

לימוד מנגנוני בקרת הסרוגיות באבוקדו 'האס'

מוגש לקרן המדע הראשי במשרד החקלאות

ע"י

ורד יריחמוביץ : המחלקה למטעים מינהל המחקר החקלאי בית דגן
טלי צבירן : המחלקה למטעים מינהל המחקר החקלאי בית דגן
משה גורן : המחלקה למטעים מינהל המחקר החקלאי בית דגן

Vered Irihimovitch. : Horticulture Department. The Institute of Plant Sciences –ARO
Bet Dagan 50250 E-mail: veredi@agri.gov.il

Tali Zviran. Horticulture Department. The Institute of Plant Sciences –ARO
Bet Dagan 50250 E-mail: talyzw@gmail.com

Moshe Goren: Horticulture Department. The Institute of Plant Sciences –ARO
Bet Dagan 50250 E-mail: goren@agri.gov.il

הערות:

1- בהתאם לדרישת המדען, לפיה דו"ח מסכם סופי מוגבל ל-18 ע"מ, מוצגות להלן מרבית התוצאות שהתקבלו במהלך הפעלת תוכנית המחקר, אולם חלקן מוצג רק באופן מילולי (ללא איורים נלווים). כמו כן בדו"ח מוצגת רשימת ספרות מקוצרת בלבד.

2- רוב הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים שנערכו במסגרת עבודת המסטר של התלמידה דפנה זיו וכעת נמשכים במסגרת עבודת המסטר של התלמידה אושרת ז'יזק. הדרכת התלמידות הינה בשיתוף עם ד"ר אלון סמך (הפקולטה לחקלאות).

3- צפי פירסומים

Ziv, D, Zviran, T, Zezak, O, Eselson, E, Schaffer, A, Samach, A and Irihimovitch, V. Expression profiling of *FLOWERING LOCUS T*-like gene in alternate bearing 'Hass' avocado trees suggests a role for *PaFT* in avocado flower induction (In preparation, to be submitted to PMB)

אפריל 2014

אייר תשע"ד

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים כן/לא

חתימת החוקר :

תקציר. הצגת הבעיה - בעיית הסירוגיות בזן 'האס' מהווה בעיה חקלאית המשפיעה במידה ניכרת על רווחיות המטע. תופעת זו גורמת לתנודתיות עונתית ביבולים במחזוריות של שנת שפע ושנת שפל. הסיבות לתופעת הסירוגיות עשויות להיות מושפעות מגורמים שונים המעכבים את המעבר לפריחה. סביר להניח כי באבוקדו כמו במיני צמחים אחרים, גנים "מתזמני פריחה" ומעכבי פריחה עשויים לבקר את המעבר לפריחה. ביטויים של גנים אלו עשוי להיות מושפע ממספר גורמים ביניהם שינויים במאזן ההורמונלי ו/או במאזן הקרבוהידרטים. מטרות המחקר - מחקר זה הציע לימוד בסיסי של המנגנונים המולקולריים העשויים לבקר את מנגנון הסירוגיות בזן 'האס'. שיטות עבודה, תוצאות ומסקנות - בשלב ראשון כדי לבחון את השפעת עומס הפרי על הפריחה ביצענו ניסיונות הסרת פרי. תוצאות ניסויים אלו הורו כי נוכחות פרי על העץ מעבר לחודש אוקטובר, דיכאה באופן משמעותי את המעבר לפריחה באביב העוקב. בהמשך שיבטנו גן מאבוקדו המקודד לכאורה לחלבון "מתזמן הפריחה" FT, והתמקדנו באיפיון דגם ביטוי ברקמות עלים ופקעים מעצים במצב שפע ושפל במקביל לבחינת דגם ביטויים של הגנים *PaAP1* ו-*PaLFY* המקודדים לחלבונים שאחראים למעבר לפריחה ואשר אמורים להיות מבוטאים ב"מורד הזרם" ל-*PaFT*. תוצאותינו הראו כי רק בעלים מעצים במצב שפל, ביטוי *PaFT* החל לעלות באופן חד בשלהי חודש אוקטובר, הגיע לשיא במהלך החורף ובהמשך ירד שוב לרמתו ההתחלתית. במקביל, ובהלימה אחת עם התפתחות התפרחות בעצים אלו, תוצאות בחינת דגם הביטוי הצביעו גם על עלייה משמעותית ומובהקת בצבירת תעתיקי *PaAP1* ו-*PaLFY* בפקעים. מכלול התוצאות הדגים בנוסף כי עומס פרי דיכא באופן משמעותי את העלייה בביטוי *PaFT* בעלים מעצים במצב שפע, את ביטוי *PaAP1* ו-*PaLFY* בפקעים מעצים אלו ובהתאם דוכא המעבר לפריחה. תוצאותינו תומכות ברעיון ש-*PaFT* עשוי לתפקד כ"פלוריגן" וכי ביטוי מוגבר שלו ברקמת העלה בחודשים אוק'-נוב', עשוי לבקר את המעבר לפריחה בפקעים. אנליזות מיקרוסקופיות תמכו ברעיון זה והדגימו כי תחילת התפתחות תפרחות בפקעים מעצי שפל, חל רק מסוף נובמבר ואילך, לאחר העלייה בביטוי תעתיקי ה-*PaFT*. בחלקו השני של המחקר, העלנו היפותזה עבודה הטוענת כי בעצים מצב שפל, בשל העדר פירות המתפקדים כ"מבלעים" חזקים, עשויה לחול הצטברות יתרה של סוכרים בעלים, זאת בהשוואה לעלים מעצי שפע. הצטברות זו עשויה להשפיע באופן ישיר או עקיף על השראת ביטוי *PaFT*. תוצאות כימות סוכרים אכן הראו כי רמת כלל הסוכרים המסיסים הייתה גבוהה באופן מובהק בעלים מעצי Off, בהשוואה לעלים מעצי On. בהמשך, בדקנו את השפעת העלייה ברמת הסוכרים, על ביטוי *PaFT* לאחר ביצוע חיגורים בענפים מעצים במצב שפע וע"י שימוש במערכת דיסקיות עלי אבוקדו. בפרט, תוצאות ניסיונות אלו תמכו ברעיון שעלייה ברמת סוכרוז ו/או פרסאיטול בעלים (המושרית באופן עקיף בהעדר פרי), עשויה להשרות עלייה בביטוי *PaFT* ולהשפיע באופן חיובי על הפריחה. יחד עם זאת, תוצאות ניסיונות אלו הדגימו במקביל את מורכבות בקרת ביטוי *PaFT*. למיטב ידיעתנו, עבודה זו שופכת לראשונה אור על מנגנונים מולקולריים המבקרים פריחה באבוקדו 'האס' ואשר עשויים להשפיע על תופעת הסירוגיות, אולם היא מהווה רק נדבך ראשון במחקר.

לבסוף, בחלק היישומי של עבודה זו בחנו כיצד ישפיעו טיפולי דילול פרי על היבול הכללי ועל מדד הסירוגיות. בפרט, תוצאות הניסויים שערכנו הראו כי טיפול דילול ידני שבוצע ע"י הסרת פרקציית הפרי הקטן בשנת שפע, בתחילת ספטמבר הוביל למיתון אינדקס הסירוגיות ולהעלאת הייבול הדו שנתי הממוצע. בהתחשב בערכם הכלכלי הנמוך של הפירות הקטנים, המהווים כ-20% מהיבול בשנות שפע ובתוצאות שהתקבלו, טיפול זה עשוי להצדיק מבחינה כלכלית את השימוש בפרקטיקה זו לשיפור איכות הייבול ולמיתון הסירוגיות בזן 'האס'.

1 - מבוא ותאור הבעייה: 1.1 סירוגיות בעצי פרי- תופעת הסירוגיות הקיימת בעצי פרי הינה תופעה כללית הגורמת לתנודתיות עונתית ביבולים במחזוריות של שנת שפע ושנת שפל. הסיבות לתופעת הסירוגיות הינן מורכבות ועשויות להיות מושפעות מגורמים חיצוניים כגון טמפרטורה או משטר השקיה ודישון ו/ או מגורמים פנימיים המעכבים את המעבר לפריחה [1-3]. המנגנון הגורם לסירוגיות בעצי פרי עדיין אינו מפותח ובעבר הועלו תיאוריות שונות המנסות להסביר תופעה זו. כך לדוגמא, סברה אחת גורסת כי בשנת שפע קיים מחסור בפחמימות אשר מונע את התמיינות לפריחה בשנה העוקב [4,5]. תיאוריה אחרת מציעה כי היווצרות/ של חומר/ים ו/או הורמונים בפרי ו/או בענפים נושאי פרי, בשנת השפע, המובלים אל הניצנים, עשויים לעכב פריחה בשנה העוקבת. כיוון שתוצאות ניסויים רבים אינם חד-משמעיים ישנם חוקרים המציעים שילובן של שני הגורמים, קרי, שינויים ברמת מאגרי הפחמימות ושינויים במאזן ההורמונים משפיעים במשולב ומבקרים את רמת הסירוגיות. למרות שתיאוריות אלו הועלו בעבר, חקר הבנת התופעה לא התקדם רבות. כמו כן האמצעים האגרוטכניים השונים שנוסו עד-כה, במטרה לצמצם את התופעה, מוגבלים ויעילותם מוטלת בספק.

1.2 בעיית סירוגיות וגודל פרי בזן האבוקדו 'האס' - הזן 'האס' (*Persea americana* Mill. cv Hass) מהווה מרכיב עיקרי בין זני האבוקדו בארץ ובעולם. לזן פוריות סבירה, טעם ומירקם טובים ועונת שיוק מתאימה, אולם הוא מתאפיין בסירוגיות גבוהה ובגודל פרי קטן [6]. גודל הפרי הינו בעייתי בזן זה, כיוון שאחוז גבוה מכלל הפירות המתקבלים הינם בעלי משקל סופי הנמוך מ- 220 גר'. בעיית גודל פרי מחריפה ביתר שאת בשנות שפע, ובהתאם אחוז גבוה יותר של פירות קטנים לעץ מתקבל בשנת שפע בהשוואה לשנות שפל. בעבודות קודמות שבוצעו ב'האס' דווח כי עומס פרי בעץ משפיע באופן שלילי של על פריחה בשנה העוקבת. כך לדוגמא דווח כי יכול שנת שפע עיכב את המעבר לפריחה בנצני ענפים של צימוח אביבי וקיציי [7]. כמו כן דווח כי הסרת כלל הפירות במהלך שנת שפע, בחודשי הקיץ, העלתה את מספר הענפים הפורחים בשנה העוקבת וגרמה לירידה בריכוזי ABA ו IAA במרסיטמות הקודקודיות [8-10]. ממצאים אלו עשויים להעיד כי ייתכן ומעבר ההורמונים מהפרי המתפתח לעבר הניצנים הקודקדיים, בשנת שפע, מעכב את ההתמיינות לפריחה בשנה העוקבת. תופעות הסירוגיות ומופע פרי קטן בזן 'האס' מהוות בעיות חקלאיות הפוגעות בריווחיות הגידול. תופעות אלו עשויות להיות קשורות אחת בשנייה. מחקר אנטומי השוואתי שנערך בזן 'האס' הוביל למסקנה כי הגורם המגביל את התפתחות הפירות הקטנים אינו גידול התאים אלא עיכוב בתהליך חלוקתם. בנוסף, נמצא כי פירות קטנים מתאפיינים בצבירת רמות גבוהות של ABA במהלך התפתחות הפרי, זאת לעומת פירות גדולים ועל כן הוצע כי עלייה ברמת ABA עשויה להוות גורם המעכב את חלוקת התאים בפרי [11]. בעבודות קודמות שביצענו במעבדתינו, אכן אששנו רעיון זה [12].

