



פיתוח שיטות להעשרת היער בפטריות מאכל מיקוריטיות ובחינת השפעתן על קצב הגידול של שלושה מיני אורן

נרית אזוב¹ | שי לוי^{1,2} | אביב אייזנבנד³ | אילון כלב³
עידן פרמן¹ | דן לבנון¹ | עפר דנאי^{1*}

1 מיגל – מכון למחקר מדעי יישומי בגליל
2 מכללת תל-חי
3 קק"ל
* ofer@migal.org.il

תקציר

במהלך השנים האחרונות אנו עדים לתופעה של ירידה בכמות פטריות המאכל ביערות קק"ל, ובמקביל לעלייה בגודלו של ציבור המלקטים וחובבי פטריות הבר. ההנחה הרווחת היא שהסיבות העיקריות לכך הן שינוי האקלים וליקוט יתר. במקומות שונים בעולם פותחו טכנולוגיות להדבקות שתילי עצים בפטריות מאכל מיקוריטיות שונות, אשר מחד גיסא תורמות לשיפור בהיקלטות ובהישרדות של העצים, ומאידך גיסא צפויות להעשיר את היער בפטריות מאכל מבוקשות תוך הגדלת תפוקת היער. נוסף על כך, העלייה בביקוש ובמודעות ליערות מאכל מדגישה עוד יותר את הצורך לפתח טכנולוגיות להעשרת היער בפטריות מאכל שיהיו בטוחות לאיסוף ולצריכה.

מטרות המחקר הנוכחי היו פיתוח שיטות חדשות להכנת שתילים של מיני אורן, המודבקים בתפטיר של פטריות מאכל אקטו-מיקוריטיות מבוקשות, ופיתוח האגרוטכניקה המתאימה לאקלום העצים, תוך שמירת המיקוריזה והופעת הפטריות.

מיני הפטריות ששימשו למחקר זה הם אורנייה סיבית ונטופה ערבה. הכנת השתילים והדבקותם נעשו במשתלות קק"ל וביחידת המחקר לפטריות של מיג"ל בחוות מתתיהו, ובהמשך בוצע מעקב אחר השפעת קשרי המיקוריזה על התפתחות השתילים במשתלה ובחלקות הנטופה. השתילים ניטעו בשתי חלקות מודל בשני סוגי קרקע באזור ברעם: טרה רוסה ורנדזינה.

נמצא כי הדבקות נבטי אורן ירושלים, אורן ברוטיה ואורן הצנובר בנבגי אורנייה סיבית הגבירו את קצב התפתחות השתילים שגודלו ללא דישון בשלב המשתלה. ההשפעה הגדולה ביותר נמצאה בשתילי אורן ירושלים (כ-180% הגדלה מהביקורת). בבחינת השפעת הדבקות נבטי אורן הצנובר בנטופה ערבה במצעים ברמות pH שונות, נמצא כי הדבקות השתילים בנבגים הביאה להדבקה ולצמיחה מהירות יותר בהשוואה להדבקה בתפטיר מוצק ונוזלי. רמת ההדבקה המרבית התקבלה ב-pH של 5.64.

במסגרת פיתוח שיטות מולקולריות לאפיון פטריות הקרקע נדגמו שורשים מעצים משתי חלקות המודל. בחלקת הטרה רוסה נמצאה התבססות של הקשר המיקוריטי בעצים שהודבקו במשתלה, והדבקה ספונטנית באורנייה סיבית של עצי ביקורת שלא הודבקו. בחלקת הרנדזינה נמצא כי השתילים המודבקים שניטעו ושרדו יצרו קשרי מיקוריזה עם פטריות אחרות המאפיינות את סביבת הריזוספרה של קרקע זו. בבדיקות הקרקע שבוצעו נמצא שרטיבות הקרקע בטרה רוסה גבוהה מזו של הרנדזינה. לא נמצאו גופי פרי של אורניות או נטופות בשתי החלקות בתקופת המחקר.

תוצאות המחקר מצביעות על הדינמיות של הקשרים המיקוריטיים ועל חשיבות הניטור של אוכלוסיית הפטריות בקרקעות המיועדות לנטיעה לטובת בחירה מיטבית של סוגי העצים והפטריות. כמו כן, התצפיות מצביעות על חשיבות בחינת ממשקי ההשקיה השונים הנדרשים בקרקעות שונות בשנים הראשונות לאחר הנטיעה. הממשקים יאפשרו את שיפור כושר הגדילה והישרדות של עצי היער הצעירים והמבוגרים, המקיימים קשרי מיקוריזה החיונית להתפתחותם בתנאי עקות אקלימיות, ויבטיחו קבלת גופי פרי.

מילות מפתח

אורנייה סיבית, אקטו-מיקוריזה, הדבקות שתילי אורן, יער מאכל, נטופה ערבה, תיירות פטריות

רקע

תכנון וקבלת החלטות באשר לדפוסיה ולאופייה העתידי של תרבות פטריות הבר בארץ.

