

הרחקה של גלייפוסט מאתר מטרה היא המקנה עמידות לקוטל העשבים בקייצת

זיו קלינמן
בהנחיית פרופ' ברוך רובין

המכון למדעי הצמח וגנטיקה
בחקלאות ע"ש רוברט ה. סמית



קייצת (*Conyza* spp.)

עשב רע המשבש בתי גידול רבים.

מוצאה באמריקה הלטינית אך היא נפוצה בכל העולם
ובעיקר בארצות טרופיות או ממוזגות וחמות.

שייכת למשפחת המורכבים (Asteraceae)

לקייצת תפרחות מסודרת כקרקפות

ובכל אחת 100-500 פרחים.

צמח יחיד של קייצת מייצר במשך

חודשי הקיץ 7500-25000 זרעים הנפוצים ברוח.



קייצת קנדית
Conyza canadensis



קייצת מסולסלת
Conyza bonariensis



קייצת (*Conyza* spp.)



קייצת קנדית
Conyza canadensis

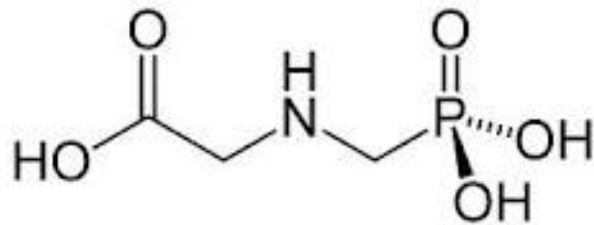


קייצת מסולסלת
Conyza bonariensis





קוטל העשבים גלייפוסט [N-(phosphonomethyl) glycine]



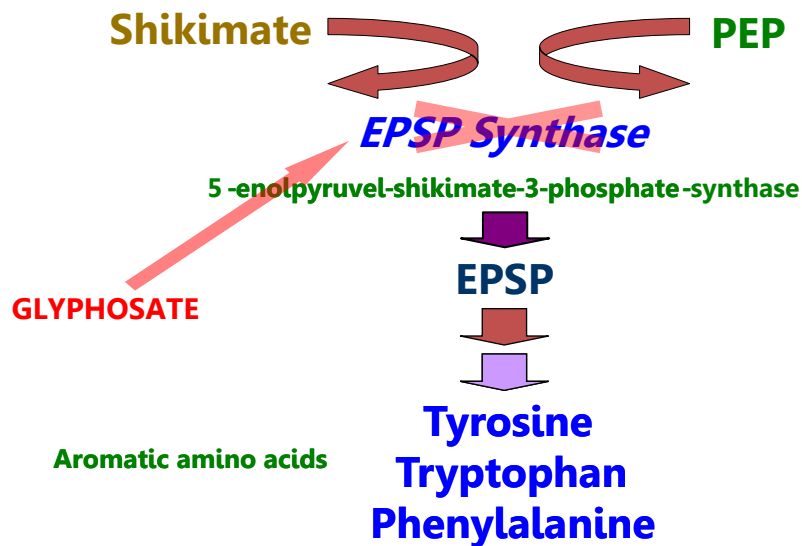
✓ מעכב EPSPS.

✓ מיושם לאחר הצצה, לא בררני.

✓ נע סימפלסטית ואפופלסטית.

✓ ידידותי לסביבה.

✓ זול.



הצטברות חומצה שיקימית ברקמה
הצמחית מהווה מדד אמין למידת
עיכוב האנזים על ידי גלייפוסט.

אוכלוסיות עמידות

נמצאו ואופיינו ארבע אוכלוסיות קייצת עמידות לגלייפוסט
משדות שונים:

עמידות האוכלוסיות לפי אינדקס העמידות (RI) היא פי 8
עד פי 30 בערך לעומת האוכלוסייה הרגישה.



עמידות בנבטים של אוכלוסייה עמידה מגלה כי מנגנון
העמידות אינה קשורה לגיל הצמח.



עקות המאיטות את הפעילות הפיזיולוגית של הצמח
פוגעות במנגנון העמידות.



מהו המנגנון המקנה עמידות לגלייפוסט אצל אוכלוסיות
הקייצת המסולסלת שאופיינו כעמידות לתכשיר?

מנגנוני עמידות אפשריים:

- אתר המטרה – האנזים EPSPS **רגיש**, שכן:

1. אין מוטציה ידועה (פרולין 106)

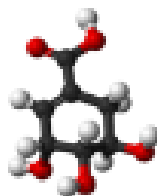
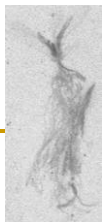
2. יש הצטברות שיקימאט

- אין שינוי באינטראקציה עם הצמח:

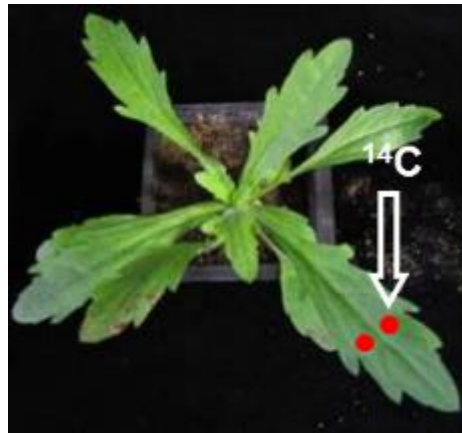
1. הגלייפוסט נקלט בעלים

2. אין הוצאה לאפופלסט

3. הגלייפוסט מגיע למבלעים



מנגנון העמידות



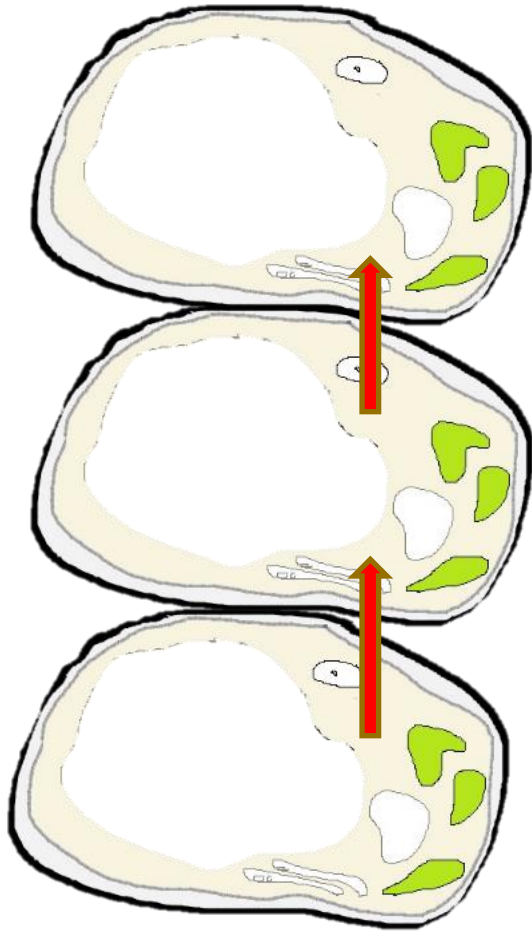
באוכלוסייה העמידה
הגלייפוסט נע
למבלעים כשם שהוא
נע באוכלוסייה
הרגישה.

באוכלוסייה הרגישה
אנזים המטרה מעוכב
במבלעים. באוכלוסייה
העמידה האנזים מעוכב
באופן מקומי.

השערה: באוכלוסיות העמידות הגלייפוסט לא מגיע כראוי לאתר
המטרה, למרות שברמת הצמח השלם הוא נע כצפוי

מנגנון עמידות שאינו באתר מטרה

הפרעה ברמה התאית/מידור בחלליות?

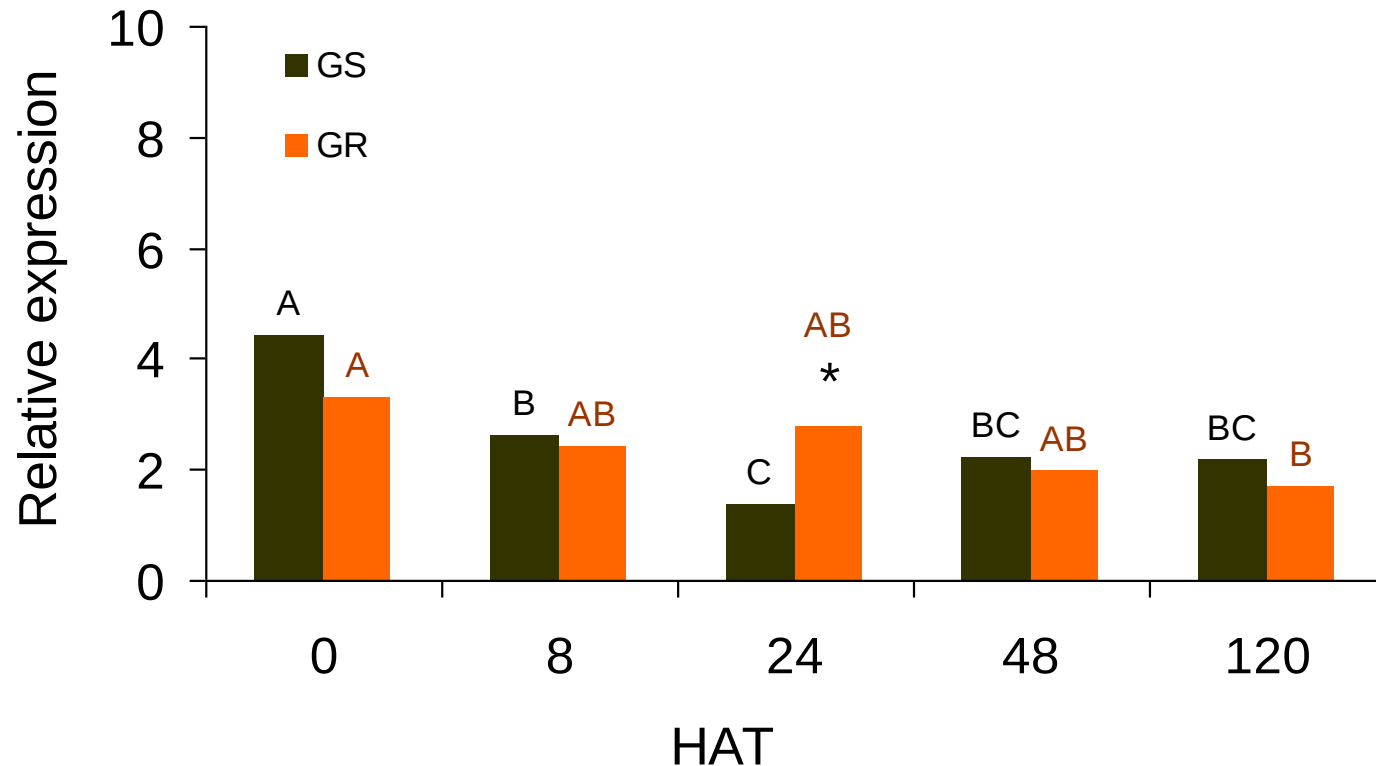
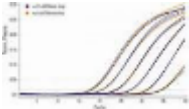


רמת ביטוי של גנים

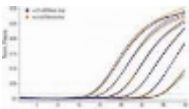


- .1. צמחים צעירים, עמידים ורגישים, רוטטו במינון נמוך של גלייפוסט.
- .2. לאחר 8 שעות מריסוס נקצרו חמישה צמחים והוקפאו בחנקן נוזלי. כך גם במרווחי זמן נוספים (יום, יומיים וחמישה ימים).
- .3. מצמחים אלו הופק RNA ונבנו ספריות cDNA.
- .4. נערכו ניסויי qRT-PCR לבחינת רמת הביטוי של גנים אשר קשורים למידור של טוקסינים בחללית.

ביטוי הגן המקודד ל EPSPS



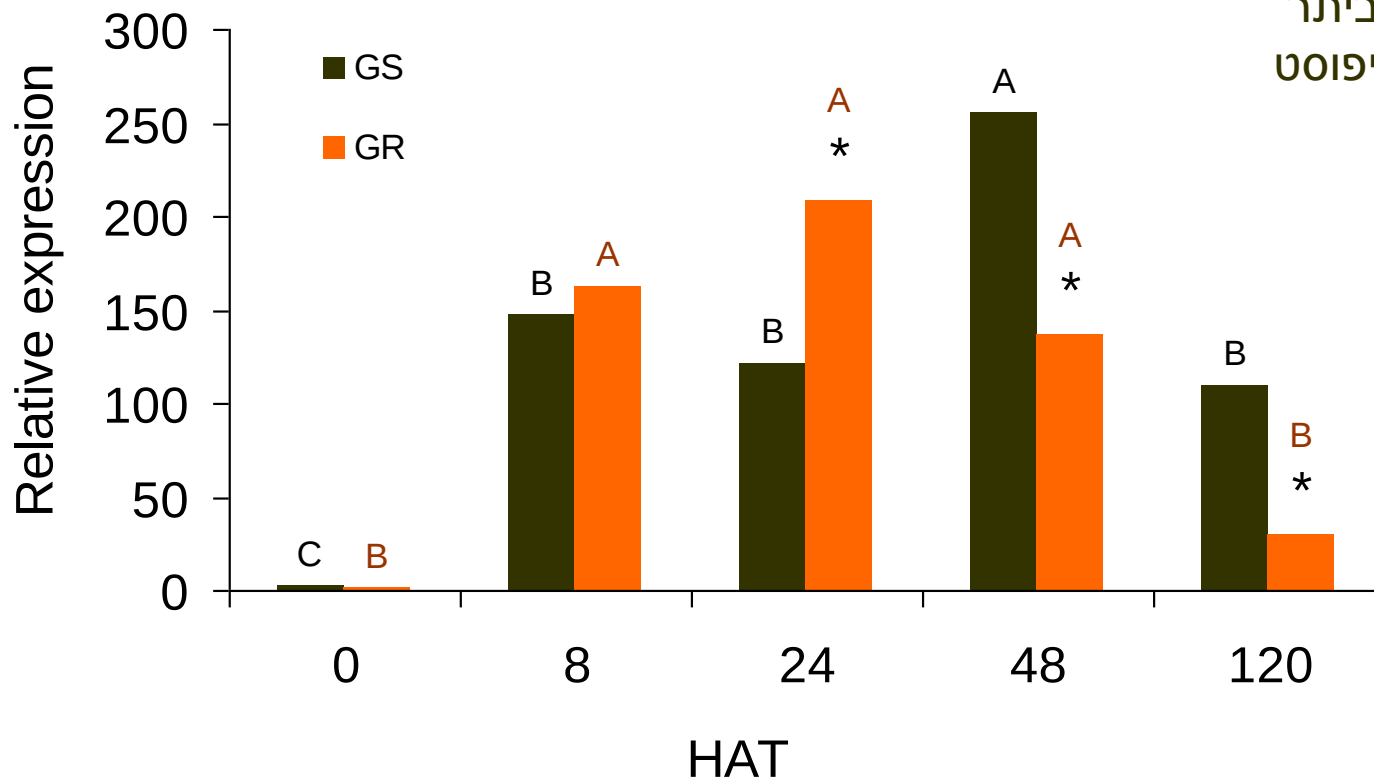
בצמחים הרגישים נמצאה מגמת ירידה בכמות התעתיקים בטווח 24 שעות מיישום הגלייפוסט. בצמחים העמידים ביטוי הגן נותר קבוע גם לאחר היישום.



ביטוי גנים המקודדים לנשאים של החלליות

נשא M10 – משפחת ה ABC

נשא שמתבטא ביתר
לאחר יישום גלייפוסט
בקייצת קנדית



ביטוי הגן עולה לאחר יישום גלייפוסט בשתי האוכלוסיות אך באוכלוסייה העמידה
בשלב מוקדם/מהר יותר



סקירה ביואינפורמטיבית של גנים

Sequences producing significant alignments:				Score (bits)	E Value	N
@SRR035294.93195	FIHSSUW01EW4XW	length=248		173	2e-42	2
@SRR035296.100257	FIQ4L3X01AY0C8	length=256		167	1e-40	1
@SRR035296.72859	FIQ4L3X01BJBPC	length=256		167	1e-40	1
@SRR035294.83512	FIHSSUW01CGR2F	length=256		167	1e-40	1
@SRR035294.68464	FIHSSUW01ERYW0	length=256		167	1e-40	1
@SRR035294.16355	FIHSSUW01CMYUH	length=245		163	3e-39	2
@SRR035296.53066	FIQ4L3X01ET3HU	length=246		158	9e-38	1
@SRR035294.7422	FIHSSUW01EVXDO	length=257		157	2e-37	2
@SRR035296.130525	FIQ4L3X01D61TT	length=256		155	8e-37	2
@SRR035294.93195	FIHSSUW01EW4XW	length=248			7e-36	2
@SRR	Length = 248				7e-35	2
@SRR					2e-34	1
@SRR	Score = 173 bits (373), Expect = 2e-42				6e-34	1
@SRR	Identities = 71/82 (86%), Positives = 79/82 (96%)				6e-34	1
@SRR	Frame = +1 / -2				9e-34	1
@SRR					8e-33	1
@SRR					8e-33	1
@SRR					1e-32	2
@SRR					1e-32	1
@SRR	Query: 2392 NILFGSSMDRQRYQETLERCSLVKDLEMLPYGDRQTIGERGINLSGGQKQRVQLARALYQ 2571				3e-32	1
@SRR	NILFGS+MD QRYQETLE+CSLVKDLE+L YGD T+IGERG+NLSSGGQKQR+QLARALYQ				5e-32	1
@SRR					1e-31	2

1. פלט השוואת רצף
גן **ZmMrp3**
לטרנסקריפטום של
קייצת קנרית

2. מקטע הטרנסקריפטום
עם ההומולוגיה הגבוהה
ביותר מוצג ברמת
החלבון

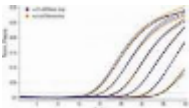
spot FIHSSUW01EW4XW

View: ☒ reads (customize) ☒ intensity graph ☐ signals

Reads (joined)

```
>gnl|SRA|SRR035294.93195 FIHSSUW01EW4XW
tcagGCTTGAAGCAGTATGTGCATCCACAGCACTAAAGGGATCATCCAAAAGATAGATAT
CTGCATCCTGGTATAAAGCAGCAGCGAGTTGAATCCTTTGCTTCTGTCCACCACTGAGGT
TAACACCTCTTTCCCCCTATCTCAGTGAGATCACCGTACGTTAGCAACTCAAGATCCTTCA
CCAAAGAACACTTCTCAAGTGTTCCTTGGTATCTCTGACTATCCATTGCAGACCCGAACA
AAATATTA
```

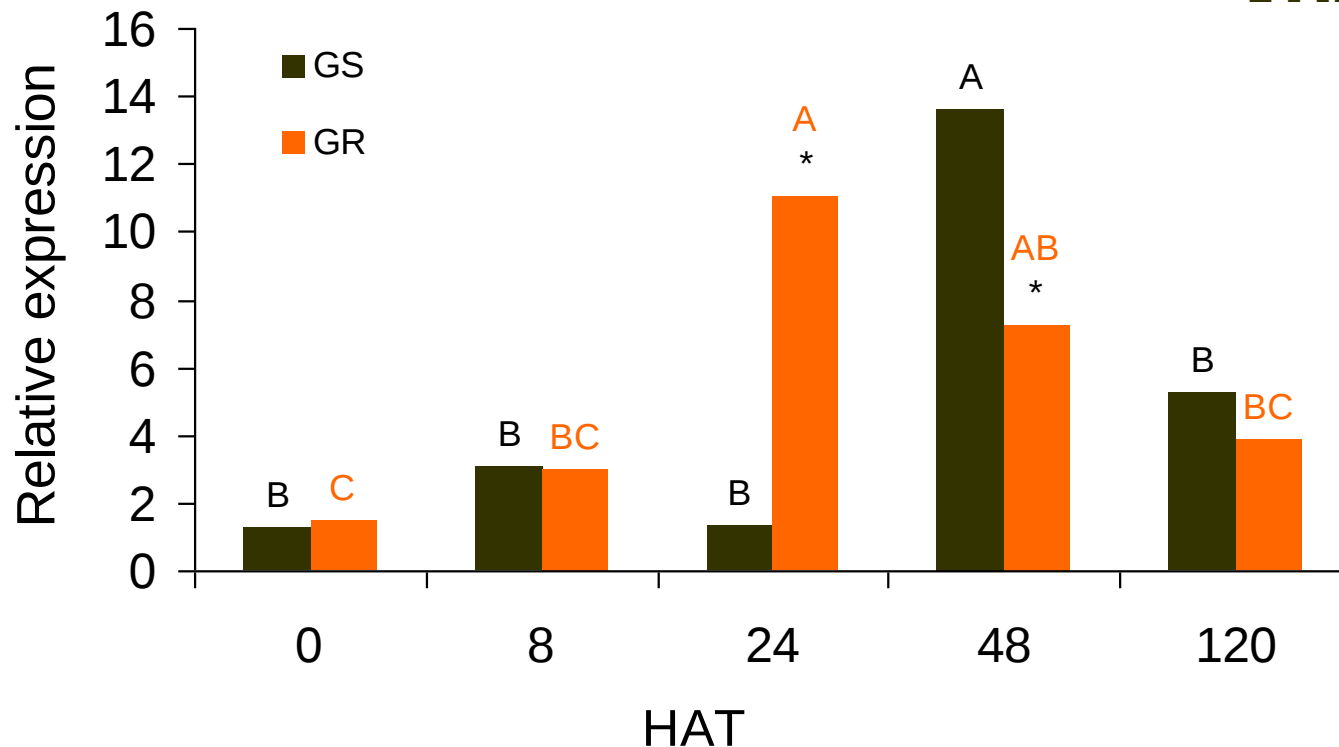
3. תכנון הפריימרים לגן
CbMrp לפי רצף
הטרנסקריפטום ההומולוגי



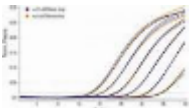
ביטוי גנים המקודדים לנשאים של החלליות

נשא *CbMrp3* – משפחת ה ABC

נשא של אנתוציאנינים



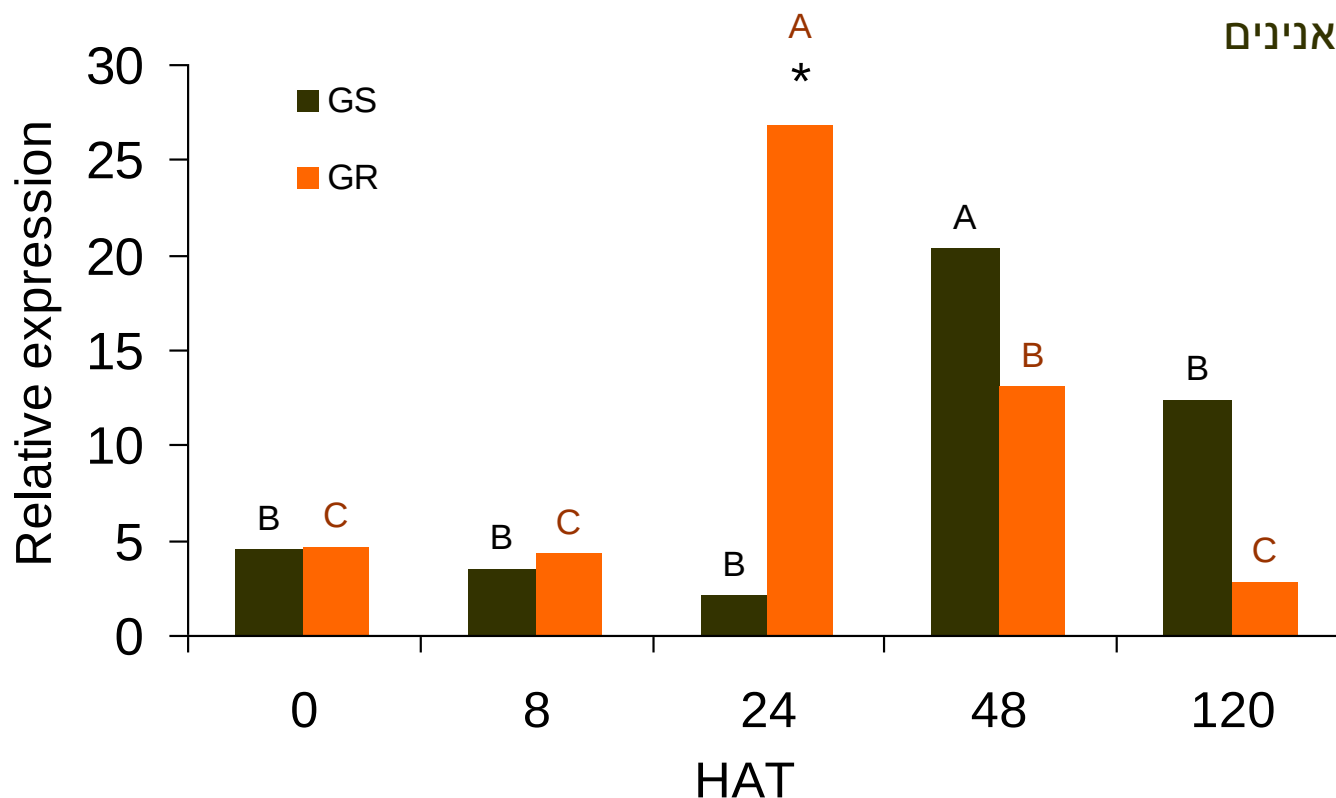
ביטוי הגן עולה לאחר יישום גלייפוסט בשתי האוכלוסיות אך באוכלוסייה העמידה בשלב מוקדם/מהר יותר



