

דו"ח סופי לתוכנית 10-0705-203

סירוגיות בהדרים: לימוד התהליכים המשתנים בין שנת שפע לשנת שפל

## Alternate bearing in citrus

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

אבי צדקה, לודמילה שלייוזמן, נפתלי צור, המחלקה לעצי פרי, המכון למדעי הצמח, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני  
Avi Sadka, Department of Fruit Trees Sciences, Institute of Plant Sciences, ARO, The Volcani Center  
P.O. Box 6, Bet Dagan, Israel

מאי 2011

אייר תשע"א

הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים

הניסויים אינם מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקר: \_\_\_\_\_

## תוכן עניינים

2	תקציר
2	הקדמה
3	עיקרי הממצאים מהמחקר
3	3.1 השפעת הסירוגיות והטיפולים השונים על הפריחה בשנה העוקבת
4	3.2 בדיקת הגנים המעודדים פריחה
12	3.3 היברידיזצית Microarray המשווה בין שנת שפע לשנת שפל
16	דיון
19	סיום עם שאלות מנחות

## תקציר

כמו בעצי פרי אחרים, אחת מבעיות הפוריות בעצי הדר הנה הסירוגיות. בצורתה הקלאסית, הסירוגיות מתבטאת בפריחה נמוכה בשנת השפל, לעומת פריחה רבה בשנת השפע, המביאה לסירוגיות ביבולים בעוצמות שונות. בזן מורקוט, הסירוגיות הנה מאוד קיצונית, ומביאה ליבולים נמוכים בשנת השפל, לעומת כמות פרי גבוהה בשנת השפע העוקבת. המנגנון (ים) הקובעים סירוגיות אינם ברורים, אבל הועלו תיאוריות המייחסות אותה למצב התזונתי של העץ ו/או להשפעת חומרי צמיחה שונים. יש לשער כי הבנת מנגנון הסירוגיות תלוי במידה רבה בהבנת מנגנון הפריחה.

מטרת המחקר הייתה זיהוי גנים המשתנים ברמתם בענפים ובפקעים בשנת שפל לעומת שנת שפע לפני ובזמן האינדוקציה לפריחה, מתוך כוונה לאתר תהליכים מטבוליים, רגולאטורים ואחרים הקשורים לתופעת הסירוגיות, ואולי מבקרים אותה. המחקר כלל את השלבים הבאים: (1) מעקב ישיר אחר ביטוי של גנים המבקרים פריחה בפקעים ענפים ועלים של עצי מורקוט העומדים בשנת שפע ושפל. השגת מטרה זו לימדה רבות על שינויים בביטוי הגנים במהלך העונה, וביצועה היווה כלי עזר להמשך המחקר. יתרה מכך, התוצאות רימזו כי מועד האינדוקציה לפריחה עשוי להיות מוקדם יותר ממה שמקובל לחשוב, ולכך חשיבות להבנת מנגנון הסירוגיות והתמודדות עימה. (2) ביצוע אנליזה גנומית תוך שימוש בפלטפורמת Affymetrix בה הושו פקעים וענפים (כולל עלים) של עצים העומדים בשנת שפע לאלו העומדים בשנת שפל. השלמת האנליזה גילתה כי מרבית השינויים בביטוי גנים מופיעים בפקעי חודש מאי. אופיינו מספר תהליכים המשתנים בין שנת שפע לשנת שפל. כמו כן, זוהה גן בקרתי חשוב לפריחה המשתנה ברמתו בכל נקודות הזמן והרקמות שנבחנו. על בסיס ממצאי התוכנית, הוגשה ואושרה תוכנית המשך.

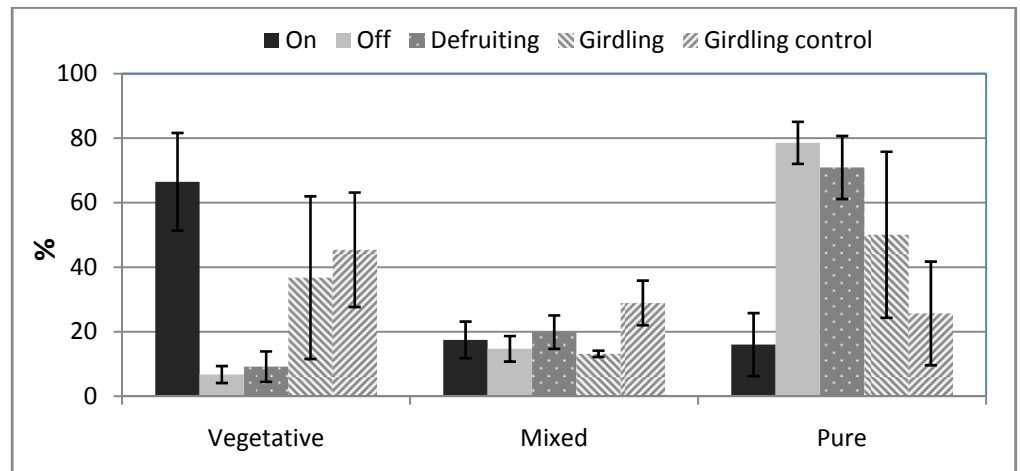
## הקדמה

סירוגיות הנה מהבעיות החמורות בענפי המטע השונים, ובכלל זה בפרדס. היא מופיעה במינים רבים ללא קשר למועד האינדוקציה לפריחה או לפרק הזמן העובר בין מועד האינדוקציה למועד תחילת הדיפרנציאציה לפריחה. בזנים רבים של הדרים מופיעה סירוגיות סדירה בעוצמות שונות. בזן מורקוט, למשל, משרעת היבול בין שנת שפל לשנת שפע הנה גדולה מאוד, בדומה לזית, ודווחו מקרים בהם לאחר שנת שפל עם פירות בודדים לעץ, בשנת השפע עצים התמוטטו מעודף ייבול כאשר לא בוצע דילול. בזנים אחרים, כמו שמוטי, הסירוגיות מופיעה בעוצמה נמוכה, וההבדל בין שנת השפע לשנת השפל הנו נמוך יחסית. בזנים אחרים, כמו קומקוואט, מופיעים יבולים כבדים שנה אחר שנה, ואם יש סירוגיות היא כמעט אינה מורגשת. בזן אור 1, בשנת השפע יופיעו בד"כ יבולים של 4.5-6.5 טון לדונם בעוד שבשנת השפל היבולים יהיו בס"ג של 1.5 טון לדונם. לעומת מצבים של סירוגיות סדירה, יש מצבים של סירוגיות לא סדירה. קיימות בארץ חלקות של הזן אור 1 בהן מופיעות, למשל, שנתיים שפע אחרי שנת שפל, וההיפך. מאוד יתכן כי מצבים של סירוגיות לא סדירה הנם פועל יוצא של גיל הזן, ומצבים אלו ילכו וייעלמו ככל שהזן "יתבגר".

סירוגיות פוגעת ברווחיות הרב שנתית של המטע. במהלך השנים פותחו גישות שונות להתמודדות עם הבעיה (יפורט בהמשך), אולם לרוב הן נותנות מענה חלקי, במיוחד במצבים קיצוניים. למרות שבמהלך השנים הוצעו הסברים שונים לתופעה, עד היום חסרה הבנה בסיסית מעמיקה של הגורמים לסירוגיות. במסגרת מחקר זה ניסינו לרדת לעומקם של תהליכים המבדילים בין עצים בשנת שפל לעצים בשנת שפע.

**3.1 השפעת הסרוגיות והטיפוליים השונים על הפריחה בשנה העוקבת**

מטרתו העיקרית של מחקר זה היתה בחינת השפעתה של הסרוגיות על הבדלים בביטוי גנים בין שנת שפע לשנת שפל. לפיכך, היה צורך לוודא שהעצים שנבחרו בתחילתו של הניסוי הינם סירוגיים כמצופה, ושהטיפולים שנעשו אכן משפעים על הפריחה. מכיוון שהעצים נבחרו והוגדרו כעצים בשנת שפע או שפל על פי כמות הפרחים שנצפתה בהם בחודשי האביב (אפריל 2008), נבחן שוב מצבם בתקופה המקבילה בשנה העוקבת (אפריל 2009), תוך ספירת סוגי הבלבוב השונים בכל אחד מהמצבים והטיפולים (גרף 3.1). כאמור, המצבים כללו עצים בשנת שפע ושנת שפל (שנבחרו ע"פ עוצמת הפריחה), והטיפולים כללו עצים בשנת שפע מהם הוסרו כל החנטים (Defruiting), ענפים מחוגרים בעצי שנת שפע (Girdling) וענפים שאינם מחוגרים באותם העצים בהם התבצע חיגור המשמשים כביקורת (Girdling control). הסרת החנטים התבצעה באמצע חודש אוגוסט (2008) והחיגור התבצע בתחילת חודש נובמבר (2008) לקראת האינדוקציה לפריחה, טיפול הידוע כמעודד פריחה.



**גרף 3.1 – יחס לבלבובים (אפריל 2009).** תוצאות ספירת הבלבובים השונים בעצי הניסוי בשנה העוקבת (אפריל 2009). ציר (X) – סוג הבלבוב: וגטיבי (Vegetative), מעורב (Mixed) וטהור (Pure). ציר (Y) – האחוז מסך כל הבלבובים. שנת שפע – On, שנת שפל – Off, הסרת פירות – Defruiting, חיגור – Girdling, וביקורת חיגור – Girdling control. סוגי הבלבובים השונים בעצי הדר מתוארים בפרק סקירת ספרות (תמונה 1.1).

