

מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים

2. חיידקים שוכני עצה

אופיר בהר

המחלקה למחלות צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, רח' המכבים 68, ראשון לציון, ישראל

תקציר

מחלות חיידקיות המועברות על ידי וקטורים חרקיים הן מחלות בהן גורם המחלה מוגבל לרקמה ממנה ניזון הווקטור המפיץ אותן. כאן יתוארו החיידקים גורמי מחלה בצמחים המופצים על ידי חרקים מוצצי עצה ובהתאם שוכנים ברקמת העצה. מתוארים מאפיינים ייחודיים של גורמי מחלות שוכני עצה, תסמיני המחלה ומנגנוני האלימות של החיידקים, נסקרות מחלות משמעותיות הנגרמות על ידי חיידקים אלה והדרכים המקובלות והחדשות להתמודד עמן. באופן ספציפי נדבר על המין *Xylella fastidiosa* (קסיללה), שהינו פתוגן רב פונדקאי שבשנים האחרונות נמצא מחוץ ליבשת אמריקה וגרם לנזק ולבהלה אדירה באיטליה עם הפגיעה הנרחבת בגידול הזיתים בדרום המדינה. שנים ספורות מאוחר יותר התגלתה המחלה גם בישראל במטעי שקד בצפון הארץ. נתאר כאן את גילוייה, התפתחותה ונשאל האם כצעקתה.

אופן הציטוט: בהר א' (2021) מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים, 2. חיידקים שוכני עצה. 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/e51907>



מבוא

למעשה ישנם רק שני מיני חיידקים פתוגנים המועברים על ידי וקטורים חרקיים ומאכלסים את צינורות העצה של הצמח: *Xylella fastidiosa* ו- *Pseudomonas syzygii* (Purcell and Hopkins 2002). נעסוק במין *X. fastidiosa* (קסיללה) היות והוא המשמעותי מבין השניים הן בטווח הפונדקאים אותם הוא תוקף והן בנזק הכלכלי והחברתי לו הוא גורם. המין *X. fastidiosa* כולל בתוכו 4 תת-מינים עיקריים, (*fastidiosa*, *multiplex*, *pauca*, *sandyi*) ומספר רב של טיפוסים גנטיים הנקראים (ST) sequence types. טווח הפונדקאים של המין הוא רחב מאוד וכולל מעל ל- 350 מינים ידועים של צמחים (Janse and Obradovic 2010).

מחלות הנגרמות על ידי קסיללה מוכרות ביבשת אמריקה זה למעלה ממאה שנים, והפונדקאים המרכזיים הנתקפים הם גפן יין בצפון אמריקה (*subsp. fastidiosa*), והדרים בדרום אמריקה ובעיקר בברזיל (*subsp. pauca*). על אף מחקר רב שנים, טרם נמצאו פתרונות יעילים דיים להתמודדות עם מחלות אלו וההערכה היא כי בארה"ב לבדה הנזק המצטבר מהמחלה הוא כ- 104 מיליון דולר מדי שנה! על אף זאת, גם כאן, ובדומה למחלת הגרינינג, הייתה זו התפרצותה של המחלה ביבשת מרוחקת ממוקד המחלה העיקרי שהעלתה את המודעות העולמית לגורם מחלה חשוב זה. הכוונה כאן היא לזיהוי קסיללה בעצי זית בדרום איטליה, שדווח לראשונה בקיץ 2013 והשפיע באופן אולי חסר תקדים על תרבות הזית בדרום איטליה ואף מאיים להשמדה. גם כאן נעסוק במספר מחלות מפתח הנגרמות על ידי קסיללה בעולם ובישראל, ונעמוד על השונה והדומה בין מחלות חיידקיות שוכנות עצה לאלו שוכנות השיפה. (ראו פרק חיידקים שוכני שיפה 1).

