

הפיכת חומצה אינדול בוטירית (IBA) לחומצה אינדול אצטית (IAA) ע"י יחורים של גפן וזית¹

אפרים אפשטיין, שמעון לביא*

ה-IBA ביחור בזמן השרשה, מיקומו יציבות וגורלו.

חומרים ושיטות

השתמשנו ביחורי גפן מעוצים מזן פרלט וביחורי זית ירוקים מהזנים מנונילו וקורוניקי (קלי השרשה) וקלמטה (קשה השרשה). ^{14}C -IBA בעל פעילות רדיואקטיבית ידועה ($2000\text{cpm}/\mu\text{g}$) הושם בבסיס היחורים בטיפה בגודל של $20\mu\text{l}$ בעזרת מיקרופיטה, לאחר מכן היחורים נטבלו באבקת IBA מסחרית 0.5% והושרשו במצע של כבול ופוליסטירן ביחס 2:1. היחורים נלקחו באפריל וביוני. יחורי הגפן הוכנו כבעלי עין אחת ויחורי זית מצמיחה חדשה עם 4 עלים. היחורים הוחזקו בטמפרטורה 20–25 מ"צ.

מיצוי IBA ו-IAA מהיחורים: אחרי זמנים שונים היחורים הוצאו מהמצע ונשטפו במים זורמים. בחלק מהניסויים הם חולקו למקטעים (בסיס, תחתון, אמצעי ועליון) ובאחרים חולקו לחלק עליון ותחתון בלבד. העלים רוסקו בנפרד. הריסוק נעשה במכשיר טורקס ב-70% אצטון. IAA ו-IBA מוצו ע"י אתיל אצטט והחומרים הרדיואקטיביים שבמיצוי זהו בעזרת כרומטוגרפיה ברובד דק. כמות הרדיואקטיביות נקבעה בעזרת מונה נצנץ. זיהוי IAA ו-IBA נעשה בעזרת כרומטוגרפיה גזית, לפי אפשטיין וכהן (2).

צמחים מכילים חומרים כימיים המוגדרים כחומרים מווסתי צמיחה. חומרים אלה מיוצרים בכמויות קטנות במקום אחד בצמח ועשויים לווסת פעילות במקום אחר, הם שולטים על תהליכי היסוד בצמח כמו צמיחה, התארכות, השתרשות וכו' וידועים גם בשם הורמונים צמחיים. בשנות השלושים נמצא הורמון (9) אשר בין השאר גורם להשרשה, הוא זוהה כחומצה אינדול אצטית (IAA). בעקבות מימצא זה נוסתה פעילות של תרכובות סינטטיות דומות, שאינן מיוצרות בצמח, על השרשה. נמצאו מספר תרכובות יעילות בעידוד השרשה, כאשר מספקים אותן בבסיס היחור. אחת מהתרכובות הסינטטיות השכיחות ביותר בשימוש חקלאי להשרשה היא חומצה אינדול בוטירית (IBA). משתמשים בחומר זה בשתלנות כאבקה או כתמיסה מימית.

דרך הפעולה של IBA לא נחקרה הרבה. משערים שפעילותו ההורמונלית היא תוצאה של הפיכתו להורמון הטבעי IAA ע"י היחור. בשנת 1960 הוכיחו פוסט וחבריו (3), ע"י שימוש בכרומטוגרפיה, שחולות של שעורה וגבעולי אפונה יצרו IAA מ-IBA.

במעבדה שלנו יצרנו IBA רדיואקטיבי (^{14}C -IBA) לפי השיטה של כהן ושולץ (1), בעזרתו אנו יכולים לעקוב בנקל אחרי תנועת

1. מפרסומי מינהל המחקר החקלאי, סידרה ה', 1982, מס' 1249.
המחלקה לזית וגפן, המכון למטעים, מרכז וולקני, בית דגן.

תוצאות
לאחר

26 ימים מהטיפול רוב

טבלה 1: כמות רדיואקטיביות בקטעי יחורים של זית מהונים ממונלו (קל השרשה) וקלמטה (קשה השרשה) אחרי טיפול ב- ^{14}C -IAA בבסיס היחור. מיצוי וספירה 26 ימים אחרי הטיפול. המספרים מבטאים אחוז מכלל הספירות והם ממוצעים של 5 חזרות \pm סטית תקן.

