

מנגנוני הדברה ביולוגית

יגאל אלעד

המחלקה לפתולוגיה של צמחים ומדע העשבים, מרכז וולקני, מנהל המחקר החקלאי, ראשון לציון

תקציר

הדברה ביולוגית של מחלות צמחים מוגדרת באופן מצומצם כשימוש במיקרואורגניזם אחד או בתערובת מיקרואורגניזמים לשם השפעה על גורם מחלת צמחים או לשם בקרת המחלה. מדביר ביולוגי מיושם על גבי הצמח, בסביבתו הקרובה (בקרקע או במים) או בסביבת גורם המחלה בהעדר צמח. אוכלוסייה טבעית של מדבירים ביולוגיים יכולה לקבל עידוד, להתרבות או להיות משופעלת על ידי טיפולים בסביבה החקלאית (כגון בקרקע), בסביבות הצמח ובסביבות הפתוגנים. מדבירים ביולוגיים רבים נחקרו מאז העשור השלישי של המאה העשרים וקיימים תכשירים מסחריים המבוססים על חיידקים, שמרים ופטריות. מנגנוני ההדברה הביולוגית הטבעית או של מדבירים המיושמים על גבי צמחים ובסביבתם המזכרים בפרק הינם תחרות על חמרי מזון וגומחת (נישה) מחיה, חומרים מעכבים מומסים או נדיפים המופרשים על ידי המיקרואורגניזמים, היפרפרזיטיזם ואנזימים של המדבירים המפרקי דופן של פתוגנים, עיכוב אנזימי פתוגנזה של גורם מחלה על ידי המדביר, דיכוי מדבק של גורם המחלה על חומר צמחי נגוע ובאדמה עם גרמי ריבוי של הפתוגן לפני השתילה ומנגנון נפוץ ביותר - השראת עמידות המשפעלת את מערך הגנים בצמח לשם התמודדות עם הפתוגן. בפועל הדברה ביולוגית מופעלת על ידי שילוב מנגנונים ונראה שהמנגנון רחב ההשפעה ביותר הינו השראת עמידות.

אופן הציטוט: אלעד י' (2021) **מנגנוני הדברה ביולוגית**.
בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד',
הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים.
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51913>



מבוא

במערכת הצמחית מתקיימת אינטראקציה בין צמח על אבריו השונים, גרמי מחלה הנמצאים על פני אברי הצמח או בתוך רקמת הצמח והסובב את אברי הצמח וגורמי המחלה. הסביבה הביטית של המערכת הצמחית שאינה גרמי מחלה כוללת מיקרואורגניזמים שונים ובהם חיידקים, פטריות, אואומיצטים, נגיפים ועוד ואפילו אמבות ויצורים חד תאיים אחרים ופרוקי רגליים שאינם מזיקים. אורגניזמים אלה בונים אוכלוסיות הן על פני השורש והנוף והן בקרקע ובאוויר וחלקם הקטן אפילו מאכלסים רקמות הצמח, צינורות הובלה וסביבה בין תאית. בין מיקרואורגניזמים שונים ובינם לבין המיקרואורגניזמים גורמי מחלות צמחים מתקיימים יחסים המאופיינים בתחרות בין מינים

(competition), טפילות (מין אחד מזיק ומרוויח = טפיל ומין שני מהווה פונדקאי וניזוק, פרזיטיזם) (איור 1), הדדיות (מועילים לשני המינים המשתתפים, Mutualism), אמנסליזם (מין אחד ניזוק והמין השני לא מרוויח, Amensalism) שיתוף, קומנסליזם (מין אחד שמרוויח מהיחסים ומין אחר שאינו מרוויח אך גם אינו מפסיד, Comensalism) וטריפה או שהם אינם מגיבים זה לזה. יחסים אנטגוניסטים בין מיקרואורגניזמים לבין גרמי מחלה בשלבים שונים של מחזור חיי הפתוגן או השפעה על הפתוגן באופן עקיף באמצעות השפעה על הצמח המאחסן (ראו פרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים) הינם הבסיס להדברה ביולוגית של מחלות צמחים.



איור 1. פרזיטיזם של פטרייה מהסוג פניציליום על פטריית כובע *Cantarellus cibarius* (גביעונית נאכלת) במערכת טבעית ביער אורן. הפטרייה *Cantarellus* הינה פטרייה הנמצאת בקשר מיקוריטי עם צמחים עילאיים ואינה פתוגן.

הדברה ביולוגית של מחלות צמחים מוגדרת באופן מצומצם כשימוש במיקרואורגניזם אחד או בתערובת מיקרואורגניזמים לשם השפעה על גורם מחלת צמחים או לשם בקרת המחלה. מדביר ביולוגי מיושם על גבי הצמח, בסביבתו הקרובה (בקרקה או במים) או בסביבת גורם המחלה בהעדר צמח. אוכלוסייה טבעית של מדבירים ביולוגיים יכולה לקבל עידוד, להתרבות או להיות משופעלת על ידי טיפולים בסביבה החקלאית (כגון בקרקע), בסביבות הצמח ובסביבות הפתוגנים.

יש המתייחסים להדברה ביולוגית בהיבט רחב יותר וכוללים בנושא זה גם שימוש בתוצרים של המיקרואורגניזמים כמו חומרי אנטיביוטיקה, חומרים מעכבי גרמי מחלה או משרי שינויים בצמח המאחסן ורעלנים, כל אלה ללא נוכחות מיקרואורגניזם שהינו היצרן המקורי של גורמים אלה, שימוש בחומרי טבע ובמיצוי צמחים. בפרק זה מיוחסת ההדברה הביולוגית למיקרואורגניזמים בלבד. מיקרואורגניזמים אלה יכולים להיות מיושמים ישירות על פני צמחים או בסביבתם (בקרקה ובמים), הן לבדם או בתערובות, או שאוכלוסייתם משתנה בסביבת

הצמח, על פניו, בפילוספרה ובריזוספרה או בתוכו (ראו פרק על אנדופיטים) בעקבות טיפולים עקיפים המעודדים אותו. מאמר קודם בנושא דומה פורסם בספר מחלות צמחים בישראל (אלעד, 1998).

דוגמאות להדברה ביולוגית

קיימות דוגמאות רבות מאד של שימוש במדבירים ביולוגיים או עידוד אוכלוסיותיהם לשם בקרת מחלות. ניתן יהיה להזכיר כאן רק מעט מאד מהן. כבר במחצית המאה שעברה סוכמו מחקרים בנושא הדברה ביולוגית באמצעות חיידקים ופטטריות (Wood and Tveit, 1955). תוארה תופעה של קרקעות מדכאות (סופרסיביות, Suppressive) בהן נמנעת הופעת מחלות למרות הימצאות הפתוגן בהן ומחזורי גידול חוזרים של אותו מין צמח. לדוגמא קרקעות מדכאות כנגד *Gaeumannomyces graminis* בחיטה במדינת וושינגטון בארצות הברית שבהן יוחסה הדברה ביולוגית לחיידקים (Cook and Rovira, 1976). מאוחר יותר נמצאו חיידק מהמין פסאודומונס שמדביר ביולוגית את המחלה בחיטה (Weller and Cook, 1981) ופטטריות אנטגוניסטיות ל *Rhizoctonia solani* בקרקעות מדכאות בקולורדו בעקבות זריעות חוזרות (Henis et al., 1979). חיידק מהמין פסאודומונס נמצא אחראי להדברה ביולוגית בקרקעות מדכאות פוזריום מעמק סלינס בקליפורניה (Sher and Baker, 1980). שינוי אוכלוסיית המיקרואורגניזמים למועילים ומדבירים ביולוגיים מתקבל על ידי חיטוי קרקע סולרי (Katan, 1981) ועל ידי תוספים לקרקע כגון חומרים אורגניים ובכללם חומרי דופן של פטריות (Mitchel, 1963) וחומרים עשירים בחנקן (Henis and Chet, 1968).

