

## דו"ח מסכם לתכנית מחקר מספר : 18-1216-203

שיפור חנטה בזנים שינשו וטריומף באמצעות לימוד המנגנונים המבקרים את נשירת הפרחים

**שנת המחקר : 2018**

מוגש למועצת הצמחים, ענף הפירות, שולחן האפרסמון

**צוות המחקר :**

ענת יצחקי (חוקרת ראשית), ישראל דוד, פליקס שייע /המכון למדעי הצמח, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן.

### **תקציר**

נשירה של פקעי פריחה, המאפיינת עצי פרי רבים, הינה תהליך התפתחותי אקטיבי המאפשר לעץ לווסת את כמות הפרי. מבין זני האינטרודוקציה הגדלים בחלקה בבית דגן, נצפתה בזנים טריומף ושינשו הנשירה הגבוהה ביותר שגרמה לאחוזי החנטה הנמוכים ביותר. מאחר והזן טריומף הוא הזן העיקרי הנטוע בארץ, ואילו הזן שינשו הינו זן מקדים אשר לו פוטנציאל מסחרי, ישנה חשיבות לשיפור החנטה ולהעלאת היבול בזנים אלו. על מנת ללמוד את הבקרה ההורמונלית על תהליך הנשירה, ערכנו בשנים קודמות אנליזות לבדיקת הרמות האנדוגניות של ההורמונים השונים ברקמת הניתוק במהלך התפתחות הפקע. תוצאות האנליזות העלו כי מספר חומרים שנבדקו מכלל הפרופיל ההורמונאלי, הראו ירידה ברמתם האנדוגנית, בשלב ההתפתחותי המקדים את נשירת הפרחים. בהצעת מחקר זו בחנו את ההשפעה של טיפולים בחומרים אלה על עיכוב תהליך הנשירה והעלאת החנטה. בנוסף אפיינו את השינויים ההורמונליים האנדוגניים המתרחשים ברקמת הניתוק בעקבות טיפול בגיברלין, הגורם לעיכוב תהליך הניתוק. מתוצאות הניסויים עולה כי הטיפולים השונים אשר נבחנו לא עיכבו את נשירת הפרחים בזנים שינשו וטריומף ולמעשה אחוז הנשירה בהם היה דומה לזה של הביקורת. כמו כן מצאנו כי גיברלין עשוי לפעול לעיכוב נשירת הפרחים בזנים שינשו וטריומף באמצעות בקרה על רמות הציטוקינינים ברקמת הניתוק.

### **מבוא**

עצי האפרסמון בארץ מאופיינים בנשירה גבוהה של פקעי הפריחה. תהליך זה אשר מאפיין עצי פרי רבים, הינה תהליך התפתחותי אקטיבי המאפשר לעץ לווסת את כמות הפרי. עבודות שנעשו בארץ ובארצות נוספות העלו כי תופעת נשירת הפרחים והחנטים היא הגורם העיקרי לחוסר יציבות ביבול האפרסמון (George et al., 1995, Mowat et al., 1997). נמצא כי בזני אפרסמון אשר חנטו באופן פרתנוקרפי נשירת הפרחים והחנטים היתה גבוהה יותר מאשר בזנים אשר הופרו והפירות היו נושאי זרעים (George et al., 1997). אפיון רב שנתי של שיעור החנטה בזני אפרסמון שונים בחלקת הניסוי בבית דגן העלה כי מידת הנשירה תלויה בזן, בעוד שזנים כדוגמת יוהו, מצאמוטוואזה, פויו, 13, 27 ו-26 הראו נשירה נמוכה ואחוזי חנטה גבוהים (למעלה מ-50% חנטה), בזנים אחרים (ג'ירו, 121, ו-181) נצפתה נשירה בינונית, ואילו בזנים טריומף ושינשו נצפתה הנשירה הגבוהה ביותר שגרמה לאחוזי החנטה הנמוכים ביותר (כ- חנטה 10% בלבד)

