



2000-2002

תקופת המחקר:

256-0566-02

קוד מחקר:

Subject: PREVENTING FLOWER FADING AT HIGH TEMPERATURES

Principal investigator: MICHAL SHAMIR

Cooperative investigator: ABRAHAM HALEVI, ADA NISSIM-LEVY, RINAT OVADIA

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O.)

שם המחקר: מניעת דהיית צבע בפרחי קטיף כתוצאה מטמפרטורות גבוהות

חוקר ראשי: מיכל שמיר

חוקרים שותפים: אברהם הלוי, עדה נסים, רינת עובדיה

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

הבעיות המרכזיות בפריחה בעונות החמות היא דהיית הצבע בעלי הכותרת הפוגעת באיכות הפרחים במידה שאינה מאפשרת את שיווקם.

המטרה המרכזית במחקר הייתה לשפר את איכות צבע פרחי הקטיף בטמפרטורות גבוהות. הצענו לבחון טיפולים פשוטים וזולים יחסית שיביאו לקבלת ריכוז פיגמנטים גבוה יותר בפרחים בעונות חמות. ההצעה התבססה על עבודה עם פרחי אסטר, בה התקבל שיפור משמעותי בריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר בטמפרטורות גבוהות, על ידי טיפול במגנזיום.

התוצאות העיקריות ממחקר זה הן: א. הטיפול במגנזיום בפרחי אסטר גרם לעליה בריכוז אנטוציאנינים בפרחים שגדלו בטמפרטורות גבוהות, מבלי להעלות את קצב סינטזת הפיגמנטים. ב. טיפולים במגנזיום גרמו לעליה בריכוז אנטוציאנינים בפרחי כף קנגורו ואקוניטום שגודלו במנותק מהצמח השלם בטמפרטורות גבוהות. ג. טיפולי מגנזיום לענפים קטופים או לענפונים של לימוניים גרמו לעליה בריכוז האנטוציאנינים בחפים בטמפרטורות גבוהות. ד. טיפול במגנזיום גרם להארכת משך הזמן שאנטוציאנינים מרוכזים בעלי קוקופלס צעירים.

מסקנות - אנטנו מקוים להמשיך מחקר זה ברמה בסיסית להבנת המנגנון הביוכימי לאפקט העלאת ריכוז האנטוציאנינים על ידי מגנזיום. מספר טיפולים רב או ריכוזים גבוהים של מגנזיום מורידים את אפקט העלאת ריכוז הפיגמנטים וגורמים לנזקים בצמחים. יתכן שמציאת דרך להעשרת הפרח (או העלווה המלבלבת) במגנזיום באופן ישיר ולפרק זמן קצוב, יפתור בעיות אלו ויאפשר שימוש במגנזיום לשיפור הפיגמנטציה ברמה חקלאית.

פרסומים:

1. Shaked-Sachray L., Weiss D., Reuveni M., Nissim-Levi A. and Oren-Shamir M. (2002). Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to Magnesium treatment. Physiol. Plant., 114: 559-565.

2. Nissim-Levi A., Kagan S., Ovadia R. and Oren-Shamir M. Effects of temperature, UV-light and magnesium on anthocyanin pigmentation in *Cocoplum* leaves. J. of Hort. Sci. and Biotech., 78, 61-64.

3. **Oren-Shamir M.**, Nissim-Levi A, Ovadia R, Kagan S. and Shaked-Sachray, L. Increased anthocyanin accumulation in flowers and foliage at elevated temperatures, due to magnesium treatment. Acta. Hort. (reviewed), in press.

דוח לשנת 2002 להצעה מס. 256-0566-02

מניעת דהיית צבע בפרחי קטיף כתוצאה מטמפרטורות גבוהות

Preventing flower fading at high temperatures.

דוח מסכם

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולהנהלת ענף הפרחים

ד"ר מיכל שמיר צמחי נוי, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן.

עדה ניסים-לוי צמחי נוי, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן.

רינת עובדיה צמחי נוי, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן.

פרופ. אברהם הלוי, מטעים וצמחי נוי, הפקולטה לחקלאות, רחובות.

Michal Oren-Shamir, Ornamental Horticulture Dept. ARO, Bet Dagan. E-mail:

lporen@wicc.weizmann.ac.il

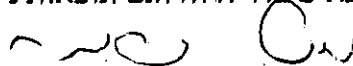
Ada Nissim-Levi, Ornamental Horticulture Dept. ARO, Bet Dagan

Rinat Ovadia, Ornamental Horticulture Dept. ARO, Bet Dagan

Avraham Halevy, Horticulture Dept. Agriculture Faculty, The Hebrew University, Rehovot.

* אני מאשרת שהממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים.

חתימת החוקר:



תקציר

הבעיות המרכזיות בפריחה בעונות החמות היא דהיית הצבע בעלי הכותרת הפוגעת באיכות הפרחים במידה שאינה מאפשרת את שיווקם. המטרה המרכזית במחקר היתה לשפר את איכות צבע פרחי הקטיף בטמפרטורות גבוהות. הצענו לבחון טיפולים פשוטים וזולים יחסית שיביאו לקבלת ריכוז פיגמנטים גבוה יותר בפרחים בעונות חמות. ההצעה התבססה על עבודה עם פרחי אסטר, בה התקבל שיפור משמעותי בריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר בטמפרטורות גבוהות, על ידי טיפול במגנזיום.

התוצאות העקרויות ממחקר זה הן: א. הטיפול במגנזיום בפרחי אסטר גרם לעליה בריכוז אנטוציאנינים בפרחים שגדלו בטמפרטורות גבוהות, מבלי להעלות את קצב סינטזת הפיגמנטים. ב. טיפולים במגנזיום גרמו לעליה בריכוז אנטוציאנינים בפרחי כף קנגורו ואקוניטום שגודלו במנותק מהצמח השלם בטמפרטורות גבוהות. ג. טיפולי מגנזיום לענפים קטופים או לענפונים של לימוניות גרמו לעליה בריכוז האנטוציאנינים בחפים בטמפרטורות גבוהות. ד. טיפול במגנזיום גרם להארכת משך הזמן שאנטוציאנינים מרוכזים בעלי קוקופלס צעירים.

אנחנו מקוים להמשיך מחקר זה ברמה בסיסית להבנת הנמגון הביוכימי לאפקט העלאת ריכוז האנטוציאנינים על ידי מגנזיום. מספר טיפולים רב או ריכוזים גבוהים של מגנזיום מורידים את אפקט העלאת ריכוז הפיגמנטים וגורמים לנזקים בצמחים. יתכן שמציאת דרך להעשרת הפרח (או העלווה המלבלבת) במגנזיום באופן ישיר ולפרק זמן קצוב, יפתור בעיות אלו ויאפשר שימוש במגנזיום לשיפור הפיגמנטציה ברמה חקלאית.

רשימת פרסומים:

1. Shaked-Sachray L., Weiss D., Reuveni M., Nissim-Levi A. and Oren-Shamir M. (2002). Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to Magnesium treatment. Physiol. Plant., 114: 559-565.
2. Nissim-Levi A., Kagan S., Ovadia R. and Oren-Shamir M. Effects of temperature, UV-light and magnesium on anthocyanin pigmentation in *Cocoplum* leaves. J. of Hort. Sci. and Biotech., 78, 61-64.
3. Oren-Shamir M., Nissim-Levi A., Ovadia R., Kagan S. and Shaked-Sachray, L. Increased anthocyanin accumulation in flowers and foliage at elevated temperatures, due to magnesium treatment. Acta. Hort. (reviewed), in press.

מבוא (רקע מדעי ומטרות)

ישנה נטייה בענף הפרחים, להאריך את עונת השווק מעונת החורף לתוך עונות הסתיו, האביב ובמידת האפשר גם לעונת הקיץ. אחת הבעיות המרכזיות בפריחה בעונות אלו היא דהייית הצבע בעלי הכותרת הפוגעת באיכות הפרחים במידה שאינה מאפשרת את שיווקם. התופעה בולטת בעיקר בפרחים בהם המרכיבים העיקריים לצבע הם האנטוציאנינים.

