

דוח לתכנית מחקר 21-01-0031

שנת המחקר 2020- שנה 2 מתוך 3 שנים

שיפור פוריות זני ליצי' חדשים ע"י איתור מפרה מצטיין לכל זן

Increasing litchi productivity

by identifying the optimal pollenizer for each cultivar

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י:

פרופ' רפי שטרן – ריכוז הפרויקט, תכנון הניסויים, עריכתם וניתוחי התוצאות (raffi@migal.org.il)

מיקי נוי – ליווי הניסיונות במטעי הצפון

דר' גל ספיר – אחראי על ביצוע הניסויים בשטח ובמעבדה

פרופ' מרטין גולדווי – פיתוח סמנים מולקולאריים

דר' אמיר רז – פיתוח סמנים מולקולאריים

תקציר

הצגת הבעיה – ענף הליצי' בישראל "דורך במקום" כבר הרבה שנים, למרות הפוטנציאל הכלכלי הגבוה להפוך לענף ייצוא. הגורמים המרכזיים לכך שנטועים היום כ-2,500 דונם בלבד היא הפוריות הנמוכה של הזן המרכזי מאוריציוס, וכן ההתבססות על זן אחד בלבד שתקופת השיווק שלו (בארץ ובחו"ל) קצרה מאוד. במחקר ראשון שהתחלנו לפני 4 שנים זיהינו שתי סיבות מרכזיות ליכולי המאוריציוס הנמוכים: 1. שיעורי האבקה נמוכים מאוד על אף האטרקטיביות העצומה של פרחי הליצי' לדבורי הדבש. 2. פירות שמרביתם תוצרי האבקה עצמית. הפיתרון לגורם המעכב הראשון נמצא ע"י תוספת דבורי בומבוס למטעים, ששיפרה באופן דרמטי את שיעורי ההאבקה, וכתוצאה מכך עלו שיעורי החנטה והיבול באופן משמעותי ומובהק. רעיון זה אומץ ע"י כלל המגדלים, וכיום אין מטע ליצי' ללא תוספת של כוורות דבורי בומבוס. הפתרון למגביל הפוריות השני (האבקה עצמית של מאוריציוס) נמצא ע"י האבקה מאוריציוס עם אבקה זרה, ובעיקר מהזן הונג לונג, בהשוואה להאבקה עצמית של מאוריציוס. השיפור שהושג בא לידי ביטוי הן בהגדלת שיעורי החנטה ובתוספת פירות לעץ, והן בהגדלת משקל הפרי למרות עומס היבול הגבוה יותר בעץ.

מטרת המחקר הנוכחי - להתרכז בשיפור פוריות הזן מאוריציוס וזנים נוספים חדשים שהגיעו למסחר, אך למרות איכותם הגבוהה הם אינם פוריים. שיטות העבודה – כדי להגיע לכך אנו מנסים לאתר את המפרה האופטימלי עבור מספר זנים חדשים ומבטיחים, הן ע"י בחינת חפיפת הפריחה בין המופרה למפרה והן ע"י בחינת יכולתו ה"פוטנטית" של הזן כמפרה. נושא זה נבדק השנה לראשונה ע"י בחינת שיעורי החנטה, גובה היבול ומשקלי הפרי והזרע של כל זן מטרה ליד המפרים השונים, ובמקביל ע"י איתור סמנים גנטיים (SNPs) חדשים וייחודיים לכל זן כדי שנוכל לאתר את ההורה הזכרי המצטיין של הצאצאים שיווצרו.

תוצאות עיקריות משנת המחקר השנייה –

1. שיפור ההפריה בזנים השונים: א. FZS – מסתמן כי זן זה איננו פורה לעצמו. הזנים המפרים שנמצאו

כמצטיינים בשנה זו היו 'הונג לונג' (HL) ו'סא-קנג' (SK). ב. תמוז – נראה כי גם זן זה ככל הנראה איננו פורה

לעצמו, למרות שיכול ליצור חנטים שמתחילים את גדילתם. הפריה זרה עם הזנים מאוריציוס והונג לונג שיפרה מאוד את פוריותו של התמוז.

2. פיתוח סמנים גנטיים: איתרנו סמן גנטי חדש. במהלך השנה הקרובה אנו מצפים לאתר סמנים נוספים שבעזרתם נוכל לאפיין באופן וודאי את ההורה המפרה של כל זן.

מסקנות ביניים – הוכחנו את חשיבות ההאבקה הזרה גם בליצי שידוע כפורה לעצמו. עדיין לא הצלחנו להשלים את איתור הסמן הספציפי של כל אחד מהזנים כדי לאתר את המפרה המצטיין לזנים השונים.

תוכן העניינים –

מבוא	2
מטרות המחקר	2
עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר	3
דיון	11
רשימת ספרות	12
שאלות סיכום	14

מבוא ותאור הבעיה

לליצי הישראלי פוטנציאל כלכלי גבוה, בעיקר כגידול ייצוא, אך הוא איננו ממומש במלואו. שלוש סיבות עיקריות מעכבות את פריצתו: 1. קשיים בטיפול בפרי לאחר הקטיף ובמהלך אחסונו. 2. פוריות לא מספיק גבוהה ויציבה של הזן המרכזי מאוריציוס. 3. עונת שיווק קצרה בארץ ובחו"ל של זן מרכזי אחד (מאוריציוס) בלבד (נוי, 2017).

הנושא הראשון מטופל לאחרונה בצורה אינטנסיבית, והחוקרים שעוסקים בו הגיעו להבנה מעמיקה של תהליכי הסדקות הקליפה והחממתה במטע ולאחר חיי מדף (Fachima et al., 2019; פחימה וחובי, 2017). בנושא השני של פוריות הזן מאוריציוס עסקו בשנתיים האחרונות בצורה אינטנסיבית והגענו לשתי תובנות מרכזיות: 1. למרות פעילות אינטנסיבית מאוד של דבורי הדבש במטעי הליצי, ההאבקה לוקה בחסר. הכנסת דבורי בומבוס למטעים כתוספת לדבורי הדבש שיפרה מאוד את שיעורי ההאבקה, מה שהביא לתוספת יבול משמעותית ומובהקת (Sapir et al., 2019; שטרן וחובי, 2017a). 2. הזן המרכזי שנבדק, מאוריציוס, אמנם מפרה את עצמו, אך נוכחות זנים מפרים לידו שיפרה מאוד את ההאבקה הזרה שהביאה להישרדות חנטים טובה יותר ולכן לתוספת פירות לעץ בהשוואה להאבקה עצמית. בנוסף הביאה ההאבקה הזרה להתפתחות פרי טובה יותר שהתבטאה במשקל גבוה יותר של פרי למרות עומס היבול הגבוה (שטרן וחובי, 2017b). בנושא השלישי, שעוסק בהרחבת סל הזנים, חלה בשנים האחרונות התקדמות משמעותית, שמתבטאת בעיקר באינטרודוקציה של זני ליצי חדשים, המבשילים לפני או אחרי המאוריציוס, ואף בפיתוח של זנים תוצרי השבחה מקומית שנעשו ע"י משה גורן ממרכז וולקני (גורן, 2013; גורן וגזית, 1994; גורן וחובי, 2002).

