

בחנינת פתרונות לקבלת קליפה איכותית בתפוחי אדמה בעמק החולה

דוח שנתי מוגש: למו"פ צפון. דצמבר 15, 2018

מאת: עדיית גינזברג (iditgin@volcani.agri.gov.il) – פיסולוגיה של תפוחי אדמה ואיכות קליפה של הפקעות

• הקדמה

אחת מהבעיות העיקריות המטרידות כיום את ענף תפוחי אדמה הינה איכות קליפה ירודה הנובעת מגורמים פיסולוגיים (אינטראקציה של זן וסביבה), והפוגעת במראה הפקעת לשיווק ועמידות הפקעת לאחסון, גם אם למועדים קצרים. הרחבת סל המוצרים לשוק המקומי מחייבת בחינה של התאמת זנים לקרקעות הייחודיות של גד"ש החולה בהקשר של איכות קליפה – קליפה יציבה, מניעת אובדן מים והורקה, ובחינה של ממשקים אגרוטכניים לקבלת קליפה בעלת מראה יפה לשיווק – קליפה חלקה וגוון אופייני לזן. שוק המטרה הינו הגידול האביבי שמאופיין בתנאי החום ששוררים בחודשים מאי-יוני, ושלעצמם פוגעים בהתפתחות הפקעות ואיכות קליפה.

מטרת המחקר הכללית הינה בחינה של איכות קליפה של מדגם זנים לבנים ואדומים המיועדים לגידול בגד"ש החולה, בשלוש קרקעות האופייניות לאזור (כבול, אגם ומינרלית), ובחינה של טיפולי דישון וטיפולי סוף גידול במטרה לפתח פרוטוקול שיאפשר קבלת קליפה איכותית לשיווק. בשנת המחקר הראשונה הועמדו ניסויים בשתי קרקעות, כבול ומינרלית ונערך איפיון ראשוני של הזנים בהקשר של יכולת ואיכויות קליפה.

• שיטות

קרקעות – פקעות נזרעו באדמה מינרלית קלה בחלקת 'משולש 9' בסאסא (כרב: חיטה לשחת 2017), ובאדמת כבול בחלקה של 'מוקד מחקרים' גד"ש החולה. בסאסא ניתן דשן יסוד: קומפוסט 4 קוב לדונם, תאריך זריעה: 06/02/2018, תאריך תילול: 10/02/2018, השקייה: מערכת המטרה זעירה מגה - נט נטפים הצבות 10*10.

הזנים הנבחרים – זנים אדומים: דזירה, רודיאו, מוצרט, ממפיס, אבולושן, רד ולנטיין, קנברה ורוזאנה; זנים לבנים: סיפרה, קפטן טייסון, ג'ולי ולוסינדה. הזנים המסומנים בקו תחתי נדגמו בשני מועדים במהלך הגידול כמפורט למטה. תאריך שריפת נוף זנים בכירים (רוזנה, לוסינדה, קנברה, ג'ולי, טייסון, קפטן): 22/05/2018; תאריך שריפת נוף זנים אפילים (סיפרה, רד ולנטיין, אבולושן, ממפיס, מוצארט, רודיאו, דזירה): 29/05/2018.

מועדי גידול ודיגום – פקעות בתחילת התעוררות נזרעו ב 6 לפברואר 2018, גודל זרעים 35-55, ואומד זרעים למטר רץ היה 4.3. פקעות נדגמו בשני מועדים: במועד של 90 יום לאחר זריעה (7 למאי), בשלב התפתחותי בו קליפת הפקעת נמצאת בשיא חלוקות התאים, ובמועד של 120 יום לאחר זריעה (4 ביוני) סמוך למועד שריפת הנוף, בשלב התפתחותי של קליפה בוגרת ומתייצבת.

הדיגום – בכל מועד נאספו פקעות מ 2 מטר ערוגה. הדיגום נעשה בארבע חזרות לכל זן ולכל חלקה. מכל דיגום נבחרו 10 פקעות גדולות ביותר (ליצור אחידות בדיגום) לשקית נייר, והן הועברו עוד באותו היום למעבדה של ע.ג. במרכז וולקני.

נתוני יכולת של סוף גידול, והערכה של מראה קליפת הפקעות נמסרו ע"י עומר דינר מסאסא.

אנליזה של הקליפה – הפקעות צולמו ומכל פקעת נלקחה קוביית רקמה מפני שטח הפקעת לאנליזה היסטולוגית. בנוסף נאספה קליפה של פקעות לאנליזה מולקולארית – עבור גנים סמנים להתפתחות קליפה והן עבור גנים לביוסנתזה של הפיגמנט האדום של הקליפה.

