



1998-2000

תקופת המחקר:

256-0436-00

קוד מחקר:

פיגמנטציה בענפי קישוט ירוקים

שם

PIGMENTATION IN GREEN DECORATIVE BRANCHES

המחקר:

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

חוקר ראשי: דר' מיכל שמיר

מאמרים: 2

חוקרים שותפים: דר' דוד וייס, דר' עבד ותד, עדה נסים

תקציר

בארץ קיימים מספר גידולים לענפי קישוט שהאטרקטיביות שלהם היא בהופעת צבע אדום/סגול או בעליהם. סיכויי הצלחתם של גידולים אלו לייצוא תלויים במידה רבה באיכות הפיגמנטציה, בזמן הופעתה ובמשך הופעתה בעלים. כיום ישנה תלות מוחלטת בתנאי האקלים על מנת לקבל פיגמנטציה אדומה בצמחים אלו. מסיבה זו אזורי הגידול של צמחים לענפי קישוט צבעוניים מוגבל. בנוסף לזה, גם באזורי אקלים מתאימים, שינויי אקלים בין עונה לעונה ובין שנה אחת לשניה משפיעים מאד על איכות הפיגמנטציה בצמחים.

מטרת מחקר: לימוד תהליכים הגורמים להופעת הצבע האדום/סגול (פיגמנטים מקבוצת האנטוציאנינים) בענפי הקישוט השונים ובמציאת דרכים להשפיע על מועד הופעת הפיגמנט, משך הופעתו ואיכותו. המחקר התבצע הן ברמה הפיזיולוגית של בחינת השפעת גורמים חיצוניים על הפיגמנטציה, והן ברמה הביוכימית של אפיון התהליכים הגורמים להפסקת הצטברות הפיגמנט. בשלב ראשון נבחנה השפעת תנאי גידול על הפיגמנטציה במספר צמחים לענפי קישוט אדומים. בפוטנייה ובקופלם נמצא שהפיגמנטציה האדומה יורדת עם העליה בטמפרטורות הגידול. תופעה זו נמצאה בעבר על ידינו גם בצמחי קוטינוס. בצמחי קוקופלם, בניגוד לקוטינוס ולפוטנייה, אין השפעה של אור UV על הפיגמנטציה, והיא נשארת קבועה גם כשאור ה-UV נחסם.

במטרה לשפר פיגמנטציה אדומה בצמחים, נבחנו מספר טיפולים: א. בצמחי פוטנייה, טיפולים בגייברלין האריכו באופן ניכר את זמן לבלוב הענפים ובכך גם את הזמן בו ניתן לקבל ענפים אדומים איכותיים. ב. בצמחי קוקופלם וקוטינוס, נסיונות ראשוניים בטיפולים עם מלחי מגנזיום הראו שיפור משמעותי בפיגמנטציית העלים המלבלבים. יש צורך לבחון טיפולים אלו ודומים להם בעתיד על מנת לבסס תוצאות אלו.

במטרה ללמוד על המנגנונים המשפיעים על השינויים בפיגמנטציית העלים עם התבגרותם, נעשה מעקב אחר הפיגמנטים השונים המרכיבים את צבע העלים, בשלבי התפתחות שונים, בצמחי פוטנייה וקוקופלם. בשני צמחים אלו נמצא שריכוז האנטוציאנינים יורד עם העליה בריכוז הכלורופיל בעלים המתבגרים. בנוסף לכך נמצא שישנה עליה בפרקורסר ספציפי לאנטוציאנין העיקרי בצמח (ושונה בין שני הצמחים) עם הירידה בריכוז הפיגמנטים. מכאן ניתן למקד שלב אפשרי של בקרה במסלול המטבולי של אנטוציאנינים שאולי מבוקר בזמן התפתחות העלים.

מבוא (רקע מדעי ומטרות)

בארץ קיימים מספר גידולים לענפי קישוט שהאטרקטיביות שלהם היא בהופעת צבע אדום/סגול או חום בעליהם. סיכויי הצלחתם של גידולים אלו לייצוא תלויה במידה רבה באיכות הפיגמנטציה, בזמן הופעתה ובמשך הופעתה בעלים. כיום ישנה תלות מוחלטת בתנאי האקלים על מנת לקבל פיגמנטציה אדומה בצמחים אלו: נדרשות עוצמות אור גבוהות וטמפרטורות נמוכות, בעיקר הפרשי טמפרטורה גבוהים בין היום והלילה. מסיבה זו אזורי הגידול של צמחים לענפי קישוט צבעוניים מוגבל. בנוסף לזה, גם באזורי אקלים מתאימים, שינויי אקלים בין עונה לעונה ובין שנה אחת לשניה משפיעים מאוד על איכות הפיגמנטציה בצמחים.

מטרת מחקר זה היא לימוד תהליכים הגורמים להופעת הצבע האדום/סגול (פיגמנטים מקבוצת האנטוציאנינים) בענפי הקישוט השונים ובמציאת דרכים להשפיע על מועד הופעת הפיגמנט, משך הופעתו ואיכותו. המחקר יתבצע הן ברמה הפיזיולוגית של בחינת השפעת גורמים חיצוניים על הפיגמנטציה, והן ברמה הביוכימית של אפיון התהליכים הגורמים להצטברות הפיגמנט.

אנטוציאנינים הם קבוצת פיגמנטים המצטברים בוקואולות תאי האפידרמיס של מגוון רחב של צמחים ואברי צמחים, והם בולטים במיוחד בפרחים ובפירות. בניגוד לעלי כותרת של פרחים ופירות, בעלים ירוקים מופיעה לעיתים פיגמנטציה של אנטוציאנינים בתקופה בה הצמח נתון בעקה, ונעלמת עם היעלמות הגורם המעיק. במחקר המוצע בכוונתנו להשליך מהידע היותר מעמיק שקיים במערכות של נבטים ותרחיפי תאים על הפיגמנטציה בעלווה של צמחים לענפי קישוט, ולגרום לסינתזה מוגברת של אנטוציאנינים בהם. ברור שבצמחים שלמים, השליטה על תגובה למתן עקות הרבה יותר מסובכת מאשר בתרחיפי תאים ועלולה לגרום לפגמים לא רצויים בצמח.

הצענו למקד את המחקר בשלושה גידולים שבהם ישנה סינתזה של אנטוציאנינים בעלווה: ספארי סנסט ממשפחת הפרוטאים, שהוא אחד הגידולים המכניסים ביותר של ענף הפרחים, הפוטיניה ממשפחת הוורדניים והקוטינוס קוגיריאה ממשפחת האלתיים. בהצעה המקורית המלאה שהגשנו לשיפוט בשנת 97 רק הספארי והקוטינוס מוזכרים כצמחים שעליהם נמקד את העבודה. מכיון שההצעה לא מומנה בשנה זו בגלל בעיות תקציב של קרן המדען, הגשנו תקציר חדש בשנת 98 ובו הוספנו את הצמח פוטיניה, שהפך לגידול חשוב מבין הגידולים לענפי קישוט מאדימים. במהלך העבודה עלו בעיות טכניות רבות בגידול צמחי הקוטינוס וחוסר הצלחה בגידול צמחי ספארי בתנאי הפיטוטרון המבוקרים. לכן, יש לנו יחסית מעט תוצאות בשני גידולים אלו. רוב העבודה התמקדה בצמח הפוטיניה, ובצמח חדש שלא הוזכר בהצעה הראשונית, הקוקופלס. תקותנו היא שהבנת המערכות הנבחרות תתרום בעתיד גם לשליטה ושיפור הפיגמנטציה בענפי קישוט נוספים, ועל ידי כך להרחבת ענף ייצוא זה.

פירוט הניסויים והתוצאות

א. פיגמנטציה אדומה בצמחי פוטיניה

1. השפעת טמפרטורה על פיגמנטציה בפוטיניה:

על מנת לבחון את השפעת טמפרטורת הגידול על הצטברות אנטוציאנינים בענפי פוטיניה עקבנו אחר הצימוח ושינויי הצבע בעלים בתנאי טמפרטורה מבוקרים בפיטוטרון. שתילי פוטיניה הוכנסו לכל אחד משלושת תנאי הטמפרטורה הבאים: $17^{\circ}\text{C}/9^{\circ}\text{C}$, $21^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$, $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$. כשהטמפרטורה הגבוהה ביום (10 שעות אור) והנמוכה בלילה. נעשה מעקב אחר קצב התארכות הענף המרכזי בצמח (איור 3, ביקורת), ורמת האנטוציאנינים בעלים הצעירים (איור 2, ביקורת). נמצא שקצב התארכות הכללי של הצמחים גבוה ככל שטמפרטורת הגידול גבוהה, והפיגמנטציה (ריכוז האנטוציאנינים) בעלים המלבלבים נמוך יותר בטמפרטורות גבוהות.

