

דיווח סיום שנה שנייה (2021)

הצעות רב שנתיות מורחבות למועצה לייצור ושיווק כותנה בע"מ

חישה ספקטרלית לזיהוי כשלי הדברת ירבוזים בגידול הכותנה כתוצאה מעמידות למעכבי ALS

איתי הרמן, חוקר ראשי, חישה מקרוב, האוניברסיטה העברית (ittai.herrmann@mail.huji.ac.il).

צבי פלג, חוקר משני, עשבים רעים, האוניברסיטה העברית (zvi.peleg@mail.huji.ac.il).

מבוא

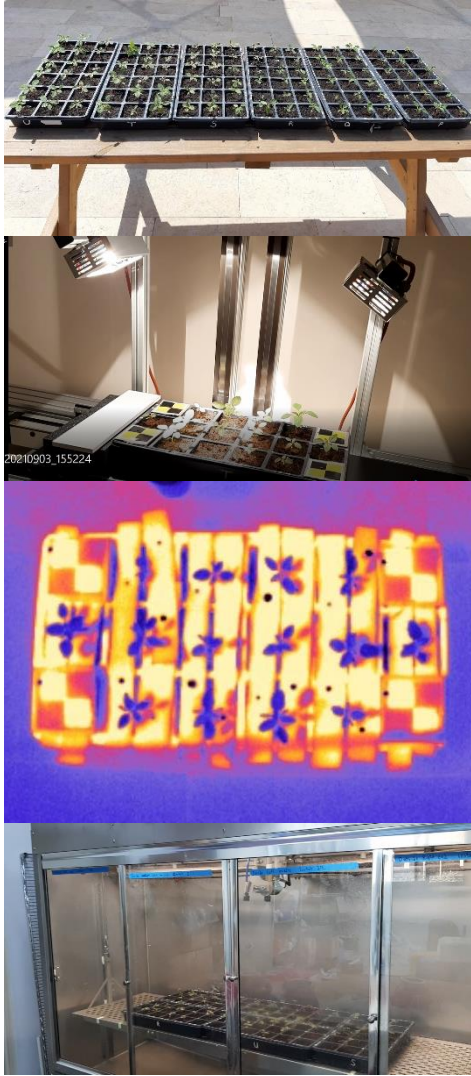
ירבוז הגדות וירבוז פלמרי, הם עשבים פולשים, המהווים עשב קשה הדברה בכותנה. עשבים אלו בעלי תכונות המקנות להם יכולת להתחרות עם הכותנה על המשאבים השונים ולכן לגרום להפחתה ביבול ואיכותו. גורם נוסף המסייע להפצת עשבים קשי הדברה אלה נובע מהוצאת קוטל העשבים (ק"ע) טריפלורלין (טרפלאן) משימוש בשנים האחרונות, שכן התכשיר הדביר היטב את נבטי הירבוזים. במקביל, התפשטותו המהירה של הירבוז הפלמרי, בשדות גד"ש בכלל וכותנה בפרט, והנזקים הרבים שצמח זה גורם ליבולים על אף השימוש הנרחב בתכשירים מעכבי ALS (אנבוק וסטייפל) מעוררים חשש של התפתחות הבעיה של עמידות לק"ע.

עשבים רעים (ע"ר) יכולים לשרוד ריסוס לא רק עקב עמידות אלא גם כתוצאה מהתחמקות עקב שימוש בצורת יישום לא מתאימה, תנאי סביבה לא מתאימים, או מינונים לא נכונים והצללה של צמחים אחרים. כיום זיהוי עמידות לק"ע נעשית ע"י איסוף זרעים, וביצוע מבחני תגובה למינונים עולים של קוטל העשבים בתנאים מבוקרים (Dose response assay). השיטה דורשת משאבים רבים והתוצאות מתקבלות לאחר זמן רב. בכלים של חישה היפרספקטרלית, לאחר כיוול מודלים ניתן יהיה לאסוף מידע בזמן קצר יחסית משטחים שדיגום ידני מהם היה גוזל זמן רב יותר. המידע הספקטרלי מבטא מגוון תכונות פיזיות וכימיות של הצמח ולכן יכול לשמש להערכת תכונות צמח ולסייע בזיהוי עמידות למעכבי ALS.

