



ריבוי בטטות פטורות מווירוס, בתרבויות של קדקודים מריסטמיים

מאת ש. מרקו, מינהל המחקר החקלאי
ד.ג.א. וולקי, קטרין ג'. פיין,

Institute of Horticultural Research, Wellesbourne, U.K.*

קדקודים מריסטמיים (עד 0.5 מ"מ) של צמחי בטטה שהראו סימני היכר ויראליים ברורים — עברו רגנרציה לצמחונים במשך 12 שבועות. בצמחונים ובצמחים שהתפתחו מהם במשך כחצי שנה לאחר מכן לא אובחנו סימני היכר ויראליים, ואף לא אובחנו חלקיקים ויראליים באמצעות הסתכלות במיקרוסקופ האלקטרוני. גדילת התרבויות היתה טובה יותר בקרקע מזון MS מאשר ב-B₅, ובשתי קרקעות המזון היה ריכוז הקינטין המיטבי 2.5–5.0 מ"ג/ל'. הגדלת ריכוזי הקינטין וכן הגדלת ריכוזי IAA ליותר מ-8 מ"ג/ל' עיכבו את גדילת התרבויות.

מבוא

הבטטה (*Ipomoea batata* Poir.) היא צמח רב-שנתי, מניב פקעות שורש, והיא בעלת חשיבות חקלאית הולכת וגוברת בארץ ובאזרחות טרופיות וסובטרופיות אחרות. למטרות מסחריות נעשה הגידול מחומרי ריבוי וגטטיבי, בעיקר פקעות, והדבר גורם ברוב הזנים המסחריים אילוח אוניברסלי במחלות וירוס. וירוסים שונים המועברים על-די כנימות עלה (2, 3, 10), על-ידי כנימות עש (6, 10) וכן וירוסים שלא הוגדרו עדיין — תוקפים גידול זה. בסקר מצומצם שנערך בישראל נמצאה בשדות מסחריים, לפי סימפטומים, נגיעות של 10%–50% (מרקו, טרם פורסם) ולפי בדיקות סרולוגיות (2) — כדי 80%–90%. אפשר להדביר את מחלות הווירוס בבטטה באמצעות שימוש בחומרי ריבוי פטור מווירוסים. חומר כזה מתקבל מייצור מלאי צמחיים פטור מווירוסים. צמחים אלו אפשר להכין ריבוי קלונאלי לייצור ולשיווק חומר שתילה בריא (1, 5, 6, 8, 9). ייצור צמחי האם נעשה באמצעות ריבוי מריסטמי. מאמר זה יתאר ניסויים לקביעת קרקע-המזון המיטבית להתחדשות צמחי בטטה מתרבויות קדקודים מריסטמיים (meristem tip culture) והאפשרות להפחית בכך את סכנת מחלות וירוס.

חומרים ושיטות

צמחי בטטה המראים סימנים ויראליים ברורים גודלו מפקעות שהתקבלו מישראל (הזן Georgia Jet) ומתמן (זן לא ידוע). הוכח שהקלונים מישראל מכילים חלקיקי וירוס, לפחות Mottle Virus Feathery, שחלקיקיו נצפו במיקרוסקופ האלקטרוני. הקלונים מתמן לא נבדקו בדיקות ויראליות, אך הראו סימנים חריפים אפילו מאלה שהראו הקלונים הישראליים.

הפקעות מהמקורות השונים נשתלו בקומפוסט Innes No. 3 וגודלו ברשיון מיוחד, במוסד מחקר באנגליה**. הגידול נעשה בתאים מוג-נים מחרקים, כולל סגירה כפולה, בטמפרטורה של 25 מ"צ ביום ו-20 מ"צ בלילה. הקדקודים המריסטמיים הוכנו לתרבית כפי שתוארו וולקי וחובריו (11). ענפים באורך של 5–8 ס"מ נלקחו מהצמחים ועברו חיטוי חיצוני בכוהל 70% במשך 3 דקות וב-1% כלורין במשך 3 דקות, ולאחר מכן נשטפו הענפים היטב במים מזוקקים. מפקעים בענפים אלה (0.4–0.5 מ"מ) הוסרו קדקודים באופן אספטי תחת בינוקולר, על שולחן מחוטא. הקדקודים גודלו במבחנות זכוכית שטוחות תחתית, המכילות 10 מ"ל קרקע מזון ב-pH 5.7, שהועברו למצב מוצק על-ידי אגר 0.6%. התרבויות עברו אינקובציה בתא עם טמפרטורה קבועה של 23 מ"צ, והוארו במנורות פלואורסצנט בעצמה של 40 ואט למ"ר בפוטופריודה של 16 שעות. כדי לקבוע את מיטב הרכיבים של קרקע המזון — נערך ניסוי פטוריאלי לשם רגנרציה של הקדקודים בשתי קרקעות מזון מקובלות מסחריות — מורשיגה וסקוג (MS) (7) וגמבור (B₅) (4). לקרקעות מזון אנאורגאניות אלו הוספו הרכיבים האורגאניים הבאים: סוכרוז 30 ג/ל'; חומצה ניקוטינית — 0.5 מ"ג/ל'; פירידוקסין, חומצה מלחית 0.5 מ"ג/ל'; תיאמין חומצה מלחית 0.1 מ"ג/ל'; אינוזיטיל 100 מ"ג/ל'. לרכיבים קבועים אלה הוכנסו ריכוזים משתנים של קינטין (6-furfuryl amino purine) (0.0, 0.8, 2.5, 5.0, 10.0 מ"ג/ל') בכל הצירופים האפשריים עם 0.8 ו-16 מ"ג/ל' IAA. נערכו שמונה ניסויים, לפחות 6 חזרות בכל טיפול לכל ניסוי. עצמת הגדילה בתרבית הוערכה בסקאלה מ-0 עד 5.

תוצאות ודין

בכל הניסויים נמצא, שהריכוז המיטבי של הקינטין הוא 2.5–5.0 מ"ג/ל' לשתי קרקעות המזון MS ו-B₅; ואילו הוספת IAA עיכבה בהן את הצמיחה (דיאגרמה 1). בכל הטיפולים נתנה קרקע המזון MS תוצאות טובות יותר מ-B₅. לאחר כ-50 יום הועברו הצמחונים לקרקע מזון המכילה 2.5 מ"ג/ל' קינטין וללא IAA. למרות זאת השתדרשו רוב הצמחונים, ולאחר כ-30 יום נוספים הם הועברו לעציצי Jiffy והוחזקו כשבועיים להקשחה בחדר סגור ביריעות פלסטיק, שהלחות היחסית בו הופחתה בהדרגה. לאחר מכן נשתלו הצמחונים בעציצי פלסטיק 4.5 אינץ' בתוך קומפוסט John Innes No. 3, אך היה אפשר להעבירם בקלות לקרקע. רגנרציה זו נמשכה כ-12 שבועות. בהמשך גודלו

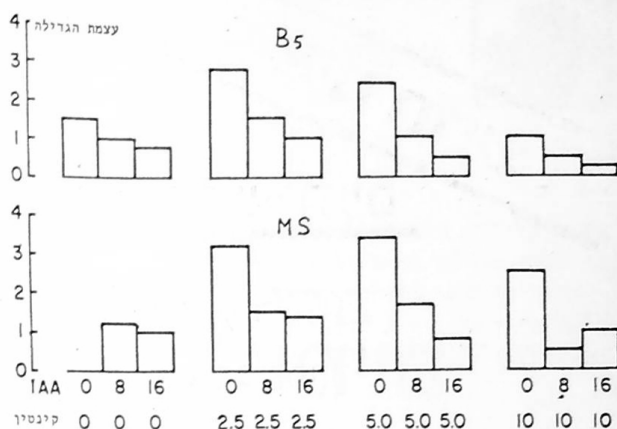
** ר' המוסד שבו עובדים החוקרים באנגליה, החתומים על המאמר.

* פירסום של מינהל המחקר החקלאי, סדרה ה' 1989, מס' 2173.

של אוכסין, ואילו אנחנו ביצענו רגנרציה ללא אוכסין כלל. אף שזה נחשב הורמון השרשה. כן הוכח, שריכוזים של אוכסין בשיעור של 8 מ"ג/ל, ויותר – מעכבים את גדילת הקדקוד. קינטין עד 5.0 מ"ג/ל מעודד גדילה, ואילו בריכוז רב הוא משמש מעכב גדילה.

ספרות

- Alconero, R., Santigao, A.G., Morales, F. and Rodriguez, R. (1975). *Phytopathology*, 65: 769–773.
- Cohen, J., Loebenstein, G. and Spiegel, S. (1988). *Plant Disease*, 72: 583–585.
- Cohen, J., Salomon, R. and Loebenstein, G. (1988). *Phytopathology*, 78: 809–811.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., and Ojima, K. (1968). *Exp. Cell. Res.* 50: 151–158.
- Kuo, C.G. (1985). *Scientia Hort.* 26: 231–240.
- Loebenstein, G. and Harpaz, I. (1960). *Phytopathology*, 50: 100–104.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). *Physiol. Plant.* 15: 473–497.
- Nielsen, L.W. (1960). *Phytopathology*, 50: 841–842.
- Scaramuzzi, F. (1986) "Sweet Potato (*Ipomoea batatas* Poir)." in: *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 2. pp 455–461. Springer Verlag, Berlin.
- Schaefer, G.A. and Terry, E.R. (1976). *Phytopathology*, 66: 642–645.
- Walkey, D.G.A., Heather, A. Nelly and Crisp, P. (1980). *Scientia hort.*, 12: 99–102.



דיאגרמה 1. גדילתם היחסית של קדקודים מריסטמיים מבטטה בשילובים שונים של IAA וקינטין, שהוספו לקרקע מזון MS (תחתון) ו-B₅ (עליון). התוצאות הן ממוצע של 8 ניסויים ולפחות 6 קדקודים לניסוי.

הצמחונים כ-6 חדשים, ובמשך תקופה זו נבדקו שלוש פעמים לנוכחות חלקיקי וירוס. בשום מקרה לא נמצאו חלקיקים כאלה. הצמחים התפתחו יפה, ובמשך התקופה לא נתגלו כל סימנייהכר ויראליים. ברור לנו, שאין די בבדיקות אלה לוודא, שהצמחים אכן היו פטורים לחלוטין מכל וירוס; אך בכל זאת הן נותנות מושג על יעילותה המעשית של השיטה.

ברוב המחקרים המדווחים על רגנרציה של בטטה *in vitro* מקדקודי ענפים, השתמשו בקרקע מזון של MS שנמצאה בעבודה הנוכחית כמתאימה יותר. אבל במחקרים הקודמים השתמשו בריכוזים שונים



בטפולי קדם-שתילה
למניעה והדברה של עשביה-
חד שנתית, דגנית ורחבת עלים
בעונת האביב והקיץ (3/15-9/15)
 להוראות מפורטות ראה תווית התכשיר או פנה למחלקה החקלאית



יבנין יפה כימיקלים בע"מ

יעוץ והדרכה: המחלקה החקלאית
 ת"א טלפון: 650034, ת"ד 29511