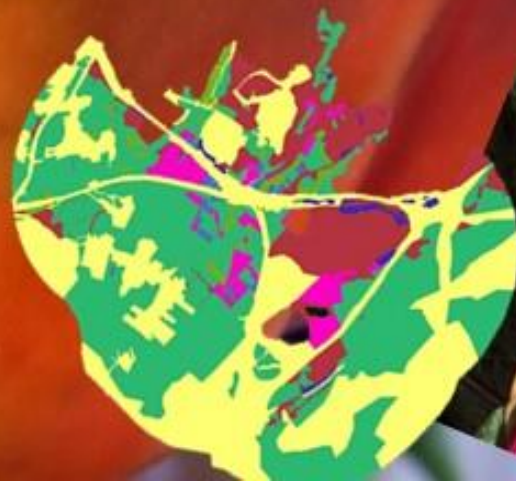
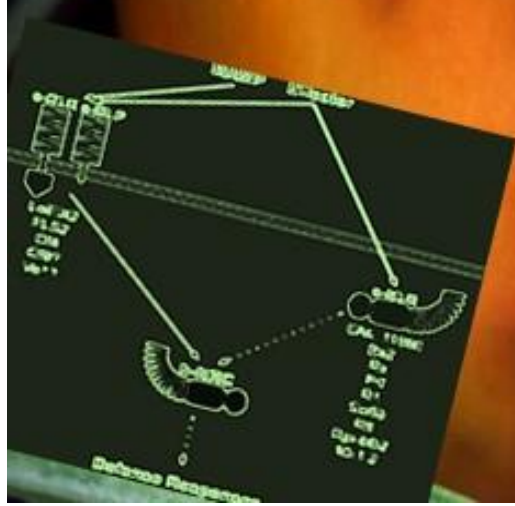
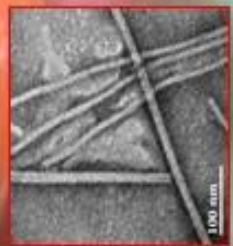


תובנות חדשות במחלות צמחים

עורכים:

יגאל אלעד, אביב דומברובסקי,
שולמית מנוליס-ששון ודוד עזרא



תובנות חדשות במחלות צמחים

New insights in plant diseases

עורכים: יגאל אלעד, אביב דומברובסקי, שולמית מנוליס-ששון ודוד עזרא

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר
החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון

אופן הציטוט: אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', עורכים (2021) תובנות חדשות במחלות צמחים.
הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים, מנהל המחקר החקלאי – מכון וולקני, 403 ע'

<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51876>

עמוד	כותרות פרקים, מחברים וקישורים
6	הקדמה
7-24	1 מחלות צמחים - יגאל אלעד, אביב דומברובסקי, שולמית מנוליס-ששון ודוד עזרא https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51880
25-45	2 מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים בישראל - שולמית מנוליס-ששון ולאה צרור https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51889
46-55	3 גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגניים לצמחים - שולמית מנוליס-ששון, לאורה צ'לופוביץ ויצחק ברש https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51898
56-71	4 מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקים, א' חיידקים שוכני שיפה - אופיר בהר https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51904
72-78	5 מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקים, ב' חיידקים שוכני עצה - אופיר בהר https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51907
79-96	6 שיטות אבחון לגילוי ולזיהוי של חיידקים גורמי מחלות בצמחים - שולמית מנוליס-ששון ולאורה צ'לופוביץ https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e54588
97-115	7 מנגנוני הדברה ביולוגית - יגאל אלעד https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51913
116-129	8 הדברה מיקרוביאלית באמצעות פטריות אנטומופתוגניות - ניצן בירנבאום, ויקטוריה ריינגולד, סבינה מטבייב ודנה מנט https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e55398
130-142	9 תנועת נגיפים מתא לתא בצמח - זיו שפיגלמן וחסיה האק

<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51977>

- 143-163 10 תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים - מירב לייבמן-מרקוס ומיה בר
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51974>
- 164-186 11 השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים - מירב לייבמן-מרקוס, מיה בר ויגאל אלעד
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52037>
- 187-214 12 השפעת יסודות הזנה על מחלות צמחים - יגאל אלעד
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52967>
- 215-227 13 בקרת מחלות צמחים באמצעים קולטורליים - יגאל אלעד
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51961>
- 228-236 14 היבטים מרחביים של התפשטות מחלות צמחים במערכות חקלאיות - ליאור בלנק
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51948>
- 237-252 15 השפעת שינויי אקלים על מחלות צמחים - יגאל אלעד וליאור בלנק
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51910>
- 253-257 16 אפידמיולוגיה מרחבית ושימוש במדע הנתונים לחקר תהליכים אפידמיולוגיים, מקרי מבחן - ליאור בלנק ויפית כהן
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51955>
- 258-267 17 מודל מרחבי-עתי בסקלה אזורית המתאר את הדינמיקה בזמן ובמרחב של כימסון בתפוח-אדמה - בנג'מין פירסטר, דני שטיינברג וליאור בלנק
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51952>
- 268-277 18 הדינמיקה של התפשטות קמחון הגפן בזמן ובמרחב בסביבה החקלאית - הלנה קרסנוב, דודו חקוקי, יפית כהן, שמוליק עובדיה וליאור בלנק
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51958>
- 278-288 19 הגורמים המשפיעים על התפתחות מחלת הקימלון (Mal Secco) בזמן ובמרחב בפרדסי לימון בישראל - מרים בן חמו, דוד עזרא, הלנה קרסנוב וליאור בלנק
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51943>
- 289-302 20 מחלות צמחים ממשפחת הדלועיים וטיפול לעמידות - רוני כהן
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51922>
- 303-312 21 הרכבות דלועיים בישראל, המצב הקיים ואתגרי העתיד - רוני כהן ומנחם אדלשטיין
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51919>
- 313-323 22 מקרופומינה בכותנה – הדגמת תהליכי מחקר באינטראקציה בין פתוגן, צמח וסביבה - רוני כהן ומיטל אלקבץ
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51916>
- 324-335 23 מחלות גחלון (אנתרקנוז) בגידולים שונים - סטנלי פרימן
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52034>

- 336-359 24 פתוגנים סימביוטיים כמחוללי מחלות צמחים: נגע האמברוזיה בישראל - צביקה מנדל, אלכסיי פרוטסוב, מרסל מימון וסטנלי פרימן
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e55413>
- 360-367 25 מחלות פטרייתיות בקנביס - סטנלי פרימן, שחר ירושלמי ומרסל מימון
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e53255>
- 368-403 26 מחלות תפוח-אדמה בישראל - לאה צרור
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e57737>

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

אופן הציטוט:

אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', עורכים (2021)
תובנות חדשות במחלות צמחים.
 הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים, מנהל המחקר החקלאי – מכון וולקני. 403
 ע' <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51876>



מחברים

מרסל מימון	אביב דומברובסקי	הלנה קרסנוב	אופיר בהר
דנה מנט	זיו שפיגלמן	שולמית מנוליס-ששון	ליאור בלנק
ניצן בירנבאום	חגית האק	לאורה צ'לופוביץ	דני שטיינברג
ויקטוריה ריינגולד	לאה צרור	יגאל אלעד	דודו חקוקי
סבינה מטבייב	סטנלי פרימן	מיה בר	מרים בן חמו
	שחר ירושלמי	מירב לייבמן-מרקוס	דוד עזרא

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

רוני כהן
מחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי

לאה צרור
המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מרכז מחקר גילת, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, גילת

מנחם אדלשטיין
המחלקה לחקר ירקות וגידולי שדה, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי

צביקה מנדל
המחלקה לאנטומומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

יפית כהן
המחלקה להנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון, המכון להנדסה חקלאית, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

בנג'מין פירסטר
תיכון האנטר, ניו יורק, ארה"ב

שמוליק עובדיה
יקבי כרמל

יצחק ברש
המחלקה למדעי הצמח ואבטחת מזון, הפקולטה למדעי החיים, אוניברסיטת תל אביב, תל אביב

הקדמה

מחלות צמחים ביוטיות מסבות נזקים חמורים לגידולים חקלאיים, יערות ובכל מקום בו גדלים צמחים. מחלות אלו נגרמות על ידי אואומיצטים, פטריות עילאיות (Dikarya) [פטריות שק (Ascomycota) ופטריות בסיסה (Basidiomycota), חיידקים (Bacteria) וחיידקונים (Phytoplasma), ברגונים (Spiroplasma), נגיפים (Viruses) ונגיפונים (Viroides)]. במחלקה לפתולוגיה של צמחים חוקרים אספקטים שונים של מחלות צמחים בהם משולבים גורמי מחלה (פתוגנים), צמחים רגישים ותנאי סביבה מתאימים. המחקרים נעשים ברמת התא הבודד, איבר הצמח ויחידת הריבוי של הפתוגן, הצמח השלם, אוכלוסיות הצמחים ואוכלוסיות גורמי המחלה ואפילו התרחשות מגפות והתנהגותן ברחבי אזורים שונים.

במעשה החקלאי, כאשר מגדלים צמחים בשדות ומטעים, על פני שטחים גדולים, מתרבים גורמי המחלות ומתעצמים. כדי למצוא פתרונות למחלות צמחים המחקר עוסק בהכרת גורמי המחלה, מחזור חייהם, תגובות הצמח החולה ברמות הפיסיולוגית והמולקולרית הן מבחינת הגן הבודד ומכלול הגנים בצמח ובפתוגן, תנאי הסביבה מעודדי המחלה והתנאים המשפיעים על הישרדות גורם המחלה. תהליכי פתוגנזה והידע על האינטראקציה בין גורם מחלה לצמח נלמדים ומתוארים במערכות צמח-פתוגן שונות. הן כוללות שרשראות של תהליכים בתאי הפתוגן והצמח ותגובה הדדית ביניהם. בספר הנוכחי נסקרים התנאים המשפיעים על התפתחות מחלות והדרכים להתמודדות עמן על ידי שינויים של תנאים ברמות שונות. תנאי סביבה עשויים להשפיע על הפתוגן בצורה שונה בשלבים שונים של מחזור חייו וכך גם על רגישות הצמח. בקרת מחלות מנצלת את הגורמים המגבילים את ההדבקה והתפתחות המחלה, נסמכת על עמידות גנטית ומושרית ומנצלת אמצעים תרבותיים (אגרוטכנים) וכימיים.

הספר על תובנות חדשות במחלות צמחים, פרי עבודתם של חוקרי וחוקרות המחלקה ושותפיהם במכונים ומוסדות מחקר בישראל, מוסיף נדבכים רבים ועדכניים על פרסומים בספרים ובכתבי עת אשר פורסמו והודפסו במאה שעברה ועסקו במחלות פטרייתיות (אואומיצטים נכללו), חיידקים ונגיפים. בספר מודגש בעיקר הידע הרב שהצטבר במהלך פעילות המחלקה תוך הדגשת ההתקדמות הרבה שנעשתה בתחום בשנים האחרונות. הספר נכתב בעברית על מנת להנגיש את נושא מחלות צמחים על כל היבטיו גם לתלמידים, מדריכים, חקלאים ולכל המתעניין.

יגאל אלעד, אביב דומברובסקי, שולמית מנוליס-ששון ודוד עזרא,

1.2021

פרק 1: מחלות צמחים

יגאל אלעד, אביב דומברובסקי, שולמית מנוליס-ששון ודוד עזרא

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

פגעי צמחים גורמים נזקים מצטברים רבים לצמחים בתרבות, בבר ובחקלאות. פגעי צמחים מדבקים נגרמים אל ידי אורגניזמים ומיקרואורגניזמים ובהם אוואמיצטים, פטריות עילאיות (Dikarya) שמתחלקות לפטריות שק (Ascomycota) ופטריות בסיסה (Basidiomycota), חיידקים (Bacteria) וחיידקונים (Phytoplasma), ברגונים (Spiroplasma), נגיפים (Viruses) ונגיפונים (Viroides). מחלת צמחים מתרחשת כאשר קיימים במשולב גורם מחלה (פתוגן), צמח רגיש ותנאי סביבה מתאימים. התנאים המשפיעים על התפתחות מחלות כאשר קיימים גורם מחלה וצמח רגיש הינם טמפרטורה, לחות יחסית ורטיבות נוף, רטיבות קרקע, pH של הקרקע, סוג הקרקע (קלה או כבדה וחרסיתית) או מצע הגידול, יסודות הזנה ופטריות הקרקע. במעשה החקלאי, כאשר מגדלים צמחים בצפיפות, על פני שטחים גדולים ולעיתים ללא תחלופת גידולים, מתרבים גורמי המחלות ועשויות להתעצם. כדי לבקר מחלת צמחים יש צורך להכיר את גורם המחלה, מחזור חייו, תגובת הצמח החולה, תנאי הסביבה מעודדי המחלה והתנאים המשפיעים על הישרדות גורם המחלה. תהליכי פתוגנזה והידע על האינטראקציה בין גורם מחלה לצמח משתנים בין מערכות צמח-פתוגן שונות. הן כוללות שרשראות של תהליכים בתאי הפתוגן והצמח ותגובה הדדית ביניהם. תנאי סביבה עשויים להשפיע על הפתוגן בצורה שונה בשלבים שונים של מחזור חייו ומשפיעים גם על רגישות הצמח. בקרת מחלות מנצלת את הגורמים המגבילים את ההדבקה והתפתחות המחלה, נסמכת על עמידות גנטית ומושרית ומנצלת אמצעים תרבותיים (אגרוטכנים) וכימיים. בפרק זה יתוארו בקיצור אספקטים שונים הקשורים למחלות צמחים ובמהלכו יציגו הפרקים בהם ניתנת הרחבה בכל נושא.

אופן הציטוט: אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (2021) **מחלות צמחים**, פרק 1, ע' 7-24 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני 8, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51880>



מבוא

פגעי צמחים גורמים נזקים מצטברים רבים לצמחים בתרבות, בבר ובחקלאות. הפגעים נגרמים על ידי גורמים א-ביוטים שאינם מדבקים (non-infectious) או שהינם ביוטיים מדבקים (זיהומי, Infectious). פגעי צמחים מדבקים נגרמים אל ידי אורגניזמים ומיקרואורגניזמים ובהם אוואמיצטים, פטריות עילאיות (Dikarya) שמתחלקות לפטריות שק (Ascomycota), פטריות בסיסה (Basidiomycota) וזיגומיצטים (Zygomycota), חיידקים (Bacteria) וחיידקונים (Phytoplasma), ברגונים (Spiroplasma), נגיפים (Viruses) ונגיפונים (Viroides). בנוסף, פוגעים בצמחים פרוקי

רגליים (חרקים ואקריות), נימיות (Nematodes), חלזונות (Mollusca), מכרסמים, ציפורים, עשבים, צמחים טפילים ועוד, אך אלה אינם נמנים על גורמי מחלות הצמחים ולא יידונו כאן.

על פגעי הצמחים שאינם מדבקים נמנים פגיעות פיזיות ופגיעות אברי צמח, עודף או מחסור ביסודות מזון, מחסור, עודף או חוסר איזון באיכות וכמות האור, קרינה חזקה, לחות יחסית לא מתאימה, מחסור או עודף מים, יחס לא מתאים של רטיבות קרקע וחמצן, תגובה חומצית או בסיסית קיצונית של הקרקע ותמיסת הקרקע, טמפרטורה נמוכה או גבוהה, פגיעה מחומרי הדברה או מחומרים אחרים באוויר ובקרקע, גורמים מכניים, ומבנה הקרקע ודחיסותה. השפעה ישירה של גורמים אלה אינה מענינו של פרק זה אבל השפעתם על גורמי המחלה המדבקים הינה חשובה, וההשפעה על מחלות צמחים הינה חלק חשוב מהמחקר הפיטופתולוגי (מדע מחלות הצמחים, Phytopathology).

צמחים הגדלים בסביבה טבעית או כחלק מגידול חקלאי נראים בדרך כלל כבריאים אך לעיתים הצמחים הבודדים או קבוצה של צמחים יסבלו ממחלות הפוגעות בהתפתחותם. מחלת צמחים הינה ליקוי ופגיעה במצבו הנורמלי של צמח אשר מפריעים או משנים את אפיוני גידולו ותפקודו. כל מיני הצמחים, צמחי בר וצמחי תרבות, מושפעים ממחלות במידה מועטה או רבה, כל מין צמחים ורשימת המחלות האופייניות לו ובכל מקרה רק חלקן הן מחלות חשובות ומשפיעות במין צמחים מסוים. התרחשות, שכיחות וחומרה של מחלת צמחים יכולה להשתנות בעונות השנה השונות ובשלבי גידול שונים ותלויה בנוכחות גורם הפגיעה, תנאי המיקרואקלים בהם נמצא הצמח, אפיוני הסובב את הצמח וקיום רקמת צמח רגישה.

אופי הגידול וטיב הזן משפיעים על הופעת המחלה במעשה החקלאי. מינים זנים של צמחים הינם רגישים או אינם רגישים להתפרצות מחלות בהם ובחלקם פותחה העמידות למניעת נזקים בגידול חקלאי. בסביבה הטבעית ובגידולים חקלאיים מחלות צמחים הינן חלק טבעי ממהלך התפתחותם של צמחים. בסביבה הטבעית לוקחות המחלות חלק ביחסים ובשיווי המשקל שבין פרטים ובין מינים של צמחים אך במעשה החקלאי למחלה לא תהיה חשיבות כל עוד הצמח נמצא בשיווי משקל עם גורם המחלה והמחלה אינה מסבה נזק כלכלי לאיכות היבול וכמותו בעת גידול הצמח, לאחר קטיף או בעונות גידול עוקבות. מחלת צמחים מתקיימת באברי צמח חיים והיא חלק מתהליכי החיים ברקמות ותאי הצמח. נזק ממחלה מתחיל בנזק ברמה התת-תאית ומתפתח לקבוצת תאים ולרקמה שלמה. גורם המחלה נמצא בקשר ישיר עם תאי הצמח; בדרך כלל עם חלקם, אך השפעתו הינה נרחבת יותר מאשר חלקי הרקמה הצמחית איתם הוא נמצא במגע ישיר.

כפועל יוצא, צמח בריא הינו כזה שנמצא בשיווי משקל עם תנאי הסביבה ועם גורמים ביוטיים שבסביבתו הקרובה ובתוכו, ואשר מתקיימים בו תהליכים פיזיולוגיים פנימיים ללא הפרעה בהתאם לצרכיו. צמח יכול להיות בריא במועד מסוים ובמועד אחר יופרעו תהליכי קיומו והתפתחותו והוא יהיה חולה.

נזקי מחלות צמחים ומגפות

כאשר בקבוצה של צמחים השפעת המחלה מתגברת באופן ניכר ומשפיעה על צמחים רבים תוך כדי התגברות בשכיחות ובחומרה, המחלה נמצאת במצב של מגפה (Epidemic = על בני אדם, ובמונח נכון יותר Epiphytotic = על צמחים). בניגוד למגפה, מחלה יכולה להיות אנדמית (Endemic ונכון יותר Enphytotic עבור צמחים) כאשר המחלה מופיעה ברמה קבועה באותו שטח בכל שנה ובדרך כלל אף אינה מעוררת פעילות כנגדה. מגפה עשויה להשפיע על שעור גבוה באוכלוסיית הצמחים ולא בשטח נרחב והנזק הנגרם על ידה עשוי להיות ניכר. התחום המדעי העוסק בהתפתחות מגפות בצמחים הינו האפידמיולוגיה ומחקרים בתחום זה מוצגים בפרקי הספר בנושא. ייתכנו מגפות כאלה כאשר תנאי הסביבה הופכים להיות מתאימים ביותר להתפתחות המחלה, גורם מחלה חדש מגיע לאזור בו לא היה

לפני כן, זן הצמחים ורגישותו השתנו. דוגמאות לכך הן מגפות של כשותית הריחן הנגרמת על ידי האוואמיצט *Clavibacter* בבזיל (איור 1, Elad et al., 2016), כיב חיידקי הנגרם על ידי *Peronospora belbahrii* (איור 2, Sharabani et al., 2013), מגפת נימור-פלפל מתון *michiganensis* subsp. *michiganensis* בעגבנייה (איור 3, Antignus et al., 2008), הפטרייה *Alternaria* *Tobamovirus* (PMMoV) בפלפל (איור 3, Gat et al., 2012).



