

894

2005-2007

תקופת המחקר:

203-0575-07

קוד מחקר:

Subject: IMPROVEMENT OF PEACH FRUIT QUALITY FOR EXPORT

Principal investigator: MOSHE FLAISHMAN

Cooperative investigator: SHIMON ANTEMANN, ZEEV YABLOVITZ, AMOS NAOR, ALON SAMACH

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

שם המחקר: בחינת גישות למניעת פגמים במופע אפרסק ונקטרינה ליצוא

חוקר ראשי: משה פלישמן

חוקרים שותפים: שמעון אנטמן, זאב יבלוביץ, עמוס נאור, אלון סמך

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

תקציר

האקלים החם בישראל מאפשר ליצר פירות גלעיניים מוקדמים ומאוחרים ליצוא באירופה בתקופה שבה ניתן להשיג עבורם פדיון גבוה לפרי איכותי. לחלק ניכר מהפירות בזנים המרכזיים באפרסק ונקטרינה יש בעיה של צורת פרי לא רגולארית - במצב הקיצוני מתוך פרי אחד יוצא פרי או פירות נוספים ומתקבלים תאומים. בניסוי שנעשה בשנת העבודה הראשונה על נקטרינה מהזן סנו קווין, בראש פינה, הראינו בצורה חד משמעית כי עקת מים חריפה לאחר הקטיף, גורמת ליצירת תאומים ברוב הפירות. עוד מצאנו כי יש דחייה בהתפתחות האברים המיניים בפרחים בעקה. במסגרת העבודה שביצענו השנה התקבלו הממצאים הבאים:

- א. טיפולים של עקות השקיה בעיתויים שונים הראו כי ניתן להוריד את כמות התאומים על ידי תוספת השקיה בסוף אוגוסט.
- ב. חשיפה לחום ממושך לתקופה של כחודש גמרה לעליה בכמות התאומים בהשוואה לביקורת. שילוב של עקת חום והצמאה הגביר את כמות התאומים.
- ג. איפיון היסטולוגי של יצירת התאום הראה בדומה לתוצאות שהתקבלו בשנה הראשונה כי בתנאי עקה חלה דחייה בהתמיינות אברי הפרח המיניים של כ-45 ימים בהשוואה לביקורת. כמו כן נראה כי גודל המצעית הפרח בתנאי עקה קטנים בהשוואה לביקורת.
- ד. בודד גן FRUITFULL-LIKE מאפרסק. בריאקציה של PCR כמותי נראה שרמתו נמוכה בהשוואה לביקורת בכל מהלך העקה עד עיתוי יצירת הדורים המיניים. בריאקציה היברידיזציה IN SITU נמצא כי הגן בה לידי ביטוי ללא עקה בעמוד העלי ובתנאי עקה הוא מתבטא במצעית הפרח בלבד. בהמשך בעבודה בכוונתנו לבחון תנאים נוספים ליצירת תאומים באמצעות טמפרטורות גבוהות. לבחון האם הגן שבודדנו יכול לשמש סמן ליצירת עקה והתפתחות תאומים באפרסק בתנאי עקת חום.

דו"ח סופי של תוכנית מחקר מס' 0575-203
מוגש לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות

בחינת גישות למניעת פגמים במופיע אפרסק ונקטרינה לייצוא

Improvement of peach fruit quality for export

צוות המחקר:

משה פליישמן, וואב יבלוביץ

המחלקה לעצי פרי, המכון למדעי הצמח, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן

עמוס נאור

המכון לחקר הגולן, קצרין

אלון סמך

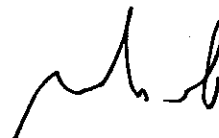
המכון למדעי הצמח והגנטיקה בחקלאות, הפקולטה לחקלאות, א. עברית, רחובות

שמעון אנטמן

ממ"ר גלעיניים, שה"מ, בית-דגן

כתובת אלקטרונית: vhmoshea@agri.gov.il

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



חתימת החוקר הראשי:

יולי 2008

תמוז תשס"ח

1. תקציר

האקלים החם בישראל מאפשר ליצר פירות גלעיניים מוקדמים ומאוחרים ליצוא באירופה בתקופה שבה ניתן להשיג עבורם פדיון גבוה לפרי איכותי. לחלק ניכר מהפירות בזנים המרכזיים באפרסק ונקטרינה יש בעיה של צורת פרי לא רגולארית - במצב הקיצוני מתוך פרי אחד יוצא פרי או פירות נוספים ומתקבלים תאומים. בניסוי שנעשה בשנת העבודה הראשונה על נקטרינה מהזן סנו קווין, בראש פינה, הראינו בצורה חד משמעית כי עקת מים חריפה לאחר הקטיפה, גורמת ליצירת תאומים ברוב הפירות. עוד מצאנו כי יש דחיה בהתפתחות האברים המיניים בפרחים בעקה.

במסגרת העבודה שביצענו השנה התקבלו הממצאים הבאים:

א. טיפולים של עקת השקיה בעיתויים שונים הראו כי ניתן להוריד את כמות התאומים על ידי תוספת השקיה בסוף אוגוסט.

ב. חשיפה לחום ממושך לתקופה של כחודש גמרה לעליה בכמות התאומים בהשוואה לביקורת. שילוב של עקת חום והצמאה הגביר את כמות התאומים.

ג. איפיון היסטולוגי של יצירת התאום הראה בדומה לתוצאות שהתקבלו בשנה הראשונה כי בתנאי עקה חלה דחיה בתמיינות אברי הפרח המיניים של כ-45 ימים בהשוואה לביקורת. כמו כן נראה כי גודל המצעית הפרח בתנאי עקה קטנים בהשוואה לביקורת.

ד. בודד גן FRUITFULL-LIKE מאפרסק. בריאקציה של PCR כמותי נראה שרמתו נמוכה בהשוואה לביקורת בכל מהלך העקה עד עיתוי יצירת הדורים המיניים. בריאקציה היברידיזציה IN SITU נמצא כי הגן בה לידי ביטוי ללא עקה בעמוד העלי ובתנאי עקה הוא מתבטא במצעית הפרח בלבד.

בהמשך בעבודה בכוונתנו לבחון תנאים נוספים ליצירת תאומים באמצעות טמפרטורות גבוהות. לבחון האם הגן שבודדנו יכול לשמש סמן ליצירת עקה והתפתחות תאומים באפרסק. בתנאי עקת חום.

פרסומים מדעיים: הנושא הוצג ביום דיווחים של המדען הראשי במשרד החקלאות ובעבודת מאסטר.

2. מבוא ותאור הבעיה

א. תיאור הבעיה החקלאית - האקלים החם בישראל מאפשר ליצר פירות גלעיניים מוקדמים ומאוחרים ליצוא באירופה בתקופה שבה ניתן להשיג עבורם פדיון גבוה לפרי איכותי. לחלק ניכר מהפירות בזנים המרכזיים באפרסק ונקטרינה יש בעיה של צורת פרי לא רגולארית - במצב הקיצוני מתוך פרי אחד יוצא פרי או פירות נוספים ומתקבלים תאומים ובמצבים פחות קיצוניים שני חצאי הפרי מחוברים ביניהם בחריץ עמוק הנובע משייר של תאום שהתנוון ומתקבלת אסימטריה בדרגות שונות בין שני חלקי הפרי. חריצים אלו, מלבד הפגם הצורני, מהווים אתר להתפתחות פתוגנים וגורמים לירידה בכושר האחסון של הפרי. פירות אלו, בעלי הפגמים הצורניים, פודים מחירים נמוכים יותר ובמצבי תחרות, מול פירות איכותיים ממקורות אחרים, הם נפסלים ליצוא. בניסויים הקדמיים אותם ערכנו בנקטרינה מהזן סנו קווין, ביפתת, הראינו בצורה חד משמעית כי עקת מים חריפה לאחר הקטיפה, גורמת לדפורמציות ברוב הפירות.

