

דו"ח מדעי מסכם (2009) - תוכנית מס' 203-0625-08

הקטנת התנודתיות ביבולים (סרוגיות) בזית על-ידי וויסות הפריחה

## Reducing yield fluctuations (alternate bearing) in olive cultivars by regulating the plant fertility

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

אורן אוסטרזר-בירן	מדעי-הצמח, מינהל המחקר החקלאי, בית-דגן
פליקס שייע	מדעי-הצמח, מינהל המחקר החקלאי, בית-דגן
בני אבידן	מדעי-הצמח, מינהל המחקר החקלאי, בית-דגן
שמעון לביא	מדעי-הצמח, הפקולטה לחקלות, האוניברסיטה העברית.

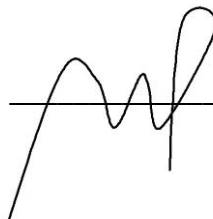
Oren Ostersetzer-Biran, Inst. of Plant Sciences, Volcani center, Bet Dagan. *E.mail:* [biranos@agri.gov.il](mailto:biranos@agri.gov.il)

Beni Avidan, Inst. of Plant Sciences, Volcani center, Bet Dagan. *E.mail:* [vhavidan@agri.gov.il](mailto:vhavidan@agri.gov.il)

Shimon Lavee, Faculty of Agriculture, Food and Environmental Quality Sciences, The Hebrew University of Jerusalem. *E.mail:* [lavee@agri.huji.ac.il](mailto:lavee@agri.huji.ac.il)

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: **לא** מחק את המיתר \*



חתימת החוקר

\*

הזית, אחד מהגידולים החשובים ביותר באזור אגן המזרח התיכון, סובל קשות מבעיית הסרוגיות שנפוצה בכל הזנים החשובים ובכל אזורי הגידול וגורמת להפסדים ניכרים בהוצאות המערך התעשייתי. הסרוגיות אופיינית גם למטעי בעל אך פוגעת במיוחד במטעים אינטנסיביים בעלי פוטנציאל יבול רב, ומתפתחת בהדרגה עם התבגרותם של העצים במטע. בארץ קיים סנכרון של הסרוגיות שחל בדרך-כלל לאחר חורף מתון או חמסין; תופעה שמכבידה מאד על הענף כולו. הבטחת רמת יבולים קבועה לצד הוזלת עלויות הייצור הינם מפתח ליעול רווחיות הענף. במהלך השנים, עבודות פיזיולוגיות רבות מנסות ללמוד את מנגנוני התופעה על-מנת לצמצם את ממדיה. עבודות אלו הביאו לפיתוחן של מספר טכניקות אגרוטכניות המצמצמות את התופעה, אך יעילותן בתנאי האקלים השוררים בארץ מוגבלים ויתרה מכך, טכניקות אלו לא הצליחו לבודד את הגורמים העקריים לתופעה. מאידך, אפיונם ויישומם של פקטורים אנדוגניים (הורמונים) המבקרים באופן ישיר את הפוריות בזית צפויים למתן את תופעת הסרוגיות על-ידי וויסות הפריחה/החנטה. בהתאמה, בעבודה זו התמקדנו (i) באפיונם של הורמונים אנדוגניים המעורבים בבקרת הפריחה בזית; (ii) בגיבושה של אסטרטגיה חדשה לוויסות הפוריות בזית על-ידי בקרת הפריחה, לקבלת רמת יבול קבועה. לצורך כך נאפיין כעת את מעורבותם של הורמונים (ABA ו GA3) בתופעת הסרוגיות בזני זית שונים, ברקמות שונות ובמועדים שנים; (2) במהלך העבודה קבענו את קרבתו הטקסונומית של הזית לסולניים. אלו איפשרו לנו, באמצעות תחלים דגנרטיביים מתאימים, את בידודם של גנים המולוגיים מזית לגנים מרכזיים בבקרת הפריחה, בצמחי מודל. אלו משמשים אותנו כעת לצורך בחינת מעורבותם בבקרת הפריחה בזית מחד, ובסרוגיות מאידך. אפיונם של גנים חלבונים שונים המעורבים בבקרת הפריחה/סרוגיות בזית עשויה לסייע בפיתוחם של סמנים לעוצמת ומועד הפריחה / סרוגיות; (3) נבחן את השפעתם של ריסוסים שונים, במועדים שונים על עוצמת הפריחה. תוצאות אלו זו צפויות להעמיק את הבנתנו לגבי מנגנוני הפריחה בזית ולאפשר את יישומה בטווח הקרוב של מערכת אגרוטכנית פשוטה המבוססת על וויסות רמתם האנדוגנית של חומרי צמיחה המעורבים בפריחה לשם הקטנת התנודתיות ביבולים.

## 1. הצגת הבעיה

הזית (*Olea europaea L., Oleaceae*) הינו גידול ירוק-עד שמוצאו באגן הים התיכון. עיקר גידולו של הזית (כ-95%) מרוכז באזור זה ומשתרע על-פני כ- 82 מיליון דונם; אלו מניבים כ- 15 מיליון טון זיתים לשנה, שערכם הכלכלי מוערך ביותר מ- 9 מיליארד דולר. מרביתה של התוצרת החקלאית (>90%) מיועדת לתעשיית השמן ויתרתה לתעשיית הכיבושים. בישראל ענף הזית משתרע על כ- 205 אלף דונם ומהווה למעשה את ענף המטעים הגדול ביותר. מרבית הכרמים (כ- 180 אלף דונם) מבוססים על זני זית לשמן (סורי, ברנע וזני שמן אירופיים), ומיעוטם על זני כיבושים (מנזילו, נובו וסנטה-קטרינה); אלו נטועים באיזורים נרחבים (מהגליל העליון, דרך מישור החוף ועד לרמת הנגב וצפון הערבה) ולעיתים מהווים מקור הכנסה חשוב ליישובים הכפריים השונים בהם הינם מגודלים.

