



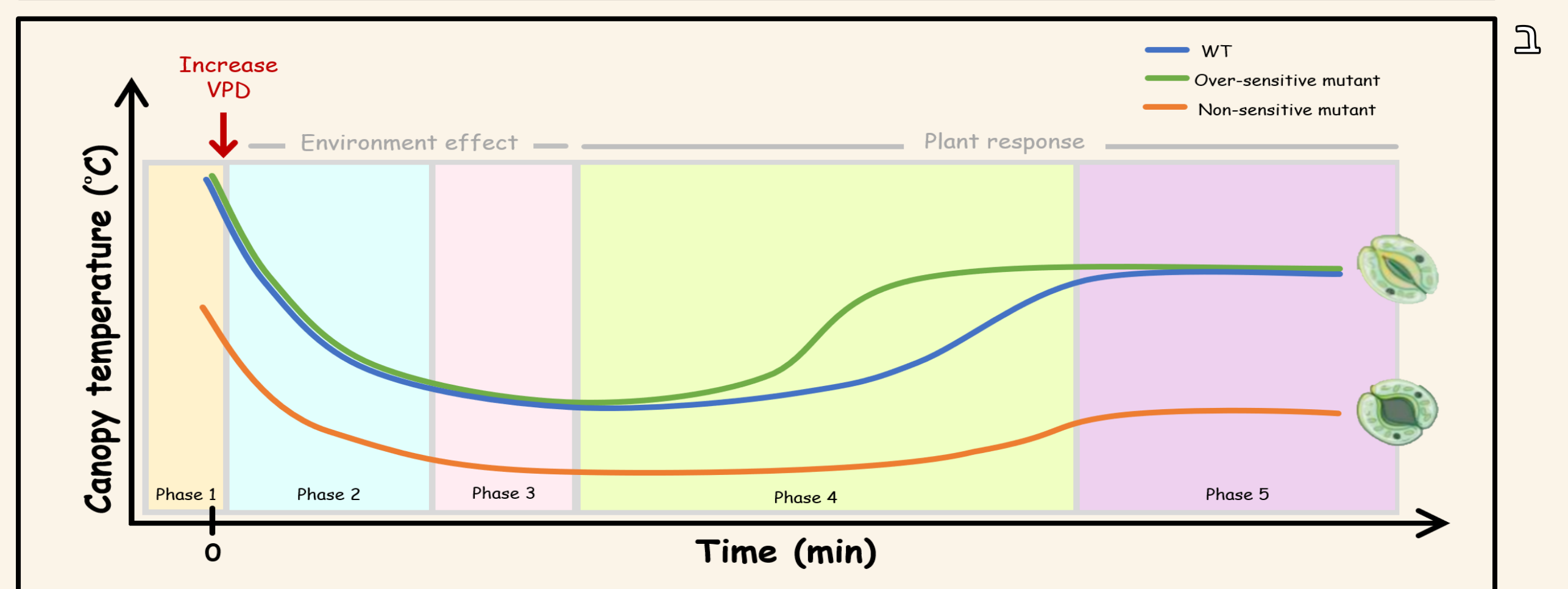
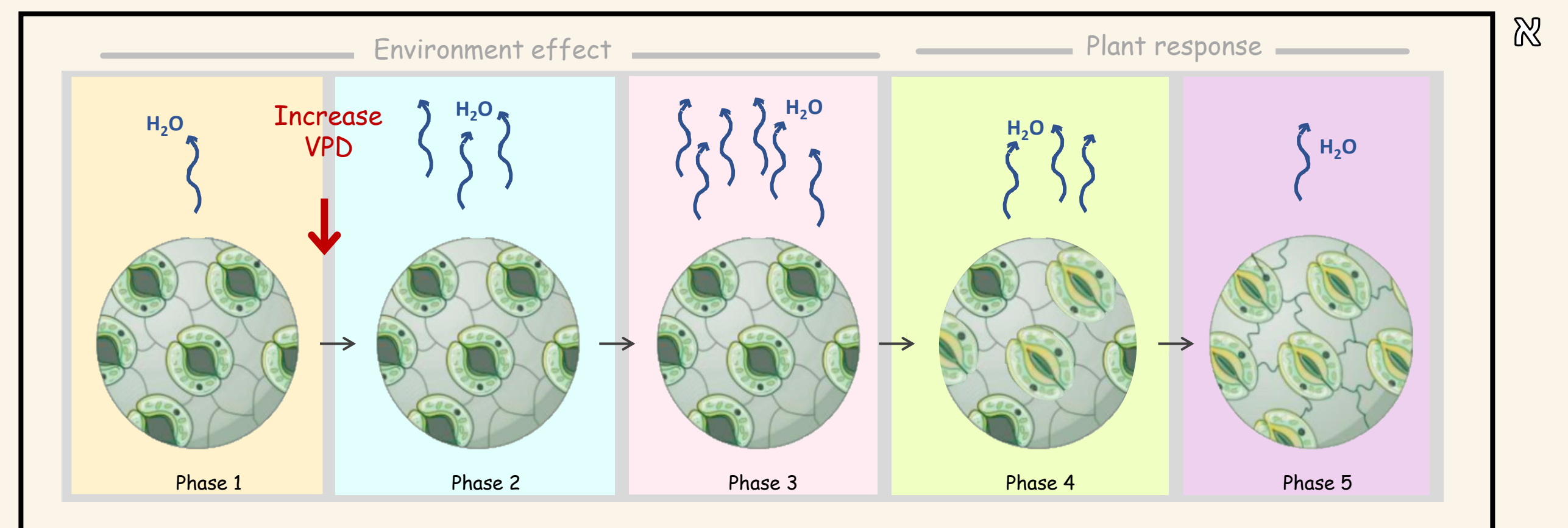
מעקב אחר שינויים רגעיים בטמפרטורת העלה כמדד לדינמיות תגובת תאי השמירה לנוכח שינויים אטמוספריים

