

## דו"ח מסכם לתכנית מחקר מספר: 203-1173-17

בחינת טיפולים לעיכוב נשירת פקעי פריחה בזנים שינשו וטריומף וביצוע אנליזות הורמונליות ללימוד התהליך.

**שנת המחקר: 2017**

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. מטרת המחקר הייתה ללמוד את תהליך הניתוק הפרחים ברמה האנטומית, ואת הבקרה ההורמונלית על תהליך הנשירה. הבנת המנגנון המבקר את תהליך הנשירה יאפשר לנו לפתח טיפולים אגרוטכניים יעילים אשר יעכבו את נשירת הפרחים ויתרמו להעלאת היבול. מניסויי השנה הקודמת נמצא הטיפול בגייברלין כטיפול ההורמונלי היעיל ביותר לעיכוב נשירת פרחים בזנים השונים. בשנה הנוכחית ערכנו ניסויים בטיפול בגייברלין לעצים שלמים ונמצא כי טיפול בגייברלין בריכוז 100ppm היה הטיפול המיטבי שהביא לעיכוב הגבוה ביותר בנשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו. הטיפול בגייברלין לא פגע במדדי גודל הפרי ואחוז הסוכר בפרי בשני הזנים. אנליזות אנטומיות לאפיון התפתחות רקמת הניתוק במהלך התפתחות הפקע העלו כי בבסיס הפקעים מתפתחות רקמת הניתוק אשר מתמיינת מחלקו החיצוני של הפקע כלפי פנים במהלך התפתחות הפקעים. נמצאה ירידה ברמה האנדוגנית של תצמידי האוקסין, IAAsp ו- IAGlu הן במהלך התפתחות הפרח והן במהלך התפתחות רקמת הניתוק בשלבים המקדימים את הניתוק. כמו כן נמצאה ירידה ברמה האנדוגנית של החומצה הג'יסמונית באזור רקמת הניתוק, במהלך התפתחות הפרח, בשני הזנים שנבדקו אשר עשויה להעיד על מעורבות החומצה הג'יסמונית בתהליך

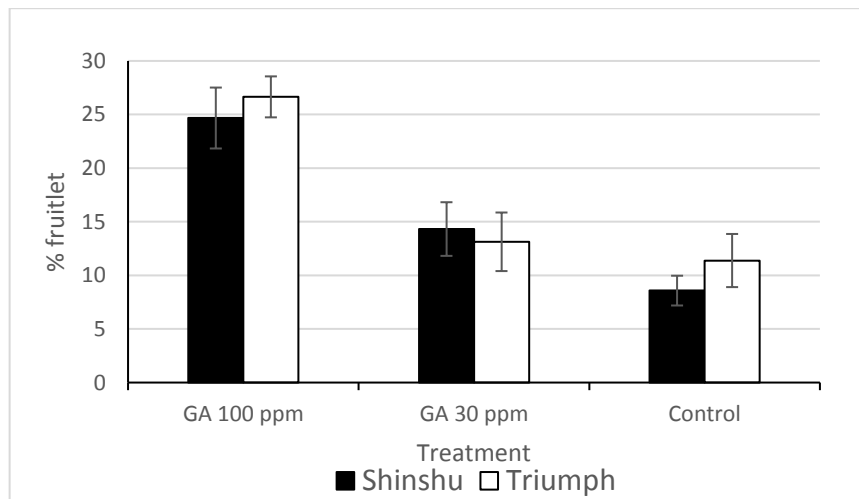
### מבוא ומטרות המחקר

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. מטרת המחקר הייתה ללמוד את תהליך הניתוק הפרחים ברמה האנטומית, ואת הבקרה ההורמונלית על תהליך הנשירה. הבנת המנגנון המבקר את תהליך הנשירה יאפשר לנו לפתח טיפולים אגרוטכניים יעילים אשר יעכבו את נשירת הפרחים ויתרמו להעלאת היבול.

