

איתור מדדים פיזיולוגיים מוקדמים וגנים הקובעים התאמה בהרכבות של כנות דלעת

ומילון

Identification of physiological and molecular factors that determine grafting compatibility between melon and cucurbita.

דו"ח מסכם לתוכנית מחקר מספר (261-0569-09).

ע"י

בני אלוני, לאה קרני, גילה דוונטוררו – המחלקה לחקר ירקות, המכון למדעי הצמח, מינהל המחקר, בית דגן. נורית קציר, מאיה לוטן - פומפן, ויטלי פורטנוי, המחלקה לחקר ירקות, המכון למדעי הצמח, נווה יער. מנחם אדלשטיין, רוני כהן - המחלקה לחקר ירקות, המכון למדעי הצמח, נווה יער.

Beny Aloni*, Leah Karni, Gila Deventurero - Department of Vegetable Research, Institute of Plant Science, A.R.O. the Volcani Center, P.O.B. 6, Bet-Dagan 50250, Israel.

* vcaloni@volcani.agri.gov.il

Nurit Katzir**, Maya Lotan-pompan, Menchem.

** katzirn@volcani.agri.gov.il

Edelstein Menachem - Institute of Plant Science, A.R.O. the Volcani Center, Neve Yaar, P.O. Box 1021, Ramat-Yishay 30095, Israel.

medelst@volcani.agri.gov.il

Roni Cohen - Department of Plant pathology and Weed Research, A.R.O. Northern R&D Center, Neve-Ya'ar, Israel

ronico@volcani.agri.gov.il

יוני 2010

סיון תשס"ח

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות של ניסויים

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא



----- חתימת החוקר

עמוד**תוכן עניינים**

3.....	תקציר.....
	הדו"ח המפורט
3.....	מבוא.....
	פירוט הניסויים
4.....	איפיון התפתחות השתילים המורכבים לעומת הלא מורכבים בתנאים מבוקרים.....
6.....	השפעת טיפולים הורמונליים על פרמטרים ביוכימיים בשתילים מורכבים.....
8.....	השפעת מעכבי אתילן.....
	לימוד תגובת שתילי מילון מורכבים על כנות דלעת לחומרים בעלי פעילות אנטי –אוקסידנטית
9.....	ואנטי-אתילנית בתנאי עקת מלח.....
12.....	סלקציה מהירה של כנות בעלות רמות התאם שונות.....
	לימוד השינויים המולקולריים המתרחשים בשורש ובאיזור ההרכבה של צירופי הרכבה טובים
15.....	ולא טובים.....
16.....	בידוד וביטוי גנים הקשורים לסינזת והעברת סיגנל של אתילן ואוקסין.....
16.....	איתור גנים קנדידטים לשם הבדלה בין כנות טובות וגרועות.....
17.....	דיון וסיכום.....
19.....	ספרות.....

תקציר

הצגת הבעיה: בישראל הולך וגדל אחוז השתילים המורכבים, בעיקר באבטיחים, מילונים ועגבניות. המפתח להצלחה בגידול צמחים מורכבים היא ההתאמה שבין הכנה לרוכב. אין עדין הבנה של הגורמים הפיזיולוגיים והמולקולריים הקובעים את ההתאמה כנה-רוכב. **מטרות תוכנית המחקר היו: א.** לימוד השינויים ההורמונליים (בעיקר של אוקסין ואתילן) החלים בהרכבות טובות ולא טובות של מילון על דלעת. **ב.** לימוד הקשר בין רגישות דיפרנציאלית של כנות דלעת לאוקסין ואתילן והתאמתם בהרכבה על רוכבי מילון. **ג.** לימוד השפעת עקת סביבה על שתילים מורכבים. **ד.** פיתוח שיטות סלקציה לצירופי הרכבה מוצלחים בין כנות דלעת לרוכבי מילון לגידול בתנאי עקה. **ה.** לימוד השינויים המולקולריים המתרחשים בשורש ובאיזור ההרכבה של צירופי הרכבה טובים ולא טובים.

במהלך המחקר בוצעו ניסויים בכל אחד מהתחומים שצוינו. שיטת העבודה היתה גידול שתילים מורכבים ולא מורכבים מסוגים שונים בהידרופוניקה החל מ 10 ימים מהרכבה וחשיפתם לטיפולי עקה ואו לטיפולים בחומרי צמיחה שונים. במהלך של כ 20 יום מתחילת הטיפולים נערכו עליהם מדידות פיזיולוגיות וביוכימיות שונות. בשלב ראשון של המחקר נמצאו הבדלים בין שתילים בעלי התאמה (compatibility) טובה וגרועה; ברגישותם לאתילן ואוקסין, בייצור אתילן ואוקסין, בצבירת מי חמצן בשורש, בפעילות אנזימים אנטי אוקסידנטים, בשינויים בפרופיל פראוקסידזות בשורש ובפרופיל הפרוטאומי בשורש. בהמשך המחקר פותחה שיטה לסלקציה של כנות בעלות התאם טוב בהתבסס על מנגנון האי-התאם שאנו מציעים. אנליזה מולקולרית ראשונית של גנים הקשורים במטבוליזם של עקה, אתילן, ואוקסין בשורשים של שתילים מורכבים בעלי התאם טוב וגרוע הצביעה על הבדלים בביטוי גנים לביוסינטזה של אתילן, כפי המצופה. נערכו ניסויים לבחינת מתן חומרים אנטי אוקסידנטים לשורשים על מנת להגביר התאם בצירופי כנה רוכב בעייתיים ונמצא שחומרים המעכבים ביוסינטזה או רגישות לאתילן (AVG, STS) וכן עיכוב עקת חימצון בעזרת ח' אסקורבית מסייעים לשפר חלקית אי התאם בהרכבה. בהמשך המחקר נמצא שעקת מלח משפיעה באופן דיפרנציאלי על צירופים שונים של כנה רוכב ושחומרים בעלי פעילות אנטי אוקסידנטית ואנטי אתילנית מגבירים עמידות של השתילים המורכבים לתנאי עקת מלח. לח' אבסיסית (ABA) פעילות דומה לזו של חומרים אנטי אתילניים. בשלב האחרון של המחקר מצאנו שרגישות השתילים למלח מושפעת מטמפרטורת השורש ומטמפרטורת האויר. לכך יש השלכות חשובות על שימוש בשתילי מילון מורכבים בגידול אביבי וסתווי.

הדו"ח המפורט

מבוא

בישראל הולך וגדל אחוז השתילים המורכבים, בעיקר באבטיחים, מילונים ועגבניות. טכנולוגיה זו נבחנת ואף מיושמת בגידולי חממה נוספים כמו מלפפון, פלפל וחציל. המפתח להצלחה בגידול צמחים מורכבים היא

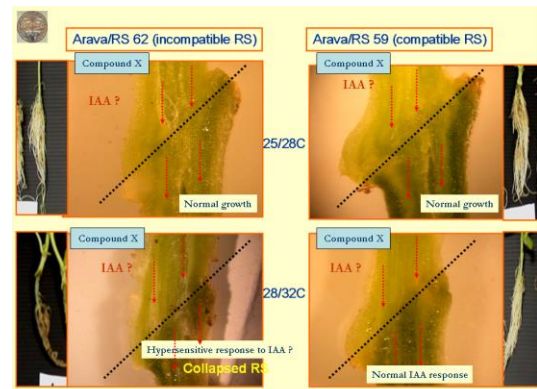
ההתאמה שבין הכנה לרוכב. הבנת הגורמים הגנטיים, האנטומיים, הפיזיולוגיים, הביוכימיים והמולקולריים המשפיעים על ההתאמה בין כנה לרוכב הם המפתח לאפשרות הכנסת שיפורים בטכנולוגיה זו. במחקר קודם שבוצע ע"י הצוות הנ"ל על כנות דלעת, בעלות התאם גבוה או נמוך עם רוכב מילון, נבחנו גנים אשר הביטוי שלהם באיזור ההרכבה עומד בקורלציה להצלחת ההרכבה. יחד עם זאת מצאנו שחוסר התאמה בין הכנה לרוכב נובע בעיקר מהתמוטטות ראשונית של השורש ורק בשלבים מאוחרים יותר נפגע איזור ההרכבה. כמו כן מצאנו אינדיקציות לכך שאוקסין הנע מהרוכב לכנה הינו חלק מהמנגנון הקובע את ההתאמה כנה – רוכב. השערה זו נסמכת על כך שמעכבי טרספורט של אוקסין מבטלים באופן כמעט מלא את תופעת האי-התאם בהרכבה (1). בציור 1 מוצגת סכימת ההיפוטזה הראשונית של העבודה. במחקר הנוכחי העמקנו בלימוד המעורבות של אוקסין ואתילן בקביעת ההתאם כנה – רוכב, ובלמוד תגובת שתילים מורכבים לעקות סביבה. על בסיס המודל לאי – התאם שמצאנו פיתחנו שיטה לסלקציה מהירה של כנות בעלות התאם גבוה.