מאפיינים כלליים של חיידקים שוכני עצה

בדומה לפיטופלסמה וליבריבקטר, גם לקסיללה גנום קטן משמעותית מזה של חיידקים פתוגנים שאינם תלויים בווקטור חרקי להפצה (טבלה 1 בפרק על חיידקים שוכני שיפה) והוא תלוי באופן מוחלט בווקטור חרקי להפצתו. יחד עם זאת, הגנום של קסיללה, הכולל כ- 2.5 מיליון בסיסים, גדול פי 4-2 מזה של חיידקי פיטופלסמה וליבריבקטר ולכן גם מאפשר גידול של קסיללה בתרבית מזון מלאכותית והשלמת מבחן קור.

ככלל, חיידקי קסיללה מהמינים השונים מועברים על ידי ציקדות ממשפחות שונות. בארה"ב הווקטורים העיקריים של קסיללה בגפן הם ה- sharpshooters המשתייכים למשפחת ה- Cicadellidae ואילו בברזיל הווקטורים משתייכים למשפחה זו ולמשפחות Cicadidae, Cercopidae (Cordeiro et al. 2014). בדומה לווקטורים של חיידקים שוכני שיפה, הווקטור החרקי רוכש את החיידק תוך כדי הזנה באמצעות חדקו, אלא שבמקרה זה הוא ניזון ממוהל תאי העצה. בשונה מחיידקי פיטופלסמה וליבריבקטר, החיידק קסיללה, אינו עובר במערכת העיכול של החרק אלא נשאר בחלל הראש. במקרה זה כמעט ולא קיימת תקופה לטנטית והחרק הופך אינפקטיבי שעות ספורות לאחר רכישת החיידק (Purcell and Finlay 1979).

תסמיני ההדבקה בחיידק קסיללה מופיעים לרוב חודשים רבים ואף שנים לאחר האילוח הראשוני והם בעלי מופע שונה בפונדקאים שונים. ככלל, תסמינים אופייניים בעצים כוללים הצהבה של עלים ובהמשך תמותת תאים בשטחים נרחבים של העלה המתבטאים ככתם נקרטי שמתחיל משולי העלה על פי רב, ומתקדם לכיוון פנים העלה. תסמין זה מכונה leaf scorch, או צריבת עלים והוא נפוץ בגפן, זית שקד ועצים נוספים (איור 1). תסמינים נוספים המשויכים לקסיללה כוללים עיכוב גדילה, נינוס, תמותה לאחור של ענפונים ודעיכה כללית של העץ (Janse and Obradovic 2010).

בתחילת העשור השני של שנות האלפיים הופיעה המחלה לראשונה מחוץ ליבשת אמריקה, כאשר זוהתה ב- 2013 בעצי זית בדרום איטליה. מקור החיידק היה ככל הנראה צמחי קפה שיובאו מקוסטה ריקה והיו נגועים בחיידק (Giampetruzzi et al. 2017). תת המין שנמצא באיטליה הוא *pauca*, כמו זה שגורם למחלת ה- CVC

בהדרים בברזיל, אם כי מטיפוס גנטי חדש שטרם דווח, ולו ניתן השם ST53. החיידק שהגיע לדרום איטליה מצא שם וקטור מתאים ונפוץ למדי, ציקדת רוק (spittlebug) מהמין *Philaenus spumarius*. ציקדה זו התגלתה כווקטור יעיל של המחלה, כך שתוך 3-4 שנים ממועד גילוי המחלה יותר מ-70% מהפרטים שנלכדו בקיץ באזור התפרצות המחלה נשאו את גורם המחלה. הנפוצות של הווקטור ויעילותו בהעברת החיידק, יחד עם זן זיתים דומיננטי ורגיש למדי שהיה באזור הובילו לתוצאה הרסנית. תוך פרק זמן של שנים ספורות, הושמדו מאות אלפי דונמים של עצי זית עתיקים, חלקם נפלו קורבן לחיידק עצמו וחלקם נעקרו על ידי הרשויות במטרה להאט את התפשטות המחלה (Saponari et al. 2019).