הייעור המבוצע בארץ באחריות קק"ל, מתבצע תוך כדי התחשבות בשלל גורמים, בהם הצמחייה המקומית ובחירת מגוון העצים המיטבי לאזור האקלימי המיועד. בשנים האחרונות, מתוך הבנת תפקידן המרכזי של הפטריות המיקוריטיות בחוסנו של היער, נוספו למערך השיקולים של בחירת העצים המיועדים לנטיעה גורמים נוספים הכוללים בחינה ובחירה של מיני הפטריות שיאכלסו את מערכת השורשים של העצים באזורי הייעור. מכיוון שהקשר המיקוריטי מתבסס בשלב המוקדם של התפתחות העץ, ההדבקה מתבצעת כבר במשתלה. השיקולים העיקריים בבחירת הפטריות המשמשות להדבקה הם: התאמת סוג הפטרייה לסוג העץ המארח, תרומת הפטרייה להתפתחות העץ, קצב התפתחותה, ונטייתה ליצירת קשר עם שורשי עצים צעירים (פטריות שלב ראשון) או עצים בוגרים יותר (פטריות שלב שני) (Savoie and Largeteau, 2011). כמו כן, מוערך גם ערכה התרבותי-קולינרי. אחד השיקולים הדומיננטיים בהצלחת שמירת הקשר קשר המיקוריטי בעצים לאחר הנטיעה הוא ההרכב המקומי של אוכלוסיית הפטריות בקרקע המיועדת לשתילה. הרכב הפטריות המצויות בקרקע הוא בעל השפעה מכרעת על סיכויי התבססות הפטרייה, ולעיתים ניתן להבחין בהדבקה של העצים הצעירים בפטריות המקומיות וב"השתלטותן" על מערכת השורשים של העץ הצעיר תוך כדי החלפת הפטרייה ששימשה להדבקתו (Rincon et al., 2007).

בעבודת המחקר הנוכחית בחנו את תהליך ההדבקה והגידול של מספר מיני עצי אורן בפטריות המאכל אורנייה סיבית (*Suillus collinitus*) ונטופה ערבה. מטרת המחקר המרכזית הייתה ביסוס פרוטוקולי גידול מקומיים שיביאו לחיזוק היער הצעיר לצד העשרתו בפטריות מאכל מבוקשות. שיטות ההדבקה שפותחו עד כה, בחנו הדבקה זרעים של אורנים במגוון שיטות (נבגים, תפטיר במדיום מוצק או נוזלי), והדבקה מוצלחת עם נטופה ערבה התבצעה בעיקר באמצעות תפטיר (Hortal et al., 2006; El Karkouri et al., 2006; Hortal et al., 2008).

בשנים האחרונות גדלה זמינותן של שיטות מולקולריות רגישות המאפשרות ניטור מדויק של אוכלוסיית הפטריות בקרקע (Nilsson et al., 2019). שיטות אלה מתווספות אל שיטות האפיון הטקסונומי הקלאסיות, ולעיתים אף מחליפות אותן, בייחוד כאשר קיים צורך בזהוי פטריות על סמך תפטיר ונבגים בלבד. התפתחות זו מאפשרת מעקב אחר ההתפתחות וההתבססות של הפטרייה בסביבת העצים הצעירים, כמו גם יכולת קבלת החלטות לגבי התאמת הפטרייה ותנאי הגידול המיטביים להתבססותה.

המחקר הנוכחי נמשך שלוש שנים. תחילתו במשתלות קק"ל ובחנות מתתיהו, והמשכו בחלקות הנטיעה שבגליל העליון. במחקר נבחנו הרכב הקרקע של חלקות המודל, שיטות הדבקה שונות, קצב התבססות הפטריות, תרומתן להתפתחות עצים ממינים שונים והשפעתן על התבססות חלקת הנטיעה. ממצאנו העיקריים מראים כי ניתן להדביק את העצים שנבחנו בפטריות הרצויות, ומדגימים את השפעת הרכב הפטריות המקומיות על התבססות הקשרים המיקוריטיים. לבסוף, תצפיותינו מעידות כי הדבקה העצים בפטריות המאכל תרמה להתפתחותם המואצת.

בשנים האחרונות מתפתח בעולם עניין גובר ביערות מאכל (forest gardening) על שלל גווניהם (Björklund et al., 2019). ליערות ישראל חלק מרכזי בתמונת נוף הארץ, ותרומתם המשמעותית לסביבה כוללת היבטים סביבתיים-אקולוגיים ותרבותיים (טיול ופנאי). לצד ההתעניינות בצמחייה הארץ-ישראלית שאפיינה את הציבור הישראלי לאורך השנים, התווספה התעניינות ספציפית בפוטנציאל השימושי של צמחי המרפא והמאכל, ותחום זה החל צובר אהדים בקרב קבוצות אוכלוסייה הולכות וגדלות. התעניינות גוברת זו לא פסחה גם על עולם הפטריות שהוא נדבך חשוב ביצרנות של יער המאכל, והביאה להיווצרות מגזר חדש – תיירות פטריות (mycotourism) (Büntgen et al., 2017).

ביער ובחורש ניתן למצוא פטריות מיקוריזה (mycorrhiza), כלומר שיש קשר הדדי (סימביוטי) בין לבין צמח. הפטריות הללו, שהאורנייה היא המוכרת בהן לציבור, מצויות בקשרים סימביוטיים עם שורשי העצים. הן מאופיינות בשני סוגי קשרים סימביוטיים עיקריים: קשרי אנדו-מיקוריזה (תפטיר הפטרייה חודר אל תוך תאי השורש) וקשרי אקטו-מיקוריזה (תפטיר חיצוני לתאי השורש). רוב פטריות היער המיקוריטיות מצויות בקשרי אקטו-מיקוריזה, ותפטיר הפטרייה עוטף את חלקם החיצוני של שורשי העצים בעטיפה צפופה הקרויה גלימה. הסימביוזה שבין הפטרייה לצמח מאפשרת לפטרייה לספוג פחמימנים שמקורם בתהליך הפוטוסינתזה של העץ. כמו כן, הפטרייה מעבירה לעץ יסודות החיוניים להתפתחותו, ואף מסייעת בהובלת מים מהקרקע.