בנוסף לכך, במעקב אחר אורך הענפים המלבלבים (הענף המלבלב הוגדר כענף שהעלים עליו אינם קשיחים) נמצא שבכל אחת משלושת הטמפרטורות, צמיחת הענפים אינה רציפה, אלא בגלים (איור 1, ביקורת). גלי הצימוח ארוכים יותר ככל שהטמפרטורה נמוכה יותר (ראה צמחי ביקורת באיור 1). במעקב אחר רמת הפיגמנטציה בעלים המלבלבים (איור 2, ביקורת), ניתן לראות שישנה קורלציה בין רמת הפיגמנטציה לבין הצימוח. למעשה כשהצימוח נעצר, רמת האנטוציאנינים יורדת והצמחים מוריקים (ראה צמחי ביקורת, איור 2).

2. השפעת טיפולי גייברלין:

ברור מתוצאות הניסויים המתוארים למעלה שאחד הגורמים לצבירת אנטוציאנינים בעלי פוטיניה, הוא שלב הבלבוב. במטרה להאריך את זמן הבלבוב ועל ידי כך להאריך ולשפר את הפיגמנטציה האדומה בעלים, צמחי פוטיניה הגדלים בטמפרטורות שונות, טופלו בגייברלין (GA_3). הצמחים נגזמו, ובשלב התחלת הבלבוב החדש, רוססו ב-100 ppm גייברלין. הטיפול היה שלושה ריסוסים עוקבים בהפרש של שבוע. איורים 1-3 מסכמים את השפעת הטיפולים על הצמחים. בהסתכלות על אורך הבלבוב הצעיר (איור 1), ברור שבכל הטמפרטורות טיפול הגייברלין האריך באופן משמעותי את משך גל הצימוח. ריכוז האנטוציאנינים בעלים תלוי בטמפרטורת הגידול ובמשך הבלבוב (איור 2) וטיפול הגייברלין מאריכים את הזמן בו ישנם ענפי פוטיניה אדומים. ענפי הפוטיניה היו ארוכים יותר כתוצאה מהטיפולים בגייברלין (איור 3) אך לא השתנו באופיים ובאורך הפרקים שלהם. הסיבה לקבלת ענפים ארוכים יותר בצמחים המטופלים היא הצימוח הרציף בניגוד לגלי צימוח בצמחי הביקורת.

מעבודה זו ניתן להסיק שעל ידי טיפולים יחסית פשוטים בגייברלין, ניתן להאריך את התקופה בה הצמחים מלבלבים. מכיון שהפיגמנטציה האדומה בעלים מופיעה רק בשלב הליבלוב, תוצאה זו חשובה ביותר ומאפשרת הארכת זמן קטיף של ענפי פוטיניה. עם זאת, הטיפול בגייברלין לא שיפר

את צבע העלים ביחס לצמחים מלבליים שלא טופלו. ריכוז האנטוציאנינים בעלים המלבליים תלוי בטמפרטורת הגידול.

3. אפיון הפיגמנטים בעלי פוטיניה עם התבגרותם והפיכתם מאדומים לירוקים:

על מנת לבחון האם ישנן דרכים למנוע את שינוי צבע עלי הפוטיניה מאדום לירוק עם התבגרותם, עקבנו אחר השינויים בפיגמנטים השונים המרכיבים את צבע העלים, בשלבי התבגרות שונים. לשם כך הגדרנו שמונה שלבי התפתחות של עלי פוטיניה, על פי גודל העלים, צבעם (כשהם גדלים בטמפרטורה המעודדת סינטזת אנטוציאנינים), והמרקם שלהם. השלבים שהוגדרו הם: 1: עלי אדומים מלבליים, 2: עלי גדולים, רכים בעלי צבע אדום עז, 3: עלי אדומים מענפים בעצירת צימות, 4: עלי בצבע אדום-ברונזה, 5: עלי בצבע ברונזה, 6: עלי בצבע אדום-ירוק, 7: עלי בצבע ירוק עם מעט אדום, 8: עלי ירוקים.

בשלב ראשון נמדד ריכוז האנטוציאנינים הכללי וריכוז הכלורופיל בעלים בשלבי התפתחותם (איור 4). ניתן לראות בברור שישנו יחס הפוך בין ריכוז האנטוציאנינים וריכוז הכלורופיל בעלים: בליבלוב ריכוז האנטוציאנין גבוה והכלורופיל נמוך, ויחס זה מתהפך עם התבגרות העלים. כשהאגליקונים השונים המרכיבים את צבע העלים הופרדו על קולונת RP בעזרת מכשיר ה-HPLC נמצא שהמרכיב העיקרי הוא ציאנידין, וישנם עוד מספר חומרים שאנחנו בשלבי זיהוי שלהם. איור 5 מציג את יחסי הריכוזים בין ציאנידין למרכיבים האחרים בשלבי התפתחות העלים, על פי שטח הפיקים בכרומטוגרמת ה-HPLC. התמונה של שינוי ריכוז הציאנידין מקבילה לחלוטין לשינויים בריכוז האנטוציאנינים הכללי (איור 4A) עם התבגרות העלים.

כשבחנו את תוצרי הביניים במסלול סינטזת האנטוציאנינים, השינוי העיקרי שבלט לעין היה בריכוז quercetin, שהוא תוצר ביניים במסלול הסינטזה הספציפי של ציאנידין (איור 6). נראה שישנה הצטברות משמעותית של תוצר ביניים זה עם הירידה הדרמטית בריכוז הציאנידין כשהעלים מתבגרים ומוריקים. תוצאה זו מרמזת על כך שיתכן ששלבי הסינטזה המבוקרים בתהליך זה של הפסקת סינטזת האנטוציאנינים הם שלבים יחסית מאוחרים במסלול, ולא שלבים שמשותפים לכל האנטוציאנינים, כמו פעילות האנזימים Chalcone synthase ו-Chalcone isomerase.

ב. פיגמנטציה בספארי סנסט:

כל נסיונותינו הרבים והמגוונים לנסות לגדל צמחי ספארי בעציצים בפיטוטרון בתנאי גידול מבוקרים עלו בתוהו. לכן החלטנו לבחון השפעות תנאי אקלים על הפיגמנטציה בספארי בחלקות גידול שונות. הניסוי הראשון נעשה בשיתוף עם מו"פ ההר ומטרתו היתה השוואה בין חלקות גידול ספארי באזורי אקלים שונים. ארבעת האזורים מהם נדגמו ענפים הם: 1. סוסיא: אזור עם עוצמות קרינה גבוהות ורמת משקעים נמוכה, בגובה של 800 מ' מעל פניהים, 2. ערד: אזור עם עוצמות קרינה גבוהות ורמת משקעים נמוכה בגובה של 500 מ', 3. יתיר: אזור עם עוצמות קרינה גבוהות ורמת משקעים נמוכה ביותר בגובה של 900 מ' ו-4. עוז: אזור עם עוצמות קרינה נמוכה

יחסית ורמת משקעים גבוהה מאד. מתוך מדגם של 10 ענפים מכל אזור, נמדד ריכוז האנטוציאנינים וריכוז הכלורופיל בעלים במרחקים שונים מקצה הענף (איור 7). נמצא שפרט לעלה הראשון בענף (בו הפיגמנטציה היתה הגבוהה ביותר באזור ערד), לסוסיא יתרון ברור בהשפעת האקלים על עוצמת הצבע האדום לאורך ענף הספארי. כנראה השילוב של הגובה הרב של המקום (שהוא משליך על הטמפרטורה) ורמת הקרינה הגבוהה מהווים יתרון ניכר לקבלת צבע איכותי בענפי הספארי. כמו בפוטיניה, ישנה קורלציה ברורה והפוכה בין ריכוז האנטוציאנינים לריכוז הכלורופיל בעלים.

לאור תוצאות שלנו בעבודה עם פרחי אסטר ושיפור הפיגמנטציה שלהם בטמפרטורות גבוהות, העמדנו שני נסיונות עם מדריכים חקלאיים בשטחים מסחריים לבחינת השפעת טיפולים במלחי מגנזיום. שני הנסיונות, האחד באזור חדרה והשני באזור הגליל העליון לא הושלמו מסיבות שאינן ברורות לי ולכן אין לנו נתונים מהם.

ג. פיגמנטציה בקוטינוס:

בעבר נעשתה עבודה מקיפה על ידינו לאפיון השפעת תנאי טמפרטורה ואיכות אור על הפיגמנטציה בעלי קוטינוס (ראה פרסומים 4-1). לאור נסיונות אלו חשבנו שצמח הקוטינוס יהווה מודל נוח לעבודה מעמיקה יותר בנושא פיגמנטציה אנטוציאנינים בעלווה. לצערנו, נתקלנו בבעיות גידוליות אין ספור במשך יותר משנת עבודה בפיטוטרון, ולכן יש לנו רק מספר תוצאות מצומצם מצמח זה. בנוסף לכך ד"ר עבד ותד, אותו תכננו לעבוד ברמה של תרבויות רקמה, נפטר, ולכן גם נושא זה לא קודם.

