

תפוצת וירוסים בשום המadol בישראל ושיטות לזיהוים, לצורך ייצור חומר-ריבוי פטור מווירוסים

**רפ'י סלומון, המחלקה לווירולוגיה
מראג'רי קור, המחלקה לירקונות
מרכז וולקני, מינהל המחקר החקלאי***

כדי להתאים שיטת בדיקת רגישה עילית ומהירה - הכננו נוגן ELISA לווירוס.

בדיקות שערכנו בשום מחלקות מסוימות מאזוריים שונים בארץ, מחלקות ניסוי בבית-הגן ומחלקות אינטראודוקצייה בפקולטה לחקלאות ברוחבות - הרואו שכל השום שגדלים בארץ מאולח ב-75%utz. לצורך ייצור חומר-ריבוי פטור מווירוס זה - יש צורך בבדיקות רבות ובחרום צמחי מתאים. העבודה זו מתרarta את שיטת הבדיקה, את רגישותה, ואת בחירת החומר הצימי המתאים. שיטת בדיקה זו יושמה בצמחים ובצמחוניים שגדלו מתרבויות.

חומר ושים

החוּמָר הצימי שמש לבדיקה היה - עלי שום שנדרגו בשדה חדשים אפריל, מי ויוני, ועלים מצחמים שגדלו בתרבויות והעברו לבית רשת. הנוגן התקבל מרנבת שהזרקה בחלקי וירוס, 0.1 מ"ג להזרקה שבועית. שבוע לאחר ההזרקה הראשונה החילונו לדגום מדם האرنבת. החל בשבוע השלישי, רמת הנוגדים הייתה גבוהה ובעל טיגריות רבה.

שיטות הבדיקה הייתה כמפורט להלן: קטיע עלי שום שארכם עד 10 ס"מ נכתשו ונחסטו במכבש גלילים ב-2 מ"ל בופר קרבולנט, H₂O 9.6 מ"ל סחיט מולאו בשתי בארות בפלטת ELISA לנפח קטו 0.1-0.3 מ"ל. החלקיים נקשרו לפלטה במשך לילה בטמפרטורה של 8-10°C.

טבלה 1. קריאות 405 ELISA המראות את תכולת ה-YDV בעלים זנים שונים של שום.

פרנקו	מקוֹר פרנקו	לן 140	שבט 2	שבט 1	מיוקט העללה
A 0.049	A 0.083	A 0.051	A 0.077	A 0.114	1
A 0.093	A 0.046	א ב 0.088	ב 0.235	A 0.131	2
A 0.147	A 0.127	B 0.180	ב 0.379	א ב 0.197	3
B 0.394	B 0.303	B 0.153	ב 0.276	א בג 0.224	4
B 0.361	B 0.360	B 0.193	ב 0.332	ג 0.359	5
				א בג 0.252	6
				א ב 0.171	7
				בג 0.299	8
				א ב 0.250	9

השנות להיקש: קריאה של מיצוי צמחים שגדלו בחממה (עליה 3) - 0.069 לטורים 1-4, לטור 5. 0.072 האותיות מצינעת את מובהקות התוצאות.

הובא
שום המאכל (*Allium sativum*) נוץ באזורי גידול נרחבים בעולם. הוא נחלק - לשום של יום ארוך, המגדל באזורי ממזגים, ולשום של יום קצר, הגדל באזורי יותר חמים, כולל אגן ים-התיכון. השום שגדלים בארץ - רובו שום של יום קצר מן הון "שנני", שבגדד מקור ברזילאי בלבתי ידוע. זו היא יוצר בדרכ-כלל בצלים ביןוניים וشنנות קטנות עד ביןוניות. שיפור היבול של זו זה כורך בהגדלת השננות והבצל.

עבדות נעשו באירופה, בעיקר בצרפת ובאנגליה, הראו כי שום פטור מווירוסים, שטופח, מניב יבול רב ב-25%-30% (2, 5, 6). מספר וירוסים מלאחים שום. אלו וירוסים מהמשפחה קרלה ורימו. גורמי התסמיינים העיקריים הם שני וירוסים משפחת פוטי, הגמידון הבהיר של הבצל, OYDV (Onion yellow dwarf virus), שהוא גם הפטונו המזיק ביותר מבין הוירוסים, ו-Leek yellow dwarf virus. זה האחרון, אף שמצוה בשום במספר ארצות - נפוץ בדרכ-כלל במיני בצל אחרים (2, 3, 7, 8).