בקרת מחלות המועברות בקרקע

הדברת מחלות המועברות בקרקע באמצעות מיקרואורגניזמים המיושמים ישירות הוצעה על ידי חוקרים רבים (Funk Jensen and Lumsden, 1999). Howell and Stipanovic (1979) הביאו להפחתה בנזקי מק שורש (*Rhizoctonia solani*) בבבטי כותנה באמצעות החיידק *Pseudomonas fluorescence*. חיידקי פסאודומונס הדבירו גם פוזריום (Elad and Baker, 1985a) ומחלות נוספות. באוסטרליה נמצא חיידק לא פתוגני בתוך אוכלוסייה של מחולל מחלת העפץ החיידקי (*Agrobacterium radiobacter* var *tumefaciens*) המועבר בקרקע ואשר גורם עפצים בוורדיים (Rosaceae) כגון שקד, ורד ואפרסק. כאשר מוגברת אוכלוסיית תבדיד 84 של חיידק זה המייצר אגרוצין המיושם בגידולים רגישים מודברת מחלת העפץ החיידקי (Kerr, 1980).

מיני *Trichoderma* (טריכודרמה) ידועים ביכולתם האנטגוניסטית כפי שתואר על ידי Weindling כבר ב 1932. Allen and Haensler (1935) הדבירו פתיום וריזוקטוניה במלפפון ובאפונה באמצעות מין של טריכודרמה, Weindling and Fawcett (1936) הפחיתו חולי נופל (*R. solani*) בשתילי הדרים ו Jaarsveld (1942) הדביר מחלה זו בכרוב סיני. הדברת קשיון רופס (*Sclerotium rolfsii*) ומק שורש (*R. solani*) הושגה בגידולים שונים, בתחילה בחממות ניסויים ובהמשך בתנאי שדה (Backman and Rodriguez-Kabana, 1975; Elad et al., 1980 a b, 1981 a b c, 1982; Hadar et al., 1979; Papavizas et al., 1982).

בנבגי *Thielaviopsis basicola* ו *Cochliobolus sativus* בקרקע (Anderson and Patrick, 1978) אבל יישומן של אמבות לא התפתח באופן משמעותי במעשה החקלאי.

בקרת מחלות נוף ולאחר קטיף

הדברה ביולוגית טבעית נמצאה בעצי ערמון נגועים ב *Endothia parasitica* (Van Alfen et al., 1975). התופעה נקראה היפווירולנס (hypovirylense) ותוארה גם בגרמי מחלה אחרים כגון בקשיונה גדולה (Boland, 2004). נמצא שהאחראים למחלות בפטריות הם מיקווירוסים, ובפטריות רבות תוארו נגיפים פטרייתיים שונים (Mingde et al., 2014). מנגנון ייחודי להתמודדות עם נגיפים הינה הגנה צולבת (Cross-protection). דוגמא להגנה צולבת היא ורסיה מוחלשת של נגיף של המוזאיקה של הפפינו המתמודד עם נגיף זה (Scenk et al., 2010). קיימים מחקרים רבים בהם מדברים מיקרוביאליים שישומו על גבי צמחים הביאו לבקרת מחלות נוף (Andrews, 1992; Blakeman and Fokkema, 1982). מדברים ביולוגיים עליהם נמנים מיני חיידקים, שמרים ופטריות חוטיות הדבירו עובש אפור בכמה גידולים (Elad et al., 1993, 1994 a b; Wood, 1951). פטריות שונות הדבירו קשיונה גדולה (*S. sclerotiorum*) בכמה גידולים (Boland and Hunter 1988). הדברת עובש אפור באמצעות תבדידי טריכודרמה התקבלה בכרמי גפן למאכל וליין (Dubos 1992; O'Neill et al. 1996) ובחממות מלפפון ועגבנייה (Elad, 2000; איור 2). קמחונות הודברו בין היתר על ידי שמר חוטי *Sporothrix flocculosa* (Bélanger et al., 1994) ועל ידי הפטרייה המיקופרזיטית *Ampelomyces quisqualis* (Sztejnberg et al., 1989). חיידקים ושמרים נמצאו מועילים גם בטיפול בפרי בשטח המניב ולאחר קטיף למניעת מחלות באחסון הפרי (Droby et al., 1991; Leibinger et al., 1997).



איור 2. הדברה ביולוגית של עובש אפור בעגבנייה, מימין מטופל בתכשיר טריכודקס (*Trichoderma harzuanum* T39) בריסוס ומימין ללא טיפול

תכשירי הדברה ביולוגית

פטירות וחיידקים אשר בודדו מהקרקע או הסביבה, אשר אינם פתוגנים והינם בטוחים לשימוש לאדם ובסביבה ואינם פוגעים בציפורים, יונקים, דגים ויצורים אחרים; מפותחים כתכשירים להדברה ביולוגית בהתאם ליכולות ההדברה שלהם ולצרכי החקלאות לשם הפחתת מחלות צמחים. תכשירי הדברה ביולוגיים עשויים להיות רגישים לטמפרטורות קיצוניות, ליובש, לסביבת pH קיצונית, כלור, קרינה אולטרא סגולה ומשך חיי המדף שלהם עלול להיות קצר משל חומרי הדברה כימיים. מסיבות אלה ואחרות תוצאות ההדברה של מדבירים ביולוגיים עשויות להיות לא הדירות והם מומלצים לשימוש במסגרת הדברה משולבת. פעילותם של תכשירי הדברה מסחריים שהיו מורשים לשימוש בארצות הברית סוכמו (Moorman, 2011; Dicklow, 2013; טבלה 1). בשנים האחרונות נוספו בקשות רבות לאישור שימוש במדבירים ביולוגיים שפותחו והתרבו התכשירים הביולוגיים הנמצאים בשימוש ברחבי העולם.

תכשירי הדברה ביולוגיים להם קיים רישוי בישראל בשנת 2019 הינם סרנייד (טבלה 1) אשר המדביר הביולוגי המרכיב אותו מופיע גם בתכשירי סרן וריזוקטול, שמר המכיל תבדיד *Metschnikowia fructicola* בעיקר להדברת מחלות נוף, כנגד עובש אפור, עובש שחור (*Aspergillus*), עובש מימי (*Rhizopus*) קשיונה גדולה (S. *sclerotiorum*) ועובש כחול (*Penicillium*) ומגן שורש (RootShield, טבלה 1) אשר המדביר הביולוגי שבו מופיע גם ב RootPro כנגד מחלות שורש (*Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*). במהלך השנים פותחו תכשירי הדברה ביולוגית בישראל ובהם טריכודקס (*Trichoderma harzianum* T39) ממעבדתו של פרופ' יגאל אלעד, פותח על ידי חברת מכתשים וקיבל רישויים בארצות רבות בעולם להדברת עובש אפור וקשיונה גדולה. התכשיר פעיל גם נגד קימחון ומחלות צמחים נוספות ויושם בכרמים ובגידולי חממה (Elad, 1994, 2000 a b). התכשיר שמר (לעיל) ממעבדת פרופ' סמיר דרובי יועד למחלות לאחר קטיף (Karabulut et al., 2003, 2004). תכשיר AQ10 (*Ampelomyces quisqualis*) ממעבדת פרופ' אברהם שטיינברג להדברת קימחון (Elad et al., 1997; Sztejnberg et al., 1989). ד"ר מגי לוי פתחה תכשיר *Pseudozyma aphidis* תבדיד L12 פעיל נגד עובש אפור, קימחון הדלועיים (*Podosphaera xanthii*) במלפפון וכיב חיידקי בעגבנייה (*Clavibacter michiganensis*) (Calderón et al., 2019; Gafni et al., 2015; Barda et al., 2014).

ככלל מדבירים ביולוגיים אלה מתחרים עם הפתוגן על גומחת (נישה) הפעילות שלו או על מקורות מזון, פרזיטיזם או טפילות, בהשראת מערכות הגנה בצמח או ביצור חומרים מעכבי פתוגן שהינם נדיפים או לא נדיפים. בדרך כלל פועלים יותר ממנגנון אחד; בהמשך יפורטו מנגנונים ייחודיים במערכות האנטראקציה בין מדבירים ביולוגיים, מחוללי מחלה וצמחים.

