

דוח לתכנית מחקר מספר **458-0576-16**

פיתוח מערכת תומכת החלטות לביצוע דילול תפוח בכלים של חקלאות מדייקת
Development of a DSS for apple trees thinning based on precision agriculture principles
מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י

ויקטור אלחנתי	המכון להנדסה חקלאית, וולקני victor@volcani.agri.gov.il	ריכוז וניהול המחקר, פיתוח מערכת להערכת ראייה ממוחשבת להערכת פריחה. תקן
יפית כהן	המכון להנדסה חקלאית, וולקני	מיפוי של אזורי מימשק תקן
רפאל לינקר	הפקולטה להנדסה אזרחית וסביבתית, הטכניון	חיזוי כמות פרי לקראת דילול החנטים והערכת פוטנציאל ההיענות לדילול תקן
משה פלישמון	המכון למדעי הצמח, וולקני	פיתוח מדד מולקולרי כמותי להגדרת העיתוי האופטימלי לדילול החנטים תקן
אלון סמך	הפקולטה לחקלאות	לימוד והתערבות במנגנון הדומיננטיות בין חנטים בתפוח תקן
עומר קריין	מו"פ צפון	בחינת השפעת מצב התפתחות הפרח, גודל החנטים ותנאי הסביבה על היענות לדילול ופיתוח סמן מולקולרי לכמות ה-DNA של המפרה ככלי לקביעת עיתוי ועצמת דילול לא קבוע
רפאל שטרן	מו"פ צפון	בחינת השפעת מצב התפתחות הפרח, גודל החנטים ותנאי הסביבה על היענות לדילול לא קבוע
מרטין גולדווי	מיגל	ופיתוח סמן מולקולרי לכמות ה-DNA של המפרה ככלי לקביעת עיתוי ועצמת דילול קבוע
עמוס נאור	המכון לחקר הגוף/מו"פ צפון	בחינת הידע הקיים במערכת ההדרכה כחלק ממערכת תומכת החלטות לא קבוע

תקציר

הצגת הבעיה - לתפוח בדרך כלל שפע פרחים אך בשל בעיית הדירות בתוצאות הדילול הכימי יש אי וודאות וחשש לדילול יתר ולפיכך נוטים החקלאים להשתמש בדילול הכימי בצמצום ועיקר הדילול נעשה בעבודת ידיים. הדילול הידני צורך כ"א שנמצא בחסר ועלותו גבוהה ובדרך כלל הוא נעשה מאוחר ומשפיע על גודל הפרי בעונה הנוכחית ועל הפריחה בעונה העוקבת.

מטרות המחקר – פיתוח ידע אגרונומי ובניית מערכת תומכת החלטות לדילול תפוח על בסיסו. המטרות הפרטניות: לימוד תנאי הצילום לזיהוי יעיל של פרחים; ניסיון ראשוני לעקוב אחרי התפתחות חנטים בעזרת אמצעים אופטיים; בניית בסיס נתונים של ביטוי גנים במהלך נשירת חנטים טבעית ולאחר טיפולים מסחריים; יצירת תשתית מחקרית מתאימה להבנת מנגנון הנשירה הפיזיולוגית בתפוח; אפיון השפעת הדילול הכימי על נשירת חנטים בעמדות השונות על גבי התפוח ובכלל העץ בעצמות פריחה משתנות.

שיטות ומהלך העבודה – בוצע מחקר אינטגרטיבי הכולל חמש קבוצות שמטפלות בהבטים שונים של הבעיה: צילומים באור נראה להערכת עוצמת הפריחה ומצב הפריחה; שימוש בכלים אופטיים שונים לספירת חנטים והערכת נטייתם לנשור באופן טבעי; אפיון התהליכים הפיזיולוגיים והמולקולריים בין הפריחה לנשירת החנטים בניסיון לזהות סמנים מולקולריים ופיזיולוגיים לאיתור נקודת ה"אל חזור" בהחלטה על נשירה טבעית של חנטים; אפיון השפעת הדילול הכימי (חומרים ועיתויים) בעוצמות פריחה שונות על נטיית פרחים וחנטים בעמדות שונות לנשור.

תוצאות עיקריות – הערכת כמות הפיקסלים המיוחסים לפרחים נמצאה במתאם גבוה עם מספר הפרחים הפורחים. יש השתנות בביטוי גנים לאורך תהליך הפריחה והחנטה ויש פוטנציאל להשתמש בכלים אלו לקביעת עיתוי דילול החנטים. התקבלו תוצאות סותרות ב 2015 ו 2016 במדידות הספקטרליות להערכת פוטנציאל הנשירה של החנטים. מדידות נוספות דרושות כדי לזהות את הגורם או גורמים לסתירה זו, אך ניתן להצביע על שני הבדלים עיקריים בין המדידות שבוצעו ב 2015 ו 2016. דילול מיטבי באגריון מתקבל סביב 3 ימים משיא פריחה ודחייה במועד הריסוס תוביל לתגובה פחותה לדילול. עצים בהם עצמת הפריחה עולה על 2.5 יש לדלל פעמיים. בטמפי נמוכות יש שונות בדינמיקה של הפריחה בין החלק התחתון והעליון של העץ. "נקודת האל חזור" בתהליך הנשירה הטבעית של החנט הלטרלי הקטן הוא 14-11 ימים משיא פריחה.

מסקנות - ניתן להעריך את עוצמת הפריחה באמצעות צילומי RGB. שינויים מולקולריים וריכוז הורמונים יכולים לשמש לחיזוי עיתוי דילול החנטים. נראה שמדדים ספקטרליים להגדרת פוטנציאל הנשירה של החנטים מחייבים המשך מחקר לבחינת ייתכנות. ניתן להגדיר את העיתוי האופטימלי לדילול בפריחה ויהיה צורך לדלל את חלקי העץ השונים בעיתוי נפרד בשנים קרות. ניתן להתקדם במחקר לבניית מערכת תומכת החלטות דילול בשני הבטים: הערכת עוצמת פריחה בצילום RGB ופרוטוקול דילול כימי בהשפעת עומס היבול. יש לבצע מחקר משלים לקביעת סמנים מולקולריים פוטנציאליים להערכת עיתוי הדילול הכימי של החנטים.

מרץ 2017

ניסן תשע"ז

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא מחק את המיוותר *

*

חתימת החוקר

הבעיה החקלאית - התפוח יכול לייצר באופן טבעי כמות פירות גדולה בהרבה מהדרוש מבחינה מסחרית וללא דילול יהיה יכול התפוח סירוגי ותהיה פגיעה בגודל הפרי הממוצע – בשנת שפע יתקבל יכול רב של פרי קטן שרובו המכריע לא מסחרי ובשנת שפל (כתוצאה מהיבול הרב בשנה הקודמת) יתקבל מעט מאד פרי, גדול, עם פדיון נמוך לדונם. דילול מיטבי יביא ליבול יציב של פרי גדול לאורך שנים. ניתן לדלל באופן כימי את הפרחים ו/או החנטים אך קימת בעיית הדירות היוצרת אי וודאות וחשש לדילול יתר ולפיכך **נוטים החקלאים להשתמש בדילול הכימי בצמצום ועיקר הדילול נעשה בעבודת ידניים**. לדילול הידני שתי מגרעות : 1. נדרשים 4-5 ימי עבודה לדונם בדילול ידני בשנת שפע ויש לכך הבטים של זמינות כח אדם ותלות בעובדים זרים כמו גם עלות גבוהה של תשומת הדילול ; 2. הדילול הידני נעשה במהלך יוני (לאחר הנשירה הטבעית) – עומס היתר של היבול עד למועד הדילול משפיע לרעה על גודל הפרי בעונה הנוכחית ומשפיע לרעה על עוצמת הפריחה בעונה העוקבת. **אין ספק שניצול מלוא הפוטנציאל של הדילול הכימי יקטין את עלויות הדילול ואת דרישות כח האדם, ישפר את גודל הפרי בעונה הנוכחית ויצמצם את דרגת הסירוגיות.**

מבחינת החקלאי יש צורך לשפר את הדירות תוצאות הדילול הכימי כך שיצמצמו את אי הוודאות באשר לסכנת דילול יתר.

החלטות על הדילול הכימי מתקבלות ברמת החלקה למרות שיש וריאביליות בעוצמת הפריחה ובעוצמת החנטה בין עצים בתוך החלקה. כמו כן יש וריאביליות טבעית בדינמיקה של התפתחות הפריחה והחנטה כך שלא כל הפרחים/חנטים על העץ נמצאים במצב האופטימלי לביצוע הדילול הכימי לסוגיו. **העתקת קבלת החלטות דילול מרמת החלקה לרמת העץ/חלקים בעץ וביצוע דילול בכלים של חקלאות מדייקת עשויה לשפר משמעותית את איכות הדילול ולצמצם את אי הוודאות באשר לסכנת דילול יתר.**

לסיכום, שיפור הידע על פוטנציאל החנטה בכל שנה, פיתוח כלים יישומיים למדידת פעילות הדבורים בפועל, שיפור הידע על השפעות מזג האוויר על האבקה, הפריה ויעילות חומרי הדילול והעתקת קבלת ההחלטות מרמת החלקה לרמת העץ/חלקי העץ תביא להגדלת ההדירות בביצוע הדילול הכימי כך שניתן יהיה למצות את הדילול הכימי ולהקטין משמעותית את כמות הפרי המדולל ידנית. מדובר בפיתוח מיגוון רחב של כלים לקבלת החלטות בתחומי מחקר/ידע מגוונים (פיזיולוגיה והנדסה) שישומם היעיל יוכל להיעשות באמצעות מערכת תומכת החלטות שתוביל את החקלאי בצורה מובנית ופשוטה בתהליך קבלת ההחלטות.

מטרות המחקר בתקופת הדו"ח

1. שיפור טכניקת כימות עוצמת הפריחה.
2. ניסיון ראשוני לעקוב אחרי התפתחות חנטים בעזרת אמצעים אופטיים
3. בניית בסיס נתונים של ביטוי גנים במהלך נשירת חנטים טבעית ולאחר טיפולים מסחריים
4. יצירת תשתית מחקרית מתאימה להבנת מנגנון הנשירה הפיזיולוגית בתפוח.
5. אפיון השפעת הדילול הכימי על נשירת חנטים בעמדות השונות על גבי התפרחת ובכלל העץ בעצמות פריחה משתנות.

הערכת עוצמת הפריחה ומצב הפריחה באמצעות צילומי RGB – מעבדת ויקטור אלחנתי

הערכת עוצמת הפריחה: כימות אוטומטי של הפרחים על העץ לצורך הערכת עוצמת הפריחה אינה משימה פשוטה, מאחר שהשונות בעלוות העץ ובתנאי הסביבה מקשים על הראייה הממוחשבת. המומחה, שבו נעזרים החקלאים, צריך להיות נוכח במטע ולעבור על כולו, מה שגוזל זמן רב ולכן אינו יכול להגיש לכל החקלאים הנעזרים בו את העזרה המלאה בזמן הקריטי, במיוחד במטעים גדולים יותר.

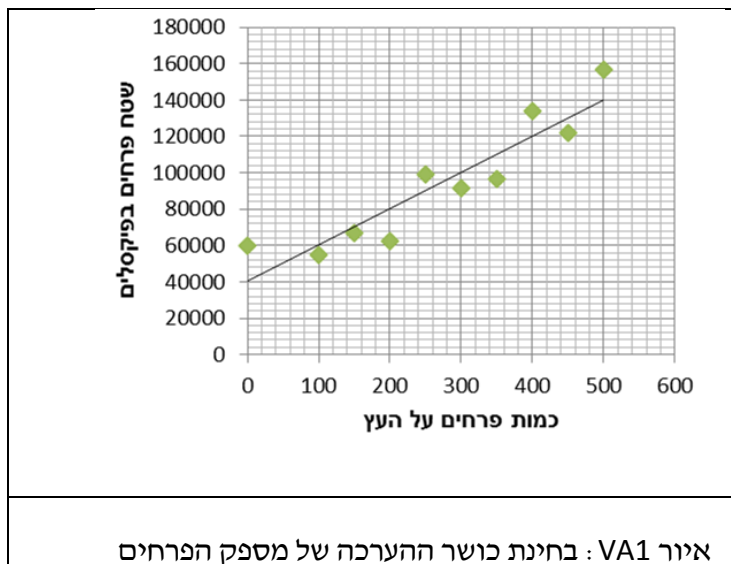
שיטות: מחקר זה מתבסס על ההנחה שניתן, באמצעות כלים של ראייה ממוחשבת ומצלמה רגילה, לכמת את מספר הפרחים על כל עץ במטע, להתחקות אחר הבחנת המומחה ולייצר מפת פריחה למטע, למרות השונות הגדולה בסביבה, בתאורה ובעלוות העץ. בשנים 2014-2015 נבחנה הנחה זו בעזרת כלים שונים של עיבוד תמונה. בעונות הפריחה של 2014 ו-2015.

הניסוי נערך בגליל העליון בחוות מתתיהו, בגובה 680 מ' מעל פני הים. החווה שוכנת בקואורדינטות 242750 מזרח ו-774400 צפון ברשת ישראל החדשה. בחווה יש מספר חלקות של מטעי תפוחים ממספר זנים. במחקר זה נתמקד בזן זהוב. בשנה הראשונה צולמו כ-70 עצים, שתי שורות בחלקה 9 הנטועה מצפון לדרום. בשנה השנייה צולמו כ-200 עצים, מתוכם 4 שורות בחלקה 9 ושורה נוספת מהצד המזרחי בחווה, כלומר שורה נטועה ממזרח למערב, כדי לבחון מקרים של תאורת שמש מהצד. המרווח בין השורות במטע הינו שלושה מטרים והמרווח בין העצים בשורה הינו מטר וחצי. גובה העצים במטע הוא בין 1.90 ל-3 מטרים.

