

207

2003-2005

תקופת המחקר:

256-0643-05

קוד מחקר:

Subject: IMPROVING VEGETATIVE PROPAGATION OF BANKSIA AND GRAVILLEA

שם המחקר: שיפור הריבוי הוגטטיבי בבנקסיה וגרווילאה

Principal investigator: MOSHE REUVENI

חוקר ראשי: משה ראובני

Cooperative investigator: ALEX ACKERMAN, YAAKOV BEN YAAKOV, DALIA EVENOR

חוקרים שותפים: אלכס אקרמן, יעקב בן-יעקב, דליה אבנור

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

המטרה במחקר זה הייתה לימוד הדרכים לקבלת השתרשות בתרביות רקמה של בנקציה אשביי וגרווילאה CD. קבלנו צמחים מושרשים של גרווילאה מתרביות רקמה אבל צמחי הבנקציה אשר מוצאים מתרבית עדיין לא משתרשים. הכנסנו לתרבית מריסטמות של בנקציה קוקסינאה ושל גרווילאה CS. עדיין אין ריבוי בבנקציה קוקסינאה אבל יש ריבוי והשתרשות של גרווילאה CS. רשימת פרסומים ממחקר זה:

1. Reuveni, M. Evenor D. and Ben-jaacov, J. . (2003). On the road to micro-propagation of *Banksia ashbyi*. *Acta Horticulturae*. Vol 602; 149-154.
2. Reuveni, M (2003) Propagation of *Banksia ashbyi* using tissue culture. International Protea News. Vol 44 (March 2003) pp 3-5.
3. Evenor D. Reuveni, M. (2006). Micro-propagation of *Grevillea* type CD. *Acta Horticulturae*. In Press.

דוח סופי לתכנית מחקר מספר 05-0643-256

פיתוח מערכת השתרשות בבנקציה וגרווילאה

Developing a rooting method for Banksia and Gravillea.

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולהנהלת ענף הפרחים בינואר 2004

על ידי

משה ראובני	צמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי
יעקב בן-יעקב	צמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי – פרש לפנסיה
דליה אבנור	צמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי
אלכס אקרמן	צמחי נוי, מינהל המחקר החקלאי – פרש לפנסיה
שלמה איתן	משרד החקלאות ופיתוח הכפר

Moshe Reuveni, Department of Ornamental Horticulture, ARO Volcani Center, P.O.Box 6, Bet-Dagan, 50250. Email vhmoshe@agri.gov.il

Dalia Evenor, Department of Ornamental Horticulture, ARO Volcani Center, P.O.Box 6, Bet-Dagan, 50250. Email vhevenor@agri.gov.il

Eitan Shlomo Agricultural Extension Service, Israeli Ministry of Agriculture, Bet-Dagan, 50250
Email sheitan@shaham.moag.gov.il

הממצאים בדוח זה הינם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצה לחקלאים

חתימת החוקר

תקציר

המטרה במחקר זה הייתה לימוד הדרכים לקבלת השתרשות בתרביות רקמה של בנקציה אשביי וגרווילאה CD. קבלנו צמחים מושרשים של גרווילאה מתרביות רקמה אבל צמחי הבנקציה אשר מוצאים מתרבית עדיין לא משתרשים. הכנסנו לתרבית מריסטמות של בנקציה קוקסינאה ושל גרווילאה CS. עדיין אין ריבוי בבנקציה קוקסינאה אבל יש ריבוי והשתרשות של גרווילאה CS.

רשימת פרסומים ממחקר זה:

1. Reuveni, M. Evenor D. and Ben-jaacov, J. . (2003). On the road to micro-propagation of *Banksia ashbyi*. *Acta Horticulturae*. Vol 602; 149-154.
2. Reuveni, M (2003) Propagation of *Banksia ashbyi* using tissue culture. *International Protea News*. Vol 44 (March 2003) pp 3-5.
3. Evenor D. Reuveni, M. (2006). Micro-propagation of *Grevillea* type CD. *Acta Horticulturae*. In Press.