מקטעים	ממונלו	קלמטה
בסיס	4.4	50.6
I	6.3	35.5
II	3.2	7.3
III	1.9	3.3
עלים	1.1	3.3
	10.1	42.1
	8.3	36.7
	7.1	13.4
	3.5	5.2
	1.3	2.6

הרדיואקטיביות (כ-80%) לא נעה מהמקום בו הושמה ונשארה בבסיס היחור. גם השאר נע במידה מועטת בלבד ונמצא בפרק הראשון (טבלה 1).

ביחורים של הזן קשה ההשרשה (קלמטה) נמצאה תנועה קצת יותר רבה. בעלים נמצאה רק כמות מעטה מאד של רדיואקטיביות. בזית נבדק גם קצב התנועה והפירוק של IBA עם הזמן, נמצא שגם אחרי יותר מחודשיים רק 20% מהרדיואקטיביות נעה מאיזור הטיפול בבסיס (טבלה 2).

טבלה 2: מידת הרדיואקטיביות ביחורי זית מהונים קורוניקי (קל השרשה) וקלמטה (קשה השרשה). 6 יחורים נלקחו למיצוי וכרומוטוגרפיה בזמנים שונים אחרי אפליקציה של ^{14}C -IBA בבסיס היחורים. הנתונים מבטאים אחוז מכלל הספירות.

מקטעים	קורוניקי						
	קלמטה						
	ימים לאחר טיפול						
	27	18	8	78	27	18	8
חצי תחתון	93.0	95.0	87.8	70.2	92.0	92.0	93.0
חצי עליון	3.0	3.0	3.5	22.6	5.0	5.7	3.0
עלים	4.0	2.0	8.7	2.4	3.0	2.3	4.0
שורשים	—	—	—	4.8	—	—	—

לאחר הטיפול ב- ^{14}C -IBA קרוב ל-30% ממנו הפכו להורמון הטבעי IAA. בהשוואה בין קורוניקי וקלמטה התברר שהתהליך היה מהיר יותר בקלמטה.

על מנת לקבוע את קצב הפיכת IBA ל-IAA נעשתה בדיקה השוואתית של שני חומרים אלה במיצוי היחורים בעזרת כרומוטוגרפיה גזית (ציור 1). בשיטה בה

בארבעה ניסויים נפרדים שנעשו ביחורי גפן הוכחנו שחלק גדול מ- ^{14}C -IBA הפך ל- ^{14}C -IAA (טבלה 3). ההבדלים באחוז ה-IAA שנוצר בניסויים השונים נבע כנראה מאופי היחורים שנלקחו בעונות שונות, מתנאי גידול שונים ועוד.