פירוט הניסויים

החומר הצמחי במחקר היו צמחי מילון מהזן 'ערבה' כרוכב וקווי דלעת (מהאוסף של נווה יער (2)) ששמשו ככנות. השתמשנו בשני סוגי כנות; RS59 (כנה בעלת התאם טוב עם רוכב מילון מהזן ערבה) ו- RS62 (בעלת אי התאם). בניסויים מסויימים השתמשנו בכנת דלעת מסחרית (TZ) לשם השוואה. ההרכבות נעשו במשתלת 'חישתיל' – אשקלון. לאחר 10 ימים מהרכבה השתילים הובאו לבית דגן. הצירופים ששימשו למחקר היו: 1. מילון לא מורכב מהזן 'ערבה' (Ar), 2. מילון\כנת מילון (הרכבה עצמית), 3. מילון\RS59 (הרכבה טובה), 4. מילון\RS62 (אי התאם). לפי מימצאים קודמים, בשלושת צירופי ההרכבה אין הבדל בחיבור האנטומי עד כ 14 ימים מהרכבה (3). תהליכים של התנוונות הכנה הגרועה ניכרים אחרי כ – 20 יום מהרכבה.

איפיון התפתחות השתילים המורכבים לעומת הלא מורכבים בתנאים מבוקרים. השתילים גדולו בעציצים בפיטוטרון במשטר טמפ. רגילות או טמפ. גבוהות. טבלאות 1, 2, 3, ו- 4 מייצגות תוצאות ניסוי זה. מהתוצאות רואים שהתפתחות השתילים מההרכבה הלא טובה (Ar/RS62) דומה ליתר השתילים במשך 14 ימים אחרי ההרכבה אולם מעוכבת אחרי 24 ימים לפי פרמטרים של גידול וטרספירציה (טבלאות 1, 2). מבדיקת הסוכרים עולה שבשורשים של Ar/RS62 יש ככל הנראה עיכוב בפירוק הסוכרוז גם 14 אחרי ההרכבה (טבלה 3), דבר שיכול להסביר את עיכוב התפתחות מערכת השורשים והצמח כולו בהמשך הגידול. לטמפ. גבוהה היתה השפעה מעכבת על ההרכבה הגרועה גם במועד המוקדם (14 יום מהרכבה) (טבלה 4).

ציור 1: הצעה לאופן השפעת האינטראקציה כנה-רוכב על התאם או אי התאם בהרכבות. תנועת אוקסין בזיפטלית מביאה להצטברות אוקסין בשורש בתנאי עקת טמפ. גבוהה. בכנה בעלת אי התאם, האוקסין גורם לעיכוב השורש והתמוטטות הצמחים. בכנה טובה קיימים מנגנונים לניטרול ההשפעה המזיקה של רמות אוקסין גבוהות.



טבלה 1

Fresh weights (g) of roots and shoots of non-grafted 'Arava' melon seedlings compared to 'Arava' melon scion grafted on melon, or on compatible (RS59) or incompatible (RS62) Cucurbita rootstocks.

Scion/ Rootstock	Days after grafting			
	14	24	14	24
	Root		Shoot	
'Arava' (non grafted)	1.4 ± 0.1	11.9 ± 1.1 [§]	4.1 ± 0.3	50.5 ± 4.7
'Arava'/'Arava'	1.8 ± 0.1	22.6 ± 1.7	4.1 ± 0.1	67.3 ± 6.7
'Arava'/RS59	1.1 ± 0.1	13.8 ± 2.5	3.7 ± 0.1	74.8 ± 10.3
'Arava'/RS62	1.0 ± 0.1	6.8 ± 2.4	3.9 ± 0.2	19.9 ± 2.1
LSD _{0.05}	0.2	5.1	0.4	15.6

טבלה 2

Transpiration rates of non-grafted 'Arava' melon seedlings compared with grafted 'Arava' (Ar) melon on melon, or on compatible RS59 or incompatible RS62 Cucurbita rootstocks.

Scion/RS	Transpiration rate (ml m ⁻² h ⁻¹)	
	14 DAG	24 DAG
'Arava' (not grafted)	122 ± 25 [§]	159 ± 35
'Arava' /RSAr	135 ± 31	232 ± 55
'Arava' /RS59	246 ± 38	324 ± 47
'Arava' /RS62	223 ± 33	80 ± 24
LSD _{0.05}	42	67

טבלה 3

Root carbohydrates concentrations in non-grafted 'Arava' melon seedlings compared to grafted 'Arava' melon on melon, or on compatible RS59 or incompatible RS62 Cucurbita rootstocks.

Scion/RS	Carbohydrates (mg g ⁻¹ Fw)					
	Starch		Sucrose		Reducing sugars	
	14DAG	24DAG	14DAG	24DAG	14DAG	24DAG
'Arava' (non grafted)	2.5 ± 0.4 [§]	1.5 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.1	3.2 ± 0.3	0.8 ± 0.05
'Arava'/'Arava'	2.3 ± 0.4	1.6 ± 0.3	1.1 ± 0.5	1.2 ± 0.1	2.7 ± 0.3	1.3 ± 0.2
'Arava'/RS59	2.6 ± 0.4	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.05	1.0 ± 0.06
'Arava'/RS62	2.8 ± 0.2	1.0 ± 0.1	3.6 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.1
LSD _{0.05}	0.4	0.3	0.7	0.4	0.6	0.4

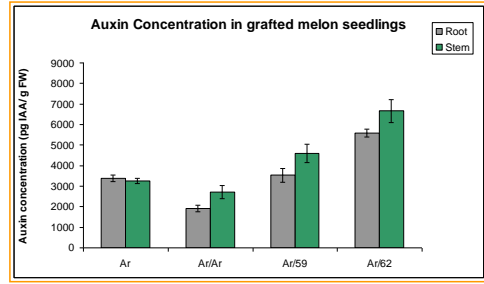
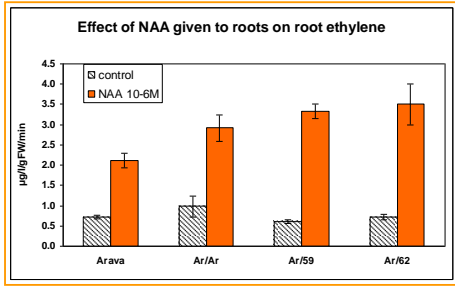
טבלה 4

The effect of temperature treatments applied for 7 days, starting from 7 days after grafting on the development of melon (Ar, cv. 'Arava') grafted on either melon or pumpkin rootstocks. Normal temperatures were: 22/26°C and high temperatures were: 28/35°C (night/day). Data are means (n = 10) ± S.E.

Temp. treatment	Scion/Rootstock	Fresh weight (gr.)			
		Root		Shoot	
		Days after grafting			
		14	32	14	32
Normal temp.	Ar (non grafted)	1.4 ± 0.1	11.9 ± 1.1	4.1 ± 0.3	50.5 ± 4.7
	Ar/Ar	1.8 ± 0.1	22.6 ± 1.7	4.1 ± 0.1	77.3 ± 6.7
	Ar/RS59	1.1 ± 0.1	13.8 ± 2.5	3.7 ± 0.1	74.8 ± 10.3
	Ar/RS62	1.0 ± 0.1	6.8 ± 2.4	3.9 ± 0.2	39.9 ± 2.1
High temp.	Ar (non grafted)	2.5 ± 0.2	9.9 ± 1.1	6.1 ± 0.4	70.2 ± 5.6
	Ar/Ar	2.7 ± 0.3	9.9 ± 0.1	6.1 ± 0.3	78.9 ± 1.3
	Ar/RS59	2.0 ± 0.1	11.8 ± 1.0	5.8 ± 0.4	78.3 ± 3.8
	Ar/RS62	1.5 ± 0.2	4.70 ± 1.4	2.5 ± 0.1	12.1 ± 0.1

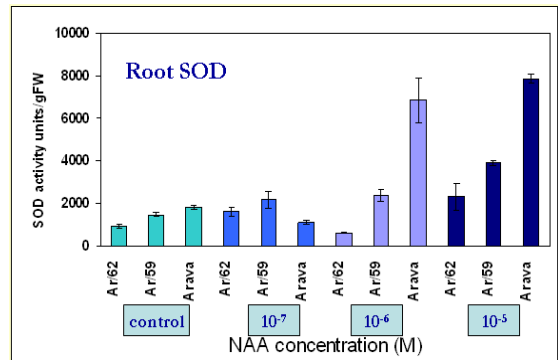
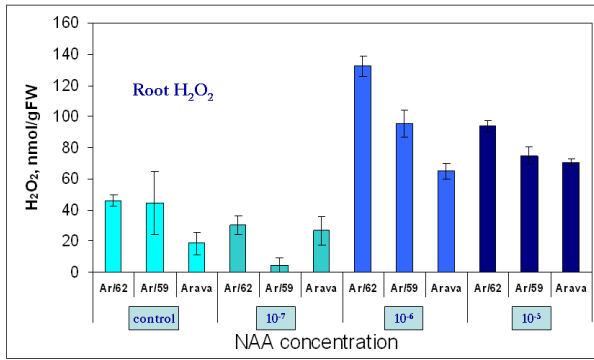
השפעת טיפולים הורמונליים על פרמטרים ביוכימיים בשתילים מורכבים. בניסויים אלה השתילים גודלו במערכת הידרופונית להם הוספו חומרי הצמיחה השונים. במהלך השהות במערכת זו נלקחו דגימות שורש לביצוע האנליזות הכימיות והבדיקות האנזימטיות. הבדיקות שבוצעו היו: מדידות משקל השורשים והנוף, בדיקות הפרשת אתילן מהשורש, ע"י גז כרומטוגרף, אנליזות של IAA (בשיטה אימונולוגית Elisa) במעבדתו של פרופ. יוסי ריוב, קביעת עמילן, סוכרים מחזורים וסוכרון, קביעת ריכוז מי חמצן בשורשים ופעילות של מספר אנזימים אנטי אוקסידנטים (פראוקסידז-מסיס ודופן, סופראוקסיד דיסמוטאז (SOD), קטלאז). כמו כן נעשתה אנליזה אלקטרופורטית של איזו-אנזימים של פראוקסידז מסיס וקשור בשורש. חומר צימחי זה שימש גם לאנליזות הפרוטאומיות שבוצעו במעבדה הפרוטאומית של נתן גולופ (ז"ל).

