



# נוכחות מכלואים בין שיטה סלילנית לשיטת הנגב בנחל שיטה

תום שיפריין<sup>1,2</sup> | עדי פייגנבוים<sup>1</sup> | גלעד רייספלד<sup>2,1</sup> | ניצן שגב<sup>3</sup> | בני שלמון<sup>3</sup>  
 נעמי הומינר<sup>2,1</sup> | רתם אטיאס<sup>2,1</sup> | ענבל פיכמן<sup>3</sup> | סימה קגן<sup>1</sup> | גלינה שקלאר<sup>1</sup> | אלי גרונר<sup>3</sup>  
 ליאור אשד-וויליאמס<sup>2</sup> | רקפת דוד-שורץ<sup>1\*</sup>

- 1 המכון למדעי הצמח, מנהל המחקר החקלאי – מכון וולקני
- 2 הפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית, האוניברסיטה העברית בירושלים
- 3 מו"פ מדבר וים המלח
- \* rakefetd@agri.gov.il

## תקציר

שנוצרו על עצי המכלוא הראתה כי מדובר בזרעים שנוצרו בעקבות הפריה של אחד משלושת הגנוטיפים האפשריים: שיטת הנגב, שיטה סלילנית או המכלוא ביניהן. תוצאות המחקר הנוכחי מדגישות את החשיבות של מחקר ארוך טווח ומעידות גם על חשיבות של שילוב מחקר גנטי במיני מפתח. הימצאות מכלואים בערבה מרמזת על יכולת טובה לשגשג בתנאים קשים. אי לכך, רצוי לקיים מחקרי המשך כדי לעמוד על חשיבותם של המכלואים לאקולוגיה המקומית לנוכח שינוי האקלים וכדי לבחון את הפוטנציאל שלהם לשמש ככנות בנטיעות באזורים צחיחים.

עצי שיטה הגדלים בערוצי נחלים בערבה הם מיני מפתח, ומגוון היצורים החיים המתקיימים באזור תלויים בהם. במסגרת מחקר ארוך טווח בנחל שיטה המתנהל בשנים האחרונות (Long Term Ecological Research, LTER) נמצאו עצי שיטה החשודים כמכלואים בין שיטה סלילנית לשיטת הנגב. לזיהוי גנטי ודאי של העצים החשודים חשיבות גדולה בהבנת תהליכי השתנות אוכלוסיית העצים, שעשויים לגרום שינויים במערכת האקולוגית כולה. במחקר הנוכחי פותחו עשרה סמני DNA המבדילים בין מיני השיטה, ובהם סמן כלורופלסטי המעיד על מין עץ האם שהמכלוא נוצר ממנו. כל העצים החשודים נמצאו כמכלואים. תוצאות הסמן הכלורופלסטי העידו כי רוב המכלואים נוצרו בעקבות הפריה של שיטה סלילנית על ידי שיטת הנגב, אולם נמצאו גם מכלואים שהם תוצאה של הפריה בכיוון ההפוך. עצי המכלוא התאפיינו בעלווה ובפריחה שופעות, אך לא הניבו תרמילים, פרט לארבעה עצים מתוך 26, שהניבו תרמילים בודדים. עובדה זו מרמזת על מחסום רבייתי שלא יאפשר התפתחות של מכלוא. אנליזה גנטית של הזרעים הבודדים

### מילות מפתח

מחסום רבייתי, סמני DNA, שינוי האקלים, תמותת עצים

## מבוא

*tortilis*) הנחשב כעמיד ביותר ליובש, משתרע לאורך בקעת ים המלח והערבה (הלוי, 1971א, ב; שמידע ושות', 2015). בדומה למיני צמחים אחרים באזורים צחיחים, רוב עצי השיטה בערבה מרוכזים לאורך ואדיות שזורמים בהם מי שיטפונות. במרבית המקרים השיטים הן העצים היחידים הגדלים בוואדי, ומכאן חשיבותן לחי ולצומח המקומי (בהרב, Munzbergova and Ward, 2002; Or and Ward, 1987; Stavi et al., 2015; 2003). ההנחה הרווחת היא כי השיטים מנצלות את מי השיטפונות לצורך גדילתן, ואכן, נמצא קשר חיובי בין גודל אגן היקוות השיטפונות לבין גודל העצים הגדלים בו (Lahav-Ginott et al., 2001). עם זאת, לאחרונה דווח כי שיא גדילת הגזע וכן שיא זרימת מוהל העצה והדיות מתרחשים בחודשים מאי-יוני ואוגוסט-נובמבר, במקביל לימים החמים והיבשים ביותר בשנה (Winters et al., 2018). המחקר הציע כי עצי השיטה בערבה מסתמכים בעיקר על מים בעומק 4–6 מטר, וגדלים לרוב במרווחים המאפשרים ניצול מרבי של המים (וינטרס ושות', 2019; Winters et al., 2018). אסטרטגיה זו מאפשרת לעצים להגיע לשיא פעילותם בעונה החמה גם כשהטמפרטורה מגיעה ל-45 מעלות צלזיוס. נמצא כי בעיצומו של הקיץ העלים מאבדים תוך שעה יותר מפי שלושה מכמות המים שהם מכילים. למרות זאת, לא נמצאה ירידה בשיעור הדיות במהלך השעות החמות ביותר של היום (אבן ארי ושות', 1980; שלמון, 1981). ממצא זה רמז כי שיעור הדיות הגבוה קשור ליכולת לנצל מים בעומק הקרקע. שמידע ואור (1983) הציעו כי השיטים טרם עברו התאמה לתנאי הארץ ביחס לאופי גידולן באזורי אפריקה, ולכן שינויים בתנאי בית הגידול עלולים לפגוע בהן קשות ולגרום לתמותה ניכרת. השינויים יכולים להיות טבעיים, כמו רצף שנים שחונות, או עקב פעילות האדם שבעטיה כמות המים שמגיעה לעצים מצטמצמת (Lövenstein et al., 1991). לנוכח השינויים בסביבה עולה חשיבות הניטור ואפיון אוכלוסיות השיטים הטבעיות.

נוסף על יכולת עמידותן בתנאי היובש הקשים, המשך קיומן של השיטים בערבה תלוי גם ביכולת הרבייה שלהן. ההאבקה של פרחי עצי השיטה נעשית באמצעות הרוח או באמצעות חרקים מקבוצות שונות – חיפושיות, צרעות, דבורים, זבובים ופרפרים. כמו כן, הוצע כי הפרחים מואבקים גם על ידי ציפורים ויונקים (Tybirk, 1993). במחקר שנערך בדרום הערבה על עצי שיטה סוככנית ושיטה סלילנית, נמצא שרק כ-30% מפרחי השיטה מתפתחים לפרי (פלד, 1988). הזרעים מתפתחים בתרמילים שהפצתם מתאפשרת גם על ידי בעלי חיים, כגון צבאים וראמים שניזונים מהפירות, וגם בזרמי שיטפונות (הלוי, 1971א, ב). נביטת שיטים מתרחשת בשנים ברוכות גשמים או לאחר שיטפונות, והתיעוד מראה 10–20 נבטים בשטח של 1 מ"ר, שהצטמצמו ל-2–5 נבטים לדונם תוך כחודש בעקבות רעיית עיזים בשטח. עם זאת,

עצים הגדלים במרחב הטבעי נחשבים כמיני מפתח מהנדסי סביבה (ecosystem engineers), לא כל שכן, אלה הגדלים במערכות אקולוגיות צחיחות. תרומת העצים כמין מפתח לייצוב הקרקע ולמחזור נוטריינטים מתבטאת בנוכחותם של מיני צמחים ובעלי חיים רבים החוסים בצילם. שגשוג והמשך קיומן של אוכלוסיות עצים באזור הצחיח מאפשר את יציבותה של המערכת האקולוגית המקומית. אי לכך, ישנה חשיבות רבה בניטור ארוך טווח (Long Term Ecological Research, LTER) של אוכלוסיות עצים באזורים הצחיחים.