1.3 בקרה על מעבר מרקמה וגטטיבית לרקמה רפרודוקטיבית המעבר ההתפתחותי מרקמה וגטטיבית לרפרודוקטיבית נחקר באופן אינטנסיבי בארבידופסיס. בצמח מודל זה קיימים מספר מסלולים המבקרים התמיינות לפריחה, מסלולים אלו עשויים להיות מופעלים בעקבות שינויים חיצוניים בתנאי הסביבה או בעקבות שינויים אנדוגנים בצמח. באופן מעניין נמצא כי

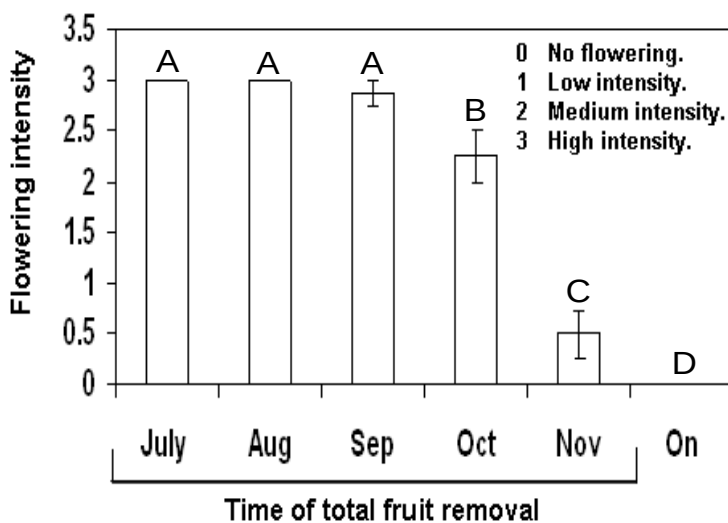
האינדוקציה לפריחה במסלולים השונים מבוקרת ע"י קבוצת קטנה של גנים הקרויים "מתזמני פריחה" גנים אשר הפעלתם מובילה לפריחה וביניהם : *FLOWERING LOCUS T (FT)* ו-*LEAFY (LFY)*. בפרט, תעתיק *FT*, נוצר סמוך לרקמות הוסקולריות של העלה ובכדי להשרות פריחה מועבר חלבון ה-*FT* דרך הפלואם אל עבר המרסטימה הקודקודית ועל כן זכה חלבון זה לכינוי "פלוריגן" [14,13]. במריסטמה *FT* מפעיל גנים המעורבים בהפיכת המריסטמה הוגטטיבית למריסטמה של תפרחת, ביניהם גנים המקודדים לחלבוני שעתוק ממשפחת ה-*MADS Box* כגון : *APETALA1(AP1)* ו-*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC1)*. תוצרי גנים אלו בתגובה, משפעלים את הגנים הקובעים את זהות אברי הפרח (*Floral meristem identity genes*) ומעודדים פריחה. גורם נוסף המשפיע על פריחה הינו אורך היום. בארבידופסיס דווח כי הגן *CONSTANS (CO)* מבקר את ביטוי הגן *FT* כפונקציה של אורך היום. ביטוי של *CO* מבוקר באופן צירקדי כך שבתנאים של יום ארוך, ביטוי ביתר של *CO* מאקטב את ביטוי *FT* ומוביל לפריחה [15]. גנים אורטולוגים לגנים המבקרים פריחה בארבידופסיס זוהו גם בעצי פרי ביניהם : הדריס [16], תפוח [17] ומנגו [18]. במספר מקרים אף הוכחה פעילותם במערכות טרנסגניות [19,16].

2 מטרות המחקר: כאמור, בעיית הסירוגיות בזן 'האס' מהווה בעייה חקלאית המשפיעה במידה ניכרת על רווחיות המטע. ניסיונות רבים הכוללים יישום הורמונים צמחיים ומעכבי צימוח שונים עדיין לא נתנו פתרון יעיל לבעייה. סביר להניח כי גם באבוקדו גנים "מתזמני פריחה" ומעכבי פריחה" עשויים לבקר את המעבר לפריחה. דגם הביטוי של גנים אלו עשוי להשתנות במהלך השנה ברקמות השונות של הענף ובין שנת שפע לשפל, ובהתאם להשפיע על המעבר לפריחה. מחקר זה הציע לימוד בסיסי של המנגנונים המולקולריים העשויים לבקר את מנגנון הסירוגיות בזן 'האס' ואת שלבי המחקר הבאים : א. איפיון פסילוגי – בדיקת השפעת עומס פרי על צימוח וגטטבי ועל פריחה בשנה העוקבת. ב. בידוד ואיפיון גנים "מתזמני פריחה" ו"מעכבי פריחה" מאבוקדו. ג. איפיון דגם הביטוי של גנים אלו בפקעים הקודקודיים ובעלים הסמוכים לפקעים אלו בשנת שפע (On) ובשנת שפל (Off). **הערה** – הצעת המחקר שהתקבלה כללה גם שלב מחקר נוסף (ד) בדיקת השפעת ABA על פריחה ועל דגם הביטוי של הגנים המעורבים בבקרת פריחה, אולם, מכיוון שבמהלך העבודה, עלה כיוון מחקר חדש הקשור לבדיקת הקשר האפשרי בין שינוי במאזן הסוכרים בעלה ובקרת ביטוי *FT* (ראה סעיף 3.6), בחרנו לשנות את התוכנית המקורית ולהתמקד בבדיקת נושא זה.

3.1 בחינת השפעת עומס פרי על על הפריחה בעונה העוקבת.

לדוק את השפעת עומס הפרי על מידת הצימוח הוגטטיבי ועל מופע הפריחה בשנה העוקבת. העבודה בוצעה בחלקת 'האס' במטע מסחרי בקיבוץ אייל. לצורכי הניסוי נבחרו 24 עצים במצב שפע. העצים חולקו לשש קבוצות (ארבעה עצים בכל קבוצה), בקבוצה ראשונה לא בוצע כל טיפול (הוגדרו כקב' עצים במצב On). בקבוצה שנייה, בכדי להשרות מצב דמוי Off טבעי, בוצע טיפול הסרת ככלל הפרי (complete defruiting) בתחילת חודש יולי. בהמשך, בקבוצת העצים הנותרות בוצע טיפול הסרת כלל הפרי בחודשים אוג' ספט', אוק', ונוב' (סה"כ: 6 טיפולים 4 x חזרות, כאשר כל עץ מהווה חזרה ביולוגית אחת).

הניסויים והתצפיות שנערכו בעצים אלו הדגומו, בין היתר, כי עומס פרי בעצים במצב שפע (On), השפיע באופן שלילי על מידת הצימוח הקייצי ומיתן את התארכות הענפים, זאת בהשוואה לעצי Off (לא מוצג). בהמשך, בכדי לקבוע מהי השפעת עומס פרי על עוצמת הפריחה נערכו תצפיות בשיא תקופת הפריחה (אפריל 2012), בכדי לקבוע את דרגת הפריחה של כל עץ. סיכום הנתונים הראה שעוצמת הפריחה הגבוהה ביותר התקבלה, כצפוי, בעצים שהיו נתונים במצב-Off (איור 1א). מאידך, עצים שהיו נתונים במצב On לא פרחו כלל. בנוסף נמצא כי טיפול הסרת כלל הפרי בחודשים אוג'-אוק', השפיע באופן חיובי על הפריחה בשנה העוקבת וכי עוצמת התגובה הייתה תלויה בעיתוי בו בוצע הטיפול. ככל שהטיפול בוצע מוקדם יותר, עוצמת הפריחה החוזרת שהתקבלה דמתה יותר לעוצמת הפריחה שהתקבלה בעצי Off (אוג' < ספט < אוק'). מצד שני, הפריחה שהתקבלה לאחר הסרת כלל הפרי בחודש נוב' הייתה מועטה.

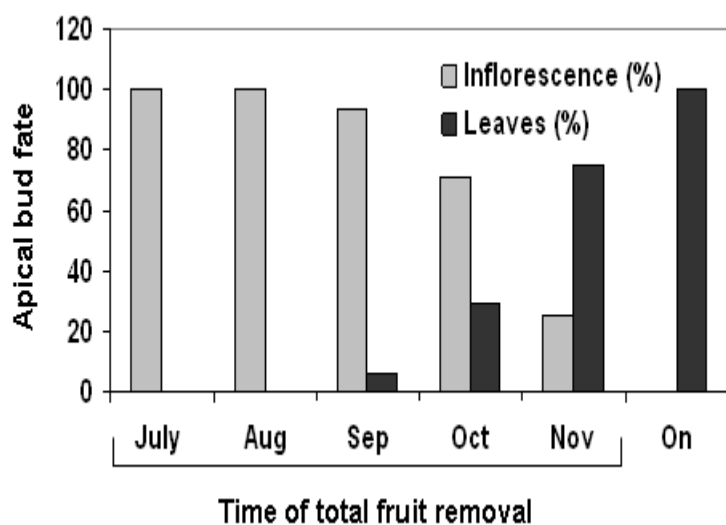


איור 1: עוצמת פריחה בעצי On, ובעצים שטופלו ע"י הסרת פרי.

* הסרת כלל הפרי בחודש יולי משרה מצב דמוי Off
 * דרגת הפריחה נקבעה בחודש מרץ 2012
 ע"פ מפתח המסומן במקרא מצד ימין.
 * רמת היבול הכללי (ק"ג/עץ) נקבעה בינואר 2013
 * כל עמודה מייצגת ממוצע של +/- שגיאת תקן של ארבעה חזרות (4 עצים בכל קב' טיפול).

התוצאות שהתקבלו העידו כי החל מחודש אוקטובר ואילך מדכא עומס הפרי, במידה רבה, את המעבר לפריחה. מהספרות, ידוע כי מרבית הפריחה בזן 'האס' מתקבלת על גל הצימוח הקייצי [6], לכן כדי להמשיך ולאפיין את השפעתו השלילית של עומס הפרי על המעבר לפריחה ביצענו מיפוי מקיף של "גורל" הפקעים לאורך ענפים מגל הצימוח הקייצי. מיפוי "גורל" הפקעים בוצע

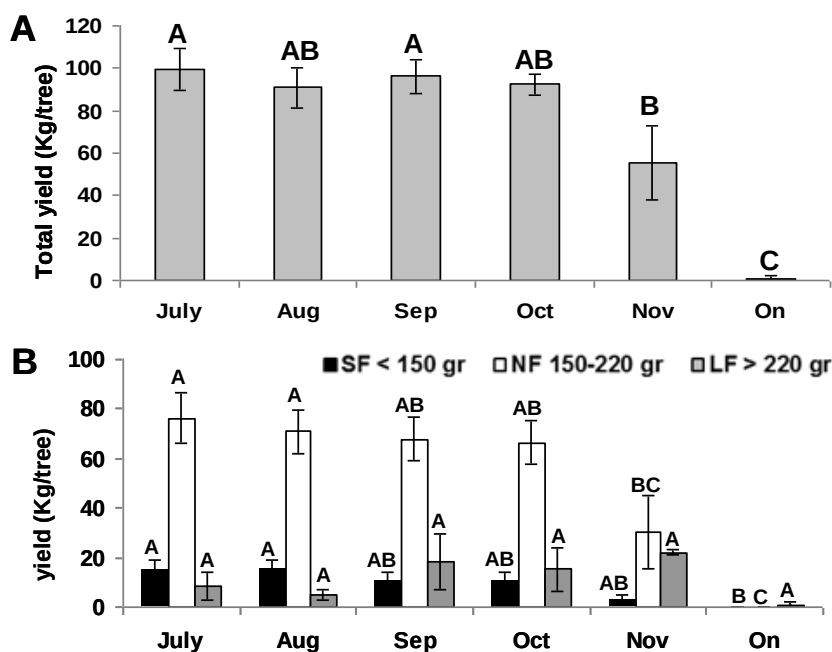
בתום תקופת הפריחה (במאי 2012). תוצאות המיפוי הראו, כי המעבר מרקמה וגטיבית לרקמה רפרודוקטיבית דוכא לחלוטין בפקעים הקודקודיים של עצי הביקורת (On trees). כפי שניתן לראות 100% מהפקעים הקודקודיים שמופו בעצים אלו, התמיינו לעלים ולא לתפרחות (ראה איור 2 ונספח א'). בניגוד לכך, בעצים מהם הוסר כלל הפרי בתחילת חודש יולי (Off-like trees), כל הפקעים הקודקודיים שמופו עברו התמיינות לתפרחות. כמו כן נצפה כי ככל שטיפול הסרת הפרי בוצע במועד מאוחר יותר, אחוז הפקעים הקודקודיים שהתמיינו לתפרחות פחת. כך לדוגמא, בעצים בהם בוצע טיפול הסרת כלל הפרי בחודש נובמבר, רק 22% מכלל הפקעים הקודקודיים התמיינו לתפרחות ואילו שאר הפקעים התמיינו לעלים. בהמשך, השפעתו השלילית של עומס הפרי על המעבר לפריחה נבדקה גם כן לאורך הענפים (לא מוצג). גם במקרה זה תוצאות המיפוי הראו כי ההתמיינות לתפרחות בפקעים הצדדים דוכאה לחלוטין בעצי הביקורת (On trees). מצד שני, בעצים מהם הוסר כלל הפרי בחודש יולי, אחוזי ההתמיינות לתפרחות, היו הגבוהים ביותר. לבסוף, ככל שטיפול הסרת הפרי בוצע במועד מאוחר יותר, אחוז הפקעים שהתמיינו לתפרחות פחת.



איור 2: השפעת עומס פרי על המעבר לפריחה בפקע הקודקודי. לצורך המיפוי הוחלט לאפיין את "גורל" הפקע הקודקודי ע"פ חלוקה לשלוש קטגוריות: א. פקע שהתמייין לתפרחת ב. פקע שהתמייין לעלה ו-ג. פקע שנותר רדום ו/או שלא פרץ (Dormant bud). הערכים מייצגים אחוזים של תפרחות ו/או עלים מתוך 40 תצפיות לטיפול. (עשרה ענפים לעץ).

