

איתור תחליפי אלזודף בגפן - דו"ח שנה ראשונה-אתי אור

מבוא ותאור הבעיה - נשירים שמקורם באזורים ממוזגים חייבים בחשיפה לקור ("מנות צינון") על מנת לסיים את שלב תרדמת הפקעים החורפית. באזורי גידול בעלי חורף חם, כמו רבים מאזורי הגידול בארץ, לא מתאפשרת הצבירה המתבקשת של "מנות צינון" ולפיכך סוגית השחרור מתרדמה היא מכשלה מהותית בגידול כלכלי ונדרש פתרון יזום ו"מלאכותי" לשבירת תרדמה מוקדמת ו/או אחידה. ידע רב נצבר בארץ ובעולם בנושא זה וזוהו חומרים כימיים שיישומם בעיתוי הנכון גורם לשבירת התרדמה גם כשלא נצברה מכסת מנות הקור הדרושה להתעוררות טבעית תקינה. יחד עם זאת מרבית החומרים, מספקים פתרון חלקי במספר מינים/אזורים (כמו תפוח ואפרסק/נקטרינה בהר הגבוה) **אך אינם נותנים פתרון כלל ברוב המקרים** (גפן, קיווי, דובדבן, חלק מזני האגס, אפרסק מוקדם). ציאנמיד חומצי (HC), לעומת זאת, ידוע ביעילותו הגבוהה, מאפשר שבירת תרדמה אחידה **ומוקדמת**, מוביל לשיפור אחוזי ההתעוררות גם במינים וזנים "קשי עורף" ומועדף לשימוש בפרקטיקה החקלאית. לרוע המזל, יכולתו של החומר להשרות עקה נשימתית, המפעילה שרשרת תהליכים שמסתיימת בשחרור המריסטמה מעיכוב תהליכי צמיחה, אחראית גם לטוקסיות של החומר, לצמחים עצמם ולסביבתם. פוטנציאל הסיכון של החומר הביא לפסילתו באירופה והוביל להנחיה של השרותים להגנת הצומח להפסיק את השימוש בו בנשירים בעתיד הקרוב בשלב ראשון ותוך שנים בודדות גם בגפן. על פי הידע הקיים לא ניתן יהיה לגדל כלל ענבים למאכל, קיווי, אפרסק/נקטרינה (באזורים נמוכים) ודובדבן ללא שימוש ב-HC ובמינים אחרים תיגרם פגיעה משמעותית בריווחיות עד לרמה שלא יהיה כדאי לגדלם. ברור שבמצב הידע הקיים יגרום ביטול הרישוי האמור לפגיעה אנושה בענפי הכרם והנשירים. לפיכך נוצר צורך דחוף להשקיע מאמץ מחקרי לפיתוח אלטרנטיבות בעלות יעילות דומה ל-HC.

בטווח הארוך הפתרון יהיה פיתוח זנים בעלי דרישת קור נמוכה ו/או מניפולציה מוכוונת של בקרי ההתעוררות. התכנית הנוכחית עוסקת באיתור פתרונות לטווח הקצר והבינוני עבור גפן.

יעדי התכנית - 1. פיתוח פרוטוקול שבירת תרדמה הדומה ביעילותו ל-HC תוך שלוש שנים על ידי שימוש בחומרים מורשים, תוך עדיפות לחומרים שסיכויי פסילתם בעתיד נמוכים; 2. איתור תחליפים נוספים לשבירת תרדמה (חומרים ואחרים), שיהיו אפקטיביים מחד וידידותיים לסביבה מאידך, על ידי הוכחת היתכנות מדעית וטכנולוגית תוך שלוש שנים, ופיתוח פתרון זמין לשימוש תוך שש שנים.

התכנית בודקת את האפשרויות הבאות:

- **הקטנת דרישות הצינון והקדמת הכניסה לתרדמה**: בחינת טיפולים כימיים טרום תרדמה; בחינת טיפולים הורטיקולטורים (שילוך, דיכוי צימוח) טרום תרדמה.
- **שבירת תרדמה באמצעות חומרים וטיפולים פיזיקליים**: בחינת חומרים חדשים בגפן כמערכת מודל (חומרים חנקניים, תוצרי פירוק של אליצין, טרפנים, פולימרים מתכלים); בחינת חומרים מורשים תוך העדפת חומרים שסכנת ביטול הרישוי לגביהם נמוכה (תכשירים מבוססי דשן חנקני, ציטוקינינים: TDZ, CPPU, BA).
- **הגברת אחידות ההתעוררות באמצעות חומרי צמיחה המדכאים את השלטון הקדקדי**.

סקירת הידע הקיים בספרות לגבי תרדמה והתעוררות מורחבת הובאה בהצעת המחקר שאושרה והקורא מופנה אליה. מובא בהמשך רקע מוגבל שהשינוי רלוונטי לגפן ו/או לתכנית.

התעוררות פקעי גפן : על בסיס מחקר מקיף שעקב אחר שינויים בפקעי גפן בעקבות שבירת תרדמה מבוקרת ע"י שוברי תרדמה שונים הוצע מודל לתיאור רצף התהליכים המתרחשים בתא בזמן שבירת התרדמה בגפן וכושר הניבוי של המודל הוכח במספר עבודות. מן הנתונים נראה כי פגיעה בתהליך הזרחון החמצוני במיטוכונדריה גורמת לשפעול המערכת האנטיאוקסידנטית בעקבות עקה חמצונית ולפגיעה בתפקוד תקין של מעגל קרבס. בתגובה למשבר האנרגטי יש עלייה בפעילות הגליקוליטית ואינדוקציה של נשימה אנארובית (Halaly et al 2008; Ophir et al 2009, Perez et al., 2008,). המודל מניח כי תהליכים אלו גורמים להמשך מעבר אותות במורד הזרם (במסלול שאינו ברור עדיין) המוביל להגברת סינתזת אתילן שגורמת לשינויים במטבוליזם של חומצה אבסיסית (ABA), המעכבת התעוררות ולירידה ברמתה. בהתאמה, אתילן אקסוגני הוביל לשבירת תרדמה ומעכב סיגנל אתילן השבית שבירת תרדמה בפקעים (Ophir et al., 2009), וביטל השפעתו של HC (Or et al., unpublished). ABA אקסוגני דחה התעוררות פקעים, והפחית את השפעתו הממריצה של HC בתלות בסטטוס התרדמה של הפקעים. נמצא טיפול ב-HC מאפשר לפקעים להתגבר על האפקט המעכב של ABA ומועד ההתאוששות נדחה עם המעבר מתרדמה קלה לעמוקה. בהתאמה, טיפול ב-HC הוביל לירידה מובהקת ברמת ABA בפקעים ולעליה מובהקת ברמת תוצרי הפרוק ותמונה דומה נמצאה במהלך מעגל התרדמה הטבעי. בהתאמה להנחות המודל, מעכב סיגנל אתילן עיכב פרוק ABA על ידי HC. להפתעתנו, טיפול במגוון מולקולות GA בריכוזים שונים פעל באופן הפוך למצופה על פי הנחת המודל, והוביל לעיכוב חמור בהתעוררות פקעים (Zhang et al. 2015, Ophir et al., 2009, דו"ח מסכם 203-0806). באופן מעניין מצאנו כי טיפול GA לווה בעיכוב פרוק ABA וכי ממצא דומה תועד בפקעי תפ"א רדומים (Suttle, 2008). על פי המודל הסרת רפרסיה תלויית ABA מעודדת בתורה שינויים במטבוליזם/חישה של בקרי צמיחה נוספים המעודדים תהליכי התארכות וחלוקת תאים שפירושם חידוש צמיחה. (Ophir et al., 2009; Or, 2009; and ref within). בהמשך יובאו ממצאים התומכים במעורבותו של ציטוקינין בשלב זה. הקשר האפשרי בין פגיעה בנשימה והפעלה של מערכת נשימה אנארובית, המושרים ע"י עקה סבלטאלית, לבין שינוי במאזן בין הורמונים המבקר שימור מצב תרדמה מחד וחידוש צמיחת תאים בפקע מאידך, הוא חידוש משמעותי בשדה המחקר של שחרור פקעי עצי פרי מתרדמה ונמצא בהסכמה עם התסריט שתואר לאחרונה בצפצפה.

השלכות הבנת מנגנוני הכניסה והיציאה מהתרדמה על המיזם – ידע רב נצבר בעשור האחרון על מנגנון הכניסה והיציאה מהתרדמה אולם לא הבשיל עדיין לכדי זיהוי סמנים אופרטיבים של כניסה לתרדמה או יציאה מתרדמה. לא נמצא גם מדד אופרטיבי המגדיר באיזו מידה, כמותית או יחסית, התקדמה צבירת הקור ו/או האם הושלמה, ולא נראה שבטווח הקצר והבינוני (עד 6 שנים) ניתן יהיה לפתח מדדים כאלה. בנושא שבירת תרדמה יזומה, הידע שנצבר מציע כי בטיפולים שוברי תרדמה רבים, פיזיקלים וכימיים, מופעלת עקה נשימתית המובילה לשינוי מאזן הורמונלי המעורב בבקרת התהליך אולם אתרי המטרה המבוקרים על ידי חומרי צמיחה המשרים תרדמה והתעוררות עדיין לא זוהו. מכאן עולה שע"פ הידע המנגנוני הקיים, שהוא מוגבל, ניתן היום להציע כשוברי תרדמה אלטרנטיביים טיפולים משבשי נשימה ואו טיפולים בחומרי צמיחה.

כיוונים חדשים לשבירת תרדמה והאחדת התעוררות וכאלה שנזנחו – בגפן הוכח כי טיפול בחום מפעיל את אותו מסלול ארועים המופעל על ידי נתקי נשימה, אופיין אופטימום טמפרטורה וזמן חשיפה להשראת התעוררות על ידי שוק חום ופותח אב טיפוס ליישום ממוכן של שוק חום המוביל להתעוררות בכרם (Ophir et al., 2009; Halali et al., 2011;). במחקר אחר מפותחים כלים ליישום מסחרי של הטכנולוגיה בכרם מאכל. מחקר ראשוני הראה כי גם במשמש, דובדבן, ותפוח הוביל טיפול חום דומה לשבירת תרדמה יעילה (Or et al., unpublished).

טיפול במעכב סינתזת ג'יברלינים (פקלובוטראזולף, PAC) לריסון צמיחה וגטטיבית במהלך עונת הגידול הוביל להקדמה ושיפור ברמת ההתעוררות (Erez., 1986). נמצא גם כי צמיחה נמרצת מגבירה את דרישות הצינון והגבלת הצימוח עשויה לשפר התעוררות (Saure 1985).

מבנה הנסיונות ושיטות המחקר

גפן משמשת כצרכן קריטי של אלטרנטיבות לשבירת תרדמה מחד, וכחלוץ לאיתור חלופות עתידיות לשימוש בנשירים בנוסף. כל הנסיונות המתוארים בהמשך נערכים בכרמי Early Sweet מבקעת הירדן ואזור גזר בשלב הראשון. טיפולים יעילים יבחנו בהמשך במתכונת דומה בזנים סופיריור וסולטנינה באזורי לכיש, ערוגות וזכרון. טיפולי טרום תרדמה נערכו אחת לשבוע מאמצע ספטמבר עד אמצע נובמבר. טיפולים לשבירת תרדמה במערכת מודל ייחורים נערכו אחת לשבוע מאמצע נובמבר עד אמצע ינואר. טיפולים בשלבי התעוררות נערכו מאמצע דצמבר עד אמצע פברואר (חפיפה בין מחצית דצמבר למחצית ינואר עם תקופת נסיונות לשבירת תרדמה מכוונת, נובעת משונות בפרופיל מעגל תרדמה בין שנים ותשקל בכל ניסוי לגופו).

מבנה נסיונות מודל ייחורים: נדגמו זמורות לאורך שלוש שורות בכרם. נחתכו לייחורים חד פרקיים שיעורבבו. 10 קבוצות בנות 10 ייחורים מכל אתר טופלו בכל מועד והוכנסו להמרצה בתא מבוקר בתנאים של 23 מ"צ ו-14 שעות תאורה. נספרו הפקעים המתעוררים לאחר 3, 10, 14, 18, 21 יום ממועד הטיפול וחושבו קצב ואחוז התעוררות.