האגליקונים האחראיים לצבע האדום בעלי קוטינוס אופיינו בעזרת קולונת RP במכשיר ה-HPLC ותוצאות הניסוי מסוכמות באיור 8. ישנם ארבעה מרכיבים עקריים, מהם רק שניים זוהו על ידינו עד היום, ציאנידין ודלפינידין. יתכן ששני המרכיבים האחרים הם דריבטים של אגליקונים אלו שלא עברו הידרוליזה מלאה לפני העמסתן על קולונת ה-HPLC.

בחנו מספר טיפולים בצמחי קוטינוס שגדלו בתנאי טמפרטורה של $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$ בפיטוטרון (איור 9). הטיפולים שנבחנו היו טיפול הצמאה לשלושה ימים, וטיפול הגמעה במגנזיום ניטרט בריכוזים שונים. העלים שנלקחו לדגימה היו העלה הראשון שהגיע לגודלו המקסימלי. הטיפול האחד שהשפיע באופן ניכר על הפיגמנטציה בעלים היה טיפול עם 200 mg/L עם מגנזיום ניטרט. ריכוז האנטוציאנינים בעלים עלה בכ-80% שבועיים לאחר הטיפול. לצערנו ניסוי זה נעשה רק פעם אחת ואנחנו בשלבי חזרה עליו על מנת לבסס תוצאות אלו.

ד. פיגמנטציה בקוקופלס:

קוקופלס הוא צמח ממוצא טרופי שעליו מלבלבים בצבע אדום ומוריקים עם התבגרותם. אנחנו עבדנו עם סלקציה של סימה קגן שמלבלב בצבע אדום כהה במיוחד. מהתרשמות ראשונית, נראה שהפיגמנטציה האדומה בקוקופלס פחות רגישה לטמפרטורות גבוהות וכן לאור UV, בניגוד

לצמחים אחרים שבחנו עם עלווה מאדימה. מסיבה זו החלטנו לאפיין השפעת גורמים חיצוניים על צמח זה ולעקוב אחר השתנות הצבע עם התבגרות העלים. ישנה התעניינות ראשונית בגידול הקופלם כגידול לענפי קישוט, ותוצאות עבודה זו עשויות לתרום לפיתוחו כצמח חקלאי.

השפעת טמפרטורה ואור UV על צבע עלי קוקופלם מבלבלים נבחנו בשלושה משטרי טמפרטורה בפיטורון ($23^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$, $26^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$, $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$) ותחת שתי יריעות פוליאתילן השונות אחת מהשניה בכמות אור ה-UV העובר דרכן (איור 10). נדגמו העלים הראשונים בענף בארבעה תאריכים שונים לקביעת ריכוז האנטוציאנינים בהם. בניגוד לצמחי קוטינוס ופוטניה, בהם העלים נראו ירוקים לחלוטין בטמפרטורה של 29°C , העלים בקצות ענפי הקוקופלם היו אדומים. באיור 10 ניתן לראות שריכוז האנטוציאנינים ירד עם העליה בטמפרטורת הגידול, אבל בניגוד לפוטניה בו הריכוז ירד פי 7 בין 23°C ל- 29°C , בקוקופלם הריכוז ירד רק פי 2. סינטזת האנטוציאנינים אינה תלויה באור UV בצמחים אלו (איור 10). אין הבדל ברמת הפיגמנטים בין הצמחים שכוסו ביריעת ורדים (שאינה מעבירה אור UV) ובין אלו שכוסו ביריעת נקטרינות (שמעבירה אור UV). בזה הקוקופלם שונה מצמחי קוטינוס, בהם אין יצירת אנטוציאנינים כלל תחת יריעת ורדים.

בבחינת השפעת טיפולי מגנזיום (כפי שתואר לצמחי קוטינוס) על הפיגמנטציה של צמחים ב- 29°C נמצא שישנה השפעה של הטיפולים על הפיגמנטציה (איור 11). בסוף הטיפול השני, ריכוז האנטוציאנין בעלים המטופלים היה כמעט כפול מזה שבצמחי הביקורת. בימים אלו אנחנו חוזרים על ניסוי זה על מנת לבסס את התוצאות.

בדומה לעבודה עם צמחי פוטניה, עקבנו אחר השינוי בריכוז הפיגמנטים השונים בעלי קוקופלם עם התבגרותם. שלושה שלבי ההתפתחות שהוגדרו לשם כך הם: 1: עלה ראשון או שני, אדום, 2: עלה שלישי או רביעי בצבע ברונזה, 3: עלה נמוך ביותר בענף, ירוק. איור 12 מסכם את ריכוז האנטוציאנינים והכלורופיל בשלבים השונים וגם כאן ניתן לראות שעם העליה בריכוז הכלורופיל חלה ירידה דרמטית בריכוז האנטוציאנינים. האגליקון הכמעט יחיד הקובע את צבע עלי הקוקופלם הוא דלפינידין (איור 13). ישנם עוד שני פיגמנטים בריכוזים נמוכים ביותר שעדיין לא אופיינו. בדומה לפוטניה, בו מצאנו עליה בריכוז פרקורסר ספציפי לאגליקון העיקרי בעלים, גם פה ישנה עליה ב-mirecetin שהוא חומר ביניים ספציפי לדלפינידין (איור 14). ממצא מחזק את השערתנו ממצאי הפוטניה, שיתכן והשלב בסינטזת האנטוציאנינים המבוקר על ידי תהליכי התבגרות העלים הוא מאוחר יחסית במסלול, וספציפי לאנטוציאנין מסוים.

מסקנות והשלכות על המשך המחקר

המטרה העיקרית של מחקר זה היתה לשפר את איכות ענפי הקישוט המאדימים על ידי טיפולים שיעלו את ריכוז האנטוציאנינים בעלים ובכך יאדימו אותם בתנאי אקלים פחות מתאימים.

בצמחי פוטיניה מצאנו דרך להאריך את תקופת הבלבוב של הענפים מבלי לפגוע באיכותם. בכך אנו מאפשרים הארכת הזמן בו ישנם ענפים איכותיים לקטיף ואפשרות למספר רב יותר של גלי לבלבוב וקטיף. בנושא של טיפולי גייברלין בענפי פוטיניה, הגענו לשלב שבו יש צורך לבחון את הטיפולים בתנאי שדה בשטחים חקלאיים. התחלנו בעבודה זו ואנחנו מקווים לבחון אותה בצורה מקיפה בעתיד. עדיין לא מצאנו תחליף לצורך בתנאי טמפרטורה נמוכים יחסית לקבלת צבע אדום בענפים המלבלבים. טיפולי הגייברלין מאריכים את זמן הבלבוב אך אינם מגבירים את צבע העלים המלבלבים. יתכן ובעתיד נמצא שילוב של טיפולים שיעלו את ריכוז האנטוציאנינים בנוסף להארכת זמן הבלבוב.

אחד הטיפולים להעלאת ריכוז האנטוציאנינים בעלווה, בו קבלנו תוצאות ראשוניות מבטיחות, הוא טיפול במלחי מגנזיום. נסיונות אלו החלו לאחר שנמצא במעבדתנו שטיפולים במגנזיום משפרים את ריכוז האנטוציאנינים בפרחי אסטר הגדלים בטמפרטורות גבוהות יחסית. בעבודה עם ענפי קישוט, מצאנו גם בצמחי קוטינוס וגם בצמחי קוקופלס, שטיפולי מגנזיום העלו באופן ניכר את ריכוז הפיגמנטים האדומים בעלים. בשני צמחים אלו הנסיונות ראשוניים ואנחנו מקווים בעתיד להמשיך את העבודה, במסגרת של הצעת מחקר חדשה.

בנסיון ללמוד יותר על התהליכים הגורמים לאיבוד הצבע האדום בעלים מלבלבים, עקבנו אחר השינויים בפיגמנטים (כלורופיל, אנטוציאנינים והפרקורסרים שלהם) בצמחי פוטיניה ובצמחי קוקופלס. בשני הצמחים ראינו שינוי יחס הפוך בין ריכוז האנטוציאנינים לריכוז הכלורופיל. יתכן שישנה בקרה המשפיעה במקביל על שני תהליכים אלו. בנוסף לכך מצאנו שבשני צמחים אלו, היתה הצטברות של חומר ביניים, ספציפי לאגליקון המרכזי המצטבר בכל אחד (האגליקונים המצטברים שונים בין שני הצמחים) כשריכוז האנטוציאנינים יורד עם התבגרות העלים. תוצאות אלו מרמזות על שלב מאוחר יחסית במסלול סינטזת האנטוציאנינים שתחת בקרה בזמן התפתחות העלים! אנחנו מקווים להמשיך ללמוד על תהליכי הבקרה בעלים המתבגרים על מנת לשלוט בשינויי הצבע, ואולי למנוע אותם בעתיד. לשם כך נגיש הצעת מחקר חדשה שתתמקד בנושא זה.