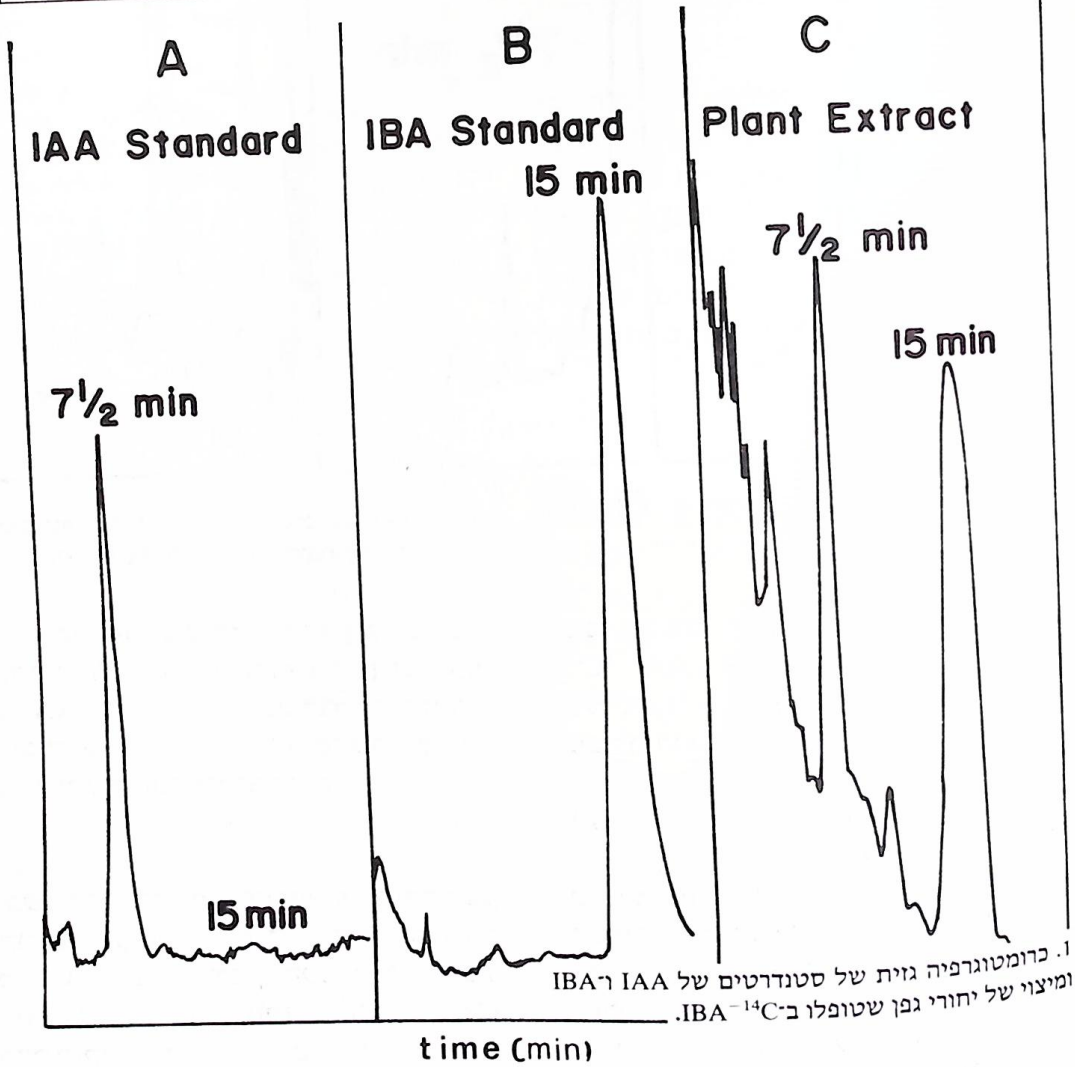
בזית נבחן קצב ההפיכה של IBA ל-IAA עם הזמן (טבלה 4). מצאנו שכבר 6 ימים

טבלה 3: פיזור הרדיואקטיביות של מיצויי יחורי גפן אחרי כרומוטוגרפיה ברובד דק. המדיק: כלורופורם: חומצה אצטית 95:5. היחורים הושרשו משך 26 ימים עם ^{14}C -IBA. התוצאות מבטאות בספירות לדקה (cpm).