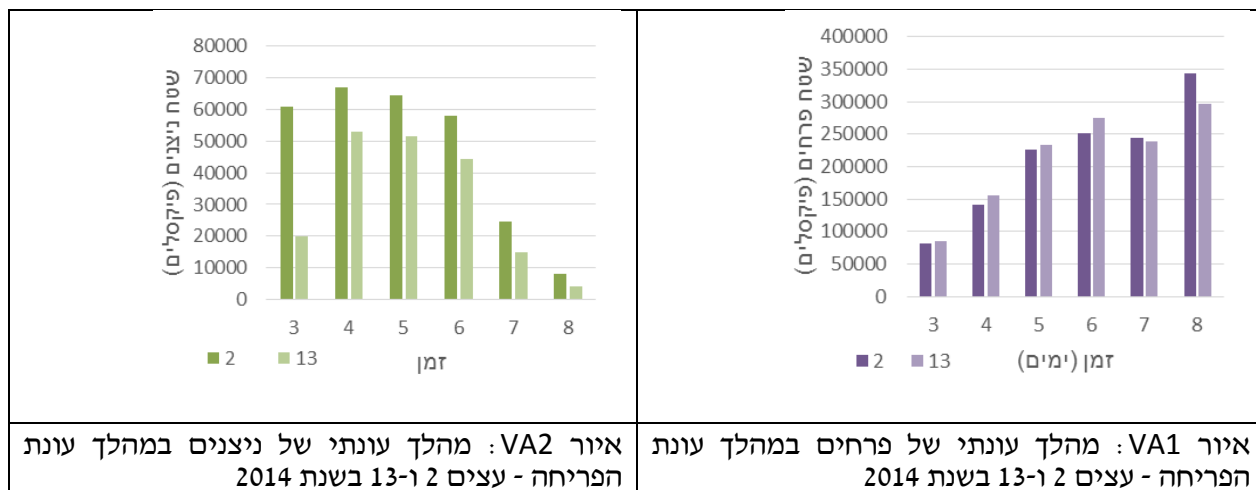
נערכו צילומים יומיים במהלך כל ימי הפריחה, עד ליום שלאחר שיא הפריחה. הניסוי נערך בחוות מתתיהו בגליל העליון. נוסו שיטות צילום שונות, זוויות שונות, פיתוחים שונים לתמונה, הוספת והסרת פילטרים. העצים צולמו באמצעות מצלמת Canon 6D. למצלמה מקלט GPS, חיישן CMOS בעל 20.2 מיליון פיקסלים, ועדשה עם אורך מוקד של 24 מ"מ של Canon. הצילום נעשה מחצובה ניידת אשר הוצבה באמצע השורה והעדשה מכוונת ממרכז השורה אל העץ שמולה. מרחק המצלמה מהעץ כ-1.5 מטר. פותחו אלגוריתמים שונים למיון הפרחים בתמונה, בתחילה לפי צבע וצורה ובהמשך בשיטות אבחנה וסינון יותר מורכבות כגון השכן הקרוב ביותר, מספר השכנים הקרוב ביותר, מרחק אוקלידי וחישוב מהלנובי.

בנוסף, נרשם המיקום הגיאוגרפי של כל צילום באמצעות GPS של המצלמה. בהמשך, הופקו מפות של עוצמת הפריחה בתוכנת ArcGIS. במהלך השנה השנייה החלפנו למכשיר GPS של חברת Trimble GEO x1 כדי לנסות לייצר מפה יותר מדויקת של עוצמת הפריחה. גם במכשיר זה היו שגיאות בשל תנאי מזג אוויר ועננות כבדה במהלך חלק מימי הצילום.

תוצאות: דיוק הערכת מספר הפרחים נבדק באמצעות השוואה בין ספירה ידנית של הפרחים, מול הערכה של המחשב. איור VA0 מראה את הקורלציה בין מספר הפרחים שנספר באופן ידני, לבין בערכת מספר הפיקסלים השייכים לפרחים באמצעות המחשב.



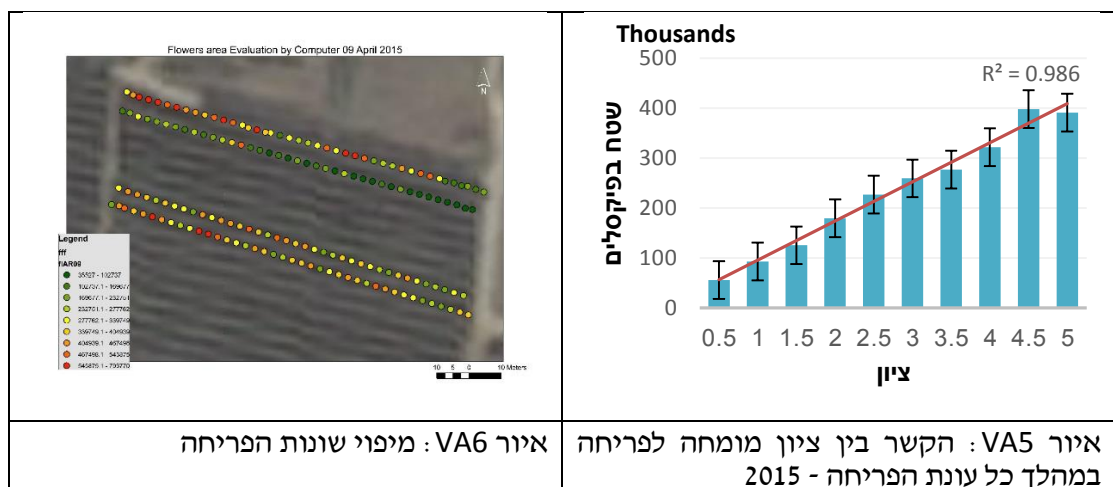
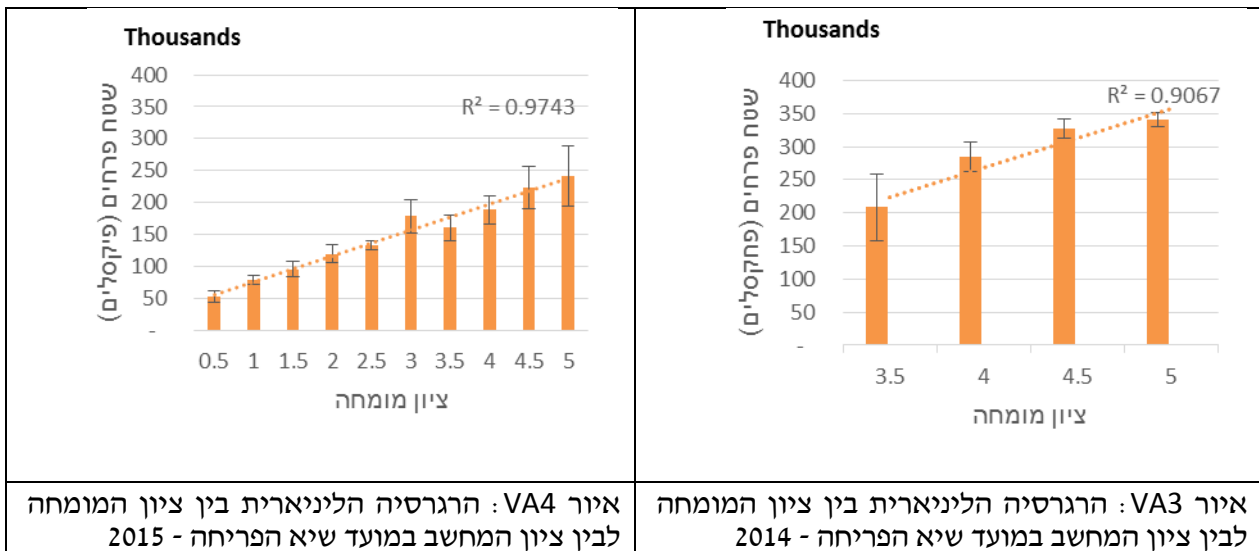
הדינמיקה העונתית של התפתחות הפריחה והניצנים מתוארת באיור VA1 (ניצנים) ו-VA2 (פרחים) עבור שני עצים טיפוסים. ניתן לראות שלכל עץ דינמיקה קצת שונה, ושי הפריחה אינו זהה. טבלה TVA1 מסכמת את מועדי שיא הפריחה של העצים שנמדדו במהלך שנות הניסוי. ניתן לראות שמועד שיא הפריחה מתפרד על מספר ימים במהלך עונת הפריחה. בכל עונה, שיא הפריחה של מרבית העצים דומה למועד שנקבע על ידי המעריך המומחה.



טבלה TVA1. מספר עצים שהגיעו לשיא פריחה במהלך שבוע הפריחה באפריל 2014 ובאפריל 2015

מס' עצים שהגיעו לשיא פריחה	יום באפריל 2015	מס' עצים שהגיעו לשיא פריחה	יום באפריל 2014
0	8	5	3
28	9	1	4
11	10	5	5
1	13	12	6
77	14	0	7
42	15	44	8
ס"ה עצים ב-2015 – 159		ס"ה עצים ב-2014 – 67	

הערכת עוצמת הפריחה כיום נעשית על ידי מומחה. נבחנה האפשרות להעריך את עוצמת הפריחה באמצעות הערכת השטח הלבן בצילומים RGB. נמצא מתאם גבוה מאד בין הערכת המומחה לציון עוצמת הפריחה מניטוח הדמיית RGB ב-2014 (VA3) ו-2015 (VA4). יש הבדלים בין השנים בקווי הרגרסיה כיוון שהמעריך עובד על סקלה יחסית לעוצמת הפריחה בשנה נתונה ולצילום יש יתרון כיוון שהתגובה לדילול מתייחסת למספר הפרחים המוחלט. בחינה נוספת הישוותה בין ציון עוצמת פריחה שנתן החוקר במשך חמישה ימים לבין ציון העוצמה מנתוני ההדמיה וגם כאן נמצא מתאם גבוה (VA5).



שימוש ב-GPS ביחד עם הניתוח של הצילומים מאפשרים למפות את השונות בין השורות ובין העצים בשורות, כפי שנראה באיור VA6. השונות במרחב מתארת, בין היתר, את אי האחידות במועד שיא הפריחה. מפה מסוג זה, אפשרי להעביר למרסס VRT (טכנולוגיה ליישום משתנה במרחב) ולאפשר התאמה של חומר הדילול על פי עוצמת הפריחה.

דיון: במחקר זה רצינו לזהות את שיא הפריחה ברזולוציית העץ במטע. לצורך כך ליווינו את תקופת הפריחה כאשר בכל יום צילמנו את כל העצים. את התמונות העברנו באלגוריתם המייצר את שטח הפרחים בתמונה והנחנו על ציר הזמן. באיורים 3, 4, 5 ו-6 כבר ניתן לראות את השונות עם הזמן, בין השנים ובין העצים. לצורך מציאת שיא הפריחה יצרנו סינון לפי שטח פרחים מקסימלי וכך הוצאנו את הנתונים המראים כמה עצים הגיעו לשיא פריחתם בכל יום (טבלה 2). את שיא הפריחה לא הצלחנו לזהות ביום בו התרחש אלא רק לאחר שרוב העצים

הגיעו לשיא פריחה. אולי בעזרת למידה מההיסטוריה המתועדת של המטע והעצים, יחד עם הצלבתם בתנאי מזג האוויר יהיה אפשר לגלות מהר יותר את שיא הפריחה.

כדי לבדוק אם יש שונות בולטת במרחב, כלומר האם המערכת מספיק רגישה כדי להבדיל בין עץ לעץ וכן לעקוב אחר השינויים של כל עץ מידי יום. את ההבדל בין העצים עצמם היום ואתמול ובין העץ לשכניו המערכת אכן מזהה. בשנת המחקר הראשונה השתמשנו בגי-פי-אס של המצלמה, אך הדיוק שלו ירוד מכדי להציב יום על יום ולמעשה אפשר להוציא ממנו רק סימון יחסי של העצים במטע, שזה מוצר לא מספק. בשנת המחקר השנייה השתמשנו במכשיר גי-פי-אס ידני חיצוני בעל דיוק גבוה יותר, אך בימים המעוננים נתקלנו בבעיות תפעול עם המכשיר ושוב לא צלח הניסיון ליצור מפה. אולי בעתיד יהיה פשוט יותר לדקור ביום טוב כל עץ בגי-פי-אס מדויק ללא הפרעות ולשייך את הנתונים למפה לצורך ניתוחים מרחביים, כפי שנעשה עם המפות שהוצגו בדוח זה.

לעומת המחקרים הקודמים, שדרשו רקעים ניידיים, תאורה מלאכותית, מצלמות יקרות, ציוד מכאני או תורן, באמצעות הציוד הפשוט ותהליך הצילום שבחרנו לאיסוף המידע, הראינו קשר חזק בין הערכת העין, הן על ידי המומחה והן של החוקר, לבין תוצאות הערכת שטח הפרחים בפיקסלים בתמונה של עץ. את המתודולוגיה הזו יש לפתח לכלי אוטומטי, האוסף את כל המידע תוך כדי נסיעה במטע.