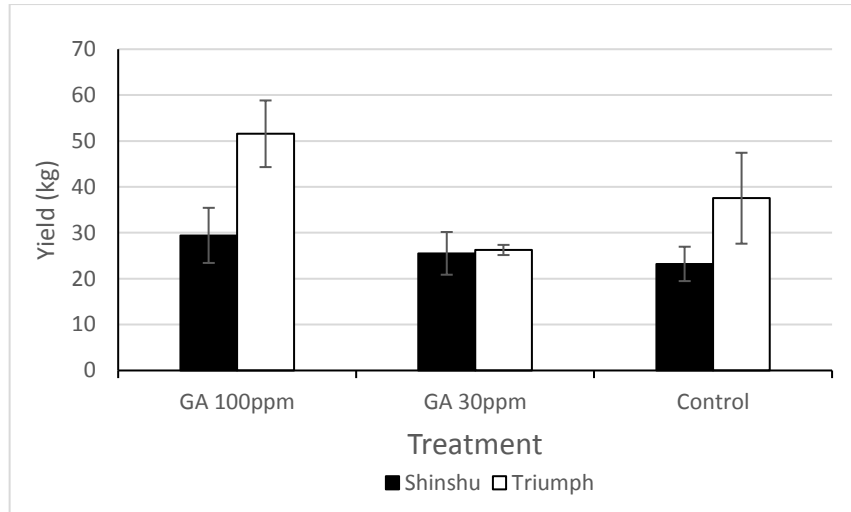
## פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

### 1. השפעת טיפולי ג'יברלין לעצים שלמים

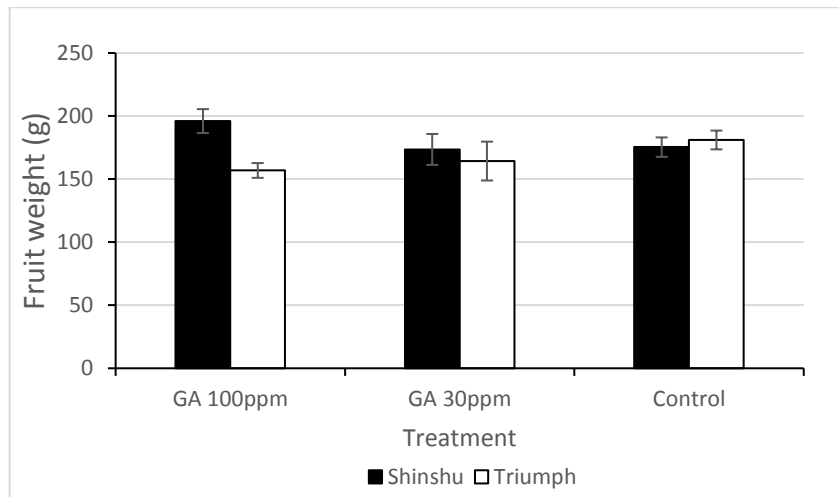
בשנת 2016 בדקנו את ההשפעה של טיפול בשורה של חומרי צמיחה מסחריים על עיכוב נשירת הפרחים בזנים טריומף, שינשו ויוהו. הטיפולים נערכו על ענפים בודדים וטיפול הגיברלין (גיברלון) נמצא כטיפול המיטבי. על מנת להמשיך וללמוד מהו המנגנון באמצעותו מעכב הטיפול בגיברלין את נשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו, ערכנו בשנת 2017 ניסויים בטיפול בגיברלין לעצים שלמים. שני ריכוזים שונים של גיברלין נבחנו - גיברלין (גיברלון) 30 ppm וגיברלין (גיברלון) 100 ppm. הטיפולים ניתנו בשלב של 50% פרחים פתוחים וכל טיפול נעשה בחמש חזרות, על 5 עצים שונים. מספר הפקעים לענף נספר לפני הריסוס וכשישה שבועות לאחר הריסוס ואחוז החנטים ששרדו חושב. מתוצאות הניסויים עולה כי טיפול בגיברלין בריכוז 100ppm היה הטיפול המיטבי שהביא לעיכוב הגבוה ביותר בנשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו (איור 1). בשינשו, למרות העיכוב שנצפה בנשירת הפרחים כ-6 שבועות לאחר הריסוס (איור 1), נצפתה נשירה מאוחרת של חנטים בוגרים בשני ריכוזי הגיברלין (תוצאות לא מוצגות), אשר גרמה לאחוזי חנטה ויבול סופיים הדומים לאלו שהתקבלו בביקורת (איור 2). בטריומף, עיכוב הנשירה היה מובהק בטיפול הגיברלין בריכוז הגבוה (איור 1), אם כי העליה ביבול לא היתה מובהקת (איור 2). על מנת לבחון את השפעת הטיפולים בגיברלין על איכות היבול, נבחנו מדדים של משקל פרי ואחוז הסוכר בפרי, והשוונו בין הטיפולים. מתוצאות הניסויים עולה כי הטיפול בגיברלין, בשני הריכוזים, לא נבדל מהביקורת מבחינת גודל הפרי (איור 3) ואחוז הסוכר בפרי (איור 4) בשני הזנים, וכי התוצאות שהתקבלו היו דומות לביקורת.