תהליך הניתוק של פקעי הפריחה הינו תהליך המבוקר ברמה הגנטית וברמה ההורמונלית הן ע"י גורמים סביבתיים והן ע"י גורמים אנדוגניים (התפתחותיים). הניתוק חל ברקמה מתמחה,

המכונה רקמת הניתוק, הממוקמת בנקודת החיבור שבין הפקע לעוקץ. רקמה זו מתמיינת כבר בשלבים המוקדמים של התפתחות הפקע, ומופעלת בעקבות סיגנלים הורמונליים פנימיים (Sexton and Roberts, 1982). ריסוס בגייברלין בשלב של 50% פריחה מעכב נשירה באפרסמון (Blumenfeld, 1981, Yamamura et al., 1986). בניסויים שערכנו לבחינת השפעת מגוון חומרי צמיחה מסחריים על עיכוב הנשירה בזנים טריומף ושינשו מצאנו כי ריסוס בגייברלין היה הטיפול היעיל ביותר, אך לא העלה את החנטה לרמות הרצויות. שפע של עבודות בצמחים שונים מעידות על כך כי בקרת שיפעול הניתוק הינו מנגנון מורכב הכולל אינטראקציה בין הורמונים שונים. מכאן שמורכבות הסיגנלים ההורמונליים המפעילים את תהליך הניתוק מהווה מכשול מרכזי במציאת טיפול מיטבי אשר יצמצם את תהליך נשירת פקעי הפריחה. על מנת ללמוד את הבקרה ההורמונלית על תהליך הנשירה, ערכנו אנליזות לבדיקת הרמות האנדוגניות של ההורמונים השונים ברקמת הניתוק במהלך התפתחות פקעי הפריחה. תוצאות האנליזות העלו כי מספר חומרים שנבדקו מכלל הפרופיל ההורמונאלי, הראו ירידה ברמתם האנדוגנית, בשלב ההתפתחותי המקדים את נשירת הפרחים. במסגרת הצעת מחקר זו אנו מציעים לבחון את ההשפעה של טיפולים בחומרים אלה על עיכוב תהליך הנשירה והעלאת החנטה. במקביל, אנו מציעים להמשיך וללמוד את המנגנונים המבקרים את תהליך הניתוק בזנים טריומף ושינשו באמצעות אפיון השינויים ההורמונליים האנדוגניים המתרחשים ברקמת הניתוק בעיקבות טיפול בגייברלין, הגורם לעיכוב תהליך הניתוק.

#### **מטרות המחקר**

1. בחינת ההשפעה של טיפולים בחומרי צמיחה אשר ירידה ברמתם האנדוגנית ברקמת הניתוק נמצאה כמקדימה את תהליך נשירת הפרחים.
2. לימוד המנגנון המבקר את נשירת פקעי הפריחה והחנטים בזנים טריומף ושינשו באמצעות אנליזות LC-MS למדידת הרמה האנדוגנית של ציטוקינינים, אוקסינים, גייברלינים, חומצה אבסצית, חומצה סליצילית וחומצה ג'יסמונית, בעקבות טיפולי גייברלין להעלאת החנטה.