מהתוצאות שהתקבלו ניתן לראות שמרבית הבלבוב שנוצר בשנה העוקבת על עצי שנת שפע היה וגטיבי (כ-70%) בעוד שאחוז הבלבוב הטהור (ללא עלים) נמוך יחסית (כ-15%). לעומת זאת, עצים בשנת שפל ייצרו בשנה העוקבת בעיקר לבלבוב טהור (כ-80%) בעוד שאחוז הבלבוב הגוטיבי בהם היה נמוך (כ-7%). אחוז הבלבוב המעורב אינו שונה באופן מובהק בין שני המצבים. עוצמתה הגבוהה של הפריחה בעצים בשנת שפל ולחילופין היחלשותה בעצים בשנת שפע בשנה העוקבת, מעידים על כך שהעצים שנבחרו אכן מתנהגים באופן סרוגי כצפוי. טיפולי הסרת הפירות (Defruiting) בעצים בשנת שפע הביאו ליצירת לבלבובים ביחס הדומה לעצים שהיו בשנת שפל ונכנסו לשנת שפע בשנה העוקבת. אחוז הבלבוב הטהור גבוה (כ-70%) בעוד שאחוז הבלבוב הווגטיבי נמוך (כ-9%). אחוז הבלבוב המעורב דומה לזה של שאר המצבים. טיפולי החיגור (Girdling) לא הראו מגמה ברורה של העדפת יחס לבלבובים כזה או אחר. אין הבדל מובהק בין רמת הפריחה בענפים מחוגרים לאלו של ביקורת החיגור, מה גם ששגיאת התקן היא גבוהה מאוד ומעידה על חוסר אחידות ברמת האינדוקציה לפריחה בין החזרות השונות. לפיכך, מעתה לא

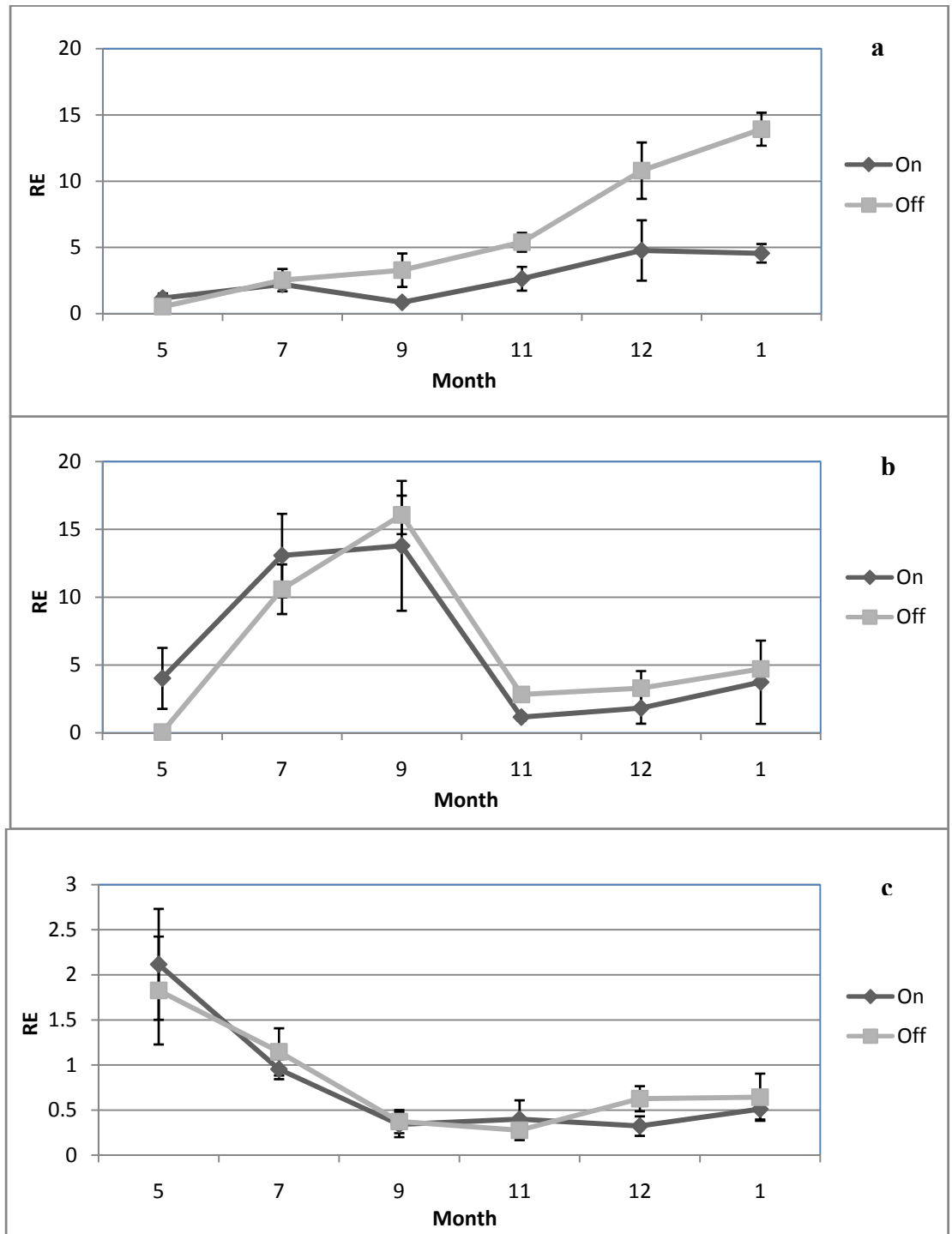
תהיה התייחסות לרמת ביטוי הגנים השונים בטיפולי החיגור וביקורת החיגור ככל ובחינת התוצאות תעשה רק לשני המצבים הנבדקים (שפע ושפל) ולטיפול הסרת הפירות בלבד.

### 3.2 בדיקת ביטוי הגנים המעודדים פריחה (qRT-PCR)

בשנים האחרונות נעשתה התקדמות רבה בכל הנוגע להבנת המסלולים השונים המובילים לפריחה בצמח המודל ארבידופסיס. בתוך כך נמצא, שלארבעת הגנים: *FT*, *APETALA1*, *SOCI* ו-*LEAFY* תפקיד מכריע בבקרה על תהליכים אלו. עבודות מאוחרות יותר מצביעות על כך שלרמת הביטוי של הגנים הללו עשויה להיות השפעה על המעבר לפריחה גם בהדרים. בעבודה זו נבדק הקשר בין ביטוי אותם ארבעה גנים לבין עוצמת הפריחה בהדרים, בהקשר של סירוגיות. בחינת ביטויים של הגנים: *FT*, *APETALA1*, *SOCI* ו-*LEAFY* נעשתה במספר נקודות זמן לאורך השנה בעלים, בענפים ובפקעים. נקודות הזמן שנבחרו: מאי, מיד עם סיום תקופת הפריחה והתחלת התפתחות החנטים, יולי, כחודש לאחר נשירת החנטים (נשירת יוני), ספטמבר, תקופה מאוחרת יחסית, בה הסרת הפירות איננה מעודדת אינדוקציה לפריחה, נובמבר – ינואר, תקופת האינדוקציה לפריחה. בכל גן נבחן דגם הביטוי לאורך השנה ברקמות השונות תוך השוואה בין שנת שפע לשנת שפל בלבד. בנוסף, נבדקו רמות הביטוי של כל גן בכל המצבים הפיזיולוגיים (שפע, שפל, הסרת חנטים, חיגור, ביקורת חיגור), תוך השוואה בין הביטוי בפקעים לביטוי בענפים בתקופת האינדוקציה לפריחה בלבד. מעבר לחשיבות של בחינת ביטוי גנים אלו ברקמות עצים בשנת שפע לעומת שנת שפל, אמורות תוצאות אנליזת ה-qRT-PCR לעזור בבחירת נקודות זמן ורקמות לאנליזה הגנומית. בריאקציות השונות נעשה לרוב שימוש בעקומות כיוול שונות, מה גם שהתנאים בכל ריאקציה וריאקציה עשויים להשתנות ולפיכך, אין להשוות את הביטוי היחסי המתקבל בין הגרפים השונים, ואת ההשוואה יש לעשות רק בין התוצאות המיוצגות בתוך אותו הגרף.

#### 3.2.1 דגם ביטוי הגן *FT* לאורך השנה

רמת הביטוי של *FT* בפקעים נמצאת במגמת עליה לפני ועם הכניסה למועד האינדוקציה (גרף 3.2a). בפקעים מעצים בשנת שפל ניתן לראות עליה חדה יותר בביטוי, בעוד שהביטוי בפקעים מעצים בשנת שפע נותר מתון יחסית לאורך השנה. הבדל מובהק בין שני המצבים שפע ושפל, ניתן לראות כבר בחודש ספטמבר, כאשר המגמה מתחזקת בחודש דצמבר ומגיעה לשיאה בחודש ינואר במהלכו רמת הביטוי של *FT* בפקעים של עצים משנת שפל גבוהה בערך פי 3 מאשר בפקעים של עצים בשנת שפע. ביטוי *FT* בענפים מעצים בשנת שפע אינו שונה באופן מובהק מזה של ענפים בשנת שפל (למעט חודש מאי) כאשר ישנה עליה מתמשכת בביטוי ממאי עד ספטמבר, ולאחר מכן ירידה חזקה עם הכניסה למועד האינדוקציה לפריחה והתייצבות על רמה נמוכה (גרף 3.2b). בעלים, ניתן לראות ירידה ברורה בביטוי *FT* החל מחודש מאי עד ספטמבר והתייצבות של רמת הביטוי הנמוכה לאורך כל תקופת האינדוקציה לפריחה ללא הבדל מובהק בין שני המצבים שפע ושפל (גרף 3.2c).

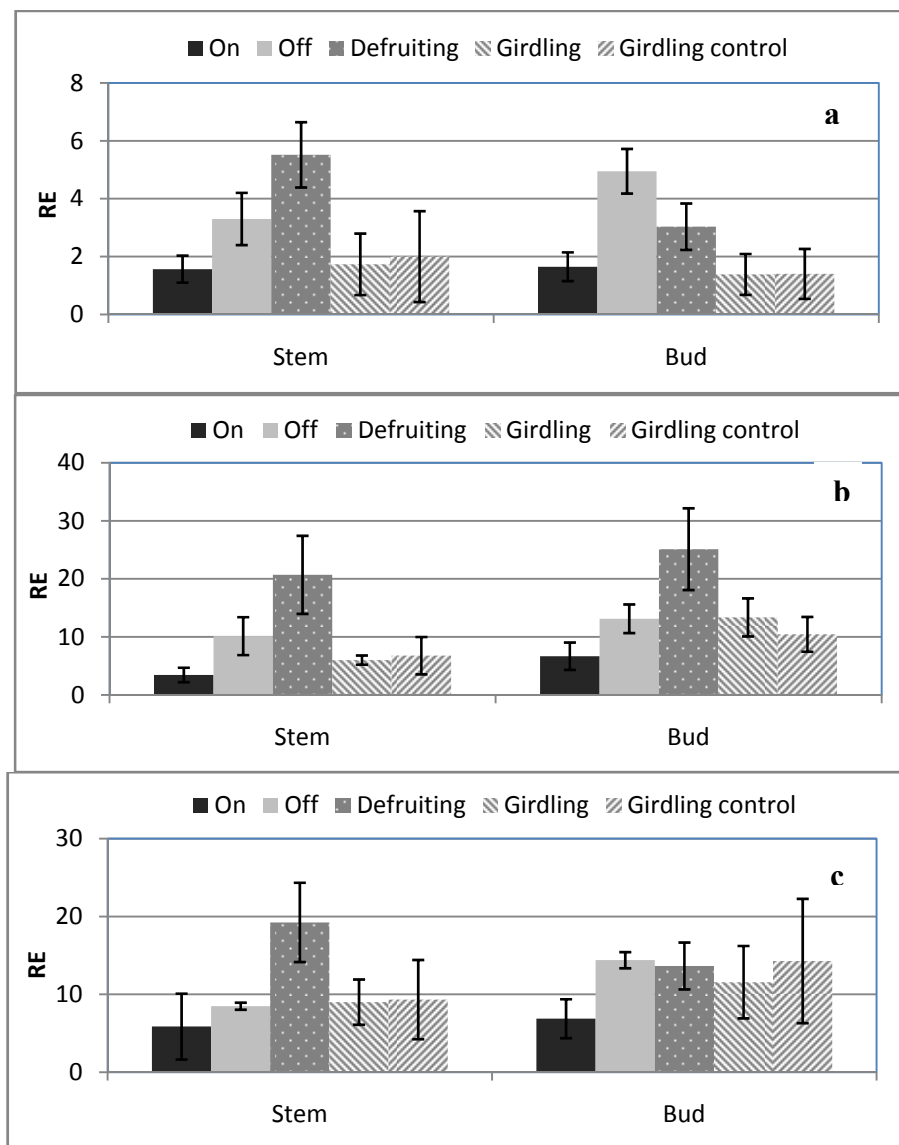


**גרפים 3.2 – דגם הביטוי היחסי של *FT* לאורך השנה.**  
 תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *FT*: **a** – פקעים, **b** – ענפים, **c** – עלים.  
 ציר (X) – החודשים בהם נאספו הדוגמאות. ציר (Y) – הביטוי היחסי *FT/ACTIN* (RE).  
 שנת שפע - On, שנת שפל - Off.