3.2 בחינת הקשר בין עוצמת פריחה ויבול העונה. תוצאות ניסוי הסרת כלל הפרי הדגימו ואששו את הטענה כי עומס פרי מעכב את המעבר לפריחה באביב הבא. בהמשך, כדי לבדוק האם קיים מתאם בין עוצמת הפריחה האביבית לבין יבול העונה, בדקנו את רמת היבול הכללי בכל אחד מעצי הטיפול. בדיקה זו בוצעה במועד הקטיפה המסחרי של עונת 2012/13, בתחילת פברואר 2013. כפי שניתן לראות תוצאות בדיקה זו, הצביעו על קיום קשר חיובי בין עוצמת הפריחה ובין רמת היבול הכללי. ככלל, ככל שעוצמת הפריחה הייתה נמוכה יותר, רמת הייבול הכללי הייתה גם כן נמוכה יותר (ראה איור 3א'). כמו כן ובאופן לא מפתיע, בעצי ה-On, בהם הפריחה הייתה כמעט אפסית התקבל ייבול אפסי. ראוי לציין עם זאת שלמרות שהסרת כלל הפרי בנוב', גרמה לירידה משמעותית ברמת הפריחה בשנה העוקבת (דרגת פריחה 0.5), לא נצפתה בעצים אלו ירידה דרסטית בייבול הכללי. ייתכן כי

הסיבה לתופעה זו נעוצה בעובדה שהתפלגות גודלי הפירות, בעצי הטיפול השונים, הייתה שונה. לדוגמא, בעצים בהם הוסר כלל הפרי בחודש נוב', כמות הפרי הגדול ($LF > 220$ g), מתוך כלל הייבול, הייתה גדולה יותר מאשר בעצים בהם הוסר כלל הפרי ביולי (35% לעומת 12%, בהתאמה) (ראה איור 3ב'). מכאן, ניתן להניח כי בעצים בהם דרגת הפריחה הייתה נמוכה, מספר הפירות לעץ אמנם היה נמוך יותר, אולם גודלם הממוצע של הפירות היה גבוה, לפיכך השתקף גורם זה בהעאלת הייבול הכללי (ראה איור 3ב').



איור 3: השפעת טיפולי הסרת כלל הפרי על רמת היבול (A) ועל התפלגות גודל הפרי (B) בהשוואה לעצי ביקורת. כלל הפרי הוסר באופן ידני במועדים שונים במהלך עונת 12/2011. היבול הכללי נקטף בפברואר 2013 ומוצג ביחידות של ק"ג לעץ. כל עמודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 עצים (4 חזרות ביולוגיות). בגרף העליון ערכי העמודות המלווים באותיות שונות נבדלים זה מזה באופן מובהק. בגרף התחתון ערכי העמודות (בכל פרקציה) המלווים באותיות שונות נבדלים זה מזה באופן מובהק ($P < 0.05$).

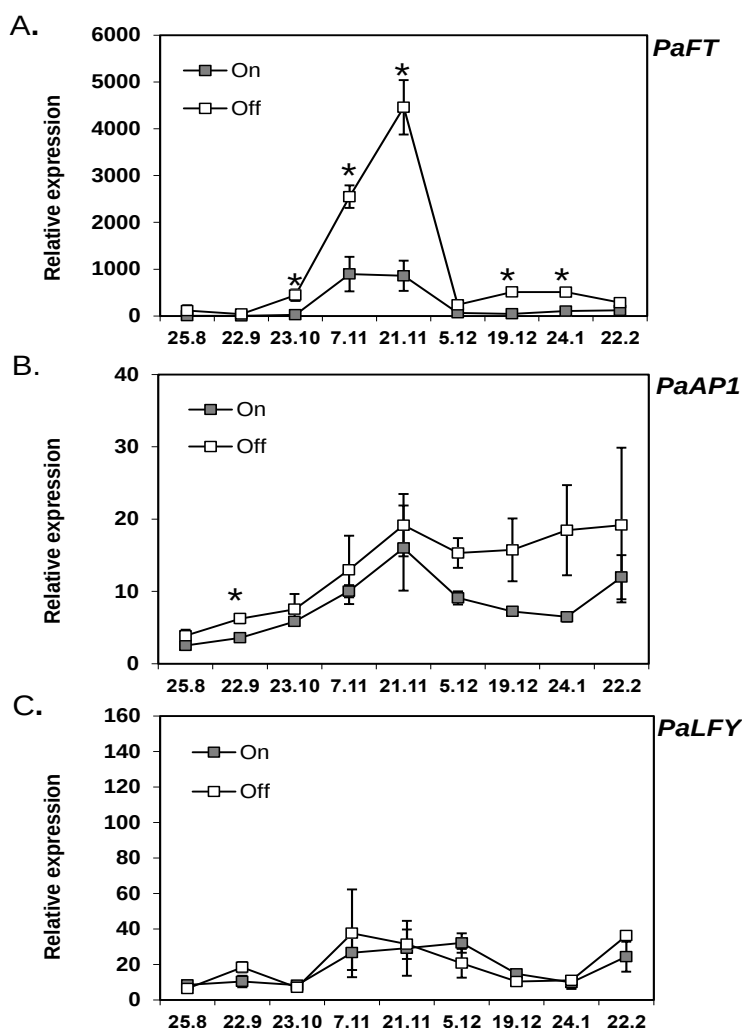
3.3 שיבוט רצף cDNA מאבוקדו המקודד לחלבון FT. כפי שצויין במבוא, למרות שפרחים ממינים שונים מגוונים ביותר מבחינה חיצונית, מספר לא מבוטל של עדויות מצביע על קיומם של קבוצת גנים "אוניברסליים" המשפיעה ומבקרים את המעבר לפריחה [20]. בעבודה זו הצלחנו לשבט גן מאבוקדו, המקודד לחלבון בעל 174 ח"א וחולק דימיון של כ- 96-99% עם חלבוני FT ממינים שונים. בהתאם, כונה גן זה על ידינו *PaFT*. כפי שניתן לראות באיור בנספח ב', חלבון ה-FT המשוער מאבוקדו מכיל איזורים שמורים המאפיינים את חלבוני FT ממיני צמחים שונים. בפרט, חלבון ה-FT מאבוקדו מכיל את ח"א השמורות (Y) Try 85 ו-(Q) Gln 140, המבדילות את חלבון FT מחלבוני TFL1 (Terminal Flowering) ו-BFT (Brother of FT). חלבונים אלו שייכים גם כן למשפחת חלבוני FT-like, אך פועלים באופן אנטגוניסטי ל-FT ומדכאים פריחה [20-22]. רמת הדמיון הגבוהה, ברמת רצף החלבון, בין *PaFT* ובין חלבוני FT ממיני צמחים שונים מעלה את האפשרות כי FT מאבוקדו עשוי לקודד לחלבון הפועל באופן דומה ל-FT מארבידופסיס, קרי, כ"פלורוגן" המעודד פריחה.

3.4 בחינת השפעת עומס פרי על דגם ביטויים של הגנים *PaFT*, *PaAP1* ו-*PaLFY* בעלים ופקעים: לאחר שיבוט הגן *PaFT*

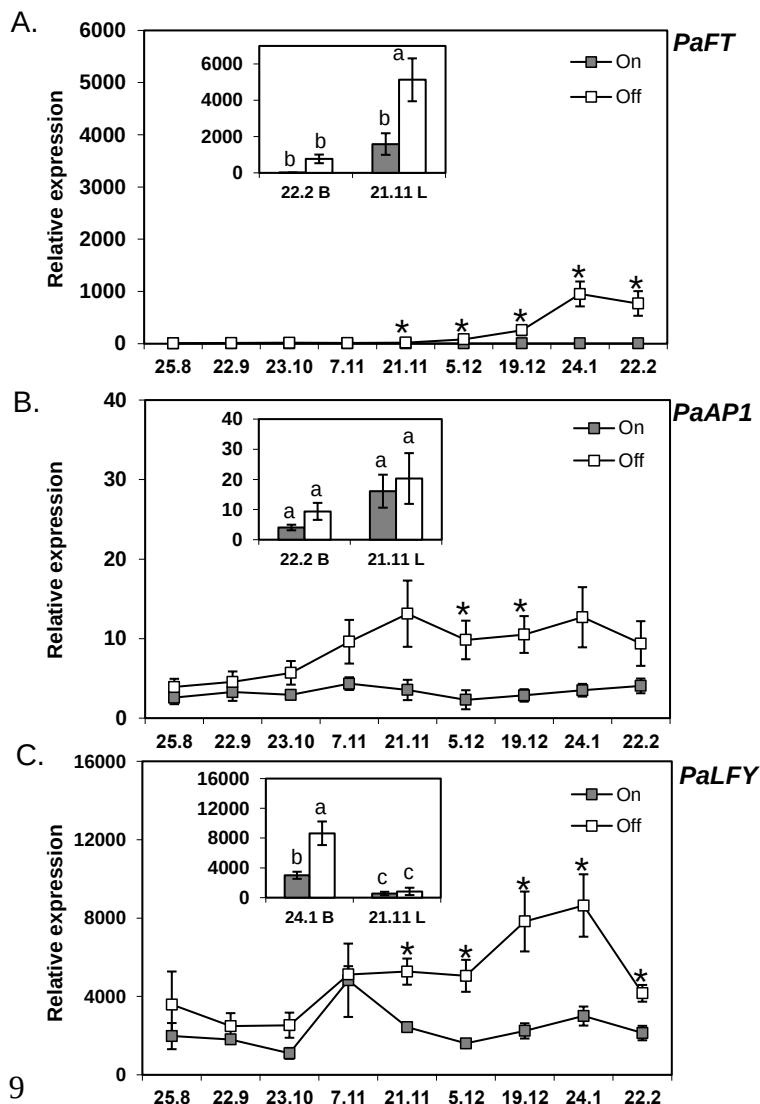
ניתן היה לבחון את דגם ביטוי ההתפתחותי ברקמות צמחיות שנדגמו מענפים במצב שפע ושפל. הנחת הייסוד שלנו הייתה כי דגם הביטוי של גן מסוג זה עשוי להשתנות בין שנת שפע לשפל ובהתאם להשפיע על המעבר לפריחה. בכדי לנסות ולאמת טענה זו, הוחלט לאפיין את דגם ביטוי ההתפתחותי של הגן ברקמות עלים ופקעים מעצים במצב שפע ושפל. כמו כן הוחלט לבחון במקביל את דגם ביטויים של הגנים *PaAP1* ו-*PaLFY*, המקודדים לחלבונים שאחראים להגדרת פרח (floral-identity) genes, ולכן מבוטאים בפרימורדיות ראשוניות של פרחים ב"מורד הזרם", יחסית ל-*PaFT*. בחינת דגם ביטויים של הגנים בוצעה בשיטת RT-PCR. כפי שניתן לראות באיור מספר 4A, תוצאות אנליזת הביטוי הראו כי רמת ביטוי *PaFT* בעלים מעצי Off הייתה נמוכה בחודש אוג', החלה לעלות בשלהי חודש אוק' והגיעה לשיא בחודש נוב'. בהמשך, ועד חודש פב' נצפתה ירידה חזקה ברמת

ביטוי הגן ועד חודש פב' ביטוי נותר נמוך. במקביל, בעלים מעצי On נצפה דגם ביטוי דומה, אך בכל נקודת הזמן רמת הביטוי של *PaFT* הייתה נמוכה באופן מובהק בהשוואה לזו של עצי Off. התוצאות שהתקבלו הצביעו בנוסף על מגמת עלייה מתונה ברמת ביטוי *PaAP1* בעלים מעצי Off, החל מחודש נובמבר ואילך, בעוד שרמת *PaLFY* נותרה קבועה ונמוכה במהלך כל התקופה, הן בעלים שנדגמו מעצי Off והן בעלים שנדגמו מעצי On (איור 4C).

איור 4: בחינת דגם הביטוי העונתי של הגנים *PaFT* (A): *PaAP1* (B) ו-*PaLFY* (C), ברקמת העלים מעצים בשנת שפע (On) ושפל (Off)*. כל נקודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 3 חזרות ביולוגיות. הכוכביות מייצגות את המובהקות בשונות בין שני המצבים בכול נקודת זמן. תאריכי דיגום הרקמות הצמחיות מופיעות על ציר ה-X. *עצי (Off) הינם עצים מהם הוסר כלל הפרי בחודש יולי.



במקביל, בחינת דגם ביטוי *PaFT* בפקעים הראתה כי במהלך כל תקופת הדיגום נותרה רמת *PaFT* כמעט ללא שינוי בפקעים מעצים במצב שפע. בניגוד לכך, בפקעים שנדגמו מעצים במצב שפל חלה עלייה מסויימת ברמת ביטוי הגן, עלייה אשר הודגמה מאמצע חודש דצמבר ואילך (איור A 5). יחד עם זאת, השוואת בין ביטוי תעתיק *PaFT* בעלים, בנקודת הזמן בה היה ביטוי בשיא, לבין ביטוי התעתיק בפקעים, גם כן בנקודת הזמן בה ביטוי היה בשיא (ראה איור D 5), הדגימו שהצטברות תעתיק הגן הינה גבוהה באופן מובהק בעלים בהשוואה לפקעים. לבסוף, בהלימה אחת עם התפתחות התפרחות בפקעי עצים ממצב שפל, תוצאות בחינת דגם ביטוי *PaAP1* ו-*PaLFY* הצביעו על עלייה משמעותית ומובהקת בצבירת תעתיקי *PaAP1* ו-*PaLFY* בפקעים אלו (B-C 5). עלייה זו, אשר הודגמה מנובמבר - דצמבר ואילך, לא נצפתה בפקעים מעצים במצב שפע. בנוסף, וכפי שניתן היה לצפות, נמצא כי תעתיק *PaLFY* הצטבר ברמות גבוהות יותר בפקעים בהשוואה לעלים (ראה F 5). מאידך לא נמצא הבדל מובהק בין ביטוי *PaAP1* בעלים ובפקעים (ראה E 5), נראה שתעתיק זה אינו מקודד לחלבון ספציפי לפרח, ובכך שונה מ-*APETALA1* של ארבידופסיס.



