצור שונות, בין חלקות שונות בגילאים שונים מאותו מקור תרבות, בין עצים שונים בחלקה ואף בין אשכולות שונים על אותו עץ.

2. השוואת נתוני חנטת עצי הברהי מתרבות רקמה בחלקות נבחרות לאורך מספר שנים
מידת החנטה של העצים השונים נבחנה באופן מקיף במטע יטבתה, בו קיימות חלקות ברהי ותיקות וצעירות מתרבות רקמה (ממקור יצור A) הסובלות כבר מספר שנים מבעיות חנטה, וכן חלקות ברהי ממקורות יצור אחרים או מחוטרים. במטע יטבתה הוערכה בשנים 2000-2001 מידת החנטה, ובשנים 2002 ו-2003 נבחנה החנטה באופן מקיף. בחלקה נוספת, בבית זרע שניטעה בשנת 1994 נספרו בשנים 2000-2002 מספר התפרחות שחנטו ליצירת אשכולות מסחריים מתוך סך כל התפרחות שפרחו על העץ בשתי החלקות התקבלו מפות חנטה של כל עצי החלקה. בשתי החלקות נתוני החנטה מצביעים על שונות רבה מאוד בין העצים. קיימים עצים בעלי חנטה טובה יותר בכל השנים, ועצים אחרים שנוטים לחנוט גרוע. באופן כללי, נמצא שבמהלך השנים 2000-2003 חל בשתי החלקות שיפור מתמיד בחנטת העצים. נתונים אלה מייצגים את המתרחש במטעים נוספים בארץ.

3. תופעת ריבוי שחלות בפרחים וחנטים של עצי 'ברהי' מתרבות רקמה
בעיות חנטה יכולות לנבוע מליקויים מבניים בפרח. בחינה של פרחים וחנטים בעצים לקויי חנטה גלתה שינויים מבניים בחלק מהפרחים. בחלק מהעצים ממקור תרבות רקמה, נוצרו פרחים וחנטים מעוותים המכילים מספר רב (4-6) של אברים דמויי שחלות (במקום שלוש שחלות בפרח התקין). פירות מרובי שחלות אלה מתפתחים בדומה לפירות הפרתנוקרפיים המשולשים. תופעה זו נפוצה מאוד בחלק מעצי התרבות הצעירים (טבלה I). במטע צעיר ביטבתה (נטיעת 1998 ממקור A) נמצאה התופעה בכ-30% מכלל הפרחים. בעצים בוגרים יותר (נטיעת 1993), מאותו המקור, לא התגלתה כמעט תופעת ריבוי השחלות. אולם, מתברר שגם בעצים אלה נצפתה תופעה זו בצעירותם. התופעה התגלתה במידה מסוימת גם בעצי תרבות מכל מקורות היצור האחרים, בעצים בעלי בעיות חנטה וברמה של עד כ-5% מהחנטים. תופעת ריבוי השחלות התגלתה גם בעצי תמר מזן אחר, 'חלאס', שיוצרו בתרבות (מקור A), נטיעת בית-זרע (1994), אך בעוד בזן ה'ברהי' אברים אלה נראים כ"שיניים" או שחלות מנוונות, בחנטי ה'חלאס' הם דומים בגודל ובצורה לשלוש השחלות שבדור הפנימי.

