

דו"ח מסכם לתכנית מחקר מס' 21-1215-1203

שנת מחקר 3 מתוך 3 שנים (2021)

**שימוש בטיפוס שקד בעל עמידות טבעית לצרעת השקד להבנת מגנון העמידות
ולהשבחה של זני שקד עמידים ליצעה**

**Using naturally resistant almond variety to the almond wasp for understanding
the resistance mechanism and for breeding wasp resistant almond cultivars**

מוגש לקרן המdarwin הריאשי במשרד החקלאות
ע"י

דורון הולנד, מטעים, מנהל המחבר החקלאי, מרכז מחקר נווה יער
עירית בר-יעקב, מטעים, מנהל המחבר החקלאי, מרכז מחקר נווה יער
圆满完成 חטיב, מטעים, מנהל המחבר החקלאי, מרכז מחקר נווה יער
רתם הראל-בצ'ה, מטעים, מנהל המחבר החקלאי, מרכז מחקר נווה יער
ליורה שאaltıיל-הרפז, הגנת הצומח, מוא"פ צפון/מיגל

Doron Holland, Fruit Culture, A.R.O., Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021,
Ramat Yishay 30095. vhollan@agri.gov.il

Irit Bar-Ya'akov, Fruit Culture, A.R.O., Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021,
Ramat Yishay 30095. iritby@agri.gov.il

Kamel Hatib, Fruit Culture, A.R.O., Newe Ya'ar Research Center, P.O.B. 1021,
Ramat Yishay 30095. kamelk@agri.gov.il

Liora Shaltiel-Harpaz, Migal Galilee Research institute, P.O. Box 831, Kiryat
Shmona 11016, liora@migal.org.il

תקציר

הציגת הבועה: צרעת השקד *Eurytoma amygdali* Enderlein הינה מזיק מפתח אשר מסוגל לחסל חלק גדול מהיבול במטע. התוצאה היא הכרה להשתמש בחומרי הדברה אשר פוגעים בסביבה ומהווים סכנה בריאותית לאדם, לאוביים טבעיים של מזיקים ולדבורים אשר חיוניות לחנתה. בשנים האחרונות קיימים פחת ופחות חומרה הדבריה מותרים לשימוש הייעלים כנגד הצרעה והتواזה עלולה להיות עליה משמעותית בנזקים שלה, בעיה המכילה פתרון בדרכים חלופיות. שיטות העבודה: מאגר טיפוסי השקדים בנוה יער נסרך ואתוריו טיפוסים עמידים לצרעה. נעשה שימוש בטיפוס עמיד ון רגיש בשני כיוונים מרכזיים: 1. השבחה של זני שקד עמידים לצרעה. 2. לימוד מגנון העמידות כנגד הצרעה. זאת באמצעות אוכלוסיות מתפצחות ושיטות גנטניות וגנטיות שמרtran למפות את האזוריים בגנים השקד האחראים לעמידות כנגד הצרעה מחד ומайдך בוצעו הכלאות מכוכנות בצד' להכניס את

תוכנת העמידות לזמן בעלי ערך מסחרי. המחבר בוחן את מגנון ההורשה של העמידות לצרעה. מצורו אוכלוסיות מכלוא אשר ישמשו שלב ראשון בכיוון יצירת Zeit נקי שקד עמידים לצרעה וכן למיפוי גנטי. במקביל נעשתה השוואת טרנסקריפטומית בין Zeit רגיש לטיפוס העמיד לאיתור גנים נבחרים וסמנוי SNP. תוצאות עיקריות: א. מכלוא F1: נמצא צמחי F1 של מכלוא 'שניר' x 'מתן' עם עמידות משמעותית כנגד הצרעה (אחוז נגיעות<1%). ב. שימוש בזמנים עמידים ככנות בייניות: מקטע מעץ 'שניר' עמיד לצרעה שהרכיב בין הכהנה לרובכ' 'מתן' הוריד את רמת הריגשות לצרעה. ג. מכלואים נוספים: צרנו מכלוא F2 נוספים ורחיבנו את אוכלוסיות F1 להמשך המחבר. ד. קביעת גנטופ של האוסף ומיפוי התוכנה: אוסף השקד נורך עם 5,000 סמנוי SNP. נמצאה תאחיזה בין ארבעה סמנום לרגימות לצרעה, סמנום אלו סמוכים, לפי גnom השקד, לגנים שנבחרו כמעניינים ע"פ ביטוי דיפרנציאלי בין זנים עמידים לזמן רגישם. המלצות להמשך מחקר: המשך בדיקת עמידות לצרעה בעותקים של מכלוא F1 ובעצים משולבים של 'מתן' ומקטע של 'שניר', סריקה של אוכלוסיות מתפצלות עם סמנום נבחרים.

מיערכים מומלצים לבדיקת הדז"ח המדעי

1. ד"ר רפי שטרן – מו"פ צפון
2. ד"ר מרטין גולדו – מו"פ צפון
3. ד"ר ארנון דג – מנהל המחבר החקלאי, גילת

הצהרת החוקר הראשי

הממצאים בדז"ח זה הנם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא.