מבוא ותאור הבעיה

ישנם צמחי נוי רבים בעיקר מעוצים אשר ענפים מצמחים אלו או הצמחים עצמם יכולים להוות מוצרים לייצוא. עיקר הבעיה בצמחים אלו היא ריבוי מייחורים של קלונים מבטיחים. צמחים אלו כגון גרוילאה (Grevillea) ובנקציה (Banksia) הם בעלי פוטנציאל לענפי קישוט או ענפים פורחים אבל בעיית ריבויים מהווה מכשול בפני פיתוחם לגידולים מניבים של קלונים מבטיחים. ריבוי צמחים אלו נעשה מזרעים ועקב כך ישנה שונות גדולה ביכול ותגובת הצמחים לקרקעות השונות. בעיות של גדילה וגטטיבית לאחר פריחה, שונות בגודל התפרחת וכו'. בעיות אלו היו יכולים להיפתר לו ניתן היה לברור ולרבות קלונים מבטיחים.

מטרות המחקר:

המטרה העיקרית של מחקר זה היא לפתח טכניקות ריבוי לצמחי אם מצמחי בנקציה וגרוילאה קשי השתרשות על מנת לייצר מחומר ריבוי זה צמחים יובנליים אשר ייחוריהם ישתרשו בקלות. מטרה משנית במחקר זה היא ללמוד את השפעת המעבר ליובנליות על השתרשות צמחים מעוצים בתרבות.

תאור הצמחים

בנקציה

בנקציה (Banksia) שייכת למשפחת הפרוטאיים (Proteacea) ומוגבלת בתפוצתה לחצי הדרומי של כדור הארץ. בסוג בנקציה ישנם 76 מינים. בנקציה קוקצינאה (*Banksia coccinea*) הוא המין הנמכר ביותר בעולם. בארץ המין הנפוץ הוא המין בנקציה אשבי (*Banksia ashbyi*) וענפי פריחה שלה פודים מחירים טובים מאד בבורסות (בסביבות 2 FL) בהולנד. חלק ניכר מענפי הבנקציה הנמכרים בעולם נקטפים בבר באוסטרליה (Sedgley 1998). המוצר הנמכר מבנקציות הוא גבעול פורח עם פריחה טרמינלית בעל תפרחת גדולה של 10-15 ס"מ. הבנקציות הן שיחים גדולים או עצים רב שנתיים אשר מניבים את ענפי הפריחה שלהם באביב או קיץ מוקדם. הצמחים מגיבים לאורך יום וניתן על ידי תאורה בחורף לזרז פריחתם כפי שדווח על ידי Sedgley (1998) בניסיונות להארכת והקדמת הפריחה ב- B.

coccinea

ריבוי בנקציה לסוגיה נעשה על ידי זרעים ככלל ודבר זה מכניס שונות רבה לאוכלוסייה ואי אחידות בגידול, ביבול ובאיכות המוצר. דבר זה גם מונע ברירה של זנים מיוחדים או מניבים במיוחד. ריבוי זני בנקציה על ידי ייחורים הוא, במקרה הטוב, מאוד לא אחיד ולא חוזר על עצמו, דבר השולל מסחור של ריבוי בנקציה אשבי. עדיין לא נמצאו התנאים לריבוי מסיבי של בנקציות על ידי ייחורים. גם התגובה של סוגי הבנקציה השונים לטיפול אוקסין להגברת השתרשות משתנה מאוד בין צמח לצמח מאותו מין. לדוגמא צמחים אינדיבידואלים של *B. hookeriana* ו-*B. prionotes* משתרשים באחוזים הנעים בין 0% ל- 80% (Sedgley 1998).

ניסיונות בהרכבות של סוגי בנקציה שונים לא זכו להצלחה מרובה (Sedgley 1998). אחוז ההצלחה המרבי המדווח במספר מועט של זנים הוא באזור 30% בלבד דבר המקשה על מיסחור של תהליך זה (Sedgley 1998). ריבוי על ידי תרבויות רקמה מדווח על ידי Sedgley (1998) לגבי מספר מינים של בנקציה אבל כל התוצאות הללו לא מפורסמות בספרות. בנוסף מדווחת Sedgley (1998) שהצמחים שיצאו מתרבות הרקמה לא שרדו את תהליך ההקשחה.

לריבוי בנקציות ישנו גם ערך אקולוגי כי ישנם מינים אשר בסכנת הכחדה וריבוי ושימור שלהם בתרבות עשוי להצילם.

