

726

2003-2005

תקופת המחקר:

203-0473-05

קוד מחקר:

Subject: DETECTION OF BUD DORMANCY STATUS
IN PEACH

Principal investigator: MOSHE FLAISHMAN

Cooperative investigator: ZEEV YABLOVITZ, GIDEON
GERAFI, KAMELIA LUGINOVSKI

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

שם המחקר: מציאת סמנים לקביעת התעוררות
פקעים באפרסק ונקטרינה

חוקר ראשי: משה פלישמן

חוקרים שתפים: זאב יבלוביץ, גדעון גרפי,
קמל לוגינובסקימוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן
50250

תקציר

בישראל אין הקירור החורפי מספיק על מנת לאפשר התעוררות פקעים תקינה ולכן משתמשים בחומרי שוברי תרדמה במרבית שטחי המטע הנשיר. רבים מהכימיקלים המצויים בשימוש לשבירת תרדמה אינם יעילים עם נצברו מספיק מכסות צינור ורעילים לפקעים שיצאו ממצב תרדמה, כך שריסוס בעיתוי שבו מתחילה התעוררות הפקע יכול לגרום נזק. מכאן החשיבות של קביעה מהירה, פשוטה ויעילה של מצב התרדמה.

המטרה ארוכת הטווח של תוכנית זו היא לפתח מערכת לקביעת סיום מצב התרדמה בפקעים רפרודוקטיביים של עצי פרי נשירים תוך שימוש בסמנים ביוכימיים ומורפולוגיים המתבססים על פעילות חלוקות תאים המופיעים בפקעי הפריחה קרוב לעיתוי ההתעוררות והשינויים הפנוטיפיים המדידים של משקל הפקעים לקראת התעוררות הפקע.

מהלך העבודה - בתחילת העבודה ביססנו שתי שיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה באפרסק ונקטרינה. שיטה מורפולוגית המתבססת על שינוי במשקל הפקעים במהלך אינדוקציה בחום ושיטה ביוכימית המבוססת על שינויים בביטוי בקרי חלוקות תאים. סיכום הניסיונות בשנה הראשונה והשנייה הראה כי האפיון הביוכימי קרי, עליה בביטוי של גנים המעורבים בחלוקות התאים. דוגמאות: CDC2, מקדים ב 14-20 יום את השינוי המורפולוגי של משקל הפקעים.

בחנו את השיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה על זן נקטרינה הגדל בעמק החולה בזן פלבר גנט. זהו זן בעל דרישות קור בינוניות הגדל באזור חמים יחסית ולכן ללא ריסוסי התעוררות תתקבל פחיתה ניכר ביבולים. במסגרת הניסוי ביצענו 10 ריסוסי התעוררות החל מסוף דצמבר 2004 ועד מחצית שנייה של פברואר 2005. הניסוי כלל כ-100 עצי נקטרינה מהזן פלבור גאנט. מהעצים המרוססים נדגמו ענפים לבחינת התעוררות בשיטה הביוכימית והפיזיולוגית. בהמשך ניבחנו מהלך ההתעוררות של פקעי הפריחה ופקעי העלווה בעיתוי הריסוס השונים. מצאנו הבדלים זעירים של כ-5 ימים בין עיתוי הריסוס ועיתוי ההתעוררות של הפרחים והעלווה. נראה לנו שמהלך התעוררות העץ מושפע יותר מהטמפרטורות שלאחר הריסוסים מאשר מעיתוי הריסוסים. לעומת זאת בחינת תוצאות קטיפת הפרי בניסוי מראה יתרון ברוב לריסוס בתאריך 20.1.05. היתה לעיתוי הראשון שבו ראינו שינוי מורפולוגי במשקל הפקעים. בעיתוי זה התקבל פרי רב וגדול יותר.

בחנו את
כי גם בפי
הצינור. כ
בהם פקי
והיו החי
נמנעה ה
ביבול.
לסיכום
לביצוע
מתייחס
ומודלי
דרושה
מפגיעו
השימו

פורסם
י
פ
19
eak

בחנו את התאמתה של שיטת הזיהוי המורפולוגית על מספר מיני עצי פרי נשירים אחרים. מצאנו כי גם בפקעי פריחה של מישמש גודגדן ואגס רואים עליה במשקל הפקעים עם צבירת מכסות הצינון. כמו כן ראינו כי גם במינים אלו כי השיטה המורפולוגית מסוגלת להתריע בפני מצבים בהם פקעי הפריחה עומדים לפרוח. השילוב שהיה בחורף 2005/6 שבו לא נצברו מכסות צינון רבות והיו החל מינואר ימים חמים התאפיין בפריחה מתמשכת. על ידי השימוש בשיטה המורפולוגית נמנעה הפגיעה בפרחים ולא בוצעו ריסוסים מיותרים. בכך, נחסכה עלות הריסוסים והפגיעה ביבול.

לסיכום נראה לנו כי השיטה המורפולוגית של שינוי במשקל הפקעים היא שיטה קלה יחסית לביצוע ומאפשרת לזהות את חלון הזמן לריסוסים בטוחים במספר מיני נשירים. שיטה זו מתייחסת לתגובות הפיזיולוגיות של פקעי הפריחה של העצים במטע בשונה מהמודל הדינאמי ומודלים אקלימיים אחרים שלא בוחנים את תגובת העצים. ליישום השיטה במטעים נשירים דרושה עדין הערכות של המדריכים והחקלאים. להערכתנו כי ניתן יהיה באמצעותה: א. להימנע מפגיעות בפקעים מתעוררים; ב. לחסוך בעלויות של תכשירים לשבירת תרדמה; ג. לייעל את השימוש בתכשירים לשבירת תרדמה; ד. לבחון תכשירי התעוררות חדשים.

פורסמו המאמרים הבאים:

י. ברייר, ה. פרילוק, ש. גולובוביץ, ז. יבלוביץ, ע. שרגל, ג. גרפי ומ. פליישמן (2005). התפתחות פקעים רפרודוקטיביים באגס ספדונה ופיתוח שיטה לקביעת סיום תרדמתם. עלון הנוטע 59: 343-349.

Moshe A. Flaishman, Yuval Brayer, Amihai Shargal and Gideon Grafi (2005).
Resumption of cyclin B and histone H1 kinase activity marks reproductive bud break
in pear grown in the hot climate of Israel.
Acta Hort. 671:275-281.

דו"ח מחקר מסכם

תוכנית מחקר מס' 0473-203
מוגש לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות

מציאת סמנים לקביעת התעוררות פקעים באפרסק ונקטרינה

על ידי

מושה פליישמן, המחלקה למדעי עצי הפרי, מנהל המחקר החקלאי e-mail: vmoshea@agri.gov.il
גדעון גרפי, אמנון ארז, קמליה לוגינבסקי, וזאב יבלוביץ, המחלקה למדעי עצי הפרי, מנהל המחקר
החקלאי

Detection of bud dormancy status in peach

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים



חתימת החוקר הראשי:

יוני 2006

סיון תשס"ו

תקציר

בישראל אין הקרור החורפי מספיק על מנת לאפשר התעוררות פקעים תקינה ולכן משתמשים בחומרי שוברי תרדמה במרבית שטחי המטע הנשיר. רבים מהכימיקלים המצויים בשימוש לשבירת תרדמה אינם יעילים עם נצברו מספיק מכסות צינון ורעילים לפקעים שיצאו ממצב תרדמה, כך שריסוס בעיתוי שבו מתחילה התעוררות הפקע יכול לגרום נזק. מכאן החשיבות של קביעה מהירה, פשוטה ויעילה של מצב התרדמה. המטרת ארוכת הטווח של תוכנית זו היא לפתח מערכת לקביעת סיום מצב התרדמה בפקעים רפרודוקטיביים של עצי פרי נשירים תוך שימוש בסמנים ביוכימיים ומורפולוגיים המתבססים על פעילות חלוקות תאים המופיעים בפקעי הפריחה קרוב לעיתוי ההתעוררות והשינויים הפנוטיפיים המדידים של משקל הפקעים לקראת התעוררות הפקע.

בתחילת העבודה ביססנו שתי שיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה באפרסק ונקטרינה. שיטה מורפולוגית המתבססת על שינוי במשקל הפקעים במהלך אינדוקציה בחום ושיטה ביוכימית המבוססת על שינויים בביטוי בקרי חלוקות תאים. סיכום הניסיונות בשנה הראשונה והשניה הראה כי האיפיון הביוכימי קרי, עליה בביטוי של גנים המעורבים בחלוקות התאים דוגמת CDC2, מקדים ב 14-20 יום את השינוי המורפולוגי של משקל הפקעים.

בחנו את השיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה על זן נקטרינה הגדל בעמק החולה בזן פלבר גנט. זהו זן בעל דרישות קור בינוניות הגדל באזור חמים יחסית ולכן ללא ריסוס התעוררות תתקבל פחיתה ניכר ביבולים. במסגרת הניסוי ביצענו 10 ריסוסי התעוררות החל מסוף דצמבר 2004 ועד מחצית שניה של פברואר 2005. הניסוי כלל כ-100 עצי נקטרינה מהזן פלבור גאנט. מהעצים המרוססים נדגמו ענפים לבחינת התעוררות בשיטה הביוכימית והפיזיולוגית. בהמשך ניבחנו מהלך ההתעוררות של פקעי הפריחה ופקעי העלווה בעיתוי הריסוס השונים. מצאנו הבדלים זעירים של כ-5 ימים בין עיתוי הריסוס ועיתוי ההתעוררות של הפרחים והעלווה. נראה לנו שמהלך התעוררות העץ מושפע יותר מהטמפרטורות שלאחר הריסוסים מאשר מעיתוי הריסוסים. לעומת זאת בחינת תוצאות קטיפה הפרי בניסוי מראה יתרון ברוב לריסוס בתאריך 20.1.05. היתה לעיתוי הראשון שבו ראינו שינוי מורפולוגי במשקל הפקעים. בעיתוי זה התקבל פרי רב וגדול יותר.

