

איתור מפרה מצטיין לסטרקינג לשם העלאת פוריותו

רפי שטרן, מרטין גולדווי, דורון שניידר

מבוא:

תוצאות ממחקרים קודמים מצביעים על כך ששלב ההאבקה בזן 'Topred', במטעי ישראל, הנו גורם מגביל לקבלת יבול. נמצא כי יבול ה-'Topred' תלוי בזן המאביק (Goldway et al., 1999). בעבודה זו נלמדים גורמים בעלי משמעות בהאבקה והפריה של הזן 'Topred' בתנאי הארץ, בכדי להבין חלק מהסיבות לפוריות הנמוכה של הזן. העבודה עוסקת בתחומים הבאים: תכונות הפרח, האבקה בעזרת הדבורים ומנגנון אי-ההתאם העצמי הגמטופיטי הקיים בזן זה.

מטרות העבודה:

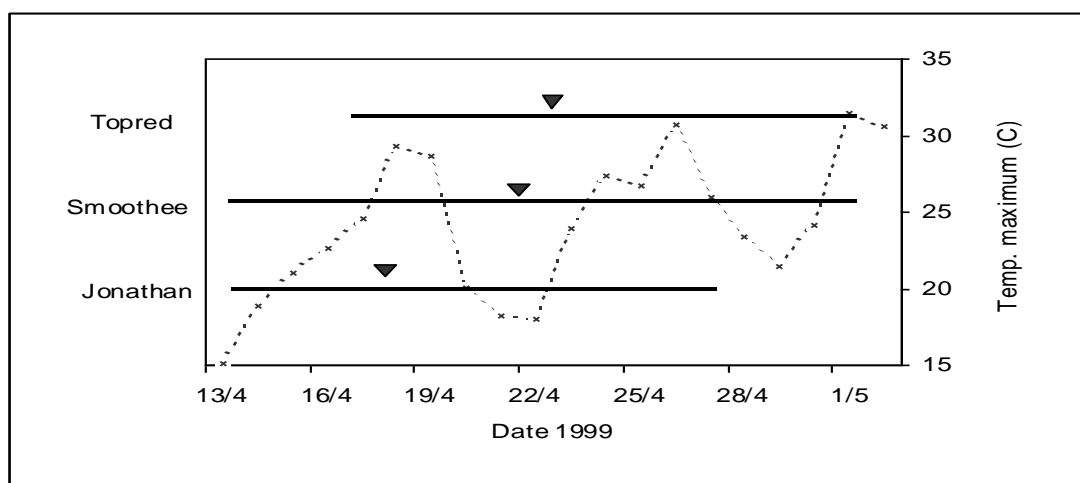
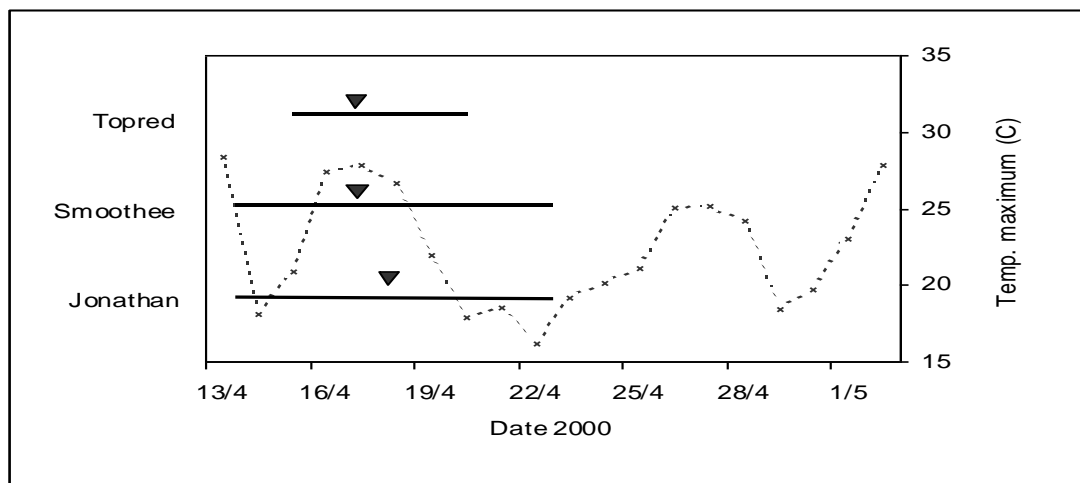
- א. אפיון מועדי הפריחה של עצי ה-'Topred' והזנים המסחריים המשמשים להם כמקור לאבקה, 'Smoothee' ו-'Jonathan'. בחינת רצפטיביות צלקות פרחי 'Topred' וחיוניות גרגרי האבקה של הזנים המאביקים במהלך חיי הפרח.
- ב. אפיון השפעתם של הזנים המשמשים כמקור לאבקה, 'Smoothee' ו-'Jonathan', על שיעור החנטה של ה-'Topred' ועל איכות הפרי המתקבל והשוואת אחוז החנטה בין הזנים 'Topred' ו-'Smoothee'.
- ג. אפיון יעילות ההאבקה של הזן 'Topred' בעזרת הדבורים על-ידי בחינת התנהגות הדבורים ובדיקת תכונות הפרח, בהשוואה לזנים 'Smoothee' ו-'Jonathan'.
- ד. אפיון יעילות ההאבקה ותכונות אי ההתאם העצמי של זנים קרובים גנטית ל-'Topred' להם פוריות גבוהה: 'Red Prince' ו-'Martina'.

תוצאות:

א. אפיון מועדי הפריחה של עצי ה-'Topred' והזנים המסחריים המשמשים להם כמקור לאבקה, 'Smoothee' ו-'Jonathan'. בחינת רצפטיביות צלקות פרחי 'Topred' וחיוניות גרגרי האבקה של הזנים המאביקים, במהלך חיי הפרח.

1. א. אפיון מועדי הפריחה של עצי 'Topred' והזנים המאביקים, 'Smoothee' ו-'Jonathan'. הזן 'Topred' זקוק להאבקה זרה בכדי לחנוט, לכן הוא תלוי בפריחה חופפת של זנים מפרים. מאיור 1 ניתן לראות כי בעונות הפריחה 1999-2000 פריחת הזנים המאביקים 'Smoothee' ו-'Jonathan' חפפה לפריחת 'Topred'. תנאי ההאבקה בעונות הפריחה שנבדקו היו שונים, בשנת 1999 הפריחה התמשכה

כשבועיים כאשר פריחת הבר (המתחרה על ביקורי הדבורים) היתה דלילה, לעומת זאת בשנת 2000 הפריחה היתה קצרה, פריחת הבר שפעה ואף ירד גשם (20/4/00) במהלך הפריחה.