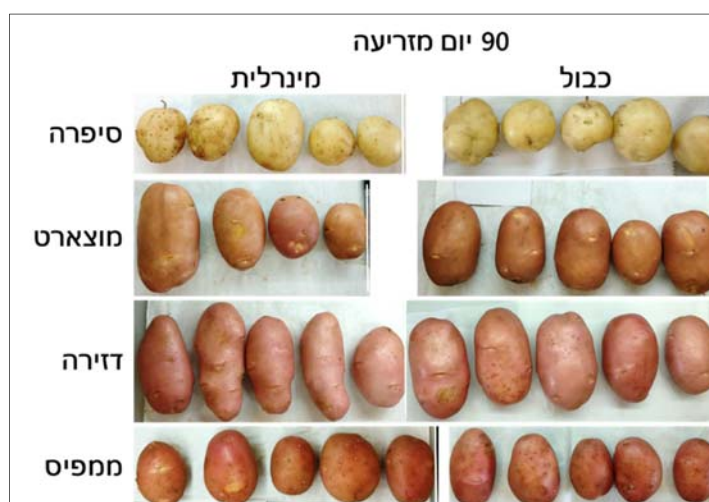
• תוצאות

בטבלה 1, מוצגת רשימת הזנים שנבחנו בגד"ש סאסא, כולל נתוני יכול, דרגת קליפות הקליפה, והתרשמות של המגדל באם להמשיך את בחינת הזן בשנה הבאה. בהתייחס לקליפה של פקעות במועד האסיף, ועבור 4 הזנים שנדגמו במהלך הניסוי (דזירה, מוצארט, ממפיס וסיפרה – פונט אדום), הקליפה של הזן מוצארט הייתה בעייתית ביותר – לא יציבה, וגון קליפה עמום במקום אדום.

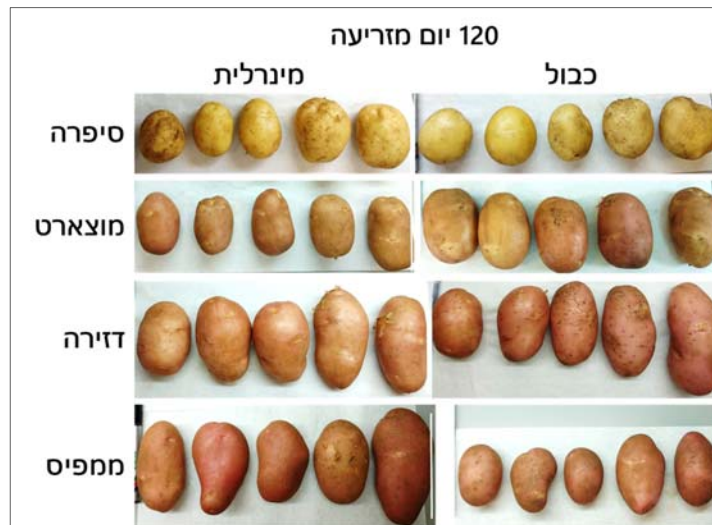
טבלה 1. רשימת הזנים שנבחנו בקרקע מינרלית בגד"ש סאסא. זנים אדומים סומנו ברקע ורוד, זנים לבנים בלבן, זנים עם גון קליפה אדום-סגול ברקע סגול והזן הכתום ברקע תואם. הזנים שנדגמו במהלך העונה מסומנים בפונט אדום. הטבלה מכילה נתוני בכירות/אפילות, יכול שהתקבל בסוף העונה, ונתוני קליפות וצבע. השורה האחרונה עם כותרת 'התרשמות ראשונית' מתייחסת להערכת המגדל האם יש להמשיך עם הזן ברמה מסחרית (+), האם הזן דורש בדיקה חוזרת (\pm) או שיש לדחותו (-)

שם הזן	זנייה	חזיאו	מוצרט	ממפיס	אבולושן	רד ולנטיין	סיפרה	קפטן	טייסון	גולי	קנברה	לוסינדה	חזנה
בכיר/אפיל	אפיל	אפיל	אפיל	אפיל	בכיר	בכיר	אפיל	בכיר	בכיר	בכיר	בכיר	בכיר	בכיר
יכול אסיף טון לזנים	4.9	6.05	4.6	6.35	6.7	4.45	6.1	6.3	5.45	6.1	4.72	6.66	7.01
קליפה	יציבה	יציבה	לא יציבה	יציבה	יציבה	לא יציבה	גבולית	לא יציבה	יציבה	גבולית	יציבה	גבולית	יציבה
צבע	יפה	יפה מאוד	עמום	יפה מאוד	יפה	עמום	יפה	יפה	יפה מאוד	יפה	עמום	יפה מאוד	סביר
התרשמות ראשונית	+	+	\pm	+	\pm	-	+	\pm	\pm	\pm	-	\pm	\pm