בחנו את התאמתה של שיטת הזיהוי המורפולוגית על מספר מיני עצי פרי נשירים אחרים. מצאנו כי גם בפקעי פריחה של מישמש גודגדן ואגס רואים עליה במשקל הפקעים עם צבירת מכסות הצינון. כמו כן ראינו כי גם במינים אלו כי השיטה המורפולוגית מסוגלת להתריע בפני מצבים בהם פקעי הפריחה עומדים לפרוח. השילוב שהיה בחורף 2005/6 שבו לא נצברו מכסות צינון רבות והיו החל מינואר ימים חמים התאפיין בפריחה מתמשכת. על ידי השימוש בשיטה המורפולוגית נמנעה הפגיעה בפרחים ולא בוצעו ריסוסים מיותרים. בכך, נחסכה עלות הריסוסים והפגיעה ביבול.

לסיכום נראה לנו כי השיטה המורפולוגית של שינוי במשקל הפקעים היא שיטה קלה יחסית לביצוע ומאפשרת לזהות את חלון הזמן לריסוסים בטוחים במספר מיני נשירים. שיטה זו מתייחסת לתגובות הפיזיולוגיות של פקעי הפריחה של העצים במטע בשונה מהמודל הדינמי ומודלים אקלימיים אחרים שלא

בוחנים את תגובת העצים. ליישום השיטה במטעים נשירים דרושה עדין הערכות של המדריכים והחקלאים. להערכתנו כי ניתן יהיה באמצעותה: א. להימנע מפגיעות בפקעים מתעוררים; ב. לחסוך בעלויות של תכשירים לשבירת תרדמה; ג. ליעל את השימוש בתכשירים לשבירת תרדמה; ד. לבחון תכשירי התעוררות חדשים. תוצאות העבודה דווחו בהרצאות בפני מגדלים וביום עיון שנערך על ידי המדען הראשי במשרד החקלאות.

כמוכן פורסמו המאמרים הבאים:

- י. ברייר, ה. פרילוק, ש. גולובוביץ, ז. יבלוביץ, ע. שרגל, ג. גרפי ומ. פליישמן (2005). התפתחות פקעים רפרודוקטיביים באגס ספדונה ופיתוח שיטה לקביעת סיום תרדמתם. עלון הנוסע 59:343-349.

Moshe A. Flaishman, Yuval Brayer, Amihai Shargal and Gideon Grafi (2005). Resumption of cyclin B and histone H1 kinase activity marks reproductive bud break in pear grown in the hot climate of Israel. Acta Hort. 671:275-281.

מבוא ותאור הבעיה

תרדמה בצמחים היא שלב טבעי בהתפתחותם של עצי-פרי נשירים ובמחזור הפריחה השנתי שלהם. שלב זה מאפשר את הישרדותם של אברים רגישים לקור בתנאי אקלים קיצוניים. מנגנון התרדמה מאפשר אדפטציה של הצמח לתנאים הסביבתיים ואת התפתחותו ביחס לתקופה השנתית המתאימה. המחקר העוסק בתרדמה הוא בעל חשיבות עצומה לחקלאות. Lang וחבריו (1987) הגדירו את התרדמה כעיכוב זמני של גידול נראה בכל מבנה צמחי המכיל מריסטמה. חוקרים אלו חילקו את התרדמה לשלושה סוגים וזאת על-פי המקור המשרה את התרדמה. **Paradormancy** מוגדרת כתרדמה הנובעת מפקטורים פיזיולוגיים מחוץ למבנה המעוכב; **Endodormancy (ED)** מוגדרת כתרדמה הנובעת מסיגלים שמקורם בתוך המבנה המעוכב עצמו. במילים אחרות האיבר המעוכב משרה את התרדמה; **Ecodormancy** מוגדרת כתרדמה הנובעת מהעדר תנאים סביבתיים הולמים להמשך התפתחות הצמח או האיבר המעוכב.

עצי פרי נשירים נכנסים לתרדמה חורפית והתעוררותם תלויה בצבירת מנות קור. לכן, שטחי הגידול העיקרים של עצי הפרי ממשפחת הורדניים דוגמת תפוח, אגס, אפרסק ונקטרינה מרוכזים בארצות הממוזגות. באזורי אקלים חם, בהם בחורף טמפרטורות גבוהות יותר, לא נצברות די מכסות צינן, או נצברות בלילה ומבוטלות בשל הטמפרטורות החמות ביום. שלב ה-**Endodormancy** נמשך זמן רב יותר, ללא תווך של **Ecodormancy** או זמן מועט של שלב זה בלבד. אם החורף חם יותר, התרדמה יכולה להמשך זמן רב יותר, או בכלל לא להתקיים. טמפרטורות חמה בחורף יכולה לגרום להתפתחות מאוחרת וחלשה של פקעים וגטטיביים ועלים, דבר המשפיע על התפתחות העץ ותגובתו. כמו כן מתקבלת הפגיעה בפקעי הפריחה היכולה להיות כתוצאה מעיתוי ואחידות היציאה מתרדמה, כמות הפקעים הנפתחים ואיכותם. אמצעים להתגבר על דרישות קור באזורי אקלים חם: א. מניעת כניסה ל-**Endodormancy**: שיטה שהוכחה כיעילה באזורי אקלים טרופי; ב. יבוא וטיפול זני גידול מתאימים בעלי דרישות קור נמוכות; ג. הקדמת סיום התרדמה. הקדמת סיום התרדמה יכולה להתבצע

במספר שיטות: שיפור צבירת מכסות הקור על-ידי קירור הפקעים בזמן טמפרטורות המקסימום על-ידי ריסוס מים בשעות היום, טיפול בפקעים בחום רב בטמפרטורה של 40°C - 45°C , מה שמעורר בצמחים תגובת עקה ופתיחת הפקעים במהלך התרדמה, וטיפול בשיטות כימיקליות ופזיקאליות לשם שיפור שבירת התרדמה. מאפיין מרכזי של שימוש בכימיקלים שוברי תרדמה הוא שיעילותם הגבוהה ביותר היא בריכוז הקרוב לריכוז הלטאלי לצמח, ובמועד הקרוב ביותר לפריחת הפקעים. ריסוס במועד מאוחר מדי, בריכוז גבוה מדי או בתנאי סביבה שאינם מתאימים יכול לגרום להרס הפריחה ובכך חסרונות הריסוס עולים על יעילותם. עבור כל הכימיקלים שנבחנו פקעי הפריחה הם האיבר ברגיש ביותר בצמח כיוון שלהם דרישות קור נמוכות יותר והם מתעוררים מוקדם יותר. לעיתוי מתן ריסוס ההתעוררות יש השלכה ישירה על גובה ההכנסה של חקלאים רבים בישראל. עיתוי הריסוס קובע את רמת התעוררות הפקעים ומועד הפריחה, ובעקבות זאת את כמות היבול ואת מועד הופעת הפרי בשווקים. הרבה מהכימיקלים המצויים בשימוש לשבירת תרדמה רעילים לפקעים שלא מצויים בתרדמה עמוקה (endodormancy), כך שריסוס בשלב שבו הפקעים יוצאים מתרדמה ומתחילים את ההתפתחות יכול לגרום נזק לפריחה וליבול. מכאן החשיבות של קביעה מהירה, פשוטה ויעילה של מצב תרדמת הפקעים. קביעת המועד לשימוש בשוברי התרדמה נעשית כיום על בסיס ניסיון מצטבר מן העבר ונתוני מזג אוויר של העונה הנוכחית, תוך שימוש במודלים שונים לקביעת ההתעוררות, והיא אינה מדויקת במיוחד בשל השינויים המטאורולוגיים התכופים בתקופת החורף בישראל. אצל החקלאים והמדריכים בשטח קיים צורך ביצירת מדד ביולוגי אמין, המגיב להשפעות האקלימיות במטע הנתון, שיאפשר להתאים את מתן ריסוס ההתעוררות למצבו הפיסיולוגי של הפקע. אחד התהליכים האופייניים להתעוררות מתרדמה בפקעים הוא המעבר לחלוקות תאים נמרצות, המלוות את השלמת מבנה הפרח בפקעים שנוצרו בקיץ הקודם. חלוקות התאים בפקע מבוקרות על ידי גנים ספציפיים אותם ניתן לזהות ברמת החלבון. במקביל לשינויים הביוכימיים בפקעי הפריחה חלים שינויים פנוטיפיים מדידים החלים לקראת ההתעוררות.

מטרות העבודה

- א. איפיון התעוררות פקעי הפריחה באפרסק ונקטרינה באמצעות שיטות ביוכימיות ומורפולוגיות.
- ב. בחינת ההתאמה שבין השיטות לזיהוי התעוררות הפקעים באפרסק ונקטרינה ריסוס התעוררות. התעוררות בפועל ויבולים.
- ג. בחינת היישום של השיטה המורפולוגית לאיפיון ההתעוררות במיני עצי פרי נשירים אחרים.

חומרים ושיטות

2.1. החומר הצמחי

הניסויים בוצעו בין השנים 2002-2006 על זני אפרסק ונקטרינה שגודלו במגוון אזורים אקלימיים בארץ על אגס משמש גודגון ושזיף באזורים שונים בארץ (ראה טבלה 1). לשם השוואה בין עיתוי הכניסה והיציאה מתרדמה ומעקב אחר התפתחות הפקעים ברמות השונות, בוצע במשך עונת החורף איסוף פקעים מידי חודש, כאשר באמצע החורף, לקראת השלמת צבירה מנות צינן וריסוס העצים בכימיקלים שוברי תרדמה, תדירות האיסוף עלתה לפעם

בשבוע. הענפים נבחרו בצורה אקראית מכל חלקי המטע, נגזמו והושמו במים. במעבדה הוסרו ממרכז הענף (ללא 20 ס"מ העליונים והתחתונים) הפקעים הרפרודוקטיבים והוקפאו בחנקן נוזלי לשם הניסויים הביוכימיים, כ-30 פקעים רפרודוקטיביים נשמרו לשם מעקב מורפולוגי והיסטולוגי אחר התפתחותם.

טבלה מספר 1 - מיני ואחרי איסוף הפקעים.