גנים המעורבים ביצירת אברי פרח תקינים - מחקרים מעמיקים בצמח המודל החד שנתי תודרגית לבנה (*Arabidopsis thaliana*) אפיינו את הגנים המעורבים ביצירת אברי הפרח (מודל ה-ABC). מחקרים רבים

בצמחים שונים הוכיחו כי גנים דומים (בעלי רצפי חלבון כמעט זהים) מתפקדים בצורה דומה במיני צמחים שונים. הידע שנצבר בתחום בקרת הגנים השונים על אינדוקציה והתמיינות הפרח יוכל לשמש אותנו בכדי למצוא סמנים לזיהוי מצבי עקה. עד היום לא הראו כיצד עקות מים וחום משפיעות על ביטוי של גנים לבקרת פריחה.

3. תוצאות

א. בחינת השפעת עקת מים על קבלת תאומים

תאור הניסוי: הניסוי בוצע בראש פינה על עצים בוגרים בני שבע מהזן Snow Queen בניסוי זה נעשו מספר

טיפול הצמאה לעומת ביקורת מושקת. תמונה מס' 1 מראה את המהלך הצמאה במטע בטיפולים השונים:

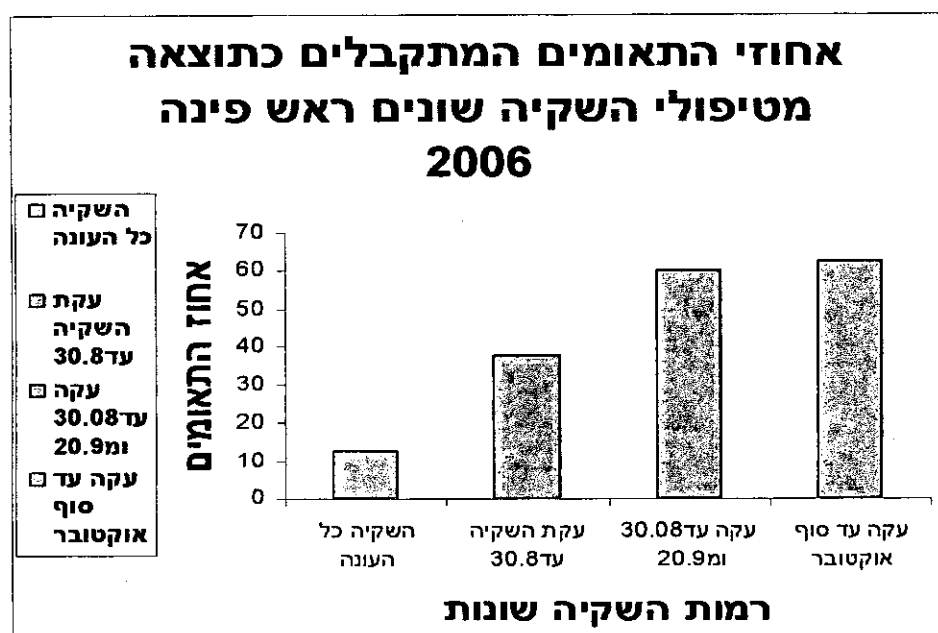
א. ההצמאה החלה מאמצע יוני ונמשכה באורך כל הקיץ עד אוקטובר.

ב. ההצמאה החלה מאמצע יוני ונמשכה באורך כל הקיץ עד אוקטובר למעט הפסקה בהצמאה של כ-20 ימים

במהלך התמיינות דורי הפרח המיניים בסוף אוגוסט.

ג. ההצמאה החלה מאמצע יוני ונמשכה עד סוף אוגוסט.

ד. ביקורת ללא הצמאה.



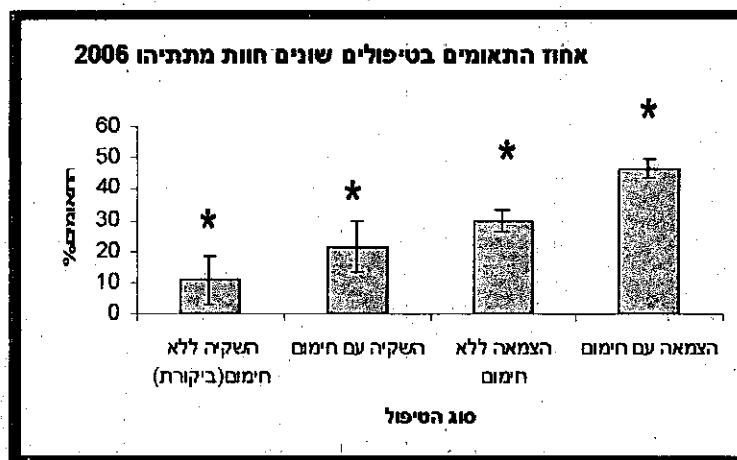
תמונה מס' 1: מדגם פקעים ניסוי ראש פינה 2006 אחוזי התאומים מכלל מדגם הפקעים בכל אחד מהטיפולים: 1. השקיה בכל העונה 12.5% תאומים, (צהוב); 2. עקת השקיה עד 30.8 (אדום); 3. עקה עד 30.8 ואז מ-20.9 עד סוף העונה 60% תאומים (כתום); 4. עקה עד סוף אוקטובר 62% תאומים (סגול). נראה התוצאות של אחוזי התאומים במצב השקיה לעומת מצב הצמאה. $P > 0.05$.

בניסוי ראש פינה רצינו לבדוק את חלון הזמן הקריטי שמביא ליצירת התאומים על ידי יצירת עקות בזמנים השונים. במהלך דצמבר נדגמו בניסוי 120 פקעים בכל אחד מארבעת טיפולי ההשקיה השונים. נמצא כי אחוז התאומים בטיפול הביקורת המושקת הינו 12.5%. לעומת זאת בטיפול העקה הממושכת עד אוקטובר התקבלו 62% תאומים. כאשר עקת ההשקיה הסתיימה בסוף אוגוסט התקבלה ירידה במספר התאומים ונספרו רק 38% תאומים. בטיפול שבו הושרתה עקת השקיה עד 30.8 ומ-20.9 עד סוף אוקטובר התקבלו כ-60%

תאומים, בדומה לעקת השקיה הרציפה. פרט לשני טיפולי העקה הממושכת שאינם נבדלים ביניהם נמצא הבדל מובהק בין הטיפולים לביקורת. כמו כן, נמצא הבדל מובהק בהמת יצירת התאומים בין העקה הארוכה לעקה הקצרה, קיצור עקת ההשקיה גרם להורדה מובהקת ברמת התאומים (תמונה מס' 1).