פרסומים מדעיים

א. פרסומים בנושא המחקר לפני תחילת מימון ההצעה.

1. Oren-Shamir M. and Levi-Nissim A. (1997) Temperature effect on the leaf pigmentation of *Cotinus coggygia* 'Royal Purple'. Journal of Horticultural Science 72 (3), 425-432.

2. Oren-Shamir M. and Levi-Nissim A. (1997) UV-Light effect on the leaf pigmentation of *Cotinus coggygia* 'Royal Purple'. Scientia Horticulturae 71, 59-66.

3. לוי-ניסים עדה, פורר יצחק ואורן-שמיר מיכל (1996) השפעת טמפרטורה על פיגמנטציה בקוטינוס. 'דפי מידע' 3, 53-57.

4. לוי-ניסים עדה, לביא אילת, פורר יצחק ואורן-שמיר מיכל (1997) השפעת אור UV על פיגמנטציה בקוטינוס. 'דפי-מידע' 5, 68-71.

ב. פרסומים בנושא המחקר בתקופת מימון הצעה זו.

5. לוי-ניסים עדה, פורר יצחק ואורן-שמיר מיכל (1998) עיוות עלי פוטיניה כתוצאה משינויי טמפרטורה. 'דפי מידע' 12, 66.

6. Oren-Shamir M., and Nissim-Levi A. (1999). Temperature and gibberellin effects on growth and anthocyanin pigmentation in Photinia leaves. Journal of Horticultural Science, 74, 355-360.

תשובות לשאלות מנחות

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח

מטרת מחקר זה היא לימוד תהליכים הגורמים להופעת הצבע האדום/סגול (פיגמנטים מקבוצת האנטוציאנינים) בענפי הקישוט השונים ובמציאת דרכים להשפיע על מועד הופעת הפיגמנט, משך הופעתו ואיכותו. המחקר יתבצע הן ברמה הפיזיולוגית של בחינת השפעת גורמים חיצוניים על הפיגמנטציה, והן ברמה הביוכימית של אפיון התהליכים הגורמים להצטברות הפיגמנט.

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

א. נבחנה השפעת תנאי גידול שונים על הפיגמנטציה בפוטיניה, קוקופלס, ספארי סנסט וקוטינוס.
ב. נבחנו השפעת טיפולי גייברלין על הפיגמנטציה בפוטיניה. ג. נעזה מעקב אחר השינויים בפיגמנטים ובפרקורסרים של האנטוציאנינים בפוטיניה ובקוקופלס. ד. נבחנה השפעת טיפולים במגנזיום על הפיגמנטציה בקוטינוס ובפוטיניה.

3. המסקנות המדעיות והשלכותיהן להמשך המחקר

שלושת המסקנות העיקריות מעבודתנו הן: א. בצמחי פוטיניה, ניתן להאריך את זמן לבלוב הענפים על ידי טיפולים בגייברלין ועל ידי כך להאריך את התקופה בה ישנם ענפים איכותיים לקטיף. ב. ישנן תוצאות ראשוניות המרמזות לכך שטיפולים במגנזיום מעלות את ריכוז האנטוציאנינים בעלים המלבלבים של צמחי קוטינוס וקוקופלס. ג. ישנה הצטברות של פרקורסר ספציפי לאגליקונים המצטברים בצמחי ופוטיניה וקוקופלס עם התבגרות העלים.

4. הבעיות שנותרו לפתרון

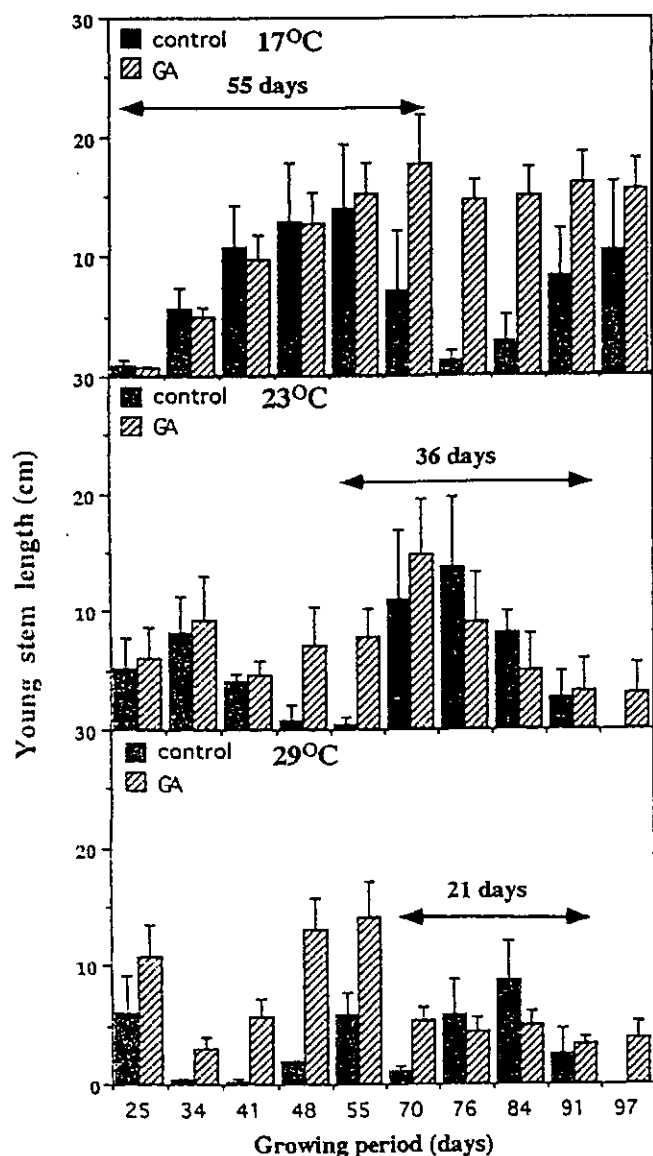
הבעיות שנותרו לפתרון הן: א. בחינה בשטח של השפעת טיפולי הגייברלין על פוטיניה, בעקבות צואותינו המבטיחות. ב. בחינת השפעת טיפולי מגנזיום על פיגמנטציה בענפים שונים. ג. המשך מחקר על בקרת הפסקת סינטזת האנטוציאנינים עם התבגרות העלים.

5. הפצת הידע

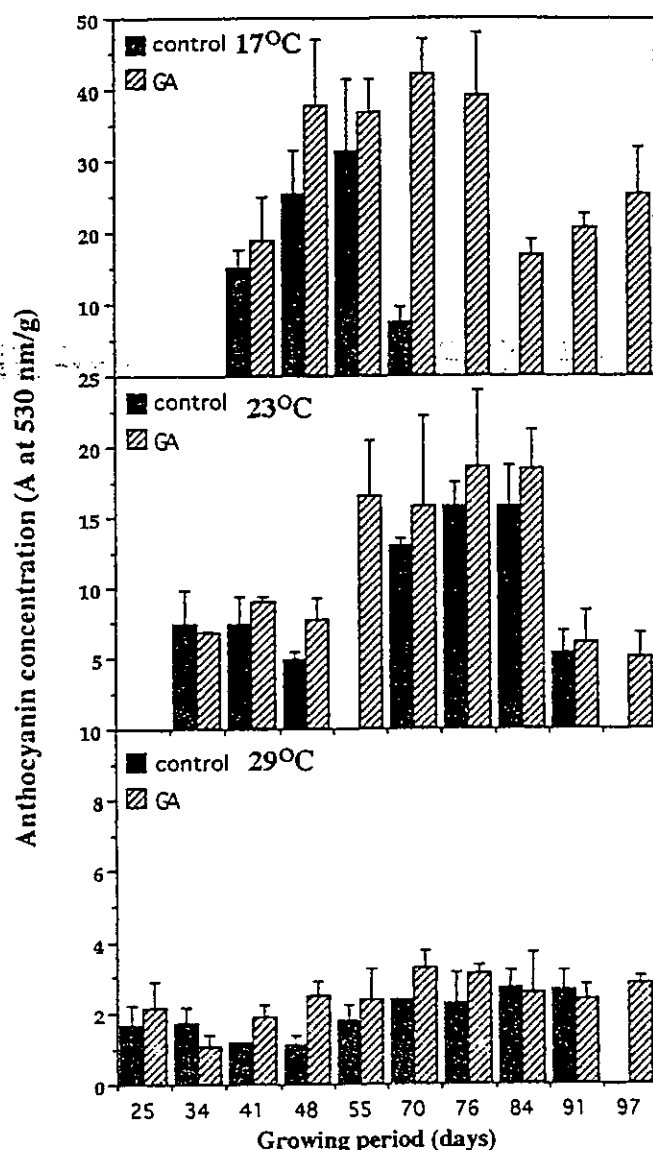
לוי-ניסים עדה, פורר יצחק ואורן-שמיר מיכל (1998) עיוות עלי פוטיניה כתוצאה משינויי טמפרטורה. 'דפי מידע' 12, 66.