מטע	מקור וגיל העצים	מספר העצים שנבחנו	פירות רגילים	פירות פרטנקרפים בודדים	פירות תאומים	שלשות	פירות מרובי שחלות	נשירות
יטבתה	חוטר 1992	9	59.29	3.14	0.29	1.91	0.00	35.37
יטבתה	חוטר 1998	10	66.73	0.23	0.23	5.18	0.00	27.63
בית זרע	חוטר 1992	4	84.23	0.00	0.67	0.00	0.00	15.23
יטבתה	מקור A 1993	36	34.69	3.18	0.97	18.64	0.10	42.41
מעגן	מקור A 1993	10	53.21	0.00	0.68	14.99	0.00	31.13
יטבתה	מקור A 1998	40	7.37	2.51	0.48	34.81	31.17	23.67
יטבתה	חוטר מעצי מקור A 1993	59	18.05	4.61	0.23	31.80	3.27	42.03
יטבתה	מקור B 1998	39	35.41	4.60	0.47	23.40	3.62	32.51
מעגן	מקור B 1997	10	62.35	0.00	0.37	11.40	0.00	25.88
בית זרע	מקור B בוגר	6	55.06	0.00	0.18	22.42	0.22	22.12
בית זרע	מקור B 2000	8	26.02	2.16	1.00	54.08	0.91	15.84
בית זרע	מקור D 2000	9	11.58	0.78	1.06	78.66	0.19	7.74
יבניאל	מקור C 1999	12	50.05	0.00	1.04	26.66	0.31	21.94

טבלה I: תופעות חוסר החנטה וריבוי השחלות בחלקות ברהי שונות ברחבי הארץ בשנת 2003:
התפלגות החנטה (באחוזים מכלל הפרחים שהופיעו על הסנף) של פירות פוריים, של פירות פרטנקרפיים בעלי מספר שחלות שונה, ושל נשירת פרחים וחנטים צעירים, נבחנה כחודשיים לאחר ההאבקה על סנפים של עצי 'ברהי' ממטעים וממקורות יצור שונים.

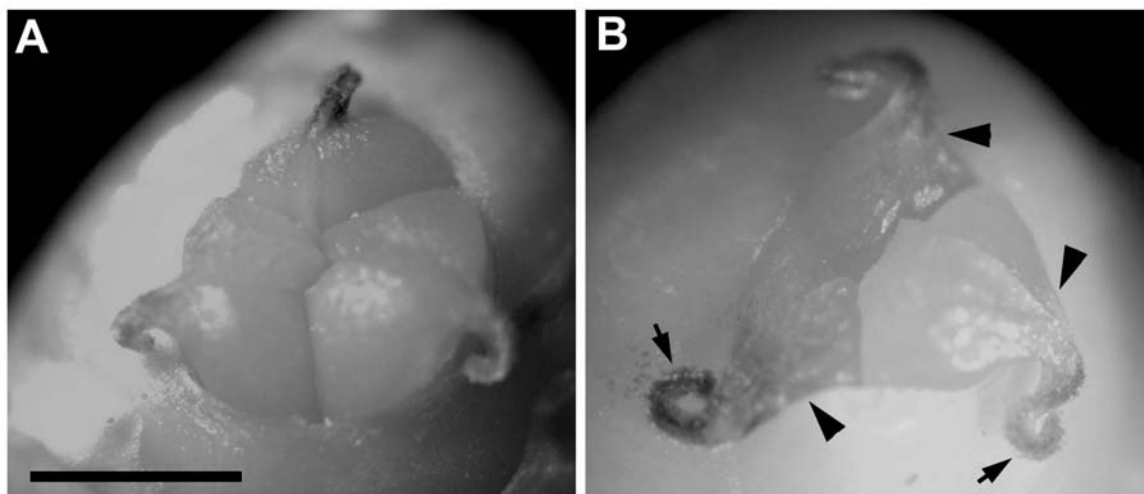
4. בחינה מיקרוסקופית לזיהוי עיוותים מבניים בפרחי ברהי מתרבית רקמה בהם לא נראה ריבוי