#### **פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר**

##### **1. השפעת טיפולים בחומרי צמיחה שונים לעיכוב נשירה**

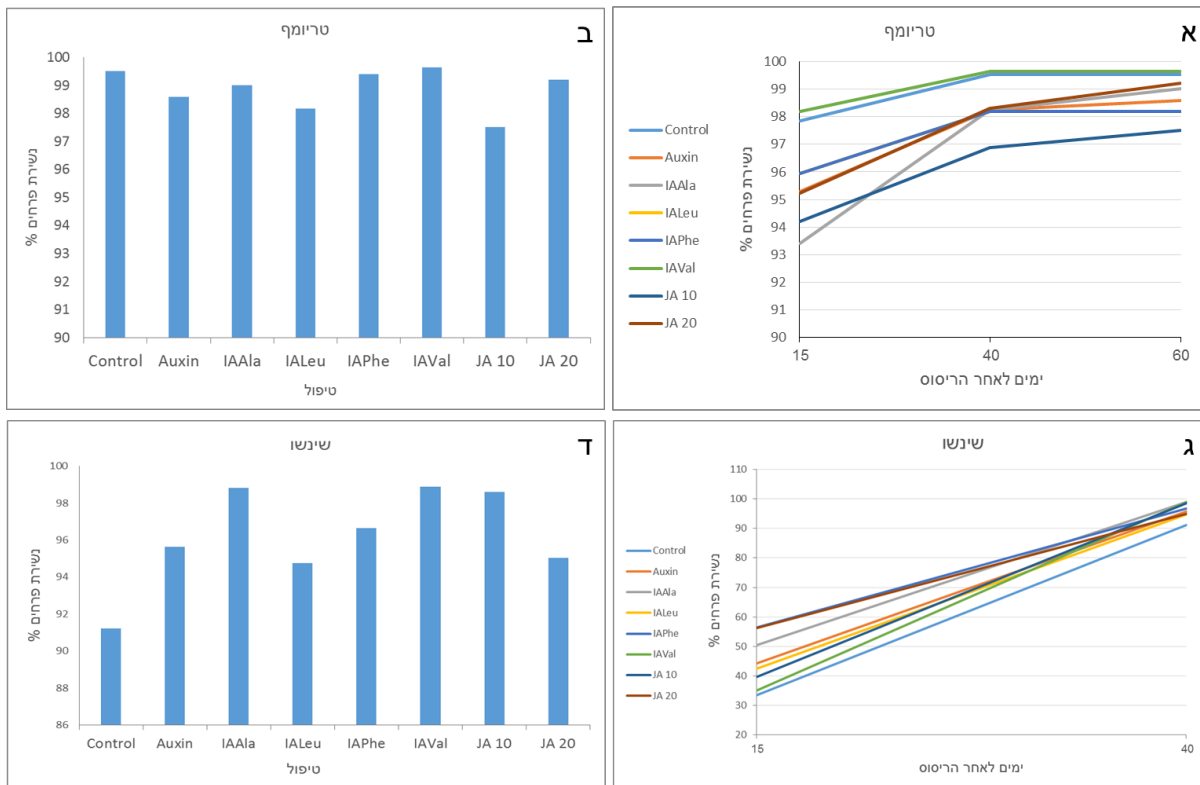
בשנת 2018 בדקנו את ההשפעה של טיפולים בחומרי צמיחה אשר ירידה ברמתם האנדוגנית ברקמת הניתוק נמצאה כמקדימה את תהליך נשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו (ראה דוח 2017). האנליזות ההורמונליות העלו כי ישנם ירידה משמעותית ברמה האנדוגנית של תצמידי האוקסין, IAAsp ו- IAGlu וכן ירידה ברמת החומצה הג'יסמונית באזור רקמת הניתוק, במהלך התפתחות הפרח בשני הזנים שנבדקו. לפיכך בדקנו את ההשפעה של ריסוס באוקסין ובתצמידים של אוקסין (אוקסין מצומד לחומצות אמינו שונות) וכן חומצה ג'יסמונית על נשירת הפרחים. הענפים רוסו בשלב של פרח פתוח, על פי הטיפולים המפורטים להלן. כל טיפול נעשה ב- 5 חזרות. נעשה מעקב אחר נשירת פקעי הפריחה בענפים המרוססים, ואחוז הנשירה בכל טיפול חושב. פירוט הטיפולים:

(1) ביקורת – משטח בלבד - 0.1% Tween 20

(2) אוקסין ותצמידים של ההורמון אוקסין (IAA) עם חומצות אמינו שונות לפי הפירוט הבא:

INDOLE-3-ACETIC ACID (IAA) - 10 ppm +0.1% Tween 20  
 INDOLE-3-ACETYL-L-ALANINE (IAAla) – 10 ppm +0.1% Tween 20  
 INDOLE-3-ACETYL-L-LEUCINE (IALeu) - 10 ppm + 0.1% Tween 20  
 INDOLE-3-ACETYL-L-PHENYLALANINE (IAPhe) - 10 ppm + 0.1% Tween 20  
 INDOLE-3-ACETYL-L-VALINE (IAVal) - 10 ppm + 0.1% Tween 20  
 (3) טיפול בחומצה ג'סמונית בריכוזים שונים :  
 Jasmonic acid (JA) - 10 ppm (JA10)/20 ppm (JA 20) + 0.1% Tween 20

מתוצאות הניסויים עולה כי הטיפולים השונים לא עיכבו את נשירת הפרחים בזנים שינשו וטריומף ואחוז הנשירה שהתקבל היה דומה לזה של הביקורת (תמונה 1).



