

**משרד החקלאות - דו"ח לתוכניות מחקר  
לקרן המדען הראשי**

|                 |                                                          |
|-----------------|----------------------------------------------------------|
| קוד זיהוי       | א. נושא המחקר (בעברית)                                   |
| 11 - 0132 - 837 | לימוד המערכת האנדוגנית לבקרת הפריחה בזית ויישומה בחקלאות |

|                          |                  |          |
|--------------------------|------------------|----------|
| ג. כללי                  |                  |          |
| מוסד מחקר של החוקר הראשי |                  |          |
| אוניברסיטה עברית         |                  |          |
| סוג הדו"ח                |                  | תאריכים  |
| סופי                     | תקופת המחקר      |          |
|                          | עבורה מוגש הדו"ח |          |
|                          | התחלה            | סיום     |
| שנה                      | שנה              | שנה      |
| 1 / 2012                 | 12 / 2014        | 3 / 2015 |

| ד. מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח |                |                                    |
|-----------------------------------|----------------|------------------------------------|
| שם מקור המימון                    | קוד מקור מימון | סכום שאושר למחקר בשנת תיקצוב הדו"ח |
|                                   |                | בשקלים                             |
| צוות היגוי נצי פרי                | 02-4282        | 130000                             |

**ה. תקציר** שים לב - על התקציר להיכתב בעברית לפי סעיף ה' שבהנחיות לכתיבת דיווחים

**הצגת הבעיה:** סירווגיות ביבולים מהווה בעיה מרכזית בהרבה מאוד מיני עצי פרי ובזית התופעה מוקצנת. **מטרות המחקר:** ליצור תשתית ידע המתאר את מהלך קבלת ה"החלטות" ליצירת תפוחות בזית, ברמה המולקולארית, ואופן ההתערבות של מספר הפירות וטיפולם אגרוטכניים על אופן קבלת ה"החלטות". **שיטות עבודה:** דיגום עצי ברנע בחלקות מסחריות, היסטולוגיה, ניסויי הסרת פירות במועדים שונים, מדידת אורכי ענפים ופריחה חוזרת, גידול ענפים מנותקים בתנאי סביבה שונים, בידוד גנים, בדיקת רמת הביטוי של גנים ברקמות שונות, מועדים שונים, וטיפול עומס שונים. **תוצאות עיקריות:** ללא עומס פרי ההתמיינות לפריחה בזית מתרחשת בסוף החורף (פברואר). במהלך החורף ישנה עלייה בביטוי שני גנים המקודדים לחלבון הפלורוגני FT. העלייה בביטוי היא בעיקרה בטרף העלה אך גם בפקעים ובגבעול. עומס פרי מפחית צימוח אביבי. עומס פרי מפחית באופן מובהק את העלייה בביטוי הגנים המקודדים ל-FT במהלך החורף, ומונע אינדוקציה לפריחה בסוף החורף. טמפרטורות נמוכות מעלות את ביטוי הגן FT בעוד שעומס פרי מפחית את ביטוי הגן. בסוף יולי מתקבע הזיכרון של עומס פרי, כך שהסרת פרי מאוחרת יותר לא מאפשרת עלייה בביטוי FT ופריחה חוזרת. **מסקנות:** עומס פרי מונע יצירת מספר רב של פקעים ומונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. במחקר זה התמקדנו בהבנת התהליך בו עומס פרי מונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. ראינו שיש מתאם מלא בין אופן הביטוי של גנים המקודדים ל-FT ופריחה חוזרת. הבנו שמועד האינדוקציה הוא סוף החורף אך הזיכרון של עומס הפרי נקבע כ-4 חודשים קודם לכן, בסוף יולי.

**1. אישורים**

| חוקר ראשי | מנהל המחלקה | מנהל המכון<br>(פקולטה) | אמרכלות<br>(רשות המחקר) | רשות<br>המחקר | תאריך<br>(שנה) (חודש) (יום) |
|-----------|-------------|------------------------|-------------------------|---------------|-----------------------------|
|-----------|-------------|------------------------|-------------------------|---------------|-----------------------------|

**לימוד המערכת האנדוגנית לבקרת הפריחה בזית ויישומה בחקלאות**

**Studying the regulation of Olive reproduction as influenced by fruit load**

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולמועצת הצמחים

ע"י

אלון סמך, המכון למדעי הצמח והגנטיקה בחקלאות, פקולטה לחקלאות, האוניברסיטה העברית

אורן אוסטרזצר-בירן, שמעון לביא, האוניברסיטה העברית

בני אבידן, שייע פליקס, מני יאיר: מדעי עצי הפרי, מנהל המחקר החקלאי

Alon Samach, Faculty of Agriculture, Rehovot. Email: [alon.samach@mail.huji.ac.il](mailto:alon.samach@mail.huji.ac.il)

תקציר:

**הצגת הבעיה:** סירוגיות ביבולים מהווה בעיה מרכזית בהרבה מאוד מיני עצי פרי ובזית התופעה מוקצנת. **מטרות המחקר:** ליצור תשתית ידע המתאר את מהלך קבלת ה"החלטות" ליצירת תפוחות בזית, ברמה המולקולארית, ואופן ההתערבות של מספר הפירות וטיפולם אגרוטכניים על אופן קבלת ה"החלטות". **שיטות עבודה:** דיגום עצי ברנע בחלקות מסחריות, היסטולוגיה, ניסויי הסרת פירות במועדים שונים, מדידת אורכי ענפים ופריחה חוזרת, גידול ענפים מנותקים בתנאי סביבה שונים, בידוד גנים, בדיקת רמת הביטוי של גנים ברקמות שונות, מועדים שונים, וטיפול עומס שונים. **תוצאות עיקריות:** ללא עומס פרי ההתמיינות לפריחה בזית מתרחשת בסוף החורף (פברואר). במהלך החורף ישנה עלייה בביטוי שני גנים המקודדים לחלבון הפלורוגני FT. העלייה בביטוי היא בעיקרה בטרף העלה אך גם בפקעים ובגבעול. עומס פרי מפחית צימוח אביבי. עומס פרי מפחית באופן מובהק את העלייה בביטוי הגנים המקודדים ל-FT במהלך החורף, ומונע אינדוקציה לפריחה בסוף החורף. טמפרטורות נמוכות מעלות את ביטוי הגן FT בעוד שעומס פרי מפחית את ביטוי הגן. בסוף יולי מתקבע הזיכרון של עומס פרי, כך שהסרת פרי מאוחרת יותר לא מאפשרת עלייה בביטוי FT ופריחה חוזרת. **מסקנות:** עומס פרי מונע יצירת מספר רב של פקעים ומונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. במחקר זה התמקדנו בהבנת התהליך בו עומס פרי מונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. ראינו שיש מתאם מלא בין אופן הביטוי של גנים המקודדים ל-FT ופריחה חוזרת. הבנו שמועד האינדוקציה הוא סוף החורף אך הזיכרון של עומס הפרי נקבע כ-4 חודשים קודם לכן, בסוף יולי.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי:

1. אבי צדקה: מנהל המחקר החקלאי.

2. ורד יריחימוביץ: מנהל המחקר החקלאי

3. גיורא בן ארי: מנהל המחקר החקלאי

הצהרת החוקר הראשי: הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים אינם מהווים המלצות לחקלאים

|                                 |      |
|---------------------------------|------|
| 1. מבוא                         | 2    |
| 2. מטרות המחקר                  | 2-3  |
| 3. פירוט עיקרי הניסויים         | 3-6  |
| 4. דיון                         | 6-7  |
| 5. רשימה מלאה של פרסומים מדעיים | 7    |
| 6. איורים                       | 8-14 |
| 7. ביבליוגרפיה                  | 15   |
| 8. דף שאלות                     | 16   |

**1. מבוא ותיאור הבעיה:** באזור אגן הים התיכון, הזית הוא מהגידולים החשובים. בארץ, נטועים כ-300 אלף דונם שמרביתם מיועדים לשימוש בתעשיית השמן. תופעת הסירוגיות נפוצה כמעט בכל זני הזית (לשמן ולכיבושין), הן בתנאי בעל והן בממשק אינטנסיבי בו פוטנציאל נשיאת היבולים גבוה. בזית בולטות שתי תכונות יחסית ייחודיות והפוכות: הזית ניחן ב"סקטוריאליזם זרועית". כלומר, עומס פרי גבוה בזרוע אחת, ישפיע רק במידה מועטה על זרוע אחרת. מאידך, הסירוגיות מסונכרנת ברמה הארצית, כלומר ניתן לראות תנודה מאוד גדולה בכלל היבולים במדינה. הסיבה לסנכרון ברמה ארצית היא תגובת עצים אחידה באזור גידול מסוים לתנאי סביבה בעייתיים, כגון חמסין במהלך הפריחה. החמסין ימנע חנטה ויגרום לכך שכל העצים באזור יהיו חסרי פרי בשנה הנוכחית ובעלי פרי רב מדי בעונה שאחריה.

עץ הזית פורח באביב, בחודשים אפריל מאי, מחקרים קודמים מצביעים על התמיינות לפריחה בחודש מרץ, כשמונה שבועות לפני פריחה מלאה [1] אחרים מצביעים על סימנים ראשונים למעבר של הניצן למצב רפרודוקטיבי בחודש נובמבר [2]. מאידך, יש הטוענים שהאינדוקציה לפריחה חלה בענפי צמיחה חד שנתיים כעשרה חודשים לפני הפריחה, בתחילת הקיץ [3]. מאידך מידת הפריחה בזית מושפעת, בנוסף לעומס פרי, גם מתנאי סביבה. ישנן ראיות לנחיצות חשיפה לטמפרטורות קרירות לקבלת אינדוקציה [4]. לכן, אם אמנם חלה אינדוקציה באמצע הקיץ, חייבת להיות נקודת התערבות נוספת בסתיו, בה קיימת ההזדמנות הראשונה לחוות טמפרטורות מתונות.