טבלה 1. דוגמאות לתכשירי הדברה כנגד מחלות צמחים

מיקרואורגניזמים	תכשיר	דוגמאות למחלות מודברות (Moorman, 2011; Dicklow, 2013)
שישה מיני <i>Bacillus</i> , <i>Streptomyces griseoviridis</i> , <i>Trichoderma harzianum</i>	Compete Plus	נימור שחור (<i>Rhizoctonia solani</i>) וגרב מצוי (<i>Streptomyces scabies</i>) בתפוח-אדמה
חיידקי ריזוספרה	BioYield	ריקבון שורש וגבעול (<i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i>) בברוקולי וחולי נופל בתרד
<i>Coniothyrium minitans</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Contans Kodiak	קשיונה גדולה וקטנה (מיני <i>Sclerotinia</i>) בחסה נימור שחור וכיב גבעול (<i>R. solani</i>) בתפוח-אדמה, חולי נופל בתרד ואפונה
<i>B. subtilis</i> , תבדיד GB03	Companion	מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>) בגידולים שונים
<i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> , תבדיד QST713	Serenade Rhapsody	ריקבון שורש (<i>R. solani</i>) בשעועית וצנונית, קימחון <i>Colletotrichum</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Diplocarpon</i> , <i>Cercospora</i>
<i>B. subtilis</i> <i>Muscador albus</i>	Cease Muscador	גרב בתפוח ואגס (מיני <i>Venturia</i>) חולי נופל וריקבון פרי (<i>Phytophthora</i>) בפלפל, פרוקי רגליים באחסון תפוח ותפוח-אדמה
<i>Trichoderma virens</i>	SoilGard	נימור שחור (<i>R. solani</i>) וגרב מצוי (<i>Streptomyces scabies</i>) בתפוח-אדמה, חולי נופל לאחר הצצה בתרד, מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>) עובש אפור (<i>B. cinerea</i>), קימחון, כשותית וקשיונה
<i>Agrobacterium radiobacter</i> תבדיד 84 <i>Gliocladium catenulatum</i>	Galltrol A	עפץ חיידקי (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)
<i>Streptomyces lydicus</i>	Primastop	חולי נופל (<i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i>) ועובש אפור (<i>Botrytis cinerea</i>)
<i>S. griseoviridis</i>	Actinovate	מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>), חלפת (<i>Verticillium</i>), עובש אפור (<i>B. cinerea</i>), <i>Phomopsis</i> , <i>Alternaria</i>) קימחון, כשותית, קשיונה
<i>Trichoderma harzianum</i> 22	Mycostop	מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>) עובש אפור (<i>B. cinerea</i>)
<i>Ampelomyces quisqualis</i> <i>Candida oleophila</i>	PlantShield RootShield AQ10 Aspire	מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>), עובש אפור (<i>B. cinerea</i>), קימחון, קשיונה מחלות בפרי לאחר קטיף

מנגנוני פעילות של מיקרואורגניזמים

תחרות

חומרי מזון חיצוניים על פני אברי הצמח הרגישים להדבקה מעודדים את נביטת נבגי פתוגנים בריזוספרה שבסביבה המיידית של השורשים או על הנוף (פילוספרה עלים, אברי הפרח, פרי ופצעי על פני רקמות צמחיות). בדרך כלל מקור חומרי המזון בהפרשות של הצמח אך יתכנו גם מקורות מזון חיצוניים. חיידקים, שמרים ופטריות חוטיות יכולים להפחית פעילות של גרמי מחלה תוך צריכה של חמרי מזון זמינים (Blakeman, 1993; Blakeman and Loper and Buyer 1991; Fokkema, 1982; Funck Jensen and Lumsden, 1999). תחרות על חמרי מזון ותחרות על מרחב משתלבות בעת פעילות על פני רקמה צמחי (Spadaro and Droby, 2016). דוגמאות לכך מגיעות ממחקרים בהדברת פתוגנים של פרי קטוף על ידי מיני השמר *Candida* (McLaughlin et al., 1990;) (Janisiewicz et al., 1994) *Cryptococcus laurentii*, (Mercier and Wilson, 1994), השמר *Aureobasidium pullulans* על יסודות מזון ועל מרחב נמצאו גם במערכות אחרות כמו במערכת בה *Monilinia laxa* גורמת הריקבון החום (Di Francesco et al., 2017).

בפתוגנים מחוללי מחלות שורש גם נמצאה רגישות לתחרות על מקורות מזון. עיכוב נבגים ובכלל זה של כלמידוספורות של מיני פוזריום יוחס לתחרות על יוני ברזל, יוני מתכות שונות ואפילו מקורות פחמן. קשירת יוני הברזל יוחסה לסידרופורים המופרשים על ידי חיידקי פסאודומונס (Loper and Buyer, 1991; Elad and Baker, 1985 a, b).

חומרים מעכבים

גם העבודות על יצור חומרים מעכבים על ידי מדבירים ביולוגיים החלו לפני עשרות שנים. דווח שהפטרייה האנטגוניסטית *Trichoderma virens* (syn *Gliocladium virens*) מייצרת גליוטוקסין (gliotoxin) הרעיל ל *R. solani* יותר מאשר ל *Pythium ultimum* וגליווירין (gliovirin) הרעיל לריזוקטוניה ולא לפתיום (Howell et al., 1993). *T. pseudokoningii* יצרה חומרים המעכבים עובש אפור בתות שדה (Tronsmo and Dennis, 1977) ו *T. hamatum* עכבה עובש אפור על פרחי שעועית באמצעות חומרים נדיפים (Nelson and Powelson, 1988). פירולניטרין (pyrrolnitrin) המיוצר על ידי החיידק *Pseudomonas cepacia* היה יעיל בעיכוב ריקבון הנגרם על ידי פניציליום, בוטריטיס ומוקור בפרי תפוח ואגס (Janisiewicz and Roitman, 1988). גם חיידק אגרובקטריום (תבדיד 84) המוזכר לעיל ואשר מדביר את בן מינו הגורם לעפץ חיידקי פועל באמצעות אנטיביוטיקה, אגרוצין (Kerr, 1980). *Sporothrix flocculosa*, שמר דמוי פטרייה המוזכר אף הוא לעיל כמדביר של קימחון, יוצר חומצות שומן הגורמות לפלסמוליזה של תאי הפתוגן (Hailaoui et al., 1994). אנטיביוזיס בתרבות מודגם באיור 3.

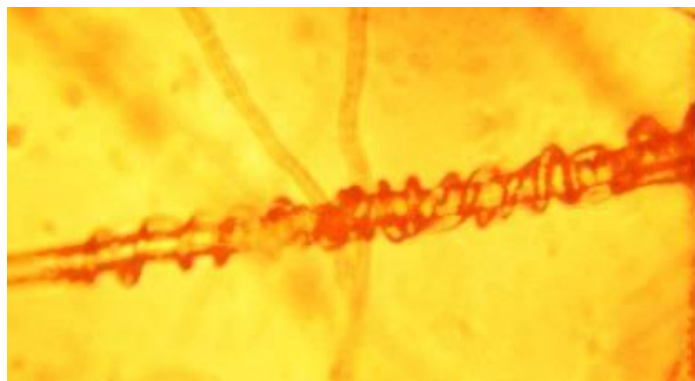


איור 3. הדגמת יחסי מיקרואורגניזמים
בתרבית בצלחות פטרי. תמונה עליונה:
הפטרייה *Sclerotium rolfii* גדלה
מכיוון תחתית הצלחות ומעוכבת על ידי
חומרים מעכבים המופרשים למצע על
ידי חיידקים הגדלים בחלק העליון של

הצלחות. באמצע: תפטיר הפטרייה *S. rolfii* גדל מכיוון תחתית הצלחות
ותפטיר פטרייה מהסוג *Trichoderma*
גדל מהחלק העליון, מימין נראה גידול
טריכודרמה התחלי במושבת ק' רולפס
ומשמאל נראה פרזיטיזם של
טריכודרמה על כל תפטיר ק' רולפס.



בתמונה התחתונה צילום מבעד
למיקרוסקופ אור של קור הפטרייה
Rhizoctonia solani המתפרס מימים
לשמאל ועליו ליפופים של פטרייה
פרזיטית מהסוג טריכודרמה. תמונות
צולמו במהלך לימודים של הכותב
בהנחיית פרופ' אילן חת, פרופ' יעקוב
קטן ופרופ' יגאל הניס ז"ל.