מבנה נסיונות שדה בשנה ראשונה: 3 או 4 חזרות של 3 גפנים לכל טיפול בכל מועד בשני אתרים (בקעת הירדן, פתחיה). לכל גפן נספרו כלל הפקעים ופקעים מתעוררים ממועד הצצת פקע ראשון במשך כ- 4 שבועות עוקבים וחושבו קצב התעוררות ואחוז התעוררות. נספר מספר התפרחות לאחר 6 שבועות ממועד ההצצה וחושב % פוריות בהתייחס למספר הפקעים המתעוררים.

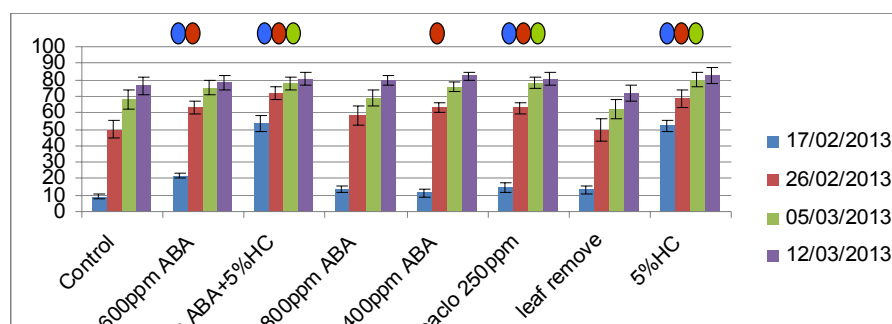
סטטוס תרדמה: עבור כל כרם שהשתתף בניסוי נמדד סטטוס התרדמה מדי שבוע בין מחצית ספטמבר למחצית פברואר (10 קבוצות של 10 ייחורים נדגמו והומרצו כמתואר מעל).

פרק א: השפעת טיפולים סתויים על התעוררות פקעי גפן בסוף החורף

השערת העבודה היא כי הקדמת כניסה לתרדמה עשויה להשפיע על מועד יציאתה של המריסטמה מתרדמה. סיבה אפשרית אחת שניתן להעלות היא הארכת פרק הזמן בו נחשף הפקע הרדום לקור. הארכה כזו תהיה אפקטיבית רק במידה שיש חפיפה בין תקופת התרדמה שנוספה להתקררות (דהיינו טמפרטורות נמוכות באוקטובר-נובמבר). סיבה אפשרית אחרת היא שיבוש תהליכים ביוכימיים החשובים לכניסה מקסימלית לתרדמה (דוגמת שינויים אפיגנטיים מחזוריים שמעורבותם בתרדמה מועלית בספרות בשנים האחרונות) שיכול להוביל להפחתת הדרישה למנות קור.

תוצאות מקדימות:

לבחינת האפשרות שהקדמת כניסה לתרדמה תשפר ההתעוררות, אם על ידי הארכת משך החשיפה לקור או בדרך אחרת, נבחנו השפעת ריסוס ב-ABA ובמעכב סינתזת GA (פקלובוטראזול, PAC) על עומק התרדמה ועל ההתעוררות. נסיון ראשוני בבקעת הירדן ב-800 ח"מ ABA נערך בסתיו 2011, הוביל לשילוך עלים והראה שיפור התעוררות. על בסיס זה נערכו נסיונות בסתיו 2012 בבקעת הירדן ובפתחיה (20 לאוקטובר ו-5 בנובמבר) ושילוך ידני הוכנס כבקורת. מלבד היותו בקורת הועלתה האפשרות שישמש לטיפול – זאת על בסיס ההצעה שמאחר שהעלים משמשים כחיישנים של אורך היום, הסרת עלים יכולה להובילה למניעת/שיבוש/עיכוב כניסה לתרדמה למרות התקצרות היום או להגבלת עומק התרדמה. בבקעת הירדן לא נמצאה השפעה ל-ABA ושילוך ידני שיפר התעוררות חורפית. בפתחיה נמצא כי (1) שילוך ידני לא נבדל מבקורת (2) ריסוס עלוותי ב-800 ו-1200 ח"מ שניתנו בנובמבר הקדימו התעוררות בהשוואה לבקורת (3) ריסוס עלוותי במעכב סינתזת ג'יברלין (250 ח"מ) הקדים התעוררות בקורת בשני מועדי הטיפול. מובאים נתונים מהנסיון מה-5 לנובמבר(איור 3).



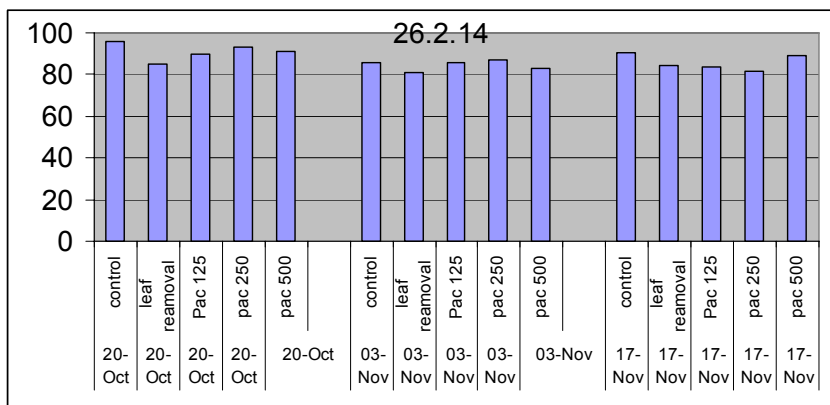
תמונה 1: בחינה של השפעת טיפול סתווי ב-ABA, פקלובוטראזול ושילוך ידני על התעוררות. הטיפולים נערכו ב-5 לנובמבר, 5 חזרות בנות גפן בשלושה בלוקים. בסוף ינואר נזמרו הגפנים ומלבד קבוצת בקורת אחת וקבוצת גפנים שטופלה בסתיו ב-800 ח"מ ABA שרוססו ב- HC (5%) לא נערך טיפול נוסף. התעוררות הפקעים נוטרה אחת לשבוע.

על בסיס הידע שתואר בחרנו להתרכז בגפן בשילוך ובעיכוב סינתזת גיברלין.

שילוך סתווי: השפעת שילוך גפן על שיפור התעוררות שדווחה ב'תוצאות הקדמיות' לא היתה יציבה, אולי בגלל שונות במועד ההתערבות. על מנת לברר את ההשפעה של שילוך ללא חשש מאפקט זר של חומרים משלכים נבחנה בשנה הראשונה השפעת שילוך ידני.

יישום סתווי של מעכבי סינתזת GA: מן התוצאות ההקדמיות נראה כי שיפור בהתעוררות בתגובה ליישום סתווי של פקלובוטראזול (PAC), אולי משום שמעודד כניסה למעגל תרדמה שראשיתו בעיכוב צימוח.

לאישוש התוצאה שהוצגה בתוצאות ההקדמיות ואיתור המועד והריכוז האופטימלי ליישום נערכו נסיונות זהים ב-20 לאוקטובר / 3 לנובמבר/17 והוצבו בשלושה בלוקים לאורך שורה בכרם ארלי סוויט בפתחיה. בכל בלוק שלוש חזרות רצופות של גפן יחידה לכל טיפול. הטיפולים כללו שילוך עלים ידני, ריסוס בפקלובוטראזול 125 ח"מ, 250 ח"מ ו-500 ח"מ עם משטח-טריטון 0.02% ובקורת שרוססה בטריטון בלבד. מן התוצאות נראה שלא היתה השפעה ממריצת התעוררות לאף אחד מהטיפולים. מכך מוסק כי בתנאי אזור הבחינה לשילוך עלים סתווי אין כל השפעה ממריצת התעוררות בסוף החורף על בסיס שתי עונות בחינה.



תמונה 2: % התעוררות שתועד ב-26 לפברואר 2014 בנסיון לבחינת השפעת שילוך ידני וריסוסי PAC סתויים. מוצג ממוצע מ-3 בלוקים. תוצאות דומות התקבלו מתייעוד התעוררות ב-13 לפברואר. לפרטים ראה איור 1 והסבר שיטת עבודה מעל.

באופן מעניין, מנסיון שילוך גפנים דומה בתחנת המחקר בבקעת הירדן דווח על להקדמת התעוררות בהשוואה לבקורת וקיימת אפשרות שבבקעת הירדן בה נשירת העלים הטבעית מאוחרת יותר וההשקיה מופסקת מאוחר יותר.

תגובת הגפן לשילוך עלים שונה מזו שבשפלת החוף. לפיכך, יכול להיות שניתן יהיה להשתמש בטיפול באופן מקומי בבקעת הירדן אולם לא סביר שהוא יהיה אפקטיבי באזורים אחרים.

פרק ב: טיפולים לשבירת תרדמה

2.1 עקות אלטרנטיביות: נתקי נשימה דוגמת ציאנמיד, אזיד, ציאניד, DNOC, דינוקאפ וגם תנאים אנארוביים וחום משרים עקה נשימתית. נראה כי יכולת זו עומדת בבסיס תפקודם כשוברי תרדמה והוצע כי הם מהווים טריגר לשפעול שינויים במאזן בין חומרי צמיחה המוביל להסרת עיכוב תהליכי חלוקה והתארכות תאים ולעידוד צמיחת המריסטמה. בשל שימור תפקודי המיטוכונדריה בחינה של נתקי נשימה חליפיים אינה מומלצת מחשש פן יפסלו בשל טוקסיות לסביבה. לחלופין חשבו שראוי לבחון שימוש בתכשירים ואמצעים להשראת עקה שהסיכוי לפסילתם נמוך ו/או הם ידירותיים לסביבה.

תכשירים חנקניים. ידועה מזה שנים השפעתם המעוררת של דשנים חנקניים, דוגמת אמון חנקתי, קלציום אמוניום ניטרט וחנקת אשלגן על התעוררות נשירים. ידועה גם השפעת אמוניה על נשימה ובין היתר הוראה כי היא מגבירה פעילות גליקוליטית ופירוק עמילן (כמו שנמצא לגבי ציאנמיד) ומגבירה מצוקה אנרגטית עקב ירידה משמעותית ביחס ATP/ADP.

לאור ההשפעה של אמוניה על נשימה וחוסר האפקטיביות של חנקות שונות בשיפור ההתעוררות בגפן (Hopping 1977) נזנחו החנקות, ובחרנו לבחון לחלופין השפעתם של מלחי אמוניה (אמוניום ניטרט, אמוניום פוספט, מונואמוניום פוספט (MAP), אמוניום סולפט, אוריאה אמוניום ניטרט (UAN), אמוניום תיוציאנט ואמוניום אצטט על התעוררות פקעי גפן, תוך נסיון לשפר את יעילותם על ידי שיפור חדירתם באמצעות ארמוברייק.

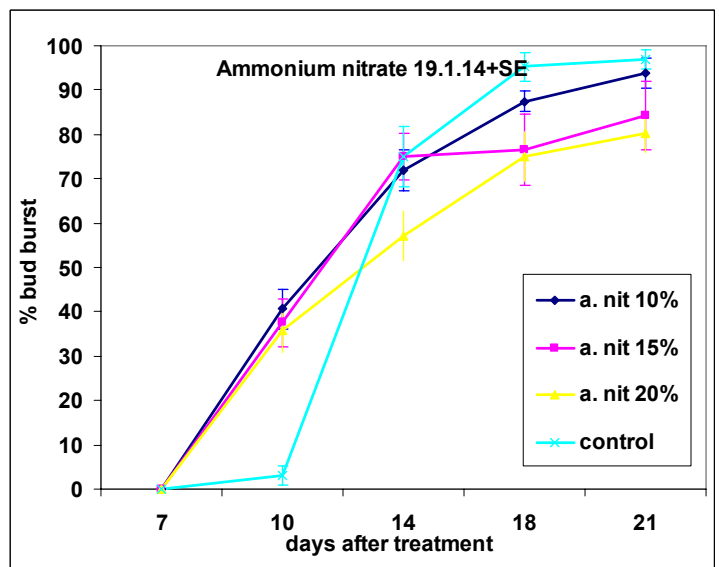
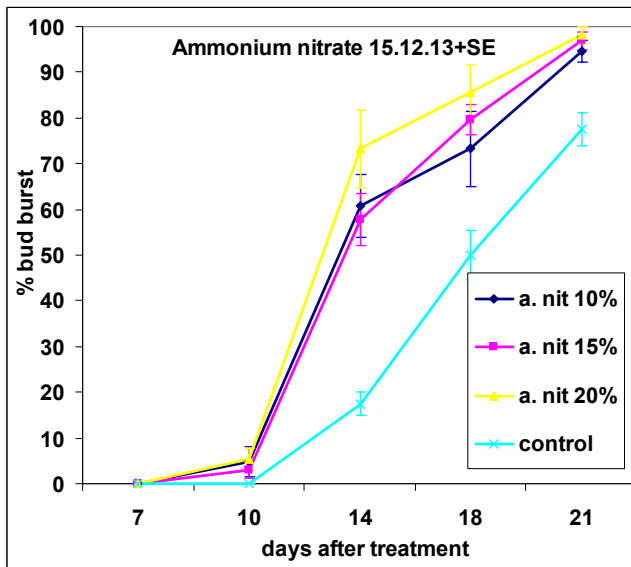
הנסיונות נערכו אחת לשבוע בין ה-17 לנובמבר ועד ל-19 לינואר. נבחנו שישה דשנים: אמוניום ניטרט (חיפה כימיקלים), מונו אמוניום פוספט (חיפה כימיקלים), אמוניום סולפט (חיפה כימיקלים), אמוניום אצטט (סיגמה), אוריאה אמוניום ניטרט ("גת כימיקלים" אוראן 32%) ואמוניום תיאוציאנט (סיגמה).