כענף תעשייתי גדול נדרשים מגדלי הזיתים לספק פרי באיכות ובכמות קבועה לבתי הבד ולתעשיות השימורים. אולם, למרות התאמתו לכאורה לאקלים המקומי, בעיה מרכזית המלווה את ענף הזית בעולם הינה תנודתיות עונתית חדה ברמת היבולים. גורמים אקלימיים שונים ובהם חמסין, קרה, רוחות וכד' פוגעים ברמת היבולים דרך השפעתם על רמת הפריחה, החנטה ו/או התפתחות הפרי. לאחר עונת/עונות שפל (ובמיוחד כאשר תנאי האקלים אופטימליים), מגיעה עונה בה רמת היבולים גבוהה במיוחד. מכאן ואילך נכנסים העצים למחזוריות שנתית קיצונית ברמת היבולים, בה שנת שפל עוקבת אחר שנת שיא ביבולים; תופעה המוכרת בשם 'סרוגיות' (Alternate bearing).

תופעה הסרוגיות אופיינית למספר רב של גידולים, אולם בזית הינה חריפה במיוחד, נפוצה בכל הזנים המסחריים העיקריים ואופיינית לכל אזורי הגידול. הבדלי היבול בין שנות שפע ושפל בזית נעים סביב ה- 50% (ממוצע רב-שנתי; (Production, 1996)). למעשה, פעמים רבות שנות השפל חריפות בזית עד-כדי חוסר כדאיות כלכלית לפעולות המסיק. לדוגמא, התנודתיות ביבולי הזן "סורי" ברמה הארצית (זן השמן העיקרי בארץ) עשויות לנוע בין קילוגרמים בודדים לדונם בשנות השפל לעומת כ- 0.5 טון לדונם בממוצע לשנות השפע (נתוני מועצת הזית 2003). לכן, מלבד הפגיעה במגדלים, גורמת הסרוגיות להפסדים ניכרים גם לתעשיות הכיבושים ובתי הבד הנשענות על ענף זה. הבטחת רמת ניבה יציבה לצד הוזלת עלויות הייצור, הינן מפתח להגדלת רווחיות ענף הזית וענפי מטע אחרים הסובלים מסרוגיות גבוהה בייבולים.

במהלך השנים חל מעבר משיטות גידול מסורתיות (כרמי "בעל") לשיטות גידול 'אינטנסיביות' הכוללות שיטות השקיה מתקדמות ותוספות מבוקרות של דשן, לצד גיזום (לחידוש הצימוח) וחיגור (אמצעי המקובל עד היום במטעים שונים להגברת הפוריות דרך 'הגדלת מאגר הפחממות בנוף'. אולם, טיפולים אלו לא הביאו להפחתה משמעותית בסרוגיות. בעוד שבמיני מטע רבים התנודתיות ביבולים עשויה לנבוע מרמת הפריחה, משעור החנטה, מכמות הפרי שהגיע להבשלה מלאה ו/או מגודל הפרי, הסרוגיות בזית נובעת, ככל-הנראה, בראש-ובראשונה מרמת ההתמיינות לפריחה. די בשעור חנטה נמוך ביותר (~1%) על-מנת להבטיח רמת ייבול גבוהה, כצפוי למינים המאובקים ברוח. במיני עצי-פרי

נשירים, תהליכי האינדוקציה והאיניציאציה בניצנים חלים ברצף, וכבר במשך הקיץ מופיעים שינויים מורפולוגיים שונים המבדילים את הפקעים הרפרודוקטיביים מפקעי הצימוח הווגטיביים. בעצים אלו, תקופות הצינון נדרשות להשלמת התרדמה ולמוכנות הפקע לצאת ממנה עם העלייה בטמפרטורה. בזית לעומת זאת, רק בשלבים מאוחרים (לקראת מרץ) ניתן להבחין בשינויים מורפולוגיים המצביעים על כיוון התפתחות בניצנים. לא ברור עדיין האם ניצני הזית שרויים בתרדמה בדומה למינים הנשירים לאחר שחלו בהם תהליכי אידוקציה ואבוקציה ספציפיים, או שהינם אינדפרנטים לכיוון ההתפתחות והוורנליזציה דרושה בהם לקביעת ו/או השלמת ההתמיינות. נראה שהתהליכים שחלים בניצני הזית במהלך החורף אינם אינדוקטיביים (Lavee, 1996) ומחקרים נוספים מציעים שהאינדוקציה לפריחה חלה דווקא במהלך יולי, או כשישה שבועות לאחר הפריחה המלאה, השלב בו חלים גם תהליכי החנטה והתפתחות הפרי. חפיפה זו עשויה להסביר את הקורלציה השלילית הקיימת בין עומס היבול לבין מידת ההתמיינות לפריחה בשנה העוקבת.

בזית, כמו במינים רבים אחרים, להפחתת עומס היבול השפעה ממתנת על הסרוגיות. השפעת הדילול יעילה יותר בפרק הזמן שבין החנטה לבין התקשות הגלעין (מאי – יולי), תקופה החופפת את שלבי התפתחות העובר. אלו מציעים שתחרות על מוטמעים או הורמונים, מהווים גורם מרכזי בהכוונת ההתפתחות בניצנים. חיזוק למעורבותם של הורמונים נמצא כאשר פגיעה בעוברים, ללא פגיעה בעומס היבול, הביאה לעליה משמעותית ברמת הפריחה (Stutte and Martin, 1984).

במהלך השנים הצטברו עדויות שונות לגבי הבדלים ברמתם של הורמונים שונים ובהם גיברלנין, אוקסינין וחומצה אבסיסית (ABA) בעלים וניצנים של עצי זית מזנים שונים בין שנות שפע ושפל (Baktir et al., 2004; Ben-Tal and Wonder, 1993; Koshita et al., 1999; Navaro, 1990; Okuda, 2000; Pritsa and Voyiatzis, 2004; Sagee and Erner, 1991); הוצע, שהבדלים ביחסים בין ההורמונים השונים עשויים ל"הנחות" את כיוון ההתפתחות בניצנים. ההבדלים המשמעותיים ביותר נמדדו במהלך חודשי יולי, נובמבר, ינואר ומרץ (Baktir et al., 2004) ועל-כן יתכן שהם מהווים תקופות חיוניות בקביעת גורלו של הניצן.