במסגרת תוכנית המתאר הארצית ליער וייעור (תמ"א 22) הוטלה על קק"ל האחריות לשמר שטחים בהיקף של 40,000 דונם בדרום הנגב ובערבה, שגדלים בהם עצי שיטה. בתמיכה משותפת של קק"ל ורשות הטבע והגנים נערך סקר שיטים נרחב, וממצאיו הצביעו על תמותת עצים שתיעודה החל כבר בשנות ה-70 של המאה הקודמת (אשכנזי, 1995). בעקבות ירידה בכמות המשקעים שהחלה בשנת 1995 ולוותה בתמותת עצי שיטה ובכגיעה בחידושם הטבעי בערבה הדרומית, החלה רשות הטבע והגנים בשנת 2000 בניטור ארוך טווח של עצי שיטה במספר ואדיות במחוז אילת במטרה לבחון אם וכיצד הם מושפעים משינוי האקלים (פרלברג ושות', 2013; גרונר ושות', 2017). במטרה להרחיב את אזורי הניטור החל בשנת 2015 ניטור ארוך טווח של השיטים הגדלות בנחל שיטה (LTER Israel n.d). ניטור זה מנוהל על ידי מו"פ מדבר וים המלח, המרכז לחקר השיטים, קק"ל ו-LTER ישראל. נחל שיטה, המאופיין בחורש פתוח ובעלתון עצי שיטה, משמש מודל למחקר גאו-הידרו-אקולוגי מאחר שהוא נחשב כמערכת טבעית תלוית נגר. בנחל נבחנת השפעתם של משטר הגשמים, הנגר והגאומורפולוגיה על מצב עצי השיטה (גרונר ושות', 2017). במאמר שפורסם לאחרונה מתארים ארמוזה-זבולוני ושות' (2023) את חשיבותה של התחנה לניטור ארוך הטווח ואת השפעות הנגר על פיזור השיטים בנחל שיטה שנמדדו במסגרת ניטור ארוך טווח.

אזור הנגב והערבה הוא גבול התפוצה הצפוני של שלושה מינים מתוך כ-1,300 המשתייכים לסוג שיטה (*Acacia*) ממשפחת הקטניתיים (Fabaceae) ומתת-משפחת המימוסיים (Mimosoideae) (Kyalangalilwa et al., 2013).

שיטה סלילנית (*Acacia raddiana*), הנפוצה מבין מיני השיטים הגדלות בישראל, גדלה באזור בקעת ים המלח בכל רחבי הנגב ובערבה. שיטת הנגב (*Acacia pachyceras*), שהיא המין העמיד ביותר בפני קור, גדלה באזורים הגבוהים של הנגב הדרומי, ואילו המין שיטה סוככנית (*Acacia*)

ומעשרה עצים מאוכלוסייה של שיטה סלילנית בנחל שיטה. העלים הוכנסו ישירות למכל עם חנקן נוזלי, והוקפאו במינסוס 80 מעלות צלזיוס.

### פיתוח סמני DNA

פיתוח סמני DNA התבצע תוך שימוש ברצף הגנים שהתבטאו בזמן איסוף הדוגמאות. אוסף הרצפים שהתקבל נקרא טרנסקריפטום, והוא נבנה לפי שיטה ששימשה אותנו גם בעבר (Fox et al., 2018). הקריאות של שיטת הנגב מופו על הטרנסקריפטום של השיטה הסלילנית, ואיתור שונות בין שני המינים לזיהוי סמני DNA מסוג SNPs נעשה באמצעות תוכנת SAMtool version 1.9 (Li and Dewey, 2011). כדי לצמצם את הקריאות לרמת ודאות גבוהה נערכה אנליזה ידנית בתוכנת GVI version 2.8.2 (Integrative Genomics Viewer). למקטעי ה-DNA שנמצאה בהם שונות שמבוססת על נוקלאוטיד בודד, שהוא גם חלק מאתר חיתוך של אנזים רסטריקציה, תוכננו פריימרים באמצעות תוכנת Primer3 (Untergasser et al., 2012). הפעלת הסמנים נעשתה על DNA גנומי שהופק מדגימות עלים בשיטת CTAB (CetylTrimethylAmmonium Bromide). שיטת Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) שימשה לבחינת השונות הגנטית (Michaels and Amasino, 1998). לפי שיטה זו, מקטעי ה-DNA בעלי השונות הוגברו באמצעות ריאקציית PCR, ולאחר מכן נחתכו באנזים רסטריקציה מתאים והורצו על ג'ל אגרוז, בדומה למה שמתואר אצל Houminer ושות' (2021).

### אפיון מורפולוגי ופנולוגי של עצי שיטה

לצורך אפיון מורפולוגי וגנטי נוטרו עשרה עצי שיטת הנגב בנחל ציחור ועשרה עצי שיטה סלילנית בנחל שיטה. נוסף על כך, עצים החשודים כמכלואים בשל מופעם השונה נוטרו בהתאם לסימונם במפה כפי שתועדו בשטח. הניטור נעשה במסגרת שבעה ביקורים בשטח בין יוני 2020 ליוני 2021. המדדים שנבדקו היו מדד ירקות שהוערך על פי ניתוח חזותי של כמות העלווה על העץ, ונע בטווח 0-5 (=0 אין עלווה בכלל, 1= פחות מ-20% עלווה, 2= עד 50% עלווה, 3= מעל 50% עלווה, 4= מעל 80% עלווה, 5= כיסוי מלא, גרונר ושות', 2017), נוכחות פריחה שהוערכה על עץ אחד של שיטת הנגב ועץ אחד של שיטה סלילנית בנחל שיטה, ונקבעה כאחוזים מעוצמת הפריחה המרבית (0 מציין שאין פריחה, ו-100% מציין את שיא הפריחה), ונוכחות תרמילים (יש / אין). נוסף על כך, הוערכה צורת עץ המכלוא ביחס לשיטה הסלילנית (משולש הכוך) או לשיטת הנגב (אליפסה).