בתחילת הנסיון כל דשן נבחן בשלושה ריכוזים: 10%, 15%, 20%, כשבכל ריכוז טופלו 9 קבוצות של 8 יחורים. השתמשנו בארמוברייק (2%) כמשטח. בטיפול של 15% השתמשנו במקביל בטרטון כמשטח (0.025%). היחורים טופלו על ידי טבילתם בתמיסות והועברו לחדר גידול. 9 קבוצות הביקורות טופלו במים+ארמוברייק/ טריטון בלבד. על בסיס תגובה טוקסית בשבועות קודמים, ממחצית דצמבר שונו הריכוזים ו-UAN ואמוניום תיוציאנט נבדקו ב-0.5/1/2.5/5/10%. ובחלק מהמקרים גם ב-7.5% ו-2.5% X2 (שני טיפולים בהפרש של 24 שעות).

טיפולים ב אמוניום פוספט, מונואמוניום פוספט (MAP), אמוניום סולפט ואמוניום אצטט לא הובילו לשיפור התעוררות ייחורים בהשוואה לביקורת באף אחד ממועדי הבדיקה ולכן הנתונים אינם מובאים.

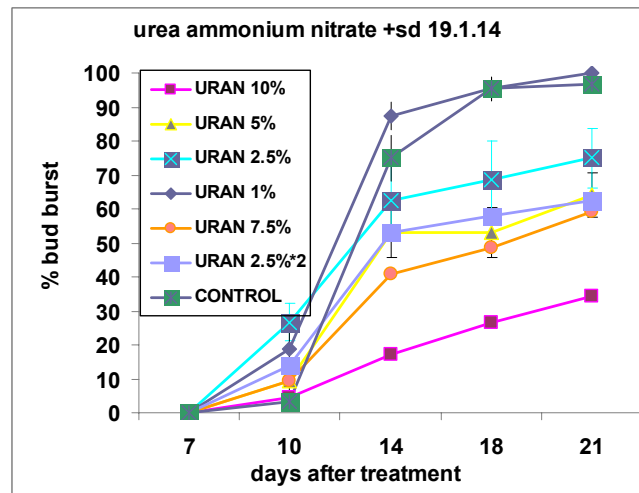
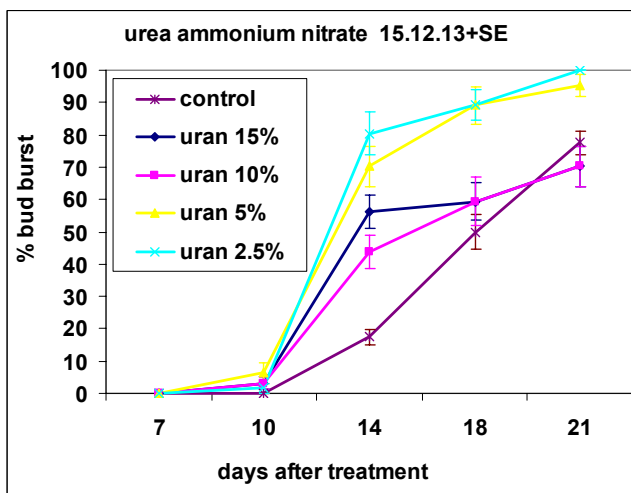
לעומת זאת טיפולים באמוניום ניטרט, אוריאה אמוניום ניטרט ואמוניום תיוציאנט השפיעו באופן מובהק על התעוררות הייחורים, בהשוואה לביקורת ומובאים נתונים מייצגים מתאריכי בדיקה נבחרים- בד"כ משלב של שיא עומק תרדמה ושלב נוסף מאוחר יותר בו יורד עומק התרדמה.

לטיפול באמוניום ניטרט ששולב עם ארמוברייק (תמונה 3) היתה השפעה מובהקת על הקדמת התעוררות בשלושת הריכוזים שנבחנו בין 10% ל-20% ומירב השפעתו החיובית היתה במהלך דצמבר –זאת בעיקר משום שיותר מאוחר היתה התעוררות טובה של הבקורת. גם בשלב שלאחר שיא תרדמה התקבלה התעוררות מצויינת שמעידה על בטיחות הטיפול אם כי ניתן לראות שב-20 לינואר ריכוזים של 15% ו-20% נפלו מריכוז של 10% -נתון המצביע על פוטנציאל נזק בריכוזים גבוהים במועדים מאוחרים (אין לגזור לגבי מועד מטיפול בייחורים-בכרם מחצית ינואר הוא מועד בטוח מנסיונו ורק ממחצית פברואר –לקראת התעוררות טבעית-יש עלייה ברמת הסיכון שיש להתחשב בה.



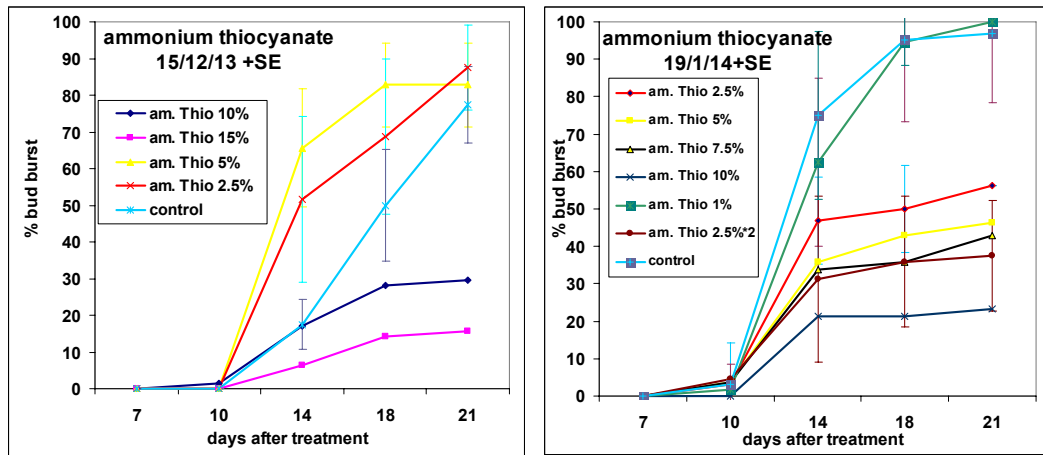
תמונה 3: השפעת טיפול באמוניום ניטרט בריכוזים שונים על התעוררות ייחורים שנדגמו בכרם בשיא תרדמה ועם היציאה ממנה. לפרטים לגבי שיטת העמדת ניסוי ראה טקסט מעל.

לטיפול באוראן בריכוזים שבין 10-20% היתה השפעה מזיקה גם בשיא עומק התרדמה (תמונה 4) ולאור ההתנהגות הדומה של HC הערכנו כי זהו סימן ליעילות פוטנציאלית ברמות מופחתות. לאחר שעמדנו על דפוס ההתנהגות ירדנו בריכוז וטיפלנו בריכוזים שבין 1-5%. ב-15 לדצמבר-שיא התרדמה – ריכוזים של 5 ו-2.5% הראו התעוררות מצויינת. ב-19 בינואר הודגמה עלייה ברגישות וריכוזים שמעל 1% גרמו לנזק יחסית לבקורת שדגם התעוררותה מסביר את העלייה ברגישות.

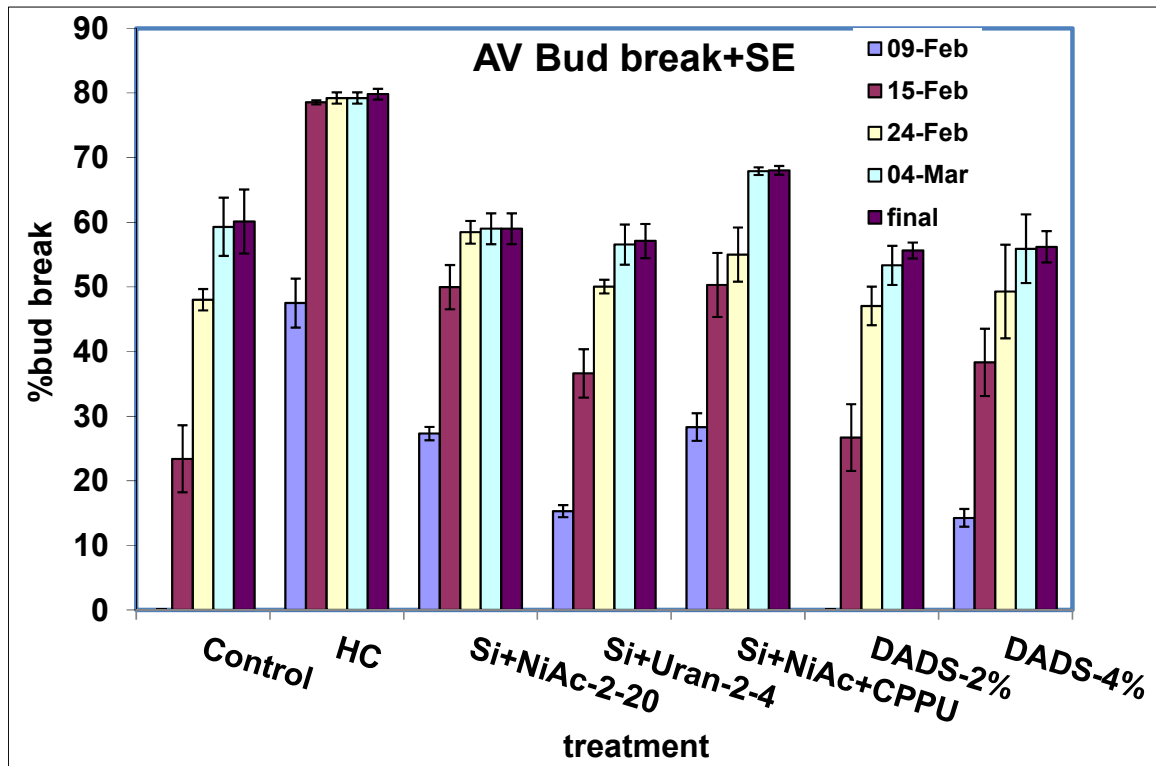


תמונה 4: השפעת טיפול באוריאה-אמוניום-ניטרט בריכוזים שונים על התעוררות ייחורים שנדגמו בכרם בשיא תרדמה ועם היציאה ממנה. לפרטים לגבי שיטת העמדת ניסוי ראה טקסט מעל.

גם לאמוניום תיציאנאט היתה השפעה טוקסית בריכוזים גבוהים, והשפעה מעודדת בריכוזים נמוכים יחסית (2.5-5%) בשלבי תרדמה עמוקה (מחצית דצמבר) ונזק בריכוזים העולים על 1% בסוף מעגל התרדמה.



תמונה 5: השפעת טיפול באמוניום תיציאנאט בריכוזים שונים על התעוררות ייחורים שנגדמו בכרם בשיא תרדמה ועם היציאה ממנה. לפרטים לגבי שיטת העמדת ניסוי ראה טקסט מעל.