השחלות

תופעת ריבוי השחלות מרמזת על בעיות מבניות בפרח הגורמות לחוסר חנטה. כדי להבין את בעיות החנטה באותם פרחים שאינם מרובי שחלות ערכנו בחינה מיקרוסקופית של פרחי תרבית. תפרחות שלמות וסגורות של עצי 'ברהי' מתרבית (נטיעת יטבתה 1993 ו-1998, מקור יצור A) או עצי חוטרם בגיל דומה הועברו למעבדה. מבנה הפרחים נבדק במיקרוסקופ סטראוסקופי. נבחנו עיוותים בולטים במבנה השחלה. בנוסף בעצי התרבית זוהתה התעבות של איזור בסיס הצלקת וחיבורה לשחלה (תמונה 1). בצענו בחינה כמותית של העיוותים בפרחים של עצי תרבית בעלי בעיות חנטה לעומת עצי חוטרם. צלקות נורמאליות, מסובבות במידה קלה, או צלקות מעוותות ומפותלות לכיוונים שונים, נספרו בנפרד. רמה גבוהה של עיוותים בצלקות התגלתה במרבית הפרחים בעצי התרבית, בעוד בפרחי עצי החוטרם מבנה כל הצלקות היה מושלם, או שהן היו מסובבות רק במידה מועטה (טבלה II). בבחינה איכותית של עצמת העיוות והפיתול של הצלקות, רמת העיוותים בעצי התרבית הצעירים יותר היתה גבוהה יותר (תוצאות לא מוצגות).

אחוז העיוותים המבניים בצלקות			סה"כ הצלקות שנבדקו	מספר עצים שנדגמו בחלקה	אחוז חנטה בעצי החלקה בשנת 2003	חלקת עצים
צלקות מעוותות	צלקות מסובבות במקצת	צלקות תקינות				
94.9	0	5.1	99	7	34.7	מקור A 1993
94.6	0	5.4	93	4	7.4	מקור A 1998
0	55.0	45.0	60	2	59.3	חוטרים 1992
0	83.3	16.7	12	2	66.7	חוטרים 1998

טבלה II: עיוותים מבניים בצלקות בעצי ברהי ממקור A לעומת עצי חוטרים במטע יטבתה בשנת 2003:
פרחים נדגמו מעצים שונים במטע יטבתה. הצלקות נבחנו לפי רמת העיוותים המבניים שהובחנו בהן (צלקות נורמאליות, מסובבות במידה קלה, או מעוותות ומפותלות לכיוונים שונים).