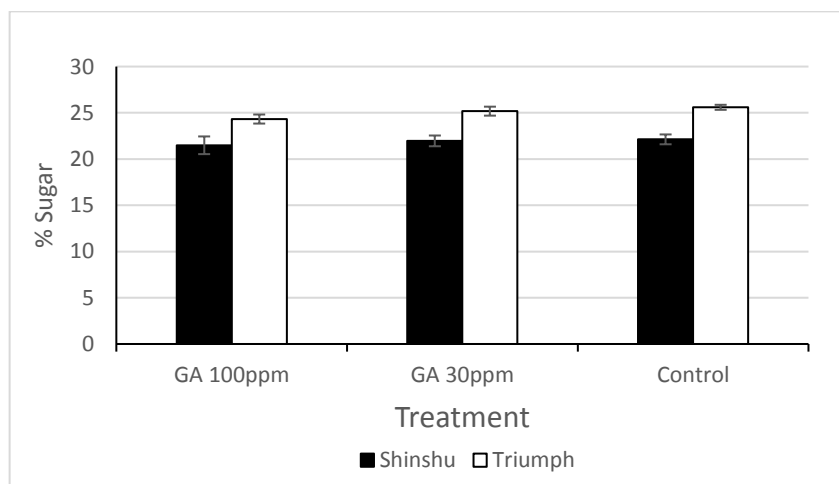
איור 1: השפעת טיפולים בגיברלין על % החנטה בזנים טריומף ושינשו.



איור 2 : השפעת טיפולים בגיברלין על היבול בזנים טריומף ושינשו.



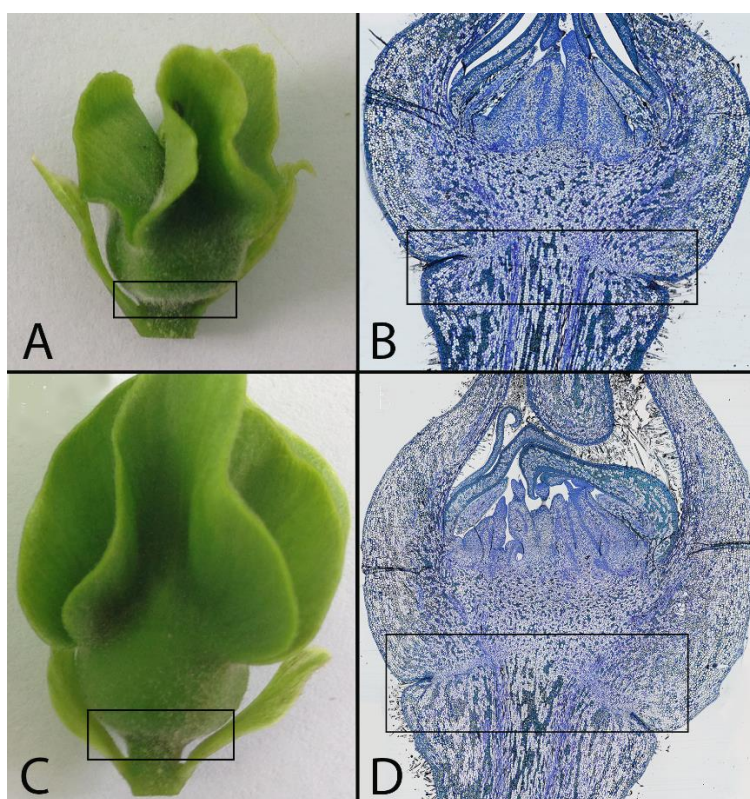
איור 3 : השפעת טיפולים בגיברלין על משקל הפרי בזנים טריומף ושינשו.



איור 4 : השפעת טיפולים בגיברלין על אחוז הסוכרים בפרי בזנים שינשו וטריומף.