שני פרידמן בהנחיית פרופסור מנחם מושליון המכון למדעי הצמח

מבוא

פיוניות הינן פתחים קטנים, המוקפים תאי שמירה, המאפשרים חילוף גזים מבוקר בין חללי האוויר הבין תאיים בעלה לבין הסביבה החיצונית. שינויים אטמוספריים (המאופיינים במדד הנקרא גרעון לחץ אדים; VPD) הם הכוח המניע את אידיוי המים מהעלה (טרנספירציה). טרנספירציה מקררת את העלה מכיוון שאידיוי המים גורם לאיבוד חום. מפתח פיוניות משפיע על כמות הטרנספירציה ולכן ניתן לחשב את ערכי הולכת פיוניות (g_s) באמצעות שימוש במדידות תרמיות ומשוואות אנרגיה. לכן, מצלמות תרמיות יכולות לשמש ככלי מחקר עבור תגובת הפיוניות ללא מגע והפרעה. עד היום השימושים במצלמה תרמית התמקדו באנליזות של פיוניות ברגע נתון. אנו משערים כי על ידי מדידה רציפה של טמפרטורת העלווה נוכל לאפיין את דפוס הפעילות הדינמי של הפיוניות. בדיקה רציפה והשוואתית של טמפרטורת העלווה כפונקציה של הזמן לנוכח שינוי VPD, תאפשר סריקה גנטית למציאת מוטנטים הנבדלים מהביקורת ופגועים בחיטת VPD (כפי שמתואר בהיפותזה, איור ב). בידוד המוטנטים יאפשר Forward genetics להבנת מנגנון חיטת VPD.