תמונה 1: השפעת טיפולים בחומרי הצמיחה על נשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו.  
 א. אחוז נשירת הפרחים בטריומף 15, 40 ו-60 יום לאחר הטיפולים. ב. השפעת הטיפולים השונים על נשירת הפרחים בטריומף 60 יום לאחר הריסוס. ג. אחוז נשירת הפרחים בשינשו 15 ו-40 יום לאחר הטיפולים. ד. השפעת הטיפולים השונים על נשירת הפרחים בטריומף 40 יום לאחר הריסוס.

## 2. אנליזות הורמונליות

על מנת ללמוד את המנגנון ההורמונלי באמצעותו טיפול בגייברלין מעכב את נשירת הפרחים בזנים שינשו וטריומף, נעשו אנליזות באמצעות מכשיר LC/MS למדידת הרמה האנדוגנית של הורמונים בעקבות טיפול בגייברלין להעלאת החנטה. עצים שלמים רוססו בגייברלין בריכוז 100 ppm ורקמה מאזור הניתוק בלבד, בנקודת החיבור של בסיס הפרח לעוקץ, נאספה לפני הטיפול, 6 שעות לאחר הטיפול ו-24 שעות לאחר הטיפול. רמתם של ההורמונים והמטבוליטים הבאים נבדקה:

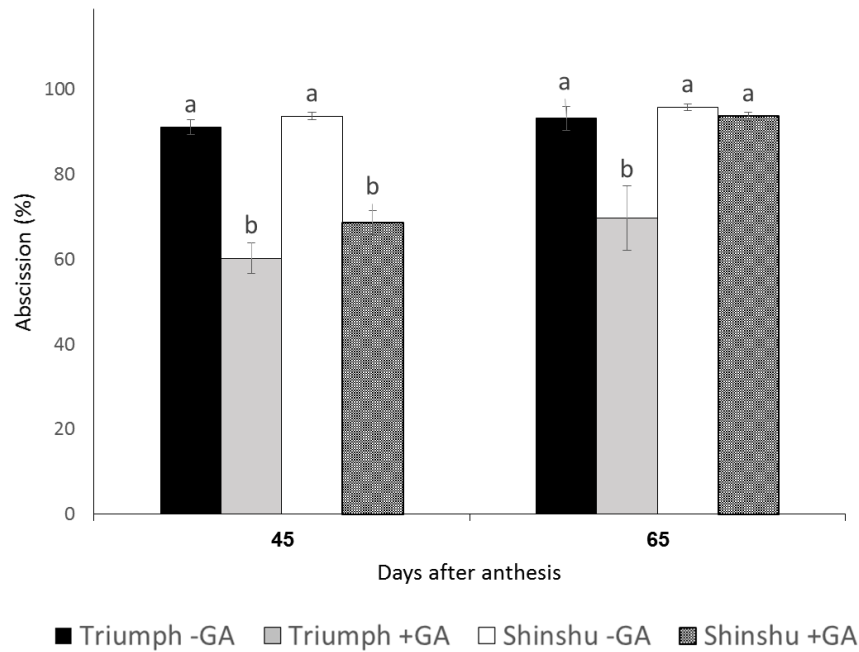
(1) ציטוקינינים: t-Z, t-ZR, iP, iPR

(2) אוקסינים: Indole-3-acetic acid (IAA)