המטרה המרכזית במחקר זה הייתה לשפר את איכות צבע פרחי הקטיף בטמפרטורות גבוהות. הצענו לבחון טיפולים פשוטים וזולים יחסית שיביאו לקבלת ריכוז פיגמנטים גבוה יותר בפרחים בעונות חמות. ההצעה מתבססת על עבודה ראשונית בה התקבל שיפור משמעותי בריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר בטמפרטורות גבוהות, על ידי טיפול במגנזיום. מציאת טיפולים בפרחי אסטר שאינם פוגעים באיכות הפרח, תוביל בהמשך למציאת פתרונות דומים לפרחי קטיף אחרים.

במחקר מוקדם שלנו (תכנית מדען שמומנה לשנתיים וסיומה היה ב-12/97) בחנו השפעת טמפרטורות על פיגמנטציה בזנים 'סנגל' ו'סנטנה' של פרחי אסטר. מצאנו שלמרות ששני הזנים קרובים מאוד מבחינה גנטית, השפעת טמפרטורת הגידול על הפיגמנטציה של פרחיהם הייתה שונה: בזן 'סנטנה' ריכוז האנטוציאנינים לא השתנה בטמפרטורות שונות ובזן 'סנגל' הריכוז ירד עם עליה בטמפרטורה. למרות שוני זה, נראה מממצאים ראשוניים שקצב סינתזת האנטוציאנינים היה דומה בשני הזנים וירד עם העלייה בטמפרטורה. מכאן שכנראה ההבדל בין שני זני האסטר הוא בקצב פירוק הפיגמנטים. מצאנו שטיפולים במגנזיום, גרמו לעליה משמעותית בריכוז הפיגמנטים בפרחים הגדלים בטמפרטורות גבוהות. על מנת ללמוד את התופעה ולבחון מספר רב של חומרים, פיתחנו מערכת *in vitro* שבה פקעי פרחים מנותקים גודלו בתמיסות סוכרוז עם ריכוזים שונים של מגנזיום. בנוסף לכך בחנו האם יתכן שטיפולי המגנזיום גרמו לעליה בקצב סינתזת האנטוציאנינים. נמצא שפעילות האנזימים CHI (chalcone isomerase) ו-PAL (phenylalanine ammonia lyase) לא השתנתה כתוצאה מהטיפולים ומכאן שכנראה העלייה בריכוזי האנטוציאנינים אינה כתוצאה מסינתזה מוגברת של הפיגמנטים.

נשאלת השאלה האם השפעת המגנזיום היתה ישירה על הפיגמנטים, או עליה בריכוז האנטוציאנינים היא תוצאה של שרשרת ארועים בצמח כתוצאה מטיפול ההגמעה. מתוצאות עבודת השנה הראשונה למחקר, מצאנו שריכוז המגנזיום בפרחים המטופלים על ידי הגמעה, עלה באופן ישיר לעליה בריכוז האנטוציאנינים בפרחים. מכאן שהשפעת המגנזיום היא ישירה על עלי הכותרת, ויתכן שהיא ישירה על הפיגמנטים עצמם, כפי ששערונו בתחילת העבודה.

בשנה השנייה למחקר מצאנו שטיפול מגנזיום מעלים את רמת האנטוציאנינים בצמחים שונים (אסטרים, קוקופלם וכף הקגורו) וכן באברים שונים של הצמח הצוברים פיגמנטים (עלי כותרת ועלווה). מעבודתנו על אסטרים ועל צמחי קוקופלם נראה שהשפעת המגנזיום היא על הארכת זמן החיים של הפיגמנטים ולא על סינתזה של פיגמנטים חדשים. במשך השנה השלישית למחקר בחנו את השפעת טיפולים במגנזיום על מספר גידולים נוסף וכן ניסינו לפתח מערכת של עלים מנותקים, ללימוד מעמיק יותר של התופעה.

פירוט הניסויים והתוצאות

1. השפעת טמפרטורות גידול על פעילות אנזימים במסלול הסינתזה של אנטוציאנינים, בפרחי 'סנגל' ו'סנטנה'.

מעבודה מוקדמת שלנו היו אינדיקציות לכך שפעילות האנזימים PAL ו-CHI יורדת ככל שטמפרטורת הגידול עולה. לקבלת תמונה מדויקת וברורה על פעילות אנזימים אלו, שיכללנו את שיטות מדידת הפעילויות, ומדדנו פעילות בשני שלבי התפתחות שונים של פרחי האסטר (איור 1): בשלב בו פקעי הפריחה בגודלם המקסימלי, לפני פתיחת הפרח (שלב 1) ובשלב מיד לאחר פתיחת הפרח (שלב 2). ברור מאיור 1, שאכן פעילות שני האנזימים תלויה מאוד בטמפרטורות הגידול, ובשני זני האסטר פעילותם יורדת בקצב דומה ככל שטמפרטורות הגידול עולה. מדידת פעילות האנזימים בשלב התפתחותי מוקדם, לפני פתיחת הפרח, היתה משמעותית במיוחד לגבי האנזים CHI כי פעילותו ירדה מאוד לאחר פתיחת הפרחים. למעשה במדידות של פעילות CHI כמעט ולא רואים הבדלים בין הטמפרטורות בפרחים הפתוחים, ובכולם הערכים נמוכים ביותר. התוצאות המסוכמות באיור 1 מדגישות את העובדה שההבדל בין פרחי 'סנטנה' (שאנים דוהים בטמפרטורות גבוהות) ופרחי 'סנגל' (שדוהים בטמפרטורות גבוהות) אינו בקצב יצירת הפיגמנטים אלא כנראה ביציבותם וקצב פירוקם.

2. מדידת ריכוז המגנזיום בפרחי אסטר בצמחים שטופלו בהגמעה במגנזיום ניטרט.

כפי שהראנו בעבודה קודמת שלנו, טיפולי ההגמעה של צמחי אסטר בעציצים בתמיסות של מגנזיום ניטרט גרמו לעליה בריכוז האנטוציאנינים בפרחים. נשאלת השאלה האם השפעת המגנזיום היתה ישירה על הפיגמנטים, או עליה בריכוז האנטוציאנינים היא תוצאה של שרשרת ארועים בצמח כתוצאה מטיפול ההגמעה. תשובה חלקית לשאלה זו ניתן לקבל על ידי מדידת ריכוז המגנזיום בפרחים של הצמחים שטופלו במגנזיום. איור 2 מסכם ניסוי בו הוגמעה צמחי אסטר (מהזן 'סנגל') בתמיסות מגנזיום ניטרט (ב-5.5 pH) שלוש פעמים בהפרש של שבוע החל מתחילת התפתחות פקע הפריחה. ריכוז האנטוציאנינים (A) וריכוז המגנזיום בפרחים (B) נמדדו. ריכוז המגנזיום נמדד

בעזרת מכשיר ה-Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP) במחלקת הציוד הבין מחלקתי בפקולטה לחקלאות. הבעיה העיקרית בשיטת מדידה זו היא כמות החומר הצמחי הרב שצריך לכל מדידה. לכן אנחנו בוחנים אפשרות של שיטת מדידה אחרת, בעזרת מיקרוסקופ סורק עם גלאי מתכות. תוצאות ראשוניות של מדידות בשיטה זו ניתן לראות באיור 3. היתרון העיקרי במדידות במיקרוסקופ הוא שדרוש עלה כותרת בודד לכל מדידה. לכן, ניתן למדוד ריכוז מתכות גם בתנאי גידול של פקעים מנותקים, בהם מספר הפרחים לטיפול קטן יחסית. בגלל בעיות עם גלאי המתכות, עבודה זו עוכבה, ואנחנו מקווים להמשיך בפיתוח שיטת מדידה זו בעתיד.