### איסוף, ריבוי, ובדיקת סמנים של צאצאי עצי המכלוא

בסיור שנערך ביוני 2021 נאספו תרמילים בודדים שנמצאו

פרטים שנבטו סמוך לשיחים קוצניים שורדים ומתפתחים הודות להגנה שהצמחייה הקוצנית מספקת להם. התבססות של שיטים בערוצים רחבים אינה מתאפשרת בשל שיטפונות חזקים. מסיבה זו תיתכן התבססות של עצי השיטה רק על גבי שרטונות ובשולי ערוצי הזרימה (פרלברג ושות', 2013). ירידה בנביטת השיטים נגרמת גם בשל תקופות יובש ועלייה בטמפרטורות (הלוי, 1971, א, ב) המתרחשות בעקבות שינוי האקלים.

בנחל שיטה גדלות שיטה סלילנית ושיטת הנגב באופן טבעי, וכן נמצאו בו עצים החשודים כמכלואים בין שני המינים. העצים האלה דווחו כשופעי עלווה ופריחה וחסרי תרמילים (אשכנזי, 1995; גרונר ושות', 2017). ממופע העצים עולה הרושם שהעצים החשודים כמכלואים גדלים טוב יותר מאשר עצים של כל אחד מהמינים, אולם יש צורך בניסויים מבוקרים כדי לאשש הנחה זו. מאחר שזיהוי עצים שמסתמך על מדדים מורפולוגיים איננו חד-משמעי, ומאחר שיש צורך בהוכחה כי מדובר במכלואים עוד בטרם ייבחנו תכונות העצים, עלה הצורך באפיון גנטי מולקולרי של העצים החשודים. לזיהוי מדויק של העצים בשטח השלכות באשר להמשך ולמסקנות המחקר ארוך הטווח, וכן לתכנון פעולות ממשק עתידיות לטובת שימור השטחים הטבעיים.

בשנים האחרונות פיתוח סמנים גנטיים מולקולריים נעשה אפשרי גם עבור מיני צמחים שאינם צמחי מודל הודות לטכנולוגיות ריצוף DNA מהדור החדש. כיום ניתן בעלויות נמוכות יחסית לפתח סמנים מולקולריים על בסיס השונות הגנטית המצויה ברצף ה-DNA המקודד לגנים (הטרנסקריפטום, transcriptome). טכנולוגיית ריצוף זו שימשה בעבר לפיתוח סמנים מולקולריים מבוססי שונות בנוקלאוטיד אחד (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) לזיהוי מיני השיטים *Acacia auriculiformis* ו-*Acacia mangium* (Wong et al., 2012). כמו כן, שיטת ריצוף זו שימשה לפיתוח סמנים לזיהוי מכלואי אורנים (Houminer et al., 2021). במחקר זה השתמשנו בריצוף מהדור החדש כדי לפתח סמני DNA שבאמצעותם זיהינו מכלואים בין שיטת הנגב לשיטה סלילנית בנחל שיטה, ואפיינו אותם בהשוואה לעצים הגדלים בסביבתם.

### שיטות מחקר

#### חומר גנטי

כדי לפתח סמנים מולקולריים המבדילים בין מיני השיטים, נאספו בסתיו 2019 עלים ירוקים מעשרה עצים מאוכלוסייה של שיטת הנגב הגדלים בנחל ציחור סמוך לכביש 40,

בחינה ב-PCR אותו עשרה סמנים ברורים המבדילים בין שיטה סלילנית לבין שיטת הנגב (איור 1). תוצאה זו מצביעה על פוטנציאל של כמה עשרות SNPs נוספים שניתן לפתח ממאגר הנתונים שבידנו.

### זיהוי סמן כלורופלסטי

במהלך סריקת הסמנים נמצא סמן (מספר 220) שהראה מופע חד-מיני ולא את המופע המשולב של מכלוא. בבדיקה ביואינפורמטית נמצאה התאמה מלאה בין רצף המקטע לבין גן ב-DNA הכלורופלסטי של מספר מיני שיטה. מאחר שהכלורופלסט עובר בהורשה אימהית בעצי שיטה, סמן זה מאפשר לזהות את מין עץ האם שהמכלוא נוצר ממנו.

### זיהוי מכלואים בנחל שיטה

הסמנים שפותחו שימשו לקביעת הגנוטיפ של העצים החשודים כמכלואים (איור 2). התוצאות מצביעות על כך שהעצים החשודים היו עצי מכלוא. מאנליזה של הסמן הכלורופלסטי (סמן 220) על עצי המכלוא נמצא כי 19 מכלואים היו בעלי כלורופלסט של שיטה סלילנית, ול-7 מכלואים היה כלורופלסט של שיטת הנגב.

### בחינת הצאצאים של המכלואים

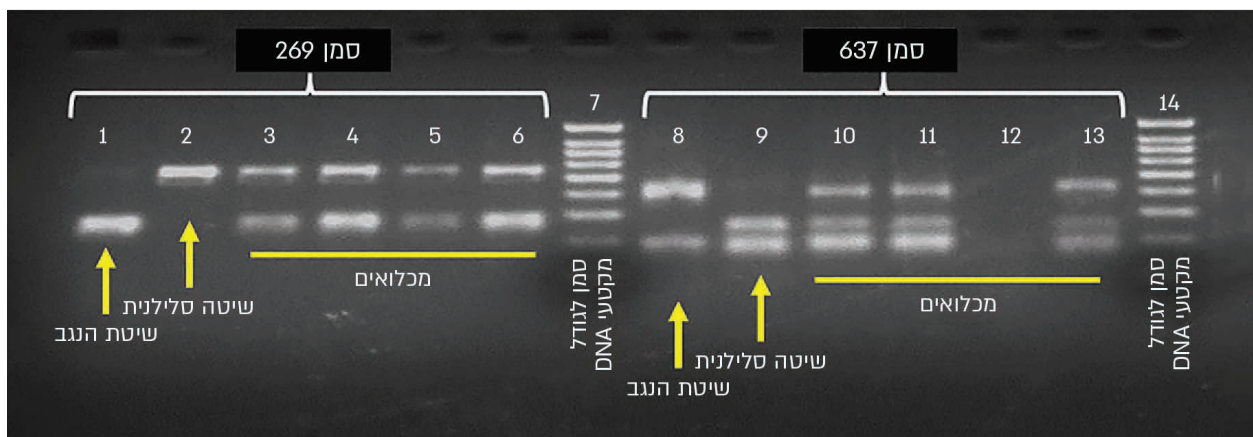
מתוך כלל עצי המכלוא אותו ארבעה עצים שנמצאו עליהם תרמילים בודדים. הזרעים (7 מעץ 8,972 מעץ 2,2031 מעץ 10,258 ו-10 מעץ 255) הונבטו, ומהנבטים הופק DNA לאנליזה גנוטיפית באמצעות 9 הסמנים הגרעיניים. התוצאות הראו

על ארבעה עצים שאומתו כמכלואים על פי הסמנים הגנטיים. לאחר שבוצעה פציעה בקליפת הזרע, הושרו הזרעים במים למשך כיממה, ונזרעו בתבנית הנבטה בחדר גידול מבוקר. מ-27 הנבטים שצמחו הופק DNA, וכלל הסמנים המולקולריים שפותחו בעבודה זו נבדקו עליו. מהתוצאות חושבו מדדי Interspecific Heterozygosity (IH) ו-Hybrid Index (HI). במדד IH הערך 1 מעיד על כך שכל הסמנים מציגים מופע הטרוזיגוטי (מכלוא), בעוד שערך 0 מעיד שכל הסמנים מציגים מופע הומוזיגוטי (מין טהור). במדד HI הערך 0 מעיד על כך שכל הסמנים שייכים לשיטת הנגב, והערך 1 מעיד שכל הסמנים הם של השיטה הסלילנית. שילוב המדדים נותן ערך המאפיין את משקלו הגנטי של כל מין במכלוא הנבדק. לבדיקת הבדלים בין עצי האם התבצע ניתוח סטטיסטי מסוג ANOVA.