מאחר ויבולי הליצי של הזן מאוריציוס עדיין נמוכים מהפוטנציאל האפשרי, התמורה המתקבלת לדונם אינה אטרקטיבית לנוטע. בנוסף – הקטיף מתרכז בחודשים יוני-יולי, בהם יש במקביל שיווק מאסיבי לאותן ארצות יעד באירופה ע"י סין ותאילנד בעיקר. לאור זאת – המחיר שפודה הליצי בתקופה זו נמוך משמעותית מהמחיר המתקבל בתקופת שיווק מאוחרת יותר (נוי, 2020).

כדי לשפר את ביצועי המטע ולהעלות את רווחיות הנוטעים הצענו להתרכז במחקר זה בשיפור פוריות מספר זני ליצי מבטיחים שקיימים במסחר ע"י איתור המפרה האופטימלי עבור כל זן.

מטרות המחקר

מטרה מרכזית

המטרה העיקרית של המחקר היא להעלות את רווחיות גידול הליצי בישראל ע"י שיפור פוריותם של מספר זנים מבטיחים.

מטרות המשנה של המחקר

1. "איתור זן מפרה מצטיין עבור כל זן שבמסחר":

א. עבור הזן המרכזי מאוריציוס

ב. עבור הזנים החדשים אך הלא פוריים – FZS ותמוז.

2. "פיתוח סמנים גנטיים חדשים לצורך איתור המפרה המצטיין של כל זן":

פיתוח SNPs ייחודיים לכל זן במקום השימוש בטכניקת הזיהוי של SSR, בה משתמשים כיום,

שאיננה מצליחה להפריד בצורה מושלמת בין הזנים המפרים של כל זן.

3. "איתור זנים חדשים בנושאי פרי איכותי בזמני הבשלה מוקדמים/ מאוחרים מהמאוריציוס, ולא רק כמפריים".

עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר (שנה שנייה 2020)

I. איתור זן מפרה

במסגרת עבודת המחקר הקודמת (2016-2018), שעסקה בהאבקה והפריה של הזן מאוריציוס, מצאנו בין השאר כי הזן מאוריציוס "נהנה" מקירבתו לזנים מפריים שונים. מתוצאות הניסויים למדנו שלמרות יכולתו של עץ הליציי להפרות את עצמו הוא מניב פירות רבים יותר, ולעתים אף גדולים יותר, כאשר נמצא לידו עץ מזן שונה. לאור זאת התחלנו בסדרת ניסויים חדשה, בה אנו מנסים לאתר את הזן המפרה המצטיין עבור המאוריציוס, ובמקביל לאתר את המפריים המצטיינים עבור זני הליציי החדשים שהולכים ונכנסים למסחר.

איתור זן מפרה לזן מאוריציוס –

תוצאות המחקר הקודם הצביעו על כך שהזן הונג לונג (Hong Long = HL) יכול לשמש כמפרה טוב עבור הזן מאוריציוס (שטרן וחוב' 2017b, 2018). ההשערה שהועלתה היתה כי תרומתו של הזן HL כמפרה בהשוואה לזנים מפריים אחרים נובעת הן מהקדמת פריחתו, כך שפרחי M2 המצטיינים שלו חופפים את פרחי הנקבה של המאוריציוס, והן, ככל הנראה, מ"פוטנטיות" גבוהה במיוחד של גרגרי האבקה שלו. כדי לבחון זאת שוב בצורה וודאית (ע"י ניטרול הגורם המגביל של ההאבקה) השווינו עצים של מאוריציוס בלבד, שגדלו בחממות מי שמיר הממוקמות בחוות המטעים שבעמק החולה, לעצי מאוריציוס בחממה סמוכה שלידם ניטעו עצי הזן HL. לכל אחת משתי החממות הכנסנו שתי כוורות דבורי בומבוס. היבול שהתקבל בעצי הזן מאוריציוס ללא המפרה היה נמוך בכ-50% לעומת עצי המאוריציוס עם המפרה HL. ניסוי זה הוכיח שוב, בדומה לשנה הקודמת (שטרן וחוב' 2019) שמפרה זר (ובמיוחד HL) יכול לשפר את יבול המאוריציוס, למרות שיבול עצי הביקורת (מאוריציוס בלבד) היה גבוה יחסית. תוצאה זו מחזקת את תוצאות ההאבקה הזרה שהתקבלו במטעי לביא ורביד בשנת 2018 (שטרן וחוב' 2018).

איתור זן מפרה לזן פי-זי-סו (FZS=Fay-Zi-Su) –

הזן 'FZS' מצטיין בפרי איכותי ביותר שמתאפיין בעיקר בגודלו (30 גר') ובגודל הזרע הקטנטן שבו. עם זאת סובל הזן FZS מבעיית פוריות קשה. היבולים שלו בסין ובישראל נעים מ-5 ק"ג לעץ בלבד למקסימום 20 ק"ג/עץ בעצים בודדים. הסיבה לכך איננה ידועה, אך ממעקב שעשינו אחר זן זה ב-2018 במורן למדנו שכאשר הוא נמצא בין עצי מאוריציוס הוא מניב יבול אפסי (בדומה לעצי FZS בלביא) ולעומת זאת כאשר נמצא בין זנים שונים (סא-קנג, נו-מאי-צ'י ועוד) הוא מניב יבול גבוה (שטרן וחוב' 2018). בשנת 2019 ניסינו לאתר את הזן המפרה המצטיין ע"י האבקה ידנית של עצי ה-FZS במפריים השונים שנמצאים בקרבתו, ובחינת אחוזי החנטה שמתקבלים מכל מפרה (שטרן וחוב' 2019). תפוחות FZS כויסו בשקית מתאימה בתחילת גל הפריחה הנקבית. כל מפרה הואבקה ידנית על 10 תפוחות דומות בעלות 100 פרחים נקביים X 4 עצי FZS. כעבור 3 שבועות נספרו החנטים וחושב אחוז החנטה.

תוצאות ההאבקה הידנית הצביעו על הבדלים גדולים בין המפרים השונים, ושוב – האבקה עצמית של FZS לא נתנה כל יבול.

בשנה זו (2020) עברנו להאבקה טבעית ע"י כיסוי זוגות עצים של FZS עם מפרה מתאים שהצלחנו לאתר במטע מורן. לכל זוג עצים מכוסה ברשת הוכנסה כוורת דבורי בומבוס.

הטיפולים = זוגות העצים שנבחנו (מורן)

1. FZS עם HL (הונג לונג)
 2. FZS עם YR (ילו-רד)
 3. FZS עם SK (סא-קנג)
 4. FZS עם MA (מאוריציוס)
 5. FZS עצמי – ביקורת של האבקה עצמית (עץ מכוסה + כוורת דבורי בומבוס)
- בכל טיפול כוסו 3-4 זוגות עצים.

המדדים שנבדקו

1. יבול לעץ
2. מדגם פירות FZS לזיהוי גנטי של ההורה המפרה

תוצאות

מפרים ל-FZS –

הזן HL, שהורכב לפני שנה על מספר עצי מאוריציוס בחלקת FZS שבמורן, פרח באביב והביא לראשונה ליבולים גבוהים ומסחריים בעצי ה-FZS (40 ק"ג/עץ, איור 1). היבולים הגבוהים שהתקבלו ב-FZS היו לא רק בזוגות העצים המכוסים עם HL, אלא גם בעצים שקיבלו אבקת HL בהאבקה פתוחה. מדד נוסף שיכול אולי להצביע גם הוא על פוטנציאל ההפריה הגבוה של הזן HL הוא השיעור הנמוך יחסית של זרעים מנוונים (כ-1.0 גר') שנמצאו בפירות ה-FZS אשר נדגמו לזיהוי גנטי של ההורה המפרה. בפירות שהואבקו ע"י HL נמצאו "רק" 33% זרעים מנוונים בהשוואה ל-50% מנוונים בפירות FZS שהואבקו ע"י YR (שנמצא כמפרה חלש מאוד).