תמונת הפקעות ממועד דיגום של 90 יום (איור 1) ממחישה את ההבדל בגון הקליפה ובמבנה הפקעת של הזנים שנבחנו בשתי הקרקעות, מינרלית וכבול. אין הבדל מהותי בגודל הפקעות משתי הקרקעות, וגון הפקעות נדמה כזה יותר באדמת הכבול. עבור הזן מוצארט, כבר בשלב זה הקליפה נראית נוטה לגוון חום, שמתעצם בקרקע הכבול. במועד האסיף, 120 יום מזריעה (איור 2), קליפת הפקעות נראית פחות יפה. עבור הזנים האדומים: בפקעות מקרקע מינרלית הקליפה אינה יציבה וניתן לראות קליפות, בפקעות מקרקע כבול הקליפה נראית סדוקה. גם במועד זה גון הפקעות מקרקע כבול נראה כזה יותר, וגון הקליפה של מוצארט נוטה לחום. פקעות של הזן הלבן סיפרה, מראות חספוס קל בשתי הקרקעות, כאשר בקרקע המינרלית ניתן להבחין בעדשתיות מוגברת.

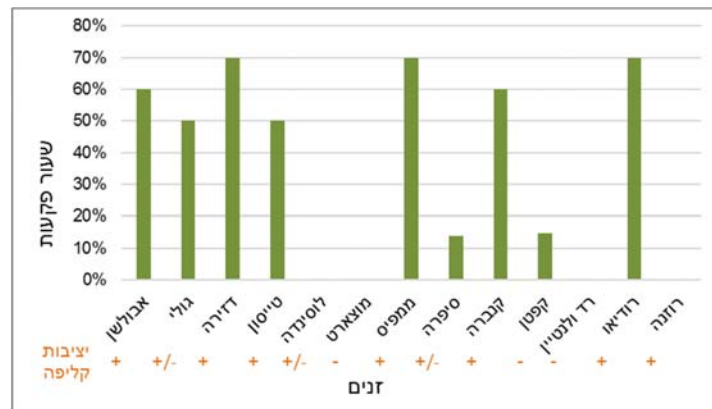


איור 1. מראה פקעות מייצגות מקרקע מינרלית (שמאל) וכבול (ימין) שנדגמו במועד 90 יום מזריעה



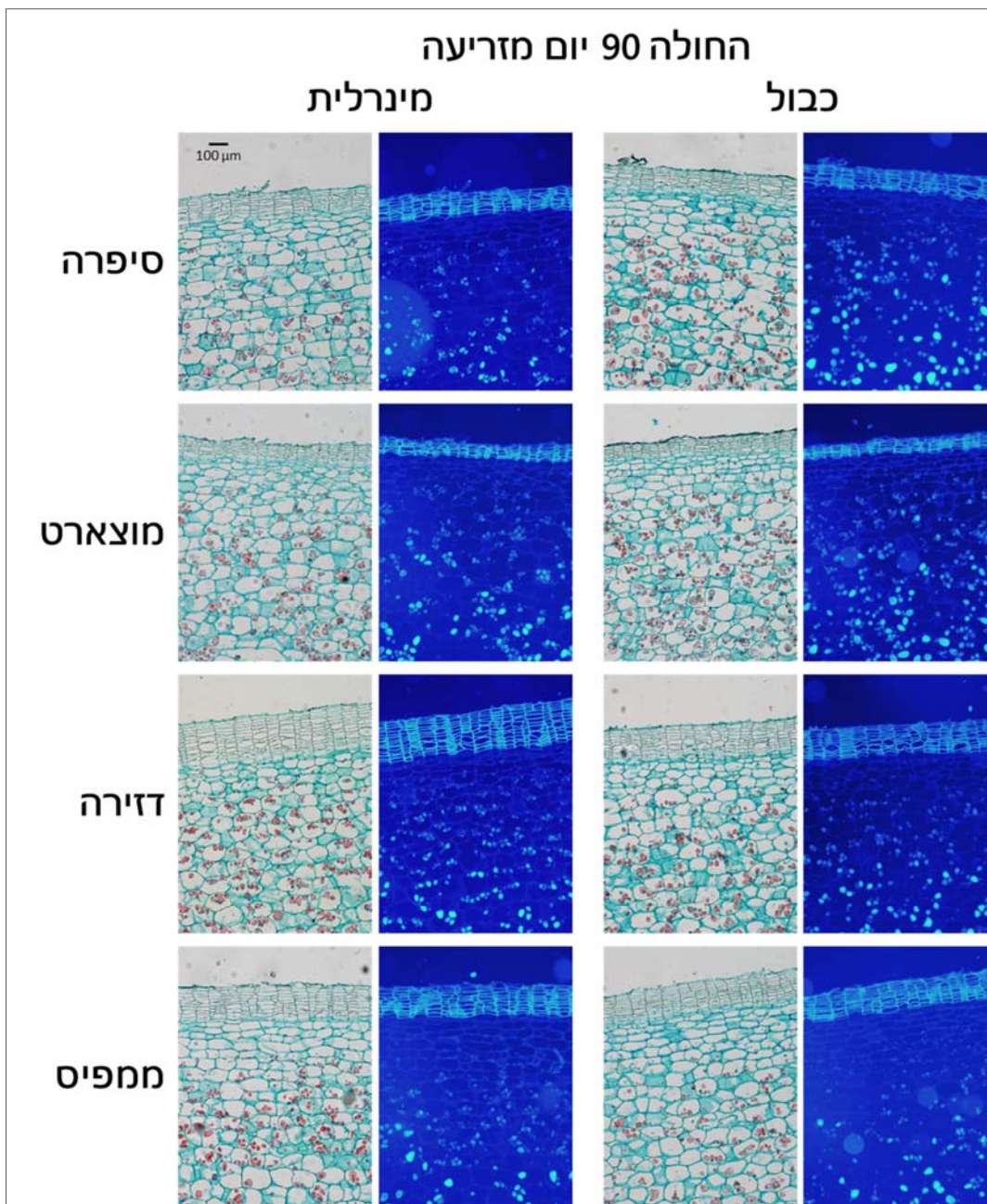
איור 2. מראה פקעות מייצגות מקרקע מינרלית (שמאל) וכבול (ימין) שנדגמו במועד 120 יום מזריעה