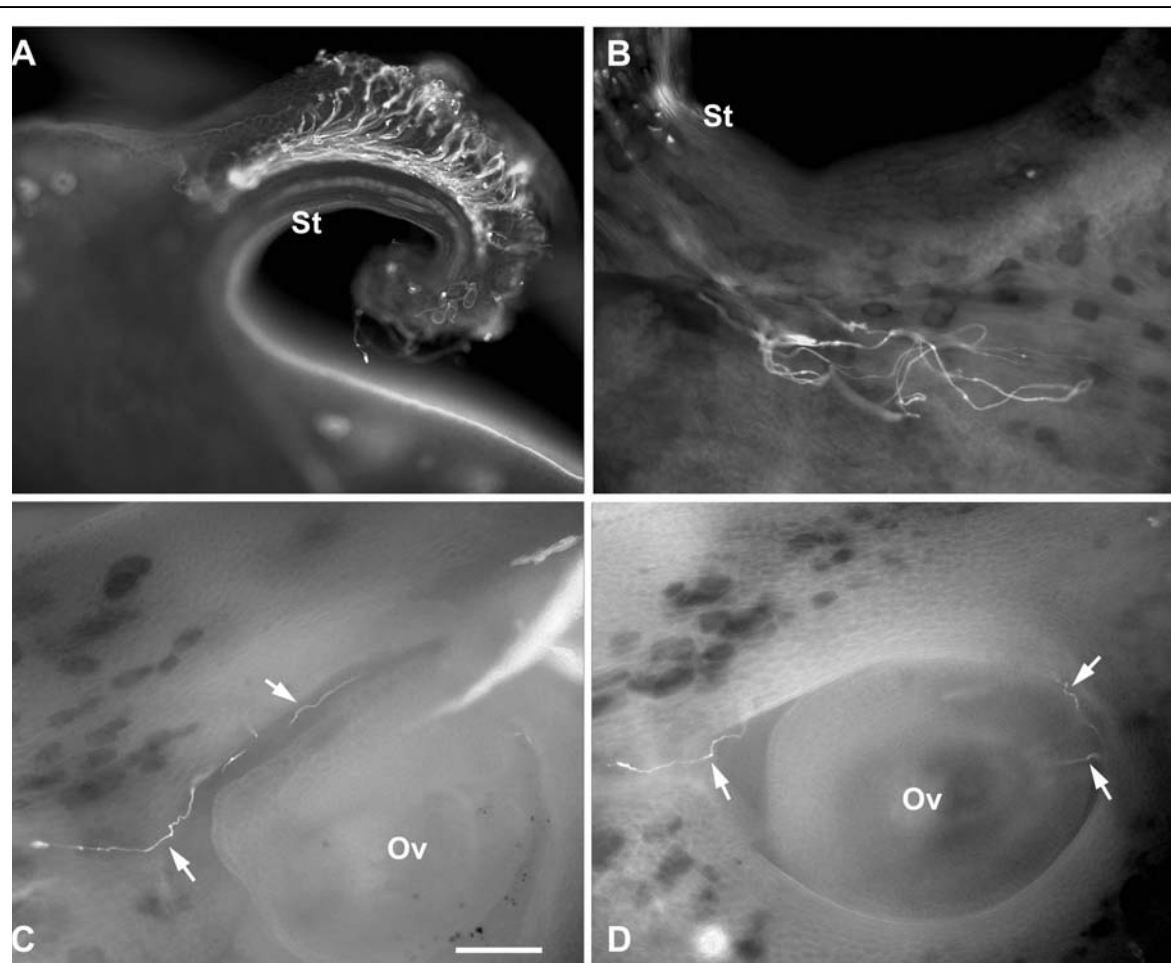


תמונה 1: עיוותים בצלקות פרחי ברהי מתרבית רקמה.

A - פרח נורמאלי מחוטרים; B - פרח בעל צלקות מעוותות (ללא ריבוי שחלות) ממקור A, נטיעת 1993). חצים מצביעים על עיוותים ופיתולים של הצלקות. ראשי החץ מצביעים על מעבר ההדרגתי בין בסיס הצלקת והשחלה. סרגל הגודל מסמן

5. צמיחת הנחשון בצלקת ובשחלה לאחר האבקה של פרחי ברהי מבודדים

מציאת הבדלים מבניים בפרחי תרבית הרקמה מרמזים על תקלות בתהליך ההפריה. כדי להבין את מנגנון חוסר החנטה דרוש לבחון את יכולתו של גרגר האבקה לנבוט ולהפרות את הביציות בפרחים אלה. לצורך זה פיתחנו מערכת לבחינת תהליכי צמיחת הנחשון בתוך השחלה, בתנאים מבוקרים. תפרחות טריות וסגורות של עצי ברהי מתרבית (נטיעת יטבתה 1993 ו-1998, מקור יצור A), או עצים מחוטרים בגיל דומה, נפתחו במעבדה. סנסנים שלמים הועברו למבחנה המכילה מים בבסיסה. הפרחים הוואבקו באבקת תמרים בעזרת מכחול והושארו להדגרה לפרקי זמן משתנים (0-48 שעות) בטמפרטורה של 28 מעלות צלסיוס. לאחר הבהרה של רקמת הפרחים בתמיסה של 10N NaOH, השחלות הופרדו תחת בינוקולר, ונחתכו לאורכן. הן נצבעו ב-0.2% Anillin Blue הצובע באופן ייחודי את הנחשונים, ונבחנו מיקרוסקופית תחת תאורת UV. בחינה כמותית של צמיחת נחשוני גרגרי האבקה בוצעה על מספר רב של שחלות (בעצים ממקור A נטיעת יטבתה 1993 ו-1998 ובשחלות מעצי חוטרים בגודל דומה) כמפורט בטבלה III. בעצים מתרבית רקמה בעלי בעיות חנטה הייתה רמה גבוהה של נחשונים שצמיחתם נפסקה באיזור הצלקת או בבסיס השחלה. פעמים רבות אבדה כיווניות צמיחת הנחשונים לעבר השחלה, והם יצרו מבנים דמויי פקק