במועד של 14 יום אחרי הרכבה מצאנו שריכוז האוקסין (IAA) הכללי היה גבוה באופן משמעותי בשורשים של שתילים מורכבים עם התאם נמוך (Ar/62) מאשר שתילים בעלי התאם גבוה (Ar/59 או Ar/Ar, ציור 2). יחד עם זאת לא נמצאו הבדלים בין קצב הפרשת האתילן של שורשים אלה. אולם בתגובה למתן האוקסין הסינטי NAA בריכוז $10^{-6}M$ קצב ייצור האתילן ע"י השורשים היה גבוה יותר בשתילים מורכבים מהתאם נמוך (ציור 3). מסקנתנו היתה שכנת דלעת בעלת התאם נמוך עם רוכב מילון מגלה רגישות גבוהה יותר לאוקסין והביטוי לכך הוא ייצור מוגבר של אוקסין בשורש. בנוסף לכך מצאנו שהוספת NAA לתמיסת השורשים הגבירה הצטברות של מי חמצן בעיקר בשורשים (ציור 5) של שתילי ההרכבה בעלת התאם נמוך (Ar/62) והגבירה פעילות האנזימים האנטי-אוקסידטיבים – SOD ופראוקסידז בעיקר בשתילים עם הרכבה עם התאם גבוה (ציורים 4 ו 6 בהתאמה). השינויים בפעילות אנזימים נוספים שנבדקו (קטלאז, ואסקורבט פראוקסידז) היו דומים לאלה של פראוקסידז (התוצאות לא מובאות בשל קוצר היריעה). העליה בפעילות פראוקסידז בשורשים היתה מלווה בשינוי פרופיל האיזו-אנזימים בשורש (ציור 7). לא ברורה לנו עדין המשמעות של השינויים באיזו-אנזימים.



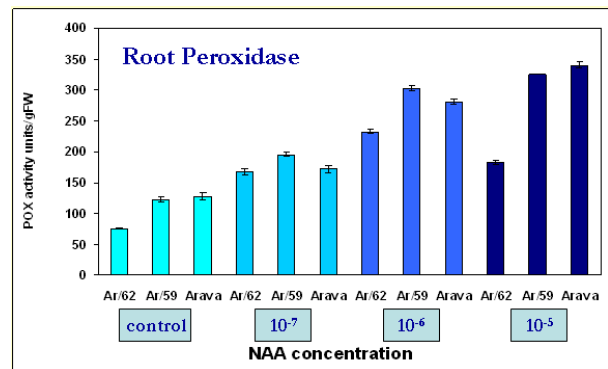
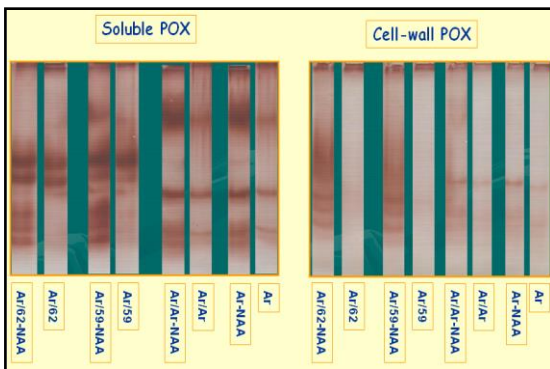
ציור 3 : השפעת טיפול ב NAA על הפרשת אתילן ע"י השורש. NAA מגביר הפרשת אתילן ושיעור גבוה יותר בכנה בעלת אי התאם.

ציור 2: ריכוזי אוקסין בשורש ובגבעול. הריכוזים גבוהים יותר בהרכבה בעלת אי התאם.



ציור 5 : השפעת טיפולי NAA על פעילות SOD בשורש. NAA בריכוזים גבוהים מגביר פעילות SOD בכנות בעלות התאם גבוה.

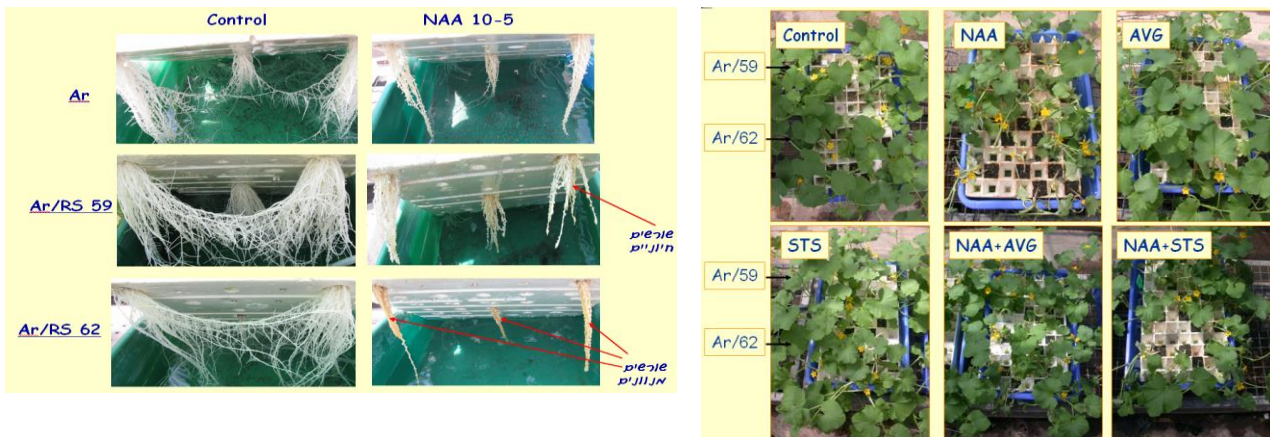
ציור 4: השפעת טיפולי NAA על ריכוז מי חמצן בשורש. NAA בריכוזים גבוהים מגביר הצטברות מי חמצן בשורשים ובמידה רבה יותר בכנה בעלת אי התאם.



ציור 7 : פרופיל האיזו אנזימים של Peroxidase מסיס וקשור לדפנות התאים בשורשים בהשפעת טיפולי NAA. יש הבדלים גדולים בפרופילי החלבונים המסיסים והקשורים.

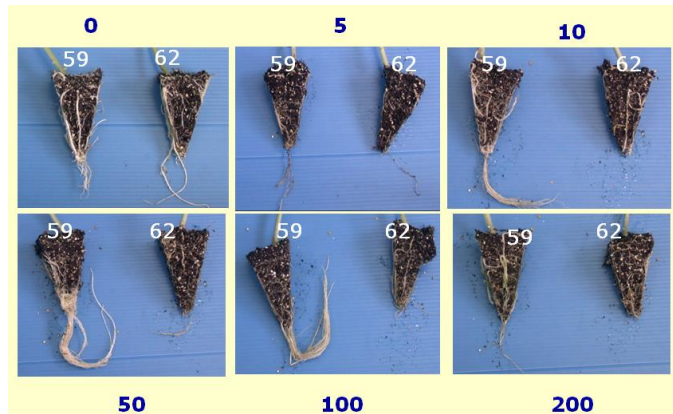
ציור 6 השפעת טיפולי NAA על פעילות SOD בשורש. NAA בריכוזים גבוהים מגביר פעילות Peroxidase בכנות בעלות התאם גבוה.

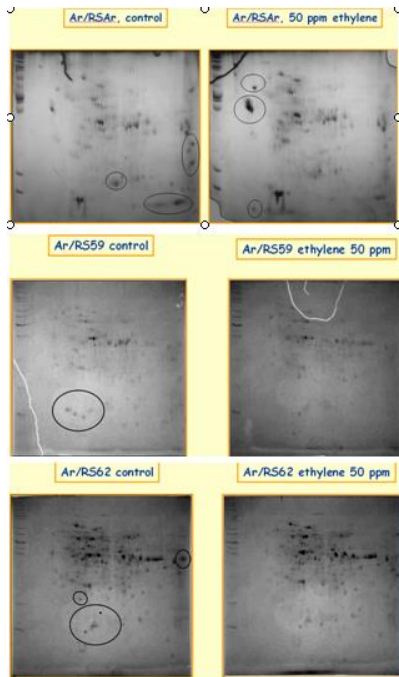
השפעת מעכבי אתילן. אם אכן מנגנון אי-התאם בהרכבה תלוי בפעילות אוקסין המפעיל יצור אתילן בשורש הרי תוספת מעכבי אתילן תעכב את התהליך. ניסויים בפרק זה נערכו לפי המתכונת של הניסויים הקודמים. כאן טיפולי ההידרופניקה כללו מעכבי אתילן והשהייה של השתילים במיכלים עד התחלת התמוטטות (כ- 25 יום מהרכבה). תוצאות של ניסוי מייצג נראות בציור 8. התוצאות המשמעותיות ביותר היו א. רגישות הדיפרנציאלית של הכנות ל NAA תואמת את מידת ההתאם שלהם. ב. ניתן לבטל רגישות ל NAA ע"י מעכבי ביוסינטזה של אתילן (AVG) או מעכב פעולה של אתילן בשורש (STS). תוצאות אלה מחזקות את השערתנו ש NAA משרה פעולתו על התמוטטות השורש באמצעות הגברת ייצור אתילן בשורשים. בהמשך לכך ערכנו ניסויים נוספים בהם השתמשנו באתרל כגורם סלקציה ראשי. ואכן נמצא שכנות דלעת הידועות בהתאם נמוך עם רוכב מלון גם רגישות יותר לאתרל הניתן למערכת השורשים (ציור 9). בהמשך מצאנו ע"י אנליזה פרוטאומית שקיים שוני רב בין פרופיל חלבוני השורש של כנות עם התאם גבוה (RS59) לכנות עם התאם לקוי (SR62) והשפעת טיפול באתילן על פרופילים אלה מראה שחלבונים רבים מופיעים או נעלמים עקב הטיפול (ציור 10). גם לטיפול באוקסין היתה השפעה על פרופילי החלבונים בשורש (לא מוצגים). מספר חלבונים מעניינים מתוך הגלים הללו מוצו וטרם נשלחו לזיהוי.