## תוצאות

### פיתוח סמני DNA גרעיניים

הקריאות של שיטת הנגב מופו על הטרנסקריפטום של השיטה הסלילנית בשיעור של 76.2%. תוצאות איתור השונות בין המינים סוכמו ב-82,000 SNPs. מספרם ירד ל-8,000 לאחר סינון לפי איכות קריאה (מעל 100), עומק קריאה (מעל 30) והומוזיגוטיות מלאה. בשלב הבא נסרקו ה-SNPs בתוכנת IGV כדי לאתר SNPs מוחלטים שאין בסביבתם שונות נוספת. כך, נבחרו 140 סמנים שתוכננו להם פריימרים ונמצאו אנזימי רסטריקציה מתאימים. לאחר



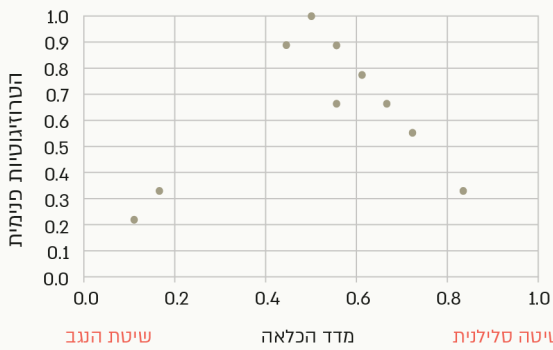
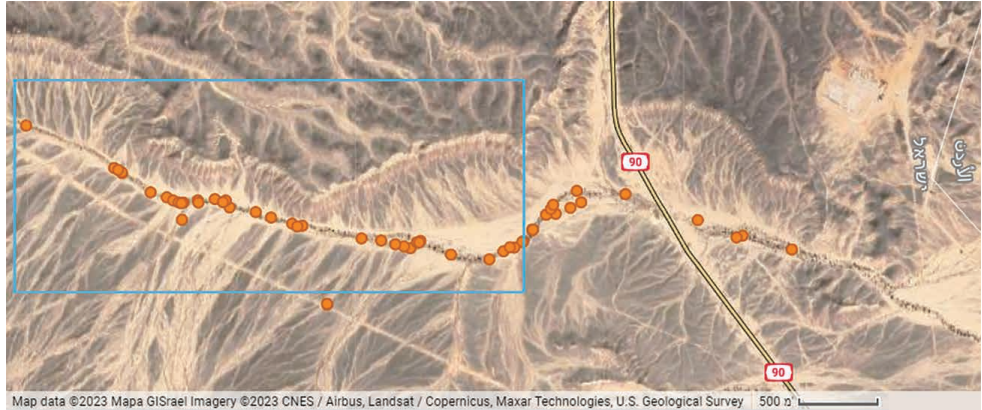
איור 1

### אימות של סמני DNA שפותחו ממאגר הנתונים

הרצת תוצרי חיתוך באנזימים על גל אגרוז של שני סמנים שונים שהוגברו באמצעות PCR מ-DNA גנומי של שיטת הנגב ושיטה סלילנית (חיצים צהובים) וארבעה עצים החשודים כמכלוא. ניתן לראות הבדל ברור באורכי המקטעים המתקבלים מחיתוך באנזימי הרסטריקציה השונים. בסמן 269 (עמדות 1-6) נחתך מקטע ה-DNA של שיטת הנגב, ובסמן 637 (עמדות 8-13) נחתך מקטע ה-DNA של השיטה הסלילנית. ניתן לראות את המופע המשולב במכלואים (עמדות 3-6 ו-10, 11, 13. דוגמה 12 לא עבדה מסיבות טכניות). בעמדות 7 ו-14 מוצג סמן מסחרי לגודל מקטעי DNA.

**איור 2**

**מפת עצי שיטה החשודים כמכלואים בערוץ המרכזי של נחל שיטה**  
 בתוך המסגרת הכחולה עצים שנבדקו גנטית. עצי שיטה סלילנית שאינם חשודים כמכלואים, מופיעים בתצלום האווירי בלבד, ואינם מסומנים בעיגול.



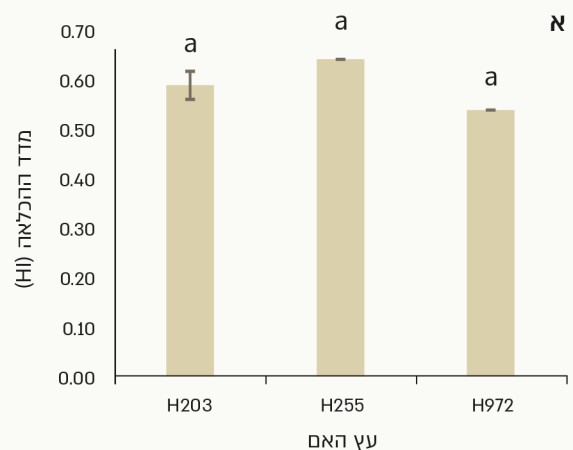
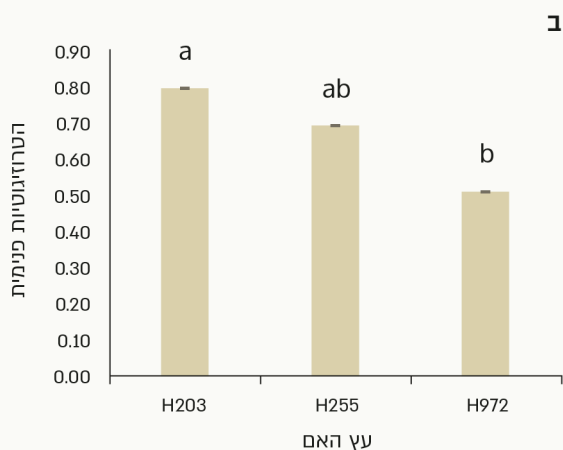
כי התפצלות הסמנים שונה מזו שבעצי האם, וגם שונה בין הצאצאים של אותו עץ אם. התוצאות הצביעו על האבקה ממקורות שונים. שלושה נבטים (972A, 972B, 2031A) הם תוצאה של הפריה על ידי שיטת הנגב, ושאר הנבטים הם תוצאה של האבקה על ידי שיטה סלילנית או מכלוא.