כיום, אין בידינו טכנולוגיה מהימנה לבחון את רמת האינדוקציה בפקעים לפני פברואר, כשניתן לראות פקעי פריחה בבינוקולר. כמו כן לא ידוע לנו כיצד עומס פרי מונע אינדוקציה לפריחה בזית. האם ניתן לפתח כלי מהימן שידווח לנו את מידת האינדוקציה בעצים לפני הופעת הפרחים? הנחות עבודה בזית, כמו במיני צמחים רבים אחרים, לחלבון FT תפקיד מרכזי בוויסות הפריחה בזית. כמו במיני צמחים אחרים, FT מפעיל פריחה ע"י הגברת השעתוק של מספר גנים המקודדים לחלבוני MADs במריסטמה, כולל גן המקודד ל- AGAMOUS המתבטא בדורי הפרח הפנימיים. תמיכה לכך ש-FT משפיע על פריחה בזית התקבלה לאחרונה במסגרת שיתוף פעולה בין אלון סמך ופרופ' Pliego-Alfaro מאוניברסיטת מאלגה בספרד, החדרתו של הגן של FT מאספסת, ששובט תחת פרומוטר קונסטטיטוטיבי חזק, הביאה לפריחה עוד בתרבות [5].

## **2. מטרות המחקר** (כפי שנרשמו בהצעת המחקר):

במסגרת עבודה זו אנו מתעתדים לבחון את ההיפותזות הבאות:

- א. בניצן של זית, קביעת גורל המריסטמה (באם היא תיצור תפרחת להבדיל מענף וגטיבי) חלה במקביל ובתלות בעליה בביטוי גנים המקודדים לחלבוני MADS בעלי דמיון לחלבוני: SOC1, FUL ו-AP1 מארבידופסיס.
- ב. בזית, חלבון דמוי FT (יקרא להלן FT) מעורב בהפעלת הפריחה ע"י הגברת השעתוק של גנים הומולוגיים ממשפחת ה-MADS-box.
- ג. לקראת האינדוקציה לפריחה, ולפני אותה עליה בביטוי גנים כתלות בתנאי סביבה עונתיים, קיימת עליה בביטוי FT בעלים.

באמצעות הממצאים ליצור תשתית ידע המתאר את מהלך קבלת ה"החלטות" ליצירת תפרחות בזית, ברמה המולקולארית, ואופן ההתערבות של מספר הפירות וטיפולם אגרוטכניים על אופן קבלת ה"החלטות". סביר שחלק מההיפותזות יוכחו כמוטעות או שלא נצליח לקבל תשובה חד משמעית על כולן במהלך המחקר הנוכחי. בראש ובראשונה חשוב לנו להגדיר בזמן את המועד בו בניצנים חלים שינויים בביטוי גנים המעידים על קבלת ההחלטה לייצר תפרחת בניצן. ידיעת המועד (שעשוי להשתנות מעט מדי שנה ובהתאם לזן), יאפשר פיתוח כלי מדידה מולקולאריים לקביעת מידת ההתמיינות לפריחה כבר בסתיו-חורף, וכך ייוותר חלון זמן לנסות ולהשפיע על רמת הפריחה לפני האביב.

### 3. פירוט עיקרי התוצאות (הניסויים נערכו ע"י אמנון הברמן).

א. **היסטולוגיה:** באמצעות מיקרוסקופ אלקטרוני סורק הצלחנו לתעד את המעבר של המריסטמה ממבנה וגטיבי למבנה של תפרחת במהלך חורף 2010-2011. המעבר התרחש בתחילת חודש פברואר (איור 1), מריסטמות לפני מועד זה בעצים לקראת שנת On, שהיו צפויים לפרוח באביב הבא, ייצרו פרימורדיות של עלים ולא נראו שונות ממריסטמות בעצים לקראת שנת Off, שלא היו צפויים לפרוח באביב הבא. בתחילת חודש פברואר 2011, הכיפה במריסטמה בעצים לקראת שנת On מתחילה לגדול, בהמשך הכיפה מתחלקת לשלושה מבנים שמתמיינים לשלושת הפרחים העליונים במבנה התפרחת. הניצנים המשניים בציר הניצן שנמצאים בחיק פרימורדיות העלים מתמיינים לפרחים התחתונים בתפרחת. פרימורדיות העלים מאבדות את הפוטנציאל שלהן להתפתח לעלים והופכות לחפים בתוך מבנה התפרחת. מריסטמות בעצים לקראת שנת Off שמרו על אופי וגטיבי ולא הראו שינויים שמעידים על מעבר לפריחה (איור 2).

**התפתחות פרח בודד:** במהלך המעקב אחר המעבר של המריסטמה מאופי וגטיבי לתפרחת, הצלחנו לתאר באופן רציף את מהלך התפתחות פרח בודד בתוך התפרחת (איור 3), תיאור שקיים בספרות בצורה חלקית. בשלב הראשון ניתן לזהות גוש של תאים לא ממוינים, בהמשך נוצר גבול שמבדיל את דור עלי הגביע בהיקף המריסטמה וחלוקה של המרכז לארבע אזורים שעתידיים להתמייין לארבע עלי כותרת. בשלב ההתמיינות הבא נוצרים במרכז המריסטמה שני אבקנים, התאים באפידרמיס של עלי הכותרת מראים מרקם קוני אופייני והעטיפ סוגר את הפרח. איפיינו את השלב ההתפתחותי בו נמצא מדגם של תפרחות על פני ציר הזמן (איור 4). ניתן לראות שב-26 לינואר כל המריסטמות היו במצב וגטיבי.

ב. **השפעה של נשיאת פרי על צימוח וגטיבי:** תפרחות בזית נוצרות בניצנים לטרלים שבחיק עלי מצימוח של השנה האחרונה, מספר התפרחות על העץ תלוי במספר הניצנים מצימוח מהשנה הקודמת ובסיכוי שניצן כזה יתמייין לתפרחת. לאור תלות זו בדקנו, במהלך הקיץ את התארכות הענפים בעצים בנשיאה של פרי, בעצים ללא פרי ובזרועות עצים שעברו הסרה של פרי במועדים שונים במהלך הקיץ. בתחילת הניסוי, בתאריך ה-8 ליוני בסקירה של הצימוח טרם הטיפול בעצים נמצא שצימוח חדש שגדל מהאביב בעצים ללא פרי התארך מאד, מעל ל-20 ס"מ במוצע. צימוח חדש בעצים בנשיאה

של פרי היה משמעותית קצר יותר, 5-8 ס"מ בממוצע. לאורך חודשי הקיץ ועד דצמבר עקבנו אחר השינוי בהתארכות באחוזים ביחס לאורך ב-8 ביוני של ענפים מצימוח חדש. אחרי ה-8 ביוני הענפים התארכו בכ-20% בממוצע, נוכחות של פרי על העצים לא השפיעה על התארכות. הענפים הגיעו לאורכם הסופי בחודש אוגוסט. הסרת פרי במועדים מוקדמים של יוני ויולי גרמה לתגובה חזקה בהתארכות בהשוואה לביקורת, העלייה נראתה באופן בולט תוך 2-4 שבועות ממועד הסרת הפרי. ענפים בזרועות מטיפולים אלו הראו התארכות מוגברת של עד כ-220% והגיעו לאורך סופי בחודש ספטמבר, מאוחר יותר בהשוואה לביקורת. טיפול ההסרה באוגוסט גרם לתגובה בצימוח אך בעוצמה נמוכה. בעצים בהם זרוע שעברה טיפול הסרת פרי, ההתארכות בזרועות הביקורת הייתה נמוכה ודומה להתארכות בעצים השלמים שנושאים פרי. למרות העיכוב הברור של הצימוח הווגטטיבי, גם בעצים עמוסים בפרי יש צימוח שכולל ניצנים פוטנציאליים להתמייין לתפרחות בשנה הבאה. אולם, בבדיקות היסטולוגיות לא מצאנו התחלה של התפתחות תפרחות בניצנים אלו. מכאן אנו מסיקים שעומס הפרי מתערב גם במנגנון האינדוקציה לפריחה.

**ג. איסוף דגימות להפקות RNA:** האיסוף נעשה בשעה קבועה של היממה, כ-5 שעות משחר. נאספו מקטעי גבעול המתחילים 2 מפרקים מעל נקודת התחלת הצימוח האביבית, ואורכם נע בין 3-5 מפרקים. המקטעים לא הכילו את קודקוד הצמיחה של הענף. מהמקטע הוסרו העלים לבדיקה נפרדת, ולאחר הסרת העלים במחצית הגבעולים הוסרו גם הניצנים בחיקי העלים (איור 5). כך, היו שלוש דגימות: עלים, גבעולים עם ניתנים וגבעולים מהם הוסרו הניצנים. בדגימות משנת 2014 נלקחו לחוד פטוטורות עלים, טרף העלה, הניצן בחיק העלה (פקע) והגבעול (איור 9). דגימת עלים כללה כ-15 עלים ודגימת גבעולים כללה כ-שלושה גבעולים. כל דגימה נלקחה בנפרד מכל עץ. תדירות האיסוף כל 2-4 שבועות. הדגימות הוכנסו למבחנות (falcon) של 15 מ"ל, או מבחנות קטנות (2 eppendorf מ"ל) אשר הוקפאו מיידית בחנקן נוזלי ואוחסנו במקרר -80 עד הכנת ה-RNA. הכנת RNA, בידוד polyA RNA ויצירת cDNA היו עלפי פרוטוקולים במעבדה. **מעקב אחר ביטוי גנים** התבצע באמצעות Real time RTPCR, תוך שימוש בגן קונסטיטוטיבי (Actin) שאפשר לנו לקבוע ביטוי יחסי של הגן. השתמשנו בשיטת ה-syber green.

**ד. ביטוי הגן AGAMOUS בפקעים:** התחלנו בבחינת הביטוי של גן שמקודד לחלבון דמוי AGAMOUS מארבידופסיס. הגן AGAMOUS מקודד לפקטור שעתוק שמבקר גנים פעילים בקביעת זהות דורי הפרח. בדקנו ביטוי של הגן OeAGL1 לאורך השנה, החל מספטמבר 2009, המועד הראשון בו זיהנו עליה בביטוי הגן היה בינואר 2010 (איור 6). העלייה נצפתה רק ברקמה של גבעול עם הניצנים הלטרלים, מעצים לקראת שנת On, בגבעולים עם ניצנים מעצים לקראת שנת Off לא נראתה עליה, תוצאה זו מתאימה לתוצאות העבודה המיקרוסקופית, בהן זיהינו יצירה של תפרחות בפברואר רק בעצים לקראת שנת On. העבודה ההיסטולוגית ובדיקת ביטוי הגן לא נערכו באותן שנים, מה שיכול להסביר מדוע העלייה בביטוי ויצירת התפרחות לא התרחשו באותו זמן.