מין וזן האיסוף	מקום האיסוף	גובה (מעל פני הים)	מרווחי נטיעה	גיל המטע (שנים)	עונות האיסוף
נקטרינה פלימקיסט	צובה	700	5 X 3	11	2002-2003
אפרסק עודד	כפר מנחם	80	5 X 4	6	2003-2004
	ג'ולים	80	6 X 4	4	2003-2004
אפרסק הרמוזה	כפר שמואל	40	5 X 3	6	2003-2004
	כפר-מנחם	80	5 X 4	7	2003-2004
אפרסק סוולינג	כפר שמואל	40	5 X 3	3	2002-2003
	כפר מנחם	80	5 X 4	7	2002-2003
	ג'ולים	80	6 X 4	6	2003-2004
נקטרינה פלבור גנט	עמק החולה	80	5 X 4	6	2004-2005
מישמיש רעננה	כ. ורבורג	60	5 X 4	8	2005-2006
דובדבן בורלא	צובה	700	5 X 4	6	2005-2006
שוזף בלק אמבר	שילר	60	5 X 4	12	2005-2006
אגס ספדונה	צובה	700	4.5 X 2.5	10	2002-2003

2.2. מעקב היסטולוגי אחר התפתחות פקעים

15 פקעים מכל איסוף קובעו ב-FAA (50% אתנול טכני, 5% Acetic-acid ו-10% Formaldehyd) לשם שימורם ולשם ביצוע חתכים היסטולוגיים לבחינת התפתחותם מבחינה מורפולוגית. פקעים אלו עברו טיפול כפי שתואר על-ידי Yancheva והובריה (2003) והזכוכית הנושאת נצבעה ב-Safranin + Fast green. בוצע שימוש במיקרוסקופ מתוצרת Leica ומדגם DMLB ובבינוקולר מתוצרת Leica ומדגם MZFLIII לשם מעקב אחר התפתחות מורפולוגית של הפקעים בשלבי ההתפתחות השונים. חמישה עד חמישה עשר פקעים מכל תאריך נבחנו למעקב אחר הצמיחה באורך עמוד העלי ועליה ברוחב מצעית הפרח במהלך התפתחות הפקע. מתוך נתונים אלו חושב אורך עמוד העלי ורוחב מצעית הפרח הממוצעים וסטיית התקן עבור כל ערך.

2.3. מעקב אחר שינויים מורפולוגיים ומבחן ההשריה בחום

כ-30 פקעי פריחה שנאספו באזורי הגידול השונים (טבלה 1) נשמרו בקרח לשם מעקב אחר השינויים המורפולוגיים בהם. במעבדה המעקב בוצע תוך מדידת קוטר, אורך ומשקל הפקעים בעזרת קליבר דיגיטלי (מתוצרת Aerospace) ומשקל אנליטי (מתוצרת Sartorius). ענפי גידול במינים השונים הושרו במים חולקו במעבדה ל-2: בחצי מהם בוצעו האנליזות השונות ומחציתם השנייה הושמה בתנאים אופטימליים לגידול - 25°C והארה מלאה בתנאי תאורה טבעיים, למשך 48 שעות לשם עידוד הפקעים להתעוררות מתרדמה. מתוך כלל הפקעים שנאספו, לפני ולאחר מבחן האינדוקציה, כ-30 פקעים נלקחו למעקב דומה אחר התפתחותם מבחינה מורפולוגית.

2.4. הפקת חלבונים

פקעי אפרסק ונקטרינה מהזנים השונים, נאספו והוקפאו בחנקן נוזלי לפני תחילת הפקת החלבונים. מ-3 גרם של פקעים הופקו כלל החלבונים כפי שתואר על-ידי (Sambrook et al. 1989): הפקעים שנכתשו הועברו ל-6 מ"ל של בופר NETN (100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 20 mM Tris-HCl pH 8.0 and 0.5% NP-40) שהכיל קוקטייל מעכבי פרומאזות עבור תאי צמחים (מתוצרת Sigma), 20 mM Sodium, 8 mM Imidazole, 1 mM Sodium molybdate, 0.1 mM Sodium orthovanadate, 1% DTT and 4% -1 tartrate, למשך דקה. ההומוגנאט עברה סרנז PVP soluble והועברו הומוגניזציה בהומוגניזר (Polytron) למשך דקה. ההומוגנאט עברה סרנז בצנטריפוגה (מתוצרת Sorvall) במהירות 10,000 RPM למשך 20 דקות ב- 4°C . ה-Supernatant נאסף והועבר דרך מסנן $0.2 \mu\text{m}$ מתוצרת Whatman. ריכוז החלבון נקבע בשיטה שתוארה על-ידי (Bradford 1976) תוך שימוש בראגנט מתוצרת Bio-Rad ושימוש ב-BSA כסטנדרט.

2.5. Western-blot

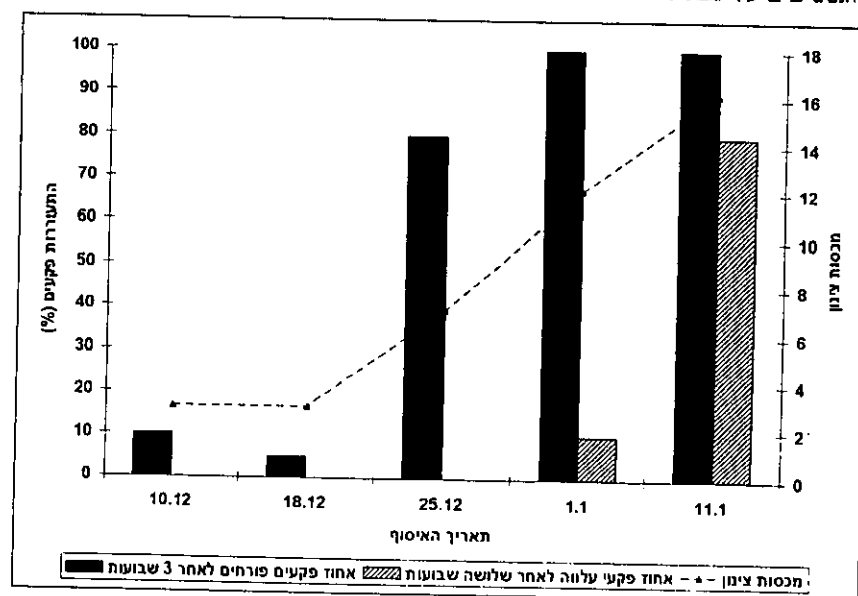
אימונובלוט של כלל החלבונים בוצע על-ידי הטענת $10 \mu\text{g}$ של חלבון עם 3x Leammli Sample buffer על ג'ל אקרילאמיד (12%) מסוג SDS-PAGE בוצעה כפי שתואר על-ידי Laemmli (1970). לאחר האלקטרופורזה במכשיר Mini-gel מתוצרת Bio-Rad החלבונים הועברו לממברנת ניטרולולו (Schleicher and Schull, Germany) במכשיר Wet-Blotter מתוצרת Bio-Rad למשך 60 דקות ב-3.5V ל- cm^2 . הממברנה עברה חסימה בבופר TBST (0.01M Tris-HCl pH 8.0, 108mM NaCl, 0.005% Tween-20) המכיל 4% אבקת חלב דל למשך שתיים בטמפרטורת החדר ולאחר מכן עברה אינקובציה של שתיים עם נוגדן רב שבטי מארנבת כנגד PSTAIRE (מתוצרת Santa-cruz Biotechnology). לאחר שלוש שטיפות בנות 10 דקות בבופר TBST הממברנות טופלו בקוניוגט (Sigma) Anti-Rabbit (המחובר לאלקליין פוספטאז למשך שעה בטמפרטורת החדר. לאחר שלוש שטיפות נוספות בבופר TBST, זיהוי חלבוני המטרה בוצע על-ידי הוספת סובסטרט: (Sigma) NBT/BCIP (AP לבופר (100 mM Tris-HCl pH-9.5, 100 mM NaCl, 5 mM) MgCl_2 ואינקובציה עם הממברנות עד הופעת הבנדים. הריאקציה הופסקה על-ידי הוספת 1 מ"ל של 1M EDTA לריאקציה.

תוצאות

3.1. בחינת מצב התרדמה בפקעי אפרסק ונקטרינה

בכדי לבחון את מספר מכסות הצינון¹ הדרושות להתעוררות פקעי פריחה וצימוח בזני אפרסק ונקטרינה נעשה מעקב אחר פתיחת פקעי הפריחה והצימוח כתלות במכסות הצינון שצברו הפקעים במטע. במהלך החורף נדגמו אחת לשבוע ענפים מהזנים השונים ונקטמו לחלקים חד-פרקיים. הם הושמו בחדר גידול בטמפרטורה של 25°C ותנאי הארה טבעיים למשך שלושה שבועות. איורים מספר 1-3 מסכמים את מועדי פתיחת פקעי הפריחה והצימוח באפרסק מהזנים 'עודד' ו-'סוולינג' ונקטרינה מהזן 'פלימקסט'.

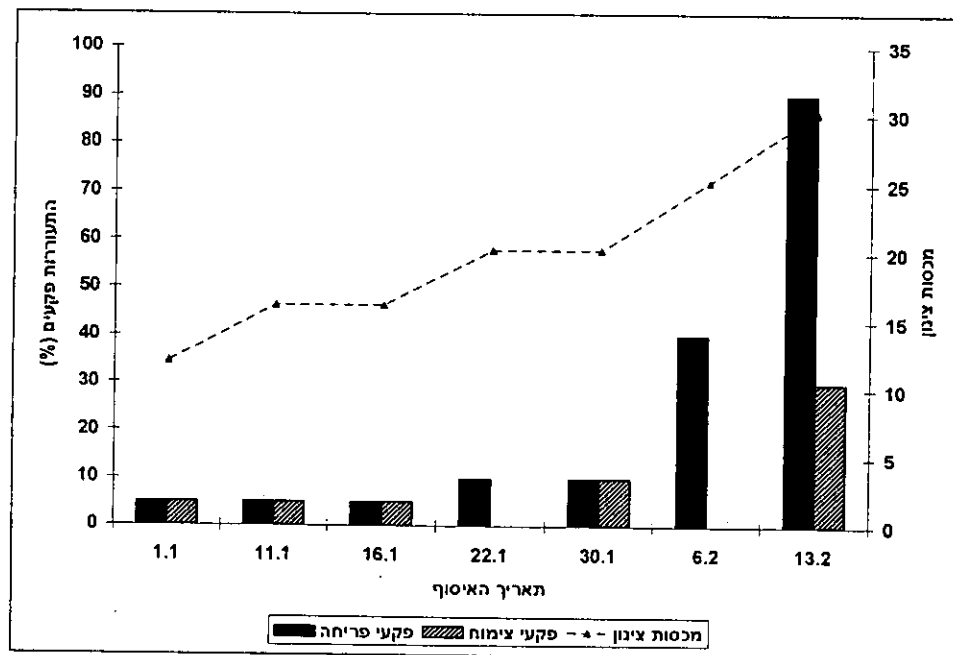
ממעקב אחר פתיחת פקעי הפריחה והצימוח באפרסק מזן 'עודד', כתלות בתאריך האיסוף, ניתן לראות כי במהלך שני האיסופים הראשונים, 10.12 ו-18.12, בהם כמעט ולא נצברו מכסות צינון על-ידי הפקעים, הענפים שנאספו לא הגיבו להשריה בחום ורק פקעים בודדים נפתחו לאחר שלושה שבועות של השריה בחום (איור 1). בפקעים של ענפים שנאספו החל מה-25.12 ניתן לראות כי 80% מכלל פקעי הפריחה הגיבו להשריה בחום לאחר תקופה של שלושה שבועות בעוד פקעי עלווה לא הגיבו, דבר המעיד על העובדה כי פקעי פריחה דורשים מספר מועט יותר של מכסות צינון מפקעי עלווה, על-מנת לצאת מתרדמה. על ענפים שנאספו החל מהשבוע שלאחר מכן פקעי הפריחה נתנו תגובה מלאה להשריה זו וישנה אף תגובה של פקעי העלים. בתאריך האיסוף האחרון ניתן לראות תגובה ניכרת של שני סוגי הפקעים להשריה בחום למשך שלושה שבועות, לאחר צבירה של 16 מכסות צינון (מכסת צינון אחת – 28 שעות בטמפרטורה של 6°C), מה שמעיד כי נצברו כל מכסות הצינון הדרושים לפקעים הוגסטיבים על-מנת לצאת מתרדמה.