ב. בחינת השפעת טמפרטורה ועקת מים על קבלת תאומים בנקטרינה מזן Queen Giant בחוות מתיתיהו

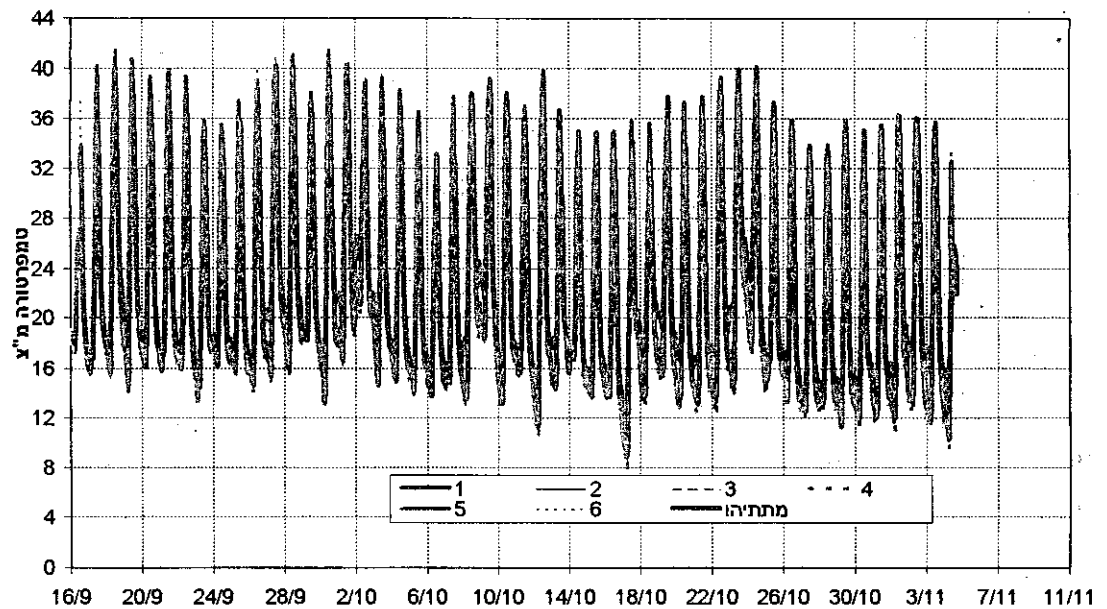
מכיוון שלא ראינו השפעה של עקת החום על אחוז התאומים בשנת הניסוי הראשונה החלטנו לבצע בשנה השנייה ניסוי נוסף שיבחן את השפעת עקת החום על הנקטרינה מזן "Queen Giant". יצרנו גם הפעם 3 חלקות ביקורת השקיה 31 חלקות עם עקת השקיה. בכל חלקת השקיה ו חלקת ביקורת היו זוג עצים שעברו טיפול של עקת חום. גם בשנה זו, עקת החום השריה בשיטת חממיות כמו בשנה הראשונה אלה, והושמו עד ה- 20 לאוגוסט לתקופה של 3 חודשים. הטמפ' בחממיות הגיעה ל-40°C ובחוף הייתה כ-30°C. לאחר בדיקת מדגם של 120 פקעים מכל טיפול נמצא כי האחוז התאומים בטיפול הביקורת לשני העקות היו 10.8% תאומים בטיפול עקת החום אחוז התאומים היה 21.6%, מעקת ההשקיה 30% ומעקת חום והשקיה האחוז של התאומים מכלל העץ היה 48% (תמונה מס' 2).



תמונה מס' 2: אחוזי התאומים מכלל פירות העץ בניסוי מתיתיהו 2006 האחוז התאומים בטיפול הביקורת לשני העקות היו 10.8% תאומים בטיפול עקת החום אחוז התאומים היה 21.6%, מעקת ההשקיה 30% ומעקת חום והשקיה האחוז של התאומים מכלל העץ היה 48%.

בחינת הקשר שבין אחוז התאומים ועקת החום נעשתה גם בשנת העבודה השלישית של הניסוי. בשנה זו נבחנה השפעת עקת החום בחממיות כפי שנעשתה בשנתיים הקודמים. הפעם שהו העצים בחממיות במשך חודש ימים. בכל פעם כוסו 6 עצים למשך חודש בהשוואה לביקורת. תמונה מס' 3 מראה את הבדלי הטמפרטורה שבין הביקורת הלא מכוסה לעצים ששהו בחממיות.

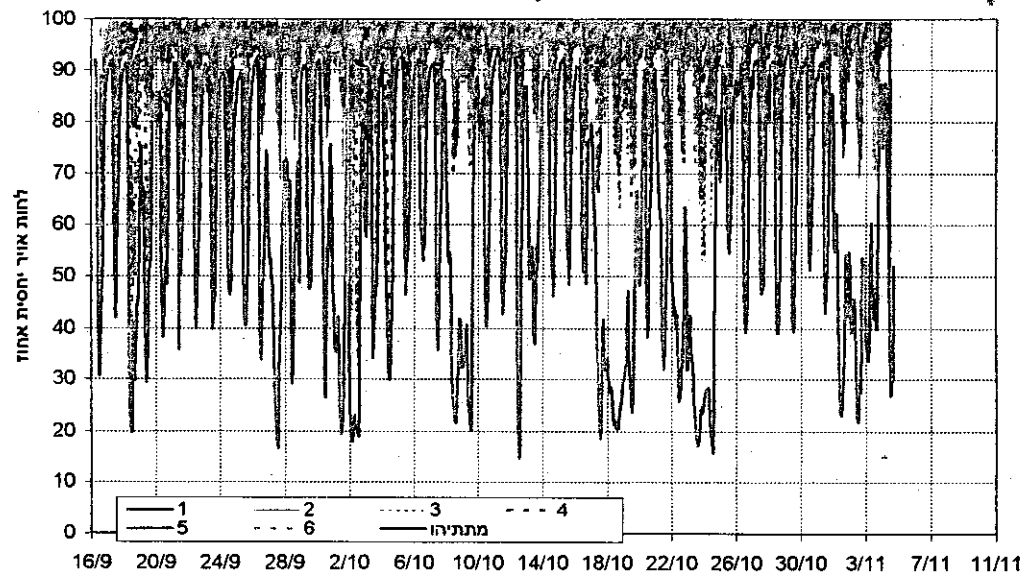
טמפרטורת אויר בחממות מתתיהו 2007



תמונה מס' 3. טמפרטורות האוויר בחממיות 1-6 בעת הכיסוי של עצי אפרסק בחוות מתתיהו בהשוואה לביקורת לא מכוסה (צבע כחול).