Oren-Shamir M., and Nissim-Levi A. (1999). Temperature and gibberellin effects on growth and anthocyanin pigmentation in *Photinia* leaves. Journal of Horticultural Science, 74, 355-360.

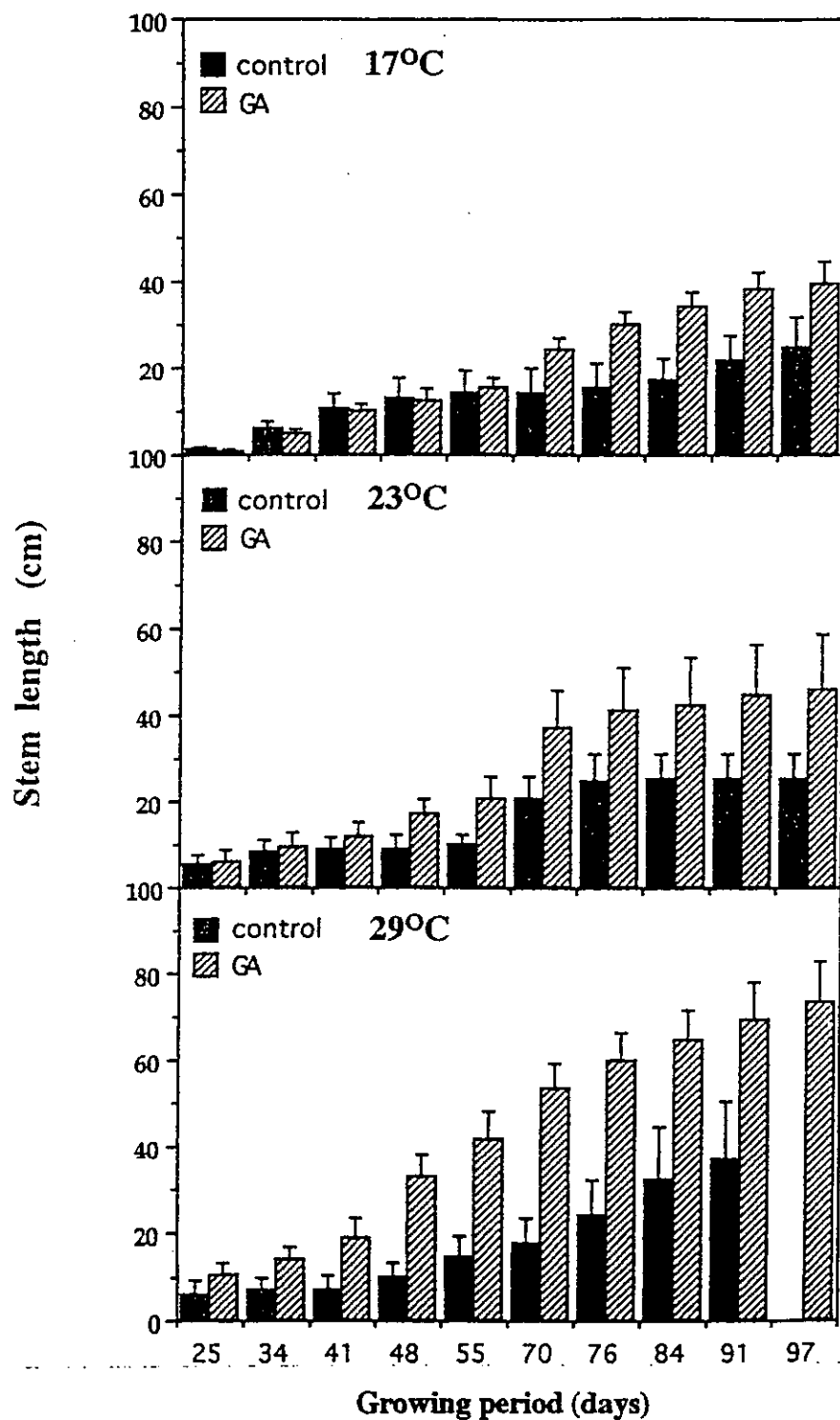
בנוסף לפרסומים אלו הידע הופץ במספר הרצאות בפני מגדלים ומדריכי שה"ם.



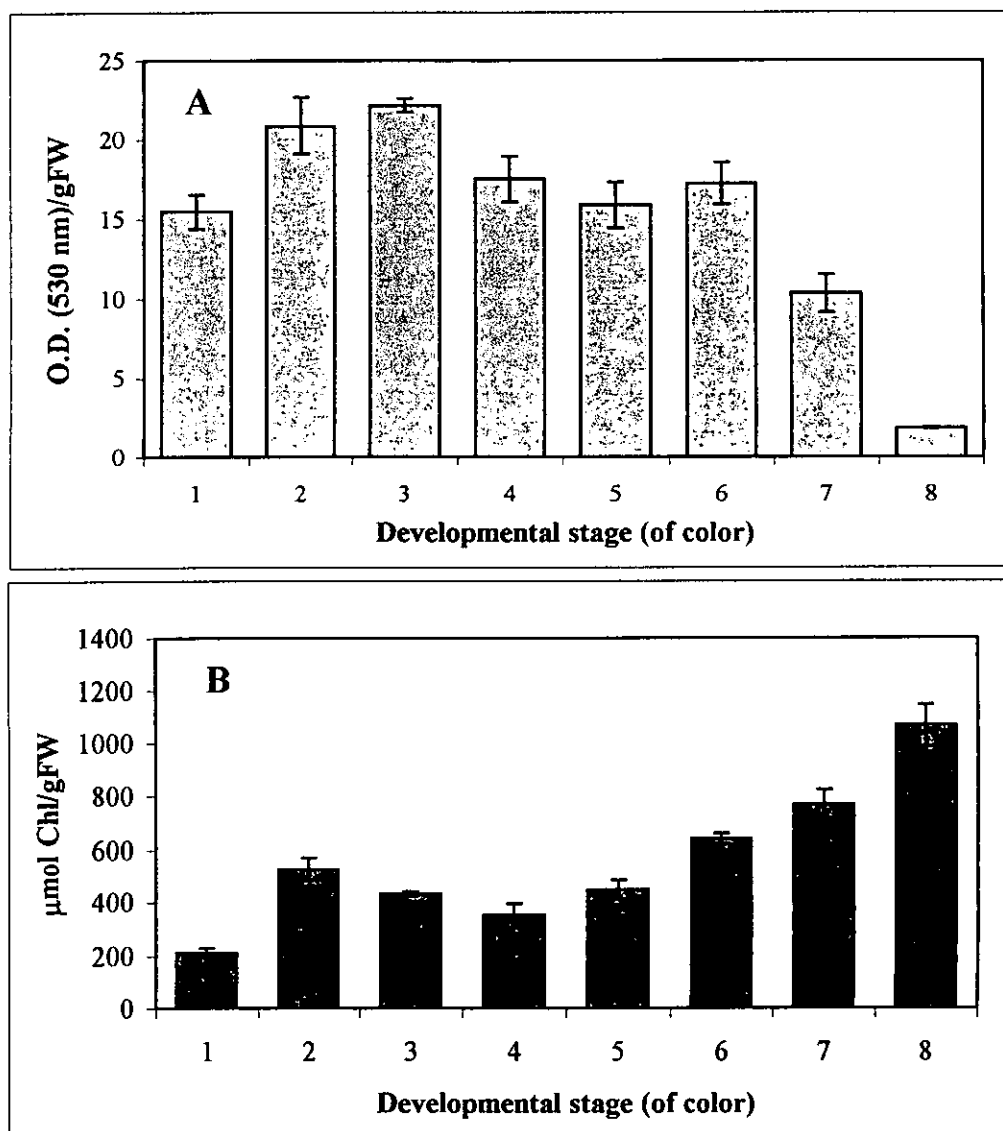
איור 1: השפעת טיפולי גיברלין (GA_3) על אורך הענפים המלבלבים בפוטיניה בשלושה משטרי טמפרטורה שונים. החצים מעל לעמודות מסמנים את אורך תקופת הצימוח של הצמחים שלא טופלו בגיברלין. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 10 חזרות.