ציור 8 : רגישות כנות דלעת לטיפול NAA והשפעת מעכבי אתילן על רגישות זו. NAA (M) 10⁻⁵ גורם להתמוטטות שתילי Ar/RS62 ומעכבי אתילן – AVG ו STS (0.05mM) מעכבים רגישות זו (התמונה ימנית). התמונה שמאלית היא מבט על שורשים של שלושת סוגי השתילים שטופלו ב NAA (M) 10⁻⁵.

ציור 9: השפעת ריכוזי אתרל (0 – 200 ח"מ) שניתן לתמיסת ההידרופניקה על מערכת השורשים של כנות דלעת (59) בעלת התאם טוב עם רוכב מלון, וכנות דלעת (62) ללא התאם. רואים שאתרל, החל מריכוזים נמוכים של 5 – 10 ח"מ פוגע במערכת השורשים רק בכנה הלא טובה.





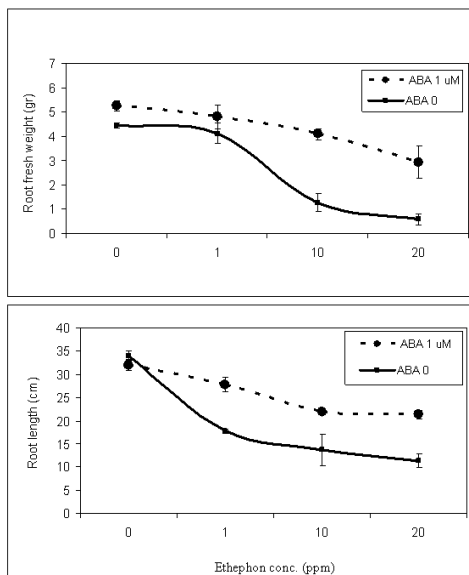
ציור 10: פרופילים פרוטאומיים של שורשים של כנה טובה (Ar/RS59) וכנה בעלת אי התאם (Ar/RS62) והשפעת מתן אתרל לשורשים. הופעה של חלבונים או העלמות של חלבונים בשורש מצוינים ע"י עיגולים שחורים

לימוד תגובת שתילי מילון מורכבים על כנות דלעת לחומרים בעלי פעילות אנטי-אוקסידנטית ואנטי-אתילנית בתנאי עקת מלח.

על בסיס התוצאות הקודמות הסקנו כי במצב של אי-התאם מופעלת בשורש עקה חימצונית המביאה להרס הרקמה בעיקר כאשר השתילים חשופים לעקה אביוטית. במערכת ניסויים זו בחנו את השפעת גידול שתילים מורכבים בעקת מלח ונלמדה השפעתם של החומרים הבאים: ח' אסקורבית ומתילן-בלו (כאנטי אוקסידנטים), AVG, STS (silver thiosulfate) (מעכבי פעילות וביוסינטזה של אתילן), כמו כן נבחנה השפעתו של ההורמון ABA במערכת זו.

שתילים מורכבים ולא מורכבים של מילון ודלעת גודלו בהידרופניקה, וחולקו לקב' שקבלה תמיסת מזון רגילה ולקב' שקבלה תמיסת מזון שהכילה ריכוז NaCl גבוה (100 mM). שתילים אלה נחשפו לטיפול שורשים בחומרים אוקסידנטים, אנטי אוקסידנטים, חומרים מזרזי אתילן, חומרים בעלי פעילות

אנטי אתילנית וחומרים מווסתי צמיחה ונערך מעקב אחרי התפתחותם. בתום 10 ימים מתחילת הטיפול נערכו מדידות מורפולוגיות ונלקחו דגימות שורש לבדיקת פעילויות אנזימטיות וחומרים שונים האופייניים



ציור 11: השפעה האנטגוניסטית של ABA על עיכוב התפתחות השורש ע"י אתפון (מחולל אתילן) בשתילי מילון מורכבים על דלעת TZ.

לעקות חימצון. מצאנו שמליחות גבוהה בתמיסת ההזנה גורמת לעיכוב צמיחת הנוף והשורש בשתילים הרגילים והמורכבים. אולם שיעור העיכוב היה שונה משמעותית בין השתילים מהסוגים השונים. שתילי המילון המורכבים על כנת דלעת (RS62) בעלת התאם נמוך היו רגישים יותר לעקת המלח מאשר שתילי המילון הבלתי מורכבים ומשתילי המילון Ar/RS59 (טבלה 5). זאת בהתאם לתוצאות קודמות.

התפתחותם שתילים של הרכבות לא טובות (כמו Arava/RS62) (משתפרת ע"י טיפול במעכבי אתילן ובחומרים אנטי-אוקסידנטים, אולם רק במידה חלקית (טבלה 5)). הוספת ABA או STS או ח' אסקורבית לשתילי ביקורת (ללא

מלח) הגבירה במקצת את התפתחותם. בעיקר STS המשמש כמעכב תגובה לאתילן גרם לתוספת משמעותית בהתארכות השורשים. כאשר חומרים אלה הוספו לשתילים שגודלו במלח, השפעת המזרזת על התפתחות השורשים היתה רבה יותר (טבלה 5). ABA ידוע כגורם לסגירת פיוניות, אולם אפקט זה היה אמור לעכב התפתחות השתילים בשל ההפחתה בשיעור הפוטוסינזה ולכן לא סביר שזה ההסבר להשפעת ה-ABA. הסבר אפשרי אחר הוא אנטגוניזם הידוע שקיים בין הורמון זה ואתילן (4). ואכן מצאנו שמתן טיפול משולב של ABA ואתפון מקטין את ההשפעה המעכבת של האתפון על התפתחות השורשים (ציור 11). ה' אסקורבית היא אנטי אוקסידנט אשר בדומה ל ABA ו STS מפחיתה את עיכוב צמיחת השורשים בתנאי מלח (טבלה 5). שתילי מילון בלתי מורכבים הושפעו פחות ממתן STS, ABA, וח' אסקורבית מאשר השתילים המורכבים. בדומה להשפעת המלח, הוספת אתפון לתמיסת הגידול הביאה לעיכוב בהתפתחות השורשים והנוף של כל סוגי השתילים. תוספת של ABA או ח' אסקורבית מנעה כמעט לחלוטין את העיכוב ע"י אתפון (תוצאות בלתי מוצגות).

כפי שכבר הראנו בחלקו הראשון של הדו"ח, מליחות, (בדומה לעקות ביוטיות אחרות), מעוררת עקה חמצונית אשר גורמת ליצירת רדיקלים חופשיים (ROS) הגורמים נזק לרקמה הצמחית. בניסוי זה הראנו שהמליחות הגבוהה גרמה לעליה בריכוז MDA Malonyldialdehyde (תוצר של חימצון ח' שומן ברקמה) ולעליה בריכוז מי החמצן בשורשים של כל סוגי השתילים (טבלה 6). הוספת ח' אסקורבית, ABA או STS הפחיתה במידה רבה את ריכוז מי החמצן ו MDA בעיקר בשורשים של שתילי מלון בעלי התאם גבוה וזאת בהתאמה לתגובה המורפולוגית של שתילים אלה. לאחרונה הראנו כי האנטי אוקסידנט מתילן-בלו (MB) מגביר עמידות השתילים המורכבים למליחות. המיוחד בחומר זה היא העובדה שהוא מפחית עקה חמצונית במיטוכונדריה. בניסויים שערכנו בעגבניות הראנו שטיפול בריכוזים נמוכים של MB (10^{-8} - 10^{-7} M) מגבירים נשימת שורשים, מפחיתים ריכוזי מי חמצן בשורשים, ומגבירים פעילות super oxide dismutase (SOD) בשורשים (5).

כל התוצאות הללו הן בהתאמה להיפוטזה שהוצגה בתחילת הדו"ח. לפי היפוטזה זו עקת המליחות גורמת לשינויים מטבוליים הכוללים אינדוקציה של עקת חימצון, ככל הנראה עקב עליה בסינטיזה של אתילן או עליה ברגישות הרקמה לאתילן. הרדיקלים החופשיים הנוצרים עקב העקה החמצונית פוגעים ברקמת השורש ומעכבים את גידולו. בהתאם לכך חומרים בעלי פעילות אנטי אתילנית (STS או ABA) או חומרים בעלי פעילות אנטי אוקסידנטית (כגון ח' אסקורבית) מפחיתים את השפעה המעכבת של המליחות על התפתחות השתילים.