איור 1: מועדי פריחה. מועדי הפריחה של הזנים 'Topred', 'Smoothee' ו-'Jonathan' כפי שנצפו בשנים 1999 במטע ברעם (איור עליון) ובשנת 2000 במטע חוות מתיתיהו (איור תחתון). מהלך הפריחה לכל זן מסומן בקו אופקי כאשר קצותיו מציינים את מועד התחלת הפריחה ואת סופה, החיצים מציינים את מועד שיא הפריחה. הקו המקווקו מראה את טמפרטורות המקסימום כפי שנמדדו בחוות מתיתיהו, בשעה 12:00, במהלך הפריחה.

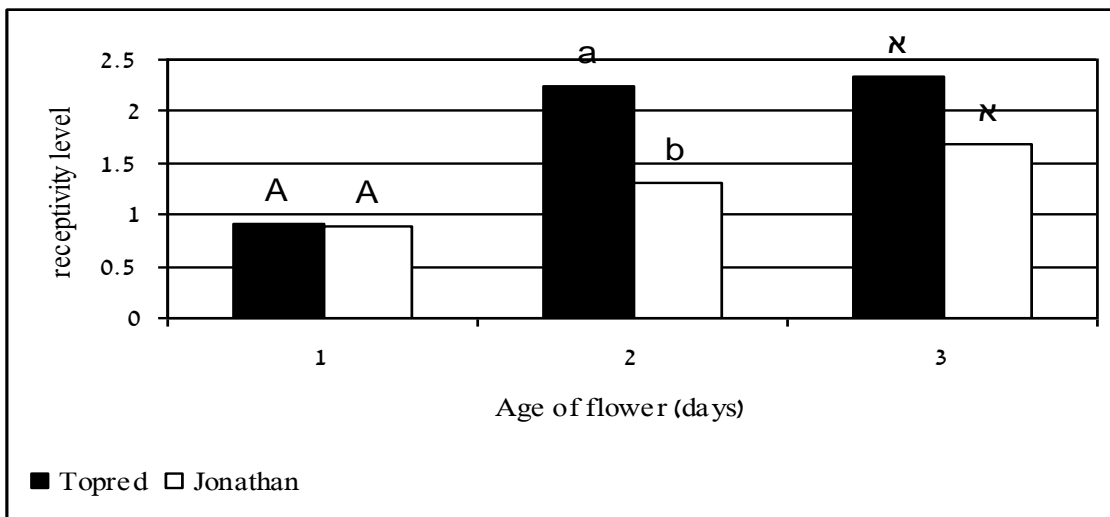
א.2. בחינת רצפטיביות צלקות פרחי 'Topred'

כדי לבחון האם לצלקות 'Topred' יכולת נמוכה של קליטת גרגרי אבקה, דבר העלול להשפיע על ההפריה, נקבעה דרגת הרצפטיביות של הצלקות במהלך חיי הפרח, ביחס לצלקות 'Jonathan'. הצלקות הוואבקות ידנית עם עודף אבקת 'Smoothee' ודרגת הרצפטיביות של כל צלקת נקבעה על-פי מספר גרגרי האבקה שנבטו בה (טבלה 1). נמצא שרצפטיביות צלקות 'Topred' מפרחים בני יומיים היתה גבוהה

מרצפטיביות צלקות 'Jonathan' מאותו הגיל. בשלבי הפרח האחרים שנבדקו לא התקבלו הבדלים מובהקים בין הזנים (איור 2).

טבלה 1: סולם דרגות הרצפטיביות של צלקות הפרחים:

דרגת הרצפטיביות	מספר גרגרי האבקה שנבטו על הצלקת
0	0
1	1-49
2	50-99
3	100-199
4	>200

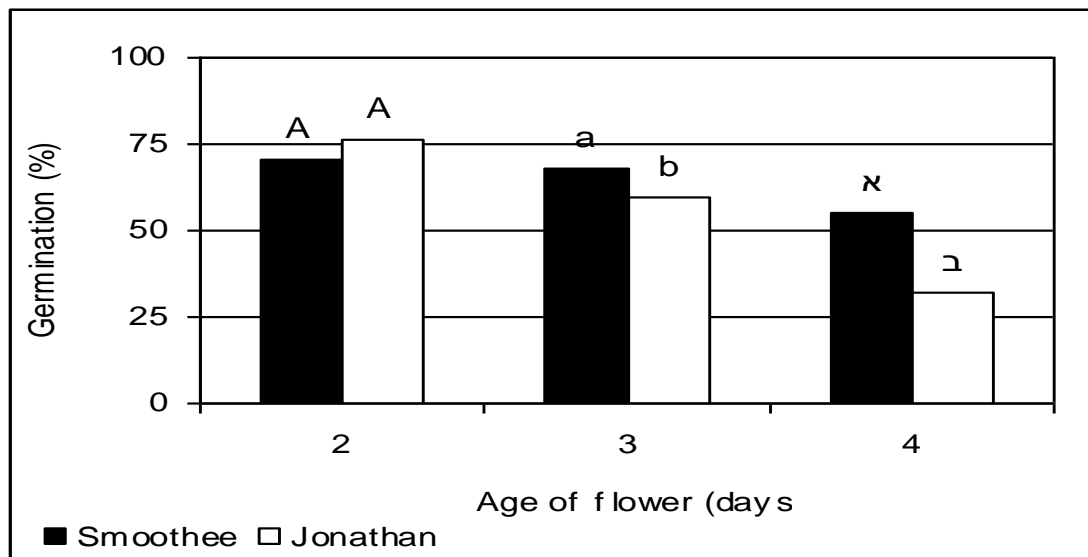


איור 2: דרגת הרצפטיביות של הצלקות. פרחי 'Topred' ו-'Jonathan' מכוויסים ברשת פלסטיק מגילאי הפרח השונים (פרח בן יום: עלי-הכותרת החלו להיפתח; בן יומיים: עלי-הכותרת פתוחים; בן שלושה ימים: עלי-הכותרת החלו לנשור) הואבקו בהאבקה ידנית בעודף אבקה מהזן 'Smoothie', נקטפו ונשמרו כמתואר בהצעת המחקר. מספר גרגרי האבקה שנבטו בצלקת נספר לאחר שטיפת הצלקות וריכוך ודרגת הרצפטיביות של כל צלקת נקבעה. ערכים המלווים באותיות לועזיות גדולות (פרח בן יום), באותיות לועזיות קטנות (פרח בן יומיים) או באותיות עבריות (פרח בן 3 ימים) שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