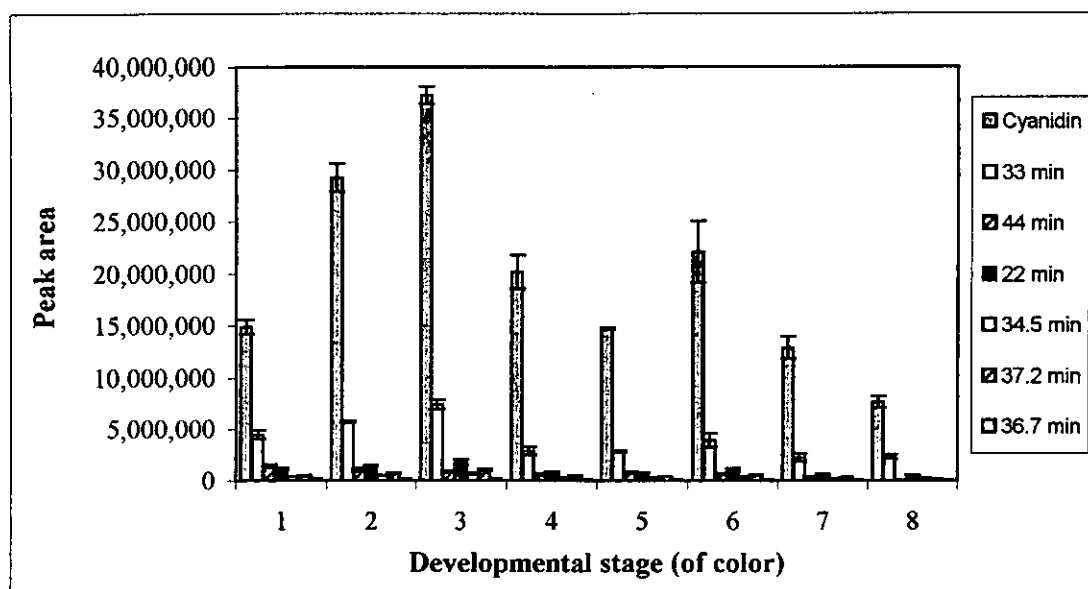
איור 2: השפעת טיפולי גיברלין (GA_3) על ריכוז האנטוציאנינים בעלי הפוטיניה הצעירים ביותר שהגיעו לגודל המרבי, בשלושה משטרי טמפרטורה שונים. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



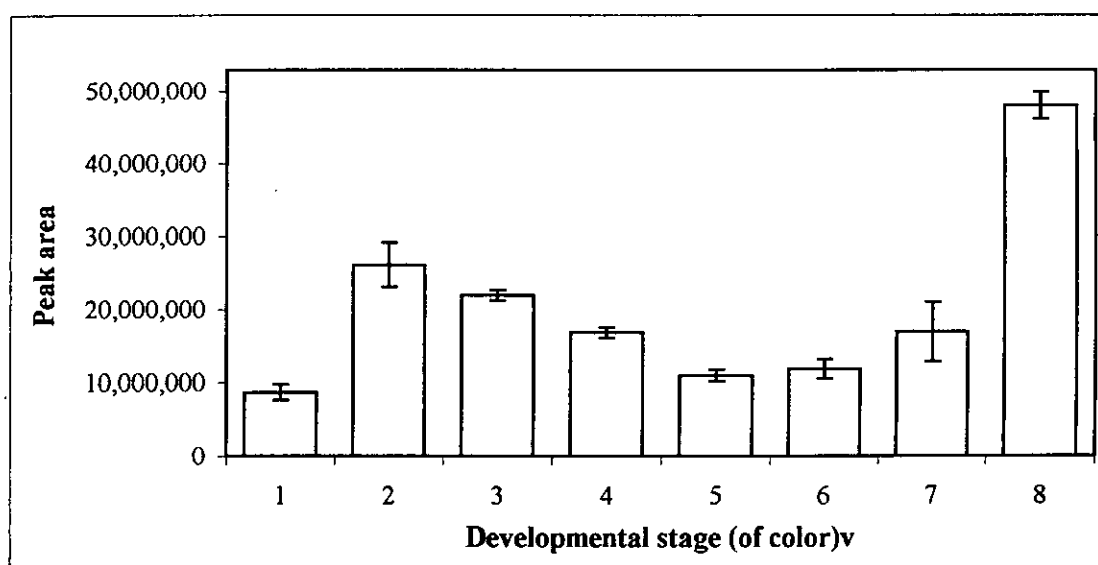
איור 3: השפעת טיפולי גיברלין (GA_3) על התארכות צמחי פוטיניה בשלושה משטרי טמפרטורה שונים. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 10 חזרות.



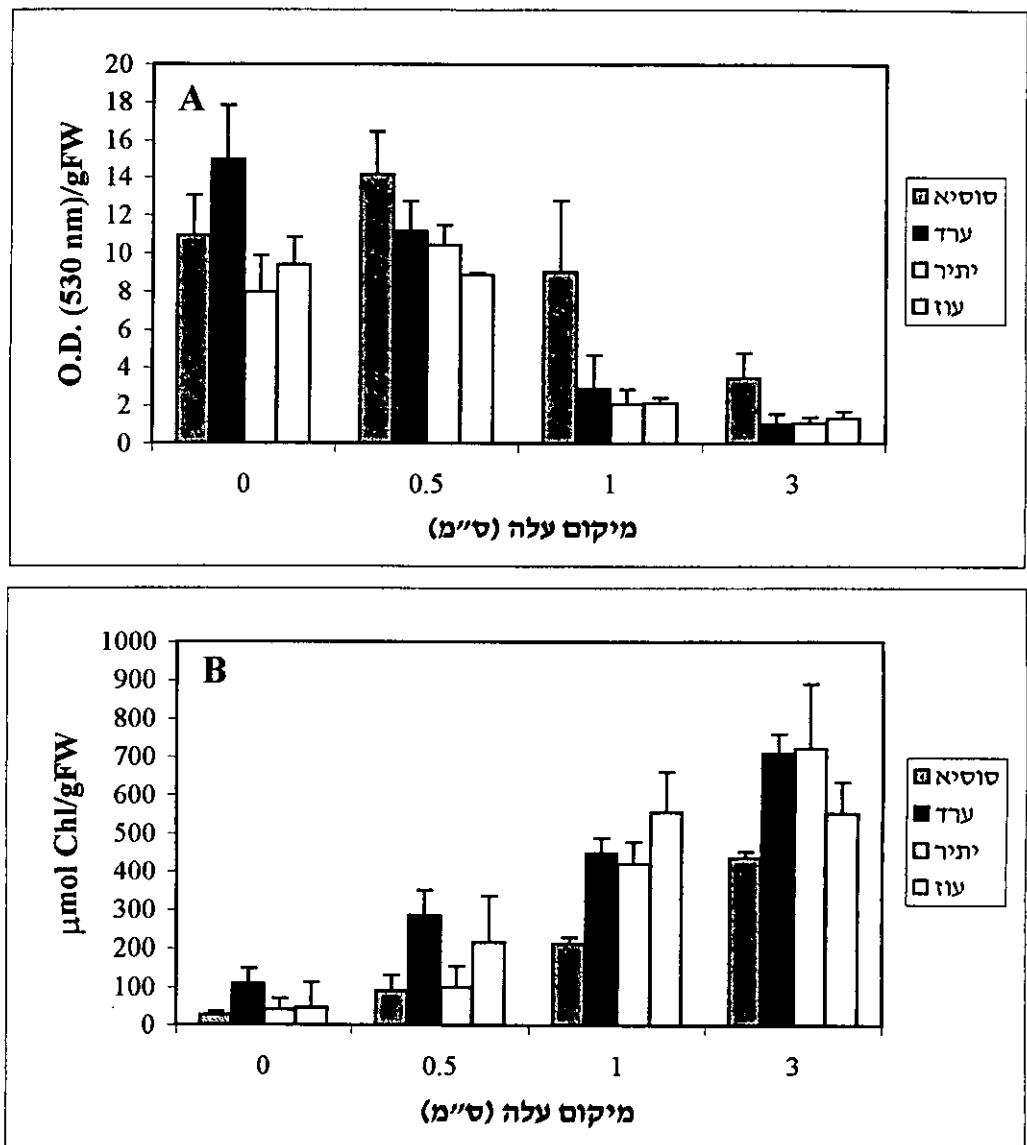
איור 4: ריכוז האנטוציאנינים (A) והכלורופיל (B) בשלבי התפתחות עלי הפוטיניה מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים. שלבי ההתפתחות שהגדרנו למטרה זו הם: 1: עלים אדומים מלבבים, 2: עלים גדולים, רכים בעלי צבע אדום עז, 3: עלים אדומים מענפים בעצירת צימוח, 4: עלים בצבע אדום-ברונזה, 5: עלים בצבע ברונזה, 6: עלים בצבע אדום-ירוק, 7: עלים בצבע ירוק עם מעט אדום, 8: עלים ירוקים. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