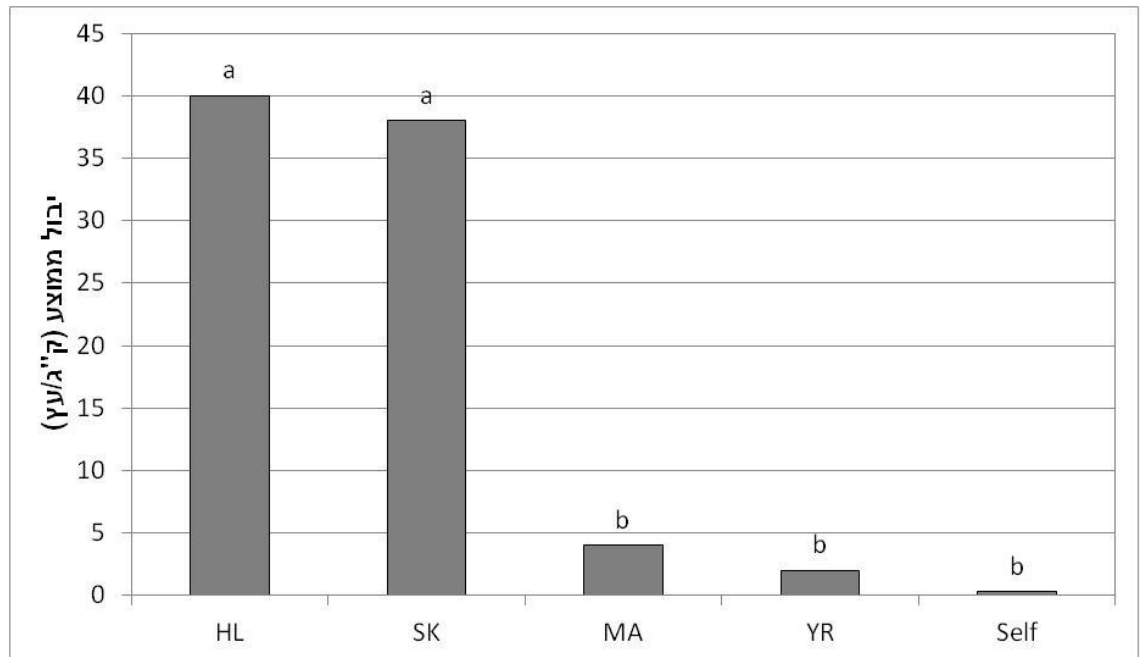
הזן SK כמפרה נראה מעניין. הוא הביא ליבול גבוה של FZS, בדומה למפרה HL (40 ק"ג/עץ), והוא בעצמו, כזן נקבי, נראה מבטיח מאוד – פוריות גבוהה, פרי גדול, צבעוני, זרע בינוני וטעם טוב. גם פריחתו חופפת את פריחת ה-FZS (איור 3 ב').

השיעור הנמוך יחסית של הזרעים המנוונים בפרי הנקבי FZS דומה לתוצאה שהתקבלה מהמפרה HL (37% בלבד), ויתכן שזה מעיד שוב כמו במפרה HL על פוטנטיות המפרה.

מאוריציוס – עד לשנה זו היו בחלקת ה-FZS רק עצי מאוריציוס שסמוכים ל-FZS, ולמרות חפיפת הפריחה הטובה עם ה-FZS (איור 3 א') לא התקבלו יבולים כלל.

תוצאות השנה הזו (סגירת זוגות עצים של FZS עם מאוריציוס), שהניבה כ-4 ק"ג/עץ בלבד, מחזקות את ההנחה שהיתה לנו בבסיס העבודה, שאומרות כי הזן מאוריציוס הינו ככל הנראה מפרה גרוע ל-FZS (זה לא אומר שהוא מפרה גרוע לעצמו או לזנים אחרים).
האבקה עצמית בזן FZS לא נתנה כלל פירות. מכאן שככל הנראה, כפי שחשבנו בעבר, אין לו יכולת להאבקה עצמית כמו שמוכר בזנים אחרים ובמיוחד בזן מאוריציוס.

איור 1. יבול עצי FZS מכוסים ברשת עם מפרים שונים, מורן 2020.



איתור זן מפרה לזן תמוז –

בעונת 2018 מצאנו שהזן 'תמוז' הוא מעניין מאוד: פרי גדול, אפיל, עם זרע מנוון עד קטן מאוד, לא רגיש לנשירה (לא נשר בכלל כמו הזן מאוריציוס בשרב הכבד ששרר במחצית מאי 2018 ברביד ובמורן <40 מעלות עם 10% לחות), לא רגיש לכתמים חומים כמו מאוריציוס, ובמיוחד בהשוואה ל'סיוון' הרגיש. עם זאת פוריותו נמוכה (אפילו לאחר שפורח היטב).
 במורן יש חלקה הנטועה בשורות מעורבות של תמוז-מאוריציוס (בכל שורה יש עץ אחד מאוריציוס ואחריו עץ תמוז, כך לסירוגין עד סוף השורה) עם פוריות בינונית (25 ק"ג/עץ). ברביד לעומת זאת יש בלוק אחיד של תמוז בלבד, והיבול שם נמוך ביותר (5-10 ק"ג/עץ). המסקנה שעלתה מכך היא שהתמוז נהנה ככל הנראה מהאבקה זרה.
 ממעקב שעשינו ברביד אחר יבולי התמוז שסמוכים או רחוקים ממאוריציוס והונג לונג למדנו על הפוטנציאל לשיפור יבולי התמוז ע"י האבקה זרה (שטרן וחוב' 2018). לאור זאת בוצע ב-2019 ניסוי חדש בו האבקנו ידנית עצי תמוז עם אבקות מזנים שונים. ניסוי זה שבוצע ברביד נכשל לחלוטין (שטרן וחוב', 2019).
 ב-2020 ערכנו ניסוי חדש, בדומה לניסוי שנעשה במורן על עצי FZS – זוגות עצים של תמוז, כל פעם עם מפרה אחר, כוסו ברשת שלתוכה הוכנסה כוורת דבורי בומבוס.

הטיפולים = זוגות העצים שנבחנו (מורן)

1. תמוז עם HL (הונג לונג)
2. תמוז עם MA (מאוריציוס)
3. תמוז עם FL (פלורידני)
4. תמוז עם WC (וואי-צ'י)
5. תמוז עצמי – ביקורת של האבקה עצמית (עץ מכוסה + כוורת דבורי בומבוס)
בכל טיפול כוסו 3-4 זוגות עצים.