## 2. אנטומיה של רקמת הניתוק

על מנת שנוכל לקחת לאנליזות הורמונליות את האזור המדויק של רקמת הניתוק, אפיינו את התפתחות רקמת הניתוק במהלך התפתחות הפקע באמצעות אנליזות אנטומיות. פקעים סגורים בשלב צעיר (איור 5A) ובוגר (איור 5C) נלקחו לפיקסציה, נחתכו באמצעות מיקרוטום ונצפו במיקרוסרופ אור. ניתן להבחין בבסיס הפקעים ברקמת הניתוק המתפתחת. בפקע הצעיר ניתן לראות כי הרקמה מתמיינת מחלקו החיצוני של הפקע כלפי פנים, בו זמנית משני צדי הפקע (איור 5B). התמיינות רקמת הניתוק ממשיכה מן החוץ כלפי בסיס הפקע (מרכז השחלה) גם בשלב המאוחר יותר, אך היא אינה מושלמת בשלב זה (איור 5D).



איור 5: התמיינות רקמת הניתוק בפקעים סגורים. פקעים בשלב צעיר (A, B) ובשלב בוגר (C, D) נלקחו לאנליזה אנטומית לבחינת תהליך התמיינות רקמת הניתוק. אזור רקמת הניתוק מסומן בריבוע.