3.א. חיוניות גרגרי האבקה של הזנים המאביקים 'Jonathan' ו-'Smoothie'

בכדי לבחון האם אבקה מפרחי הזנים 'Jonathan' ו-'Smoothie' יכולה להאביק את פרחי 'Topred' נבחנה חיוניותה לאורך חיי הפרח ונקבעה לפי שיעור נביטת גרגרי האבקה בתמיסת סוכרוז, כפי שתואר בהצעת המחקר. חיוניות אבקת פרחי 'Jonathan' ו-'Smoothie' היתה הגבוהה ביותר ביום פתיחת המאבקים (יומיים מפתחת עלי הכותרת) וירדה במהלך הימים שלאחר מכן. לא התקבלו הבדלים מובהקים בחיוניות גרגרי האבקה בין שני הזנים, למעט בפרחים בני ארבעה ימים בהם רוב עלי הכותרת נשרו (איור 3).

איור 3: חיוניות גרגרי אבקה. אבקה נאספה מפרחי 'Smoothee' ו-'Jonathan' מכוויסים ברשת

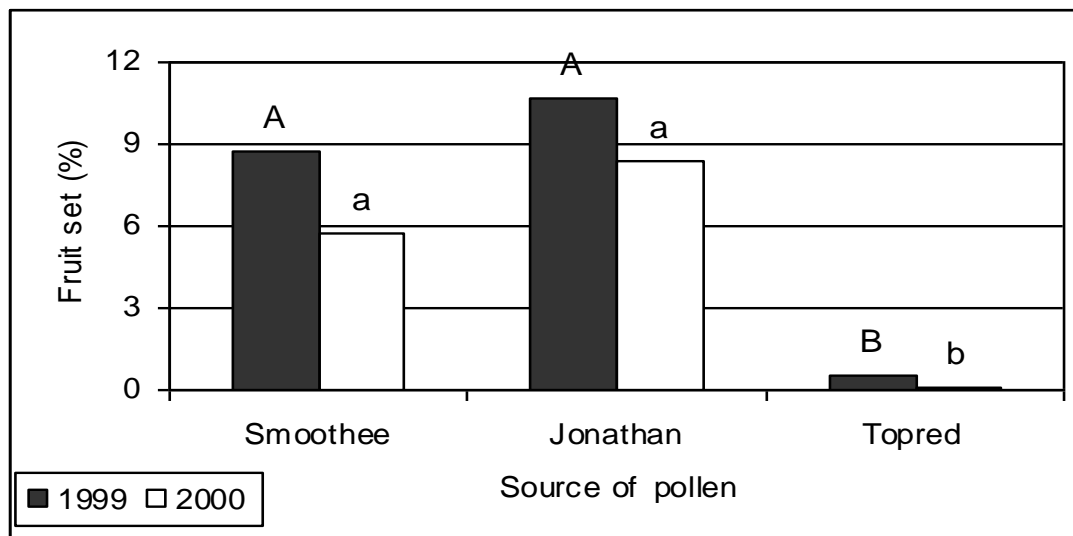


פלסטיק בגילאים שונים, גרגרי האבקה הונבטו בתמיסת סוכרוז, כפי שתואר בהצעת המחקר וחיוניותם נקבעה על-פי שיעור גרגרי האבקה שנבטו. ערכים המלווים באותיות לועזיות גדולות (פרח בן יומיים), באותיות לועזיות קטנות (פרח בן 3 ימים) או באותיות עבריות (פרח בן 4 ימים) שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

ב. אפיון השפעתם של הזנים המשמשים כמקור לאבקה, 'Smoothee' ו-'Jonathan', על יכולת ה-'Topred' ועל איכות הפרי המתקבל והשוואת אחוז החנטה בין הזנים 'Topred' ו-'Smoothee'.

ב.1. האבקה ידנית של פרחי 'Topred'

פרחי 'Topred', אשר כוייסו ברשת פלסטיק בתחילת הפריחה, הואבקו ידנית עם עודף אבקה מהזנים 'Smoothee', 'Jonathan' ו-'Topred', על-מנת לברר האם לזן המאביק השפעה על שיעור החנטה והאם הזן 'Topred' אכן עקר לעצמו, כפי שדווח (Dennis., 1979). בין הזן 'Topred' לזן 'Jonathan' קיים אי התאם חלקי הנובע מכך ששני הזנים נושאים את האלל S9, לפיכך רק מחצית מגרגרי האבקה של הזן 'Jonathan' יכולים להפרות את פרחי ה-'Topred'. אף-על-פי-כן בניסוי זה לא נראתה ירידה באחוזי החנטה של פרחי 'Topred' שהואבקו באבקת 'Jonathan' לעומת אלו שהואבקו באבקה מהזן 'Smoothee', שאיננו נושא אלל S משותף עם הזן 'Topred' (איור 4). ב-1999 התקבלו חמישה פירות 'Topred' לאחר האבקה ידנית עם אבקה עצמית. הזרעים מפירות אלה נבדקו לתכולת אללי S, בכדי לקבוע האם הם עצמיים (סעיף ב.5).



איור 4: שיעור החנטה של פרחי 'Topred' לאחר האבקה ידנית. ענפי 'Topred' עם ניצני פריחה כוייסו בתחילת הפריחה ברשת פלסטיק, בשיא הפריחה הפרחים הואבכו באבקה חיונית מהזנים 'Topred', 'Smoothee' ו-'Jonathan' כפי שתואר בהצעת המחקר. אחוזי החנטה נקבעו 5 שבועות ממועד ההאבקה. ערכים המלווים באותיות לועזיות גדולות (ניסוי 1999) או באותיות לועזיות קטנות (ניסוי 2000) שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

2.2. השפעת מקור האבקה על גודל הפרי ומספר הזרעים בפירות 'Topred'

פירות 'Topred', שהתקבלו מניסויי ההאבקה הידנית עם אבקה מהזנים 'Smoothee' ו-'Jonathan', נשקלו ומספר הזרעים בהם נקבע, בכדי לבחון האם לזן המפרה השפעה על תכונות אלה. בבדיקות הללו לא נמצאו הבדלים משמעותיים בין שני הזנים המפרים ולא נמצא קשר בין מספר הזרעים לגודל הפרי (טבלה 2). ($R^2=0.31$, 1999; $R^2=0.002$, 2000).