אנו התמקדנו במחקר זה בשני זנים של בנקציה, האחד בנקציה אשבי (*B. ashbyi*) אשר גדל בארץ ומשווק לחו"ל ולשוק מקומי בשווי כולל של בערך 500,00 ש"ח. הזן השני בנקציה קוקצינאה (*B. coccinea*) הוא הזן הנמכר ביותר בעולם ומנסים לגדלו בארץ. הדרישה העולמית לתפרחות הבנקציות נמצאת בעליה מתמדת ואין ההיצע מספק את ביקוש (Sedgley 1998).

גרזילאה

הסוג גרזילאה (*Gravillea*) הוא אחד מהגדולים והחשובים השייכים למשפחת הפרוטאיים. הסוג מונה כ -

350 מינים בוטניים ועשרות זנים שמוצאם מאוסטרליה. לארץ הובאו מינים רבים של גרזילאה ע"י משפחת ורדי ממושב, עין ורד. כיום שתולים בארץ למעלה מ - 500 דונם אשר עתידים לתת כ - 6 מליון ענפים, בשלוש העונות האחרונות שווקו מהארץ כ - 3 מליון ענפים (הנתונים באדיבות יצחק רן). בשנים האחרונות הוכנסו לתצפיות במשקי מגדלים ומשתלות זנים חדשים שהובאו מאוסטרליה אשר נראים זנים מבטיחים. בסוג גרזילאה יש מגוון גדול של מינים וזנים בעלי פוטנציאל לשמש כענפי קטיף, כענפים פורחים, כבעלי ניצנים וכירוקים.

שווק ענפי הקטיף מתחיל בשנים של סתיו קריר בחודש נובמבר, מגיע לשיא בגל אחד בפברואר מרץ ודועך באפריל, בחודשי השיא פברואר - אפריל קיימת ירידת מחירים קשה ולכן יש חשיבות רבה להקדמת עונת הקטיף ע"י שיפור ממשק הגידול, או מציאת קלונים/סלקציות המקדימים לפרוח.

ריבוי הגרזילאות נעשה בזנים מסוימים באמצעות ייחורים ובמינים קשי השרשה מזרעים, או במקרים שכדאי מתרבות רקמה. לאחרונה הובאו זני גרזילאה חדשים מאוסטרליה שהם קשי השרשה (CD ו-CS). בריבוי מזרעים מתקבלת שונות גדולה והצאצאים אינם אחידים. ריבוי בתרבות רקמה להחזרת הוויכיליות עשוי לשפר את יכולת השרשה של ייחורים שיתקבלו מצמחי אם שחידשו את "צעירותם" ע"י ריבוי בתרבות. אנו עובדנו בעבודה זו על גרזילאה CD ועל גרזילאה CS לשני הזנים פרחים צהובים המבכירים לפרוח.

מטרת המחקר

לפתח שיטה לקבלת ייחורים קלי השתרשות מצמחים בוגרים אשר מאבדים את יכולתם להשתרש.

מטרות ספציפיות:

- (1) לפתח שיטת ריבוי בתרבות לצמחי אם מעוצים אשר תחזיר אותם למצב יובילי.
- (2) פיתוח מערכת מהירה של השתרשות לייחורים מצמחים אלו.

תוצאות בבנקציה אשבי

מהלך העבודה:

סטריליזציה של החומר הצמחי: מקטעי גבעול או תפרחות של הצמחים הורחפו בתמיסת סודיום היפוכלוריד)

(2% + 0.5% משטח (Tween 20), למשך 20 דקות לאחר מכן נשטפו שלוש פעמים במים סטריליים. המריסמות