באמצעות תוצאות הסמנים חושבו מדד ההכלאה (HI) ורמת ההטרוזיגוטיות הבין-מינית (IH) לכל פרט. רוב הצאצאים הציגו יותר סמנים של שיטה סלילנית מאשר סמנים של שיטת הנגב (איור 3). שלושה עצי אם נכללו במבחן הסטטיסטי למציאת שונות (לעץ H258 היו רק שני צאצאים, ולכן לא נכלל במבחן הסטטיסטי). לא נמצאה שונות בין קבוצות הצאצאים לפי עץ האם במדד ההכלאה ( $P = 0.43$ ), אולם הצאצאים של H203 היו הטרוזיגוטיים יותר מאשר הצאצאים של עץ H972 ( $P = 0.005$ ). ההטרוזיגוטיות של צאצאי עץ H255 הייתה דומה לזו של שתי קבוצות האחרות (איור 4).

**איור 3**

**מדד ההכלאה לעומת הטרוזיגוטיות פנימית**

במדד ההכלאה ערך של 0 מייצג את שיטת הנגב, וערך של 1 מייצג את השיטה הסלילנית. הערך 1 בהטרוזיגוטיות כללית מעיד שכל הסמנים הטרוזיגוטיים, בעוד שערך 0 מעיד שאין סמנים הטרוזיגוטיים.



**איור 4**

**מדד ההכלאה (א) והטרוזיגוטיות פנימית (ב) בצאצאים של שלושה עצי מכלוא בנחל שיטה**  
 איתיות קטנות שונות מייצגות הבדל סטטיסטי ( $P < 0.005$ ).



**מדדים מורפולוגיים ופנולוגיים**

עוצמת העלווה הירוקה נמדדה. מהממצאים עולה כי בכל המועדים הציגו עצי שיטת הנגב עלווה בעוצמה גבוהה יותר מזו שהציגו עצי השיטה הסלילנית. בעצי המכלוא נצפתה עלווה בעוצמה שהייתה גבוהה מזו של עצי השיטה הסלילנית ונמוכה מזו של שיטת הנגב (טבלה 1).

תצפיות שהתבצעו בחלון זמנים קצר יחסית במחקר זה רמזו כי פנולוגיית הפריחה במכלואים דומה יותר לזו של השיטה הסלילנית, אם כי דרושות תצפיות נוספות במרווחי זמן קצרים יותר כדי לקבוע זאת בוודאות. פנולוגיית הפריחה דומה לזו שהציע בני שלמון תוך התבססות על תצפיותיו

שנערכו במהלך 20 השנים האחרונות, שבמהלכן תועדה פריחה של שיטה סלילנית מיוני עד דצמבר, ופריחת שיטת הנגב מיוני עד נובמבר (בני שלמון, מידע אישי). כפי שצוין קודם, הפריחה הניבה רק תרמילים בודדים על ארבעה עצים מתוך 26 העצים שהוכחו כמכלואים באמצעות הבדיקות הגנטיות. לאחר קבלת התוצאות המולקולריות, נערך סיור נוסף בנחל שיטה, ובמסגרתו צולמו כל העצים שנמצאו כמכלואים, כמו גם עצי שיטה סלילנית ושיטת הנגב. מתצלומי העצים ניתן לראות כי מבנה עצי המכלוא דומה למבנה עצי שיטת הנגב, שצורתם דומה לאלפיסה, ולא לעצי השיטה הסלילנית שצורתם דומה יותר למשולש הפוך (איור 5).

מין	מספר עצים	17.6.20	29.7.20	20.10.20	16.11.20	16.3.21	29.4.21	9.6.21
שיטת הנגב	10	3.95 ± 0.28	4.80 ± 0.13	4.70 ± 0.17	5 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	5 ± 0
שיטה סלילנית	10	2.3 ± 0.11	2.16 ± 0.16	1.65 ± 0.22	3.2 ± 0.33	3 ± 0.15	3 ± 0.15	-
מכלואים	24	-	-	3.38 ± 0.3	-	3.41 ± 0.19	3.22 ± 0.17	2.86 ± 0.21

טבלה 1

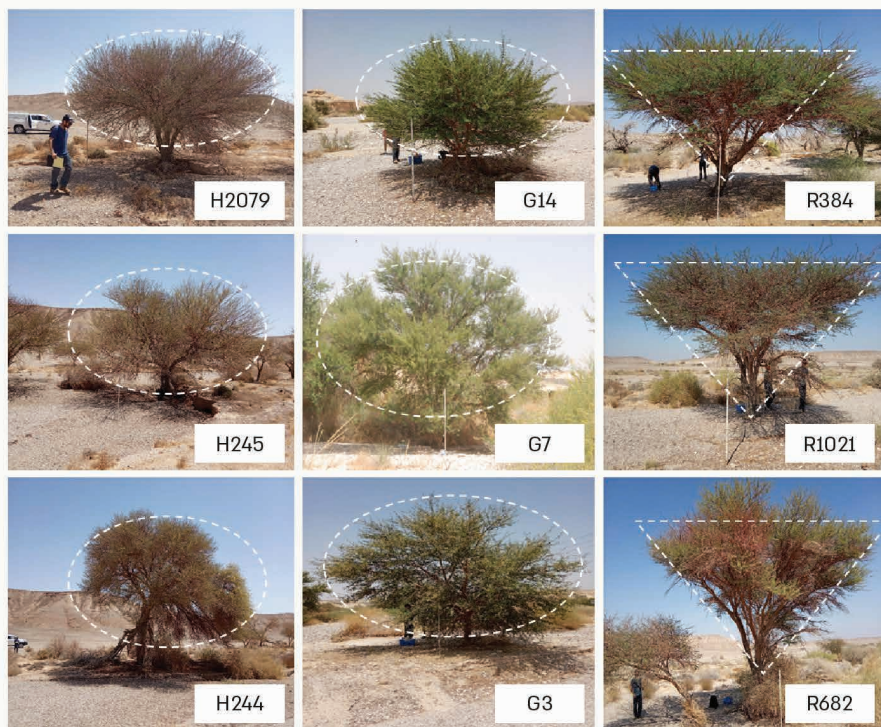
**עוצמת העלווה הירוקה בקבוצות העצים השונות**

עוצמת העלווה נמדדה בשבעה ביקורים בנחל שיטה שנערכו בין יוני 2020 ליוני 2021 (התאריכים מצוינים בשורה העליונה). "מדד ירקות" – מדד לכימות העלווה על העץ, נע בטווח 0-5, 0 = אין עלווה בכלל, 1 = פחות מ-20% עלווה, 2 = עד 50% עלווה, 3 = מעל 50% עלווה, 4 = מעל 80% עלווה, 5 = כיסוי מלא.

מכלוא

שיטת הנגב

שיטה סלילנית



איור 5

**צורתם הכללית של עצי השיטה בנחל שיטה**

עצי המכלוא דומים יותר בצורתם הכללית לעצי שיטת הנגב.

## דיון ומסקנות

רוב עצי השיטה בנחל שיטה הם שיטה סלילנית. יש לציין, שבסוף המחקר הנוכחי נבדקו שלושה מתוך ארבעה עצי שיטה הנגב, ונמצא כי שניים מהם הם למעשה עצי מכלוא ולא שיטה הנגב. ייתכן שמספר עצי שיטה הנגב הידועים בנחל שיטה נמוך מכפי שחשבו בעבר. אנו ממליצים לבחון גנטית את כלל עצי שיטה הנגב בנחל שיטה כדי לאמוד את שכיחותם נכון להיום. מעניין לציין כי מבנה העץ הכללי של המכלואים נמצא דומה לזה של שיטה הנגב (איור 5).

