

## פרק 6: יצירת זני מכלוא

יצירת זני מכלוא נסיוניים בפלפל מתבצעת ע"י הכלאות ידניות מבוקרות, שבכל אחת מהן אין צורך בכמות גדולה של אבקה. איסוף האבקה למטרה זו מתבצע מיד עם פתיחת האבקנים, ע"י ניעור הפרח אל תוך כמוסה (קפסולה) מפלסטיק. את האבקה מוציאים מהכמוסה בעזרת כפית קטנה, ומפזרים אותה על גבי הצלקת. כאשר נדרשת כמות גדולה של אבקה ליצירה מסחרית של זרעי מכלוא, אוספים פרחים סמוך לפתיחתם, מסירים מתוכם את האבקנים, ומייבשים אותם. לאחר הייבוש משחררים מהם את האבקה בעזרת מברשת על גבי רשת צפופה המשמשת לסינונה. האבקה מועברת אל צינוריות שבעזרתן מבצעים את ההאבקה (תמונה 3).

בכדי לחסוך את תהליכי האיסוף וההאבקה, ניתן לגדל את צמחי האם העקרים זכרית בסמוך לצמחים נורמליים בצרופים מתאימים, וע"י כך לאפשר לחרקים, ובעיקר לדבורים, להאביק את הפרחים.

נמצא כי כאשר צמחים עקרים זכרית מטיפוס  $\underline{rf\ rf}$  (S) גדלים בחלקה מבודדת המרוחקת מצמחי פלפל פורה נורמלי, רוב הפרחים נושרים והצמחים ממשיכים בצמיחה וגטטיבית. בניגוד לכך, כאשר צמחים עקרים זכרית גדלים בין צמחי פלפל נורמלי, הם חונטים פירות נורמליים כתוצאה מפעילות אינטנסיבית של חרקים מפרים.

על בסיס נתונים אלו ערכנו ניסוי לבדיקה כמותית של יבול זרעי המכלוא כתוצאה מהפריית חרקים, ולהלן מהלך הניסוי: השתמשנו בצמחים של ארבע אמהות עקרות זכרית מטיפוס  $\underline{rf\ rf}$  (S) ובהורה זכרי משותף הנושא את האללים  $\underline{Rf}$  להחזרת פוריות ו- $\underline{A}$  לצבע אנתוציאן. הצמחים הנקביים והזכריים נשתלו זה לצד זה לסרוגין בשתי שורות שאורכן 30 מ'. לצידן של אותן שורות נשתלה שורה נוספת של הורה מפרה, בכדי להבטיח מספר רב של צמחים נושאי אבקה. ניסוי זה נערך בחוות המרכז של מינהל המחקר החקלאי בבית דגן, בעונת הקיץ, המאופיינת בפעילות אינטנסיבית של דבורים. האלל  $\underline{A}$  לצבע אנתוציאן בהורה



תמונה 23. ניסוי בהפרית חרקים: שורות של שתי אמהות  $rf\ rf$  (S), לבנה מימין וכתומה משמאל, מוקפות ע"י הורה מפרה אדום פרי  $Rf\ Rf$  (N)



תמונה 24. ניסוי בהפרית חרקים: חנטת פירות בשתי אמהות  $rf\ rf$  (S) השונות זו מזו בצבע הפרי



תמונה 25. ניסוי בהפרית חרוקים: חטת כל הענפים מצמח אחד מטיפוס *rf rf* (S)

הזכרי התבטא בדור הצאצאים, ואיפשר זיהוי של זרעי המכלוא ע"י ספירת הנבטים מדור הצאצאים. נבטים שהכילו סימני אנתוציאן בגבעולים, ומאוחר יותר בפרחים ובפירות, נקבעו כמכלואים. לעומתם, נבטים ירוקים שבהם נעדר צבע האנתוציאן נקבעו כצאצאי הפריה עצמית בצמחי האם, או מהפריה בין צמחי אם שלא הכילו את האלל  $A$ , כפי שיפורט בהמשך.