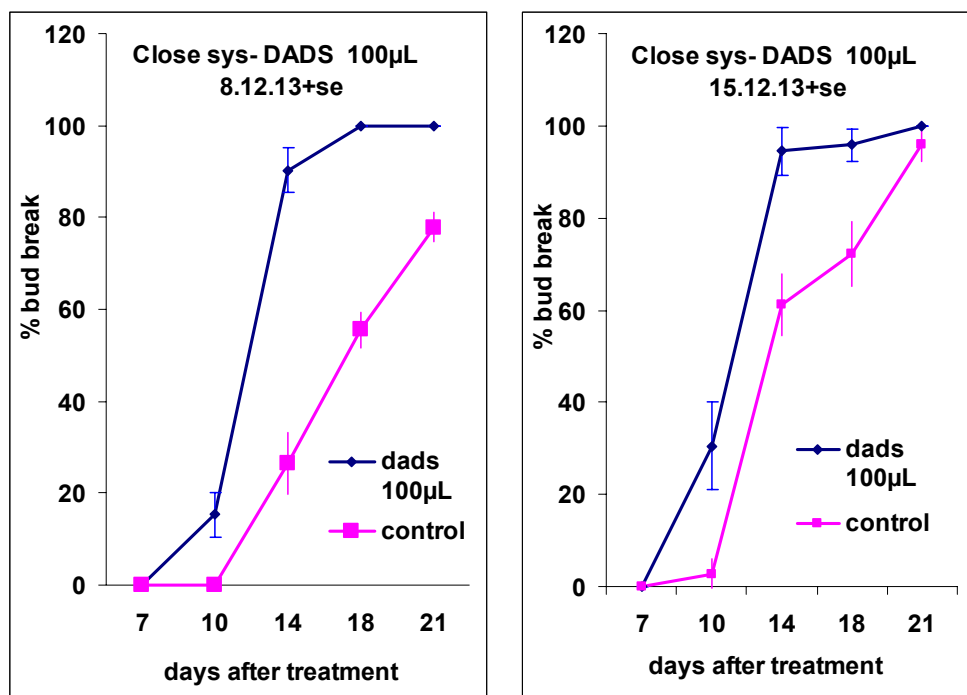
תמונה 6: ניסיון שדה ראשוני לבחינת השפעת טיפולים בתכשירים חנקניים על התעוררות גפנים בכרם בארגמן. לפרטי הניסוי ראה טקסט.

במקביל לנסיונות שנעשו עם ייחורים, ולפני שניתן היה ללמוד מהם, נבחנה במחצית ינואר על גפנים שלמות בכרם בבקעת הירדן השפעת תכשיר מסחרי המכיל אמוניום ניטרט (סינכרון-ניטרואקטיב-תכשיר שיובא על ידי גדות-אגרו ומבוסס על שילוב אמוניום ניטרט-ניטרואקטיב- עם תכשיר החדרה ייעודי-סינכרון) ובמקביל לה נבחן באופן הקדמי טיפול באוראן. הניסיון נערך בארבעה בלוקים על פני שלוש שורות (1 דונם סה"כ) – בכל בלוק היו 3 חזרות של גפן שלמה לכל טיפול. נבחנו חומרים מבוססי אמוניום, DADS וחומרי צמיחה. תוצאות חומרי צמיחה יידונו בפרק הרלוונטי אולם תאור הניסיון

מובא בשלמותו: החומרים והשילובים שנבחנו היו (1) בקורת (טריטון), (2) דורמקס (5%), (3) TDZ (ציטוקינין סינטטי, 250 ו-500 ח"מ) (4) CPPU (ציטוקינין סינטטי, 250 ו-500 ח"מ), (5) BA (ציטוקינין טבעי, 250 ו-500 ח"מ), (6) סופרפרלון (שילוב GA3 ו-BA 100 ו-250 ח"מ), (7) סינכרון-ניטרואקטיב (SiNi; 2% ו-20%, בהתאמה), (8) סינכרון+ אוראן (2% + 4% בהתאמה), (9) סינכרון-ניטרואקטיב+ ריסוס CPPU (250 ח"מ) שבועיים לאחר מתן SiNi, (10) DADS (2%, 3%, 4%), (11) GA (10 ו-100 ח"מ), (12) NAA (500 + 1500 ח"מ). פריצת פקעים בטיפול דורמקס ששימש כבקורת חיובית ומספר טיפולים אפקטיביים אחרים החלה לאחר כשלושה וחצי שבועות וממועד זה נספרו כלל הפקעים המתעוררים בגפן אחת לשבוע וחולקו במספר הפקעים הכולל למתן % התעוררות.

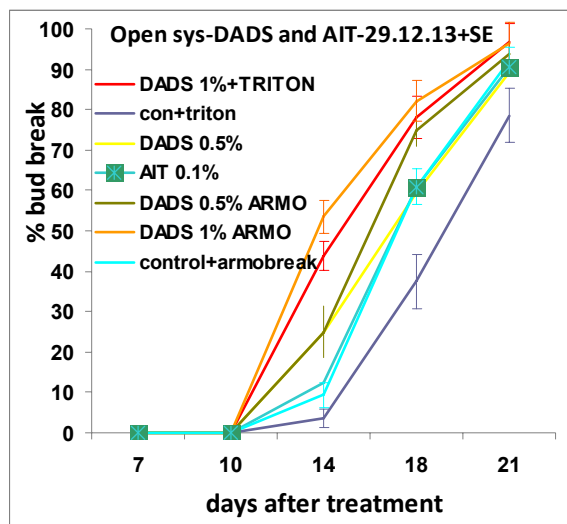
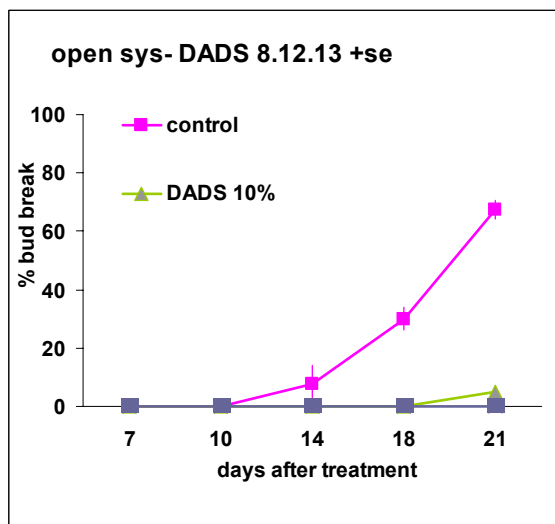
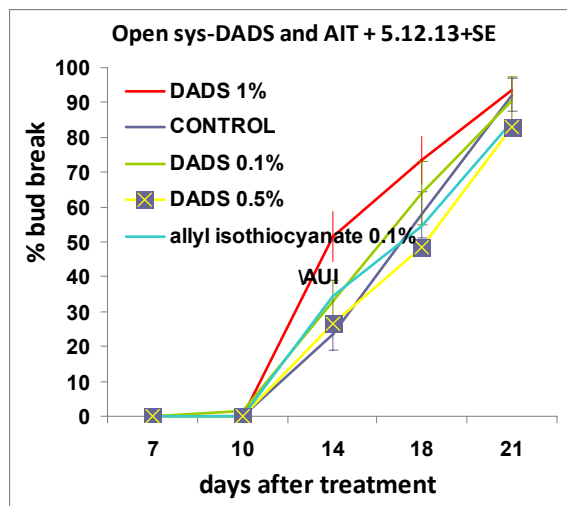
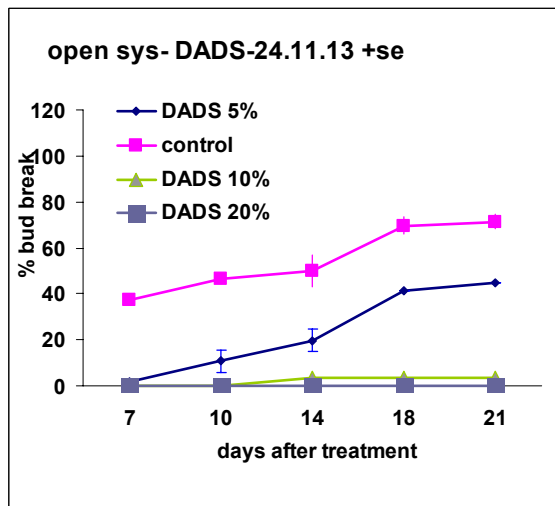
בתמונה 6 ניתן לראות כי טיפולים בסינכרון+אקטיב, סינכרון+אוראן הקדימו כולם את התעוררות הבקורת (ראה עמודות בצבע תכלת מה-9 לפברואר) אם כי נפלו מביצועי ציאנמיד גם בקצב וגם באחוז ההתעוררות הסופי. למרות שאין בתוצאות אלו בשורה סופית מדובר בהישג ראשוני המעיד כי לטיפולים בתכשירים חנקניים יש פוטנציאל הקדמת התעוררות שמחייב כיוול. אחד הממצאים המעניינים היה כי ריסוס בציטוקינין שבועיים לאחר טיפול בסינכרון+אקטיב שיפר את אחוז ההתעוררות והביא אותו לרמה הקרובה ביותר (כ-70%) בהשוואה לטיפול בדורמקס. באותו מועד נערכו גם טיפולים הורמונליים שונים והם יידונו בהמשך הדו"ח. השפעת הטיפולים על פוטנציאל היבול (מספר תפרחות לגפן) תועדה ומובת בהמשך הדו"ח.

שימוש בתוצר פירוק של אליצין משום. על בסיס פרקטיקה הנקוטה ביפן מספר עשורים, תועדה במספר עבודות שבירת תרדמה יעילה של פקעי גפן באמצעות מצוי משום, וזוהו החומרים הפעילים שהם כימיקלים נושאי סולפור וקבוצת אליל, ביניהם דיאליל דיסולפיד ודימתיל דיסולפיד, שמוצאם באליצין. בהמשך הוראה בנסיונות ראשוניים כי שימוש ב-SMCSO (S-methyl cysteine sulfoxide), חומר הנמצא באופן טבעי בצמחים ממשפחת הכרוביים וגם בשום ובצל, ובתערובת נדיפים שהתקבלה ממנו (וכללה דימתיל דיסולפיד) הובילו לשבירת תרדמה שהיתה אפקטיבית בדומה או מעל לציאנמיד חומצי (Kubota et al., 1992, Vargas-Arispuro et al., 2008; Hosoki, 1995; Edmands et al., 2013; 1999, 2000, 2003). להבנתנו מדובר בפוטנציאל ליישום חומר המשלב אפקטיביות וידידותיות. בשנה הראשונה נבחנה השפעתן של תמיסות דיאלילדיסולפיד (DADS) (ושמן חרדל (AIT-אליל איזו תיוציאנט) במערכת הייחורים החד פרקיים בגפן.



תמונה 7: השפעת DADS על התעוררות פקעי ארלי סוויט במערכת סגורה.

בסט אחד של נסיונות , 9 קבוצות של 8 ייחורים הוכנסו לצנצנות 0.75 ל' המכילה 150 מ"ל מים. הטיפול (100 מיקרוליטר מכל חומר) טופטף על נייר שהודבק לחלקו העליון של המכסה. הצנצנות נסגרו ל48 שעות והועברו לחדר גידול. הביקורת נסגרה עם מים בלבד. ב-8 לדצמבר ואילך שונו נבדקו בנוסף טיפולים עם שלוש רמות DADS בצנצנת- 50/100/200 מיקרוליטר. בטיפולים שניתנו במערכת צנצנות סגורה היה ל-DADS יתרון מובהק ובולט ב3 הריכוזים שנבחנו, בהשוואה לבקורת, לאורך כל העונה ובתמונה 7 מודגמת השפעת טיפול ב-100 מיקרוליטר בתחילת ובאמצע דצמבר. תוצאות דומות התקבלו בנקודות נוספות במעגל התרדמה. טיפולים במערכת הסגורה בריכוז גבוה של AIT (25, 50, 100 מיקרוליטר לצנצנת) מביאים לפגיעה קשה ב-% ההתעוררות, ורמות נמוכות יותר (ait 1µL/2.5 µL) שנבדקו רק מה29/12 הובילו לשיפור בהתעוררות בהשוואה לבקורת אך נפלו במעט מהישגי DADS.



תמונה 8: השפעת טיפולים ב-DADS ו-AIT על התעוררות פקעי ארלי סוויט במערכת פתוחה.

בסט שני של נסיונות נבדקה השפעת טבילה ב-DADS ו-AIT. בתחילת הנסיון נבחו כל אחד בשלושה ריכוזים שונים: 20%, 15% ו-5%. נטבלו 9 קבוצות של 8 ייחורים לכל חומר בכל ריכוז עם טריטון כמשטח (0.025%) + בקורת מטופלת במים+טריטון בלבד. לאחר הטיפול הועברו הייחורים לכלים עם מים בחדר גידול מבוקר. על בסיס תגובה טוקסית במספר נסיונות ראשוניים (ראה השפעה של 10% ב-8 לדצמבר בתמונה 8 שמאל) שונו הריכוזים בניסוי הטבילה לאחר ה-8 לדצמבר ו-DADS ו-AIT נבדקו בנוסף בריכוזים של 0.1/0.5/1/2.5/5%. AIT בריכוז גבוה מ-0.1% (נבדק רק עד ה-29.12.13) פגע בייחורים, ויש לבדוק טווח ריכוזים נמוכים של 0.1-0.75% לאורך העונה כולה.