תוצאות

מפרים לתמוז –

הזן HL כמפרה לתמוז הצטיין. התמוז נתן לראשונה יבולים גבוהים מאוד של כ-40 ק"ג/עץ (איור 2). יש לציין שבנוסף לעצי התמוז שבניסוי, כלומר אלו שכוסו ברשתות עם המפרה HL, גם כל שאר עצי התמוז שהיו בסמיכות לחלקת HL נתנו יבולים גבוהים מאוד ובסדר גודל דומה לעצי הניסוי – כ-40 עד 50 ק"ג/עץ. כמו כן התקבל גרדיאנט יבולים שלילי ככל שמרחק עצי התמוז מחלקת ה-HL הלך ועלה. כבר לפני שנתיים (שטרן וחוב' 2018) דיווחנו לראשונה על רמזים לתרומה המשמעותית של שני עצי HL מורכבים ליד חלקת התמוז בהשוואה לעצי תמוז בלבד (עם זאת יש להמתין לתוצאות הזיהוי הגנטי כדי לקבוע בוודאות שאכן התרומה הגדולה ליבול נובעת משיעורים גבוהים של זרעים תוצרי HL). יתכן שמעבר לפוטנציאל ההפריה הגבוה של הזן HL קיימת סיבה נוספת להצלחתו כמפרה והיא חפיפת פריחה טובה של פרחי M2 שלו עם פרחי הנקבה של התמוז (איור 4).

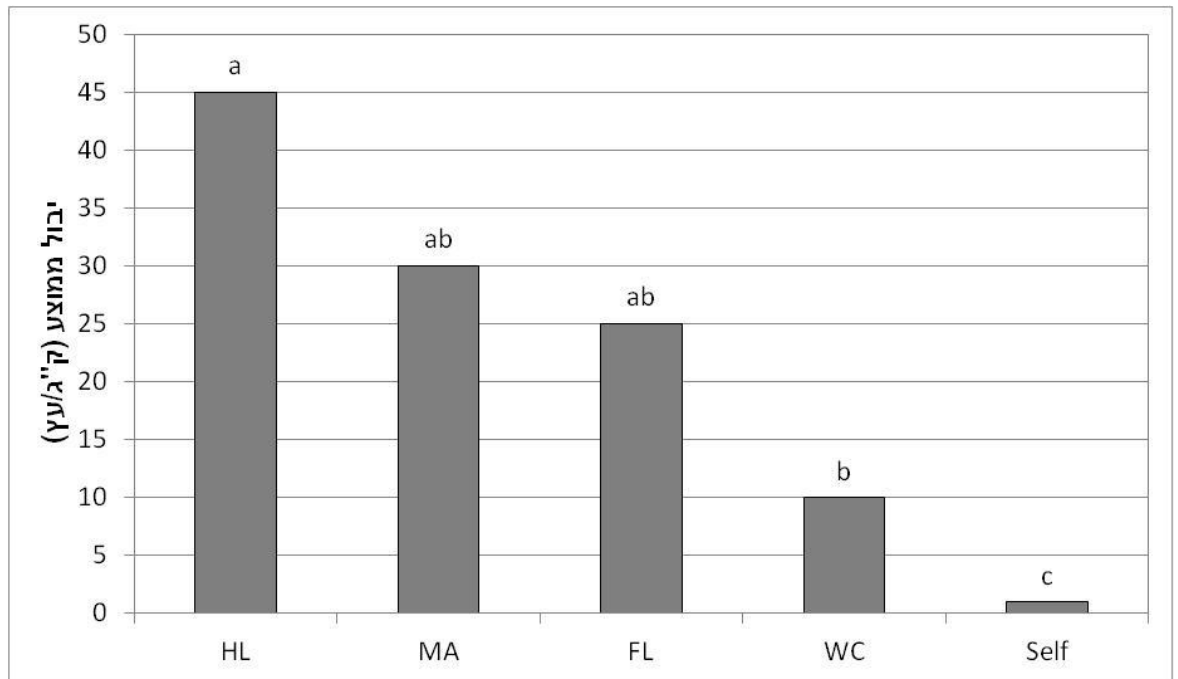
מאוריציוס – הזן השני בחשיבותו שנמצא כמפרה טוב לתמוז הוא הזן מאוריציוס. במטע המסחרי במורן, בו נטועים עצי תמוז ומאוריציוס לסירוגין לאורך כל השורות, היבול המסחרי בתמוז גבוה יחסית, והשנה הוא אף היה גבוה במיוחד (כ-40 ק"ג/עץ = כמעט 2 טון/ד'). גם בניסוי שלנו ברביד התקבלה תוצאה טובה יחסית של כ-30 ק"ג/עץ עם מפרה זה. מעניין שהמאוריציוס כמפרה ל-FZS נמצא חלש ביותר (סעיף קודם) ואילו כמפרה לתמוז הוא טוב. מכאן שיש להיזהר בקביעת המושג של מפרה טוב או לא טוב – השאלה היא רק עבור מי.

פלורידני – נתן יבול בינוני עד חלש בעצי התמוז.

WC – נתן יבול חלש מאוד בעצי התמוז.

האבקה עצמית – יבול כמעט אפסי.

איור 2. יבול עצי תמוז מכוסים ברשת עם מפרים שונים, רביד 2020.