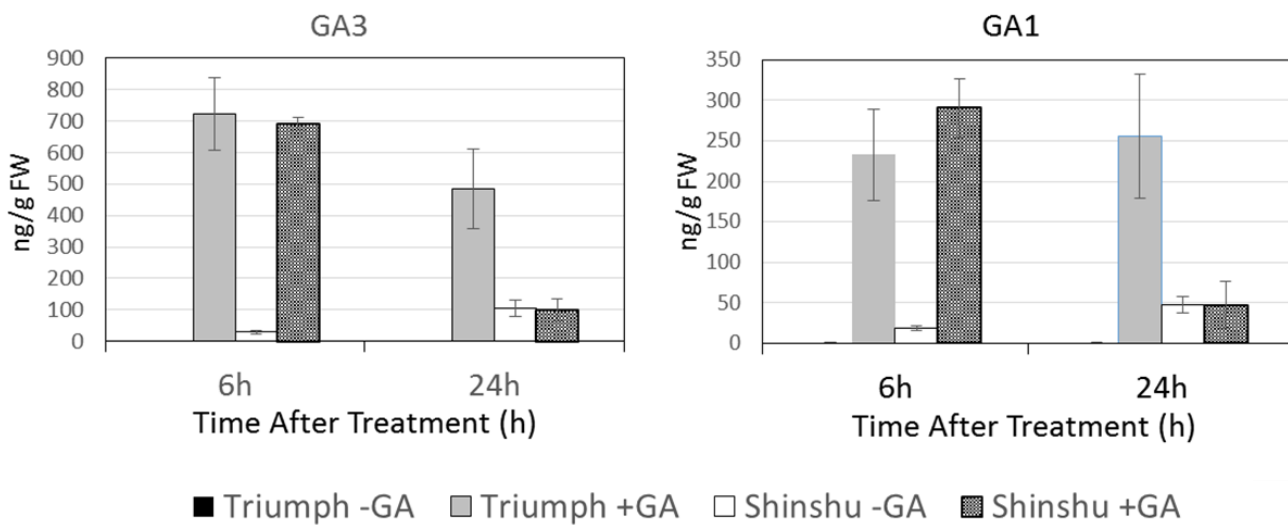
(3) קוניוגטים של אוקסין: IAA-Aspartic acid (IAsp), IAA Glutamic acid (IAGlu)