טיפולים ב-DADS בריכוזים של 5/10/20% נמצאו טוקסיים לאורך העונה כולה ובמחצית ינואר נמצא כי גם ריכוזים נמוכים יותר- 1.75% ו-2.5% מביאים לפגיעה. הריכוז שהביא לתוצאות הטובות ביותר לאורך העונה היה 1% והשפעתו מודגמת בטיפול שנערך בסוף דצמבר (תמונה 8-ימין). ריכוזים נמוכים יותר נבדקו בטווח תאריכים קטן: 0.1% ב-8, 15.12.13 ו-0.5% ב-19.1.14 ולא הראו ביצועים טובים מ-1% (ראה נתונים מסוף דצמבר בתמונה 8). טיפול כפול ב-1% בהפרש של 24 שעות לא שיפר את ההתעוררות. לקראת סוף דצמבר-כאשר התבררה יעילותם של ריכוזים נמוכים של DADS הושוותה השפעת השילוב עם שני משטחים-טריטון וארמוברייק. בתמונה 8 ניתן לראות כי טיפול שניתן עם ארמוברייק עלה על זה שניתן עם טריטון בחלק מנקודות הזמן אם כי במידה מוגבלת בהשוואה לשיפור שהתקבל בטיפול בארמוברייק בטיפולים החנקניים.

בטיפול שנערך בחממה במחצית ינואר על 6 גפנים שלמות בדליים (3 גפנים טופלו ב-DADS 2% ו-3 גפנים שימשו כביקורת) נצפתה התעוררות טובה ואחידה יותר בגפנים המטופלות ובתמונה 9 ניתן לראות גפן מטופלת (משמאל) וגפן בקורת (מימין)

תמונה 9



תמונה 9 : השפעת ריסוס ב-DADS 2% (0.025% טריטון כמשטח על גפנים שלמות בדליים בתנאים מבוקרים (27 מ"צ בחדר גידול))

ב-15 לינואר 2014 נבחנה באופן הקדמי ומוגבל השפעת DADS על גפנים שלמות בכרם בבקעת הירדן. על בסיס העבודה במעבדה הטיפול לווה בחשש מנזק משום שנערך לפני שהיו תוצאות מעבודה עם ריכוזים נמוכים במועדים המתוארים

מעל. טיפולים נערכו בריכוזים שבין 1-4% והיעילות עלתה עם הריכוז. ריכוז של 4% DADS עם טריטון כמשטח הקדים התעוררות בשני מועדי הספירה הראשונים בהשוואה לבקורת (תמונה 6) אם כי אין בכך עדיין משום הישג מספק חקלאית. יחד עם זאת אין ספק שלחומר יש פוטנציאל מאד מבטיח (ולקצרי הרוח- נסיונות בריכוז גבוה יותר בשילוב עם ארמבורייק נתנו תוצאה לא פחות ממדהימה בנסיונות החורף הנוכחי שעדיין לא הסתיימו וידווחו בדו"ח הבא-אז מתקדמים ויש למה לצפות....)

טרפנים. יכולתם של שמן מנתה ושמן עץ התה למנוע התעוררות פקעים (בריכוזים גבוהים) ולעודד התעוררותם (בריכוזים מאוד נמוכים) הוכחה בפקע תפ"א שהן גבעולים מעובים הנושאים ניצנים המצויים בתרדמה פיסולוגית סמוך למועד האסיף (Teper-Bamnlker et al., 2010). נסיון שדה ראשוני בכרם בארגמן בבקעת הירדן ב-2013 (בין 1% ל-5% טימורקס המכיל 24% שמן עץ התה) לא הביא לשיפור התעוררות. לאור היישום היחיד, הקריטיות של הריכוז והאפשרות לאפקט הופכי חשובה בחינה יסודית של סקלת הריכוזים במערכת מודל של ייחורים לבחינת פוטנציאל ההשפעה של חומרים אלו לפני הפיתוח של פורמולציות מתאימות וטיפול בגפנים שלמות בכרם. על פי הידע הקיים הפעולה שוברת התרדמה מבוססת ככל הנראה על חשיפה ממושכת למינון נמוך. השראת לבלוב מוקדם של פקעות תפ"א חייבה את חשיפתם ליישום מתמשך של שמנים אלו במינון נמוך של מיקרוליטרים בודדים לליטר אויר חופשי במיכל סגור בעוד שריכוזים של עשרות מיקרוליטרים היו בעלי אפקט מעכב. לפיכך חשבנו לבחון ראשית את ההשפעה של יישום מינון נמוך ומתמשך (מספר ימים) על הייחורים שייסגרו במיכלים אטומים. השפעה חיובית תצדיק פיתוח פורמולציה המאפשרת שחרור מבוקר של החומר הפעיל בתנאי המטעכרם (אפשרי וקיים עבור שמן עץ התה).

בשנה הראשונה נבדקו 3 שמנים: שמן מנטה, שמן עץ התה ו-X. כל אחד בשלושה ריכוזים 0.75, 7.5, 75 מיקרוליטר לצנצנת בנפח 750 מ"ל. 6 קבוצות של 10 יחורים שימשו לכל שמן בכל אחד מהריכוזים. כל 3 קבוצות הוכנסו לצנצנת (שתי צנצנות לטיפול) בנפח 0.75 ליטר המכילה 150 מ"ל מים. לכל צנצנת הודבקה פיסת נייר על צידו הפנימי של המכסה ועליה טופטפו השמנים במינונים השונים. 2 ביקורות (בכל אחת 6 קבוצות): האחת הוכנסה לצנצנת לא מטופלת (מכילה מים בלבד) והשנייה הכילה חומר סופח אתילן (המסת 34.75 גר פוטסיום פרמגנט 0.1 ל' ומים וספיחת התמיסה בוורמקוליט. מילוי מבחנת 50 מ"ל מחוררת בוורמקוליט והכנסתה לצנצנת). הצנצנות הועברו לחדר גידול ונסגרו 4 ימים, כשבכל יום נפתחו לשעתיים שבסופן חודש הטיפול בשמן. בתום 4 ימים הוצאו הייחורים והועברו לכלים פתוחים עם מים.

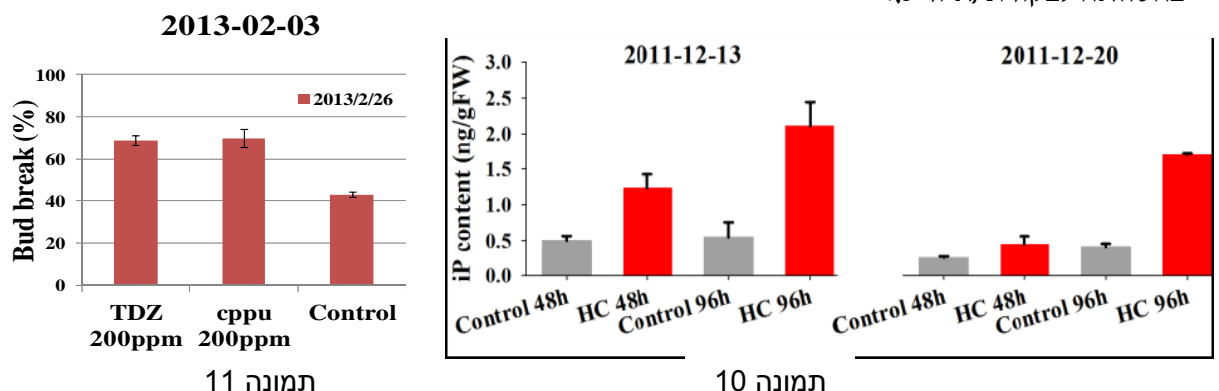
בכל הנסיונות המדווחים לא נמצאה השפעה מעודדת של הטרפנים על התעוררות הפקעים ולכן הנתונים אינם מובאים.

פולימרים מתפרקים. על בסיס ההבנה שתנאים אנארוביים מעודדים שבירת תרדמה הועלתה האפשרות להשתמש בפולימרים שמונעים חדירת חמצן מחד ומתכלים מעצמם מאידך לריסוס הגפן השלמה על מנת לייצר מעטפת שתאפשר השראה זמנית של תנאים אנארוביים. מוכרות ונמצאות בשימוש נגזרות בעלות חדירות נמוכה לחמצן של צלולוז, שהוא רב הסוכר הנפוץ ביותר בין הפולימרים הטבעיים. מוצע לבחון השפעתן של מספר נגזרות המייצגות טווח חדירויות, מסיסות וכושר פירוק. נגזרות צלולוז שנבחרו לבחינה הן נגזרות מתיל צלולוז (methyl cellulose; MC) קרבוקסי מתיל צלולוז (carboxy methyl cellulose; CMC), והידרוקסיפרופיל מתיל צלולוז Hydropropyl methyl cellulose (HPMC) שהמודיפקציות שהוכנסו בהן מקטינות את חדירותן לחמצן העומדת על 1-2%, 10% ו-0.1% בהתאמה. בנוסף נבחנה השפעתו של כיטוזן, נגזרת של רב סוכר טבעי נפוץ נוסף בשם כיטין שחדירותה לחמצן דומה לזו של MC (1-2%). לכיטוזן יש פעילות אנטימיקרוביאלית טבעית שעשויה לשמש כערך מוסף בטיפול עתידי. בנוסף ליכולת ההתכלות הביולוגית שלהם, הפולימרים האמורים הם שטיפים בדרגות משתנות, כאשר CMC שטיפי מאד, MC ו-HPMC פחות שטיפים וכיטוזן הפחות שטיפי מכולם (Vergas et al., 2008). דרגת השטיפות היא פרמטר חשוב ליישומות בעונה

גשומה מחד וזמניות רצויה של האפקט האנארובי מאידך. פולימרים אלו נמצאים בשימוש, עלותם הנוכחית המוערכת היא כעשרה דולר ל-50 ליטר תרסיס וסביר שיוזלו אם ימצאו בעלי תועלת ויעלה נפח הדרישה. בשנה הראשונה נבחנה השפעתם של הפולימרים האמורים במערכת מודל של ייחורים בודדים. נבחנו מתיל צלולוז (MC), קרבוקסימתיל צלולוז (CMC), הידרוקסיפרופילמתיל צלולוז (HPMC) וכיטוזן. בכל המקרים הומסו 6 גר מכל של פולימר ב200 מ"ל מים וטופלו בטבילה 8 קבוצות של 10 יחורים לכל פולימר. הייחורים הועברו לכלים שקו המים מסומן בהם (החלק שאינו טבול מכוסה בפולימר), והושלמה באופן יומי רמת המים עד לקו כדי שהפולימר לא ישטף. **בכל הנסיונות המדווחים לא נמצאה השפעה מעודדת של הפולימרים על התעוררות הפקעים ולכן הנתונים אינם מובאים.**

3. טיפולים בציטוקינינים לשחרור מתרדמה /או להאחדת לבלוב לאורך הזמורה/ענף לאחר תחילת תהליכי ההתעוררות:

מתוך הנחה שהירידה ברמת ABA היא חלק משינוי נרחב יותר במערך ההורמונלי שגורם להסרת העיכוב מחד ולעידוד צמיחה מאידך, ועל בסיס התגובה המפתיעה ל-GA, הועלתה אפשרות למעורבות בקר צמיחה חיובי שאינו GA ביחסי גומלין הופכיים עם ABA, וזאת בשונה מהמוכר בזרעים שבהם מקובל לחשוב על GA בתפקיד זה (הנחה זו אינה סותרת קיום תפקיד ל-GA בשלבים מאוחרים יותר). בהתאמה מצאנו כי בצד עלייה ברמת הפרוק של ABA בפקעי גפן ישנה עלייה מובהקת ברמות ציטוקינינים פעילים, בתגובה ל-HC וגם עם תחילת תהליכי ההתעוררות הטבעיים (תמונה 10). ממצא דומה תואר גם בפקעי תפ"א במהלך שחרור (Suttle, 1998, 2001, 2008). נסיון ראשוני לבחינת השפעתם של ציטוקינינים סינטטיים (CPPU ו-TDZ) הראה שיפור ובולט באחוזי ההתעוררות של גפנים שלמות בכרם מסחרי בהשוואה לבקורת (איור 3).