טבלה 2: מספר הזרעים ומשקל פירות 'Topred' לאחר האבקה ידנית:

Source of pollen	No. of seeds		Fruit size (mg)	
	1999	2000	1999	2000
'Smoothee'	4.0	8.7	119.5	126.7
'Jonathan'	6.9	8.4	133.0	142.0

3.3. שיבוט וריצוף אלל S30 מהזן 'Topred' ואלל S10 מהזן 'Granny Smith'

מבין שני אלל S של הזן 'Topred' האחד, S9, אופיין (Goldway *et al.*, 1999) והשני, S30, אופיין לראשונה בעבודה זו. קיימת חשיבות לאיפיון שני אללי S מהזן 'Topred', כיוון שאי התאם חלקי בין הזן 'Topred' לזן המאביק יכול להשפיע על הפוריות (Goldway *et al.*, 1999). רצף חלקי של הגן ל-S30 התקבל בשיטה הבאה: למיצוי DNA גנומי מהזן 'Topred' נערכה תגובת PCR בעזרת

תחלים מרצפי DNA השמורים בכל הגנים ל-S-RNase הידועים מתפוחים ("Universal Primers"). רצף הבסיסים של S30 נקבע לאחר שהמקטעים שהתקבלו שובטו לפלסמיד pGEM-T (Promega) ועברו טרנספורמציה ל- E. coli DH10 (איור 5). בהשוואה עם רצפי c-DNA נוספים של אללי S מתפוח מה-GenBank, נמצא כי גן זה מכיל אינטרון בן 147 בסיסים. לאינטרון זה דרגת דמיון גבוהה ביותר לאינטרון מהגן ל-S4-RNase מאגס יפני (94%). כיוון שב-GenBank קיימים רק רצפי c-DNA של אללי S מתפוחים, ניתן היה להשוות רק את רצף האקסונים של S30 אליהם, גם בהשוואה זו התקבלה דרגת הדמיון הגבוהה ביותר לרצף האקסונים של הגן ל-S4-RNase מאגס יפני (95%), כאשר דרגת הדמיון לאללי S הידועים מתפוחים היא בסביבות 80%.

בכדי לזהות את מקור האבקה שהפרתה את פרחי 'Topred', שהאבקה ידנית באבקה עצמית (סעיף 1.1). רוצף חלקית גם מקטע של DNA גנומי עבור הגן ל-S10 מהזן 'Granny Smith' המשמש כמאביק ל-'Topred' במטע. רצפי c-DNA של יתר אללי S המבוטאים בזנים המאביקים במטע ידוע מה-GenBank.

	1				50
MsS10	-----	-----	-----c--	-----	c-----
MsS30	~~~~~	~~~~~	~~~~~	~~~~~	~~~~~
PsS4	-ta-----	-----	-----t--c	-----a--	a-----
MsS3	-t-----g--	-----	-----t--	-----	a-----
Consensus	GCCTGCAACT	CTAATCCTAC	TCCTTG-AAG	GATCCTCCTG	-CAAGTTGTT
					←c2-
	51				100
MsS10	-----	-----a---	-----t-	---ctt---c	-----tct
MsS30	~~~~~	~~~~~	~~~~~	~~~~~	-----g-a-
PsS4	-----	-----	-----a-	-----	-----g-a-
MsS3	-----t-	-----	-----tgt	t---ag-	-----c--g-
Consensus	TACGGTTCAC	GTTTGTGGC	CTTCAAAC-G	GAATGGACCT	GACCCAAA-A
					-----c2-----→
	101				150
MsS10	tc-----	-----t	-cg-----c	-----t--	-----c
MsS30	-----	--t-cao--	--tt-----	-----a--	-----g
PsS4	-----c	-----	--tt-----	-----a--	-----g
MsS3	-----a-c	-----t-t--	--c-----a-	c.....
Consensus	AATGCAAGAA	TACAACCATG	AA-CCTCAGA	AGGTAAT-TT	ATTAATAAT-
					←-----Hva-----*
	151				200
MsS10	-----	-----	-----a--..
MsS30	-----	-----	-----t---	t--t-----	-a-a--t--
PsS4	-----	-----	-----t---	c--g-----	..-t--c--
MsS3
Consensus	AGATAGTCAA	TATTGTTTAT	TTCAT-TATG	-AC-TGTGTA	T-A-ATA-AT
	201				250
MsS10	c-----	-g-----	-----	--ta-----	-----
MsS30	t-----	-a-----	-----	--ct--g--	-----
PsS4	t-----g--	-ag-----	-----	--ct-----	-----
MsS3
Consensus	-ACATATACT	C-ACATAGAT	TTTCATGCAC	GC--GTGCAA	ATATTACAAT
	251				300
MsS10	---aa--c-	-----	---t----	---t-----	-----
MsS30	---tt--a-	-----	---g----	---a-----	-----
PsS4	---tt--a-	-----	---g----	---a-----	-----
MsS3
Consensus	TAAT--AA-A	TTTAATCATG	AATT-TTTCT	ATT-TATAAT	TATATTGTCA
	301				350
MsS10	-----c--	--c-a-----	-----	-----	-----t--
MsS30	-----	-g-----	-----	-----	-----
PsS4	-----	-ga-----	-----	-----	-----t--
MsS3	.---ac----	c-ta-----	--c-----	-----a	-----