שימושם של מווסתי צמיחה שונים לוויסות הפוריות הולך וגובר עם השנים בענפי מטעים רבים ובכללם הזית. המעבר לגידול אינטנסיבי בכרם "שדרתי" צפוף ופיתוח זנים בעלי ניבה-גבוהה אף הגבירו את הדרישה למעורבותם של מווסתי צמיחה, הן לשמירת מימדי העצים והן לוויסות היחס בין הצימוח הווגטיבי לרפרודוקטיבי. מעכבי סינטיזת גיברלין (מקבוצת הטריאזולים; Dichlobutrazole, Hexaconazole, Paclobutrazol) נמצאו כמגבירים את רמת ההתמיינות לפריחה והובילו לעליה ברמת החנטה ומאידך שימוש בגיברלין מוריד את רמת הפריחה ומזרז את הצימוח. גם ל-Dikegulac ו-ABA, המעכבים את הצימוח הווגטיבי, נמצאה השפעה מעודדת על רמת החנטה. אולם אפליקציות אלו של מווסתי צמיחה לא הביאו לשינויים המיוחלים בבקרת רמת היבולים בזית ולא הביאו להפחתת הסרוגיות,

קרוב לוודאי משום מחסור בידע ספציפי לגבי אופן ועיתוי פעילותם בצמח. אלו פועלים קרוב לוודאי דרך המערכת המורכבת של בקרת הפריחה, המשמשת נושא למחקר מרכזי, במעבדות שונות מזה שנים רבות. כבר לפני זמן רב היה ברור שהמעבר לפריחה בצמחים הינו תהליך מורכב, המושפע מפעילותם של פקטורים אנדוגניים שונים המבוקרים על-ידי שורה של אותות פנימיים וחיצוניים. סיגנלים סביבתיים שונים כגון אורך היום, טמפרטורה ותנאי עקה שונים (למשל יובש) נמצאו כמשפיעים על עיתוי ועוצמת הפריחה וכן היה ידוע שלאותות פנימיים שונים תפקיד חיוני בבקרה על ההתמיינות לפריחה; למשל, לצמחים דרושה תקופת יובנלית בה אין מעבר לצימוח רפרודוקטיבי, למרות קיומם לכאורה של תנאים אינדוקטיביים לפריחה. למרות זאת, זהותם של הפקטורים האנדוגניים השונים המעורבים בבקרת הפריחה, לא היתה ידועה עד לאחרונה.

בשנות ה-90 העלו Meyerowitz וחבריו את מודל ה"ABC", מודל המקובל כיום, המציע מערכת גנטית לבקרת התפתחותם של אברי הפרח השונים; בבסיסו של מודל זה, שיתופם של חלבוני בקרת-שעתוק שונים קובע את זהותם הספציפית של אברי הפרח השונים. גנים שונים נמצאו מבקרים את רמתם של חלבוני ה"ABC": אלו כוללים את החלבונים Suppressor of overexpression of ) SOC1, (flowering locus T protein; putative kinase inhibitor) FT, constans1 (חלבון MADS-box), ו-FLC (Flowering Locus C; חלבון MADS-box), המבוקרים בעצמם על-ידי שורה של פקטורים המופעלים על-ידי אור (בכללם פוטורצפטורים, פיטוכרומים וקריפטוכרומים שונים), קור (וורנליזציה), למשל Polycombproteins, חלבונים קושרי DNA הקשורים בבקרה אפיגנטית (Chromatin remodeling), וכן חלבונים שונים במסלול האוטונומי (The Autonomous pathway).

לחלבון CONSTANS (CO) תפקיד חשוב בבקרת הפריחה דרך פעולתו על בקרת ביטויי של FT: בימים קצרים רמתו של CO בעלים גבוהה בחושך ויורדת במשך היום, אך בימים ארוכים היא מגיעה לשיאה בתחילת ובסוף הפוטופריודה. מוצע ש-CO מעלה את רמת FT בעלים (כנראה בתאי הפלואם). החלבון "נווד" דרך הפלואם אל המריסטמה הקודקודית שם הוא מגביר יחד עם פקטור שעתוק נוסף (FD) את ביטויים של חלבונים קובעי זהות רקמה כדוגמת API ובכך מזרזים את ההתמיינות האיבר לצימוח רפרודוקטיבי. בכך מזכירה אולי פעילותו של FT את פעולתו של "פלוריגין", חומר צימוח מיתולוגי המיוצר בעלים ופועל במריסטמה. גן נוסף המעורב בבקרת הפריחה הינו FLC, הפועל כרפרסור לביטוי של FT (ראה/י תמונה 2). לאחרונה נמצא שטמפרטורה נמוכה מבקרת את רמתו של FLC ברמה האפיגנטית, על-ידי מודיפיקציה של 'אריזות' הכרומטין באזור הגן. בקרה ברמה האפיגנטית עשויה להסביר כיצד "מגיבים" הצמחים לסיגנל הקור שניתן להם זמן רב קודם לפריחה ואו "זכרון" יובנלי.

פעולתם של מווסתי צמיחה בבקרת הפריחה ידועה אך מעט. עד-כה, התמקדו המחקרים השונים בעיקר באיפיון תפקידיו של הגיברלין. בניגוד למינים רבים (בהם הזית ולעצי-פרי רבים אחרים), הפריחה בארבידופסיס דווקא

מעודדת על-ידי ג'יברלין ומעוכבת במוטנטים הפגומים בביוסינתזה של ג'יברלין (*gal-3*) או במעבר הסיגנל דרכו (*gai*). נראה שהמערכת דרכה פועל ההורמון נפרדת מהמערכות האור, הוורנליזציה או המערכת האוטונומית. יתכן שהינה מעורבת בבקרה כלורופלסטית/פלסטידית (או פוטוסינתתית) שכן הביוסינתזה של ה-GA מתחילה באברון זה.