תמונה 10: ריכוז ציטוקינין אנדוגני (איזופנטיל אדנין) בפקעי גפן מטופלים ב-HC ופקעי בקורת. הנתונים מייצגים תוצאות בלתי תלויות משתי עונות שונות. האנליזה נערכה ב-LCMS כמפורט ב-Crane et al., Planta 2012.
תמונה 11: בחינה ראשונית של השפעת ציטוקינינים סינטטיים, CPPU ו-TDZ, על הקדמת התעוררות. 200 ח"מ CPPU ו-250 ח"מ TDZ רוססו על זמורות גפן מהזן ארלי סוויט בפתחיה והושוו לבקורת שרוססה במשטח בלבד (0.025% טריטון). 9 גפנים שמשו כ-9 חזרות וחושב % הפקעים המתעוררים מסך הפקעים.

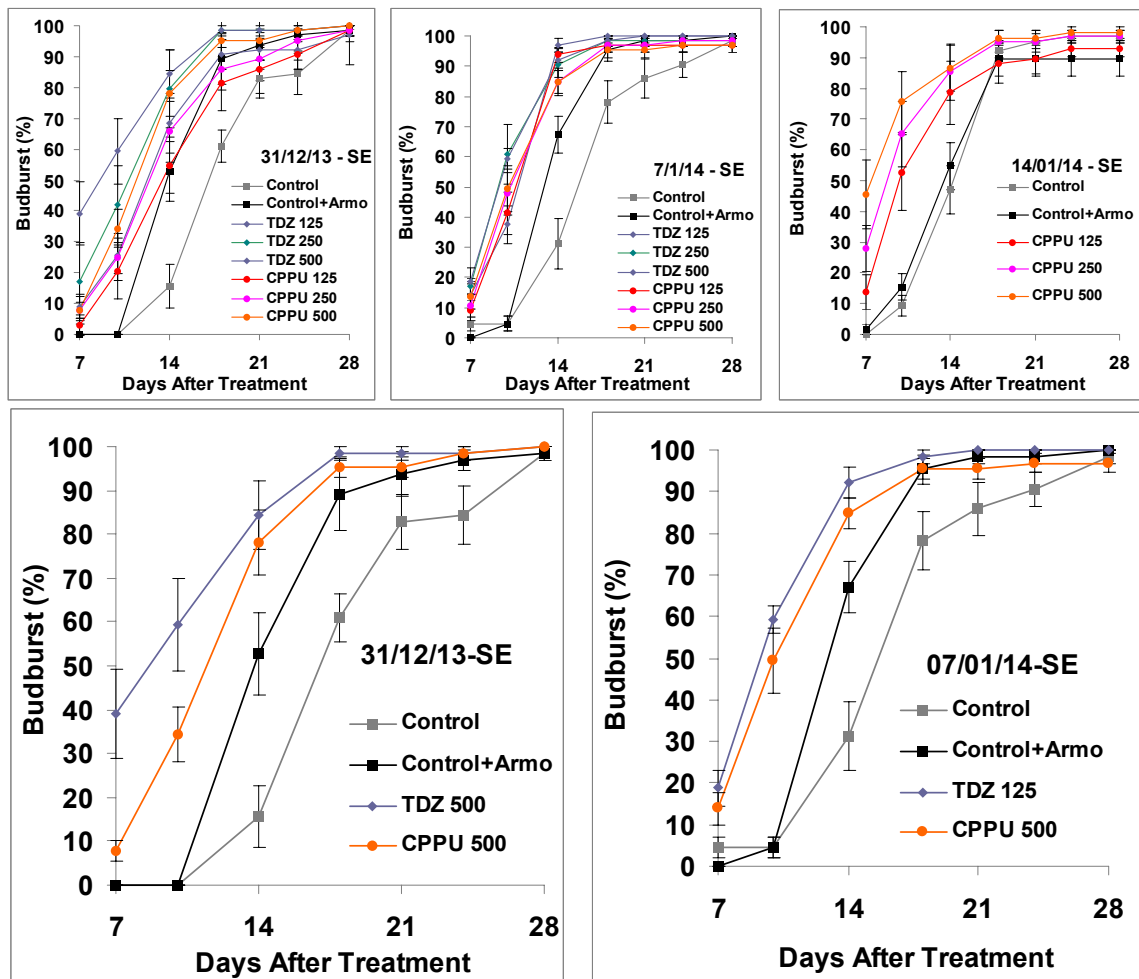
השפעת ציטוקינינים על שבירת תרדמה: על בסיס התוצאות הפרלימינריות שתוארו הועלתה ההשערה כי שליטה בזמניות ציטוקינין עשויה להיות מבוקרת בפקע הרדום על ידי ABA וזמניות ציטוקינין עשויה לשמש כלי מרכזי לבקרת שפעול המריסטמה בפקעים לטרלים בסוף מעגל התרדמה. בתכנית הנוכחית ביקשנו לרתום את הממצא הראשוני לפיו יישום ציטוקינינים סינטטיים, הוביל שיפור מובהק ובולט באחוזי ההתעוררות של גפנים לפיתוח אלטרנטיבה

פוטנציאלית ל-HC. בנוסף לציטוקינינים הסינטטיים, שנבחרו על מנת למנוע פירוק בצמח, רצוי לבחון השפעתם של ציטוקינינים טבעיים דוגמת BA מתוך חשיבה שיהיה קל יותר לקבל אישור לשימוש בהם.

השפעת ציטוקינינים על שיפור אחידות פריצה: תהליכי ההתעוררות מזמנים מצב של תחרות בין מריסטמות לטרליות ואלו המתעוררות ראשונות (ובמקרים רבים קרובות לחדך) מדכאות לבלובם וצמיחתם של מריסטמות שמתחתן ומוביל להתעוררות חסרה ולא אחידה הפוגעת במבנה הגפן ומקטינה את אחוזי פריצת הפקעים. תמיכה ניסויית הציגה כי זרם אוקסין פולרי מהקודקוד מעכב פריצת לטרלים וכי ציטוקינין מעודד פריצת פקעים על הצמח השלם גם ללא קיטום ואו למרות אספקת אוקסין. (Müller and Leyser, 2011; Tanaka et al., 2006). לאחרונה נמצא כי סטרינגולקטון (SL) הוא הרפרסור הישיר של פריצת פקעים לטרליים וכי ביטוי של בקר שעתוק ממשפחת TCP (שנמצא כספציפי לפקעים לטרליים וכמדכא אקטיבציה של פקעים מוגבר על ידי SL), מדוכא על ידי ציטוקינינים ומונע סיעוף יתר (Braun et al., 2012). על בסיס האמור, הועלתה אפשרות שימוש בציטוקינינים (טבעיים וסינטטיים) עם תחילת תהליכי השחרור מתרדמה ואו מיד עם פריצת הפקעים הראשונים על מנת לנסות לבטל התבססות שלטון קודקודי ולעודד פריצה אחידה של פקעים.

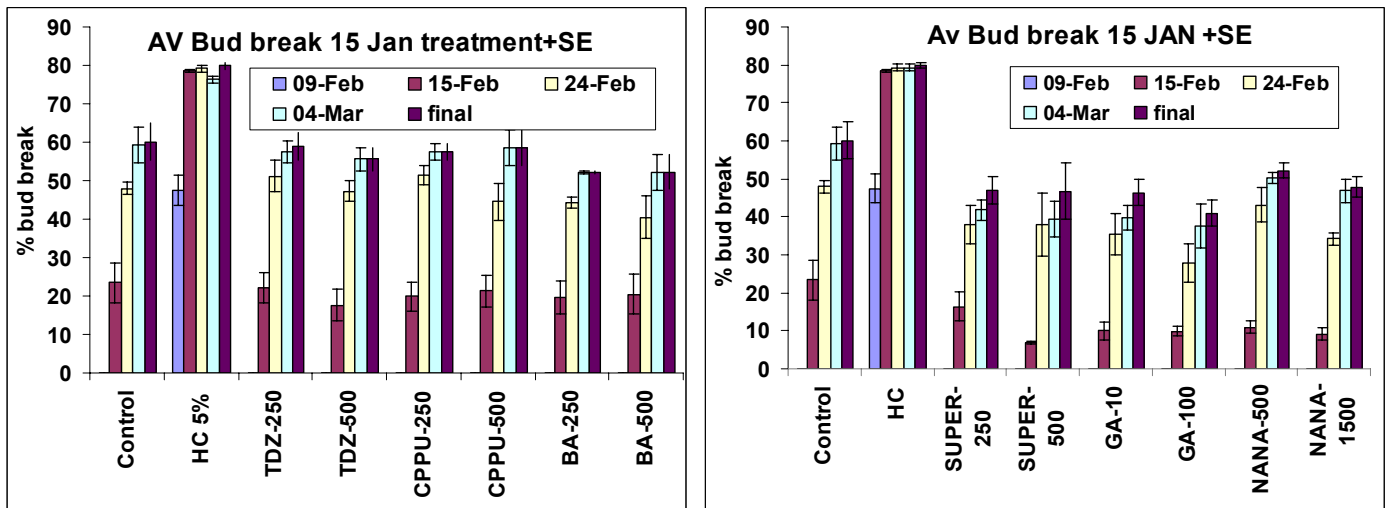
במספר מועדים בין מחצית נובמבר למחצית ינואר בשנה הראשונה טופלו ייחורי גפנים מהזן Early Sweet ב-125, 250 ו-500 ח"מ TDZ, CPPU טריטון (0.025%) ובנוכחות ארמוברייק (2%) לפי המתכונת בסעיף השיטות. בנוסף נערך טיפול בכרם בבקעת הירדן במחצית ינואר, כחודש לפני התעוררות טבעית- ובמחצית פברואר- בסמיכות לפריצת הפקעים- כדי לבחון את ההשפעות האפשריות המתוארות מעל פרטי הנסיון מובאים בפירוט בסמיכות לתמונה 6 משום שהיו חלק מנסיון גדול על שני דונם בארגמן).

תמונה 13: השפעת ציטוקינין סינטטי (ארמוברייק כמשטח) על הקדמת פריצת פקעי גפן בייחורים מזן ארלי סוויט מגלגל בשלושה מועדים בין סוף דצמבר למחצית ינואר לאורך מעגל התרדמה

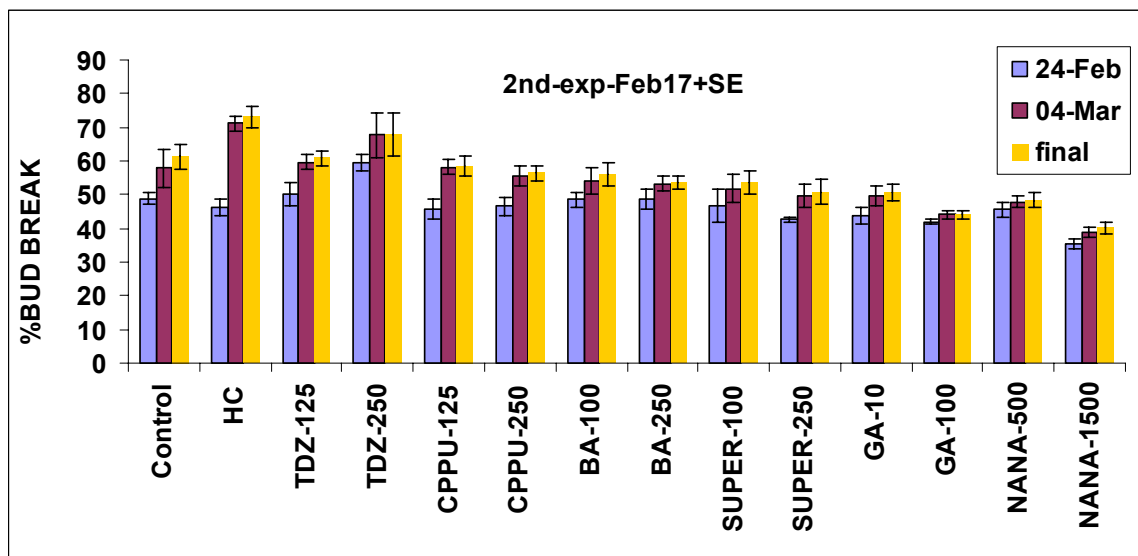


ככלל, מן הנתונים (תמונה 13) נראה בבירור כי בשלושת המועדים היו טיפולי ציטוקינין ששיפרו באופן מובהק ובולט קצב התעוררות הפקעים בייחורי ארלי סוויט (בשתי תמונות עזר תחתונות בודדו טיפולים בולטים כדי לשפר את יכולת ההבחנה) והתוצאות מאששות את ההנחה הראשונית. על בסיס זה נבחנו טיפולים על גפנים שלמות בכרם בארגמן בשני מועדים: ב-15 לינואר וב-17 לפברואר. תיאור הנסיון מפורט בסמוך לתמונה 6. במקביל נבחנו טיפול בגיברלין ובאוקסין. בניגוד לתוצאות שהתקבלו במבחן השנה במעבדה (תמונה 14) ובנסיון קודם בכרם בפתחיה (תמונה 11) לא נמצאה השפעה מקדימת התעוררות לאף אחד מהציטוקינינים שנבחנו במחצית ינואר. לעומת זאת נמצאה השפעה מעכבת מובהקת של טיפולי NAA וגיברלין. בעוד שהשפעת אוקסין יכולה להיות מוסברת על ידי שלטון קודקודי אין עדיין הסבר מניח את הדעת להשפעת הגיברלין על עיכוב (אולם לאור פרסומים חדשים יכול להיות שמדובר בתחרות על מבלעים עם הקמביום).