בגבעולים ללא הניצנים, בשתי השנים הסירוגיות, לא נראתה עלייה, מה שמצביע על כך שהביטוי הוא בניצן. עצם העובדה שיש הבדל בביטוי בניצנים מעצים לקראת On לבין ניצנים מעצים לקראת Off, מצביעה על מעורבות בקביעת גורל הניצנים הלטרלים בענפים ומהווה עדות נוספת לכך שעומס הפרי לא משפיע רק על עוצמת הצימוח.

**ה. בידוד שני גנים המקודדים ל-FT בזית:** במינים אחרים, כולל ארבידופסיס, צפצפה הדורים ותפוח, קיימים מספר גנים המקודדים לחלבונים דמויי FT [6]. היה לנו חשוב לבדוד מספר גנים כאלה בזית, מכמה סיבות:  
א. במידה וקיים יותר מגן אחד, יתכן ולכל אחד יש דגם ביטוי שונה ומעניין שילמד אותנו על סירוגיות בזית.

ב. יתכן ושני הגנים מאוד דומים זה לזה, והפרימרים שישמשו אותנו להסתכל על ביטוי של אחד מהם יכיר גם הגן הנוסף, ודגם הביטוי שיתקבל יהיה כימרה מבלבלת של שני גנים [6].

הצלחנו לזהות שני גנים שקראנו להם *OeFT1* ו-*OeFT2*. בודדנו את הרצף המלא שלהם והשווינו את רצפי חומצות האמינו של שני החלבונים מזית לחלבונים מארבידופסיס FT, ו-TSF. עלפי הדמיון (איור 7) נראה ששני החלבונים מזית מקודדים למזרזי פריחה, כמו FT. הכנו קונסטרוקטים לביטוי בארבידופסיס, הצמחים הטרנסגניים המבטאים את הגן *OeFT1* הקדימו פריחה ביום קצר (איור 8).

ו. **לקראת יצירת התפרחות, רמת הביטוי של שני הגנים המקודדים ל-FT, גבוהה במיוחד בעלים.** בשנת 2014 ב-19 לינואר, לקחנו דגימות מעצים שלא היו בהם פירות בשנה קודמת, ובדקנו את רמת הביטוי של שני הגנים ל-FT ברקמות שונות (איור 9). בשני הגנים, עיקר הביטוי היה בטרפי העלים. בגן *OeFT2* רמת הביטוי בפקעים היתה יחסית גבוהה, לעומת פטוטרת העלים והגבעול. כשהשווינו את רמת הביטוי בעלים ובפקעים בין עצים שהיו עמוסים (לקראת off) לעומת עצים שלא היה בהם פרי בעונה הקודמת (לקראת on) (בתאריך זה (איור 10)), היה הבדל ניכר ברמות הביטוי של שני הגנים בעלים- פי 5 יותר גבוהות בעצים שעמדו להתמייין לפריחה. בפקעים, רמת הביטוי של הגן *OeFT2* היה גבוה פי 220 בעצים שעמדו לייצר תפרחות. גם בגבעול, רמת הביטוי של *OeFT2* היתה גבוהה יותר בעצים שעמדו לייצר תפרחות (איור 11).

#### ז. עומס פרי משפיע על העלייה בביטוי הגנים *OeFT1* ו-*OeFT2* בעלים במהלך החורף.

עד עתה, צילמנו מצב של רקמות בסוף ינואר, לפני ההתמיינות. בהמשך רצינו לעקוב אחר שינויים בביטוי הגנים *OeFT1* (איור 12) ו-*OeFT2* (איור 13) בעלים במהלך החורף ובהשפעת עומס פרי. בשני הגנים רמת הביטוי בעלים עלתה משמעותית במהלך החורף. בשני הגנים העלייה בביטוי בעצים בהם היה עומס פרי כבד (הפרי כבר נמסק בנובמבר), היתה הרבה פחות משמעותית. בגן *OeFT2* מוצג דגם ביטוי במהלך שנתיים (איור 13). עצים שנשיאת הפרי שלהם התהפכה מהשנה הקודמת הראו גם דפוס ביטוי הפוך מאשר בשנה הקודמת. אם כך נשמר גם המתאם בין דפוס הביטוי המוקדם וחזק יותר לפריחה באביב הקרוב.

#### ח. שימוש בענפים מנותקים למעקב אחר ביטוי *OeFT2* בעלים כתלות בטמפרטורות קרות.

ראינו עלייה בביטוי הגן *OeFT2* בעלים במהלך החורף, וידוע שהאינדוקציה לפריחה בזית תלויה בטמפ' נמוכות בחורף [4]. אחרים הראו בהדרים מנגו ואבוקדו עלייה בביטוי גנים מקודדים ל-FT כתלות בטמפ' נמוכות [8-10]. בדקנו האם הביטוי של *OeFT2* אכן תלוי בטמפ' נמוכות, או שיש משהו אחר בחורף הגורם לעלייה בביטוי שלו. חתכנו ענפים בני שנה מעצים חסרי פירות בתחילת נובמבר ותקענו אותם במצע פרלייט בעציצים שהועברו לפיטוטון למשך 63 יום בימים קצרים. חלק מהעציצים היו תחת טמפ' של 16/10°C (לילה/ יום) וחלק אחר היו בטמפ' של 28/22°C. לקחנו דגימות עלים לבדיקות ביטוי וראינו שבעבור 63 יום מתחילת הניסוי הביטוי של *OeFT2* בעלים עלה כתוצאה מהחשיפה למשטר טמפ' הנמוך יותר, המדמה טמפ' חורף (איור 14). נראה אם כך, שרמת הביטוי של הגן בעלים מושפעת מטמפ' הסביבה, ועולה כתוצאה מחשיפה לטמפ' נמוכות. כך נמצא קשר בין אינדוקציה חורפית בזית ובין ביטוי הגן *OeFT2*.

ט. **השפעת הסרת פירות מוקדמת על ביטוי *OeFT2* בעלים.** מאחר והגן ידוע כבעל יכולת להשפיע על פריחה, יתכן ורמת הביטוי של הגן בעלים משקפת את רמת האינדוקציה של העץ. כדי לבדוק את חוזק המתאם בין רמת הביטוי של הגן ובין פריחה חוזרת השתמשנו בניסוי בו הורדנו את כל החנטים בעץ במועדים שונים ובחנו את רמת הפריחה החוזרת. הסרת חנטים כללית ב-8 ליולי הביאה לפריחה חזקה חוזרת. לעומת זאת, הסרת חנטים ב-18 לאוגוסט היתה כנראה מאוחרת מדי מאחר ולא אפשרה פריחה חוזרת (איור 15). שאלנו האם גם בניסוי זה נמצא מתאם בין רמות הביטוי של *OeFT2* בעלים ובין הפריחה החוזרת. או במילים אחרות, האם ניתן לשנות את אופן העלייה של *OeFT2* בעלים בחורף

ע"י הסרת חנטיים במועדים שונים בקיץ. אם נמשיך למצוא מתאם בין רמת הביטוי של הגן ובין הפריחה החוזרת נחזק את הקשר הנסיבתי שבו עומס פרי משפיע על ביטוי הגן, והצטברות החלבון משפיעה על פריחה. כפי שניתן לראות באיור 16, הסרת חנטיים כללית ב-8 ליולי גרמה לעליה מובהקת בביטוי הגן החל מדצמבר, בהשוואה לעצים מהם לא הוסרו החנטיים. לעומת זאת הסרת חנטיים מאוחרת יותר, באמצע אוגוסט, לא גרמה לשינוי מובהק בדפוס הביטוי של הגן *OeFT2* לעומת עצים בהם הפירות הושארו על העץ עד מסיק. הניסוי מחזק את הקשר הנסיבתי בין עומס פרי, ביטוי הגן *OeFT2* בעלים, ופריחה חוזרת.

#### 4. דיון

למרות הדעה הרווחת בקרב חוקרי זית, אין שום הוכחות ליצירת תפרחות בזית לפני ינואר. המריסטמה נשארת וגטיבית עד לנקודה זאת. מתקיים מתאם בין דפוס הביטוי של *FT* בעלים (טרף העלה) לבין פריחה. בשני הגנים הביטוי עולה בסוף החורף במתאם עם הירידה בטמפרטורות. להבדיל מהמסקנות בספרות שאינדוקציה לפריחה בזית מתרחשת בקיץ, התוצאות שלנו מצביעות על אינדוקציה במהלך החורף המתבטאת בעלייה ברמת *FT* בעלים. מלבד העלייה בעלים, הראנו גם עליה בביטוי הגן *OeFT2* בפקעים ובגבעולים בעצים בהם לא היו פירות בשנה הקודמת. בשיתוף עם קבוצה ספרדית הראנו שביטוי ביתר של *FT* בזית גורם לפריחה מוקדמת [5]. כאן הראנו שלפחות אחד מחלבוני הזית, *OeFT1*, יכול לגרום לפריחה מוקדמת בארבידופסיס (*OeFT2* טרם נבדק).

הצלחנו לבודד את תנאי הסביבה הגורם לעלייה ב- *FT* בחורף- טמפרטורות נמוכות. בכך שוב קישרנו בין ביטוי *FT* בעלים לבין פריחה בזית, מאחר והוכח שטמפרטורות נמוכות גורמות לפריחה בזית [4]. היכולת של עומס פרי להפחית את ביטוי הגן *FT*, ומאידך היכולת של חורפים קרים להעלות את ביטוי הגן, מעידה על נקודת מפגש מעניינת סביב ביטוי הגנים הללו הנמצאים תחת שווי משקל של גורמים מעודדים וגורמים מעכבים. המידע מציע שתחת עומסי יבול בינוניים, חורפים קרים דיים עשויים לאפשר פריחה חוזרת, ואילו חורפים לא קרים במיוחד עשויים להספיק לעצים שבהם לא היה עומס פרי. יתכן ושונות בין זנים לגבי צורך בקור עשויים לאפשר גם התמודדות שונה עם עומסי פרי.