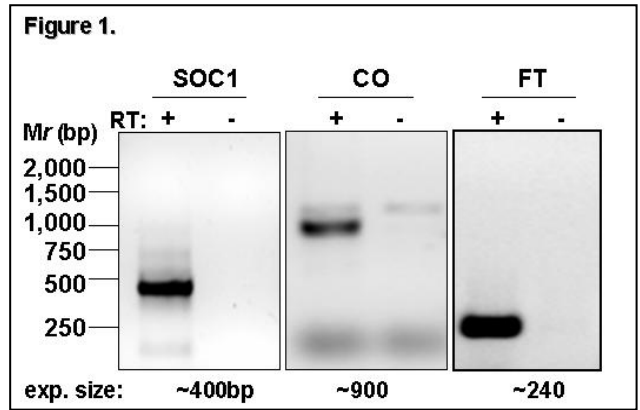
## 2. מהלך ושיטות עבודה

בעית הסרוגיות הינה בעיה גלובלית הגורמת לפגיעה משמעותית ברמת היבולים ובמידת ריווחיותם של ענפי מטע רבים. למרות שהסרוגיות בזית (ובצמחים אחרים) נחקרת מזה שנים רבות, לא נמצאו עד-כה דרכים יעילות להקטנתה ולא אופיינו הגורמים האנדוגניים השונים המעורבים בה. גישות גידול אינטנסיביות ומעבר לזנים פוריים במיוחד אף הגבירו את הצורך בבקרה על רמת ייבול קבועה, שאינה נתונה ליחסדי שמים'. בידודם ואיפיונם של גנים שונים המעורבים בבקרת הפריחה בצמחי מודל איפשרה לראשונה את קשירתם של גורמים סביבתיים שונים בתהליכי ההתמיינות. גנים הומולוגיים מצמחים שונים נמצאו כבעלי פונקציות דומות וקומפלימנטריות בבקרת הפריחה; ממצאים אלו מציעים שגנים הומולוגיים מזית צפויים למלא תפקידים דומים, אולם הנחה זו חייבת להתבסס ניסויית. בהתאמה, במסגרת תוכנית זו נבחן את הגורמים הבאים:

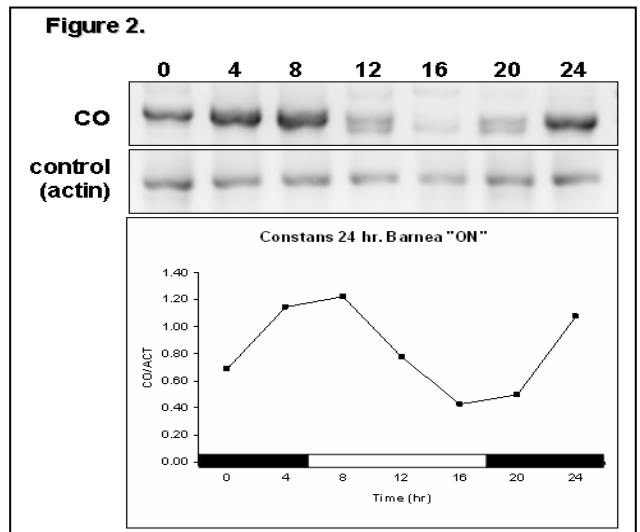
1. לימוד היסטולוגי לקביעת שלבי ומועדי ההתמיינות בפקעי צמיחה, במועדים ובשלבי התפתחות שונים.
2. לימוד וקביעת מידת מעורבותם של ג'יברלינים בבקרת ההתמיינות לפריחה: בשלבים התפתחותיים שונים, בזני זית שונים בין שנות שפע ושפל.
3. בידודם ואיפיונם של גנים הומולוגיים מזית לגנים המעורבים בבקרת הפריחה בצמחי מודל.
4. איפיונם של גנים המעורבים בשלבים מוקדמים של בקרת הפריחה בניצנים החיקיים בזית, שביטויים מוקדם למציאותם של שינויים מורפולוגיים ברקמה (ראה/י סעיפים 1.3.1 ו- 1.3.3).



אתרים שמורים שונים המאפיינים את הגנים השונים ( Data not shown) תוך התמקדות ברצפים של סולניים, אשר מצאנו שהינם מקורבים טקסונומית לזית. אלו אפשרו (i) את איתורם של מקטעים מזית הומולוגיים ל CO ו FT (ראה/י תמונות מצורפות) שימשו באנליזות Northern ואנליזות real-time PCR, לקביעת רמת ביטויים של ההומולוגיים השונים מהזית.

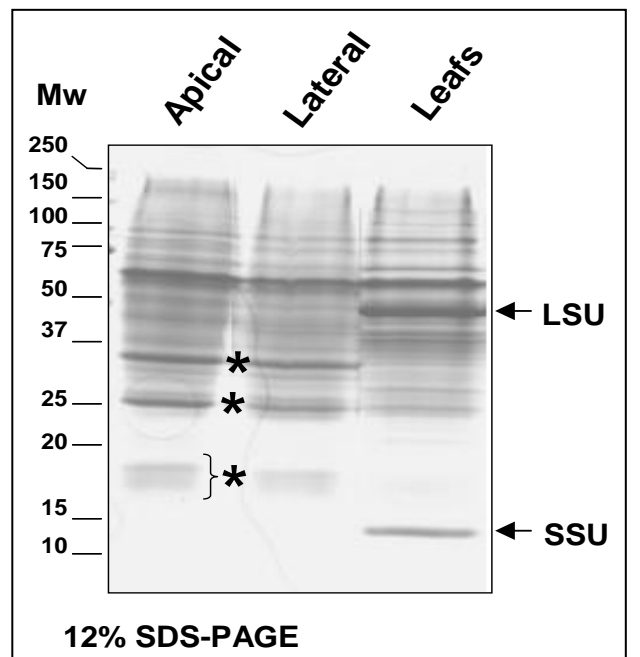


ממצאים אלו אפשרו לנו לבדוד גנים מזית ההומולוגיים ל FT, CO ו- SOC1 (גנים מרכזיים בבקרת הפריחה בצמחי מודל שונים) באמצעות תחלי- DNA דגנרטיביים מתאימים (שתוכננו כאמור על-סמך הומולוגיה לסולניים). השתמשנו בשיטות של RACE 3' ו- RACE 5' כדי לזהות את כלל האזור המקודד של הגנים, הכולל גם את אזורי ה- UTR. מעקב אחר תבניות ביטויים ברקמות שונות, בשלבי התפתחות שונים בין עצי ON ו- OFF (בסרוגיות) נמצאים כעת בשלבים מתקדמים. אלו



מציעים שביטוי של CO הינו צירקדי בזית, בדיוק כפי שנמצא ביטוי בצמחי מודל (ראה/י תמונה).