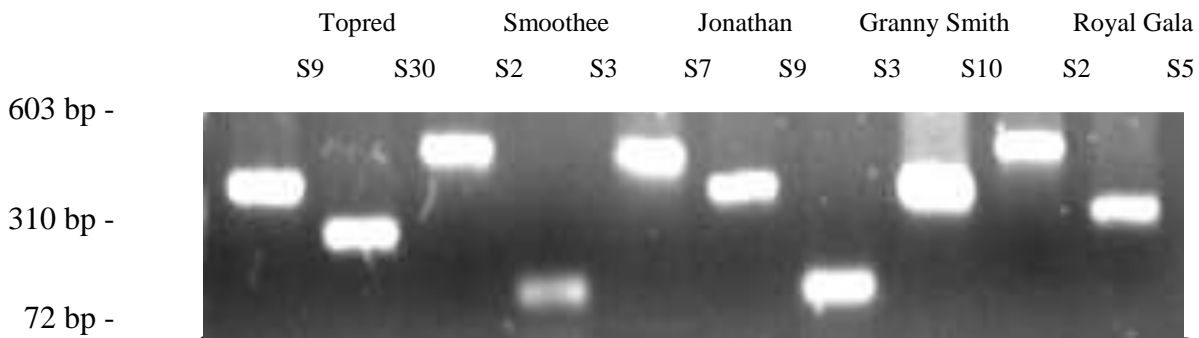
Consensus	GATAGGAAAT AT-GCAGCCC AGTTGGAAAT TATTGGCCG AACGTACTCA	
	*-----Hva----->	<---Hvb---
	351	400
MsS10	-----a- ----t-g-t- -----a--- -----aa -----	
MsS30	-----t-- -----g-a- g-g-----t -----	
PsS4	-----g--- -----g-a- g-g-----t -----	
MsS3	-----ag-c ----c-c-- -----cg-- -----g t-----	
Consensus	ATCGAACCGA TCATGTAGGC TTCTGG-ATA AACAGTGGC- CAAACATGGC	
	-----Hvb----->	<---C3---
	401	450
MsS10	-g-----t--- --t-----a --a-a-----g---t--	
MsS30	-----c--- -----g----- -----a-----	
PsS4	-----t----- -----t- -a-----	
MsS3	-----c----- -gc----- -----gc-----	
Consensus	ACCTGTGGGT ATCCACAAT AAAGGACGAC ATGCATTACT TTAAAACAGT	
	-----C3----->	
	451	500
MsS10	-----t-- -----a-- -----	
MsS30	-----c----- -----c- --t--g---	
PsS4	-----c----- -----c- -----	
MsS3	----g----- -----t-----	
Consensus	AATCAAAATG TACATAACCA AGAAACAAA CGTCTCTGAA ATCCTCTCAA	
	<-----C4----->	
	501	550
MsS10	g---c----- -----ac ---a---a--	
MsS30	-----t--- -c-----a-c ---c----- --t--t-t ---t---a-	
PsS4	-----c--- -c-----a-c -----t--- --t--t--t ---t---a-	
MsS3	-----a--- -----aa-----t--- -----a c--c---g	
Consensus	AGGCGAAGAT TAAACCGGAG GGGAAAAACA GGACACGGG- GGA-ATTGTA	
	551	600
MsS10	--c----- --t----- -----c----- -----	
MsS30	-----c ---g-g----- -----t -----t--	
PsS4	-----c ---g-g---a -----c-----t -----	
MsS3	-----caa---t -g--t---a----- -----a-	
Consensus	AATGCCATAA GCA-TAGTAC CAACAATATG AAACCAAAC TCAAGTGCCA	
	601	628
MsS10	-----g---...---t-----	
MsS30	-----c- a-----t-----	
PsS4	-----c- a---g---c-----	
MsS3	g-c----- ca-t---...-----	
Consensus	AAAGAATAAT -GGACAACGA -TGAATTG	

איור 5: רצף חלקי של הגנים ל-*S10-RNase* ול-*S30-RNase*: השוואה בין רצף DNA גנומי חלקי של הגנים ל-*S10-RNase* מתפוח (*MdS10*), *S30-RNase* מתפוח (*MdS30*), *S4-RNase* מאגס יפני (*PsS4*)- ו-*S3-RNase* מתפוח (*MdS3*). קווים מציינים בסיסים זהים לרצף הקונסנזוס ונקודות מציינות רווחים. האזורים השמורים (C2, C3 ו-C4) והאזורים בעלי השונות הגבוהה (*Hvb* ו-*Hva*) מסומנים בהתאם למתואר ב- Sassa et al., (1996) גבולות האינטרון מסומנים ב-'*' על-פי Ushijima et al., (1998).

ב.4. זיהוי אללי S בתגובת PCR

זיהוי ספציפי של אללי S יכול לשמש לגילוי ההורות בצאצאי 'Topred' מניסוי ההאבקה העצמית הידנית, לכן עובדה שיטה בה כל אללי S מזוני התפוח ההוריים הנמצאים במטע: 'Topred', 'Jonathan', 'Smoothie', 'Granny Smith' ו-'Royal Gala', (האם יש צורך לכתוב על כל זן .) ניתנים לזיהוי בתגובת PCR בעזרת פריימרים ספציפיים שמקורם באזורים בעלי השונות הגבוהה (תמונה 1). פריימרים ל-S7, S3-antisense, S2 ו-S9 נלקחו מהספרות (Broothaerts et al., 1995;)

GenBank-מה-1995), פריימרים עבור S3-sense ו-S5 תוכננו על סמך רצפי הגנים מה-*Janssens et al.*, 1995), ואילו פריימרים עבור S10 ו-S30 תוכננו על-סמך רצפי הגנים שאופיינו בעבודה זו.



תמונה 1: ג'ל אלקטרופורזה של תוצרי PCR עבור סמנים S9, S30, S2, S3, S7, S9, S3, S10, S2, S5. גודל המוליכות המצויין ב-72, 310 ו-603 bp.

'Smoothee', 'Jonathan', 'Granny Smith' ו-'Royal Gala', זוהו בתגובת PCR בעזרת פריימרים ספציפיים ל-S9, S30, S2, S3, S7, S9, S3, S10, S2, S5, בהתאמה.

5.2. זיהוי אללי S בצאצאי 'Topred' מניסוי האבקה עצמית:

בניסוי האבקה ידנית של פרחי 'Topred' בעזרת אבקה עצמית התקבלו 5 פרות, למרות שידוע כי זן זה עקר לעצמו (Dennis 1979). זרעי הפרות גודלו, כמתואר בהצעת המחקר ותכולת אללי S נקבעה בהם לפי השיטה שתוארה בסעיף הקודם. הזרעים לא הכילו את צרופי האללים S9-S9, S30-S30 או S9-S30, שמקורם בהפריה עצמית, אלא צרופים אחרים בהם אחד האללים הוא S9 או S30, שמקורו בהורה הנקבי, ה-'Topred', ואילו האלל השני מקורו באחד הזנים המאביקים (טבלה 3). ניתן להסיק מכך שהפרות, שהתקבלו בניסוי ההאבקה העצמית, מקורם באבקה זרה שחדרה דרך הרשת שהכילה את הפרחים.

טבלה 3: התפלגות תכולת אללי S בצאצאי פירות 'Topred' שהואבקו ידנית באבקה עצמית.