**3.2.2 ביטוי הגן *FT* בתקופת האינדוקציה לפריחה במצבים הפזיולוגיים השונים**

לאורך תקופת האינדוקציה לפריחה לא נמדד הבדל גדול בביטוי *FT* בין הענפים לפקעים (גרפים 3.3a,b,c). בעוד שבנובמבר ביטוי *FT* בפקעים מעצים שהוסרו מהם החנטים נמוך יחסית לפקעים מעצים בשנת שפל, בדצמבר המגמה מתהפכת ולבסוף

בינואר רמתם כמעט זהה וגבוהה מהביטוי בפקעים מעצים בשנת שפע. בענפי עצים שהוסרו מהם החנטים נמדדה רמת *FT* הגבוהה אף מזו של ענפים מעצים בשנת השפל בכל שלושת החודשים.



### גרפים 3.3 – דגם הביטוי היחסי של *FT* בשלושת חודשי האינדוקציה.

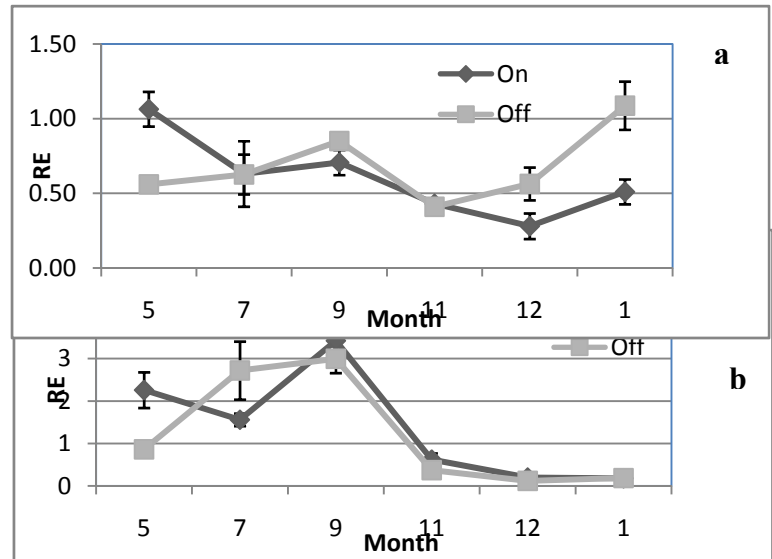
תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *FT*: a - נובמבר, b - דצמבר, c - ינואר. ציר (X) – סוג הרקמה: ענפים (Stem) ופקעים (Bud). ציר (Y) - הביטוי היחסי (*FT/ACTIN*) (RE). שנת שפע - On, שנת שפל - Off, הסרת חנטים - Defruiting, חיגור - Girdling וביקורת חיגור - Girdling control.

### 3.2.3 דגם ביטוי הגן *APETALA1* לאורך השנה

בהשוואה בין שנת שפע לשנת שפל, ביטוי *APETALA1* בפקעים מראה מגמה המתהפכת לאורך השנה. בחודש מאי, הביטוי בפקעים מעצים בשנת שפע גבוה (כמעט פי 2) מזה של פקעים מעצים בשנת שפל (גרף 3.4a). לאחר מכן, בחודשים יולי עד נובמבר הוא כמעט זהה בשני המצבים ואינו משתנה באופן מובהק בין החודשים. בהמשך, בחודשים דצמבר וינואר נראה כבר הבדל ברור כאשר בפקעים מעצים בשנת שפע הביטוי נותר יחסית נמוך בעוד שבפקעים מעצים בשנת שפל הוא מראה עליה חזקה עד לרמה של בערך פי 2 מזו שבפקעים מעצים בשנת שפע. בענפי עצים בשנת שפל, ביטוי הגן *APETALA1* עולה מחודש מאי

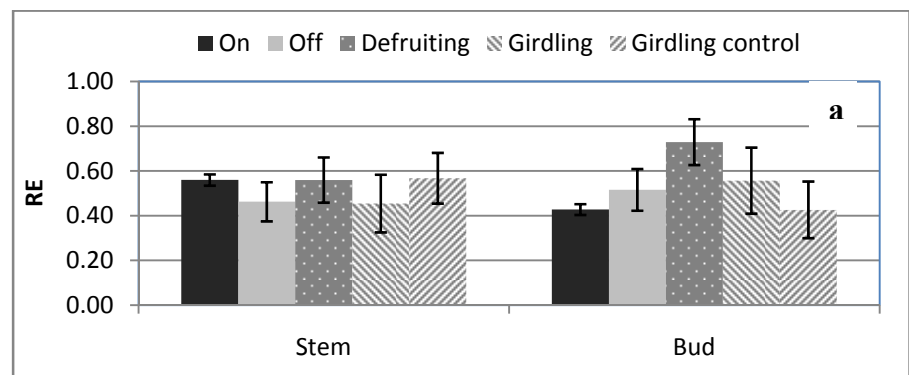
ועד ספטמבר בשיעור של פי 3 לערך (גרף 3.4b). לאחר מכן, בחודשים נובמבר עד ינואר ישנה ירידה חדה בביטוי והתייצבות על רמה נמוכה. בענפי עצים בשנת שפע, ביטוי הגן בחודשים ספטמבר עד ינואר דומה לזה של ענפי עצים בשנת השפל. עם זאת, בחודש מאי רמת הביטוי בענפי שנת שפע גבוהה מזו של ענפי שנת שפל ובחודש יולי היא נמוכה יותר. בעלים מעצים בשנת שפע ושנת שפל, נמדד בכל החודשים ביטוי אפסי של *APETALA1* ולפיכך לא מוצגות תוצאות.

**גרפים 3.4 – דגם הביטוי היחסי של *APETALA1* לאורך השנה.**  
 תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *API*: a – פקעים, b – ענפים.  
 ציר (X) – החודשים בהם נאספו הדוגמאות. ציר (Y) – הביטוי היחסי (*RE*) *API/ACTIN*. שנת שפע - On, שנת שפל - Off.

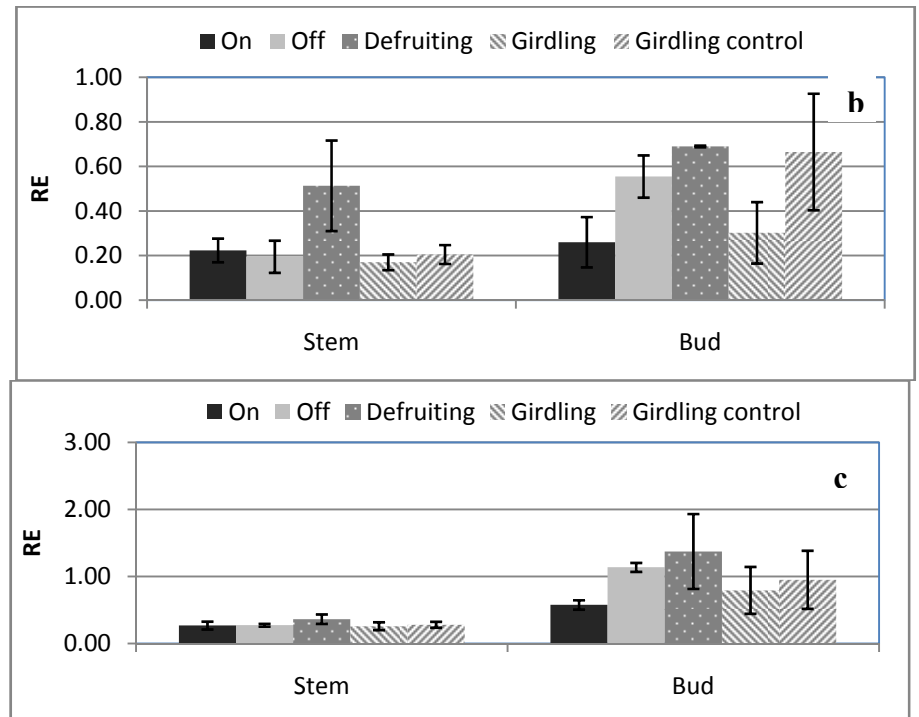


### 3.2.4 ביטוי הגן *APETALA1* בתקופת האינדוקציה לפריחה במצבים הפיזיולוגיים השונים

בחודש נובמבר לא נמצא הבדל מובהק בביטוי *APETALA1* בין הענפים לפקעים (גרף 3.5a). בחודשים דצמבר וינואר, נמדדה רמת ביטוי מעט גבוהה יותר בפקעים (גרפים 3.5b,c). בענפים, לא נמצא הבדל בביטוי בין הטיפולים למעט חודש דצמבר, בו רמת הביטוי בענפי עצים מהם הוסרו הפירות היא גבוהה יותר. בפקעים מעצים מהם הוסרו הפירות נמדדה רמת ביטוי הדומה לזו של פקעים מעצים בשנת שפל (ינואר) ואף גבוהה ממנה (נובמבר, b בר).