ללא מוטציה בגן, עדיין אין לנו הוכחה חותכת לכך שעומס פרי מונע פריחה רק דרך הפחתת הביטוי של *FT* בעלים, בגבעול או בפקעים. הסרת פירות ביולי אפשרה פריחה חוזרת ואילו הסרת פירות באוגוסט לא אפשרה פריחה חוזרת. יחד עם זאת הסרת פרי ביולי אפשרה עלייה יותר משמעותית בביטוי הגן *OeFT2* בעלים במהלך החורף לעומת עצים בהם הוסר הפרי באוגוסט, או בהם הפרי נמסק בנובמבר. כלומר, הוכחנו שהחל מנקודת זמן מסוימת אחרי יולי, מתקבע 'זיכרון' של עומס פרי שמפחית עלייה בביטוי *FT* במהלך החורף, וכתוצאה מכך כנראה מונע פריחה חוזרת.

עדיין אין לנו מידע לגבי המהות הביוכימית של אותו 'זיכרון', והאם אותו חומר משמש כזיכרון גם בעצי פרי אחרים. בידוד אותו חומר עשוי להועיל להבנת התהליך ופיתוח יכולות להתערב בשיקולי העץ, ולאפשר פריחה חוזרת אחרי יבול רב.

לפרי מתפתח השפעה מעכבת על התארכות ענפים, העיכוב בא לידי ביטוי בעיקר בחודשי האביב ועד יוני. בחודשים אלו ניתן לראות צימוח נמרץ בענפים שלא נושאים פרי, בהשוואה לעצים עמוסים פרי בהן נראית התארכות נמוכה יחסית. לאחר ביטול הגורם המעכב (הסרה של הפרי) יש זינוק בקצב ההתארכות. טיפול הסרה ביולי גרם להגברת קצב התארכות הענפים ובמקביל גרם לפריחה חוזרת בשנה העוקבת, בשונה, טיפול הסרה באוגוסט גרם להגברה מעטה בקצב ההתארכות ולא גרם לפריחה חוזרת. מה היה קורה אילו היינו מצליחים למצוא חומר שמאפשר צימוח בנוכחות עומס פרי כבד במהלך האביב? האם אותם פקעים חדשים היו מתמיינים בחלקם לתפרחות בסוף החורף? יתכן ואותם פקעים היו

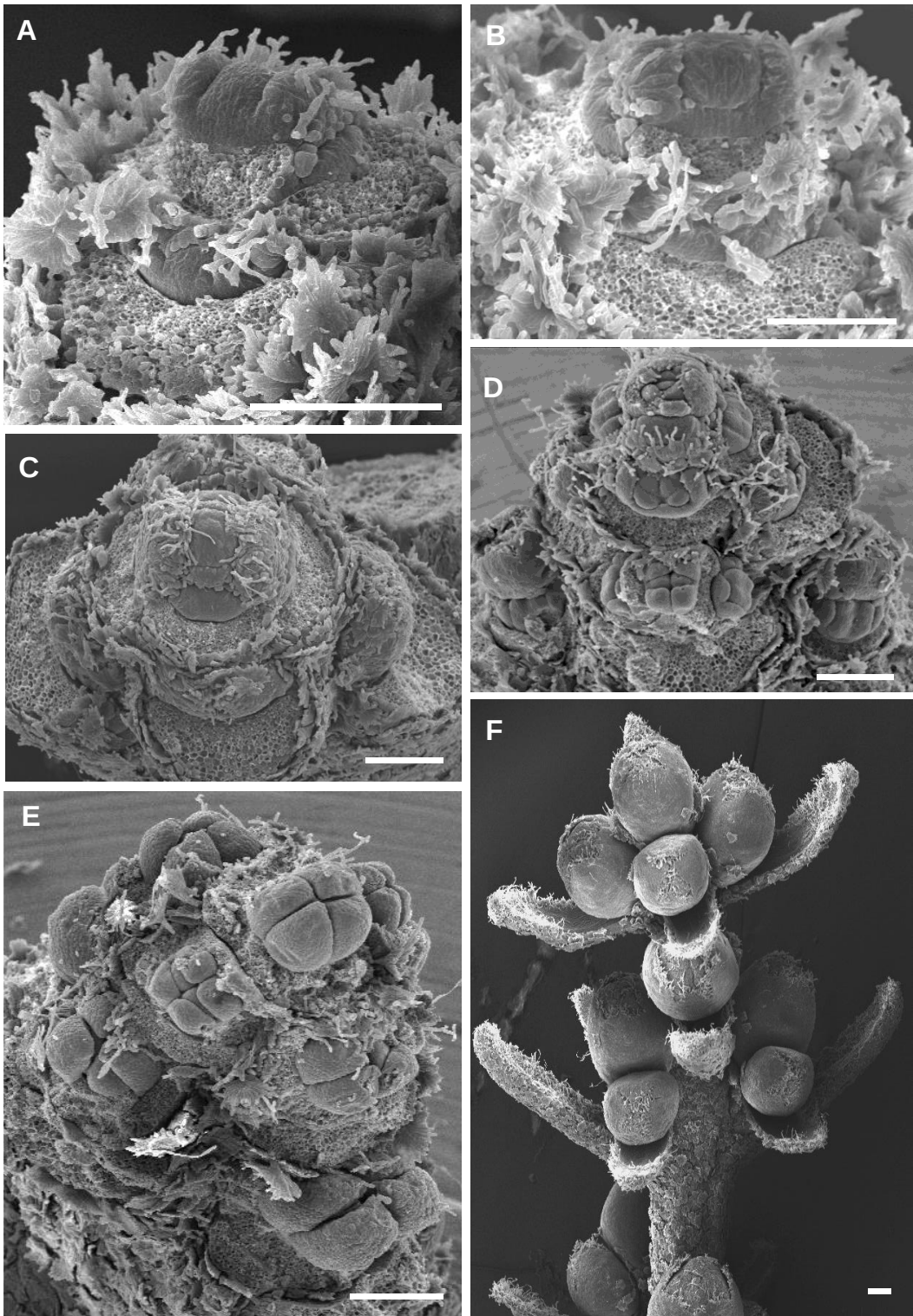
נשארים וגטטיביים בגלל העיכוב בעלייה של FT במהלך החורף. יהיה מעניין לאתר חומר שמאפשר צימוח, ולראות עד כמה זה יועיל ליצירת תפרחות בעצים בהם היה זיכרון של עומס.

## **5. רשימה מלאה של פרסומים מדעיים**

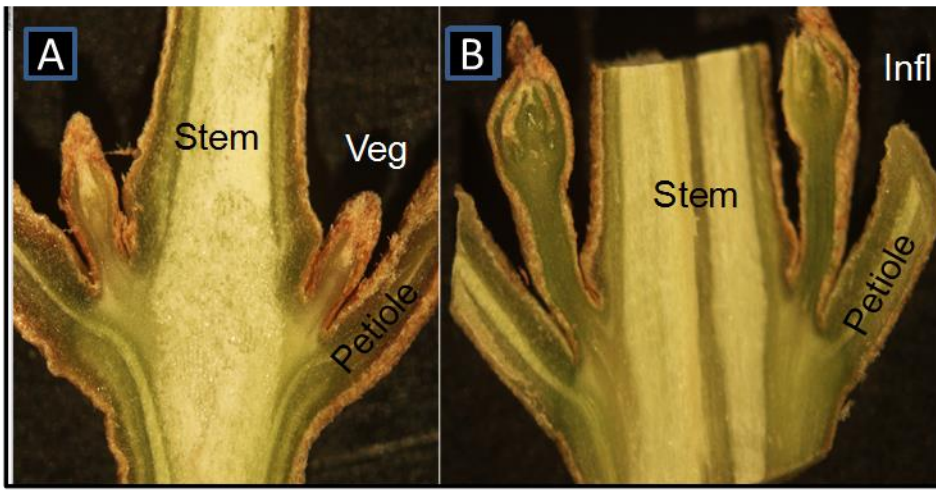
Smith H.M. & Samach A. (2013) Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials tree crops I: heavy fruit load dominates over vegetative growth. *Plant Sci*, **207**, 158-167.

Samach A. & Smith H.M. (2013) Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials II: environment and fruit load affect flowering induction. . *Plant Sci*, **207**, 168-176.



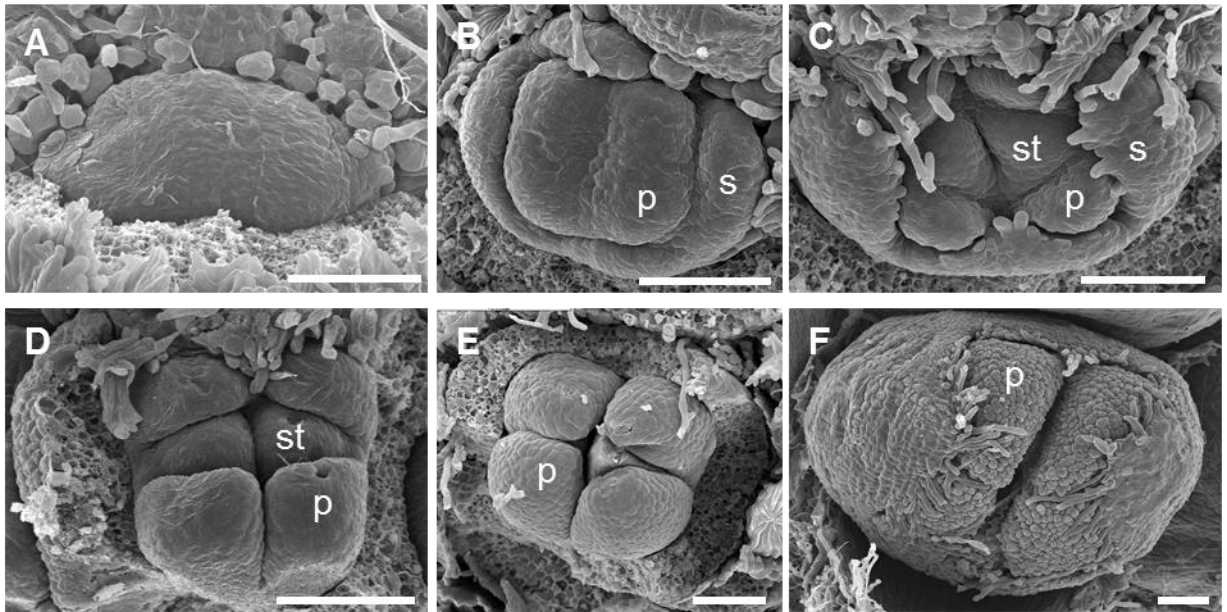


איור 1. שלבים ביצירת התפרחת, בניצן לטרלי. ב-A ניתן לראות התנפחות של הכיפה האפיקלית במריסטמה, ב-B ו-C נראית חלוקה של המריסטמה למבנים שונים מדפוס וגטטיבי, ב-D ו-E ניתן להבחין במבנה התפרחת ובפרחים בשלבי התפתחות שונים. ב-F כבר רואים תפרחת שפרצה החוצה מהחפים שמרכיבים את הניצן בשלבים המוקדמים. A. בתאריך 9 לפברואר 2011, B. בתאריך 16 לפברואר 2011, C-E. בתאריך 23 לפברואר 2011, F. בתאריך 7 לפברואר 2010. צולם במיקרוסקופ אלקטרוני סורק, אורך הפס בתמונות שווה ל-  $250\mu\text{m}$ .