בשנים האחרונות, התגברות הדיווחים על אוכלוסיות ירבוזים העמידות לק"ע, בשילוב עם צמצום כמות ק"ע המורשים לגידול כותנה, מציבים אתגר להתמודדות וצמצום בעיית העמידות. זיהוי מוקדם של עמידות לק"ע מעכב ALS המבוסס על מודל מיון ספקטרלי בין ירבוזים עמידים ללא עמידים צפוי לשפר את יעילות ניהול הטיפול בע"ר בכותנה ולכן עשוי לחסוך משאבים ולהגדיל את היבולים. במסגרת עבודת מחקר זו הכוונה היא לאתר את הרזולוציה הספקטרלית המיטבית לזיהוי מוקדם של העמידות למעכבי ALS.

חומרים ושיטות

כמות הצמחים שעליה הצלחנו לעבוד השנה היא מצומצמת יחסית עקב מגבלות מגפת הקורונה. הסטודנט יובל רוזנבאום בפרויקט אמירים (מצטיינים בתואר ראשון בפקולטה לחקלאות) הוא שביצע את עיקר העבודה בתמיכה וסיוע של סטודנטים לתארים מתקדמים משלוש מעבדות המחקר, ירון גדרי, סטודנט לדוקטורט בנושא הירבוז, עידן רוט מסטרנט בנושא עשבים רעים, ורועי שדה, סטודנט לדוקטורט, בנושא החישה ההיפרספקטרלית. היו שני מועדי מדידה ובכל מועד נמדדו שישה מגשים (1 ביקרות והשאר לריסוס). המועדים היו ב 30 באוגוסט 2021 וב-3 בספטמבר 2021.



איור 1: מלמעלה למטה, גידול יום 11, צילום היפרספקטרלי, צילום תרמי וריסוס.

צמחים גודלו מזרעים של אוכלוסייה מנחל תמנע שהוגדרה כרגישה על ידי המעבדות של פרופ' פלג ורובין. הזרעים נשמרו בקירור עד מספר ימים לפני זריעה. הצמחים גודלו במגשים בגודל 54x28 ס"מ עם חורים לניקוז מים, בכל מגש 14 צמחים בעציצים בנפח 250 מ"ל עם תערובת שתילה בנטל של טוף מרום גולן. הצמחים גודלו בבית רשת בפקולטה לחקלאות תחת השקיה מיטבית ע"י ממטירים במערכת השקיה אוטומטית. איסוף המידע הספקטרלי והתרמי כמו גם הריסוס (איור 1) בוצעו 11 ימים לאחר הזריעה, כאשר הצמחים היו בשלב של 4-6 עלים אמתיים. המגשים צולמו אחד אחרי השני במצלמה תרמית (Therm-App), כאשר הקרקע מכוסה בפסים שחורים העשויים מחומר אטום למים שהונחו בין הצמחים על מנת לאפשר זיהוי של הצמחים והפרדתם מהקרקע הלחה בצילום התרמי. לאחר מכן המגשים צולמו אחד אחרי השני מגובה 1 מטר במערכת של HySpex לצילום היפרספקטרלי בתנאי מעבדה, הכוללת 2 מצלמות סורק-שורה סטטיות המכסות את הטווח הספקטרלי של 400-2500 ננומטר ומסוע המניע את האובייקט המצולם. אחרי הצילומים נלקח עלה מ-8 צמחים מכל מגש, מכל עלה נלקחו דסקיות בקוטר 6 מ"מ (בין אחת לשלוש, כמה שהיה אפשר) שיותר מאוחר יובשו ונשקלו, ושימשו לחישוב ערכי LMA של העלים. לקראת הערב הצמחים רוססו בקוטל העשבים אקיפ (Foramsulfuron 22.5 g/l) במינון 200 סמ"ק/דונם, בתא

ריסוס מחקרי (DeVries 4th Generation) מצוייד בדזה E80015.