בתחילת המחקר שאפנו לייצר מערכת שבעזרתה נוכל לתת ציון לעוצמת הפריחה, כפי שעושה המומחה. אמנם הראינו שהמערכת יכולה לכמת את מספר הפרחים על העץ לשטח בפיקסלים, אך יש צורך בכיול יכולת ההבחנה של המחשב בין דרגות עצמת הפריחה, שבהם לא נצפו הבדלים מובהקים. לבדיקת מובהקות ההבחנה של המחשב בין הקבוצות, ביצענו מבחן סטטיסטי. בשנה המחקר הראשונה, משרעת הציונים שסיפק המטע הייתה מצומצמת והכילה עצים בציונים 3.5 עד 5 בלבד. המבחן הסטטיסטי הראה שהמחשב הצליח לזהות מובהקות בהבדלים בין שלוש מתוך ארבע הקבוצות והתקשה להבדיל רק בין עצים שציונם היה 4 ו-4.5. בשנה השנייה צפינו בשונות רבה יותר בפריחת עצים, שציוניהם התפזרו לאורך כל הסקאלה, אולם במבחן הסטטיסטי, מובהקות ההבדלים בין הקבוצות הייתה רק ברווחים של שתי נקודות ציון. תוצאה זו עשויה להיות קשורה ישירות למספר הדגימות המצומצם (58 על פני 10 ציונים) שסופקו ע"י המומחה ונראה שאפשר להגיע למובהקות גבוהה יותר עם יותר דגימות במחקר המשכי.

בעיה נוספת היא שעץ שזכה לציון פריחה 5 מהמומחה בשנת פריחת שיא, היה בעל ממוצע של 340 אלף פיקסלים של פרחים. אולם בשנה הסירווגית, החלשה, הכיל עץ שזכה לציון עצמת פריחה 5 רק כ-240 אלף פיקסלים. מכאן, שמומחה הפריחה מתחיל את סולם הדירוג על בסיס הכרות עם המטע ועל בסיס ההיסטוריה שלו והוא כולל ידע זה בהערכת עוצמת הפריחה בהתאם למצב המטע. במחקר המשכי יש מקום לצבור מידע כזה על מנת ללמוד מההיסטוריה, דבר שעשוי לאפשר העלאת דיוק הכיול של סולם הדירוגים עבור כל שנה (במשך מינימום ארבע שנים, כדי לעקוב אחר הסירווגיות). לאחר צבירת נתונים במשך מספר שנים, בהתחשב בהיסטוריית המטע, המערכת אולי תוכל לתת ציון יחסי מתאים, כפי שנותן המומחה.

דו"ח סופי מעבדת סמך - פיתוח מערכת תומכת החלטות לביצוע דילול תפוח בכלים של חקלאות מדייקת

שאלות המחקר -

- מהו פוטנציאל ההישרדות של החנטים השונים בתפרחת התפוח בזן 'זהוב', בתנאי הארץ?
- מה קובע את אחוז ההישרדות השונה של החנטים השונים בתפרחת התפוח?
- חנט הלטרלי הקטן (L1) כמודל לקביעת "נקודת האל חזור" - מתי נקבע גורלו של החנט הלטרלי הקטן (L1) לנשור?
- מהם האירועים המולקולריים המתרחשים לפני הנשירה הטבעית, מתי הם מתרחשים והאם הם רברסיביליים?

היפותזות -

- רצף של תהליכים ואירועים מובילים לנשירה פיזיולוגית של חנטים. ברגע שהתרחשה "נקודת האל חזור", תהליך נשירת החנטים הינו בלתי הפיך.
- ניתן להגדיר את "נקודת האל חזור" בתהליך הנשירה הטבעית של החנט הלטרלי הקטן (L1), על ידי הסרה של כל שאר החנטים בתפרחת, ובדיקה מתי אין ביכולתנו להציל אותו מלנשור.
 - "נקודת האל חזור" בתהליך הנשירה הטבעית של החנט הלטרלי הקטן (L1) מושפעת מנוכחות חנט דומיננטי בתפרחת.
 - רמת הסוכרים והעמילן בפרח וחנט הקינג והלטרלי הגדול (L3) גבוה יותר מאשר בחנט הלטרלי הקטן (L1), דבר המהווה יתרון התחלתי, ומשפיע על פוטנציאל ההישרדות של החנטים השונים.

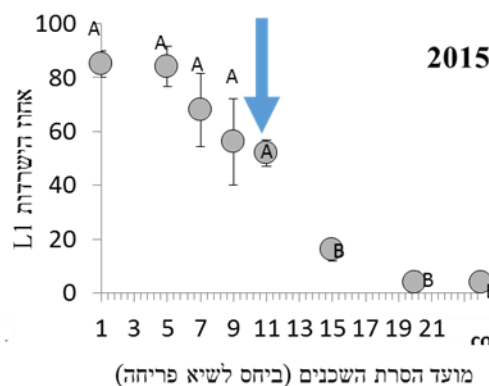
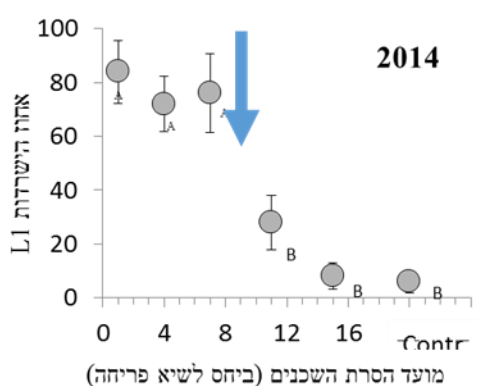
תוצאות -

הישרדות חנטים בזן 'זהוב', בתנאים טבעיים - נשירה פיזיולוגית של חנטים מתחילה כ- 15 ימים לאחר שיא פריחה (ילש"פ), ונמשכת כ- 4 שבועות. בניסוי זה עקבנו אחר הישרדות החנטים השונים בתפרחת, תחת תנאים טבעיים. בשנת 2014 החנטים השונים מוינו ל-3 קטגוריות - קינג, לטרלים גדולים (L2, L3), ולטרלי קטן (L1). בכל תפרחת שרדו בממוצע 1.88 חנטים (37.6%). בין הלטרלים, הפרח הלטרל האחרון שחונט לפרי, הלטרלי הקטן, בעלי סיכויי ההישרדות הנמוכים ביותר (6%). ההישרדות של החנט הלטרלי הקטן תלויה בנוכחות של פירות אחרים בתפרחת. הסרה של כל שאר הפרחים מהתפרחת בשיא פריחה, העלה את סיכויי ההישרדות של החנט הלטרלי הקטן ל 84%, מה שמציע שחנט זה לא מועד לנשירה, וסיכויי ההישרדות שלו תלויים בנוכחות של חנטים נוספים בתפרחת. ב-2015 אחוז הנשירה הכללית היתה גבוהה בעוד שב-2014 מרבית התפרחות שנמדדו הכילו שתי פירות, ב-2015 מרביתם נשארו עם פרי אחד או עם אף פרי. ההבדלים האלה מדגישים את השונות במידת הנשירה הטבעית בכל שנה, ומכאן חוסר ההגיון בפרוטוקול קבוע של דילול כימי. סביר שהנשירה המוגברת ב-2015 נבעה מתנאי מזג האוויר (גשם) בזמן הפריחה, אך אין לנו הוכחה לכך.

אפיון "נקודת האל חזור" בתהליך הנשירה הטבעית של החנט הלטרלי הקטן (L1) - נשירה טבעית של החנט הלטרלי הקטן מתחילה כ- 15-28 ימים לאחר שיא פריחה. נשאלת השאלה, עד איזה שלב/זמן ניתן לשנות את גורלו של החנט הלטרלי הקטן מלנשור, על ידי הסרה של שאר החנטים בתפרחת. מידע זה יאפשר לנו לייצר מסגרת זמנים שבה ניתן ללמוד ולהשפיע על השלבים הראשונים המובילים לנשירת החנט הלטרלי הקטן. בשנת 2014 כל הפרחים/חנטים בתפרחת, מלבד הלטרלי הקטן (L1) הוסרו בימים 1,4,7,11,15 ימים משיא פריחה. אחוז הישרדות החנט הלטרלי הקטן נבדק 44 ימים לאחר שיא פריחה, בסיום תקופת הנשירה הפיזיולוגית של החנטים (איור 1). הסרת כל החנטים 15 ילש"פ לא אפשרה להציל את החנט הלטרלי הקטן (L1) מלנשור (8% הישרדות). לעומת זאת, אם כל החנטים הוסרו 7 ילש"פ, 75% מחנטי L1 שרדו. 4 ימים מאוחר יותר (11 ילש"פ), הסרה של

שאר החנטים העלתה רק במעט את אחוז ההישרדות של חנט ה-L1. מתוצאות אלה נראה שעד יום 7 משיא פריחה, החנט הלטרלי הקטן לא עבר את "נקודת האל חזור" בתהליך הנשירה הטבעית. תהליך כלשהו מתרחש בחנט הלטרלי הקטן (L1) בין 7-15 ימים לאחר שיא פריחה, אחריו לא ניתן להציל אותו מלנשור. ניסוי דומה שהועמד ב-2015 נתן מגמה דומה אך היתה דחייה במועד נקודת האל-חזור והיא נדחתה ליום 11. מחקרים קודמים טענו שהסרה של פרח/חנט הקינג מהתפרחת כמה ימים לאחר אנטזיס מאפשרת לכל שאר החנטים הלטרלים בתפרחת לשרוד את נשירת החנטים הפיזיולוגית (Bangerth, 2000). אם אכן לפרח/ חנט הקינג השפעה מרכזית ומיוחדת על הישרדות החנטים הלטרלים בתפרחת, נצפה שבהעדרו, הסרה של שאר הפרחים בתפרחת לא תשנה את סיכויי ההישרדות של חנט ה-L1. כאשר הסרנו ב-2014 את פרח הקינג בשיא פריחה מהתפרחות בניסוי זה, ולאחר מכן עקבנו אחר גורל חנט ה-L1, בעקבות טיפולי הסרה שונים של שאר החנטים הלטרלים בתפרחת, גילינו דפוס הישרדות דומה לזה שהתקבל בתפרחות ללא הסרה מוקדמת של פרח הקינג. ממצא זה מציע שלחנט הקינג בזן 'זהוב' אין תפקיד ייחודי בתהליך הנשירה של החנט הלטרלי הקטן L1. כאשר הסרנו ב-2014 את הפרח הלטרלי הגדול (L3) בשיא פריחה מהתפרחות בניסוי זה, ולאחר מכן עקבנו אחר גורל חנט ה-L1, בעקבות טיפולי הסרה שונים של שאר החנטים בתפרחת, נראה היה שבתפרחות ללא L3, הייתה דחייה של "נקודת האל חזור", וניתן היה להציל את החנט הלטרלי הקטן מלנשור עד יום 11 משיא פריחה. ייתכן ובזן 'זהוב', לחנט הלטרלי הגדול-L3 יש השפעה מעכבת רבה יותר על סיכויי ההישרדות של החנט הלטרלי הקטן, L1, בהשוואה לחנט הקינג.

קביעת מועד האל-חזור של נשירת L1 במהלך שתי שנות ניסוי



איור 1: במהלך שנתניס הסרנו את כל חנטי התפרחת מלבד L1 במועדים שונים ובדקנו את יכולת החנט לשרוד. הסרת השכנים בשיא פריחה (יום 0) הצילה את החנט L1 במעל 80% מהמקרים. הסרת שכנים ביום 11 כבר לא הצילה את החנט בשנת 2014 ואילו בשנת 2015 המועד הראשון בו היתה ירידה דרמטית בסיכויי הישרדות החנט היה יום 15.

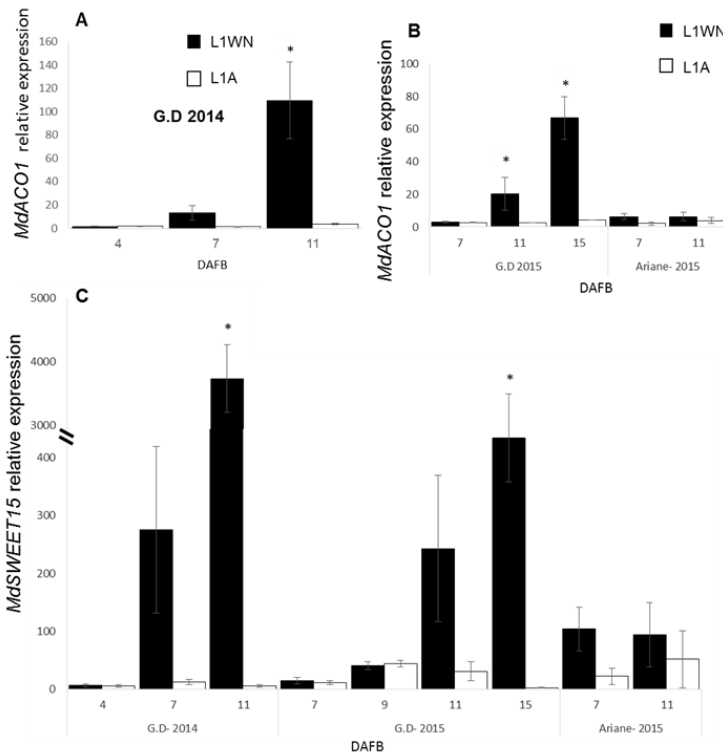
מדידת רמת הסוכרים והעמילן בחנטים השונים בתפרחת-

רמת הסוכרים המסיסים- סוכרוז, גלוקוז, פרוקטוז וסורביטול נמדדה במכשיר HPLC אנליטי. המדידה נעשתה על דוגמאות של השחלה וצינור הפרח- רקמת הפרי המתפתח בלבד, בחנטים השונים בתפרחת במשך שנתניס. נמצאו הבדלים מובהקים בין חנטים באותה תפרחת אך כל אחד מהחנטים נמצא בשלה התפתחותי שונה. כשהשוונו חנטים משלב התפתחותי זהה, לא מצאנו הבדל מובהק בתכולת הסוכרים בחנט. התוצאות פורסמו במאמר (Ackerman & Samach, 2015):

מדידת רמת ההורמונים השונים בעוקצי הפירות

ההשערה בספרות היא שחנט ה-king מייצא דרך העוקץ כמות גדולה של אוקסין, ובכך מגביר את הסיכויים שלו לשרוד (התאוריה של Bangerth). רצינו לבדוק האם לפני נשירה, ותוך כדי ההחלטה על נשירה, ישנם באמת הבדלים ברמות ההורמונים בין החנטים השונים בתפוח. השווינו בין חנט ה-king וחנט ה-L1. המדידות של ההורמונים נעשו בשיתוף פעולה עם מעבדתו של פרופ Jens Wünsche מאוניברסיטת Hohenheim בגרמניה.