עם הבשלה של כמחצית מהפירות על צמחי האם, נבחרו באקראי כ-15 צמחים שמהם נקטפו כל הפירות, הבשלים והבלתי בשלים. הזרעים מכל הפירות הבשלים נספרו. בנוסף, נספרו זרעים מפירות קטנים מעוטי זרעים, וכן מפירות גדולים אשר בתוכם התפתחו מספר רב של זרעים, כדי ללמוד את טווח השונות בין שתי קבוצות אלו (תמונות 23-25).

הנתונים מסוכמים בטבלה 1 באמצעות ממוצעים ו"שגיאת תקן". שגיאת התקן שמבטאת את טווח השונות הקיימת בין הממוצעים, כאשר חוזרים על אותו ניסוי ועם אותה אוכלוסייה פעמים רבות, מאפשרת לקבוע אם ההבדלים בין זוגות ממוצעים הינם מובהקים סטטיסטית או לא.

טבלה 1. יבול הזרעים הכללי וזרעי המכלוא שהתקבלו מארבעה זני אם עקרים זכרית ע"י האבקת חרקים

4	3	2	1	זני אם
229±13	239±12	151±12	194± 17	מספר פירות כללי
50±2	52±2	55±3	85±6	% פירות בשלים
10.2±0.8	11.3±0.8	11.1±0.8	9.3±0.7	מספר זרעים ממוצע לפרי בשל
67-4	77-5	119-3	117-3	טווח מספר הזרעים לפרי
2389±164	2611±158	1655±163	1778±153	מספר מחושב של זרעים לצמח
93	91	81	94	% זרעי המכלוא

מתוך הטבלה ניתן ללמוד כי:

- א. האמהות נבדלו במספר הפירות אשר חנטו, והבדל זה ניתן לייחס לשוני הגנטי שביניהן.
- ב. האמהות נבדלו זו מזו גם בקצב ההבשלה של הפירות, כאשר לאם מס' 1 אחוז גבוה יותר של פירות בשלים באותו מועד קטיף.
- ג. מספר הזרעים הממוצע לפרי, כ-10, היה דומה בכל האמהות. דבר זה מעיד כי יעילות יצירת הזרעים, הן מצד כושרן של זני האם והן בהקשר לפעילות הדבורים, היתה כמעט זהה.



ד. טווח מספר הזרעים לפרי גדול יותר באמהות מס' 1 ו-2 מאשר ב-3 ו-4. הבדל זה נובע, כנראה, ממספר גבוה יותר של ביציות בשני הזנים הראשונים, אפשרות שניתנת לבדיקה ע"י ספירת הביציות, בשלב השחלה או בפרי הצעיר, בעזרת בינוקולר.

ה. יבול הזרעים הגבוה ביותר לצמח נמצא באם 3, זאת בשל מספר הפירות הגבוה ביותר בה.

ו. האמהות 1, 3 ו-4 הצטיינו באחוז גבוה של זרעי מכלוא, מעל ל-90%. נתונים אלו מעידים כי לשלוש אמהות אלה דרגה גבוהה יחסית של יציבות נקבית (מייצרות מעט גרגרי אבקה), וכי כמות האבקה שהללו ייצרו בתנאי הניסוי (בשדה) היתה נמוכה, מה שתרם לאחוז נמוך יחסית של זרעים שאינם זרעי מכלוא.

מן הניסוי ניתן להסיק כי תכונת העקרות הזכרית הציטופלסמתית-גנית, הינה תכונה יציבה יחסית. תכונה זאת מאפשרת קבלת אחוז גבוה של זרעי מכלוא בתנאי הפריה חופשית. יצוין כי אם מס' 2 אופיינה באחוז נמוך יחסית של זרעי מכלוא, 81%, ובנטיה בולטת להחזרת הפוריות שפירושה יצירת גרגרי אבקה. מכאן שתרומתה כאם עתידית ליצירת מכלואים הינה נמוכה יחסית בתנאי הפריה חרקיים. בנוסף, מבחינה גנטית ניתן לצפות כי ע"י עבודת השבחה קפדנית, תוך שימוש במאגר גנטי רחב, ניתן יהיה לקבל שושלות אם יציבות, מהן נקבל עד 100% זרעי מכלוא.