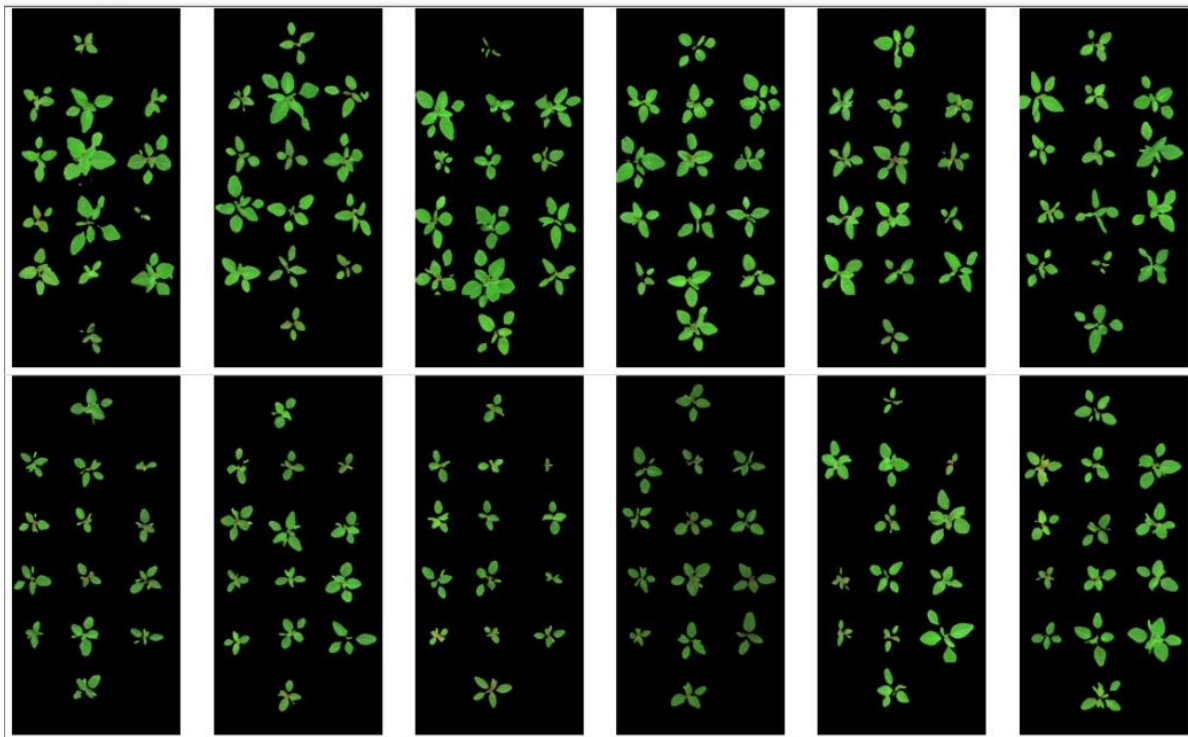
כעבור 21 ימים מיישום קוטל העשבים הצמחים צולמו במצלמת RGB (איור 2) לצד צמח מקבוצת הביקורת (שלא רוסס) ונמדד הגובה אליו הגיע כל צמח בעזרת סרט מדידה. הצמחים חולקו לרמות עמידות לקוטל העשבים (איור 2) על פי שקלול של הערכה ויזואלית בהשוואה לצמח הביקורת, הגובה הסופי אליו הגיעו ואם פרחו או לא. החלוקה לקבוצות התבצעה פעמיים - לפי חלוקה לשתי רמות עמידות (עמידים / רגישים), ולפי חלוקה לשלוש רמות עמידות (עמידים / תגובה מתונה / רגישים).