3. השפעת טיפול במגנזיום ניטרט וטמפרטורה על הפיגמנטציה של פרחים מנותקים.

על מנת לבחון האם גם במערכת מנותקת יש לטמפרטורת הגידול השפעה על צבע פרחי 'סנטנה', צמחים גודלו בשתי טמפרטורות, $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$ ו- $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$ ופקעים שנותקו מהצמחים גודלו באותן טמפרטורות בתמיסות סוכרוז. באיור 4 ניתן לראות בברור שגם בתנאים מנותקים ריכוז האנטוציאנינים גבוה יותר בפרחים שגדלו בטמפרטורה נמוכה יותר, ובנוסף לכך טיפול ב- 200 mg/L מגנזיום ניטרט ביטל למעשה את תופעת דהיית הצבע.

4. השפעת מתכות שונות על ריכוז אנטוציאנינים בפרחי אסטר.

בנסיון ראשוני לבחון השפעת מתכות שונות על ריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר מנותקים, נמצא שהמתכות מנגן, ואלומיניום גם כן מעלות את ריכוז האנטוציאנינים בפרחים. בניסוי האחד שנעשה עם מתכות שונות (איור 5), העליה בפיגמנטים בטיפול המגנזיום היתה יחסית מתונה. אנחנו נבחן את השפעת מתכות אלו באופן יסודי יותר בעתיד.

5. בחינת אפשרות המשך עבודת המחקר עם פרחי פטוניה הנוחים יותר לעבודה ביוכימית מצמחי אסטר.

מכיון שפרחי אסטר מהזן 'סנגל', אתו עשינו את כל העבודה הראשונית עם מגנזיום הם פרחים קטנים מאד וקשים לעבודה ביוכימית, בחנו אפשרות של מעבר לפרחי פטוניה ללימוד המנגנון הבסיסי. פרחי פטוניה נוחים יותר לעבודה מבחינת גודל הפרחים וכן מבחינת הידע הגנטי הנרחב של פרחים אלו ביחס לפרחי נוי אחרים. בנוסף לכך ישנם פרסומים רבים על עבודה עם פרחי פטוניה מנותקים.

התחלנו בבחינת מספר קוים בעלי צבעים שונים מהזן 'Fantasy'. לאחר מספר חודשי עבודה, בהם בחנו השפעת טמפרטורות גידול על צבע הפרחים וכן השפעת טיפולי מגנזיום על הצבע, הסקנו שצמחים אלו אינם מודל מוצלח לעבודה זו. הסיבה העקרית לכשלון מערכת זו היתה הרגישות של פרחי פטוניה מנותקים לטמפרטורות גבוהות.

6. האם מגנזיום מאריך את זמן החיים של פיגמנטים קימים ברקמה הצמחית?

ההשערה הבסיסית שלנו בעבודה זו היא שמגנזיום מאריך את זמן החיים של האנטוציאנינים על ידי יצירת קומפלקסים יציבים עם הפיגמנטים בתוך וקואולות התאים. הראנו שהשפעת הגמעות

במגנזיום היא ישירה על הפרח (ריכוז המגנזיום בפרח עולה) וכן שהעליה בריכוז האנטוציאנינים כתוצאה מהטיפולים אינה כרוחה בעליה בפעילות האנזימים המסנתזים אנטוציאנינים.

מודל נוח לבחון את האפשרות של הארכת זמן החיים של פיגמנטים על ידי טיפולי המגנזיום, הוא צמח הקוקופלם (ראה תמונה באיור 6). צמח זה הוא שיח רב שנתי בעל לבלוב אדום. מעבודה שלנו על ענפי קישוט מאדימים אנחנו יודעים שהפיגמנט האחראי על הצבע האדום בבלבוב הקוקופלם הוא האנטוציאנידין דלפינידין. אנחנו גם יודעים שריכוז האנטוציאנינים לעלה גבוה מאד בשני העלים הראשונים בענפי הקוקופלם, ובעלה השלישי ישנו מיהול של הפיגמנטים עם צמיחת העלה. בנוסף לכך ישנו גם פרוק אנטוציאנינים בעלים. בעלים הבוגרים יותר לאורך הענף ריכוז האנטוציאנינים הוא אפסי. בצמחים אלו ברור שישנה הפסקת סינתזת אנטוציאנינים בשלב העלה השלישי לאורך הענף וכן התחלת פירוק.

בחנו השפעת טיפולי הגמעה במגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בעלים הצעירים בצמחי קוקופלם. איור 6 מסכם את הניסוי הבוחן השפעת טיפולים עוקבים של הגמעה במגנזיום (הגמעת העציצים ב-0.5 ליטר תמיסת מגנזיום ניטרט בריכוז של 800mg/L) על העלה השלישי מקצה הענף. הצמחים גודלו במצע פרלייט בפיטוטרון בתנאי טמפרטורה של $26^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$ לילה/יום. טיפולי המגנזיום התחילו בתאריך ה-19.7.01 ונמשכו עד לסוף הניסוי בהפרשים של שבוע. ניתן לראות מאיור 6 שלאחר חודש מתחילת הטיפולים, ריכוז האנטוציאנינים כמעט הוכפל בעלה השלישי של הצמחים המטופלים לעומת צמחי ביקורת. בהמשך הטיפולים ריכוז האנטוציאנין ירד ולאחר 4.5 חודשים של טיפולים הצמחים המטופלים היו כלורוטיים וריכוז הפיגמנט בהם היה נמוך מהביקורת. כאפקט טיפולי המגנזיום נבדק על העלה הראשול והשני של צמחים אלו, הוא היה מזער, כנראה כי שהו שלב שהאנטוציאנינים עדין מסונטזים בעלים (תוצאות לא מוצגות).

העליה הדרמטית בריכוז האנטוציאנין בעלי הקוקופלם כתוצאה מחודש ראשון של טיפולים רומז על כך שאכן מגנזיום מאריך את זמן החיים של הפיגמנטים בעלים אלו. נראה שהמינון הוא קריטי בניסוי זה ועודף טיפולים גרם לנזק לצמחים.

7. השפעת טיפולי מגנזיום על הפיגמנטציה בפרחי כף קנגורו הגדלים בטמפרטורות גבוהות יחסית.
אחד מהפרחים לקטיף שהפיגמנטציה שלהם מושפעת ביותר מטמפרטורת הגידול הוא כף הקנגורו. בחלק גדול מזני כף קנגורו, בעיקר האדומים והכתומים, ישנה דהייה חזקה של צבע הפרחים עם התחממות מזג האוויר. דהייה זו גורמת לירידה דרסטית באיכות הפרחים.

לבחינת השפעת טמפרטורה על צבע הפרחים של הזן 'Mini Ranger' גידלנו צמחים בפיטוטרון בתנאי טמפרטורה שונים. איור 7A מראה תמונה מייצגת של פרחים בתנאי טמפרטורה של $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$ ובתנאי $26^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$. ברור שהפרחים דוהים באופן משמעותי בטמפרטורה הגבוהה. במטרה למנוע דהייה זו, צמחי 'Mini Ranger' בטמפרטורה הגבוהה, טופלו בתמיסות מגנזיום ובתמיסות המכילות מגנזיום ו-EDTA. הטיפולים היו בהגמעה של 0.5 ליטרים פעם בשבוע ונמשכו כ-8 שבועות עד להצגת

התוצאות באיור 7. על מנת למנוע הרעלה מעודף מגנזיום, כל שבוע רביעי הצמחים נשטפו במים עם רמות דשן נמוכות ללא תוספת מגנזיום. תוצאות הניסוי מסוכמות באיור 28. הטיפול ב- 300 mg/L מגנזיום העלה בכ-80% את ריכוז האנטוציאנינים בפרחים מבלי לפגוע באיכות הצמחים. עליה זו ניכרת לעין והפרחים נראים דומים לאלו שגדלו בתנאי $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$ (איור 7A). ריכוז גבוה יותר של מגנזיום וכן תוספת של EDTA לא העלו את רמת הפיגמנטים.