איור מספר 1 – מעקב אחר תגובת פקעי פריחה וצימוח של אפרסק מזן 'עודד' להשריה בחום – חורף 2004. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך שלושה שבועות בתנאי הארה טבעיים. מתוך עשרים ענפים שנאספו והושמו בתנאים אופטימליים להתעוררות, חושב אחוז הפקעים שנפתחו לאחר תקופה זו.

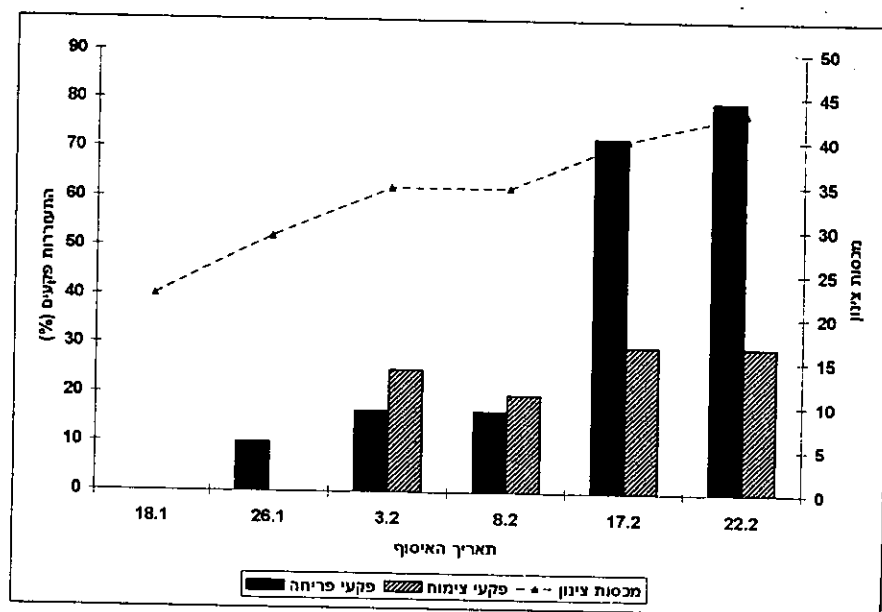
ממעקב אחר התעוררות פקעים בפקעי אפרסק מזן 'סוולינג' שנאספו במטע ג'וליס באותה השנה, ניתן לראות תמונה דומה (איור 2). בתאריכים 1.1 ועד 16.1, עם צבירת 16 מכסות צינון, ניתן להבחין בתגובה חלשה של פקעי

הפריחה ופקעי הצימוח להשריה בחום למשך שלושה שבועות. שלב זה מסמל את שלב ה-Endodormancy על-פי הנחתנו. בתאריכים 22.1 ו-30.1 המתווכים בין שלב זה לשלב ה-Ecodormancy ניתן לראות תגובה, אם כי חלשה, של הפקעים להשריה ארוכה בחום. החל מהתאריך 6.2 ועד לסיום העונה ניתן לראות תגובה חזקה של הפקעים להשריה ארוכה בטמפרטורות חמות אשר מתחילה רק עבור פקעי פריחה בתאריך זה, עם צבירה של כ-25 מכסות צינן, אולם שבוע לאחר מכן, עם צבירת קור נוספת, מתחילה גם עבור פקעי צימוח.



איור מספר 2 – מעקב אחר תגובת פקעי פריחה וצימוח של אפרסק מזן 'סוולינג' להשריה בחום – חורף 2004. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך שלושה שבועות בתנאי הארה טבעיים. מתוך עשרים ענפים שנאספו והושמו בתנאים אופטימליים להתעוררות, חושב אחוז הפקעים שנפתחו לאחר תקופה זו.

ממעקב אחר תגובתם של פקעי פריחה של נקטרינה מזן 'פלימקיסט' ניתן לראות כי עם ראשית האיסוף, בתאריך 18.1, הפקעים לא הגיבו להשרייה ארוכה בחום ולא נפתחו (איור מספר 3). החל מהשבוע שלאחר מכן ועד 8.2 עם צבירה של כ-35 מכסות צינן נראית תגובה של כ-20% מפקעי הפריחה ופרחי הצימוח. החל מאמצע חודש פברואר ועד לסיום עונת האיסוף נראית תגובה של 70%-80 מפקעי הפריחה להשריה ארוכה בחום, כאשר תגובתם של פקעי הצימוח איטית יותר.



איור מספר 3 – מעקב אחר תגובת פקעי פריחה וצינור של אפרסק מזן 'פלימקיסט' להשרייה בחום – חורף 2004. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך שלושה שבועות בתנאי הארה טבעיים. מתוך עשרים ענפים שנאספו והושמו בתנאים אופטימליים להתעוררות, חושב אחוז הפקעים שנפתחו לאחר תקופה זו. לסיכום, בכל הזנים נראתה בתאריכי האיסוף הראשונים תגובה חלשה של הפקעים להשרייה זו בחום (בין 5%-20%). במהלך העונה, עם צבירה נוספת של מכסות צינור מתחיל תהליך מהיר של יציאה מ-Endodormancy והתעוררות פקעי פריחה וצינור. כצפוי, מספר מכסות הצינור הדרושות להתעוררות פקעי פריחה עומד על כ-80%-50% מאלו של פקעי הצינור. טבלה מספר 4 מסכמת את מכסות הצינור הדרושות להתעוררות בזני האפרסק השונים.

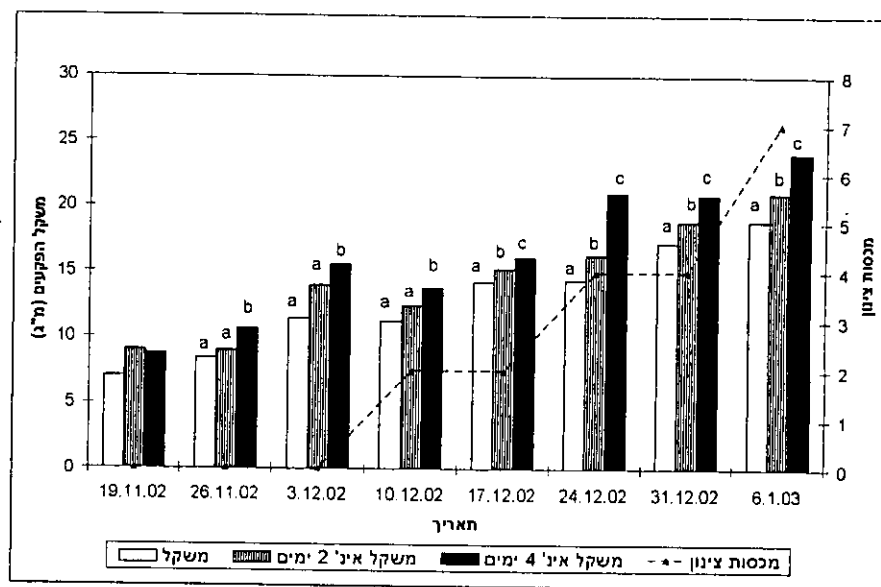
טבלה מספר 2: פירוט מכסות הצינור הדרושות להתעוררות פקעים, כפי שנמדדו מהשריית הפקעים לשלושה שבועות בטמפרטורה של 25°C .

שם הזן	פקעי פריחה	פקעי צינור
אפרסק 'עודד'	7	16
אפרסק 'סוולינג'	25	31
נקטרינה 'פלימקיסט'	35	35

3.2 איפיון התעוררות פקעי הפריחה באפרסק ונקטרינה באמצעות השיטה המורפולוגית.

בניסוי שהתרחש במהלך חורף של שנת 2003 בוצע איסוף מידי שבוע לבחינת העליה במשקל הפקעים כתגובה להשרייה בחום. בניסוי זה פקעי פריחה מכל זן אפרסק או נקטרינה נאסף מכפר מנחם ומטע ג'ולים הממוקמים בדרום השפלה. הפקעים עברו השרייה לשני פרקי זמן, כאשר מחצית הפקעים עברה השרייה למשך 48 שעות, בעוד המחצית השנייה עברה השרייה למשך 96 שעות בטמפרטורה של 25°C . ממעקב אחר תגובתם של פקעי אפרסק מכל הזנים נראה כי בחינת תגובתם להשרייה במשך 96 שעות הייתה ארוכה מידי ותגובה של הפקעים להשרייה כזו הייתה מוקדמת מידי לבחינת מעבר הפקעים למצב בו ישנה השפעה להשרייתם על עליה במשקלם.