### עקרות בעצי מכלוא

מתוך 26 העצים שאומתו כמכלואים והציגו פריחה בעוצמה רבה, רק על ארבעה מהם נמצאו תרמילים בודדים. תופעה זו דווחה בעבר על ידי אשכנזי (1995) שסברה כי היא מאפיינת עצי מכלוא. אשכנזי (1995) ציינה גם כי קיימים עצי שיטה סלילנית שניטעו במערב הנגב שאינם מייצרים תרמילים, אולם לא ברורה הסיבה לכך. סמני ה-DNA שפותחו במחקר זה יאפשרו לבחון אם מדובר בעצי מכלוא במקומות נוספים שמעלים סימני שאלה באשר לזהות הגנטית של עצי שיטה. עקרות היא תכונה המעודדת בידוד ושימור של המין (Kim and Zhang, 2018). בידוד רבייה (reproductive isolation), שמשמעותו הפרדת שתי אוכלוסיות כך שאינן יכולות להתפתח למכלוא, מתרחש עקב חסם טרום-זיגוטי (לא מתבצעת הפריה בין המינים) או פוסט-זיגוטי (הצאצאים שנוצרים אינם מייצרים צאצאים). מכלואי השיטים שבמרכז מחקר זה מקיימים בידוד רבייה מסוג פוסט-זיגוטי (Widmer et al., 2009). עקרות במכלואים טריפלואידים (בעלי שלוש מערכות כרומוזומים במקום שתיים) ידועה זה מכבר, ודווחה בעבר במינים שונים כמו במכלואים של אגס שנמצאו טריפלואידים (Phillips et al., 2016), אבטיח חסר זרעים, או צמח הזעפרן (*Crocus sativus*) (Nemati et al., 2019). אנליזה קריוטיפית של המכלואים לא נכללה במחקר זה, ולכן לא ידוע אם מדובר בטריפלואיד, אולם, העקרות שנמצאה בכל המכלואים במחקר הנוכחי מעלה את הסברה כי מדובר בטריפלואיד.

עצי המכלוא מתאפיינים בין היתר בעלווה ירוקה בעוצמה גבוהה (גרונר ושות', 2017). במחקר הנוכחי נמצא כי עוצמת העלווה הייתה גבוהה משל השיטה הסלילנית ונמוכה מזו של שיטה הנגב. יתכן שהתכונה הזו מושפעת מתנאי סביבה, אולם יכול להיות שעוצמת העלווה מתגברת על רקע העקרות שמפנה אנרגיה לצימוח הווגטטיבי. עם זאת, מחקר נוסף נדרש כדי לקבוע אם מדובר בתופעה של און-מכלוא (heterosis).

במרוצת השנים נערכו מספר מחקרים ברחבי העולם שעסקו במכלואים בין מיני עצי שיטה. באוניברסיטת האנוי בווייטנאם נערך מחקר על מיני השיטים האוסטרליות,

בעבודה זו פותחו תשעה סמני DNA שאפשרו לבחון גנטית עצים החשודים כמכלואים בין שיטה סלילנית לשיטה הנגב בנחל שיטה. תוצאות הבדיקה העלו כי העצים החשודים הם אכן מכלואים, וכי עקרות העץ היא הסמן המורפולוגי האמין ביותר לזיהוי מכלואים בשטח. רוב המכלואים הם תוצר האבקה של שיטה הנגב על שיטה סלילנית, אך נמצאו מכלואים שמעידים גם על האבקה הפוכה.

הסמנים השכיחים כיום לזיהוי מכלואים הם סמני DNA המבוססים על שונות בין-מינית ברצף חומצות הגרעין, מסוג SNP (Chen and Sullivan, 2003). עבור מגוון גדול של אורגניזמים המשמשים מודל גנטי קיים רפרטואר עשיר של סמנים גנטיים. לעומת זאת, עבור אורגניזמים רבים אחרים, בהם עצי השיטה שבמרכז המחקר הנוכחי, לא קיים מידע גנטי, ולכן היה צורך לבסס מאגר מידע מתאים. לשם כך, ריצפנו את החלק שמקודד לחלק מהגנים, הטרנסקריפטום של שיטה זו נהוגה במקרים שיש צורך בפישוט מורכבותם של גנומים גדולים, כפי שעשינו בעבר במחקר עם אורנים (Fox et al., 2018), וגם כדי להוריד את עלויות הריצוף.

### עצי המכלוא בנחל שיטה

תוצאות עשרת סמני ה-DNA שפותחו במחקר הנוכחי מצביעות על כך שעצי השיטה שהוגדרו כחשודים, היו אכן מכלואים (הלוי, 1971א, ב; גרונר ושות', 2017). מאחר שעצי המכלוא היו חסרי תרמילים (פרט לתרמילים בודדים באחדים מהעצים), ניתן להסיק כי היעדר תרמילים הוא סמן מורפולוגי אמין לזיהוי מכלואים בין שיטה סלילנית לשיטה הנגב.

למעט תשעה סמני ה-DNA הגרעיניים שהתפצלו במכלואים, נמצא סמן מהגנום הכלורופלסטי שמעיד על הורשת הכלורופלסט. הכלורופלסט במשפחת הקטניתיים, שעצי השיטה משתייכים לה, מורש על ידי עץ האם (Imai et al., 2021), ולכן סמן זה מאפשר לנו לקבוע את מינו של עץ האם שעץ המכלוא נוצר ממנו. ממצאי העבודה הנוכחית מעידים כי מרבית המכלואים נוצרו מעצי אם של שיטה סלילנית (19 פרטים), בעוד שמיעוטם נוצרו מעצי אם של שיטה הנגב (7 פרטים). מניטור מועדי הפריחה של שני המינים נראה כי הדומיננטיות של האבקה על ידי שיטה הנגב היא תוצאה של מועד פריחה מוקדם ביחס לשיטה הסלילנית, בהתאם למה שפורסם בעבר (אשכנזי, 1995). הסבר נוסף לדומיננטיות של השיטה הסלילנית כעץ אם נעוץ בהבדל המספרי המהותי של פרטי המינים בנחל שיטה. על פי ממצאי "תוכנית ניטור שיטים אחידה בערבה", שפרסם מרכז מדע ים המלח והערבה בשנת 2017 (גרונר ושות', 2017),

## השלכות אקולוגיות של הימצאות מכלואי שיטים בנחל שיטה

הכלאה טבעית קורית תדיר בצמחים, ממלאת תפקיד חשוב באבולוציה כמקור לשילובי גנים חדשים, ומהווה מנגנון של התמיינות מחדשת (Sun and Lo, 2011). כאשר קיים בידוד רבייתי בין שני מינים, לא מתאפשר תהליך התמיינות של מין חדש. עם זאת, במקרה שלפנינו קיימת מידה מועטה של רבייה בעצי מכלוא מסוימים. אם תנאי האקלים יחמירו, ייתכן שהתרמילים הבודדים שכן נוצרים בעצי המכלוא יצליחו לנבט ולהתבסס בשטח. מאחר שהמינים השונים מתאפיינים בטמפרטורת נביטה שונה, ייתכן שלזרעים הנוצרים מההפריה הבין-מינית יש יתרון בנביטה. השערה זו צריכה להיבדק במחקר המשך.