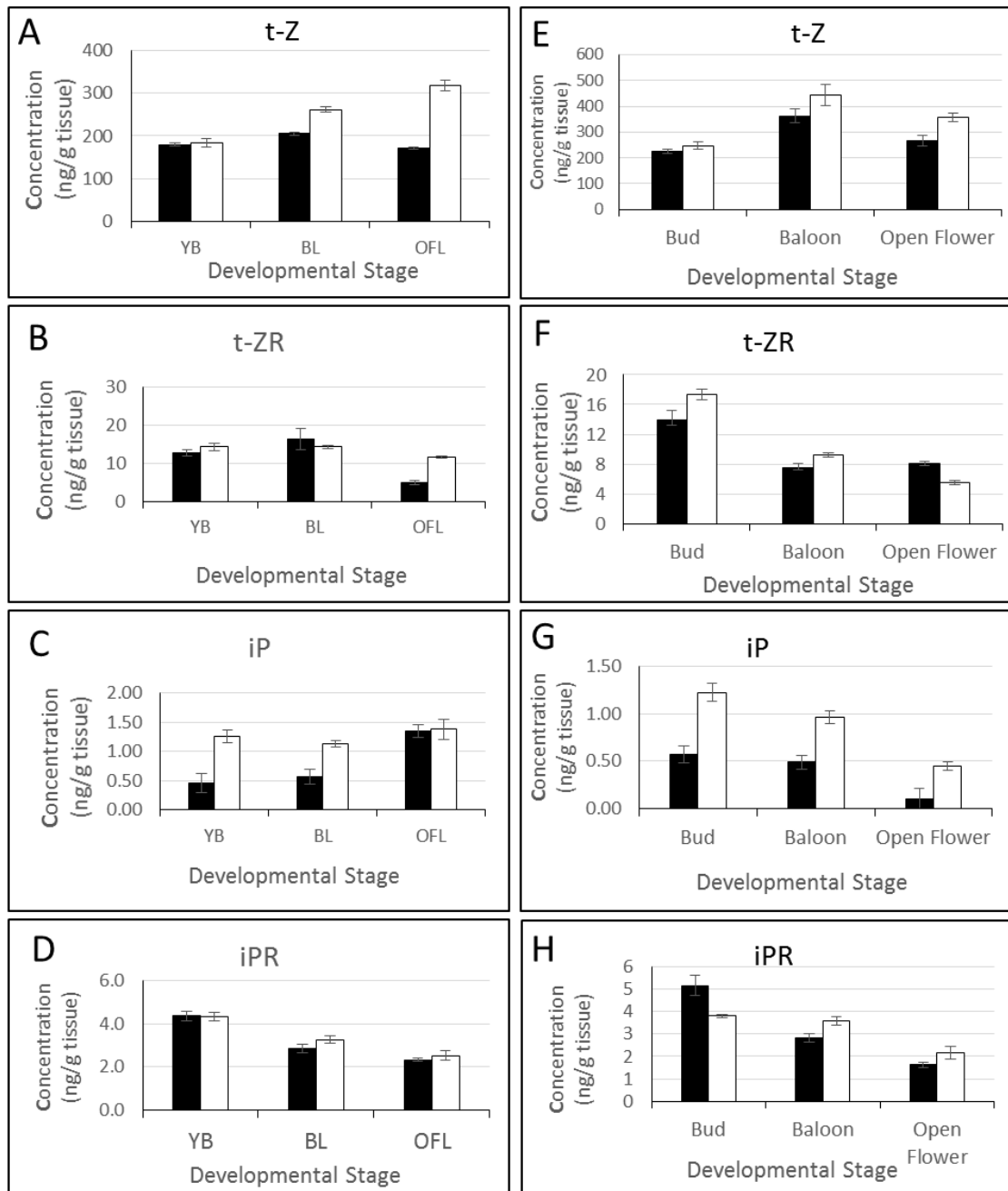
## 3. אנליזות הורמונליות

על מנת להבין את הגורמים ההורמונליים המבקרים את תהליך נשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו, עקבנו אחר השינויים האנדוגניים ברמת ההורמונים השונים במהלך התפתחות הפרח. האנליזות נעשו באמצעות מכשיר LC/MS לפרחים שלמים ובמקביל לאזור רקמת הניתוק בלבד, בנקודת החיבור של בסיס הפרח לעוקץ (איור 5). לצורך האנליזות נלקחו רקמות משני הסוגים, פרח שלם ורקמת ניתוק, משלושה שלבים התפתחותיים המקדימים את תהליך ניתוק הפרחים: סגור, בלון ופרח פתוח, ונבדקה רמתם של החומרים הבאים:

(1) ציטוקינינים: t-Z, t-ZR, iP, iPR

- (2) אוקסינים : Indole-3-acetic acid (IAA)  
קוניוגטים של אוקסין : IAA-Aspartic acid (IAsp), IAA Glutamic acid (IAGlu)  
(3) חומצה סליצילית : Salicylic acid (SA)  
(4) חומצה אבסצינית : Abscisic acid (ABA)  
רמתם של החומרים הבאים נבדקה ברקמת הניתוק בלבד :  
(1) גיברלינים : Gibberellic acid (GA): GA1, GA3, GA4, GA7  
(2) חומצה ג'סמונית : Jasmonic acid (JA)

ציטוקינינים - תוצאות האנליזות של הציטוקינינים מראות ירידה ברמת החומרים iP, iPR ו-t-ZR באזור רקמת הניתוק (איור 6). אולם בעוד שהחומרים iP ו-t-ZR מראים ירידה הן בפרח כולו והן ברקמת הניתוק, מראה החומר iP, מגמה הפוכה – בעוד שפרח כולו חלה עליה ברמת החומר, ברקמת הניתוק חלה ירידה. מגמה זו עשויה להעיד על מעורבותו של ציטוקינינים בכלל ו-iP בפרט בתהליך הניתוק. אולם יש לסייג ולומר כי ריכוז החומר שנמצא ברקמת הניתוק היה נמוך, ולכן החלטנו לא לבחון השפעת טיפול בחומר זה על תהליך הניתוק בהצעת המחקר המוגשת לשנת 2018.