חתימת החוקר

תוכן עניינים

מבוא (רקע מדעי ומטרות המחבר)	3
פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחבר	4
דיון ומסקנות	11
פרסומים מדעיים	12

מבוא (רקע מדעי ומטרות המחקר)

השקבד נחשב מזון פונקציונלי וענף השקבד בישראל מكيف כ-65,000 דונם ומוספק כשני שליש מהצריכה המקומית. הגידול רוחני ומתרכז במד' שנה. שווי הייצור הוא כ-250 מיליון ש"ח במסחר הסיטוני. הדבקת הפער בין הצריכה לייצור מחייבת שמיירה על הקנים תוך שיפור מתמשך בהעלאת הרוחניות. צרעת השקבד (*Eurytoma amygdali* Enderlein (Hymenoptera: Eurytomidae) (Eurytoma amygdali Enderlein (Hymenoptera: Eurytomidae) (1964; [Mentjelos and Atjemis 1970](#)) הינה חרק מונופagi שהפונדקאי היחיד שלו הוא השקבד. זהו מזיק מפתח הפוגע בחנות השקבד וגורם לנזק כלכלי משמעותי עקב פגיעה בגלען הנاقل, ביבול ואף בעץ ([Aharoni 1916; Klapperich 1970](#)). הוא נמצא במדינות רבות בדרום מזרח אגן הים התיכון, דרום אירופה ובמרכז אסיה. הצרעה מקיימת דור אחד בשנה במטיע: הבוגרת מטילה את ביציה במרץ-אפריל בתוך חנת השקבד הצעיר, לאחר כשבועיים בוקע זחל הניזון מהגלען, בחודש יוני נכנס הזחל לתרדמת חורף בתוך הגלען ומתגלה בסוף החורף והצרעה הבוגרת מגיחה בפברואר-מרץ בשנה העוקבת ([Plaut 1971, 1972; Plaut and Mansour 1973; Khanmohamadi et al. 2016](#)). פרי-ਸמתקפתה בו זחל, משחריר ואינו נשור (מומיה) ובמשך הקיץ העלים על הענף סביבו מתיבשים. לא ידוע האם יש עמידות טבעית לצרעה בזני שקבד ומה הם הגורמים המשפיעים על הרגישות לצרעה ולאוותרו בספרות דיווחים על טיפוסי שקבד עמידים למזיק.

זני השקבד העיקריים בישראל רגושים מאוד לצרעה ולא טיפול מתאים רוב היבול עלול להימזק. הטיפול כנגד הצרעה כולל שימוש בחומר הדרמה מסוכנים לאדם ולסביבה שפוגעים גם בחרקים מועילים כדוגמת דברות הדבש החינויית להאבקט השקבד ובأוביים טבעיים של חרקים מזיקים בשקבד וכן גורמים להגדלת נזקיהם. בשנים האחרונות צומצם באופן משמעותי המגון של חומר הדרמה המותרים לשימוש כנגד הצרעה והחומרים המאושרים בעלי יכולות נמוכה יותר כנגדם. מגמת ההפחטה בשימוש בחומר הדרמה מסוכנים לאדם ולסביבה מחד ופיתוח עמידות של המזיק מאידך יוביל לעלייה משמעותית בנזק שיגרם על ידה. בעקבות פועלות נקיי המטו לאחר הקטיף מכל שרידי השקבדים שעל הקרקע והעצים אובחנה ריידה מסוימת באוכלוסיית הצרעה במעטן אחר העלות הגבואה של הסנטיציה מפחיתה את הרוחניות.

במאגר גנטי של טיפוסי שקבד שמקורם מישראל וממדינות אחרות ברחבי העולם, שנמצא בנוה יער, נבדקה הריגישות לצרעה של כ-60 טיפוסי שקבד, במשך חמישה שנים, ללא כל הדבירה כימית של המזיק. אותו באוסף הבדלים משמעותיים בין הטיפוסים מבחינת ריגשותם לצרעת השקבד כשהטיפוס P.Am.772-273 ('שניר') נמצא כמעט altijd מלחוטין לצרעה אלום אינו מתאים לשימוש מסחרי כי הגלען מריר ולא איקוטי והיבול לא מספיק גובה ([איינבר וחוב 2020](#)).

גiley' הטיפוס העמיד לצרעת השקבד אפשרות לייצר אוכלוסייה מכלוא בין הטיפוס העמיד לזה מסחרי רגייש לצרעה. אוכלוסייה כזו היא אבן בסיס ללימוד המנגנון הגנטי האחראי לעמידות ולהשבה של זני שקבד עתידיים. בכך לאפשר ייצור אוכלוסיות F2, ובשל איקוטו הגבואה, נבחר הzin 'מתן' כהורה השני במלואו. הפריה עצמית מתאפשרת בשקבד כתוצאה מנוכחות האלל הדומיננטי Sf, והzin 'מתן' נשא אל זה. שמוונה מכלוא F1 בין הzin 'מתן' הרגייש לטיפוס 'שניר' העמיד יחסית, מהווים את הבסיס הראשוני לעבודה זו. העבודה שבצענו הביאה להבנה מה הם הגורמים הגנטיים הקשורים למנגנון

העמידות לצרעה ולמצב מתקדם של השבחה לקרהת זנים עמידים לצרעה. כמו כן, ניתן יהיה בעתיד לישם את הידע הגנטי לצרכי פיתוח אמצעי הדברה יידידותית כנגד הצרעה. עבודה זו חשובה לעצם קיום הענף ולהפחיתה שימוש בחומרה מסוכנים לאדם ולסביבה.

מטרות הממחקר:

מטרת המחקר ארוכת הטווח (מעבר לטווח המימון של תכנית זו) היא לפתח זני שקד בעלי עמידות או סכילות גבוהה לצרעת השקד, בעלי יבול גבוהה של פרי איכותי וモותאים לגידול בישראל. שאלת המחקר היא להבין כיצד מורשת תוכנת העמידות לצרעת השקד ולמפות את הגנים המבקרים תוכנה זו.

פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות הממחקר

יצירת אוכלוסיות F2. זרעי המכלאו בין 'מתן' ל'שניר' (F1) נושא הגן *Sf* ولكن בעלי יכולת הפריה עצמית. במהלך שנות המחקר נסגרו בכל עץ F1 מספר ענפים בראש גנד חרקים ונאספו מאות זרעים המכלאו F2 (טבלה 1). סה"כ אוכלוסיות F2 מונה 296 צמחים משישה צמחי F1 שונים (טבלה 1), עשרים שתילים נטוועים במטע ו 276 יעברו מה משתלה למטע בחורף 2022. הרחבת אוכלוסיות F1 לצורר הגדרת אוכלוסיות F1 נעשו ב-2019 הצלאות נוספות בין 'שניר' ל'מתן'. 32 שתילים של הצלאות אלו נמצאים במטע.

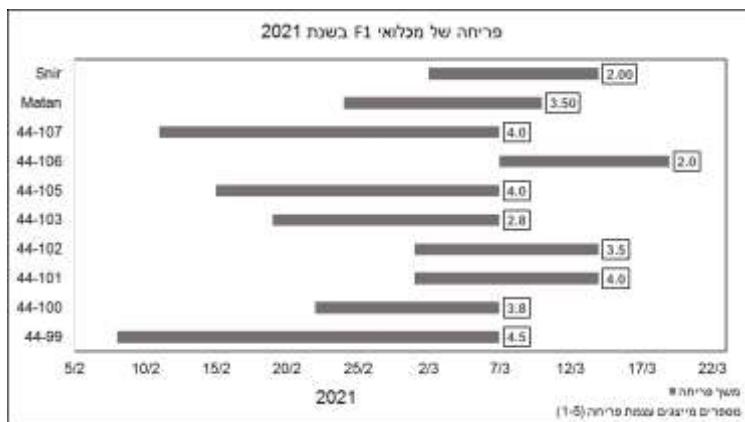
טבלה 1. אוכלוסיות המכלאו F2 שנוצרה בשנים 2018-2020

מכלאו	שתילים במטע	שתילים במשתלה	שתילים במטע
44/99	8	41	
44/100	-	66	
44/101	-	65	
44/102	1	9	
44/103	2	70	
44/105	9	25	
סה"כ	20	276	

איסוף עליים מאוכלוסיות F2 לשימור ולהפקת DNA. עליים מתאימים להפקת DNA נאספו מצמחי F2 במשתלה ובמטע, שמורים במקפיא לקרהת הפקת DNA.

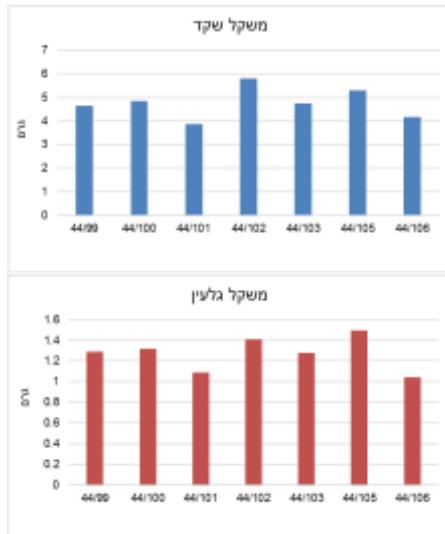
אפיון צמחי F1 לאיכות פרי, יבול, איכות ביעור, מועד פריחה וצימוח. אפיון פנולוגי של פריחה ולבלוב נעשה בשנים 2020-2021 לצמחי F1. ישנו הבדלים בצימוח בין הצמחים, ישנה עזים חזקים, אחד מאוד חלש, אחד מצמחי F1 המקוריים מטה, אך יש ממנו עותקים בחלוקת נוספת. בשנת 2021 נתוני פנולוגיה נאספו מחמישה עצי המקור, ומושני מכלאים (44-106, 44-107) הנמצאים בעותקים. הנתונים שנאספו הוו על המועדים של פרח ראשוני, 10% פריחה, סיום פריחה, דרגת פריחה (1 פריחה דלה – 5 פריחה שופעת), מועד 10% כיסוי עליה וכיסוי עליה מלא ודרגת הciesoi (1 כיסוי דليل – 5 כיסוי צפוף). דרגת הפריחה בשתי השנים הייתה בין 2.5-4.5, מועד תחילת הפריחה היה עם שונות בין הצמחים, מכלאו מקדים מתחילה פריחה בשבוע הראשון של פברואר ואילו המאוחר בשבוע הראשון של מרץ. בהתאם היה גם מועד סיום הפריחה מהימים הראשונים

של מרץ ועד אחרי אמצע החודש. נתונים על הפריחה בשנת 2021 מוצגים באירור 1. דרגת CISI' עלווה היתה טובה מאוד בכל המכלואים בשנת 2021. מועד תחילת ההנצה משתנה בין הצמחים סופי פברואר ועד שבוע ראשון של מרץ, אך בנסיבות המלא של העלווה לא היה הבדל משמעותי בין העצים.



איור 1. משך הפריחה של צמחי F1, 'מתן' ו'שניר' ב-2021. מספרים במסגרות מייצגים עצמת פריחה (1-5).

אופן ראשון לפרי של צמחי F1 נעשה בשנים 2020 ו-2021 (טבלה 2). לכל הצמחים פרי עם קליפה קשה כמו להורה 'שניר'. מועד ההבשלה השתנה בין הצמחים השונים מאמצע يول ועד אמצע אוגוסט. כמו כן ישנה שונות בגודל וצורת הגלען (איור 2). יש אי התאמה בין השנים בצורת השקד של שני מכלואים, יעשה ברור נוספת בנושא בפירות של שנת 2022. אין הערכת יבול למכלואים לשנת 2021 בגלל שהייתה פעילות רבה של ציפוריים שפגעו ביבול ولكن לא ניתן היה לבצע חישובי יבול. יחד עם זאת ע"פ הערכות, ניתן לשער כי למספר מכלואים היבול גבוה.