בשנים האחרונות מתבססת ההבנה סביב תפקידן המרכזי של פטריות המיקוריזה בתקשורת בין עצי היער, והיותן חוליה מקשרת לשינוע של מקורות הזנה בין עצים שונים (Gorzalak et al., 2015; Klein et al., 2016). עובדה זו מלמדת על מורכבות מארג העצים ביער ועל נחיצות הפטריות המיקוריטיות לביסוסו. לפיכך, לעצים המצויים בקשר מיקוריטי משלבי גדילה מוקדמים יש יתרון הסתגלותי לסביבתם, אף בתנאי עקה, וסיכויי שרידותם והתפתחותם גדלים ביחס לשכניהם שאינם מצויים בקשר מיקוריטי (Teste and Simard, 2008). ביערות ישראל מוכרים עשרות מינים של פטריות אקטו-מיקוריטיות, והרכב אוכלוסייתן תלוי במספר גורמים, כגון סוג העצים המאפיין את היער, גיל היער, הרכב הקרקע, האזור הגאוגרפי, האקלים ומשתנים נוספים (Savoie and Largeteau, 2011). כמו כן, חלק מהן נחשקות בזכות ערכן הקולינרי, ועל כן הן מושא חיפוש וליקוט (Moreno et al., 2020). הדרישה לפטריות אלה לצד העובדה שהן אינן ניתנות לגידול חקלאי סטנדרטי, הפכו את איסופן ושיווקן במספר ארצות לענף כלכלי מבוסס. כיום קיימות בעולם יוזמות לגידול של פטריות יער מבוקשות (בעלות ערך כלכלי) באופן מבוקר בשטחים מיוערים. דוגמאות מובילות הן פיתוח פרוטוקולים להדבקה שורשי עצי יער (אילוח) בפטריות מסוג נטופה ערבה (*Lactarius deliciosus*) וגביעונית נאכלת (*Cantharellus cibarius*). שני סוגי פטריות אלה קיימים בארץ ותפוצתם מוגבלת (Hall and Wang, 2004).

בישראל מגוון אזורי האקלים וסוג היערות תורם להופעת מספר רב של מיני פטריות. כמו כן, תרבות הליקוט תופסת תאוצה בשנים האחרונות, מה שמביא מספר גדול והולך של מטיילים ליערות. מגמה זו מחייבת

שיטות וחומרים

קרקע טרה רוסה; יער ברעם סמוך לצידו הדרומי של קיבוץ ברעם, קרקע רנדזינה.

לאורך המחקר נערך מעקב אחר התפתחות השתילים (השינוי בגובה וקוטר הגזע) והישרדות המיקוריזה בשורשים. בחורפים 2018–2019, 2019–2020 נערכו סריקות למציאת גופי פרי של אורניות ונטופות בשתי חלקות המחקר, אך לא נמצאו כאלה.

בסוף פברואר 2019 נשתלו בשתי החלקות 310 השתילים שהודבקו בחוות מתתיהו באורנייה ובנטופה. לאחר הנטיעה בוצעה מדידה של גובה השתיל וקוטר הגזע. בחודש מרץ 2019 הוצאו דגימות שורשים משמונה עצים מטיפולים שונים ונבדקו חזותית במיקרוסקופ מדגם בינוקולר לזיהוי שורשי אורן.

זיהוי מולקולרי של פטריות המיקוריזה

דגימות משורשי האורנים, לצורך זיהוי פטריות מיקוריזה, שימשו להפקת DNA גנומי באמצעות "Sigma-Aldrich, Extract-N-Amp™ kit", ומקטעי ITS הוגברו בריאקציית PCR. הפריימרים ששימשו לצורכי ריאקציות PCR הם NLB4 (Rv)-i NSI1 (Fw) (Martin and Rygiel, 2005). תוצרי ה-PCR נשלחו לריצוף (sanger sequencing) בחברת "Hylabs". בחודש אפריל 2018 נערכה דגימת שורשים נוספת מכל הטיפולים בשתי החלקות, ונעשו הפקת DNA ואנליזה של התוצרים. בדצמבר 2018 הוצאו דגימות נוספות מכל הטיפולים לבחינת התפתחות המיקוריזה בעונת החורף.

תוצאות

הדבקה באורנייה סיבית והשפעתה על התפתחות שתילי אורנים
בבחינת השפעת הדבקת נבטי אורן ירושלים, אורן ברוטיה ואורן הצנובר באורנייה סיבית, נמצא כי הדבקת הזרעים בנבגי הפטריות הביאה להתפתחות מהירה יותר של שלושת מיני האורן בשני המדדים שנבחנו: גובה השתילים וקוטר הגזע. ההשפעה הגדולה ביותר נמצאה באורן ירושלים – מדדי הצימוח של השתילים המודבקים היו גבוהים בכ-180% מהביקורת הבלתי מודבקת. באורן ברוטיה השיפור עמד על כ-160% ובאורן הצנובר על כ-124% (איור 1). ניתן היה לזהות תפטיר בשורשי השתילים שהודבקו (איור 2). כמו כן, נמצא כי רמת ההדבקה המרבית התקבלה באורן ירושלים ובאורן הצנובר, ואילו באורן ברוטיה נמדדה רמת הדבקה נמוכה יותר (איור 3).