התוצאות



הוצגו בדו"ח ה-2015 ומפאת חוסר מקום פה לא יוצגו בשנית. ב-2013 גם השפעת ריסוס באגריטון על שינויים בהורמונים בעוקצי הפירות. בשנת 2013, רמות הוצגו בדו"ח ה-2015 ומפאת חוסר מקום פה לא יוצגו בשנית. ב-2013 גם השפעת ריסוס באגריטון על שינויים בהורמונים בעוקצי הפירות. בשנת 2013, רמות

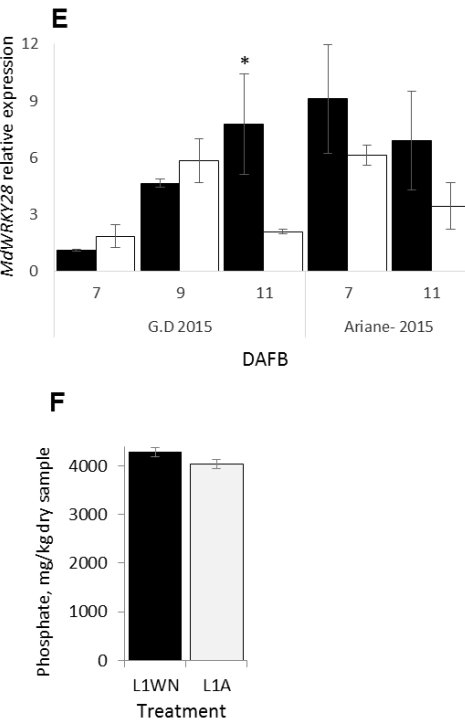
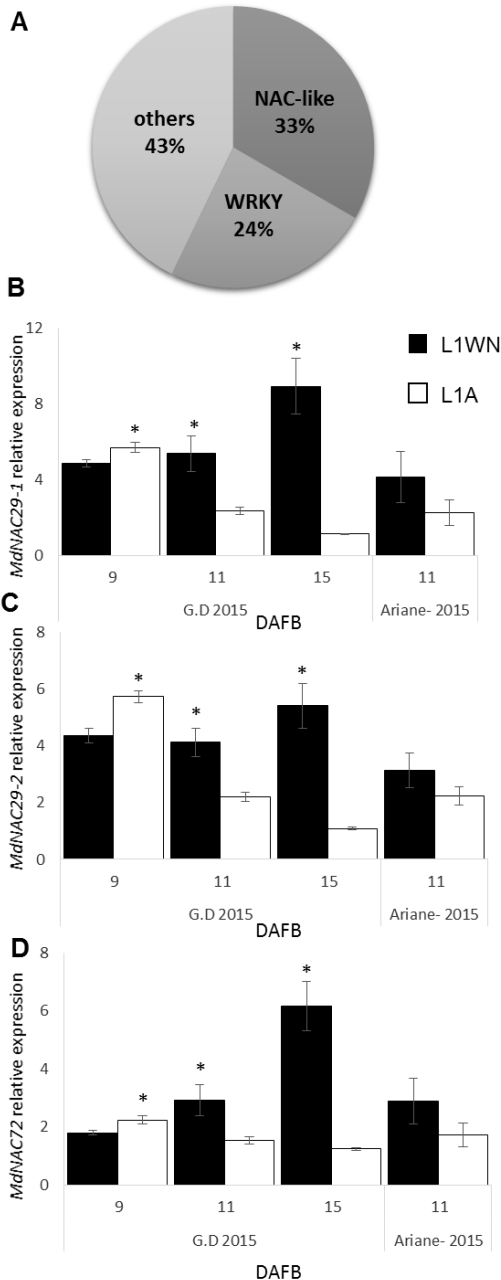
איור 2 ביטוי יחסי של הגנים MdACO1 ו-MdSWEET15 בחנטי L1 עם (L1WN) או בלי (L1A) בשנת 2014 נבדק הזן זהוב ובשנת 2015 נבדקו הזנים זהוב ו אריאן. סיכויי ההשרדות חנטי 'ל1' בון 'אריאן' הינם 46%, בהשוואה סיכויי השרדות של 4% הממצאים שלנו מציעים, שמעקב אחר ביטוי גנים מסויימים יכול לחזות את גורלו של החנט (לשרוד או לנשור), כשבוע או יותר לפני הנשירה עצמה, וימים לפני הופעת סממן היצוני כלשהו להתרחשות התהליך. עובדה זו יכולה לשמש ככלי דיאגנוסטי במטעים.

האוקסין בעוקץ עלו מיום 0 ליום 14. לא היו הבדלים מובהקים ברמות האוקסין בין סוגי החנטים באף אחד מהמועדים או השנים. נמדדו שני סוגי ציטוקינינים. היתה ירידה מובהקת ברמתם במעבר מיום 0 ליום 14 בשנת 2013. ירידה דומה ב-zeatin נצפתה גם בשנת 2014. שוב, לא היתה השפעה מובהקת לסוג החנט. לא היו שינויים מובהקים ברמת החומצה האבסיסית. לסיכום, נראה שיש שינויים התפתחותיים ברמת ההורמונים בעוקץ אך לא הבחנו בשינויים המעידים על הבדלים מהותיים בין סוגי החנטים.

הכנת טרנסקריפטום המשווה L1 עם או בלי שכנים.

ללא היפותיזות עבודה נוספות, בחרנו בגישה נרחבת יותר, ובחנו את השינויים הגלובליים בביטוי גנים, על ידי השוואת הטרנסקריפטום של חנטי L1, עם ובלי חנטים שכנים, בשלבים מוקדמים של התפתחות הפרי, לפני ואחרי השלב הבלתי הפיך לקראת נשירה. זיהינו 3414 גנים המתבטאים דיפרנציאלית, 2368 גנים שביטויים עולה בחנטי L1 עם שכנים 7 ימים לאחר שיא פריחה, ו-1046 גנים שביטויים יורד בחנטי L1 עם שכנים 7 ימים לאחר שיא פריחה. לגבי גנים מסוימים ווידאנו את דפוס ביטוי באמצעות RealTime במהלך עונה נוספת, הפעם, השתמשנו בזן תפוח נוסף בשם 'אריאן'. סיכויי ההשרדות חנטי L1 בזן 'אריאן' הינם 46%, בהשוואה סיכויי השרדות של 4% בזן 'זהוב'. באיור 2 מוצגים שני גנים שהראו דגם ביטוי מאוד בולט של עליה לקראת נשירה, בנוסף, פקטורי שעתוק מקבוצת NAC ו-WRKY משכו את תשומת ליבנו (איור 3). מאחר ורמת הביטוי שלהם עולה במינים אחרים עקב רעב לפוספאט, בדקנו את רמת הפוספאט בחנטים ובנקודת הזמן שבדקנו לא היה הבדל בין חנט L1 לבד לחנט L1 עם שכנים. הממצאים הראשוניים שלנו מציעים, שמעקב אחר ביטוי גנים מסויימים יכול לחזות את גורלו של החנט (לשרוד או לנשור), כשבוע או יותר לפני הנשירה עצמה,

וימים לפני הופעת סממן חיצוני כלשהו להתרחשות התהליך. באותה חלקת זהוב, הנשירה הטבעית היתה 62% בשנת 2014 ו-80% ב-2015. מהתוצאות עולה ההיפוטזה שדווקא איחור במועד הפסקת התחרות של הטרלי הקטן, כפי שקרה ב-2015, הביא לנשירת יתר של שאר החנטים. הדבר דומה למידת התשישות של קבוצת כדורגל אחרי משחק עם קבוצה חזקה (L1 התחרה לזמן ארוך) או עם קבוצה חלשה (L1 התחרה לזמן קצר). יתכן שעליה מוקדמת בביטוי אותם גנים בחנט L1 שמצוי ליד שכנים מבשרת נשירה חלשה של שאר החנטים. מאידך, מידת העליה בביטוי



איור 3. פקטורי שנתוק שביטויים עולה לקראת נשירה. A. דיאגרמת PIE בו ניתן לראות את האחוז היחסי של פקטורי שנתוק ממשפחת WRKY וNac-like מתוך כלל פקטורי השנתוק שעלו בחיפוש. (B-E) דגם ביטוי של כמה פקטורי שנתוק. ראה איור 2 להסברים. F. כמות הפוספאט שנמדדה בחנטים. במכשיר 'Inductively coupled plasma mass spectrometry' (ICP-MS) ICP-MS system

של אותם גנים בחנט L2 במועד מאוחר יותר אולי במתאם חיובי למידת הנשירה העתידית. בכל מקרה אחרי בדיקה נוספת המרקרים הללו עשויים לשמש ככלי דיאגנוסטי במטעים. אינפורמציה מסוג זה, עוד לפני הנקודת שבה נדרשים החקלאים להחליט האם לבצע ריסוס דילול נוסף במטע, יכולה לעזור לבחור את הטיפול המתאים, להמנע מדילול יתר ולחסוך בדילול ידני מאוחר ויקר.

רשימת מאמרים:

Ackerman, M. and A. Samach (2015). "Doubts regarding carbohydrate shortage as a trigger toward abscission of specific Apple (*Malus domestica*) fruitlets." *New Negatives in Plant Science*: doi:10.1016/j.neps.2015.1006.1003.

הרצאות בכינוס:

מיכל אקרמן, אמיר קנדליק, אלון סמך (ינואר 2016) כנס מגדלי תפוח ראש פינה: "הבנת מנגנון נשירת חנטים בתפוח"

איתור סמן מולקולארי המסוגל לכמת את יעילות הדילול הראשון באגריטון

שירה מילוא-כוכבי ומשה פליישמן

המחלקה למדעי עצי הפרי, מנהל המחקר החקלאי

הניסויים נערכו במטע של קיבוץ צובה בשתי שנים עוקבות (2014-2015), במטע של קיבוץ יפתח בשנת 2015 ובמטע מתתיהו ב-2016. בשנים 2014-2015 בחנו עצים בוגרים מהזן Golden delicious, שווים בגודלם ומכילים כמות שווה, יחסית, של תפרחות. בשנת 2016 בחנו עצים בוגרים מהזן Golden delicious, שווים בגודלם המכילים כמות שונה של תפרחות.

10 עצים שימשו כקבוצת ביקורת לא מרוססת.

10 עצים רוססו ב- Agriton© 0.3% (NAA+NAD) (ריסוס מסחרי, על כל העץ) 5 ו- 3 ימים אחרי שיא פריחה ב- 2014 ו- 2015, בהתאמה.

בשנת 2016 בחנו עצים בוגרים מהזן Golden delicious, שווים בגודלם המכילים כמות שונה של תפרחות.

- נבחנו 10 עצים בעלי עוצמת פריחה גבוהה ו-10 עצים בעלי עוצמת פריחה נמוכה.

- העצים הני"ל 10 עצים רוססו ב- Agriton© 0.3% (NAA+NAD) (ריסוס מסחרי, על כל העץ) 3 ימים אחרי שיא פריחה.

מן החומר שנאסף בשנת 2014 הופקו דוגמאות RNA מארבעה סוגים שונים של חנטי תפוח (King, L3, L2, L1) עם וללא דילול כימי ב- NAA+NAD, אשר נדגמו לאורך שבעה ימים בשלוש נקודות זמן שונות ומוקדמות מאוד מבחינה התפתחותית (5, 8, ו- 12 ימים אחרי שיא פריחה התואמים ל- 0, 3 ו- 7 ימים לאחר הריסוס) ושימשו לביצוע טרנסקריפטום בשיטת RNA-Seq. החומר שנאסף בשנת 2015 (משני המטעים השונים) שימש לאימות תוצאות הטרנסקריפטום באמצעות RT-PCR ונדגם בנקודות זמן רבות יותר (0, 3, 4, 6 ו- 10 ימים אחרי שיא פריחה שתואמים ל- 3, 0, 1, 3 ו- 7 ימים לאחר הריסוס). החומר שנאסף בשנת 2016 הופקו דוגמאות RNA מחמישה סוגים שונים של חנטי תפוח (King, L3, L2b, L2s L1) שנדמו מעצים בעלי עוצמות פריחה שונות ורוססו לדילול כימי ב- NAA+NAD, אשר נדגמו לאורך שבעה ימים בשלוש נקודות זמן שונות ומוקדמות מאוד מבחינה התפתחותית.