עבדות קודמות הצבעו על כך, שהווירוס YDV מופץ רק מושם לשום, ואינו מעבר לשום מפונדקאים אחרים (2, 5). ריבוי השום נעשה אך ורק גנטטיבית, משנות; בהן מועבר החומר הריבויי משנה לשנה. יתרה מזאת: עקב השימוש הבלדי בשנות - קיים צורך בחומר ריבוי רב, ביחס של 1:7 - 1:8 מגודל היבול.

כמתו ומהרו של חומר הריבוי הם המגבילים את הגדלת שטחי המזרע של גידול זו, ובשנים האחרונות, עקב היבלים הבלתי מספקים שbarang. מתח מחקר זו, שהתחלנו בו לפני כהנה, היא לטפח חומר-ריבוי פטור מ-YDV, שיהווה בתי-גרעין וממנו תנודלה חלקות ריבוי מסחריות.

מכיוון שהריבוי הוא מאשננות בלבד, ולא קיים שלב של פריחה וייצור זרעים, הרי שהדרך היחידה לייצר חומר-ריבוי פטור מווירוס הוא תרבית ורקמה. במקביל לפיתוח שיטות הריבוי מתרבויות, בודדנו ניסויים. וירוס YDV מצחמי שום שגדלו בחלקת נוגן שקיבלו מד"ר לוט, מצפת (1).

*פירסום של מינהל המחקר החקלאי, סדרה הי' 1993, מס' 1042.

מ"צ.

לאחר קשירת החלקיקים מן המיצוי הוסף אנטייסרים נגד APZYO, בדורך-כלל במיהול סופי של 1:10000:1 בתמיסה של 1% אבקת חלב רזה ב-PBS (0.01 M בופר פוספט H₃PO₄ 7.4 ב-0.15 M מלח בישול). לאחר קשירת הנוגדן קשרנו אליו נוגדן מעז, כנגד נוגדן ארנבת, שאליו מצומד האנזים פופספאתאז אלקאלית. תצמיד זה הוא משלחי ("ביו מקור", רחובות).

לבסוף הושפנו את הסובסטרטאט לאנזים, ונתקבל צבע צהוב ששיאו הוערך על-פי בליעה באורך גל של 405 ננומטר. כשות בריא, להיקש, השתמשנו בעלי שום שגודלו משנהות של הון הצרפתי *Zizkia*, שטופח כפטור מ-APZYO.

תוצאות ודיון

דיagramma 1 מראה את תגובת הנוגדן שהכננו, ומצביעה על מיהול של 1:10000 כמתאים ביותר.

טבלה 1 מראה כי עליו הצעירים והעליאנים של צמח השום מכילים ריכוז מועט של וירוס. ריכוז מרבי נמצא מן העלה הרביעית ומעלה, כאשר בעלי התחתונים המזודקים חלה פחיתה בתוכולת הווירוס. מתוצאות אלו אנו למדים, שהעלים העליוניים הבוגרים מן השלישי ומטה - הם הטוביים ביותר לצורך גילוי הוירוס. כמו כן בדקנו את חלקיו העליים, ומצאנו שהחלק העליון של העלה, שהוא הבוגר ביותר, מכיל את השיעור הרב ביותר של הוירוס.

אחת השאלות המרכזיות בעניין ריבוי שום פטור מוירוס היא מהירות האילוח החזר ושייעורו. מעבודות מחקר שנעשו באזורי גידול שום עולה כי APZYO עובר משום לשום, אך לא ממיני בצל אחרים. בדיקה ראשונה שערכנו בנידון זה הראתה העברת APYDYO משום לגוף לצמחי שום פטוריים מ-YDVYO שגודלו מתרבויות - בכניות עליה, כגון כנימת האפרסק (*Mysus persicae*). טבלה 2 מראה, שתוך שבועיים ממועד ההערכה היה אפשר לאתר בעזרת בדיקת ELISA רמות ניכרות של APYDYO.

בדיקת צמחים שגודלו מתרבויות הראטה, שיש הכרח בבדיקות חוזרות, שכן צמחים שהראו תחולת וירוס מועטה ונמצאו גבוליים מבחינה זו - הראו בעבר חזר חדש נגיעות ברורה.

לצורך בקרה חומר הריבוי - עדיפה בדיקת השננות המשמשות למזרע. אנו נשתדרל לפתח שיטת בדיקה כזו.