איור 1. מגפת כשותית הריחן
(*Peronospora belbahrii*) בשדה
בזיל בשנת 2011.
(תמונה על ידי יגאל אלעד)



איור 2. מגפת כיב חיידקי הנגרם על ידי *Clavibacter*
michiganensis subsp. *michiganensis*
(תמונה על ידי יגאל אלעד)

מחלות צמחים היו חלק מהצמחייה וגידול הצמחים מקדמת דנא. גורמי מחלות צמחים מזוהים במאובני צמחים בני 250 מיליון שנים. בתנ"ך ובכתבי חז"ל מוזכרים שידפון, ירקון, קמחין, נשירה וריקבון שורש או פרי אשר חלקם נובע מגורמים ביוטים (נבו, 1992). מחלות צמחים היו חלק מהתפתחות החקלאות (קטן, 1998).

איור 3. מגפות נגיף בגידול ירקות:

נימור פלפל מתון *Pepper mild*

mottle virus (PMMoV)

Tobamovirus בחממה באזור

הבשור.

תמונות על ידי יגאל אלעד



בהיסטוריה האנושית החדשה ידועות מגפות בצמחים שונים אשר הביאו לנזקים חקלאיים ואנושיים רבים, עד כדי נזקים כלכליים חמורים ואפילו רעב המוני ונדידה מסיבית של בני אדם. כימסון בתפוח אדמה (אואומיצט *Phytophthora infestans*) באירופה החל מ-1845, קימחון הגפן (פטרייה, *Uncinula necator*) וכשותית הגפן (אואומיצט, *Plasmopara viticola*) בצרפת ב-1851 ו-1878, חלדון הקפה (פטרייה, *Hemileia vastatrix*) בציילון משנות השבעים של המאה התשע עשרה, מגלת בכותנה ופשתה (שני *Fusarium oxysporum* forma speciales), נבילה חיידקית בטבק בתחילת המאה העשרים (*Ralstonia solanacearum*), מחלות כתמי עלים סיגטוגה שחורה (*Mycosphaerella fijiensis*) ונבילת הבננה (מחלת פנמה, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) בבננה במרכז אמריקה במאה ה-20. מחלת טריסטזה (התמוטטות פתאומית בהדר, ניקרון ההדר, *Citrus tristeza virus* (CTV) מגפת קימלון (*Plenodomus tracheiphilus* [syn. *Phoma tracheiphila*]) בעצי לימון הגורמת לתמותת עצים ותוקפת גם בהדרים אחרים הפכה לגורם נזק חשוב (איור 4, Mawassi et al., 1993, 4) בהדרים הפכה למגיפה בשנות ה-70 של המאה ה-20 בישראל, בסוף שנת 2014 זוהה בארץ טובמווירוס חדש *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) השובר את הגן לעמידות *Tm-2²* הקיים בזני עגבנייה מסחריים, לאחר כשנה המחלה הופצה והתבססה בכל אזורי גידול העגבנייה בארץ (איור 5, Luria et al., 2017, 5). בשנים האחרונות, ToBRFV זוהה גם ביבשות ומדינות רבות בעולם וכיום נחשב לאחד מהנגיפים הבעייתיים ביותר בגידול עגבנייה בעולם.

נזקים בגידולים חקלאיים מתרחשים בכל עת. נזק המביא לרעב של אוכלוסייה, בייחוד בארצות מתפתחות, מתרחש מדי פעם ואף צפוי להתעצם עם שינויי האקלים בעתיד (ראו פרק על שינוי אקלים). בהעדר אמצעי הדברה נאותים עשויים להגיע נזקי מחלות הצמחים ל-30-50% במהלך הגידול בגידולים חשובים ולכן השפעת מחלות הצמחים הינה רבה באזורים מסוימים. בנוסף, נזקי מחלות לאחר הקטיף, בעת האחסון, המשלוח והשיווק מביאים לאבדן תוצרת רבה בהעדר תנאים מתאימים (ברקאי-גולן, 1997). הנזקים לפני ואחרי קטיף ממחישים את התלות באמצעי הדברת מחלות ואת הצורך בפיתוח כלים להדברה יעילה. בפרק הנוכחי יתוארו מאפיינים כלליים של מחלות צמחים ביוטיות ותחומי מדע הפיטופתולוגיה העוסק במחלות אלה. שם זה (Phytopathology באנגלית) מקורו ביונית ומשמעותו לימוד (logos) הסבל (מחלה = pathos) של הצמח.

איור 4. מגפות חמורות בהדרים.

א' טריסטזה (התמוטטות פתאומית בהדר, ניקרון ההדר, *Citrus tristeza virus* (CTV) בעץ מהזן אור מורכב על חושחש. תמונה על ידי מוניר מואסי



ב' קימלון (*Plenodomus tracheiphilus* [syn. *Phoma tracheiphila*]) בעצי לימון הגורמת לתמותת עצים (תמונה על ידי יגאל אלעד ודוד עזרא)



איור 5. נגיף קמטים חומים בפרי העגבנייה *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) *Tobamovirus* השובר את העמידות מסוג *Tm-2²* בזני עגבנייה מסחריים. תמונות על ידי אביב דומברובסקי



גורמי מחלות בצמחים נמצאים בקשר של פתוגנזה עם צמחים. פתוגנזה היא השלב של המחלה בו גורם המחלה או חומרים שהוא מייצר נמצאים בקשר בלתי אמצעי עם רקמה צמחית חיה. תהליכי הפתוגנזה הינם א' אילוח (Inoculation) - הגעה של גורם המחלה לאתר ההדבקה שבו תתבצע החדירה לרקמת הצמח. אתר זה נמצא בפני אברי הנוף או השורש, על פני רקמה לא פצועה, בפצעים, פיוניות, הידטודות, עדשתיות (Lenticels) או פתחים טבעיים אחרים; ב' דגירה (Incubation) - תקופה שבין הגעת הפתוגן לאתר ההדבקה לזמן הופעת סימני המחלה, בתקופה זאת חודר הפתוגן לרקמת הצמח, גדל ומתרבה בה; ג' זיהום (הדבקה = Infection) - הופעת תסמיני המחלה תוך התבססות הפתוגן ברקמה והתפשטותו. היכולת להדביק ולגרום למחלה מבוססת על פקטורים של וירולנטיות ובהם רעלנים, אנזימים מפרקי פולימרים שבדופן תאי הצמחים, הורמונים המשפיעים על הגידול התקין של תאי הצמח או פקטורים המופרשים על ידי מערכת ההפרשה מסוג 3 של חיידקים (Type III Secretion System) ומערכות אחרון כגון מערכת מסוג 5 (פרק על גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגנים לצמחים).

פתוגנים יכולים להיות בעלי אופי ביוטרופי, נקרוטרופי או המי-ביוטרופי. ביוטרופים (טפילים בהכרח) נזקקים לרקמת צמח חיה לשם קיום חייהם ורק שלב מוגבל ביותר, כמו נביטת נבגים היכולה להתקיים במים בהעדר הצמח. דוגמות לפתוגנים ביוטרופים הינן פטריות הגורמות למחלות קימחון וחלדון בצמחים שונים, נגיפים, חיידקים וחיידקונים. גורמי מחלה נקרוטרופיים, בחלק ממחזור חייהם, לא נמצאים בקשר עם הצמח החי וניזונים מרקמה מתה ומחומר אורגני כמו חיידקים המפרישים טוקסינים (לדוגמה *Pseudomonas syringae*) או אנזימים פקטוליטיים (מיני *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*), פטריות כגון גורמי עובש אפור (*Botrytis cinerea*), קשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*), גרב (מיני *Venturia*), מק שורש (*Rhizoctonia solani*) ואואומיצטים כגון גורמי המקמקת (מיני *Pythium*). פתוגן המיביוטרופי הינו בעל שלב ביוטרופי אך בשלב אחר בכדי להשלים את מחזור חייו ובעיקר בכדי להנביג, הוא "הופך" לנקרוטרופי ומתקיים מרקמת צמח מתה הוא הורג על ידי הפרשת רעלנים, אנזימים וחומרים אחרים בדומה לנקרוטרופים. לדוגמה האואומיצט *Phytophthora infestans* הגורם לכימסון בעגבנייה ותפוח אדמה הינו בעל שלב מוקדם רדום, ביוטרופי ועם התמוטטות רקמת הצמח האואומיצט מתפתח על חומר צמחי רקוב ומת.

סימני מחלה ותסמינים (סימפטומים)

תיאור מחלה מתבסס על תסמינים (סימפטומים, Symptoms) וסימנים (Signs). סימנים, בדרך כלל ייחודיים למחלה, הינם מבנים שהפתוגן יוצר או שנוצרים תוך אינטראקציה בין הפתוגן והמאחסן, לדוגמה נבגי פטרייה, קורים ונבגים היוצרים עובש כדוגמת עובש אפור (*Botrytis cinerea*) וקורים לבנים בקשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*), צברי נבגים של חלדונות שונים, נבגים וקורים לבנים של קימחונות שונים, קשיונות פטרייה סביב צמח נגוע (*Sclerotium rolfsii*) זיבת נוזל (Ooze) המכילה חיידקים בחירכון (*Erwinia amylovora*), ריח ברקמה נגועה בריקבון רך חיידקי (*Pectobacterium carotovorum*) (איור 5). תסמינים של מחלה הם המכלול הנראה בצמח כתוצאה ממחלה ובכלל זה הצהבה, התייבשות רקמה, כתמים, נבילה, עפצים, כיבים, גימדון. התסמינים יכולים להיות מקומיים או סיסטמיים ורחוקים מאתר ההדבקה. ביחד עם סימני המחלה נוצר מכלול (סינדרום) המחלה.

את המחלות ניתן לאבחן בדרכים שונות. הגישה החזותית בוחנת את הסימנים והתסמינים לפי מראם ובהתאם לידע מוקדם באשר למחלה בגידול הנבחן. באמצעות מיקרוסקופ ניתן לזהות מיקרואורגניזמים על גבי הצמח או לאחר בידודו וגידולו של גורם הנזק. כדי לבודד ולאבחן את גורם המחלה יש צורך לערוך מבחנים שונים המתאימים לסוגים **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **12**

השונים של גורמי המחלה (ראו פרק שיטות אבחון מתקדמות למחלות הנגרמות ע"י חיידקים בצמחים). כדי להוכיח את אחריותו של גורם המחלה פועלים לפי עקרונות קוך (Koch's postulates) לפיהם א' מבודדים מיקרואורגניזם מרקמה חולה וכזה שהיה בקשר הדוק עם המחלה בצמח, שומרים בתרבית נקייה ובמידת האפשר מזהים אותו באמצעים קלאסיים, סרולוגיים או מולקולריים; ב' אילוח צמח בריא מאותו מין בתרבית נקייה של גורם המחלה הנבחן ואיתור סימנים ותסמינים של המחלה כפי שנראו במקור בצמח החולה; ג' בידוד מחדש של גורם המחלה מהצמח המודבק וזיהויו כדי לוודא התאמה למיקרואורגניזם שבודד מהצמח החולה (קטן, 1998).



איור 5. סימנים ותסמינים במחלות צמחים. למעלה מימין לשמאל: חירכון בחנט אגס (*Erwinia amylovora*), סימפטום ריקבון וסימן נוזל זיבה עם חיידקים (Ooze) במרכזו; קימחון הדלועיים (*Podospaera xanthii*) בעלה מלפפון, סימני קורים ונבגים לבנים וסימפטום הצהבה, הבהרת העלה והלבנה; קשיון רולפס (*Sclerotium rolfsii*) באיריס עם סימפטומי נבילה ותמותה וסימני קשיונות של הפטרייה. למטה מימין לשמאל: סימפטומי ריקבון והצהבה בקשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*) בעגבנייה וסימני תפטיר לבן וקישיון; סימפטום ריקבון בפרי תות שדה נגוע בעובש אפור (*Botrytis cinerea*) וסימני נבגי הפטרייה; סימפטום הצהבה והתייבשות עלה וסימני חילדון עלי החיטה (*Puccinia triticina*).

קבוצות מחוללי מחלות ביוטיים

מחוללי מחלות נמנים על אורגניזמים ומיקרואורגניזמים לפי מאפיינים טקסונומיים (מתואר בהמשך). חלקי הצמח הנתקפים על ידי מחוללי המחלות אף הם מהווים אפיונים לחלוקה של קבוצות מחוללי מחלות. מחלות המועברות בקרקע התוקפות שורשים וחלקי צמח תת קרקעיים נגרמות על ידי מיקרואורגניזמים שהקרקע והשורשים מאכלסים אותם במירב או בכל מחזור חייהם. על מחלות המועברות בקרקע נמנים נגיפים כגון אלו המשתייכים לסוג *Tobamovirus* (טובמווירוסים) *Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)*. אך ידועים גם נגיפים המועברים בקרקע ע"י זואוספורות של פטריות קרקע כדוגמת מחלת העורקים המעובים של החסה המועברת באמצעות מיני אולפדיום (*Olpidium*). המחלה נגרמת כתוצאה מהדבקה בנגיף *Mirafiori lettuce big-vein virus (MLBVV)* ולעיתים כקומפלקס נגיפי בשילוב עם הנגיף *Lettuce big-vein associated virus (LBVaV)* (Opatovsky et al., 2019). כמו כן בקרקע חיידקים *Agrobacterium tumefaciens* או *Streptomyces scabies* אאומויצטים כגון מיני *Pythium*, ופטריות כגון *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* מיני *Verticillium* והם מושפעים מתנאי הקרקע, מאכלסים את הריזוספירה ותוקפים בדרך כלל את חלקי הצמח התת-אדמתיים.

מחלות נוף נגרמות על ידי פתוגנים של חלקי הצמח העל קרקעיים – גבעול, ענפים, עלים, פרחים ופירות. על גורמי המחלה נמנים נגיפים ונגיפונים רבים, חיידקים כגון *Erwinia amylovora*, אאומויצטים כגון *Phytophthora infestans* ומינים רבים הנמנים על סוגים כגון *Peronospora*, *Pseudoperonospora*, *Bremia* מחוללי הכשותיות, פטריות כגון *B. cinerea*, מחוללי מחלות חילדון, קימחון ועוד. מחלות לאחר קטיף (אחסון) תוקפות את התוצר החקלאי לאחר שהופרד מהגידול. הן נגרמות בדרך כלל על ידי חיידקים, פטריות ובכללן שמרים ובמקרים רבים מקור המידבק וההדבקה עצמה נובעים בשדה המניב אך מתבטאים רק לאחר קטיף.

נגיפים ונגיפונים – Viruses and viroids

הקטנים בין גורמי מחלות צמחים הינם נגיפים ונגיפונים (לובנשטיין, 1993). החלקיק המדביק נקרא ויריון אשר גדלו בין 20 ל-400 ננומטר. לנגיפים יש מעטפת מבנית (Capsid) עשויה חלבון ואילו הנגיפונים הינם חסרי חלבון מבני. בהיותם טפילים אובליגטוריים יכולים יצורים אלה להתרבות בתוך תאי הצמחים הפונדקאים ובדרך כלל לכל צמח יש כמה נגיפים ו\או נגיפונים התוקפים אותו וגורמים נזק. דוגמאות לכמה מחלות נגיפיות הן *Potato virus Y* בתפוח אדמה, *Cucumber mosaic virus (CMV)* בעגבנייה, פלפל ומיני דלועיים כגון *Melon* ואבטיח, הדרים *Citrus tristeza virus (CTV)*.

סימפטומים של מחלות נגיפיות כוללים שינויי צבע – הצהבה, נינוס, נימור, הבהרת עורקים או הבהרה בין העורקים; עיוותים - עיוות עלים ופרחים, יצירת שושנת עלים (Rosette), הנצה וגידול מוגבר של ענפים (מקובל לקרוא לתופעה זו 'מטאטא מכשפה', העדר התפתחות עלים; תמותה (נקרוזה) – כתמי עלים, כתמים טבעתיים, פסים, נבילה והחלשות הצמח, תמותה פנימית; נינוס – של עלים גבעולים וכלל הצמח (איור 6). צמחים נגועי נגיף עשויים להיות רגישים לגרמי מחלה נוספים (ראו פרק שילוב גרמי מחלה). נגיעות בנגיף עשויה להיות רדומה. מעבר נגיפים והדבקה עשויים להיות במגע, בפצעי צמח, בשורשים פצועים, הרכבה, אבקת צמחים ובזרעים. נגיפים רבים מועברים על ידי פרוקי רגליים. כנימות עלה משמשות כווקטורים נפוצים ולצדם ציקדות, תריפסים, קמחיות וחגבים. לעיתים משמש הווקטור גם כאתר ריבוי לנגיף. מעט נגיפים מועברים בקרקע ולהם לעיתים וקטורים בדמות נימיות ורכיכות.



נגיפי הבהרה והצהבה בדלועיים *Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV) Crinivirus*
 בעלה מלפפון (שמאל) וגימרון דלועיים צהוב *Cucurbit yellow stunting disorder (CYSDV)*
Crinivirus בעלה מלפפון (ימין למעלה) ובמנרת
 מלון.



נגיף כתמי נבילת העגבנייה *Tomato spotted wilt virus (TSWV) Tospovirus* בשתילי פלפל (ימין) ובשתילי עגבנייה (שמאל)



נגיף צהבון אמיר העגבנייה *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) Begomovirus* בעגבנייה ונגיף נימור-חציל מתון *Eggplant mild mottle virus (EMMV) Cucumovirus* בחציל



נגיף צהבון אמיר הפלפל *Pepper yellow leaf curl virus (PYLCV)*



נגיף מוזאיקת המלפפון *Cucumber mosaic virus (CMV) Cucumovirus* בפלפל



נגיף כתמי נבילת העגבנייה *Tospovirus Tomato spotted wilt virus (TSWV)* בפלפל

איור 6. מגוון תסמיני מחלות הנגרמות על ידי נגיפים בגידולי ירק, כמפורט מתחת לתמונות שלעיל. תמונות על ידי יגאל אלעד, אביב דומברובסקי וזיו שפיגלמן

חיידקים, חיידקונים וברגונים - Spiroplasma, Phytoplasma Bacteria

כפי שמתואר בפרק על חיידקים (ראו פרק חיידקים) החיידקים הינם מיקרואורגניזמים פרוקריוטים חד תאיים אשר חומר הגרעין שלהם לא נתון בתוך ממברנה (וולקני, 1985; קריצמן, 1998). חיידקים מתחלקים לשתי קבוצות, Eubacteria ו-Archaeobacteria לפי מבנה דופן התא, הממברנה הציטופלסמטית ואפיונים מטבוליים. פתוגנים של צמחים נמנים על ה Eubacteria אשר כוללים שלוש קבוצות: חיידקים גראם שליליים, חיידקים גראם חיוביים (שונים במבנה הדופן ומגיבים שונה לצביעת גראם) ואורגניזמים דמויי מיקופלסמה (mycoplasma-like organisms (MLOs)), הלא הם חיידקונים (Phytoplasma) וברגונים (Spiroplasma). המיקרואורגניזמים דמויי המיקופלסמה הינם בעלי ממברנה ציטופלסמטית וחסרי דופן תא. הם גורמים בדרך כלל למחלות צמחים שמאופיינות בדעיכת הצמח, אבדן און הגידול ופחיתה ביבול או בהורקה של פרחים והתפתחות צמח לא נורמלית (ראו פרקי חיידקים, וחיידקים שוכני עצה וחיידקים שוכני שיפה).