(4) גיברלינים: Gibberellic acid (GA): GA1, GA3, GA4, GA7

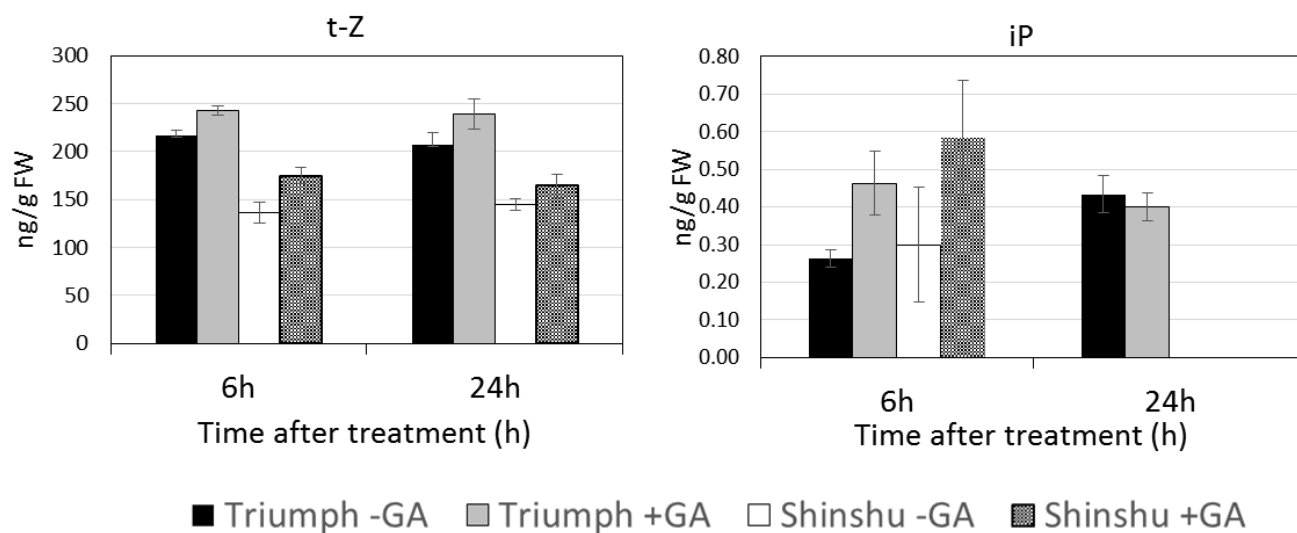
אחוז הנשירה חושב ע"י סימון חמישה ענפים בכל עץ שרוסס. מספר הפקעים לענף נספר לפני הריסוס, 45 יום ו-65 יום לאחר הריסוס ואחוז החנטים ששרדו חושב (תמונה 2). ניתן לראות כי הטיפול אכן עיכב את הנשירה בשני הזנים 45 יום לאחר הריסוס, אך בעוד שעוכב זה נשמר בטריומף גם 65 יום לאחר הריסוס, הזן שינשו אופיין בנשירה מאוחרת 65 יום לאחר הריסוס אשר גרמה לאחוזי נשירה הדומים לביקורת (תמונה 2). מבין חומרי הצמיחה שנבדקו נמצאו עליות ברמות ההורמונים גייברלין, ציטוקינין ואוקסין. הריסוס בגייברלין נעשה באמצעות ריסוס החומר המסחרי גייברלון אשר מכיל GA3. בעקבות הריסוס נמצאה כצפוי רמה גבוהה של גייברלין GA3 בשני הזנים. בנוסף נמצא כי רמת ה-GA1 האנדוגני עלתה אף היא בעיקבות הריסוס בזנים שנבחנו (תמונה 3). על מנת לבדוק האם העליה ב-GA1 מקורה בחומר הריסוס בחנו את הרכב הגייברלון באמצעות מכשיר ה-LC/MS. מצאנו כי GA3 מהווה את המרכיב העיקרי בחומר המסחרי אך החומר מכיל גם רמות נמוכות של GA1. אנו מניחים כי בדומה ל-GA1, GA3 שמקורו בחומר המסחרי נקלט ברקמת הניתוק בעקבות הריסוס וגרם לעליה ברמתו. העליה אשר נצפתה ב-GA1 ו-GA3 בטריומף 6 שעות לאחר הריסוס, נשמרה גם 24 שעות לאחר הריסוס, בעוד שבשינשו נצפתה ירידה חדה ברמת ההורמונים האנדוגנים לאחר 24 שעות (תמונה 3). לא נמצאו עליות ברמות האנדוגניות של GA4 ו-GA7 (תוצאות לא מוצגות). קיומו של מנגנון מטבוליזם יעיל הגורם לפירוק מהיר של GA1 ו-GA3 בשינשו, שאינו קיים בטריומף, עשוי להסביר את הירידה המהירה ברמות האנדוגניות של הגייברלינים ואת נשירת החנטים המאוחרת אשר נצפתה בשינשו (תמונה 2). עליה מהירה ברמות הציטוקינינים t-Z ו-iP נצפתה לאחר 6 שעות בשני הזנים. עליה זו לא נראתה 24 שעות לאחר הריסוס (תמונה 4). העליה ברמות האוקסין לעומת זאת היתה מאוחרת והתרחשה רק 24 שעות לאחר הריסוס בשני הזנים (תמונה 5). מניסויי השנה הנוכחית עולה כי גייברלין עשוי לפעול לעיכוב נשירת הפרחים בזנים שינשו וטריומף באמצעות בקרה על רמות הציטוקינינים ברקמת הניתוק. לאור ניסויי השנה הנוכחית אשר הראו כי ריסוס באוקסין ובתצמידים של אוקסין אינו מונע את נשירת הפרחים בשינשו וטריומף (תמונה 1), אנו משערים כי העליה שנצפתה ברמות האנדוגניות של אוקסין, 24 שעות לאחר הריסוס בגייברלין (תמונה 5), אינה תוצאה ישירה של טיפול בגייברלין וכי אוקסין אינו מעורב בעיכוב תהליך הניתוק המתרחש כתוצאה מטיפול בגייברלין.