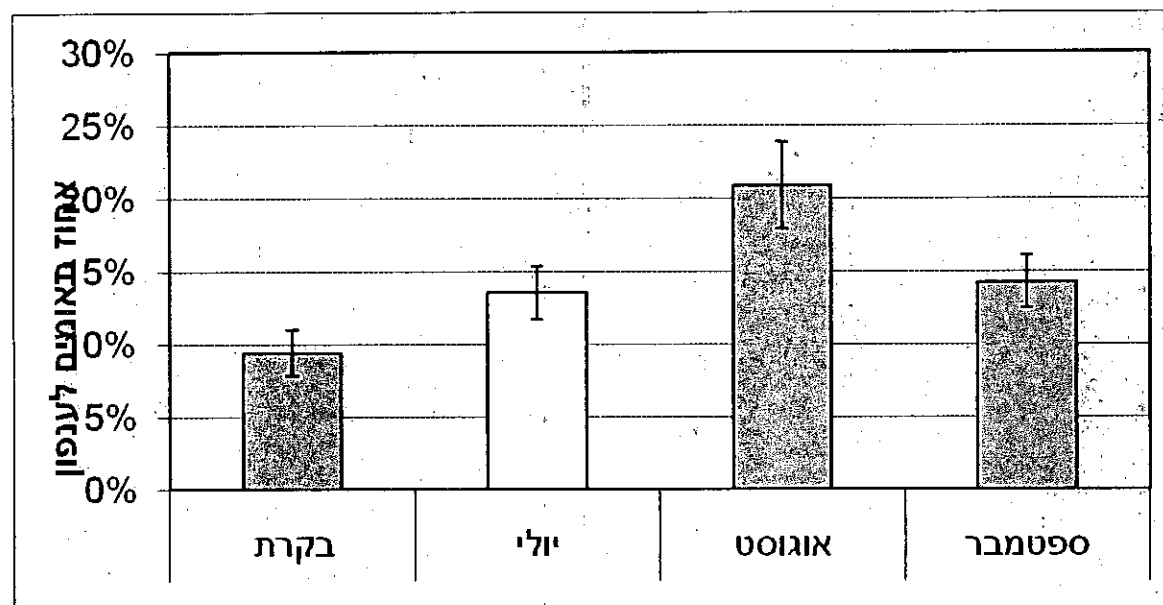
בעוד שטמפרטורות הסביבה היו בטווח שבין 25-32 מ"צ הטמפרטורות בחממיות היו גבוהות בכ-6 מ"צ ובדרך כלל לא עברו את גבול העליון של 40 מ"צ. במקביל גם נבחן אחוז הלחות בחממיות ותמונה מס' 4 מראה את אחוז הלחות בחממיות בהשוואה ללחות החיצונית.

לחות אויר יחסית בחממות נקטרינה בחוות מתתיהו 2007



תמונה מס' 4. לחות האוויר בחממיות 1-6 בעת הכיסוי של עצי אפרסק בחוות מתתיהו בהשוואה לביקורת לא מכוסה (צבע כחול).

נראה כי השימוש בחממיות הגביר גם את אחוז הלחות בהשוואה ללחות האוויר ללא חממיות. תמונה מס' 5 מסכמת את אחוז התאומים שהתקבלו בהשפעת החשיפה לטמפרטורות הגבוהות בכל אחד מחודשי הכיסוי.



תמונה מס' 5. אחוז התאומים שהתקבלו כתוצאה מיצירת עקת חום על עצי אפרסק בחוות מתתיהו במשך חודש ימים. הצבעים השונים מציינים את עיתוי הכיסוי של העצים (יולי, אוגוסט וספטמבר) בהשוואה ליצירת תאומים בביקורת ללא עקת חום מלאכותית.

נראה כי להשריית עקת החום במהלך חודש אוגוסט הייתה השפעה מכרעת על קבלת תאומים בהשוואה לחודשים יולי וספטמבר. בחינה היסטולוגית של פקעי פריחה במהלך החודשים הללו מראה כי בדומה לעקת של מחסור במים השלב שבו חלה התמיינות ליצירת אברי פרח המיניים העמוד העלי והאבקנים הוא השלב הרגיש ביותר לעקת חום. כדי לאפשר התפתחות תקינה של אברי הפרח המיניים הללו יש לפתח שיטות הגנה שיורידו את רמת העקה בתקופה זו. כיוון שיש השפעה סינרגיסטית של שתי העקת עקת השקיה ועקת חום על התפתחות הדורים המיניים בפרח נראה כי השקיה מוגברת בעיתוי של חום תהיה מסוגלת להפחית את העקה ולמנוע יצירת תאומים. יתכן כי גם בדרכים אחרות כמו גידול תחת רשתות שיגרמו לשינוי הסביבה האקלימית ניתן יהיה להוריד את רמת התאומים בעץ.

ג. בחינת הקשר שבין עקת ומיפוע התאומים בנקטרינה

ניסוי השריית עקת מים בעצים מִזן Snow Queen בוגרים במטע ראש פינה 2006.

בניסוי היו כאמור ארבעה טיפולים (ראו סעיף א') ביקורת ו-3 רמות של עקת השקיה. משני טיפולי הקיצוניים ביקורת ועקה נדגמו פקעים לאורך העונה ונעשו חיתוכים היסטולוגיים. נמצא כי דגם ההתפתחות של פקע פריחה בנקטרינה מִזן Snow Queen בטיפול ביקורת שונה מדגם ההתפתחות של אותו זן בעת עקת השקיה. החיתוכים

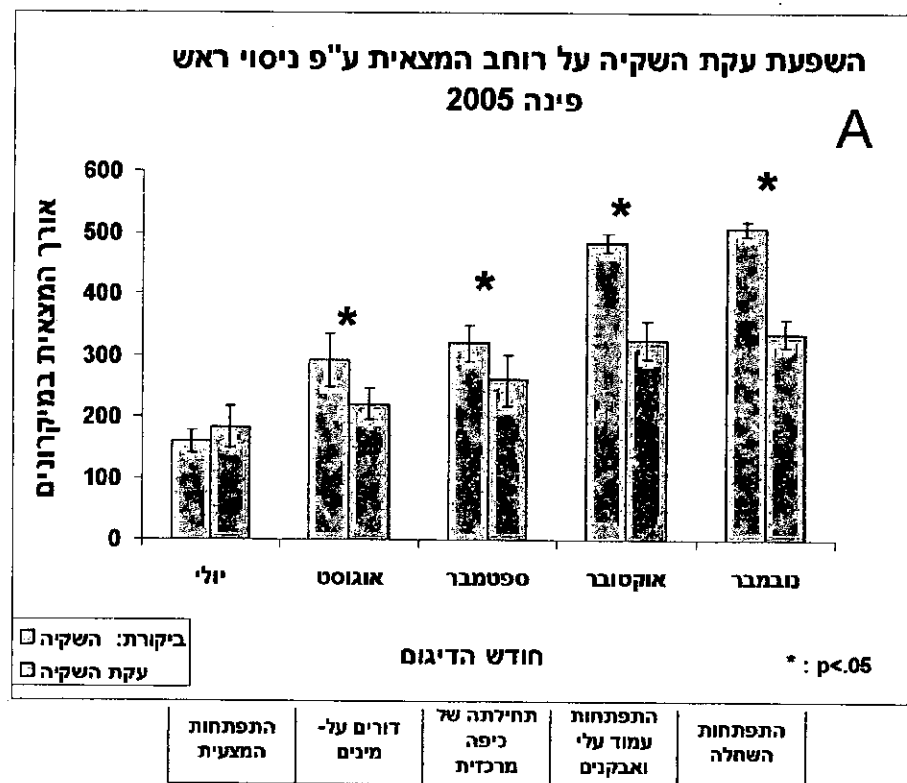
ההיסטולוגים מראים דגם התפתחות נורמאלית בטיפול הביקורת ללא עקת השקיה. לעומת זאת נראית דחייה בהתפתחות ויצירת שני עמודי עלי בטיפול עקת ההשקיה בדומה לתוצאות שהתקבלו בשנה הראשונה.