איור 1. תסמינים אופייניים למחלות הנגרמות על ידי קסיללה. א' תסמיני צריבת עלים (leaf scorch בעלי שקד); ב' תסמיני צריבת עלים בזית; ג' תסמיני צריבת עלים בגפן (Pierce's disease); ד' צריבת עלים כללית בעץ שקד נגוע בקסיללה; ה, כרם זיתים שנפגע מקסיללה באיטליה. צילום: אופיר בהר.

בשנים שלאחר הגילוי הראשוני של המחלה באיטליה, נמצאה המחלה גם בצרפת, ספרד, פורטוגל וישראל. המעניין הוא, שבמדינות אלו עצי זית כמעט ולא נדבקו במחלה, ותתי-המין של קסיללה שזוהו שם היו על פי רוב

שונים מאלו שנמצאים באיטליה. כך לדוגמה, תת-המין הנפוץ ביותר בספרד ובצרפת הוא multiplex, בעל טווח פונדקאים רחב אשר נמצא גם בצמחי נוי וגם בגידולים חקלאיים (Moralejo et al. 2019). בספרד נמצאה נגיעות מסיבית למדי באזור Alicante, שם נדבקו במחלה עצי שקד בני עשרות שנים. באיים הבלאריים, השייכים לספרד, גם נראתה הדבקה משמעותית למדי הן בשקד ובמידה פחותה יותר בגפן, אשר נמצאה נגועה בתת-המין fastidiosa, אותו תת מין אשר תוקף את הגפנים בצפון אמריקה. האיחוד האירופי פועל להכלת המחלה באמצעים שונים, חלקם קיצוניים למדי כדוגמת הסרה של כלל העצים הנמצאים ברדיוס של 100 מ' מכל עץ נגוע. כמו כן הנחה האיחוד האירופי לפעול בעקשנות כנגד הווקטור על ידי ריסוסים אינטנסיביים בקוטלי חרקים ועל ידי טיפול בעשבייה חד שנתית המהווה פונדקאי לווקטור בתקופת החורף-אביב. על אף מאמצים אלו, ממשיכה המחלה להתפשט באיטליה ונמצאת כיום (שנת 2020) כ-120 ק"מ צפונית לאזור בו זוהתה לראשונה.

מחלות הנגרמות על ידי קסיללה בישראל

האירועים באיטליה ומדינות נוספות באירופה העלו את הערנות בישראל למחלה, וסקרים יזומים בוצעו בגידולים שונים המראים תסמינים חשודים שעלולים להיות תוצאה של הדבקה בקסיללה. בקיץ 2016 בסיוור שנעשה למטעי שקד בעמק החולה נאספו דוגמאות מעצים בעלי תסמיני צריבת עלים, שיותר מאוחר התגלו כנגועים בקסיללה. הגילוי העלה חששות רבים, זאת לאור המגפה הקשה שהתרחשה באיטליה. סקרים שבוצעו בכלל אזורי גידול השקד בישראל הראו שהמוקד הנגוע ביותר בקסיללה נמצא בעמק החולה, וכי ישנם עצים נגועים בודדים בעמק יזרעאל ובדרום רמת הגולן. המחלה לא נמצאה במטעים מדרום לצומת מגידו. סקר רב שנתי שנערך במספר מטעים באזור עמק החולה ועקב אחר הופעת עצים סימפטומטיים חדשים הראה שלמעשה המחלה כמעט ואינה מתפשטת. בפרק זמן של שלוש שנים בהן נערך הסקר, מספר העצים הסימפטומטיים שהתווסף היה קטן ביותר ונראה היה שאין התפשטות של המחלה מעבר לעצים הסימפטומטיים שזוהו בשנה הראשונה. מאמצים לאתר וקטור למחלה לא הצביעו עד כה על אף חרק פוטנציאלי אשר נושא את גורם המחלה. כמו כן, המחלה לא נראתה בגידולים אחרים פרט לשקד.