Table 5

The effect of salinity, ascorbic acid, ABA, STS and combinations of salinity with these agents, applied to the root medium, on root and shoot growth of non grafted Arava melon transplants (Ar) compared to melon grafted on pumpkin (Ar/RS59) and to (Ar/RS62). Data are means (n = 10) and LSD (P = 0.05) values.

Treatment	Scion/Rootstock	Shoot fresh weight (gr.)	Root fresh weight (gr.)	Root length (cm.)
Control	Ar	12.2	5.8	22.3
	Ar/RS59	14.3	8.3	27.3
	Ar/RS62	10.5	4.2	15.1
NaCl (100 mM)	Ar	6.6	3.1	14.7
	Ar/RS59	10.5	5.1	19.8
	Ar/RS62	5.2	2.8	11.6
Ascorbic acid (10^{-6} M)	Ar	12.6	5.3	23.2
	Ar/RS59	14.2	7.1	24.7
	Ar/RS62	11.9	5.9	20.3
NaCl + ascorbic acid	Ar	8.4	4.3	22.5
	Ar/RS59	13.2	6.9	27.5
	Ar/RS62	6.6	3.8	15.8
ABA (10^{-6} M)	Ar	10.1	6.4	22.7
	Ar/RS59	14.6	8.8	28.1
	Ar/RS62	10.3	5.6	16.4
NaCl + ABA	Ar	10.3	9.5	24.8
	Ar/RS59	19.5	13.5	35.3
	Ar/RS62	10.1	9.7	18.2
STS (0.02 mM)	Ar	12.5	8.9	31.3
	Ar/RS59	13.4	10.1	33.1
	Ar/RS62	15.2	7.3	28.7
NaCl + STS	Ar	15.1	10.6	20.1
	Ar/RS59	17.2	13.3	29.2
	Ar/RS62	14.6	9.7	18.3
LSD P = 0.05		3.2	1.5	3.7

Table 6

The effect of salinity, ascorbic acid, ABA, STS and combinations of ethephon with these chemical agents, applied to the root medium, on the concentration of MDA and H₂O₂ in the roots of non grafted Arava melon transplants (Ar) compared to to melon grafted on pumpkin (Ar/RS59) and (Ar/RS62). Data are means (n = 10) and LSD (P = 0.05) values.

Treatment	Scion/Rootstock	MDA (nmol/gFW)	H ₂ O ₂ (nmol/gFW)
Control	Ar	5.8	32
	Ar/RS59	4.2	15
	Ar/RS62	7.6	20
NaCl (100 mM)	Ar	12.4	45
	Ar/RS59	7.3	22
	Ar/RS62	16.8	41
Ascorbic acid (10 ⁻⁶ M)	Ar	4.3	27
	Ar/RS59	3.7	12
	Ar/RS62	6.3	22
NaCl + ascorbic acid	Ar	7.7	36
	Ar/RS59	5.6	25
	Ar/RS62	7.1	32
ABA (10 ⁻⁶ M)	Ar	6.0	32
	Ar/RS59	6.4	31
	Ar/RS62	6.7	27
NaCl + ABA	Ar	5.8	28
	Ar/RS59	3.9	27
	Ar/RS62	7.3	35
STS (0.02 mM)	Ar	4.9	39
	Ar/RS59	3.8	16
	Ar/RS62	7.5	29
NaCl + STS	Ar	10.3	30
	Ar/RS59	8.4	24
	Ar/RS62	12.1	29
LSD P = 0.05		1.6	7

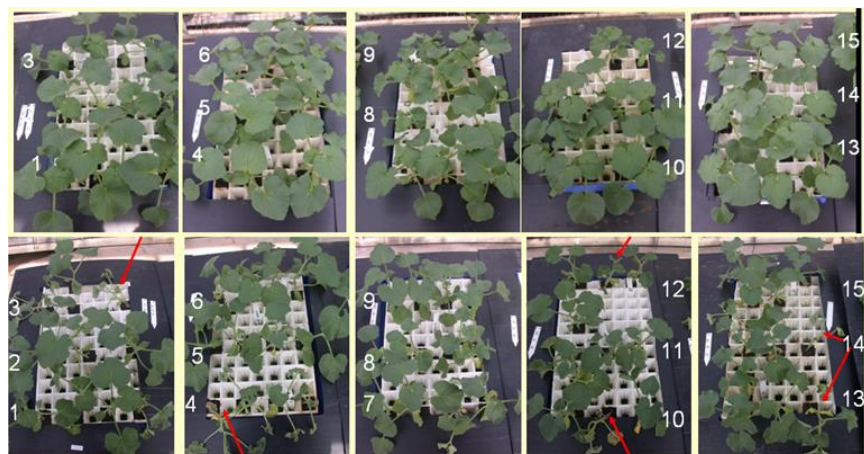
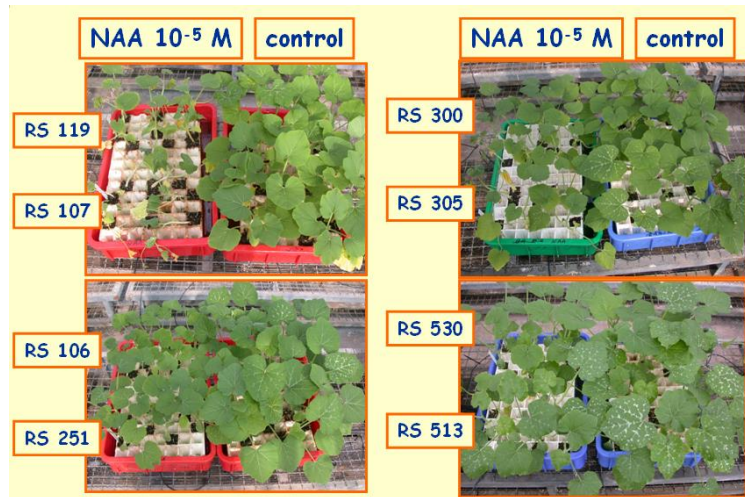
סלקציה מהירה של פנות בעלות רמות התאם שונות. רגישות שתילים מורכבים לטיפול בריכוז גבוה של

NAA ואתרל איפשרה לפתח מבחן מהיר להתאם כנה – רוכב. שתילים מורכבים של מלון מזן 'ערבה'

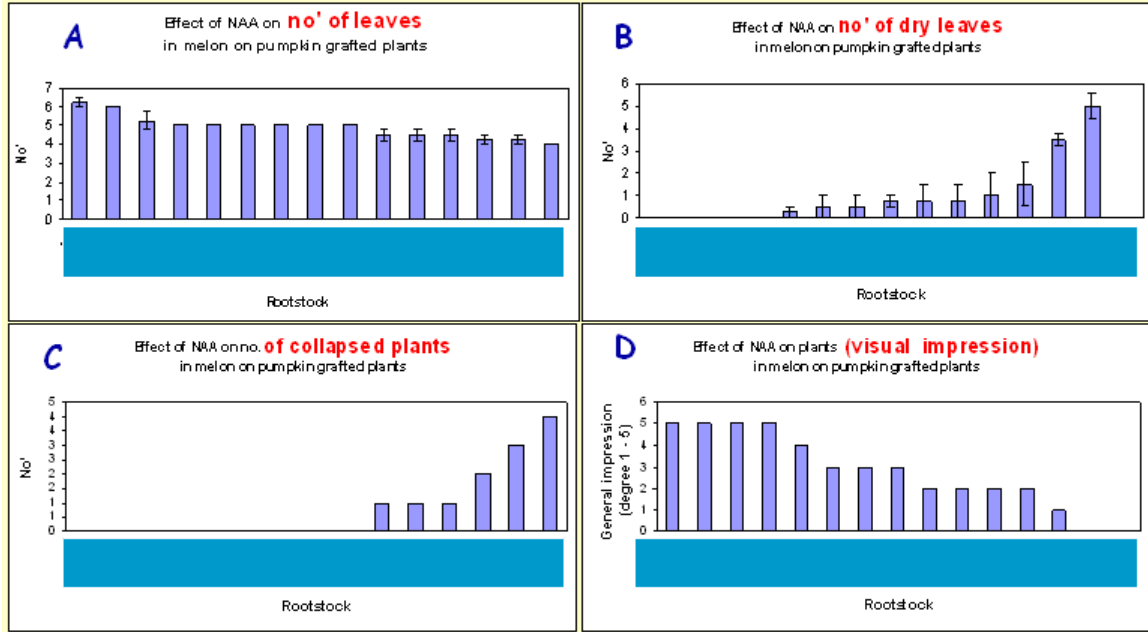
שהורכבו על כנות דלעת ניסיוניות שונות, הועברו למגשים בעלי פתחי ניקוז רחבים. מכל קבוצה נדגמו 6 שתילים. המגשים הושמו על תמיסות שהכילו תמיסת הזנה בלבד (ביקורת) או תמיסת הזנה שהכילה NAA בריכוז של 10^{-5} M או אתרל בריכוז 50 ח"מ. הצמחים שהו בתנאים אלה במשך כ-20 ימים עד הופעת סימפטומים של התנוונות בשתילים מצרופים שונים. חשיפת השתילים לאתרל גרמה להתנוונות מהירה של השתילים אולם לא ניתן היה להבחין בסלקטיביות מספיקה. לעומת זאת הטיפול ב NAA איפשר להבחין ברגישות שונה של כנות שונות.

התוצאות מוצגות בצויר 13, 14, 15 בהם רואים את הרגישות הדיפרנציאלית של הכנות השונות ל NAA. לכן מבחן זה שימש אותנו בהמשך המחקר לבחינת התאמתם של כנות מסחריות נוספות לגידול בתנאי שדה. ואכן נמצא שמבין הכנות שנבחנו היתה התאמה טובה בין רגישותם ל NAA ועמידותם בתנאי שדה (תוצאות לא מוצגות).

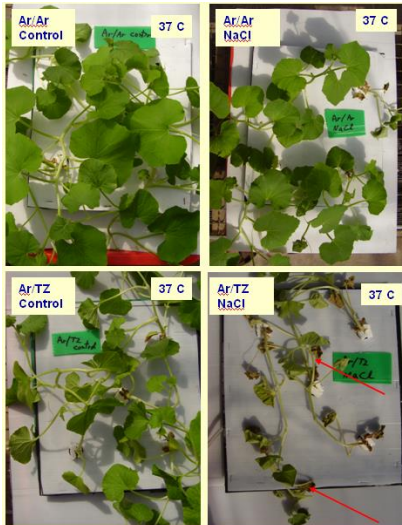
צויר 13: רגישות שתילים מצירופי כנות ניסיוניות שונות של דלעת ורוכב מלון מהזן 'ערבה' להשהיה על גבי תמיסות שהכילו NAA. נראה שכנות 107, 119 הן הרגישות ביותר וכנות 513 ו 530 העמידות ביותר.



צויר 14: רגישות שתילים מצירופי כנות ניסיוניות נוספות של דלעת ורוכב מלון מהזן 'ערבה' להשהיה על גבי תמיסות שהכילו NAA. התמונות העליונות מראות את שתילי הביקורת. התמונות התחתונות מראות השתילים המטופלים ב NAA. החיצים האדומים מציינים את השתילים שהתמוטטו.



ציור 15: פרמטרים שונים לבדיקת רגישות כנות שונות לטיפול ב NAA. שמות הכנות מוסתרים כיון שאלה כנות מסחריות ניסיוניות.



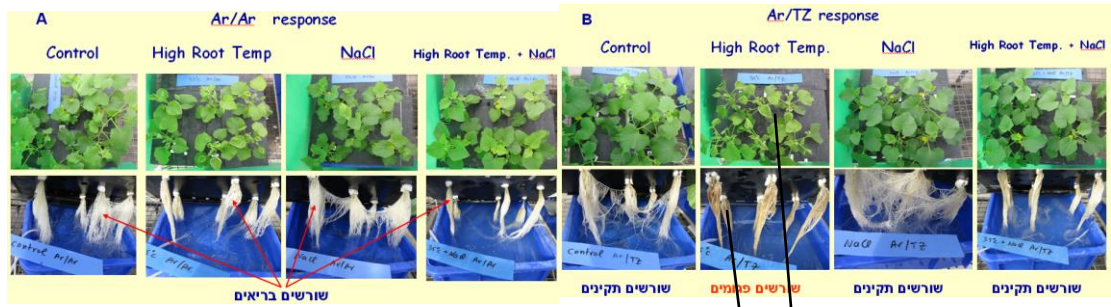
ציור 16: תגובת שתילים של Ar/Ar ו Ar/TZ למליחות גבוהה (NaCl 100mM) כאשר טמפ. בית השורשים היא 37 מ"צ (ניסוי סתיו). החיצים האדומים מצביעים על צמחים ממוטטים של Ar/TZ.

תגובת שתילים מורכבים למליחות: תלות בעונת הגידול: העמידות

היחסית של שתילי מילון מורכבים על כנת דלעת או כנת מילון (הרכבה עצמית) תלויה בתנאי הגידול. בניסוי ראשוני שנערך בשנה השלישית למחקר בדקנו את שיעור ההתמוטטות צמחים מורכבים בשני סטים של תנאי אקלים: א. אקלים חם (טמפ. מקס\מינ. 27\40 מ"צ) ב. אקלים קר (טמפ. מקס\מינ. 15\25 מ"צ). בכל אחד מהתנאים האקלימים ניתנו לצמחים שני טיפולי משנה; מליחות גבוהה (NaCl 100 mM) וטמפ. שורשים גבוהה (יום\לילה - מקס\מינ 15\37 מ"צ). טמפרטורות השורשים ניתנו ע"י טרמוסטטים. שתילי הביקורת של כל ניסוי שהו בכל אחד מתנאי האקלים אולם קבלו תמיסת מזון רגילה וטמפ. שורש (מקס\מינ 15\27 מ"צ).

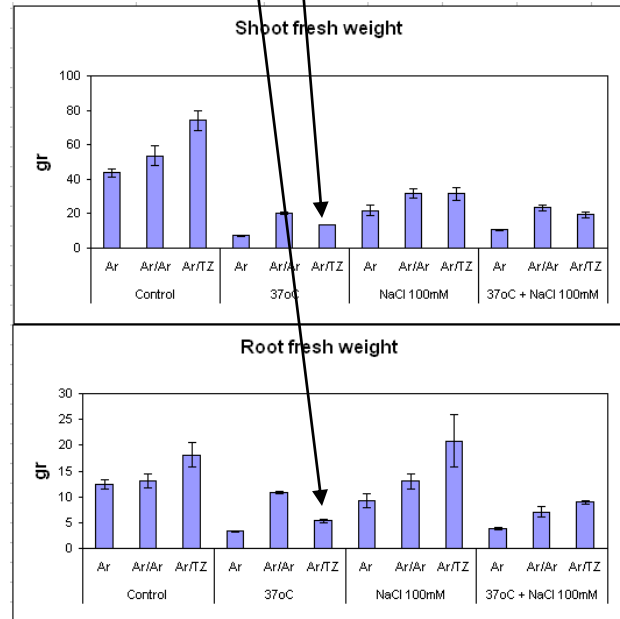
תוצאות. התוצאות מובאות בציורים 16, 17 ו 18). בניסוי א. (אקלים חם) המליחות הגבוהה גרמה להתמוטטות הצמחים מקב' Ar/TZ לעומת זאת צמחי Ar/Ar לא הראו סימני התמוטטות למרות שטמפ. השורש היתה 37 מ"צ (ציור 16). לעומת זאת בניסוי ב. (אקלים קר) התמוטטו רק צמחי Ar/TZ שקבלו טמפ. שורש גבוהה (37 מ"צ) לעומת זאת צמחי Ar/Ar לא הראו סימפטומים של התמוטטות בשום טיפול (ציור 17). בשונה מניסוי א. בניסוי ב. נוכחות מלח גבוהה (NaCl 100mM) בתמיסת השורשים ששהו בטמפ.

גבוהה הביאה להגנה בפני נזקי הטמפ. הגבוהה (ציור 17). תוצאות אלה מצביעות על כך שכדאי לבחון את התאמת בשימוש בשתילי מילון מורכבים לעונות הגידול השונות, למשל גידול סתווי לעומת גידול אביבי ולאזורי גידול שונים בהם שוררים תנאי מליחות שונים. לפי תוצאות אלה יתכן ובתנאי גידול שונים מופעלים מנגנונים שונים הקובעים את רגישותם של שתילים מורכבים לעקות. מעניין לציין שבמערכת ניסויים זו נמצא שכנת דלעת היתה רגישה יותר מכנת מילון לטיפול עקת טמפ. שורש גבוהה ולמליחות.



ציור 17: תגובת שתילי מילון מורכבים בניסוי אביב. A – שתילי Ar/Ar אינם מתמוטטים בהשפעת טמפ. שורשים גבוהה ומליחות גבוהה. B – שתילי Ar/TZ מתמוטטים בשפעת טמפ. שורש גבוהה אולם בטיפול המשולב (טמפ. גבוהה + מליחות גבוהה) התמוטטות הצמחים נמנעת.

ציור 18: השפעת טיפולי הטמפ. הגבוהה והמליחות על משקל (טרי) השורש והגוף של שתילי מילון לא מורכבים (Ar), שתילים עם הרכבה עצמית (Ar/Ar) ומילון מורכב על כנת דלעת (Ar/TZ). החיצים מצביעים על ההתאמה בין תמונות השתילים והעמודות המתאימות



לימוד השינויים המולקולריים המתרחשים בשורש ובאיזור ההרכבה של צירופי הרכבה טובים ולא טובים.

על פי המודל המוצע, אוקסין המגיע מהנוף עובר בצורה באזיפטילית לכיוון השורש, הוא מפעיל גנים הקשורים לסינתזה ולפרוק וגנים המגיבים אליו. עם העברת הסינגל ישנה אינדוקציה ליצירת אתילן שגם הוא מפעיל גנים של סינתזה ופרוק וגנים מגיבים שונים הגורמים להפעלה של תרכובות חמצן. תרכובות אלו מנוטרלות בהרכבה על הכנה הטובה (RS59) וגורמות להתנוונות השורש בהרכבה על הכנה הפחות טובה (RS62). תהליך זה משפיע בסופו של דבר על הצמח כולו. לפיכך התמקדנו בגנים הקשורים למודל זה.

דגימות צמחים והפקת cDNA:

1. **ניסוי הרכבה בסיסי:** חומר צמחי נדגם משש קבוצות צמחים בניסוי אחד: הצמחים המורכבים על כנות דלעת (1) RS59 ו-(2) RS62; ביקורות של הרכב (3) AR; ביקורת של הרכב המורכב על עצמו (4) AR/AR; וביקורת של כל אחת מכנות הדלעת (5) RS59 ו-(6) RS62. כל דגימה הכילה חמש חזרות. הדגימה נעשתה בשלושה מועדים שונים: 48 שעות, 72 שעות ו-10 ימים לאחר העברה לגידול בהידרופניקה. הרקמה שנדגמה היא רקמת השורש, ס"הכ נדגמו 90 צמחים מרקמת שורש. cDNA הופק מ-3 חזרות בכל אחת מקבוצות הניסוי, סה"כ 54 דוגמאות.

