

# שיטה ביולוגית לבדיקת טיב חיטוי זרעי אגא"ד בבוסן

רונית כהן, עליזה חלפון-מאירי, היחידה לזרעים  
יהודית ריבן, א. גרינשטיין, המחלקה ליישום חמרי הדברה  
ג. קריצמן, המחלקה למחלות צמחים  
מינהל המחקר החקלאי\*

הותאמה שיטה ביולוגית קיימת, לבדיקת טיב ביצוע החיטוי של זרעי אגא"ד בפונגיציד החדש בוסן, בשיטת הריסוס בנפח מוקטן. השיטה מבוססת על עיכוב פטריית הבוחן אספרגילוס ניגר על-ידי בוסן שעל-פני הזרעים. אגר תפוחי-אדמה 1%, המועשר בסוכרוז ומאולח בתרחיף נבגי פטריית הבוחן, נמזג לצלחות פטרי שבהן נזרעו 100 זרעים למדגם הנבדק, 10 זרעים לצלחת. אזורי העיכוב ("ההילות") של הפטרייה סביב הזרעים מופיעים לאחר דגירה של הצלחות במשך 20 - 24 שעות בטמפרטורה של 30 מ"צ. הילה צלולה שרחבה כמחצית רוחב הזרע משני צדדיו נחשבת הילה תקינה. שיטת הבדיקה לטיב ביצוע החיטוי בבוסן רגישה דיה לגלות את אי-תקינותו של חיטוי הזרעים בבוסן, מבחינת מינונו ומבחינת יישומו על כל שטח פני הזרע. אפשר להשתמש בה במסגרת התקנות לאישור זרעי אגא"ד מושבחים בישראל.

## מבוא

יעילותו של חיטוי זרעים בחמרי הדברה מותנית בשימוש בחומר חיטוי מתאים ובטיב ביצוע החיטוי.

החיטוי המקובל כיום בזרעי אגא"ד נעשה באיבוק בתערובת קפטן ו-PCNB (1). חיטוי זה מספק הגנה טובה מפני מחוללי מחלות הנבטים - אספרגילוס וריזופוס. לשיטת היישום באבקה יש חסרונות, כגון חלוקה בלתי אחידה על הזרעים, הפרדה ושקיעה במהלך האחסנה. כמו כן, עצם השימוש בשיטת האיבוק גורם מפגעים סביבתיים: אבק רעיל במקום החיטוי וסביבו, ובעיקר - אבק רעיל הנישא בשעת מילוי המזרעות. בסדרת ניסויים מעבדתיים נמצא כי התכשיר בוסן 30 ת"ר ("אגן כימיקלים", ישראל) מתאים ליישום בנפח מוקטן ולחיטוי הזרעים ממחוללי המחלות אספרגילוס וריזופוס.

במפעלי חבל מעון נבנה תא לחיטוי זרעי אגא"ד בנפח מוקטן, המופעל בהיקף מסחרי (2). המיתקן מופעל בידי אדם, והיישום הוא בנפח זעיר שאינו מאפשר לראות את התרסיס. למרות שילוב של מערכות אבטחה - עלולות לקרות תקלות: הפסקת הריסוס, הסתתמות פומייה או מינון לא נכון. יתכן גם שהיפוך הזרעים סביב צירם נפגע בגלל צפיפות יתר, או שזרע מסתיר זרע אחר - ועליו מרוסס החומר רק חלקית. לפי התקנות לאישור זרעים מושבחים של אגא"ד בישראל, חייבים הזרעים להיות מכוסים במלואם בחומר החיטוי. על כן חשוב ביותר לאתר את התקלות הללו, ולמנען.

קיימות מספר שיטות לבדיקת טיב ביצוע החיטוי בזרעים. המקובלת שביניהן היא השיטה הביולוגית. שיטה זו מבוססת על עיכוב בגדילת פטריית בוחן - על-ידי חומר החיטוי שעל-פני הזרע. פותחו מספר שיטות ביולוגיות לבדיקת טיב ביצוע החיטוי בזרעים

מחוטאים בכספן ובקפטן (3, 4, 5). בדיקה זו, שפותחה במחלקה לזרעים במרכז וולקני, שימשה עד כה לבדיקת טיב חיטוי אגא"ד בקפטן + PCNB (3).  
בעבודה זו נעשו ניסויים להתאמת השיטה הנ"ל לבדיקת ביצוע החיטוי בפונגיציד ובשיטת ישום חדשים.