S-alleles	9-2	9-3	9-5	9-7	9-10	30-2	30-3	30-5	30-10
No. of seedlings	6	2	1	1	5	2	1	2	1
Total:	21								

ב.6. השוואת שיעור החנטה בין הזנים 'Topred' ו-'Smoothee'

הזן 'Smoothee' הינו זן בעל פוריות גבוהה יחסית לזן 'Topred', לו בעיות פוריות. שיעור החנטה הטבעי של פרחי הזן 'Smoothee' נבדק בהשוואה לזה של פרחי 'Topred', בכדי ללמוד האם זהו אחד הגורמים להבדל זה. נמצא כי אחוז החנטה הטבעי של פרחי 'Smoothee' גבוה בצורה מובהקת מאשר זה של פרחי 'Topred', תופעה דומה התקבלה גם בהשוואת שיעורי החנטה לאחר האבקה ידנית באבקת 'Jonathan' (טבלה 4).

טבלה 4: שיעורי החנטה בזנים 'Topred' ו-'Smoothee'

Cultivar	Natural fruit set (%)		Fruit set (%) after hand pollination with 'Jonathan' pollen	
	1999	2000	1999	2000
'Topred'	4.6 B	20.2 B	8.4 b	10.7 b
'Smoothee'	15.2 A	42.2 A	27.0 a	22.5 a

שיעורי החנטה הטבעיים של הזנים 'Topred' ו-'Smoothee' נקבעו על-פי החנטה בענפים שסומנו במטע ברעם (1999) או בחוות מתיתיהו (2000) עבור כל זן, בתחילת הפריחה. שיעורי החנטה מהאבקה ידנית התקבלו לאחר האבקה ידנית של פרחי 'Topred' ו-'Smoothee' באבקת 'Jonathan' במטע ברעם, כפי שתואר בהצעת המחקר עבור הזן 'Topred'. ערכים באותה עמודה המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

ג. אפיון יעילות ההאבקה של הזן 'Topred' בעזרת הדבורים על-ידי בחינת התנהגות הדבורים ובדיקת תכונות הפרח, בהשוואה לזנים 'Smoothee' ו-'Jonathan'.

ג.1. אטרקטיביות פרחי הזנים לדבורים:

קיימת חשיבות לבחינת אטרקטיביות פרחי ה-'Topred' ופרחי הזנים המאביקים 'Smoothee' ו-'Jonathan' לביקורי הדבורים כיוון שהזן 'Topred' עקר לעצמו (Dennis, 1979) וזקוק להאבקה זרה, המתבצעת בעיקרה בעזרת דבורי דבש (*Apis mellifera*). אטרקטיביות פריחת הזנים לדבורים נבדקה במהלך הפריחה בעצים הדומים בגודלם, בעוצמת הפריחה ובשלב הפריחה. מידת אטרקטיביות פריחת העץ לדבורים נקבעה על-פי מספר הדבורים שנראו בעץ בדקה. לפי נתוני 1999 נראה כי אטרקטיביות פרחי הזנים 'Topred' ו-'Smoothee' לדבורים דומה והאטרקטיביות היחסית של פרחי הזן 'Jonathan' לדבורים נמוכה (טבלה 5). מגמה דומה התקבלה ב-2000, אף כי בשנה זו מספר הדבורים לעץ בדקה שנצפה היה נמוך בהשוואה לעונת הפריחה ב-1999.

טבלה 5 : אטרקטיביות פרחי הזנים 'Jonathan', 'Smoothee', 'Topred' לביקורי הדבורים.

Cultivar	No. bees/tree/min.	
	Bar'am 1999	Matityahu 2000
'Topred'	13.2 A	4.2 a
'Smoothee'	12.0 A	4.2 a
'Jonathan'	5.1 B	3.6 a

ערכים באותה עמודה המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

ג.2. שיעור הדבורים הפועלות כ-"Topworkers" מכלל הדבורים הפועלות כ-"Topworkers" וכ-"Sideworkers"

דבורים הבאות אל הפרח מחלקו העליון, הפועלות כ-"Topworkers", באות במגע עם המאבקים ועם הצלקות ויכולות בצורה זו להאביק את הצלקות באבקה שנדבקה לגופן מפרחים אחרים. שיעורן של הדבורים הפועלות כ-"Topworkers" לעומת אלו הפועלות כ-"Sideworkers" נבחן בזנים: 'Topred' ובזנים המאבקים 'Jonathan' ו-'Smoothee', כיוון ששיעור גבוה של דבורים הפועלות כ-"Topworkers" מגדיל את יעילות ההאבקה (Robinson and Fell 1981). בזן 'Jonathan' נמצא שיעור גבוה מאוד של הדבורים הפועלות כ-"Topworkers" (מעל 90%) ואילו בזנים 'Topred' ו-'Smoothee' שיעורן נמצא נמוך (10-30%) (טבלה 6). שיעור נמוך של דבורים הפועלות כ-"Topworkers" בפרחי 'Red Delicious' דווח בעבר על-ידי Roberts (1945).

טבלה 6 : שיעור הדבורים הפועלות כ-"Topworkers".

Cultivar	% "Topworkers"	
	1999	2000
'Topred'	10.0 B	11.3 b
'Smoothee'	27.5 B	7.8 b
'Jonathan'	91.7 A	94.4 a

ערכים באותה עמודה המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

ג.3. שיעור הדבורים אוספות אבקה מכלל הדבורים אוספות האבקה והצוף

איסוף אבקה מפרחי התפוח על-ידי הדבורים נעשה ישירות מהמאבקים, כאשר הדבורים הפועלות כ-"Topworkers" ואילו צוף יכול להיאסף הן על-ידי החדרת החדק מהחלק העליון של הפרח והן מצידו (Johnson et al., 1985). שיעורן של הדבורים אוספות האבקה לעומת אלו אוספות הצוף נבחן בזנים: 'Topred' ובזנים המאבקים 'Jonathan' ו-'Smoothee', כיוון שיעילות ההאבקה גדלה ככל ששיעור הדבורים אוספות האבקה גדל. בכל הזנים רוב הדבורים (כ- 80% ויותר) העדיפו לאסוף צוף, אף כי שיעור הדבורים אוספות האבקה בזן 'Jonathan' היה הגבוה מבין הזנים (טבלה 7).