תוצאות

בוצע ניתוח גנומי רחב יריעה על מנת לזהות ולאפיין את התהליכים הביוכימיים העיקריים המתרחשים במצעית החנט ומקדימים נשירת חנטי תפוח צעירים בשלבי התפתחות מוקדמים של החנט וכן בכדי לזהות סמן מולקולארי שיאפשר לשפר את איכויות טיפולי הדילול. ארבעה סוגים שונים של חנטי תפוח (King, L3, L2, L1), ללא טיפול ולאחר ריסוס במדלל המכיל NAA+NAD, נבדקו מבחינה פיזיולוגית ומולקולארית. דוגמאות RNA הופקו מארבעת סוגי החנטים השונים עם וללא דילול כימי ב- NAA+NAD, אשר נדגמו לאורך שבעה ימים בין 5 ל- 12 ימים אחרי שיא פריחה ושימשו לביצוע טרנסקריפטום בשיטת RNA-Seq. תמונות ביטוי הגנים בחנטים השונים חשפו את הגורמים העיקריים המבקרים את השלבים המקדימים לנשירת חנטי תפוח צעירים והיוו בסיס למודל המשלב את התהליכים הביוכימיים העיקריים המובילים לנשירת חנטי תפוח בשלבי ההתפתחות המוקדמים של החנט ולמצאת גנים דיפרנציאלים שימשו כסמנים מוקדמים לנשירת החנט.

בחינה ביואינפורמטית השוואתית בין חנטי king לחנטי L1 איפשרה לזהות מספר גדול של גנים היכולים לשמש כסמנים מולקולאריים לתהליכי נשירה טבעית בחנטי תפוח צעירים 8 וואו 12 ימים לאחר שיא פריחה. באיור 1 ניתן לראות ביטוי דיפרנציאלי של 21 גנים נבחרים ביניהם כאלה המשתתפים בתהליכי ביוסינתזה של הורמונים (בעיקר הורמוני עקה), סינתזה וחישה של סוכרים, פירוק פוליסכרידים (דופן תא ועמילן), ROS והזדקנות.

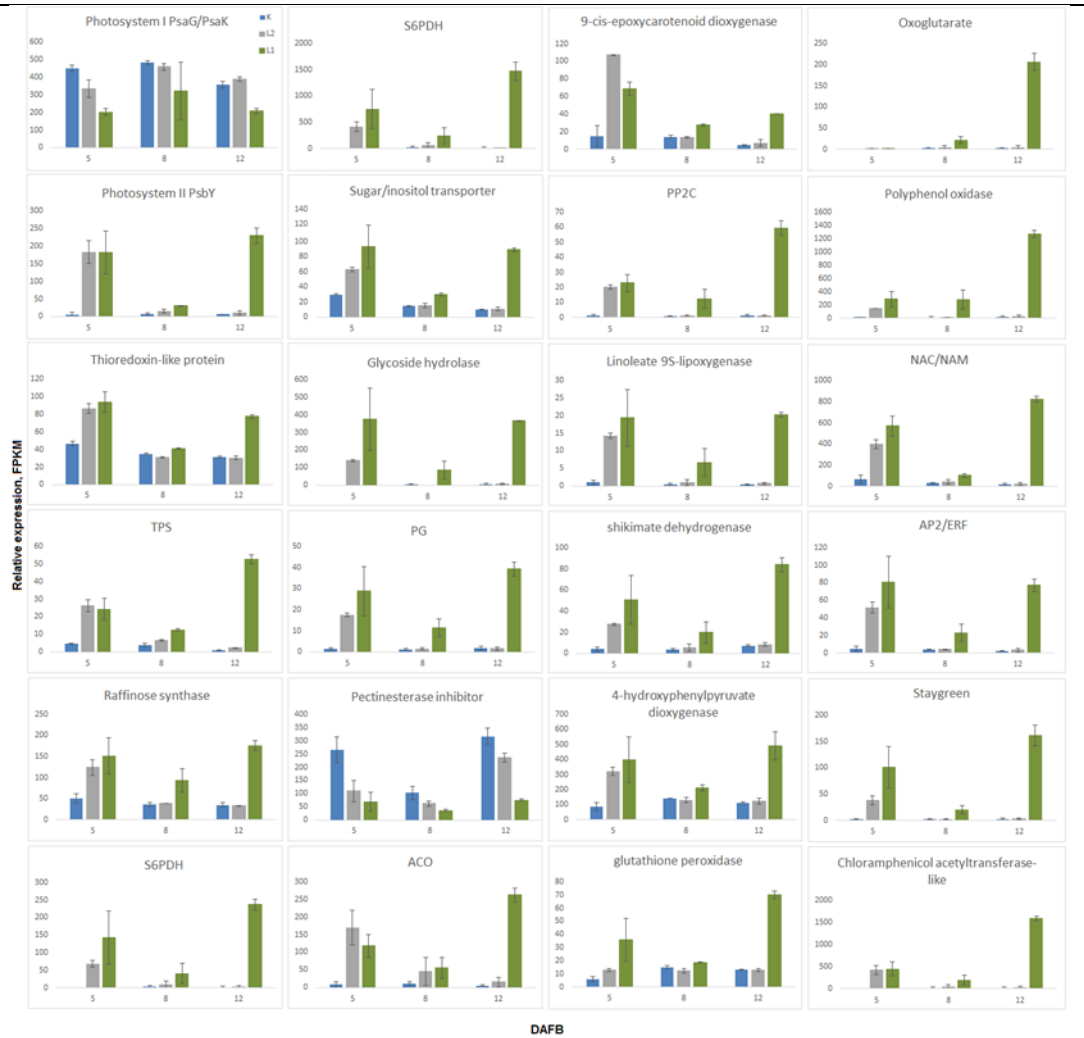
בבחינה ביואינפורמטית השוואתית בין חנטי king לחנטי L1 ו-L2, זוהו מכלל הטרנסקריפטום רק שישה גנים שהוכחו אמינות ביכולתם לסמן תהליכי נשירה בעקבות דילול ב-NAA+NAD בחנטי L2 בנקודות הזמן 3 וואו 7 ימים לאחר הריסוס (8 וואו 12 ימים לאחר שיא פריחה). נראה לפיכך שבעיתוי הנבחן מידת הדמיון של חנטי L2 הייתה גדולה יותר לחנטי ה-king. יכולתם של הגנים לסמן תהליכי נשירת חנטים אומתה בדגימות חנטים שנאספו בנתני גידול שונים. בעונת הגידול 2014 ו-2015 במטע צובה ובעונת 2015 במטע יפתח (איור 2) ובעונת 2016 במטע מתתיהו שבו נבחנו 2 עוצמות פריחה שונות. נמצא כי הסמנים יעילים לזיהוי דילול בעוצמות הפריחה השונות (איור 3).

סיכום

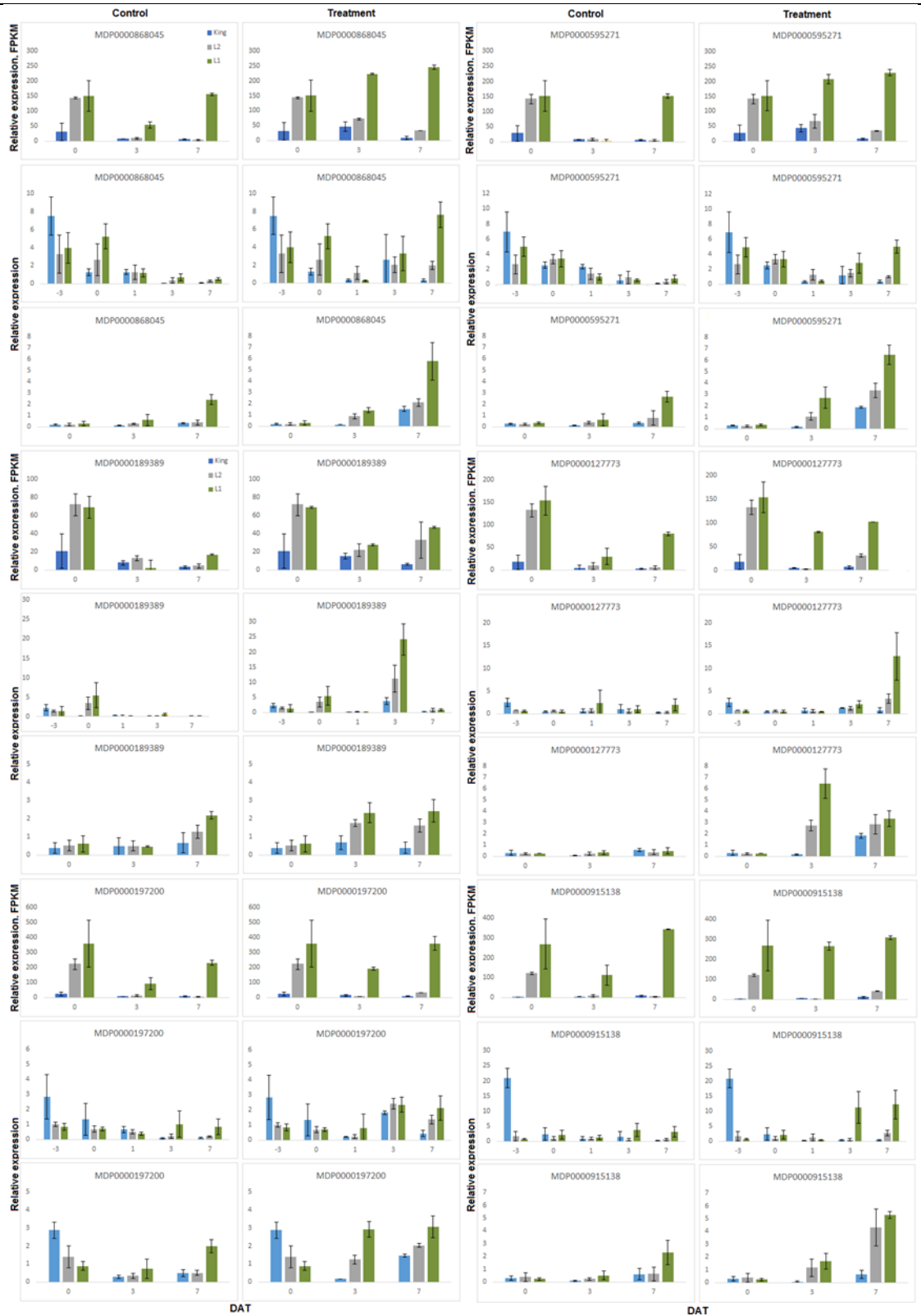
מאגר הגנים המראים ביטוי דיפרנציאלי בין חנטי King ל-L1 מהווה מקור בעל פוטנציאל ממשי לאפיון וזיהוי סמנים הקשורים לתהליכי נשירה טבעית בחנטי תפוח. שישה גנים נמצאו כבעלי יכולת פוטנציאלית גבוהה לאמוד את יעילות הדילול בחנטי L2.

הצעות להמשך עבודה

יש לחזור על ניסויי השדה באזורי אקלים שונים, במספר מטעים שונים ולוודא את אמינות הסמנים באמצעות בחינת הביטוי היחסי ב-RT-PCR. ניתן להרחיב מעט את חלון הזמן המוקפד במסגרתו עבדנו בשנים הקודמות ולהתאימו לחומרי דילול חדשים המאפשרים מרווח גדול יותר בין טיפולי הדילול המשלימים. אנו סבורים כי הרחבת חלון הזמן תאפשר לזהות סמני נשירה נוספים בחנטי L2 אשר בשלבים המוקדמים אותם בדקנו היו ניתנים לזיהוי רק בחנטי L1.



איור 1. ביטוי יחסי של מרקרים פוטנציאליים (גנים מייצגים) לתהליכי נשירה טבעית (ללא ריסוס)



איור 2. ביטוי יחסי של מרקרים פוטנציאליים בחנטי L2 לאחר ריסוס באגריטון, בשתי שנים עוקבות, בשני אזורי אקלים שונים ובשלושה מטעים שונים

<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000197200 Yippe-like protein אינו מוכר בצמחים, הומולוג אנימאלי נמצא קשור לעצירה בגדילת תאים ולהתפתחות תהליכי דעיכה ומוות בתא.</p>
<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000915138 Uncharacterized protein family UPF0497, trans-membrane</p>
<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000189389 Ferritin משמש כרכיב הגנה בפלסטיות מפני עקה חמצונית (Oxidative stress).</p>
<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000595271 Dehydrin חלבון המיוצר בצמח בתגובה לעקה, בעיקר עקת יובש אך לא רק.</p>
<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000868045 Dehydrin חלבון המיוצר בצמח בתגובה לעקה, בעיקר עקת יובש אך לא רק.</p>
<p>עוצמה נמוכה</p>	<p>עוצמה גבוהה</p>	<p>MDP0000127773 Cytochrome P450 משתתף בתהליכי ביוסינתזה של הורמונים מסוג Brassinosteroids.</p>

איור מס' 3. ביטוי יחסי של שישה מרקרים פוטנציאליים לבדיקת דילול בחנטי תפוח בעמדות שנות לאחר ריסוס באגריטון, במטע מתתיהו בשנת 2016 בעצים בעלי פריחה גבוהה ונמוכה.