8. השפעת טיפולי מגנזיום על הפיגמנטציה של פרחי לימוניות ('Blue night') קטופים.

בפרחי לימוניות, ישנה בעיה אקוטית של דהית צבע החפים עם העליה בטמפרטורת הגידול. בגלל קשיים בגידול לימוניות והפרחתו בפיטוטרון, החלטנו לבחון השפעת טיפולים במגנזיום על ענפים קטופים. ענפי לימוניות, שנקטפו מחלקה חקלאית ב-22.1.03 הוכנסו לפיטוטרון, הן כענפים שלמים (איור 8A) וכענפונים באורך של 7-10 ס"מ (איור 8B) בתנאי טמפרטורה שונים, בתמיסות המכילות מגנזיום ניטראט. הענפים והענפונים הוכנסו לתמיסות המגנזיום לפני פתיחת הפרחים. הפרחים והחפים התפתחו במשך 3-4 ימים לאחר הכנסתם לתמיסות. בענפים השלמים שהוכנסו ל- 17°C , שני טיפולי המגנזיום העלו את ריכוז האנטוציאנינים בחפים ב-50%. לעומת זאת בטמפרטורה הגבוהה יותר (29°C) לטיפולים לא היתה השפעה משמעותית. בענפונים, הניסוי נעשה בשלושה משטרי טמפרטורה, וניתן לראות שבכל שלושת הטמפרטורות, טיפולי המגנזיום העלו את ריכוז האנטוציאנינים בחפים. ככל שהטמפרטורה היתה גבוהה יותר, כך השפעת הטיפולים היתה משמעותית יותר. ב- 29°C היתה עליה של כ-40% בריכוז האנטוציאנינים בענפונים שהוכנסו לתמיסת 300 mg/L מגנזיום ניטראט. בדומה לתוצאות בגידולים אחרים, השפעת מגנזיום על ריכוז אנטוציאנינים בצמחים תלוי מאד בריכוזו. בניסויים ענפונים של לימוניות, 600 mg/L מגנזיום, יעיל פחות מאשר ריכוז של 300 mg/L . תוצאות אלו הן ראשוניות, אך פותחות פתח לבחינת טיפולים במלחים כמו מגנזיום לשיפור פיגמנטציה של ענפים קטופים, בתנאי שהפרחים עדין ממשיכים להתפתח לאחר הקטיף. תוצאות חיוביות בענפים קטופים מרמזו לכך שניתן יהיה להשפיע על צבע החפים גם בזמן גידולם.

9. השפעת טיפולי מגנזיום על פרחי אקוניטום.

עוצמת הפיגמנטציה של פרחי אקוניטום תלויה בטמפרטורת הגידול, עם צבע פרחים דהוי בטמפרטורות גבוהות. לבחינת השפעת מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בצמח זה, פקעות של אקוניטום נשתלו בשני משטרי טמפרטורה בפיטוטרון, ב- $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$ וב- $23^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$. לאחר התפתחות גבעולי הפריחה, ניצני פריחה נותקו מהצמח השלם והוטבלו בתמיסות עם ריכוזי מגנזיום שונים, בטמפרטורה גבוהה של $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$ עד לסיום התפתחות הפרח (3-4 ימים). טיפול ב- 300 mg/L מגנזיום גרמו לעליה משמעותית בריכוז האנטוציאנינים בפרחים המנותקים ביחס לבקורת בטמפרטורה של 29°C גם כשמקור הפרחים מצמחים ב- 17°C (איור 9A) וגם מצמחים ב- 23°C (איור 9B). ריכוזים גבוהים יותר של מגנזיום לא העלו את ריכוז האנטוציאנינים ביחס לבקורת (איור 9B). בשני הניסויים (צמחים משני מקורות שונים) ריכוז האנטוציאנינים בפרחים מנותקים ב- 17°C היה

גבוה מהביקורות ב- 29°C . למעשה טיפולי המגנזיום 'חיקו' את תנאי הטמפרטורה הנמוכה מבחינת הפיגמנטציה.

10. מערכת מנותקת של עלי קוקופלם על מנת להבין את אופן השפעת מגנזיום על הפיגמנטציה.

בשנה השניה למחקר בחנו השפעת טיפולי מגנזיום על הפיגמנטציה של העלים הצעירים בצמחי קוקופלם. צמח זה מענין לבחינה מכיון שישנו פרוק של אנטוציאנינים בעליו עם התבגרותם. טיפולים במגנזיום העלו את ריכוז האנטוציאנינים בעלים המתבגרים, ומכאן נרמז שיתכן והאנטוציאנינים מאריכים את זמן החיים של הפיגמנטים ועל ידי כך מעכבים את פרוקם. על מנת לבחון היפוטזה בצורה מדויקת יותר, פיתחנו שיטה לגידול עלי קוקופלם מנותקים. עלים שנותקו בשלב צעיר (עלה ראשון באורך 3.5-4 ס"מ כשהעלה הבוגר הוא 7-8 ס"מ) מצמחים ב- 29°C והוכנסו לתמיסה עם ריכוזי מגנזיום שונים באותם תנאי טמפרטורה, המשיכו להתפתח במשך 12 ימים. המשך תקופה זו, ריכוז משקל וריכוז הכלורופיל בעלים עלו ולעומת זאת ריכוז האנטוציאנינים בהם ירד (איור 10). התפתחות העלים המנותקים היתה דומה לזו של עלים על הצמח השלם. במערכת זו ניתן לבחון את השפעת טיפולי המגנזיום על קצב פרוק הפיגמנטים. על מנת לקבוע את תנאי הניסוי למעקב אחר הקינטיקה של פרוק אנטוציאנינים בעלי קוקופלם, נבחנו מספר טיפולים במגנזיום והשפעתם ריכוז האנטוציאנינים בעלים בהשוואה לעלים מנותקים במים (איור 11). החדרת המגנזיום לעלים נעשתה או בהגמעת העלים בתמיסות, או בטבילה של העלה כולו בתמיסות למשך שתי דקות. בשני המקרים, גם בטבילה וגם בהגמעה, נמצאו תנאים בהם ריכוז האנטוציאנינים בעלים המטופלים היה גבוה ב-50% מריכוזו בעלי הביקורת. בשלב זה אנחנו עוקבים אחר השפעת טיפולי מגנזיום על הקינטיקה של פרוק אנטוציאנינים בעלים מנותקים. נסיונות אלו עדין לא הושלמו.

מסקנות והשלכותיהן על המשך העבודה

מצאנו שטיפולי מגנזיום מעלים את רמת האנטוציאנינים בצמחים שונים (אסטרים, קוקופלם, כף הקנגורו, לימוניות ואקוניטום) וכן באברים שונים של הצמח הצוברים פיגמנטים (עלי כותרת ועלווה). כמו כן ניתן לטפל במגנזיום בחלקי צמח שונים כמו הצמח השלם, פרחים או עלים מנותקים וכן ענפים קטופים, על מנת לקבל עליה בריכוז אנטוציאנינים. מעבודתנו על אסטרים ועל צמחי קוקופלם נראה שהשפעת המגנזיום היא על הארכת זמן החיים של הפיגמנטים ולא על סינתזה של פיגמנטים חדשים. על מנת להבין את אופן הפעולה של מגנזיום להעלאת ריכוז הפיגמנטים יש צורך בעבודות מחקר בסיסית מעמיקה, שהותחל בה במחקר זה.

מספר טיפולים רב או ריכוזים גבוהים של מגנזיום מורידים את אפקט העלאת ריכוז האנטוציאנינים וגורמים לנזקים בצמחים. יתכן שמציאת דרך להעשרת הפרח (או העלווה המלבלבת) במגנזיום באופן ישיר ולפרק זמן קצוב, יפתור בעיות אלו ויאפשר שימוש במגנזיום לשיפור הפיגמנטציה ברמה חקלאית.