ממעקב אחר תגובתם של פקעים מזון 'עודד' שנאסף בכפר מנחם, ניתן לראות כי בראשית העונה, החל מתאריך 26.11 ועד לתאריך 10.12 עליית המשקל בפקעים כתוצאה מהשריה בחום לא הייתה מובהקת לאחר 48 שעות השריה (איור מספר 4). תגובת הפקעים להשריה ארוכה יותר, של 96 שעות, הייתה מובהקת. החל מתאריך 17.12, לאחר צבירת מספר מינימאלי של שתי מכסות צינון, הפקעים החלו להגיב בצורה מובהקת כבר לאחר השריה של 48 שעות, דבר שסימל את יציאתם מתרדמה ופריחתם מספר שבועות לאחר מכן. לאחר צבירת מספר רב יותר של מכסות צינון תגובת הפקעים להשריה הייתה משמעותית יותר בהמשך העונה.

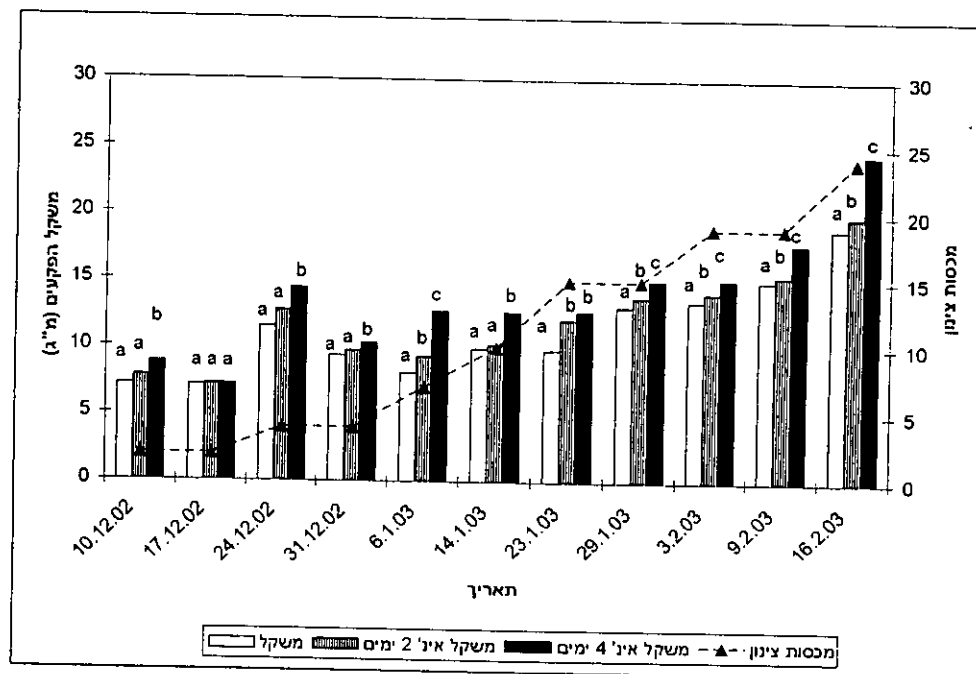


זק

זך

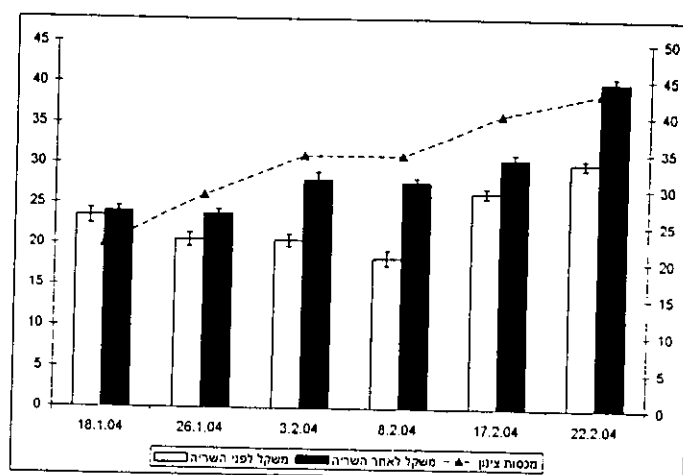
48 ו-96 שעות בתנאי הארה טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישובו מתוך משקלם של שבועים וחמישה פקעי פריחה של אפרסק שנאספו מהמטע בכפר מנחם במהלך החורף של שנת 2003.

ממעקב אחר תגובתם של פקעי אפרסק מזנים בעלי דרישות קור בינוניות רואים תמונה דומה של הפקעים לפקעי זנים בעלי דרישות קור מועטות להשריה בחום (איורים 5-6). ממעקב אחר פקעי 'סוולינג' שנאספו ממטע כפר-מנחם רואים כי גם בפקעים אלו ישנה תקופה בה הפקעים אינם מגיבים בצורה מובהקת להשריה בחום של 48 שעות (איור 5). החל מתחילת האיסוף (10.12) ועד לתאריך 31.12 לא נראית תגובה מובהקת של הפקעים להשריה של 48 שעות, אולם בחלק מן התאריכים ניתן לראות תגובה להשריה של 96 שעות. בתאריך 6.1, לאחר צבירת 4 מכסות צינון, ניתן לראות לראשונה תגובה מובהקת של הפקעים, אולם לאחר שבוע התגובה נעלמה. ייתכן כי הפסקה זו נובעת מהתנאים הקרים ששררו במטע בתקופה זו. החל מה-20.1 נראתה תגובה מובהקת של הפקעים להשריה בחום של 48 שעות. תגובה מובהקת זו התאפשרה לאחר צבירת 15 מכסות צינון ונמשכה עד לסיום עונת האיסוף לאחר פריחת הפקעים כתוצאה מהשריה בחום.



איור מספר 5 – מעקב אחר עליה במשקל, לפני ולאחר השריה בחום להתעוררות, בפקעי פריחה של אפרסק 'סורלינג' כתלות בצבירת מכסות צינור – כפר-מנחם 2003. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך 48 ו-96 שעות בתנאי הארה טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישוב מתוך משקלם של שבעים וחמישה פקעי פריחה של אפרסק שנאספו מהמטע בכפר מנחם במהלך החורף של שנת 2003.

מעקב אחר פקעים של נקטרינה מזן 'פלימקיסט' נראה כי תגובתם של הפקעים מתרחשת מוקדם יותר (איור 6).



איור מספר 6 – מעקב אחר עליה במשקל, לפני ולאחר השריה בחום להתעוררות, בפקעי פריחה של נקטרינה 'פלימקיסט' במהלך חורף 2004. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך 48 שעות בתנאי הארה

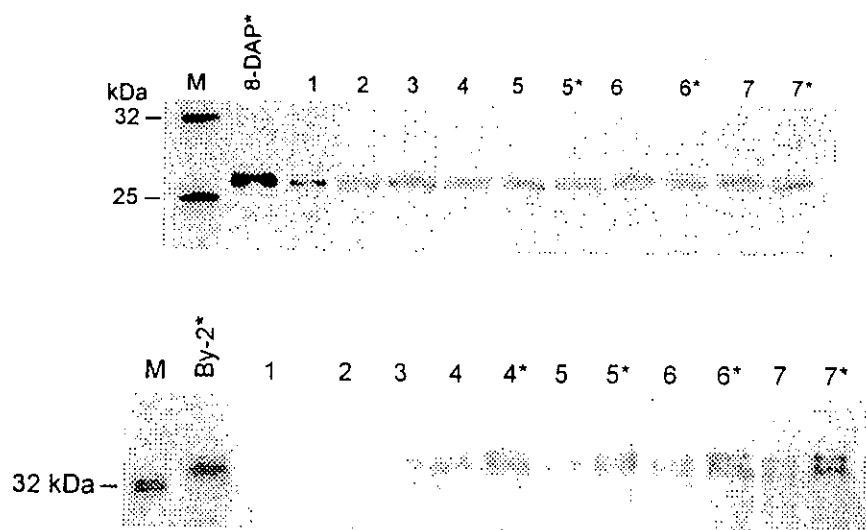
טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישובו מתוך משקלם של שבעים וחמישה פקעי פריחה של נקטרינה שנאספו מהמטע צובה.

בפקעי פריחה של נקטרינה מזן 'פלימקיסט' רואים כי בתאריך האיסוף הראשון הפקעים לא הגיבו להשריה בחום ומשקלם עלה בצורה מועטה בלבד. העליה במשקל הפקעים כתגובה להשריה בחום הייתה מובהקת החל מהתאריך 26.1, לאחר צבירת כשלושים מכסות ציגון, תגובה שהתחזקה ככל שהעונה והפקעים צברו מכסות קור נוספות במטע.

סיכום: נראה כי מבחן ההשריה בחום מהווה אינדיקציה טובה לתחילת התעוררות פקעי הפריחה. כיוון שיש כאמור פער בדרישות הציגון של פקעי הפריחה והעלווה השינוי המורפולוגי יכול לשמש עיתוי טוב לריסוסי התעוררות שיביאו להתעוררות העלווה.

3.3 איפיון התעוררות פקעי הפריחה באפרסק ונקטרינה באמצעות השיטה הביוכימית.

בהמשך למעקב מורפולוגי אחר התפתחותם של פקעי פריחה כתגובה להשריה בחום, בוצע מעקב ביוכימי לבחינת השינויים בביטוי חלבונים כתגובה להשריה בחום. מבחינת תגובתם המורפולוגית של הפקעים נראה כי ישנה עליה במשקלם כתגובה להשריה בחום. עליה זו במשקל הפקעים יכולה לבוע מחלוקות תאים או גדילתם. שינוי בביטוי גנים המשתתפים בבקרת חלוקות תאים הוא מדד בו נעשה שימוש מוקדם יותר בעבודה זו והוכח כיציל לזיהוי זמן יציאת פקעי פריחה מתרדמה. בחינת תגובתם הביוכימית של הפקעים להשריה בחום נתנה ביסוס לתגובה שנראתה קודם לכן, כי במהלך יציאתם של פקעי פריחה מתרדמה, מתרחשים שינויים ביוכימיים, אשר חלקם לפחות קשורים בבקרת חלוקות תאים בפקעים אלו. השריית הפקעים בחום חיוקה את ביטויים של החלבון המשתתף בבקרת חלוקות התאים בפקעים אלו ואת פעילות הפוספורילציה של הקומפלקס CDK בפקעים אלו.