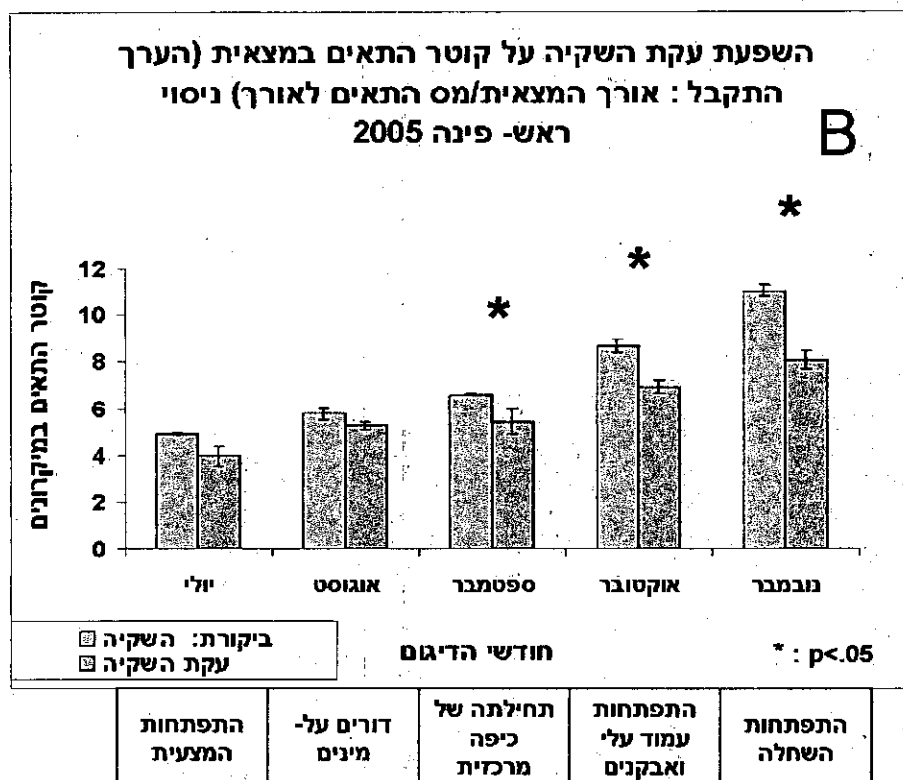
השפעת רמות ההשקיה על גודל המצעית, מספר התאים וקוטר התא בפקעי הפריחה

בהשוואה מורפולוגית בין טיפול העקה והביקורת בטיפול העקה, הפקעים בעקה נראו קטנים משמעותית מהביקורת לכן נבדקו מספר מדדי גודל באמצעות השוואת החתכים ההיסטולוגים של טיפולי ההשקיה השונים (חמישה חתכים מכל דיגום). נבדק אורך שורת התאים החיצונית של המצעית במיקרונים. בתחילת הניסוי נמצא, כי רוחב המצעית בטיפול הביקורת מתחיל מגודל זהה לזה של טיפול העקה. בהמשך, בחודש יולי העץ בטיפול העקה השקיה נכנס לעקה במחצית החודש ונראה הבדל מובהק ברוחב המצעית בין טיפול עקה לביקורת. במשך התפתחות הפקעים רוחב המצעית של הביקורת גדל משמעותית בהשוואה לטיפול עקת ההשקיה (תמונה מס' A-6). נמצא כי רוחב המצעית של הטיפול המושקה היה רחב באופן מובהק מהמצעית בטיפול השרוי בעקה במירב חודשי הדגימה.

יצירת מצעית רחבה יותר יכולה להיות כתוצאה מריבוי במספר תאים או הגדלת נפח התאים במצעית כדי להבין מה הגורם לגידול ברוחב המצעית בפקעי הביקורת מושקית בהשוואה לפקעים שהיו בעקת השקיה, נספרו מספר התאים ברוחב המצעית. וערך קוטר התאים הושג על ידי חלוקת אורך המצעית במספר התאים באותו אורך. נמצא כי א. קוטר כל תא במצעית בשני הטיפולים נראית מגמת עליה ב. בטיפול המושקה, טיפול הביקורת, נראה שקוטר התאים החל מספטמבר אורך באופן מובהק מקוטר התאים במצעית הפקע השרוי בעקה. (תמונה מס' B-6).

תמונה A-6





תמונה 6: השפעת תנאי השקיה/ עקה בתאריכי הדיגום שונים על: A רוחב מצעית, B על גודל התאים. ציר ה-X מיצג תאריכי דיגום כאשר עמודה ימנית מיצגת טיפול ביקורת והשמאלית הצמאה. כוכבית מציינת מובהקות של $p < 0.05$.

ד. ביטוי גנים מבקרי פריחה בהשפעת עקת הצמאה.

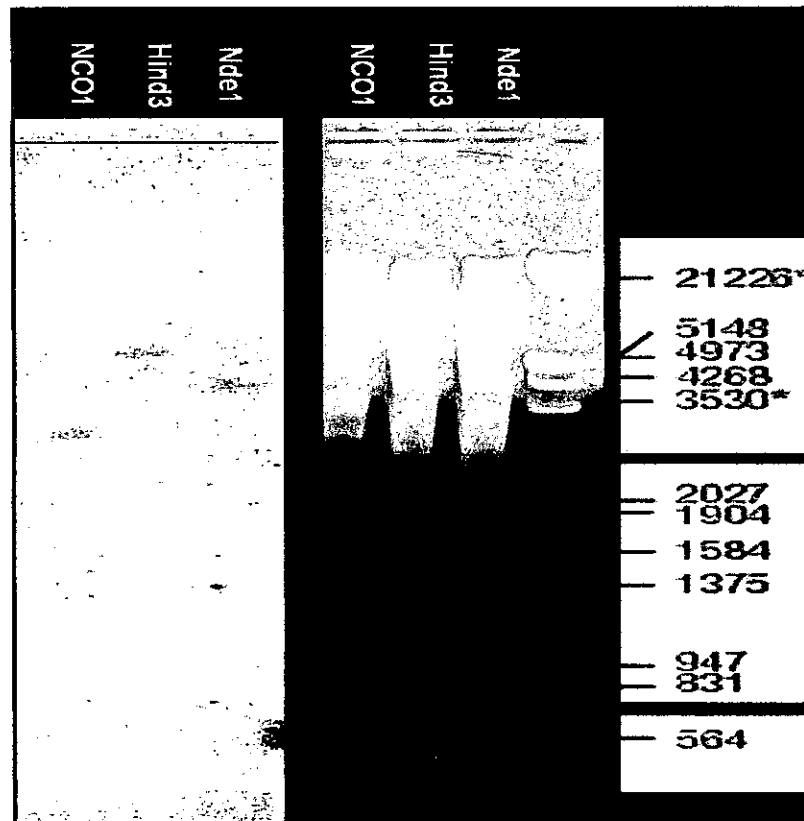
ד.1 השפעת עקת ההשקיה על ביטוי גנים מבקרי פריחה

את אותם גנים האחראים על בקרת ההתמיינות איבר הפרח נבדקו באמצעות RT-PCR במצב של עקה לעומת ביקורת. העקה שנבחנה הייתה עקת המים (ניסוי בראש פינה – סעיף 2) זאת משום שבעקת המים נמצאו שינויים גדולים במבנה התפתחות הפרח לעומת תנאי הביקורת. תבנית הביטוי של הגנים במסלול הפריחה הושו לזו של הגן אקטין. ביטוי האקטין אינו תלוי בשלב התפתחותי ובתנאי סביבה. נמצא כי ביטוי הגנים *AG-like*, *PI-like*, *API-like* אינו משתנה בתנאי עקה, לעומת זאת הגן *FUL-like* הראה רמת ביטוי נמוכה במיוחד בתנאי העקה מאוגוסט ועד סוף ספטמבר. רק כאשר מתחילים הדורים המיניים להתמייין בתנאי עקה באוקטובר נראה ביטוי הגן *FUL-like* ב- RT-PCR.