סוגים של חיידקים פתוגנים כגון *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Xylella* הם מיקרואורגניזמים שתאיהם בצורת מתג ברוחב 0.5-1.0 מיקרומטר ואורך 1.0-3.5 מיקרומטר. בנוסף קיימים מיני *Streptomyces* שהינם חיידקים בעלי מבנה של קורים המפתחים מקלעת קורים ושרשראות נבגים מעוקלות. החיידקים גורמים לנבילה הנובעת מסתימת צינורות הובלה, ריקבון רך, נמק יבש (נקרוזיס) או עפצים. דוגמאות למחלות הנגרמות על ידי חיידקים: ריקבון רך חיידקי בגידולים רבים (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*), נבילה חיידקית (*Clavibacter Dickeya solani*), עפץ חיידקי (*Agrobacterium tumefaciens*, *Pantoea agglomerans*), *Pseudomonas michiganensis* ומיני *Pseudomonas*, עפץ חיידקי (*Streptomyces*) וכתמי עלים חיידקיים הנגרמים ע"י חיידקים מקבוצות שונות כמו מיני *Pseudomonas*. חדירת החיידקים לצמחים הינה דרך פצעים, פתחים טבעיים כגון פיוניות והידטודות, בלוטות מייצרות נקטר וצלקות. הם נפוצים עם טיפות מים, גשם, מועברים בהרכבה, גיזום, על חומר ריבוי ובזרעים ובאמצעות חרקים. לדוגמא, העברת חיידקונים בגזר נעשית על ידי ציקדות ונגרמת מחלת ציהבון. תיאור מפורט על חיידקים גורמי מחלות בצמחים יובא בפרקי מחלות הנגרמות ע"י חיידקים בצמחים בישראל.

ממלכת הפטריות כוללת אורגניזמים אאוקריוטים ובה נכללים שמרים ופטריות רב תאיות יוצרות קורים. תאי הפטריות כוללים גרעין עטוף בממברנה ובעלי דופן תא, ואין בהן כלורופיל לכן הן הטרוטרופיות. רבות מהפטריות יוצרות נבגים אל-מיניים ולחלקן שלב מיני שבו לנבגים המיניים חשיבות בהדבקת צמחים. קוטר קורי הפטרייה או נבגיה עשוי להיות מיקרונים בודדים ובמקרים רבים ממדי התאים מגיעים לעשרות מיקרונים. פטריות גורמות לכשני שלישי ממחלות הצמחים הביוטיות. חלק מהמחלות הנגרמות על ידי פטריות הינן סוגי חילדון רבים, סוגי קימחון רבים, גחלון, גרב, סוגי פחמון, כתמת, כיבים, עובשים, ריקבון, שורש, גבעול, פרי, גזע פרחים ועלים, נבילה, מללת (Dieback), עפצים באברי צמח שונים ובנבטים וצמחים צעירים - חולי נופל. כל הגידולים נתקפים על ידי פטריות.

הנבגים שנוצרים בגדלים שונים הינם רבים ונישאים בזרמי אוויר, בטיפות מים, בקרקע, עם חלקי צמח ושאריות צמחים נגועים ועם חרקים וציפורים והם אחראים להדבקת צמחים בתנאים מתאימים, אם כי גם קורי פטרייה, קשיונות ותאי הישמרות אחרים אחראים במקרים שונים להדבקה. בעבר נכללו בין הפטריות גם האואומיצטים כפטריות ירודות (קטן וחוב', 1998) אך חלוקה סיסטמתית חדשה הפרידה את האואומיצטים מממלכת הפטריות.

אואומיצטים כוללים כמה מהפתוגנים הקשים ביותר של צמחים. הם גורמים לתמותת נבטים, ריקבון שורש וגזע, כימשון ומחלות עלים ופרי בגידולים שונים. לאואומיצטים יש קורים אם כי אין בהם מחיצות בדרך כלל כך שהקורים הם רבי גרעינים. הגרעינים בדרך כלל דיפלואידים. דופן התאים מורכב מ β -1,3 ו- β -1,6 גלוקנים ולא כיטין המצוי בפטריות. מיני אואומיצטים רבים יוצרים זואוספורות שהן נבגים חסרי דופן שוחים בעלי צמד שוטונים. הזואוספורות נוצרות במבנים הנקראים ספורנגיה. במינים בהם אבדה יכולת יצור הזואוספורות הספורנגיום משמש כנבג. שלב מיני מתרחש במפגש בין אואוגוניום לאנטרידיום והאואוגוניום המופרה מתפתח לאואוספורה עבת דופן אשר במקרים רבים שורדת זמן רב.

גורמי מחלה הנמנים על האואומיצטים הינם מיני כשותיות רבים התוקפים מיני צמחים שונים וגורמים בדרך כלל פגיעות בעלים. מיני *Pythium* גורמים בעיקר למחלות נבטים ושורש. מיני *Phytophthora* גם הם פתוגנים חשובים ובניהם *P. infestans* גורם הכימשון בתפוח אדמה ועגבנייה הינו מחשובי הפתוגנים בהיסטוריה האנושית ועד היום. מינים נוספים *Phytophthora* גורמים מחלות בעצים ובהם ריקבון רטוב של גזעי עצים, ושורשים וריקבון חום בפירות הדר (איור 7).

מחקרים חדשים מדווחים על חשיבות השילוב בין גורמי מחלה שונים אשר תוצאתה החמרה בחומרת מחלות. לדוגמא, התמוטטויות נרחבות בעלות אפי כתמי כפי שמתרחש במחלות קרקע קיים בחממות מלפפון בצמחים הנגועים בנגיף *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV). הצמחים בנוסף לנגיף נגועים גם ב-*Pythium* והנגיעות המשולבת בשני פתוגנים אלו מביאה להחמרת המחלה המתבטאת באפקט סינרגיטי. שני מיני *Pythium* עיקריים מעורבים, *Pythium spinosum* בתנאי החורף ו-*P. aphanidermatum* בתקופת הקיץ החמה והפתוגן הגורם לריקבון כתר המלפפון, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum* (Philosoph et al., 2019). כלי מחקר חדשים ישפכו אור על מקרים נוספים של אינטראקציה סינרגיסטית בין גורמי מחלה. בעתיד מחקר מעמיק יחשוף את תופעת החמרת נזקים בגידולים כתוצאה משילוב בין גורמי מחלה ויצביע על צורך בשכלול ושילוב במאמצי הדברה.



איור 7. דוגמאות למחלות הנגרמות על ידי אואומיצטים. למעלה מימין כימשון (*Phytophthora infestans*) בעלה תפוח אדמה ופרי עגבנייה (משמאל) תמונות על ידי יגאל אלעד, בשורה אמצעית מימין כשותית הדלועיים (*Pseudoperonospora cubensis*) במלפפון ומשמאל כשותית הגפן (*Plasmopara viticola*), תמונות על ידי יגאל אלעד ובשורה התחתונה מימין ריקבון חום בהדרים על פרי קלמנטינה מזן אור (*Phytophthora nicotianae*), התמונה צולמה על ידי אברהם סדובסקי; ומשמאל עץ לימון בן 10 שנים נגוע ב *Phytophthora citrophthora*, נגיעות הגורמת להפרשת שרף (גומוזיס) ומחלת ריקבון שורש, צולם על ידי עמוס עובדיה בפרדס בכפר בילו.

תהליכי פתוגנה

פתוגנה נלמדה במספר רב של גורמי מחלה אך הידע באשר לדרכי גרימת המחלה על ידי פתוגנים שונים הינו מגוון ומשתנה בהתאם לפתוגן, צמח הפונדקאי, שנות המחקר והאמצעים שהיו מצויים בידי החוקרים באותה עת. תהליך ההדבקה נשלט על ידי מספר גורמים חיצוניים ופנימיים בפתוגן ובצמח ומתבצע תוך כדי אינטראקציה בין גורמים שמפעיל הפתוגן לגורמים המופעלים בצמח. לוקחים חלק באינטראקציה אנזימים מפרקי דופן תאי הצמחים (מיני פקטינאזות וצלולאזות, קוטינאז, ליפאז ופרוטאזות) המופעלים על ידי הפתוגן והצמח, רעלנים המופרשים על ידי הפתוגן, אפקטורים מסוג 3, מערכי הגנה של תאי הצמח ופעולות התמודדות של הפתוגן עם מערכי ההגנה וחומרים מעכבים של הצמח. מעורבים בצמח חלבונים והורמונים צמחיים ומתרחשים תהליכי שיעתוק ושפעול גנים אשר קשורים בתהליכי ביוסינטזה ופירוק של חומרים שונים.

התהליכים בצמח ובפתוגן נשלטים על ידי גנים רבים המפקחים חיובית או שלילית על שלבים שונים בתהליכי הפתוגנה בפתוגן והתמודדות הרקמה בפונדקאי. מערך ההגנה בצמח מורכב מאמצעים קבועים וקיימים בקוטיקולה, בדפנות תאים ובתוכם ומתהליכים המושרים על ידי הפתוגן ובהם הבססה (אלקליזציה) ופרץ תרכובות חמצן וחנקן פעילות, המתרחשות תוך זמן קצר ממועד זיהוי הפתוגן על ידי הצמח, וכן בתגובות מורכבות וממושכות, הכוללות שינוי של דפוס ביטוי הגנים בצמח, וכתוצאה, שינוי מערך החלבונים והמטבוליטים (ראו פרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים). אינפורמציה נוספת מופיעה בפרק גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגנים לצמחים.

הישרדות גורמי ריבוי של פתוגנים

הישרדות גורמי ריבוי של מחלות צמחים מושפעת מתנאי המיקרוואקלים. ככל שהטמפרטורה תהיה גבוהה יותר כן משרך ההישרדות ושעור גורמי הריבוי השורדים יפחתו. גרעון לחץ אדים גבוה יותר (לחות יחסית נמוכה יותר) פוגע ביכולת ההישרדות של גורמי ריבוי. בנוסף, בעת הישרדות בקרקע נתונים גורמי הריבוי של הפתוגנים לפרוק מיקרוביאלי. פתוגנים הנתונים בשאריות צמחים ישרדו זמן רב בהיותם מוגנים על ידי הרקמה הצמחית שמסביבם. בדומה, פתוגנים המועברים בקרקע ישרדו ברגבי אדמה. לגורמי מחלה מסוימים יש אמצעי הישרדות המאפשרים מעבר תנאים קשים ובהם, נבגים עבי דופן, כלמידוספורות, אואוספורות (באואומיצטים) קשיונות שהן צברי תאים דחוסים. חיידקים יכולים להישרד טוב יותר על ידי יצירת ביופילים ויצירת נבגים (ספורות) עמידים. במקרים מסוימים פתוגן משתמש בפונדקאי נוסף בכדי לשרוד תקופה בשנה בה הפונדקאי הראשי שלו לא מאפשר קיום מחזור חיים של הפתוגן כך לדוגמה הפטרייה *Colletotrichum acutatum* התוקפת תות שדה עשוי לחרוף על עשביה (Freeman et al., 2001).

תנאי סביבה המשפיעים על מחלות צמחים

התנאים המשפיעים על התפתחות מחלות כאשר קיימים גורם מחלה וצמח רגיש הינם טמפרטורה, לחות יחסית ורטיבות נוף, רטיבות קרקע, pH של הקרקע, סוג הקרקע (קלה או כבדה וחרסיתית) או מצע הגידול יסודות הזנה ופוריות הקרקע (ראו פרק בקרת מחלות צמחים באמצעים קולטורלים).

לכל פתוגן ומחלה יש תנאי מיקרוואקלים להתפתחות ולכל אחד מתנאי הסובב יש טמפרטורות המאפשר את התפתחות הפתוגן והתרחשות המחלה. בכל פתוגן שלבים שונים כגון נביטה, גידול קורים, חדירה לרקמה, התפתחות, התרבות בתוך התא או הרקמה, יצירת אברי ותאי הישמרות, הנבגה, והפצת מדבק, מושפעים יותר על ידי סט של תנאים מסוים ולא על ידי תנאים אחרים. בגורם מחלה אחד, כל שלב עשוי להיות מושפע במידה שונה מאותו גורם

סביבתי. לדוגמא, בפטרייה *B. cinerea* מחוללת עובש אפור בגידולי רבים, יצירה, פיזור ונביטה של הנבגים על הרקמה הצמחית נעשים בתנאי טמפרטורה שונים. יצירת הנבגים מתרחשת בטיפת מים ומוגברת על ידי לחות יחסית גבוהה בעוד שחרור ופיזור הנבגים מתרחש בעת השתנות הלחות היחסית מגבוהה לנמוכה. נביטת נבגים דורשת נוכחות טיפת מים בעוד גידול קורי הפטרייה בתוך הרקמה לא מצריך לחות יחסית גבוהה ורטיבות מסביב לרקמת הצמח המודבקת כי בתוך הרקמה מצויים תנאי רטיבות מיטבית. הטמפרטורה המיטבית ליצירת מחלת העובש האפור הינה 15-22 מ"צ וטווח הטמפרטורה הינה 1-25 מ"צ אך טווח ההישרדות הינו רחב יותר.

מחלות צמחים ככלל או שלבים מסוימים במחזור החיים של גורם המחלה מושפעים מלחות יחסית כך שיש כאלה שהינם מוגברי לחות ואחרים שלחות יחסית גבוהה אינה דרושה להם. לדוגמא, כימשון עגבנייה ותפוח אדמה (*P. infestans*) הינה מחלה מוגברת לחות אשר מתעודדת בלחות יחסית גבוהה ודורשת רטיבות לתנועת זואוספורות והדבקה. לעומת זאת הדבקה בקמחונות רבים אמנם מעודדת בלחות יחסית גבוהה אך הנבגים מתים בטיפת מים מחד ומאידך המחלה שורדת במידה רבה על גבי נוף הצמחים בתנאי לחות יחסית נמוכה.

רטיבות קרקע גבוהה או נמוכה עשויה להיות הגורם בהתפתחות מחלות ריקבון שורש. מיני פתוגנים הנמנים על הסוגים *Aphanomyces*, *Pythium*, *Phytophthora* מעודדים ברטיבות קרקע גבוהה. עודף השקיה וריבוי מים בקרקע מפחיתים את זמינות החמצן לשורשים ומעלות את ריכוז הפחמן הדו חמצני בקרקע כך שהשורשים עשויים להפוך לרגישים יותר לאורגניזמים הגורמים לריקבון שורשים. לעומת זאת קישיון הבטטה (*Macrophomina phaseoli*) בגידולים שונים וגרב מצוי בתפוח אדמה (*Streptomyces scabies*) הינם חמורים בתנאי רטיבות קרקע נמוכה כך שהקפדה על רטיבות נאותה יפחיתו את נזקיהן של מחלות קרקע אלה.

תהליכי התגוננות בצמחים אף הם מושפעים מתנאים כגון, טמפרטורה וריכוז יסודות הזנה, תנאים אשר עשויים לקבוע את מידת יכולת ההגנה, הופעת מחלה או חומרת המחלה. לחילופין ייתכנו תנאים שימנעו מחלה בגידולים שונים ואילו באחרים יגרמו נזק. בטמפרטורה נמוכה (>6 מ"צ) נמנע ריקבון בפירות ובירקות שונים. לעומת זאת לא ניתן למנוע מחלות הנגרמות על ידי חיידקים ופטריית בבזיל מתוק מאחר ובטמפרטורה מתחת ל-11 מ"צ נפגעת הרקמה בעלי הצמח הקטוף. מאחר ותנאים להדבקה והתפתחות מחלה הינם לעיתים גורם הכרחי לקיומן הבקרה שלהם עשויה למנוע את המחלה, כמתואר בהמשך ובפרק הדברה תרבותית.

הזנת הצמח משפיעה גם היא על מחלות צמחים (Engelhard, 1989). ריכוז גבוה של חנקן מעודד מחלות מסוימות כגון חירכון (*Erwinia amylovora*) באגס או תפוח, מחלות עובש אפור (*B. cinerea*) וקשיונה גדולה (*S. sclerotiorum*) בגידולים מסוימים, קימחון (*Blumeria graminis*) בחיטה וקמחונות נוספים. לעומת זאת מחלות עשויות להיות חמורות בתנאי ריכוז נמוך של יסודות אשלגן, סידן ומגניזיום (ראו פרק הזנה ומחלות צמחים).

בקרת מחלות צמחים

המצב הנפוץ יותר במערכות צמחים טבעיות הוא העדר מחלה או קיום הצמחים בצד גורמי המחלות. במעשה החקלאי, כאשר מגדלים צמחים בצפיפות, על פני שטחים גדולים ולעיתים ללא תחלופת גידולים, מתרבות המחלות ואף עלולות להתעצם. כדי לבקר מחלות צמחים יש צורך להכיר את גורם המחלה, מחזור חייו, תגובת הצמח החולה, תנאי הסביבה מעודדי המחלה והתנאים המשפיעים על הישרדות גורם המחלה.

בקרת מחלות מתחילה עוד לפני תחילת הגידול, בעת בחירת מין הצמחים, הזן, חומר הריבוי, בעת הכנת השטח ועד אופן הזריעה או השתילה, והאמצעים בשדה המשפיעים על גידול הצמחים והתנהגות גורמי המחלה. בקרת המחלות הינה מאמץ מתמשך במהלך הגידול וממשיך להיות חשוב גם לאחר הקטיף, בעת המשלוח והאחסון. מאחר

ובדרך כלל מחלת צמחים אינה מודברת על ידי אמצעי הדברה בודד, בכל שלבי בקרת המחלות יש צורך להפעיל במשולב אמצעים תרבותיים (אגרוטכניים), כימיים וביולוגים (ראו פרקים בנושא). מאמצי בקרת נזקים מועצמים מאחר ובדרך כלל הגידול נתקף על ידי מחלות, פרוקי רגליים, עשבים ועוד פגעים – כולם ביחד דורשים הדברה משולבת. לצורך התמודדות עם מחלת צמחים ננקטות פעולות כנגד המדבק של גורם המחלה, הרחקת מדבק ומניעת הגעתו לצמח, השמדת גורם המחלה, הגנת הצמח, פיתוח עמידות בצמחים וריפוי הצמח הנגוע.

הימנעות מגורם מחלה חשובה כדי שלא יבוא במגע עם הצמחים וזאת באמצעות השמדת מדבק, הרחקת חומר ריבוי מזוהם, חיטוי חומר הריבוי והפעלת כללי הסגר. כשהפתוגן נמצא בשטח יש צורך בחיטוי הקרקע ובהוספת תוספים לקרקע אשר פועלים נגד הפתוגנים, או באמצעי סניטציה, גיזום חילוף גידולים ('מחזור זרעים') וכיוצא בזה. הגנה ישירה על הצמח מתקבלת באמצעים תרבותיים (ראו פרק) ובקרת הסובב את הצמחים הן לשינוי תנאי המיקרואקלים והן להזנה מתאימה (ראו פרק השפעת שינויי אקלים ופרק הזנה ומחלות צמחים). ניתן לבקר את הווקטורים של המחלות וליישם חומרי הדברה אשר מעכבים או הורגים את גורמי המחלה או משרים את עמידותו (ראו פרק השראת עמידות). בין חומרי ההדברה ומשרני העמידות קיימים חומרים כימיים ותכשירים ביולוגים. מבין חומרי ההדברה יש כאלה אשר לא רק מגנים בפני הדבקה עתידית אלא גם מרפאים את הצמח המודבק. עקב אכילס של הפסטיצידים הכימיים היא השפעתם על אורגניזמים אחרים ופגיעה בסביבה, וכן הנטייה לאובדן יעילות בגלל פיתוח עמידות כלפיהם על ידי חלק מגורמי הפגע. האמצעי היעיל ביותר הוא עמידות של הצמח כנגד הפגע כלפיו בעבר הזנים הקיימים היו רגישים. העמידות הגנטית יכולה להיות מונוגנית, ספציפית ועמידות אופקית, לא ספציפית המבוססת על ריבוי גנים.

עמותה ישראלית למחלות צמחים

מחלות צמחים הן מעניינים של חקלאים, אנשי הגנת הצומח, מדריכים חקלאיים, פקחי הגנת הצמח, אנשי תעשיות חקלאיות וחברות תשומות לחקלאות וחוקרים. העמותה למחלות צמחים בישראל מאגדת את העוסקים ומתעניינים במחלות צמחים. העמותה נוסדה בשנת 1968 ופועלת במגוון צורות לקידום נושאים הקשורים למחלות צמחים בישראל. בין היתר הנהלתה מארגנת כינוסים מדעיים בנושאי מחלות צמחים יישומיים ובסיסיים. באתר העמותה מצויה רשימת שמות עבריים של מחלות צמחים המופיעים בצד שמות המחלות באנגלית ושמות גורמי המחלה (אלעד וחוב). אלה הם השמות העבריים הרשמיים וגורמי המחלה המזוהים בישראל באמצעים הקיימים.

מקורות

אלעד י', אושר ר', דינור ע', לוי ע', סקוטלסקי י', שפיגל ש' וכסלו מ' מחלות צמחים.

<https://phytopathology.org.il/%D7%9E%D7%97%D7%9C%D7%95%D7%AA-%D7%A6%D7%9E%D7%97%D7%99%D7%9D/>

ברקאי-גולן, ר' (1997) מחלות הפרי והירק הקטופים, התפתחותן והדברתן. הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן 223 ע'.

וולקני צ' (1985) מחלות חיידקים בצמחים בישראל. מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן ומוסד ויצמן לפרסומים במדע, ירושלים. 380 ע'.

נבו ד' (1992) פגעים בגידולים חקלאיים והדברתם בארץ-ישראל בתקופת המקרא והמשנה. עבודת דוקטוראט, אוניברסיטת בר אילן 390 עמ'.

קטן י' (1998) מחלות ומעורריהן, א' עקרונות היסוד של מחלות צמחים. בספר מחלות צמחים בישראל, הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן, עורכים: רותם י', פלטי י' ובן יפת י', ע' 17-29.

קטן י', קנת ר' וחת א' (1998) מחלות ומעורריהן, ב' מחלות פטריות. בספר מחלות צמחים בישראל, הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן, עורכים: רותם י', פלטי י' ובן יפת י', ע' 31-39.

קריצמן י' (1998) מחלות ומעורריהן, ג' חיידקים מחוללי מחלות צמחים. בספר מחלות צמחים בישראל, הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן, עורכים: רותם י', פלטי י' ובן יפת י', ע' 17-29.

לובנשטיין ג' (1993) וירולוגיה של צמחים עקרונות ויישום. הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן ע' 234.

Antignus Y., Lachman O., Pearlsman M., Maslenin L., and Rosner A. (2008) A new pathotype of Pepper mild mottle virus (PMMoV) overcomes the L4 resistance genotype of pepper cultivars. *Plant Disease* 92: 1033-1037.

Elad Y., Omer C., Nisan Z., Harari D., Goren H., Adler U., Silverman D. and Biton S. (2016) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses *Peronospora belbahrii* downy mildew. *Annals of applied Biology* 168: 373–389.

Engelhard A. W. (ed) (1989) Soilborne plant pathogens: Management of Diseases with Macro- and Microelements. APS Press St Paul, Minn, USA.

Ezra D., Kroitor T. and Sadowsky A. (2007) Molecular characterization of *Phoma tracheiphila*, causal agent of mal secco disease of citrus, in Israel. *European Journal of Plant Pathology* 118: 183- 191.

Freeman S., Horowitz S. and Sharon A. (2001) Pathogenic and nonpathogenic lifestyles in *Colletotrichum acutatum* from strawberry and other plants. *Phytopathology* 91: 986-992.

Gat T., Liarzi O., Skovorodnikova Y. and Ezra D. (2012) Characterization of *Alternaria alternata* causing black spot disease of pomegranate in Israel using a molecular marker. *Plant Disease* 96: 1513-1518.

Luria N., Smith E., Reingold V., Bekelman I., Lapidot M., Levin I., Elad N., Tam Y., Sela N., Abu-Ras A., Ezra N., Haberman A., Yitzhak L. and Dombrovsky A. (2017) A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring Tm-22 resistance genes. *PLoS One* 12:e0170429.

Mawassi M., Gafny R. and Bar-Joseph M. (1993) Nucleotide sequence of the coat protein gene of citrus tristeza virus: Comparison of biologically diverse isolates collected in Israel. *Virus Genes* 7: 265-275.

Opatovsky, I., Elbaz M., Tsrer (Lahkim) L., Mordechai-Lebiush S. and Dombrovsky A. (2019) First report of Lettuce Big Vein disease caused by *Oplidium* spp., Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus, and Lettuce Big-Vein Associated Virus in Israel. *Plant Disease* 2019 103: 779-779.

- Philosoph A., Dombrovsky A., Elad Y., Koren A. and Frenkel O. (2019) Insight into late wilting disease of cucumber demonstrates the complexity of the phenomenon in fluctuating environments. *Plant Disease* 103: 2877-2883
- Sharabani G., Manulis-Sasson S., Borenstein M., Shulhani R., Lofthouse M., Chalupowicz L. and Shtienberg D. (2013) The significance of guttation in the secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouses. *Plant Pathology* 62: 578-586.
- Solel Z. and Oren, Y. (1975) Outbreak of mal secco disease in Israel on normally tolerant citrus cultivars. *Plant Disease Reporter* 59: 945-946.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 2: מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים בישראל

שולמית מנוליס-ששון¹ ולאה צרור²

¹ המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון
² מרכז מחקר גילת

תקציר

חיידקים (bacteria) נפוצים בטבע בכל מקום ועם זאת רק מיעוטם הינם פתוגנים של צמחים. החיידקים נחלקים לכאלה הנקראים גרם שליליים וגרם חיוביים על פי צביעה המבוססת על מבנה דופן החיידק. בפרק זה יתוארו הקבוצות העיקריות של חיידקים מחוללי מחלות בצמחים החשובים בישראל. חיידקים אלו נושאים את החומר הגנטי בכרומוזום ובפלסמידים, רובם גדלים על מצע מזון מלאכותי וחיים בחללים הבין-תאיים. קבוצות אחרות של חיידקים המוגבלים לעצה או שיפה מתוארים בפרק "חיידקים המועברים ע"י חרקים". בפרק הנוכחי מתוארים מאפיינים כלליים של חיידקים גורמי מחלות צמחים וכן תיאור מחלות הצמחים החשובות בישראל, כולל סימני המחלה ודרכי מניעה והדברה. קיימות קבוצות נוספות של חיידקים חשובים הגורמים למחלות צמחים ברחבי העולם אך אלה לא יתוארו בפרק זה.

אופן הציטוט: מנוליס-ששון ש' וצרור ל' (2021) **מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים בישראל**, פרק 2, ע' 45-25 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51889>



מבוא

חיידקים כללי

חיידקים הם אורגניזמים חד תאיים, אורכם נע בין 1-20 מיקרון, ורוחבם 0.1-1 מיקרון והם מתרבים בחלוקה לשנים. החיידקים הם פרוקריוטים - החומר התורשתי שלהם אינו מאורגן בגרעין. לחלקם חומר תורשתי חוץ-כרומוזומלי, כמו פלסמידים. התאים שונים בצורתם; יכולים להיות עגולים, גליליים בצורת מתג, פסיקיים, סליליים וחוטניים. ישנם חיידקים בעלי תנועה וישנם כאלה חסרי תנועה. הנעים מבניהם הם בעלי שוטונים, דמויי שערות דקיקות המשמשים לעיתים לאפיונם. מינים מסוימים יוצרים נבגים העמידים בתנאי אקלים קשים: קור, חום, יובש. החיידקים נפוצים בטבע בכל מקום; אויר, אדמה, מים, חומרי מזון ועל פני ובתוך גוף חי.

מחלקים את החיידקים לפי מבנה הדופן לחיידקים גרם שליליים וגרם חיוביים. מבנה דופן החיידקים מכיל מרכיב אחד המשותף כמעט לכל סוגי החיידקים. זהו מבנה פולימרי מורכב המכונה פפטידוגליקן (peptidoglycan) והוא המעניק לדופן את קשיחותה. בחיידקים גרם שליליים מהווה הפפטידוגליקן רק 5-10% מהמשקל היבש של כלל מעטפות התא. בחיידקים גרם חיוביים הפפטידוגליקן הוא המרכיב העיקרי של המעטפת המהווה 40-90%. בחיידקים גרם שליליים קיים רווח בין הממברנה החיצונית (outer membrane) לממברנה הפנימית (inner membrane) הנקרא

פריפלסמה. החלוקה לגרם שליליים וגרם חיוביים מתבססת על צביעת גרם שפותחה ע"י החוקר הדני כריסטיאן גרם ומתבססת על מבנה שונה של הדופן. חיידקים גרם שליליים נצבעים באדום ואילו הגרם חיוביים בסגול-כחול.

חיידקים פתוגנים לצמחים

רק מיעוט של מיני החיידקים הם פתוגנים המחוללים מחלות בצמחים. חיידקים אלו גדלים היטב על הפונדקאי הצמחי, לעיתים על פונדקאי ספציפי ואף על חלקים מסוימים בצמח כמו עלים, תפרחות שורשים או אברי אגירה כמו פקעות. רובם אינם יוצרים נבגים והם בעלי מבנה של מתג, מלבד חיידקי סטרפטומיצטים היוצרים ספורות והם חוטיים. מרבית החיידקים הפתוגנים לצמחים יכולים לגדול על מצע מזון מלאכותי וטמפרטורות האופטימום לגידולם היא לרוב בין 23-28 מ"צ. הם יכולים להיות אירוביים או אנאירוביים. בניגוד לחיידקים אנימליים (תוקפי בעלי חיים), החיידקים הפיטופתוגנים (תוקפי צמחים) חיים בחללים הבין-תאיים ולא בתוך התאים. החדירה לצמח נעשית דרך פצעים או פתחים טבעיים, כמו פיוניות או הידטודות (וולקני, 1985; Kado, 2010).

סימני המחלה של חיידקים גורמי מחלות בצמחים מגוונים ודומים לעיתים קרובות לאלו הנגרמים ע"י פטריות או וירוסים בצמחים. ניתן לחלקם לארבע קבוצות עיקריות: 1. נקרזזה – מוות מהיר של התאים המתבטא לרוב בכתמי עלים אך גם על גבעולים ופירות. לדוגמא, מחלת כתמי העלים בעגבנייה ובפלפל הנגרמת ע"י *Xanthomonas euvesicatoria* (איור 1 א). 2. מחלות הגורמות לנבילה של הצמח כתוצאה מפגיעה בעיקר בצינורות העצה, לדוגמא המחלה הנגרמת ע"י *Clavibacter michiganensis* בעגבנייה (איור 1 ב). 3. מחלות פרנכימתיות הגורמות ריקבון רך הנגרמות בעיקר עקב הפרשת אנזימים פקטוליטיים המפרקים את דופן התא, לדוגמא מחלה הנגרמת ע"י *Pectobacterium* spp. בתפוח-אדמה (איור 1 ג). 4. גידול יתר (היפרפלסיה והיפרטרופיה) מחלות הגורמות לריבוי וגידול התאים וליצירת גידולים (עפצים) על הצמח, לדוגמא, המחלה הנגרמת ע"י *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophylae* בגבסנית (איור 1 ד). יש להדגיש שחלוקה בסיסית זו של סימני המחלה אינה מוחלטת ויש וריאציות שונות בהופעת סימני המחלה בהתאם לתגובת הצמח. כמו כן, במקרים רבים יכולים להופיע מספר סימני מחלה כתוצאה מאילוח בפתוגן אחד כמו בחיידק *Clavibacter michiganensis* שבו ניתן לראות נבילה, כמישה וכתמי עלים. מיון ונומנקלטורה של החיידקים מבוססים בעיקר על Bergey Manual Trust (www.bergeys.org) המתעדכן מידי פעם. כמו כן שמות החיידקים הפתוגנים לצמחים מתעדכנים לעיתים (Young et al., 2004). מרבית החיידקים הפתוגנים לצמחים הם גרם-שליליים, בעלי צורה של מתג, אינם יוצרים ספורות ונכללים במערכה *Proteobacteria*. מערכה זו מחולקת ל-5 מחלקות (class) כאשר חיידקים פתוגנים לצמחים גרם שליליים נכללים רק בשלוש מהן. במחלקה *Alphaproteobacteria* נכלל הסוג *Agrobacterium* (genus) וכן סוגים אחרים של חיידקים הקשורים לצמחים אך אינם פתוגנים (טבלה 1). המחלקה *Betaproteobacteria* כוללת מספר סוגים של חיידקים פתוגנים לצמחים כמו *Ralstonia*, *Acidovorax*. במחלקה *Gammaproteobacteria* נכללים סוגים ומינים רבים של חיידקים גורמי מחלות בצמחים כולל המשפחות הגדולות של *Xanthomonadaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*.



איור 1. דוגמאות לסימני מחלה הנגרמים ע"י חיידקים. א' כתמי עלים בפלפל כתוצאה מ- *Xanthomonas euvesicatoria*. ב' נבילה בעגבנייה כתוצאה מ- *Clavibacter michiganensis*. ג' ריקבון רך בפקעות תפוז"א כתוצאה מ- *Pectobacterium* spp. ד' עפץ בגבסנית כתוצאה מ- *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophylae*.

חיידקים גרם חיוביים הפתוגנים לצמחים נכללים במחלקה *Actinobacteria* בשלוש משפחות עיקריות *Microbacteriaceae* הכוללת את הסוג *Clavibacter*, המשפחה *Nocardiaceae* הכוללת את הסוג *Rhodococcus* והמשפחה הגדולה *Streptomycetaceae* הכוללת את הסוג *Streptomyces* (טבלה 1). חלוקה טקסונומית זו מבוססת בעיקר על ריצוף 16S rDNA, אולם חלוקה זו, קרוב לוודאי, תשתנה לא מעט עם הופעת שיטות ריצוף מהירות וזולות המאפשרות ריצוף גנומים שלמים תוך זמן קצר (Kado, 2010).

בנוסף לחלוקה למין יש חלוקה נוספת לתת מינים כמו במקרה של החיידק *Clavibacter michiganensis* הכולל 5 תת מינים כשהחשוב שהם הוא תת המין *susp. michiganensis* התוקף עגבנייה. חלוקה נוספת לפי פתובר (pathovar). הייחוס הוא לסוג הצמח הפונדקאי הנתקף ע"י הפתוגן, לדוגמה *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (פתוגן), לדוגמה *P. syringae* pv. *lachrymans* הפתובר עגבנייה או הפתובר *P. syringae* pv. *lachrymans* התוקף מלפפון, וכן הלאה.

Phylum	Class	Family	Genus	Species
מערכה	מחלקה	משפחה	סוג	מין
BXII	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhizobiaceae</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>tumefaciens</i> <i>vitis</i>
BXII	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Ralstoniaceae</i> <i>Comamonadaceae</i>	<i>Ralstonia</i> <i>Acidovorax</i>	<i>solanacearum</i> <i>citrulli</i>
BXII	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>campestris</i> <i>euvesicatoria</i> <i>hortorum</i>
		<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>syringae</i> <i>corrugate</i> <i>savastanoi</i>
		<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Dickeya</i>	<i>chrysanthemi</i> <i>dadantii</i> <i>dianthicola</i>
			<i>Erwinia</i>	<i>amylovora</i>
			<i>Pantoea</i>	<i>agglomerans</i>
			<i>Pectobacterium</i>	<i>atrosepticum</i> <i>carotovorum</i> <i>parmentieri</i> <i>brasiliense</i>
BXIV	<i>Actinobacteria</i>	<i>Microbacteriaceae</i> <i>Streptomycetaceae</i>	<i>Clavibacter</i> <i>Streptomyces</i>	<i>michiganensis</i> <i>scabies acidiscabies</i> <i>turgidiscabies</i>

הקבוצות העיקריות של חיידקים גורמי מחלות צמחים בישראל

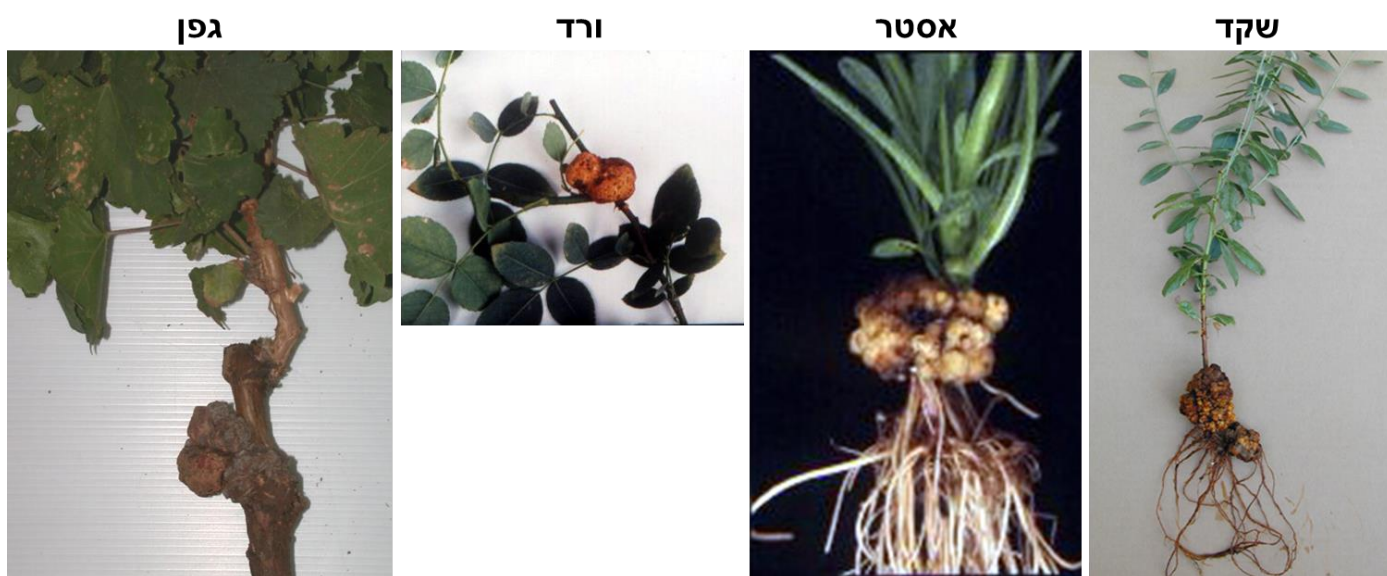
א' חיידקים גרם שליליים

Agrobacterium (*Rhizobium radiobacter*) - אלו הם חיידקים ממשפחת ה- *Rhizobiaceae* שוכני קרקע (soil-borne) בעלי טווח פונדקאים רחב התוקפים צמחים דו פסיגיים ממשפחות צמחים שונות (יותר מ-90), כולל משפחות חשובות כמו עצי פרי, גפן, ורדים וצמחי נוי אחרים. החיידקים גורמים למחלת עפץ חיידקי (Crown gall) המתבטאת בגידול יתר של תאי הפרנכימה ויצירת גידולים (עפצים) על השורשים, צוואר השורש, בסיסי ייחורים ואף על החלקים העל-קרקעיים של הצמח. המחלה נפוצה בכל העולם ותוקפת את הצמח בכל שלבי התפתחותו. הרגישות לחיידק גוברת במצב של צמיחה נמרצת. הנזק של המחלה מתבטא בהגבלת תנועת המים מהשורשים לשאר חלקי הצמח והגבלת תנועת המוטמעים. במקרים רבים משמשים העפצים גם פתח לחדירת מיקרואורגניזמים משניים, או חרקים העלולים לגרום להתנוונותו ולמותו של הצמח (וולקני, 1985).

החיידק חודר דרך פצעים הנגרמים ע"י הצמיחה עצמה, נזקי קור, פצעים מכניים שנגרמים ע"י מכרסמים, כלי עבודה, גיזום והרכבה. המחלה מועברת גם ע"י שתילים נגועים שאינם מראים סימני מחלה. החיידקים מסוגלים להתקיים בקרקע ובשאריות צמחים במשך זמן רב, כאשר ההישרדות טובה יותר בקרקע לחה ובתנאי PH בסיסיים. החיידקים מסוגלים גם להתקיים כספרופיטים על שורשי צמחים או בקרבתם וכן בשאריות צמחים. הטמפרטורות הנוחות להתפתחות המחלה הן בין 20-28 מ"צ.