אנליזה גנטית של תבדידי קסיללה מאזורים שונים בארץ הראתה שכלל התבדידים משתייכים לאותו טיפוס גנטי (ST1), השייך לתת-המין fastidiosa, כמו זה שבצפון אמריקה. נתונים אלו מצביעים על כך שתבדיד זה יכול להדביק גם גפנים, דבר שאומת מאוחר יותר במבחני אילוח בתנאי הסגר עם זנים שונים של גפן יין וגפן מאכל שכולם היו רגישים ביותר לחיידק המקומי. יחד עם זאת, עד כה לא נמצאו גפנים נגועות במחלה בכרם. כיום (שנת 2020), טרם הוברר כיצד הגיעה המחלה לישראל, וכיצד היא נפוצה כאן. הווקטור טרם נמצא, ופיזור העצים הנגועים אינו מתיישב עם הפצה באמצעות חומר ריבוי באופן בלעדי. יחד עם זאת, קצב התקדמות המחלה בארץ כפי שנבחן עד כה, שונה מאוד מזה המתואר בזיתים בדרום איטליה ועולות שאלות רבות לגבי המשך הפצת המחלה במטעי שקד ובגידולים אחרים. המחקר בנושא קסיללה בישראל עדין בעיצומו ורק ימים יגידו

מה מקור המחלה, כיצד הגיעה לישראל וכיצד הופצה בה, והאם היא עתידה להתפשט לגידולים נוספים או האם ניתן יהיה להכחידה.

מנגוני אלימות של החיידק קסיללה

בשונה מחיידקים פתוגנים רבים, ובדומה לחיידקים פתוגנים שוכני שיפה, הסוג קסיללה חסר את מערכת ההפרשה מסוג 3 שתוארה לעיל. יחד עם זאת, החיידק קסיללה מסוגל להפריש חלבונים באמצעות מערכות הפרשה אחרות המשחררות את אותם חלבונים אל תוך נוזלי העצה. בתוך אלו, ישנם אנזימים מפרקי דופן, ליפאזות, אסטראזות שלחלקם תפקיד מוכח בתהליך גרימת המחלה (Gouran et al. 2016; Nascimento et al. 2016) בחיידק קסיללה, אופיינה מערכת של חישת מניין (quorum sensing), המתווכת באמצעות חומצת שומן המשמשת כסינגל המיוצר ומופרש על ידי חיידקי קסיללה. מולקולת סינגל זו נקראת Diffusible signal factor (DSF) המקודדת על ידי הגן *rpfF* (Wang et al. 2012). לחיידקי קסיללה גן משלים המקודד לקולטן האחראי לחישה של מולקולת הסינגל והוא נקרא *rpfG*. בהגיע ריכוז ה-DSF לסף מסוים בסביבת החיידקים, מופעלים גנים רבים המובילים לשינוי אופי ההתנהגות הקבוצתית של החיידק. כך לדוגמא, הפעלה של מערכת חישת המניין מובילה ליצירה מוגברת של תלכידים ושל ביופילם על ידי החיידק אשר הופכת אותו לפחות נייד ברקמת הצמחית, אך מצד שני מספקת לו הגנה ומאפשרת לו להגיע לריכוז חיידק גבוה באזור מסוים בצמח (Beaulieu et al. 2013). בנוסף נמצא, כי מערכת חישת המניין קשורה גם לשחרור של שלפוחיות ממברנה חיצונית על ידי קסיללה, אשר להן השפעה משמעותית על אופי אכלוס צינורות הקסילים של הצמח (Ionescu et al. 2014) הראו כי בהעדר פעילות של מערכת חישת המניין קיים ייצור מוגבר של שלפוחיות ממברנה חיצונית, וכי נוכחותן של שלפוחיות אלו בצינורות הקסילים מובילה להפחתה בהיצמדות החיידק לדפנות לוחות הכברה ולמעשה מאפשרת לחיידק להתפשט למרחקים גדולים יותר בתוך הצמח ואף מוביל להופעת תסמינים חמורים יותר (Ionescu et al. 2014). לעומת זאת, הפעלה של מערכת חישת המניין מפחיתה את שחרור השלפוחיות ומובילה ליצירה מוגברת של ביופילם והיצמדות לדפנות התאים של לוחות הכברה.