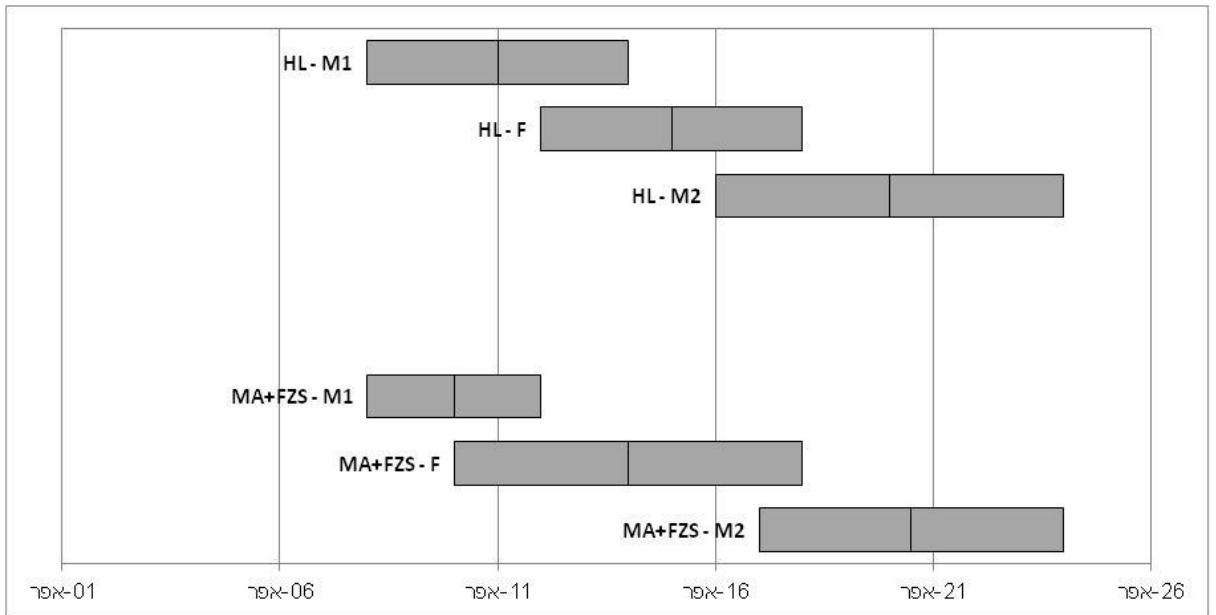


סיכום ביניים של הפריה תחת רשתות –

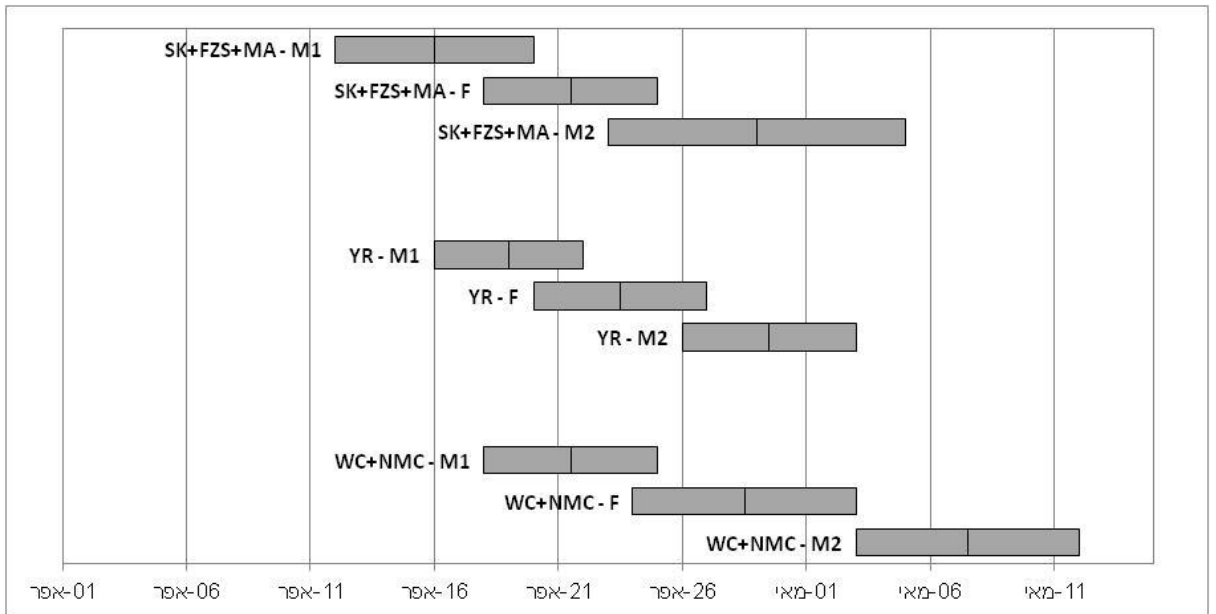
האבקה זרה נמצאה כטובה יותר מהאבקה עצמית בשלושת הזנים הנקביים שנבדקו: מאוריציוס, FZS ותמוז. אם במאוריציוס עוד אפשר לקבל יבול סביר ע"י האבקה עצמית (וכמובן לשפרו ע"י האבקה זרה), הרי שבשני הזנים האחרים אין כמעט אפשרות לכך, כלומר חייבת להיות בהם האבקה זרה. עם זאת, למדנו שכל זן זקוק למפרה האופטימלי שלו. כך למשל ה-FZS נתרם מאוד מה-HL כמפרה וכלל לא מהמאוריציוס. התמוז לעומת זאת נהנה אף הוא מה-HL כמפרה, אך להפתעתנו גם מהזן מאוריציוס (כך שלא ניתן לומר על זן מסויים שהוא מפרה טוב או לא, תלוי למי). בשלב זה נראה כי הזן HL טוב כמפרה לכולם – הצטיין במאוריציוס, ב-FZS ובתמוז, ומלבד זאת הוא עצמו זן מסחרי בעל פוריות גבוהה מאוד.

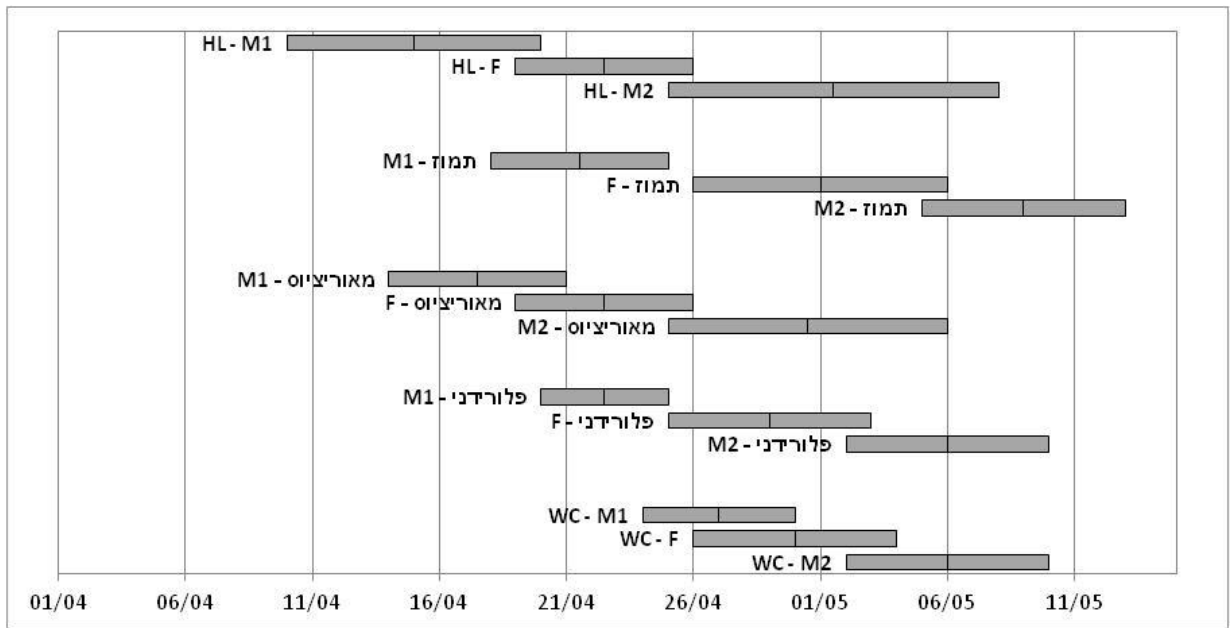
איור 3. פנולוגיית הפריחה במורן 2020. א) בחלקה מזרחית, ב). בחלקה מערבית.

א.



ב.