איור 2. משקל ממוצע של שקד וגלען של מכלי F1. הנתונים הינם ממוצעי משקלים של השנים 2020 ו-2021. אופן ביצוע המדידות לא אפשר לחשב סטיית תקן.

טבלה 2. תכונות פרי של צמחי מכלוא F1 ממוצע של השנים 20-21 ותמונה של הגלעינים

גודל הגלעין 1-5	עובי הגלעין 'מ'	רוחב הגלעין 'מ'	אורן הגלעין 'מ'	גלאי גראם	תשקי גלעין בודד גראם	תשקי בודד גראם	הערות על השקדים	שלמות הקיליפה	קשיות הקיליפה	מרקאה הקיליפה	צבע הקיליפה	マーָאַה שְׁקֵד 1-5	חריע
4.55	0.66	1.26	2.58	28.8	1.3	4.6		שלם	קשה	ייה חלק	בביר	4.88	44/99
4.38	0.74	1.35	2.55	27.1	1.3	4.8		שלם	קשה	ייה חלק	בביר	4.75	44/100
4.27	0.60	1.16	2.16	28.3	1.1	3.9		שלם	קשה	ייה חלק	בביר	4.8	44/101
4.68	0.68	1.44	2.57	24.3	1.4	5.8		שלם שפוי	קשה	ייה חלק	בביר	4.8	44/102
4.28	0.70	1.33	2.51	27.6	1.3	4.7		שלם	קשה	ייה חלק	בביר	4.63	44/103
4.68	0.66	1.29	2.68	28.0	1.5	5.3		שלם שפוי	קשה	ייה חלק	בביר	4.53	44/105
4.6	-	-	-	25.0	1.0	4.2		שלם קטן	קשה	ייה חלק	בביר	4.4	44/106

תמונה גלעינים	געאים	צומקים	כפלום	MRIות 0-3	טעם 1-5	צבע המעי 1-5	שרוטט	צבע הגלעין	צבע הגלעין 1-5	מרקאה הגלעין 1-5	חריע
2020	3.3	0.0	5.0	0.4	3.8	4.45	תשן מואוד	חומר ביר	4.38	44/99	
	5.0	0.0	0.0	0.0	4.2	4.52	זניח	חומר ביר	4.48	44/100	
	6.7	3.3	25.6	0.0	4.3	4.5	חומר ביר	זניח	4.23	44/101	
2021	5.0	1.7	0.0	0.5	3.8	4.58	יש חלש	בביר	4.43	44/102	
	0.0	0.0	1.7	0.1	4.4	4.6	חומר ביר	זניח	4.37	44/103	
	0.0	0.0	10.0	0.0	4.5	4.57	חומר ביר	זניח	4.42	44/105	
	-	-	-	0.0	4.4	4.6	חומר מועט ביר	אין	4.40	44/106	

ניתור אוכלוסית מכלוא F1 לריגישות לצרעה. ארבעה עותקים (מורכבים על כנה GF.677) של שמונה מכלוא F1 נשתלו בינואר 2019 בחלקה רחוקה מהמטע הווותיק. בנוסף נשתלו באותה חלקה ארבע חזירות של ההורים, 'מתן' ו'שניר', שני עצים בכל חזירה. החלקה לא רוססה נגד צרעת השקד.

מעקב אחר העותקים של צמחי F1 העלה חשד שהקלם לא דומים למקור. לצורך וידוי נערכ אפיון לכל המכלואים ולעותקים עם שלושה סמני SSR, נמצא כי חמישה צמחים שונים מהמקור והם לא כוללים באנוליזות השונות.

במהלך 2021 נערכ ניסוי של בדיקת ריגישות לצרעה במכלוא F1 וההורם. לכל עץ הזומדה סלולה עם חמש עשרה מומיות שנאספו ע"י הוצאות של ליאורה שאלתיאל-הרפץ במטעים שונים. הוצאות של ליאורה בדק אחוזי הגחה מהמומיות כדי לוודא שתהיה פעילות של צרעות במטע. חיבור הסלולה עם המומיות נעשה במהלך הפריחה (10% עד פריחה מלאה), רוב העצים היו עם 60% פריחה. יש לציין שמלוא 102-44 קיבל את הסלולות עם הצרעות בסוף הפריחה. יחד עם זאת נצפתה פעילות של הצרעות בכל המטע. ניתן היה לראות נגיעה מאוד גבוהה של עצי אום אל פאחים הנטועים במטע שלא קיבלו את הצרעות בזמן לעצם. במהלך האביב נצפתה הגחה של צרעה מ-56% מהמומיות. באמצעות יול נקטפו כל הפירות (שלב יוק) מכל עץ לחוד. לאחר הקטיף הופרדו

המומיות, ונרשם מספר הפירות והמומיות לכל עץ. בנוסף נלקחה דגימה של 5 מומיות מכל עץ לנוכחות זחלים של צרעה. במקרה ומדגם של 5 היה קטן מעשר, נלקחו עשר מומיות או כולל לבדיקה.