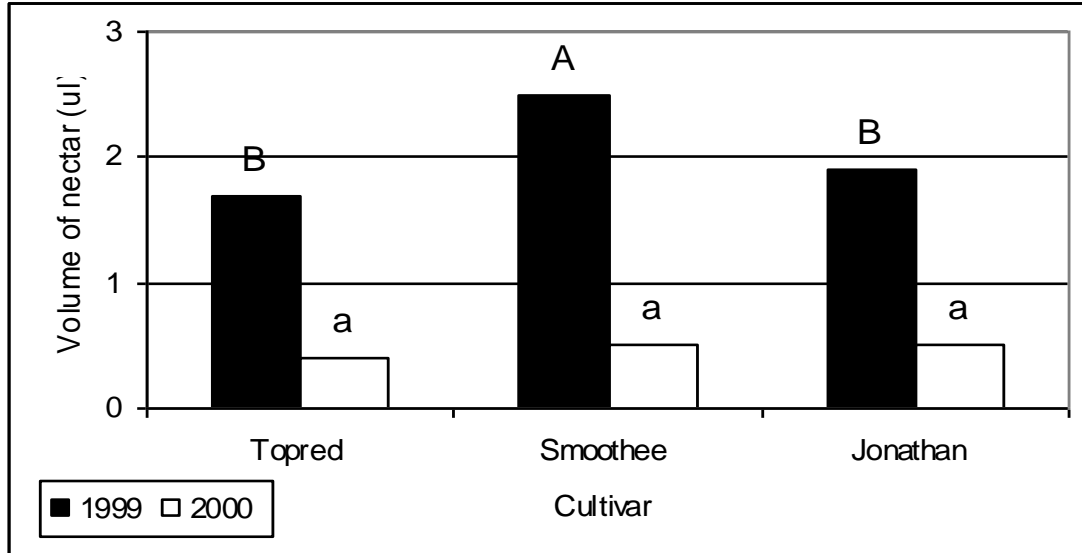
טבלה 7: שיעור הדבורים אוספות האבקה מבין כלל הדבורים.

Cultivar	% Pollen gatherers	
	1999	2000
'Topred'	2.6 B	6.5 b
'Smoothie'	3.2 B	5.8 b
'Jonathan'	16.7 A	22.8 a

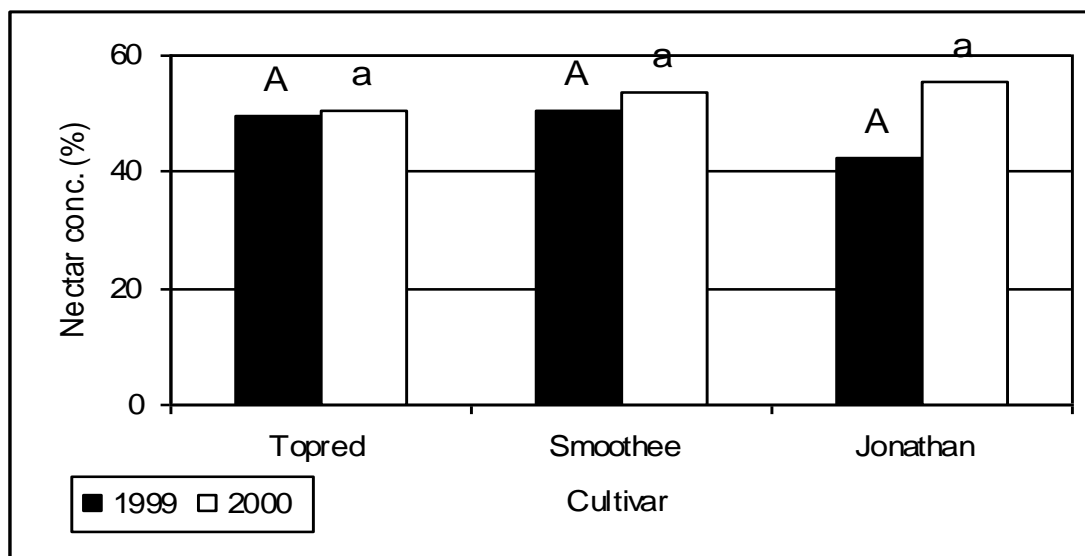
ערכים באותה עמודה המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

ג.4. תכונות הצוף: נפח, ריכוז ותכולת סוכרוז

על-פי, Johnson *et al.* (1985) הצוף הינו התגמול העיקרי של הדבורים מפרחי התפוח, לכן ישנה חשיבות לבדיקת תכונות הצוף בזן 'Topred' ובזנים המאביקים 'Smoothie' ו-'Jonathan'. מהבדיקות עולה שהנפח וריכוז הסוכרים הכללי בצוף כמו-גם יחס הסוכרים (sucrose:glucose:fructose) בו דומה עבור שלושת הזנים, ביחס לאותה שנה. כמו-כן נראית ירידה בנפח הצוף בפרחים מכוייסים מכל הזנים בשנת 2000, ביחס ל-1999 (איור 6). בשנת 2000 נראית גם ירידה בתכולת הסוכרוז יחסית לגלוקוז ולפרוקטוז (טבלה 8), למרות השינויים הללו ריכוז הסוכרים הכללי בצוף כמעט שלא השתנה בין השנים 1999-2000 (איור 7).



איור 6: נפח הצוף בפרחי תפוח. ענפי 'Topred', 'Smoothie' ו-'Jonathan', בהם ניצני פריחה, כוייסו ברשת פלסטיק בתחילת הפריחה. נפח הצוף בפרחים בני יומיים נמדד בעזרת קפילרה של $1 \mu\text{l}$ שהוכנסה לאזור הצופן, כאשר הצוף עלה דרך הקפילרה בכוח הנימיות. ערכים המלווים באותיות לועזיות גדולות (ניסוי 1999) או באותיות לועזיות קטנות (ניסוי 2000) שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).



איור 7: ריכוז הצוף בפרחי תפוח. ענפי 'Topred', 'Smoothee' ו-'Jonathan', בהם ניצני פריחה, כוייסו ברשת פלסטיק בתחילת הפריחה. ריכוז כלל הסוכרים בצוף של פרחים בני יומיים נבדק בעזרת רפרקטומטר (1999) או מידיעת רכוזי ה-Sucrose, ה-Fructose וה-Glucose, כפי שהתקבלו ממכשיר HPLC (2000). ערכים המלווים באותיות לועזיות גדולות (ניסוי 1999) או באותיות לועזיות קטנות (ניסוי 2000) שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

טבלה 8: יחס סוכרוז:פרוקטוז:גלוקוז בצוף של פרחי תפוח.