תמונה 2: צמיחת הנחשון בהאבקה פרחי ברהי מבודדים במעבדה

נבדקה יכולתו של גרגר האבקה לנבט ולצמוח לתוך הצלקת ולשחלה של הפרח. A - נביטה נורמאלית של גרגרי האבקה על צלקת של פרח ממקור חוטרים; B - נחשוני גרגרי האבקה יוצרים כעין פקק של נחשונים בבסיס הצלקת או בחלקה העליון של השחלה. לעומתם, בפרחים מעצי חוטרים גרגרי האבקה נובטים עמוק לתוך השחלה (C) וחודרים לביצית (D). St - צלקת; Ov - ביצית. ראשי החץ מדגישים את מעבר הנחשון. סמן הגודל מייצג 100 μ m.

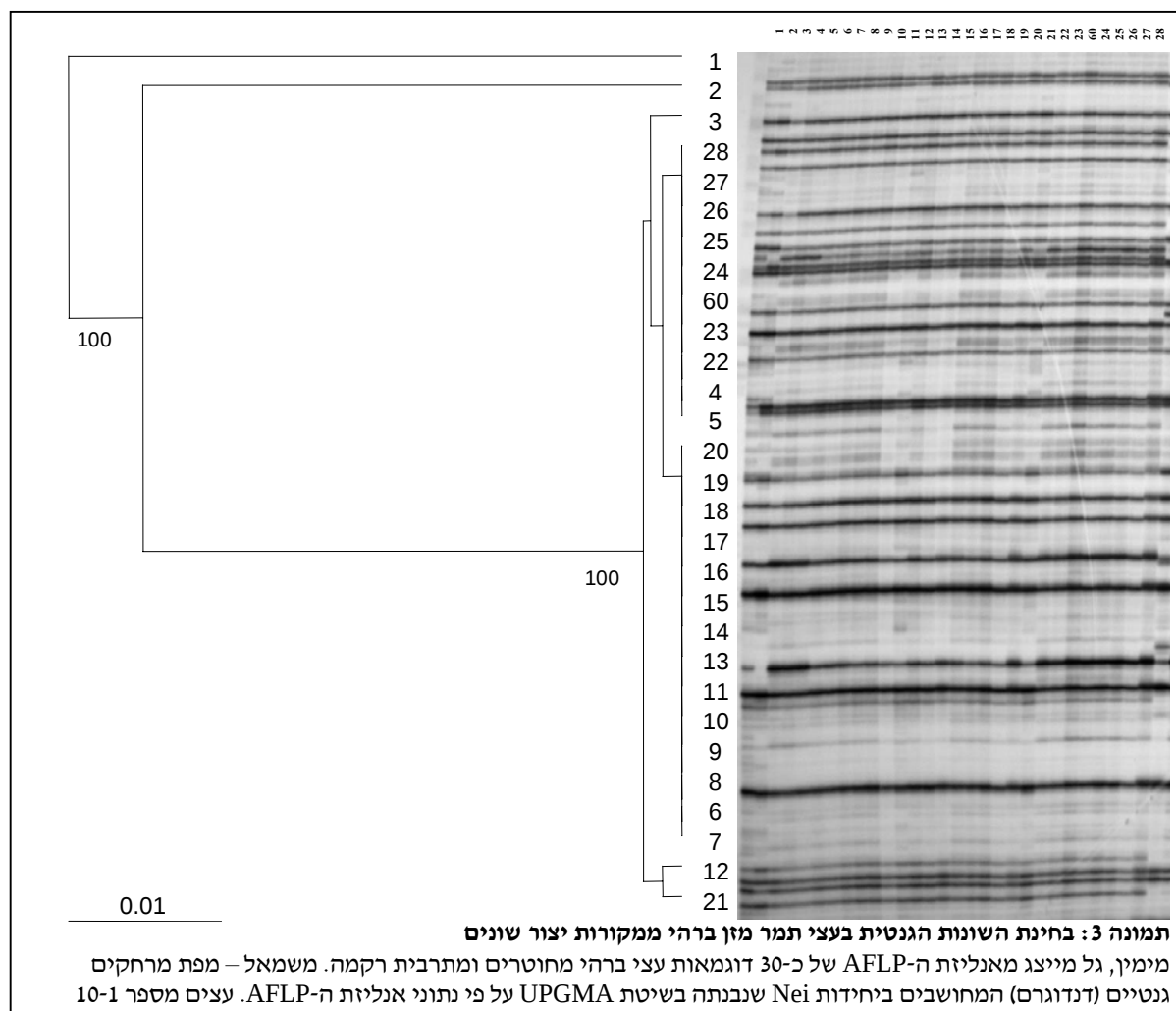
בבסיס הצלקת (תמונה 2, B). לעומת זאת, באחוז גבוה של שחלות מעצי חוטרים נצפתה צמיחה של הנחשונים עמוק לתוך השחלה, וחלק ניכר מהם אף צמח עד לאיזור הביצית (תמונה 2, C-D). תוצאות אלה הינן בהתאמה לרמות העיוותים שנמצאו בפרחי העצים מהחלקות השונות (טבלה II), ולנתוני החנטה הממוצעים של חלקות אלה. התוצאות מצביעות על כך שהעיוותים בבסיס הצלקת מהווים מכשול לנחשוני גרגרי האבקה, ושבפרחים רבים הנחשונים אינם מסוגלים להמשיך ולצמוח לעבר תא הביצית.