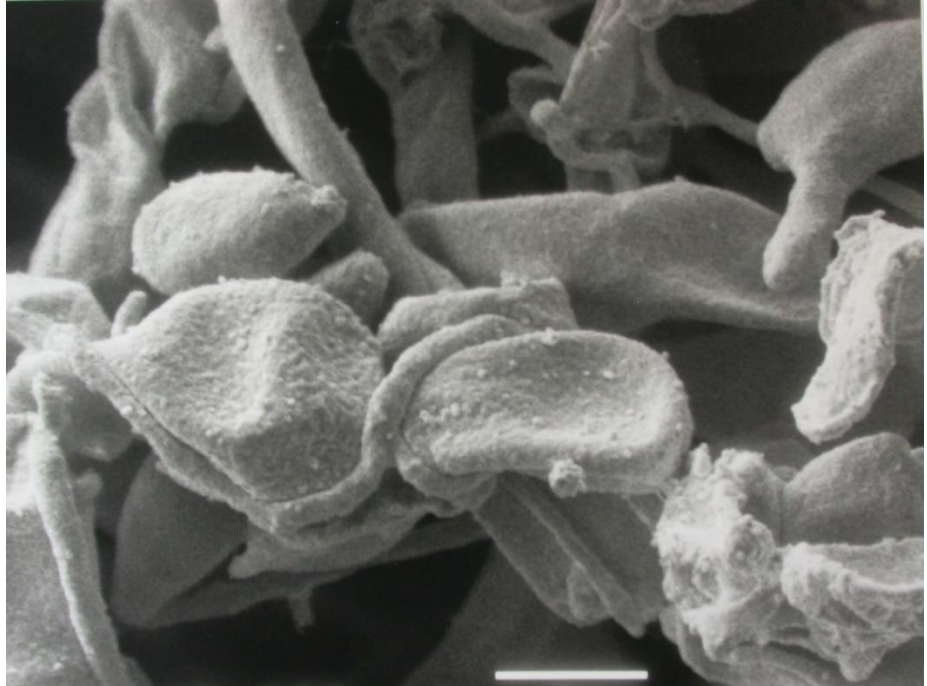


עובש אפור (*B. cinerea*) בכמה גידולים הופחת על ידי מיני החיידק *Bacillus subtilis* המייצר 3 חמרי
אנטיביוטיקה (Leifert et al., 1995) ו *Brevibacillus brevis* המייצר גרמיצידין S (Edwards and Seddon, 2001).
מעניין שלאחר 10 חשיפות של גורם המחלה לאנטיביוטיקה המיוצרת על ידי *B. subtilis* על ידי חשיפה
לטיפול חוזרים בחיידק לא התקבלה הדברה ביולוגית אלא עמידות של *B. cinerea* (Li and Leifert, 1994).
הוכחת החשיבות של נוכחות החומר המעכב למערך ההדברה הביולוגית הובאה בדרך כלל על ידי שימוש

במוטנטים של המדביר הביולוגי הפגועים ביצור האנטיביוטיקה ואשר אבדו את יכולת ההדברה של המחלה אותה מדביר תבדיד הבר או על ידי שימוש ישיר באנטיביוטיקה המיוצרת על ידי המדביר לבדה (Edwards and Seddon, 1992). מחקרים חדשים מדגישים את תרומת ההפרשה הממושכת של חמרי אנטיביוטיקה להדברה הביולוגית (Arseneault and Fillion, 2017). המדביר הביולוגי *Pseudozyma aphidis* הנזכר לעיל מפריש חומרים חוץ תאיים אשר בתרבות מעכבים את החיידקים הפתוגנים *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia amylovora*, *Clavibacter michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens* (Barda et al., 2015). מיקרואורגניזמים אנדופיטים המצויים ברקמות צמחים ומבודדים מתוכן הינם בעלי פעילות הדברה ביולוגית. מיקרואורגניזמים כאלה פועלים בדרכים שונות אך ברבים מהמקרים נמצא שהם מפרישים חומרים מעכבים בתוך הצמח וחומרים אלה המיוצרים על ידי האנדופיטים ניתנים ליישום כשלעצמם. דוגמאות לכך בפרסומים (Ezra et al., 2004 פרק אנדופיטים).

פרזיטים וחלבונים מפרקי דופן של פתוגנים

פרזיטים על גבי קורי פטריות ואברים נוספים שלהן תוארה רבות. עוד ב 1934 תיאר Weindling פרזיטים של הפטרייה האנטגוניסטית *Trichoderma lignorum* על גבי קורים של *R. solani* מחוללת מחלת מק שורש. התופעה נמצאה במקרי אנטראקציה רבים של פתוגנים בקרקע ויוחסה לא רק למיני הפטרייה טריכודרמה אלא גם לגליוקלדיום, למיני האוואומיצט פתיום ועוד (Adams, 1990; Lifshitz et al., 1984; Elad et al., 1983). היפרפרזיטים נמצא גם על גורמי מחלות נוף. *Sporothrix flocculosa* ו *Ampelomyces quisquali* (AQ) תוקפים פטריות הגורמות קימחון (הפרזיט הראשון מפריש גם חומרים מעכבים) (Bélanger et al., 1997;) (Sztejnberg et al., 1989). AQ נמצא פרזיט על גבי מיני קימחון רבים מהסוגים *Oidium*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Podosphaera*, *Uncinula*, *Leveillula* גורם חילדון צהוב (חלדון הפסים) בחיטה (Zheng et al., 2017) וקיימות דוגמאות נוספות להיפרפרזיטים. הדגמת מיקופרזיטים של הפטרייה טריכודרמה בתרבות מובא באיור 3. באיור 4. מודגם פרזיטים של פטרייה על גבי *Cladosporium fulvum* גורם מחלת עובש עלים בעגבנייה.



איור 4. פרזיטיזם של פטרייה
(קור דק) על גבי נבגים של
Cladosporium fulvum גורמת עובש עלים
בעגבנייה בכתם שנגרם על ידי
הפתוגן בתחתית עלה של
עגבנייה.

אנזימים מפרקי דופן פטריות פתוגניות שמקורם במיקרואורגניזמים כגון טריכודרמה, פתיום, חיידקי סרציה ואנטרובקטר והשמר *Pichia guilliermondi* תוארו במערכות בהן נמצאה פעילות פרזיטית. בין האנזימים סוגים שונים של של כיטינאזות, גלוקנאזות ופקטינאזות (Chernin et al., 1995; Elad et al., 1982, 1985; Labudova et al., 1991;). הפעילות של ההיפרפרזיט הינה התמחות ייחודית לחלק קטן מהמיקרואורגניזמים ומוכתבת על ידי התבטאות גנים בתאי האנטגוניסט ייחודיים להידרוליזה של פולימרים בפתוגנים המאחסנים כפי שהודגם בפטרייה *Trichoderma atroviride* התוקפת את האוואמיצט *Phytophthora capsici* והפטרייה *B. cinerea* (Reithner et al., 2011).

עיכוב אנזימי פתוגניות של גורם המחלה

מחוללי מחלה מפרישים במהלך הפתוגנזה אנזימים מפרקי דופן וממברנות של תאי הצמחים כדי לפרק את תאי המאחסן ולשם חדירה לתוך הרקמה הצמחית. על אנזימים אלה נמנים, קוטינאזות מפרקות הקוטין, אנזימים פקטוליטיים מפרקי פקטין כגון אנדו- ואקסו-גלקטורונאזות, פקטאט ליאז, פקטין מתיל אסתרז, וצלולאז. עיכוב של אנזימים אלה (פרט לצלולאז) המיוצרים על ידי נבגי בוטריטיס נובטים וחודרים לרקמת עלי שועונית נמצא כאשר למערכת הפתוגנזה הוסף מדביר ביולוגי *T. harzianum* T39 (Kapat et al., 1998). תבדיד הטריכודרמה הזו מפריש אנזים פרוטאז אשר נמצא אחראי לפגיעה בפעילות אנזימי הפתוגנזה של בוטריטיס (Elad and Kapat, 1999) ומעכב ייחודי של אנזים זה ביטל את פעילות הפרוטאז של הטריכודרמה והפחית את מידת ההדברה

הביולוגית שהתקבלה. נראה שפעילות החלשת אנזימי הפתוגנזה הביאה לריבוי אוליגומרים של פקטין אשר כשלעצמם משרים עמידות בצמח המאחסן (Cervone et al., 1989). פעילות פרוטאזות כגורם בפעילותו של מיקרואורגניזמים הוצעה גם על ידי Haab et al. (1990) ונמצאה חשובה בהדברת קשיון רולפס על ידי *T. viride* (Rodriguez-Kabana et al., 1978) או באנטראקציה של החיידק *Bacillus megaterium* (Bertagnolli et al., 1996).

דיכוי מדבק של גורם המחלה

פתוגנים נקרופילים כמו *B. cinerea* עשויים להתבסס על חומר אורני כספרופיטים וליצור מדבק אשר מאוחר יותר ישמש להדבקת צמחים רגישים. עיכוב יצור המדבק בשדה עשוי לתרום לפחיתת בפרוטנציאל המדבק של גורם המחלה כפי שנמצא עם המדביר הביולוגי *Ulocladium atum* המדכא הנבגה של *B. cinerea* על עלי שושן ו *B. cinerea* ו *allii* בעלי בצל מתים (Köhl et al., 1995ab). הפטרייה *Coniothyrium minitans* הינה פרזיטית על קשיונות מיני סקלרוטיניה ובעת יישומה בקרקע לפני שתילה היא מפחיתה מדבק קשיונות של הפתוגנים ומחלה במהלך הגידול מאוחר יותר (Whipps and Gerlagh, 1992).

השראת עמידות

השראת עמידות הינה מנגנון חשוב באמצעותו פועלים מדבירים ביולוגיים (Kloepper et al., 1992). צמח שבא במגע עם מדביר ביולוגי במערכת טבעית או שיושם באופן יזום או חומרים שהם תוצרי המדבירים הביולוגיים מעורר שרשרת תהליכים של השראת עמידות ובסופם הופכים תאי הצמח ואבריו עמידים לפגע (Pieterse et al., 2014). מנגנון העמידות המושרית על כל גווניה מתואר בפרוט בפרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים. במסורת המדעית אחראי מסלול עמידות מושרית סיסטמית (Induced systemic resistance, ISR) לעמידות המוקנית על ידי מיקרואורגניזמים לא פתוגנים (Paulitz and Matta, 1999). גם המנגנון השני, עמידות סיסטמית נרכשת (systemic acquired resistance, SAR) יוחס למיקרואורגניזמים, למשל *Pseudomonas aeruginosa* השרה SAR בצמחי שעועית כנגד *B. cinerea* (De Meyer and Höfte, 1997).

בפעם הראשונה במחקר הדברה ביולוגית באמצעות טריכודרמה (*Trichoderma harzianum* T39) כנגד מחלות נוף נמצאה תופעת עמידות מושרית סיסטמית בעגבנייה, פלפל ושעועית שטופלו בבית השורשים (De Meyer et al., 1998; איור 5). השראת העמידות התקבלה גם באמצעות תאים מתים של המדביר הביולוגי הזה כך שרק המגע בין תאי המשרן לפני הצמח מביא לקיום התופעה בעלי שעועית טבק ופלפל (Elad and Kapat, 1999). השראת העמידות הסיסטמית על ידי T39 ובמקביל גם על ידי האוכלוסייה המקרוביאלית המתפתחת בעקבות חיטוי סולרי לקרקע או בעקבות יישום התוסף ביו-פחם לקרקע לפני השתילה נמצאה בקשר עם שפעול גנים המאפיינים תופעה זאת ונמצאים במסלולי הביוסינטזה של SAR ו ISR (Meller Harel et al., 2014; Okon Levy et al., 2015; Mehari et al., 2015; Kolton et al., 2017). דוגמאות לכך הן גן במסלול

הביוסינטזה של החומצה הג'סמונית עבר שפעול בעלי עגבנייה על ידי טריכודרמה בקרקע וטיפול סולרי במצע הגידול (Okon Levy et al., 2015) ובעקבות טיפול ביו-פחם ושינויי האוכלוסייה המיקרוביאלית הטבעית בסביבת השורשים שופעלו גנים הקשורים בתגובות מאוחרות של עמידות - Pti5 (קשור לאתילן) ו Pi2 (כמו הגן הקודם, גם גן זה קשור לח' ג'סמונית) ואשר חשיבותם בעמידות ל *B. cinerea* דווחה לפני כן (Mehari et al., 2015). בנוסף יישום טריכודרמה עצמה מעודד אוכלוסיות מיקרואורגניזמים אשר כשלעצמן הינן משרות עמידות סיסטמית (Elad et al., 2004). המדביר הביולוגי *P. aphidis* הנזכר לעיל משרה עמידות בצמחי עגבנייה; הוא גורם לשפעול הגן *PR1a* וגנים נוספים הקשורים בפתוגנזה וכתוצאה מושרית עמידות כנגד הכיב החיידקי (*C. michiganensis*) אשר מתפתחת במסלול עצמאי של חומצה סליצילית (Barda et al., 2015). מחקר נוסף בנושאי השראת עמידות מובא בפרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים.

סיכום

מדבירים ביולוגיים משתמשים במגוון מנגנונים הפועלים ישירות על גורם המחלה על פני הצמח או כנגד מדבק הפתוגן או בעקיפין על ידי השראת עמידות בצמח. בדרך כלל, כאשר מבוצע מחקר מעמיק וממושך בנושא מנגנון הפעילות נמצא שהמדבירים הביולוגיים מפעילים מספר מנגנונים הן ישירות כלפי גורם המחלה או על הצמח המאחסן. לדוגמה *P. aphidis* (הוזכר לעיל), שהינו פעיל גם נגד חיידקים וגם נגד פטריות, משרה עמידות בצמח, מפריש חומרים מעכבי חיידקים וכן נמצא שהוא נצמד לקורי הפטרייה *B. cinerea* ומתחרה איתם עבור חמרי מזון.

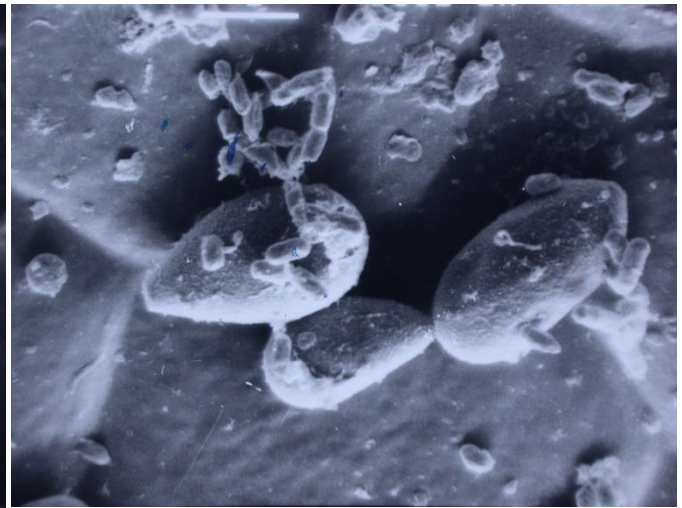
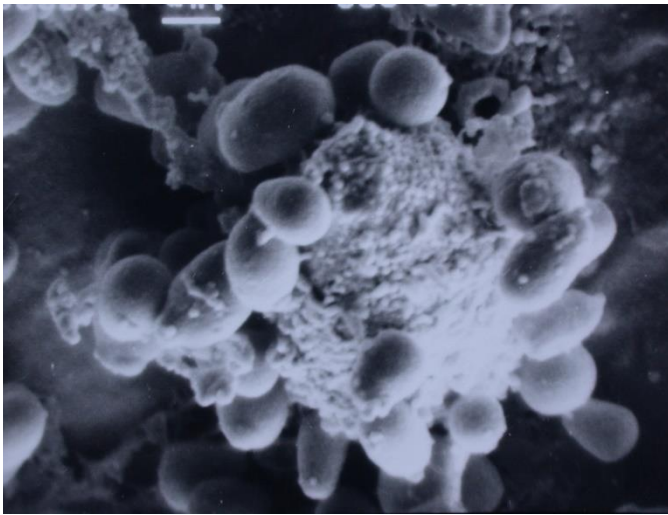
איור 5. הדברה ביולוגית של עובש אפור בצמחי פלפל על ידי השראת עמידות סיסטמית בעת יישום המדביר הביולוגי טריכודקס (*T. harzianum* T39). המדביר הביולוגי יושם בבית השורשים (ארבעה עציצים מימין) בעוד גורם המחלה רוסס על פני נוף צמחי הפלפל. משמאל צמחים נגועים באופן חמור בעובש אפור (היקש)



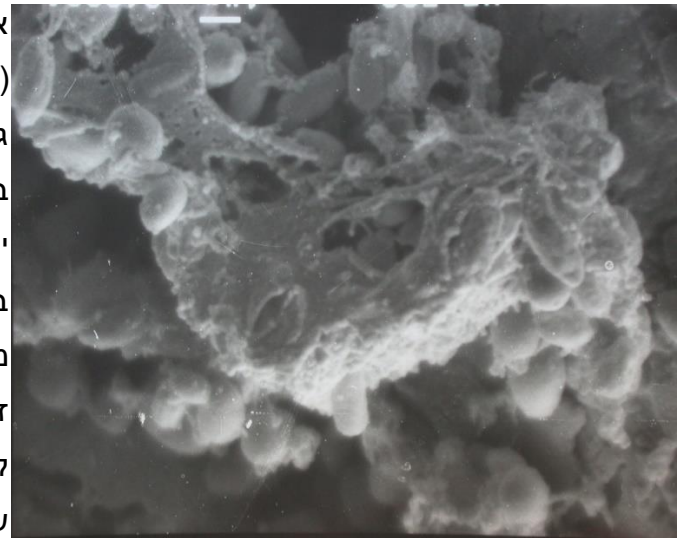
חומרים מעכבים מהמדביר הביולוגי משפעלים יצור של סוגי חמצן פעיל שונים ותהליך תמותה תאית מתוכננת (Programmed cell death) בתאי הפטרייה. המדביר גורם לשינויים בקורי הפתוגן כך שהתבססותו ויכולת

ההדבקה שלו נפגעים (Barda et al., 2015; Calderón et al., 2019). בדומה, המדביר *T. harzianum* T39 שהוכר לעיל הינו בעל יכולת לתחרות ועיכוב נביטת נבגים, פגיעה במנגנון הפתוגנזה של *B. cinerea* והשראת עמידות בצמח. השראת עמידות בצמח התקבלה לא רק נגד עובש אפור אלא גם כנגד פגעים נוספים כך שרק מנגנון רחב יכול להסביר את פעילות המדביר הביולוגי. נראה שהמנגנון החשוב מבין אלה שנבדקו הינו השראת עמידות או השראת מוכנות ליצירת עמידות (Priming) (Elad, 2000b). מנגנון זה נמצא גם במדבירים ביולוגיים אחרים. ריבוי מנגנוני פעילות של הדברה ביולוגית הינו יתרון לשם הדברת פגעים בצמחים. לפיכך פותח גם הרעיון לשלב בין מדבירים ביולוגיים. לדוגמא, שילוב של חיידק (*Bacillus mycoides*) ושמר (*Pichia guillemondii*) הביא לשיפור יעילות הדברת עובש אפור בתות שדה הן מפני ששילוב המיקרואורגניזמים הביא להשלמת טווח תנאי המיקרואקלים בהם מתקבלת פעילות הדברה והן בגלל שילוב מנגנוני הדברה שנתרמו על ידי כל אחד מהמיקרואורגניזמים (Guetzky et al., 2001, 2002 a b, איור 6). שימוש בתערובות מיקרואורגניזמים התרחב בשנים האחרונות וזאת כדי לשפר יעילות והדירות של ההדברה הביולוגית (Thakkar and Saraf, 2018; Sarma et al., 2015).

בצד השראת עמידות מתקיימים מנגנונים שאינם קשורים בהמתת גורם המחלה והם תחרות ועיכוב גורמי פתוגנזה של גורם המחלה. היפרפרזיטיזם וחומרים מופרשים על ידי מדבירים ביולוגיים פועלים ישירות על גורם המחלה ומייצגים שורה של תהליכים פסיולוגיים. נראה שחומרים מופרשים שנמצאו פעילים בתרבות כנגד פתוגנים עשויים לעיתים להיות יעילים במידה מועטה בעת יישום המדביר הביולוגי על הצמח כי הם עלולים להיות מופרשים בכמות מוגבלת או שיש להם משך חיים קצר אבל בכל מקרה יתכן ותפקידם הוא לאותת נוכחות של מדביר ולהשרות תהליכי עמידות ולא בהכרח לעכב ישירות. בכל מקרה, הדגמת מנגנוני פעילות בתרבות (לדוגמא באיור 3) אינה בהכרח מלמדת שמנגנון הפעילות על פני הצמח, בריזוספרה או בפילוספרה, הינם אלה המודגמים בתרבות או שתרומתם חשובה יותר ממנגנונים אחרים.



איור 6. השפעת חיידק (*Bacillus mycoides*) ושמר (*Pichia guillemondii*) על נבגי *B. cinerea* נובטים על גבי עלי תות שדה. נבגי בוטריטיס נובטים (ללא מדבירים ביולוגיים, למעלה), נבגי בוטריטיס עם החיידק (אמצע – ימין) ועם השמר (אמצע – שמאל) שנמנעה נביטתם ונבג בוטריטיס הרוס עם החיידק והשמר יחדיו (למטה). תמונות מקרוסקופ אלקטרוניים סורק שהוכנו עם מר ארווין פישר ז"ל ומוקדשות לזכרו. פרויקט שילוב מיקרואורגניזמים להדברה ביולוגית היה בשיתוף ד"ר רותי גויצקי, פרופ' דני שטיינברג ופרופ' עמוס דינור.



מקורות

- אלעד י' (1998) הדברה ביולוגית. בספר מחלות צמחים בישראל, הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן, עורכים: רותם י', פלטי י' ובן יפת י', ע' 157-166.
- Adams P. B. (1990) The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annual Review of Plant Pathology* 28: 59-72.
- Allen M. C. and Haensler C. M. (1935) Antagonistic action of *Trichoderma* on *Rhizoctonia* and other soil fungi. *Phytopathology* 25: 244-252.
- Anderson T. R. and Patrick Z. A. (1978) Mycophagous amoeboid organisms from soil that perforate spores of *Thielaviopsis basicola* and *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology* 68: 1618-1626.
- Andrews J. H. (1992) Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 30: 603-635.
- Arseneault T. and Fillion M. (2017) Biocontrol through antibiosis: Exploring the role played by subinhibitory concentrations of antibiotics in soil and their impact on plant pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 39: 267-274.
- Barda O., Shalev O., Alster S., Buxdorf K., Gafni A. and Levy M. (2014) *Pseudozyma aphidis* induces salicylic-acid-independent resistance to *Clavibacter michiganensis* in tomato plants. *Plant Disease* 99: 621-626.
- Bélanger R. R., Dik A. J. and Menzies J. G. (1997) Powdery mildews: Recent advances toward integrated control. In: Boland J. and Kuykendall L. D. (Eds) *Plant-microbe interactions and biological control*, Marcel Dekker Inc, New York, pp. 89-109.
- Blakeman J. P. (1993) Pathogens in the foliar environment. *Plant Pathology* 42: 479-493.
- Backman P. A. and Rodriguez-Kabana R. (1975) A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. *Phytopathology* 65: 819-821.
- Bélanger R. R., Labbè C. and Jarvis W. R. (1994) Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Plant Disease* 78: 420-424.
- Bertagnolli B. L., Dal Soglio F. K. and Sinclair J. B. (1996) Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008 I Possible correlation with inhibition of growth and biocontrol. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48: 145-160.
- Blakeman J. P. and Fokkema N. J. (1982) Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Annual Review of Phytopathology* 20: 167-192.
- Boland G. J. (2004) Fungal viruses, hypovirulence, and biological control of *Sclerotinia* species. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26: 6-18.
- Boland G. J. and Hunter J. E. (1988) Influence of *Alternaria alternata* and *Cladosporium cladosporioides* on white mold of bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 10: 172-177.
- Calderón C. E., Rotem N., Harris R., Vela-Corcía D. and Levy M. (2019) *Pseudozyma aphidis* activates reactive oxygen species production, programmed cell death and morphological alterations in the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea* *Molecular Plant Pathology* 20: 562-574.
- Cervone F., Hahn M. G., de Lorenzo G., Darvill A. and Albershiem P. (1989) Host pathogen interactions XXXIII A plant protein converts a fungal pathogenesis factor into an elicitor of plant defense responses. *Plant Physiology* 90: 542-548.
- Chernin L., Ismailov Z., Haran S. and Chet I. (1995) Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* antagonistic to fungal plant pathogens. *Applied Environmental Microbiology* 61: 1720-1726.

- Cook R. J. and Rovira A. D. (1976) The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils. *Soil Biology and Biochemistry* 8: 269-273.
- De Meyer G., Bigirimana J., Elad Y. and Höfte M. (1998) Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology* 104: 279-286.
- De Meyer G. and Höfte M. (1997) Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology* 87: 588-593.
- Di Francesco A., Ugolini L., D'Aquino S., Pagnotta E. and Mari M. (2017) Biocontrol of *Monilinia laxa* by *Aureobasidium pullulans* strains: Insights on competition for nutrients and space. *International Journal of Food Microbiology* 248: 32–38.
- Dicklow M. B. (2013) Biological Control of Plant Diseases. The UMass Center for Agriculture, Food and the Environment is the home of UMass Extension and the Mass. Ag. Experiment Station. <https://ag.umass.edu/vegetable/fact-sheets/biological-control-of-plant-diseases>
- Droby S., Chalutz E. and Wilson L. (1991) Antagonistic microorganisms as biological control agents of postharvest diseases of fruits and vegetables. *Postharvest News and Information* 2: 169-173.
- Dubos B. (1992) Biological control of *Botrytis*, State-of-the-art. In: Verhoeff K, Malathrakakis NE, Williamson B (eds) Recent advances in Botrytis research, Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, pp. 169-178.
- Edwards S. G. and Seddon B. (2001) Mode of parasitism of *Brevibacillus brevis* against *Botrytis cinerea* *in vitro*. *Journal of applied microbiology* 91: 652-659.
- Elad Y. (1994) Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Protection* 13: 35-38.
- Elad Y. (2000a) *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases – control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Science and Technology* 10: 499-507.
- Elad Y. (2000b) Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection* 19: 709-714.
- Elad Y. and Baker R. (1985a) The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75: 1053-1059.
- Elad Y. and Baker R. (1985b) Influence of trace amounts of cations and siderophore-producing pseudomonads on germination of *Fusarium oxysporum* chlamydospores. *Phytopathology* 75: 1047-1052.
- Elad Y., Baker S., Faull J. L. and Taylor J. (2004) Multi trophic relationships - interaction of a biocontrol agent and a pathogen with the indigenous micro-flora on bean leaves. *IOBC/WPRS Bulletin* 27(8): 151-154.
- Elad Y., Chet I., Boyle P. and Henis Y. (1983) The parasitism of *Trichoderma* spp. on plant pathogens-ultrastructural studies and detection by FITC lectins. *Phytopathology* 73: 85-88.
- Elad Y., Chet I. and Henis Y. (1981b) Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. *Plant and Soil* 60: 245-254.
- Elad Y., Chet I. and Henis Y. (1982) Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 719-725.
- Elad Y., Chet I. and Katan J. (1980a) *Trichoderma harzianum*, a biocontrol agent of *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121.

- Elad Y., Hadar Y., Chet I. and Henis Y. (1981a) Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. Plant Disease 65: 675-677.
- Elad Y., Hadar Y., Chet I. and Henis Y. (1981c) Prevention with *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. of reinfestation by *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Rhizoctonia solani* Kühn of soil fumigated with methyl bromide and improvement of disease control in tomatoes and peanuts. Crop Protection 1: 199-211.
- Elad Y., Kalfon A. and Chet I. (1982) Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed coating with *Trichoderma* spp. spores. Plant and Soil 66: 279-281.
- Elad Y. and Kapat A. (1999) Role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology 105: 177-189.
- Elad Y., Katan J. and Chet I. (1980b) Physical, biological and chemical control integrated for soil-borne diseases in potatoes. Phytopathology 70: 418-422.
- Elad Y., Kirshner B., Yehuda N. and Sztjenberg A. (1998) Management of powdery mildew and gray mold of cucumber by *Trichoderma harzianum* T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10. BioControl 43: 241-251.
- Elad Y., Köhl J. and Fokkema N. J. (1994a) Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. Phytopathology 84: 1193-1200.
- Elad Y., Köhl J. and Fokkema N. J. (1994b) Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. European Journal of Plant Pathology 100: 315-336.
- Elad Y., Lifshitz R. and Baker R. (1985) Enzymatic activity of the mycoparasite *Pythium nunn* during interaction with host and non-host fungi. Physiological Plant Pathology 27: 131-148.
- Elad Y., Zimand G., Zaqs Y., Zuriel S. and Chet I. (1993) Biological and integrated control of cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. Plant Pathology 42: 324-332.
- Ezra D., Hess W. M. and Strobel G. A. (2004) New endophytic isolates of *Muscodora albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus. Microbiology 150: 4023-4031.
- Funck Jensen D. and Lumsden R. D. (1999) Biological control of soilborne pathogens. In: Albajes R Gullino M. L. Van Lenteren J. C. and Elad Y. (eds), Kluwer Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, pp. 319-337.
- Gafni A., Calderon C. E., Harris R., Buxdorf K., Dafa-Berger A., Zeilinger-Reichert E. and Levy M. (2015) Biological control of the cucurbit powdery mildew pathogen *Podosphaera xanthii* by means of the epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* and parasitism as a mode of action. Frontiers Plant Science 6: 132.
- Geremia R. A., Goldman G. H., Jacobs D., Ardiles W. B. Villa S., Montagu M. V. and Herrera-Estrella A. (1993) Molecular characterization of the proteinase-encoding gene prb1, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. Molecular Microbiology 8: 603-613.
- Guetsky R., Shtienberg D., Elad Y. and Dinoor A. (2001) Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. Phytopathology 91: 621-627.
- Guetsky R., Shtienberg D., Elad Y., Fischer E. and Dinoor A. (2002a) Improving biological control by combining biocontrol agents with several mechanisms of disease suppression. Phytopathology 92: 976-985.
- Guetsky R., Elad Y., Shtienberg D. and Dinoor A. (2002b) Establishment, survival and activity of the biocontrol agents *Pichia guillemontii* and *Bacillus mycoides* applied as a mixture on strawberry plants. Biocontrol Science and Technology 12: 705-714.

- Haab D., Hagspiel K., Szakmary K. and Kubicek C. P. (1990) Formation of the extracellular protease from *Trichoderma reesei* QM 9414 involved in cellulase degradation. *Journal of Biotechnology* 16: 187-198.
- Hadar Y., Chet I. and Henis Y. (1979) Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 69: 64-68.
- Hajlaoui M. R., Traquair J. A., Jarvis W. R. and Bélanger R. R. (1994) Antifungal activity of extracellular metabolites produced by *Sporothrix flocculosa*. *Biocontrol Science and Technology* 4: 229-237.
- Henis Y. and Chet I. (1968) Effect of nitrogenous amendments on the germinability of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* and their accompanying microflora. *Phytopathology* 58: 209-211.
- Henis Y., Ghaffar A. and Baker R. (1979) Factors affecting suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 69: 1164-1169.
- Howell C. R. and Stipanovic R. D. (1979) Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescence* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology* 69: 480-482.
- Howell C., Stipanovic R. and Lumsden R. (1993) Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology* 3: 435-441.
- Jaarsveld A. (1942) The influence of various soil fungi on the virulence of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathologische Zeitschrift* 14: 1-75.
- Janisiewicz W. J., Peterson D. L. and Bors R. (1994) Control of apple storage decay with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Disease* 78: 466-470.
- Janisiewicz W. J. and Roitman J. (1988) Biological control of blue mold and grey mould of apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology* 78: 1697-1700.
- Kapat A., Zimand G. and Elad Y. (1998) Biosynthesis of pathogenicity hydrolytic enzymes by *Botrytis cinerea* during infection of bean leaves and *In vitro*. *Mycological Research* 102: 1017-1024.
- Karabulut O. A., Smilanick J. L., Gabler F. M., Mansour M. and Droby S. (2003) Near-harvest applications of *Metschnikowia fructicola*, ethanol, and sodium bicarbonate to control post-harvest diseases of grape in central California. *Plant Disease* 87: 1384-1389.
- Karabulut O. A., Tezcan H., Daus A., Cohen L., Wiess B. and Droby S. (2004) Biological control of preharvest and postharvest rots in strawberries by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Science and Technology* 14: 513-521.
- Katan J. (1981) Solar heating (solarization) of soil for control of soil-borne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19: 211-218.
- Kerr A. (1980) Biological control of crown gall through production of Agrocin 84. *Plant Disease* 64: 24-30.
- Kloepper J. W., Tuzun S. and Kuć J. (1992) Proposed definitions related to induced resistance. *Biocontrol Science and Technology* 2: 349-351.
- Köhl J., Molhoek W. M. L., Van der Plas C. H. and Fokkema N. J. (1995a) Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85: 393-401.
- Köhl J., Van der Plas C. H., Molhoek W. M. L. and Fokkema N. J. (1995b) Effect of interrupted leaf wetness periods on suppression of sporulation of *Botrytis allii* and *Botrytis cinerea* by antagonists on dead onion leaves. *European Journal of Plant Pathology* 101: 627-637.