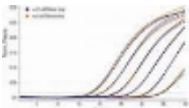
ביטוי גנים המקודדים לנשאים של החלליות

נשא DTX35 – משפחת ה MATE

נשא של אנתוציאנינים



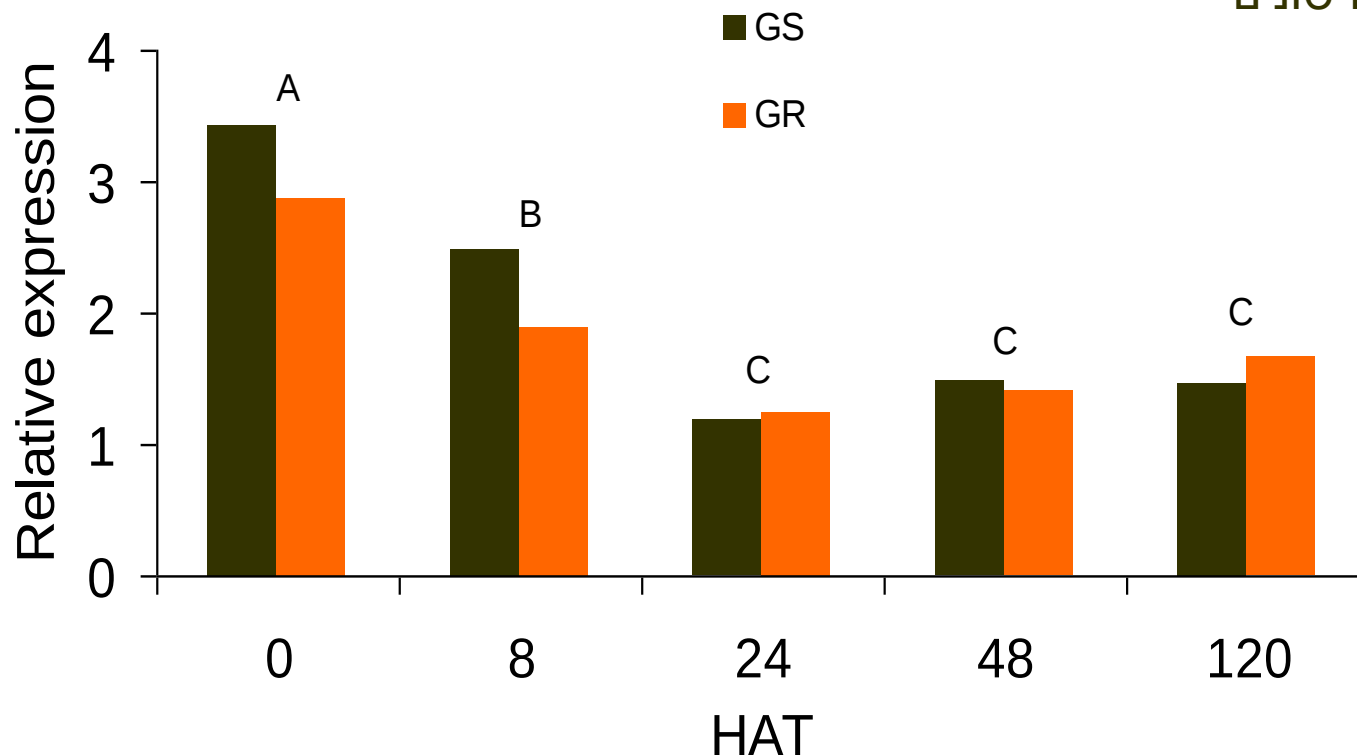
ביטוי הגן עולה לאחר יישום גלייפוסט בשתי האוכלוסיות אך באוכלוסייה העמידה בשלב מוקדם/מהר יותר



ביטוי גנים המקודדים לנשאים של החלליות

נשא pdr – משפחת ה ABC

נשא של רעלנים שונים



ביטוי הגן יורד לאחר יישום הגלייפוסט ללא הבדל מובהק בין האוכלוסיות

- אין ביטוי ביתר של גן ה - EPSPS
- מנגנון עמידות שלא באתר מטרה הוא מערכתי וכולל כנראה מספר גורמים אשר מסייעים לצבירת התכשיר בחלליות.
- יישום גלייפוסט מביא לביטוי מהיר של גנים המקודדים לנשאים טרנס-ממברנליים של החלליות: M10, CbMrp3, CbDTX35.

- נשאים אלו שייכים למשפחות נרחבות שחלק מהנימנים עליהן תורם להתמודדות עם טוקסינים (אקסוגנים ואנדוגנים) מקבוצות שונות על ידי מידורם בחלליות.
- באוכלוסיות העמידות התהליך מתרחש מהר יותר מאשר באוכלוסיות הרגישות ונראה כי זהו גורם חשוב במנגנון העמידות.

תודה!