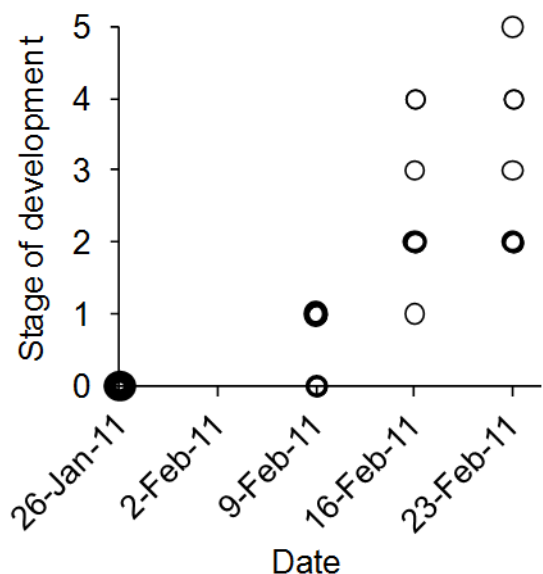


איור 2. A חתך אורך בגבעול (stem) של ענף על עץ שנשא פירות רבים. החתך נעשה בפברואר (מסוק בנובמבר, 3 חודשים לפני כן). ניתן לראות את פטוטרת העלה (petiole) ואת הניצן החיקי המייצר רק פרימורדיות עלים (Veg). B חתך אורך בגבעול (stem) של ענף על עץ שלא נשא כמעט פירות באותה שנה. החתך נעשה בפברואר (מסוק בנובמבר, 3 חודשים לפני כן).

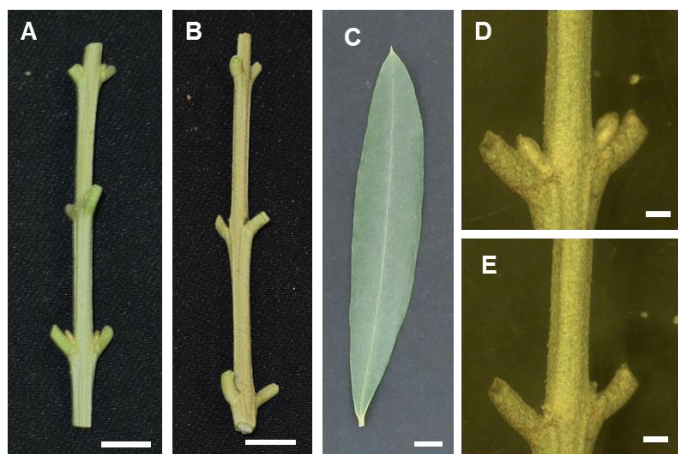
ניתן לראות את פטוטרת העלה (petiole) ואת הניצן החיקי שהתארך ומייצר תפרחת (inflorescence).



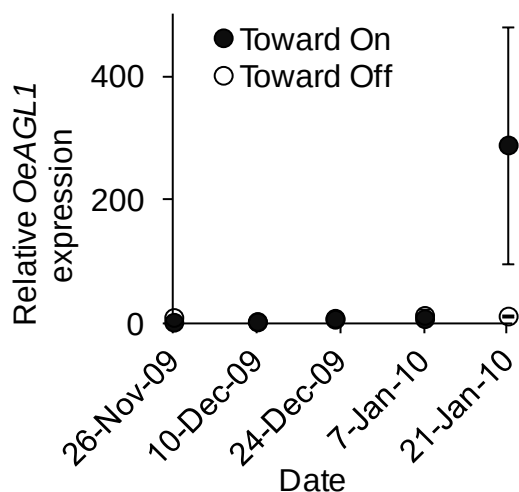
איור 3. שלבים בהתפתחות פרח בודד, פרח לטרלי בתוך תפרחת שנצורה מניצן לטרלי. A. התנפחות, גדילה של המריסטמה, B. יצירה של גבול שמבדיל את דור עלי הגביע בהיקף המריסטמה וחלוקה של המרכז למבנה של ארבע שעתיד להיות עלי כותרת, C, D. ניתן להבחין בארבע עלי כותרת וחלוקה לשניים של מרכז המריסטמה ליצירת שני האבקנים, E, F. התאים באפידרמיס של עלי הכותרת בעלי מרקם קוני (Conical) אופייני ונצמדים לסגירת מבנה הפרח. A-E. נדגמו בתאריך 23 לפברואר 2011, F. בתאריך 7 לפברואר 2010. s-עלי גביע, p-עלי כותרת, st-אבקנים. צולם במיקרוסקופ אלקטרוני סורק, אורך הפס בתמונות שווה ל-100µm.



איור 4. אפיון השלב ההתפתחותי בו נמצא מדגם של תפרחות, על פני ציר זמן. (0) שלב בו עדיין אין מאפייני תפרחות, (1) התנפחות, גדילה של הכיפה במריסטמה, (2) התחלת יצירה של גבול שמבדיל את דור עלי הגביע בהיקף המריסטמה, (3) התחלת חלוקה של מרכז המריסטמה למבנה של ארבע שעתיד להיות עלי כותרת, (4) התחלת חלוקה לשניים של מרכז המריסטמה ליצירת שני האבקנים. (5) התאים באפידרמיס של עלי הכותרת מתחילים להראות מרקם קוני (Conical) אופייני ונצמדים לסגירת מבנה הפרח. הספרה בסמוך לנקודה בגרף מראה את מספר התפרחות שמוציגות על ידי נקודה זו. הניצנים נדגמו מענפים שגדלו החל מעונת האביב 2010, מעצים לקראת שנת-On. עבור כל מועד נבדקו 7-9 ניצנים, קביעת השלב נעשתה לפי הפרח האפיקלי באמצעות מיקרוסקופ אלקטרוני סורק.



איור 5. הרקמות שנאספו בניסוי ליצירת ספריות ביטוי. קטע מענף שמתחיל 2 מפרקים אחרי הנקודה בה התחיל הצימוח החל מעונת האביב האחרונה באורך 3 מפרקים, לאחר הסרת העלים. A. עם הניצנים החקים, B. ללא הניצנים, C. עלה בגודל סופי. D. מפרק בענף עם הניצנים, E. מפרק בענף לאחר הסרת הניצנים. אורך הפס בתמונות A-C שווה ל-5 מ"מ, בתמונות D,E ל-1 מ"מ.

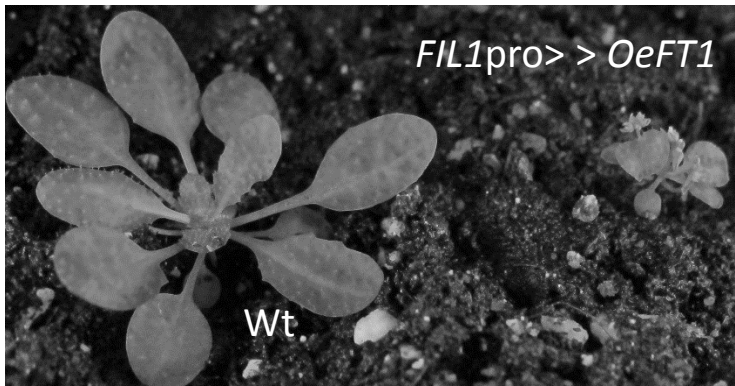


איור 6. ביטוי יחסי של הגן *OeAGL1* בענפים עם ניצנים וללא העלים מצימוח שגדל החל מעונת האביב בשנת 2009, על פני ציר זמן. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT-PCR ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. מוצגים שני טיפולים, עצים שהיו בעונה הקודמת ללא פרי ומצופים לפרוח בעונה הבאה (Toward On) ועצים הפוכים (Toward Off). ניתן לראות בעצים שצפויים לפרוח באביב הקרוב עליה בביטוי בחודש ינואר בעוד שבבעצים שלא צפויים לפרוח לא נראית עליה בביטוי. הנתונים הם ממוצע של שלושה עצים, מוצגת שגיאת התקן המחושבת עבור מספר העצים בממוצע. איפה שלא נראית שגיאת התקן היא קטנה מסימון הערך.