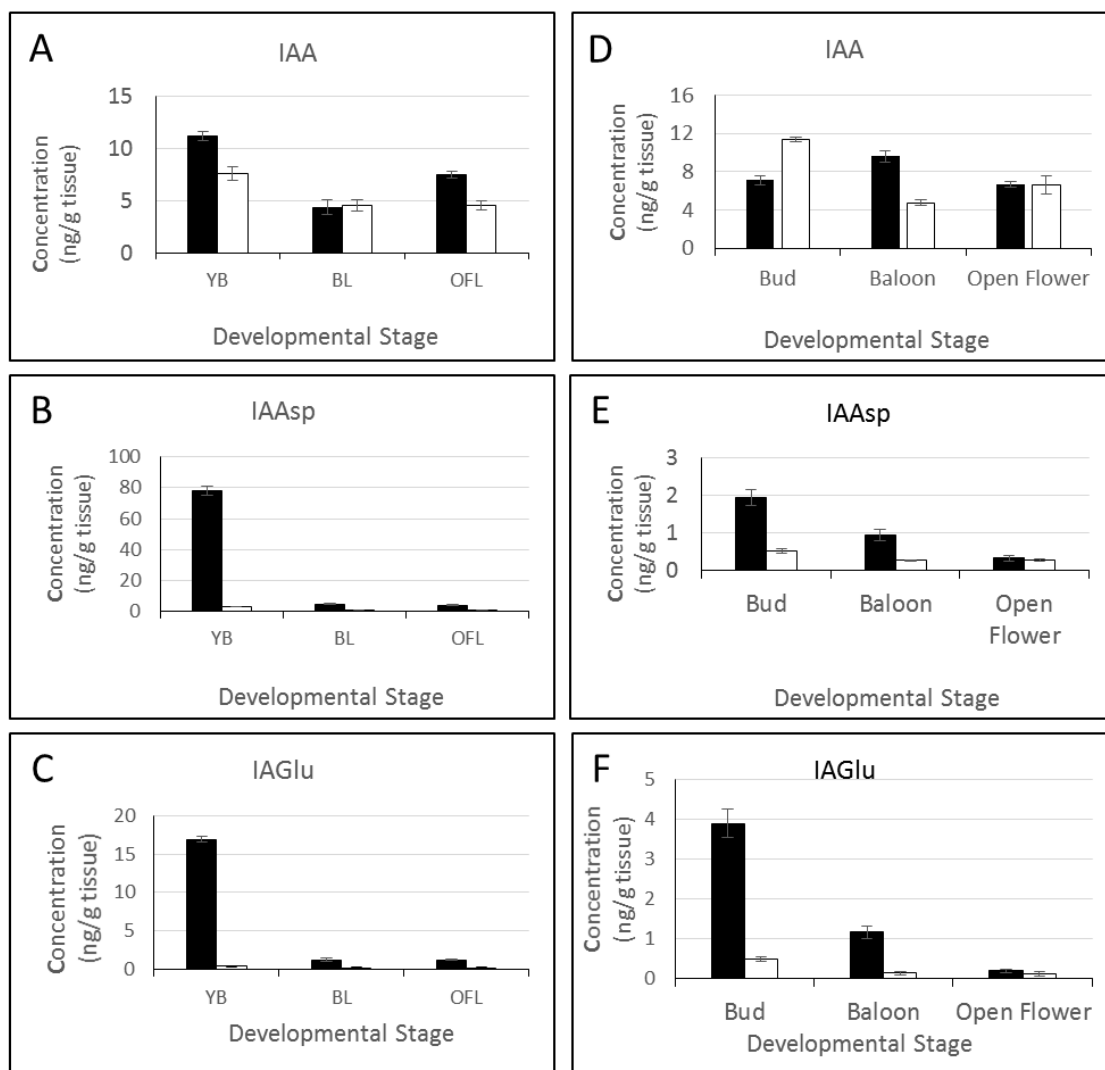


איור 6: שינויים ברמה האנדוגנית של ציטוקינינים במהלך התפתחות הפרח ורקמת הניתוק בזנים טריומף ושינשו.

פרחים שלמים (A-D) או אזור רקמת הניתוק בלבד (E-H) נלקחו לבדיקת הרמה האנדוגנית של ציטוקינינים שונים: t-Z (A, E); t-ZR (B, F); iP (C, G); iPR (D, H). עמודות שחורות – שינשו. עמודות לבנות – טריומף. YB – פקע סגור, BL – בלון, OFL – פרח פתוח.

אוקסינים - האנליזות לאוקסינים העלו כי ישנם ירידה משמעותית ברמה האנדוגנית של תצמידי האוקסין, IAAsp ו- IAGlu הן במהלך התפתחות הפרח והן במהלך התפתחות רקמת הניתוק (איור 7). עבודות רבות הראו כי אוקסין הינו הורמון המעורב בעיכוב תהליכי ניתוק. בנוסף נמצא כי לתצמידי אוקסין תפקיד חשוב בשמירת הרמה האנדוגנית של אוקסין, שכן הם מהווים מאגר של