נחתכו מהגבעולים הסטריליים והושמו על צלחות פטרי המכילות את המצעים השונים (ראה טבלה 1). מריסטמות צדדיות וקדקודיות הושמו בנפרד ונשמר רישום לגבי המקור של המריסטמות. בשלב הראשון נלקחו מקטעי עלים וגבעולים מצמחים בוגרים ולאחר סטריליזציה והוכנסו למצעים שונים של תערובות פיטו-הורמונים שונים. המקטעים נבדקו ליכולת רגנרציה ישירה או יצירת קאלוס רגנרטיבי מהרקמה. מעבר הצמחים דרך שלב של תרבית רקמה סטרילית מבטיח שינופו צמחים נגועים בפתוגנים הן חיצוניים והן פנימיים על מנת להבטיח את ניקיון צמחי האם אשר ייווצרו בסוף התהליך. אנו ניסנו גם תפרחות צעירות של בנקציה כי ישנם מקרים בהם התברר שרקמה זו היא בעלת הפוטנציאל הרגנרטיבי הגדול ביותר. עד היום לא הצלחנו לקבל רגנרציה מתפרחות של בנקציה. הצמחונים אשר נוצרו בצורה זו הועברו למצע התארכות ואחר כך למצע השתרשות.

טבלה 1: פירוט המצעים בהם השתמשנו לרגנרציה של בנקציה:

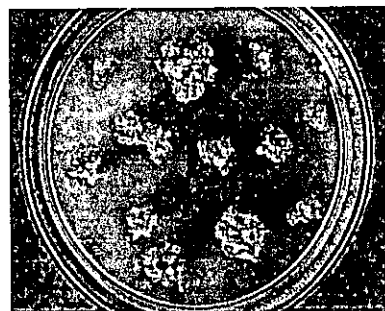
מצע על בסיס מלחים לפי Murashige and Skoog (MS) מתוצרת דושפע מכיל 3% סוכרוז.

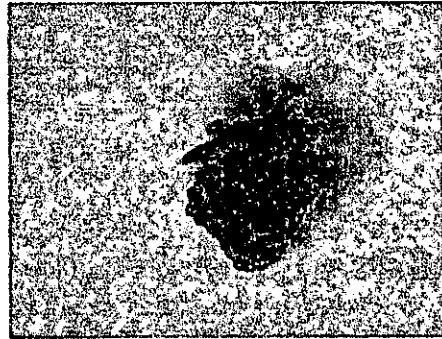
1.0 IAA; 0.5 TDZ	0.5 2,4-D; 0.25 BA
0.5 2,4-D; 0.2 Kin	1.0 2,4-D; 0.25 BA
0.5 IAA; 1.0 BA	1.0 2,4-D; 0.20 Kin
1.0 IAA; 0.5 BA	0.5 2,4-D; 0.20 Kin
0.5 IAA; 0.1 Kin	2.0 2,4-D; 4.5 Kin
0.5 IAA; 1.0 Kin	0.5 2,4-D; 0.1 Kin
2.0 IAA; 10.0 KIN	1.0 NAA; 2.0 BA
1.0 IAA; 0.5 Zeatin	1.0 NAA; 3.0 BA
0.5 IAA; 0.25 BA; 1- FeNaEDTA	1.0 Zeatin; 0.5 GA ₃

מצע על בסיס מלחים לפי גמבורג (B₅) מתוצרת דושפע מכיל 3% סוכרוז.

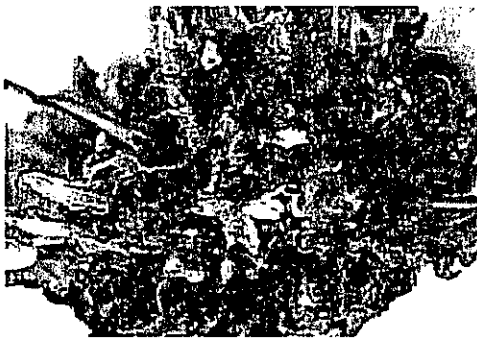
B ₅ , 0.6 g/L casien, 0.2 2,4-D and 1.0 Kin
B ₅ , 0.6 g/L casien, 0.2 2,4-D and 0.2 Kin
B ₅ , 0.6 g/L casien, 0.2 2,4-D and 0.5 Kin
B ₅ , 0.6 g/L casien, 0.5 2,4-D and 0.2 Kin

תמונות של התפתחות ניצרוני בנקציה אשביי בתרבית.

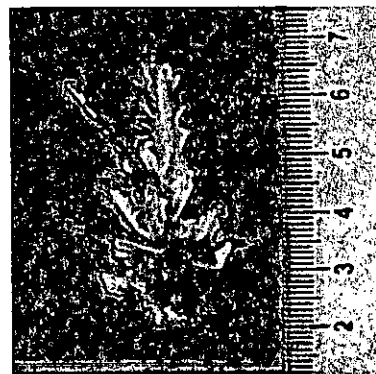




איור 3: צבר ניצרונים מתפתחים מניצן חיקי



איור 5: צבר ניצרונים גדולים שהתפתחו מניצן



איור 4: ניצרון מוכן להשרשה

מצאנו שניתן לרבות צמחי בנקציה מקטעי גבעולים על מצע MS המכיל 1:2 יחס אוקסין לציטוקינין (1.0).

IAA; 0.5 TDZ כאשר BA וNAA לא החליפו את ה- IAA ו- TDZ. מצאנו עוד ש- ZEATIN יכול להחליף את ה- TDZ

למרות שריבוי בנקציה אשביי מתקדם יפה הצימחונים הגדולים (איור 4 ו-5) המועברים למצעי השתרשות שונים לא משרישים. ניסינו קומבינציות שונות של אוקסינים (IAA, NAA, IBA) ושילוב מצעים שונים (MS, WPM או מיהולים שונים של מצעים אלו) עם ריכוזים שונים של האוקסינים השונים ללא הצלחה עדיין. מריסטמות של בנקציה קוקציה הוכנסו לתרבית אבל למרות שהמריסטמות לא מתו, עדיין אין ריבוי והן מועברות אחת לחודש ממצע למצע ולא מתרבות.

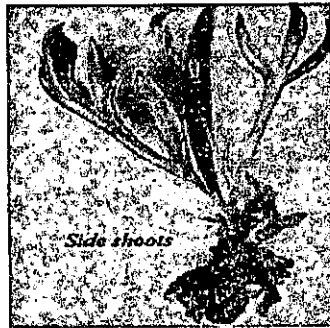
תוצאות בגרוילאה CD.

אותם מצעים שהשתמשנו בבנקציה ובדקו גם בגרוילאה CD (ראה רשימה למעלה). נמצא מצע אשר עודד התפתחות ניצרונים בקצב מואץ. ניצרוני גרוילאה CD התפתחו על מצע GA_3 0.5; Zeatin 2.0; Sucrose 2%; WPM. מצע זה

נמצא אופטימאלי לריבוי והתארכות של גרוילאה כאשר הרכב המלחים של WPM הדל יותר מה-MS הרגיל מאפשר לגרוילאה התפתחות תקינה (איור 6 ו 7).



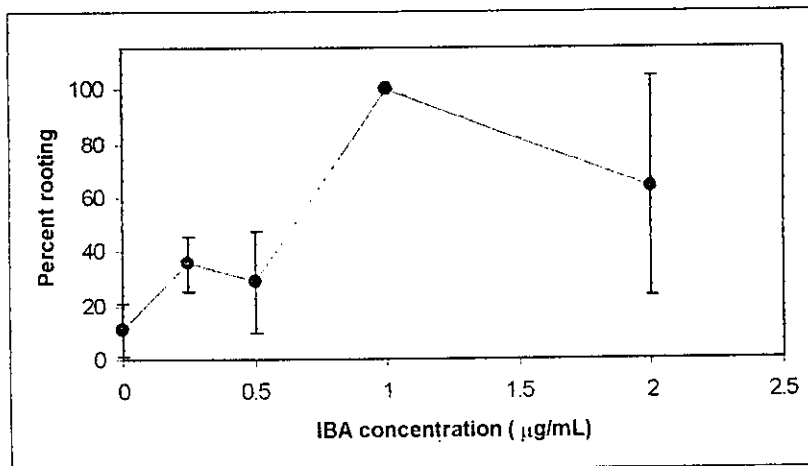
איור 6: תמונות של התפתחות ניצרוני גרוילאה CD בתרבית.



איור 7: ניצרון מוכן להשרשה

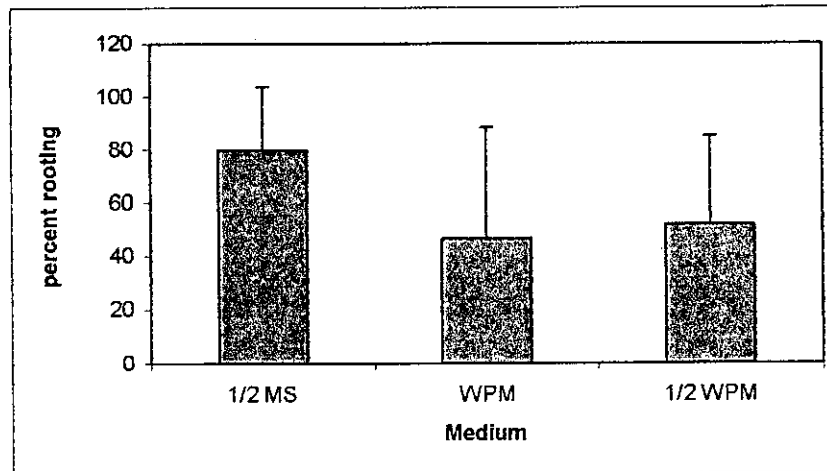
השתרשות גרוילאה

נבדקו הן ריכוזים שונים של הורמון השתרשות IBA והן מצעים שונים. בדקנו טווח של ריכוזי הורמון השתרשות בין אפס עד 2 מ"ג לליטר. עקומה מספר אחת מראה שהריכוז האופטימלי של IBA היה 1 מ"ג לליטר (איור 8).



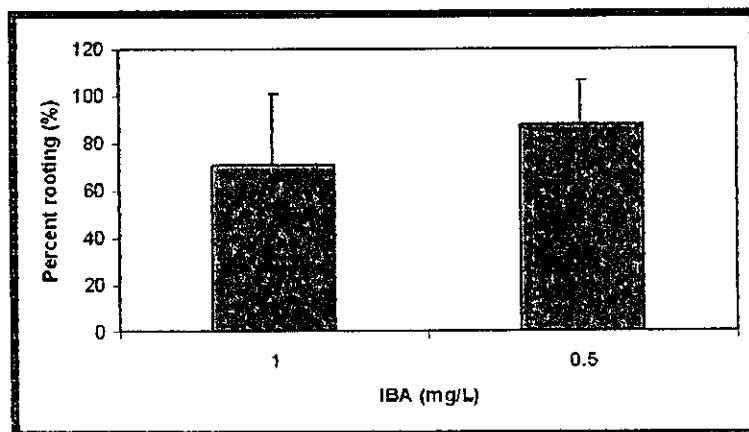
איור 8: השפעה של ריכוזי IBA על אחוז ההשתרשות של ניצרוני גרוילאה CD בתרבית.

בבדיקת מצעי ההשתרשות ומצא כי מצע של MS 1/2 כלומר מצע שבו המלחים לפי MS (Morashigi and Skoog) ומהלו פי 2 היה יעיל יותר ממצע WPM (Woody Plant Medium) או WPM 1/2 אשר משמשו להשתרשות צמחים מעוצים. מצע MS מלא עיכב השתרשות בגרווילאה (איור 9).



איור 9: השפעה של ריכוזי המלחים במצע השתרשות על אחוז השתרשות של ניצרוני גרווילאה CD בתרבית.

כמו כן היכנסנו לתרבית את הזן גרווילאה CS אשר הפך מאוד מבוקש. ריבוי גרווילאה CS נעשה על מצע הדומה למצע של גרווילאה CD. גרווילאה CS משתרשת ביתר קלות מגרווילאה CD ומגיבה יותר טוב לאוקסין IBA (איור 10).



איור 10: תגובת ניצרוני גרווילאה CS ל IBA

הקשחה

אנו יודעים לייצר צמחונים מושרשים של גרווילאה CD וגרווילאה CS בתרבית רקמה כאשר הוצאנו עשרות צמחים להקשחה הן בפיטטרון והן במשתלה מסחרית (משתלת משיח). אחוז הקליטה של צמחונים אלו היה קטן ביותר בתחילה ואנו בדקנו לנסות תנאי הקשחה שונים. מצאנו שהגורם הקובע בהקשחת הגרווילאות היה גודל הצמחון המושרש המועבר

לחממה. למרות שגם ניצורונים של 1 עד 2 ס"מ השרישו בתרבות העברתם לחממה גרמה להתמוטטות הצמח. רק צמחונים באורך של לפחות 5 ס"מ שרדו היטב את המעבר לחממה ואת שלב ההקשחה.