שעור הפקעות האיכותיות שנאספו מגד"ש סאסא בסוף העונה מוצג באיור 3. עבור רודיאן, ממפיס ודזירה, שעור הפקעות מאיכות א' לשיווק הגיע ל 70%. לעומתם, היבול של רוזאנה, רד ולנטיין, מוצארט ולוסינדה היה קליף והופנה לתעשייה. זנים אחרים נתנו רמות ביניים. ישנו מתאם בין איכות הפקעות לשיווק ודרגת יצוב הקליפה, מלבד רוזאנה בה מראה הקליפה, גם אם יציבה, ירוד.



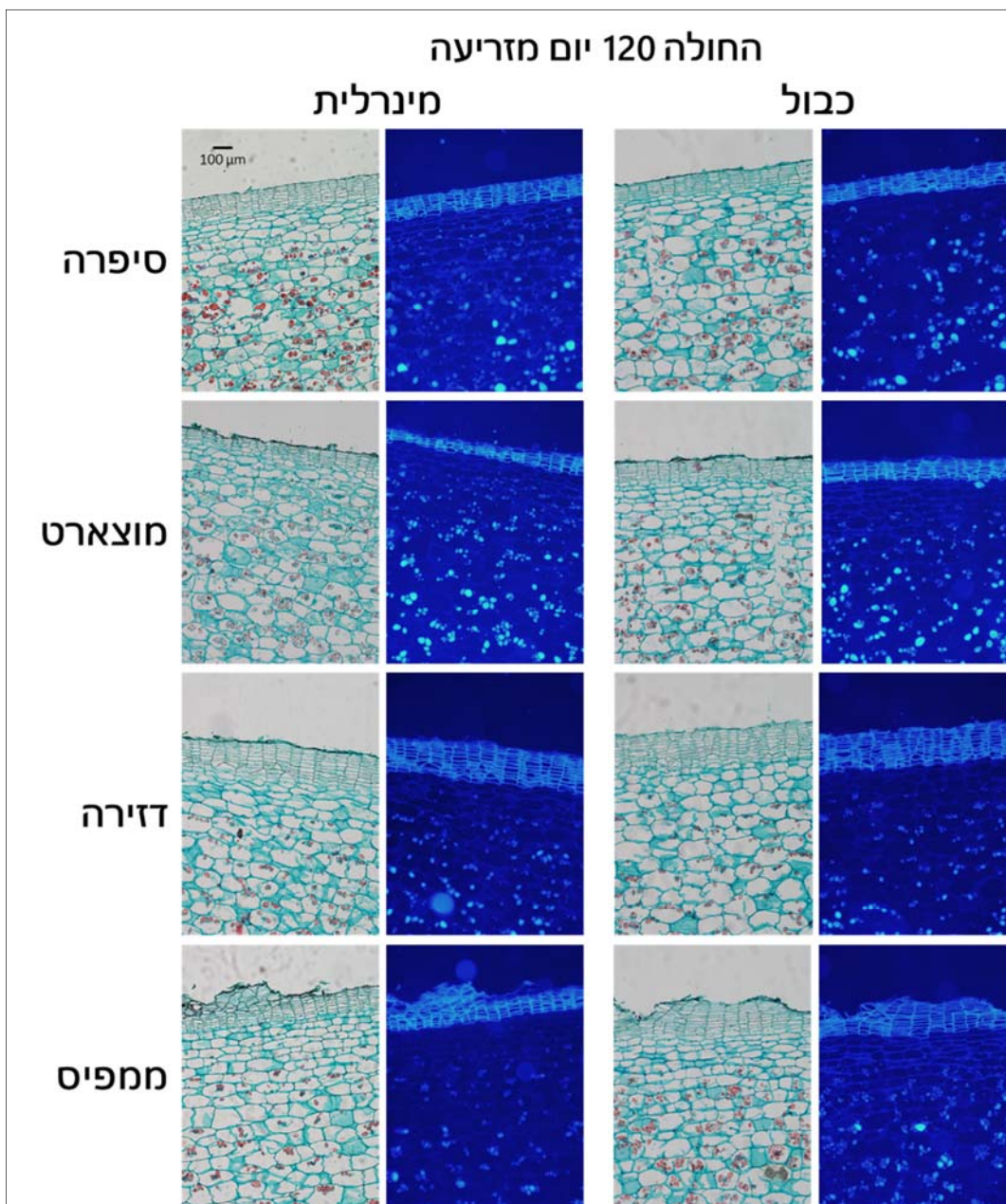
איור 3. שעור פקעות מאיכות א' שהתקבלו מקרקע מינרלית בגד"ש סאסא. בכתום, הערכת מגדל את יציבות הקליפה: יציב (+), קליף (-), וקליפות חלקית (+/-)