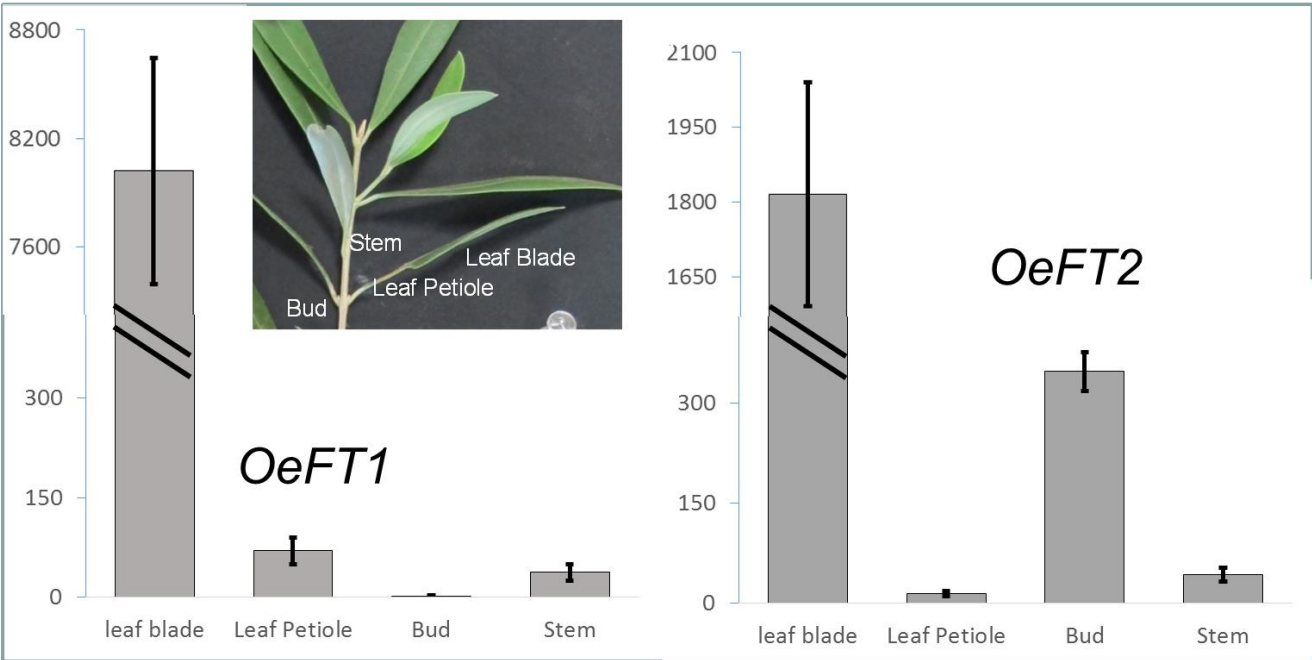


|       |                                                                       |     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| OeFT1 | MPRD-RDPLVVGRIIGDVLDPFTRSVPLRIVYADREVNNGWDFRPSQIVNRPRVEIGGDD          | 59  |
| OeFT2 | MSRD-RDPLVVGRIIGDVLDPFIRSVSLEVTYGNREVNNGWDFRPSQILNPPRVDIGGDD          | 59  |
| TSF   | MSLSRRDPLVVGSVVGDLDPFTRLVSLKVTYGHREVTNGLDLRPSQVLNKPIVEIGGDD           | 60  |
| FT    | MSINIRDPLIVSRVVGDLDPFNRSITLKVTYGQREVNTNGLDLRPSQVQNKPRVEIGGED          | 60  |
|       | *. . ****:*. :***** * :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*      |     |
|       |                                                                       |     |
| OeFT1 | LRTFYTLIMVDPDAPSPSESSLREYLHNLVTDIPATTGSSFGQEIVCYENPQPTMGIHRL          | 119 |
| OeFT2 | LRTFYTLIMVDPDAPSPSDPNLREYLHNLVTDIPATTGASFGQEIVCYESPRPSMGIHRF          | 119 |
| TSF   | FRNFYTLVMVDPDVPSPSNPHQREYLHNLVTDIPATTGNAFGNEVVCYESPRPPSGIHRI          | 120 |
| FT    | LRNFYTLVMVDPDVPSPSNPHLREYLHNLVTDIPATTGTTFGNEIVCYENPSPTAGIHRV          | 120 |
|       | :*. ****:*****. ****:*. :***** :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :*. :* |     |
|       |                                                                       |     |
| OeFT1 | VFVLFQQLGRQTVYAPGWRQNFNTREFAEIYNLGSPPAAVYFNCQRESGTGGRRS               | 174 |
| OeFT2 | VFALFRQLGRQTVYAPGWRQNFNTDFAELYNLDPVAAVYFNCQRESGTGGRRQ                 | 174 |
| TSF   | VLVLFQQLGRQTVYAPGWRQQFNTREFAEIYNLGLPVAASYFNCQRENGCGGRRRT              | 175 |
| FT    | VFILFRQLGRQTVYAPGWRQNFNTREFAEIYNLGLPVAAVFYNCQRESGCGGRRRL              | 175 |
|       | *: *:*****:*****:*****:***:***. **** :*****. * ****                   |     |

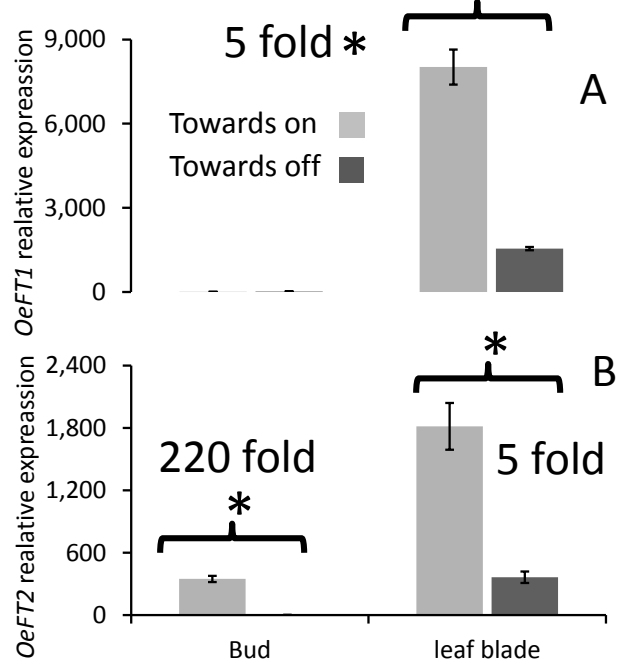
איור 7. השוואת רצפי חומצות אמינו מזית (קידומת Oe) וארבידופסיס דמויי החלבון FT. כוכבים מסמלים חומצות אמינו זהות בכל ארבעת הרצפים. " מסמל חומצות אמינו עם תכונות דומות בכל הרצפים.



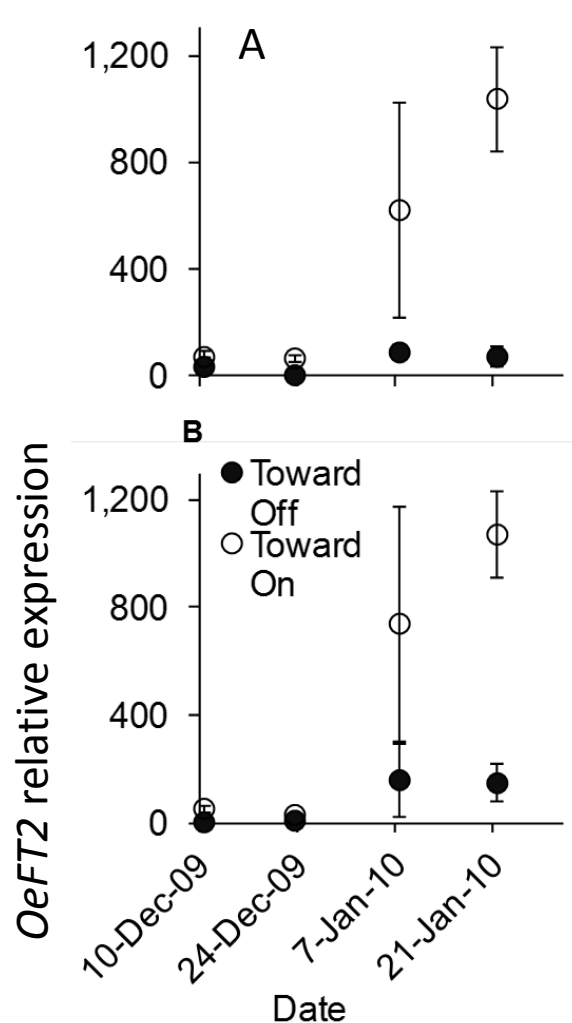
איור 8. ביטוי אקטופי (תחת פרומוטור FIL1 המתבטא בפרמורדיות של עלים) של הגן *OeFT1* מזית בצמחי ארבידופסיס גורם להקדמת פריחה ניכרת תחת ימים קצרים. מימין, צמח טרנסגני המכיל פרחים, משמאל, צמח wt שעדיין לא פורח.



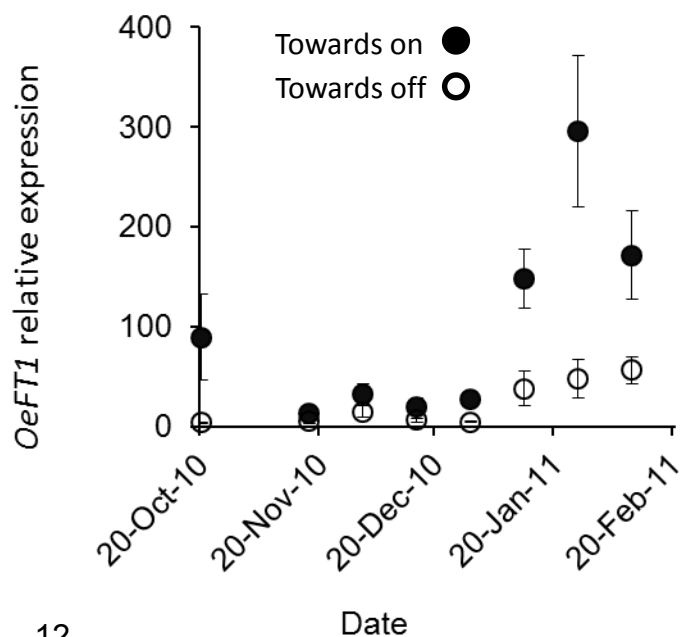
איור 9. ביטוי יחסי של הגנים *OeFT1* ו-*OeFT2* בארבע רקמות המודגמות באיור הפנימי: טרף העלה (leaf blade), פטוטרת העלה (leaf petiole), הפקע בחיק העלה (bud), והגבעול בין שני עלים (stem). הרקמות נלקחו מעצים בהם לא היה פרי בעונה הקודמת (לקראת on). תאריך הדיגום הוא 19 לינואר 2014. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT PCR, ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. הנתונים הם ממוצע של 5 חזרות ביולוגיות (עצים). שגיאת התקן מוצגת. מאחר ובשני הגנים הביטוי בעלים היה הרבה יותר גבוה מבשר הרקמות, העמודה של העלים נקטעה (סימון \) וכן המספרים על ציר ה-Y קופצים מעל נקודה מסוימת.