איור 5: בחינת דגם הביטוי העונתי של הגנים *PaFT* (A), *PaAP1* (B) ו-*PaLFY* (C), ברקמת הפקעים מעצים בשנת שפע (On) ושפל (Off)*. הכוכביות מייצגות את המובהקות בשונות בין שני המצבים בכול נקודת זמן. השוואת רמת הביטוי של הגנים *PaFT* (D), *PaAP1* (E) ו-*PaLFY* (F), בין רקמת הפקעים לרקמת העלים מעצים בשנת שפע (On) ושפל (Off)*. האותיות מייצגות את המובהקות בשונות. כל נקודה מייצגת ממוצע +/- שגיאת תקן של 3 חזרות ביולוגיות. *עצי Off הינם עצים מהם הוסר כלל הפרי בחודש יולי.

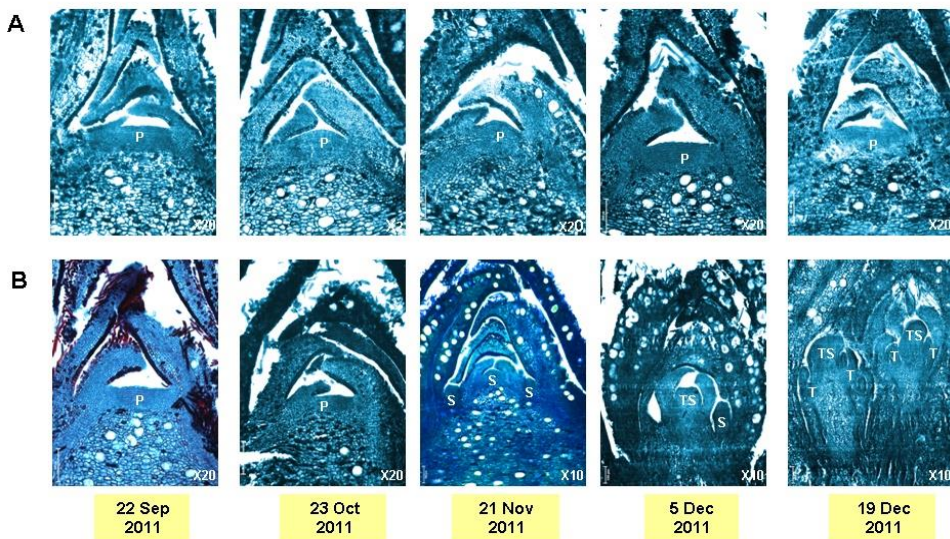
מכלול התוצאות שהתקבל תומך אם כן ברעיון ש-*PaFT* עשוי לתפקד כ"פלוריגן" וכי ביטוי מוגבר שלו ברקמת העלה בחודשים אוק-נוב, עשוי לבקר את המעבר לפריחה. כמו כן, העובדה ש-*PaFT* מתבטא ברמה נמוכה מאוד בגבעול ובפטוטרות בהשוואה לעלים (לא מוצג), אינה מפתיעה ועולה בקנה אחד עם הידע הקיים בספרות לפיו תעתיק *FT* נוצר בעלה, וכדיי להשרות

פריחה מועבר חלבון ה-FT, (ולא תעתיק ה-FT), אל עבר הפקעים הקודקודים. מכלול התוצאות הורה בנוסף כי עומס פרי באבוקדו משפיע על ביטויים של גנים הקשורים לפריחה, הן בעלים והם בניצנים. כאן המקום לציין כי תוצאות אלו עולות בקנה אחד עם ממצאי עבודות שנערכו בשנים האחרונות בעצי פרי כגון מנגו והדרים [23-26,18].

3.6 בדיקות היסטולוגיות. ידוע כי מריסטמה קודקודית מייצרת באופן קבוע עלים עד למועד בו מתקבל סיגנל האינדוקציה לפריחה [1]. מרגע קבלת הסיגנל עתידה המריסטמה לשנות את יעודה ליצירת תפרחת של פרח יחיד (חבוש) או מספר פרחים (אבוקדו). מועד האינדוקציה לפריחה והמועד בו מתחילים השינויים המורפולגיים, המעידים על יצירת תפרחת במריסטמה, עשויים להתרחש שבועות או חודשים לפני שלב פתיחת הפרח [1]. כדי להמשיך ולאפיין את הקשר האפשרי בין *PaFT* ובין המעבר לפריחה, ביצענו אנליזה מיקרוסקופית לבדיקת התפתחות התפרחות בפקעים הקודקודים בעצים במצב שפע ושפל. תצלומי חתכים היסטולוגיים שבוצעו בפקעים שנדגמו במהלך החודשים ספטמבר עד דצמבר מוצגים באיור 16. אנליזה זו הראתה כי רק בפקעים הקודקודים שנדגמו מעצים במצב שפל ניתן היה לראות התחלה של התפתחות תפרחות. התפתחות התפרחות נצפתה מסוף נובמבר ואילך,

במקביל לעלייה המסיבית בביטוי תעתיק ה-*PaFT* בעלים.

איור 7: חתכים היסטולוגיים מפקעים קודקודיים שנדגמו במועדים שונים מעצים במצב שפע (A) ובמצב שפל (B). מריסטמה קודקודית וגטיבית Vm (Vegetative meristem), מריסטמת תפרחת מרכזית (Primary inflorescence) PIM, מריסטמת תפרחת משנית (Secondary inflorescence) SIM, meristem. עצי שפל הינם עצים מהם הוסר כלל הפרי בחודש יולי.

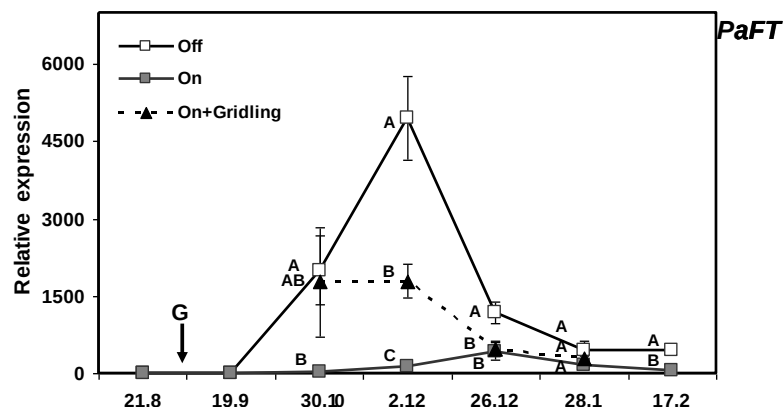


3.6 ניסוי חיגור ובדיקת רמת סוכרים בעלים. תוצאות איפיון דגם הביטוי ההתפתחותי של הגן *PaFT* ברקמות העלים הדגימו כי

עומס פרי מנע או דיכא את העלייה בתעתיק הגן *PaFT*. בהמשך, אחת השאלות שיכולה להישאל הינה מה הם הגורמים המבקרים את ביטוי *PaFT* בעלים. מהספרות, ידוע שביטוי *FT* מושפע בין היתר משינויים טמפרטורה [27]. לדוגמא, לאחרונה פורסם כי בצפצפה המעבר לפריחה תלוי בעלייה זמנית ברמת ביטוי *PtFT1*. בפרט, בעבודה זו הודגם כי עלייה חדה בביטוי *PtFT1*, מתרחשת בחודשי החורף ונמצאת בקורלציה עם טמפ' נמוכות [19]. מתאם בין ביטוי מוגבר של *FT* וטמפ' נמוכות דווח גם כן בהדרים [27]. גם בעבודתנו נמצא כי ביטוי מוגבר של *PaFT* שחל בנוב', התרחש במקביל לירידה חדה בטמפ' (לא מוצג),

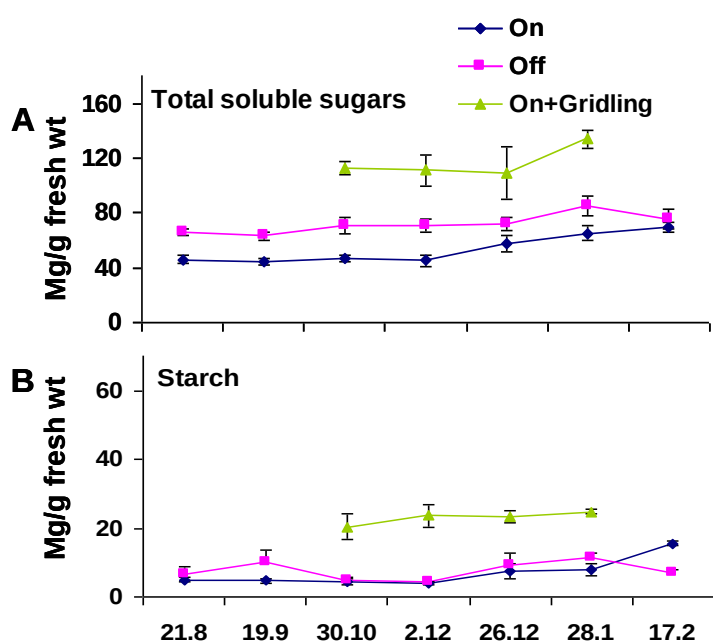
ממצא זה תומך ברעיון שטמפ' נמוכות עשויות להוות טריגר המשפיע על העלייה בביטוי *PaFT*. ממצא זה תואם לידע הקיים בספרות המורה כי באבוקדו, לטמפרטורה תפקיד מרכזי בבקרת פריחה, שכן המעבר לפריחה מתאפשר רק לאחר שהייה בתנאי טמפרטורות נמוכים, 3-4 חודשים במשטר טמפ' יום/לילה ($10-15/15-18^{\circ}\text{C}$) [6].

למרות זאת, סביר להניח, שירידה בטמפ' איננה הגורם היחיד המבקר את ביטוי הגן, שאם כך היה, היינו מצפים לראות עלייה בביטוי הגן הן בעצי ה-On והן בעצי ה-Off. מה אם כן עשויים להיות הגורמים הנוספים שעשויים לבקר את ביטוי ביתר של *PaFT* בעלים מעצי Off? או לחילופין, מה הם הגורמים שאינם מאפשרים שעלייה זו תחול בעלים מעצים בהם עומס הפרי גבוה? בהקשר זה, ידוע כי פרי מתפתח מתפקד כ"מבלע" הדורש אספקת סוכרים והורמונים לצורך גידולו ולעומת זאת, עלים מתפקדים לרוב כרקמת "מקור". בהתאם, אחת מההיפוטזות שהעלנו הייתה שבעצי Off, במצב של העדר "מבלעים חזקים", חלה הצטברות יתרה של סוכרים בעלים. עלייה ברמת הסוכרים מעל סף מסויים עשויה להשרות באופן ישיר, או עקיף, עלייה בביטוי *PaFT*. כצעד ראשון בבחינת רעיון זה, ביצענו בתחילת ספטמבר (בשנת 2013), טיפול חיגור בענפים מעצים משנת שפע. חיגור ענפים, על ידי הסרת טבעת השיפה, הינו אמצעי אשר עשוי לשנות את יחס הגומלין בין פעילות רקמות ה"מקור" (עלים) ורקמת ה"מבלע" (פירות ושורשים). בפרט, חיגור ענפים בין העלים לפרי הינו גורם שעשוי לשנות בין היתר את מאזן הסוכרים בעלה, שכן העלה חדל לפעול כרקמת מקור ועשוי לצבור סוכרים. טיפולי החיגורים שבוצעו בענפים עמוסי פרי, אמנם השפיעו באופן חיובי על החזרה לפריחה (ראה נספח ג'). בהמשך, ביקשנו לדעת כיצד משפיע החיגור על ביטוי *PaFT*. כדי לבחון נושא זה נבדק דגם ביטוי הגן בעלים במועדים שונים לאחר ביצוע פעולת החיגור. לצורכי ביקורת, בדקנו גם כן דגם ביטוי הגן בעלים שנדגמו מענפי עצים במצב שפל ושפע (ראה איור 8). אנליזה זו הראתה כי בדומה לתוצאות שהתקבלו בעונה הקודמת, לאורך כל תקופת המעקב, נותרה רמת *PaFT* נמוכה מאוד בעלים מעצים במצב שפע (On). בניגוד לכך, עד סוף חודש ספטמבר רמת הצטברות תעתיק *PaFT* בעלים במצב שפל, היתה כמעט אפסית, החלה לעלות לאחר מכן, הגיעה לשיא בתחילת חודש דצמבר ולאחר מכן ירדה באופן ניכר. במקביל, טיפולי החיגורים שבוצעו בענפים עמוסי פרי, גררו עלייה בביטוי *PaFT* (ראה איור 8). בפרט באוקטובר רמת ביטוי הגן כמעט והשתוותה לרמת ביטוי בעלים מעצים במצב שפל (Off). בהמשך, דגם ביטוי הגן באותם עלים הראה מגמה שדמתה במידה מסויימת לזו שהתקבלה בעלים מעצים במצב שפל. בעלים אלו רמת תעתיק ה-*PaFT* נותרה יחסית גבוהה בתחילת חודש דצמבר, וירדה בהדרגה מתאריך זה ואילך.