חיזוי נטיית חנטים לנשור באמצעות כלים אופטיים - מעבדת רפי לינקר

מטרת המחקר: לפתח כלי בלתי הרסני לחקלאי המאפשר הערכת פוטנציאל הישרדות של חנט "זהוב" בשדה.

היפותזה: תהליך נשירה מפעיל רצף אירועים המשפיעים על מצבו הפיזיולוגי של חנט והיפותזת העבודה הייתה שניתן לזהות את השינויים במצב הפיזיולוגי של החנט בעזרת מדידות ספקטראליות בתחום הנראה-אינפרא אדום.

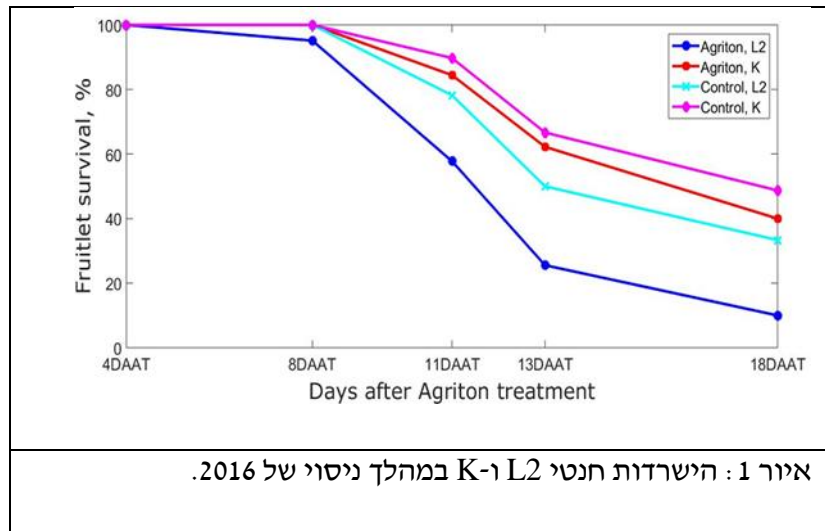
שיטות: הניסויים נערכו בחוות מתתיהו על תפוח "זהוב" הנטוע בצפיפות על כנה 9. מדידות בוצעו ב 2015 ו 2016. בשנת 2015 שיא הפריחה היה ב-13 לאפריל. דילול באגריטון 0.4% (73 ח"מ ח"פ NAD + 27 ח"מ ח"פ NAA) ניתן בשיא הפריחה+6 ימים ולא בשיא הפריחה+3 ימים כפי שתוכנן עקב תנאי מזג האוויר סוערים. בשנת 2016 שיא פריחה היה ב-2 לאפריל. בהשוואה לפריחה בשנה הקודמת פריחה הייתה מרוחה יותר. הריסוס באגריטון ניתן בשיא פריחה +4 ימים.

בשנת 2015 העבודה התמקדה בחנטי L2, ופירוט המדידות שבוצעו מופיע בדו"ח ההתקדמות השנתי. בשנת 2016 בנוסף לחנטי L2 הוחלט גם לעקוב אחרי חנט King בכל תפוח כיוון שיש לו פוטנציאל הישרדות גבוה יותר. נבחרו 16 עצים לטיפול באגריטון ו-14 עצי ביקורת. בכל עץ סומנו 20 תפוחות, מלאות מתוכם 3 תפוחות נבחרו לביצוע מדידות ספקטראליות. 12 תפוחות נוספות בכל עץ הוקפאו ב-4 ימי ניסוי לביצוע מיצוי פיגמנטים. המדידות הספקטראליות נעשו 4, 8, 11, 13, ו-18 ימים לאחר הטיפול באגריטון. איסוף והקפאת חנטים בחנקן נוזלי עם העברתם בהמשך למקפיא של 80 – מע"צ נעשו בימים 4,6,8 ו-11 לאחר הטיפול. חשוב לציין שתכנונו מדידות ספקטראליות גם ב-6 יום לאחר הריסוס, אך המדידות בוטלו בגלל גשם.

המדידות בוצעו שוב עם ספקטרומטר USB 650 מ-Ocean Optics בתחום אורכי גל 350nm - 1000nm. נמדד החזר אור דיפוזיבי מהפרי ע"י נרמול בהחזר אור מגוף כיוול לבן. בהשוואה לשנת 2015, שונתה קונפיגורצית המדידה. בשנת 2015 נבנה ספייסר מיוחד כדי לחסום קרני שמש ולדגום שטח בקוטר 2.5mm על פני כל חנט. המדידה נעשתה במרחק כ-12 מ"מ מפני חנט כאשר הזווית בין מקור האור לגלאי הייתה 45°. בשנת 2016 הוחלט לעשות מדידה במגע עם הפרי בעזרת גוש מיוחד המכיל 6 סיבי סיבים אופטיים לתאורה וסיב מרכזי למדידה. גם בשנת 2015 וגם בשנת 2016 נדגמו פני שטח חנט הפונים לכיוון השמש.

תוצאות -

איור 1 מציג את הישרדות לטרלים L2 וחנט K במהלך ניסוי בשנת 2016. ניתן לראות ששיא הנשירה היה בין 11 ל-13 יום לאחר הטיפול באגריטון (ילט"א) בכל הקבוצות. לפי כך, מדידות ב-4, 8 ו-11 ילט"א הן מדידות הכי רלוונטיות לחיזוי פוטנציאל הנשירה.

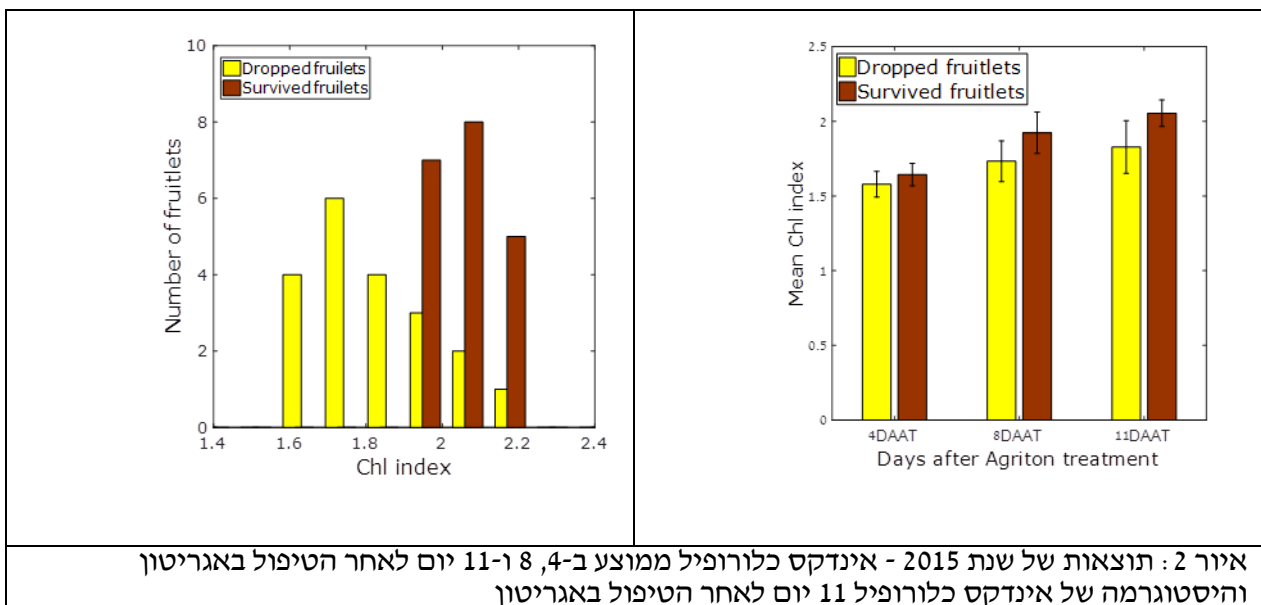


בשנת 2015 נבחנו שני אינדקסים להערכת תכולת פיגמנטים אנטוציאן וכלורופיל בפרי

: Merzlyak et al. (2003)

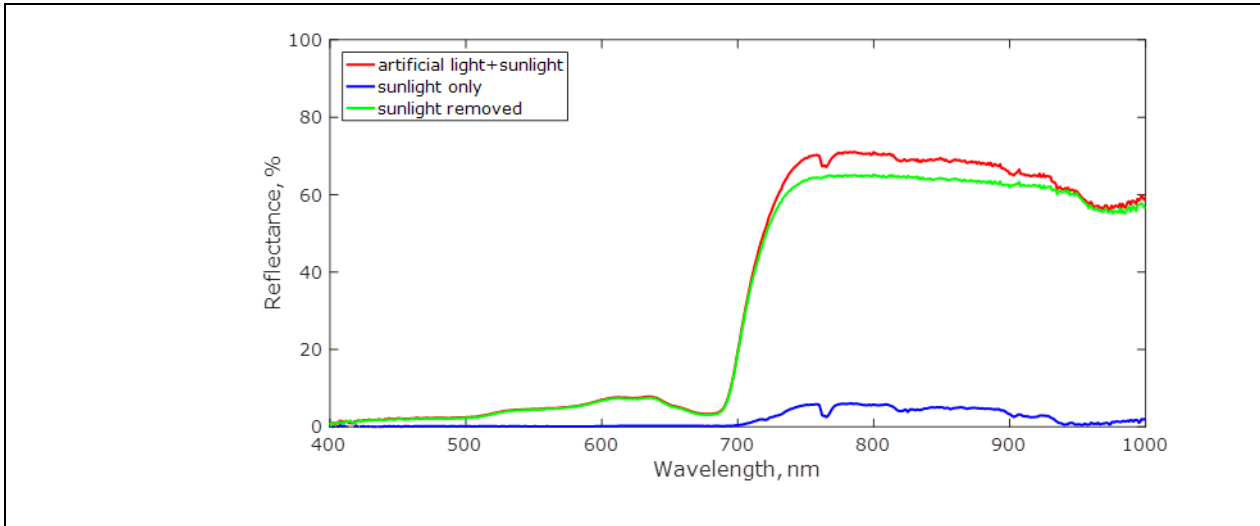
$$\text{Chl index} = R_{800}/R_{700} \quad \text{Ant index} = R_{800}/(1/R_{550} - 1/R_{700})$$

לא נמצא קשר בין הערכת כמות אנטוציאן לבין פוטנציאל הישרדות של החנט אך התקבל הבדל מובהק באינדקס כלורופיל של החנטים השורדים בהשוואה לחנטים הנושרים: בחנטים הנוטים לשרוד התקבל אינדקס כלורופיל גבוה יותר באופן מובהק להשוואה לקבוצה השנייה בכל אחד מהתאריכים שנבדקו (איור 2a). בהיסטוגרמה שמוצגת באיור 2b עבור 11 יום לאחר הטיפול באגריון ניתן לראות שלחנטים עם אינדקס כלורופיל מעל 1.95 קיים סיכוי הרבה יותר גבוה לשרוד מאשר לנשור.



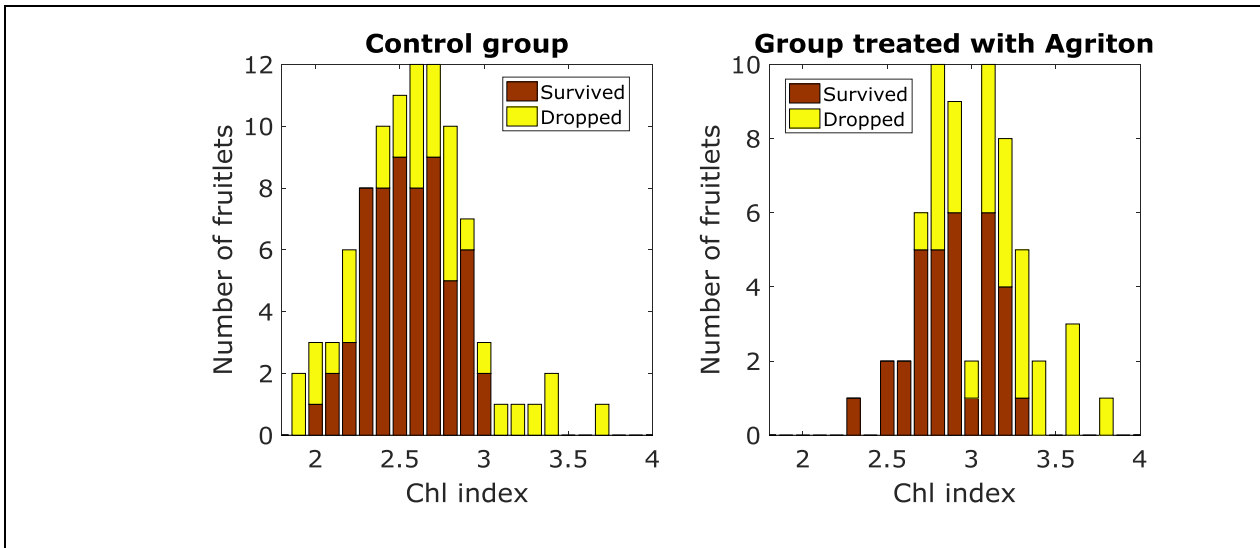
על סמך התוצאות המבטיחות של 2015 הניתוח ב 2016 התמקד באינדקס כלורופיל, אך במהלך הניתוח התברר שבמספר גדול של מדידות הייתה הפרעה חזקה של אור השמש, ככול הנראה כתוצאה מקונפיגורציה המדידה השונה. ניתן לראות דוגמא של השפעת השמש על המדידה באיור 3, המציג מדידה סטנדרטית, מדידה ללא מקור

אור מלכותי ומדידה עם אור מלכותי בלבד (לאחר כיסוי החנט). ניתן לראות בבירור את השפעה של אור השמש בטווח 720-950 ננומטר. לצערנו ברוב החנטים בוצעה רק מדידה "סטנדרטית" כך שלא ניתן "לנקות" השפעת השמש מהסיגנל. לאומת זאת אור השמש מאופיין בבליעה חזקה ב 764 ננומטר כך שאפשר לזהות את הסיגנלים בהם ההשפעה הייתה חזקה, והמשך הניתוח התבסס רק על הסיגנלים בהם הבליעה ב 764 ננומטר הייתה פחות מ 3%.