התמודדות עם מחלות חיידקיות שוכנות עצה המועברות על ידי וקטורים חרקיים

ככלל, ההתמודדות עם מחלות שוכנות עצה דומה מאוד בעקרונותיה להתמודדות עם מחלות שוכנות שיפה (ראו פרק חיידקים שוכני שיפה). יחד עם זאת, אתאר בסעיף זה מספר דוגמאות ספציפיות לדרכים שהוצעו להתמודדות עם מחלות הנגרמות על ידי חיידקים שוכני עצה (קסיללה).

1. הבראה של עצים נגועים - בדומה לחיידקים שוכני שיפה, גם במקרה של חיידקים שוכני עצה קיימת מעט מאוד התמודדות ישירה כנגד החיידק. קיים חוסר בחומרים סיסטמיים שיוכלו לתקוף את גורם המחלה מצד אחד, ומצד שני לא יהיו רעילים לצמח או יגרמו להרג של אוכלוסיית מיקרואורגניזמים שפועלת לטובת הצמח. השימוש

באנטיביוטיקה, גם אם יעיל במבחני מעבדה, איננו סיסטמי על פי רוב, בוודאי לא אם מרוסס על גבי העלווה ודורש היתר מיוחד לשימוש חקלאי.

בשנים האחרונות הוצע טיפול במדבירים ביולוגים להדברת גורם המחלה בצמח. צוות חוקרים מאוניברסיטת קליפורניה שבברקלי השתמש בחיידק *Paraburkholderia phytofirmans* strain PsJN. טיפול בחיידק זה הוביל להפחתת ריכוז קסיללה בגפנים באופן דרמטי הן בתנאי מעבדה והן בתנאי שדה (Baccari et al. 2019). יחד עם זאת טיפול בתבדיד PsJN לפני ההדבקה בקסיללה היה הרבה פחות יעיל.

2. צמחים עמידים - על אף מחקר רב שנים על קסיללה, לא נמצאו צמחים עמידים למחלה. כן נראו עמידויות בדרגות שונות (סביליות), אך לא עמידות מוחלטת. אולם, בשנת 2020 הציגה אוניברסיטת קליפורניה בדיוויס מספר זני יין אשר לטענתה הראו עמידות מוחלטת לקסיללה. הזנים פותחו על ידי החוקר Andy Walker ורשומים כפטנט של האוניברסיטה אך טרם פורסמו מחקרים מדעיים בנושא פיתוחם ו/או עמידותם למחלה (Quinton 2019). אם אכן זנים אלו יהיו עמידים באופן מוחלט למחלה תהיה זו פריצת דרך בהתמודדות עם מחלת Pierce's disease בארה"ב בפרט ומחלות קסיללה בעולם בכלל, שכן ניתן יהיה ללמוד ממנגנון העמידות של זנים אלו וליישמו במידת האפשר בגידולים הרגישים האחרים.

סיכום

מחלות הנגרמות על ידי קסיללה צפויות להמשיך ולהתפשט בעולם. מעת לעת יש להניח שהמחלה תגיע למקומות בהם יתקיימו תנאים המעודדים התפרצות של מגיפה כמו זו שתוארה בזיתים בדרום איטליה. נכון להיום לא נראה באופק שום פתרון שיכול למנוע התפרצויות שכאלו, אך חובה עלינו לנסות להבין טוב יותר את מכלול הגורמים המובילים למחלה בכדי לפתח כלים יעילים ומגוונים יותר שיאפשרו התמודדות טובה יותר עם מחלות אלו. העובדה שניתן לבודד חיידקי קסיללה ולבצע מניפולציות גנטיות בגורם המחלה ובצמחים מאפשרת למחקר ללמוד את גורם המחלה והמחלות להן הוא גורם יותר לעומק ולספק לחקלאים פתרונות חדשים וטובים כמו אלו שצוינו בפרק זה וטומנים בחובם תקווה גדולה.