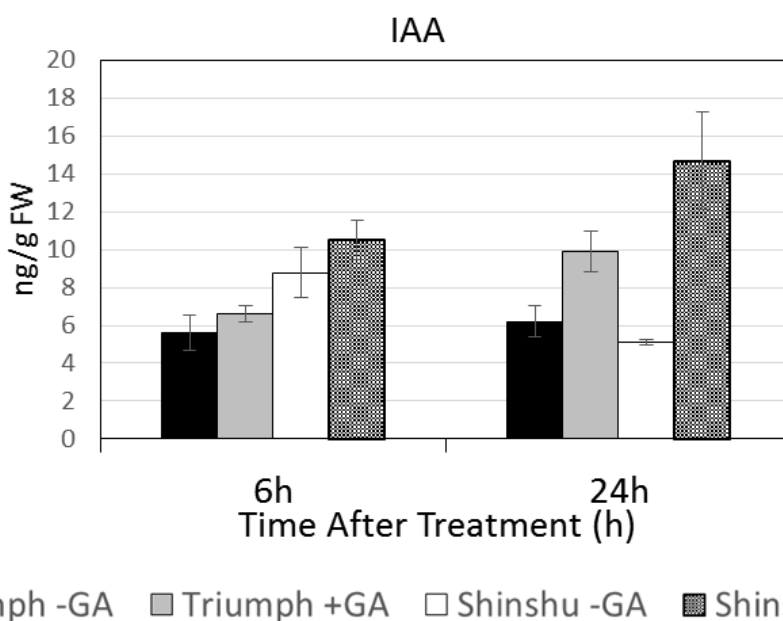
תמונה 2 : שיעור נשירת פרחים וחסנים בזנים שינשו וטריומף 45 ו- 65 יום לאחר ריסוס בגיברלין.



תמונה 3 : הרמות האנדוגניות של גיברלינים GA1 ו- GA3 ברקמת הניתוק של הפרח בזנים שינשו וטריומף, 6 שעות ו-24 שעות לאחר ריסוס בגיברלין.



תמונה 4: הרמות האנדוגניות של ציטוקינינים t-Z ו- iP ברקמת הניתוק של הפרח בזנים שינשו וטריומף, 6 שעות ו-24 שעות לאחר ריסוס בגייברלין.



תמונה 5: הרמות האנדוגניות של אוקסין (IAA) ברקמת הניתוק של הפרח בזנים שינשו וטריומף, 6 שעות ו-24 שעות לאחר ריסוס בגייברלין.

- Blumenfeld, A., 1981. INCREASING PERSIMMON YIELDS WITH GIBBERELIC ACID. *Acta Horticulturae* 237–239.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1981.120.32>
- George, A.P., Nissen, R.J., Collins, R.J., Rasmussen, T.S., 1995. Effects of fruit thinning, pollination and paclobutrazol on fruit set and size of persimmon (*Diospyros kaki* L.) in subtropical Australia. *Journal of Horticultural Science* 70, 477–484. <https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515318>
- George, A.P., Mowat, A.D., Collins, R.J., Morley-Bunker, M., 1997. The pattern and control of reproductive development in non-astringent persimmon (*Diospyros kaki* L.): A review. *Scientia Horticulturae* 70, 93–122.  
[https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00043-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00043-5)
- Mowat, A.D., Collins, R.J., George, A.P., 1995. Cultivation of Persimmon (*Diospyros kaki* L.) Under Tropical Conditions. *Acta Horticulturae* 141–150.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.409.17>
- Sexton, R., Roberts, J.A., 1982. Cell Biology of Abscission. *Annual Review of Plant Physiology* 33, 133–162.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.33.060182.001025>
- Yamamura, H., Matsui, K., Matsumoto, T., 1989. Effects of gibberellins on fruit set and flower-bud formation in unpollinated persimmons (*Diospyros kaki*). *Scientia Horticulturae* 38, 77–86. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(89\)90022-8](https://doi.org/10.1016/0304-4238(89)90022-8)