II. פיתוח סמנים גנטיים לזיהוי ההורה המפרה של הזנים מאוריציס, FZS ותמוז –

על מנת לאתר באופן ודאי באנליזה מולקולרית את הזן שהפרה את הפרח ליצירת הפרי יש לאתר סמנים גנטיים. בעבודתנו הקודמת (שטרן וחובי' 2018) הצלחנו לאתר סמנים גנטיים אשר יבדילו בין האבקה עצמית של הזן מאוריציס לבין האבקה של זנים זרים כמו הונג-לונג ופלורידני על בסיס עבודה מוקדמת לזיהוי זני ליציי בשיטת SSR (Viruel and Hormaza, 2004). מנגד, הנסיון למצוא סמנים אשר יבדילו בין הזנים מאוריציס FZS ותמוז כשל. אי לכך, התחלנו בפיתוח סמנים חדשים על בסיס עבודה שבמסגרתה אופיינו מעל 5800 גנים של ליציי באמצעות קביעת רצף באחת משיטות של "הדור הבא" (Next generation sequencing technology, Li et al., 2013). מכאן שמצויים רצפים רבים שבאמצעותם ניתן לאתר SNPs ספציפיים לכל זן, כפי שעשינו לאחרונה עבור זני אבוקדו בארץ (Stahl et al., 2019). עבודה זאת הינה בשלביה הראשונים והמסלול הוא כלהלן:

הפקת דנ"א מהצאצאים

בעבודתנו הקודמת על הזן מאוריציס הצלחנו להפיק דנ"א של הצאצאים רק לאחר הנבטת הזרעים וגידול שתילון, כאשר הדנ"א הופק מהעלים הצעירים. הניסיונות שלנו להנביט זרעי FZS נכשלו עד כה. ככל הנראה האופי המצומק של הזרעים מהווה בעיה לגדילת שתיל מזן זה (ייתכן כי עובר הזרע המנוון ב-FZS מת בשלב כלשהו בגידול הפרי). לפיכך ניסינו השנה מספר שיטות להפקת דנ"א מהזרע, (גישה שבעבר נכשלו בה בזן מאוריציס). בחנו הפקה באמצעות שני פרוטוקולים מבוססי CTAB המותאמים לזרעים (במיני צמחים שונים אחרים) ושני קיטים להפקת דנא מחברות שונות. התוצאות הטובות ביותר התקבלו באמצעות קיט Genomic DNA Extraction kit for Plant (RBC Bioscience. Cat – YGB100). כמויות הדנא שהתקבלו נעו בין ננוגרמים בודדים לעשרות ננוגרמים באיכות בינונית אך ברמה המספקת לביצוע PCR.

מציאת סמנים גנטיים לאפיון אבהי

בשנה שעברה ריצפנו אינטרוניים בגן LFY ע"מ למצוא שינויים נקודתיים (SNP Single Nucleotide Polimorphism) שימשו כסמן גנטי. על אף שנמצאו כמה שינויים באינטרוניים של הזנים השונים הם היו מעטים ומפוזרים, כך שלא הצלחנו לייצר פרימרים ספציפיים לזן לביצוע PCR מבחין וגודל הרצפים היה זהה כך שלא ניתן היה להבחין בניהם על פי אורך התוצר. המשמעות היא שיש צורך לרצף כל צאצא מספר פעמים בשל האופי ההטרוזיגוטי של הליציי – תהליך שאינו ריאלי מבחינת עלויות הזיהוי של מאות צאצאים. מכיוון שהמידע הגנטי בליציי דל ביותר בחרנו לאפיין רצפי טרנספוזונים בתור סמנים. רצפים אלו נפוצים בצמחים במספר רב של עותקים ו"קפיצה" שלהם בגנום עשויה ליצור מחיקות או החדרות גדולות הניתנות לאפיון פשוט באמצעות PCR. שלבי השיטה הם :

1 – שימוש בפרימרים קצרים מאיזורים שמורים בטרנספוזון על מנת ליצור "טביעת אצבע" לכל זן (Kalendar et al., 2010).

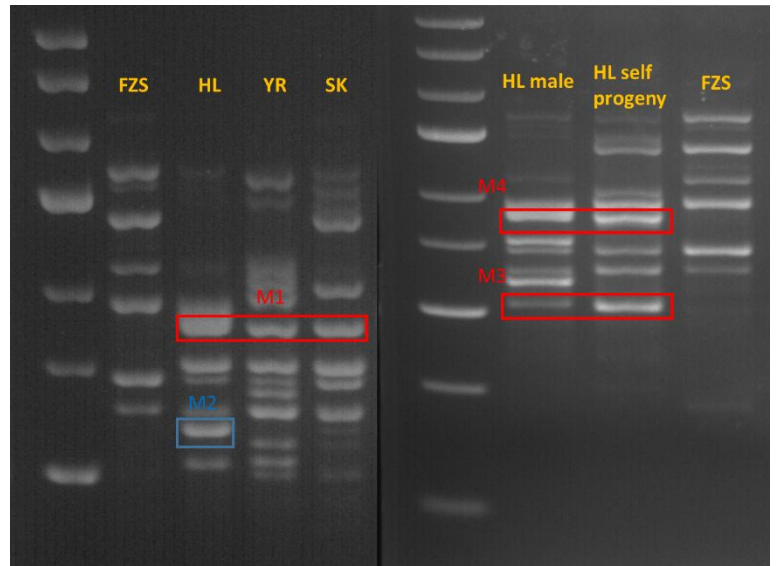
2 – מציאת תוצריי PCR ייחודיים לזן, הפקה מהגיל וריצוף.

3 – תיכנון פרימרים ספציפיים עפ"י הריצוף ובחינתם על צאצאי הפרייה עצמית של הזן המפרה על מנת לאפיין סמנים הומוזיגוטיים.

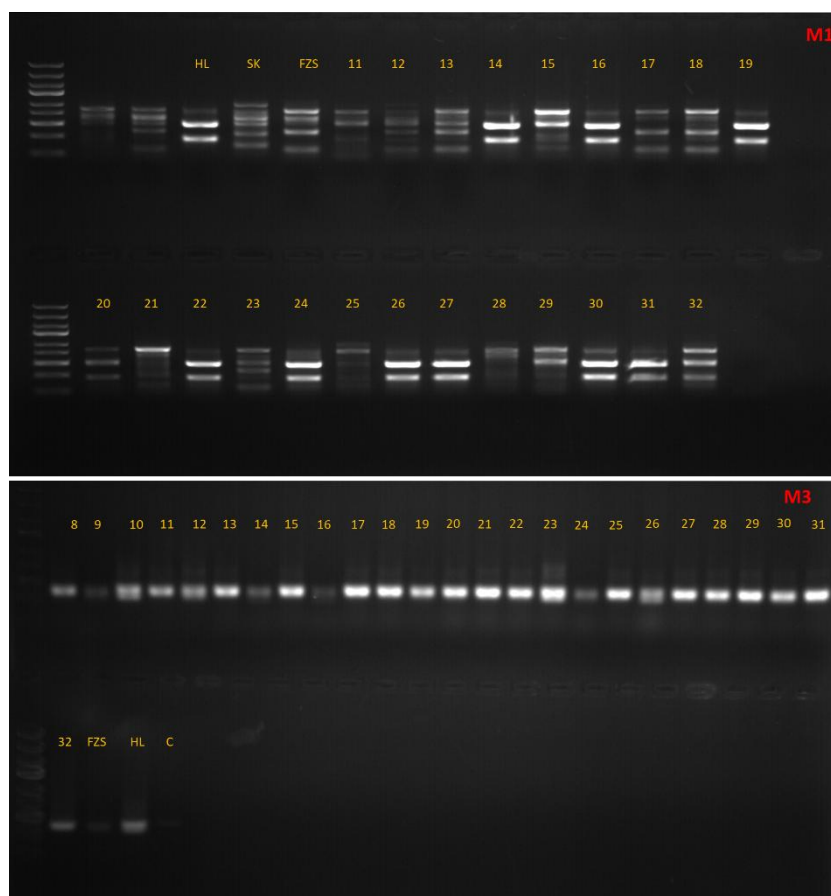
4 – בחינת הסמן על צאצאים מניסויי ההפריה.