הדבקה בנטופה ערבה והשפעתה על התפתחות שתילי אורנים
רמת ההדבקה בשורשי השתילים של שלושת סוגי האורן נבחנה במספר שיטות הדבקה (איור 4). בבחינת השפעת הדבקת נבטי אורן הצנובר בנבגי נטופה ערבה במצעים ברמות pH שונות, נמצא כי רמת ההדבקה המרבית התקבלה ב-pH 5.64, לאחריה ב-pH 5.27 ולבסוף ב-pH 4.51. כמו כן, נמצא כי הדבקת הזרעים בנבגי הפטריות הביאה לצימוח מהיר יותר בשלוש רמות ה-pH שנבדקו (התוצאות אינן מוצגות). עם זאת, רמת ההדבקה של הפטרייה בשורשים נמצאה נמוכה מאוד (איורים 3, 4).

הדבקת שתילי אורן ירושלים (*Pinus halepensis*), אורן ברוטיה (*Pinus brutia*) ואורן הצנובר (*Pinus pinea*) באורנייה סיבית ובנטופה ערבה

זרעים משלושה מיני אורן התקבלו מקק"ל, חוטאו וזרעו בחודש מאי 2017 בחממה בתחנת המחקר בחוות מתתיהו. לאחר כשלושה שבועות, כאשר הנבטים הגיעו לגובה של כ-5 ס"מ, הם הועברו לבגידים ייעודיים בנפח 450 מ"ל הניתנים לפתיחה ולסגירה חוזרת. מצע הגידול (מצע שתילה סטנדרטי, ספק טוף מרום גולן) עבר פסטור (80°C למשך 100 דקות) ולאחר קירור הוספה למצע תערובת כבול עם נבטים של אורניות ממינים שונים שנאספו בחורף 2016. 20 נבטים שגודלו בחממה בחוות מתתיהו נשתלו מכל מין עץ (סך הכול 60). 60 נבטים נוספים מכל מין של אורן הודבקו בנבגי נטופה ערבה מגופי פרי שנאספו בחורף 2017 ביערות אשתאול ויובלים. הנבטים נשתלו במצע גידול בשלוש רמות חומציות (4.5, 5.27, 5.56) (pH) לבחינת התאמת המצע להתפתחות המיקוריזה. בכל רמת pH נשתלו 20 נבטים מכל מין אורן ו-20 נבטים נוספים מכל מין אורן נשתלו במצע ללא שינוי pH וללא נבגי פטרייה, כביקורת.

הדבקת נבטי אורן ירושלים באורנייה סיבית במשתלה ושתילתם בשתי חלקות מעקב

לצורך הקמת חלקות הניסיון הודבקו באפריל 2016 במשתלת גולני כ-500 שתילים של אורן ירושלים מאקוטיפ יוני שנאסף מחלקת אם לזרעים ביער משואה, במצע עם נבטים של אורנייה סיבית. במקביל גודלו עוד כ-500 שתילים לביקורת באותה השורה במשתלה אך ללא מגע פיזי עם המצע או עם השתילים המודבקים. במאי 2017 הועברו חלק מהשתילים לגידול במשתלה בחוות מתתיהו. השתילים חולקו לארבעה טיפולים (טבלה 1).

השתילים נשתלו בנובמבר 2017 בשתי חלקות ההשבחה לאורן ירושלים: יער ברעם מצפון לגדר החווה החקלאית הניסיונית מתתיהו,

טיפול	גידול שישה חודשים לפני שתילה	מספר שתילים
אורנייה #1	חוות מתתיהו, ללא דישון	48
אורנייה #2	משתלת אשתאול, משטר דישון רגיל	24
ביקורת #1	חוות מתתיהו, ללא דישון	24
ביקורת #2	משתלת אשתאול, משטר דישון רגיל	70

טבלה 1	חלוקת השתילים על פי הטיפולים השונים
Table 1	Seedling and corresponding treatment

בחינת מדדים בקרקעות הנטיעה

כדי לאפיין את הקרקע המיועדת לנטיעה נאספו דוגמאות קרקע משתי חלקות המודל (טרה רוסה ורנדזינה) ונבדקו מדדי pH, מוליכות ורטיבות (טבלה 2).

בקרקע הטרה רוסה נמצא pH מעט חומצי (6.41) בעוד ה-pH של קרקע רנדזינה נמצא בסיסי (7.45).

הרטיבות שנמדדה בקרקע הטרה רוסה בחורף 2017 עמדה על כ-20%, בעוד שבקרקע הרנדזינה נמדדה רטיבות של כ-16%. בלבד. גם עם תחילת הקיץ נמצאה הרטיבות בקרקע הטרה רוסה כפולה (14.4%) מזאת של קרקע הרנדזינה (7.53%), שקרובה לנקודה הכמישה (7%).