ד.1 אנליזת Southern לדנ"א מפקע של נקטרינה Snow Queen

על מנת לבדוק את עצם המצאותו של הגן *FUL-like* בגנום הנקטרינה נעשתה אנליזת Southern לדנ"א גנומי שהופק מנקטרינה Snow Queen. הדנ"א הגנומי, נחתך באנזימי חיתוך שונים: *NcoI*, *NdeI*, *HindIII*. דוגמאת הדנ"א החתוכה הורצה במקביל בג'ל אגרוז. לאחר העברת הדנ"א לממברנת ניטרצולולון,

הוכלאו עם גלאי רדיואקטיבי שהוכן משבט cDNA של הקצה ה-C טרמינאלי של הגן *FUL-like*. לאחר חשיפה ופיתוח במכשיר Phosphoimager, התקבלה תמונת דגם פסים. בדוגמא מנקטרינה נמצא שהגן מתבטא פעם אחת בגנום. (תמונה מס' 7). אורך המקטע שנלקח מהגן היה 180bp והוא נלקח מהקצה ה-C-טרמינאלי הווריאבילי של הגן.

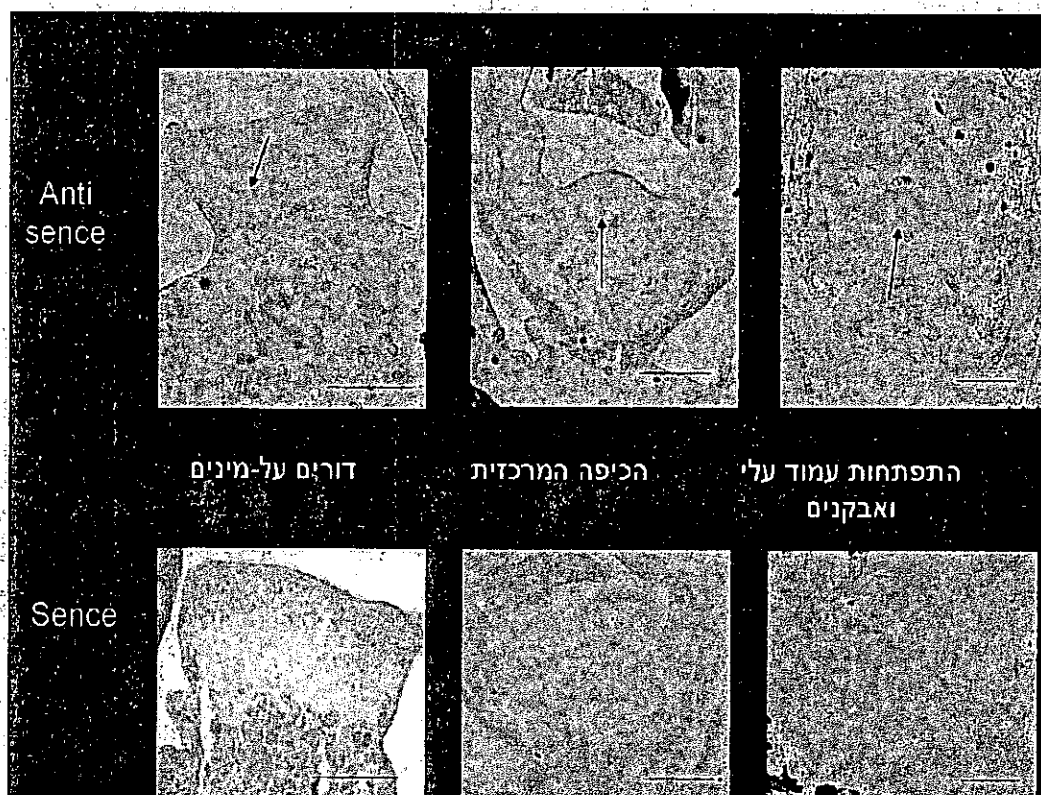


תמונה מס' 7: אנליזת Southern לדנ"א של נקטרינה מזן Snow Queen, חתוך באנזימים שונים.

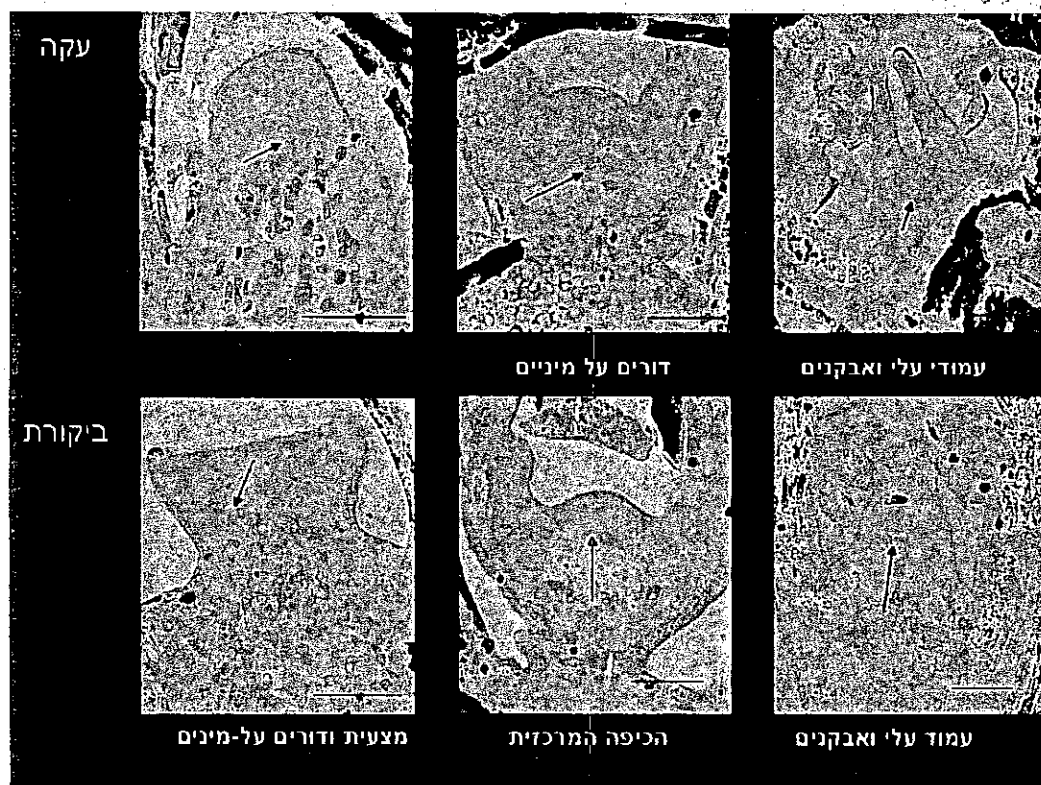
2.4 ניסוי *in-situ hybridization* של הגן *FUL-like AY705973* בתקופות התפתחות שונות

הגן *FUL-like* הראה תבנית ביטוי שונה במצב עקה ובמצב הביקורת. הוחלט לבדוק בבדיקת *in-situ* את ביטוי הגלאי הפלורסנטי שיצרנו מהקצה ה-C טרמינאלי (הקצה הייחודי לגן) במספר דגימות היסטולוגיות. הניסוי נעשה במצבי התמיינות שונים של הפרח בתנאי עקה ובתנאי ביקורת (גם כאן הדגימות נלקחו מהניסוי בראש פינה 2005 בו נבדקה השפעת עקת מים על התפתחות התאום). הגן *FUL-like* מתבטא בנקטרינה בשלבים מוקדמים בהתמיינות הפרח כמו גם שלבים מאוחרים שלו. בשלב של יצירת הדורים העל מייניים המתרחשים בביקורת באוגוסט ובטיפול עקת ההשקיה בספטמבר, בשלב יצירת הכיפה המרכזית שמתרחש בספטמבר בביקורת ובאוקטובר בעקה. וכמו כן נבדק הגלאי גם בפקעי נובמבר בהם טיפול הביקורת מציג עמוד עלי ברור ואילו עקת ההשקיה מציג התהוות שני עמודי עלי שמהם יוצרו התאומים.