קשה לצפות את הבאות, אולם העובדה שכמות המשקעים השנתית שנמדדה בתחנת המדידה בערבה הדרומית בין השנים 1993–2009 מראה ירידה של כ-50% בהשוואה לשנים 1951–1993 (Ginat et al., 2011), מעלה את החשש שקיומם של עצי השיטה בערבה נתון בסכנה. כיום השטח יבש יותר בתקופת התבססות העצים, ועל כן נראים מעט עצים צעירים בשטח. אם מגמה זו תימשך, יש להניח שמספר עצי השיטה יקטן עוד יותר. בעקבות זאת ייכגעו גם בעלי החיים הניזונים מהם, כגון צבאים וראמים, ואי לכך, תיפגע גם ההפצה של זרעי השיטה. ניתן להעריך שכלל שההפרעות האנתרופוגניות העקיפות יימשכו, כלל מיני השיטה שגדלים בנחל שיטה יהיו בסכנה קיומית (Armoza-Zvuloni et al., 2021). ככל הנראה, שגשוגם של עצי מכלוא בנחל מעיד על יכולת התמודדות טובה שלהם עם תנאי הסביבה, וייתכן שעתידי קיומה של אוכלוסיית השיטים נעוץ בשילובם של מכלואים אלה.

## תודות

במחקר זה היו מעורבים המרכז לחקר השיטים, קרן קימת לישראל, LTER ישראל ומו"פ מדבר וים המלח. המחקר מומן על ידי קק"ל, והוגש כעבודת תזה לתואר שני לאוניברסיטה העברית בירושלים על ידי הסטודנט תום שיפרין בהנחיה משותפת של ד"ר רקפת דוד-שורץ ממכון וולקני וד"ר ליאור אשד-וויליאמס מהאוניברסיטה העברית בירושלים. ד"ר אורי פרגמן-ספיר סייע במידע טקסונומי.

*Acacia mangium* ו-*Acacia auriculiformis*, שנוצרו מהן פרטים שנמצאו טריפלואידים ועקרים (Quynh Nghiem et al., 2018). בווייטנאם מתקיימת תעשייה מתפתחת של ייצור סיבי עץ קצרים, ולכן יש חשיבות וכדאיות בפיתוח קווים עקרים שנמצאו בעלי צימוח מהיר. העקרות שנמצאה אינה מוחלטת. מתוך 13 קווים שפותחו, התקבלו 5 קווים בעלי אחוזי עקרות גבוהים דיים. התרמילים שנוצרים מניבים כמות זרעים נמוכה יחסית, והם בעלי אחוזי נביטה נמוכים בהשוואה לעצי האם. כמו כן, באוניברסיטת הוואי נערך מחקר על מכלואים טריפלואידים בשני מינים של צחר (*Leucaena leucocephala* ו-*Leucaena diversifolia*) ממשפחת המימוזיים, ומהם פותחו 12 מכלואים טריפלואידים (Brewbaker, 2013). מרבית המחקרים שנעשים על מכלואי עצי שיטה נעשים מתוך אינטרסים כלכליים, כמו למשל המחקר שנעשה בווייטנאם ומצביע על העובדה שבכ-50% מייצור העץ לתעשייה שמקורו במטעים של משקי בית כפריים, ניתן להביא למקסימום גם את התוצרת וגם את ההכנסה (Tham et al., 2020). לאור ההבנה כי מכלואי עצי השיטה מהווים מקור כלכלי משמעותי בווייטנאם, נעשים ניסיונות מתמידים לפיתוח קווים חדשים של מכלואי שיטים לטובת תעשיית העץ המקומית (Sein and Mitlöhner, 2020; Sunarti and Nirsatmanto, 2020). מאידך גיסא, יש כוונה לפתח זני עילית בעלי עמידות מוגברת למחלות, שיהווו אבן בסיס לייצור בר-קיימא ויסייעו להתפתחותה של כלכלת וייטנאם (Son et al., 2018).

## צאצאים של מכלואי השיטים

רוב עצי המכלוא נמצאו עקרים, אך בארבעה מהם נמצאו תרמילים בודדים. העובדה שרמת ההטרוזיגוטיות בצאצאי עץ H203 נמצאה גבוהה מאשר בצאצאי עץ H972 מעידה שאת העץ הראשון האביקו עצי מכלוא, ואילו את השני האביקו כנראה עצי שיטה סלילנית. הסבר אפשרי לעובדה זו נעוץ במיקום הגאוגרפי של העצים. בעוד שעץ H203 גדל כחלק מקבוצת עצי מכלוא, עץ H972 גדל מערבית להם, במרחק גדול יחסית מקבוצה זו, בין עצי שיטה סלילנית וסמוך לעץ מכלוא נוסף אחד. כל ארבעת העצים הללו נוצרו מעצי אם של שיטה סלילנית שהואבקו על ידי שיטת הנגב. ייתכן שרק בכיוון הפריה זה נוצרים זרעים, אם כי באופן מוגבל ביותר, אולם המספר המצומצם של צאצאי מכלואים בכלל וחוסר צאצאי מכלואים מהכיוון ההפוך מקשה על הסקת מסקנה זו באופן חד-משמעי.