1. Shaked-Sachray L., Weiss D., Reuveni M., Nissim-Levi A. and Oren-Shamir M. (2002). Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to Magnesium treatment. Physiol. Plant., 114: 559-565.
2. Nissim-Levi A., Kagan S., Ovadia R. and Oren-Shamir M. Effects of temperature, UV-light and magnesium on anthocyanin pigmentation in *Cocoplum* leaves. J. of Hort. Sci. and Biotech., 78, 61-64.
3. Oren-Shamir M., Nissim-Levi A., Ovadia R., Kagan S. and Shaked-Sachray, L. Increased anthocyanin accumulation in flowers and foliage at elevated temperatures, due to magnesium treatment. Acta. Hort. (reviewed), in press.

תשובות לשאלות מנחות

1. מטרות המחקר לתקופת הדו"ח

המטרה המרכזית במחקר זה היא בחינת טיפולים פשוטים וזולים יחסית שיביאו לקבלת ריכוז פיגמנטים גבוה יותר בפרחים בעונות החמות. ההצעה מתבססת על תוצאות מוקדמות שטיפולים במגנזיום מעלים את ריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר.

2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח

נמצא שמלחי מגנזיום מעלים את ריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר מבלי לגרום לעליה בסינטיזת הפיגמנטים. מכאן ומעבודה עם עלי קוקופלס מנותקים, כנראה שהטיפול במגנזיום מאריך את זמן החיים של האנטוציאנינים. טיפולים במגנזיום העלו את רמת האנטוציאנינים בפרחי אסטר, כך קנגורו ואקוניטום מנותקים, בענפי לימוניום וכן בעלווה צעירה של צמחי קוקופלס.

3. המסקנות המדעיות והשלכותיהן להמשך המחקר

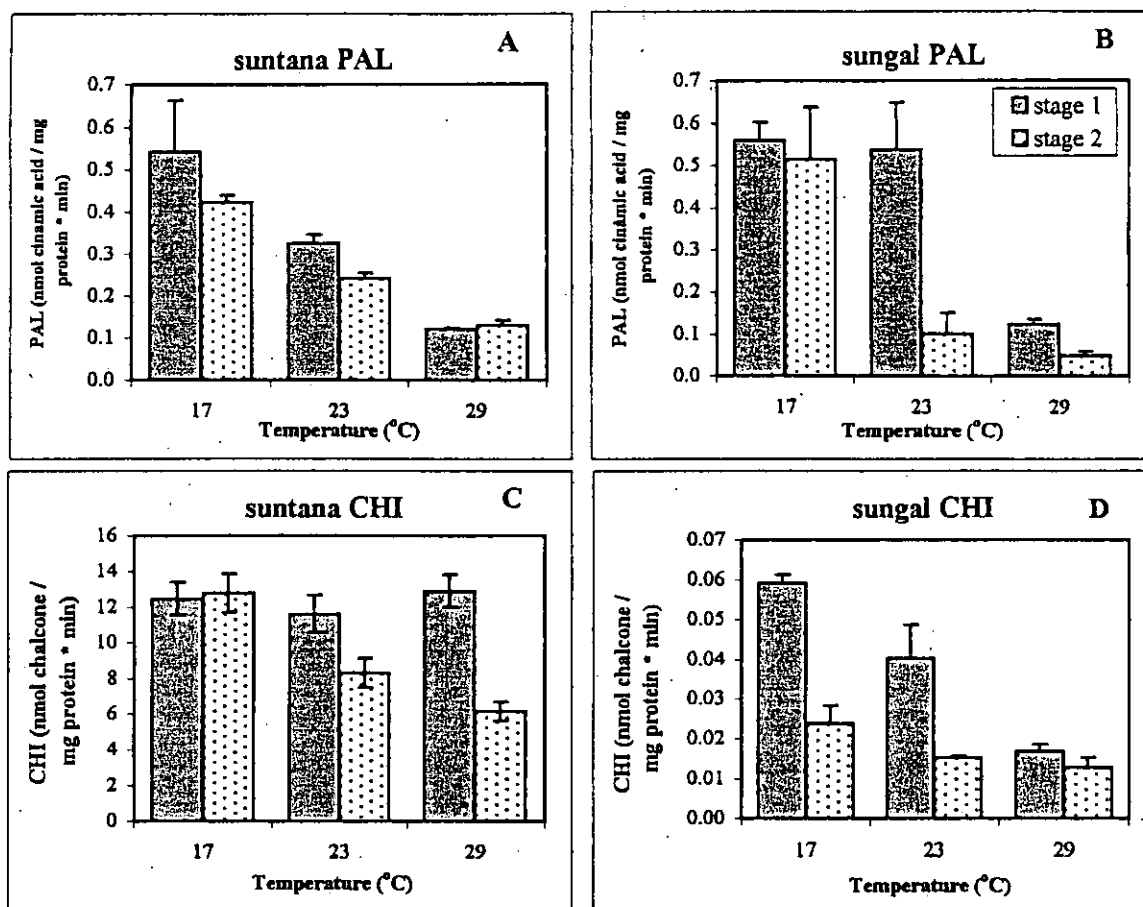
מצאנו שטיפול מגנזיום מעלים את רמת האנטוציאנינים בצמחים שונים (אסטרים, קוקופלס, כך הקנגורו, לימוניום ואקוניטום) וכן באברים שונים של הצמח הצוברים פיגמנטים (עלי כותרת ועלווה). כמו כן ניתן לטפל במגנזיום בחלקי צמח שונים כמו הצמח השלם, פרחים או עלים מנותקים וכן ענפים קטופים, על מנת לקבל עליה בריכוז אנטוציאנינים.

4. הבעיות שנתקו לפתרון

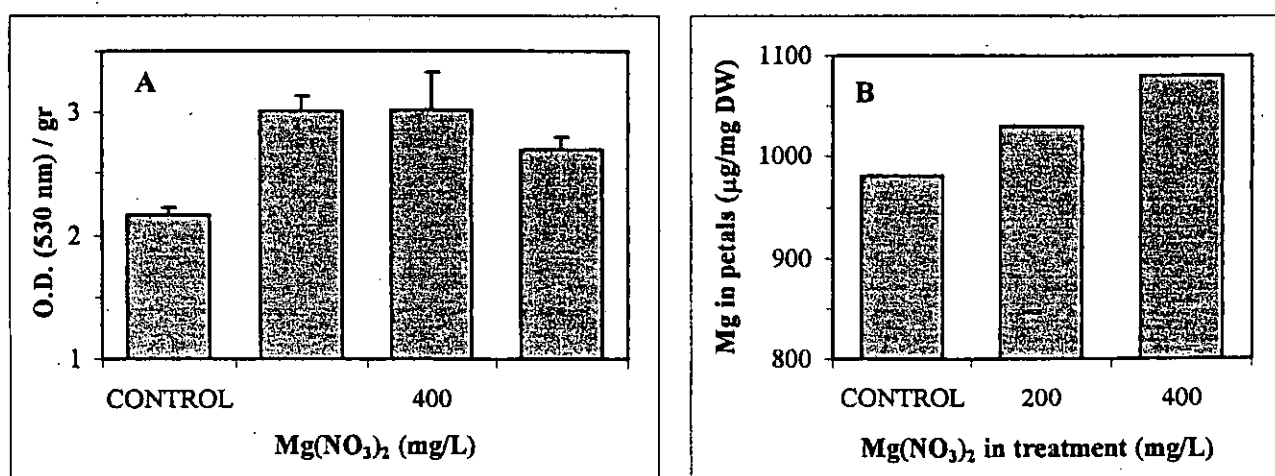
אחת הבעיות שעדיין לא פתורה היא שמספר טיפולים רב או ריכוזים גבוהים של מגנזיום מורידים את אפקט העלאת ריכוז האנטוציאנינים. יתכן שהבנה מעמיקה יותר של המנגנון תאפשר פתרון בעיה זו בעתיד.