בניגוד להשפעה המעודדת של ציטוקינין בשילוב עם סינכרון-ניטרואקטיב לא נמצאה השפעה מגבירת התעוררות לרב הטיפולים שניתנו במחצית פברואר (תמונה 15) למעט טיפול ב-250 ח"מ TDZ שעלתה או דמתה לטיפול דורמקס (4% דורמקס במועד זה. ההשפעה המעכבת של GA התקיימה רק בריכוז גבוה והשפעה מעכבת של NAA התקיימה בשני הטיפולים ועלתה עם הריכוז).



תמונה 14: השפעת יישום חומרי צמיחה במחצית ינואר על התעוררות גפנים בארגמן.

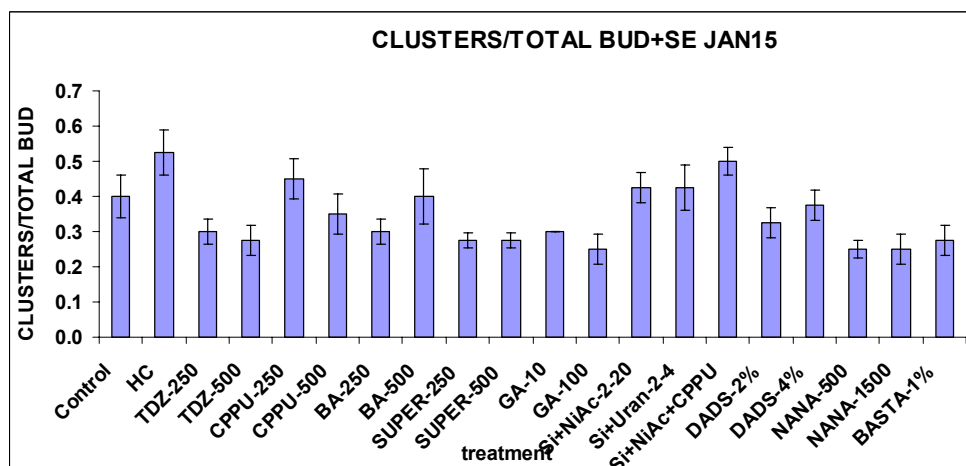
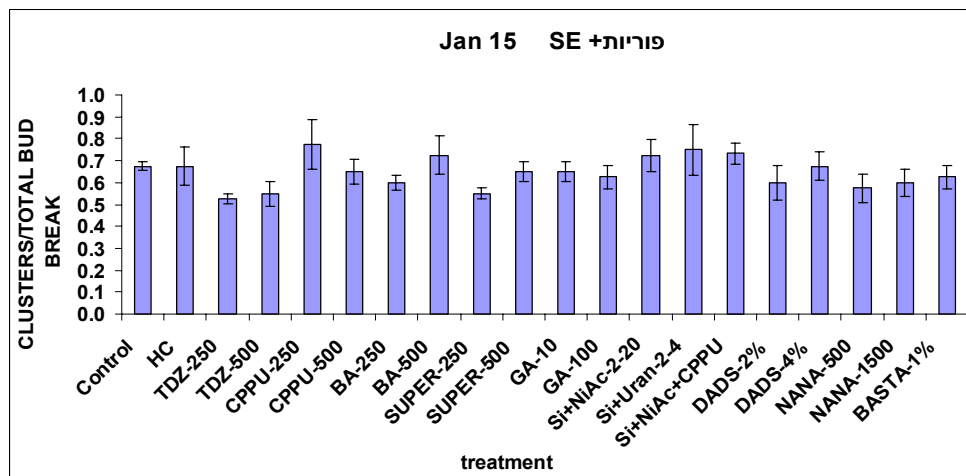


תמונה 15: השפעת יישום חומרי צמיחה במחצית פברואר על התעוררות גפנים בכרם בארגמן.

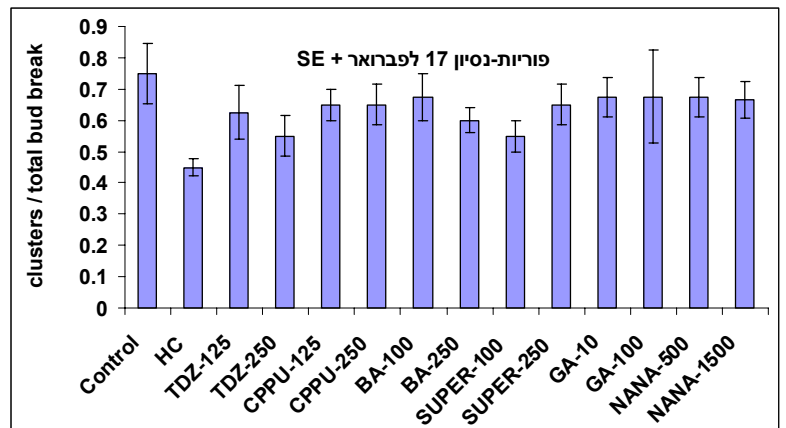
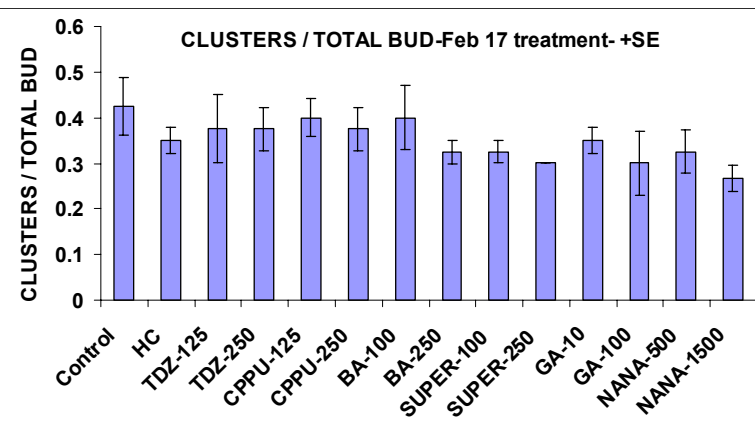
בחינה של השפעת הטיפולים בכרם בארגמן על מספר היבול הפוטנציאלי תועדה באמצעות ספירת תפרחות כאשר השריגים הגיעו לכ-12 פרקים. חושב מספר התפרחות לפקע פורץ ולפקע ככלל (על בסיס מספר הפקעים הכולל לגפן). בעוד שהנתון הראשון מלמד על השפעת הטיפול על מספר התפרחות לשריג ויכול להצביע על נזק לתפרחת המשלימה התמיינותה, הנתון השני משקלל השפעת הטיפול על אחוזי ההתעוררות ואחוזי הפריצה ויותר מורכב להבנה אולם ותר אינפורמטיבי מבחינת החקלאי משום שמייצג מימוש בפועל של פוטנציאל יבול לגפן שחושב על בסיס מספר פקעים כולל שתוכנן.

על פי הנתונים מהנסיון שנערך המחצית ינואר (תמונה 16) לטיפולים בתכשירי חנקן, DADS וציטוקינינים (CPPU ו-BA) יש השפעה משפרת יבול בהשוואה לבקורת ולציאנמיד שלא נבדלו ביניהם אם כי התוצאות אינן מובהקות ברב המקרים כאשר דנים במספר תפרחות לשריג שפרץ. באופן מעניין, הטיפולים בתכשירי חנקן עלו במספר האשכולות/סה"כ הפקעים ודמו לזה שבטיפול דורמקס למרות אחוזי ההתעוררות הנמוכים ב-25%. נתונים אלו עשויים להעיד על יתרון עתידי לטיפולים בתכשירים חנקניים בהשוואה לדומקס שהשפעתו השלילית על מספר האשכולות במקרים רבים ביישומים מוקדמים ולעיתים ביישומים מאוחרים מאוד הוכחה בעבר ומודגמת בטיפול שניתן במחצית פברואר.

בנסיון שנערך במחצית ינואר רב הטיפולים ההורמונליים, למעט שני טיפולי ציטוקינין, נפלו באופן מובהק מהבקורת בחישוב של תפרחות/פקע למרות אחוזי התעוררות דומים. לעומת זאת בנסיון שנערך במחצית פברואר טיפולים בציטוקינין לא נבדלו מבקורת במספר אשכולות/ לפקע בעוד שכאמור טיפול דורמקס השפיע לרעה על מספר התפרחות לפקע פורץ באופן מובהק. לעומת זאת, טיפולים שכללו GA או אוקסין נפלו כולם מהבקורת, בעיקר בגלל הירידה הבולטת באחוזי ההתעוררות (לא נבדלו במספר אשכולות לשריג שפרץ)



תמונה 16: השפעת טיפולים בכרם בארגמן במחצית ינואר על מספר תפרחות לשריג שפרץ ולכלל הפקעים על הגפן



תמונה 17: השפעת טיפולים בכרם בארגמן במחצית פברואר על מספר תפרחות לשריג שפרץ ולכלל הפקעים על הגפן

סיכום

על בסיס תוצאות השנה ראשונה (ולפי תוצאות מנסיונות שהוצבו השנה בכרם ולא הסתיימו- על תקן של הצצה לעתיד..). נראה כי האסטרטגיה של שימוש במבחן הייחורים הינה אסטרטגיה מצויינת לבחינה של טווח ריכוזים גדול וכי הובילה למיקוד במספר טיפולים הראויים לבחינה ברמת הכרם. יחד עם הבחינה הראשונית שנערכה בכרם לפני תום נסיונות המודל נראה כי לטיפולים מבוססי אמוניום בריכוזים גבוהים יחסית למקובל בנשירים ול-DADS יש פוטנציאל משמעותי לשמש כתחליפי אלזודף בעוד שלא נראה כי טיפולים בציטוקינין בלבד הם בעלי בשורה למעט פוטנציאל שילוב עם חומרים מבוססי אמוניום. עדיין לא הסתיימה בחינת מעבדה לגבי שימוש ב-AIT ואמוניום תיוציאנט וישנם חומרים רבים שנתברר כי אינם בעלי פוטנציאל דוגמת שמנים טרפניים ופלימרים מתפרקים-לפחות לא באסטרטגיית היישום שנקטנו. המחקר יימשך כמתוכנן ולהבנתנו יש סיכוי סביר מאד לתועלת מעשית עוד בתקופת המחקר.

- Bielenberg DG, Wang Y, Fan S, Reighard GL, Scorza R, Abbott AG.** 2004. A deletion affecting several gene candidates is present in the evergrowing peach mutant. *Journal of Heredity* 95: 436–444.
- Bielenberg DG, Wang Y, Li Z, Zhebentyayeva T, Fan S, Reighard GL, Scorza R, Abbott AG.** 2008. Sequencing and annotation of the evergrowing locus in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] reveals a cluster of six MADS-box transcription factors as candidate genes for regulation of terminal bud formation. *Tree Genetics and Genomes* 4: 495–507.
- Braun N, de Saint Germain A, Pillot JP, Boutet-Mercey S, Dalmais M, Antoniadi I, Li X, Maia-Grondard A, Le Signor C, Bouteiller N, Luo D, Bendahmane A, Turnbull C, Rameau C.** 2012. The pea TCP transcription factor PsBRC1 acts downstream of Strigolactones to control shoot branching. *Plant Physiol.* 158:225-38.
- Campoy JA, Ruiz JE.** 2011. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae* 130:357–372.
- Celton J-M, Martinez S, Jammes M-J, Behti A, Salvi S, Legave J-M and Costes E .**2011. Deciphering the genetic determinism of bud phenology in apple progenies: a new insight into chilling and heat requirements effects on flowering dates and positional candidate genes. *New Phytologist*. In press doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03823.x
- Cook NC.** 2010. Apple Production under Conditions of Sub-Optimal Winter Chilling in South Africa. *ISHS Acta Horticulturae* 872:199-204.
- Cooke JE, Eriksson ME, Junttila O.** 2012. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms. *Plant Cell Environ.* 35:1707-28.
- Druart N, Johansson A, Baba K, Schrader J, Sjödin A, Bhalerao RR, Resman L, Trygg J, Moritz T, Bhalerao RP.** 2007. Environmental and hormonal regulation of the activity-dormancy cycle in the cambial meristem involves stage-specific modulation of transcriptional and metabolic networks. *Plant J* 50: 557–573
- Edmands WMB, Gooderham NJ, Holmes E, Mitchell SC.** 2013. S-Methyl-L-cysteine sulphoxide: the Cinderella phytochemical? *Toxicol. Res.*, 2013,2, 11-22
- Erez A.** 2000. *Temperate Fruit Crops in Warm Climates*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp.17 - 49.