היפותזה



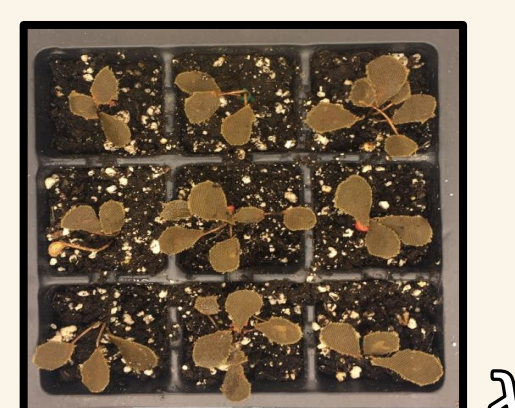
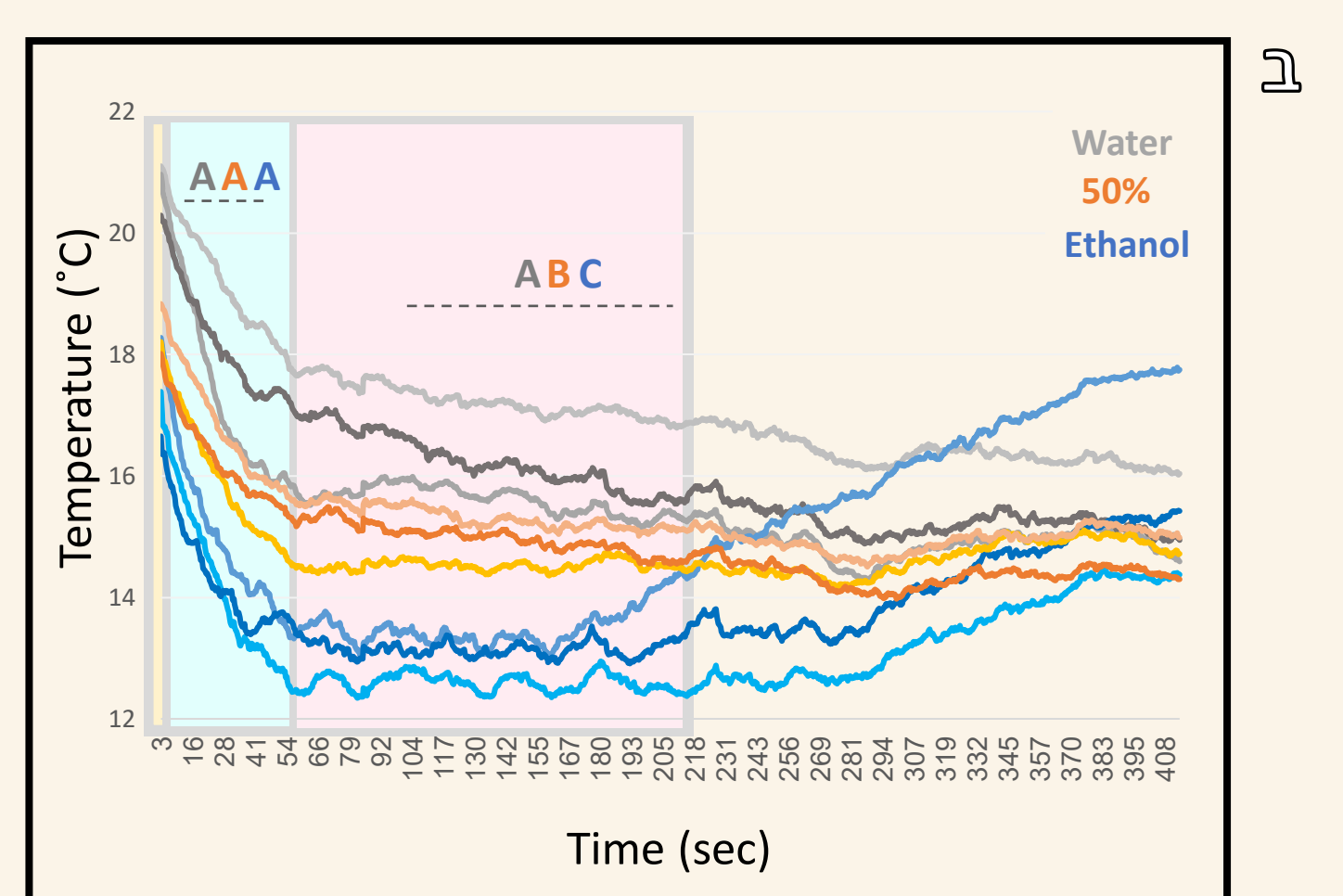
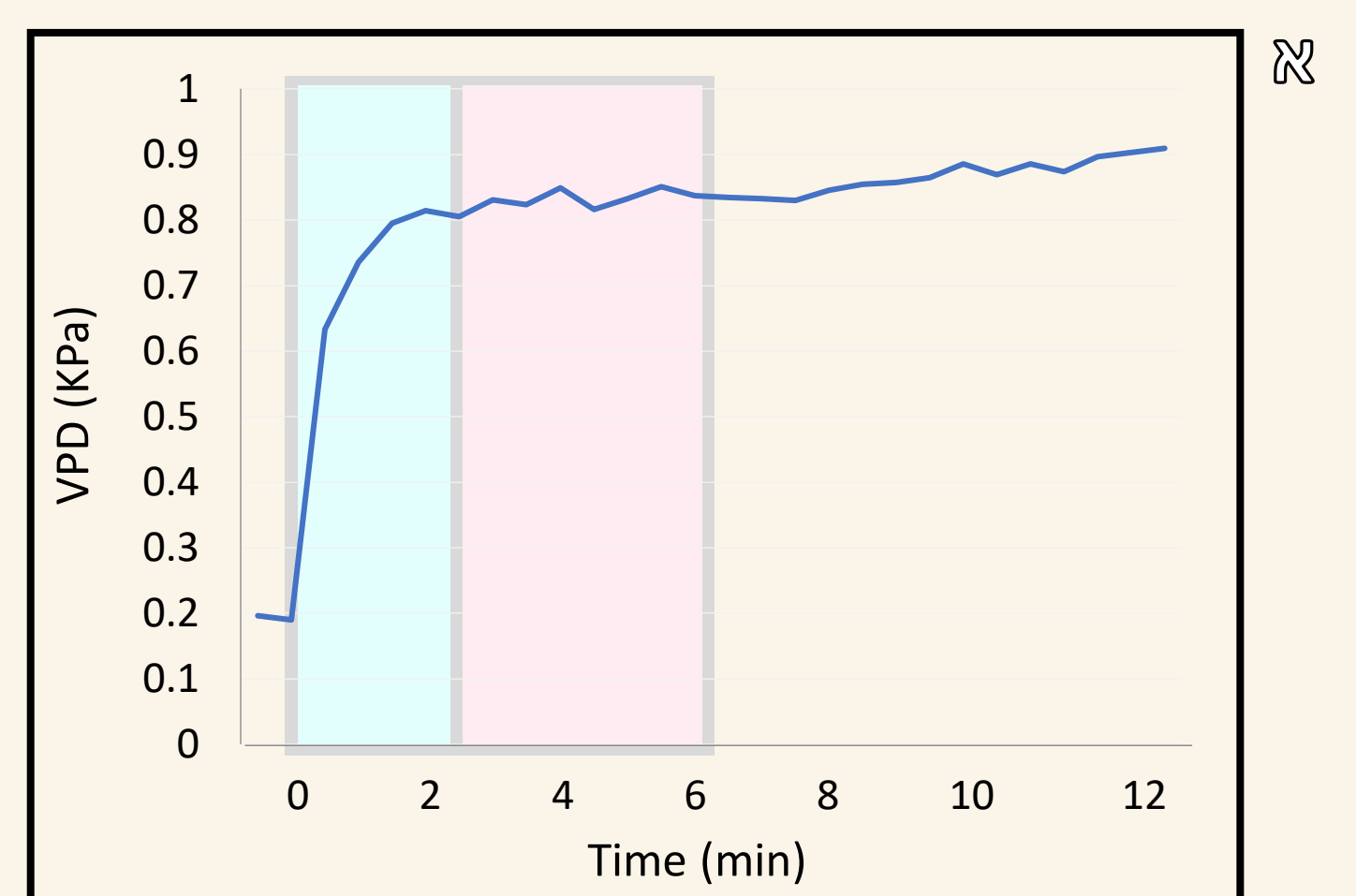
תגובת הטרנספירציה והפיוניות לעליה בגרעון לחץ האדים (VPD) מבחינה פיזיולוגית וטרמית. (א) איור המתאר את תגובת תאי השמירה לעליה בVPD וההשפעה על הטרנספירציה. כאשר יש עליה בVPD הטרנספירציה גדלה, כדי להנמט מאידיוי עודף הצמח מגיב בסגירת פיוניות והטרנספירציה פוחתת. (ב) גרף היפותטי של טמפרטורת צמחים שונים בתגובה לעליה בVPD. הגרף מחולק ל-2 שלבים 5 פאזות (Phase 1-5): שלב קירור הדרגתי והתייצבות ראשונית (Phase 1-3) בו כל הצמחים מושפעים בצורה שווה על ידי הסביבה, ושלב ההתחממות והתייצבות שנייה (Phase 4-5) הנובעים מסגירת תאי השמירה. ב-Phase 4 נצפה לראות הבדלים בין הביקורת לצמחים שאינם מגיבים או מגיבים ביתר לעליה בVPD.