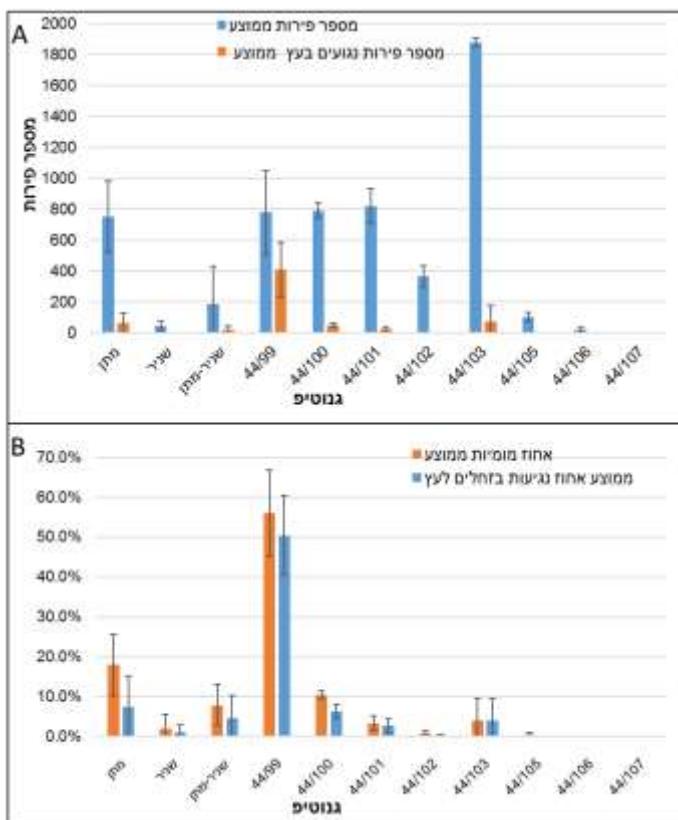
תוצאות:

ישנם הבדלים בפירות של העצים (טבלה 3 ואIOR A3). שני מכלואים לא הניבו, אחד כלל לא הניב ואילו השני היה עם 20 פירות בממוצע לעץ. מענין לציין שעצים המוקור של מכלואים אלו לא התפתחו ואחד מהם אף מת. ששת המכלואים האחרים היו עם מאות פירות לעץ, מ 103 פירות בממוצע לעץ ועד 1877. בשלושה מכלואים היבול היה דומה לש'מתן' ואילו לאחד המכלואים (44-103), היה יותר מפי 2 פירות. 'שניר' ההורה השני של המכלוא נתן מעט מאד פרי ב-2021, ככל זהה עץ עם יבול נמוך.

נמצאו הבדלים משמעותיים בין מכלוא F1 ברגישות לצרעה (IOR B3 ואIOR 4). מכלוא אחד - 44-99, היה עם רגישות גבוהה לצרעה, 56% מהפירות היו מומיות מותוקן מעל 80% היו עם זחלים של צרעה. המכלואים האחרים היו עם רגישות נמוכה לצרעה, נמצאו אחוזים נוספים של מומיות מכלל הפירות של העץ (טבלה 3), שני מכלואים אף היו עם פחות אחוז מהפירות שהם מומיות. ההורה הרגיש, 'מתן', היה עם 18 מומיות מכל הפירות ואילו ההורה העמדי, 'שניר', היה עם 2. במקלאים עם הרגישות הנמוכה לצרעה רוב המומיות (< 50) היו עם זחלים. מענין לציין שנערכה הערכת של הנגיעות לכל עץ בתחילת يول' והיתה קורלציה גבוהה ($r = 0.80$). בין ההערכה לאחוז המומיות שחוشب.

טבלה 3. ממוצעים וסטיאות תקן של מספר פירות, אחוז מומיות ונגיעות בצרעה של עותקים של מכלוא F1.

	מכלוא	מספר פירות		אחוז מומיות		אחוז גיגעות בזכחים		מספר פירות נגעים		אחוז מומיות נגע בחל	
		ממוצע	StdDev	ממוצע	StdDev	ממוצע	StdDev	ממוצע	StdDev	ממוצע	StdDev
44/99	779	272.1	56.0	10.8	50.4	10.0	408.35	178.96	90.1	5.71	
44/100	791	48.4	10.4	1.1	6.3	1.7	50.1	15.02	60	10	
44/101	820	112.9	3.4	1.8	2.8	1.7	24	16.90	79.17	9.56	
44/102	364.7	72.3	0.8	0.8	0.2	0.3	0.67	1.15	33.33	57.73	
44/103	1877.5	29.0	4.1	5.3	4.0	5.4	74.67	100.88	77.8	31.39	
44/105	103	28.2	0.4	0.6	0.0	0.0	0	0	0		
44/106	20.5	13.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0		
44/107	0										
מתן	751.3	229.8	18.0	7.6	7.5	7.7	62.23	67.52	37.64	26.19	
שניר	43.9	28.5	1.9	3.7	0.9	1.9	0.37	0.74	38.9	34.71	
שניר-מתן	184.1	244.28	7.9	5.2	4.7	5.6	19.67	26.66	60.38	31.46	