Fan S, Bielenberg DG, Zhebentyayeva TN, Reighard GL, Okie WR, Holland D and Abbott AG. 2009. Mapping quantitative trait loci associated with chilling requirement, heat requirement and bloom date in peach (*Prunus persica*). *New Phytologist* 185: 917-930.

Fennell A, Hoover E. 1991. Photoperiod Influences Growth, Bud Dormancy, and Cold Acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:270-273.

Faust M, Erez A, Rowland LJ, Wang SY, Norman HA. 1997. Bud Dormancy in Perennial Fruit Trees: Physiological Basis for Dormancy Induction, Maintenance, and Release. *HortScience* 32:623-629.

Halaly T, Pang X, Batikoff T, Keilin T, Crane O, Keren A, Venkateswari J, Ogradovitch A, Or E. 2008. Similar mechanisms are triggered by alternative external stimuli that induce dormancy release: comparative study of the effects of hydrogen cyanamide and heat shock on dormancy release in grape buds. *Planta* 228:79-88.

Halaly T, Zion B, Arbel A, Regev R, Barak M, Or E. 2011. Short Exposure to Sublethal Heat Shock Facilitates Dormancy Release in Grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 62(1):106-112.

22

Halliday KJ, Salter MG, Thingnaes E, Whitelam GC. 2003. Phytochrome control of flowering is temperature sensitive and correlates with expression of the floral integrator FT. *Plant J.* 33:875-85.

Heide OM, Prestrud AK. 2005. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. *Tree Physiol.* 25:109-14.

Heide OM. 2008. Interaction of photoperiod and temperature in the control of growth and dormancy of *Prunus* species. *Scientia Horticulturae* 115: 309–314.

Hopping M. E. 1977. Effect of growth regulators and dormancy-breaking chemicals on bud break and yield of 'Palomino' grape vines, *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 5:339-343

Horvath DP, Chao WS, Suttle JC, Thimmapuram J, Anderson JV. 2008. Transcriptome analysis identifies novel responses and potential regulatory genes involved in seasonal dormancy transitions of leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *B.M.C. Genomics* 9:536-552.

- Hosoki T.** 1995. Drastic Changes of Endogenous Phytohormones in Dormant Gladiolus Corms Treated with Methyl Disulfide. *HORTSCIENCE* 30:1251–1252.
- Hsu CY, Adams JP, No K, Liang H, Meilan R, Pechanova O, Barakat A, Carlson JE, Page GP, Yuceer C.** 2012. Overexpression of CONSTANS homologs CO1 and CO2 fails to alter normal reproductive onset and fall bud set in woody perennial poplar. *PLoS One*.7:e45448.
- Hsu CY, Adams JP, Kim H, No K, Ma C, Strauss SH, Drnevich J, Vandervelde L, Ellis JD, Rice BM, Wickett N, Gunter LE, Tuskan GA, Brunner AM, Page GP, Barakat A, Carlson JE, CW, Luthe DS, Yuceer C.** 2011. FLOWERING LOCUS T duplication coordinates reproductive and vegetative growth in perennial poplar. *Proc NatlDePamphilis Acad Sci U S A.* 108:10756-61.
- Jiménez S, Reighard GL, Bielenberg DG.** 2010. Gene expression of DAM5 and DAM6 is suppressed by chilling temperatures and inversely correlated with bud break rate. *Plant Molecular Biology* 73:157-167.
- Kubota, N., and M. Miyamuki.** 1992. Breaking bud dormancy in grapevines with garlic paste. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 68:1111-1117.
- Kubota, N., Y. Yamane, K. Toriu, K. Kawazu, and T. Higuchi.** 1999. Identification of active substances in garlic responsible for breaking bud dormancy in grapevines. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68:1111-1117.
- Kubota, N., M.A. Matthews, T. Takahagi, and W.M. Kliewer.** 2000. Budbreak with garlic preparations. Effect of garlic preparations and of calcium and hydrogen cyanamides on budbreak of grapevines grown in greenhouses. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:409-414.
- Kubota, N., K. Tpriu, Y. Yamane, K. Kawazu, T. Higuchi, and S. Nishimura.** 2003. Identification of active substance in Chinese chive and rakkyo plants responsible for breaking bud dormancy in grapecutting. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72:268-274.
- Leida, C., Conesa, A., Llácer, G., Badenes, M. L. and Ríos, G.** 2011. Histone modifications and expression of DAM6 gene in peach are modulated during bud dormancy release in a cultivar-dependent manner. *New Phytologist*. In press doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03863.x
- Li Z, Reighard GL, Abbott AG, Bielenberg DG.** 2009. Dormancy-associated MADS genes from the EVG locus of peach [*Prunus persica* L. Batsch] have distinct seasonal and photoperiodic expression patterns. *Journal of Experimental Botany* 60:3521-3530.

Lang G.A, Early J.D. Martin G.C. Darnell R.L. 1987. Endodormancy, paradormancy, and ecodormancy—physiological terminology and classification for dormancy research. HortScience 22: 371–377.

23

Mohamed R, Wang CT, Ma C, Shevchenko O, Dye SJ, Puzey JR, Etherington E, Sheng X, Meilan R, Strauss SH, Brunner AM. 2010. Populus CEN/TFL1 regulates first onset of flowering, axillary meristem identity and dormancy release in Populus. The Plant Journal

Müller D, Leyser O. 2011. Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. Ann Bot. 2011 107:1203-12.

Naor A, Flaishman M, Stern R, Moshe A, Erez A. 2003. Temperature Effects on Dormancy Completion of Vegetative Buds in Apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 128:636-641.

Olsen JE. 2007. Molecular and physiological mechanisms of bud dormancy regulation. Acta Horticulturae 618:437-453.

Olsen JE.2010. Light and temperature sensing and signaling in induction of bud dormancy in woody plants. Plant Mol Biol. 73:37-47.

Olsen1 JE, Junttila1 O, Nilsen1 J, Eriksson ME, Martinussen1 I, Olsson O, Sandberg G, Moritz T. 1997. Ectopic expression of oat phytochrome A in hybrid aspen changes critical daylength for growth and prevents cold acclimatization. The Plant Journal 12:1339-1350.

Olukolu.BA, Trainin.T, Shenghua F, Chittaranjan K, D Bielenberg.G, Reighard, GL, Abbott AG and Holland D. 2009. Construction of a High-density Linkage Map and Detection of QTLs Controlling Chilling Requirement in Apricot (*Prunus armeniaca* L.). Genome 52: 819-828.

Ophir R, Pang X, Halaly T, Venkateswari J, Lavee S, Galbraith D, Or E. 2009. Gene-expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy-release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity, hypoxia, ethylene-ABA interplay and cell enlargement. Plant Molecular Biology 71:403-423.

Or E. 2009. Grape bud dormancy release - the molecular aspect. Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology, 2nd edn., K.A. Roubelakis-Angelakis (ed.) DOI 10.1007/978-90-481-2305-6_15

Perez FJ, Vergara S, Rubio S. 2008. H₂O₂ is involved in the dormancy-breaking effect of hydrogen cyanamide in grapevine buds. Plant growth regulation 55:149-155.

- Rensing L, Ruoff P.** 2002. Temperature effect on entrainment, phase shifting, and amplitude of circadian clocks and its molecular bases. *Chronobiol Int.* 2002 Sep;19(5):807-64.
- Rinne PL, Welling A, Vahala J, Ripel L, Ruonala R, Kangasjärvi J, van der Schoot C.** 2011. Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1,3-beta-glucanases to reopen signal conduits and release dormancy in Populus. *The Plant Cell* 23:130-146.
- Rohde A, Bhalerao RP.** 2007. Plant dormancy in the perennial context. *Trends in Plant Science* 12:218-223.
- Ruttink T, Arend M, Morreel K, Storme V, Rombauts S, Fromm J, Bhalerao RP, Boerjan W, Rohde A.** 2007. A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar. *Plant Cell and Physiology* 19:2370-2390.
- Ruttink T, Arend M, Morreel K, Storme V, Rombauts S, Fromm J, Bhalerao RP, Boerjan W, Rohde A.** 2007. A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar. *Plant Cell and Physiology* 19:2370-2390.
- Santamaría ME, Rodríguez R, Cañal MJ, Toorop PE.** 2011. Transcriptome analysis of chestnut (*Castanea sativa*) tree buds suggests a putative role for epigenetic control of bud dormancy. *Annals of Botany* 108:485-498.
- Sasaki R, Yamane H, Ooka T, Jotatsu H, Kitamura Y, AKgi T and Tao R.** 2011. Functional and expressional analysis of PmDAM genes associated with endodormancy in Japanese apricot. *Plant Physiol.* 157:485-497.
- Samish, R. M., J. Pomol. Hort. Sci., 21, 164-179 (1945)**
- Saure, M.C. 1985. Dormancy Release in Deciduous Fruit Trees - Horticultural Reviews 7:240-287**
- Suttle JC. 1998. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiology* 118: 843–848.**
- Suttle JC.** 2001. Dormancy-related changes in cytokinin efficacy and metabolism in potato tubers during postharvest storage. *Plant Growth Regulation* 35: 199–206.
- Suttle JC.** 2008. Effects of Synthetic Phenylurea and Nitroguanidine Cytokinins on Dormancy Break and Sprout Growth in Russet Burbank Minitubers. *American Journal of Potato Research* April. 85: 121-128.

- Tanaka M, Takei K, Kojima M, Sakakibara H, Mori H.** 2006. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *The Plant Journal* 45: 1028–1036.
- Tanino KK, Kalcsits L, Silim S, Kendall E, Gray GR.** 2010. Temperature-driven plasticity in growth cessation and dormancy development in deciduous woody plants: a working hypothesis suggesting how molecular and cellular function is affected by temperature during dormancy induction. *Plant Mol Biol.* 73:49-65.
- Teper-Bamnolker P, Dudai N, Fischer R, Belausov E, Zemach H, Shoseyov O, Eshel D.** (2010) Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta.* 232:179-86.
- van Dyk MM, Soeker MK, Labuschagne IF and Rees DJG .**2010. Identification of a major QTL for time of initial vegetative budbreak in apple (*Malus x domestica* Borkh.) *Tree Genetics & Genomes* 6:489–502
- Vargas M, Pastor C, Chiralt A, McClements DJ, González-Martínez C.** 2008. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 48:496-511.
- Yamane H, Kashiwa Y, Ooka T, Tao R, Yonemori K.** 2008. Suppression subtractive hybridization and differential screening reveals endodormancy-associated expression of an SVP/AGL24-type MADS-box gene in lateral vegetative buds of Japanese apricot. *J Am Soc Hortic Sci* 133: 708–716.
- Yamane H, Ooka T, Jotatsu H, Hosaka Y, Sasaki R, Tao R.** 2011a. Expressional regulation of PpDAM5 and PpDAM6, peach (*Prunus persica*) dormancy-associated MADS-box genes, by low temperature and dormancy-breaking reagent treatment. *J Exp Bot* 62: 3481–3488.
- Yamane H, Ooka T, Jotatsu H, Sasaki R, Tao R.** 2011b. Expression analysis of PpDAM5 and PpDAM6 during flower bud development in peach (*Prunus persica*).*Sci Hortic (Amsterdam)* 129: 844–84.
- Zion B, Arbbel A, Halaly T, Regev R, Lidor G, Weissblum A, Harcabi E, Or E.** 2012. A HEAT-SHOCK GENERATOR FOR DORMANCY RELEASE OF GRAPEVINES IN THE VINEYARD. *American Society of Agricultural Engineers.* 553:753-758.