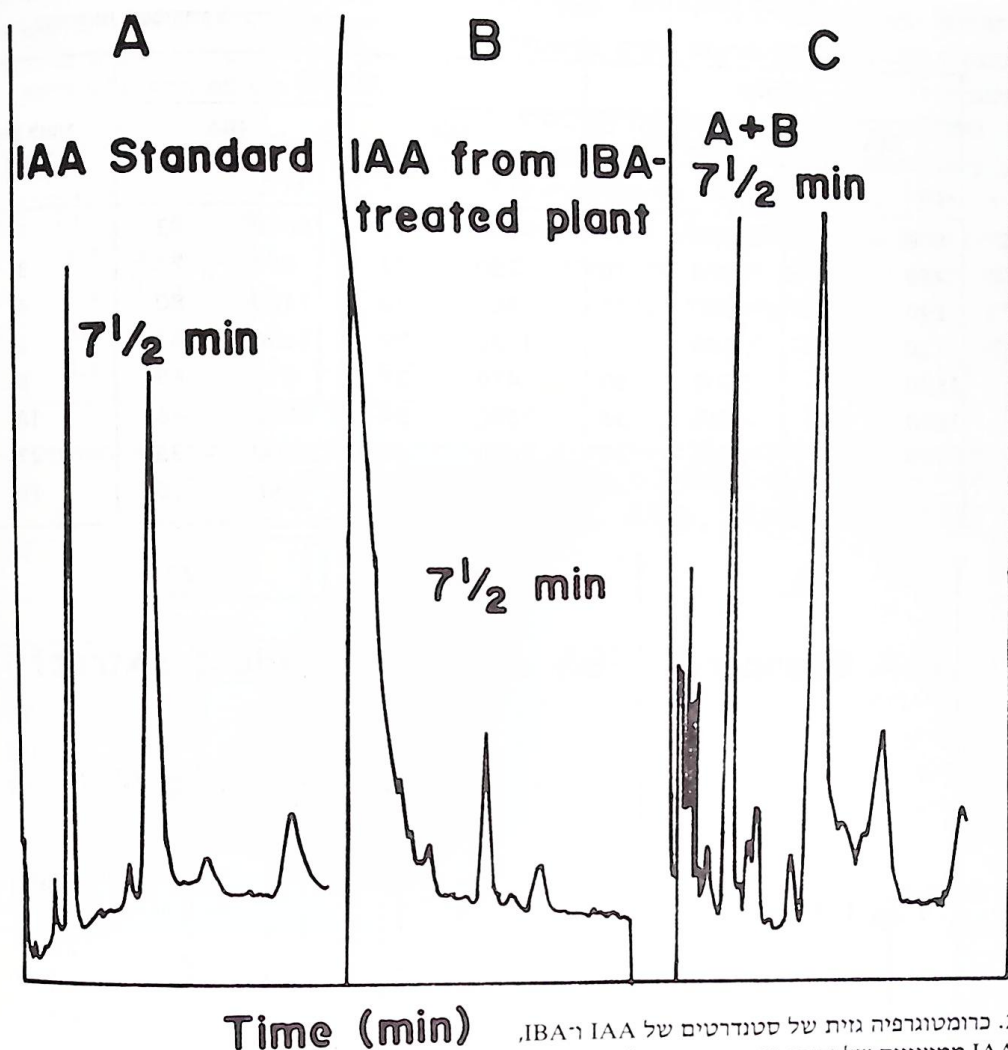
Rf	ניסוי 1		ניסוי 2		ניסוי 3		ניסוי 4	
	cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%
0.26	16.7	20.6	102	13.2	36	20.0	87	13.4
(IAA)0.32	370	45.7	390	50.4	113	61.7	535	82.3
0.39	24	3.0	37	4.8	9	4.9	14	2.2
(IAA)0.45	233	28.8	221	28.6	25	13.7	14	2.2
0.55	15	1.9	24	3.1	—	—	—	—

טבלה 4: כמות רדיואקטיבית ב-IAA ו-IBA במיצויים של יחורי זית אחרי כרומטוגרפיה ברובד דק. המריץ: כלורופורם: חומצה אצטית 95:5 בזמנים שונים לאחר אפליקציה של ^{14}C -IBA בבסיס היחורים. התוצאות מבוטאות בספירות לדקה (cpm)

קלמטה				קורוניקי				ימים לאחר טיפול
IAA		IBA		IAA		IBA		
cpm	%	cpm	%	cpm	%	cpm	%	
800	3	2600	92	600	17	3000	83	1
450	30	1000	70	250	23	850	77	3
240	23	800	77	300	20	1300	80	4
120	23	400	77	1050	39	1650	61	6
2500	50	2500	50	470	37	810	63	8
1670	67	840	33	2000	54	1700	46	18
380	76	120	24	2200	65	1200	35	27
—	—	—	—	1700	90	200	10	78



1. כרומטוגרפיה גזית של סטנדרטים של IAA ו-IBA ומיצוי של יחורי גפן שטופלו ב- ^{14}C -IBA.



2. כרומטוגרפיה גזית של סטנדרטים של IAA ו-IBA, IAA ממיצויים של יחורי גפן ותערובת של שניהם.

בגפן עד 80% מ- ^{14}C -IBA הפכו אחרי חודש ל- ^{14}C -IAA, ניתן לכן להניח שקצב הפיכתו של IBA ל-IAA ביחורים השונים קשור ביכולת היחור להשתרש.

חוקרים רבים הוכיחו את חשיבות רמת IAA ביחורים לתהליך ההשתרשות (4, 5, 7, 10). נקונו וחבריו (6) מצאו שריכוז IAA בבסיס היחורים ירד תוך כדי ההשתרשות. ביחורים שהשתרשו היטב היתה רמה נמוכה יותר של IAA מאשר ביחורים שלא השתרשו. יתכן שרמת IAA ירדה בגלל שהיחורים השתמשו ב-IAA לתהליך ההשתרשות. חסרונן של IAA בכך שהוא מתפרק מהר ע"י אנזימים בצמח, בקטריות, אור, חום וכו'.