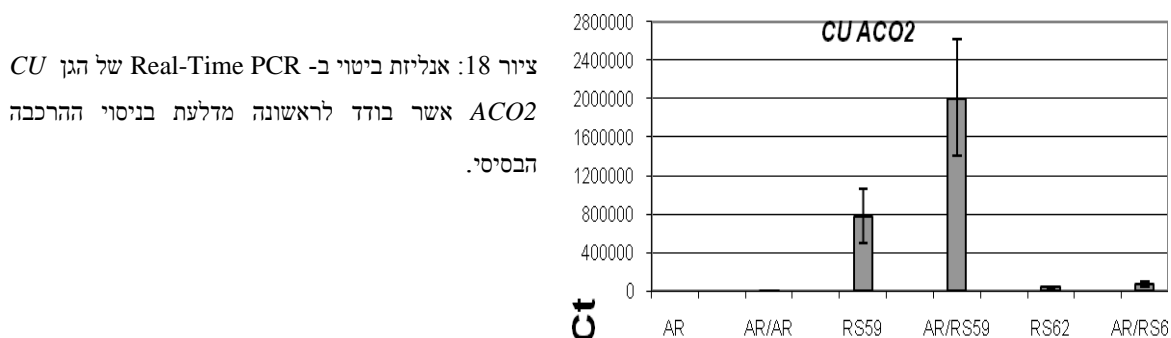
ניסוי הזנה ב-NAA דרך השורש: שורשי הצמחים המורכבים על הכנות (1) RS59 ו-(2) RS62; בקורות של הרכב (3) AR; הרכב המורכב על עצמו (4) AR/AR; והכנות (5) RS59 ו-(6) RS62. כל הדוגמאות הוזנו דרך השורש בשני ריכוזי NAA: 10^{-5} M ו- 10^{-7} M ס"הכ נדגמו 60 צמחים מרקמת שורש ואזור ההרכבה. cDNA הופק מ-3 חזרות בכל אחת מקבוצות הניסוי, מרקמת שורש ומאזור ההרכבה, סה"כ 72 דוגמאות.

בידוד וביטוי גנים הקשורים לסינתזת והעברת סינגל של אתילן ואוקסין:

מטרת המחקר בפרק זה היתה לבחון אפשרות לאתר גנים בכנות דלעת אשר ביטויים נמצא בהתאמה למידת ההתאם שלהן עם רוכב מלון. שני גנים קשורים לאוקסין נמצאו בספריות ההפחתה שנבנו ממועדים שונים לאחר ההרכבה (4 ו-14 ימים). האחד מראה דמיון לאנזים המשתתף בתחילת הסינתזה של אוקסין במעגל החומצה השיקמית ליצירת חומצות אמינו ארומטיות והשני קוניוגט של אוקסין. בנוסף, מספר נבחנו גנים מועמדים המגיבים לאוקסין ואתילן נבחרו ממאגר המידע של המלון (<http://ICUGL.org>), לשם בדיקת ביטויים ברקמת ההרכבה והשורש. כשלב ראשון וידאנו כי הפריימרים של הגנים שהוצאו ממלון מתאימים גם לדלעת לבדיקת ביטויים גם בכנה. פריימרים של גן אשר הראו התאמה לדלעת נלקחו לאנאליזת ביטוי ב-Real-Time PCR. אנאליזת הביטוי נעשתה על רנ"א שהופק מאזור ההרכבה של הצמחים המורכבים על הכנות השונות אל מול בקורות (אזור המקביל לאזור ההרכבה מהרכב והכנות השונות) וכן משורשי הצמחים המורכבים על הכנות השונות שהוזנו מתמיסת NAA בריכוזים שונים, (ניסויי הידרופניקה). גן בעל דגם ביטוי מעניין הוא הגן המראה דמיון ל-Auxin regulated protein. גן זה נבדק על דוגמאות מניסויי

ההידרופוניקה והראה עליה בביטוי בתגובה לטיפול ב-NAA בהתאמה לצפוי. עליה זו נצפתה בעיקר בריכוז של 10^{-7} NAA, אנו מניחים כי בריכוז גבוה יותר של NAA איכות הרנ"א ירודה ולכן קשה יותר לעקוב אחרי ביטוי הגן, זאת בהתאמה למצב השורש הנראה בתמונה (ציור 16).

גנים נוספים הקשורים לאוקסין ואתילן נבדקו באנליזת Real-Time PCR על דוגמאות רנ"א מאזור השורש ומאזור ההרכבה. בציור 18 מוצגת אנליזת ביטוי של *CUACO2* אשר בודד במסגרת הפרויקט לראשונה מדלעת, ואשר מראה ביטוי שונה בשתי הכנות ובהרכבות עליהן.



איתור גנים קנדידטים לשם הבדלה בין כנות טובות וגרועות

לשם איתור גנים המושפעים מתהליך ההרכבה, נבנו שתי ספריות גנים עיקריות מרקמת ההרכבה בטכניקת cDNA Suppression Subtractive Hybridization (SSH), אשר מאפשרת השוואה בין שתי אוכלוסיות cDNA לקבלת שבטים המתבטאים באוכלוסייה אחת ולא באחרת: 1. ספריות המועשרות בגנים המתבטאים בעקבות תהליך ההרכבה; 2. ספריות המועשרות בגנים אשר ביטויים משתנה לאורך ציר הזמן שלאחר ההרכבה; הספריות נסרקו באמצעות טכניקת macroarray, ועל סמך דגם ביטויים על הממבראנות נבחרו כ-70 שבטים לריצוף. אנליזה ביואינפורמטית נעשתה לרצפים על ידי השוואה למאגר הגנים העולמי ע"י NCBI Blastx. ריצוף השבטים הביא לגילוי מספר גנים היכולים להיות קשורים להצלחת ההרכבה. נבדקו דגמי הביטוי של גנים אלו בדגימות ממועדים שונים אחרי ההרכבה ומשני אזורים בצמח המורכב:

1. אזור ההרכבה עצמו

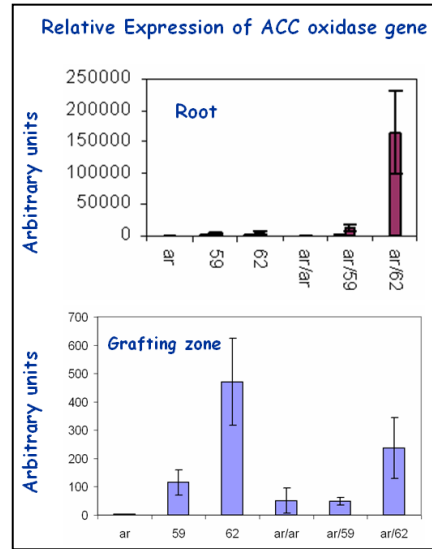
2. השורש – אשר בו מתרחשים שינויים מרכזיים של התאמת כנה – רוכב כפי שהוסבר בתחילה.

התוצאות העיקריות – חלק ב'

מתוך 27 גנים שנבדקו נמצאו 23 גנים בהם יש עליה בביטוי בעקבות ההרכבה. זמן הדגימה שנראה מתאים ביותר הוא 16 יום לאחר ההרכבה. לא הושגו תוצאות חד משמעיות לגבי ההבדלים בביטוי בין הצמחים המורכבים על הכנות השונות התוצאה האחת המשמעותית ביותר המצביעה על כך שלגן *ACO1* -1- [Cucumis melo] aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1 [4e-159] – האנזים האחרון בשרשרת סינתזת האתילן ביטוי חזק יותר בשורשים ובאזור ההרכבה של הכנה הגרועה RS 62 מאשר

בכנה הטובה RS59 (ציור 19). תוצאה זו נמצאת בהתאמה להבדלים שנמצאו בין קצבי ייצור האתילן של כנות אלה.

ציור 19: ביטוי הגן המקודד לאנזים ACC oxidase האחרון בשרשרת הביוסינטטית של האתילן בכנה טובה RS59 לעומת כנה לא טובה RS62. נראה שביטוי הגן בשורש ובאיזור ההרכבה שלהכנה הלא טובה חזק בהרבה מהתבטאותו בכנה הטובה.