## **שיטות וחמרים הכנת המצע**

תסנין תפוחי-אדמה בנפח של 2 ליטרים חולק ל-12 בקבוקי ארלנמיייר (250 סמ"ק), 170 סמ"ק לכל בקבוק, בתוספת 1.7 גרמים אגר ו-1.7 גרמים סוכרוז. לאחר עיקור הבקבוקים הם נשמרו באמבט בטמפרטורה של 45 מ"צ.

## **הכנת פטריית הבוחן**

הפטרייה *Aspergillus niger* גודלה במשך 4 ימים על שיפועי אגר תפוחי-אדמה, בנפח 5 סמ"ק למבחנה, בטמפרטורה של 30 מ"צ. שני שיפועים עם הפטרייה רוסקו ב-75 מ"ל מים סטריליים. לכל בקבוק אגר הוספו, תוך כדי ערבוב, 25 סמ"ק תרחיף נבגים של פטריית הבוחן, והמצע המאולח חולק מיד ל-3 צלחות פטרי (קוטר 14 ס"מ ועומק 2.5 ס"מ). בכל צלחת נזרעו לפני קרישת האגר 10 זרעים ברווחים שווים ביניהם. בכל טיפול נבדקו 100 זרעים.

הצלחות הועברו לאינקובציה בטמפרטורה 30 מ"צ, ולאחר 20 - 24 שעות נמדדו הילות העיכוב של פטריית האספרגילוס סביב הזרעים.

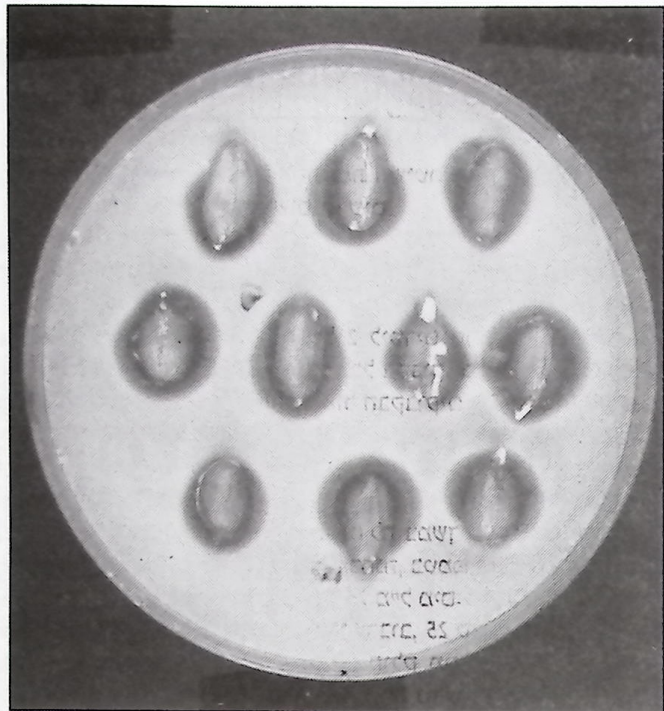
כדי לבדוק את אמינות המבחן-החי (bio-assay) בגילוי התקלות - הוכנו זרעים שטופלו במינן שונה, וכן זרעים שקיבלו במכוון כיסוי חלקי בלבד בפונגיציד.

לצורך זה רוססו זרעים אגא"ד, בתא חשיפה מעבדתי, בסדרת מיהולים כפולים של בוסן, מריכוז 15% ח"פ שהוא גדול ב-50% מהמומלץ, 10% ח"פ, ועד לריכוז קטן ממנו פי 20 (טבלה 1). תנאי הריסוס וצפיפות הפיזור (כ-120 טיפות לסמ"ר פני זרע) היו שווים בכל המקרים, ותאמו את המתבצע בעת היישום המסחרי. כמו כן בוצע חיקוי לפגמים בריסוס: רוססו חצאי פני השטח של זרעים, בחלוקה לרוחב או בחלוקה לאורך. הדבר נעשה על-ידי כיסוי מחצית שטחו של הזרע לפני ריסוס בתרסיס בריכוז המומלץ.