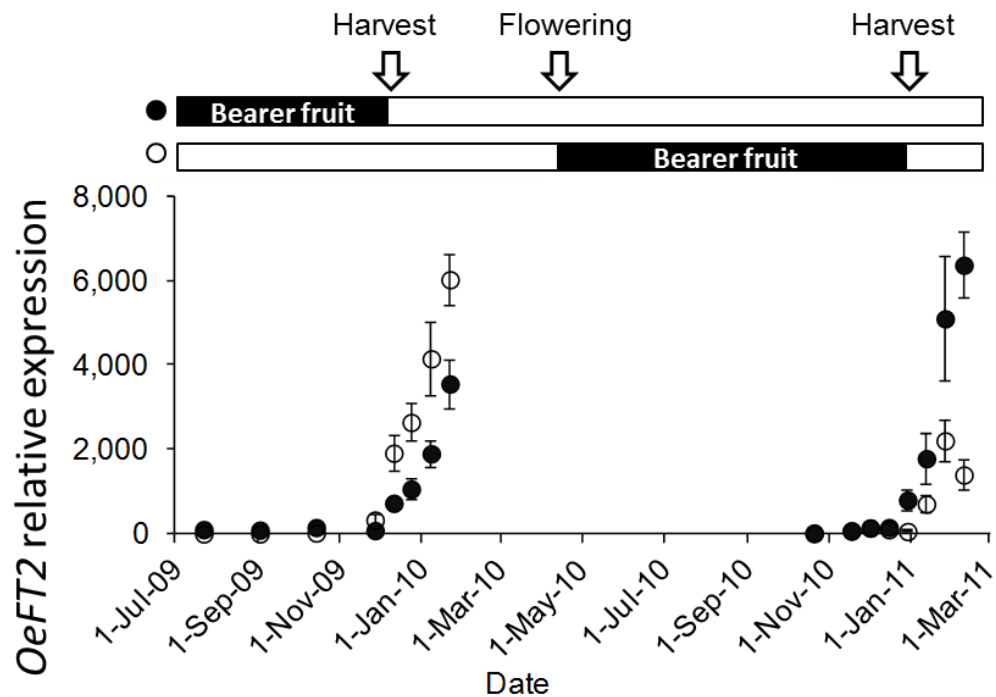
**איור 10. A-B** ביטוי יחסי של הגן *OeFT1* והגן *OeFT2* בטרף העלה (leaf blade) או בפקע (bud). הרקמות נלקחו מעצים בהם לא היה פרי בעונה הקודמת (towards on) או מעצים בהם היה עומס פרי כבד בשנה שעברה (towards off). תאריך הדיגום הוא 19 לינואר 2014. הביטוי נמדד באמצעות realtime RT-PCR, ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. הנתונים הם ממוצע של 5 חזרות ביולוגיות (עצים). שגיאת התקן מוצגת. ההבדל בין הטיפולים (עומס פרי לעומת ללא עומס) מובהק (\*) בשתי הרקמות בגן *OeFT2*, וברקמת הטרף בגן *OeFT1*. מידת העליה בביטוי כתוצאה מחוסר פרי מצוין כ- fold increase.



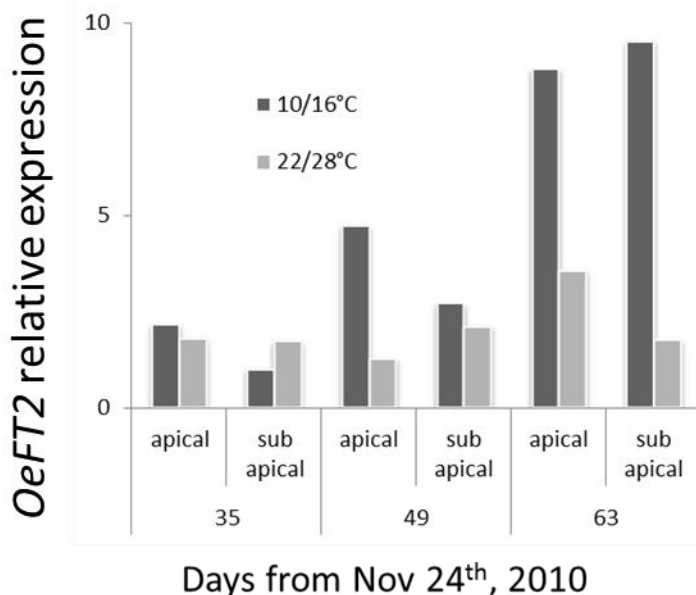
**איור 11.** ביטוי יחסי של הגן *OeFT2* בגבעולים ללא עלים מצימוח שגדל החל מעונת האביב 2009, על פני ציר זמן. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT-PCR ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. מוצגים שני טיפולים, עצים שהיו בעונה הקודמת ללא פרי ומצופים לפרוח בעונה הבאה (Toward On) ועצים הפוכים (Toward Off). **A.** ענפים שהוסרו מהם הניצנים, **B.** ענפים עם ניצנים. ניתן לראות בינואר עליה בביטוי הגן בעצים שצפויים לפרוח בעוד שבועיים שלא צפויים לפרוח לא נראית עליה משמעותית. העלייה בעצים שצפויים לפרוח נראית בגבעולים עם וללא הניצנים, מה שיכול להעיד על ביטוי בגבעול עצמו. הנתונים הם ממוצע של 2-3 עצים, מוצגת שגיאת התקן המחושבת עבור מספר העצים בממוצע. איפה שלא נראית שגיאת התקן היא קטנה מסימון הערך.



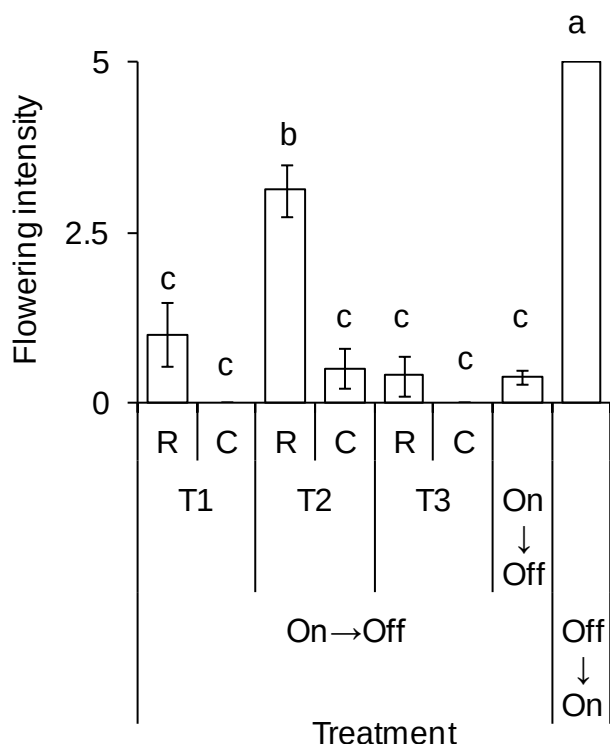
**איור 12.** ביטוי יחסי של הגן *OeFT1* בעלים במהלך חורף 2010-2011 מעצים שהיו עמוסי פרי (towards off) או חסרי פרי (towards on). בעצים מזן ברנע, חלקת צבר-קמה. דגימות RNA נלקחו מהעלים במועדים שונים. הנתונים הם ממוצע של 3-5 עצים, מוצגת שגיאת התקן.



**איור 13** ביטוי יחסי של הגן *OeFT2* בעלים מצימוח שגדל החל מעונת האביב האחרונה, על פני ציר זמן. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT-PCR ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. מוצגים שני טיפולים, עצים שבשנה הראשונה היו עמוסים פרי ובשנה העוקבת ללא פרי (עיגול מלא) ועצים הפוכים (עיגול ריק). ניתן לראות בשנה הראשונה בחודש דצמבר עליה בביטוי בעצים שלא נושאים פרי, בעוד שבועצים תחת נשיאה של פרי העלייה נראית באיחור של שבועיים וברמה נמוכה יותר. בשנה השנייה רואים מגמה דומה רק שמצב נשיאת הפרי של הטיפולים התהפך וכך גם דפוס העלייה בביטוי. הנתונים הם ממוצע של 3-5 עצים, מוצגת שגיאת התקן המחושבת עבור מספר העצים בממוצע. איפה שלא נראית שגיאת התקן היא קטנה מסימון הערך. בשנה הראשונה החל מה-10 לדצמבר 2009 והלאה, בשנה השנייה ב-29 לדצמבר 2010 וב-9 לפברואר 2011 התוצאות של שני הטיפולים שונות בצורה מובהקת לפי מבחן Tukey-Kramer HSD ( $P \leq 0.05$ ).

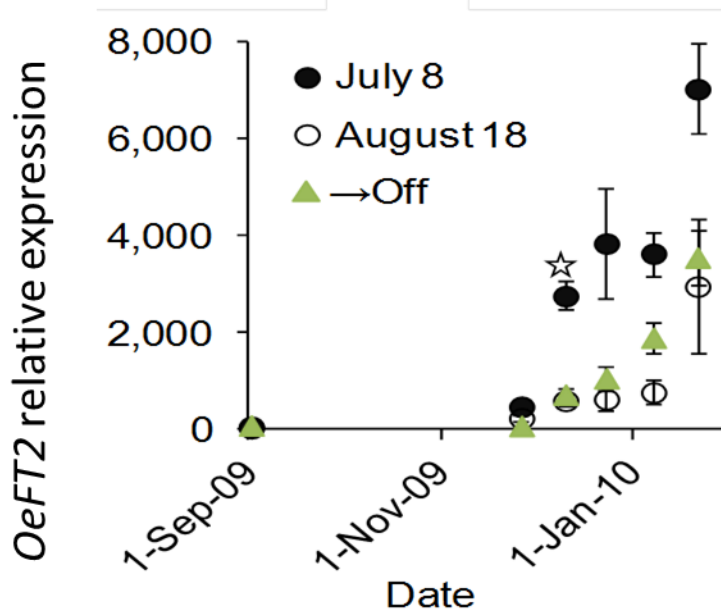


**איור 14** ביטוי יחסי של הגן *OeFT2* בעלים מענפים מנותקים בתנאי פיטוטרון. ענפים חד שנתיים מעצים שהיו חסרי פרי (פקולטה לחקלאות) נגזמו ב-24 לנובמבר 2010, הוכנסו לעציצים עם פרלייט וגודלו בימים קצרים תחת שני משטרי טמפ'. מאחר והעצים היו חסרי פירות, הצימוח החד שנתי שלהם היה יחסית ארוך, ולכן הענפים חולקו לקצה ענף (apical) ולמרכז ענף (sub apical). דגימות RNA נלקחו מהעלים במועדים שונים מתחילת הניסוי. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT-PCR ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. מוצגים שני טיפולי טמפ': 16/10°C (לילה/ יום) לעומת 28/22°C. הבדל בין הטיפולים התחיל אחרי 49 יום והיה ניכר לאחר 63 יום.