**3. אפיונם של חלבונים הנמצאים באסוציאציה לפריחה ולסרוגיות.** לצורך זיהויים של חלבונים שונים העשויים להיות מעורבים בסרוגיות, חלבונים אשר הופקו מזית מעלים צעירים ומפקעי-צימוח וגטטיביים הופרדו באמצעות SDS-PAGE חד- ומימדי, נחתכו מהגיל ונשלחו לאנליזת Mass-Spectrometry לצורך זיהויים. אנליזה זו איפשרה לנו לזהות אל החלבונים במערכת ה- MS-MS (מע' אריה אדמון; טכניון) שרמתם בניצנים נמצאה כגבוהה משמעותית לעומת רמתם בעלים (ראה/י תמונה); אלו כללו את החלבון Fructose 1,6 bisphosphate aldolase (כוכבית עליונה) חלבון ידוע מרכזי

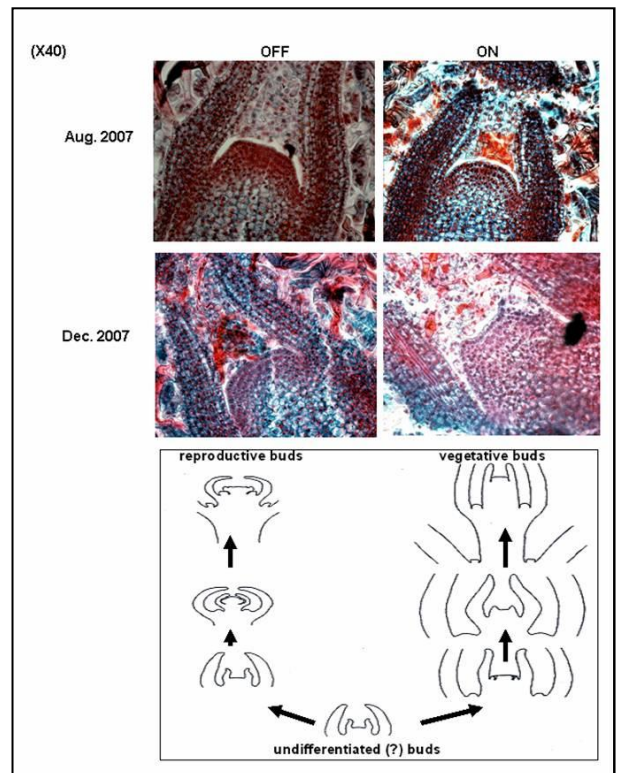




במסלול הגליקוליזה; חלבונים שונים המעורבים באריות ה DNA (ההיסטונים H2B ו- H4; כוכבית אמצעית); וכן חלבני בקרת שעתוק (IF5A; wall-associated kinase) ותרגום (ADP-ribosylation factor; 40S ribosomal protein) (S15, S28; 60S ribosomal proteins L5, L11, L23; שהמשך אפיונם של חלבונים שביטויים דיפרנציאלי בין רקמות השונות ושלבי הגידול השונים בזית, תיתגלה כמקור 'פורה' לאיפיונם של חלבונים שונים המעורבים בסרוגיות.

**4. אפיונם של גנים המעורבים בבקרת הפריחה שביטויים מוקדם לשינויים מורפולוגיים בניצנים החיקיים בזית.**  
 בחינת ביטויים ומידת מעורבותם של הגנים בפריחה בזית תתבצע ברקמות שונות ובמועדים שונים באמצעות אנליזות PCR Northern-blot ו real-time PCR כמקובל (לקביעת רמת השעתוק); במידה ויתאפשר תקבע גם רמתם של החלבונים על-ידי Western blot, באמצעות נוגדנים ספציפיים (שיוכנו או יתקבלו ממעבדות אחרות). תוצאות אלו בשיתוף עם התוצאות שיתקבלו מהמבחנים ההסטולוגיים (ראה/י סעיף 1.4.I.2) יאפשרו את זיהויים של גנים המעורבים בבקרת הפריחה שביטויים מוקדם למציאותם של שינויים מורפולוגיים החלים ברקמת המריסטמה בניצנים. גנים אלו עשויים לשמש בעתיד כסמנים ספציפיים לעיתוי ועוצמות הפריחה בזני זית שונים ועל-כן צפויים לשמש כסמנים לסרוגיות.

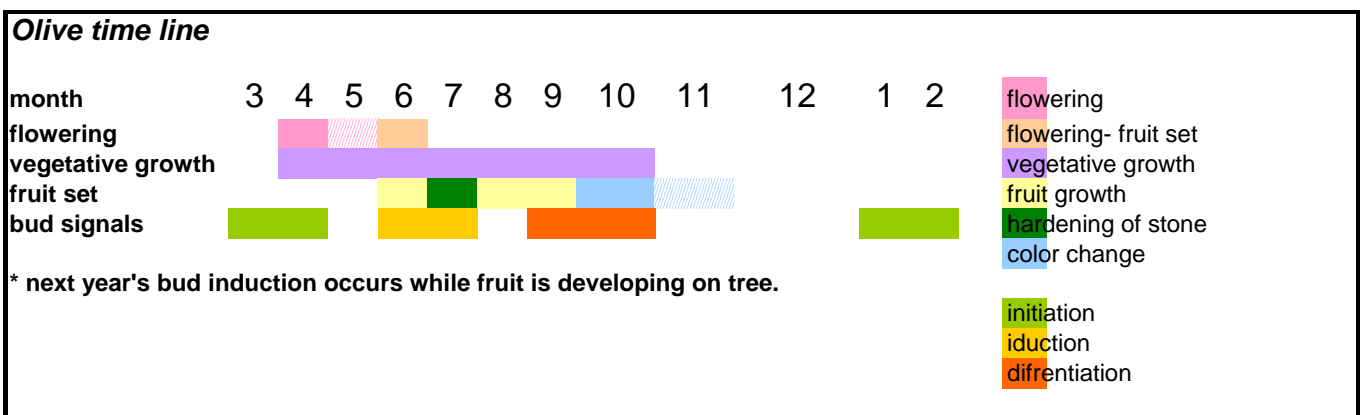
**5. בחינה היסטולוגית.** לא ברור עדיין האם ניצני הזית שרויים בתרדמה בדומה למינים הנשירים לאחר שחלו בהם תהליכי אידוקציה ואבוקציה ספציפיים, או שהינם אינדפרנטים לכיוון ההתפתחות והוורנליזציה דרושה בהם לקביעת ו/או השלמת ההתמיינות. מחקרים מוקדמים מציעים שתחילת האיניציאציה לפריחה בזית חלה דווקא במהלך נובמבר, ורק לקראת מרץ חלה ההתמיינות הסופית לאברי הפרח השונים, סמוך לפתיחת הניצנים. אולם, נראה שהתהליכים שחלים בניצני הזית במהלך החורף אינם אינדוקטיביים ומחקרים אחרים מציעים שהאינדוקציה לפריחה חלה דווקא במהלך יולי, או כשישה שבועות לאחר הפריחה המלאה. על-מנת לקבוע את שלבי האינדוקציה / איניציאציה / והתפתחות בפרימורדיות של זית,



ניצנים בשלבי התפתחות שונים מעצים בשנות שפע ושפל נילקחו לאנליזה היסטולוגית (במיקרוסקופ אור ובמיקרוסקופ קונפוקלי; ראה/י תמונה) לצורך הגדרת השינויים המורפולוגיים החלים בניצנים בשלבים השונים. עבודה זו בוצעה בשיתוף של המעבדה להיסטולוגיה במכון למדעי הצמח (גב' חני צמח ואנליזה מיקרוסקופית בעזרתו האדיבה של מר אדי בלאוסוב, מיחידת המיקרוסקופיה במכון, לצורך אנליזה של הדוגמאות.

6. בדיקת השפעתם של הורמונים שונים על מידת ההתמיינות ועל ביטויים של גנים המעורבים בפריחה. כעת אנו בוחנים את השפעתם של תנאי גידול מבוקרים (אורך יום טמפרטורה ומשטר השקיה) והשפעתם של הורמונים שונים שינתנו על-ידי ריסוסים או באמצעות אפליקציה ישירה לאיברים השונים (עלים, ניצנים ועוברים) על מידת ההתמיינות לפריחה ועל רמת ביטויים של גנים מעורבים בבקרת הפריחה בזית. השפעתם של ההורמונים הללו תהיה מעניינת במיוחד לגבי גנים שונים שביטויים ימצא מוקדם לשינויים המורפולוגיים בניצנים. תוצאות אלו עשויות לסייע באופן ישיר לפיתוח העתידי של מערכת יישומית לוויסות הייבול בכרמים אינטנסיביים וכן במטעי בעל. להל"ן מצורפת מפת תוכנית העבודה :

			ל"ז: במהלך חודש יוני - ריסוס מדי שבוע - עץ ON ועץ OFF, על כל אחד מהם 3 טיפולים: GA3, PP3, WATER	יוני-07
כמות איסוף 10gr	סימון 4NORT 4MS 4HIS	(3 ON + 3 OFF) (4 ON + 2 OFF) (1 ON + 1 OFF)	אחת לחודש יאספו דוגמאות משני מקורות: 1- מהעצים המרוססים - דוגמאות עלים לבדיקת Northern MS 2- מעצים לא מרוססים - דוגמאות עלים, עוברים, פירות ופקעים ל-MS 2- מעצים לא מרוססים - דוגמאות ענף+פקע להיסטולוגיה	יולי-07 ואילך



רמת ההורמון GA3 בשלבי התמיינות שונים (אינדוקציה, דיפרנציאציה ואיניציאציה) בעצים ON ו OFF. תיקבע באמצעות מערכת GC-MS.

**Samples for Mass Spec.**

tree	on				off	
	fruit	embryo	leaf	lateral bud	leaf	lateral bud
sample						
Jul-07						
Sep-07						
Nov-07						
Jan-08						
Mar-08						

II

**מבחן היסטולוגי:** פקעים מעצים ON ו OFF יילקחו לאנליזה היסטולוגית במיקרוסקופ קונפוקלי (חתכי אורך) על-מנת ללמוד על מועד מועד האיניציאציה לפריחה בזית. לצורך האנליזה יאספו פקעים מבסיסי עלים 5-10 מענפים צעירים.

**Samples for Histology - Lateral buds with shoots (keep in FAA)**

tree	on	off
Jul-07		
Sep-07		
Nov-07		
Jan-08		
Feb-08		
Feb-08		
Feb-08		
Feb-08		

III

**ריסוסים:** בתקופת האינדוקציה (1 ביוני עד 1 ביולי) יבוצע ריסוס אחת לשבוע ב GA3, בקולטר (פקלובוטראזול) וביקורת (מים), עם אותו משטח. הריסוס (טבילה) יתבצע ביום השקיה בשעה 9:00 בבוקר. בהמשך יאספו דוגמאות עלים לאנליזת northern לגנים CO ו FT. עם ההתמיינות יתנהל מעקב אחרי התפתחות פרחים בענפים המרוססים (ספירה+ צילום).

**GA treatments -**

**Treated Leaves for Northern analysis (keep in -80°C)**

tree	on			off		
	GA3	PP3	water	GA3	paclobutrazol	water
Jun-07						
Jun-07						
Jun-07						
Jun-07						

tree	on			off		
	GA3	PP3	water	GA3	paclobutrazol	water
Jun-07						
Jul-07						
Sep-07						
Nov-07						
Jan-08						
Mar-08						

**7. סיכום תוצאות טיפולי מגייק (מעכב סינטיזת גיברלין) לוויסות הפוריות.**

תכשירים מקבוצת הטריאזולים (קולטר, מגייק ויוניק) משמשים במינים רבים לוויסות צמיחה ופוריות דרך פעולתם על עיכוב סינטיזת גיברלין.

בניסוי שערכנו נבחנו שיטות אפליקציה ומינונים של מגייק על עצי ברנע (בני שנתיים) הנטועים בכרם שדירתי צפוף.

נבחנה אפליקציה של מגייק בריסוס Sp-(ריכוז 0.1%) ובקרקע So- (בשני מינונים: 2 גרם תכשיר ו-4 גרם לעץ),

בהשוואה עם עצי היקש-0 לא מטופלים. סך הכול 4 טיפולים ב-4 חזרות של 6 עצים בבלוקים באקראי. לתצפיות

ומדידות שימשו רק 4 עצים מרכזיים בכל חזרה.

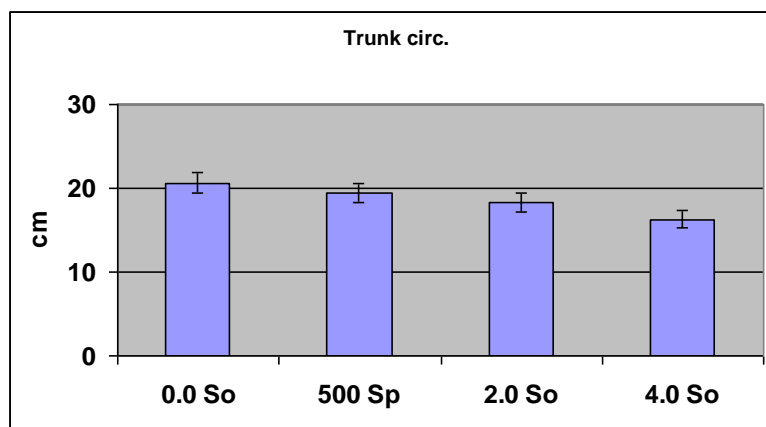
בכל אחד מ-4 העצים ששמשו למעקב בוצעו מדידות היקף גזע וגובה וכן סומנו 10 ענפי צמיחה חד שנתיים לעץ למעקב

אחר אורך צימוח עונתי ושיעור החנטה.

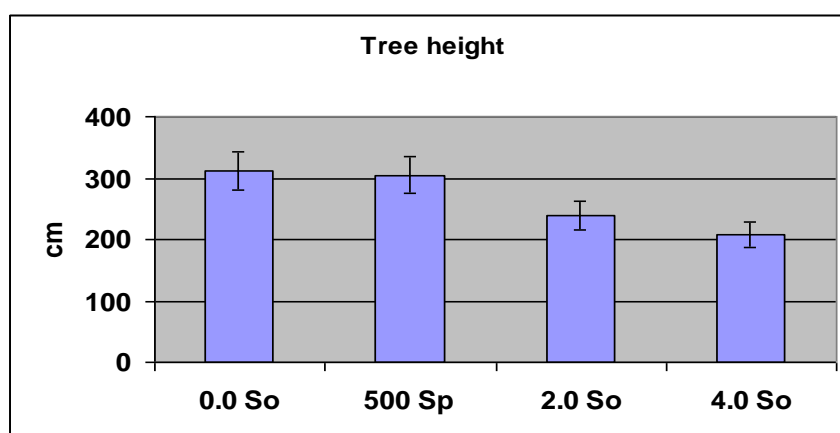
**תוצאות עיקריות:**

היקף גזע, גובה עץ ואורך הצימוח העונתי נקבע (שנה לאחר טיפול) ומוצג באיורים 1, 2, ו-3 בהתאמה.

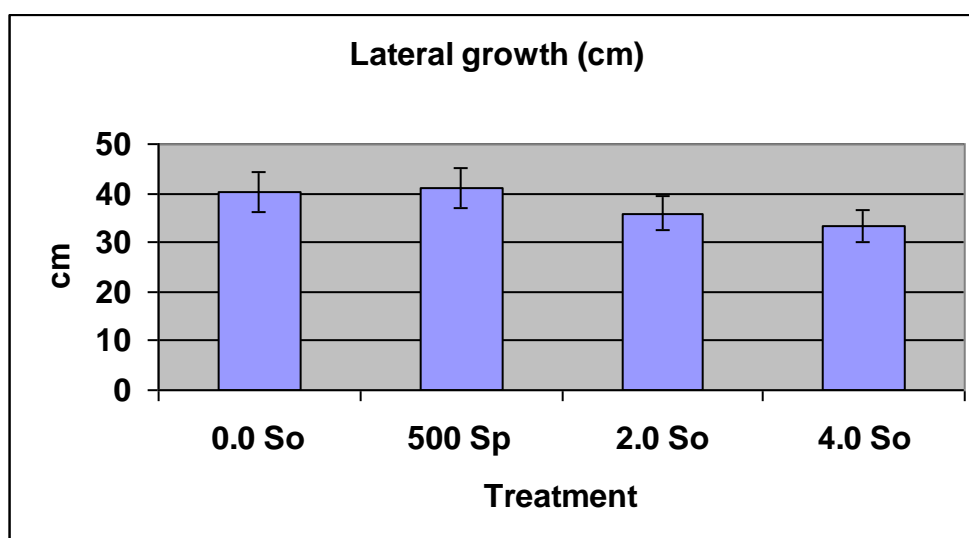
איור 1. היקף גזע העץ בהשפעת טיפולי מג'יק