בניסוי זה התקבלו כ-10 זרעים לפרי בודד, מספר הנמוך יחסית בהשוואה לנתוני ניסויים בחו"ל בהם נתקבלו בתנאים דומים כ-70 זרעים לפרי. אולם יש לציין כי הן זני ההורים והן סוגי החרקים בניסויים שבחו"ל היו שונים מאלו שבניסוי שלנו.

כיצד ניתן להבחין בין זרעי המכלוא לבין זרעים שאינם מכלואים? כפי שצויין לעיל, זן פורה שמכיל את האלל A ליצירת אנתוציאן שימש כמקור אבקה. הזרעים שנתקבלו מארבע האמהות נזרעו, ובנבטים שהתפתחו לשתילים ניתן היה להבחין באלה שבהם הצטבר אנתוציאן (צביעה סגולה - ארגמנית) לאורך הגבעולים. אלו הם המכלואים, המסומנים גנטית ע"י האלל הדומיננטי חלקית A. חלק מהשתילים שהיו ירוקים וגבעוליהם ללא אנתוציאן, מקורם היה בהפריה עצמית או הפריה משכנים ירוקים.

בסיכום הניסוי ניתן לציין שלוש מסקנות עיקריות:  
 א. ניתן להשתמש בצמחי אם הנושאים עקרות זכרית ציטופלסמתית-גנית, לשם קבלת יבול זרעים רב לצמח בתנאי הפריה חפשית.  
 ב. ניתן לקבל יבול גבוה, למעלה מ-90% של זרעי מכלוא, בתנאי הפריה חפשית.  
 ג. רצוי להשתמש בהורים זכריים הנושאים גן דומיננטי כ"סמן נבטים" (seedling marker). בניסוי הנוכחי האלל  $A$ , המפקח על הצטברות אנתוציאן בחלקי הצמח השונים של המכלואים, בא לידי ביטוי כבר בשלב הנבט, ולכן שימש כסמן נבטים. באמצעות סמן כזה ניתן לסלק בשלב מוקדם צמחים שאינם מכלואים. בחלקת שדה שגודלה דונם (1,000 מ"ר) ניתן לגדל כ-3,000 צמחי פלפל. מטבלה 1 מתברר כי 2-3 צמחי-אם עשויים במערך ההפריה, כפי שתואר לעיל, לספק את כל זרעי המכלוא הנדרשים לגידול מסחרי של דונם פלפל.

### מכלואים נורמליים מול עקרים זכרית

במהלך בדיקת המכלואים הניסויים בתנאי שדה התקבלו שתי קבוצות ראשיות, שבאחת: הפירות חנטו באופן רציף והיו נורמליים בצורתם ובגודלם, ובשנייה: התפתחו צמחים גבוהים יותר והפירות חנטו באופן אקראי ובלתי רציף. חלק מפירות אלו התפתחו באופן נורמלי וחלקם היו מעוותים. מבדיקת הפרחים למדנו שצמחי הקבוצה הראשונה היו מכלואים פוריים נורמליים מטיפוס  $Rf\ rf$  (S), כצפוי, ואילו המכלואים מהקבוצה השנייה היו מטיפוס  $rf\ rf$  (S) עקרים זכרית, כיון שהוריהם הזכריים היו מטיפוס  $rf\ rf$  (N). לקבוצה הראשונה קיים יתרון חקלאי בולט על השניה באחידות החנטה, ואולם בתנאי שדה, עם הפריית חרקים מוגברת, קיבלו אף צמחי הקבוצה השנייה, העקרים – זכרית, הפריה מיטבית, וחלקם אף הציגו חנטה סבירה. ראוי להוסיף, כי בין המכלואים העקרים נמצאו טיפוסים מצטיינים ביבול הפירות ואיכותם, וזאת כנראה בשל חרקים שמעדיפים לבקר גנוטיפים אלו.