**איור 15.** עוצמת פריחה של זרועות, שנקבעה בתאריך 23 למאי 2010 והיא הערכה, כאשר 5 מסמל פריחה מלאה ו-0 ללא פרחים כלל. מוצגים נתונים של זרועות עצים שבעונה הקודמת היו עמוסות בפרי (On→Off) וזרועות עצים שהיו ללא פרי ומצופות לפרוח השנה (Off→On). בחלק מהעצים זרועות שעברו טיפולי הסרת פרי במועדים שונים, ב-3 ליוני 2009 (T1), ב-8 ליולי 2009 (T2) וב-18 לאוגוסט 2009 (T3). בכל עץ שעבר טיפול הסרת פרי, זרוע אחת שעברה את ההסרה (R) וזרוע ביקורת (C). איפה שלא נראית עמודה הערך שהתקבל שווה לאפס. העצים שלא נשאו פרי בשנה האחרונה מראים פריחה חזקה, בעוד שעצים שהיו בשנה האחרונה תחת נשיאה כבדה של פרי מראים פריחה נמוכה. זרועות שעברו הסרה של פרי בשני המועדים המוקדמים מראים פריחה חוזרת, טיפול הסרה ביוני גרם לעליה בפריחה בצורה בינונית ולא שונה סטטיסטית, טיפול הסרה ביולי גרם לפריחה חוזרת גבוהה יחסית ושונה סטטיסטית, בעוד שטיפול ההסרה באוגוסט לא גרם פריחה משמעותית, מה שמצביע על תהליכים חשובים שמתרחשים בין מועדים אלו.

הנתונים הם ממוצעים של 4-5 זרועות לטיפול, מוצגת שגיאת התקן שמחושבת למספר הזרועות בממוצע, איפה שלא נראית שגיאת התקן היא קטנה מסימון הערך. אותיות שונות בראש העמודה מסמנות תוצאה שונה בצורה מובהקת, לפי מבחן Tukey-Kramer HSD, ( $P \leq 0.05$ ).



**איור 16.** ביטוי יחסי של הגן *OeFT2* בעלים מצימוח שגדל החל מעונת האביב בשנת 2009, על פני ציר זמן. הביטוי נמדד באמצעות real-time RT-PCR ומחושב יחסית לגן *OeACT7L1*. מוצגים שלושה טיפולים, זרועות שעברו הסרת פרי בתאריך 8 ליולי 2009, זרועות שעברו הסרת פרי ב-18 לאוגוסט 2009, ועצים שלא עברו הסרת פרי (Off). ניתן לראות בחודש דצמבר עליה בביטוי בעצים שעברו הסרת פרי בחודש יולי, בעוד שבעצים שעברו הסרת פרי באוגוסט העלייה נראית באיחור של שבועיים וברמה נמוכה יותר, בדומה לביקורת של עומס פרי. הנתונים הם ממוצע של 3-5 זרועות, מוצגת שגיאת התקן המחושבת עבור מספר הזרועות בממוצע, איפה שלא נראית שגיאת התקן היא קטנה מסימון הערך. כוכב מסמן את המועד ממנו והלאה בציר הזמן התוצאות של הטיפולים נמצאו שונות בצורה מובהקת, לפי מבחן Tukey-Kramer HSD, ( $P \leq 0.05$ ).

- [1]H.T. Hartmann, Time of floral differentiation of the olive in California, Bot. Gaz., 112 (1951) 323-327.
- [2]K. Pinney, V.S. Polito, Flower initiation in "Manzanillo" olive, Acta Hort., 286 (1990) 203-205.
- [3]L. Rallo, G.C. Martin, The role of chilling in releasing olive floral buds from dormancy, J. Amer. soc. Hort. Sci., 116 (1991) 1058-1062.
- [4]H.T. Hartmann, J.E. Whisler, Flower production in olive as influenced by various chilling temperature regimes, J. Amer. soc. Hort. Sci., 100 (1975) 670-674
- [5]S. Cerezo, A. Barcelo, A. Samach, J.A. Mercado, F. Pliego-Alfaro, Transformacion genetica de olivo (*Olea europaea* L.) con un gen de *Medicago truncatula* que codifica para un proteina tipo FT, X reunioin de la Sociedad Espanola de Cultivo in Vitro de Tejidos Vegetales, Organizado por EEAD-CSIC, UNIZAR y SECIVTV, Zaragoza, 22-24 Octubre, 2013 (2013).
- [6]A. Samach, Congratulations, you have been carefully chosen to represent an important developmental regulator!, Annal.Bot., 111 (2013) 329-333.
- [7]L. Shalom, S. Samuels, N. Zur, L. Shlizerman, H. Zemach, M. Weissberg, R. Ophir, E. Blumwald, A. Sadka, Alternate Bearing in Citrus: Changes in the Expression of Flowering Control Genes and in Global Gene Expression in ON- versus OFF-Crop Trees, PLoS ONE, 7 (2012) e46930.
- [8]F. Nishikawa, T. Endo, T. Shimada, H. Fujii, T. Shimizu, M. Omura, Y. Ikoma, Increased CiFT abundance in the stem correlates with floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.), J. Exp. Bot., 58 (2007) 391.5-3927
- [9]M. Nakagawa, C. Honsho, S. Kanzaki, K. Shimizu, N. Utsunomiya, Isolation and expression analysis of FLOWERING LOCUS T-like and gibberellin metabolism genes in biennial-bearing mango trees, Scientia Horticulturae, 139 (2012) 108-117.
- [10] D. Ziv D, T. Zviran, O. Zezak, A. Samach, V. Irihimovitch (2014) Expression Profiling of FLOWERING LOCUS T-Like Gene in Alternate Bearing 'Hass' Avocado Trees Suggests a Role for PaFT in Avocado Flower Induction. PLoS ONE Published: October 17, 2014 DOI: 10.1371/journal.pone.0110613



נא להתייחס לכל השאלות בקצרה ולעניין, ב-3 עד 4 שורות לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| ליצור תשתית ידע המתאר את מהלך קבלת ה"החלטות" ליצירת תפרחות בזית, ברמה המולקולארית, ואופן ההתערבות של מספר הפירות וטיפולם אגרוטכניים על אופן קבלת ה"החלטות". בראש ובראשונה חשוב לנו להגדיר בזמן את המועד בו בניצנים חלים שינויים בביטוי גנים המעידים על קבלת ההחלטה לייצר תפרחת בניצן. ידיעת המועד (שעשוי להשתנות מעט מדי שנה ובהתאם לזן), יאפשר פיתוח כלי מדידה מולקולאריים לקביעת מידת ההתמיינות לפריחה כבר בסתיו-חורף,                                                                                                 |
| <b>אלו ממטרות המחקר הושגו בעבודת המחקר הנוכחית?</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| כל מטרות המחקר הושגו                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>עיקרי התוצאות.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| ללא עומס פרי ההתמיינות לפריחה בזית מתרחשת בסוף החורף (פברואר). במהלך החורף ישנה עלייה בביטוי שני גנים המקודדים לחלבון הפלורוגני FT. העלייה בביטוי היא בעיקרה בטרף העלה אך גם בפקעים ובגבעול. עומס פרי מפחית צימוח אביבי. עומס פרי מפחית באופן מובהק את העלייה בביטוי הגנים המקודדים ל-FT במהלך החורף, ומונע אינדוקציה לפריחה בסוף החורף. טמפרטורות נמוכות מעלות את ביטוי הגן FT בעוד שעומס פרי מפחית את ביטוי הגן. בסוף יולי מתקבע הזיכרון של עומס פרי, כך שהסרת פרי מאוחרת יותר לא מאפשרת עלייה בביטוי FT ופריחה חוזרת. |
| <b>מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| עומס פרי מונע יצירת מספר רב של פקעים ומונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. במחקר זה התמקדנו בהבנת התהליך בו עומס פרי מונע אינדוקציה לפריחה בפקעים המעטים שנוצרו. ראינו שיש מתאם מלא בין אופן הביטוי של גנים המקודדים ל-FT ופריחה חוזרת. הבנו שמועד האינדוקציה הוא סוף החורף אך הזיכרון של עומס הפרי נקבע כ-4 חודשים קודם לכן, בסוף יולי.                                                                                                                                                                          |
| <b>בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• כיצד מתקבע הזכרון של עומס פרי בזית, והאם אפשר לערער את הזכרון הזה?</li> <li>• האם זנים בעלי דרישות קור נמוכות יותר יצליחו לפרוח למרות זיכרון של עומס יבול יחסית כבד?</li> <li>• האם ניתן למצוא חומרים שיחליפו הצורך בטמפרטורות נמוכות?</li> <li>• האם ניתן למצוא חומרים שיאפשרו צימוח בנכוחות עומס פרי כבד?</li> </ul>                                                                                                                                                          |
| <b>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - <u>ציטט</u> ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי;</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <p>Smith H.M. &amp; Samach A. (2013) Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials tree crops I: heavy fruit load dominates over vegetative growth. <i>Plant Sci</i>, <b>207</b>, 158-167.</p> <p>Samach A. &amp; Smith H.M. (2013) Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials II: environment and fruit load affect flowering induction. . <i>Plant Sci</i>, <b>207</b>, 168-176.</p> <p style="text-align: center;"> </p>                                                       |
| <b>פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)</span> <span>⏪</span> </div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |