

עצי פרי וגבן

השימוש בבדיקת איזואנימים לשם הבחנה בין הכנה והרכב בעץ אבוקדו מצטיין בקיבוץ שפיים*

חמדה דגני, אברהם בן-יעקב, המחלקה למטעים סובטרופיים, מרכז וולקני, בית דגן

מבוא

ניסויים לבחינת כנות, מקורות רכב ויחסי כנה-הרכב באבוקדו נכללו במסגרת נטיעות האבוקדו המסחריות בארץ בשנים 1968-1978. הקמת מערכת הניסויים וגם חלק מתוצאותיהם תוארו בעבר (1, 2).

מערכת ניסויים נרחבת זו התבססה על שתילים מורכבים על גבי כנות זרועות ולכן כללה השוואות בין אוכלוסיות ואריאביליות מאוד. מניתוח ההתפלגות של אוכלוסיות כאלה נוכחנו שהן כוללות תמיד גם עצים אשר פוריותם עולה באופן ניכר על שיעור הפוריות הממוצע של הקבוצה. מכאן צץ רעיון ה"קופי", כלומר, יצירת עצי העתק בדרך של ריבוי וגטטיבי מהעצים המצטיינים. רעיון זה הועלה ע"י גילספי בקליפורניה כבר בשנות ה-50 (3), ואנו נרחיב ונתאר אותו במאמרים שיוקדשו במיוחד לנושא זה.

שלב ראשון בתהליך השעתוק** של העץ המצטיין הוא השגת חומר ריבוי מהכנה. במקרים רבים אין צורך לנקוט צעדים מיוחדים להשגת חומר ריבוי כזה, היות וקיימות פריצות של ענפים מהכנה בלאו הכי; אולם במקרים אחרים יש צורך להמריץ פריצות כאלה, לרוב ניתן להשיג זאת רק ע"י כריתת עצי האם. לאחר הכריתה עשוי

להתקבל אחד המצבים הבאים:

- ★ חוסר כל התפרצויות של צימוח.
- ★ צימוח מהכנה בלבד.
- ★ צימוח מהזן המורכב בלבד.
- ★ צימוח מהכנה ומהזן גם יחד.

בעית ההבחנה בין הכנה והרכב

הגדרת הצטינותם של עצים מבחינת הפוריות יכולה להיעשות רק מגיל 10 ואילך, ובגיל זה קשה לזהות את מקום ההרכבה. לכן, אם ברצוננו לזהות את מקורם של הענפים המתפרצים לאחר הכריתה, והאם מקור זה (נקודת מוצא) נמצא מעל ו/או מתחת להרכבה – עלינו לבחון את טיבם של הענפים האלה עצמם. במקרים מסוימים נבדלים החלקים העלוותיים של הכנה והרכב זה מזה בתכונות בולטות, כגון – קיומו או העדרו של ריח אניס, גוון הלבוב הצעיר וכו', ואלה די בהם כדי לקבוע את זהות המקור של כל ענף. אולם במקרים אחרים רב הדמיון בין עלים וענפים אשר התפרצו מחלקים תחתונים ועליונים של הגדם ואין באפשרותנו לקבוע האם קיימים הבדלים ביניהם והאם ברשותנו טיפוס צמחי אחד או שניים.

יתר על כן, לעומת ציפיות שיש לנו לגבי מראה הזן המורכב, המוכר לנו בדרך כלל, ידוע רק מעט לגבי מראה החלק העלוותי של הכנה. יש לזכור שגם בזנים מוכרים וידועים הלבוב לאחר כריתה שונה במידה רבה ממראה אותו זן במצבו הרגיל.

* מפרסומי מינהל המחקר החקלאי, סדרה ה', 1982, מס' 1222.

** עצי כפל: עצים שיוכנו כהעתק מדויק של עץ האם.

שעתוק: תהליך הכנתם.

אפשרות הבחנה על ידי בדיקת איזואנזימים
זיהוי מקורם של הענפים המתפרצים לאחר הכריתה יכול להיעשות ע"י שימוש בסקנים גנטיים. סקנים נוחים לבדיקה הם האיזואנזימים אשר נמצאו אמינים במערכות שונות (4) ובכלל זה בעצי אבוקדו (5). איזואנזימים הם אנזימים שפעולתם האנזימטית זהה אך מבנם שונה. כאשר ההבדל במבנה של האיזואנזימים מתבטא בשוני של המטען החשמלי, ניתן להפריד ביניהם על פי שיעור נדידתם בשדה חשמלי. בהדצה של דוגמה ממצוי רקמתי בשדה חשמלי בגל של עמילן, ינדדו האיזואנזימים בצורה אופינית. את דגם האיזואנזימים ניתן לגלות על פי צביעה המבוססת על פעולתם האנזימטית. לפרטים שונים באוכלוסיה עשוי להיות דגם שונה של איזואנזימים, בעזרת קביעת דגם זה ניתן במקרים מסוימים, להבדיל פרט אחד ממשנהו. כך, לדוגמה, במערכות כנה-רוכב ניתן, במקרים מסוימים, להבדיל בין כנה לרוכב.

חומרים ושיטות

הניסוי בקיבוץ שפיים ואיתור העץ המצטיין

נטיעות האבוקדו אשר בוצעו בקיבוץ שפיים בעונת 1969/70 נכללו במסגרת ניסויי כנה-רוכב אשר הוזכרו. בינתיים הסתיימו ניסויים אלה ותוצאותיהם יסוכמו ויפורסמו בעתיד הקרוב. ניסוי מס' 2 בזן אטינגר כלל 4 צירופים של כנה ורוכב.

מבין עצי הצירוף המצטיין אותר עץ פורה במיוחד - עץ 28/14. עץ זה היה מורכב על זריע של לולה. בממוצע הניבו עצי הצירוף המצטיין יבול הגבוה בכ- 60% מעצי הצירוף הגרוע בחלקה; העץ המצטיין הניב יבול גבוה בכ- 35% מעל הממוצע של עצי אותו צירוף.

השגת חומר ריבוי מהכנה וזיהויו לאחר שבשיטות אחרות לא ניתן היה לקבל צימוח של הכנה - נכרת העץ המצטיין, תוך שמירת רכב ממנו במטע האם. לאחר זמן מה החלו התפרצויות של צימוח לאורך כל הגדם, שגובהו היה כ- 60 ס"מ. למראית עין

לא ניתן היה להבחין בכל הבדלים במראה העלוח של הענפים שפרצו מחלקים נמוכים וגבוהים של הגדם. במועד זה הוחלט על בדיקת איזואנזימים ראשונה שתוצאותיה קבעו שאכן אין כל הבדל בין עלים מהענפים השונים (ראה להלן). לכן נכרת העץ שנית, בגובה כ- 20 ס"מ מעל פני הקרקע. לאחר שחלה התפרצות מחודשת הסתמן הבדל מסוים במראה בין עלים הענפים התחתונים, שהיו מעוגלים יותר, לבין עלים הענפים העליונים. עלים מענפים שהתפרצו במחצית גובה הגדם לא ניתן היה לזהותם כדומים לאלה שמעליהם או מתחתם.

במועד זה בוצעה בדיקת איזואנזימים שניה. לבדיקה זו נלקחו דוגמאות העלים הבאות:

1. עלים מענפי הגדם העליונים.
2. עלים מענפי הגדם האמצעיים.
3. עלים מענפי הגדם התחתונים.
4. עלי הזן אטינגר.
5. עלי הזן לולה.
6. עלי זריע לולה ממטע בית דגן 9/19.

השאלות שהוצגו לפני הבדיקות היו:

1. האם עלים מחלקי הגדם השונים זהים או שונים?
2. האם עלים מחלקי הגדם השונים זהים לעלי הזן אטינגר או שונים ממנו?
3. מה מידת הדמיון (מאחר שמדובר בכנת זריע) בין עלים של כנת העץ המצטיין לבין אלה של הזן לולה או זריע אחר של לולה?

בדיקת איזואנזימים

לזיהוי העלים מהענפים השונים שהתפרצו השתמשנו בשלוש מערכות אנזימטיות: מאלאט דהידרוגנז (MDH), לויצין אמינופפטידז (LAP) ופראוקסידז (PX). בהפרדה של המערכת MDH היה הבופר של הגל 6.9pH, 0.016M tris-citrate ובופר האלקטרודות היה 0.049M tris-citrate, 6.9pH. בהפרדת LAP ו-PX היה בופר הגל 7.6pH, 0.02M tris-citrate ובופר האלקטרודות נתרן בורט 0.4M, 8.7pH.

תוצאות

אנליזה איזואנזימתית שנועשתה לאחר הכריתה הראשונה הראתה שאין כל הבדל בין העלים של הענפים שפרצו מהחלקים הנמוכים ומהחלקים הגבוהים של הגדם; כל העלים שנבדקו היו זהים לעלי הזן אטינגר, בכל המערכות האנזימתיות שאותן בדקנו. לעומת זאת, לאחר הכריתה השנייה הראתה בדיקת דגם האיזואנזימים של MDH (ראה ציור 1) שענפי הגדם העליונים והאמצעיים זהים לאלו של הזן אטינגר, ואילו ענפי הגדם התחתונים שונים מהם. בהתאמה עם תוצאות אלה מראות גם התוצאות המתקבלות בשתי המערכות האנזימתיות LAP ו-PX, שהעלים של הענפים מהחלק התחתון של הגדם שונים לחלוטין מהעלים של הענפים מהחלק האמצעי והעליון של הגדם.

מסקנות

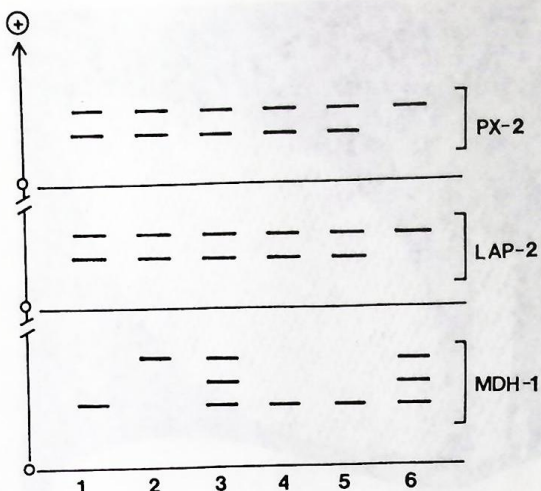
הענפים העליונים מראים דגם איזואנזימים זהה לזה של הזן אטינגר ואנו מניחים שאלה הם ענפי אטינגר. הענפים התחתונים שונים מהם וניתן לקבוע שאלה הם ענפים שפרצו מהכנה.

כיון שהכנה היתה זריע של לולה, איננו מצפים לזהות בין העלים התחתונים לבין הזן לולה בדגם האיזואנזימים. יתר על כן, לא מפתיע העדר זהות בין דגם העלים התחתונים לזריע האקראי של לולה שנבדק.

העבודה המתוארת כאן מדגימה את יכולתה של אנליזה איזואנזימית לספק דרך קלה ופשוטה לפתרון בעיות של זיהוי כנה ורכיב אשר קשה לפתור בדרכים אחרות.

ספרות

1. בריעקב, א. (1972). מחקר שדה לבחינת יחסי כנהירובב באבוקדו: 1. הקמת מערכת ניסויים במסגרת נטיעות האבוקדו המסחריות בישראל. השדה נ"ג: 63-66.
2. בריעקב, א., מיכלזון, א., סלע, י. (1979). מחקר שדה לבחינת כנות ומקורות רכב במטעי אבוקדו מסחריים: סיכום 10 השנים הראשונות למחקר 1978-1968. המחלקה למטעים סובטרופיים, פרסום פנימי, 47 עמ'.



1. הדגמה סכמטית של אנליזה איזואנזימתית של העלים במערכות LAP, MDH ו-PX. 0: קו המוצא בו מוכנסות הדוגמאות, (+): האנודה, (1) זן אטינגר; (2) זן לולה; (3) זריע לולה; (4) עלים מחלק עליון של הגדם; (5) עלים מחלק אמצעי של הגדם; (6) עלים מחלק תחתון של הגדם. מרחקי נדידה יחסיים של האיזואנזימים אינם מצוינים.

3. Gillespie, H.L. (1952). Asexual reproduction of rootstock from high producing Fuerte avocado trees. Yd. Calif. Avocado Soc. 37: 97-101.
4. Rider, C.C. and Taylor, C.B. (1980). Isoenzymes Chapman and Hall. London and New York.
5. Torres, A.M. and Bergh, B.O. (1980). Fruit and leaf isozymes as genetic markers in avocado. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105: 614-619.