בבחינה של המבנה האנטומי של הקליפה נמצאו אבחנות תואמות להערכת המגדל במועד האסיף. האנליזה ההיסטולוגית נערכה עבור פקעות מדיגום 90 יום (קליפה "צעירה", איור 4) ופקעות מדיגום 120 יום (איור 5). עבור דיגום 90 יום ובקרקע מינרלית, לדזירה קליפה עבה ביותר (13 שכבות תאים בממוצע) בהשוואה למוצארט שלו קליפה דקה ביותר (6 שכבות תאים), ממפיס וסיפרה עם קליפה בינונית (8 שכבות תאים). המבנה האנטומי של הקליפה מסודר, ומאופיין בעמודות של תאים שזוהרים תחת אור UV (איור 4, שמאל). לדזירה קליפה דקה יותר באדמת הכבול מאשר במינרלית, ופחות 3-4 שכבות תאים; בממפיס מגמה הפוכה, בממוצע 3 שכבות תאים יותר בכבול (איור 4, ימין).



איור 4. חתך היסטולוגי דרך קליפת הפקעות של הזנים סיפרה, מוצארט דזירה וממפיס, שנאספו במועד 90 יום מזריעה, מקרקע מינרלית (שמאל) וקרקע כבול (ימין). עבור כל זן וקרקע מוצג צמד תמונות – השמאלית הינה תמונה ממיקרוסקופ אור המראה את מבנה הקליפה (עמודות מסודרות של תאים) ופארנכימת הפקעת (תאים גדולים עם גרגור אדום של עמילופלסטים). התמונה הכחולה בצמד מראה את זהירה פלורסנטית עצמית של תאי הקליפה תחת אור UV. הזהירה מסייעת לזהות היטב את שכבות התאים של הקליפה ואת הסידור שלהם בעמודות. בר מייצג 100 מיקרומטר

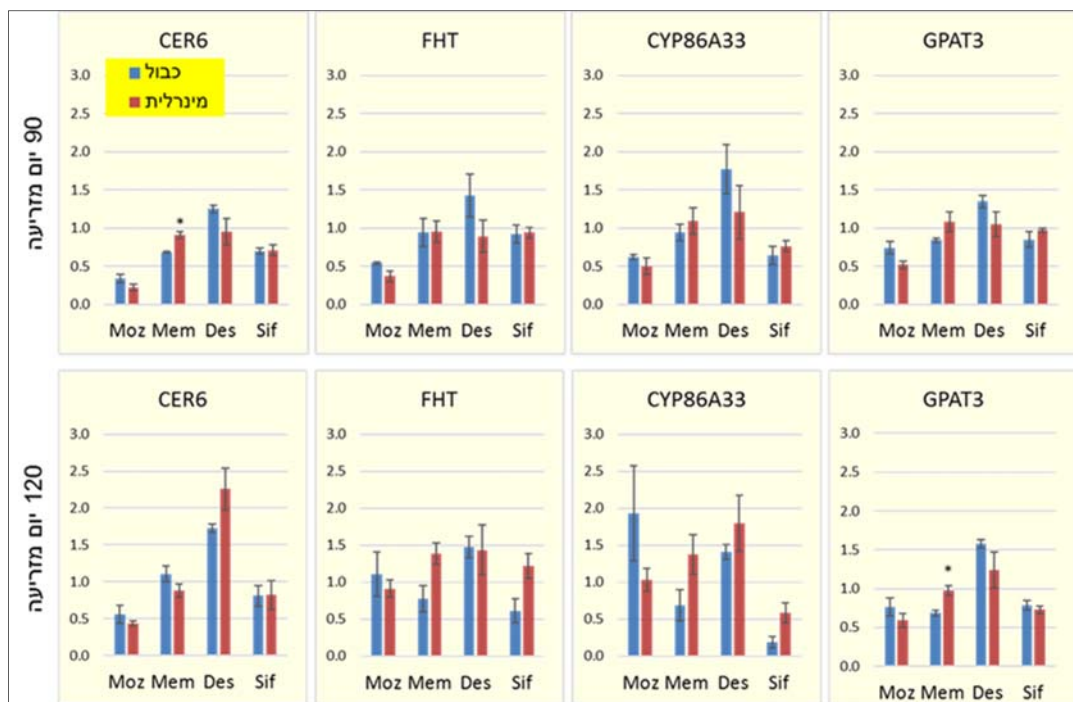
בבחינת האנטומיה של קליפת פקעות במועד 120 יום מזריעה (קליפה בוגרת ומתייצבת), שכבות הקליפה נראות פחות מסודרות (תמונה 5). עבור כל הזנים, מעל לשכבות הקליפה ישנה שכבה כהה דקה, שיתכן והיא מורכבת משאריות של תאים ישנים שלא הוסרו במלואם. שכבה זו יכולה לפגוע במראה חלק ומבריק של הקליפה. בקליפה של מוצארט מקרקע מינרלית, מספר שכבות תאים לא אחיד לאורך הקליפה בעוד שקליפה מקרקע כבול נראית אחידה. שכבות הקליפה של ממפיס אינן אחידות בפקעות משתי הקרקעות, מה שתואם את מראה הקליפה הסדוק באיור 2. עם זאת, עבור סיפרה, ממפיס ומוצארט, ישנה מגמה לקליפה בוגרת עבה יותר באדמת הכבול.



איור 5. חתך היסטולוגי דרך קליפת הפקעות של הזנים סיפרה, מוצארט דזירה וממפיס, שנאספו במועד 120 יום מזריעה, מקרקע מינרלית (שמאל) וקרקע כבול (ימין). עבור כל זן וקרקע מוצג צמד תמונות – השמאלית הינה תמונה ממיקרוסקופ אור המראה את מבנה הקליפה (עמודות מסודרות של תאים) ופארנכימת הפקעת (תאים גדולים עם גרגור אדום של עמילופלסטים). התמונה הכחולה בצמד מראה את זהירה פלורסנטית עצמית של תאי הקליפה תחת אור UV. הזהירה מסייעת לזהות היטב את שכבות התאים של הקליפה ואת הסידור שלהם בעמודות. בר מייצג 100 מיקרומטר

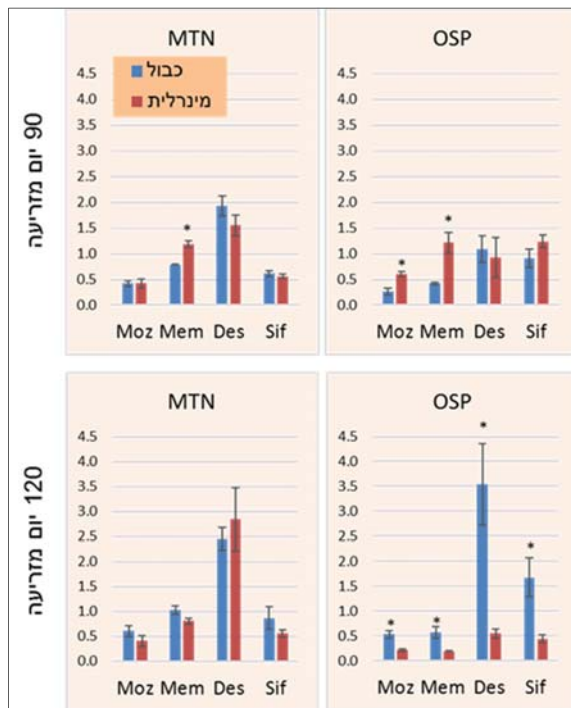
מאחר ונמצא מתאם מסוים בין מראה הקליפה לאנטומיה שלה, נבדק האם לשוני בין הזנים ולמופע הקליפה השונה שלהם בין מועדי הדיגום ובין הקרקעות, ישנו מתאם גם ברמת ביטוי הגנים של הקליפה. נבחרו שלוש קבוצות של גנים: גנים ביוסינתטיים של מרכיב השעם בקליפה המתפתחת (איור 6), גנים המתבטאים בשלב של יצוב הקליפה (איור 7), וגנים ממסלול צבירת הפיגמנט האדום של הקליפה (אנתוציאנין) (איור 8).