שימוש בנוגדן מגרמניה נגד APYDYO, שנמצא בשום בארץ אחרות - לא הצבע על נוכחות וירוס זה בישראל.

סיכום

שיפור חומר הריבוי בשום עשוי להגדיל את היבול ולשפר את הרוחניות של גידול זה. הגדלת שטחי המזרע ורווחת השוק המקומי ישפיעו על מחיר השום. לפיכך, להגדיל היבול ולשיפור איכותו - חסיבות מרבית. ניסויים בקנה-מידה קטן הראו, שניתן לשוק באירופה שום לח באביב. יצא כזה עשוי לאפשר הגדלה נוספת של שטחי מזרע השום. אף שום לח זה מיועד למאכל מיידי - עשוות לחול עליו מגבלות הגנת הצומח. לכן, שום פטור מוירוס עשוי להיות בעל עדיפות ליצוא.

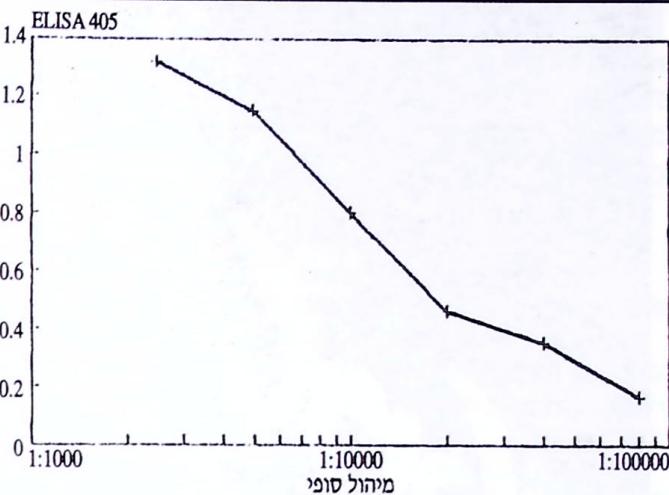
כדי להשיג ידים אלה - יש צורך בהמשך רחבי-היקף של טיפול בחומר-ריבוי פטור מוירוסים, ובשימוש בחומר זה בשטחי מזרע. עם הכנת חומר-ריבוי כזה לשימוש - יש לשמור עליו מאילוח חזר. הרחקת חקלות הגידול של חומר מבוקר מחלקות מסחריות רגילות, למרחק רב מ-500 מ' - חיונית לצורך זה.

טבלה 2. עלייה בתכולת YOYDV (קריאות ELISA 405) בצמחים שונים מתרבות רקבינה, פטורים מווירוס, שאלוחו בכニימות עליה התוצאות הן ממוצע ארבעה בדיקות).

2	1	0	שבוע לאחר הביצעה:
0.105	0.056	0.067	היקש בריא
0.731	0.739	0.773	שבט נגע
0.165	0.032	0.064	צמח מס' 24
0.298	0.100	0.071	צמח מס' 30
0.396	0.062	0.078	צמח מס' 31
0.130	0.035	0.043	צמח מס' 36

4. Joisson, C., Dubs, M.C., Briand, J., van Regenmortel, M. (1992). Res. Virol. 143: 167 - 178.
5. Messian, C.M., (in press): Thirty years of experience in France for production of disease-free garlic and shallot mother bulbs. Acta Horticulturae, Proceedings, International Symposium on Alliums for the Tropics, February 1993.
6. Messian, C., Youcef-Bnkada, M., Beyries, A. (1981). Agronomie 1: 759 - 762.
7. Walkey, D.G.A. (1990). Virus diseases. In: Rabinowitch, H.D. and Brewster, J.L. (Eds). Onions and Allied Crops, Vol. II. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 191 - 212.
8. Walkey, D.G.A., Antill, D.N. (1989). Journal of Hort. Sci. 62: 211 - 220.

Diagramma 1. עקומם מיהול אנטיסרום נגד DVYD.O.



ספרות

1. Conci, V., Nome, F., Milne, R.G. (1992). Plant Disease 76: 594 - 596.
2. Dijk, P. Van. (in press): Virus diseases of Allium species and prospects for their control. Neth. J. Pl. Path.
3. Dijk, P. van, Verbeek, M., Bos, L. (1991). Neth. J. Pl. Path. 97: 381 - 399.