- Kolton M., Graber E. R., Tsehansky L., Elad, Y. and Cytryn E. (2017) Biochar-stimulated plant performance is strongly linked to microbial diversity and metabolic potential in the rhizosphere. *New Phytologist* 213: 1393-1404.
- Labudova I. and Gogorova L. (1988) Biological control of phytopathogenic fungi through lytic action of *Trichoderma* species. *FEMS Microbiology Letters* 52: 193-198.
- Leibinger W., Breuker B., Hahn M. and Mendgen K. (1997) Control of postharvest pathogens and colonization of apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87: 1103-1110.
- Leifert C., Li H., Chidburee S., Hampson S., Workman S., Sigee D., Epton H. A. S. and Harbour A. (1995) Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 97-108.
- Li H. and Leifert C. (1994) Development of resistance in *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel against the biological control agent *Bacillus subtilis*. *Journal of Plant Disease and Protection* 101: 414-418.
- Lifshitz R., Dupler M., Elad Y. and Baker R. (1984) Hyphal interactions between a mycoparasite, *Pythium nunn*, and several soil fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 30: 1482-1487.
- Loper J. E. and Buyer J. S. (1991) Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 4: 5-13.
- Lorito M., Harman G. E., Hayes C. K., Broadway R. M., Tronsmo A., Woo S. L. and Di Pietro A. (1993) Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83: 302-307.
- McLaughlin R. J., Wisniewski M. E., Wilson C. L. and Chalutz E. (1990) Effect of inoculum concentration and salt solutions on biological control of postharvest diseases of apple with *Candida* sp. *Phytopathology* 80: 456-461.
- Mehari Z. H., Elad Y., Rav-David D., Graber E. R. and Meller Harel Y. (2015) Induced systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Botrytis cinerea* by biochar amendment involves jasmonic acid signaling. *Plant and Soil* 395: 31-44.
- Meller Harel Y., Haile Mehari Z., Rav-David D., Borenshtein M., Shulchani R. and Elad Y. (2014) Induced systemic resistance against gray mold in tomato (*Solanum lycopersicum*) by benzo-thiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. *Phytopathology* 104: 150-157.
- Mercier J. and Wilson C. L. (1994) Colonization of apple wounds by naturally occurring microflora and introduced *Candida oleophila* and their effect on infection by *Botrytis cinerea* during storage. *Biological Control* 4: 138-144.
- Mingde W., Jing Z., Long Y. and Guoqing L. (2014) RNA mycoviruses and their control in *Botrytis* biology. In: *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, Fillinger S. and Elad Y. (eds), Springer, pp. 1-15.
- Mitchel R. (1963) Addition of fungal cell wall compounds to soil for biological disease control. *Phytopathology* 53: 1068-1071.
- Moorman G. W. (2011) Organic and biological control of plant diseases. PennState Extension. <https://extension.psu.edu/organic-and-biological-control-of-plant-diseases>
- Nelson M. E. and Powelson M. L. (1988) Biological control of gray mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. *Plant Disease* 72: 727-729.
- Nygren K., Dubey M., Zapparata A., Iqbal M., Tzelepis G. D., Durling M. B., Funk Jensen D. and Karlsson M. (2018). The mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* responds with both common and specific gene expression during interspecific interactions with fungal prey. *Evolutionary Applications* 11: 931–949.

- Okon Levy N., Meller Harel Y., Haile Z. M., Elad Y., Rav-David E., Jurkevitch E. and Katan J. (2015) Induced resistance to foliar diseases by soil solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant Pathology* 64: 365–374.
- O'Neill T. M., Elad Y., Shtienberg D. and Cohen A. (1996) Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. *Biocontrol Science and Technology* 6: 139-146.
- Ordentlich A., Elad Y. and Chet I. (1988) The role of chitinase of *Serratia morcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 78: 84-88.
- Papavizas G. C., Lewis J. A. and Abd-El Moity T. H. (1982) Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.
- Paulitz T. C. and Matta A. (1999) The role of the host in biological control of diseases In: Albajes R., Gullino M. L., Van Lenteren J. C. and Elad Y. (eds), Kluwer Academic Publisher, Wageningen, the Netherlands, pp. 394-410.
- Pieterse C. M. J., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C. M. and Bakker P. A. H. M. (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology* 52: 347–375.
- Reithner B., Ibarra-Laclette E., Mach R. L. and Herrera-Estrella A. (2011) Identification of myco-parasitism-related genes in *Trichoderma atroviride*. *Applied Environmental Microbiology* 77: 4361–4370.
- Rodriguez-Kabana R., Kelley W. D. and Curl E. A. (1978) Proteolytic activity of *Trichoderma viride* in mixed culture with *Sclerotium rolfsii* in soil. *Canadian Journal Microbiology* 24: 487-490.
- Sarma B. K, Yadav S. K., Singh S. and Singh H. B. (2015) Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: Readdressing for enhancing efficacy *Soil Biology and Biochemistry* 87: 25-33.
- Schenk M. F., Hamelink R., Van der Vlugt R. A. A., Vermunt A. M. W., Kaarsenmaker R. C. and Stijger, I. C. C. M. M. (2010). The use of attenuated isolates of Pepino mosaic virus for cross-protection. *European Journal of Plant Pathology* 127: 249–261.
- Sher F. M. and Baker R. (1980) Mechanisms of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology* 70: 412-417.
- Spadaro D. and Droby S. (2016) Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science and Technology* 47: 39–49.
- Sztejnberg A., Galper S., Mazar S. and Lisker N. (1989) *Ampelomyces quisqualis* for biological and integrated control of powdery mildew in Israel. *Journal of Phytopathology* 124: 285–295.
- Thakkar A. and Saraf M. (2015) Development of microbial consortia as a biocontrol agent for effective management of fungal diseases in *Glycine max* L. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 48: 459-474.
- Tronsmo A. and Dennis C. (1977) The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 83 (Suppl 1): 449-455.
- Van Alfen N. K., Jaynes R. A., Anagnostakis S. L. and Day P. R. (1975) Chestnut blight: Biological control of transmissible hypovirulence in *Endothia parasitica*. *Science* 189: 890-891.
- Weller D. M. and Cook R. J. (1981) Pseudomonads from take-all conducive and suppressive soils. *Phytopathology* 70: 264 (Abstract).
- Whipps J. M. and Gerlagh M. (1992) Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research* 96: 897-907.

- Wood R. K. S. (1951) The control of diseases of lettuce by use of antagonistic microorganisms I The control of *Botrytis cinerea* Pers. Annals of Applied Biology 38: 203-216.
- Wood R. K. S. and Tveit M. (1955) Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. Botanical Reviews 21: 441-492.
- Weindling R. (1932) *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology 22: 837-845.
- Weindling R. (1934) Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology 24: 1153-1179.
- Weindling R. and Fawcett H. S. (1936) Experiments in the control in *Rhizoctonia* damping-off of citrus seedlings. Hilgardia 10: 1-16.
- Wisniewski M., Biles C., Droby S., MacLaughlin R. J., Wilson C. and Chalutz E. (1991) Mode of action of postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii* I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. Physiological and Molecular Plant Pathology 39: 245-258.
- Zheng L., Zhao J., Liang X., Zhan G., Jiang S. and Kang Z. (2017) Identification of a novel *Alternaria alternata* strain able to hyperparasitize *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat stripe rust. Frontiers Microbiology 8: 71.