ידועים שלושה מינים של חיידקי אגרובקטריום: החיידק *A. tumefaciens* הנושא פלסמיד גדול המכונה Ti (tumor inducing). מין זה נמצא תוקף עצי פרי גלעיניים כמו שקדים ואפרסקים וגורם לנזקים כלכליים ניכרים במקומות שונים בעולם. בארץ המחלה ידועה מזה שנים רבות על עצי פרי, צמחי נוי כמו ורדים, אסטר, סולידאסטר וצמחים שונים ממשפחות אחרות (איור 2). היא גורמת לעיתים לנזקים רציניים במשתלות ובמטעי עצי פרי גלעיניים ונזקים קשים יותר על אלה המורכבים על כנות שקד. מין שני חשוב בארץ הוא החיידק *A. vitis* הנושא פלסמיד שונה והוא תוקף בעיקר גפנים (איור 2). ידוע גם המין *A. rizogenes* הנושא פלסמיד הנקרא Ri (root inducing) הגורם ליצירת שורשים מרובה. חיידק זה לא נתגלה בארץ.

הדרכים למניעת המחלה אינם רבים ומבוססים בעיקר על שימוש בחומר ריבוי ושתילים נקיים מגורמי המחלה (ראו פרק שיטות אבחון מתקדמות לגילוי וזיהוי חיידקים גורמי מחלות בצמחים). בעבר נעשו חיטויים במתיל ברומיד להדברת החיידקים בקרקע אולם מידת יעילותם אינה ברורה. הדברה ביולוגית הוצעה לפני מספר שנים (Kerr, 1989) באמצעות החיידק *A. radiobacter* K84 שהוא אנטגוניסט לפתוגן. זהו חיידק אגרובקטריום שאינו נושא את פלסמיד הפתוגניות (Ti) ולכן אינו גורם מחלה. לחיידק בתכשיר הביולוגי נעשו נגזרות המונעות את המעבר של הפלסמיד לתבדידי אגרובקטריום אחרים בקרקע לא פתוגניים (Vicedo et al., 1993).



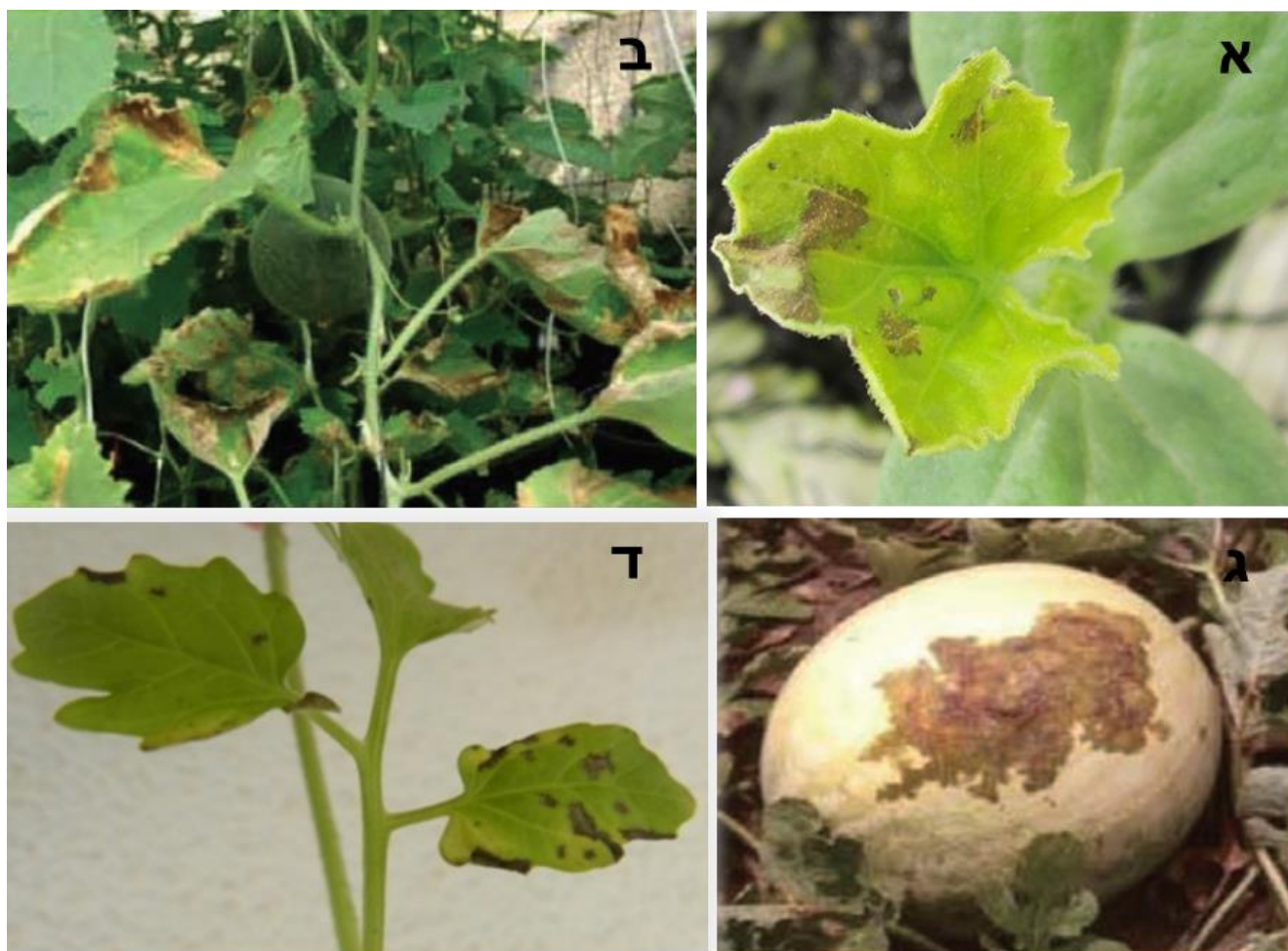
איור 2. עפצים הנגרמים ע"י *Agrobacterium tumefaciens* בשקד, אסטר ובוורד. עפץ בגפן הנגרם ע"י *A. vitis*.

Acidovorax - החיידק *A. citrulli* גורם למחלת "כתם גדול חיידקי" (Bacterial Fruit Blotch, BFB) בדלועיים. מחלה הרסנית זו גורמת להפסדים כלכליים ניכרים בעיקר באבטיח ומלון. המחלה התפשטה לאזורים רבים בעולם, כולל ישראל שבה הפתוגן נחשב כחיידק הסגר (Burdman et al., 2005, Burdman & Walcott, 2012). המחלה מתבטאת בעיקר בפגיעה בנבטים וצמחים צעירים או בצמחים מניבים, תוך פגיעה ישירה בפרי הגורמת לריקבון (fruit blotch) והפוסלת אותו לשיווק. סימני המחלה העיקריים מתבטאים בכתמים על הפסיגים שהופכים לנקרוטיים, כתמים על ההיפוקוטייל והתמוטטות של השתילים (איור 3 א ו- ב). בפירות אבטיח מופיעים כתמים לא אחידים, ההופכים מאוחר יותר לחומים (איור 3 ג). סימני המחלה בצמחים בוגרים המופיעים על העלים קשים לאבחנה מכיוון שאינם נבדלים מסימני מחלה הנגרמים ע"י פתוגנים אחרים.

בארץ החיידק התגלה לראשונה ב- 1979 באזור רמת הגולן ובזרעים מיובאים במהלך שנות ה- 90. בין השנים 2000-2003 ובשנים 2007-2008, המחלה גרמה להפסדים כלכליים בשדות מלון ואבטיח. בשדות אבטיחים היא תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 29

נמצאה באזור לכיש, נעמה ויד רמב"ם. בבתי צמיחה היא פגעה בערבה התיכונה במלונים ובערבה הדרומית באבטיחים. מקורות המדבק הראשוני יכולים להיות זרעים או שתילים נגועים, שאריות צמחים נגועים בקרקע, צמחים מן הבר, מים וכלי עבודה מזהמים (Burdman and Walcott, 2012). החיידק אובחן גם בזרעים מיובאים של צמחים ממשפחת הסולניים כמו עגבנייה וחציל (Assouline et al., 1997).

את תבדידי החיידק אצידובורקס מחלקים לשתי קבוצות עיקריות הנבדלות ביניהן בתכונות גנטיות, ביוכימיות ובטווח הפונדקאים: קבוצה I כוללת תבדידים הקשורים לפונדקאים שאינם אבטיח (בעיקר מלון), ואילו קבוצה II מכילה תבדידים שבודדו בעיקר מאבטיח (Burdman et al., 2005). לאחרונה בודדו בארץ תבדידי אצידובורקס ציטרולי מעגבנייה וחציל (איור 3 ד) ולאחר אפיון מולקולרי הכולל ריצוף, מבחני פתוגניות על פונדקאים שונים וכן מדידת ביטוי גנים ליורלנטיות, נמצא שתבדידים מהסולניים דומים לתבדידים מקבוצה II וכי הם פתוגנים על דלועיים (Chalupowicz et al., 2020).



איור 3. סימני מחלה הנגרמים כתוצאה מאילוח ב- *Acidovorax citrulli*. א' כתמי עלים באבטיח. ב' כתמי עלים במלון. ג' סימני המחלה כפי שנראים בפרי אבטיח. ד' סימני מחלה על עלים של עגבנייה הנגרמים ע"י תבדידי אצידובורקס קבוצה II. תמונות ב' ו- ג' נלקחו מ- Burdman and Walcott 2012.

אין אמצעים כימיים יעילים להדברת החיידק ואין כיום זני מלון או אבטיח מסחריים בעלי עמידות ל-BFB. הדברת המחלה מתבססת בעיקר על שימוש בחומר ריבוי נקי ופיטוסניטציה בשטחים בהם מתגלית המחלה. במחקר שנעשה בתנאי משתלות נמצא כי מניעת ההפצה המשנית יכולה להוות דרך להתמודדות עם המחלה וזאת ע"י השקיה תחתית **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **30**

במקום עילית וריסוס בנחושת בשלב של הפסיגים שהם האברים העיקריים האחראים להפצה המשנית (Chalupowicz et al., 2015).

Ralstonia solanacearum – אחד מהחיידקים גורמי המחלות החשובים בעולם. גורם למחלת הנבילה החיידקית (Bacterial wilt) בגידולים שונים, בין העיקריים תפוח אדמה, עגבנייה, בננה וטבק. המחלה בתפוח אדמה הנקראת גם ריקבון חום (Potato brown rot) הינה מחלת הסגר באירופה, צפון ודרום אמריקה, אפריקה, אסיה וישראל. החיידק הינו שוכן קרקע הנפוץ בעיקר באזורים טרופיים, סובטרופיים ובאזורים חמים בכל העולם והמופץ גם במי השקיה. טווח הפונדקאים של החיידק רחב וכולל יותר מ-50 משפחות צמחים וכן עשבי בר רבים המהווים פונדקאי משנה. לחיידק מספר גזעים לפי משפחות הצמחים הנתקפים (Kado, 2010). זוהי מחלה סיסטמית בעיקרה הפוגעת בצינורות ההובלה וגורמת לחסימתם ועקב כך לנבילת הצמח.

המחלה נמצאה בארץ בשנות החמישים בעיקר בתפוח-אדמה (וולקני, 1985), אולם מאז כמעט ולא דווחה בארץ. מאחר והחיידק עלול להגיע בפקעות זריעה של תפוח"א המיובאות מאירופה ולמרות התקנות המחמירות ואישור אצוות נקיות בלבד (על פי בדיקת מעבדה בארץ המוצא) השירותים להגנת הצומח ולביקורת מחייבים בדיקת האצוות המגיעות לארץ ורק כאשר הן מוגדרות כחופשיות מהחיידק ניתן להשתמש בהן לגידול האביבי. מדגמים של 200 פקעות מכל אצווה משמשים לבדיקת נוכחות החיידק, בעבר בשיטת האלייזה וכיום באמצעות PCR עם תחלים ספציפיים. ב-1999 בודד הפתוגן מצמחי פלרגוניום בארה"ב. מכיוון שבודד גזע 3 התוקף תפוח אדמה וסולניים אחרים, השרותים להגנת הצומח ולביקורת של משרד החקלאות מחייבים לערוך גם בדיקות לכל הייחורים והשתילים המושרשים של פלרגוניום המיובאים לארץ. התסמינים הנגרמים ע"י רלסטוניה סולנצארום דומים לאלו הנגרמים ע"י *Xanthomonas pelargonii* בפלרגוניום (איור 5 ה) ולכן אבחון החיידק נעשה באמצעות PCR עם תחלים המתאימים ומבדילים בין שני הפתוגנים.

Xanthomonas – הסוג כולל יותר מ-100 מינים. יוצרים פיגמנט צהוב הנקרא Xanthomonadin. רובם יוצרים פוליסכריד חוץ-תאי על מצע המכיל גלוקוז. המינים הנפוצים בארץ הם *campestris* שלו פתוברים רבים, וכן המינים *hortorum* ו-*euvesicatoria*. הטקסונומיה של סוג זה משתנה כל הזמן עם התקדמות שיטות הריצוף של גנומים שלמים.

X. campestris pv. campestris - גורם למחלת שחרת גידים בכרוביים (איור 4 א). המחלה נפוצה בכל העולם על צמחים שונים ממשפחת המצליבים. בארץ המחלה הוגדרה בשנת 1950 ומאז נמצא כי היא תוקפת כרוביים שונים כמו כרוב, כרובית, קולרבי וברוקולי וכן צנון וצנונית (וולקני, 1985). המחלה היא סיסטמית ותוקפת את כל חלקי הצמח מעל פני הקרקע. החיידק מתיישב בצינורות העצה, גורם לסתימתם בעקבות יצירת פוליסכרידים חוץ-תאיים ועקב כך נגרמת השחרת העורקים. החיידק יכול לחדור לעלים דרך פצעים והידטודות ולכן לעיתים קרובות סימני המחלה הראשונים היא חוורת (כלורוזה) ההולכת ומתפשטת לרוב בצורת האות V. מקור ההדבקות הוא לרוב מזרעים נגועים ומשרידי צמחים נגועים בהם החיידק יכול לשרוד למשך יותר משנה.

התמודדות עם המחלה היא בעיקר באמצעות זני כרוביים שאינם רגישים מאוד למחלה, השמדת חומר נגוע והרחקת שרידי צמחים ועשבי בר ממשפחת המצליבים. בנוסף, נעשות בדיקות לניקיון הזרעים ע"י חברות הזרעים.

X. euvesicatoria – כונה בעבר *X. campestris pv. vesicatoria*, גורם למחלת כתמי עלים חיידקיים וגרב חיידקי בסולניים בעיקר בעגבנייה ופלפל. המחלה נפוצה לרוב באזורים בעלי אקלים ממוזג. בארץ המחלה ידועה החל מ-

1939 (וולקני, 1985) ובשנות השישים גרמה לנזקים קשים בתקופת האביב על זני עגבנייה ופלפל. מאז המחלה מופיעה באופן ספורדי באזורים שונים בארץ ובעוצמות מחלה שונות. סימני המחלה מתבטאים תחילה בצורת נקודות קטנות בעיקר על הצד התחתון של העלה. הנקודות הופכות לכתמים חומים הנראים משני צידי העלים (איור 4 ב). בפירות המחלה מופיעה בצורת כתמי גרב בעיקר בפירות צעירים. החיידק חודר לעלים ולגבעול דרך פיוניות ופצעים והמחלה מתפתחת בצמח בתנאי לחות יחסית גבוהה ובטווח טמפרטורות רחב. מקור המדבק העיקרי הוא זרעים נגועים בהם החיידק שורד על פני הזרע (בעגבנייה) וגם בתוך הזרע (בפלפל). כמעט כל זני העגבנייה והפלפל רגישים למחלה. הדברה מבוססת בעיקר על שימוש בזרעים נקיים וסילוק צמחים חולים ועשבי בר היכולים להוות מקור מידבק. לעיתים השתמשו בארץ בתכשירים נחושתיים להדברת המחלה.

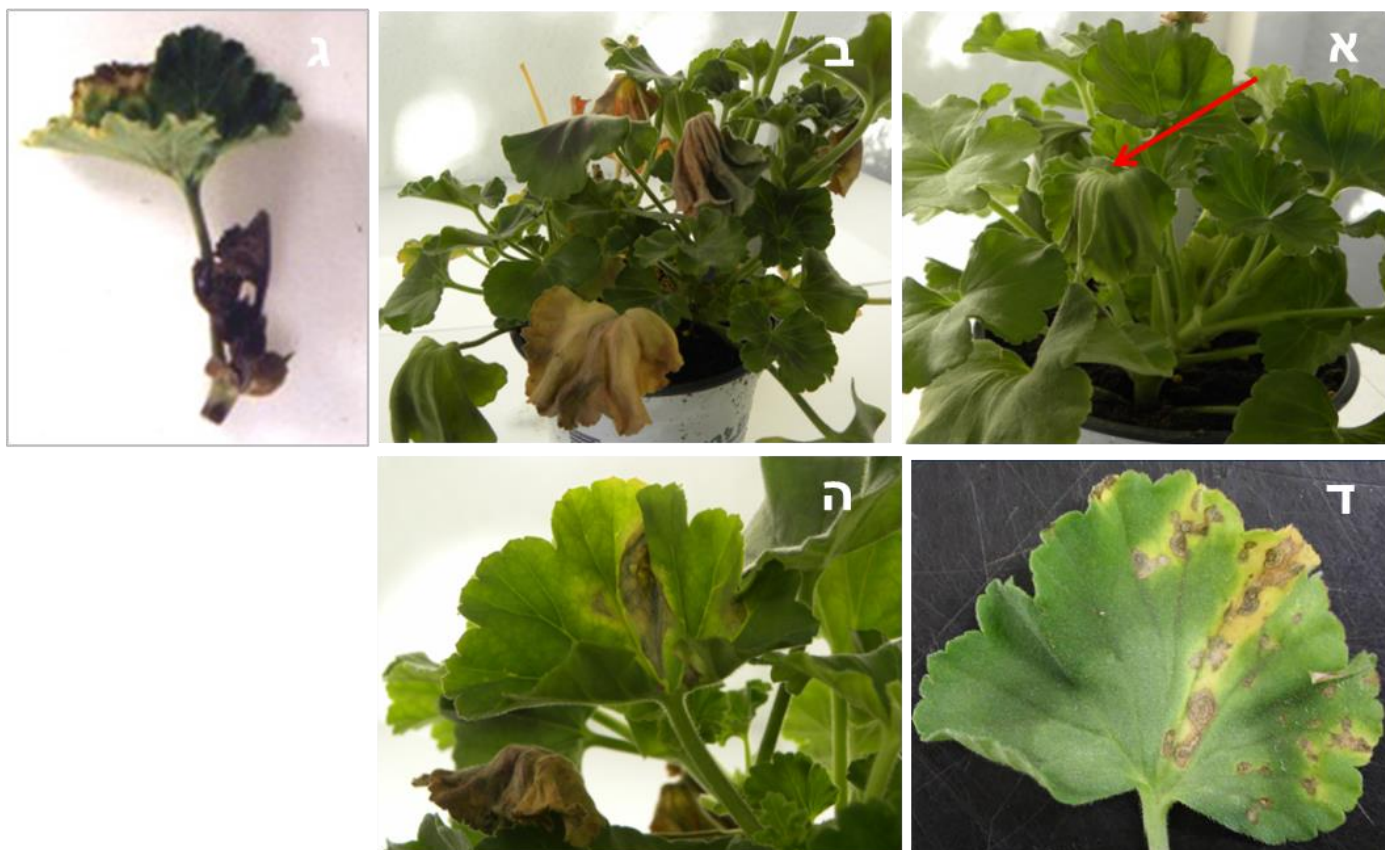


איור 4. א' סימני מחלה הנגרמים בכרובית כתוצאה מאילוח ב- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.
 ב' סימני מחלה הנגרמים בעגבנייה כתוצאה מ- *X. euvesicatoria*.

Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii - נקרא בעבר *X. campestris* pv. *pelargonii* גורם כימסון חיידקי בפלרגוניום. החיידק גורם למחלה החשובה והמגבילה ביותר בגידול זה. המחלה נפוצה בכל האזורים בהם מגדלים ייחורי פלרגוניום בקנה מידה גדול, כמו ארה"ב, מדינות שונות באירופה ובישראל וגורמת לנזקים כבדים בכל השלבי הגידול. סימני המחלה מאופיינים על ידי נבילה וכמישת הצמח (איור 5 א, ב), ריקבון ייחורים (איור 5 ג) וכתמי עלים בצדם העליון והתחתון (איור 5 ד). הפצת המחלה היא מייחורים בעלי נגיעות סמויה, מצמחים נגועים ע"י התזת טיפות מים, השקיה עילית וכלי עבודה מזוהמים. המחלה מתפתחת בטמפרטורות גבוהות ותנאי לחות המגבירים את הופעת סימני המחלה. לעיתים קרובות המחלה מופצת מייחורים הנלקחים מצמחים שאינם מראים סימני מחלה. החיידק לא שורד בקרקע אך שורד לזמן ממושך בחלקי צמח נגועים.

רוב המינים והזנים התרבותיים רגישים למחלה. הדברה יעילה של המחלה היא באמצעות שימוש בחומר ריבוי נקי מגורם המחלה ובו בזמן נקיטת אמצעי תברואה קפדניים. בארץ מקור הצמחים במשתלות הגרעין והיסוד הוא מריבוי מריסטמתי עצמי ומיבוא חומר ריבוי מחו"ל. שתי מערכות אלו נבדקות לנוכחות הפתוגן. לשם כך נלקחות דגימות של ייחורים המיועדים להקמת "משתלות אם" ולהם נעשות בדיקות באמצעות שיטות סרולוגיות ומולקולריות וסילוק חומר

נגוע. במקביל לבדיקות לגילוי קסנטומונס פלרגוניי נעשות בדיקות מדגמיות לחומר מיובא גם לנוכחות רלסטוניה סולנצארום הגורמת לסימני מחלה דומים לאלו הנוצרים ע"י קסנטומונס פלרגוניי (איור 5 ה).



איור 5. סימני מחלה הנגרמים ע"י *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* בפלרגוניום. א' נבילה, ב' נקרזה והתייבשות עלים, ג' רקבון ייחורים, ד' כתמי עלים ונקרזה, ה' לשם השוואה, סימני המחלה הנגרמים בפלרגוניום ע"י *Ralstonia solanacearum*.

Pseudomonas – חיידקים השייכים למשפחת *Pseudomonadaceae* נפוצים מאוד בטבע (צמחים, בע"ח, קרקע ומים), יכולים לגדול כאפיפיטים או חיים בריזוספירה. היכולת לשרוד בכל מקום מיוחסת ליכולתם של חיידקים אלו לגדול על מגוון רחב של מקורות פחמן. הסוג הנפוץ בקבוצה זו הוא *Pseudomonas*, שרוב המינים בו יוצרים פיגמנט פלואורסנטי שניתן לראותו במצע חסר ברזל. מינים רבים בסוג זה גורמים למחלות צמחים עם סימפטומים שונים כמו כיבים, כמישה של עלים, תפרחות וכתמי עלים.

P. syringae – מין זה כולל פתוברים שונים (יותר מ-50) התוקפים צמחים שונים וגורמים למחלות החשובות מבחינה כלכלית. לדוגמא, *P. syringae* pv. *lachrymans* מחולל מחלת כתמים מצולעים (דמיעה) במלפפון (איור 6 א). בארץ המחלה נתגלתה על עלים ופירות של מלפפון בחורף 1963. מאז היא נפוצה באופן ספורדי בכל האזורים בהם מגדלים מלפפון בגידולים חסויים ובשדה. סימני המחלה מופיעים ככתמים על הפסיגים, העלים, הגבעולים והפרי. המחלה עוברת בזרעים וכנראה זו הייתה דרך חדירתה לארץ. התמודדות עם המחלה היא באמצעות אבחון הפתוגן בזרעים וסילוק צמחים נגועים.

P. corrugata – מין זה גורם למחלת נמק ליבה בעגבנייה (איור 6 ב). המחלה התגלתה לראשונה בשנת 1981 בשטחי עגבנייה מכוסים ברשתות באזור פיתחת רפיח. מאז נמצאה המחלה גם באזורים נוספים בארץ. המחלה תוקפת תבנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 33

בעיקר צמחים מבוגרים נושאי פרי. היא מופיעה בצורת נבילה של הצמח. סימני המחלה הראשונים מופיעים על עלים צעירים ככתמים כלורוטיים (וולקני, 1985). בשנת 2015 נמצאו בארץ צמחי עגבנייה נגועים בתת מין של קורוגטה הנקרא *P. mediterranea* (Trantas et al., 2014).



איור 6. א' כתמי עלים הנגרמים ע"י *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* במלפפון. ב' סימני מחלה הנגרמים ע"י *P. corrugate* בעגבנייה. ג' *P. savastanoi* בזית.

P. savastanoi – מין זה גורם לעפץ ענפים בזית ובהרדוף, כאשר תת המין שתוקף זית הוא *P. s. pv. savastani*. המחלה מופיעה ברוב ארצות הים התיכון ובכל האזורים בהם מגדלים זית. סימני המחלה מופיעים על הענפים לעיתים קרובות בצורת מחרוזת של גידולים (איור 6 ג). גידולים יכולים להופיע גם על השורשים, העלים והגזע. צמחים צעירים רגישים במיוחד להתפתחות המחלה. בארץ המחלה נמצאה באופן ספורדי על עצי זית, אך אינה מהווה בעיה גדולה.

Dickeya ו- **Pectobacterium** – חיידקים אלה, אשר נקראו בעבר *Erwinia*, גורמים למחלות בגידולים רבים הכוללים ירקות, גידולי שדה, צמחי נוי ועצי פרי שונים. דוגמאות לגידולים הנתקפים, תפוח-אדמה, גזר, כרוב, סלרי, פלפל, אורז, תירס, נץ חלב, יקינטון, דליה, חרצית, מנגו ועוד. בסוג *Pectobacterium* מוכרים כיום 12 מינים: *P. aroidearum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculorum*, *P. brasiliense*, *P. cacticida*, *P. carotovorum*, *P. Wasabiae*, *P. punjabense*, *P. polaris*, *P. peruvienne*, *P. parmentieri*, *odoriferum*. שמונה ממינים אלו נמצאו בתפוז"א, כשהעיקריים הגורמים נזק כבד הם *P. parmentieri*, *P. carotovorum*, *P. brasiliense* ו- *P. atrosepticum*. בסוג *Dickeya* מוכרים 8 מינים: *D. aquatica*, *D. chrysanthemi*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. paradisiaca*, *D. solani*, and *D. zae*. רק שניים מהם נמצאו בתפוז"א, ושניהם גורמים לנזק כבד – *D. solani* ו- *D. dianthicola*. לחיידקי *Pectobacterium* טווח פונדקאים רחב ושליש מהם הינם פונדקאים גם של הסוג *Dickeya* (Charkowski et al., 2020; Toth et al., 2011).

החיידקים הפקטוליטיים הללו נפוצים בכל העולם ובכל מקום בו מגדלים תפוז"א. הם גורמים לנזקים כלכליים כבדים בשדה ובתוצרת מאוחסנת. התפוצה הגבוהה קשורה בעיקרה למסחר הגלובלי בחומר ריבוי וגטטיבי נגוע כגון פקעות תפוז"א לזריעה ופקעות או בצלים של צמחי נוי. חלק מחיידקים אלה הינם וסקולאריים, המתבססים בצנורות העצה, מתפשטים בצמח באופן סיסטמי וגורמים לנבילה של הצמח. החיידקים אינם שורדים בקרקע אך יכולים להתקיים לתקופה קצרה כספרופיטים. בנוסף לחומר ריבוי נגוע, הם מופצים גם באמצעות שאריות צמחים, מי השקיה, גשם, אירוסול, מיכון חקלאי, פונדקאים אלטרנטיביים ובאמצעות עשבי בר המהווים פונדקאיי ביניים (Tsrer et al., 2009; 2010).

התסמינים במגוון פונדקאים הינם בעיקר ריקבון רך של גבעולים ופקעות, הצהבות עלים ותמותת צמחים. המחלות הנגרמות ע"י החיידקים הפקטוליטיים פוגעות באופן ניכר בגידול תפוז"א בעולם בכלל ובישראל בפרט, תוך גרימת נזקים חמורים ולכן הן מתוארות כאן בהרחבה. תסמינים ייחודיים לתפוז"א כוללים ריקבון שחור של בסיס הגבעול ('רגל שחורה') ולעיתים גם ריקבון של הגבעולים העליונים, הנגרמים בעיקר ע"י הסוג *Pectobacterium* (איור 7) ובבילה איטית של צמחים הנגרמת בעיקר ע"י הסוג *Dickeya* (איור 8). בין התסמינים שגורמים שני הסוגים, הריקבון הרך (soft rot) של פקעות עלול להתחיל בשדה, ולהתגבר בזמן אסיף, שינוע ואחסון. לעיתים קרובות נמצאים שני סוגי החיידקים יחד ולמעשה המחלות הללו של רגל שחורה וריקבון רך נגרמות ע"י קומפלקס של מין אחד או יותר משני הסוגים. תסמיני המחלה והנזקים לצמחים נגרמים באמצעות אנזימים פקטוליטיים המפרקים את הדפנות ואת למלות הביניים של תאי הצמח.

לתנאי הסביבה יש השפעה גדולה על התפרצות המחלות. לדוגמה, *P. parmentieri* ו-*P. atrosepticum* לא שורדים בטמפרטורות מעל 33 מ"צ, ואילו *P. carotovorum*, *P. brasiliense* ו-*D. solani* יתפתחו דווקא בטמפי' גבוהות יותר (עד 39 מ"צ). ייצור פקעות זריעה מתבסס על שימוש בצמחונים חופשיים מהפתוגנים להפקת פקעיות (mini-tubers), אולם, עם הגידול בשדה מתפתחות אוכלוסיות החיידקים הפקטוליטיים וככל שמספר הדורות בשדה גבוה יותר, כך עולה שיעור הנגיעות (בד"כ סמויה) בפקעות הזריעה. התפשטות אינטנסיבית של החיידקים הפקטוליטיים מתרחשת בעיקר באסיף, אז מועברים החיידקים מגבעולים ופקעות נגועות לפקעות נקיות. החיידקים יימצאו בצורות ההובלה בצד הסטולון ובעדשתיות על פני הפקעת. הנגיעות הסמויה היא הבעייתית מאחר ולא נראים תסמיני מחלה.



איור 7. תסמינים הנגרמים על ידי *Pectobacterium* בתפוז-אדמה. תמונה עליונה הצהבת נוף, תמונה ימנית היווצרות ריקבון שחור של בסיס הגבעול המכונה 'רגל שחורה' ותמונה שמאלית ריקבון רך הנוצר בפקעת תפוז אדמה.

בישראל, מינים שונים של *Pectobacterium* פוגעים בירקות ובצמחי נוי והמינים העיקריים כיום הפוגעים בתפוח-אדמה הם *D. solani* (Ds) ו-*P. brasiliense* (Pbr). ייצור תפוח"א בארץ קשור באופן ישיר לגידול זה באירופה מאחר וישראל מייבאת בכל שנה כ- 25-30,000 טון פקעות זריעה לעונת האביב. מקור הנגיעות בחיידקים הפקטוליטיים הוא בפקעות הזריעה המיובאות הנגועות באופן סמוי (Tsrer et al., 2012). הנזק הכבד נגרם כתוצאה מהתפתחות המחלות ישירות במהלך עונת האביב, ובנוסף, עקב העברת החיידקים גם לפקעות בת המשמשות לזריעה בעונת הסתיו-חורף, נגרם נזק גם בגידול החורפי. המאפיין את החיידקים הפקטוליטיים הללו הוא התאמה לטמפרטורות גבוהות יחסית. ההתחממות הגלובלית עשויה להסביר את ההתפרצות שחלה באירופה ועל אחת כמה וכמה בישראל. התבטאות מחלה בשדה מקורה בפקעות זריעה נגועות, אך בתנאי סביבה שאינם מעודדים (טמפ' ולחות) המחלה נשארת סמויה.

החיידק Ds, הינו מין חדש שהתגלה ב- 2005 (Tsrer et al., 2009, 2013) ובגלל האלימות הגבוהה בטמפ' גבוהות יחסית וטווח הפונדקאים הרחב שלו (הכולל לדוגמה עגבנייה, גזר, צנונית, תירס ומגוון צמחי נוי), הוא מוגדר כחיידק הסגר בישראל, עם אפס סבילות לאינטרדוקציה שלו בפקעות זריעה של תפוח"א. מקורו של החיידק הוא בבצלי יקינטון בהולנד, משם הועבר לתפוח"א והופץ באמצעות פקעות זריעה בכל אירופה והגיע כך גם לישראל. תבדידי חיידקים שבודדו מצמחים בארץ, הגם שהינם זהים מבחינה מולקולרית לתבדידים אירופיים, הם אלימים יותר.



איור 8. תסמינים הנוצרים בתפוח-אדמה על ידי *Dickeya solani* המתבטאים בנבילה, התייבשות עלים, החמה בצורות הובלה וריקבון פקעות.

Ds היה המין הדומיננטי בתפ"א באירופה ובישראל עד 2013 ומאז נמצא במגמת ירידה. לעומת זאת, החיידק Pbr שהתפשט באירופה גם כן באמצעות פקעות זריעה נגועות באופן סמוי, נמצא במגמת עלייה ניכרת והוא הדומיננטי כיום. בנוסף גם המין *P. parmentieri* התגלה לראשונה בישראל בשנת 2020 (Tsrer et al., 2020). סף הנגיעות בחיידקי *Pectobacterium* הינו 0.5% תסמיני רגל שחורה.

ממשק ההדברה של החיידקים הפקטוליטיים להפחתת נזקים מתבסס בעיקר על שימוש בפקעות זריעה חופשיות מהחיידק, המושג ע"י ניטור חומר ריבוי. בשנים האחרונות פותחו פרוטוקולים לניטור נגיעות סמויה בפקעות זריעה המבוססים על הדגרת החומר הצמחי במצע העשרה ואנליזות מולקולריות (PCR, RT-PCR) תוך שימוש בפריימרים ופרובים ספציפיים לכל מין חיידק. כמו כן, נעשים מאמצים רבים ע"י חברות הזרעים ומוסדות מחקר שונים בעולם בכיוון של טיפוח זנים עמידים למחלות הרגל השחורה, אולם עד כה טרם פותחו זנים מסחריים עמידים. כמו כן, אין בנמצא טיפולים כימיים יעילים מלבד ריסוסי נוף בתכשירי נחושת העשויים להפחית ריקבון גבעולים. באופן כללי, ממשק אופטימלי להפחתת הנגיעות (מלבד שימוש בפקעות זריעה נקיות) כולל סניטציה בכל מערכי הגידול, אסיף ושינוע של תוצרת (כלי מיכון, מערכי מיון, חדרי אחסון) ותנאי אחסון מיטביים (לחות גבוהה, טמפ' נמוכה, אוורור).

Erwinia amylovora - החיידק גורם למחלת החירכון (fire blight) שהיא אחת המחלות ההרסניות ביותר באגס, תפוח וכן צמחים אחרים ממשפחת הוורדניים, כמו חבוש ושסק. החיידק חודר לעץ דרך הפרחים בתקופת הפריחה, כאשר התנאים מתאימים להדבקה ומשם דרך עוקץ הפרח, הדורבן, ענפים צדדיים ועד לגזע. סימני המחלה מתבטאים בהשחרה של התפרחות והעלים (איור 9 א), והתפתחות כיבים (cankers) המתקדמים לאורך הענפים והגזע וגורמים לתמותה (איור 9 ב). לעיתים קרובות ניתן להבחין בטיפות אוז (ooze) שבהן ריכוזים גבוהים של החיידק (איור 9 ד) המהווים מקור מדבק לעונה העוקבת (Van der Zwet & Beer, 1995).

המחלה התגלתה לראשונה בישראל בשנת 1985 (Zutra et al., 1986) ומאז הופיעה בעוצמות שונות במהלך השנים במטעים שונים; מפגיעה זניחה עד למצב שבו היה איום על תעשיית האגסים בארץ (Shtienberg et al., 2015). כך בשנים 1994-1996 ו-2010 היה חשש כבד שענף האגסים לא יתאושש ממחלה זו ורק לאחר מאמץ לאומי הענף שרד. המחלה בארץ מופיעה לעיתים גם בתפוח, בחבוש ובשסק (איור 9 ג).

בעיה נוספת האופיינית לישראל היא שלעיתים עצי האגס פורחים גם בעונת הסתיו. פריחה זו אינה רצויה מפני שהפקעים שפרחו בסתיו לא יפרחו שוב באביב העוקב ומפני שהפריחה הסתוית עלולה להידבק בחרכון. הדבקה של פריחה סתוית מסוכנת יותר מהדבקה של פריחה אביבית מפני שהמחלה מתקדמת ברקמות המעוצות לפרקי זמן ארוכים יותר.

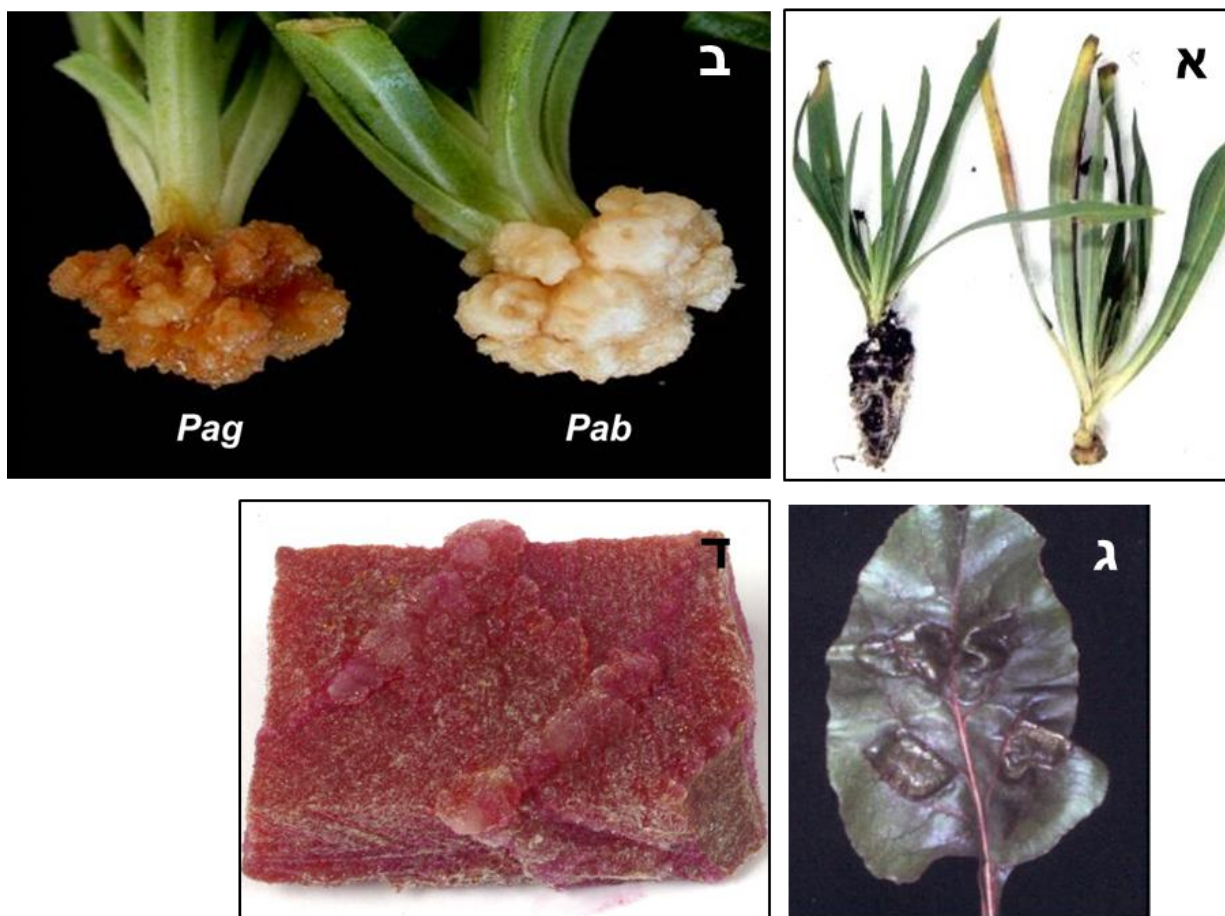
הטיפול היעיל ביותר כנגד המחלה הוא ריסוסים מתוזמנים בתכשירי הדברה במהלך הפריחה. האנטיביוטיקה סטרפטומיצין הוכנסה לשימוש בישראל ב-1986 אולם כבר בשנים 1994-1997 נתגלו במטעים רבים אוכלוסיות עמידות (Manulis et al., 2003). לאחר הוצאת הסטרפטומיצין משימוש בשנת 1997 החלו להשתמש בתכשיר ההדברה סטרנר (Oxolinic acid). אולם גם כנגדו החלה להופיע עמידות. אמצעים נוספים להדברה הם השמדת פריחה סתוית ועקירת מטעים נגועים. פרטים נוספים לגבי התמודדות עם המחלה אפשר למצוא במאמר הסקירה (Shtienberg et al., 2015).