Cultivar	Sucrose:fructose:glucose ratio	
	1999	2000
'Topred'	5:3:2	1:1:1
'Smoothee'	3:1:1	4:3:3
'Jonathan'	4:3:3	1:1:1

דגימות צוף נלקחו מפרחים בני יומיים, מכוייסים ברשת פלסטיק. הצוף נשמר ב-70% Ethanol ב-4 °C (1999) או במים מזוקקים ב-20 °C - (2000) עד לשימוש. הרכב הסוכרים בצוף נקבע בעזרת מכשיר HPLC. זיהוי הסוכרים נעשה לפי Retention time של סטנדרטים של סוכרים.

ג.5. מבנה הפרח

למבנה הפרח יכולה להיות השפעה על התנהגות הדבורים (ציטוט) לפיכך נלמד מבנה הפרח בזנים 'Topred', 'Smoothee' ו-'Jonathan'. הבדיקות נערכו בפרחים בני יומיים, בהם עלי הכותרת והאבקנים פתוחים, כיוון שנראה כי פרחים אלה מועדפים לביקורי הדבורים. נמצא כי קוטר פרחי הזן 'Jonathan' נמוך בהשוואה לזנים 'Topred' ו-'Smoothee', גובה האבקנים והצלקות בפרחי כל הזנים גדול מאורך חדק הדבורה (0.6cm) ובזנים 'Topred' ו-'Jonathan' הצלקות נמוכות מהאבקנים דבר היכול לגרום לירידה ביעילות ההאבקה (Roberts 1945) (טבלה 9). בזן 'Jonathan' נמצא כי המרחק בין בסיסי זירי האבקנים נמוך ביחס לזה שנמצא בזנים 'Topred' ו-'Jonathan' (טבלה 10).

טבלה 9 : מבנה הפרח.

Cultivar	Flower diameter (cm)		Styles high (cm)		Stamens high (cm)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
'Topred'	4.4 A	3.9 b	0.9 B	0.7 b	1.1 B	1.1 a
'Smoothee'	4.7 A	4.7 a	1.1 A	0.9 a	1.1 B	0.9 b
'Jonathan'	3.8 B	3.1 c	0.8 B	0.6 c	1.2 A	0.9 b

ערכים באותה עמודה המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

טבלה 10 : מרחק בין זירי האבקנים.

Cultivar	Width between the bases of the stamens (μm)
'Topred'	60 A
'Smoothee'	80 A
'Jonathan'	18 B

המרחק בין זירי האבקנים נמדד סמוך לבסיסם, לאחר שרקמת זירי האבקנים מפרחים בני יומיים נסרקה במיקרוסקופ אלקטרוני בהגדלה של פי 100. ערכים המלווים באותיות שונות, נבדלים זה מזה באופן מובהק ($p=0.05$).

סיכום:

- כאשר פרחי 'Topred' הואבקו ידנית בעודף אבקה, לא נמצאו הבדלים מבחינת אחוזי החנטה, גודל הפרי ומספר הזרעים, בין הזנים המאביקים 'Smoothee' ו-'Jonathan'. בתנאים אלה לאלל S9, המשותף בין הזנים 'Topred' ו-'Jonathan', לא היתה השפעה על אחוזי החנטה. כמו-כן לא נמצא קשר בין גודל פרות 'Topred' למספר הזרעים בהם. יתכן ובקביעת גודל הפרי משתתפים גורמים נוספים שאינם תלויים במספר הביציות שהופרו (כגון עומס היבול הכללי בעץ).
- שני אללי S חדשים רוצפו בעבודה זו, S30 מהזן 'Topred' ו-S10 מהזן 'Granny Smith'. בהשוואת רצף האקסונים של הגן S30 לרצפים ב-GenBank נמצאה דרגת הדמיון הגבוהה ביותר לרצף האקסונים מאלל S4 מאגס יפני (*Pyrus serotina*) (94%), דרגת דמיון נמוכה יותר (בסביבות 80%) התקבלה בהשוואה עם רצפי c-DNA של אלל S ידועים מתפוחים. ממצא זה תומך בהשערה ששינויים באללי S באו לפני ההתמיינות במשפחת הורדניים (*Rosaceae*) (Sassa et al., 1996). לאחר ריצוף אללים אלו, יחד עם מידע אודות אללי S הנוספים המבוטאים בזני התפוח במטע פותחה שיטה בה אללי S מתפוחים משמשים כסמנים גנטיים לקביעת ההורות בצאצאים, בעזרת תגובת PCR ספציפית. בשיטה זו זוהו צאצאי 'Topred', שהתקבלו לאחר האבקה ידנית עם אבקה עצמית, ונמצא כי הם תוצרי האבקה זרה והזן 'Topred' אכן עקר לעצמו.

- בפרחי 'Topred', שלא כמו בפרחי 'Smoothie', הצלקות נמוכות מהאבקנים דבר העלול לגרום ליעילות ההאבקה נמוכה (Roberts., 1945). זהו הסבר חלקי לשיעור החנטה הגבוה שהתקבל בזן 'Smoothie' לעומת הזן 'Topred', שכן הגורמים הביולוגיים והאקולוגיים הקשורים בהאבקת שני הזנים, שנבדקו בעבודה זו, מצביעים על כך שתנאי ההאבקה של שני זנים אלו דומים (מועדי פריחה דומים החופפים לזנים מאביקים, התנהגות הדבורים ותכונות הצוף). הסברים נוספים לתופעה זו יכולים להיות קשורים לתכונות גנטיות של הזנים, שאינן קשורות לתהליך ההאבקה, כמו יכלת נשיאת יבול, אורך חיי הביצית, רצפטיביות צלקות ותכונה גנטית של התאם עצמי בזן 'Smoothie' לעומת אי התאם עצמי בזן 'Topred' (Dennis, 1979).
- יתכן ומספר הדבורים לעץ לדקה שהתקבל ב- 2000 היה נמוך עקב פריחת בר שופעת ונפח צוף קטן, יחסית ל- 1999.
- נמצא קשר בין מבנה הפרח להתנהגות הדבורים בזן 'Jonathan'. נראה כי מבנה פרח 'Jonathan' מאלץ את הדבורים לפעול בו כ-"Topworkers", היות והמרווח הקטן בין בסיסי זירי האבקנים סמוך למצעית הפרח אינו מאפשר את כניסת חדק הדבורה מצד הפרח, דבר המהווה יתרון בהאבקת הזן. אמנם הצלקות בפרחים אלה נמוכות מהאבקנים, אך נראה כי עובדה זו איננה מפריעה לתהליך העברת האבקה מגוף הדבורה לצלקות כיוון שהמרווח בין בסיסי האבקנים לבסיסי הצלקות, סמוך למצעית הפרח, גדול.