איור 3 : מדידה אופיינית עם תריס מקור אור פתוח וסגור לבידוד הפרעת שמש במדידה.

איור 4 מציג את התוצאות של המדידות שבוצעו ב 17/04/2016, 11 ימים לאחר הטיפול באגריטון (מועד זהה לזה של איור 2). בניגוד ל 2015, לא נמצא הבדל מובהק באינדקס כלורופיל של החנטים שנשרו (13 יום לאחר הטיפול באגריטון) ואלו ששרדו. תוצאות דומות התבלו גם בכל המועדים בהם בוצעו מדידות.



איור 4 : היסטוגרמה של אינדקס כלורופיל 11 יום לאחר הטיפול באגריטון בשנת 2016. התוצאות מוצגות עבור מדידות עם נפילה 3% לכל היותר סביב 764 ננומטר (השפעת שמש על המדידה גורמת לשגיאה בהערכת אינדקס כלורופיל עד 6%). התוצאות מבוססות על שני חנטי L2 וחנט K

סיכום: התקבלו תוצאות סותרות ב 2015 ו2016 ומדידות נוספות דרושות כדי לזהות את הגורם או גורמים לסתירה זו, אך ניתן להצביע על שני הבדלים עיקריים בין המדידות שבוצעו ב2015 ו 2016:

1. קונפיגורצית המדידה: מדידה במגע ב 2016 לאומת מדידה עם ספייסר וזווית של 45 מעלות בין הארה ומדידה ב 2015. במדידה זו נדגם שטח קטן יותר ויתכן וקונפיגורציה זו הייתה יותר רגישה לעקמומיות פני הפרי.

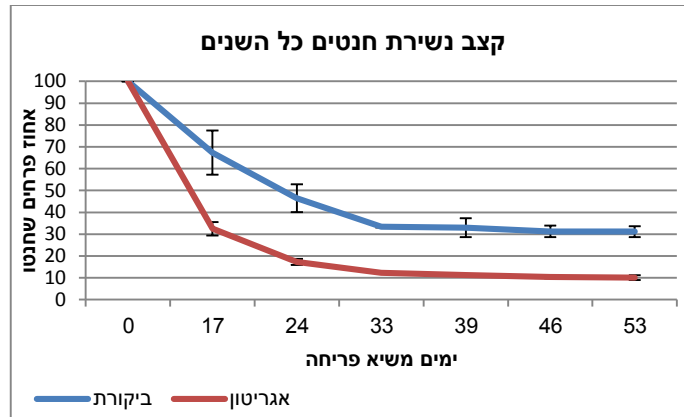
2. הפרעה של אור השמש הרבה יותר משמעותית ב 2016, זאת מכיוון שהמדידות בוצעו בשעות הצהריים, בניגוד ל 2015 בה המדידות בוצעו בסוף היום.

3. שנת 2016 הייתה שנת יוצאת דופן עם פריחה מאוד לא אחידה. יתכן וזה גרם להבדלים בין תפרחות מבחינת שלב התפתחות.

דוח דילול תפוח – מעבדת עומר קריין

המחקר נערך בחוות מתתיהו בחלקת זהוב הנטוע בצפיפות על כנה 9 ובחלקה סטנדרטית הנטועה על כנה חשבי. המחקר נערך במשך 4 שנים עוקבות. בכל שנה סומנו תפרחות ופרחים על גבי התפרחת בהתאם למיקומם בתפרחת. בכל שנה דוללו העצים בהתאם לנהוג במטע: דילול ראשון באגריון בשיא פריחה + 3 או 7 ודילול שני בשיא פריחה + 14 בבונגרו או דילאמיד. אחוז חנטה בכל עמדה נבדק בעצי ביקורת (ללא ריסוס), בעצים שדוללו באגריון בלבד (ש.פ+3) ובעצים שדוללו באגריון ובבונגרו או דילאמיד (ש.פ+14).

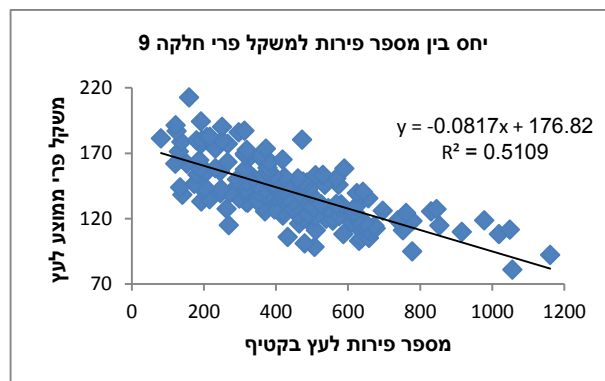
במהלך השנים הנבחנות בחנו את קצב נשירת החנטים ואחוז החנטים השורדים לאחר ריסוס באגריון. נמצא כי מועד נשירת החנטים לאחר הדילול הוא במקביל לנשירת החנטים הטבעית. יחד עם זאת אחוז הנשירה בעצים המטופלים גבוהה בהרבה ביחס לעצי הביקורת (איור 1).



איור 1: קצב נשירת חנטים.

10 עצים שלא טופלו לדילול ו 10 עצים שרוססו באגריון בשיא פריחה + 3 נבחנו למדידת קצב הנשירה. בכל עץ סומנו 20 תפרחות. אחוז החנטים לעץ נבדק אחת לשבוע החל ממועד שיא הפריחה. ממוצעים ושגיאות תקן באיור מייצגים אחוז פרחים שחנטו (חנטים שלא נשרו) בכל בדיקה. מעקב נעשה במשך 3 שנות המחקר הראשונות.

בבחינה דו שנתית (2015 ו 2016) של התפלגות הגדלים שנעשתה במספר רב של עצים נמצא כצפוי כי ישנו מתאם שלילי בין גודל הפרי הממוצע למספר הפירות לעץ. כך שעל מנת שממוצע משקל הפרי יהיה 160 גרם (מצב בו רוב הפרי מעל 70 מ"מ קוטר – גודל הפרי הרצוי לשיווק) יש להשאיר 200 פירות לעץ (בעצים הקטנים שנבחנו בניסוי) (איור 2).

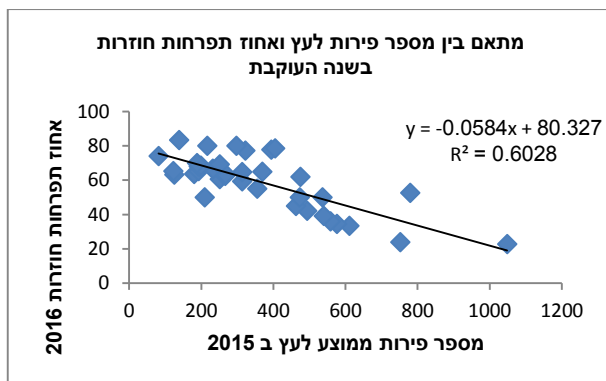


איור 2: יחס בין מספר הפירות לעץ לבין משקל פרי ממוצע.

עצים נקטפו בנפרד ב 2015 וב 2016. סה"כ 165 עצים. בכל עץ נספרו מספר הפירות בקטיף וחושב משקל הפירות הממוצע לעץ. קו רגרסי, משוואת הישר וערך R^2 מוצגים באיור.

בבחינה של אחוז התפרחות החוזרות נמצא כי 50% פריחה חוזרת מתקבלת כאשר מספר הפירות הממוצע לעץ בקטיף השנה הקודמת עמד על ממוצע של 500 פירות לעץ (איור 3). יחד עם זאת עצים בהם אחוז הפריחה החוזרת

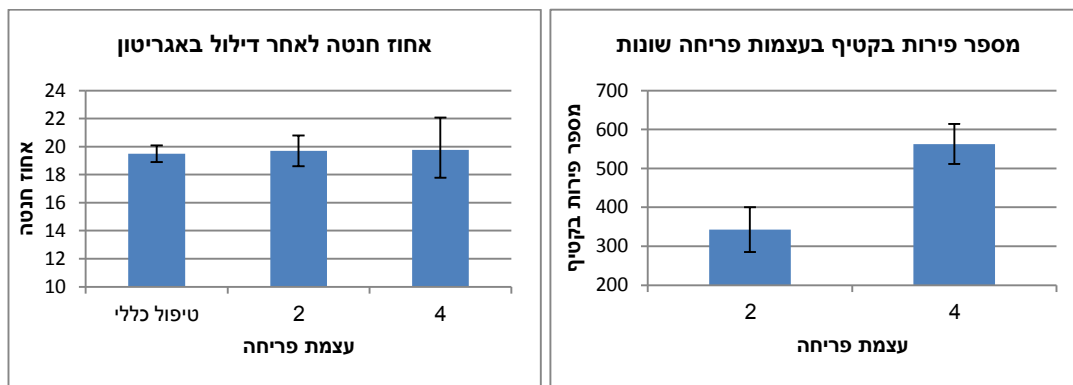
עמד על 50% היו במופע של פריחה בינוני (נתונים לא מובאים). מאידך בעצים בהם מופע הפריחה הכללי על העץ היה חזק אחוז הפריחה החוזרת היה גבוה מ 60%. בעצים אלו מספר הפירות הממוצע לעץ בשנה הקודמת היה 300 פירות לעץ.



איור 3: מתאם בין מספר הפירות לעץ לבין אחוז הפריחה החוזרת.

בעצים שנקטפו ב 2015 סומנו 30 תפירות לעץ. ב 2016 נספרו התפירות החוזרות מבין התפירות שסומנו וחושב אחוז הפריחה החוזרת לעץ. קו גרסי, משוואת הישר וערך R^2 מוצגים באיור.

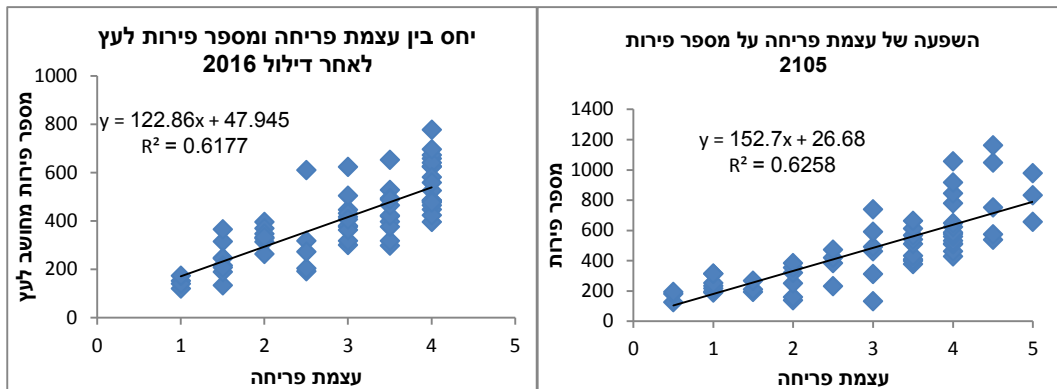
מהנתונים המוצגים עד כה הנחנו כי ריסוס באגריטון מוביל לנשירה מוגברת כאשר מספר הפירות הרצוי לעץ הוא 200 פירות על מנת לקבל את התפלגות הגדלים הרצויה. זאת מבלי לפגוע יבול השנה העוקבת. בשנה האחרונה נבדק אחוז החנטה הכללי ומספר הפירות בקטיף ביחס לעצמת הפריחה לאחר דילול באגריטון. העצים חולקו בהתאם להערכה וויזואלית ל 5 רמות. רמה 1 פריחה נמוכה מאוד ורמה 5 פריחה חזקה מאוד. נבחן אחוז החנטה הכללי ומספר הפירות הממוצע לעץ בקטיף בעצים בעצמת פריחה שונות. נמצא כי בניגוד לצפוי אחוז החנטה היה זהה בשתי עצמות הפריחה השונות ועמד על 18% בממוצע. יחד עם זאת נמצאה שונות במספר הפירות בקטיף כאשר בעצים בעצמת פריחה 4 היו כ 562 פירות בממוצע ומאידך בעצים בעצמת פריחה 2 היו כ 326 פירות בממוצע. יש לציין כי דילול נוסף בדילאמיד בשיא פריחה + 14 יום לא השפיע ולא גרם לנשירה נוספת של חנטים (נתונים לא מובאים).



איור 4: אחוז החנטה הכללי בעצים בעצמות פריחה שונות.