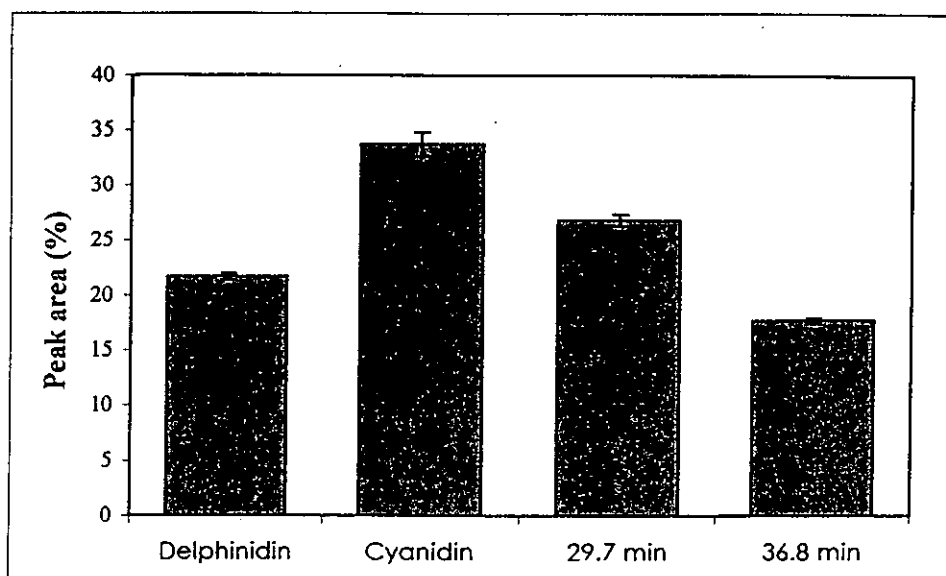
איור 5: ריכוז האגליקונים השונים בעלי פוטיניה בשלבי התפתחות מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים (ראה תאור איור 4 לפרוט השלבים). מרכיבי הצבע השונים הופרדו על קולונת RP-C18 בעזרת מכשיר ה-HPLC. לקבלת האגליקונים בלבד, המיצויים עברו הידרוליזה על ידי הרתחה בחומצת HCl בריכוז של 2N. המרכיבים שעדיין לא זוהו, מצוינים על פי זמן יציאתם מהקולונה. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



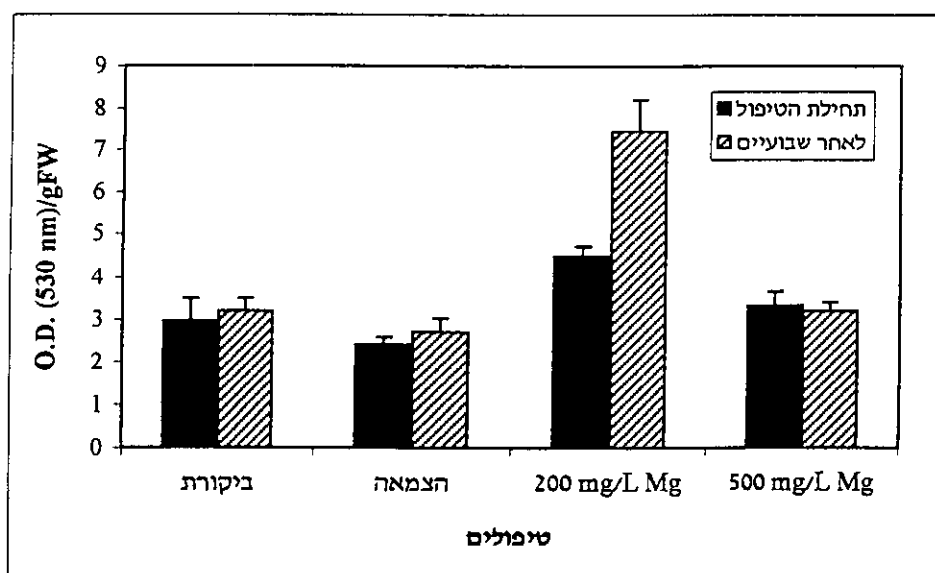
איור 6: ריכוז Quercetin, אחד מתוצרי הביניים במסלול סינתזת ציאנידין בשלבי התפתחות עלי הפוטיניה מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים (ראה תאור איור 4 לפרוט השלבים). הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



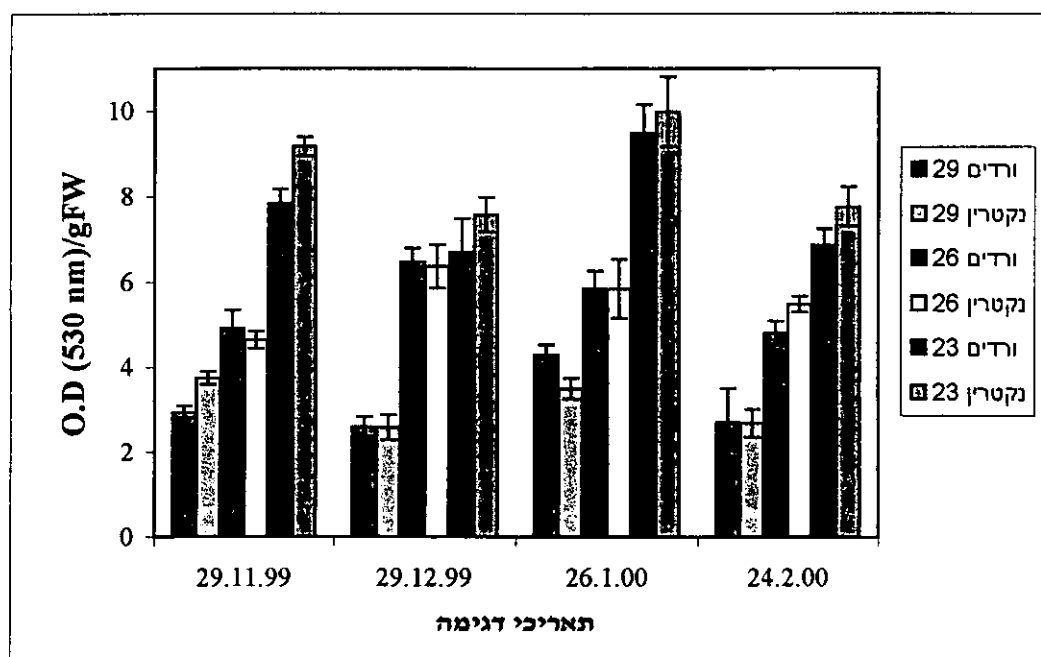
איור 7: השפעת אקלים גידול על פיגמנטציית האנטוציאנינים (A) והכלורופיל (B) בספארי סנסט. צמחי ספארי סנסט גודלו בתנאי אקלים שונה באזור ההר, וריכוז האנטוציאנינים לאורך הענפים נמדד. דגימות עלים נלקחו בעלים בקצות הענף, ובמרחקים של 0.5, 1, ו-3 ס"מ מקצה הענף.



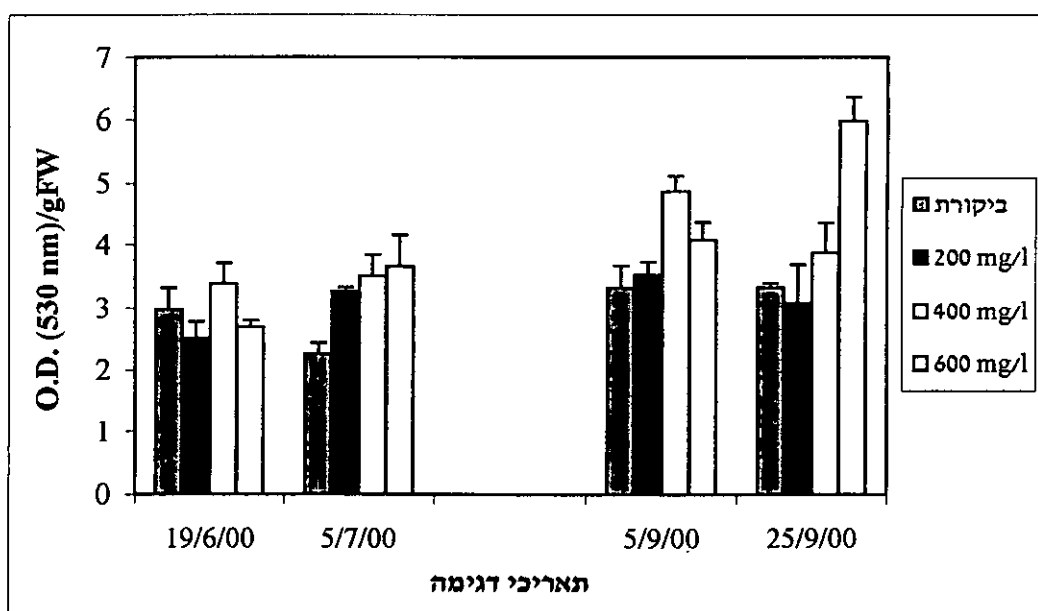
איור 8: אפיון האנטוציאנינים המרכיבים על קוטינוס אדומים. מרכיבי הצבע השונים הופרדו על קולונת RP-C18 בעזרת מכשיר ה-HPLC. לקבלת האגליקונים בלבד, המיצויים עברו הידרוליזה על ידי הרתחה בחומצת HCl בריכוז של 2N. המרכיבים שעדין לא זוהו, מצוינים על פי זמן יציאתם מהקולונה.