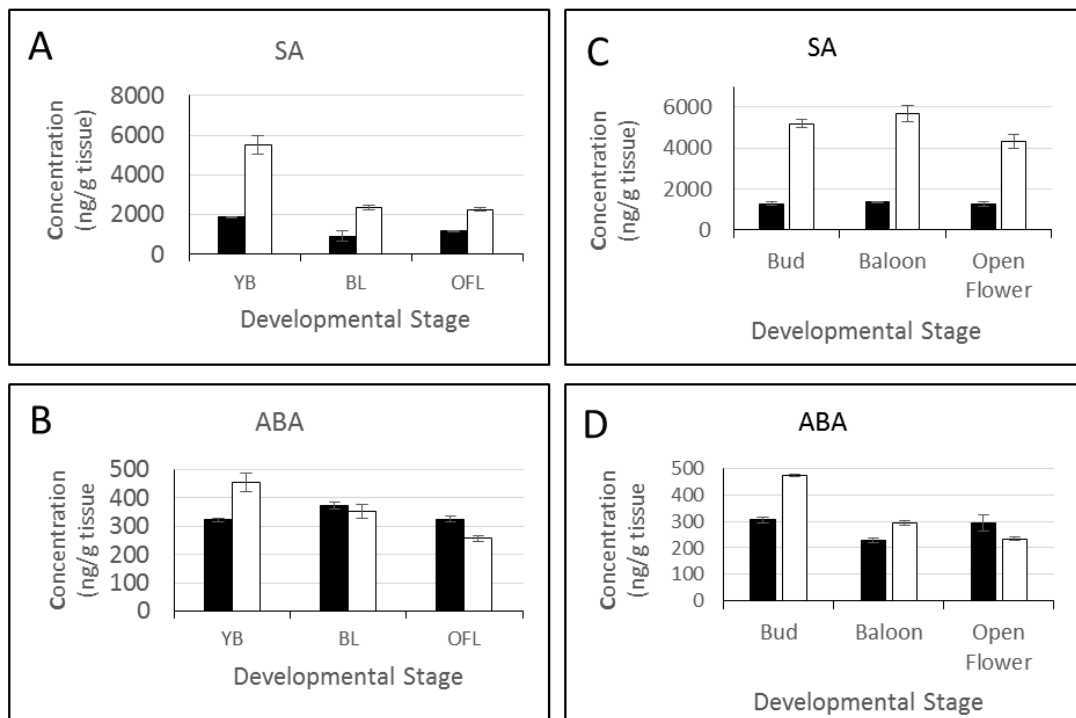
אוקסין עבור הצמח, המסוגל לפרק את התצמידים לקבלת אוקסין חופשי. כמו כן נמצא כי תצמידי אוקסין מסוימים אף אחראים על פירוק אוקסין (Ludwig-Muller 2011). לאור הירידה ברמת תצמידי האוקסין בשלבי ההתפתחות המקדימים את נשירת הפרחים בזנים טריומף ושינשו (איור 7B-C, E-F), החלטנו לבחון, בהצעת המחקר המוגשת לשנת 2018, את ההשפעה של תצמידי אוקסין שונים על תהליך ניתוק הפרחים בטריומף ושינשו.



איור 7: שינויים ברמה האנדוגנית של אוקסין ותצמידי אוקסין עם חומצות אמינו במהלך התפתחות הפרח ורקמת הניתוק.

פרחים שלמים (A-C) או אזור רקמת הניתוק בלבד (D-F) נלקחו לבדיקת הרמה האנדוגנית של אוקסינים שונים: IAA (A, D); IAAsp (B, E); IAGlu (C, F). עמודות שחורות – שינשו. עמודות לבנות – טריומף. YB – פקע סגור, BL – בלוו, OFL – פרח פתוח.

החומצה סליצילית וחומצה אבסיצית - רמות החומצה סליצילית (SA) והחומצה האבסיצית (ABA) לאורך שלבי ההתפתחות המקדימים את הניתוק לא השתנו בצורה משמעותית בשינוי (איור 8). ירידה משמעותית ברמת החומצה הסליצילית נמצאה במהלך התפתחות הפרח כולו בטריומף (איור 8A), אולם מאחר וירידה זו לא התרחשה באזור רקמת הניתוק (איור 8C) ואף לא אופיינה בשינוי, ניתן להניח שחומצה סליצילית אינה מעורבת בתהליך. נצפתה ירידה ברמת החומצה האבסיצית בזן טריומף. הירידה נמצאה הן בפרח השלם והן ברקמת הניתוק (איור 8B, D), עובדה העשויה להעיד כי הירידה אינה מבקרת את הניתוק. בנוסף, מאחר ובזן שינוי לא נמצאו ירידה ברמת החומצה האבסיצית, ניתן להניח כי להורמון זה אין מעורבות בתהליך (איור 8B, D).