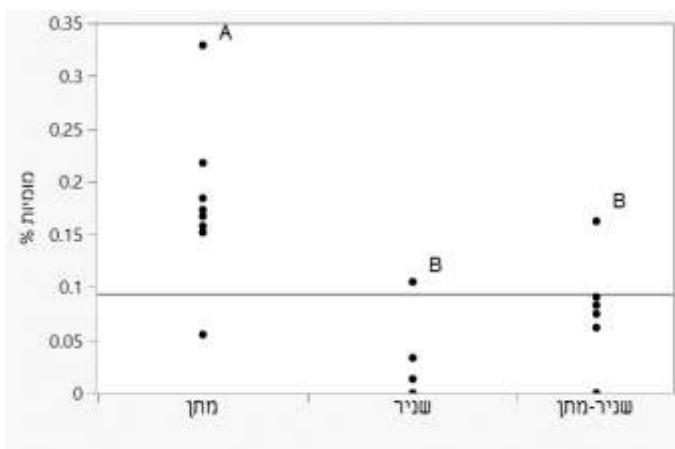


איור 3. מספר פירות ואחוז נגיעות בצרעה בעותקים של מלואי F1. (A) ממוצעים של מספר הפירות הממוצע לענף ומספר הפירות הנגעים בצרעה לאחר חישוב אחוז המומיות והנגיעות של המומיות בצרעה. (B) ממוצעים של אחוז המומיות מכל הפירות ואחוז של הפירות הנגעים בצרעה. ± סטטיסטית תקן.



איור 4. פירות ומומיות של שני מלואי F1 בקטיפ. (A) מלוא 44-99 עם אחוזי מומיות גבוהים. (B) מלוא 44-103 עם כמות מומיות נמוכה. ניתן לראות פרי ירוקצד ימין ומומיות הצד שמאל של כל פאנל.

הרכבות סנדוויץ' של 'מתן' ו'שניר'. בחלוקת בה נבדקו מכלואי F1 באביבה עותקים, נשתלו בינוואר 2019 גם עצי סנדוויץ' של 'מתן' ו'שניר' באربع חזרות, שני עצים בכל חזרה. עצים אלו בנויים מכנה GF.677 עליה מרכיב מקטע של 'שניר' שעליו מרכיב 'מתן'. המקטע של 'שניר' כולל ענף אחד. עצים אלו השתתפו בניסוי רגישות לצרעה של מכלואי F1 כמפורט בפרק הקודם. כמות הפרי בעצים אלו הייתה נמוכה משמעותית (טבלה 3 ואIOR 3A) מעצי הביקורת של 'מתן'. יתכן והסבירה לכך היא, שהם הורכבו יותר מאוחר והנוף שלהם עדין יותר צעיר. יחד עם זאת ציריך לבדוק בהמשך אם אין השפעה של מקטע של 'שניר' על הפוריות. התוצאות של רגישות לצרעה היו מפתיעות (טבלה 3 ואIOR 5), נמצא הבדלים משמעותיים (במבחן Tukey-Kramer HSD) בין עצי הסנדוויץ' ל'מתן' ברגישות לצרעה. נראה כי המקטע של 'שניר' גרם להוורدة הרגישות. תוצאה זו מחייבת חזרה בשנים נוספות.



איור 5. אחוז מומיות בעצי סנדוויץ' שניר-מתן. אחוז המומיות מכלל הפירות של עצי סנדוויץ' שניר-מתן ושל 'מתן' ו'שניר'. A ו B מצינים הבדלים משמעותיים במבחן Tukey-Kramer HSD.

סרייקה עם סמנים גנטים. במהלך שנות המחקר נמצאו מספר רצפים גנטיים שהראו קשר לתוכנה של רגישות לצרעת השקד. בדוח של שנת 2020 דווח על ארבעה סמנים (טבלה 4) הנמצאים בתאഴזה מובהקת לרגישות לצרעה באסוף השקד (נבדק במבחן Kruskal-Wallis Test / Wilcoxon / Kruskal-Wallis $p < 0.05$). סמנים אלו נמצאים באביבה כרומוזומים שונים (1,6,7,8). כמו כן סמנים אלו נמצאו קרובים לגנים, השימושם למסלול הטרפינים והפלבונואידים, שנמצאו נבחרים בטרנסקריפטום, (טבלה 4). דיוון על הטרנסקריפטום והتوزעות מניסוי זה דווחו ב-2019.

טבלה 4. סמנים בתאחיזה ($0.05 < \alpha$) בבחן Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests לעמידות לצרעה וגנים נבחרים הקרובים אליהם

SNP	Year	Prob > ChiSq	Close gene ID P.dulcis Texas v2	Chromosome	blast2GO	Type
AP019297-1_33870552	2017	0.0312	Prudul26A019082	Chr1	carotenoid 9,10-cleavage dioxygenase	Terpen; Carotenoid
AP019302-1_12814214	2015	0.0441	Prudul26A007263	Chr6	neomenthol dehydrogenase	Terpene
AP019303-1_16312855	2017 & Average	0.0343	Prudul26A007050	Chr7	flavonoid 3 - monooxygenase	Flavonoids
AP019304-1_14006891	2017	0.0039	Prudul26A004068	Chr8	flavonol synthase flavanone 3-hydroxylase	Flavonoids

סרייה של צמח F1 עם סמני SNP. פותחו סמנים לסריקה ע"י ריצוף במעבדה לארבעת הסמנים המתוירים בפרק הקודם. שמוונה צמח F1 נסרקו עם סמנים אלו. לא נמצאה תאחיזה בין ארבעת הסמנים למדדים השונים.

צמח F1 נסרקו עם 18 סמני SNP נבחרים כמתואר בדו"ח לשנת 2020, לא נמצאה תאחיזה בין סמנים אלו ורגישות לצרעה שנמדזה בשנת 2021. כמו כן לא נמצאה תאחיזה למדדים האחרים שנלקחו.

דין ומסקנות

יצירת אוכלוסייה F2 נעשתה בשלבים. האוכלוסייה מורכבת מכמה הורים מדור F1 ובניתה נמשכה מספר שנים. בסה"כ ישנו כמה מאות זרעים של מכלוא F2 שהונבטו ב-2021 וישתלו במטע בחורף 2022.