כ 40 תפירות סומנו בשיא פריחה על כל עץ. לאחר סיום הנשירה הטבעית (תחילת יוני) נספרו מספר החנטים לתפירת וחושב אחוז החנטה הכללי. במועד שיא הפריחה חולקו העצים בהתאם לעצמת הפריחה לרמות שונות בסולם של 1 – 5 (1 פריחה חלשה מאוד – 5 פריחה חזקה מאוד) על ידי מעריך יחיד. בקטיף נקטף כל עץ בנפרד וחושב מספר הפירות הממוצע לעץ. ממוצע זה חושב על ידי שקילת כלל הפרי וחלוקה של משקל זה במשקל פרי ממוצע שחושב משקילת 50 פירות בנפרד. ממוצעים ושגיאות תקן מוצגים בעצים עבור שתי עצמות פריחה שונות.

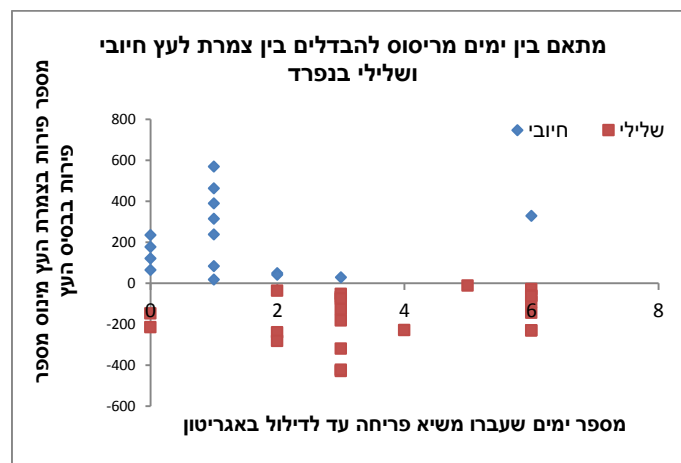
בחינה של כלל העצים הנבחנים (65 עצים ב 2016 ו 60 עצים ב 2015) מראה כי ישנו מתאם חיובי בין עצמת הפריחה לתגובה לדילול כפי שהיא מתבטאת במספר הפירות בקטיף (איור 5). על פי נתונים אלו כל העצים בהם עצמת הפריחה גבוהה מ 1.5 נזקקו דילול שני על מנת להגיע למספר הפירות הרצוי.



איור 5: מתאם בין עצמת הפריחה לעץ לבין מספר הפירות בקטיף לאחר דילול באגריטון.

עצים נקטפו בנפרד בשנת 2015 (איור ימני) ובשנת 2016 (איור שמאלי). בכל עץ הוערכה עצמת הפריחה כפי שמצוין באיור 3 וחושב מספר הפירות הממוצע כמצוין באיור 4. קו רגרסי, משוואת הישר וערך R^2 מוצגים באיור.

בנוסף לבחינת העצים הקטנים נבדקה התגובה לאגריטון גם בעצים גדולים הנטועים על כנת חשבי בצפיפות של 100 עצים לדונם. בשנת 2015 נמצאו בעצים אלו הבדלים בין עומס הפרי בשני השליש התחתונים (גוף העץ) לצמרת העץ כאשר הבדלים אלו הושפעו ממועד הריסוס. הפרשים בין צמרת העץ לגוף העץ היו חיוביים (יותר פירות בצמרת) ככל שהריסוס התבצע בסמוך לשיא פריחה ושלייליים (יותר פירות בגוף העץ) ככל שמועד הריסוס התרחק. הבדלים אלו התקבלו עקב חוסר האחידות במועד הפריחה בין בסיס העץ לצמרת. ככלל מועד שיא הפריחה נקבע על סמך מופע התפרחת בכל העץ, יחד עם זאת גוף העץ פרח לפני הצמרות. בהתאם כאשר מועד הריסוס היה מוקדם הושפעו בעיקר התפרחות בגוף העץ שהיו בשיא או מעט אחרי שיא פריחה בעוד שתפרחות בצמרת שטרם נפתחו לא הושפעו מהטיפול. לכן במועדים אלו אחוז החנטה היה גבוה בצמרת העץ ומספר הפירות בצמרות היה גבוה בקטיף. במועדים מאוחרים יותר תגובת התפרחות התחתונות לדילול הייתה פחותה עקב גילן בזמן הריסוס (בעבר מצאנו כי גיל התפרחת מושפע מהריסוס. כך שתפרחות שפרחו כ 7 ימים לפני הריסוס פחות מושפעות מתפרחות שפרחו ביום הריסוס – נתונים לא מובאים). בהתאם מספר הפירות בגוף העץ היה גבוה ביחס למספר הפרחים בצמרת.



איור 6: הפרש במספר הפירות בין צמרת העץ לבסיס.

הפרש בין מספר הפירות בצמרת העץ למספר הפירות בגוף העץ (2/3 התחתונים של העץ) נבדק בקטיף. כאשר מספר הפירות בצמרת גבוהה ממספר הפירות בגוף העץ מתקבל ערך חיובי (מעוינים כחולים). כאשר מספר הפירות בגוף העץ גבוהה ממספר הפירות בצמרת מתקבל ערך שלילי (ריבועים אדומים).

סיכום הממצאים שהתקבלו מצביע על כך שקביעת מועד שיא הפריחה בחלקי העץ השונים ועצמת הפריחה נמצאים במתאם לתגובת העץ לדילול באגריטון. כך שבעצים בהם עצמת הפריחה חזקה, יש לדלל מספר פעמים ומאידך בעצים בהם עצמת הפריחה חלשה יש להימנע מדילול שני. בנוסף לאחידות הפריחה על העץ השפעה על תגובת העץ לדילול. בשנים בהן קר בזמן הפריחה כמו ב 2015, עשויה להתפתח שונות גבוהה בין מועד שיא הפריחה בצמרת למועד שיא הפריחה בגוף העץ. בהתאם, ניטור מועד שיא הפריחה המדויק עבור חלקי העץ השונים יאפשר יישום ריסוס הדילול בנפרד וישפר את התגובה לדילול.

יש לציין כי אחוז החנטה לאחר דילול האגריטון אינו אחיד בין השנים. ב 2014 לדוגמא עמד אחוז זה על 10% ואילו ב 2016 על 20%. אי לכך מציאת סמנים שיאפשרו לחזות את התגובה לדילול הכרחית על מנת לקבוע את הצורך בדילול שני.

נראה על כן כי שילוב בין קביעת עצמת הפריחה ומועד שיא הפריחה לבין התגובה לדילול באגריטון תאפשר שיפור משמעותי בקבלת החלטות הדילול ותצמצם את אי הוודאות. כלומר ספירת הפרחים על העץ (בצילום) וקביעה של אחוז החנטה (על ידי סמנים) יאפשרו קביעת מספר הפירות הצפויים לחנוט בכל עץ בנפרד.

יש לציין כי במחקר הנוכחי לא נבדקה התגובה לריסוס בנפחים שונים וקביעת עצמת הפריחה תאפשר יישום דילול שונה עבור כל עץ. במקרה זה צפוי כי בעצים בהם עצמת הפריחה גבוהה נדלל בנפח גבוה ביחס לעצים בהם עצמת הפריחה נמוכה. דילול יחסי זה עשוי לשפר את תגובת העץ לדילול ויפחית את השונות המתקבלת כיום.

דיון כללי

הערכת עוצמת הפריחה – צילומי RGB הראו מתאם טוב בין מספר הפיקסלים המוגדרים כפרחים ומספר הפרחים הפתוחים כמו כן ניתן היה להציג את הדינמיקה של כמות הפרחים הפתוחים לאורך תהליך הפריחה. הערכת עוצמת הפריחה באמצעות צילומי RGB הייתה במתאם טוב עם הערכת עוצמת הפריחה. יש בידנו כלי טוב להערכת עוצמת הפריחה לקבלת החלטות דילול תפוח בפריחה.

כלים מולקולרים לקביעת עיתוי הדילול הכימי – שתי קבוצות המחקר שעסקו בנושא הראו שיש השתנות בביטוי גנים לאורך תהליך הפריחה והחנטה ויש פוטנציאל להשתמש בכלים אלו לקביעת עיתוי דילולי החנטים. נידרש מחקר השלמה לפני יכולת להצביע על סמנים פרטנים לשימוש חקלאי.

מדידות ריכוזי הורמונים - נמצא הבדל בדינמיקה של השתנות ריכוזי הורמונים לאורך תהליך הפריחה והחנטה בין פרחים במיקומים שונים בתפרחת. כיוון שלמיקום בתפרחת יש השפעה על בנטיה לנשור נראה שניתן יהיה להשתמש במדידות הורמונים לקביעת סיכויי השרישות של החנטים.

כלים אופטיים לחיזוי נטיה לנשירה – מדידות ספקטרליות נתנו ממצאים סותרים בשתי השנים בהם בוצעו ניסויי השדה ויש להמשיך במחקר להוכחת ייתכנות שימוש באמצעים אלו להערכת הנטיה של חנטים לנשור.

עיתוי דילול - דילול מיטבי באגריטון מתקבל סביב 3 ימים משיא פריחה ודחייה במועד הריסוס תוביל לתגובה פחותה לדילול. בנוסף נראה כי עצים בהם עצמת הפריחה עולה על 2.5 יש לדלל פעמיים. כמו כן בעיקר בשנים בהם יש טמפ' נמוכות בפריחה (תופעה שאפיינה את 2015) השונות בין צמרת העץ לבסיס מחייבת התייחסות נפרדת ודילול בשני מועדים שונים. אי לכך נראה כי לקביעת מועד שיא הפריחה ועצמת הפריחה בחלקי העץ השונים חשיבות גבוהה בדילול כימי, ומדידת משתנים אלו תוביל לדילול מיטבי שיתרום הן לפרי גדול יותר בקטיף, הן לירידה בעלות העבודה והן להפחתה מסוימת בסרוגיות.

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
<ol style="list-style-type: none"> 1. לימוד תנאי הצילום לזיהוי יעיל של פרחים 2. ניסיון ראשוני לעקוב אחרי התפתחות חנטים בעזרת אמצעים אופטיים 3. בניית בסיס נתונים של ביטוי גנים במהלך נשירת חנטים טבעית ולאחר טיפולים מסחריים 4. יצירת תשתית מחקרית מתאימה להבנת מנגנון הנשירה הפיזיולוגית בתפוח. 5. אפיון השפעת הדילול הכימי על נשירת חנטים בעמדות השונות על גבי התפרחת ובכלל העץ בעצמות פריחה משתנות.
עיקרי הניסויים והתוצאות.
<ol style="list-style-type: none"> 1. 70 עצים צולמו בתקופת הפריחה, במהלך 8 ימים, משני כיוונים ובמספר אופני צילום. הערכת כמות הפיקסלים המיוחסים לפרחים נמצאה במתאם גבוה עם מספר הפרחים הפורחים. 2. בוצעו מעקבים מולקולריים לאורך הפריחה והחנטה בפרחים במיקום שונה בתפרחת. יש השתנות בביטוי גנים לאורך תהליך הפריחה והחנטה ויש פוטנציאל להשתמש בכלים אלו לקביעת עיתוי דילול החנטים. יש צורך במחקר המשך למציאת סמנים פרטניים לשימוש חקלאי. 3. נמדדו ריכוזי הורמונים לאורך הפריחה והחנטה. - נמצא הבדל בדינמיקה של השתנות ריכוזי הורמונים לאורך תהליך הפריחה והחנטה בין פרחים במיקומים שונים בתפרחת. 4. בוצעו מדידות ספקטרליות לאורך הפריחה והחנטה ברמת הפרח והחנט. התקבלו ממצאים סותרים בין השנים ויש להמשיך את בדיקת הייתכנות לשימוש במדידות ספקטרליות להערכת פוטנציאל הנשירה של חנטים. 5. בוצעו ניסויי דילול כימי בעיתויים שונים. דילול מיטבי באגריטון מתקבל סביב 3 ימים משיא פריחה ודחייה במועד הריסוס תוביל לתגובה פחותה לדילול. עצים בהם עצמת הפריחה עולה על 2.5 יש לדלל פעמיים. בטמפי' נמוכות יש שונות בדינמיקה של הפריחה בין החלק התחתון והעליון של העץ. 6. "נקודת האל חוזר" בתהליך הנשירה הטבעית של החנט הלטרלי הקטן הוא 11-14 ימים משיא פריחה.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח? כן
<ol style="list-style-type: none"> 1. ניתן להעריך את עוצמת הפריחה באמצעות צילומי RGB. 2. שינויים מולקולריים וריכוז הורמונים יכולים לשמש לחיזוי עיתוי דילול החנטים. 3. יש צורך בהמשך בחינת הייתכנות לשימוש במדדים ספקטרליים להערכת נטיית חנטים לנשור. 4. ניתן להגדיר את העיתוי האופטימלי לדילול בפריחה ויהיה צורך לדלל את חלקי העץ השונים בעיתוי נפרד בשנים קרות. 5. ניתן להיתקדם בבניית מערכת תומכת החלטות לדילול תפוח בפריחה על בסיס הערכת עוצמת הפריחה מצילומי RGB ומימשק הדילול הכימי שפותח.
<p>בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתורה לביצוע תוכנית המחקר?</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ניתן במחקר המשך לפתח מערכת תומכת החלטות דילול בפריחה על בסיס הערכת עוצמת פריחה מצילומי RGB ופרוטוקול דילול כימי לעוצמות פריחה שונות. 2. יש להמשיך את המחקר לקביעה פרטנית של הסמנים המולקולריים להערכת עיתוי דילול החנטים
<p>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט 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.</p>
לא נעשה כל פירסום של המחקר עדיין. המחקר יוצג בכנס מגדלים בחורף.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
←
← ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
←
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן -