

משחקי הרעב



מגישים.ות: אנה שביוקובסקי, דניאלה אוסטרר, יובל דולברג, איתי גרנגה.

פרופ' אילון שני

המחלקה למדעי הצמח ולביטחון תזונתי

אוניברסיטת תל-אביב, ישראל

"תן לאדם דג, הוא ישבע ליום אחד. למד אותו לדוג, הוא ישבע כל חייו..."
הטבע נתן לנו הרבה "דגים", אך עלינו ללמוד "לדוג" בחכמה בכדי שהמין האנושי ימשיך להתקיים...

על-פי ההערכה, מ-2010 יש קרוב למיליארד אנשים שחיים בתת-תזונה, מהם כ-90% בארצות מתפתחות, כ-9% בארצות שנמצאות בשלבי מעבר, ואחוז אחד של רעבים בארצות מפותחות ותעשייתיות [\[1\]](#). על פי מדד שבחן ב-2019 את המצב ב-117 מדינות, חל שיפור מסוים בממוצע הרעב העולמי, אך התמונה אינה אחידה ובמדינות מסוימות המצב דווקא הופך רע יותר. לצד מלחמות, אלימות ומשברים כלכליים, הסיבה הראשונה במעלה לכך שמספר רב יותר של אנשים סובלים מתת תזונה הם אירועי מזג אוויר קיצוניים [\[2\]](#). הרס חוות חקלאיות ופגיעה בגידולים חקלאיים, כולל פגיעה ביבולי אורז בדרום מזרח אסיה בעת הצפות ושטפונות-סכנה להחמרת בעיית המחסור במזון [\[3\]](#). עקות סביבתיות, כמו מחסור במים, טמפרטורות קיצוניות, ועלייה במליחות הקרקע, צפויות גם הן להחמיר ולסכן את יציבות אספקת המזון בעולם [\[4\]](#). מעבר לכך, בשנים האחרונות חלה עלייה בגודל אוכלוסיית בני האדם. הגידול באוכלוסייה והתפתחותה של החקלאות קשורים זה בזה בלולאת משוב חיובי: מצד אחד הגידול בייצור המזון כתוצאה משיפור השיטות לגידול צמחים ובעלי חיים מאפשר לאוכלוסיית בני האדם לגדול, ומצד אחר גידול האוכלוסייה מגביר את הדרישה למזון [\[5\]](#). גם משבר הקורונה מציב אתגרים לכל החוליות בשרשרת הערך של תעשיית המזון בעולם- משלבי הגידול של התוצרת החקלאית במשקים, דרך שרשראות האספקה המתווכות את התוצרת לצרכנים, עבור בהחלטות מדיניות-כלכליות בהקשרי ייצוא התוצרת, ועד לשינויים בהרגלי צריכת המזון כתוצאה מהמשבר והשלכותיו הכלכליות [\[6\]](#). כל הנתונים הללו מעידים על כך שקצב גידול האוכלוסין בעולם מחייב להכפיל ואף לשלש את הייצור החקלאי העולמי.

הניסוי שלנו בוצע בצמח הארבידופסיס {תודרנית לבנה}. הארבידופסיס גדל כמעט בכל תנאי מזג אוויר ויכול לשגשג בכל שטח בו יצמח. צמח שיכול להסתגל לסביבה שלו במהירות ובקלות, הינו יתרון בעבודה. בנוסף, הארבידופסיס קל לגידול, זול, ומייצר כמות גדולה של זרעים זהים בזמן קצר. הארבידופסיס הוא צמח עילאי הצומח במהירות גבוהה יותר מצמחים אחרים, יתרון המאפשר לקצר את זמן מהלך הניסוי. הוא מגיב למצבי לחץ ומחלות בצורה דומה לצמחי גידול אחרים, מה שמאפשר השוואה לצמחי גידול שונים, כדי ליישם את התוצאות על צמחי גידול שונים. מעבר לכך, הגנום של הארבידופסיס קל לניתוח, עם כי אין לו רצפי DNA חוזרים. לכן, קל לראות ולנתח את תוצאות הניסוי ללא פגיעה בצמח או מאמץ יתר [\[7\]](#).

גדילה והתפתחות של צמחי חקלאות, ושל צמחים בכלל, היא מאוד דינמית ופלטטית (גמישה). לצמח בעל גנוטיפ (DNA) נתון ישנו הפוטנציאל לעבור התפתחות מורפולוגית (צורה חיצונית) שונה ומגוונת במהלך חייו בהתאם לתנאי הסביבה אליהם נחשף. גורמי אקלים, כמו טמפרטורות קיצוניות, יובש ואדמות מלוחות, מפעילים לחץ א-ביוטי עצום על צמחים, ומשפיעים על הגדילה, על הצלחת הרבייה שלהם וכך על היבול/תוצרת [\[8\]](#). כבר הוכח בעבר שבזכות הנדסה גנטית ניתן להגביר את הייצור החקלאי באופן משמעותי, והעוסקים בתחום מדגישים כי ההנדסה הגנטית יוצרת חקלאות ידידותית יותר לסביבה, שצורכת פחות קרקע, משתמשת בפחות כימיקלים, ובמקביל מבטיחה תנובה גדולה ומזינה יותר ליחידת שטח [\[9\]](#). מטרת המחקר

בו אנחנו משתתפים/ות במסגרת הביוחקר היא פענוח המנגנונים המולקולריים הטבעיים שמווסתים גדילה והתפתחות של צמחים. בעתיד, המחקר שלנו יוכל לשמש בסיס להנדסה גנטית, שתוביל להגדלת הייצור החקלאי תוך שימוש במנגנונים צמחיים שפוענחו על ידי המדע.

מבחינה מעשית, המפתח להרחבת התוצרת החקלאית הם ההורמונים הצמחיים. מדובר במולקולות קטנות בעלות תפקוד ביולוגי רחב, האחראיות על תהליכים רבים בגוף החי, ביניהם ויסות הגדילה וההתפתחות בהתאם לתנאי הסביבה. צמחים מבקרים את המסלולים הכימיים של ההורמונים במגוון רמות, ובניגוד לבעלי חיים, צמחים מבקרים באופן אקטיבי גם את הפיזור של ההורמונים שלהם בין חלקי הצמח השונים [\(10\)](#). ההורמון הצמחי הראשון שהתגלה (עוד בשנות ה-30) היה אוקסין. אוקסין משפיע על קצב גדילת איברי הצמח באמצעות עידוד או עיכוב של התארכות התאים המרכיבים את הרקמות השונות. האוקסין לא גורם לשינוי בהרכב עצמו של דופן התא, אך הוא משפיע על האלסטיות של דופן התאים וכך מאפשר לתאים להתארך. הורמון זה דמה באופן פעולתו להורמונים האנימליים, כך שבתחילה הוגדרו ההורמונים הצמחיים, בדומה להורמונים המופרשים בבעלי חיים, ככאלה שמויצרים במקום אחד ומשפיעים במקום אחר. מאוחר יותר התברר כי בין ההורמונים הפועלים בצמח להורמונים הפועלים בבעלי חיים מספר הבדלים עקרוניים, למשל- בעוד שההורמונים בבעלי חיים פועלים באופן ספציפי, ההורמונים הצמחיים הם פחות ספציפיים ולכן מספרם גם קטן ממספר ההורמונים של בעלי חיים [\(11\)](#). הורמון צמחי נוסף, הוא המולקולה ABA (חומצה אבציסית). הורמון זה בעל תפקודים חשובים בהתפתחות זרעים ובהתבגרותם, בסינתיזת חלבונים המאפשרים לצמחים לשרוד עקות הקשורות בגורמים סביבתיים (א-ביוטי) או ביוטיים, ובעיכוב כללי של גדילה ושל מטבוליזם בצמח. מוטנטים שפגומים בייצור ABA מאפשרים לחוקרים להבין את תפקוד ABA בצמחים נורמליים [\(12\)](#). פענוח מסלולי-האיתות המולקולריים של מנגנוני פעולת ההורמונים בצמחים תאפשר הבנה רחבה יותר של בקרת הגדילה וההתפתחות, ומכאן הדרך לשליטה על כמות היבול קצרה יחסית.

שאלת המחקר שלנו הייתה- "בחינת השפעת ריכוזים שונים של ההורמון אוקסין על הפעלת הפרומוטר 5DR". הערכנו את מידת ההפעלה שלו על פי רמת ביטוי הגן המדווח GUS שאוחה לפרומוטר. במחקר שפורסם ב-OXFORD JOURNALS בשנת 2008, בו חקרו כיצד צמחים מגיבים לעקת גופרית, גילו כי התגובה הפיזיולוגית של אראבידופסיס לאוקסין מתבססת על שינויים ברמת התעתוק: אוקסין מבקר תעתוק ספציפי של גנים דרך מנגנון ה-ARF ו-AUX. נמצא שברמות נמוכות של אוקסין, חלבוני AUX קשורים לחלבוני ARF באזור הפרומוטרים של גנים ספציפיים, וכתוצאה מכך יש דיכוי של תעתוק. כשעולות המות האוקסין, הוא נקשר לחלבוני AUX ובו זמנית גם לחלבוני TIR, וזה גורם לכך שחלבוני ה-ARF פנויים לעודד תעתוק [\(13\)](#).

בעקבות מחקר זה ומידע נוסף מהספרות, שיערנו כי ככל שנוסיף ריכוז גבוה יותר של אוקסין לאראבידופסיס, הפרומוטר 5DR יופעל בעוצמה גבוהה יותר. תעתוק הגנים יגבר שהרי גם האוקסין, כמו כל הורמון צמחי, משפיע כבר החל מריכוזים מאוד נמוכים. מצד שני, לדעתנו אפליקציית יתר של אוקסין לצמח, תגרום לנבילה שלו או אפילו למותו, היות שהאוקסין משפיע על תהליכים רבים מאוד בצמח [\(14, 8, 15\)](#).

בניסוי שלנו 2 בקורות: בקרה חיצונית 1- קבוצת בקרה של צמחי אראבידופסיס טרנסגניים בהם לא ביצענו אפליקציה של ההורמון. בקרה חיצונית 2- קבוצת בקרה של צמחי אראבידופסיס מזן הבר (קולומביה)- לחלקם הוספנו הורמון בריכוזים שונים, ולחלקם לא הוספנו. שיערנו כי בבקרה מספר 1, הפרומוטר 5DR יופעל

בעוצמה נמוכה יותר, היות והאוקסין מיוצר בצמח בצורה טבעית, אך בכמות קטנה יותר. בקבוצת הבקרה 2, צמחי האראבידופסיס הם מזן קולומביה, כלומר אינם מכילים גן מדווח. לכן, שיערנו כי בצמחים אלה לא נראה את ביטוי הגן המדווח.

שיטות

-שאלת המחקר: השפעת ריכוזים שונים של ההורמון אוקסין על הפעלת הפרומוטר 5DR. הערכנו את מידת ההפעלה שלו על פי רמת ביטוי הגן המדווח GUS שאוחה לפרומוטר.

-האורגניזם הנחקר: המחקר שלנו נערך על צמח התודרנית הלבנה. ממלכה: צומח, מערכה: צמחים וסקולריים, סדרה: צלפאים, משפחה: מצליבים, סוג: תודרנית, מין: תודרנית לבנה. בניסוי השתמשנו בצמח ארבידופסיס טרנסגני המבטא את הגן המדווח GUS.

-המשתנה הבלתי תלוי ודרך השינוי שלו: ריכוז האוקסין. דרך השינוי של הריכוז הינה מיהול תמיסת המקור של אוקסין על-פי הריכוז הסופי הרצוי {הריכוזים שבבדוק: 0.1, 1, 10 מיקרומולר}.

-המשתנה התלוי ודרך המדידה שלו: הפעלת הפרומוטר 5DR. דרך המדידה של המשתנה התלוי היא מעקב אחר הופעת חלבון מדווח {נוכחות, מיקום בצמח, ועוצמה} באמצעות הבינוקולר. האיחוי הגנטי שיצר בצימחונים הינו בין הפרומוטר 5DR לגן המדווח GUS. האיחוי משרת את מטרת הניסוי בכך שהחלבון המדווח צובע את הצמח ומאפשר לראות את התוצאות.

-הבקורות בניסוי:

*בקרה חיצונית 1- קבוצת בקרה של צמחי ארבידופסיס טרנסגניים בהם לא ביצענו אפליקציה של ההורמון.

*בקרה חיצונית 2- קבוצת בקרה של צמחי ארבידופסיס מזן הבר {קולומביה}- לחלקם הוספנו הורמון בריכוזים שונים, ולחלקם לא הוספנו.

3- גורמים קבועים בניסוי וחשיבותו של כל גורם:

תנאי השקייה: למים השפעה רבה על תגובת צמחים לסביבה. יש להשקות את כל הצמחים המשתתפים בניסוי באותה מידה, על מנת לשמור על אותם תנאי גידול שעלולים להשפיע על התוצאות. המים עלולים להשפיע על ביטוי הגן המדווח ללא קשר ישיר לריכוז ההורמון שנוסיף לצמחים בניסוי עצמו.

צלחות פטרי זרות: המרחב בו גדל הצמח צריך להיות זהה, על מנת שהצמחים יהיו בתנאי גידול זהים. מרחב הגידול עלול להשפיע על גודל הצמח ולהוסיף לנו משתנה משפיע שאינו האפליקציה החיצונית של ההורמון על ידינו.

תנאי התאורה: האור הוא גורם חשוב עבור הצמח, ומשפיע על תהליכים רבים כגון פוטוסינתזה. תנאי הארה שונים לצמחונים שונים בניסוי עלולים לשבש את התוצאות ולהוות גורם משפיע נוסף.

-חזרות ביולוגיות ו/או חזרות טכניות: לא ביצענו חזרה טכנית. המדענים, לעומת זאת, חזרו על הניסוי עוד המון פעמים. מעבר לכך, ביצענו חזרה ביולוגית (ריבוי פריטים) - הקפדנו שבכל קבוצת טיפול (ריכוז הורמון מסוים) וגם בקבוצת הבקרה הראשונה {זו שלא הוספנו לה הורמון} יהיו מספר צמחונים {לפחות 5}.

-מהלך הניסוי המפורט:

ביקור ראשון:

1. הכנו 4 צלחות MS רגילות (25 מ"ל מצע מזון MS נוזלי).
2. זרענו על 2 צלחות זרעים טרנסגניים ועל 2 צלחות זרעי קולומביה מזן הבר.
3. הכנו מבחנות עם תמיסות הורמון בריכוזים הרצויים לקראת הצמחונים שינבטו:
תמיסת המקור היא 1 מילימולר, ואנחנו ניצור 2 מ"ל תמיסת מקור חדשה של 100 מיקרומולר:
1.8 מ"ל מים + 200 מיקרוליטר מהסטוק המרוכז (1 מילימולר).

ואז-

- 0.1 מיקרומולר: 9.99 מ"ל מים + 10 מיקרוליטר מהסטוק החדש.
 - 1 מיקרומולר: 9.9 מ"ל מים + 100 מיקרוליטר מהסטוק החדש.
 - 10 מיקרומולר: 9 מ"ל מים + 1 מ"ל מהסטוק החדש.
4. כשהצמחונים המיועדים לניסוי המולקולרי היו בני 6-7 ימים, המדענים העבירו אותם מהצלחת למבחנה ועשו להם טיפול למשך 24 שעות בתמיסות ההורמון שהכנו.

ביקור שני:

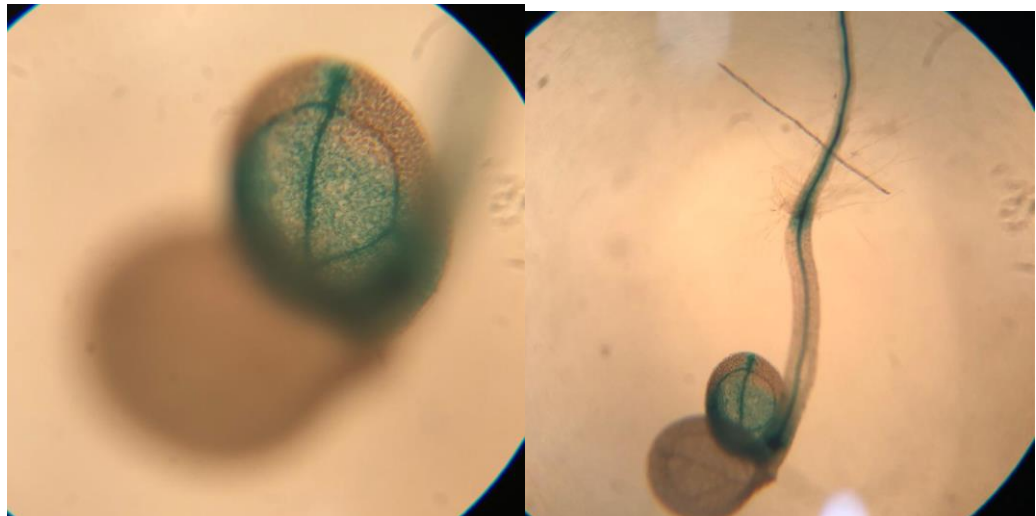
1. העברנו את הצמחונים שנבטו ל-8 מבחנות {AUX 0.1, AUX 1, AUX 10, AUX col 0.1, AUX col 1, } עם אציטון- על מנת לעצור את התגובה האנזימטית של GUS עם הסובסטרט שלו לפני שיתחילו תגובות עקה אחרות שימסכו את התוצאות הרלוונטיות. הצמחונים שהו באצטון במשך 10 דקות.
2. בזמן שהצמחונים שהו באצטון, יצרנו תמיסת GUS המורכבת מ-500 מיקרומולר ferri {חומר שמקבע את הצבע עד שנגיע לצלם את התוצאות}, 500 מיקרומולר X-gluc {סובסטרט של האנזים GUS} ו-24 מ"ל בופר {התנאים המיטביים לאנזים GUS}.
3. רוקנו את המבחנות מאציטון, ושטפנו פעמיים את הצמחונים במים {מילאנו את המבחנות במים, רוקנו, מילאנו שוב ורוקנו}.
4. אחרי הריקון האחרון, הוספנו למבחנות את תמיסת צביעת GUS שיצרנו, עטפנו אותן בנייר כסף, ושמו בטמפרטורה של 37° - החיידק ממנו לקחנו את הפרומוטר {GUS}, רגיל ל-37° וחושך. לאחר 24 שעות, התהליך הופסק על ידי הדוקטורנטים שטיפלו בצמחונים באתנול, שעוצר את כל התגובות בתא וגם מפרק את הכלורופיל, כך שגם מבטיח לנו אחידות (גורם קבוע) במשך התגובה הנמדדת, וגם מאפשר לראות היטב את הצבע הכחול.

ביקור שלישי:

- צפינו בתוצאות ה-GUS: צלמנו צמחונים כחולים/לא (מכשיר מיוחד).

תוצאות

מטרת הניסוי שלנו הייתה לבדוק השפעת ריכוזים שונים של ההורמון אוקסין על הפעלת הפרומוטר 5DR. הערכנו את מידת ההפעלה שלו על פי רמת ביטוי הגן המדווח GUS שאוחה לפרומוטר. דירגנו את עוצמת ביטוי הגן המדווח {עוצמת הצבע הכחול} מ-1, כאשר 5 היא העוצמה החזקה ביותר. בתמונות שלפניכם, נראה צמחון מייצג מכל קבוצת טיפול / בקרה. בניסוי עצמו כללנו לנו 5 חזרות ביולוגיות בכל קבוצת צמחונים.



תמונה 1: צמחון טרנסגני (DR5::GUS) המייצג את קבוצת הטיפול של 0.1 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 1, בצמחונים הטרנסגניים מקבוצת הטיפול של 0.1 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS התבטא בעוצמה 5 בפסיגים, בחלקו התחתון של הגבעול הצעיר, ובשורשונים.



תמונה 2: צמחון טרנסגני (DR5::GUS) המייצג את קבוצת הטיפול של 1 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 2, בצמחונים הטרנסגניים מקבוצת הטיפול של 1 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS התבטא בעוצמה 4 בעיקר בחלק התחתון של הגבעול ובשורשונים. בפסיגים כמעט לא התבטא כלל.



תמונה 3: צמחון טרנסגני (DR5::GUS) המייצג את קבוצת הטיפול של 10 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 3, בצמחונים הטרנסגניים מקבוצת הטיפול של 10 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS התבטא בעוצמה 1 בעיקר במקום הסתעפות השורשונים.



תמונה 4: צמחון טרנסגני (DR5::GUS) המייצג את קבוצת הבקרה, ללא אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 4, בצמחונים הטרנסגניים ללא תוספת אוקסין, הגן המדווח GUS מתבטא בעוצמה 1, בעיקר בפסיגים, ומעט במקום הסתעפות השורשונים.



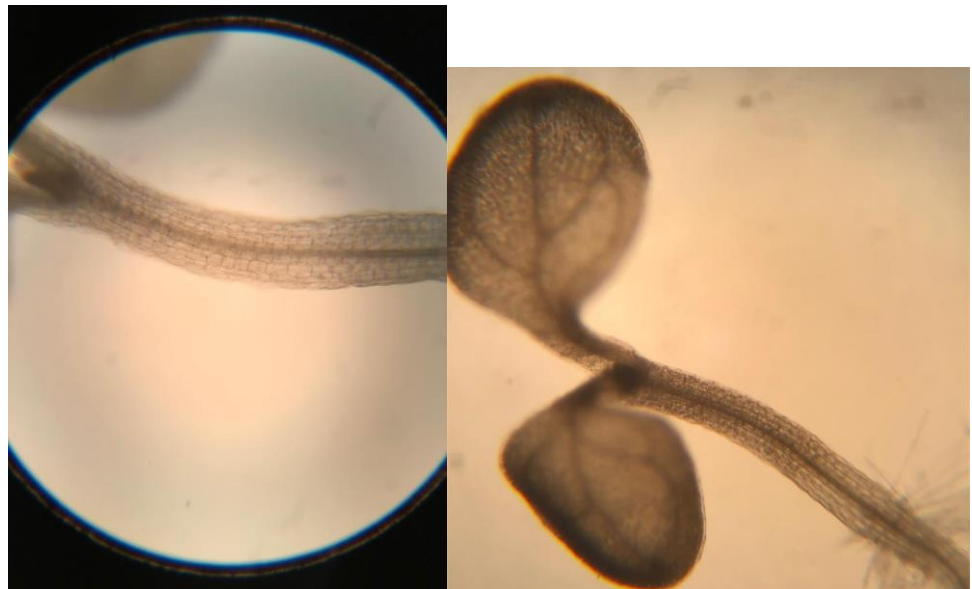
תמונה 5: צמחון זן - הבר המייצג את קבוצת הטיפול של 0.1 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 5, בצמחוני הקולומביה מקבוצת הטיפול של 0.1 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS לא התבטא כלל בצמח.



תמונה 6: צמחון זן- הבר המייצג את קבוצת הטיפול של 1 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4.

כפי שניתן לראות בתמונה 6, בצמחוני הקולומביה מקבוצת הטיפול של 1 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS לא התבטא כלל בצמח.



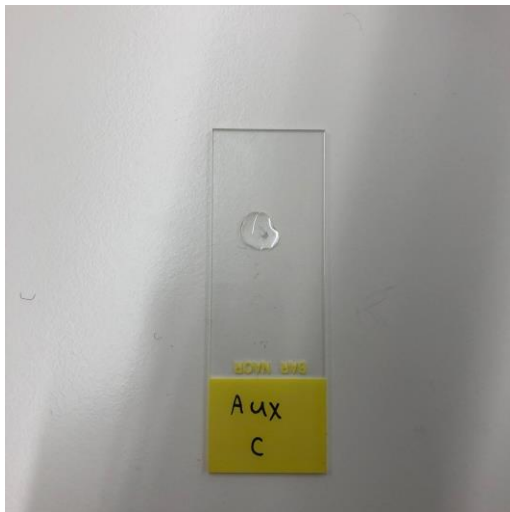
תמונה 7: צמחון זן- הבר המייצג את קבוצת הטיפול של 10 מיקרומולר אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 4 (מימין) ובהגדלה פי 10 (משמאל).

כפי שניתן לראות בתמונה 7, בצמחוני הקולומביה מקבוצת הטיפול של 10 מיקרומולר אוקסין, הגן המדווח GUS לא התבטא כלל בצמח.



תמונה 8: צמחון זן- הבר המייצג את קבוצת הצמחונים ללא תוספת אוקסין. הצמחון צולם בהגדלה פי 10 .

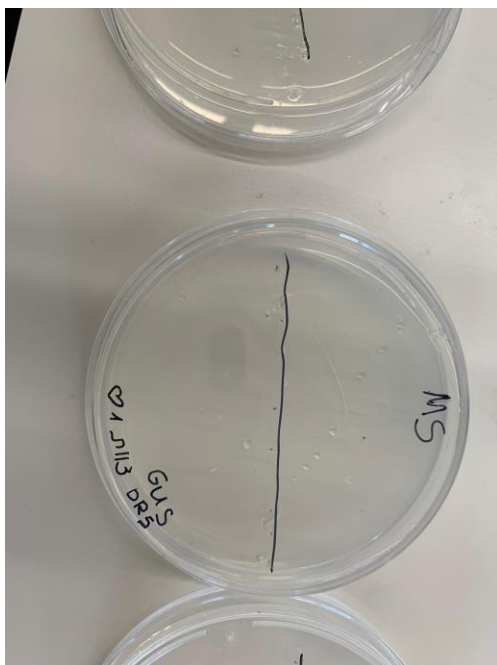
כפי שניתן לראות בתמונה 8, בצמחוני הקולומביה מקבוצת הבקרה, ללא תוספת אוקסין, הגן המדווח GUS לא התבטא כלל בצמח.



צמחון על הזכוכית הנושאת



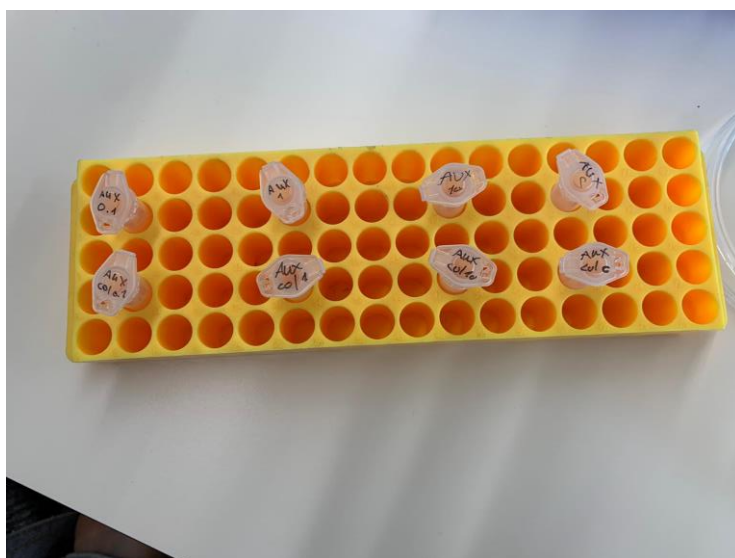
הצמחונים הכחולים במבחנות



הצמחונים בצלחות הפטרי עם MS

המבחנות עם הריכוזים השונים

הצמחונים בטיפולים השונים



טבלת תוצאות

הטיפול (ריכוז ההורמון במיקרומולר/בקרה)	הצמחון הנבדק (טרנסגני/קולומביה)	הופעת צבע	מיקום הצבע בצמחון	עוצמת צבע מ-1-5
0.1	טרנסגני	כן	פסיגים, חלקו התחתון של הגבעול, ושורשונים	5
1			חלקו התחתון של הגבעול ובשורשונים	4
10			מקום הסתעפות השורשונים	2
בקרה			בעיקר בפסיגים ומעט במקום הסתעפות השורשונים	1
0.1	קולומביה	לא	אין	0
1				
10				
בקרה				

כעת נציג את התוצאות של הניסוי בצורה גרפית. בחרנו בגרף רציף היות שסוג הגרף נקבע על ידי הגורם המשפיע- אם זהו גורם הנמדד ביחידות מידה רציפות, ובין שתי יחידות ניתן להכניס אינסוף מספרים נוספים, הגרף יהיה רציף. לעומת זאת, אם הגורם המשפיע נמדד ביחידות מידה בדידות, הגרף המתאים הוא גרף עמודות. בניסוי זה, הגורם המשפיע הוא ריכוז ההורמון אוקסין {מיקרומולר}, לכן הגרף המתאים הוא גרף רציף.

השפעת ריכוז ההורמון אוקסין (במיקרומולר) על עוצמת הצבע (1-5) של האראבידופסיס



דיון

שאלת המחקר שלנו הייתה בחינת ההשפעה של ריכוזים שונים של ההורמון אוקסין על הפעלת הפרומוטר 5DR. הערכנו את מידת ההפעלה שלו על פי רמת ביטוי הגן המדווח GUS שאוחדה לפרומוטר. דירגנו את עוצמת ביטוי הגן המדווח {עוצמת הצבע הכחול} מ-1, כאשר 5 היא העוצמה החזקה ביותר. על פי התמונות המוצגות בפרק התוצאות, ניתן להסיק כי ככל שריכוז ההורמון אוקסין עלה, הגן המדווח GUS התבטא ברמה נמוכה יותר. מכאן, שכלל שריכוז ההורמון אוקסין גבוה יותר, כך עוצמת הפעלת פרומוטר 5DR נמוכה יותר, כלומר, עוצמת התעתוק יורדת.

תוצאות אלו תואמות חלקית את הבסיס להשערתנו לפני הניסוי. חשבנו שגם האוקסין, כמו כל הורמון צמחי, משפיע על הצמח כבר החל מריכוזים מאוד נמוכים. מצד שני, שיערנו כי אפליקציית יתר של אוקסין לצמח, תגרום לנבילה שלו או אפילו למותו, היות שהאוקסין משפיע על תהליכים רבים מאוד בצמח. על פי התמונות המוצגות בפרק התוצאות, ניתן לראות כי בצמחונים שטופלו בריכוזים גבוהים של אוקסין, כמו 10 מיקרומולר, כמעט ואין ביטוי של הגן המדווח GUS {עוצמת צבע: 2}. לעומת זאת, בצמחונים שטופלו בריכוזים נמוכים יותר של אוקסין, כמו 1 מיקרומולר {עוצמת צבע: 4} ו-0.1 מיקרומולר {עוצמת צבע: 5}, הגן המדווח התבטא

ברמה גבוהה יותר. התוצאות תואמות את השערותינו בנוגע לקבוצות הבקרה. בבקרה מספר 1 {קבוצת בקרה של צמחי ארבידופסיס טרנסגניים בהם לא ביצענו אפליקציה של ההורמון}, הפרומוטור הופעל בעוצמה נמוכה. בבקרה מספר 2 {קבוצת בקרה של צמחי ארבידופסיס מזן הבר- לחלקם הוספנו הורמון בריכוזים שונים, ולחלקם לא הוספנו}, כפי ששיערנו, לא ניתן היה לראות ביטוי של הגן המדווח.

מתוצאות הניסוי שלנו ניתן להסיק מסקנות רבות. ראשית, הגן המדווח התבטא בעוצמה הגבוהה ביותר בקבוצת הטיפול של 0.1 מיקרומולר אוקסין. ככל שהעלנו את ריכוז ההורמון, עוצמת ביטוי הגן ירדה. המסקנה שלנו מתוצאות אלה היא שככל שריכוז ההורמון אוקסין היה נמוך יותר, כך עוצמת ההפעלה של הפרומוטור 5DR הייתה גבוהה יותר. הצמחונים בניסוי שלנו היו זעירים וצעירים, ואולי הריכוזים הגבוהים בהם טיפלו {1, 10} היו גבוהים מדי ופגעו בהם, מפני שלאוקסין השפעה על תהליכים רבים מאוד בצמח. {14, 8, 15} מעבר לכך, כפי שניתן לראות בתמונה 4, בצמחונים הטרנסגניים ללא תוספת אוקסין, הגן המדווח GUS התבטא בעוצמה 1. ניתן לראות ביטוי של הגן, מפני שהאוקסין מיוצר בצמח באופן טבעי, בריכוזים קטנים {13}. ניתן להסיק כי ריכוז ההורמון המיוצר בצמח קטן מ-0.1 מיקרומולר, מפני שעוצמת ביטוי הגן בצמח הבקרה נמוכה מהעוצמת הביטוי שלו בצמח שטופל ב-0.1 מיקרומולר. בקבוצת הבקרה של צמחי הארבידופסיס מזן הבר, לא ניתן היה לראות ביטוי של הגן המדווח. הצמחים מזן הבר {קולומביה} אינם מכילים גן מדווח, לכן לא ניתן לראות ויזואלית את השפעת ההורמון אוקסין על הפעלת הפרומוטור 5DR. בקרה זו נועדה לוודא כי הצבע הכחול בצמחים, הוא אכן הביטוי של הגן המדווח, ולא תוצאה של תהליך אחר שהתרחש בצמח.

ההורמון אוקסין מיוצר בשורש, וגורם להתארכות תאי השורש. בצמחים, תא שמתחיל להתארך יגיע לפי 10 מגודלו תוך 6 שעות. האוקסין מעודד את צמיחת השורשים לכיוון כח המשיכה {גראוויטרופיזם}. עם זאת, בריכוזים מסויימים, הוא מדכא צמיחת שורשים. אוקסין נע מתא לתא בשורש, וכך מבקר את גדילת השורש {16}. תפקוד זה של ההורמון תואם את תוצאותינו. ניתן לראות בתמונות 1-4 את ביטוי הגן המדווח באזור השורשונים, ובעיקר במקום הסתעפותם. כמו כן, ההורמון אוקסין מעודד התפתחות פרחים ועלים, וכיפוף לכיוון האור {פוטוטרופיזם}. תוצאות הניסוי תואמות תפקוד זה של ההורמון. ניתן לראות בתמונות 1-4 כי הגן המדווח התבטא בפסיגים של הצמח.

בעת הניסוי, עבדנו באוניברסיטה במעבדה מקצועית עם דוקטורנטים אשר מומחים בתחומם, במקום המתאים לאופי הניסוי. בעינינו הייתה הקפדה מחמירה על הגורמים הנחוצים. עבדנו בסטריליות מוחלטת, הדוקטורנטים ליוו אותנו לאורך כל הניסוי אשר במהלכו למדנו להשתמש נכון במכשירים השונים על מנת לשמור על כל הגורמים הקבועים. במהלך הניסוי כללנו בקורות שונות, ואף הוספנו את בקרה מספר 2, שלא הייתה מתוכננת בהתחלה. הניסוי כלל בתוכו חזרות ביולוגיות בכל קבוצות הטיפול בריכוזים השונים והבקרה {בכל קבוצה היו לפחות חמישה צמחונים}. עם זאת, לא בוצעו חזרות טכניות על הניסוי. לניסוי לא יכלנו לחשב סטיית תקן, מפני שצפינו במיקרוסקופ רק בצמחון אחד המייצג כל קבוצת טיפול/בקרה. מערך הניסוי היה מסודר ובנוי היטב על ידי אנשי המעבדה. הטיפולים בצמחונים היו במקום סטרילי לחלוטין, והמדידות נעשו בפיפטורים המדויקים בהרבה מן העין האנושית. בניסוי לא אירעו תקלות ועבדנו לפי הנהלים על מנת לקבל את התוצאות הכי מדויקות שאפשר בניסוי. צלחות הפטרי בהן גדלו הצמחונים לא הזדהמו ולא היו בהן

חיידקים או פטריות. עם זאת, אנו רוצים להציע דרכים לשיפור הניסוי. ראשית, לשנות את הריכוזים למספרים שאינם דומים כך שיהיה קל יותר עם כתיבת הנק' העשרונית (בניסוי שלנו השתמשנו בריכוזים 0.1, 1, ו-10 מיקרומולר, מה שהיה יכול לגרום בקלות לבלבול במיקום הנק' העשרונית). בנוסף, היינו מציעים להוסיף טיפולים בריכוזים נמוכים יותר, על מנת לבדוק את השערות ההתחלתיות, או להחליף לחלוטין את הריכוזים הגבוהים לטובת ריכוזים נמוכים יותר של אוקסין, שלא יפגעו בצמח.

השימוש בכלים המולקולריים והכלים ההתפתחותיים במקביל בכיתה שלנו, מאפשר בדיקת ההשפעה של ההורמונים על הצמח גם ברמה המולקולרית וגם ההתפתחותית. שילוב הניסויים השונים, עוזר בניתוח התוצאות המלאות. לדוגמא, ניתן לראות כי תוצאות הניסוי שלנו תואמות את תוצאות הניסוי ההתפתחותי של צוות אחר בכיתה עם ההורמון אוקסין. הם ראו שככל שריכוז ההורמון נמוך יותר, כך שורשי הצמח היו ארוכים יותר. כלומר, גם הניסוי ההתפתחותי העלה כי ריכוז גבוה מדי של ההורמון פוגע בהתפתחות הצמח. מתוצאות הניסוי ניתן להסיק אילו טיפולים יעילים יותר ואילו יעילים פחות בעידוד הצמיחה. כתוצאה מכך, יישום מסקנות הניסוי על צמחים המשמשים להזנה, יהיה פשוט ומדויק יותר.

הניסוי שלנו מתקשר לכמה רעיונות מרכזיים בביווגיה. ראשית, לרעיון ה"גדילה והתפתחות". ההורמון אוקסין משפיע ישירות על הגדילה וההתפתחות של הצמח. במהלך הניסוי בדקנו את השפעת הריכוזים השונים של ההורמון על רמת התעוק בצמח- המשפיעה על קצב גדילתו. כשאין אוקסין בצמח, חלבונים מעכבי תעוק בשם AUX נקשרים לחלבוני תעוק ARF ומונעים מהם לפעול. כתוצאה מכך אין תעוק של גנים שמבוקרים על ידי נוכחות אוקסין. כשיש אוקסין בצמח, הוא מחבר בין חלבוני AUX לחלבוני TIR, והחיבור הזה גורם לפירוק מידי של חלבוני ה-AUX, כך שעוכב התעוק נפסק, חלבוני ה-ARF נקשרים ל-DNA, ויש תעוק של גנים שמבוקרים על ידי נוכחות אוקסין. הביטוי של הגנים הספציפיים האלה מאפשר את גדילת הצמח והתפתחותו בהתאם לרמת האוקסין בצמח.

כמו כן, הניסוי מתקשר לרעיון ה"אחידות ושוני בעולם החי". בצמחים, כמו אצל בעלי חיים, קיימים הורמונים שונים המשפיעים על תהליכים רבים. בדומה להורמונים אשר מצויים אצל בעלי חיים, גם הורמונים צמחיים מיוצרים (סינתזה) במקום אחד (בלוטות), ומשפיעים במקום אחר (אתר המטרה). למרות זאת, קיים שוני ביניהם. אצל בעלי החיים קיימים המון הורמונים שונים, לעומת הצמחים, בהם קיימים מעט הורמונים. אצל בעלי החיים כל הורמון הוא בעל פעילות מאוד ספציפית, ובצמחים לכל הורמון מגוון רחב של השפעות (השפעה שונה, לפעמים הפוכה, ברקמות שונות ובריכוזים שונים). אצל בעלי החיים, ההשפעה של כל הורמון אינה תלויה בהורמונים אחרים, לעומת הצמחים, בהם קיימים יחסי גומלין בין הורמונים. אצל בעלי החיים, קיימים הורמונים חלבוניים, ובצמחים לא. אצל בעלי חיים הדרך המהירה לתקשורת בין תאים היא דרך מערכת העצבים. לעומתם, לצמחים אין מערכת עצבים והדרך המהירה לתקשורת בין תאים היא העברת מידע בעזרת ההורמונים. אצל בעלי החיים ההורמונים עוברים בזרם הדם. בשונה מהם, ההורמונים הצמחיים עוברים מתא לתא או דרך מערכות העצה והשיפה. כמו כן, ההורמונים אשר מצויים אצל בעלי חיים גורמים לתגובות מהירות. הורמונים צמחיים גורמים לתגובות איטיות אצל הצמח אשר עשויות להימשך מספר שעות או ימים

שלמים. [17](#), [18](#), [19](#), [20](#)

שאלת המשך לניסוי שלנו יכולה להיות- "בחינת השפעת ריכוז ההורמון אוקסין על עמידות הצמח לתנאי יובש". תוצאות הניסוי שלנו יכולות להוות בסיס להנדסה גנטית שתשפיע על מהירות הגדילה והתפתחות של הצמח. שאלת המשך תניב תוצאות שמהן ניתן יהיה ללמוד על עמידות הצמח למצבים שונים. שילוב הידע על עמידות הצמח, גדילתו, והתפתחותו, יאפשרו לנו למצוא את ריכוזי האוקסין האופטימליים לגידול צמחים, לצד תופעת המדבור, תנאי מזג אוויר קיצוניים, והתפוצצות האוכלוסין- הדורשת אספקה גדולה יותר של מזון. בניסוי המשך, בדומה לניסוי שלנו, היינו מציעים לטפל בצמחי ארבידופסיס בריכוזים שונים של ההורמון אוקסין. לאחר מכן, להעמיד את הצמחים בתנאי יובש קבועים, בכלים קבועים. לסיום, יש לבדוק את התפתחות הצמחים - צמחים מאיזו קבוצת טיפול עמדו בתנאים בצורה הטובה ביותר.

ניסוי המשך נוסף שניתן לבצע, הוא השפעת ריכוזים שונים של הורמון אוקסין על ביטוי הגן המדווח GUS בצמח ארבידופסיס בוגר. הניסוי שלנו בוצע על צמחונים קטנים, וייתכן כי בצמח בוגר התוצאות יהיו שונות, כי ריכוזים כמו 1 או 10 מיקרומולר אוקסין לא יפגעו בצמח הבוגר.

המונח "חברה" מתייחס לסך כל האוכלוסיות של אורגניזמים הנמצאות יחד באותו בית גידול או מרחב גיאוגרפי. האוכלוסייה האנושית כיום, נכון לשנת 2022, מונה כ-7.9 מיליארד בני אדם. בשנים האחרונות חלה עלייה בגודל אוכלוסיית בני האדם. במדינות העשירות, תת תזונה היא נחלתם של פחות מ-2.5% ובמדינות העניות ביותר, בעיקר באפריקה, הודו ומדינות נוספות, הנתון מטפס ל-20%-35% ויותר מכך. שינויים קיצוניים באקלים ובמזג האוויר הם הגורם העיקרי לעלייה בכמות האנשים אשר סובלים מתת תזונה במדינות המתפתחות. עקת סביבתיות צפויות לסכן את יציבות אספקת המזון בעולם. בזכות הנדסה גנטית ניתן להגביר את הייצור החקלאי באופן משמעותי. פענוח המנגנונים המולקולריים הטבעיים שמווסתים גדילה והתפתחות של צמחים יוכל לשמש בסיס להנדסה גנטית. המסקנות מהניסוי שלנו, וכן הצעותינו לניסוי המשך המבוסס על הנדסה גנטית, מקדמות אותנו אל עבר המטרה- להגביר את אספקת המזון לאוכלוסיה בעזרת שליטה בפעולות הורמונלים בצמחים.

לסיכום, מטרת המחקר שלנו היא ללמוד "לדוג". ה"דגים"- המשאבים שהטבע נתן לנו, אינם מספיקים לאוכלוסייה ההולכת וגדלה, ועוד במצבי מזג האוויר המשתנים. אנחנו רוצים להשליך את החכה למים בצורה חכמה ומקיימת. במסגרת הביוחקר, ערכנו ניסויים על צמח הארבידופסיס- צמח המשמש למחקרים ולניסויים מדעיים רבים בעקבות העובדה שהוא קל לגידול ובעל מחזור חיים מהיר. אולי צמח זה הוא הבסיס להצלת חייהם של אנשים רבים...

ייצוג גרפי







ביבליוגרפיה:

1. רוזנטל א' (2015). רעב או חקלאות אקולוגית, מתוך אתר הידען (בעליו: בליזובסקי, א', סיגמן, ל', יושובייב, ר'). [תאריך עדכון: 17.1.2015]; <https://tinyurl.com/2p88m5au>.
2. בן מיכאל, ר' (2020). להאכיל את העולם בזמן משבר, מתוך אתר זווית (בעליו: סוכנות ידיעות למדע ולסביבה, זווית). [תאריך עדכון: 1.4.2020]; <https://tinyurl.com/yckmev83>.
3. ארגון סיוזנט (2006). אדם וטבע-יחסי גומלין, מתוך האתר סיוזנט. [תאריך עדכון: 16.10.2006]; <https://www.seasonet.co.il/seasonPedia.asp?article=45>.
4. לידור שער-משה, אדוארדו בלומוולד וצבי פלג (2017), שינויים ייחודים בתגובת הצמח לשילובים של עקות סביבתיות שונות Plant Physiology, volume 174, issue 1, pages 1-2, [סביבתיות שונות](#).
5. ד"ר אמיר, ר' (2007), פרקים באקולוגיה, האוניברסיטה העברית בירושלים, המרכז להוראת מדעים, עמ' 148-150.
6. משרד המודיעין, משרד ראש הממשלה (2020), מגיפת הקורונה ואתגרי שוק המזון העולמי, מדינת ישראל משרד המודיעין אגף המחקר, עמ' 2.
7. The role of arabidopsis in plant science research, NSF (2001). [date accessed: 31.1.2001]; <https://www.nsf.gov/bio/pubs/reports/arabid/chap1.htm>
8. פרופ' שני, א', נאסר ו' (2016). **Auxin response under osmotic stres**, Plant Molecuar Biology, עמודים 662-672. https://www.researchgate.net/publication/299989001_Auxin_response_under_osmotic_stres
9. מנהל המחלקה לגנטיקה במכון וולקני, פרופ' גפני י' (2001). מי יאכיל את העולם, מתוך הספרייה הוירטואלית של מט"ח (בעליו: בידץ, י'). [תאריך עדכון: אוגוסט 2001]; <https://lib.cet.ac.il/Pages/item.asp?item=3857>.
10. Shania E., Weinstainb R., Zhang Y., Castillejo C., Kaiserlic E.,

Chory J., Tsien R. Y., Estelle M. [Gibberellins accumulate in the elongating endodermal cells of Arabidopsis root | PNAS](#) (2012), **Gibberellins accumulate in the elongating endodermal cells of Arabidopsis root**, PNAS Early Edition עמודים 1-4.

11. המרכז הארצי למורי מדעי החקלאות (2019). הבסיס הביולוגי של תהליכי גדילה וייצור בצומח ובבע"ח, מתוך האתר אגריטיץ' (בעליו: משרד החינוך). [תאריך עדכון: 11.3.2019]; <https://tinyurl.com/y97x9mse>.

12. Liaqat, S., Siddiqi, T.O., Safeullah, P., Umar, S., (2021). **The molecular mechanism of brassinosteroids in mediating the abiotic stress responses of plants**, Pages 547-566; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323909433000031>

13.

Falkenberg, B., Witt, I., Inés Zanor, M., Steinhauser, D., Mueller-Roeber, B., Hesse, H., Hoefgen, R. (2008). **Transcription factors relevant to auxin signalling coordinate broad-spectrum metabolic shifts including sulphur metabolism** [date accessed: July, 2008]; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2486478/>

14.

Shani E, Salehin M, Zhang Y, Sanchez SE, Doherty C, Wang R, Mangado CC, Song L, Tal I, Pisanty O, Ecker JR, Kay SA, Pruneda-Paz J, Estelle M, (2017). **Plant Stress Tolerance Requires Auxin-Sensitive Aux/IAA Transcriptional Repressors** [date accessed: 19.1.2017]; <http://europepmc.org/article/med/28111153>

15. פלייס מ' (2001). **"Auxin: The Functions, Effects, and Applications of a Plant Growth Hormone"**. Place, M., **Auxin: The Functions, Effects, and Applications of a Plant Growth Hormone**. North Dakota State University. shorturl.at/tyOU7

16. הפקולטה למדעי החיים ע"ש ג'ורג' ס' וייז, [שורש העניין](#), אפריל 2021, אוניברסיטת ת"א. 19.4.2021, הפקולטה למדעי החיים, "שורש העניין: תגלית מחקרית פורצת דרך בבית הספר למדעי הצמח".

17. הורמונים צמחיים, [הורמונים צמחיים](#) 2003,

18. ד"ר בן דב י' (2004). **קוטר - אביב חדש: האנציקלופדיה הישראלית לנוער - כרך 5 עמ' 121**, מתוך אתר shorturl.at/lrtN1 קוטר - מטח.

19. גרטי א' (2009). עקרונות גדילת הצמחים (בעליו: מכון ויצמן למדע). [תאריך עדכון: 9.9.2009];

shorturl.at/mEOQ2

20. גרטי א' (2009). ההורמונים - מולקולות קטנות, תפקיד גדול, מתוך האתר מכון דודסון (בעליו: מכון ויצמן

למדע). [תאריך עדכון: 9.9.2009]; shorturl.at/yGMWY