תמונה מס' 7. ביטוי של CYCLIN B (גל עליון) ו-CDC2 (גל תחתון) בפקעי פריחה של פלאם קיסט. * לצד המספר מציין שהפקת החלבונים נעשת לאחר אינדוקציה בחום של הפקעים.

במיצוי חלבונים ובחינת תגובתם עם נוגדנים לזיהוי Cdc2 ו-Cyclin-B נראה בבירור כי נוכחות החלבון Cdc2 משתנה במהלך התרדמה עבור פקעי נקטרינה מזן 'פלימקיסט' שנאסף מקיבוץ צובה, כפי שזה נראה גם מתגובתם החזקה של הפקעים להשריה בחום. נוכחות החלבון Cdc2 החלה להיות ברורה זיהוי רק החל מהתאריך 14.2 לאחר צבירה של 23 מכסות צינור (איור 7), אולם עם ביצוע השריה בחום לפקעים אלו, ביטוי החלבון עולה. עם התקדמות במהלך העונה וצבירת מכסות צינור נוספות, נראה כי ביטוי החלבון עולה. בניגוד לכך ביטוי החלבון Cyclin-B נראה קבוע בפקעי נקטרינה ועוצמתו קבוע לאורך (איור 7).

ביטוי דומה של החלבונים בקרי חלוקות התאים Cdc2 ו-Cyclin-B נמצא גם באפרסק מהזן סוולינג, ואפרסק מהזן הורמוזה (לא מוצג).

סיכום: לבקר חלוקות התאים Cdc2 יש הופעה דיפרנציאלית במהלך התעוררות של פקעי פריחה. נראה כי הוא מופיע לפני השינויים המשקליים שרואים במשקל הפרחים.

3.4 בחינת ההתאמה שבין השיטות לזיהוי התעוררות הפקעים באפרסק ונקטרינה ריסוסי התעוררות, התעוררות בפועל ויבולים.

בכדי לבחון את המתאם בין ההשתנות הפנוטיפית והביוכימית בפקעי הפריחה לבין התגובה לריסוסי התעוררות במטע המסחרי נבחנה התגובה לריסוס המסחרי שניתן בכל אחד מהמטעים השונים.

א. מטע כ. שמואל בון סוולינג (עונת 2003-2004)

ריסוס ההתעוררות בוצע בתאריך 22.1 המטע התעורר ללא פגיעה בפקעי הפריחה, התקבלת התעוררות

תקינה של הפקעים הוגסטיביים והפרי נקטף במהלך חודש מאי. בעיתוי של ה-22.1 התקבל ביטוי

באינדוקציה לחום בפקעים. כאן אופיינה לראשונה העליה בביטוי Cdc2 בפקעים בתחילת ינואר ב-8.1

ב. מטע כ. שמואל בון הורמוזה (עונת 2003-2004)

ריסוס ההתעוררות בוצע בתאריך 22.1 המטע התעורר ללא פגיעה בפקעי הפריחה, התקבלת התעוררות

תקינה של הפקעים הוגסטיביים והפרי נקטף במהלך חודש מאי. בעיתוי של ה-22.1 התקבל ביטוי בשני

המדדים שאיפיינו כאשר באינדוקציה לחום בפקעים אופיינה לראשונה הפעילות דיפרנציאלית בראשית

ינואר ב-1.1 ואילו הביטוי בבקר חלוקות הפקעים CDC2 הופיע לראשונה ב-25.1.

נראה מהשוואה זו ששני המדדים הביוכימי והמורפולוגי שאפיינו מופיעים כבר בעיתוי מוקדם. בעיתוי

שהוא בטוח לריסוס ולא גורם לפגיעה בפקעים.

ג. מטע דפנה בון פלבור גאנט (עונת 2004-2005)

הניסוי נעשה במטע דפנה בעמק החולה בון הנקטרינה פלבר גאנט. זהו זן בעל דרישות צינור בינוניות

והגידול שלו בעמק החולה מחייב שימוש בתכשירי התעוררות לשם קבלת יבולים מסחריים. לצורך

הניסוי נבחרו 100 עצים מיציגים. פרט לביקורת ללא ריסוס רוססו כל העצים בחומרים שוברי תרדמה.

בניסוי חולקו העצים לשתי קבוצות כאלו שרוססו לאורך כל 10 ימים בין ראשית חודש ינואר ועד ה-20

לפברואר בשמן התעוררות ואלזודף. כיוון שלשימוש מאוחר באלזודף יכולות להיות תוצאות שליליות

בחנו החל מסוף ינואר קבוצה שניה של עצים שרוססה מסוך ינואר ועד ה-20 לפברואר דינו (5%). מבנה ניסוי ההתעוררות מסוכם בטבלה מס' 3.

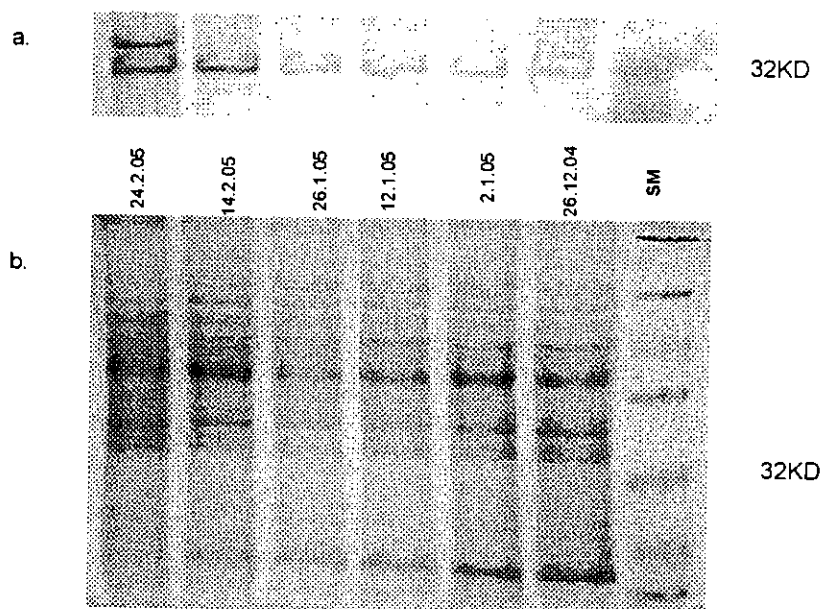
טבלה מס' 3: מבנה ניסוי ההתעוררות

מס'	טיפול	מועד הריסוס	חומרי הריסוס
1	לבן	ללא	ללא
2	צהוב	01.01.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
3	אדום	10.01.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
4	כחול	20.01.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
5	ירוק	30.01.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
6	כתום	10.02.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
7	סגול	20.02.05	אלזודף 0.5% + נרוטר 3%
8	ירוק-לבן	30.01.05	דינו 15 5%
9	כתום-לבן	10.02.05	דינו 15 5%
10	שחור-לבן	20.02.05	דינו 15 5%

מהלך השינויים המשקליים בהמרצה של פקעי פריחה: ללא ריסוס ובעיתי הריסוס השונים. בהתאם לפרוטוקולים שפותחו בשנת העבודה הראשונה נאספו ענפים מיצגים מהמטע ונשקלו בהם פקעי פריחה מיד לאחר הגעתם למעבדה ולאחר השהייה של 48 שעות ב-25 מ"צ. כלקח משנת העבודה הקודמת בחנו גם השהייה בטמפרטורה גבוה יותר של 28 מ"צ על גדילת הפקעים. מצאנו כי המרצה הפקעים ב-28 מ"צ משפרת במרבית המקרים את התוצאה ומאפשרת לראות באופן מובהק יותר את השינוי המשקלי. מצאנו כי ללא ריסוס בחומרים שוברי תרדמה שינויים מובהקים סטטיסטית במשקל הפקעים החלו להופיע בין 10-20 ינואר. בעיתוי זה הצטברו באזור כ-400 שעות קור (בהסתמך על נתונים שהופצו מהתחנה המטאורולוגית המצויה בחוות גד"ש, על ידי מוטי פרס, מו"פ צפון) (איור מס' 8). כאשר בחנו את המרצת הפקעים לאחר ריסוס ההתעוררות מצאנו כי לאחר הריסוסים יש האצה ביציאת הפקעים מתרדמה (איור מס' 8).

מהלך הביטוי של בקר חלוקות התאים CDC2 במהלך התרדמה החורפית של פלבור גאנט. תמונה מס' מציגה את הביטוי של בקר חלוקות התאים CDC2 במהלך התפתחות פקעי הפריחה של הנקטרינה פלבור גאנט במטע דפנה. נראה כי בעיתוי הדגימה הראשונה שנלקחה בראשית ינואר 2005 רואים ביטוי של החלבון CDC2 בפקעי הפריחה. CDC 2 מופיעה כאמור בפקעי פריחה ללא טיפולי התעוררות. ביטוי של CDC2 מתקבל בפקעים שנחשפו ל-300 שעות קור (בהסתמך על נתונים שהופצו מהתחנה המטאורולוגית המצויה בחוות גד"ש, על ידי מוטי פרס, מו"פ צפון). הביטוי נשאר קבועה בדגימות שנאספו במהלך חודש ינואר ועולה בדגימות שנאספו במהלך חודש פברואר בעתוי שבו נחשפו

איור מס' 8. מהלך הביטוי של בקר חלוקת התאים CDC2 בפקעי פריחה של נקטרינה שנאספו בזמנים שונים של התרדמה. A- תגובה מתקבלת עם הנוגדן. B- תמונת הרצת כלל חלבוני פקעי הפריחה שנאספו בזמנים שונים במהלך התרדמה החורפית.



השפעת עיתוי הריסוס על מהלך ההתעוררות

א. פקעי פריחה.

נראה כי פקעי הפריחה בון פלבור גאנט בחורף 2005 שבו נצברו עד ראשית חודש מרץ כ-700 שעות קור (בהסתמך על נתונים שהופצו מהתחנה המטאורולוגית המצויה בחוות גד"ש, על ידי מוטי פרס, מו"פ צפון), אינם זקוקים לריסוס התעוררות. פקעי הפריחה מסוגלים להתעוררות גם ללא טיפול בחומרים שוברי תרדמה. כמו כן, עיתוי הריסוס אינו משפיע על עיתוי ההתעוררות בפועל. מצביע על חשיבות ימי המעלה, תקופת החום המצטברת לאחר הריסוס. תקופה זו קריטית למהלך התפתחות פקעי הפריחה והיא שקובעת את עיתוי פתיחת הפרחים בפועל.