איור 2: תמונה מייצגת של רמות עמידות ליישום קוטל העשבים אקיפ.

תוצאות עד כה ודיון

במהלך החודשים בהם יובל חבר למחקר, בקיץ האחרון, הוא הכיר את הציוד והרקע המדעי, ביצע שני ימי מדידה וריסוס עליהם נצברו נתונים היפרספקטראליים, לאחר עיבוד מקדים שאפשר עיגון מרחבי של הדימוותים מהמצלמות ההיפרספקטראליות כדי לייצר ספקטרה רציפים, צמצום השפעת כיווני ההארה על הדימוותים, וחיתוך עלי הצמחים בלבד (איור 3) הנתונים נמצאים בתהליך עיבוד לצורך מיון בין הצמחים מרמות העמידות השונות. נתונים תרמיים מנורמלים הצביעו על מגמה ברורה בערכי טמפרטורת העלה בין עמידים לרגישים ביום המדידות הראשון ($F=3.88$, $P=0.053$) אך יכולת זו לא התקיימה גם עבור יום המדידות הראשון. חשוב לציין שהצילומים התרמיים ערכו כשעה וחצי ביום הראשון לעומת כ-15 דקות ביום המדידות השני ולכן יש צורך להמשיך ולבדוק את נושא טמפרטורת העלה. יש לציין שנתוני LMA לא הצביעו על שוני בין רמות העמידות השונות ולכן בהמשך המחקר נעבור למשקל יבש, גובה מדויק, שטח עלווה טרום ריסוס כדי להוסיף פנוטיפים לכל צמח טרום הריסוס ולעבוד על ההבנה מהיכן מגיעה העמידות (ניתן להפיק כפי שנראה באיור 3). כמו כן יש לציין שיש צורך להכניס לניסוי צמחים בנקודת התחלה דומות כפי שנראה ביום המדידות השני (שורה תחתונה באיור 3) ולא כפי שנראה ביום המדידות הראשון (שורה עליונה איור 3), ככל הנראה יש לכך השפעה על יכולת העמידות של הצמח.



איור 3: איסוף נתוני צמח בלבד. ששת המגשים שנמדדו בכל מועד, בשורה העליונה מועד המדידה הראשון ובשורה השנייה מועד המדידה השני.

תכנית לשנה השלישית

בקניף הקרוב (2022 – שנה שלישית) לאחר שבשנה השנייה פותחה על ידי יובל שיטת עבודה מקיפה ויעילה המאפשרת איחוד דימותים משתי המצלמות ההיפרספקטרליות ואיסוף מידע מפיקסלי הצמח בלבד, יובל יתחיל את לימודי המוסמך בסתיו ויוכל להתרכז בעיבוד הנתונים הקיימים ובאיסוף נתונים נוספים ביעילות רבה יותר. כמו כן הנתונים שנאספו עד כה יעובדו לצורך זיהוי עמידות בכלים של מיון ספקטרלי. לצורך כך נמשיך עם האוכלוסייה עמה עבדנו ונוסיף עליה שתי אוכלוסיות נוספות. השנה הגענו ל 84 צמחים ביום מדידה ולכן אנחנו מכוונים למאות צמחים מכל אחת משלוש הקבוצות – רגיש או עמיד לריסוס באקיפ וביקורת – ריסוס במים. כל מגשי הצמחים יסרקו במצלמות ההיפרספקטרליות לפני הריסוס כדי לאפיין ספקטרלית צמחים עמידים טרם הריסוס. בנוסף הצמחים יאופיינו לפתיחת פיוניות (פורומטר + מצלמה תרמית) בטרם הריסוס כדי לבחון שונות פיזיולוגית בין רגישים לעמידים.