איור 2. גובה העץ בהשפעת טיפולי מג'יק

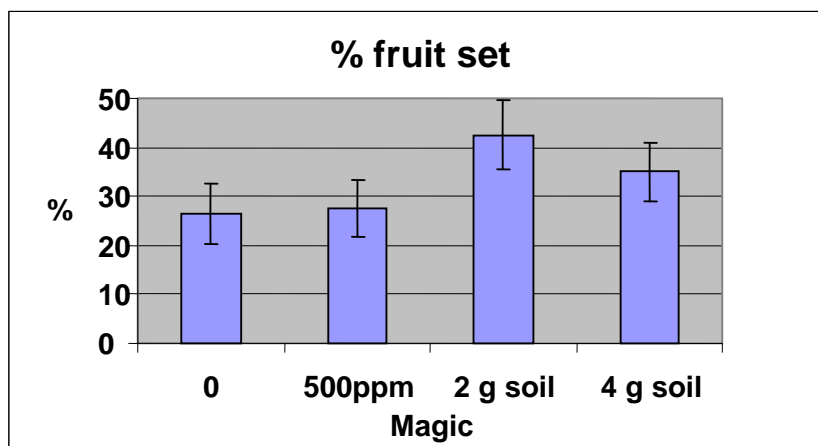


איור 3. אורך צימוח עונתי בהשפעת טיפולי מג'יק



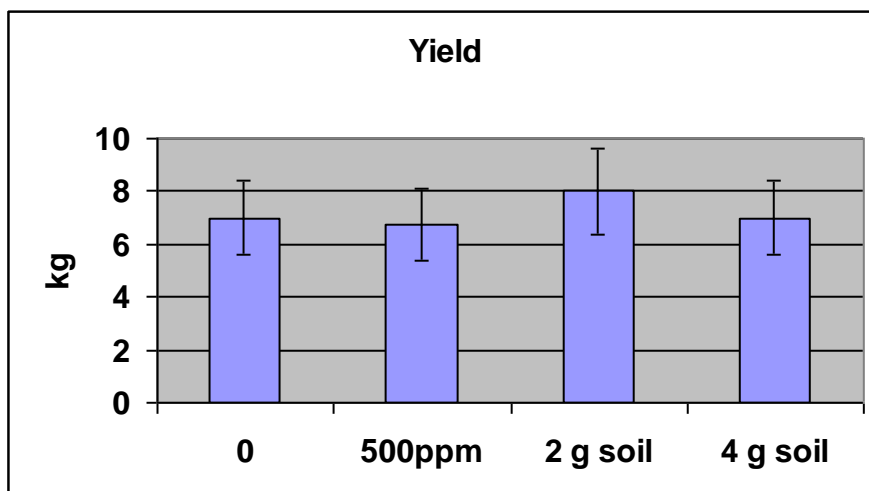
טיפול קרקע במגייק בשני הריכוזים גרם לריסון צמיחה וגטיבית של העץ בכל המדדים שנבחנו, אולם בריכוז הנמוך של 2 גרם תכשיר לעץ ניתן להבחין שהצימוח העונתי (איור 3) מתחיל להתאושש (הבדלים לא מובהקים מהיקש וריסוס) בשנה הראשונה שלאחר הריסוס, בעוד שבריכוז הגבוה ההשפעה של עיכוב צמיחה נשמרת גם בצימוח העונתי. לטיפול הריסוס הייתה השפעה קצרה יחסית (שהובחנה במהלך הקיץ אך לא נמדדה) והתבטאה בהקטנת מימדי הגזע באופן לא מובהק מהיקש (איור 1) אולם זאת נעלמה במהלך העונה ומימדי העץ לא נבדלו מאלו של עצי ההיקש (איורים 2, ו-3). באפריל (פריחה) של השנה העוקבת, נספרו וסומנו תפרחות בענפים לקביעת שיעור החנטה בכל אחד מהטיפולים, במועד זה גם ניתן ריסוס חוזר לעצים שרוססו בשנה הקודמת. ספירת חנטים בענפים המסומנים נערכה בחנטה בטוחה (יולי) ושיעור החנטה חושב ב-% מהפרחים לכל טיפול (איור 4)

**איור 4. שיעור החנטה בהשפעת טיפולי מגייק בענפים שפרחו ב-2003**  
(אפליקציה: קרקע-מרץ 2002, ריסוס- מרץ 2002 ואפריל 2003, ספירה יולי 2003)



טיפול מגייק 2 ג' קרקע הגדיל בצורה משמעותית את שיעור החנטה, מינון גבוה יותר (4 ג') הגיב בשיעור חנטה גבוה מהיקש אך לא מובהק, טיפול הריסוס לא נבדל מההיקש. יבול של כל עץ נשקל במסיק (סוף אוקטובר) והוצג באיור 5.

**איור 5. יבול ממוצע לעץ ב-2003, בניסוי טיפולי מגייק**



אף על פי שטיפול מגייק קרקע גרמו לריסון הצמיחה הוגטטיבית (איורים 1,2,3) במימדי עובי גזע, גובה עץ ואורך צמיחה עונתית, רמת היבולים לא נפגעה ובמידה מסוימת אף מצביעה על מגמה של עלייה (לא מובהקת) ביבול (איור 6) המסברת על רקע של ההשפעה החיובית על שיעור החנטה (איור 5). מידת ההשפעה על התמיינות כגורם להגברת יבולים לא נבחן ומצדיק התייחסות בהמשך.

### 3. סיכום עם שאלות מנחות

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימם 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.

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
הקטנת הסרוגיות זית, דרך בחינת מכלול הגורמים האנדוגניים (גנים והורמונים) המעורבים בבקרת הפריחה בזית.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.
1. פיתוח מערכות חדשניות לבידוד חלבונים וחומצות גרעין מזית.
2. בידוד גנים הומולוגיים לגנים מרכזיים בבקרת הפריחה – FT ו-CO.
3. פיתוח מערכת לזיהוי חלבונים המעורבים בסרוגיות, המבוססת על מערכת MS-MS.
4. קביעת הפעילות הפוטוסינטטית במהלך ההתפתחות ו"מקומה" בהתפתחותם של ניצנים וגטטיביים/רפרודוקטיביים בזית. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרת המחקר בתקופת הדו"ח.
אלו מבוססים על עיקרי הממצאים כמתואר בסעיף הניסויים. במהלך השנה (כמתואר בהרחבה בדו"ח) נתייחס למסקנות הראשיות לגבי מערכות הניסויים שהעמדנו.
3. הבעיות שונות לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרת המחקר בתקופה שנתורה לביצוע תוכנית המחקר.
1. קביעת מועדי ההתמיינות.
2. קביעת רמת ה GA ברקמות שונות בין צמחי ON ו-OFF.
3. מעורבותם של גנים הומולוגיים ל FT ול-CO בבקרת הפריחה והסרוגיות.
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - <b>יש לפרט</b> : פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.
במהלך החודש הקרוב ישלח המאמר הראשון המתאר את ממצאי הפעילות הפוטוסינטטית לעיתון Horticultural Sciences and Biotechnology
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)
רק בספריות <
ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) <
חסוי – לא לפרסם <