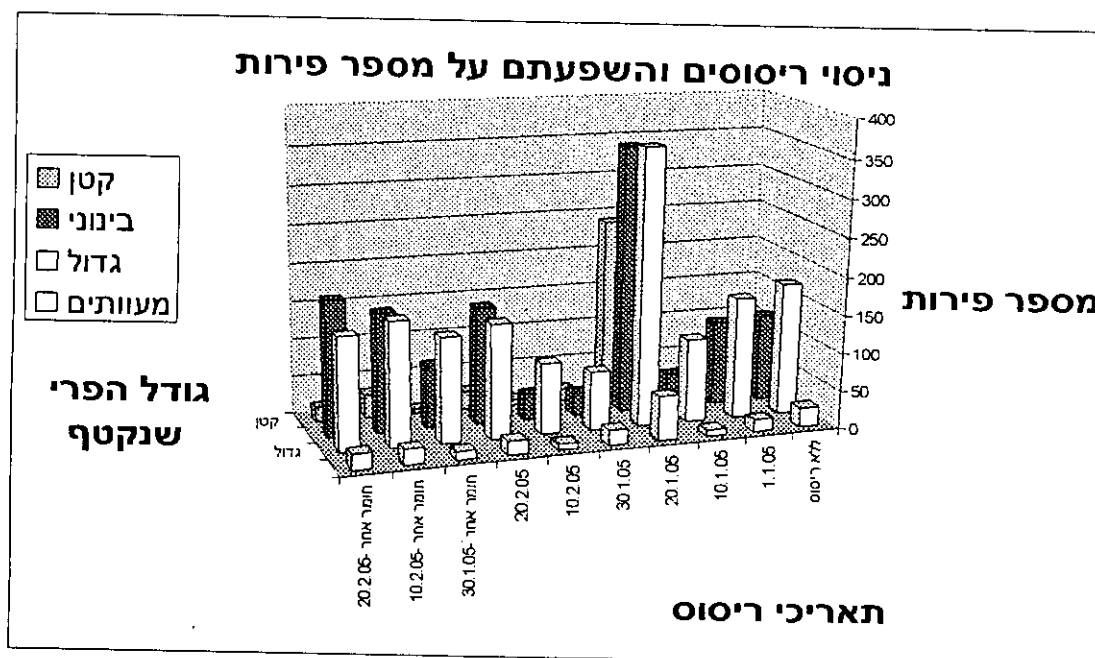
ב. הפקעים הוגטיביים

לעומת פקעי הפריחה שעיתוי התעוררותם כמעט ולא הושפעה ממתן ריסוס התעוררות בשנת 2005 שבה נצברו כ-700 שעות קור בעמק החולה, מצאנו כי בפקעים הוגטיביים התמונה שונה לחלוטין. 700 שעות קור גרמו להתעוררות מאוחרת לא תקינה של פקעי העלווה בעצי הביקורת (לא מוצג). פקעי העלווה בעצי הביקורת לבלבו כ-3 שבועות מאוחר יותר בהשוואה לעצים שרוססו להתעוררות. מבין טיפולי ההתעוררות הריסוס באלזודף שניתן ב-20.12.04 (הטיפול הכחול) הקדים את כל שאר טיפולי ההתעוררות. אחוז ההתעוררות בטיפול הכחול היה הגבוה ביותר מבין טיפולי ההתעוררות. הריסוס שניתן ב-20.12.04 הביא להנצת פקעי עלווה ופריחה בעיתויים דומים (לא מוצג, ראו דו"ח שנה ב').

נראה כי שלבי הגידול השונים של הפקע הרפרודוקטיבי, הפרחים והחנטים, בעיתוי ריסוס זה נהגה מתוצרי פוטוסינתזה של העלווה שנוצרה במקביל לצימוח הרפרודוקטיבי.

השפעת תאריכי הריסוס על יבול ואיכות הפרי הנקטף

מכל עצי הטיפול נקטף הפרי ומוין למספר פירות בגדלים השונים. איור מס' 9 מסכם את כמות הפרי וגודל הפרי במיונים השונים. ניתן לראות כי ריסוס ההתעוררות שניתן ב-20.12.04 גרם קבלת כמות ומשקל פירות מיטביים בהשוואה לשאר טיפולי ההתעוררות.



איור מס' 9. השפעת עיתוי הריסוסים על מספר ומשקל הפירות

סיכום: ניסוי זה מראה כי מצויה התאמה בין האפיון הפנולוגי של השתנות משקל פקעי הפריחה בהמרצה והתעוררות פקעי עלווה. יתר על כן, במידה ונוסיף לנתונים את גרף צבירת שעות הקור, שפי שנמדד בתחנה המטאורולוגית של חוות גד"ש, ניתן לומר כי ריסוס התעוררות בעיתוי שבו נצברים כ-400 שעות קור הוא העיתוי הטוב ביותר להארת פקעי פריחה ועלווה. מצאנו גם כי בעיתוי הריסוס המיטבי הייתה התאמה בין התפתחות פקעי הפריחה והעלווה כך שהפרחים והחנטים שגדלו נהנו מתוצרי פוטוסינתזה במהלך התפתחות הפרי. התוצאה המשקית המתקבל של עיתוי הריסוס ב-20.12.04 מרמזת על הקשר שבין עלווה/תוצרי פוטוסינתזה ויצירת פרי.

מתוצאות הניסוי עולה כי השינויים המשקליים בפקעי במבחן ההמרצה מכוונים לעיתויי ריסוס התעוררות של פקעי פריחה ועלווה ובהמשך לשיפור איכות הפרי. כי המבחן המורפולוגי שהוא פשוט יחסית לביצוע על ידי החקלאים יכול לשמש מדד לעיתוי ריסוס התעוררות.

3.5 בחינת היישום של השיטה המורפולוגית לאיפיון ההתעוררות במיני עצי פרי נשירים אחרים.

מסיכן התוצאות שהתקבלו נראה כי המבחן המורפולוגי של השתנות משקל הפקעים יכול להיות סמן טוב למתן ריסוסי התעוררות. בחרנו להרחיב את השאלה ולבחון האם מבחן המורפולוגי של השתנות פקעי פריחה בעקבות השרייה בחום מגיב הם במספר גלעיניים אחרים. בחרנו לבחון את התגובה בשזיף, משמש ודובדבן.

א. שזיף

ממעקב אחר תגובתם של פקעי פריחה של שזיף מהזן בלאק אמבר הגדל בקבוצת שילר ניתן לראות כי עם ראשית האיסוף, בתאריך 6.1, הפקעים לא הגיבו להשרייה ארוכה בחום ולא נפתחו (איור מספר 10). רק חודש לאחר מכן לאחר צבירת כ-20 מכסות צינן נראה שינוי משמעותי במשקל פקעי הפריחה לאחר השרייה בחום. החל מאמצע חודש פברואר ועד לסיום עונת האיסוף נראית תגובה חזקה בשינוי המשקלי של הפקעים.



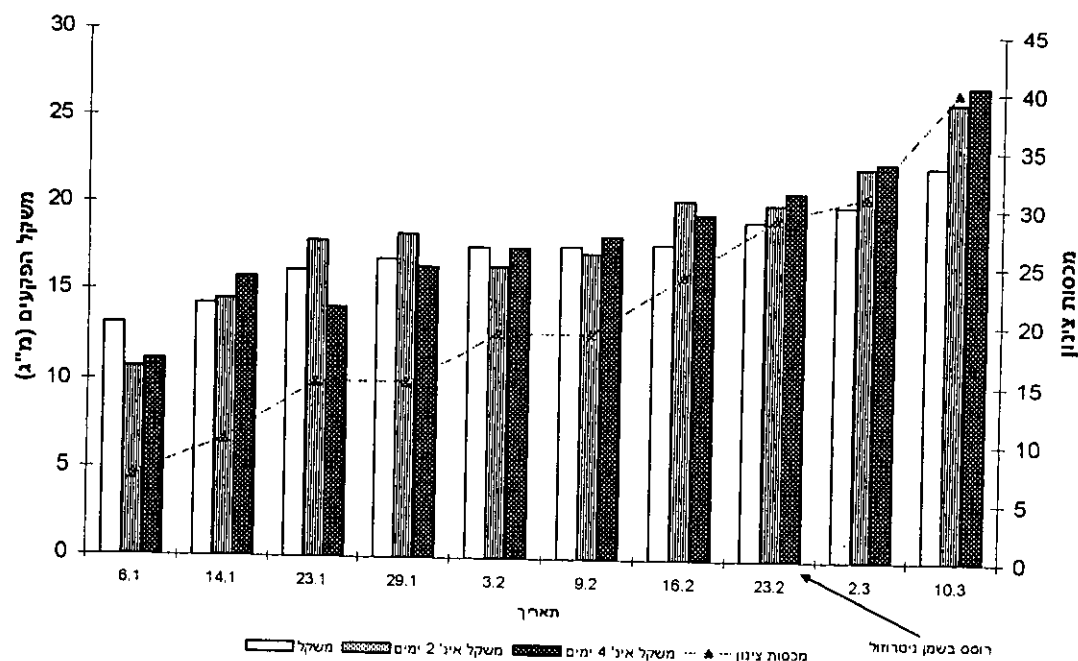
איור מספר 10 – מעקב אחר עליה במשקל, לפני ולאחר השרייה בחום להתעוררות, בפקעי פריחה של שזיף בלאק אמבר כתלות בצבירת מכסות צינן – שילר 2006. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך 48 ו-96 שעות בתנאי הארה טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישובו מתוך משקלם של שבעים וחמישה פקעי פריחה של שזיף שנאספו ממטע קבוצת שילר.

תוצאה דומה של תגובת פקעי פריחה בשזיף למבחן השרייה בחום התקבלה גם בשזיף מהזן רואיל זי (לא מוצג).