המוליכות החשמלית שנמדדה בחורף בחלקת הרנדזינה הייתה גבוהה בכ-50% מזו שנמצאה בחלקת הטרה רוסה (בדיקות pH ומוליכות בוצעו על ידי מהילת דוגמת הקרקע במים מזוקקים, ביחס 1:5).

זיהוי הרכב פטריות הקרקע תוך שימוש בכלים מולקולריים

בהמשך להדבקה הראשונית של השתילים בפטרייה, קיימת אפשרות כי התפטיר הרצוי לא יתפתח או אף יוחלף על ידי פטריות מתחרות הקיימות בקרקע ומותאמות לסביבתן. התפתחות יכולת זיהוי מיני הפטרייה על סמך דגימות DNA מאפשרת מעקב רציף ומדויק אחר נוכחות הפטרייה וכמותה באדמה אף בטרם הופעת גופי פרי. לפיכך, לשם מעקב אחרי נוכחות הפטרייה בשורשי העצים שניטעו, נאספו דגימות שורשים משמונה עצים מטיפולים שונים בשתי החלקות ונבדקו חזותית בבינוקולר לזיהוי נוכחות תפטיר (טבלה 3). דוגמאות אלה שימשו להפקת DNA של הפטרייה המיקוריטית ולהגברה של מקטע ה-ITS. בבדיקה של הרצפים באמצעות NCBI-BLAST נמצאה הומולוגיה של 99.82% למין אורנייה סיבית. ניתן לראות ששורשי עצים מס' 28 ו-30 שהודבקו במשתלה, נמצאו מאוכלסים באורנייה סיבית. נוסף על כך, עצים מס' 116 ו-143 השייכים לקבוצת הביקורת ולא הודבקו במשתלה, נמצאו גם הם מאוכלסים בפטריית זו. ארבעה שתילים אלה נשתלו בחלקת קרקע הטרה רוסה. בארבעת השתילים שנדגמו בחלקת קרקע הרנדזינה, לא זוהתה הפטרייה.

בסוף שנת 2019 נערכה דגימת שורשים נוספת מכל הטיפולים בשתי החלקות (תצלום אוויר של חלקת הטרה רוסה ניתן לראות באיור 5), ונעשתה הפקת DNA לזיהוי הפטריות הנמצאות באינטראקציה עם השורשים (טבלה 4). בבחינה זו זוהו מספר מיני פטריות שמקורן ככל הנראה בקרקע המקומית ולא בהדבקה הראשונית (טבלה 5).

דיון ומסקנות

השפעת האקטו-מיקוריזה על התפתחות השתילים במשתלה

תוצאות עבודה זאת מלמדות כי הדבקות נבטי אורן ירושלים, אורן ברוטיה ואורן הצנובר בנבגי אורנייה סיבית הגבירה את קצב התפתחות השתילים שגודלו ללא דישון בשלב המשתלה.

ההשפעה הגדולה ביותר נמצאה באורן ירושלים (כ-180% הגדלה מהביקורת) והשפעה פחותה יותר על אורן ברוטיה (כ-160% הגדלה מהביקורת). ההשפעה הקטנה ביותר התקבלה באורן הצנובר. עם

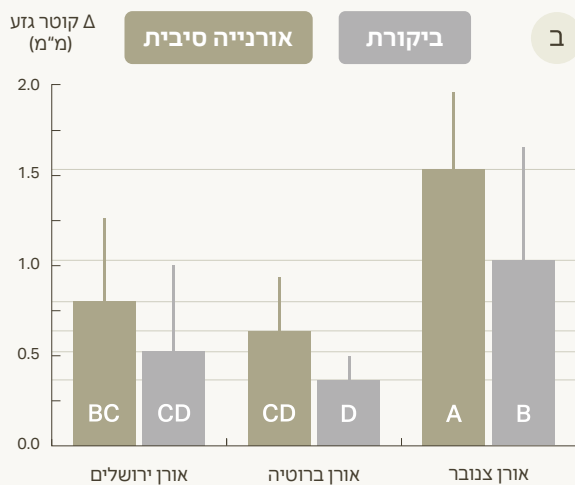
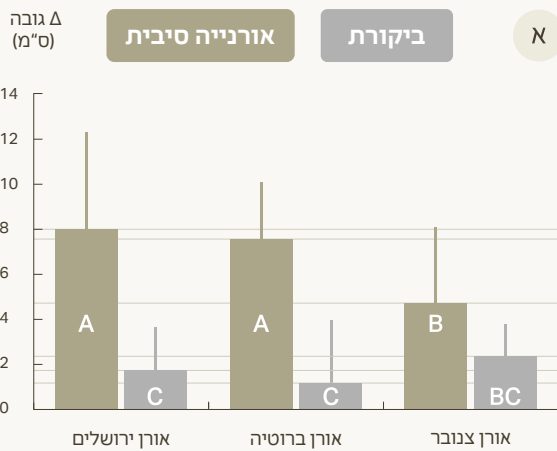


Figure 1

***S. collinitus* inoculation and its effect on trunk diameter (A) and height (B) in three pine species**

The saplings were grown in a greenhouse at the Matityahu Experimental Farm and were examined six months post-inoculation.

איור 1

השפעת ההדבקה באורנייה על השינוי בקוטר גזע (א) וגובה (ב) בשלושה מיני אורן
השתילים גודלו בחממה בחוות מתתיהו ונבחנו שישה חודשים לאחר ההדבקה.