ל בחינת הגישה התמקדנו בניסוי הפריית FZS ע"י HL. השווינו "טביעות אצבע" גנטיות המבוססות על טרנספוזונים שונים ומצאנו מספר בנדים השונים בין FZS ל HL.

איור 5 – טביעת אצבע גנטית של רצפי טרנספוזונים בזנים שונים. סמן M1 משותף לכל המפרים אך לא קיים בזן המופרה FZS. סמנים M2, M3, M4 ספציפיים לזן המפרה HL.



איור 6 - בדיקת נוכחות סמנים M1 ו M2 בצאצאי הפרייה של HL כאמא.



באיור 6 ניתן לראות כי הסמן M1 (נראה כשני פסים חזקים בלבד) כפי שהוא מופיע בהורה HL, לא מופיע בכל צאצאי ההפרייה של HL כאמא, ומכאן שהוא אינו הומוזיגוט בהורה. לעומת זאת, סמן M3 מופע בכל הצאצאים של HL וכפי הנראה הוא הומוזיגוט בזן זה ולא מופיע בזן FZS כך שניתן יהיה להשתמש בו להבחין בין תוצרי הפרייה זרה ועצמית.

דין

העלאת יבולי הליצ'י, בעיקר בזן המרכזי מאוריציוס אך גם בזנים החדשים והמבטיחים כמו FZS ותמוז, מהווה אתגר גדול בישראל ובכל הארצות שמגדלות ליצ'י. בעבודת מחקר זו, המתבססת על תוצאות המחקר הראשון שנעשה בין השנים 2016-2018 (שטרן וחוב' 2018) אנו מנסים לשפר את פוריות הזנים השונים ע"י התמקדות בשני נושאים מרכזיים:

1. איתור הזן המפרה המצטיין עבור כל זן מטרה שנראה מבטיח במסחר (כרגע מדובר על הזנים FZS ותמוז, אך "יש בקנה" עוד מספר זנים מעניינים וחשובים בעלי פוטנציאל כלכלי גבוה כמו נו-מאי-צ'י, פרינס, סא-קנג ועוד).
2. ע"י פיתוח סמן גנטי ספציפי (SNP) לכל זן, מאביק ומואבק, כדי שנוכל לאתר באופן וודאי (בזרעי הפירות שיווצרו) את הזן שהצטיין כמפרה.

מתוצאות השנתיים הראשונות של המחקר הנוכחי (2019+2020) עולה כי אכן כל הזנים שנבחנו (מאוריציוס, FZS ותמוז) הגיבו היטב להאבקה זרה, כלומר שיפרו משמעותית את יבולייהם לאחר האבקה זרה. אם במאוריציוס עוד אפשר לקבל יבול סביר ע"י האבקה עצמית (וכמובן לשפרו ע"י האבקה זרה), הרי שבשני הזנים האחרים אין כמעט אפשרות לכך. מצאנו כי בזנים FZS ותמוז חייבת להיות האבקה זרה, שאם לא כן לא מתקבל כל יבול. עם זאת למדנו שכל זן זקוק למפרה האופטימלי שלו. כך למשל הזן FZS "נהנה" מאוד מהזן הונג לונג כמפרה, אך כלל לא מהזן מאוריציוס כמפרה. התמוז לעומת זאת "נהנה" אף הוא מהזן הונג לונג כמפרה, אך להפתעתנו מגיב באופן חיובי גם למאוריציוס כמפרה. מכאן שלא ניתן לומר על מפרה מסוים שהוא טוב או לא טוב – תלוי לאיזה זן נקבי מתייחסים. למרות המסקנות שנאמרו לעיל, שהתבססו על האבקת זוגות עצים תחת רשתות, עדיין לא הגענו לאיתור הסמן הייחודי (SNP) עבור כל אחד מהזנים שאיתם עבדנו. עם זאת, הצלחנו לאחרונה לאתר סמן גנטי אחד (M3) שיאפשר לנו להפריד בין צאצאי FZS עצמיים לכאלו שהתקבלו ע"י המפרה HL. בשנת הניסויים השלישית נמשיך באיתור סמנים גנטיים נוספים וייחודיים לכל אחד מהזנים בניסוי, ונתחיל לעבוד על הפירות שאספנו במהלך 2020 (ובפירות שיאספו ב-2021) כדי לזהות באופן וודאי את המפרה של כל אחד מהם (אנחנו מצפים שתהיה התאמה בין תוצאות היבול בשטח לתוצאות הזיהוי הגנטי במעבדה).

מבין הזנים החדשים שבדקנו כמפרים וכאלו שרק עקבנו אחר פוריותם ואיכות פירותיהם, נראה כי לזן סא-קנג שהצטיין כמפרה ל-FZS, יש פוטנציאל מעניין מאוד כזן (נקבי) בפני עצמו – פוריותו גבוהה ויציבה, הפרי שלו צבעוני, גדול ואיכותי, והזרע שלו בגודל קטן יחסית.

ספרות מצוטטת

1. גורן מ, 2013. יתרונות בגידול זני ליצי אחרים ממאוריציוס. עלון הנוטע 67 (2) : 44-42.
2. גורן מ, גזית ש. 1994. זני ליצי חדשים ומבטיחים בישראל, תאור הערכה והמלצות. עלון הנוטע 48 (5) : 206-202.
3. גורן מ, דגני ע, תומר א. 2002. הרכב הזנים במטע הליצי העתידי בישראל. עלון הנוטע 56 (6) : 268-265.
4. **נוי מ.** (2020). ענף הליצי תמונת מצב : נובמבר 2020. עלון הנוטע 74 (10) : 20-21.
5. פחימה ע, לווינקרון ס, ליכטר א, **שטרן ר**, אייל י, גורן מ, הרפז ס. (2017). התפתחות הפרי והקליפה בזני הליצי 'הונג לונג' ומאוריציוס. עלון הנוטע 71 (7) : 32-36.
6. **שטרן ר**, גורן מ, **נוי מ**, מורן י, **ספיר ג**, **גולדווי מ.** (2018). שיפור פוריות זן הליצי המרכזי מאוריציוס ופיתוח טכנולוגיות גידול לזנים חדשים, מוקדמים ומאוחרים, להרחבת עונת השיווק ולהגדלת הרווחיות – דוח סופי למדען.
7. **שטרן ר**, **נוי מ**, **ספיר ג**, **גולדווי מ**, **רז א.** (2019). שיפור פוריות זני ליצי חדשים ע"י איתור מפרה מצטטיין לכל זן – דוח שנה ראשונה למדען.
8. **שטרן ר**, **ספיר ג**, **גולדווי מ**, בר-סיני נ, גורן מ, **נוי מ**, מורן י. (2017a). תוספת דבורי בומבוס למטע ליצי להעלאת היבול והגדלת הפרי. עלון הנוטע 71 (10) : 24-28.
9. **שטרן ר**, **ספיר ג**, **גולדווי מ**, בר-סיני נ, גורן מ, **נוי מ**, מורן י. (2017b). השפעת מפרים שונים לשיפור פוריות הליצי מזן מאוריציוס. עלון הנוטע 71 (11) : 48-52.