ב. מישמש

ממעקב אחר תגובתם של פקעי פריחה של מישמש מהזן רעננה (קנינו) נבחנה בשני מטעים במישור החוף כפר ורבורג (לא מוצג) וכפר מנחם (איור מס' 11). בראשית האיסוף, בתחילת ינואר, פקעי הפריחה במישמש בשני לא הגיבו להשרייה ארוכה בחום ולא נפתחו (איור מספר 11). רק חודש וחצי לאחר מכן במחצית פברואר לאחר צבירת כ-25 מכסות צינן נראה שינוי משמעותי במשקל פקעי הפריחה לאחר השרייה בחום. החל מאמצע חודש פברואר ועד לסיום עונת האיסוף נראית תגובה חזקה בשינוי המשקל של הפקעים. נראה כי השרייה של הפקעים למשך 48 שעות מאפשרת לקבל איפיון טוב של השתנות המשקל ואין צורך באחסון ממושך יותר.

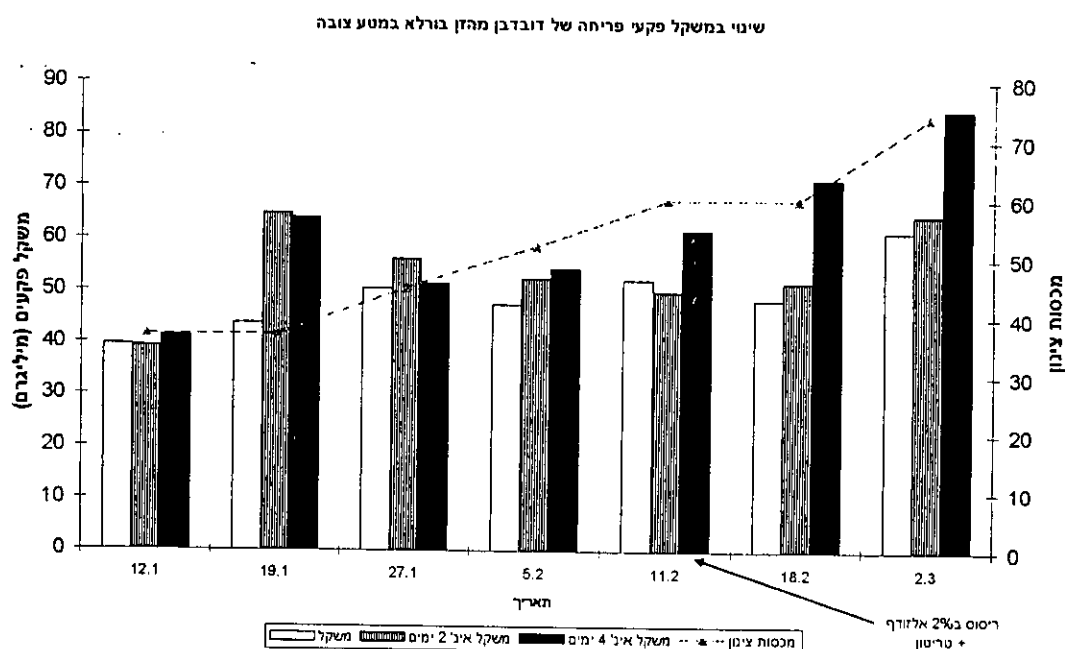
התפתחות פקעי מישמש מזן רעננה במטע כ.מנחם חורף



איור מספר 11 – מעקב אחר עליה במשקל, לפני ולאחר השרייה בחום להתעוררות, בפקעי פריחה של מישמש רעננה כתלות בצבירת מכסות צינן – כ. מנחם 2006. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך 48 ו-96 שעות בתנאי הארה טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישובו מתוך משקלם של שבעים וחמישה פקעי פריחה של מישמש שנאספו ממטע כ. מנחם.

ג. דובדבן

בהשוואה לשני הגלעיניים שנבדקו הדובדבן הוא עץ נשיר בעל דרישות צינן גבוהות בהרבה. יחד עם זאת הוא מאופיין במהלך יצירת פרי מהירה של 45 ימים בלבד. בניסוי בודד שנעה במטע צובה נראה כי גם דובדבן מגיב למבחן ההשרייה בחום. גם כאן רואים כי חשיפה לחום של פקעי פריחה בעיתוי שבו נצברו מספיק מכסות צינן מאפשר לזהות תפיחת פקעים מוקדמת (איור מס' 12).



איור מספר 12 – מעקב אחר עליה במשקל, לפני ולאחר השריה בתום להתעוררות, בפקעי פריחה של דובדבן בורלא כתלות בצבירת מכסות צינן – ציבה 2006. הפקעים הושרו במים בטמפרטורה של 25°C למשך 48 ו-96 שעות בתנאי הארה טבעיים. המשקל הממוצע של פקעי הפריחה נמצא על-ידי חישובו מתוך משקלם של שבעים והמישה פקעי פריחה של דובדבן שנאספו ממטע צובה.

סיכום

מטרות המחקר

- איפיון התעוררות פקעי הפריחה באפרסק ונקטרינה באמצעות שיטות ביוכימיות ומורפולוגיות.
- בחינת ההתאמה שבין השיטות לזיהוי התעוררות הפקעים באפרסק ונקטרינה ריסוסי התעוררות. התעוררות בפועל ויבולים.
- בחינת היישום של השיטה המורפולוגית לאיפיון התעוררות במיני עצי פרי נשירים אחרים.

עיקרי הניסויים והתוצאות

בתחילת העבודה ביססנו שתי שיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה באפרסק ונקטרינה. שיטה מורפולוגית המתבססת על שינוי במשקל הפקעים במהלך אינדוקציה בחום ושיטה ביוכימית המבוססת על שינויים בביטוי בקרי חלוקות תאים. סיכום הניסיונות בשנה הראשונה והשניה הראה כי האיפיון הביוכימי קרי, עליה בביטוי של גנים המעורבים בחלוקות התאים דוגמת CDC2, מקדים ב 14-20 יום את השינוי המורפולוגי של משקל הפקעים.

בחנו את השיטות לאיפיון התעוררות פקעי פריחה על זן נקטרינה הגדל בעמק החולה בזן פלבר גנט. זהו זן בעל דרישות קור בינוניות הגדל באזור חמים יחסית ולכן ללא ריסוסי התעוררות תתקבל פחיתה ניכר ביבולים. במסגרת הניסוי ביצענו 10 ריסוסי התעוררות החל מסוף דצמבר 2004 ועד מחצית שניה של פברואר 2005. הניסוי כלל כ-100 עצי נקטרינה מהזן פלבור גאנט. מהעצים המרוססים נדגמו ענפים לבחינת התעוררות בשיטה הביוכימית והפיזיולוגית. בהמשך ניבחנו מהלך ההתעוררות של פקעי הפריחה ופקעי העלווה בעיתוי הריסוס השונים. מצאנו הבדלים זעירים של כ-5 ימים בין עיתוי הריסוס ועיתוי ההתעוררות של הפרחים והעלווה. נראה לנו שמהלך התעוררות העץ מושפע יותר מהטמפרטורות שלאחר הריסוסים מאשר מעיתוי הריסוסים. לעומת זאת בחינת תוצאות קטיף הפרי בניסוי מראה יתרון ברוב הריסוס בתאריך 20.1.05 הזהה לעיתוי הראשון שבו ראינו שינוי מורפולוגי במשקל הפקעים. בעיתוי זה התקבל פרי רב וגדול יותר.

בחנו את התאמתה של שיטת הזיהוי המורפולוגית על מספר מיני עצי פרי נשירים אחרים. מצאנו כי גם בפקעי פריחה של מישמש גודגן ואגס רואים עליה במשקל הפקעים עם צבירת מכסות הצינון. כמו כן ראינו כי גם במינים אלו כי השיטה המורפולוגית מסוגלת להתריע בפני מצבים בהם פקעי הפריחה עומדים לפרוח.

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו

הניסיונות שביצענו הראו כי שני המדדים הפנוטיפי והביוכימי מופיעים בעיתוי שבו הפקעים עדין סגורים וניתן לרסס אותם בבטחה להתעוררות. המדד הביוכימי מופיע מוקדם מידי ואילו המדד המשקלי הראה שינויים מובהקים בעיתוי שהריסוס בו גרם להתעוררות מיטבית של פקעי הפריחה והעלווה. המדד המורפולוגי של שינויי במשקל הפקעים הוא קל יחסית לביצוע ויכול לשמש במספר רב של מינים במטע הנשיר בישראל. כפועל יוצא של עבודה זו, לשמש יצירת מדד מורפולוגי לקביעת הצטברות מכסות צינון במטע, ניתן גם לחשוב גם על נטיעה של עצי רפרנס ליד מטעים קיימים של עצים נשירים בעלי דרישות קור מעטות וידועות דוגמאת שקד, כמדד מורפולוגי לצבירת מכסות קור. בדרך זו החקלאי יוכל להעריך את התקדמות צבירת מכסות הצינון במטע בהתאם למדד הפריחה של השקד במטע, באזורי הגידול השונים.

הבעיות שנותרו לפתרון

1. לבחון את המתאם בין המדד המשקלי עיתוי הריסוס ואיכות הפרי במטעים באזור אקלים שונים.
2. לפתח מערך לביצוע נרחב של מבחן המורפולוגי לשינוי משקל הפקעים והפצתו בקרב חקלאים באזורי גידול שונים.

האם הוחל כבר בהפצת הידע

תוצאות המחקר הוצגו במסגרת ימי עיון למגדלים וחלק מהתוצאות פורסמו במאמרים הבאים:

1. ברייר, ה. פרילוק, ש. גולובוביץ, ז. יבלוביץ, ע. שרגל, ג. גרפי ומ. פליישמן (2005). התפתחות פקעים רפרודוקטיביים באגס ספדונה ופיתוח שיטה לקביעת סיום תרדמתם. עלון הנוטע 59:343-

Moshe A. Flaishman, Yuval Brayer, Amihai Shargal and Gideon Grafi (2005).
 Resumption of cyclin B and histone H1 kinase activity marks reproductive bud break
 in pear grown in the hot climate of Israel.
 Acta Hort. 671:275-281.

פרסום הדו"ח

ניתן לפרסם.

תודות

תודה מיוחדת לכל מרכזי המטע במרכז וצפון הארץ שהרשו לנו לדגום פקעים ולבצע
 מעקבים במטעים השונים. תודה גם ליעל גרינבלט-עברון משה"מ ולמשה אגיב
 ממו"פ צפון על העזרה בתכנון ובביצוע הניסיונות במטע דפנה.