Figure 2

Three pine species 12 months following inoculation with *S. collinitus* spores

On the right is the control sapling (non-inoculated), and on the left the sapling inoculated with *S. collinitus* spores, for each pine species.

איור 2

שתיים של שלושה מיני אורן, 12 חודשים לאחר ההדבקה בנבגי אורנייה סיבית
 בכל מין אורן מוצג מימין שתיל ביקורת (ללא הדבקה) ומשמאל שתיל שהודבק בנבגי אורנייה סיבית.

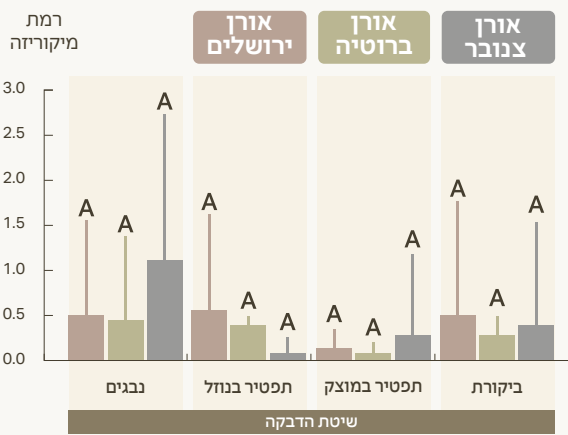


Figure 4

Correlation between the inoculation with *L. deliciosus* and mycorrhiza levels in roots (visual inspection) 17 months following inoculation

Significance was calculated with the Tukey-Kramer HSD, Alpha=0.05, using JMP5 software.

השפעת שיטת ההדבקה בנטופה ערבה על רמת ההדבקה בשורשים בבדיקה חזותית, 17 חודשים לאחר ההדבקה
 המובהקות נבדקה בתוכנת JMP5 במבחן Tukey-Kramer HSD, Alpha=0.05

איור 4

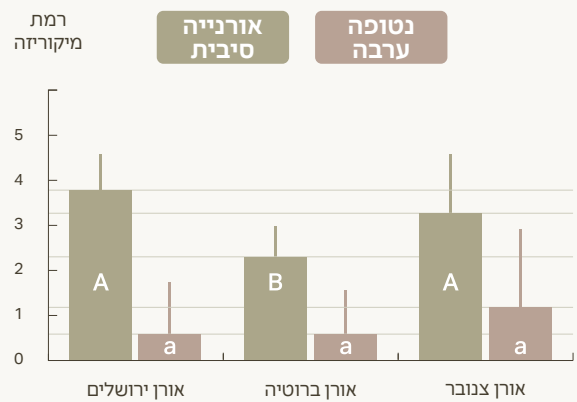


Figure 3

Mycorrhiza levels in pine seedling roots following inoculation with spores

The levels of *S. collinitus* and *L. deliciosus* were examined visually 17 months post-inoculation. The values are means of the results found at the three pH levels tested. Significance was calculated with the Tukey-Kramer HSD, Alpha=0.05, using JMP5 software.

רמת ההדבקה בשורשי שתילי אורן בעקבות הדבקה באמצעות נבגים

רמת ההדבקה של אורנייה סיבית ונטופה ערבה נבחנה בבדיקה חזותית 17 חודשים ממוצע התוצאות בשלוש רמות ה-pH שנבחנו. המובהקות נבדקה בתוכנת JMP5 במבחן Tukey-Kramer HSD, Alpha=0.05

איור 3

המיקוריטי עם הפטרייה, וכן לא נצפתה הדבקה ספונטנית של שורשים שלא עברו הדבקה מקדימה. ההסבר לשוני זה מקורו כנראה בהבדלים בתכונות הקרקע, כפי שניתן לראות בטבלה 2. קרקע הטרה רוסה עשירה יותר בחומרי הזנה ובעלת pH נמוך יותר (שמאפשר קליטה של זרחן וברזל), כושר אחיזת מים גבוה יותר ומוליכות חשמלית נמוכה יותר. מאפיינים אלה מסייעים להישרדות המיקוריזה, וכן להדבקה טבעית בפטריות. לעומתה, קרקע הרנדזינה ענייה בחומרי הזנה, בעלת pH גבוה (שפוגע בכושר קליטת זרחן וברזל), כושר אחיזת מים נמוך יותר ומוליכות גבוהה יותר, תנאים הפוגעים בכושר הצימוח וההתפתחות של העצים. אין באפשרותם לספק לפטרייה חומרי הזנה, ובעקבות זאת היא אינה מצליחה לשרוד ללא השקיה בשנים הראשונות.