אחוז צמיחת הנחשונים בצלקת ובשחלה				סה"כ הצלקות שנבדקו	מספר עצים שנבדקו	אחוז חנטה בעצי החלקה בשנת 2003	חלקת עצים
באיזור הביצית	לתוך השחלה	"פקק" בבסיס הצלקת	מוגבלת לצלקת				
24.1	27.8	7.4	40.7	54	7	34.7	מקור A 1993
35.3	17.6	0	47.1	17	4	7.4	מקור A 1998
54.5	36.4	0	9.1	33	2	59.3	חוטרים 1992
0	100	0	0	4	2	66.7	חוטרים 1998

טבלה III: צמיחת נחשון גרגרי האבקה בצלקות ושחלות מעצי ברהי מתרבות רקמה בעלי בעיות חנטה ומחוטרים
פרחי ברהי מעצי תרבות ומחוטרים ממטע יטבתה הואבדקו בעזרת מכחול. לאחר הדגרה של 24-48 שעות הפרחים קובעו בתמיסת קיבוע. השחלות הופרדו תחת בינוקולר, ונחתכו לאורכן. הן נצבעו ב-Anillin Blue וצמיחת נחשונים גרגרי האבקה נבחנה תחת מיקרוסקופ פלואורסנטי. מידת צמיחת הנחשונים לתוך הצלקת ולכיוון הביצית הוערכה בכל אחת מהשחלות.

6. איפיון השונות הגנטית בעצי תרבות הרקמה

במהלך השנה נבחנה השונות הגנטית בין עצי ה'ברהי' בשיטה של (AFLP Amplified Fragment Length Polymorphism). נבחנו כ-30 עצי תמר מזן 'ברהי', שמקורם בחוטרים או בתרבות רקמה ממקורות יצור שונים. גיל מאפיין של אנליזת השונות הגנטית בין עצי ה'ברהי' שנבדקו מוצג בתמונה 3 (מימין). נבחנו למעלה משלוש מאות בנדים ובאמצעותם נבנה עץ גנטי. בשני עצים צעירים מאוד שמקורם בחוטרים, נמצאה שונות גנטית רבה (עצים מספר 1 ו-2 בתמונה 3). סביר להניח שעצים אלה אינם חוטרים של 'ברהי' אלא זריעים, שנבטו קרוב מאוד לעצי האם, ובטעות נשתלו במטע כחוטרים. ביטוי לריחוק הגנטי של עצים