איור 8: בחינת דגם הביטוי העונתי של הגן *PaFT* בעלים מענפים בלתי מחוגרים ומחוגרים מעצים במצב שפע, ובעלים מעצים במצב שפל. כל נקודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 חזרות ביולוגיות. אותיות שונות מייצגות את המובהקות בשונות בין שלושת המצבים, בכול נקודת זמן. G- מועד ביצוע החיגור.

כצעד משלים לביסוס ההיפוטזה שהועלתה, בדקנו את רמת הצטברות כלל הסוכרים והעמילן בעלים ששימשו לבחינת דגם ביטוי *PaFT*. חלק זה של העבודה נעשה בשיתוף עם מעבדת ד"ר ארי שפר (ראה איור 9). תוצאות בדיקות אלו הדגימו כי העדר עומס פרי אכן גרם לצבירה יתרה של סוכרים מסיסים בעלים מעצים במצב שפל בהשוואה לעלים מעצים עמוסי פרי, לאורכו של כמעט כל פרק הזמן הנבדק. תוצאות כימות העמילן הראו בנוסף, כי רמת העמילן נותרה כמעט ללא שינוי עד סוף ינואר (שבו חל מועד הקטיפה המסחרי של העצים שהיו נתונים במצב שפע), ובפרק זמן זה לא נצפו הבדלים ברמת העמילן בין העלים שנדגמו מעצים במצב שפל ובין עלים מעצים במצב שפע. במקביל, וכפי שניתן היה לצפות, חיגור הענפים הוביל לצבירה אף מוגברת של סוכרים מסיסים בעלים ולסינטזה ולצבירה יתרה של עמילן. להשלמת התמונה, בוצעה גם כן אנליזה לבדיקת שינויים בהצטברות סוכרים מסיסים ספציפיים, בעלים הנדגמים. תוצאות אנליזה זו והדגימו כי ההבדלים ברמת כלל הסוכרים המסיסים בין העלים מעצים במצב שפל ושפע, נבעו בעיקר מהצטברות יתרה של פרסאיטול ובמידה מסוימת גם של סוכרוז, סוכרים מסיסים המועברים במערכת השיפה באבוקדו [29,28]. עוד נצפה כי טיפולי החיגור העלו אף יותר את רמת סוכרים מסיסים אלו בעלים מענפים מטופלים (ראה נספח ד').



איור 9- שינויים בצבירת סוכרים מסיסים (A) ועמילן (B) בעלים מענפים בלתי מחוגרים ומחוגרים מעצים במצב שפע, ובעלים מעצים במצב שפל. רמת הסוכרים מוצגת ביחידות של mg/g fresh wt. כל ערך מייצג ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 חזרות ביולוגיות. * בשל בעיות טכניות, חלק מהענפים שעברו חיגור נשברו במהלך העונה, לא נבדקה רמת הסוכרים והעמילן בעלים מענפים מחוגרים במועד האחרון.

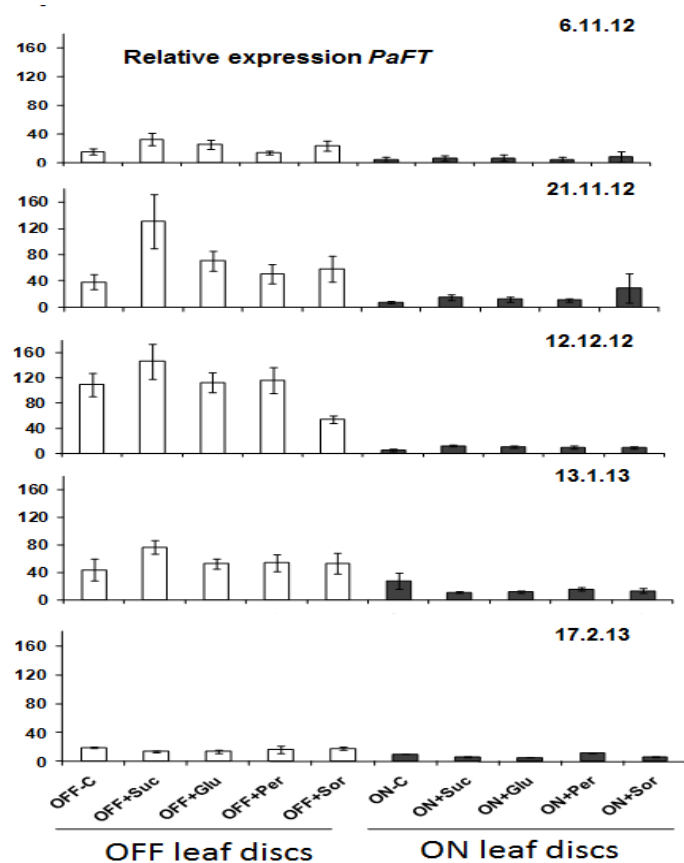
יש לציין כי באופן מעניין, צבירה מוגברת של סוכרוז ופרסאיטול, הן בעלים מעצי שפל והן בעלים מעצים עמוסי פרי שעברו טיפול חיגור, נמצאה במתאם עם השראת העלייה בביטוי *PaFT* שהחלה באוקטובר. ממצאים אלו עשויים לרמוז כי לפרסאיטול ו/או לסוכרוז, תפקיד בקרתי בהשראת ביטוי *PaFT*. מנגד, מכיוון שמנקודת הזמן הזו ואילך לא

נמצא מתאם ישיר בין שינוי ברמת פרסאיטול ו/או סוכרוז ובין ביטוי *PaFT*, יש להניח כי שינוי במאזן הסוכרים אינו הגורם היחידי שמבקר את התנודתיות בדגם ביטוי הגן וכי מספר גורמים מקבילים מבקרים את ביטוי *PaFT*.

3.7 בחינת ביטוי *PaFT* במערכת זיסקיות עלי אבוקדו. תוצאות כימות כלל הסוכרים תמכו במידה מסוימת ברעיון ששינוי

ברמת הסוכרים עשוי להשפיע על ביטוי הגן *PaFT*. כאן המקום לציין, כי בשנים האחרונות הועלתה במספר עבודות היפוטזה

הטוענת כי סוכרוז עשוי לשחק תפקיד מרכזי בבקרת שעתוק הגן *AtFT* [14]. מעורבות אפשרית של סוכרוז בהשראת ביטוי *AtFT* אף הודגמה לאחרונה באופן אלגנטי, כתלות ביצירתו של המטבוליט של סוכרוז (T6P) Trehalose-6-phosphate. מעורבות זו הוכחה ע"י שימוש בצמחים טרנספורמנטים בהם דוכא ביטוי הגן המקודד ל- Trehalose-6-phosphate synthase [30]. בעבודה הנוכחית, כדי להמשיך ולבחון את השפעת השינוי ברמת הסוכרים על ביטוי הגן *PaFT*, בחרנו לעבוד עם מערכת דיסקיות עלי אבוקדו ולבדוק האם ניתן להשרות עלייה בביטוי הגן לאחר הדגרת הדיסקיות בנוכחות סוכרים מסיסים שונים, בתנאי *In vitro*. לצורך הניסויים הודגרו דיסקיות עלים שנדגמו מעצים במצב שפע או שפל, למשך 24 ש' בהעדר ו/או בנוכחות סוכרים מסיסים שונים ביניהם: סוכרוז, גלוקוז ופרסיטול, ונבדקה רמת ביטוי הגן. לצרכי ביקורת פנימית הודגרו הדיסקיות בריכוז מולרי שווה ערך עם סורביטול, המשנה את הריכוז האוסמוטי של התמיסה. העלים ששימשו להכנת הדיסקיות נדגמו במועדים שונים במהלך עונת 2012/13. תוצאות אנליזת ביטוי במערכת זו מוצגות באיור 10 (* יש לציין שהיה זה ניסוי ראשוני ללא חזרות ביולוגיות (אך עם חזרות טכניות)).



איור 10: דגם הביטוי התנודתי של *PaFT* בדיסקיות עלים מעצים במצב שפע ושפל, בהעדר ו/או בנוכחות סוכרים מסיסים שונים. העלים ששימשו להכנת הדיסקיות נדגמו במהלך החודשים נובמבר-פברואר בעונת 2012/13. הדיסקיות הודגרו בארלמירים במדיום נוזלי בהעדר ו/או בנוכחות 100mM סוכרוז, גלוקוז, פרסאיטול, וסורביטול. כל עמודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 3 חזרות טכניות

כפי שניתן לראות ביטוי *PaFT* בדיסקיות העלים שלא קיבלו סוכרים תאמה פחות או יותר את דגם הביטוי של העלים מהשנה הקודמת. עלייה בביטוי הגן החלה בנובמבר, שיאה חל באמצע דצמבר וירידה הדרגתית בביטוי התרחשה עד פברואר. השיא המאוחר יותר תאם את דגימות העלים של חורף 12/13. ההבדל בין דיסקיות עלים משנת שפל לעומת שנת שפע תאם אף הוא את הממצאים מהעלים בשנה הקודמת: ביטוי גבוה יותר בדיסקיות משנת שפל. לבסוף חשוב לציין שרמת הביטוי של *PaFT* בדיסקיות

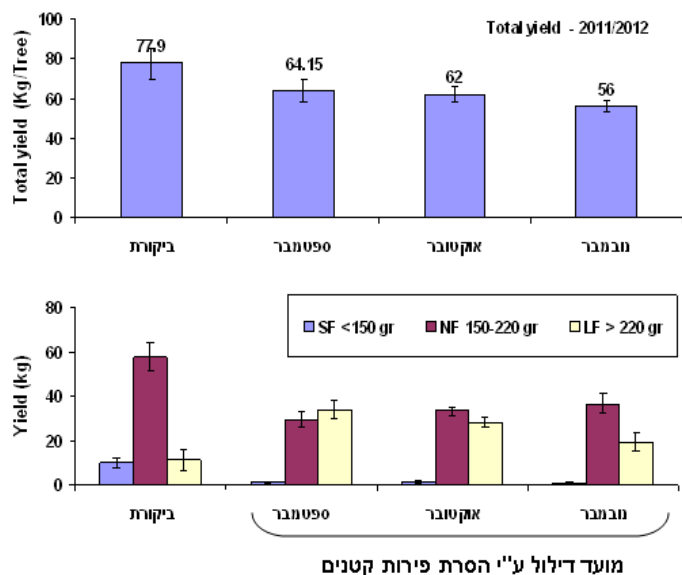
העלים היתה נמוכה משמעותית לעומת דגימות העלים באותם מועדים. כמן כן, מהסתכלות על תוצאות טיפולי הסוכרים השונים נראה שהטיפול היחיד בעל השפעה ברורה היה זה של הוספת סוכרוז. טיפול זה גרם לעליה בביטוי *PaFT* אך ורק בדיסקיות עלים

מעצים במצב שפל שנדגמו בחודש נובמבר-במועד וברקמה בה ביטוי *PaFT* החל לעלות. תוצאות אלו הינן אמנם ראשוניות אולם הן מדגימות את מורכבות בקרת ביטוי הגן ומעלות את האפשרות שאחד הגורמים הנוספים שעשוי לשחק תפקיד בבקרת ביטוי *PaFT*, הינו ההבדל ביכולת חישת סיגנאלים אנדוגנים ו/או סביבתיים. בפרט, התוצאות שהתקבלו מצביעות על העובדה כי יכולת חישת השינויים ברמת הסוכרוז בעלה, משתנה לא רק בהשפעת עומס פרי אלא גם כן במהלך השנה. האפשרות שגורמים נוספים כגון, שינויים במאזן ההורמונים או ברמת מולק' *miRNA* בעלה, שעשויים גם הם להיות מושפעים מנוכחות פרי על העץ, ולבקר בהתאם את ביטוי *PaFT*, ואת המעבר לפריחה נותרת כותרחיש שיש לבססו.

מה הלאה? עבודה זו, השופכת לראשונה אור על מנגנונים מולקולריים המבקרים פריחה באבוקדו 'האס' ואשר עשויים להשפיע על תופעת הסירוגיות, מהווה נדבך ראשון במחקר. עבודתנו הייתה מוגבלת, בעיקר בשל העדר תשתית גנומית אשר קיימת כיום. תשתית זו, מאפשרת כעת בחינה מקיפה של תהליכים המתרחשים לפני האינדוקציה וההתמיינות לפריחה בעלים ובפקעים. בחינה מולקולרית זו צריכה להיעשות במקביל לבדיקות השינויים בפרופיל ההורמונלי הכללי בנקודות זמן ספציפיות.