איור 9. סימני חירכון הנגרמים ע"י *Erwinia amylovora* באגס ובשסק. א' תפרחת אגס נגועה. ב' עץ אגס נגוע. ג' עץ שסק נגוע. ד' יצירת טיפות אווז על התפרחת אגס.

Pantoea agglomerans – כונה בעבר *Erwinia herbicola*. אלו הם חיידקים הנפוצים בטבע בעיקר כאפיפיטים/אנדופיטים על צמחים שונים, אך גם בזרעים, מים, בני אדם ובעלי חיים. מספר תבדידים הפכו לפתוגנים גורמי מחלות עפצים בצמחים כמו גבסנית, סלק וויסטריה. ידועים מספר פתוברים של מין זה ובהם *P. agglomerans* ו-*gypsophilae* pv. התוקף גבסנית. החיידק נפוץ בכל האזורים בהם מגדלים צמח נוי זה כמו ארה"ב, דרום אמריקה וישראל. בארץ המחלה נתגלתה במשתלות ריבוי בשנת 1977 ומאז הופיעה בכל הארץ במשתלות לריבוי גבסנית. סימני המחלה מתבטאים ביצירת גידול בצוואר השורש של הצמח הגורם להיחלשותו, לנשירת עלים ולבסוף לתמותת הצמח. עיקר הנזק נגרם במשתלות עם הופעת עפצים בבסיס הייחורים המונעים את השרשתם (איור 10 א). החדירה של החיידק היא דרך פצעים ולכן עפצים יכולים להופיע גם על השורשים והעלים הפצועים. פתובר נוסף, *P. agglomerans* pv. *betae* תוקף סלק ויוצר עפצים על הצמח ועל השורש דבר הפוסל אותו לשיווק. פתובר זה יכול ליצור עפצים גם על גבסנית אולם הם שונים במבנה ובצבע (איור 10 ב). בעוד שפתובר הגבסנית יוצר עפצים עם מבנה גלובולרי בצבע חום-צהוב, העפצים הנוצרים ע"י פתובר הסלק יוצרים מעין כתר מסביב לגבעול בצבע לבן. פתובר

הגבסנית אינו יוצר עפצים על סלק אלא תגובת רגישות יתר (Ezra et al., 2000; Manulis & Barash, 2003). עפצים הנוצרים כתוצאה מאילוח של עלי סלק או שורש סלק מתוארים באיור 10 ג ו- ד. ההבדלים המולקולריים בין שני פתוברים אלו הקובעים את הספציפיות לפונדקאי מתוארים בפרק גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגנים לצמחים.



איור 10. עפצים הנוצרים ע"י חיידקי *Pantoea agglomeranse* בגבסנית וסלק. א' עפצים בבסיס ייחור של גבסנית המונעים את השרשתו. משמאל ייחור ביקורת שהשתרש. ב' עפצים הנוצרים בבסיסי ייחורים של גבסנית על ידי הפתובר *gypsophilae* (Pag) ועל ידי הפתובר *betae* (Pab), העפצים הנוצרים שונים במבנה ובצבע. ג' עפצים הנוצרים בעלי סלק לאחר אילוח בחיידק *Pab*. ד' עפצים הנוצרים בקוביית שורש סלק לאחר אילוח ב- *Pab*.

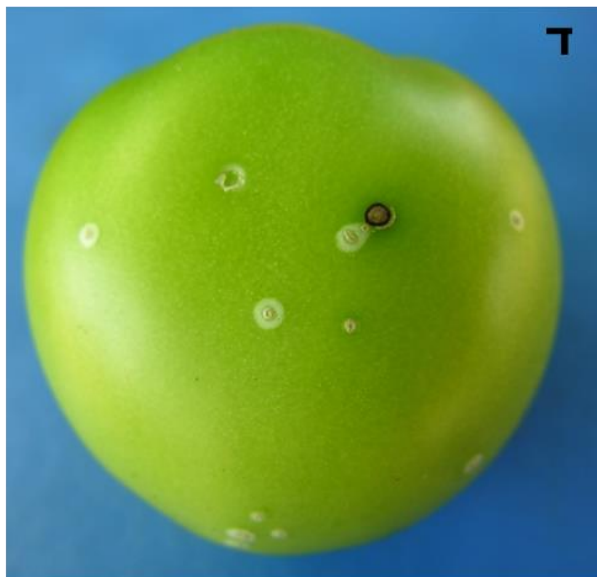
התנאים המתאימים להתפתחות המחלה הם לחות וטמפרטורות גבוהות. טמפרטורה אופטימלית היא 25 מ"צ אולם עפצים יכולים להיווצר גם בטמפרטורות נמוכות יותר. העפץ שהוא גידול בלתי מבוקר של התאים מהווה מקום חדירה לפתוגנים אחרים הנמצאים בקרקע.

הדברה: אין זנים עמידים ואין חומרי הדברה מתאימים ולכן הדרך להתגבר על המחלה היא באמצעות שימוש בחומר ריבוי נקי לאחר שעבר בדיקות לנוכחות החיידק. ייחורים אלה מהווים מקור ליצירת מטעי אם נקיים מגורם המחלה.

ב' חיידקים גרם חיוביים

Clavibacter michiganensis – מין זה כולל חמישה תתי מינים הגורמים למחלות בגידולים שונים כמו עגבנייה, תפוח-אדמה, תירס, אספסת וחיטה. תת המין *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* הגורם למחלת כיב תבנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 39

חיידקי בעגבנייה הוא החשוב בארץ. תתי המינים האחרים, כולל זה התוקף תפוח-אדמה (*sepadonicus*) לא נמצאו בארץ. זו מחלה סיסטמית בעיקרה ואחת החשובות והמגבילות בגידול עגבנייה (Jones et al., 1991). המחלה גורמת לנבילה, התנוונות כללית ולתמותת הצמחים בכל שלבי הגידול (וולקני, 1985). בשנים מסוימות המחלה יכולה לגרום לנזקים כלכליים ניכרים ולירידה ביבול של עד 60% במקומות שונים בעולם (Chang et al., 1992). המחלה נפוצה בכל העולם. בישראל התגלתה לראשונה בשנת 1963 ומאז הופיעה באופן ספורדי במקומות שונים בארץ. מתחילת שנות ה-2000 חלה עליה בהיקף המחלה שהתבטא במספר בתי הצמיחה הנגועים ובחומרת הנגיעות (איור 11 ב). עיקר הנזק נגרם באזור יישובי הבשור. לשיא התפרצותה הגיעה המחלה בשנת 2007 כאשר באזור הבשור פגעה המחלה במאות רבות של דונמים ובמספר משקים נגרמו הפסדים כספיים ניכרים עד כדי מצבים של פשיטת רגל. המחלה זוהתה גם באזורי גידול אחרים של עגבנייה, ביניהם רמת הנגב, חוף הכרמל, בית שאן ושדות הנגב.



איור 11. סימני מחלה הנגרמים ע"י *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* בעגבנייה. א' כמישה של צמח עגבנייה נגוע. ב' צמחים נגועים בבית רשת. ג' כיב המתפתח בגבעול הצמח. ד' כתמים (עין הציפור) בפרי.

החיידק יכול לחדור לצמח בדרכים שונות כמו מערכת השורשים, גבעול, ענפים וגם דרך מערכת ההידטודות בעלים (Sharabani et al., 2013). הסימנים העיקריים של המחלה כוללים התקפלות עלים, צריבה של שולי העלים (איור 11 א), נבילה, הופעת נקודות עם הילות על הפירות, סימפטום המכונה "עין הציפור" (איור 11 ד) וכיבים כהים בגבעול הצמח (איור 11 ג). החיידק ידוע כמועבר בזרעים, בתוכם או על פני הקליפה, והמקור העיקרי לאילוח הוא זרעים נגועים. החיידק יכול לשרוד גם בקרקע למשך מספר שנים בשאריות צמחי עגבנייה או צמחים אחרים ממשפחת הסולניים. המחלה מופצת לצמחים בריאים באמצעות מי השקיה, גשמים, כלי עבודה מזוהמים ואפילו ריסוס חומרי הדברה. גם בחממות בהן משתמשים במים ממוחזרים יש חשש להפצת המחלה בכל החממה מצמחים נגועים בודדים. בנוסף לכך, לחיידק זה יכול להתרבות כאנדופיט (חי בצמח ללא יצירת סימני מחלה) על צמחים שונים ממשפחת הסולניים כולל עגבנייה. לתכונה זו יש השפעה על תפוצת המחלה מכיוון שצמחים נגועים לא מתגלים מיד.

מחקרים רבים נעשו על מנגנון הפתוגניות של החיידק הממוקמים על הכרומוזום ושני פלסמידים טבעיים (Eichenlaub & Gartemann, 2011, Nandi et al., 2018). תיאור מפורט על מנגנון הפתוגניות של קלויבקטר בעגבנייה ניתן לקרוא בפרק העוסק בגורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגניים לצמחים. נמצאה גם שונות גבוהה מבחינה מורפולוגית, מולקולרית ועוצמת הוירולנטיות בין תבדידים שבודדו ממקומות שונים בעולם דבר המקשה על איתור הפתוגן בזרעים המיובאים.

הדברת המחלה מתבססת בעיקר על שימוש בזרעים נקיים מגורם המחלה, פיטוסניטציה וחיטוי מי השקיה. טיפולי קרקע אינם יעילים ושימוש באנטיביוטיקה לא מקובל במחלה זו. זני עגבנייה מסחריים העמידים לחיידק עדיין לא בשימוש. בשל חשיבותה של המחלה נערכו מחקרים רבים בארץ על אספקטים שונים שלה במסגרת מיזם חוס"ן קלויבקטר במימון משרד החקלאות ומועצת הצמחים. ממצאי המחקר סיפקו מסקנות מעשיות לגבי ההתמודדות עם מחלה זו. נמצא כי אחת מדרכי ההפצה של המחלה היא ממשתלות המספקות שתילים נגועים (Frenkel et al., 2016), ולכן על המשתלות לרכוש זרעים ממקורות מוסמכים, להשתמש במצעי גידול נקיים, למנוע מהפועלים לגעת בנבטים רטובים, להפחית את כמות הדשן הנמצא על פני העלים, ליצור חיץ פיזי בין נבטים בגילים שונים ולהקטין את השימוש במעכבי צימוח. עוד נמצא כי הדבקת צמחים בבתי צמיחה מתרחשת בעיקר בעת עבודת הפועלים בשעות בהן יש הדמעה (Sharabani et al., 2013) ועל כן יש להימנע מלהיכנס לבתי צמיחה בשעות אלו. בנוסף נמצא כי החיידקים השורדים בקרקע עשויים להוות מקור מידבק ראשוני בגידול העוקב, אולם הקרקע אינה מקור המידבק העיקרי. פירות עגבנייה שנותרים בבתי הגידול מהווים דרך למעבר הפתוגן בין העונות ולכן חשוב לפנותם מהשטח.

Streptomyces – אלו הם חיידקים הנפוצים מאוד בקרקע כספרופיטים. בניגוד לחיידקים גורמי מחלות אחרים הסטרפטומיצטים יוצרים תפטיר חוטי ונבגים כדרך עיקרית להפצה. הנבגים והתפטיר קטנים לעומת אלו של הפטריות. מוכרים יותר מ-400 מינים שרבים מהם מייצרים חומרי אנטיביוטיקה. רק מיעוטם של הסטרפטומיצטים הם פתוגנים לצמחים הגורמים למחלות המסכות נזק כלכלי משמעותי. מחלת הגרב המצוי בתפוח אדמה (common scab), הנפוצה בכל אזורי הגידול בעולם, נחשבת אחת מבין חמש המחלות החשובות ביותר בגידול זה. המחלה גורמת לפגיעה באיכות הפקעות המיועדות לשווק כתוצרת טרייה או לתעשייה וזאת עקב היווצרות כיבים על פניהן. כיבים אלה יכולים להיות שטוחים, עמוקים (deep-pitted) או דמויי יבלות (איור 12 א, ב).



איור 12. סימני מחלה הנגרמים ע"י *Streptomyces* spp. בתפוח-אדמה. א' כיבים דמויי יבלות. ב' כיבי גרב עמוקים.

נגיעות במחלה עלולה גם לגרום לפחיתת יבול כתוצאה מעיכוב התפתחות הפקעות והגדלת מספרם. לסטרפטומיצטים מחוללי מחלת הגרב טווח פונדקאים רחב, הכולל בנוסף לתפוח"א גם סלק, גזר, צנוניות, אגוזי אדמה, בטטה ועוד גידולי שורש. החיידקים מסוגלים לשרוד בקרקע מעל 12 שנים גם ללא נוכחות פונדקאי. הם מועברים ומופצים ביעילות גבוהה במיוחד באמצעות פקעות תפוח"א לזריעה ובאמצעים נוספים כגון כלי עיבוד, רוחות וסופות חול. בארץ, מחלת הגרב דווחה לראשונה ב- 1972 באזור חבל מעון במערב הנגב. בשנים האחרונות עלתה שכיחות המחלה בתפוח"א וגם באגוזי אדמה. נזקים חמורים במיוחד של המחלה מתרחשים באזור חבל מעון ממספר סיבות, ביניהן, גידולים רגישים נוספים במחזורי הזרעים, קרקעות המעודדות את המחלה (conducive) והיעדר אמצעי הדברה יעילים. פקעות תפוח"א לזריעה הינן המקור העיקרי לנגיעות בפתוגן. ישראל מייבאת מדי שנה לעונת האביב עשרות אלפים טונות של 'זרעים' מאירופה שחלקם עם שיעור ניכר של נגיעות בסטרפטומיצטים. זרעי היבוא מגיעים בעיקר מסקוטלנד, הולנד, צרפת וגרמניה. כנראה שהמינים הנפוצים באירופה הם אלה החודרים ומתבססים בארץ. במחקר שעשינו בשנים אחרונות לאפיון המינים בארץ נמצאו בעיקר ארבעה מינים עיקריים השכיחים גם באירופה והם: *S. scabies*, *S. turgidiscabies*, *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabie*

גורם הפתוגניות היחיד המוכר במחלת הגרב הוא הרעלן thaxtomin (Loria et al., 2006) הדרוש ליצירת התסמינים האופייניים על גבי פקעות תפוח"א (ראו גם פרק גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגניים לצמחים). כל המינים הפתוגניים הידועים כיום נושאים צבר גנים לביויסיתתה של רעלן זה ולכן ניתן להשתמש ברצפים של גנים אלה לאבחון החיידק בפקעות נגועות ובקרקע.

במהלך השנים הוצעו מספר אמצעי הדברה להתמודדות עם המחלה בעיקר עם הקרקעות הנגועות. ביניהם ניתן למנות את הגדלת רטיבות הקרקע בזמן יצירת הפקעות, הורדת pH הקרקע, מחזור גידולים, טיפולי קרקע בפורמלין, כלורופיקרין ותוספי קרקע אורגניים, הדברה ביולוגית וטיפול בזרעים עם כימיקלים שונים. אולם כל האמצעים הללו אינם יעילים דיים ותוצאות היישום אינן הדירות. בשנים האחרונות פיתחנו שיטה המבוססת על qPCR המאפשרת לגלות קרקעות הנגועות בסטרפטומיצטים פתוגניים ולהימנע מזריעה בהם. כמו כן בדיקת הפקעות המיובאות לארץ לנוכחות הפתוגן יכולה להוריד את רמת המדבק השורד בקרקע.

בפרק זה תוארו רק המחלות הנגרמות ע"י חיידקים בצמחים, החשובות בישראל. למעשה אמצעי הדברה כנגד מחלות אלו נכון להיום, אינם מספקים. שימוש באנטיביוטיקה לרוב אסור וגם במקרים בהם ניתן להשתמש באנטיביוטיקה תבדידים עמידים מתפתחים לאחר תקופה קצרה. דרכים נוספות הננקטות להתמודדות עם גורמי מחלות אלה הן: סילוק חומר נגוע, חיטוי קרקע במקרים של חיידקים השורדים בקרקע, הדברה ביולוגית ושימוש בחומר ריבוי נקי. לא מן הנמנע שמחלות חשובות אחרות יחדרו לארץ עם הזרעים או חלקי צמח אחרים ויגרמו לנזקים כלכליים ניכרים, כמו לדוגמה החיידק רלסטוניה סולנצארום. אולם פיתוח שיטות אבחון טובות ורגישות יכול למנוע כניסת זרעים ושתילים נגועים לארץ. ובמקרה של חדירת חיידקי הסגר יש להשמיד במהירות וביעילות את החומר הנגוע. אפשרות להתרחשות כזו מחייבת את השירותים להגנת הצומח ולביקורת של משרד החקלאות לפתח אמצעים טובים יותר לזיהוי חיידקי הסגר ולהתריע עליהם בזמן.

מקורות

- וולקני צ' (1985) מחלות חיידקים בצמחים בישראל. מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן ומוסד ויצמן לפרסומים במדע, ירושלים. 380 ע'.
- Assouline I., Milshtein H., Mizrahi M., Levy E. and Ben-Ze'ev I. (1997) *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* transmitted by *Solanaceous* seeds. *Phytoparasitica* 25: 117-118.
- Burdman S., Kots N., Kritzman G. and Kopelowitz J. (2005) Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. *Plant Disease* 89: 1339-1347.
- Burdman S. and Walcott R. (2012) *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. *Molecular Plant Pathology* 13: 805-815.
- Chalupowicz L., Dror O., Reuven M., Burdman S. and Manulis-Sasson S. (2015) Cotyledons are the main source of secondary spread of *Acidovorax citrulli* in melon nurseries. *Plant Pathology* 64: 528-536.
- Chalupowicz L., Reuven M., Dror O., Sela N., Burdman S. and Manulis-Sasson S. (2020) Characterization of *Acidovorax citrulli* strains isolated from solanaceous plants. *Plant Pathology* <https://doi.org/10.1111/ppa.13239>
- Chang R. J., Ries S. M. and Pataky J. K. (1992) Local sources of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in the development of bacterial canker on tomatoes. *Phytopathology* 82: 553-560.
- Charkowski A., Sharma K., Parker M. L., Secor G. A., Elphinstone J. (2020) Bacterial Diseases of Potato. In: Campos H., Ortiz O. (eds) *The Potato Crop*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10
- Eichenlaub R. and Gartemann K.-H. (2011) The *Clavibacter michiganensis* subspecies: molecular investigation of Gram-positive bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 49: 445-464.