בדגימות מולקולריות של עצים בשתי החלקות, נמצא כי חלק מהעצים (ללא תלות בהדבקה מקדימה במשתלה) יצרו קשרי מיקוריזה עם פטריות שמקורן בקרקע המקומית. תוצאות אלה תואמות תצפיות קודמות שבוצעו במחקר בעל מאפיינים דומים בחלקת יער אורנים בספרד (Rincon et al., 2007). הן מצביעות על נטייה להיווצרות פרופיל פטריות ייחודי המשותף ליערות אורנים בישראל ובאירופה. לסיכום, המשך פיתוח פרוטוקולים להדבקות יעילות וזולות במשתלה ובחינת דרישות ההשקיה לאחר נטיעה יאפשרו שיפור של התפתחות העץ בשלבי הצימוח הראשונים במשתלה ובשנים הראשונות לאחר נטיעתו בשטח. תקופה ראשונית זו הופכת משמעותית אף יותר

זאת, יש לשים לב כי קצב צמיחתו הוא המהיר ביותר בין שלושת מינים הללו. כמו כן, בבדיקה לאחר 17 חודשים מההדבקה נמצאה הדבקה ב-100% מהשתילים, ברמת ההדבקה הממוצעת בשורשים של 3.14 (בסקלה 0-5). בבחינת השפעת הדבקת נבטי אורן הצנובר בנגי נטופה ערבה במצעים ברמות pH שונות, נמצא כי רמת ההדבקה המרבית התקבלה ב-5.64 pH. הדבקת הזרעים בנגי הנטופה הביאה לצמיחה מהירה יותר, אך רמות הדבקת השתילים היו נמוכות באופן יחסי. בבדיקה לאחר 17 חודשים מההדבקה נמצאה הדבקה רק ב-31.5% מהשתילים, ורמת ההדבקה הממוצעת בשורשים הייתה של 0.61 (בסקלה 0-5). תוצאה זו מעידה על הצורך בהמשך פיתוח פרוטוקול ההדבקה של הנטופה הערבה ובייעולו.

מעקב וניטור באמצעים מולקולריים

בחינת נוכחות הפטריות בשורשים ובקרקע באמצעים מולקולריים העידה על הבדלים בהתבססות המיקוריזה בהשוואה בין שתי החלקות (טרה רוסה לעומת רנדזינה). על סמך מדגם עצים מייצג של חלקת הטרה רוסה (ראשית השנה השלישית) ניתן לראות התבססות של הקשר המיקוריטי בעצים שהודבקו במשתלה, ואף הדבקה ספונטנית של אורנייה סיבית במספר שתילי ביקורת שלא עברו הדבקה מקדימה. לעומת זאת, בקרקע הרנדזינה נצפתה מגמה הפוכה – דגימות של עצים שהודבקו בשלב המשתלה וניטעו כאשר הם מודבקים היטב, נבדקו 16 חודשים לאחר השתילה. בבדיקה זו לא זוהה הקשר

מספר עץ	טיפול	חלקת נטיעה
28	אורניה #1	טרה רוסה
30	אורניה #1	טרה רוסה
116	ביקורת #2	טרה רוסה
143	ביקורת #2	טרה רוסה
87	אורניה #1	רנדזינה
105	אורניה #1	רנדזינה
14	ביקורת #1	רנדזינה
159	ביקורת #2	רנדזינה

Table 3
Numbers and treatment description of trees subjected to molecular analysis

טבלה 3
מספרי העצים והטיפולים שנדגמו מהם שורשים לאבחון מולקולרי

סוג הקרקע	תאריך בדיקה	pH	מוליכות (mS/cm)	רטיבות הקרקע (%)	רטיבות אזור לא מושקה (%)
חלקת טרה רוסה	נובמבר 2017	6.41	0.596	19.88	
חלקת רנדזינה	נובמבר 2017	7.45	0.888	16.28	
חלקת טרה רוסה	מאי 2018				14.42
חלקת רנדזינה	מאי 2018				7.53

Table 2
Soil characteristics in the two model plots
pH and humidity levels in winter and early summer.

טבלה 2
בדיקות קרקע בשתי חלקות הניסוי בחינת רמת pH ורמת הרטיבות בשתי עונות, חורף ותחילת הקיץ.

מספר עץ	טיפול	חלקת נטיעה
54	אורניה #1	טרה רוסה
62	אורניה #1	טרה רוסה
67	אורניה #1	טרה רוסה
119	ביקורת #2	טרה רוסה
136	ביקורת #2	טרה רוסה
74	אורניה #1	רנדזינה
103	אורניה #1	רנדזינה
19	ביקורת #1	רנדזינה
206	אורניה #2	רנדזינה
207	אורניה #2	רנדזינה
154	ביקורת #2	רנדזינה

Table 4 **טבלה 4**
Numbers and treatment description of trees subjected to a second PCR analysis
העצים שנלקחו מהם דוגמאות שורשים לבדיקת PCR שנייה

מספר עץ	סוג קרקע	התאמה מרבית על סמך מאגרי המידע	% זהות
#67	טרה רוסה – מודבק	<i>Tomentella sp.</i> FJ554331.1	98.39
#136	טרה רוסה – ביקורת	<i>Geopora sp.</i> EF484934	99.39
#154	רנדזינה – ביקורת	<i>Geopora sp.</i> HE687048	100
#206	רנדזינה – מודבק	<i>Geopora sp.</i> JQ976017.1	99.82

Table 5 **טבלה 5**
Sequence alignment of the second analysis results with public databases
השוואה בין תוצאות רצפי הדגימה השנייה מול רצפי מאגרי המידע הקיימים

באזורים חמים ודלי משקעים כדוגמת ישראל. כמו כן, המשך פיתוח טכנולוגיות מולקולריות לאפיון כולל של הרכב פטריות הקרקע המיועדות לנטיעה, כפי שנעשה בעבודת מחקר זו, יאפשר בחירה מושכלת של מיני העצים המותאמים לאירוח הפטריות הרצויות, ויביא בסופו של דבר להעצמת בריאות היער ולהגדלת כמות פטריות המאכל.