השתמשנו היתה הפרדה טובה בין שני מווסתי הצמיחה. IAA מהיחורים נפרד משך זמן שווה כמו IAA סינטטי (ציור 2). דבר זה ניתן היה להוכיח ע"י תוספת IAA סינטטי למיצוי הצמח וקבלת זמן הפרדה דומה.

דיון

בעבודה זו הראינו שיחורים מעוצים של גפן ויחורים ירוקים של זית הופכים את ההורמון הסינטטי IBA להורמון הטבעי IAA. בזית היתה לאחר 8 ימים קרוב ל-40% מהרדיואקטיביות שהושמה ע"ג היחור ב-IBA נמצאה ב-IAA ואחרי חודש קרוב ל-70% של ^{14}C -IBA הפכו ל- ^{14}C -IAA. גם

אצטית (IAA). עמידותו של IBA לפירוק ע"י אור, חום, בקטריות ועוד וכושר תנועתו הנמוך בצמח גורמים לכך שהוא נשאר זמן רב בבסיס (מקום האפליקציה) ומשחרר IBA ליחור לצורך יצירת שורשים.

ספרות

1. Cohen J.D. and A. Schulze (1981). *Anal. Biochem* 112:249-257.
2. Epstein E. and J.D. Cohen (1981). *J. Chromat.* 209: 413-420.
3. Fawcett, C.H., R.L. Wain and F. Wightman (1960). *Proc. Royal Soc. London Ser. B.* 152: 231-254.
4. Hemberg, T. (1954). *Physiol. Plant.* 7: 323-331.
5. Hess, C.E. (1959). *Proc. Plant Prop. Soc.* 4: 39-45.
6. Nakono, M., E. Yuda and S. Nakagawa (1980). *Japan Soc. Hort. Sci.* 48: 385-394.
7. Odom, R.E., and W.J. Carpenter (1965). *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 87: 491-501.
8. Strydom, D.K. and H.T. Hartman (1960). *Plant Physiol.* 35: 435-442.
9. Thimann, K.V. and J.B. Koepfle (1935). *Nature* 135: 101-102.
10. Tyce, G.M. (1957). *Ann. Bot.* 21: 499-512.

IBA לעומת זאת עמיד יותר ועובדה זו, יחד עם יכולתו להפוך ל-IAA בצמח, עושים אותו למקור טוב ל-IAA. הוא נשאר זמן רב בבסיס היחור ומאפשר שחרור קבוע של IAA ועי"כ מקור להספקה ארוכת טווח של ההורמון. עם זאת לא ברור עדיין מדוע ביחורים קשי השרשה של קלמטה קצב ההפיכה מהיר יותר. יתכן וניתן לבאר תופעה זו בכך שמלאי ה-IBA מתדלדל מזן זה מהר יותר מאשר מזן הקורוניקי קל ההשרשה.

רוב ה-IBA שהושם בבסיס נשאר שם ולא נע כלפי מעלה. תוצאות דומות נמצאו ע"י סטרידון והרטמן (8). רצוי לכן למצוא דרך להחדיר IBA ליחור בדרך שתגרום לפיזור רב יותר, עי"כ אפשר יהיה להגביר את כמות השורשים שיווצרו ביחור.

תקציר

בעבודה זו נחקרו הפירוק וההובלה של הורמון ההשרשה הסינטטי אינדול חומצה בוטירית (IBA). העבודה נעשתה ע"י שימוש ב-IBA רדיואקטיבי ($IBA^{-14}C$) שאנחנו מייצרים במעבדה שלנו. מצאנו שיחורים מעוצים של גפן ויחורים ירוקים של זית מפרקים IBA להורמון הטבעי חומצה אינדול

THE CONVERSION OF INDOLEBUTYRIC ACID TO INDOLEACETIC ACID BY CUTTINGS OF GRAPEVINE AND OLIVE

EPHRAIM EPSTEIN, SHIMON LAVEE*

The metabolism and transport of indolebutyric acid (IBA) by hard cuttings of grapevine and green cuttings of olive was investigated by the use of radioactive

IBA ($IBA^{-14}C$). Both olive and grapevine cuttings converted $IBA^{-14}C$ to the natural hormone indoleacetic acid ($IAA^{-14}C$). Only very little IBA moved from the site of application. The greater stability of IBA, its slow transport and its conversion to IAA makes it a good source for IAA in the plant.

* Div. of Oleiculture and Viticulture, Agricultural Research Organization, The Volcani Center, Bet Dagan, Israel.