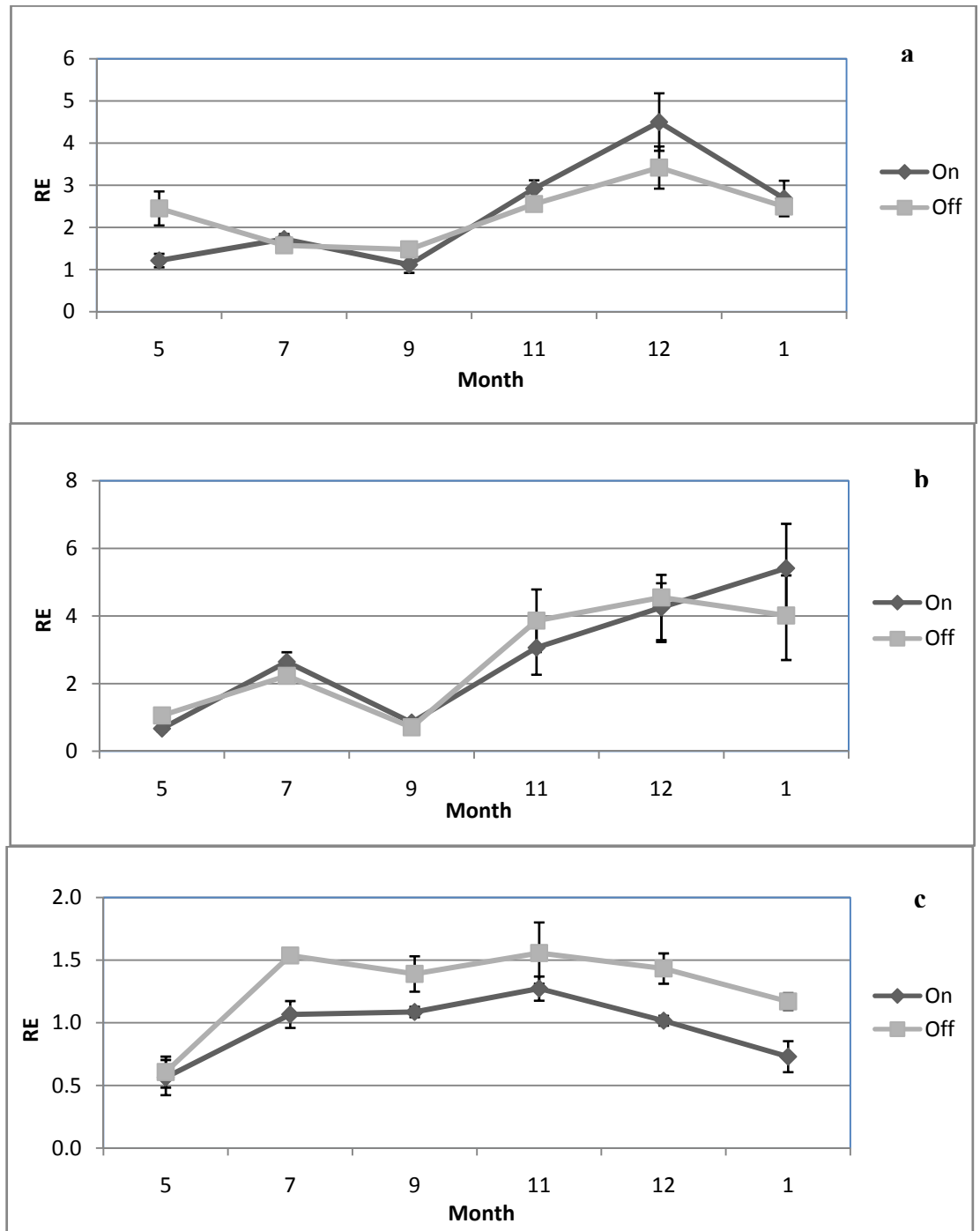




**גרפים 3.5 – דגם הביטוי היחסי של *APETALA1* בשלושת חודשי האינדוקציה.**  
 תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *API*: **a** - נובמבר, **b** - דצמבר, **c** - ינואר. ציר (X) – סוג הרקמה: ענפים (Stem) ופקעים (Bud). ציר (Y) - הביטוי היחסי (*API/ACTIN*) (RE). שנת שפע - On, שנת שפל - Off, הסרת חנטים - Defruiting, חיגור - Girdling וביקורת חיגור - Girdling control.

### 3.2.5 דגם ביטוי הגן *SOC1* לאורך השנה

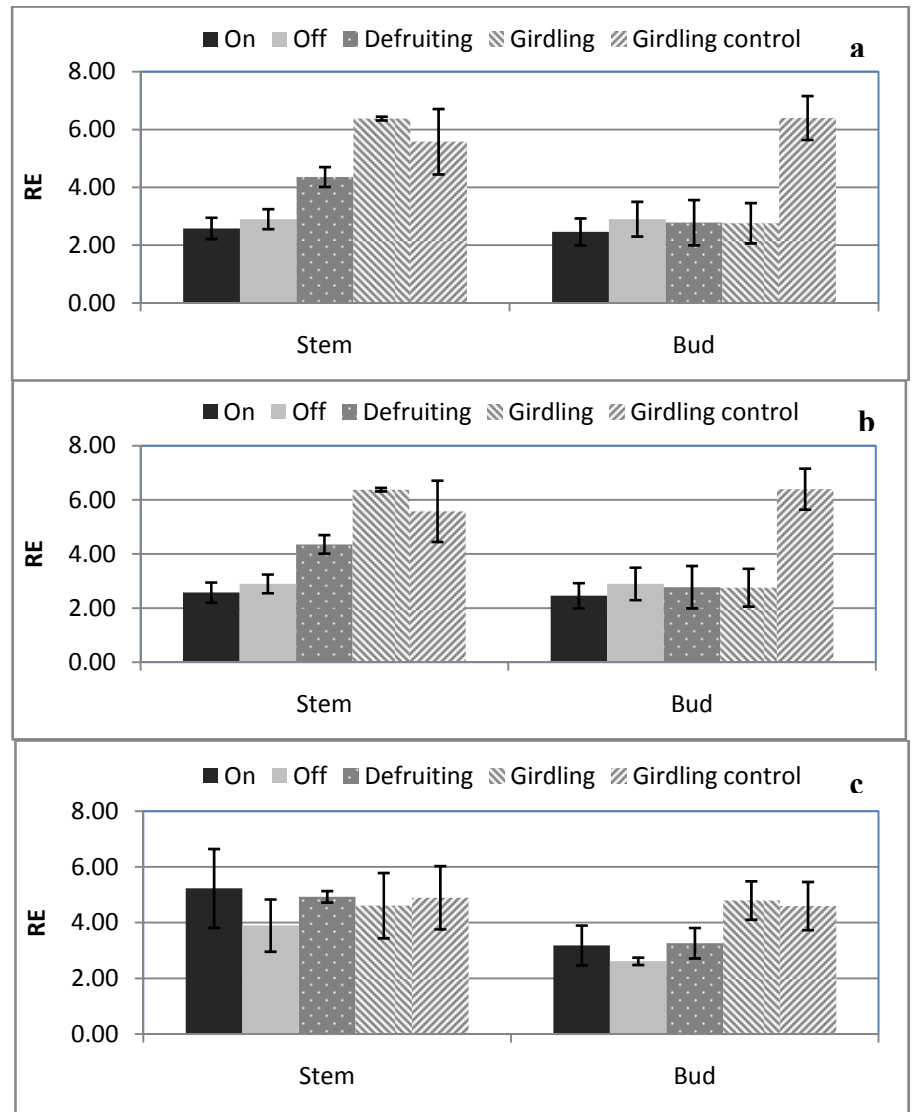
בחודשים מאי עד ספטמבר, ביטוי *SOC1* בפקעים מעצים בשנת שפע כמעט ואינו משתנה (גרף 3.6a). בחודשים נובמבר עד דצמבר הביטוי עולה בערך פי 4, ולאחר מכן בינואר ישנה ירידה. בפקעים מעצים בשנת שפל נמדדה רמת ביטוי דומה לאורך השנה, למעט חודש מאי בו הרמה גבוהה בערך פי 2 מזו של פקעים מעצים בשנת שפע. בענפים, לא נמצא כלל הבדל מובהק בביטוי *SOC1* בין שנת שפע לשנת שפל (גרף 3.6b). בחודשים מאי וספטמבר נמדד הביטוי הנמוך ביותר ובחודש יולי רמה מעט גבוהה יותר. בין החודשים נובמבר עד ינואר רמת הביטוי היא הגבוהה ביותר, בערך פי 4 מאשר בספטמבר. בעלים מעצים בשנת שפע נמדדה עליה מתונה בביטוי *SOC1* בין החודשים מאי עד נובמבר, ולאחר מכן בחודשים דצמבר וינואר, ירידה מתונה (גרף 3.6c). עלים מעצים בשנת שפל מראים דגם ביטוי דומה לזה של עלים מעצים בשנת שפע אך רמת הביטוי בהם גבוהה בערך פי 1.5 לאורך השנה, למעט בחודש מאי, בו אין הבדל מובהק בין המצבים שפע ושפל.



גרפים 3.6 – דגם הביטוי היחסי של *SOC1* לאורך השנה. תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *SOC1*: a – פקעים, b – ענפים, c – עלים. ציר (X) – החודשים בהם נאספו הדוגמאות. ציר (Y) – הביטוי היחסי (*SOC1/ACTIN* (RE). שנת שפע - On, שנת שפל - Off.

### 3.2.6 ביטוי הגן *SOC1* בתקופת האינדוקציה לפריחה במצבים הפזיולוגיים השונים

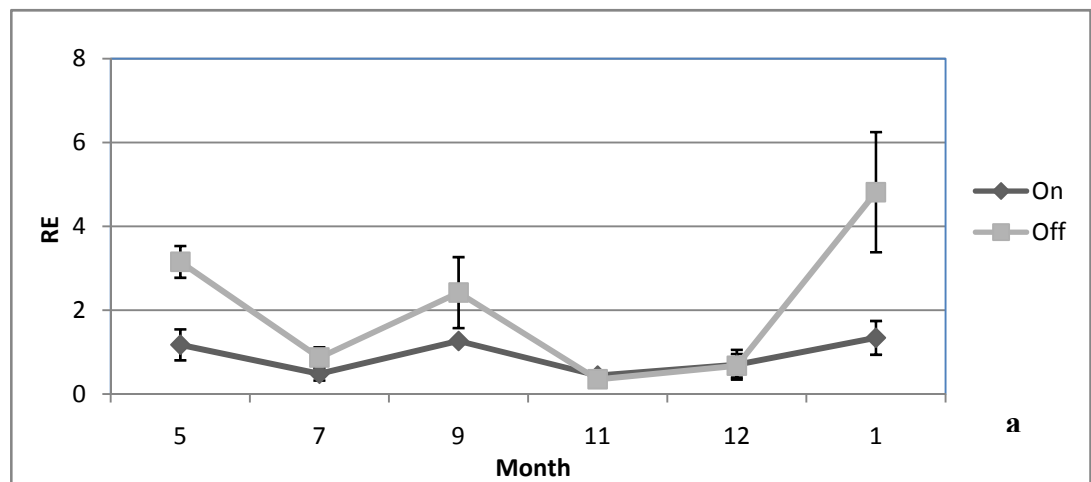
לאורך תקופת האינדוקציה לפריחה, נמדדה רמה דומה של ביטוי *SOC1* בענפים ובפקעים (גרפים 3.7a,b,c). בענפים ובפקעים מעצים שהוסרו מהם הפירות נמדדו רמות ביטוי *SOC1* הדומות לאלו של ענפים ובפקעים מעצים בשנת השפע ושנת שפל לאורך כל תקופת האינדוקציה לפריחה למעט חודש נובמבר, בו ביטוי *SOC1* בענפים מעצים שהוסרו מהם הפירות מעט גבוה יותר.