10. Fachima, A. Levinkron, S., Meital, Y, Hugger, A., Lax, I., Huang, X., Eyal, Y., Lichter, A., Goren, M., **Stern, R.A.**, Harpaz, S. 2019. Cytokinin treatment modifies litchi fruit pericarp anatomy leading to reduced susceptibility to post-harvest pericarp browning. *Plant Science* 283: 41-50.
11. Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., and Schulman, A. H. (2010). iPBS: A universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theor. Appl. Genet.* 121, 1419–1430. doi:10.1007/s00122-010-1398-2.
12. Li, C., Wang, Y., Huang, X., Li, J., Wang, H. and Li, J. 2013. De novo assembly and characterization of fruit transcriptome in *Litchi chinensis* Sonn and analysis of differentially regulated genes in fruit in response to shading. *BMC Genomics*
<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/552>.
13. Sapir, G., Goldway, M., **Stern, R.A.** 2019. Supplementing bumblebees to Mauritius lychee improves yield. *Scientia Hort.* 251:162-166.
14. Stahl, P., Lev- Mirom, Y., **Stern, R.A.**, and Goldway, M. 2019. Comparing Iriet and Ettinger avocado cultivars as pollinators of Hass using SNPs for paternal identification. *Scientia Hort.* 248: 50-57.
15. Viruel , M. A. and Hormaza J. I. 2004. Development, characterization and variability analysis of microsatellites in lychee (*Litchi chinensis* Sonn., Sapindaceae). *Theor Appl Genet* (2004) 108:896-902.

מטרות המחקר לתקופת הדוח

לימוד פוטנציאל ההפריה של הזנים החדשים (תמוז ו-FZS) והקיימים (מאוריציוס), וניסיון לעמוד על תרומתה האפשרית של ההפריה הזרה מזנים שונים בהשוואה להפריה עצמית הקיימת היום במרבית המטעים המסחריים בעולם.

עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדוח

להשגת המטרה ערכנו במקביל ניסויים שונים – האבקות טבעיות, האבקות זוגות עצים מזנים שונים תחת רשתות עם כוורת דבורי בומבוס בכל זוג, ואיתור סמנים גנטיים חדשים וייחודיים לכל זן. בזן המרכזי מאוריציוס מצאנו שהזן החדש יחסית 'הונג לונג' (HL) יכול לשמש כמפרה מצוין ולשפר משמעותית את יכולי המאוריציוס. בזן החדש FZS, שכמעט ואיננו פורה ולכן לא נטוע במטעים המסחריים, מצאנו כי ניתן לשפר משמעותית את היבול ע"י אחד משני הזנים המפרים – 'הונג לונג' (HL) או 'סא-קנג' (SK), אך לא ע"י 'מאוריציוס'. עם זאת, עדיין לא הצלחנו לפתח סמן גנטי שיכול להוכיח לנו את התוצאה הזו בוודאות. בזן תמוז המצטיין, שאף הוא סובל מפוריות לקויה, מצאנו שהזן המסחרי מאוריציוס יכול לשמש לו כמפרה טוב, וע"י כך לשפר לו את הפוריות, אך הזן HL נמצא כמפרה המצטיין גם עבור התמוז.

מסקנות מדעיות

העלאת יבולי הליצי, בעיקר בזן המרכזי מאוריציוס אך גם בזנים החדשים והמבטיחים כמו FZS ותמוז, מהווה אתגר גדול בישראל ובכל הארצות שמגדלות ליצי. בעבודת מחקר זו, המתבססת על תוצאות המחקר הראשון שנעשה בין השנים 2016-2018 (שטרן וחוב' 2018) אנו מנסים לשפר את פוריות הזנים השונים ע"י התמקדות בשני נושאים מרכזיים:

1. איתור הזן המפרה המצטיין עבור כל זן מטרה שנראה מבטיח במסחר (כרגע מדובר על הזנים FZS ותמוז, אך "יש בקנה" עוד מספר זנים מעניינים וחשובים בעלי פוטנציאל כלכלי גבוה כמו נו-מאי-צי, פרינס, סא-קנג ועוד).
 2. ע"י פיתוח סמן גנטי ספציפי (SNP) לכל זן, מאביק ומואבק, כדי שנוכל לאתר באופן וודאי (בזרעי הפירות שיווצרו) את הזן שהצטיין כמפרה.
- מתוצאות השנתיים הראשונות של המחקר הנוכחי (2019+2020) עולה כי אכן כל הזנים שנבחנו (מאוריציוס, FZS ותמוז) הגיבו היטב להאבקה זרה, כלומר שיפרו משמעותית את יבוליהם לאחר האבקה זרה. אם במאוריציוס עוד אפשר לקבל יבול סביר ע"י האבקה עצמית (וכמובן לשפרו ע"י האבקה זרה), הרי שבשני הזנים האחרים אין כמעט אפשרות לכך. מצאנו כי בזנים FZS ותמוז חייבת להיות האבקה זרה, שאם לא כן לא מתקבל כל יבול. עם זאת למדנו שכל זן זקוק למפרה האופטימלי שלו. כך למשל הזן FZS "נהנה" מאוד מהזן הונג לונג כמפרה, אך כלל לא מהזן מאוריציוס כמפרה. התמוז לעומת זאת "נהנה" אף הוא מהזן הונג לונג כמפרה, אך להפתעתנו מגיב באופן חיובי גם למאוריציוס כמפרה. מכאן שלא ניתן לומר על מפרה מסוים שהוא טוב או לא טוב – תלוי לאיזה זן נקבי מתייחסים. למרות המסקנות שנאמרו לעיל, שהתבססו על האבקות זוגות עצים תחת רשתות, עדיין לא הגענו לאיתור הסמן הייחודי (SNP) עבור כל אחד מהזנים שאיתם

עבדנו. עם זאת, הצלחנו לאחרונה לאתר סמן גנטי אחד שיאפשר לנו להפריד בין צאצאי FZS עצמיים לכאלו שהתקבלו ע"י המפרה HL. בשנת הניסויים השלישית נמשיך באיתור סמנים גנטיים נוספים וייחודיים לכל אחד מהזנים בניסוי, ונתחיל לעבוד על הפירות שאספנו במהלך 2020 (ובפירות שיאספו ב-2021) כדי לזהות באופן וודאי את המפרה של כל אחד מהם (אנחנו מצפים שתהיה התאמה בין תוצאות היבול בשטח לתוצאות הזיהוי הגנטי במעבדה).

מבין הזנים החדשים שבדקנו כמפרים וכאלו שרק עקבנו אחר פוריותם ואיכות פירותיהם, נראה כי לזן סא-קנג שהצטיין כמפרה ל-FZS, יש פוטנציאל מעניין מאוד כזן (נקבי) בפני עצמו – פוריותו גבוהה ויציבה, הפרי שלו צבעוני, גדול ואיכותי, והזרע שלו בגודל קטן יחסית.

הבעיות שנתרו לפתרון

1. להמשיך בפיתוח סמן גנטי ייחודי לכל זן, ולהתחיל בבדיקת הפירות שנדגמו בשנה שעברה (2020) והפירות שיידגמו השנה (2021).
2. להמשיך בניסיונות האבקה (ידנית וטבעית), כדי לאתר את הזן המפרה המצטיין לכל זן מטרה.

האם הוחל כבר בהפצת הידע?

הרצאות למגדלים ב-7/4/2020, 16/2/2021 וקורסים של משרד החקלאות

פרסום הדוח – ניתן לפרסמו ללא הגבלה.