

סריקת ספרית מיצויים ממחוי מדבר הערבה כנגד מחלות פטריות במחוי: זיהוי חומר המצב התפתחות ריזוקטוניא ופיתיוס

¹רחל לויטה, ²עדנה נוה, ²רבקה אופיר

¹תחנת יאיר, מו"פ ערבה, ²מרכז מחקר חצבה

תקציר

במרכז למחקר ופיתוח בערבה מתבצע מ 1998 מחקר העוסק בזיהוי הפונציאל של צמחים הגדלים בערבה לשמש כבסיס לתכשירים מונעי התפתחות מחלות בבני אדם ובחקלאות. חומרי טבע הינם מקור מצוין לגילוי תרכובות שיהוו בסיס (LEAD) לפיתוח תרופות, פונגיצידיים והרביצידיים.

במרכז מחקר חצבה יצרנו ספריה של מיצויים מ 250 צמחים מדבריים בממסים שונים-ספרית ערבה; לספריה כזו יש פוטנציאל להכיל חומרים בעלי מבנים כימיים אורגנליים שלא ניתן להמציא וליצר באופן סינטטי מאחר וצמחים במדבר שורדים תנאי עקה קיצוניים של חום, מליחות, יובש ועוד. הספריה הינה אוסף של חומרים המשמשים לתהליכי סריקה כנגד מודלים שונים של מחלות בבני אדם כמו: סרטן, אלצהיימר, דכאון ועוד, כנגד מחלות בצמחים וכנגד נביטת עשבים. העבודה המתוארת בדו"ח זה קשורה בסריקת 'ספרית ערבה' כנגד מחלות הנגרמות על ידי הפטריות:

Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Colletotrichum gloeosporioides

מטרות הניסוי

בידוד ואיפיון חומרים חדשים שיהוו בסיס לפיתוח פונגיצידיים. הסריקה נעשית כנגד פטריות המהוות מטרה ביולוגית. לגבי החומר הפעיל המטרה היא לאפיין את מנגנון הפעולה הביוכימי של החומר החדש.

מהלך הניסוי

בשלב הראשון נבחנו החומרים כנגד 3 הפטריות הנבדקות בצלחות פטרי במעבדה כאשר המיצוי הנבחן עורבב במצע הגידול או יושם על גבי דיסקיות נייר. בשלב השני בוצעו ניסויים בעציצים בצמחי מלפפון, שעועית, או פלפל שאולחו בפטריות והחומר הנבדק יושם בריכוזים שונים במי ההשקיה.

תוצאות ומסקנות

בסריקה של ספרית מיצויי צמחים מצאנו מיצוי שנוכחותו מעכבת התפתחות פטריות גורמות מחלה בצמחים ופרחים. במטרה לזהות את החומר הפעיל המיצוי מופרד למרכיביו. התכנון להמשך המחקר: 1. זיהוי של החומר הפעיל. 2. המשך ניסויים בעציצים עם מיצוי צמחי המכיל את החומר הפעיל. 3. איפיון מנגנון הפעולה של החומר הפעיל.

מאחר וקיים קושי להדביר פטריות אלו ומאחר והחומר הפעיל שנמצא בידינו מקורו בצמח הגדל בערבה, מיצוי זה יכול להיות בסיס לפיתוח תכשיר ידידותי לסביבה לשימוש בחקלאות.

מבוא

במרכז למחקר ופיתוח בערבה מתבצע מ 1998 מחקר העוסק בזיהוי הפונציאל של צמחים הגדלים בערבה לשמש כבסיס לתכשירים מונעי התפתחות מחלות בבני אדם ובחקלאות. חומרי טבע הינם מקור מצויין לגילוי תרכובות שיהוו בסיס (LEAD) לפיתוח תרופות, פונגיצידיים והרביצידיים. 39% מתוך 520 תרופות שהוכנסו לשימוש בין השנים 1983-1994 מקורם בחומרי טבע. במרכז מחקר חצבה יצרנו ספריה של מיצויים מ 250 צמחים מדבריים בממסים שונים-ספרית ערבה; לספריה כזו יש פוטנציאל להכיל חומרים בעלי מבנים כימיים אורגניליים שלא ניתן להמציא וליצר באופן סינטטי מאחר וצמחים במדבר שורדים תנאי עקה קיצוניים של חום, מליחות, יובש ועוד. הספריה הינה אוסף של חומרים המשמשים לתהליכי סריקה כנגד מודלים שונים של מחלות בבני אדם כמו: סרטן, אלצהיימר, דכאון ועוד, כנגד מחלות בצמחים וכנגד נביטת עשבים. העבודה המתוארת בדו"ח זה קשורה בסריקת 'ספרית ערבה' כנגד מחלות פטריה: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*

מטרות הניסוי

בידוד ואיפיון חומרים חדשים שיהוו בסיס לפיתוח פונגיצידיים. הסריקה נעשית כנגד פטריות המהוות מטרה ביולוגית ולגבי חומר פעיל המטרה היא לאפיין את מנגנון הפעולה הביוכימי של החומר החדש.

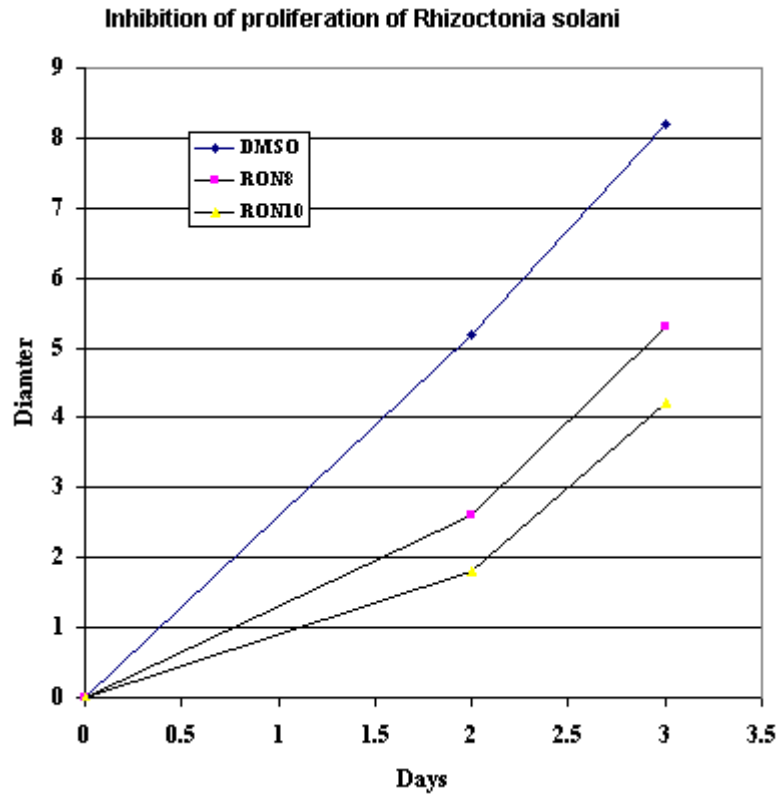
מהלך הניסוי ותוצאות

I. סריקת המיצויים נעשית בשלושה שלבים:

שלב א- שיטת הדיסקית: את הפטריה זורעים על צלחת פטרי עם אגר. מטבילים דיסקיות ניר במיצויים ומניחים אותן על הצלחת במרווחים. סביב דיסקית עם חומר פעיל מתקבלת טבעת שקופה עקב אי גדילת הפטריה.

שלב ב- גידול הפטריה על אגר המכיל את המיצוי: מפזרים 0.2 סמ"ק של מיצוי שהראה פעילות כנגד הפטריה בשלב הראשון על צלחת עם אגר ומניחים עליו פיסת פטריה. מודדים את קוטר הגדילה של הפטריה עם הזמן. כפי שניתן לראות בדוגמא באיור מס. 1, בנוכחות הממס (DMSO) הפטריה גדלה באופן לינארי אך גדילתה מעוכבת בנוכחות מיצוי צמחי 8 RON ו-10 RON. מיצוי המכונה ROMOP נבחר להמשך המחקר.

שלב ג- נסוי בעיצים (דמוי ניסוי שדה). צמחי שעועית, מלפפון או פלפל מאולחים בפטריה הנבדקת מושקים במים מכילים מיצוי צמחי פעיל. ממצאי הניסויים מצביעים על כך שהחומר מעכב התפתחות פטריה בריכוז של 100-250 מיקרוגרם למיליליטר.



איור 1: עכוב גדילת פטרית הריזוקטוניה בנוכחות מיצוי צמחי

II. זיהוי החומר הפעיל:

כשמפתחים תכשיר חדש לשימוש בחקלאות יש לזהות את החומר הפעיל מתוך מגוון החומרים שבצמח. תהליך זה כרוך בהפרדת המיצוי למרכיביו ומורכב ממספר שלבים. תהליך זה נעשה עם הכימאי פרופ' יואל קשמן מהמעבדה לכימיה באוניברסיטת ת"א. להלן הפרקציות של ROMOP הנבדקות:

					100Mg/MI
	Fraction	Sample no.	Source	Weight	DMSO
Polarity	1	N-RONMOP-391/PE	dried ethanolic ext.	2.6	26
Polarity	2	N-RONMOP-391/CHCl3	dried ethanolic ext.	2.3	23
Polarity	3	N-RONMOP-391/H2O	dried ethanolic ext.	3.1	31
Size	4	N-RONMOP-392/2-6	dried ethanolic ext.	1	10
Size	5	N-RONMOP-392/7	dried ethanolic ext.	0.8	8
Size	6	N-RONMOP-392/8	dried ethanolic ext.	1	10
Size	7	N-RONMOP-392/9	dried ethanolic ext.	4.5	45

בדיקת פעילות בפרקציות נעשית כדלקמן:

פטריה מודגרת במדיום גידול עם פרקציה של ROMOP ברכוז 100ug/ml למשך 16 שעות. לאחר מכן, שמים את הפטריה המטופלת על צלחת פטרי לגדילה ב- 250C למשך 24-48 שעות. כפי שניתן לראות בחלק A של איור 2 בנוכחות פרקציה 7 יש עיכוב מלא של גדילת הפטריה בעוד שבנוכחות הממס (חלק B) אין עיכוב בגדילת הפטריה.



A

B

איור 2: עיכוב גדילת הפטריה בנוכחות פרקציה ספציפית של ROMOP

סיכום ותוכניות לעתיד

בסריקה של ספרית מיצויי צמחים מצאנו מיצוי שנוכחותו מעכבת התפתחות פטריות מחלה בצמחים ופרחים. במטרה לזהות את החומר הפעיל המיצוי מופרד למרכיביו. התכנון להמשך המחקר: 1. זיהוי של החומר הפעיל. 2. ניסויי שדה עם המיצוי הפעיל. 3. איפיון מנגנון הפעולה של החומר הפעיל. מאחר וקיים קושי להדביר פטריות אלו ומאחר והחומר הפעיל שנמצא בידינו מקורו בצמח הגדל בערבה, מיצוי זה יכול להיות בסיס לפיתוח תכשיר ידידותי לסביבה לשימוש בחקלאות.