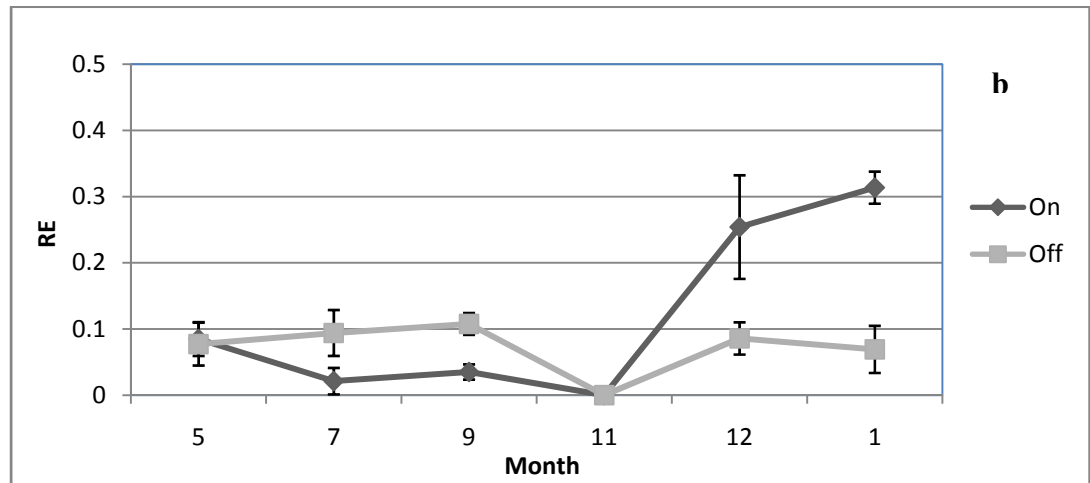
גרפים 3.7 – דגם הביטוי היחסי של *SOCI* בשלושת חודשי האינדוקציה. תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *SOCI*: a – נובמבר, b – דצמבר, c – ינואר. ציר (X) – סוג הרקמה: ענפים (Stem) ופקעים (Bud). ציר (Y) – הביטוי היחסי *SOCI/ACTIN* (RE). שנת שפע - On, שנת שפל - Off, הסרת חנטים - Defruiting, חיגור - Girdling וביקורת חיגור - Girdling control.

### 3.2.7 דגם ביטוי הגן *LEAFY* לאורך השנה

בפקעים מעצים בשנת שפע, ביטוי *LEAFY* כמעט ואינו משתנה לאורך השנה (גרף 3.8a). בין החודשים יולי עד דצמבר לא נראה



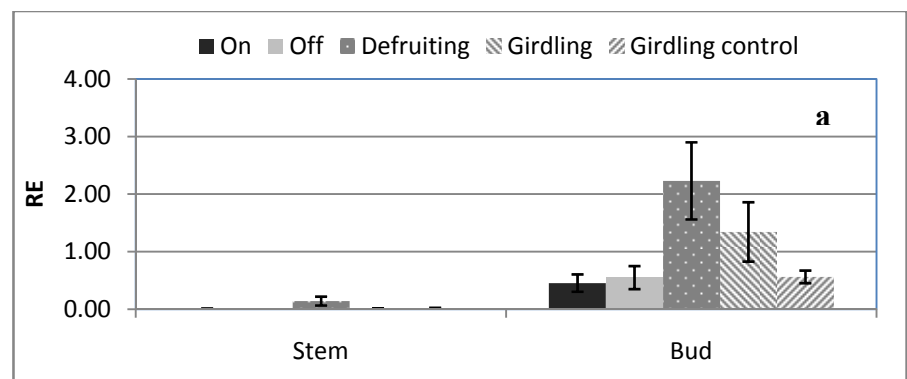
הבדל מובהק בין המצבים שפע ושפל. בחודשים מאי וינואר רמת הביטוי בפקעים מעצים בשנת שפל גבוהה בערך פי 2 מזו שבפקעים מעצים בשנת שפע. בענפים מעצים בשנת שפע, הביטוי כמעט ואינו משתנה בין החודשים מאי עד דצמבר ולאחר מכן בחודשים דצמבר וינואר הוא עולה בצורה חדה (גרף 3.8b). בענפים מעצים בשנת שפל רמת הביטוי של *LEAFY* נשארת פחות או יותר קבועה לאורך השנה כאשר הרמה הנמוכה ביותר נמדדה בחודש נובמבר. עם זאת, כפי שניתן לראות בגרפים המתארים את ביטוי הגן בתקופת האינדוקציה (גרפים 3.9a,b,c), *LEAFY* מתבטא בעיקר בפקעים והביטוי בענפים הוא נמוך ביותר. בעלים מעצים בשנת שפע ושנת שפל, נמדד בכל החודשים ביטוי אפסי של *LEAFY* ולפיכך לא מוצגות תוצאות.

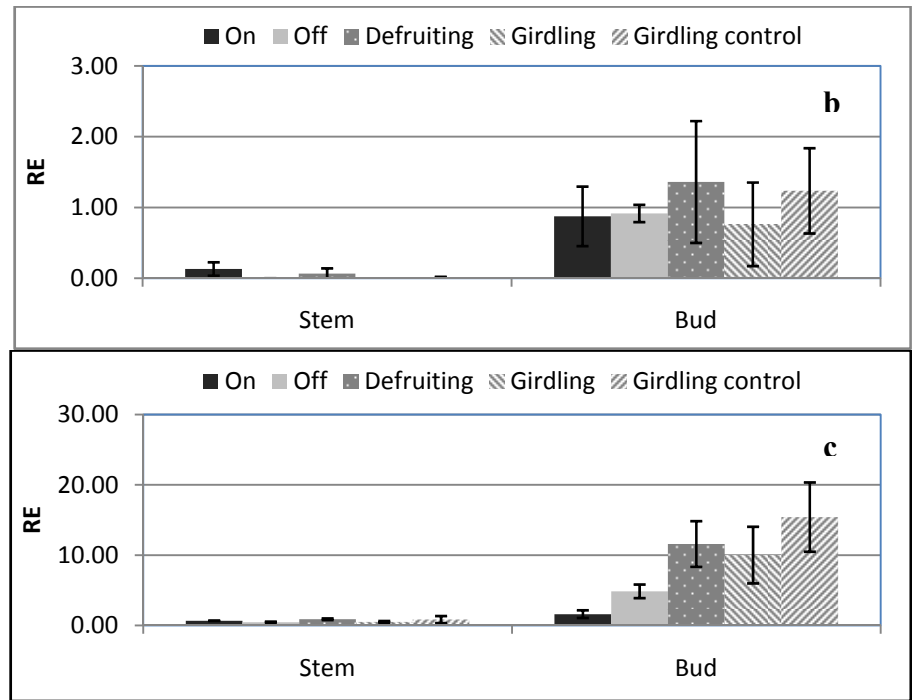


גרפים 3.8 – דגם הביטוי היחסי של *LEAFY* לאורך השנה. תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *LFY*: a – פקעים, b – ענפים. ציר (X) – החודשים בהם נאספו הדוגמאות. ציר (Y) – הביטוי היחסי (*LFY/ACTIN* (RE) בשנת שפע - On, שנת שפל - Off.

### 3.2.8 ביטוי הגן *LEAFY* בתקופת האינדוקציה לפריחה במצבים הפיזיולוגיים השונים

כאמור, *LEAFY* מתבטא בעיקר בפקעים ודגם ביטוי הגן בתקופת האינדוקציה לפריחה מציג זאת בבירור (גרפים 3.9a,b,c). בפקעים מעצים שהוסרו מהם הפירות רמת הביטוי גבוהה יותר מזו שבפקעים מעצים בשנת שפל בנובמבר (בערך פי 3) ובינואר (בערך פי 2). בחודש דצמבר לא נמדד הבדל מובהק בביטוי *LEAFY* בין פקעים מעצים שהוסרו מהם הפירות לבין פקעים מעצים בשנת שפע ופקעים מעצים בשנת שפל.

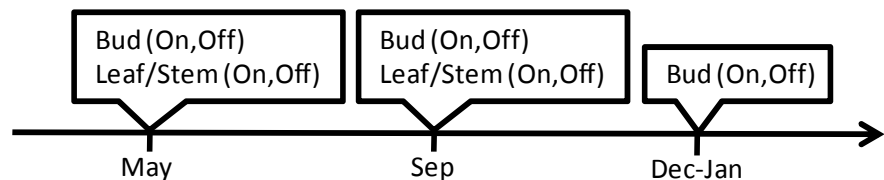




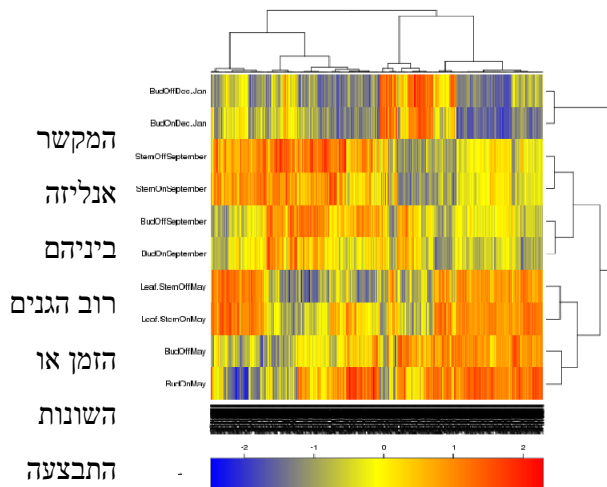
**גרפים 3.9 – דגם הביטוי היחסי של *LEAFY* בשלושת חודשי האינדוקציה.**  
 תוצאות אנליזת qRT-PCR של רמות *LFY*: **a** - נובמבר, **b** - דצמבר, **c** - ינואר.  
 ציר (X) – סוג הרקמה: ענפים (Stem) ופקעים (Bud). ציר (Y) - הביטוי היחסי (*LFY/ACTIN* (RE). שנת שפע - On, שנת שפל - Off, הסרת חנטים - Defruiting, היגור - Girdling, וביקורת היגור - Girdling control.

### 3.3 היברידיזציה *Microarray* המשווה בין שנת שפע לשנת שפל

לצורך ביצוע ההיברידיזציה נאספו פקעים מעצים בשנת שפע ומעצים בשנת שפל בשלוש נקודות זמן לאורך השנה: מאי, ספטמבר ודצמבר-ינואר (דצמבר וינואר - איחוד של מס' איסופים ולפיכך נחשבים כנק' זמן אחת). בנוסף, נאספו ענפים ועלים (ענפים ועלים אוחדו לדוגמה אחת) מעצים בשנת שפע ומעצים בשנת שפל בשתי נקודות זמן לאורך השנה: מאי וספטמבר. לכל רקמה בכל נקודת זמן ומצב (שפע או שפל) נאספו 3 חזרות ביולוגיות (כמתואר בפרק שיטות וחומרים). מכל דוגמה הופק RNA וההיברידיזציה נעשתה באמצעות Citrus Genome Array של חברת Affymetrix המכיל 30,171 פרובים המבוססים על רצפי EST שנמצאו בזנים שונים של הדרים. בסה"כ נעשה שימוש ב-30 צ'יפים שונים המייצגים 10 מצבים כמתואר בתרשים 3.1:



**תרשים 3.1 – הדוגמאות שנאספו לצורך ביצוע ההיברידיזציה.**  
 לכל רקמה בכל נקודת זמן ומצב (שפע או שפל) נאספו 3 חזרות ביולוגיות.