4. השלכות יישומיות. ממצאי עבודתנו הורו כי רמת הסוכרים בעלה, התלוייה בתנודתיות הקיימת ביחסי מקור-מבלע, עשויה להשפיע על ביטוי האינדוקציה לפריחה בשנה העוקבת. בהתאם, ניתן היה להניח כי שינוי יחסי מקור-מבלע ע"י דילול מידתי עשוי למתן את תופעת הסירוגיות. אחת הגישות ההורטיקולטוריות הנפוצות להפחתת תופעת הסירוגיות בעצי פרי אמנם מבוססות על דילול חנטיים/פרי בשנת השפע, אולם חקלאים נרתעים להשתמש באמצעי זה. כאמור, הזן 'האס' מתאפיין לא רק בבעיית סירוגיות אלא גם בבעיית גודל פרי המחריפה בשנת שפע. גידולו של הפרי הקטן בזן 'האס' מועט יחסית בשוואה לפרי גדול, ומחירו נמוך מהפרי הגדול. עבודת שערכנו אנו ואחרים הובילו למסקנה כי הגורם המגביל את התפתחות הפירות הקטנים אינו גידול התאים אלא עיכוב בתהליך חלוקתם [31,12]. בהתחשב בערכם הכלכלי הנמוך של הפירות הקטנים, המהווים כ-20% מהיבול בשנות שפע, דווקא טיפול דילול ידני ע"י הסרת פרקציית הפרי הקטן בזן זה עשוי להצדיק מבחינה כלכלית את השימוש באמצעי הזה למיתון הסירוגיות. בהתאם, ביצענו ניסוי הקדמי בו בדקנו את האופציה לשימוש באמצעי זה בניסיונות שטח בקנה מידה קטן. הניסויי בוצע במהלך עונת 12/2011 במטע 'האס' בקיבוץ אייל. לצורך הניסויי נבחרו 16 עצים במצב שפע, ארבעה עצים הוגדרו כעצי ביקורת ו-12 העצים הנוספים חולקו לשלוש קבוצות טיפול (4 עצים לטיפול). טיפולי הדילול בוצעו בכל קבוצת טיפול ע"י הסרת פרקציית הפירות הקטנים באופן ידני בראשית החודשים ספטמבר, אוקטובר ונובמבר. בהמשך, בתקופת הקטיפה המסחרי של אותה עונה (סוף ינואר 2012), נבדקה בכל עץ רמת היבול הכללי והתפלגות גודלי הפירות (ראה איור 11). תוצאות בדיקה זו הראו כי היבול הגבוה ביותר, ממוצע של 77.9 ק"ג לעץ, התקבל כצפוי, בעצי הביקורת בהם לא בוצעו טיפולי דילול (איור 11א'). מאידך, טיפולי הסרת פרקציית הפרי הקטן גרמו לפחת ביבול הכללי שנע בין 17-28%, כתלות במועד הדילול. במקרה זה, ככל שטיפול הדילול בוצע במועד מוקדם יותר, כך הפחת ביבול הכללי היה נמוך יותר. בדיקת התפלגות גודלי הפירות הראתה כי בעצי

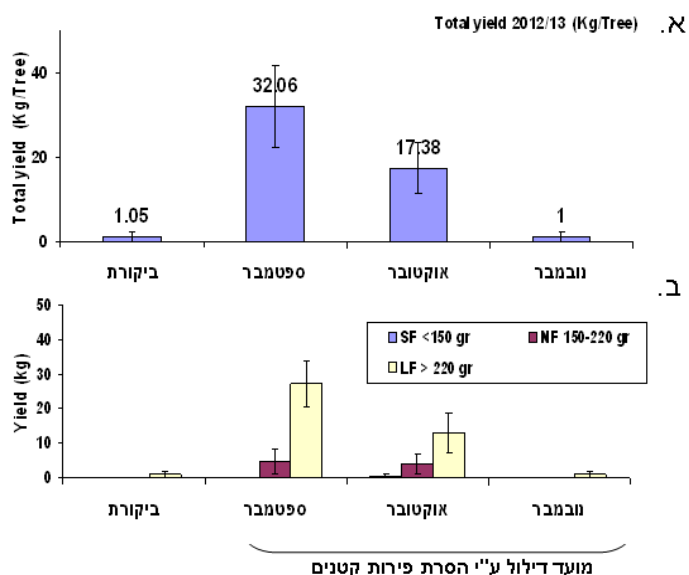
הביקורת התקבלה מגמה של התפלגות "נורמאלית", רוב הייבול (כ-73%) התאפיין בפירות במשקל בינוני (NF), 15% מהיבול התאפיין בפירות שמשקלם היה גבוה מ-220 גר' (LF) והפרקציה הנותרת (12%) התאפינה בפירות שמשקלם היה קטן מ-150 גר' (SF). בניגוד לכך, לאחר ביצוע טיפולי דילול ע"י הסרת פרקציית הפרי הקטן התקבלה מגמה התפלגות שונה. בפרט, לאחר



א. טיפולים אלו לא התקבלו כלל פירות קטנים במועד הקטיף ויבול הטיפולים התאפיין בהימצאות פירות במשקל בינוני (NF) וגבוה (LF) בלבד. באופן מעניין, כאשר הטיפול בוצע בתחילת החודשים ספטמבר ואוקטובר, גרר הטיפול עלייה משמעותית ומובהקת (של עד פי-3) במשקל הכולל של פרקצית הפירות בעלי משקל גבוה (LF), וירידה במשקל הכולל של פרקצית הפירות הבינוניים (NF), בהשוואה לביקורת.

איור 11- השפעת טיפולי דילול על רמת הייבול (א) ועל התפלגות גודל הפרי (ב). פרקצית הפרי הקטן הוסרה באופן ידני במועדים שונים במהלך עונת 12/2011. הייבול הכללי נקטף בינואר 2012. כל עמודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 חזרות (4 עצים).

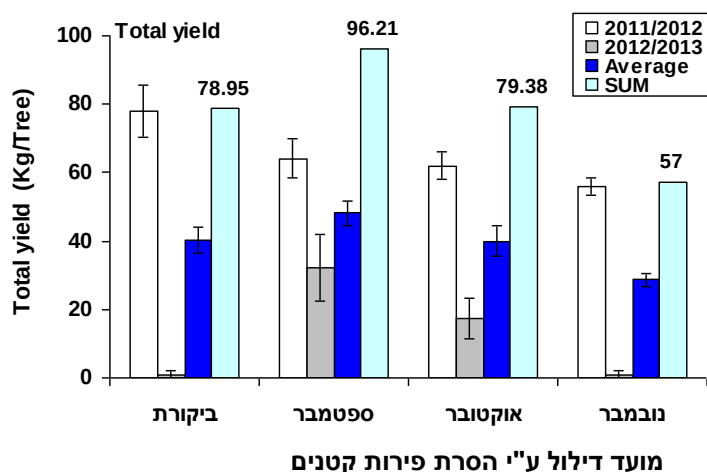
בשנה העוקבת, בדקנו שוב את רמת הייבול הכללי ואת התפלגות גודלי הפירות באותם עצים. בדיקה זו בוצעה בתקופת הקטיף המסחרי של עונת 13/2012 (ראה איור מספר 12). תוצאות בדיקות אלו הראו כי בעצי הביקורת, בהם דוכא לגמרי המעבר לפריחה באביב הקודם (בשל עומס הפרי), התקבל כעת היבול הנמוך ביותר: ממוצע של כ-1 ק"ג לעץ בלבד. בניגוד לכך, בעצים בהם בוצעו



א. טיפולי דילול ע"י הסרת פרקציית הפירות הקטנים, התקבל יבול כללי ממוצע גבוה יותר, בהשוואה לעצי ביקורת. באופן כללי, שטיפולי הדילול בוצעו במועד מוקדם יותר, כך רמת היבול הכללי הממוצע בעונה העוקבת היה גבוה יותר (ספטמבר < אוקטובר < נובמבר). בחינת התפלגות גודלי הפירות בעונה השנייה הראה כי יבולם של העצים בהם בוצעו טיפולי הדילול התאפיין בהימצאות פירות במשקל בינוני וגבוה ובהעדר כמעט מוחלט של פירות בעלי משקל נמוך (SF). בפרט, בטיפול הדילול בו הוסרה פרקציית הפירות הקטנים, במועד המוקדם ביותר (בספטמבר 2011), התקבל בעונה העוקבת אחוז גבוה של פירות בבעלי משקל גבוה מ-220 גר' (כ-80% מכלל הייבול).

איור 12- השפעת טיפולי דילול על רמת הייבול (א) ועל התפלגות גודל הפרי (ב) בשנה העוקבת.

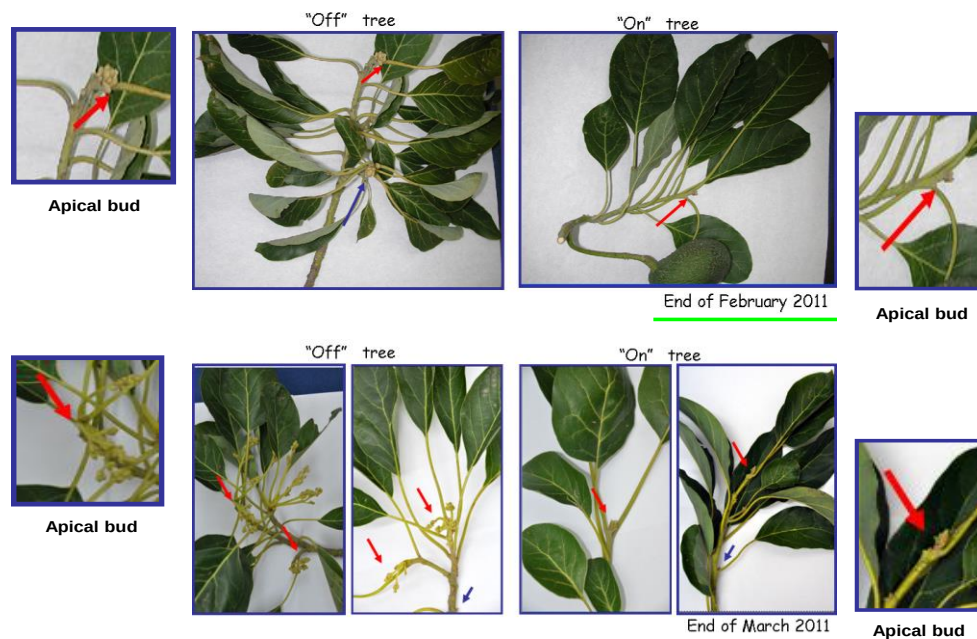
בשנה השנייה, לאחר איסוף כלל הנתונים, בחנו גם השפעת הטיפולים על רמת הייבול הדו שנתי. סיכום הנתונים מוצג באיור 13. כפי שניתן לראות, טיפול הדילול שבוצע בתחילת חודש ספטמבר גרם לעלייה מובהקת בממוצע הייבול הדו-שנתי (ובסכום הייבול הדו שנתי), בהשוואה לביקורת. עלייה זו לא נצפתה כאשר הטיפול בוצע במועדים מאוחרים יותר (אוקטובר ונובמבר). במקביל, חישוב מדד הסירוגיות הראה כי רמת הסירוגיות הגבוהה ביותר התקבלה בעצי הביקורת (אינדקס ממוצע של 0.98), ואילו טיפולי דילול שבוצעו בתחילת החודשים ספטמבר ואוקטובר הקטינו את מידת הסירוגיות (אינדקס ממוצע של 0.4 ו-0.6, בהתאם) (לא מוצג). לבסוף, לטיפול הדילול המאוחר ביותר (שבוצע בחודש נובמבר), לא הייתה כל השפעה ומידת הסירוגיות בעצים אלו הייתה גבוהה כמו בעצי הביקורת (לא מוצג).



איור 13- השפעת טיפולי דילול על ממוצע הייבול הדו שנתי (ועל סך הייבול הדו שנתי) בהשוואה לביקורת. פרקצית הפרי הקטן הוסרה באופן ידני במועדים שונים במהלך עונת 12/2011. הייבול הכללי נקטף בינואר 2012 וינואר 2013. כל עמודה מייצגת ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 חזרות (4 עצים).

לסיכום: תוצאות הניסוי שביצענו הראו כי טיפול דילול ע"י הסרה ידנית של פרקציית הפרי הקטן בשנת שפע, בתחילת חודש ספטמבר, הובילה למיתון אינדקס הסירוגיות ולהעלאת ממוצע הייבול הדו שנתי, בהשוואה לביקורת. בעקבות ממצאים אלו הגשנו בסוף שנת 2013 תוכנית יישומית לשולחן מגדלי האבוקדו בה הצענו לבחון את השימוש בדילול עומס פרי, ע"י הסרה סלקטיבית של פרקציית הפרי הקטן בשנת שפע, כאמצעי למיתון הסירוגיות באבוקדו מזן 'האס'. התוכנית אושרה וניסויים אלו מבוצעים בשנה במטעי 'האס' מסחריים בקיבוץ אייל וכפר גליקסון.