בשנת 2021 נועשה לראשונה ניסוי לרגישות לצרעה בעצים בוגרים נושא פר. בניסוי נבחנו שמוונה מכלוא F1 של 'שניר' ו'מתן'. כל מכלוא היה באربעה עותקים. נמצאו הבדלים בין המכלואים בפוריות ורגישות לצרעה. ואיתרו ארבעה מכלואים עם פוריות גבוהה, לפחות כמו בזן 'מתן'. נמצאו ארבעה מכלואים עם פחות מחמישה אחוז מהפרי נגוע בצרעה, בשניים מהם היה פרי עם פחות מאשר נגיעה. גודל ואייקות הפרי הם טובים וטעימים אך לא מצטינים.

הרגישות לצרעה בעץ 'מתן' הCollider מקטע של 'שניר' (סנדוויץ') הייתה נמוכה משל 'מתן' ללא המקטע. לצורך לחזור על הניסוי, עם התבגרות העץ ולבדוק השפעה על יבול ואייקות הפרי.

בריצוף הטרנסקריפטום שנעשה ב-2019 והשוואה בביטוי השונה בין הזרנים, איתרו 53 גנים בעלי עניין לסריקות בהמשך. נמצאו SNP על גnom השקד בקרבה לגנים אלו. הסמנים נסרקו באוסף זני השקד. ארבעה סמנים סטטוטיים לגנים מעוניינים נמצאו בתאחיזה לרגישות לצרעה באוסף השקד. התאחיזה אמונה לא מוגבהת בבחן permutation, אך בהינתן, שבחן התאחיזה נעשה באוסף גנטי ובכך שמדידת רגישות לצרעה הייתה שונה משנה לשנה, יש בתוצאות אלו בסיס טוב להמשך. הסמנים בתאחיזה נמצאים על הגנים בקרבה לגנים נבחרים ממולול הטרפנינים והפלבונואידים. חומרים נדייפים משפחחת הטרפנינים ידועים בספרות כחומרים הגורמים דחיה או משיכה של חרקים ואף חלק

מפעילות הגנה של הצמח כנגד חרקים מזיקים (Huang et al. 2010; Nawade et al. 2019). פלבנוואידים משתתפים בתהליך ייצור הליגני והשעווה המוכרים כחומרם פעילם במהלך התפתחות העץ והפרי חלק ממנגנון התקשות דפנות התאים. מחקר אחר שנעשה ביחידה הראה שיטקן יש קשר בין אופן התקשות החניטים לבין מידת רגישותם להטלות הצרעה. צמחי F1 נבחנו עם מספר סמנטים שנבחרו מההשוואה הטרנסקריפטומית וכאלו שנמצאו בתחום זה באופן גנטי בין הצלמים, אך לא נמצא תאייזה לרגישות לضرעה. בנוסף. נמצא שונות גנטית בין הצלמים, והם במשימות שהצבנו בתחום זה. המשכנו את התשתיית המשך המחקר הן בעקבות הנטוטי והן בעקבות הטעות לזרעת השקד.

פרסומים מדעיים

איינבר א., בר-יעקב ע., חטיבב כ., הראל-בצ'ה ר., דג א., ראובני ח., שאלתיאל-הרף ז., איבדאה מ., הולנד ד. 2020. מחקר ביולוגי אנטומי וגנטי על רגישות פרי השקד לצרעת השקד. עלון הנוטע, 74, עמ' 18-23,54

רשימת ספרות

איינבר א., בר-יעקב ע., חטיב כ., הראל-בח'ה ר., דג א., ראובני ח., שאלתיאל-הרףץ ל., איבדאה מ., הולנד ד. 2020. מחקר ביולוגי אנטומי וגנטי על רגישות פרי השקד לצרעת השקד. *עלון הנוטע*, 74, עמ' 18-23,54.

Aharoni, J. (1916). *Eurytoma sp., ein neuer mandelschadling in Palastina.* *Tropenpflanzer* 19, 317-322.

Huang, M., Abel, C., Sohrabi, R., Petri, J., Haupt, I., Cosimano, J., Gershenson, J., & Tholl, D. (2010). Variation of herbivore-induced volatile terpenes among *Arabidopsis* ecotypes depends on allelic differences and subcellular targeting of two terpene synthases, TPS02 and TPS03. *Plant Physiology*, 153(3), 1293-1310.

Khanmohamadi, F., Khajehali, J., & Izadi, H. (2016). Diapause and cold hardiness of the almond wasp, *Eurytoma amygdali* (Hymenoptera: Eurytomidae), two independent phenomena. *Journal of Economic Entomology*, 109(4), 1646-1650.

Klapperich, J. (1964). Die mandelsamenwespe (*Eurytoma amygdale* end. *Chalcididae hymenoptera*), ein schadling in den mandelkulturen jordanies. *Gesunde Pflanzen*. 16, 73-78.

Mentielos, J., Atjemis, A. (1970). Studies on the biology and control of *Eurytoma amygdale* in Greece. *Journal of Economic Entomology*. 63, 1934-1936.

Nawade, B., Yahyaa, M., Reuveny, H., Shaltiel-Harpaz, L., Eisenbach, O., Faigenboim, A., Bar-Yaakov, I., Holland D., & Ibdah, M. (2019). Profiling of volatile terpenes from almond (*Prunus dulcis*) young fruits and characterization of seven terpene synthase genes. *Plant Science*, 287, 110-187.

Plaut, H.N. (1971). On the biology of the adult of the almond wasp, *Eurytoma amygdali* End.(Hym., Eurytomidae), in Israel. *Bulletin of Entomological Research*, 61(2), 275-281.