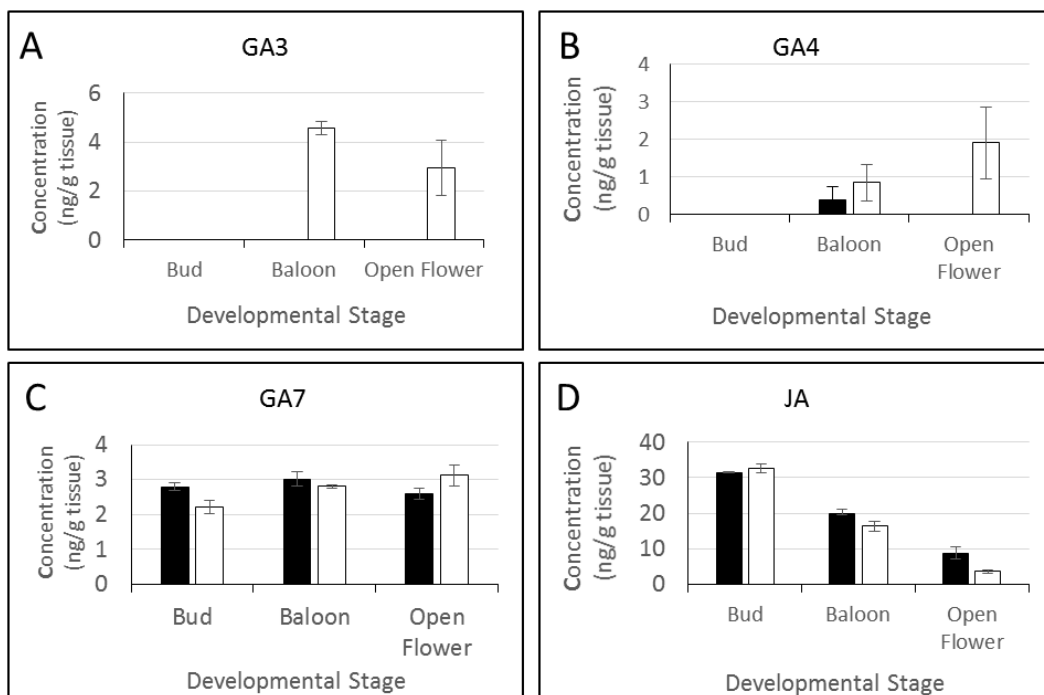
איור 8: שינויים ברמה האנדוגנית של חומצה סליצילית וחומצה אבסיצית במהלך התפתחות הפרח ורקמת הניתוק.

פרחים שלמים (A-B) או אזור רקמת הניתוק בלבד (C-D) נלקחו לבדיקת הרמה האנדוגנית של חומצה סליצילית, SA (A, C) וחומצה אבסיצית, ABA (B, D). עמודות שחורות – שינוי. עמודות לבנות – טריומף. YB – פקע סגור, BL – בלוון, OFL – פרח פתוח.

גייברלינים - אנליזות של הגייברלינים GA1, GA3, GA4, GA7 הראו כי GA1 אינו נמצא ברמה הניתנת לכימות ברקמת הפרח (תוצאות אינן מוצגות). בזן טריומף חלה עליה ברמת הגייברלינים GA3 ו-GA4 בשלבים המקדימים את הניתוק, עליה שלא נצפתה בזן שינוי (איור 9A, B). יתכן ועליה זו יכולה להסביר את העובדה שהטיפול בגייברלין היה יעיל יותר במניעת נשירה בטריומף מאשר בשינוי (איור 2). כמו כן נראה כי GA7 אינו מעורב בבקרת תהליך הניתוק (איור 9C). הניסויים המוצעים לשנת 2018 בתוכנית המחקר המוגשת עשויים לשפוך אור על אופן הפעולה של גייברלין לעיכוב תהליך הניתוק. נמצאה ירידה ברמה האנדוגנית של החומצה הגיסמונית באזור



רקמת הניתוק, במהלך התפתחות הפרח בשני הזנים שנבדקו (איור 9D). ירידה זו עשויה להעיד על מעורבות החומצה הגיסמונית בתהליך, ולכן אנו מציעים לבחון טיפולים בהורמון זה בהצעת המחקר המוגשת לשנת 2018.



איור 9 : שינויים ברמה האנדוגנית של גיברלינים שונים וחומצה גיסמונית במהלך התפתחות רקמת הניתוק.

אזור רקמת הניתוק בלבד נלקח לבדיקת הרמה האנדוגנית של גיברלין שונים : (A) GA3, (B) GA4, (C) GA7 וחומצה גיסמונית (D) JA. עמודות שחורות – שינו. עמודות לבנות – טריומף. YB – פקע סגור, BL – בלון, OFL – פרח פתוח.