בטיפול הביקורת נמצא כי בשלב יצירת הדורים העל מיניים מתבטא הגן במרכז המצעית כ- 15 תאים מהקצה העליון. דגם הביטוי הזה נשמר ומתחזק גם כאשר נוצרת הכיפה המרכזית. בנובמבר נראה ביטוי הגן בעמוד העלי ובאבקנים. (תמונה מס' 8, מצב anti-sense מייצג הצמדות של הגלאי לרקמה ולכן צביעה לעומת ה-sense ובו הגלאי לא נצמד ולכן לא נצבע). במקביל, נבדקו באותם חודשים גם חיתוכים היסטולוגיים של טיפול עקת ההשקיה. לפני שמתפתחים הדורים העל-מיניים בטיפול העקה ישנה צביעה עדינה של הגלאי באזור בו תתפתח המצעית. בשלב יצירת הדורים העל מיניים בעקת ההשקיה (ספטמבר) נראית צביעה במרכז המצעית כ- 15 תאים מהקצה העליון כמו בטיפול הביקורת. בנובמבר כאשר נראה בטיפול העקה סימן להתחלת התאום ישנו ביטוי עדין באותה מצעית כאשר בביקורת נראית כבר צביעה. בעמוד העלי באותו זמן (תמונה מס' 9).



תמונה מס' 8: בדיקת in-situ של גלאי פלורסנטי של הגן *FUL-like* (AY705973) שורה עליונה מייצגת את טיפול ה-antisense ושורה שניה את ה-sence. בפקעים מזן "סנו קוין" מטיפול הביקורת בשלבי התפתחות שונים משמאל לימין: 1. יצירת דורים על-מיניים, 2. יצירת הכיפה המרכזית, 3. התפתחות עמוד עלי ואבקנים. חץ מראה את סימון הגלאי הפלורסנטי. בר=100 μm



תמונה מס' 9: בדיקת in-situ של גלאי פלורסנטי של הגן *FUL-like* (AY705973) במצב של antisense בתנאי הביקורת השקיה (שורה תחתונה) ותנאים של עקת השקיה (שורה עליונה) בשלבי התפתחות שונים כל סור מייצג חודש זהה בו שלבי ההתפתחות הם שונים בין שני הטיפולים. משמאל לימין: סור א'- בביקורת יש התפתחות של מצעית ודורים על מינים ובטיפול העקה אין סימן לכך; סור ב'- בביקורת התפתחות הכיפה המרכזית ועקה יש יצירת דורים על מינים והתהוות התחלתית של הכיפה; סור ג'- בביקורת מתפתח עמוד עלי ברור ואבקנים ובעקה יש יצירה של שני עמודי עלי כלומר יצירת תאום. חץ מייצג את איזור סימון הגלאי. בר=100 μm

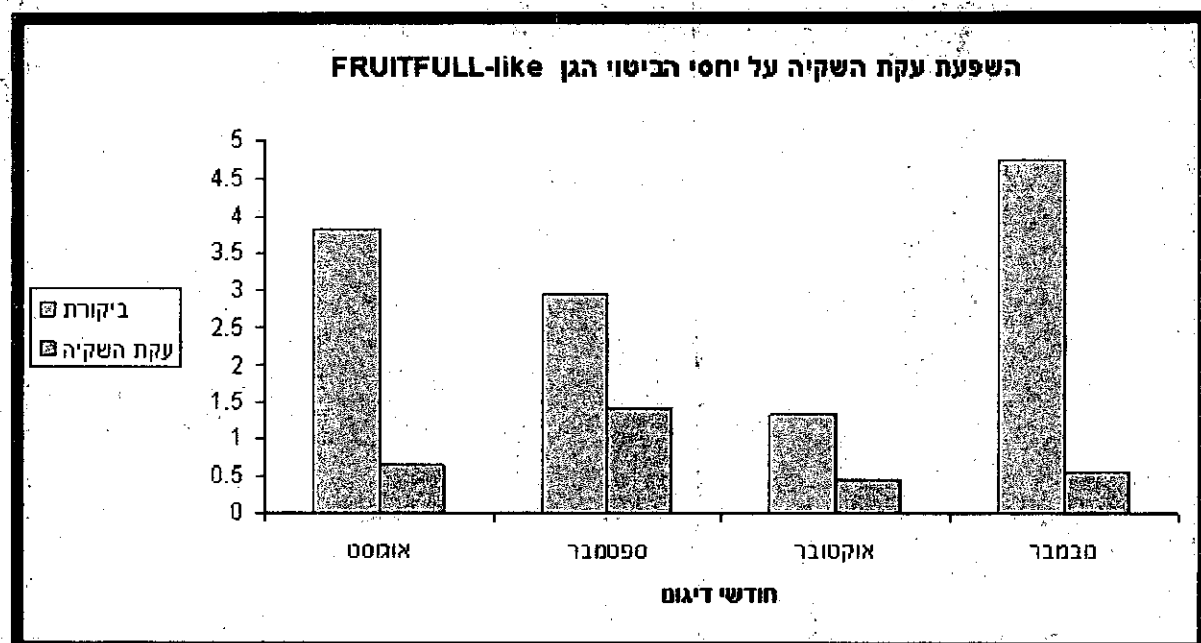
3.7 אפיון הביטוי של הגן *FUL-like* בתנאים של ביקורת השקיה ובתנאי עקה.

מכיוון שראינו את גן *FUL-like* (AY705973-gene bank) כדיפרנציאלי בניסוי RT-PCR בחרנו לבדוק את ההתבטאות שלו גם ב PCR כמותי. בדקנו את הביטוי היחסי של הגן בפקעי פריחה ביחס לגן 18s שהינו גן ריבוזומלי המתבטא בצורה קבועה בכל שלב התפתחותי. ה- RNA הופק מפקעי הפרחים מניסוי טיפולי ההשקיה במטע ראש פינה ניסוי 2005-6.

בטיפול הביקורת בכל חודש דיגום החל מאוגוסט מתחילה יצירה של הדורים העל מיניים בו הביטוי מאוד גבוה של הגן *FUL-like*. החל מספטמבר יש ירידה של ביטוי הגן. בנובמבר כאשר מתפתח עלה השחלה עולה הביטוי מחדש ונהיה אף גבוה מהביטוי באוגוסט. בעקת ההשקיה כל תהליך ההתמיינות לפריחה נדחה בחודש (תמונה מס' 10). באוגוסט הביטוי מאוד נמוך. בזמן זה אין יצירה של הדורים העל מיניים כלל. הביטוי של הגן עולה בספטמבר וממשיך לרדת עד נובמבר. בכל אחד משלבי התמיינות הפרח נראה הבדל מובהק בין שני הטיפולים כאשר הביטוי תמיד גבוה יותר בביקורת מאשר בעקה (תמונה מס' 11).