ככלל, הגנים הביוסינתטיים של הקליפה לא מראים הבדל מובהק ברמת הביטוי שלהם בקרקעות השונות, עם זאת רמת הביטוי של חלקם עבור חלק מהזנים גבוהה יותר בקליפה הבוגרת של 120 יום (איור 6). במועד 90 יום מזריעה, כל הגנים מתבטאים גבוה יותר בקליפת דזירה מקרקע כבול, אולם בקליפת דזירה ממועד 120 יום, CER6 ו-CYP86A33 מתבטאים ברמת גבוהה יותר בקליפה מקרקע מינרלית. במועד 120 יום CYP86A33 מתבטא גבוה גם בקליפת פקעות של ממפיס וסיפרה מקרקע מינרלית, בעוד שבמוצארט המגמה הפוכה. אמנם תוצאות אינן מובהקות אולם המגמה הכוללת היא שבקליפה של מוצארט ממועד 90 יום ומשתי הקרקעות, רמת ביטוי הגנים נמוכה ביותר בהשוואה לשאר הזנים. גם במועד 120 יום ובקרקע מינרלית, רמת ביטוי הגנים בקליפה של מוצארט הינה במגמה נמוכה יותר מאשר שאר הזנים. תוצאות אלו הינן במתאם לתוצאות ההיסטולוגיות בהן נראה כי הקליפה של מוצארט דקה יותר מזו של שאר הזנים.



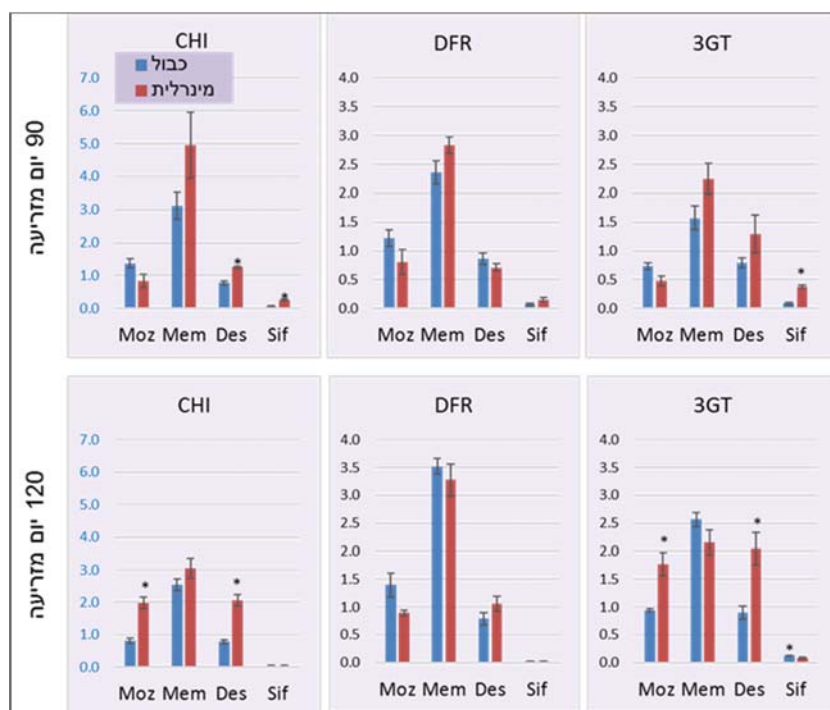
איור 6. רמת ביטוי יחסי של גנים ביוסינתטיים של מרכיב השעם (סוברין) בקליפה של הזנים: מוצארט (Moz), ממפיס (Mem), דזירה (Des) ו-סיפרה (Sif). הקליפות נאספו בשני מועדי דיגום – 90 (פנל עליון) ו-120 (פנל תחתון) יום לאחר זריעה, ומשתי קרקעות – כבול (עמודות כחולות) ומינרלית (עמודות אדומות). רמת הביטוי היחסית של הגנים נבחנה ב qPCR וחושבה כנגד גן ייחוס NAC. הערכים הינם ממוצעים של שלוש חזרות. כוכביות מסמנות ערכים שונים במובהקות $P > 0.05$ על פי אנליזת Students' t-test.

במקביל נבדק ביטוי שני גנים, MTN ו-OSP שהינם סמנים להתייצבות קליפה (איור 7). הגן MTN לא הראה הבדלים ברמת הביטוי בין הקרקעות (מלבד ממפיס 90 יום), אולם ב 120 יום רמת הביטוי שלו הייתה במגמה גבוהה יותר מהמועד של 90 יום, מלבד במוצארט שם רמת הביטוי נשארה ללא שינוי. עבור הגן OSP, במועד 90 יום רמת הביטוי שלו הייתה גבוהה באופן מובהק בזנים מוצארט וממפיס שגדלו בקרקע מינרלית. אולם ביטוי גבוה ביותר ומובהק התקבל עבור כל הזנים במועד 120 יום בו הקליפה הבוגרת מתייצבת, ומקרקע כבול. המשמעות היא שבקרקע כבול ייצוב הקליפה מתרחש מוקדם יותר או חזק יותר, ויתכן וזה קשור לעובדה שבקרקע כבול הקליפה דקה יותר עם פחות שכבות תאים מהמתקבל בקרקע מינרלית (איור 4).