עתיד המחלה בישראל אינו ברור, קצב התקדמות המחלה איטי בהרבה מזה שהכרנו מדרום איטליה ושחששנו ממנו, אך האם המחלה באמת נמצאת בשליטתנו? כנראה שלא. הגעה לא צפויה של וקטור חרקי מתאים, שינוי פתאומי במזג האוויר, חדירה של טיפוס אלים נוסף, כל אלו יכולים לטרוף את הקלפים ולא רק שנראה החרפה של המחלה בשקד יתכן וגם נראה הפצה של המחלה לפונדקאים נוספים כגון גפן, נשירים אחרים ואף זיתים. כל אלו מצריכים כמובן המשך ניטור רציף של המחלה ומעקב הדוק אחר התפתחותה על מנת שכל שינוי בהתנהגות המחלה יתגלה מוקדם ככל שניתן. כמו כן, על אף תחושת ההקלה הקיימת כיום בנוגע לנזק שיגרם מהמחלה, המשך מחקר מקומי בנושא פתרונות למחלה בשקדים כגון פיתוח זני שקד עמידים וטיפול בחומרים שונים צריכים להיות מוקדמים בתקופה זו כך שאם וכאשר המצב יחריף נהיה מוכנים לכך.

- Baccari C., Antonova E. and Lindow S. (2019) Biological control of Pierce's disease of grape by an endophytic bacterium. *Phytopathology* 109:248–256.
- Beaulieu E. D., Ionescu M., Chatterjee S., et al (2013) Characterization of a diffusible signaling factor from *Xylella fastidiosa*. *MBio* 4:e00539-12.
- Cordeiro A. B., Sugahara V. H., Stein B. and Leite Junior R. P. (2014) Evaluation by PCR of *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* transmission through citrus seeds with special emphasis on lemons (*Citrus limon* (L.) Burm. f). *Crop Protection* 62: 86–92.
- Giampetruzzi A., Saponari M., Loconsole G., et al (2017) Genome-wide analysis provides evidence on the genetic relatedness of the emergent *Xylella fastidiosa* genotype in Italy to isolates from Central America. *Phytopathology* 107: 816–827.
- Gouran H., Gillespie H., Nascimento R., et al (2016) The secreted protease PrtA controls cell growth, biofilm formation and pathogenicity in *Xylella fastidiosa*. *Scientific Reports* 6: 31098.
- Ionescu M., Zaini P. A., Baccari C., et al (2014) *Xylella fastidiosa* outer membrane vesicles modulate plant colonization by blocking attachment to surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A* 111:E3910–E3918.
- Janse J. D. and Obradovic A. (2010) *Xylella Fastidiosa*: Its biology, diagnosis, control and risks. *Journal of Plant Pathology* 92: S35–S48.
- Moralejo E., Borràs D., Gomila M., et al (2019) Insights into the epidemiology of Pierce's disease in vineyards of Mallorca, Spain. *Plant Pathology* 68: 1458-1471.
- Nascimento R., Gouran H., Chakraborty S., et al (2016) The type II secreted lipase/esterase LesA is a key virulence factor required for *Xylella fastidiosa* pathogenesis in grapevines. *Scientific Reports* 6: 18598.
- Purcell A. H. and Finlay A. (1979) Evidence for noncirculative transmission of Pierce's disease bacterium by sharpshooter leafhoppers. *Phytopathology* 69: 393–395.
- Purcell A. H. and Hopkins D. L. (2002) Fastidious xylem-limited bacterial plant pathogens. *Annual Reviews of Phytopathology* 34: 131–151.
- Saponari M., Giampetruzzi A., Loconsole G., et al (2019) *Xylella fastidiosa* in olive in apulia : Where we stand. *Phytopathology* 109: 175–186.
- Wang N., Li J-L., Lindow S.E. (2012) RpfF-dependent regulon of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology* 102: 1045–1053.