### 3.3.1 אשכולות ביטוי (Clustering analysis)

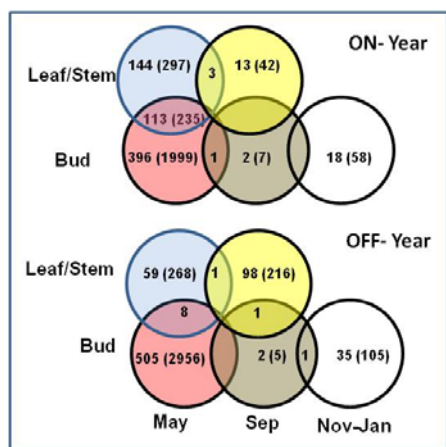
אשכולות (Clusters) הינם משפחות של גנים, שהדבר היחיד ביניהם הינו פרופיל ביטוי דומה ללא התייחסות לרמת הביטוי. שכזו עשויה להצביע על קשר בין גנים, שלכאורה לא קיים קשר ביולוגי/פזיולוגי ו/או ביוכימי. מכיוון שרמת הביטוי של על-ה-Microarray אינה משתנה משמעותית בין נקודות המצב (שפע או שפל), מקובל לבחור 5% מהגנים בלבד, בהם בביטוי בין המצבים הנבחנו היא הגבוהה ביותר. תחילה

אנליזת האשכולות לכל 10 הטיפולים (תרשים 3.2). כפי שניתן לראות, ההבדלים באותן הרקמות ובאותן נקודות הזמן בין שנת שפע לשנת שפל היו הנמוכים ביותר. היה מעניין לגלות, שרמת הדמיון הבאה היתה בין הרקמות השונות באותן נקודות הזמן; כלומר, פקעים מחודש מאי הראו את דמיון רב יותר בביטוי לענפים/עלים מחודש מאי מאשר לפקעים מחודש ספטמבר.

**תרשים 3.2 – תוצאות אנליזת אשכולות היררכית של כל 10 המצבים הנבדקים.** בציר אנכי – המצבים השונים ע"פ החודש, סוג הרקמה והמצב (שפע או שפל). ציר אופקי – הגנים המשתתפים באנליזה ע"פ פרופיל הביטוי. הצבע מסמל את עוצמת סיגנל הביטוי Log<sub>2</sub> Ratio (ע"פ סקאלת הצבעים).

### 3.3.2 אנליזה סטטיסטית של תוצאות ההיברידיזציה

אנליזה סטטיסטית משמעה בחינת התוצאות ע"פ גנים המראים הבדל מובהק בביטוי בין הטיפולים השונים. מכיוון שמטרתה של עבודה זו היא לבחון את השפעת ביטוי הגנים על הסירוגיות ולא על התפתחות העלים/ענפים או הפקעים, בחרנו להתמקד באותם הגנים המראים הבדל מובהק בין שנת שפע לשנת שפל בלבד, בעוד שהבדל בביטוי בין הרקמות או המועדים נלקח בחשבון בהקשר זה בלבד. מספר הגנים בהם ביטוי הגבוה יותר באופן מובהק בכל אחד מהמצבים שפע או שפל מוצג בתרשים 3.3.



**תרשים מס' 3.3: דיאגרמת Venn המראות חפיפה בין גנים בהשוואות בין אברים ובזמנים שונים.** המספרים מציינים את מספר הגנים המראים הגברה של לפחות פי 2 בביטוי בשנת שפע (למעלה) ובשנת שפל (למטה). בסוגריים, כלל הגנים המראים עליה

כפי שניתן לראות בתרשים, הפקעים של חודש מאי מציגים את המספר הגבוה ביותר של הגנים בהם ישנו הבדל מובהק בין שנת שפע לשנת שפל. בפקעי מאי ישנם 1971 גנים בעלי ביטוי גבוה יותר בשנת שפע (מתוכם 385 בהם הביטוי גבוה לפחות פי 2) ו-2937 גנים בעלי ביטוי גבוה יותר בשנת שפל (מתוכם 497 בהם הביטוי גבוה לפחות פי 2). עלים/ענפים מחודש מאי מראים גם הם הבדל בין שפע לשפל (אם כי קטן מהפקעים) עם 281 גנים בעלי ביטוי גבוה יותר בשנת שפע (מתוכם 135 בהם הביטוי גבוה לפחות פי 2) ו-264 גנים בעלי ביטוי גבוה יותר בשנת שפל (מתוכם 50 בהם הביטוי גבוה לפחות פי 2). את ההבדל הקטן ביותר בין שנת שפע לשנת שפל ניתן למצוא בפקעים של חודש ספטמבר, בהם ישנו גן אחד בו הביטוי גבוה באופן מובהק (פי 2) בשנת שפע לעומת 2 גנים בהם הביטוי גבוה באופן מובהק בשנת שפל (מתוכם 1 עם ביטוי גבוה לפחות פי 2). באף אחד מהמצבים (שפע או שפל) לא נמצא גן המתבטא ברמה גבוהה יותר (ובאופן מובהק) בכל הרקמות ובכל המועדים. יותר מכך, באף אחד מהמצבים לא נמצא גן המתבטא בפקעים בלבד בכל שלושת המועדים ברמה גבוהה יותר מבמצב השני.

### 3.3.3 קביעת אנוטציות GO של גנים המראים הבדל מובהק בביטוי בין שנת שפע לשנת שפל בחודש מאי.

לאחר שנבחן מספר הגנים המראים הבדל מובהק בביטוי בין שנת שפע לשנת שפל, עלה הצורך להבין אילו תהליכים ביולוגיים מושפעים כתוצאה מהביטוי שלהם. לצורך כך נעשה שימוש בממשק AgriGo, הממין את אותם הגנים על פי אנוטציות GO הקובעות את הערך הביולוגי שלהם (<http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO/index.php>). כתוצאה מהכמות העצומה של הגנים שנמצאו כבעלי שונות בביטוי, הוחלט להתמקד בפקעים ובעלים/ענפים מחודש מאי בלבד (נקודת הזמן בה השונות בביטוי בין שנת שפע לשנת שפל היא הגדולה ביותר) ורק בגנים המראים ביטוי גבוה לפחות פי 2 באחד המצבים, שפע או שפל. מטעמים ברורים, לא ניתן להציג את התוצאות באופן מפורט, אולם, בתהליכים ביולוגיים רבים המתרחשים בפקעים בחודש מאי, ניכר הבדל משמעותי בין מספר הגנים בהם הביטוי גבוה יותר בשנת השפע לעומת מספר הגנים בהם הביטוי גבוה יותר בשנת שפל. כאשר מספר זה נוטה משמעותית לטובת שנת השפע, התהליכים הביולוגיים קשורים בעיקר במטבוליזם של סוכרים (סוכרוז, טרהאלוז, דיסוכרים, אוליגוסוכרים, גליקוזידים, גלוקן), בתגובה לעקה אוקסידטיבית ובהומיאוסטאזיס של אוקסין. לעומת זאת, כאשר מספר הגנים נוטה משמעותית לטובת שנת השפל, התהליכים הביולוגיים קשורים בעיקר במטבוליזם משני (פנילפרופנואידים, פלבנוואידים, ליגנין, קומארין) בנוסף לתהליכי פוטוסינתזה, פוטוטרנסדוקציה, חישת האור ופיגמנטציה. בשונה מהמצב בפקעים, ברובם המוחלט של התהליכים הביולוגיים המתרחשים בעלים/ענפים בחודש מאי, מספר הגנים בהם הביטוי גבוה יותר בשנת השפע גבוה משמעותית ממספר הגנים בהם הביטוי גבוה יותר בשנת שפל. תהליכים ביולוגיים אלו קשורים בעיקר במטאבוליזם ראשוני ומשני, תהליכי התפתחות ורבייה, מטאבוליזם של חומצות שומן, ליפידים, קטונים, תרכובות חנקן, חומצות אורגניות וחלבונים, תגובה לעקות וגירויים מסוגים שונים, ביטוי גנים ושעתוק. בניגוד לכך, בעלים/ענפים מחודש מאי לא נמצא אף תהליך ביולוגי בו מספר הגנים נוטה משמעותית לטובת שנת השפל.

### 3.3.5 השתנות הביטוי בגנים המקודדים לאנזימים המשתתפים במטאבוליזם של סוכרים

מכיוון שאין באפשרותנו להיכנס בעבודה זו לעומקם של כל התהליכים המשתנים בפקעי מאי בין שנת שפע לשנת שפל, החלטנו להתמקד בתהליך ביולוגי משתנה אחד, בכל אחד מהמצבים. כאמור, פקעי מאי בשנת שפע מראים רמת ביטוי גבוהה מאוד של גנים הקשורים במטבוליזם של סוכרים יחסית לאותם הפקעים בשנת שפל. לפיכך, החלטנו לבצע בחינה ממוקדת יותר של האנזימים המשתתפים בתהליך, תוך אפיון רמת הביטוי שלהם בפקעי מאי בשנת שפע ובשנת שפל (תרשים 3.4).

כבר במבט ראשון ניתן להבחין שבמרבית האנזימים המופיעים בתרשים, רמת הביטוי גבוהה יותר בפקעי שנת שפע. בין האנזימים שרמת הביטוי שלהם גבוהה פי 2 בפקעי שנת שפע ניתן למצוא את: Trehalose phosphate synthase ו-Trehalose phosphate synthase של סוכרוז, phosphate phosphatase האחראים על ביוסינתזה של טרהלוז, Sucrose synthase ו-Fructokinase הקשורים במטאבוליזם של סוכרוז, PEP carboxylase ו-Pyruvate dehydrogenase המשתתפים במטבוליזם של Pyruvate ו- שאחראי על הפיכת Oxaloacetate ו-Acetyl-CoA לציטראט, בנוסף לגנים אחרים הקשורים בתהליך בהם רמת הביטוי גבוהה בפקעי שנת שפע בפחות מפי 2. בפקעי שנת שפל לעומת זאת, ניתן למצוא מעט גנים הקשורים בתהליך ושרמת הביטוי שלהם גבוהה יותר מזה שבפקעי שנת שפל. שני גנים המקודדים ל Aldolase ו-Malate dehydrogenase מראים ביטוי גבוה פי 2 בפקעי שנת שפל, אך עם זאת שני גנים אחרים המקודדים לאותם האנזימים מראים ביטוי גבוה יותר בפקעי שנת שפע (בפחות מפי 2). שלושה גנים אחרים, המקודדים ל- Triose-P isomerase, Glyceraldehyde-3P dehydrogenase ו-Malic enzyme מראים ביטוי גבוה יותר בפקעי שנת שפל, אך בפחות מפי 2 מזה שבפקעי שנת שפע.

**תרשים 3.4 – גנים המקודדים לאנזימים המשתתפים במטאבוליזם של סוכרים בהם רמת הביטוי משתנה בין שנת שפע לשנת שפל.** מלבן שחור – ביטוי גבוה יותר בפקעים מעצים משנת שפע. מלבן אפור – ביטוי גבוה יותר בפקעים מעצים בשנת שפל. שחור ואפור – ביטוי גבוה יותר בפקעים מעצים בשנת שפע ושנת שפל, בשני גנים שונים. המקודדים לכאורה לאותו האנזים. כוכבית – ביטוי גבוה לפחות פי 2.  
 TPS-Trehalose phosphate synthase  
 TPP-Trehalose ,synthase  
 SPS- ,phosphate phosphatase  
 ,Sucrose phosphate synthase  
 FK- ,HK-Hexokinase  
 Susy-Sucrose ,Fructokinase  
 PFK- ,synthase  
 FBPAse- ,Phosphofructokinase

Citrate synthase

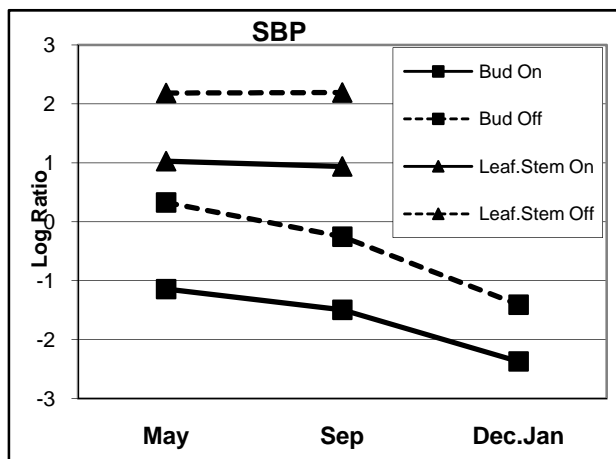
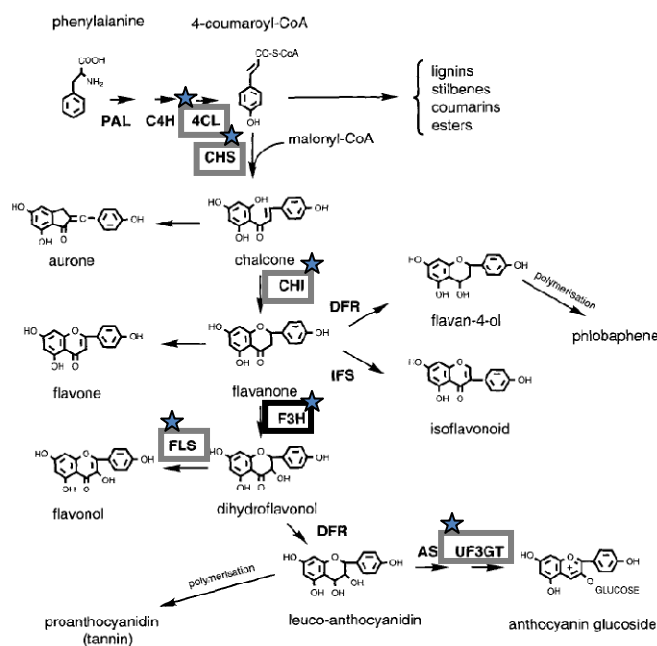
### 3.3.6 השתנות הביטוי בגנים המקודדים לאנזימים המשתתפים במטאבוליזם של פלבונואידים

תהליך ביולוגי נוסף, בו ניכר הבדל משמעותי בין פקעי מאי משנת שפע ושנת שפל הוא מטאבוליזם של פלבונואידים. לפיכך, גם כאן ביצענו בחינה ממוקדת של האנזימים המשתתפים בתהליך, תוך אפיון רמת הביטוי שלהם בפקעי מאי בשנת שפע ובשנת שפל



(תרשים 3.5). כפי שניתן לראות בתרשים, גנים רבים המקודדים לאנזימים הקשורים בתהליך, מראים ביטוי גבוה יותר בפקעי שנת שפל. 5 גנים המקודדים ל: Chalcone synthase, Chalcone flavanone isomerase, 4 coumaroyl-CoA ligase, Flavonol synthase ו-UDP glucose flavonoid 3-O-glucosyltransferase בפקעי שנת שפל מראים ביטוי גבוה יותר מפי 2 מאותם הגנים בפקעי שנת שפע. לעומת זאת, בפקעי שנת שפע נמצא גן אחד בלבד, Flavanone 3-hydroxylase, המראה ביטוי גבוה (יותר מפי 2) מזה שבפקעי שנת שפל.

**תרשים 3.5 – גנים המקודדים לאנזימים המשתתפים במטאבוליזם של פלבנואידים בהם רמת הביטוי משתנה בין שנת שפע לשנת שפל.** שחור – ביטוי גבוה יותר בשנת שפע. אפור – ביטוי גבוה יותר בשנת שפל. כוכבית – ביטוי גבוה לפחות פי 2. PAL-Phenylalanine ammonia lyase, 4CL-4 coumaroyl-CoA ligase, CH4-Cinnamate 4-hydroxylase, CHI-Chalcone synthase, CoA ligase, DFR-Dihydroflavonol reductase, F3H-Flavanone isomerase, IFS-Isoflavone synthase, reductase, FLS-Flavanone 3-hydroxylase, AS-Anthocyanidin synthase, UF3GT-UDP glucose flavonoid 3-O-glucosyltransferase.



**גרף מס' 3.10.** שינויים בביטוי הגן SBP בפקעים ובענפים+עלים של עצים בשנת שפע ושפל בחודשים המצוינים. כל נקודה הנה ממוצע של 3 חזרות ביולוגיות, כאשר בכל נקודות הזמן ההבדל בין שנת שפע לשפל באותה רקמה הנו סיגניפיקנטי ברמה של  $p \leq 0.05$ .

### 3.3.7 ביטוי הגן מבקר הפריחה, *SPL3-like*

הגן היחיד על ה-microarray שהראה ביטוי שונה בפקעים ובענפים + עלים בכל המועדים שנבחנו היה הומולוגי ל-*Squamosa* (*SPL*) *Protein-Like* מארבידופסס (גרף מס' 3.10). *SPL* מהווים משפחה של 16 גנים שכולם מכילים אתר זהה, *SBP*, הנקשר לדנ"א. הגן מהדרים מראה הומולוגיה גבוהה לגן *SPL3*, המבוקר ע"י. אכן, גם בגן מהדרים מופיע אתר קישור ל-*miR156* בקצה ה-3-UTR. ביטוי ביתר של הגן בארבידופסס מעודד פריחה מוקדמת, בעוד שביטוי ביתר של הגן ל-*miR156* מעכב פריחה.

## דיון

אחד הגורמים החשובים ביותר המבקרים את המעבר ממריסטמה וגטייבית למריסטמה רפרודוקטיבית בצמחים הוא הגן *FT*. בעבודה זו נמצא שבהדרים, הגן *FT* מתבטא בעלים, בענפים ובפקעים ושכלל רקמה שיא הביטוי מתרחש במועד אחר: בעלים בחודש מאי, בענפים בחודש ספטמבר ובפקעים בחודש ינואר. תגודתיות זו עשויה להצביע על תפקיד שונה של *FT* בכל אחת מהרקמות. בארבידופסיס, החלבון *FT* מסונטז בעלים בתגובה ליום ארוך ונע למריסטמה שם הוא מפעיל גנים נוספים המעודדים פריחה. עדויות ליכולת התנועה של החלבון *FT* נמצאו גם במיני צמחים נוספים כגון אורז ועגבניה. יתכן ובהדרים, mRNA של *FT* נוצר בעלים בחודש מאי, נע באיטיות לענפים בחודשים יולי - ספטמבר ומשם לפקעים עם הכניסה לתקופת האינדוקציה לפריחה. עם זאת, אפשרות זו פחות סבירה מכיוון שלא ניתן לראות הבדל מובהק בביטוי *FT* בין שנת שפע לשנת שפל בכל שלושת הרקמות אלא בפקעים בלבד. בפקעים, נמצאה קורלציה חיובית בין רמת הביטוי של *FT* בחודשי האינדוקציה לפריחה לבין עוצמת הפריחה בשנה העוקבת. כמו כן, היה מפתיע לגלות שכבר בחודש ספטמבר, כחודשיים לפני תקופת האינדוקציה לפריחה, ביטוי *FT* בפקעי עצים בשנת שפל גבוה בערך פי 3 מהביטוי בפקעי עצים בשנת שפע. טיפול הסרת הפירות הגביר את ביטוי *FT* בענפים ובפקעים בחודשי האינדוקציה לפריחה, מה שכלל הנראה הביא לפריחה רבה בשנה העוקבת. במגדרינה סצומה, עצים בוגרים הראו עליה בביטוי של *FT* בענפים בתגובה לטמפרטורות נמוכות. בניסוי זה כל העצים היו תחת אותם תנאי סביבה ולפיכך, הבדל בביטוי *FT* בין פקעים מעצים בשנת שפע לפקעים מעצים בשנת שפל עשוי להיגרם כתוצאה מיכולת קליטה שונה של הסיגנאלים הסביבתיים (טמפ', אורך יום). בארבידופסיס, גירוי הקור עזמו אינו נע בצמח ולפיכך עליו להיקלט במריסטמה הפעילה על מנת לעודד פריחה. בתגובה לקיוט ישנו עיכוב בביטוי הגן *FLC* במריסטמה וכתוצאה מכך ישנה עליה בביטוי הגנים *FT* ו-*SOCI*. בהדרים, המריסטמה הפעילה נמצאת בפקע ולפיכך הבדל בביטוי *FT* בפקעים עשוי להעיד על כך שפקעי עצים בשנת שפל קולטים את גירוי הקיוט טוב יותר מפקעי עצים בשנת שפע. עם זאת, ביטוי *SOCI* אינו מראה מגמה דומה ומושפע ככל הנראה מגורמים אחרים. בדומה, יתכן ובהדרים סיגנאל אורך היום נקלט בפקעים ולא בעלים וזאת מכיוון שרמתו של *FT* בעלים נמוכה יחסית וכמעט ואינה משתנה עם השינויים באורך היום.

מבין שלושת החודשים הנבדקים, נמצא שבחודש מאי ישנו ההבדל הגדול ביותר בביטוי גנים בין שנת שפע לשנת שפל. כמו כן, בחודש מאי ההבדל בביטוי גנים בין שנת שפע לשנת שפל בפקעים גדול בהרבה מזה שבעלים/ענפים. תוצאות אלו מפתיעות בהתחשב בעובדה שבהדרים תקופת האינדוקציה לפריחה מתרחשת חודשים רבים מאוחר יותר (נובמבר - ינואר) וההנחה היא שרק במהלכה נקבע סופית גורלו של הפקע. עם זאת, בחודש מאי קיים כבר הבדל ברור לעין בין פקע מעץ בשנת שפע לפקע מעץ בשנת שפל כאשר הראשון נראה ירוק ובשרני בעוד שהשני נותר שטוח וקשיח למשך זמן רב. בהחלט יתכן שההבדלים הפיזיולוגיים המוקדמים הללו נובעים מאותו הבדל משמעותי בביטוי גנים בין פקעים מעצים בשנת שפע לפקעים מעצים בשנת שפל שהתקבל באנליזה. בפקעים בחודש ספטמבר כמעט ולא קיים הבדל בביטוי בין שנת שפע לשנת שפל, דבר שעשוי להעיד על כך שבתקופה זו מתרחשים בפקע מעט מאוד תהליכים מטאבולים הקשורים לפריחה. כמו כן, בחודש ספטמבר ההבדל בביטוי בין שנת שפע

לשנת שפל בעלים גדול מזה שבפקעים ולפיכך ייתכן ובשלב זה מתרחשים בעלים תהליכים מטאבוליים הקשורים באופן עקיף לפריחה ועתידים להשפיע על הפקעים בשלב מאוחר יותר. בחודשים דצמבר-ינואר ישנו הבדל בביטוי בין פקעי עצים בשנת שפע לפקעי עצים בשנת שפל וניתן להניח שההבדל זה קשור בחלקו בתהליכים מטאבוליים המשפיעים ישירות על האינדוקציה לפריחה המתרחשת באותו הזמן.

בפקעי עצים בשנת שפע, מוגברים בחודש מאי מספר תהליכים ביולוגיים הקשורים במטאבוליזם ראשוני. באופן כללי, מטאבוליזם ראשוני הכרחי לקיום הצמח וקשור בתהליכים כגון: גדילה, התפתחות, רבייה, הפקת אנרגיה ונשימה. עץ בשנת שפע נושא כמות גדולה יחסית של פירות המהווים מבלע חזק ביותר ודורשים השקעה עצומה של אנרגיה. אנרגיה זו מתקבלת תוך האצת תהליכי נשימה ופירוק סוכרים שהצטברו בעץ במהלך שנת השפל. בחודש מאי, גנים רבים המקודדים לאנזימים המשתתפים בתהליכי נשימה כגון גליקוליזה ומעגל קרבס מראים ביטוי חזק יותר בפקעי עצים בשנת שפע מאשר בפקעי עצים בשנת שפל. יתכן וזו עדות לכך שבחודש מאי, התפתחות הפירות על עץ בשנת שפע מביאה להאצת תהליכי נשימה גם בפקע עצמו, מה שגורם לעיכוב התפתחותי הבא לידי ביטוי בגודלו המצומצם יחסית לזה של פקע מעץ בשנת שפל בחודש זה. ישנם מספר מחקרים המצביעים על קשר בין עקה חימצונית לעליה בגליקוליזה. ואכן, בפקעי עצים בשנת שפע בחודש מאי נמצאו 5 גנים הקשורים בתגובה לעקה חימצונית בהם הביטוי גבוה לפחות פי 2 מאשר בפקעי עצים בשנת שפל בחודש זה, כלומר, יתכן ופקע מעץ בשנת שפע בחודש מאי מצוי בעקה חימצונית ככל הנראה עקב ההשקעה האדירה של העץ בפירות המתפתחים, מה שמביא להגברת תהליכי נשימה. בנוסף לכך, תהליכים ביולוגיים רבים הקשורים במטבוליזם של סוכרים נמצאו כמוגברים באופן מובהק בפקעי עצים בשנת שפע בחודש מאי, ביניהם מטאבוליזם של סוכרוז. סוכרוז הוא הצורה העיקרית שבה סוכרים נעים בצמח. האנזים *Sucrose synthase* (*Susy*) מזרז פירוק (הפיך) של סוכרוז לגלוקוז ופרוקטוז ופעילותו נמצאת בקורלציה חיובית לתנועה של סוכרים, סינתזת דופן התא ועוצמת המבלע. בחודש מאי, רמות הביטוי של 3 גנים המקודדים ל-*Susy* גבוהות באופן מובהק בפקעי עצים בשנת שפע מאשר בפקעי עצים בשנת שפל (2 מתוכם מראים ביטוי גבוה בערך פי 4). פעילות מוגברת של *Susy* בחודש זה בפקעי עצים בשנת שפע עשויה להעיד על פירוק מוגבר של סוכרוז לצורך תהליכי נשימה. בנוסף למטרות נשימה והפקת אנרגיה, *Susy* קשור גם בביוסינטזה של עמילן. עם זאת בחודש מאי לא נמצא אף גן נוסף המקודד לאנזים הקשור ישירות בביוסינטזה של עמילן בו הביטוי בפקעי שנת שפע גבוה באופן מובהק מזה שבפקעי שנת שפל. סיבה אפשרית לכך היא שייצור עמילן למטרות אגירה מתרחש בעיקר במצבים בהם ישנם סוכרים בעודף ולא כאשר מרבית האנרגיה בעץ מנוצלת לצורך התפתחות הפירות.

בגנים רבים, הקשורים בתהליכים ביולוגיים שונים, רמת הביטוי בעלים/ענפים מעצים בשנת שפע גבוהה בחודש מאי באופן מובהק מזו שבעלים/ענפים מעצים בשנת שפל. תהליכים ביולוגיים אלו קשורים בעיקר במטאבוליזם ראשוני אך גם בתהליכי התפתחות ורבייה, מטאבוליזם של חומצות שומן, ליפידים, קטונים, תרכובות חנקן, חומצות אורגניות וחלבונים, מטאבוליזם משני, תגובה לעקות וגירויים מסוגים שונים, ביטוי גנים ושעתוק. במהלך התפתחותו, מהווה הפרי מבלע חזק של מוטמעים וחומרי צמיחה. המקור העיקרי לאלו הוא העלים, והסרתם בתקופה שבין החנטה לדילול יוני תביא להפחתה באספקת המוטמעים לפירות ובסופו של דבר לנשירתם. התגברות תהליכים מטאבוליים שונים בעלים/ענפים מעצים בשנת שפע מהווה עדות לתרומתם הרבה של איברים אלו להתפתחות הפרי במגוון רחב של דרכים, בעוד שבפעמים בשנת שפל מרבית הצימוח הוא וגטיבי וליפידים ענפים ועלים רבים יותר נושאים בנטל. בפקעי עצים בשנת שפל בחודש מאי, מוגברים באופן מובהק מספר תהליכים ביולוגיים הקשורים במטאבוליזם משני (פנילפרופנואידים, פלבנואידים, ליגנין, אלקלואידים). מטאבוליזם משני הינו קשת רחבה של תהליכים שאינם הכרחיים ישירות לקיום ולפיכך בא לידי ביטוי במצבים בהם הדבר מתאפשר מבחינה אנרגטית. עצים בשנת שפל נושאים כמות

מעטה של פירות ונדרשים להשקעה נמוכה יחסית של אנרגיה. כתוצאה מכך, מתאפשרת בהם הפנייה של חלק מהמשאבים להגברת תהליכים אלו. אחד התהליכים הללו הינו מטאבוליזם של פלבנוואידים. פלבנוואידים הם משפחה של מולקולות צבע ארומטיות, שתפקידן העיקרי הוא משיכת מאבקים והגנה מפני קרינת UV. בארבידופסיס, מתן סוכרוז הביא לעליה בביטוי של גנים המקודדים לאנזימים הקשורים בביוסינתזה של פלבנוואידים ובסופו של דבר גם לעליה בתכולת הפלבנוואידים עצמם (Solfanelli et al. 2005). מוצע שביוסינתזה של פוליפנולים, כולל פלבנוואידים, משמש כמוצא לעודפי אנרגיה (במקום לייצר עוד סוכרים, שאולי בריכוזים גבוהים כבר יגרמו לנזק לתא), אם כי הקשר הוא ברמת תיאוריה בשלב זה. לפיכך, יתכן ומטאבוליזם מוגבר של פלבנוואידים בפקעי עצים בשנת שפל בחודש מאי מושרה ע"י רמות הסוכרים הגבוהות בעץ, בעוד שבעצים בשנת שפע מרבית הסוכרים מופנים ישירות לפרי.

### **סיכום עם שאלות מנחות**

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.

<p><b>1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</b> מטרת המחקר הייתה "זיהוי גנים המשתנים ברמתם בענפים ובפקעים בשנת שפל לעומת שנת שפע לפני ובזמן האינדוקציה לפריחה, מתוך כוונה לאתר תהליכים מטבוליים, רגולאטורים ואחרים הקשורים לתופעת הסירוגיות, ואולי מבקרים אותה". האמצעי להשגת המטרה הייתה אנליזה גנומית. תוך כדי המחקר, הוספנו מטרה נוספת, מעקב אחרי גנים לפריחה מתוך כוונה לאתר נקודת זמן אופטימאלית לביצוע האנליזה הגנומית. כל המטרות הושגו, ואף זיהינו גן מעניין הקשור לבקרת פריחה ועשוי לשחק תפקיד חשוב בסירוגיות. זיהוי גן זה היווה בסיס להגשת תוכנית המשך.</p>
<p><b>2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.</b> 1. ביצוע אנליזות real time PCR לגנים לפריחה. 2. אנליזה גנומית 3. ביואנפורמטיקה 4. אימותים (כרגע בביצוע).</p>
<p><b>3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.</b> רוב השינויים בביטוי גנים מתרחש במהלך חודש מאי בפקעים. זוהה הגן SPL3-like המשתנה ברמת ביטוי בין עצי שנת שפע לשפל בכל הרקמות והזמנים שנבחנו. מתבקש איפיון נוסף של גן זה וקביעה האם הוא גן המשחק תפקיד מכריע בבקרת הסירוגיות.</p>
<p><b>4. הבעיות שונתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן.</b> כאמור, הוגשה תוכנית המשך על בסיס ממצאי התוכנית הנוכחית, והיא אושרה למימון. מעבר לכך, אנו כרגע מבצעים אימותים של שני תהליכים המשתנים בין שנת שפע לשפל: מטבוליזם של טרהאלוז ושל פלבנוואידים בגישה של nanostrings וביצוע אנליזות מטבולומיות.</p>
<p><b>5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים - כמקובל בביוגורפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך. הוגשה תיזת עבודת גמר (לירון שלום) במאי 2010. הסטודנט הרצה על עבודתו במסגרת המחלקה בנובמבר 2009.</b></p>

6. פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמך אחת מהאופציות)

- רק בספריות
- ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
- חסוי – לא לפרסום

מספר

המחקר

203-

0705-

08