Plaut, H.N. (1972). On the biology of the immature stages of the almond wasp, *Eurytoma amygdali* (Hym., Eurytomidae) in Israel. *Bulletin of Entomological Research*. 61, 681-687.

Plaut, H.N., & Mansour, F. (1973). Studies of the behaviour, dispersal and damage potential of the almond wasp, *Eurytoma amygdali*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 16, 415-421.

Formatted: Font: (Default) Courier, 10 pt, Complex Script
Font: Arial, 10 pt

סיכום דוח ל-2021:

1. **אנא פרט מהם הניסויים שנעשו תוך השוואת תכנית העבודה המתוכננת והתאמתם למטרות הממחקר כפי שהופיעו בהצעה המקיפה.**
בוצעו רוב הניסויים שתוכננו: המשך הקמת אוכלוסיות מכלוא עם כ 300 צמחי F2. נאספו עליים מכל צמחי F2, צמחי F1 נסרקו עם מספר סמניטים, איפין פנולוגי ושל הפרי של צמחי F1. ניסוי רגישות לצרעה בעותקים של צמחי F1 ועץ 'מתן' עם מקטע של 'שניר'. כל זאת לקראת מטרת ההבנה של הגנטיקה של העמידות והשבחהizen עדיד לצרעת השקד.
2. **מהם עיקרי הניסויים והותצאות שהושגו בתקופה אליה מתיחס הדוח?**
בנייה אוכלוסית F2 גודלה. ארבעה סמניטים שנמצאו בתא芝ה באוסף ואף נמצאים בסמיכות לגנים נבחרים לא נמצאו בתא芝ה בצמחי F1. נמצאה שונות ברגישות לצרעה בין מכלוא F1. מקטע של עץ 'שניר' בעץ מתן תורם להורדת הרגישות לצרעה.
3. **בעקבות הניסויים שנעשו, אנא פרט והסביר כיצד הושגו מטרות הממחקר בתקופת הדוח או חלק מהן.**
הניסויים בשנה ג' כונו להקמת תשתיית לבנת הגנטיקה של העמידות לצרעה, לבחינה של השונות לרגישות לצרעת השקד בין מכלוא F1. אלה מתאים למטרות הממחקר שהוצעו בתוכנית.
4. **בהתאם להצעה המקיפה, ציין מה ה证实 מעורב בטבת המשימות ואבני דרך, כולל אבני דרך כמותיות (סעיפים VI ו-VII) ומהם הקритריון שפורטו בהצעה המקיפה כבוחן להצלחת הממחקר אכן הושגו.**
משמעות שנה ג'. ניתוח לעמידות לצרעה באוכלוסיות F1: בוצע, מומלץ לחזור על הניסוי. סיכום וניתוח תוצאות רב שנתיות של ניתוח העמידות באוכלוסיות F1: הניסוי בוצע בצורה שונה בשנת 2019 ו-2021 וכן קשה להשוות. מומלץ לחזור עוד שנה. הקמת אוכלוסיות F2: ניתוח של שתלי האוכלוסייה: בוצע, **קיימים כ 300 שתלים של צמחי F2**. סיום קביעת גנטיפי מאגר גנטי והמשר קביעת גנטיפי אוכלוסיות F1 ואוכלוסיות F2: סריקה גנטיפית מקיפה לאוכלוסיות F1 ו- F2 **תבצע** בתחילת שנת 2022. בהתאם לדוח סעיפים 5 ו- 7 בוצעו בהמשך. חיפוש תא芝ה בין סמניטים גנטיים לעמידות לצרעה על בסיס הממצאים מאוכלוסיות F1 ואוסף גנטי: בוצע, סמניטים שנמצאו בתא芝ה באוסף נסרקו באוכלוסיות F1, אבל לא נמצאה תא芝ה לריגישות לצרעה. איפון הפרטים באוכלוסיות F1: בוצע בצתמי המקוור לא ניעור.
5. **מהן המסקנות המדעיות ומהן ההשלכות לגבי יישום הממחקר ומהשכו בעtid?**
תוצאות עיקריות של השנה השלישית: 1. הרחבת אוכלוסיות F2 במסאות שתלים 2. איפון השונות במכלוא F1 ברגישות לצרעה 3. מציאת מכלוא F1 עם רגישות נמוכה לצרעה 4. עץ 'מתן' עם מקטע של 'שניר' פחות רגish לצרעה. אנו אופטימיים שמייפוי תוכנת העמידות לצרעה לקראת השלהמה.
6. **מהן הביעות שנדרשו לפתרון /או שינוים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שהחלו במהלך העבודה ומה אמורה להיות ההתייחסות בהמשך**

יש להשלים את המיפוי הגנטי. יש להשלים את איפיון הורשת העמידות בפרטים החדשניים של האוכלוסייה. איפיון הרגישות באוכלוסיות F2 יאפשר חיפוש סמנטים איכוטיים לתוכנה.

.7. **הפצת הידע שנוצר בתחום הדו"ח: פרסומים בכתב, פטנטים, הרצאות ומי עיון** (ציטוט ביבליוגרפי נמוךובל בפרסום מדעי). חלק מהידע פורסם כבר במאמרים ובעבודת התזה של אורי

אייזנברג. דיווח מיוחד ימסר בתחילת 2022 ביום עיון שנתי של ענף השקץ

.8. **פרסום הדו"ח:** אני ממליץ לפרסם את הדו"ח:

* חסוי – לא לפרסום (לצראף מכתב הסבר).

* ללא הגבלה (בספריות ובינטרנט)