- Li B and Dewey CN (2011) RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics*, 12, 323.
- Lövenstein HM, Berliner PR, and van Keulen H. 1991. Runoff agroforestry in arid lands. *Forest Ecology and Management*, 45(1), 59–70.
- ILTER Israel. n.d. Wadi Shita. Israeli Long-Term Ecological Research Network. <https://lter-israel.org.il/shita-wadi/>
- Michaels SD and Amasino RM. 1998. A robust method for detecting single-nucleotide changes as polymorphic markers by PCR. *Plant Journal*, 14(3), 381–385.
- Munzbergova Z and Ward D. 2002. *Acacia* trees as keystone species in Negev desert ecosystems. *Journal of Vegetation Science*, 13(2), 227–236.
- Nemati Z, Harpke D, Gemicioglu A, Kerndorff H, and Blattner FR. 2019. Saffron (*Crocus sativus*) is an autotriploid that evolved in Attica (Greece) from wild *Crocus cartwrightianus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 136, 14–20.
- Or K and Ward D. 2003. Three-way interactions between *Acacia*, large mammalian herbivores and bruchid beetles – a review. *African Journal of Ecology*, 41(3), 257–265.
- Phillips WD, Ranney TG, Touchell DH, and Eaker TA. 2016. Fertility and reproductive pathways of triploid flowering pears (*Pyrus* sp.). *HortScience*, 51(8), 968–971.
- Quynh Nghiem CA, Griffin RL, Harbard J, Harwood CE, Le S, Duc Nguyen K, et al. 2018. Reduced fertility in triploids of *Acacia auriculiformis* and its hybrid with *A. mangium*. *Euphytica*, 214(4), 77.
- Sein CC and Mitlöchner R. 2011. *Acacia hybrid: Ecology and silviculture in Vietnam*. CIFOR.
- Son DH, Harwood CE, Kien ND, Griffin AR, Thinh HH, and Son L. 2018. Evaluating approaches for developing elite *Acacia* hybrid clones in Vietnam: Towards an updated strategy. *Journal of Tropical Forest Science*, 30(5), 476–487.
- Stavi I, Zinnes TA, Joseph A, Solowey E, and Groner E. 2015. The role of large herbivores in recruitment of *Acacia* trees via endozoochory in the Arava Valley, Israel. *European Journal of Wildlife Research*, 61(5), 775–781.
- Sun M and Lo EYY. 2011. Genomic markers reveal introgressive hybridization in the Indo-West Pacific mangroves: A case study. *PLoS ONE*, 6(5), e19671.
- Sunarti S and Nirsatmanto A. 2020. The potential of introducing new variety of *Acacia* hybrids in agroforestry systems. In: IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, vol 1. IOP Publishing, p 012016.
- Tham LT, Darr D, and Pretzsh J. 2020. Contribution of small-scale *Acacia* hybrid timber production and commercialization for livelihood development in central Vietnam. *Forests*, 11(12), 1335.
- Tybirik K. 1993. Pollination, breeding system and seed abortion in some African acacias. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 112(2), 107–137.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, et al. 2012. Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15), e115.
- Widmer A, Lexer C, and Cozzolino S. 2009. Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity*, 102(1), 31–38.
- Winters G, Otieno D, Cohen S, Bogner C, Ragowloski G, Paudel I, et al. 2018. Tree growth and water-use in hyper-arid *Acacia* occurs during the hottest and driest season. *Oecologia*, 188(3), 695–705.
- Wong MML, Cannon CH, and Wickneswari R. 2012. Development of high-throughput SNP-based genotyping in *Acacia auriculiformis* x *A. mangium* hybrids using short-read transcriptome data. *BMC Genomics*, 13(1), 726.
- אבן-ארי מ, שונ ל ותדמור נ. 1980. הנגב, מלחמת קיום במדבר. ירושלים: מוסד ביאליק.
- ארמוזה-זבולוני ר, עבאדי א, שלומי י, גינת ה, שגב נ ושם טוב ר. 2023. הקשר בין פוטנציאל יצירת הנגר ופיזור שיטים באגני משנה של נחל שיטה. יער, 24, 22–32.
- אשכנזי ש. 1995. עצי השיטה בנגב ובערבה, סקר בעקבות תופעות ההתייבשות והתמותה. הקרן הקיימת לישראל, ירושלים.
- בהרב ד. 1987. בחירת בית הגידול באזור מדברי וניצולו על ידי צבי הנגב. בתוך: שלמון ב (עורך). הצבאים בישראל, לקט מאמרים. החברה להגנת הטבע, מרכז מידע על יונקים. עמ' 82–96.
- גורנר א, רפפורט ע, שגב נ, רגולסקי ג, נלביצקי ר, אלכסנדר ק ושות'. 2017. תכנית ניטור שיטים אחידה בערבה. מחקרי הנגב, ים המלח ובערבה, 9(1), 14–1.
- הלוי ג. 1971א'. אוטואקולוגיה של שלושה מיני שיטה בנגב ובסיני (עבודה לקבלת תואר מוסמך). ירושלים: האוניברסיטה העברית בירושלים.
- הלוי ג. 1971ב'. אוטואקולוגיה של שלושה מיני שיטה בנגב ובסיני – אלמנט סודני באזור מדברי. טבע וארץ, ט"ז 3, 129–132.
- וינטרס ג, אוני ד, שפר א ואחרים. 2019. נדילת הגזע אצל עצי שיטה בערבה מתרחשת בתקופת הקיץ החם והיבש – הכיכד? אקולוגיה וסביבה, 10(1), 30–37.
- פלד י. 1988. תמותת עצי השיטה בערבה הדרומית (עבודה לקבלת תואר מוסמך). ירושלים: האוניברסיטה העברית בירושלים.
- פרלברג א, רון מ ורומן א. 2013. סקר שיטים בערבה. דו"ח סופי. הקרן הקיימת לישראל, מרחב דרום, יחידת סקרי טבע ונוף, מכון דש"א.
- שלמון ב. 1981. עולם טרופי גונז בין ענפי השיטה. טבע וארץ, כ"ג 5, 198–205.
- שמידע א ואור י. 1983. הצמחייה הסודנית בישראל. רת"ם, 8, 1–149.
- שמידע א, גולן ע ורון מ. 2015. עד היכן מצפינה השיטה הסלילנית? כלנית, 2. <https://www.kalanit.org.il/acacia-raddiana>
- Armoza-Zvuloni R, Shlomi Y, Shem-Tov R, Stavi I, and Abadi I. 2021. Drought and anthropogenic effects on *Acacia* populations: A case study from the hyper-arid southern Israel. *Soil Systems*, 5(2), 23.
- Brewbaker JL. 2013. 'KX4-Hawaii', Seedless Interspecific Hybrid *Leucaena*. *HortScience*, 48(3), 390–391.
- Chen X and Sullivan PF. 2003. Single nucleotide polymorphism genotyping: Biochemistry, protocol, cost and throughput. *The Pharmacogenomics Journal*, 3(2), 77–96.
- Fox H, Doron-Faigenboim A, Kelly G, Bourstein R, Attia Z, Zhou J, et al. 2018. Transcriptome analysis of *Pinus halepensis* under drought stress and during recovery. *Tree Physiology*, 38(3), 423–441.
- Ginat H, Shlomi Y, Batarseh S, and Vogel J. 2011. Reduction in precipitation levels in the Arava Valley (southern Israel and Jordan), 1949–2009. *Journal of Dead-Sea and Arava Research*, 3, 1–7.
- Houminer N, Doron-Faigenboim A, Shklar G, De La Torre AR, Neale D, Korol L, et al. 2021. Transcriptome-based single-nucleotide polymorphism markers between *Pinus brutia* and *Pinus halepensis* and the analysis of their hybrids. *Tree Genetic and Genomes*, 17(2), 14.
- Imai R, Kajita Y, Yamamoto T, Takayama K, and Kajita T. 2021. The complete chloroplast genome of a pantropical legume, *Canavalia rosea*. *Mitochondrial DNA Part B*, 6(2), 295–296.
- Kim Y-J and Zhang D. 2018. Molecular control of male fertility for crop hybrid breeding. *Trends in Plant Science*, 23(1), 53–65.
- Kyalangaliwa B, Boatwright JS, Daru BH, Maurin O, and van der Bank M. 2013. Phylogenetic position and revised classification of *Acacia* s.l. (Fabaceae: Mimosoideae) in Africa, including new combinations in *Vachellia* and *Senegalia*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 172(4), 500–523.
- Lahav-Ginott S, Kadmon R, and Gersani M. 2001. Evaluating the viability of *Acacia* populations in the Negev Desert: A remote sensing approach. *Biological Conservation*, 98(2), 127–137.



נחל שיטה: שיטת מכלוא עתירת עלווה בקדמת התמונה, ומאחוריה עצי שיטה סלילנית  
צילום: בני שלמון