## **תוצאות ודין**

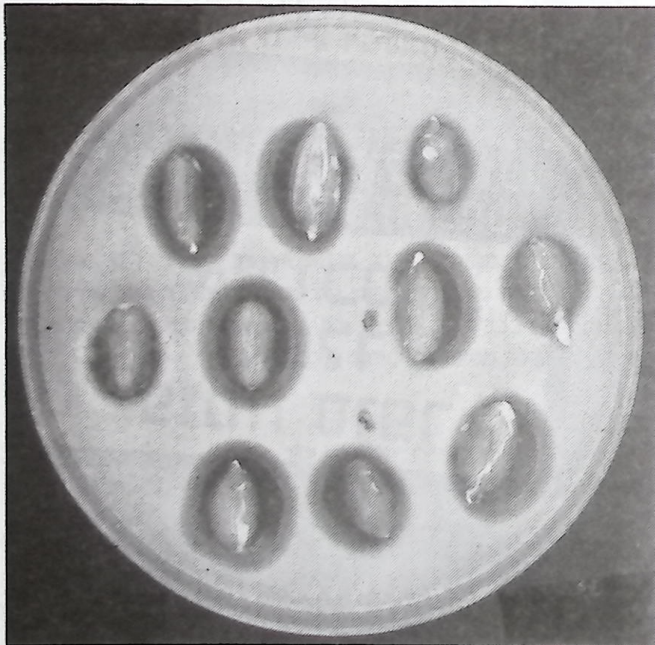
חומר החיטוי בוסן עבר דיפוסיה לאגר, וכתוצאה מזה נוצר איזור שבו אין נבגי פטריית הבוחן נובטים, ונראה איזור נקי ("הילה") סביב הזרע. גדלה, נקיונה וצורתה של ה"הילה" משמשים קנה-מידה לטיב ביצוע החיטוי. מקובל כי הילה צלולה שרחבה כמחצית רוחב הזרע משני צדי הזרע - נחשבת הילה תקינה (3). השפעת הטיפולים





תמונה 2. מחצית הזרע מחוטאת לרוחב.

המחוטא של הזרע, ואילו בקצה הבלתי מחוטא מתפתחת הפטרייה ליד דופן הזרע (תמונה 2).  
כאשר מחצית הזרע מחוטאת לארכו, מתקבלת תגובה שונה לפי הנחתו של הזרע על האגר: כשהנחנו את האיזור הבלתי מחוטא של הזרע על האגר - לא התקבלה הילה כלל; כשהנחנו את האיזור שבחלקו מחוטא - התקבלה הילה רק בצד אחד; ואילו כאשר הזרע



תמונה 3. מחצית הזרע מחוטאת לאורך.

(המשך בעמוד 135)

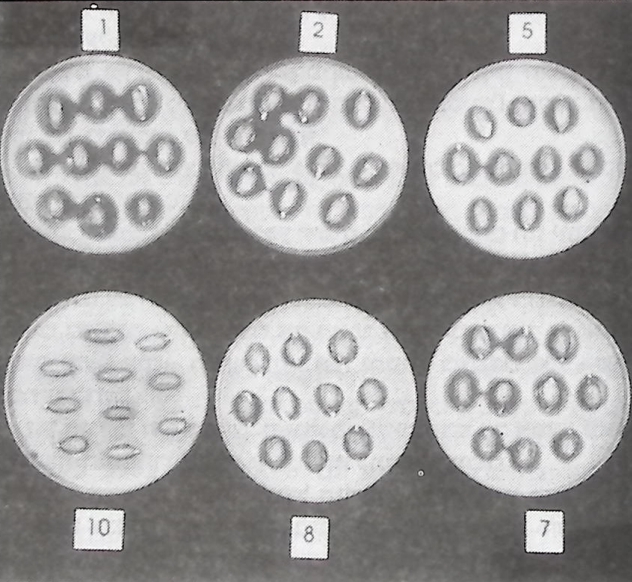
על רוחב ההילות וארכן ועל שיעור ההילות התקינות - מובאות בטבלה 1.