מסקנות והשלכותיהן על המחקר

במחקר זה ניסו לפתח מערכות ריבוי והשתרשות ל בוקציה אשביי וקוקסינאה ולגרווילאה CD ו- CS בתרבות. את שלב הריבוי עברנו בהצלחה גם לבוקציה אשביי וגם לשני הגרווילאות. צריך לזכור ששלב הריבוי הראשוני בבוקציה החל בשנת 2000 כך שבוקציה קוקסינאה יכולה עוד להנץ ניצורונים בתרבות מהחומר שהוכנס בשנה האחרונה. בגרווילאה הצלחנו קצת יותר ושם פותח גם מערכת ריבוי וגם מערכת השתרשות לשני סוגי הגרווילאה וצמחים הוקשחו בהצלחה והועברו למשתלה מסחרית להמשך גידול.

עד היום לא מצאנו את התנאים ואו המצעים אשר מאפשרים לבוקציה להשתרש. אם אכן הבעיה היא אכן להגיע ליוביטיליות של הצמחים אוי הדרך היחידה היום היא המשך הריבוי על מצעים המכילים ציטוקינין אשר לאחר מספר רב של העברות גורם בצורה לא ידועה להצטרת הצמחים. אנו מצאנו תופעה זו בצמח הנקרא הרמניה אשר רק לאחר מספר רב של העברות בתרבות החל משתרש ללא כל שינוי בצורתו או שינוי במצע (Reuveni et al 2004). בצמח זה העברות להצטרת הצמחי המקור נמשכו שנים אבל בסופו של תהליך הגענו מצמח שלא משתרש כלל מייחורים, לצמחים אשר משתרשים בסדר גודל של 90% (Reuveni et al 2004).

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הדוח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

המטרה המחקר זה היא לפתח שיטת השתרשות בתרבות לצמחי אם מעוצים על מנת שאפשר יהיה לשותלם אצל מגדלים ולהפיק מהם ייחורים להשתרשות וריבוי או לחילופין לייצר שיטה לריבוי והשתרשות של צמחים אלו בתרבות.

עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדוח.

במהלך המחקר פיתחנו מערכת ריבוי והשתרשות לגרווילאה CD ולגרווילאה CS ופיתחנו מערכת ריבוי לבוקציה אשביי.

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.

עדיין אין לנו מערכת השתרשות עבור בוקציה אשביי אבל עדיין מחקרנו הוא חלוצי בעולם בצמחים אלו. בגרווילאה CD ו לגרווילאה CS יש מערכת ריבוי והשתרשות של צמחים בתרבות שגם זה בחזית המחקר בצמחים אלו ואנו מוציאים השנה כמה עשרות צמחים למשתלה מסחרית לאחר הקשחה לבדוק את האפשרות של השימוש בצמחים אלו כצמחי אם לייצור ייחורים.

הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה.

נותר לנו להמשיך ולמצוא את המצעים לריבוי של בנקציה קוקציה. כמו כן עדיין לא מצאו את התנאים להשתרשות של אף סוג של בנקציה.

האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדוח.

פירסמו 3 מאמרים על הריבוי בתרבית של בנקציות והגרווילאה.

1. Reuveni, M. Evenor D. and Ben-jaacov, J. . (2003). On the road to micro-propagation of *Banksia ashbyi*. *Acta Horticulturae*. Vol 602; 149-154.
2. Reuveni, M (2003) Propagation of *Banksia ashbyi* using tissue culture. *International Protea News*. Vol 44 (March 2003) pp 3-5.
3. Evenor D. **Reuveni, M.** (2006). Micro-propagation of *Grevillea* type CD. *Acta Horticulturae*. In Press.

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח:

ללא הגבלה

ספרות מצוטטת

- Reuveni, M. Evenor, D. Sima Kagan, S. and Ben-Jaacov, J. (2005) Rejuvenation by *In Vitro* propagation from mature *Hermannia stricta* (Sterculiaceae) plants. *International Journal of Applied Agricultural Research* Volume 1, No.1 In Press.
- Sedgley, M. 1998 *Banksia*: new proteaceous cut flower crop. *Hortic-rev.* New York, NY : John Wiley & Sons, Inc. Press v. 22 pp. 1-25