איור 7. רמת ביטוי יחסי של גנים סמנים להתייצבות קליפה בקליפה של הזנים: מוצארט (Moz), ממפיס (Mem), דזירה (Des) ו-סיפרה (Sif). הקליפות נאספו בשני מועדי דיגום – 90 (פנל עליון) ו-120 (פנל תחתון) יום לאחר זריעה, ומשתי קרקעות – כבול (עמודות כחולות) ומינרלית (עמודות אדומות). רמת הביטוי היחסית של הגנים נבחנה ב qPCR וחושבה כנגד גן ייחוס NAC. הערכים הינם ממוצעים של שלוש חזרות. כוכביות מסמנות ערכים שונים במובהקות $P > 0.05$ על פי אנליזת Students' t-test

מאחר ומקובל היה לחשוב כי קליפה של זנים אדומים הינה בעלת גוון אדום חזק יותר כאשר היא מתפתחת בקרקע כבול העשירה בחומר אורגני, נבדק ביטוי גנים ביוסינתטיים לאנתוציאנין, הפיגמנט האדום/סגול/כחול של קליפת תפוז"א. כצפוי, רמת ביטוי הגנים בזן הלבן סיפרה הייתה נמוכה ביותר בהשוואה לזנים האדומים (איור 8). רמת ביטוי הגנים בקליפה של ממפיס הייתה בדר"כ גבוהה יותר מאשר בשני הזנים האדומים האחרים, וללא הבדל משמעותי בין הקרקעות, עם מגמה לביטוי גבוה יותר במועד 90 יום בקרקע המינרלית. ביטוי הגנים CHI ו-3GT בקליפה של דזירה ומוצארט היה גבוה באופן מובהק בקרקע מינרלית בהשוואה לכבול במועד 120 יום. מגמה דומה הייתה בקליפה של דזירה גם במועד המוקדם של 90 יום.



איור 8. רמת ביטוי יחסי של גנים ביוסינתטיים לפיגמנט האדום (אנתוציאנין) בקליפה של הזנים: מוצארט (Moz), ממפיס (Mem), דזירה (Des) ו-סיפרה (Sif). הקליפות נאספו בשני מועדי דיגום – 90 (פנל עליון) ו-120 (פנל תחתון) יום לאחר זריעה, ומשתי קרקעות – כבול (עמודות כחולות) ומינרלית (עמודות אדומות). רמת הביטוי היחסית של הגנים נבחנה ב qPCR וחושבה כנגד גן ייחוס *NAC*. הערכים הינם ממוצעים של שלוש חזרות. כוכביות מסמנות ערכים שונים במובהקות $P > 0.05$ על פי אנליזת *Students' t-test*.

• סיכום

נמצא הבדל במראה הקליפה של פקעות מקרקע מינרלית וקרקע כבול. בקרקע המינרלית הקליפה יפה יותר. ברמה האנטומית נמצא, במתאם, כי הקליפה מפותחת יותר בקרקע המינרלית מאשר בכבול, אולם זה נמצא במועד 90 יום. במועד האסיף, 120 יום מזריעה, לא נמצא הבדל אנטומי בין קליפות משתי הקרקעות. כן נראה כי איכות הקליפה יורדת במועד 120 יום בהשוואה למועד המוקדם יותר של 90 יום לאחר זריעה.

לזן מוצארט קליפה דקה משל שאר הזנים וגם ביטוי הגנים של הקליפה נמוך יותר בזן זה, זאת במתאם לבעיית הקליפות של הזן כפי שהובחן ע"י המגדל.

על פי התוצאות המולקולאריות והאנטומיות, יתכן והתפתחות קליפה הינה איטית יותר בקרקע כבול מאשר במינרלית, ובהתאם ייצוב קליפה "חזק" יותר בקרקע הכבול.

רמת ביטוי הגנים לפיגמנט האדום של הקליפה גבוהה יותר בזנים האדומים מאשר בזן הלבן, כצפוי. אולם בניגוד לציפיות, ביטוי הגנים הללו גבוה יותר בקרקע המינרלית מאשר בכבול.

תוצאות שנת מחקר זו מראות כי ישנו הבדל בין הזנים והתגובה שלהם לקרקעות, דבר שמראה את נחיצות המשך המחקר במגמה להתאים זנים לקרקעות שתאפשרנה קבלת מוצר איכותי.

• תודות

אני מבקשת להודות על שיתוף הפעולה של עומר דינר מגד"ש סאסא.