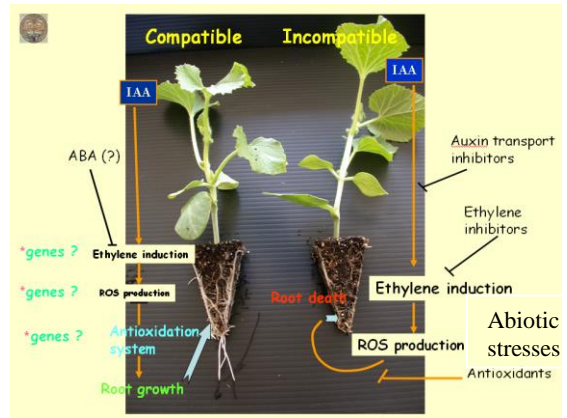


דיון וסיכום

במחקר זה מצאנו כי ההבדלים בין שתילים מורכבים בעלי התאמה (compatibility) טובה וגרועה נובעים מרגישותם הגבוהה יותר של השתילים בעלי אי התאם לאתילן ואוקסין בשורש, מפעילות נמוכה יחסית של אנזימים אנטי אוקסידנטים כמו SOD ופראוקסידז בשורש כתוצאה מכך יש עליה של ריכוז מי חמצן בשורש של שתילים אלה דבר המביא להתמוטטות השורש והצמח כולו. הראנו שתנאי עקת מליחות בבית השורשים מאיצים את תהליכי הדגנרציה של הכנה, בעיקר כתוצאה מהגברת העקה החימצונית בשורש. המחקר הביא ליצירת מודל תאורי של האינטראקציות המתרחשות בשתילים מורכבים (ציור 20). בצענו אנליזה מולקולרית ראשונית של גנים הקשורים במטבוליזם של עקה, אתילן, ואוקסין בשורשים של שתילים מורכבים בעלי התאם טוב וגרוע שהצביעה על הבדלים בביטוי גן לביוסינטזה של אתילן, כפי המצופה. בנושא המולקולרי עוד רבה המלאכה. בהתאם לכך מצאנו שחומרים המעכבים ביוסינטזה או רגישות לאתילן (AVG, STS) וכן מעכבי עקת חימצון (ח' אסקורבית ומתילן בלו) מסייעים לשפר חלקית אי התאם בהרכבה. בהמשך המחקר נמצא שעקת מלח משפיעה באופן דיפרנציאלי על צירופים שונים של כנה רוכב וכן נמצא שחומרים בעלי פעילות אנטי אוקסידנטית ואנטי אתילנית מגבירים עמידות של השתילים המורכבים לתנאי עקת מלח. לח' אבסיסית (ABA) פעילות דומה לזו של חומרים אנטי אתילניים בשל האנטגוניזם הקיים בין הורמון זה ואתילן. בהמשך המחקר פותחה שיטה לסלקציה של כנות בעלות התאם טוב בהתבסס על רגישות דיפרנציאלית של השתילים המורכבים למתן אוקסין בריכוז גבוה לשורש. עדין לא השלמנו בחינת המיתאם בין השיטה שלנו ורגישות אוסף גדול של כנות דלעת לתנאי שדה. בשלב האחרון של המחקר מצאנו שרגישות

השתילים למלח מושפעת מטמפרטורת השורש ומטמפרטורת האויר. חלק זה של המחקר הוא רק בראשיתו ולכן נדרש המשך מחקר לבדיקת שתילים מורכבים לעקות אביוטיות.

ציור 20: המודל המוצע למנגנון האי התאם בין מילון לדלעת. לפי מודל זה הרוכב הוא המשפיע על התאמת כנה-רוכב ע"י כך שהאוקסין המובל מהרוכב לכנה מביא ליצירת אתילן ועקה חימצונית בשורש. בכנה בעלת התאם נמוך הרדיקלים שנוצרים גורמים לניוון השורש ולהתמוטטות ההרכבה. רדיקלים אלה נוצרים ביתר שאת בתנאי עקת מלח ולכן ההשפעה המעכבת של מליחות על כנות עם התאם נמוך היא חזקה יותר. בכנות בעלות התאם גבוה – הרדיקלים מנוטרלים ע"י המערכת האנטי אוקסידנטית הפעילה יותר בכנות אלה. ניתן להשפיע על העקה החימצונית באמצעות אפליקציה של חומרים נוגדי חימצון, חומרים נוגדי אתילן וחומרים מעכבי טרנספורט של אוקסין לשורש.



1. Aloni, B., Karni, L., Deventurero, G., Levin Z., Cohen, R., Katzir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan E., Joel D. M., and Horev C. (2008) Possible Mechanisms for Graft Incompatibility Between Melon Scions and Pumpkin Rootstocks. *Acta Horticulturae* 782, 313 - 323.
2. Edelstein, M., Burger, Y., Horev, C., Porat, A., Meir, A. and Cohen R. (2004). Assessing the effect of genetic and anatomic variation of *Cucurbita* rootstocks on vigor, survival and yield of grafted melons. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79:370-374.
3. Aloni, B., Karni, L., Deveturero, G., Levin, Z., Cohen, R., Kazir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., Joel, D. M., Horev, C and Kapulnic, Y. (2008) Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between *Cucurbita* rootstocks and a melon scion. *J Hort Sci & Biotech.* **83** (6) 777–783
4. Sharp, R. E. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, Brisbane, Australia. 26, 1-12.
5. Aloni, B., Karni, L. and Aktas, H. (2010) Methylene blue increases the tolerance of tomato plants to abiotic stresses. *J. Hort. Sci. & Biotech* (in press).

סיכום עם שאלות מנחות

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.

הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
א. לימוד השינויים ההורמונליים (בעיקר של אוקסין ואתילן) החלים בהרכבות טובות ולא טובות של מילון על דלעת. ב. לימוד הקשר בין רגישות דיפרנציאלית של כנות דלעת לאוקסין ואתילן והתאמתם בהרכבה על רוכבי מילון. ג. לימוד השפעת עקות סביבה על שתילים מורכבים. ד. פיתוח שיטות סלקציה לצירופי הרכבה מוצלחים בין כנות דלעת לרוכבי מילון לגידול בתנאי עקה. ה. לימוד השינויים המולקולריים המתרחשים בשורש ובאיזור ההרכבה של צירופי הרכבה טובים ולא טובים.
עיקרי הניסויים והתוצאות.
נמצאו הבדלים בין שתילים בעלי התאמה (compatibility) טובה וגרועה; ברגישותם לאתילן ואוקסין, בייצור אתילן ואוקסין, בצבירת מי חמצן בשורש, בפעילות אנזימים אנטי אוקסידנטים, בשינויים בפרופיל פראוקסידוזת בשורש ובפרופיל הפרוטאומי בשורש. בהמשך פותחה שיטה לסלקציה של כנות בעלות התאם טוב בהתבסס על מנגנון האי-התאם. אנליזה מולקולרית ראשונית של גנים הקשורים במטבוליזם של עקה, אתילן, ואוקסין בשורשים של שתילים מורכבים בעלי התאם טוב וגרוע הצביעה על הבדלים בביטוי גנים לביוסינטזה של אתילן. נמצא שחומרים המעכבים ביוסינטזה או רגישות לאתילן (AVG, STS) וכן עיכוב עקת חימצון בעזרת ח' אסקורבית מסייעים לשפר חלקית אי התאם בהרכבה. נמצא שעקת מלח משפיעה באופן דיפרנציאלי על צירופים שונים של כנה רוכב ושחומרים בעלי פעילות אנטי אוקסידנטית ואנטי אתילנית מגבירים עמידות של השתילים המורכבים לתנאי עקת מלח. לח' אבסיסית (ABA) פעילות דומה לזו של חומרים אנטי אתילניים. מצאנו שרגישות השתילים למלח מושפעת מטמפרטורת השורש ומטמפרטורת האויר. לכך יש השלכות חשובות על שימוש בשתילי מלון מורכבים בגידול אביבי וסתווי.
מסקנות מדעיות והשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
תוצאות המחקר מהוות פלטפורמה להרחבתו במספר כיוונים: א. בחינת השפעתם של חומרים שנמצאו כיעילים להגברת המאמה כנה – רוכב בניסויי שדה. ב. הרחבת השימוש המעשי של שיטות הסלקציה לכנות טובות. ג. העמקה במחקר המנגנונים המולקולריים המעורבים בקביעת התאמת כנה רוכב בתנאי גידול רגילים ובתנאי עקה. מטרות המחקר הושגו בחלקם הגדול ומעבר לכך. בתוכנית המחקר הצענו להשתמש במספר גדול של כנות, אולם הצורך להעמיק במנגנונים הביא לצמצום מספר הכנות עליהם בוצעו הניסויים.
בעיות שנתרו לפתרון וא/ו שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתורה לביצוע תוכנית המחקר?
זה דו"ח סופי לכן שאלת השגת המטרות בהמשך המחקר היא לא רלוונטית. המחקר הני"ל ממשיך ככוונים אפליקטיביים יותר ע"י חלק מחברי הקבוצה.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; פנטטים - יש לציין שם ומסי פטנט; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.
Aloni, B., L. Karni, G. Deventurero, Z. Levin R. Cohen, N. Katzir, M. Lotan-Pompan, M. Edelstein, H. Aktas E. Turhan D. M. Joel and Carmella Horev (2008) Possible Mechanisms for Graft Incompatibility Between Melon Scions and Pumpkin Rootstocks. <i>Acta Horticulturae</i> 782, 313 - 323. Aloni, B., Karni, L., Deveturero, G., Levin, Z., Cohen, R., Kazir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., Joel, D. M., Horev, C and Kapulnic, Y. (2008) Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between <i>Cucurbita</i> rootstocks and a melon scion. <i>Journal of Horticultural Science & Biotechnology</i> . 83 (6) 777-783 Aloni B. Cohen, R. Karni L. and Edelstein M. (2010) Hormonal signaling in rootstock-scion interactions. Review paper in <i>Acta Horticulturae</i> (in press). Aloni, B., Levin, Z., Karni, L. Kapulnik, Y., Granot, D., Edelstein, M., Cohen, R., Katzir, N., Pompan, M., Yoel, D., Horev, C., Koren, A., (2007) Rootstock-Scion interactions in melon grafting. <i>Yevul Si</i> , 25:24-28. (Hebrew).
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
רק בספריות X
ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
חסוי – לא לפרסם
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן* - לא -