מקור ריבוי**	מספר עצים שנבחנו	מספר פסים פולימורפיים	אחוז פסים פולימורפיים	ערכי AGD
חוטרים	10 (8)*	50 (2)*	15.8 (0.63)*	11.88 (0.78)*
תרבית 1	7	2	0.63	0.57
תרבית 2	4	1	0.31	0.50
תרבית 3	3	0	0	0
תרבית 4	5	0	0	0
סה"כ עצי ברהי	29 (27)*	50 (4)*	15.77 (1.26)*	4.69 (0.79)*

חריגים אלו מהעצים הנורמאליים ניתן לראות בעץ הפילוגנטי המתאר את המרחקים הגנטיים בין הפרטים השונים (תמונה 3, משמאל). לעומתם נמצאה שונות גנטית נמוכה מאוד בין העצים האחרים שמקורם מחוטרים והעצים שמקורם במעבדות שונות ליצור שתילי תרבית רקמה (טבלה IV). בנוסף, באנליזה מוגבלת זו, לא מצאנו סמנים ייחודיים המאפיינים עצים ממקורות יצור מסוימים, או עצים בעלי בעיות חנטה וריבוי שחלות.

מסקנות

במחקר הנוכחי נמצאו עיוותים מבניים בחלק ניכר מפרחי וחנטי התמר שנבדקו. לעיתים, הבדלים אלה מתבטאים בתוספת של איברים שלמים, דמויי שחלות, ובמקרים אחרים ההבדלים מסתכמים בעיוותים של השחלות הקיימות. נראה שבמהלך השנים, רמת העיוותים יורדת, והפרחים הופכים יותר ויותר להיות נורמאליים. במקביל לשיפור במבנה הפרח עולה גם רמת החנטה של העצים. נמצא קשר בין רמת החנטה של העצים בחלקות השונות, רמת העיוותים המבניים (ריבוי שחלות או עיוות צלקות ושחלות), ובין יכולת הצמיחה של נחשוני גרגרי האבקה. נראה שהעיוותים השונים מהווים מחסום (מבני או ביוכימי) לצמיחת נחשוני גרגרי האבקה, המביא לירידה ביעילות ההפריה ולחנטה לקויה. הבדלים בין צמחים שיוצרו בתרבית רקמה וצמחי המקור מהם נוצרו התגלו במספר רב של מיני צמחים. תופעה זו, הנקראת שונות סומאקלונלית (somaclonal variation), יכולה לנבוע משינויים גנטיים (מוטציות) או אפיגנטיים. נפוצות תופעות חוסר החנטה וריבוי השחלות בעצי זן ה'ברהי' וה'חלאס' שמקורם בתרבית רקמה, התאוששות העצים במהלך השנים, והעובדה שלא זוהו סמנים מולקולריים (באנליזה המוגבלת שערכנו) מחזקת את ההשערה שהבעיה נובעת משונות אפיגנטית. התוצאות הרב שנתיות מהמחקר הנוכחי מראות התאוששות של עצים רבים ושיפור במידת החנטה. גם העובדה שבחלקות התרבית שנבחנו (ממקור A) פנוטיפ ריבוי השחלות קיים בעיקר בעצים צעירים והולך ונעלם מעצים בוגרים יותר, מצביעה על מצב של העלמות התופעה וחזרה לפנוטיפ של עץ טיפוסי. לגבי העצים הבוגרים יותר עם בעיות החנטה, ניתן להעריך שתוך כ-10 שנים מנטיעתם במחציתם התקבלה חנטה ברמה הנורמאלית ובאחרים חל שיפור ניכר. התופעה של התאוששות העצים בולטת לעין במספר מטעים נוספים בארץ. החקלאים השוקלים לעקור את עצי תרבית הרקמה בעלי בעיות החנטה צריכים לכלול מידע זה במכלול שיקוליהם.