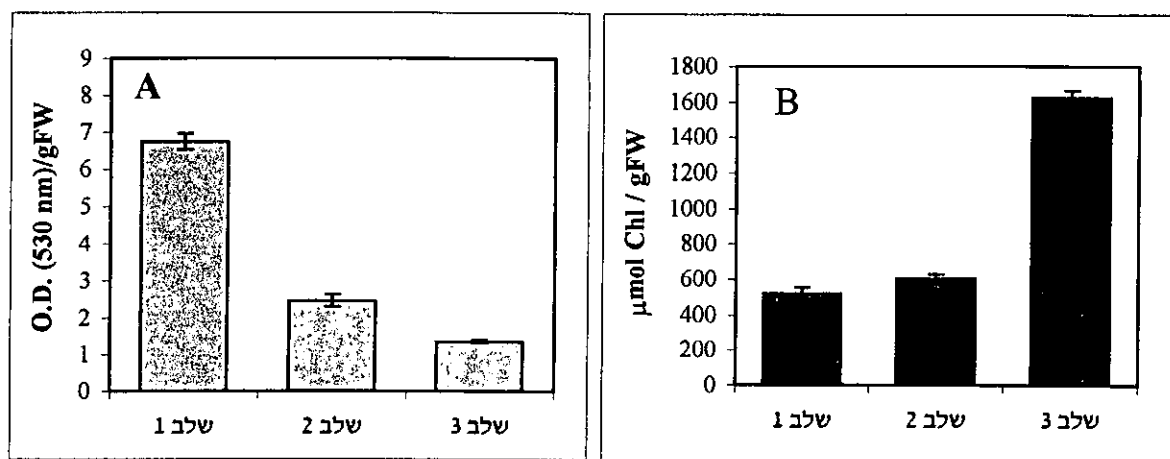
איור 9: השפעת טיפולים במגנזיום ניטרט על הפיגמנטציה בעלי קוטינוס. צמחי קוטינוס בתנאי טמפרטורה של 29°C/21°C עברו את הטיפולים הבאים במטרה לעלות את ריכוז האנטוציאנינים בעליהם: 1. הצמאה לשלושה ימים, 2. שני טיפולי הגמעה בהפרש של שבוע ב- 200mg/L ו- 3. שני טיפולי הגמעה בהפרש של שבוע ב- 500mg/L. הקוים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 7 חזרות.



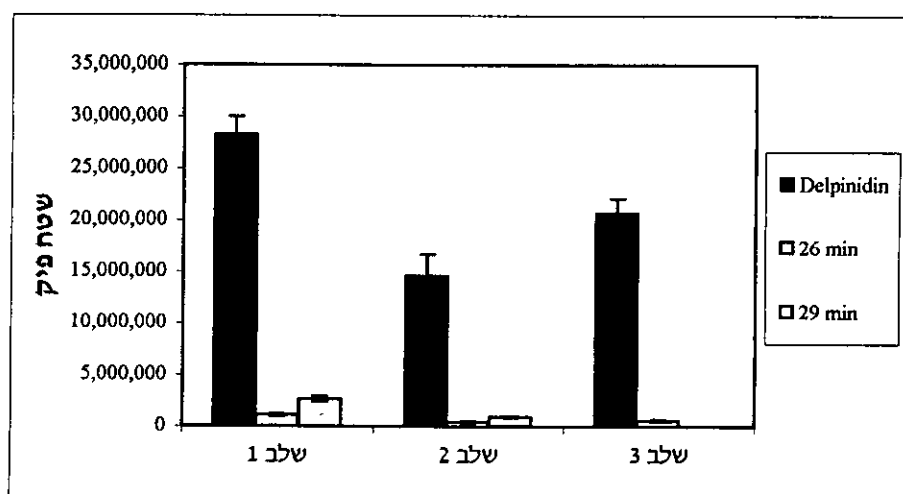
איור 10: השפעת טמפרטורה ואור UV על הפיגמנטציה בעלי קוקופלם. עלים ראשונים בענפי קוקופלם נדגמו מצמחים שגדלו בשלושה משטרי טמפרטורה ($29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$, $26^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$, $23^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$) לילה /יום בהתאמה) ותחת פוליאתילן שקוף לחלוטין (נקטרינות) ושאינו מעביר אור UV (ורדים). הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 5 חזרות.



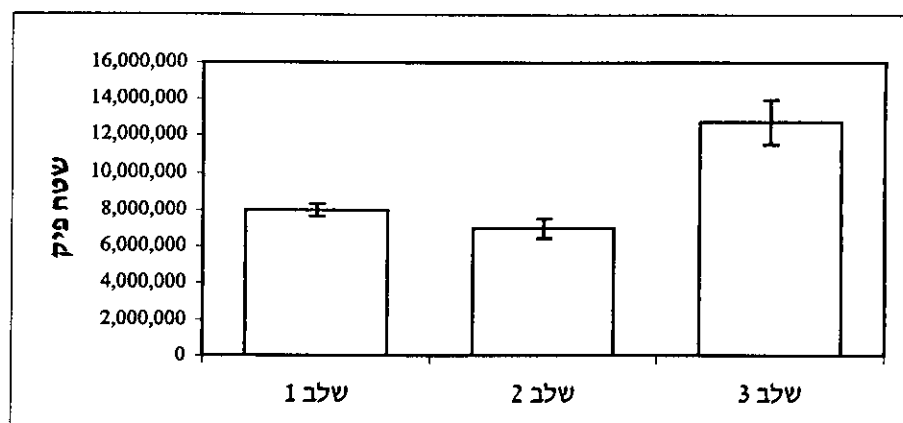
איור 11: השפעת טיפולים במגנזיום ניטרט על הפיגמנטציה של עלי קוקופלם. צמחי קוקופלם בתנאי טמפרטורה של $29^{\circ}\text{C}/21^{\circ}\text{C}$ עברו מספר טיפולי הגמעה בתמיסות של מגנזיום ניטרט. צמחי הביקורת עברו את אותם שלבי הטיפול, במים בלבד. העציצים טופלו פעמיים (ב- 9.6 ו- 5.9) בהפרש של חודשיים, כשכל טיפול היה שלוש הגמעות עוקבות בהפרש של שבוע. דגימות של העלה השני בענף נלקחו בתחילת וסוף כל סדרת הגמעות. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



איור 12: ריכוז האנטוציאנינים (A) והכלורופיל (B) בשלבי התפתחות עלי קוקופלס מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים. שלבי ההתפתחות שהגדרנו למטרה זו הם: 1: עלה ראשון או שני, אדום, 2: עלה שלישי או רביעי בצבע ברונזה, 3: עלה נמוך ביותר בענף, ירוק. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



איור 13: ריכוז האגליקונים השונים בעלי קוקופלס בשלבי התפתחות מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים (ראה תאור איור 12 לפרוט השלבים). מרכיבי הצבע השונים הופרדו על קולונת RP-C18 בעזרת מכשיר ה-HPLC. לקבלת האגליקונים בלבד, המיצויים עברו הידרוליזה על ידי הרתחה בחומצת HCl בריכוז של 2N. המרכיבים שעדיין לא זוהו, מצוינים על פי זמן יציאתם מהקולונה. הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.



איור 14: ריכוז Mirecitin, אחד מתוצרי הביניים במסלול סינתזת דלפינידין בשלבי התפתחות עלי הפוטיניה מעלים צעירים אדומים לעלים בוגרים ירוקים (ראה תאור איור 12 לפרוט השלבים). הקווים האנכיים מייצגים סטיות תקן של 4 חזרות.