תוצאות (1)

Phase 1-3

הקירור בשלבים הראשונים נובע משינוי בתנאי הסביבה.

(א) גרף השינוי בVPD המתרחש במגש. לאחר הרמת המכסה לוקח כ-2 דקות עד להתייצבות VPD. (ב) טמפרטורת צמחי הדמה לאחר שנטבלו בתמיסות בעלי ריכוז שונה של מים ואתנול. אתנול מתאדה בקצב גדול ממים. הוכנו מראש 3 תמיסות: 100% מים, 100% אתנול ו-50% כל אחד. צמחי הדמה נטבלו למשך 5 דקות בתמיסות וכוסו ל-3 דקות על מנת שהלחות בסביבתם תעלה. לאחר מכן נחשפו צמחי הדמה והחל הצילום התרמי. בגרף מוצגת התגובה התרמית של כל צמח דמה כאשר היא מחושבת בעזרת ממוצע טמפרטורת 3 עלים. בגרף מוצגת מובהקות סטטיסטית של השיפועים בשלב הקירור בשלב ההתייצבות הראשונית (Phase 3), ע"פ מבחן טוקי קרמר. (ג) צמחי דמה שאינם מושפעים מתהליכים ביולוגיים.



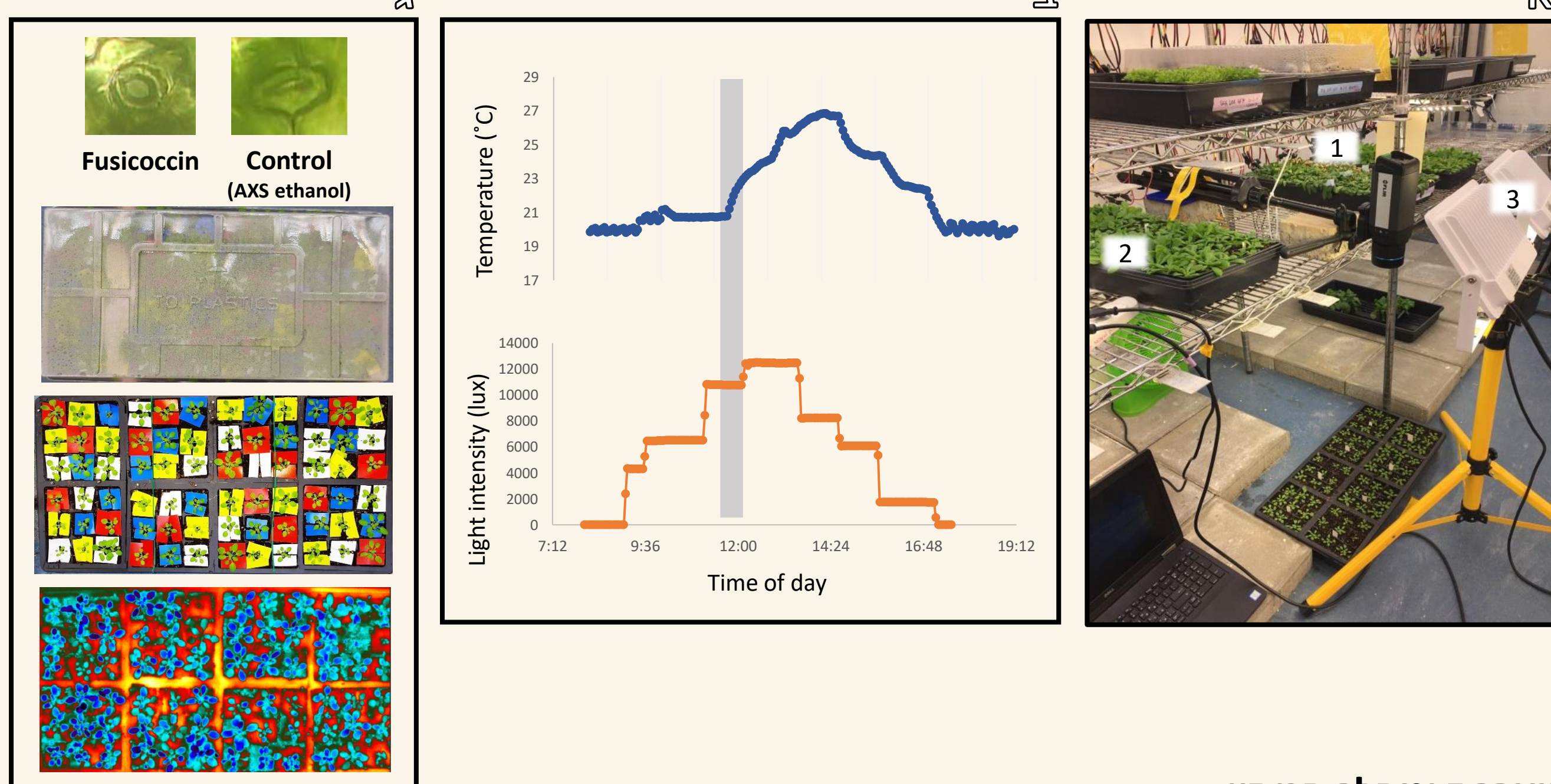
דיון ומסקנות

בחנו את היכולות של המצלמה התרמית לאפיין אידיוי מעלים בקצבים שונים ואת מהלך התגובה של תאי השמירה בזמן בו הצמחים סגרו פיוניות, לא נצפתה ההתחממות כמצופה אלא רק לאחר זמן. ייתכן כי צילום תרמי של מפתח פיוניות מאפיין את המפתח בעיקוב כלשהו או כי רזולוציית הניסוי שלנו לא מתאימה לאפיין הדינמיות של תאי השמירה, זאת מכיוון שההשפעות הסביבתיות ממסכות את התגובות הפיזיולוגיות.

מטרות