1. Samach A, Smith HM (2013) Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials. II: Environment and fruit load affect induction of flowering. *Plant Sci* 207: 168-176.
2. Wilkie JD, Sedgley M, Olesen T (2008) Regulation of floral initiation in horticultural trees. *J Exp Bot* 59: 3215-3228.
3. Monselise SP, Goldschmidt EE (1982) Alternate bearing in fruit trees. *Hort Rev* 4: 128-173.
4. Goldschmidt EE, Aschkenazi N, Hezano Y, Schaffer AA, Monselise SP (1985) A role for carbohydrate levels in the control of flowering in *Citrus*. *Scientia Horticulturae*: 159-166.
5. Goldschmidt EE, Golomb A (1982) The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and the significance of reserve for flowering and fruiting. *J Am Soc Hort Sci* 107: 206-208.
6. Schaffer B, Wolstenholme BN, Whaley AW (2013) *The Avocado: Botany, Production and Uses* New York, NY: CABI.
7. Salazar-Garcia S, Lord EM, Lovatt CJ (1998) Inflorescence and flower development of the 'Hass' avocado during "on" and "off" crop years. *J Amer Soc Hort Sci* 123: 537-544.
8. Lovatt CJ. Eliminating alternate bearing of the 'Hass' avocado; 2005; Riverside, Ca. University of California. pp. 75-86.
9. Lovatt CJ. Eliminating alternate bearing of the 'Hass' avocado; 2006; Riverside, Ca. University of California. pp. 127-142.
10. Lovatt CJ (2010) Alternate Bearing Of 'Hass' Avocado. *California Avocado Society Yearbook*: 125-140.
11. Cowan AK, Taylor NJ, van Staden J (2005) Hormone homeostasis and induction of the small-fruit phenotype in 'Hass' avocado. *Plant Growth Regulation* 45: 11-19.
12. Sabag M, Ben Ari G, Zviran T, Biton I, Goren M, et al. (2013) PaKRP, a cyclin-dependent kinase inhibitor from avocado, may facilitate exit from the cell cycle during fruit growth. *Plant Sci* 213: 18-29.
13. Imaizumi T, Kay SA (2006) Photoperiodic control of flowering: not only by coincidence. *Trends Plant Sci* 11: 550-558.
14. Turnbull C (2011) Long-distance regulation of flowering time. *J Exp Bot* 62: 4399-4413.
15. Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, et al. (2004) Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* 303: 1003-1006.
16. Endo T, Shimada T, Fujii H, Kobayashi Y, Araki T, et al. (2005) Ectopic expression of an FT homolog from Citrus confers an early flowering phenotype on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). *Transgenic Res* 14: 703-712.
17. Trankner C, Lehmann S, Hoenicka H, Hanke MV, Fladung M, et al. (2011) Over-expression of an FT-homologous gene of apple induces early flowering in annual and perennial plants. *Planta* 232: 1309-1324.
18. Nakagawa M, Honsho C, Kanzakia S, Shimizu K, Utsunomiya N (2012) Isolation and expression analysis of FLOWERING LOCUS T-like and gibberellin metabolism genes in biennial-bearing mango trees. *Sci Hortic* 139: 108-117.
19. Hsu CY, Adams JP, Kim H, No K, Ma C, et al. (2011) FLOWERING LOCUS T duplication coordinates reproductive and vegetative growth in perennial poplar. *PNAS* 108: 10756-10761.
20. Blazquez MA, Weigel D (2000) Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis*. *Nature* 404: 889-892.
21. Hanzawa Y, Money T, Bradley D (2005) A single amino acid converts a repressor to an activator of flowering. *PNAS* 102: 7748-7753.
22. Yoo SJ, Chung KS, Jung SH, Yoo SY, Lee JS, et al. (2010) BROTHER OF FT and TFL1 (BFT) has TFL1-like activity and functions redundantly with TFL1 in inflorescence meristem development in *Arabidopsis*. *Plant J* 63: 241-253.
23. Munˆoz-Fambuena N, Mesejo C, Gonzaˆlez-Mas MC, Primo-Millo E, Agustıˆ M, et al. (2011) Fruit regulates seasonal expression of flowering genes in alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Ann Bot* 108: 511-519.
24. Munˆoz-Fambuena N, Mesejo C, Gonzaˆlez-Mas MC, Primo-Millo E, Agustıˆ M, et al. (2012) Fruit load modulates flowering-related gene expression in buds of alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Ann Bot* 110: 1109-1118.
25. Shalom L, Samuels S, Zur N, Shlizerman L, Doron-Faigenboim A, et al. (2014) Fruit load induces changes in global gene expression and in abscisic acid (ABA) and indole acetic acid (IAA) homeostasis in citrus buds. *J Exp Bot*.
26. Shalom L, Samuels S, Zur N, Shlizerman L, Zemach H, et al. (2012) Alternate bearing in citrus: changes in the expression of flowering control genes and in global gene expression in ON- versus OFF-crop trees. *PLoS One* 7: e46930.
27. Nishikawa F, Endo T, Shimada T, Fujii H, Shimizu T, et al. (2007) Increased CiFT abundance in the stem correlates with floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *J Exp Bot* 58: 3915-3927.
28. Liu X, Robinson PW, Madore M, Witney GW, Arpaia M (1999) 'Hass' Avocado Carbohydrate Fluctuations. I. Growth and Phenology. *J Amer Soc Hort Sci* 124: 671-675.
29. Liu X, Sievert J, Arpaia M, Madore M (2002) Postulated physiological roles of the seven-carbon sugars, mannoheptulose, and perseitol in avocado. *J Amer Soc Hort Sci* 127: 108-114.
30. Wahl V, Ponnu J, Schlereth A, Arrivault S, Langenecker T, et al. (2013) Regulation of flowering by trehalose-6-phosphate signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 339: 704-707.
31. Dahan Y, Rosenfeld R, Zadiranov V, Irihimovitch V (2010) A proposed conserved role for an avocado FW2.2-like gene as a negative regulator of fruit cell division. *Planta* 232: 663-676.



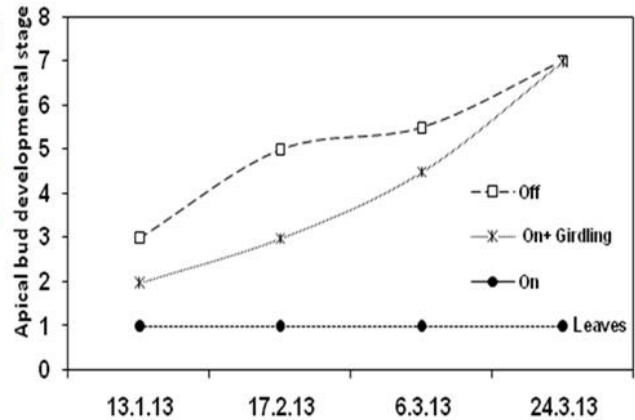
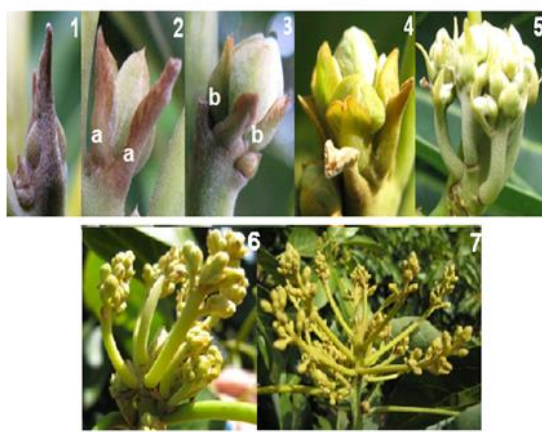
נספח א' - ענפים שנדגמו מעצים במצב שפע ושפל בסוף חודש פברואר ומרץ. פקעים אפיקלים וצדדים מסומנים בחצים אדומים וכחולים, בהתאם. בעוד הפקעים הקודקודים שמופו בעצים במצב שפע (נושאי פרי בבסיס), התמינו לעלים ולא לתפרחות. בניגוד לכך, בעצים מהם הוסר כלל הפרי בתחילת חודש יולי (Off-like trees), הפקעים הקודקודיים עברו התמינות ליצירת תפרחות.

				*	20		*	40		*	60		*	80																																																																										
PaFT	:	M	---	A	R	E	R	D	P	L	V	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	N	R	S	I	P	L	R	V	T	F	N	N	-	R	E	V	T	N	G	C	D	L	R	H	S	H	V	A	N	Q	P	R	V	E	I	G	G	N	D	L	R	T	F	Y	T	L	V	M	V	D	P	D	A	P	S	P	S	D	E	T	L	R	:	82		
MdFT	:	M	---	P	R	D	R	D	P	L	V	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	R	S	V	S	L	R	V	T	Y	G	N	-	K	E	V	N	N	G	C	E	L	K	E	S	O	V	H	Q	P	R	V	D	T	G	G	D	L	R	T	F	Y	T	L	V	M	V	D	P	D	A	P	S	P	S	D	E	N	L	K	:	82					
PtFT1	:	M	---	S	R	D	R	D	P	L	S	V	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	T	K	S	I	P	L	R	V	T	Y	N	S	-	R	E	V	N	N	G	C	E	L	K	E	S	O	V	A	N	Q	P	R	V	D	I	G	G	E	D	L	R	T	F	Y	T	L	V	M	V	D	P	D	A	P	S	P	S	D	E	S	L	R	:	82	
CiFT	:	M	---	S	S	R	E	R	D	P	L	V	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	N	R	T	I	P	R	I	T	Y	S	N	-	K	D	V	N	N	G	R	B	L	K	E	S	O	V	L	N	Q	P	R	A	E	I	G	G	D	L	R	T	F	Y	T	L	V	M	V	D	P	D	A	P	S	P	S	D	E	S	L	R	:	83			
AtFT	:	M	---	S	I	N	I	R	D	P	L	I	V	S	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	N	R	S	I	T	L	K	V	T	Y	G	-	R	E	V	T	N	G	L	D	L	R	E	S	O	V	N	K	P	R	V	E	I	G	G	E	D	L	R	T	F	Y	T	L	V	M	V	D	P	D	V	P	S	P	N	P	H	L	R	:	83			
AtBFT	:	M	---	S	R	E	I	E	P	L	I	V	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	N	R	S	V	T	M	R	V	T	F	N	S	N	T	I	V	S	N	G	H	E	L	A	E	S	L	D	L	S	K	P	R	V	E	I	G	G	D	L	R	S	F	F	T	L	I	M	M	D	P	D	A	P	S	P	S	N	P	P	Y	M	R	:	83	
AtTFL1	:	M	---	E	N	M	M	G	R	V	I	E	P	L	I	M	G	R	V	I	G	D	V	L	D	P	F	T	T	K	N	V	S	Y	N	K	-	K	O	V	S	N	G	H	E	L	F	E	S	S	V	S	S	K	P	R	V	E	I	H	G	G	D	L	R	S	F	F	T	L	V	M	I	D	P	D	V	E	G	S	P	D	E	F	L	K	:	86