5. הפצת הידע

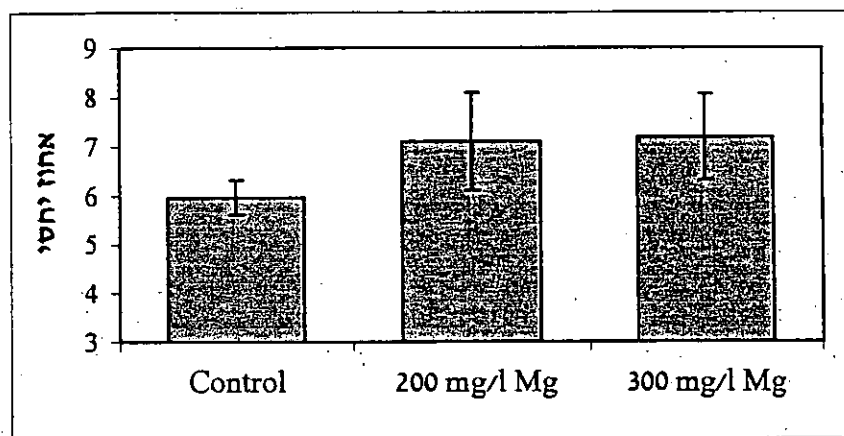
1. Shaked-Sachray L., Weiss D., Reuveni M., Nissim-Levi A. and Oren-Shamir M. (2002). Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to Magnesium treatment. *Physiol. Plant.*, 114: 559-565.
2. Nissim-Levi A., Kagan S., Ovadia R. and Oren-Shamir M. Effects of temperature, UV-light and magnesium on anthocyanin pigmentation in *Cocoplum* leaves. *J. of Hort. Sci. and Biotech.*, 78, 61-64.
3. Oren-Shamir M., Nissim-Levi A., Ovadia R., Kagan S. and Shaked-Sachray, L. Increased anthocyanin accumulation in flowers and foliage at elevated temperatures, due to magnesium treatment. *Acta. Hort. (reviewed), in press.*



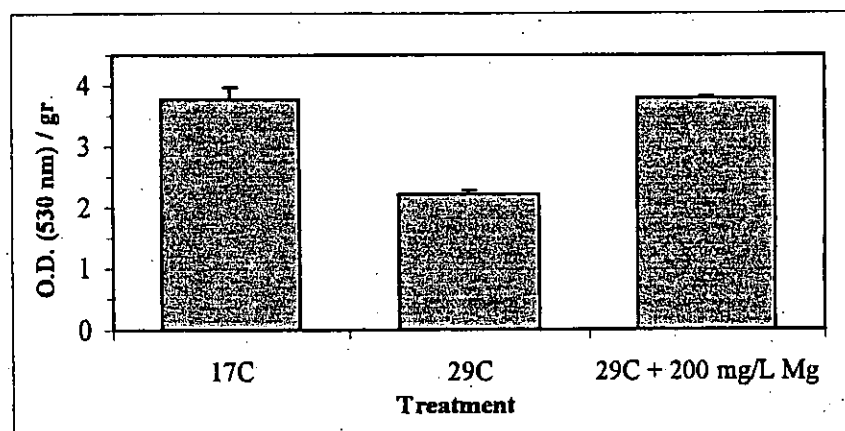
איור 1: השפעת טמפרטורת גידול על פעילות האנזימים phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ו-Chalcone isomerase (CHI). פעילות האנזימים PAL ו-CHI נמדדה מפרחי 'סעלי' ו'סנטנה' בשני שלבי התפתחות: 1. פקעים בוגרים לפני פתיחת הפרח. 2. פרחים יום אחד לאחר פתיחתם. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות.



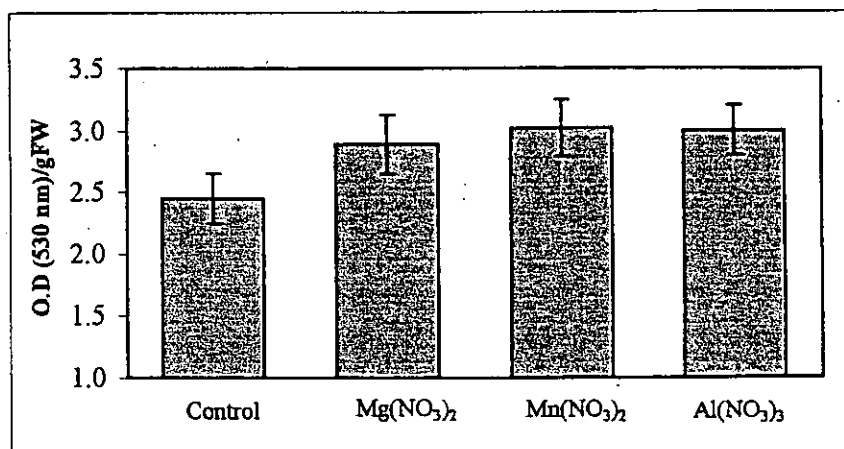
איור 2: טיפולי מגנזיום ניסרס (in vivo) לצמחי סנטנה שגדלו בטמפרטורה של $29^\circ C/21^\circ C$ לילה/יום. לאחר התחלת התפתחות פקעי הפריחה, הצמחים טופלו בתמיסות של מגנזיום ניסרס על ידי הגמעת העציצים. הטיפולים ניתנו שלוש פעמים בהפרש של שבוע. ריכוז האנטוציאנינים (A) וריכוז המגנזיום הפנימי בפרחים (B) נמדדו. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות.



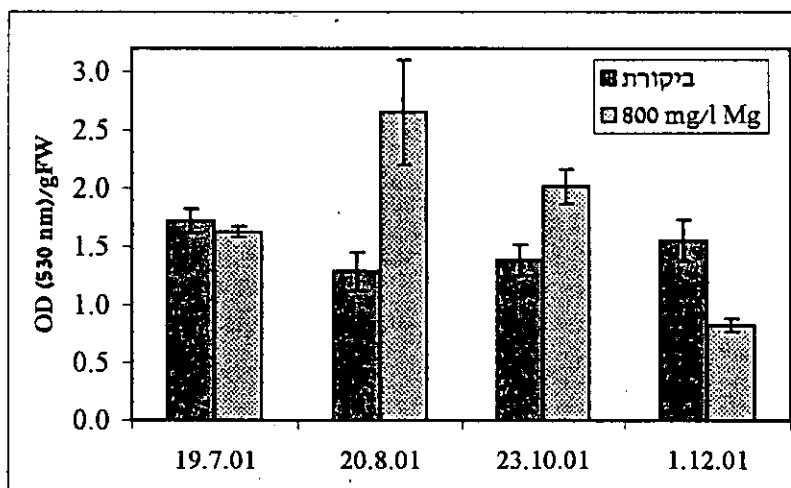
איור 3: ריכוז מגנזיום פנימי בפרחי סנטנה שגדלו בריכוזים שונים של תמיסות מגנזיום ניטרט, בתנאים של פקעים מנותקים. ריכוז המגנזיום בעלי כותרת של פרחי אסטר, נקבע בעזרת מיקרוסקופ סורק עם גלאי מתכות. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 10 חזרות.



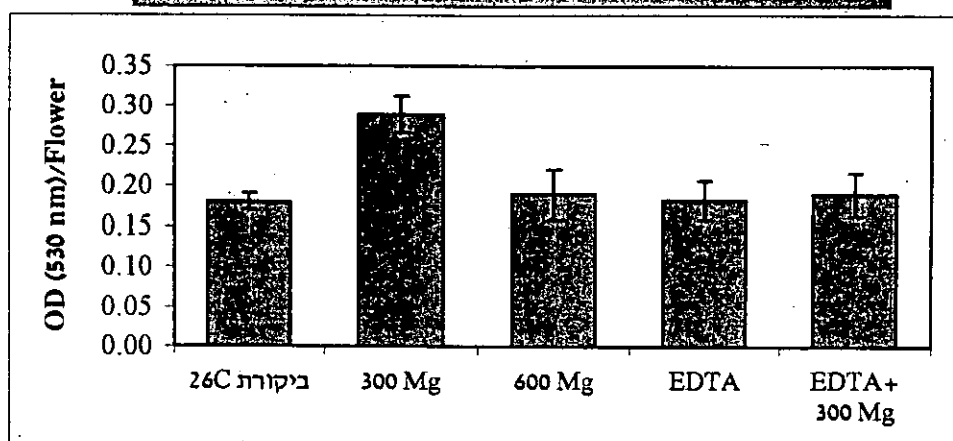
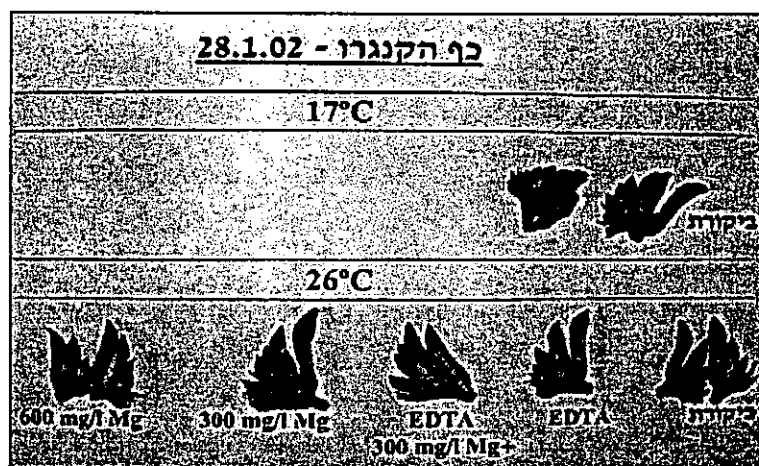
איור 4: השפעת טמפרטורה וטיפול מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בפרחים מנותקים. ריכוז האנטוציאנינים נמדד בפרחים שנותקו מצמחים ב- $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$ ו- $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$ לילה/יום וגודלו במצע מנותק של 5% סוכרוז, עם ובלי מגנזיום ניטרט. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות.



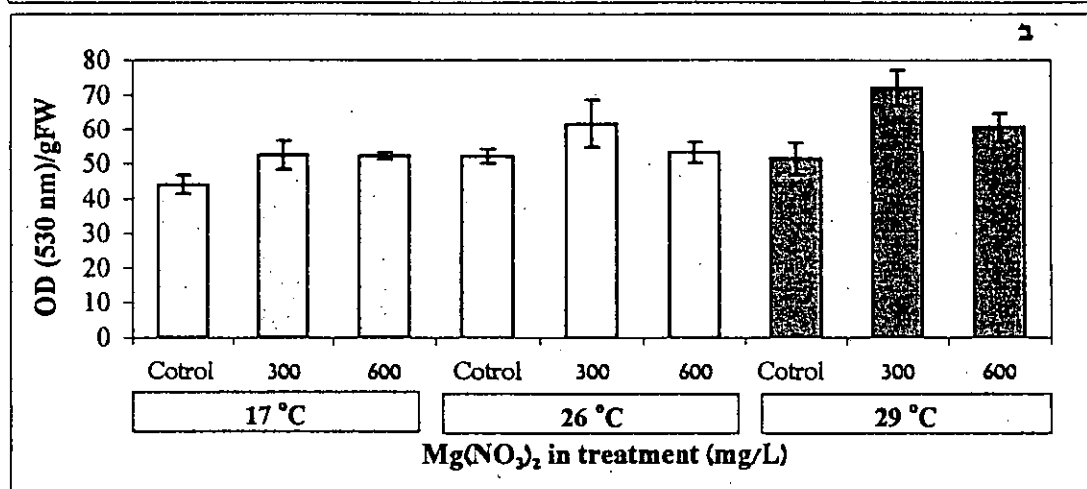
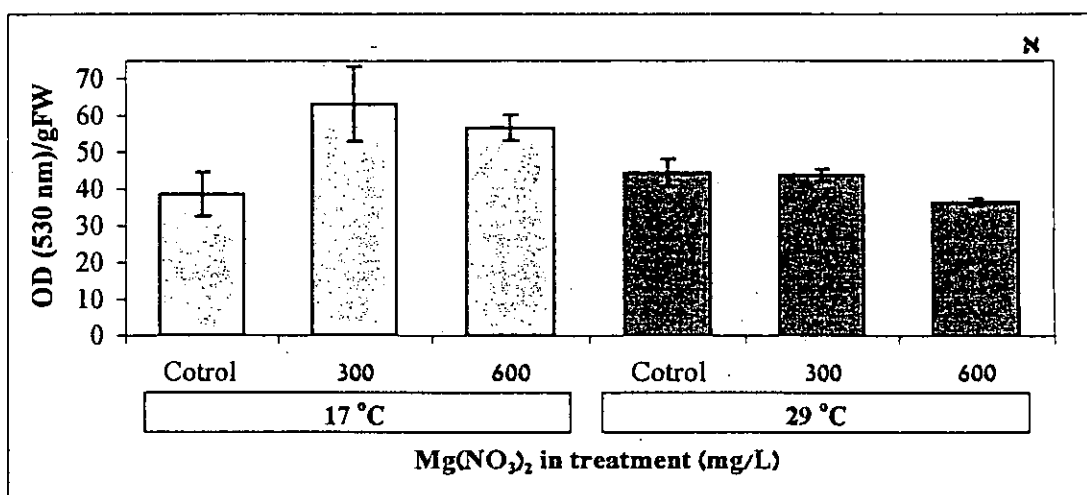
איור 5: השפעת מתכות שונות על ריכוז האנטוציאנינים בפרחים מנותקים. פקעים מצמחים שגדלו ב- $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$, גודלו במצע מנותק של סוכרוז עם מתכות שונות (בריכוז של 1.6 mM). אנטוציאנינים מוצו מהפרחים לאחר פתיחתם וריכוזו נקבע ספקטרוטומטרית. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות.



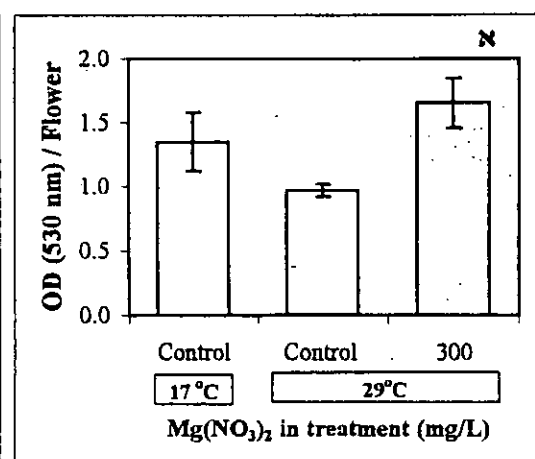
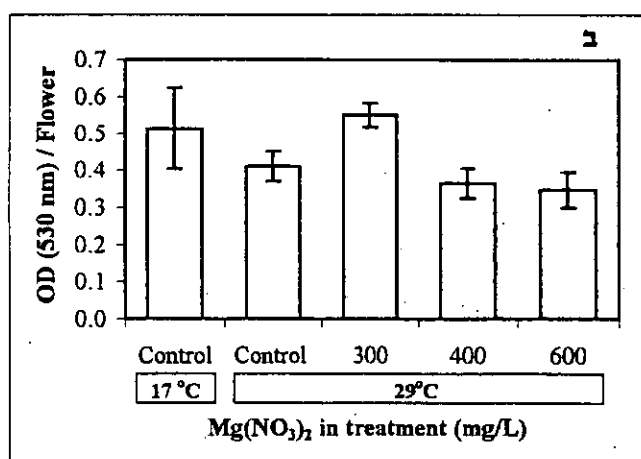
איור 6: השפעת סיפולי מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בעלה השלישי בענפי קוקופלס. צמחי הקוקופלס גודלו בפיטוטרון בתנאי טמפרטורה של 18°C / 26°C במצע פרלייט. פרוט הניסוי מפורט בסעיף 2 של 'פרוט הניסויים'. הקיום האנכיים מיצגים סטיית תקן של 5 חזרות. התמונה היא של שיח קוקופלס במושב סתריה.



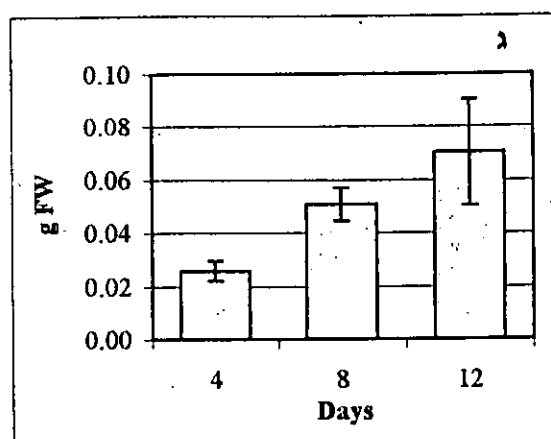
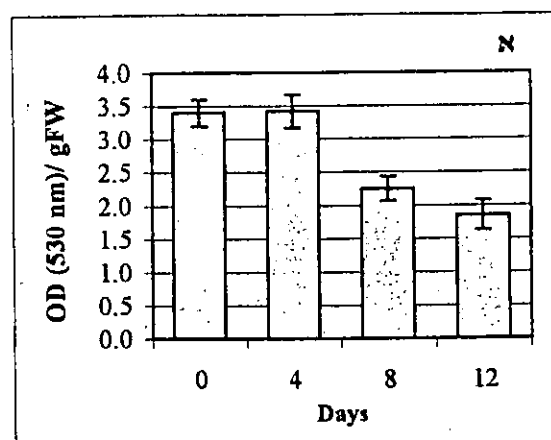
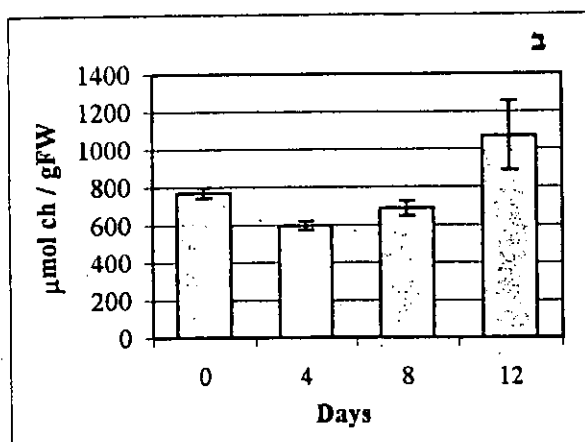
איור 7: השפעת סיפולי מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בפרחי כף הקמגורו 'Mini Ranger'. בתמונה ניתן להשוות את צבע הפרחים בתנאי טמפרטורה של 17°C לאלו של 26°C וכן של צמחים בטמפרטורה של 26°C שטופלו בתמיסות השונות. בגרף ניתן לראות את רמת האנטוציאנינים כתוצאה מהטיפול השונים ביחס לצמחי בקורת ב- 26°C . הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4-7 חזרות.



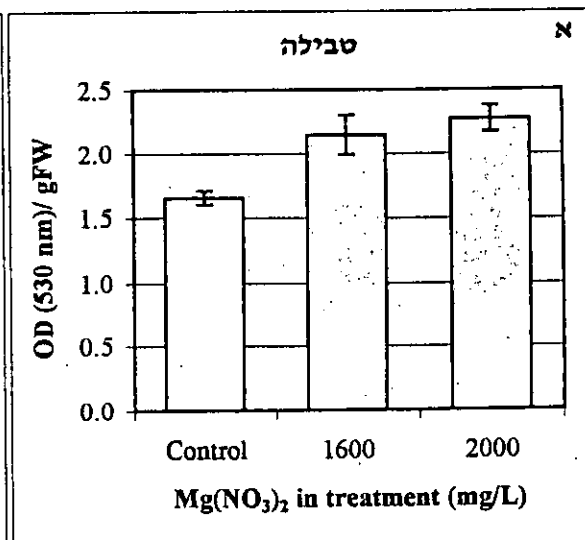
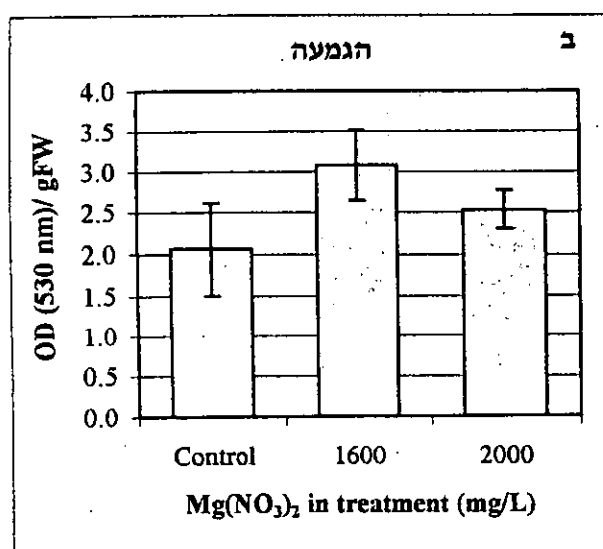
איור 8: השפעת מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בחפים של ענפי לימוניות (א) וענפונים קצרים (ב) קטופים. הענפים והענפונים (אורך של כ-7 ס"מ) הוכנסו לתמיסות עם ריכוזי מגנזיום ניטראט שונים בתנאי טמפרטורה שונים בפרוטוקול. הפרחים נפתחו לאחר התחלת הניסוי. בניסוי עם הענפים השלמים, כל חזרה היא של ענף והקוים האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות. בניסוי עם הענפונים, כל חזרה היא של שלושה ענפונים והקוים האנכיים מייצגים סטיית תקן של 5 חזרות.



איור 9: השפעת טיפולי מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בפקעים מנותקים של פרחי אקוניטום מצמחים שגדלו ב-17°C (א) וב-23°C (ב). הקוים האנכיים מייצגים סטיית תקן של 4 חזרות ב-17°C (א) ו-5 חזרות ב-23°C (ב).



איור 10: השינוי בריכוז אנטוציאנינים (א), כלורופיל (ב) ומשקל (ג) של עלי קקופלם מנותקים הטבולים במים בתנאי טמפרטורה של $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$. העלים נקטפו בשלב צעיר (אורך של 3.5-4 ס"מ) מצמחים שגדלו באותם תנאים. העלים המנותקים גודלו בתנאי לחות גבוהים. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 5 חזרות.



איור 11: השפעת טיפול מגנזיום על ריכוז האנטוציאנינים בעלים מנותקים של קקופלם. העלים נותקו בשלב צעיר (אורך של 3.5-4 ס"מ). בניסוי ראשון (א) העלים הוטבלו בתמיסות למשך 2 דקות ולאחר מכן גודלו במים במשך 8 ימים, בתנאי טמפרטורה של 29°C . הניסוי השני (ב), העלים הוגמנו בתמיסות מגנזיום, מבלי להרטיב את כל העלה למשך 8 ימים. הביקורות היא של עלים שלא טופלו וריכוז האנטוציאנינים בהם נמדד גם כן בסוף הניסוי. הקיום האנכיים מייצגים סטיית תקן של 5 חזרות.