ליצור מערכת מבוססת דימות תרמי, שיכולה לספק מדידה רציפה של טמפרטורת העלים, ולהבחין בין פרופילי תגובת פיוניות של קווי צמחים שונים לשינוי מהיר בVPD. בפרט, אנו שואפים לחקור את המגבלות והיכולות של המצלמה התרמית ככלי המחקר שלנו.

שיטות וחומרים



מערכת ומהלך הניסוי.

(א) סידור סט הניסוי בחדר גידול. ניתן לראות את המצלמה (1) המאווררים (2) והתאורה (3). (ב) התנאים בחדר הגידול מבחינת אור וטמפרטורה, חלון הזמן בו נערכו הניסויים שלנו מסומן באפור. במהלך הבוקר נמרחו חלק מהצמחים ברעלן (פוזיקוקין) אשר גורם למפתח פיוניות מקסימלי וקבוע. (ג) לאחר הטיפול המגש כוסה על מנת לייצר סביבה עם VPD נמוך מהלך הניסוי; מכסה המגש מוסר על מנת לחשוף את הצמחים ללחות נמוכה (הגדלת VPD) ומייד התחיל צילום תרמי.

תוצאות (2)

Phase 4-5

התחממות וסגירת הפיוניות אינם תהליכים קופרטיביים.

(א) גרף טמפרטורת העלווה של צמחים שנמרחו בפוזיקוקין, בריכוז $10 \mu M$, וביקורת שמרוחה רק בממס (AXS) וביקורת נוספת ללא מגע (none). הטיפולים ניתנו במריחה בעזרת קיסם אוזניים כשלוש שעות לפני הניסוי. בגרף מוצגת מובהקות סטטיסטית של השיפועים בשלב ההתחממות (Phase 4) וכן עבור הטמפרטורה הממוצעת בשלב ההתייצבות השני (Phase 5), ע"פ מבחן טוקי קרמר. (ב) מפתח הפיוניות לאחר עליה בVPD, בגרף ממוצע ושגיאות התקן. ניסויים בלתי תלויים $n < 46$ ו- $n < 28$.