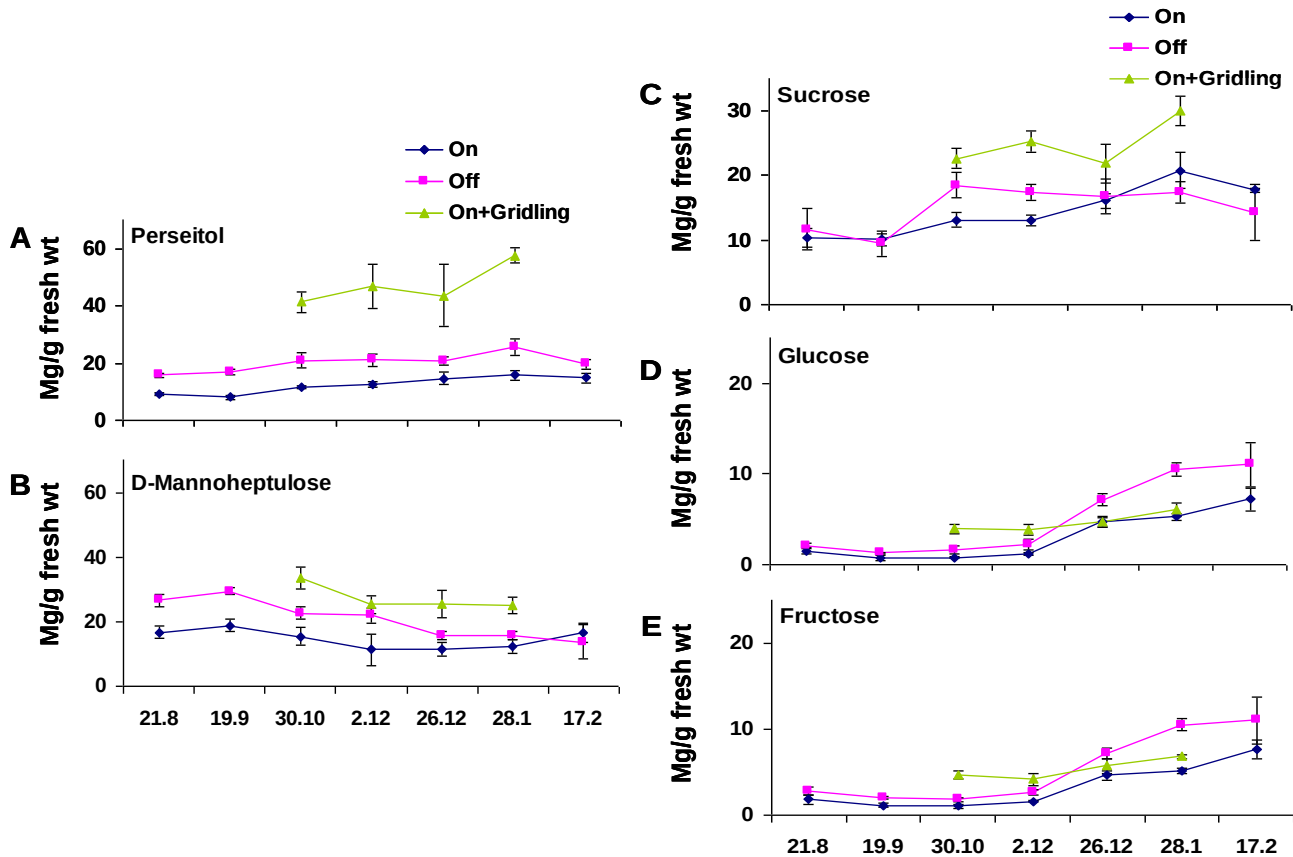
				*	100		*	120		*	140		*	160		*																																																																									
PaFT	:	E	Y	L	H	W	L	V	T	D	I	P	A	T	T	E	A	S	F	G	E	I	V	C	Y	E	S	P	R	P	T	V	G	I	H	R	L	V	F	A	L	F	R	Q	L	G	R	O	T	V	Y	A	P	-	G	W	R	Q	N	F	N	T	R	D	F	A	E	I	Y	N	L	G	L	P	V	A	A	L	Y	C	N	C	Q	R	E	S	G	:	168
MdFT	:	E	Y	L	H	W	L	V	T	D	I	P	A	T	T	E	A	S	F	G	E	I	V	C	Y	E	S	P	R	P	T	V	G	I	H	R	E	V	F	V	L	F	R	Q	L	G	R	O	T	V	Y	A	P	-	G	W	R	Q	N	F	N	T	R	D	F	A	E	I	Y	N	L	G	L	P	V	A	A	V	F	N	C	Q	R	E	S	G	:	168	
PtFT1	:	E	Y	L	H	W	L	V	T	D	I	P	A	T	T	E	A	S	F	G	E	I	V	C	Y	E	S	P	R	P	T	V	G	I	H	R	E	V	F	V	L	F	R	Q	L	G	R	O	T	V	Y	A	P	-	G	W	R	Q	N	F	N	T	R	D	F	A	E	I	Y	N	L	G	L	P	V	A	A	V	F	N	C	Q	R	E	S	G	:	168	
CiFT	:	E	Y	L	H	W	L	V	T	D	I	P	A	T	T	E	A	S	F	G	E	I	V	C	Y	E	S	P	R	P	T	V	G	I	H	R	E	V	F	V	L	F	R	Q	L	G	R	O	T	V	Y	A	P	-	G	W	R	Q	N	F	N	T	R	D	F	A	E	I	Y	N	L	G	L	P	V	A	A	V	F	N	C	Q	R	E	S	G	:	169	
AtFT	:	E	Y	L	H	W	L	V	T	D	I	P	A	T	T	E	A	S	F	G	E	I	V	C	Y	E	S	P	R	P	T	V	G	I	H	R	V	F	L	F	R	Q	L	G	R	O	T	V	Y	A	P	-	G	W	R	Q	N	F	N	T	R	E	F	A	E	I	Y	N	L	G	L	P	V	A	A	V	F	N	C	Q	R	E	S	G	:	169			
AtBFT	:	E	Y	L	H	W	M	V	T	D	I	P	C	T	T	D	A	S	F	G	R	E	I	V	R	Y	E	T	P	K	F	V	A	G	I	H	R	V	F	A	L	F	K	Q	R	O	A	V	K	A	P	E	T	R	E	C	F	N	T	N	A	F	S	S	Y	F	G	L	S	Q	P	V	A	A	V	F	N	A	O	R	E	T	A	:	170				
AtTFL1	:	E	Y	L	H	W	I	V	T	N	I	P	C	T	T	D	A	T	F	K	G	E	V	V	S	Y	E	L	P	E	S	T	G	I	H	R	E	V	F	V	L	F	R	Q	K	O	R	V	I	P	N	I	P	S	R	D	H	E	N	T	R	K	F	A	V	E	Y	D	L	G	L	P	V	A	A	V	F	N	A	O	R	E	T	A	:	173			

					180					
PaFT	:	S	G	G	R	R	---	:	174	
MdFT	:	S	G	G	R	R	---	:	174	
PtFT1	:	S	G	G	R	R	---	:	174	
CiFT	:	S	G	G	R	P	V	R	---	177
AtFT	:	C	G	G	R	L	---	:	175	
AtBFT	:	P	R	R	R	P	S	Y	---	177
AtTFL1	:	A	R	K	R	---	:	177		

נספח ב' - השוואת רצף חומצות האמינו המתורגם ותכונות מבוניות של PaFT מאבוקדו ובמינים שונים. השוואת רצף חומצות האמינו של PaFT עם ארבעה רצפי FT מייצגים: מתפור (MdFT), מצפצה, מהדרים (CiFT) ומאריבובסיס (AtFT) מסומנות בחץ ח"א שמורות: Tyr 85 (Y)/ His 88 (H) לבין FT, Gln 140 (Q)/ Asp 144 (D)/ Glu, TFL1 (E) המבדילות בין FT לבין BFT ו-TFL1. מודגש בקו אזור שמור (LGRQTVYAPGWRQN) המקנה פעילות ספציפית לחלבוני FT אך לא לחלבוני TFL1 או BFT.



נספח ג'- מעקב אחר שלבי התפתחות הפקע הקודקודי בענפים בלתי מחוגרים ומחוגרים מעצים במצב שפע, ובענפים ממצב שפל. כדי לבדוק כיצד השפיע הטיפול על המעבר לפריחה ערכנו מעקב אחר השינויים שחלו בפקעים הקודקדים של הענפים המחוגרים. במקביל, ולצורכי ביקורת עקבנו אחר השינויים שחלו בפקעים הקודקודים של ענפים מעצים שלא עברו טיפולי חיגור ושל ענפים מעצים במצב שפל. השלבים בהתפתחות הפקעים, הוגדרו על פי הסקלה שמוצגת משמאל מ-1-7. כל ערך מייצג ממוצע של כ-20 תצפיות.



נספח ד'- שינויים עונתיים בצבירת סוכרים מסיסים, בעלים מעצים בשנת שפע (On), שפל (Off) ובעלים מענפי החיגור (On+Girdling) לאורך החודשים אוגוסט-פברואר 2013. רמת הסוכרים מוצגת ביחידות של mg/g fresh wt. כל ערך מייצג ממוצע $\pm$ שגיאת תקן של 4 חזרות ביולוגיות.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה : מחקר זה הציע לימוד בסיסי של המנגנונים המולקולריים העשויים לבקר את מנגנון הסירוגיות בזן 'האס' ובהתאם, את שלבי המחקר הבאים : **א.** איפיון פסיולוגי – בחינת השפעת עומס פרי על צימוח וגטטבי ועל פריחה בשנה העוקבת. **ב.** בידוד ואיפיון גנים "מתזמני פריחה" ו"מעכבי פריחה" מאבוקדו. **ג.** איפיון דגם הביטוי של גנים אלו בניצנים הקודקודים ובעלים הסמוכים לניצנים אלו בשנת שפע (On) ובשנת שפל (Off). **ד.** בדיקת השפעת ABA על התמיינות לפריחה ועל דגם הביטוי של הגנים המעורבים בבקרת פריחה

עיקרי הניסויים והתוצאות לשנות המחקר 2010-2014: בשנות המחקר בוצעו ניסיונות הקשורים לשלבי המחקר המוצעים **א-ג.** לא בוצעה עבודת מחקר הקשורה לשלב **ד'**, מכיוון שתוצאות העבודה הובילו לכיווני מחקר חדשים שלא חשבנו להתמקד בהם תחילה. בעיקר, בחינת השפעת סוכרים של ביטוי *PaFT* לכן הוחלט לשנות את תוואי המחקר. להלן פירוט הניסויים והתוצאות של שלבי המחקר **א-ג** שבוצעו : **א-** בכדי לבדוק את השפעת עומס הפרי על הפריחה בשנה העוקבת ערכנו ניסויי הסרת פרי. מכלול הנתונים שהתקבל הראה כי הימצאות פרי על העץ מיוזלי עד אוק' אינה מעכבת פריחה, מאידך, הימצאות פרי על העץ מאוק' והלאה, מעכבת את הפריחה בשנה העוקבת. **ב-** שובט באופן מלא גן המקודד לכאורה לחלבון "מתזמן הפריחה" *FT*. רמת הדמיון הגבוהה, ברמת רצף החלבון, בין *PaFT* ובין חלבוני *FT* ממני צמחים שונים כמו גם תוצאות אפיון דגם ביטויי ההתפתחותי של הגן *PaFT* ברקמות העלה, הגבעול והניצנים הקודקודים מעצים במצב On ובמצב Off, במקביל לבחינת דגם ביטויים של הגנים *PaAP1* ו-*PaLFY* המקודדים לחלבונים שאחראים למעבר לפריחה, הורה כי עומס פרי באבוקדו משפיע על ביטויים של גנים הקשורים לפריחה, הן בעלים והם בניצנים. תוצאותינו תומכות בנוסף ברעיון ש-*PaFT* עשוי לתפקד כ"פלורין" וכי ביטוי מוגבר שלו ברקמת העלה בחודשים אוק-נוב, עשוי לבקר את המעבר לפריחה בפקעים. **ג-** לאור הממצאים שהתקבלו ניתן לתהות מהו המנגנון דרכו עומס פרי משפיע על דיכוי ביטוי *PaFT* ? אחת ההיפותזות שהעלנו הינה שבעצי Off, במצב של העדר "מבלע", מתרחשת עלייה מסוימת ברמת הסוכרים בעלים. עלייה זו עשויה להשפיע באופן ישיר או עקיף על ביטוי *PaFT*. השערה זו אומתה בחלקה על ידי כימות כלל הסוכרים בעלים. תוצאות אנליזה זו הצביעו על קיומם של הבדלים בצבירת כלל הסוכרים בין עלים מעצי On ו-Off. השפעת העלייה ברמת הסוכרים, על ביטוי *PaFT* נבחנה לאחר ביצוע חיסולים בענפים מעצים במצב שפע וע"י שימוש במערכת דיסקיות עלי אבוקדו. בפרט, תוצאות ניסיונות אלו תמכו ברעיון שעלייה ברמת סוכרוז ו/או פרסאיטול בעלים (המושרית באופן עקיף בהעדר פרי), עשויה להשרות עלייה בביטוי *PaFT* ולהשפיע באופן חיובי על הפריחה. תוצאות ניסיונות אלו הדגימו במקביל את מורכבות בקרת ביטוי *PaFT*. לבסוף, בחלק היישומי של עבודה זו בחנו כיצד ישפיעו טיפולי דילול פרי על היבול הכללי ועל מדד הסירוגיות. תוצאות הניסויים שערכנו הראו כי טיפול דילול ידני שבוצע ע"י הסרת פרקציית הפרי הקטן בשנת שפע, בתחילת ספטמבר, הוביל למיתון אינדקס הסירוגיות ולהעלאת הייבול הדו שנתי הממוצע.

מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח? מטרות המחקר אשר הוצבו למחקר זה הושגו. כמו כן ישנן השלכות יישומיות לתוצאות שהושגו במסגרת טיפולי דילול ע"י הסרת פרי קטן (ראה סעיף 4).

הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח : פרסומים בכתב - ציטוט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי ; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט ; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי. צפי פרסום מדעי והרצאות בנושא –

1-Ziv, D, Zviran, T, Zezak, O, Eselson, E, Schaffer, A, Samach, A and Irihimovitch, V. Expression profiling of *FLOWERING LOCUS T*-like gene in alternate bearing 'Hass' avocado trees suggests a role for *PaFT* in avocado flower induction (In preparation, to be submitted to PMB).

הרצאות בנושא: "לימוד מנגנוני בקרת הסירוגיות באבוקדו 'האס' הועברו בפורום של כנסי מגדלי אבוקדו במקומות ובתאריכים הבאים: בית דגן דצמ' 2012, גרנות ומילופי ינואר פברואר 2013, גרנות פברואר 2014. הרצאה בנושא תינתן גם כן באוג' 2014 בכנס הורטיקולטורי שיערך בבריסבן אוסטרליה ע"י החוקרת הראשית.

אני ממליץ לפרסם את הדוח : (סמן אחת מהאופציות) חסוי – לא לפרסם חסוי עדין לא לפרסם עד לפרסום המאמר
אני מתכוונת להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן* - תוכנית המשך הוגשה.