הודות

תודה רבה למתנדבי השומר החדש שביצעו את פתיחת הבורות והנטיעה בשטח. תודה רבה לעובדים ולמדריכים של צוות גוש ברעם, לאבי פיבק ולאבירם צוק על התמיכה והאפשרות להוציא את הניסוי לפועל.

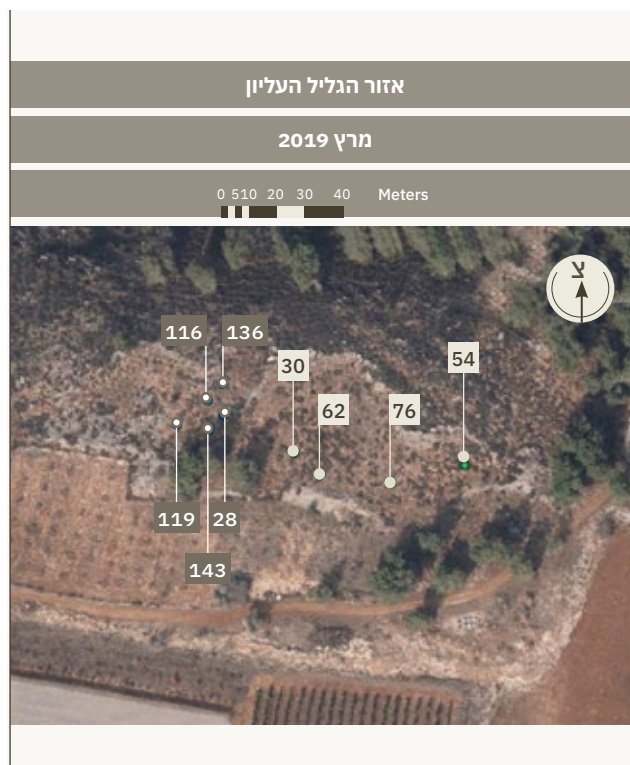


Figure 5 **איור 5**
Aerial photograph of the terra rossa plot and the location of trees subjected to molecular analysis
תצלום אוויר של חלקת הטררה רוסה ומיקום העצים שנדגמו לבדיקה מולקולרית
 עץ מודבק במשתלה
 עץ ביקורת שלא הודבק בנבגים
 inoculated in the nursery
 non-inoculated control tree

מקורות

- Lactarius deliciosus in the symbiotic and extraradical mycelium stages. *Journal of Biotechnology*, 126, 123-134.
- Klein T, Siegwolf RT, and Korner C. 2016. Belowground carbon trade among tall trees in a temperate forest. *Science*, 352, 342-344.
- Martin KJ and Rygielwicz PT. 2005. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology*, 5, 28. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-28>
- Moreno JP, Laguette AG, Arzú RF, and Yu FQ (Eds). 2017. *Mushrooms, humans and nature in a changing world*. Springer.
- Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, Wurzbacher C, Baldrian P, and Tedersoo L. 2019. Mycobiome diversity: High-throughput sequencing and identification of fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 95-109.
- Rincon A, de Felipe MR, and Fernandez-Pascual M. 2007. Inoculation of *Pinus halepensis* Mill. with selected ectomycorrhizal fungi improves seedling establishment 2 years after planting in a degraded gypsum soil. *Mycorrhiza*, 18, 23-32.
- Savoie JM and Largeteau ML. 2011. Production of edible mushrooms in forests: Trends in development of a mycosilviculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 971-979.
- Teste FP and Simard SW. 2008. Mycorrhizal networks and distance from mature trees alter patterns of competition and facilitation in dry Douglas-fir forests. *Oecologia*, 158, 193-203.
- Björklund J, Eksvärd K, and Schaffer C. 2019. Exploring the potential of edible forest gardens: Experiences from a participatory action research project in Sweden. *Agroforestry Systems*, 93, 1107-1118.
- Büntgen U, Latorre J, Egli S, and Martinez F. 2017. Socio-economic, scientific, and political benefits of mycotourism. *Ecosphere*, e01870.
- El Karkouri K, Selosse MA, and Mousain D. 2006. Molecular markers detecting an ectomycorrhizal *Suillus collinitus* strain on *Pinus halepensis* roots suggest successful inoculation and persistence in Mediterranean nursery and plantation. *FEMS Microbiology Ecology*, 55, 146-158.
- Gorzalak MA, Asay AK, Pickles BJ, and Simard SW. 2015. Inter-plant communication through mycorrhizal networks mediates complex adaptive behaviour in plant communities. *AoB Plants*, 7, 10.1093/aobpla/plv050.
- Hall I and Wang Y. 2004 Edible ectomycorrhizal mushrooms: Challenges and achievements. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1063-1073.
- Hortal S, Pera J, and Parlade J. 2008. Tracking mycorrhizas and extraradical mycelium of the edible fungus *Lactarius deliciosus* under field competition with *Rhizopogon* spp. *Mycorrhiza*, 18, 69-77.
- Hortal S, Pera J, Galipienso L, and Parlade J. 2006. Molecular identification of the edible ectomycorrhizal fungus



שתילי אורנים שהודבקו בפטריות בחלקת המחקר
צילום: עופר דנאי



למעלה: נטיעה בחלקת המחקר. צילום: עופר דנאי
למטה: אורניה סיבית ונטופה ערבה גדלות בשכנות. צילום: עופר דנאי