טבלה 1. השפעת הטיפול על רוחב ואורך של הילות ועל שיעור הילות תקינות.				
טיפול	חומר פעיל, %	רוחב הילה ממוצע, מ"מ	אורך הילה ממוצע, מ"מ	שיעור הילות תקינות, %
1	15	9.01 (6 - 13)	6.12 (2 - 10)	100
2	10	8.24 (4 - 12)	5 (2 - 8)	100
5	6	6.31 (4 - 11)	3.5 (1 - 8)	80
6	4	5.55 (2 - 10)	2.52 (0 - 6)	66.6
7	2	4.85 (2 - 8)	1.91 (0 - 6)	30.8
8	1	2.54 (0 - 5)	0.2 (0 - 3)	8.9
9	0.5	2.13 (0 - 6)	0	1
10	0	0	0	0

<sup>1</sup> הילה תקינה - רחבה ממחצית רוחב הזרע באיזור הנבדק משני צדדיו.

בטבלה אפשר לראות, שבחיטוי הזרעים שנעשה בבוסן בריכוז 15% ח"פ ובריכוז 10% ח"פ, נוצרות הילות תקינות סביב כל הזרעים הנבדקים (בבדיקה לאחר 20 שעות אינקובציה). איתקינות של הילות בחלק מהזרעים מתחילה להיראות בחיטוי בבוסן בריכוז 6% ח"פ.

הרוחב והאורך של ההילה קטנים ככל שקטן ריכוז הבוסן.



תמונה 1. השפעת מנות שונות של בוסן על גודל ההילות. אחוזי חומר פעיל: 1 - 15%, 2 - 10%, 3 - 6%, 7 - 2%, 8 - 1%, 10 - היקש.

בחיטוי של 1% ח"פ - רק בזרעים בודדים מופיעות הילות תקינות. התוצאות מלמדות כי שיטת הבדיקה רגישה דיה להראות איתקינות של חיטוי הזרעים מבחינת מינון חומר ההדברה.  
בחלקה השני של העבודה נבדק כשרה של השיטה לאתר בעיות חיטוי חלקי של הזרעים כתוצאה מאי היפוך על המסוע, או כתוצאה מכיסוים בזרעים אחרים בעת תהליך החיטוי.  
בניסוי נמצא כי ניתן לזהות, לפי צורת ההילה, את העובדה שמחצית הזרע לא קיבלה חיטוי. במקרה כזה מתקבלת הילה בקצה

הונח במחצית שחוטאה - התקבלה הילה תקינה (תמונה 3).  
 התוצאות מראות, שברוב המקרים ניתן לגלות ישום בלתי תקין של  
 הפונגיציד על פני הזרע. במקרים מסוימים, כאשר מחצית הזרע  
 מחוטאת רק לאורכו - לא ניתן לגלות אי תקינות של ביצוע החיטוי.  
 סביר להניח, שבדיקת 100 זרעים ( $10 \times 10$ ) במדגם נותנת סיכוי  
 טוב לגלות תקלה זו.

לסיכום: נראה לנו כי שיטת הבדיקה המוצעת מתאימה לבדיקת  
 תקינות חיטוי זרעי אגוא"ד בפונגיציד בוסן, ובדרך-כלל אפשר לגלות  
 בעזרתה זרעים שלא כל שטחם כוסה בחומר חיטוי, וכן זרעים  
 שאינם מטופלים בריכוז המתאים.

## הבעת תודה

המחברים מודים לענבר גרינשטין על ביצוע חלק מעבודות  
 הריסוס, ללידה גינזבורג ולאלון קירשנבאום ממחנה נוער שוחר מדע  
 על עזרתם בבדיקות, ולצבי בר על שיתוף-הפעולה. תודה על  
 שיתוף-הפעולה מגיעה גם לעודד כוכבי ז"ל.

## ספרות

1. גרינשטין אבי (1992), "השדה" ע"ב: 682.
2. Z.R. Frank (1965). The Israel Journal of Agricultural Research, Vol. 19, No. 3.
3. Halfon-Meiri Aliza and Dishon Irena (1964). Plant Disease Reporter Vol. 48 No. 11:853.
4. Machacek, J.A. (1950). Can. J. Research Sec. C 28 (6): 739 - 744.
5. Molinas, S. (1961). Cereal Sci. Today 6 (3): 84- 86.