תמונה מס' 10 : שלבי ההתמיינות של הפרח בפקע מון Snow Queen בתנאי ביקורת ותנאי עקת השקיה.



תמונה מס' 11: דגם הביטוי של הגן *FUL-like* בפקעים מון Snow Queen החל מאוגוסט ועד נובמבר. במצב של ביקורת השקיה (עמודות כחולות) לעומת עקת השקיה (עמודות בורדר). ניסוי ראש פינה 2005

4. מסקנות והשלכות על המשך ביצוע המחקר

- מצאנו כי תנאי עקה הנוצרת כתוצאה מעליה בטמפרטורות מעל ל-32°C או מחסור בהשקיה גורמים לחוסר יצירה של הדורים המיניים בפרחי אפרסק. בתנאי הגידול בארץ תהליך זה מתרחש במהלך חודש אוגוסט. זהו חלון הזמן הקריטי להתמיינות הדורים המיניים. בהמשך, העקות גורמות להאטה להתפתחות מצעית הפרח ולדחייה בהתמיינות של הדורים המיניים בפרח במשך כ-45 ימים. כתוצאה מכך רק במהלך אוקטובר מתפתחים מתוך מצעית הפרח האברים המיניים ובחלק מהם נוצרות דפורמציות היוצרות שני עמודי עלי במקום אחד בפרח הנורמאלי.
- מצאנו כי ניתן להפחית את השפעת תנאי עקת ההשקיה על ידי תוספת השקיה בסוף אוגוסט ובדרך זו להוריד את אחוז התאומים. יתכן שפעילות כזו של תוספת השקיה תשפיע גם על הורדת רמת התאומים כתוצאה מעקות החום.
- בודדנו מספר גנים מבקרי פריחה והראנו את מהלך הביטוי שלהם בפרחים נורמאליים ובמצבי עקה. מצאנו כי הביטוי באחד מהגנים הללו, הדומה לגן *FUL-like*, מדוכא בשלבים בהם אין יצירת דורים מיניים בפרח.

בחנו את מהלך הביטוי של הגן באברי הפרח ובתנאי ההשקיה השונים. ראינו כי הגן יוכל לשמש סמן להיווצרות עקה ועיכוב התמיינות בפרחים.

5. המשך ביצוע המחקר

בידנו מצוי גן היכול להיות סמן לעיכוב התפתחות הפרח. בכוונתנו לבחון את מהלך הביטוי של הגן מצבי עקת השקיה שנשרנו על עצי אפרסק בניסוי ראש פינה 2006. מספר רב של עבודות בגלעיניים בעיקר בדובדבן ואפרסק מצביעה על הקשר שבין טמפרטורות קיץ גבוהות ויצירת תאומים. בכוונתנו לבחון השנה תנאים נוספים בהם מתקבלים תאומים באמצעות השריית חום על פקעים לאחר קטיף.

6. פרסומים מדעיים

הרצאה של תוצאות ראשוניות בפרויקט במסגרת דיווחים של המדען הראשי במשרד החקלאות. תוצאות המחקר סוכמו בעבודת מסטר שהוגשה לפקולטה לחקלאות אוניברסיטת ים-על ידי הגב' מיקה גרנות.

7. סיכום

מטרות המחקר. המטרה ארוכת הטווח של המחקר היא לפתח מדדים לרמות השקיה מדויקת שתמנע יצירת עקות ובהמשך פגמים ביצירת הפרח והפרי. לשם כך בחנו את הביטוי של מספר גנים בקרי פריחה בתנאים רגילים ובמצבי עקה. בחנו מספר רמות של השקיה ואפינו את התפתחות הפרח ויצירת התאומים. **עיקרי הניסויים והתוצאות.** במסגרת העבודה שביצענו בשנת העבודה השלישית למחקר השרנו עקות חום ובחנו את השפעתם על התמיינות אברי הפרח המיניים בחוות מתתיהו. עבודה זו משלימה שלוש שנים של ניסיונות בהשריית עקות חום והשקיה ובחינת השפעתם על התמיינות האברים המיניים בפרח ותחינת הסיבות ליצירת תאומים בזני אפרסק ונקטרינה שונים. בנוסף לניסיונות החקלאיים בחנו גם את השפעת העקות על גנים לבקרת פריחה ומצאנו כי אחד מארבעת הגנים לבקרת פריחה מאפרסק שבדודו על ידנו במהלך שנת המחקר הראשונה הגן *FUL-like*, מדוכא בשלבים בהם אין יצירת דורים מיניים בפרח והוא יכול לשמש כסמן ליצירת תאומים בפרחי אפרסק ונקטרינה.

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.

1. מצאנו כי תנאי עקה הנוצרת כתוצאה מעליה בטמפרטורות מעל ל-32 מ"צ או מחסור בהשקיה גורמים לחוסר יצירה של הדורים המיניים בפרחי אפרסק. בתנאי הגידול בארץ תהליך זה מתרחש במהלך חודש אוגוסט. זהו תלון הזמן הקריטי להתמיינות הדורים המיניים. בהמשך, העקות גורמות להאטה להתפתחות מצעית הפרח ולדחייה בהתמיינות של הדורים המיניים בפרח במשך כ-45 ימים. כתוצאה מכך רק במהלך אוקטובר מתפתחים מתוך מצעית הפרח האברים המיניים ובחלק מהם נוצרות דפורמציות היוצרות שני עמודי עלי במקום אחד בפרח הנורמאלי.

2. מצאנו כי ניתן להפחית את השפעת תנאי עקת ההשקיה על ידי תוספת השקיה בסוף אוגוסט ובדרך זו להוריד את אחוז התאומים. יתכן שפעילות כזו של תוספת השקיה תשפיעה גם על הורדת רמת התאומים כתוצאה מעקות החום.

3. בודדנו מספר גנים מבקרי פריחה והראנו את מהלך הביטוי שלהם בפרחים נורמאליים ובמצבי עקה. מצאנו כי הביטוי באחד מהגנים הללו, הדומה לגן *FUL-like*, מדוכא בשלבים בהם אין יצירת דורים מיניים בפרח. בחנו את מהלך הביטוי של הגן באברי הפרח ובתנאי ההשקיה השונים. ראינו כי הגן יוכל לשמש סמן להיווצרות עקה ועיכוב התמיינות בפרחים.

הבעיות שנתרו לפתרון. כעת משמצאנו כי התמיינות אברי הפרח המיניים רגישים לעקות של חום ומחסור במים, נשאלת השאלה כיצד ניתן להתגבר על תופעה זו? האם יש הבדלים ברגישות זני אפרסק ונקטרינה שונים לעקות? האם ניתן לפתח טיפולים הורטיקולטוריים למזעור הנזקים?

האם הוחל כבר בהפצת הידע. בהרצאת התקדמות בפורום המדען הראשי של משרד החקלאות, ובעבודת מסטר של הוגשה ואושרה לפקולטה לחקלאות, אוניברסיטת י-ם.

הפצת הידע. אני ממליץ לפרסם את הדו"ח ללא הגבלה.