- Ezra D., Barash I., Valinsky L. and Manulis, S. (2000) The dual function in virulence and host range restriction of a gene isolated from the pPATHEhg plasmid of *Erwinia herbicola* pv. *gypsophillae*. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 13:693–98
- Frenkel O., Bornestein M., Shulhani R., et al., (2016) Secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in nurseries and the conditions leading to infection of tomato seedlings. *European Journal of Plant Pathology* 144: 569-579.
- Jones J., Stall R. E. and Zitter T. (1991) *Compendium of tomato diseases*. American Phytopathological Society Press.
- Kado C.I. (2010) *Plant Bacteriology*, American Phytopathological Society Press.
- Kerr A. (1989) Commercial release of a genetically engineered bacterium for the control of crown gall. *Agricultural Science* 2: 41-44.
- Loria R., Kers J. and Joshi M. (2006) Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. *Annual Review of Phytopathology* 44: 469-487.
- Manulis S. and Barash I. (2003) *Pantoea agglomerans* pvs. *gypsophillae* and *betae*, recently evolved pathogens? *Molecular Plant Pathology* 4: 307-714.
- Manulis S., Kleitman F., Shtienberg D. et al. (2003) Changes in the sensitivity of *Erwinia amylovora* populations to streptomycin and oxolinic acid in Israel. *Plant Disease* 87: 650-654.
- Nandi M., Macdonald J., Liu P., Weselowski B. and Yuan Z.C. (2018) *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. *Molecular Plant Pathology* 19: 2036-2050.
- Sharabani G., Manulis-Sasson S., Borenstein M. et al., (2013) The significance of guttation in the secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouses. *Plant Pathology* 62: 578-586.
- Shtienberg D., Manulis-Sasson S., Zilberstaine M., Oppenheim D. and Shwartz H. (2015) The incessant battle against fire blight in pears: 30 years of challenges and successes in managing the disease in Israel. *Plant Disease* 99: 1048-1058.
- Toth, I. K., Van Der Wolf, J. M., Sandler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Tsror (Lahkim), L. and Elphinstone, J. G. (2011) Review: *Dickeya* species: An emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology* 60:385-399.
- Trantas E. A., Sarris P. F., Pentari M. G., Mpalantinaki E. E., Ververidis F. N. and Goumas D. E. (2014) Diversity among *Pseudomonas corrugate* and *Pseudomonas mediterranea* isolated from tomato and pepper showing symptoms of pith necrosis in Greece. *Plant Pathology* 64: 243–500.
- Tsror (Lahkim) L., Erlich O., Lebiush S., Hazanovsky M., Zig U., Slawiak M., Grabe G., Van der Wolf J. M. and Van de Haar J. J. (2009) Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia*

- chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. European Journal of Plant Pathology. 123: 311-320.
- Tsrur (Lahkim) L., Lebiush S., Erlich O., Ben-Daniel B., and Van der Wolf, J. (2010) First report of latent infection of *Cyperus rotundus* caused by a biovar 3 *Dickeya* sp. (Syn. *Erwinia chrysanthemi*) in Israel. New Disease Reports 22: 14.
- Tsrur (Lahkim) L., Erlich O., Hazanovsky M., Ben Daniel B., Zig U. and Lebiush S. (2012) Detection of *Dickeya* spp. latent infection in potato seed tubers using PCR or ELISA and correlation with disease incidence in commercial field crops under hot-climate conditions. *Plant Pathology* 61: 161-168.
- Tsrur (Lahkim) L., Ben-Daniel B., Chalupowicz L., Van der Wolf J., Lebiush S., Erlich O., Dror O., Barel V., Nijhuis E. and Manulis-Sasson S. (2013) Characterization of *Dickeya* strains isolated from potato grown under hot-climate conditions. *Plant Pathology*. 62, 1097–1105.
- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, Lebiush, Galilov, I., Hazanovsky, M., Chalupowicz, L., Reuven, M., Dror, O., Manulis-Sasson, S. (2020) First report of *Pectobacterium parmentieri* one of the causal agents of potato blackleg and tuber soft rot diseases in Israel. PDN. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0226-PDN>
- Van Der Zwet T. and Beer S. V. (1995) Fire blight - its nature, prevention and control. In. U.S. Dep. Agric. (Agric. Inf. Bull. 631.)
- Vicedo B., Penalver R., Asins M. J. and Lopez M. M. (1993) Biological control of *Agrobacterium tumefaciens*, colonization and pAgK84 transfer with *Agrobacterium radiobacter* K84 and the Tra-mutant strain K1026. *Applied Environmental Microbiology* 59: 309-315.
- Young J. M., Bull C. T., DeBoer S. H., Firrao G., Gardan L., Saddler G. E., Stead D. E. and Takikawa, Y. (2004) Names of plant pathogenic bacteria published since 1995. Report of the Taxonomy of Bacterial Plant Pathogens Committee of the International Society of Plant Pathology. Available from: http://www.isppweb.org/names_bacterial_new2004.asp International Society for Plant Pathology.
- Zutra D., Shabi E. and Lazarovits G. (1986) Fire blight on pear, a new disease in Israel. *Plant Disease* 70: 1071-1073.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 3: גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגניים לצמחים

שולמית מנוליס-ששון¹, לאורה צ'לופוביץ¹ ויצחק ברש²

¹ המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

² המחלקה למדעי הצמח ואבטחת מזון, הפקולטה למדעי החיים, אוניברסיטת תל אביב, תל אביב

תקציר

הצמחים בטבע חשופים למספר רב של מיקרואורגניזמים המצויים בסביבתם הקרובה ולמרות זאת מספרן של המחלות המופיעות כתוצאה מהמגע ביניהם הינו נדיר. הסיבה העיקרית לכך נעוצה ביכולת הצמחים לזהות פתוגנים פוטנציאליים הנמצאים בשכנותם ולהפעיל מנגנוני הגנה בסיסיים (Basal host defenses) המקנים חיסון לצמח ומונעים מהמיקרואורגניזמים מלאכלס אותו בעילות ולהשתמש בו כמקור מזון ובכך לגרום למחלה. כדי להתמודד עם המצב הקיים בטבע פיתחו הפתוגניים לצמחים מנגנוני וירולנטיות רבים ומגוונים המאפשרים את עקיפת מנגנוני ההגנה הצמחיים תוך שימוש בצמח כמקור יעיל למזון ומים. ההתפתחות המהירה בגנטיקה מולקולרית ובביואינפורמטיקה בעשורים האחרונים הביאה לאפיון מעמיק של מנגנוני וירולנטיות ידועים וחדשים הכוללים טוקסינים, הורמונים ואנזימים הנוצרים ע"י החיידק וכן חלבונים רבים נוספים הפוגעים במנגנוני ההגנה של הצמח ומקלים על החדירה והתרבות הפתוגן בפונדקאי. במיוחד יש לציין את גילוי מערכת הפרשה מסוג 3, (Type III secretion system-T3SS) בחיידקים גרם שליליים המהווה גורם מרכזי במנגנוני הוירולנטיות שלהם. מאחר וגורמי הוירולנטיות הרבים שנחקרו לעומקם לא ניתנים לכסוי במסגרת הנוכחית, נתאר בפרק זה מספר מצומצם של גורמי וירולנטיות בחיידקים המהווים פתוגנים מרכזיים לגידולים רבים בארץ ובעולם כמו הסוגים *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Pectobacterium*, *Erwinia*, *Acidovorax* שהם חיידקים גרם שליליים והחיידקים הגרם חיוביים *Streptomyces* ו- *Clavibacter*.

אופן הציטוט: מנוליס-ששון ש' צ'לופוביץ ל' וברש י' (2021) גורמי וירולנטיות בחיידקים פתוגניים לצמחים, פרק 3, ע' 46-55 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד',

הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51898>



מבוא

ניתן לחלק את הפתוגנים של צמחים לביוטרופיים, המיביוטרופיים, ונקרוטרופיים (Biotrophs, Hemibiotrophs, Necrotrophs) לפי אורח החיים שלהם. חיידקים ביוטרופיים מקבלים את האנרגיה והמזון הדרושים להם מתאים חיים, לעומתם חיידקים נקרוטרופיים ניזונים מתאים מתים. האחרונים חודרים והורגים את רקמת הצמח באמצעות הפרשת אנזימים ופיטוטוקסינים וחיים כספרופיטים על הרקמה המתה. גורמי וירולנטיות ביוטרופיים, המכונים אפקטורים, גורמים לנטרול גורמי ההגנה של הצמח ולמניפולציה של המטבוליזם הצמחי לטובת הפתוגן. לעומתם גורמי וירולנטיות נקרוטרופיים כגון טוקסינים או אנזימים מפרקי דופן, גורמים לתמותת תאי הצמח ומאפשרים לפתוגן לגדול עליו

כספרופיט. ההמיביוטרופיים משלבים את שני המנגנונים: תחילה פועלים כביוטרופיים ובהמשך כנקרוטרופיים. חדירת החיידקים לצמח נעשית באמצעות פצעים, פיוניות ופתחים טבעיים אחרים.

גורמי וירולנטיות בחיידקים גרם שליליים הפתוגניים לצמחים

מערכת ההפרשה מסוג 3

הפתוגניות של מרבית החיידקים הגרם שליליים בצמחים ובבעלי חיים תלויה במערכת ההפרשה מסוג שלוש (Type III secretion system-T3SS). ה-T3SS הינו מבנה ממברנלי הדומה מבחינה פילוגנטית לשוטן (flagellum) של חיידקים. מערכת ה-T3SS מהווה מעין מזרק (Injectisome) המעביר את חלבוני הוירולנטיות, המכונים אפקטורים מסוג 3 (Type 3 effectors - T3Es) מתא החיידק ישירות לתא הצמח באמצעות צינורית חיצונית המכונה Pilus. תיאור מפורט על מבנה ה-injectisome ניתן למצוא ב- (Cornelis 2006). האפקטורים מהסוג T3Es מופעלים באמצעות רצף חומצות אמיניות הנמצא בקצה N של חלבון ה-T3E. במקרים רבים תלוי מעבר אפקטורים אלה ב-Chaperon שהינו חלבון המסייע להתקפות נכונה של חלבון האפקטור הדרושה למעבר דרך ממברנת החיידק לצמח. מבחינה פילוגנטית מחולקות מערכות ה-T3SS בחיידקים גורמי מחלות בצמחים למשפחות שונות הכוללות *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Pantoea* ו- *Hrp2* המצוי בסוגים *Ralstonia*, *Xanthomonas*, ו- *Acidovorax*. חיידקים פיטופתוגניים גרם שליליים נושאים, בדרך כלל, מספר רב של אפקטורים שונים מסוג 3. לדוגמה, מספר האפקטורים השונים בכל התת-מינים של *Pseudomonas syringae* כולל כ- 94 משפחות אפקטורים, בעוד שתבדיד בודד יכול להכיל כ- 39 אפקטורים. בחיידק *Acidovorax citrullii* בתבדיד M6 שבודד ממלון נמצאו 51 גנים שהראו דמיון לאפקטורים ידועים בפתוגנים אחרים (Jiménez-Guerrero et al., 2020). לעומת זאת בשני הפתוברים של החיידק יוצר העפצים על גבסנית וסלק ו- *Pantoea agglomeranse* pv. *gypsophilae* (Pag), *P. a.* pv. *betae* (Pab) ריצוף גנום כללי בשילוב אנליזה המכונה "Machine-learning approach" זוהו 9 T3Es המספיקים ל- Pag לגרום עפצים על גבסנית ותגובת עמידות (HR) Hypersensitive response, על סלק, ו- 8 אפקטורים המספיקים ל- Pab לגרום לעפצים על גבסנית וסלק (Nissan et al., 2018). מספר ה-T3Es בחיידק מושפע מאורך תקופת יחסי הגומלין שבין הפתוגן לפונדקאי. המספר הנמוך של T3Es בשני הפתוברים של *P. agglomeranse* בהשוואה לחיידקים פיטופתוגניים אחרים כגון *Pseudomonas syringae* (DC 3000), *Xanthomonas* sp. או *Ralstonia solani*, שבהם מספר ה-T3Es המינימלי לפתובר הוא גבוה (מעל 30), מהווה תמיכה בהיפותזה שהופעתם הייתה כנראה בשלב מאוחר באבולוציה. במספר מקרים נמצא שהפחתה של אפקטור בודד ע"י מוטציה אינה משפיעה באופן מובהק על הוירולנטיות, דבר היכול להעיד על חפיפה (redundancy) במנגנון הפעילות עם אפקטורים אחרים. לעומת זאת בחיידקים Pag ו- Pab נמצא כי מספיקה העברת שני אפקטורים מחיידקים אלו לחיידקים לא פתוגניים או פתוגניים על צמחים אחרים כמו *Erwinia* (*amylovora*, *Dickeya solani*, *Xanthomonas campestris*) כדי לגרום למחלה על גבסנית או סלק (Nissan et al., 2019).

נוסף לדיכוי המערכת החיסונית הבסיסית של הצמח, מעורבים ה-T3Es בשיבוש תהליכים רבים אחרים בתא הצמחי הכוללים פרוק חלבונים, השפעה על פעילות הורמונלית, מעבר חלבונים באמצעות שלפוחיות (Vesicles) ועוד. תיאור מפורט על מגוון תפקידי האפקטורים מסוג 3 בהקשר לוירולנטיות של חיידקים פיטופתוגניים גרם שליליים ניתן למצוא ב- (Büttner 2016). אחת הדרכים היעילות המופעלות על ידי האפקטורים מסוג 3 להטיית המטבוליזם של הצמח לטובת הפתוגן היא מעורבות בתהליכי השעתוק המשפיעים על ביטוי הגנים. פעילות זו נעשית על ידי חדירה **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 47

ישירה של חלבוני ה-T3Es לגרעין התא הצמחי וקשירתם ל-DNA או למרכיבים אחרים של תהליך השעתוק. דוגמאות בולטות לאפקטורים מסוג 3 הפועלים כמפעילי שעתוק מצויים במשפחת האפקטורים המכונה Transcription Activator-Like effectors (TALE) והנפוצה ב- *Xanthomonas spp.* ובמספר סוגי חיידקים מעטים נוספים, וכן האפקטורים HsvB ו-HsvG המצויים בשני הפתוברים של החיידק יוצר העפצים על גבסנית וסלק *Pag* ו-*Pab*. תכונות אופייניות למבנה ה-TALE כוללות: Acidic activation domain הנמצא באזור ה-C-terminal של הגן והדרוש להפעלתו, Nuclear Localization Signal (NLS), הדרוש להכנסת האפקטור לגרעין תא הצמח וכן האזור המרכזי של האפקטור הדרוש לקשירתו לגן הצמחי. האזור המרכזי מורכב מרצפים דומים המופיעים במספר עותקים (חוזרנים) של חומצות אמינו (כ- 17 חוזרנים בממוצע) ודרושים לפחות 6.5 חוזרנים להפעלת גן המטרה על ידי ה-TALE. מחקרים רבים נעשו בשנים האחרונות על הקשר בין הרכב הרצפים החוזרניים לקשירתם הספציפית לגנים המופעלים על ידי ה-TALE בצמח. מאמר סקירה מפורט על נושא זה ניתן למצוא ב- (Büttner, 2016). המחקרים על הקשר שבין רצפי ה-TALE להפעלת הגנים של הצמח סייעו רבות לחקר עריכה גנומית בצמחים (Gene editing). למרות זאת המנגנונים הכרוכים בהפעלת השעתוק על ידי ה-TALE עדיין אינם ברורים לגמרי.

הופעת אפקטורים חדשים בפתוגנים יכולה להיגרם באמצעות שני תהליכים: האחד במעבר אופקי (horizontal gene transfer) שבו אפקטורים מפתוגן אחד נרכשים ע"י פתוגן אחר, והשני בתהליך המכונה פתואדפטציה (pathoadaptive) שבו כתוצאה ממוטציות וסלקציה נוצרים אפקטורים חדשים החשובים לאותו פתוגן (Sokurenko et al. 1999).

הורמונים צמחיים הנוצרים על ידי הפתוגנים

לאוקסין תפקידים רבים וחשובים ביחסי הגומלין בין חיידקים פיטופתוגניים לצמחים (Kunkel & Harper, 2018). אוקסין וציטוקינין הם גם ההורמונים העיקריים הידועים כמפרשים ע"י חיידקים יוצרי עפצים בצמחים. ביניהם בולט במיוחד ה-*Agrobacterium tumefaciens* שעליו מבוסס מנגנון מורכב וייחודי להנדסה גנטית בצמחים (Gelvin, 2003). החיידק גורם לגידולים סרטניים על מיני צמחים דו פסיגים רבים ומכיל פלסמיד המכונה Tumor-inducing plasmid (Ti plasmid). מקטע ממנו, ה-T-DNA (transferred DNA) הנושא עליו גנים ליצירת אוקסין וציטוקינין, עובר אינטגרציה לכרומוזומים של הצמח בתהליך המכונה "הנדסה גנטית טבעית". חיידקים נוספים היוצרים הורמונים צמחיים הם *Pag* ו-*Pab* היוצרים עפצים על גבסנית וסלק בהתאמה. הפתוגניות של שני הפתוברים תלויה בנוכחות פלסמיד לפתוגניות המכונה pPATH. ה-pPATH מכיל "אי פתוגניות" (PAI, Pathogenicity island) המצוי באוכלוסיות שונות של *P. agglomerans* ועשוי להיות בגדלים שונים. מחקרים על הפלסמיד בתבדיד *Pag824-1* הראו שגודלו כ- 135 kb והוא מכיל PAI בגודל של כ- 75 kb. ה-PAI נושא את צבר הגנים *hrp/hrc* בשלמותו הכולל את ה-T3SS והמאפשר את החדרת האפקטורים מסוג 3 מהחיידק ישירות לתא הצמח (Barash and Manulis, 2009). בנוסף כולל הפלסמיד את כל האפקטורים מסוג 3 שזוהו בחיידק וכן מספר "insertion sequences" שונים, שחלקם כנראה נשאו טרנספוזונים (transposons) ואשר היו כנראה מעורבים באבולוציה של הפלסמיד. ה-PAI מכיל גם צבר גנים המקודדים לביוסינטזה של אוקסין וציטוקינינים המשפיעים על גודל העפצים הנוצרים. יש לציין שאוקסין ממקור צמחי נמצא חיוני ליצירת העפצים ע"י *Pag*. הפתוגן משפיע על מעבר אוקסין בצמח באמצעות "polar auxin transport" ובכך מגביר את זרימת האוקסין לאזור ההדבקה (Chalupowicz et al., 2013).

ריקבון רך הוא תוצאה של פרוק מבנה דופן התא הגורם להפרדות התאים וקריסתם בתהליך הקרוי מצרציה (maceration) והגורם לשחרור הנוזל התוך תאי לרקמה הנגועה. החיידק הגרם שלילי *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* (*Pcc*), הנחשב כגורם הקלאסי לריקבון רך על צמחים רבים, יוצר את האנזימים הפקטוליטיים: pectate lyases, pectin acetyl esterases, polygalacturonases, pectin methyl esterases, pectin lyase (Kado, 2010). כקבוצה מכונים אנזימים אלה פקטינזות. הביוסניתזה של הפקטינזות עוברת אינדוקציה ע"י מרכיבי דפנות תאי צמח מבודדים, פקטין, ותוצרי פרוק של הפקטין. ניסויים בתנאים טבעיים (*in vivo*) הראו שהביוסניתזה של האנזימים: endopectate lyase, exopectate lyase and endopolygalacturonase עוברים אינדוקציה בשלבים (sequential induction) בסדר הנ"ל כשלוש שעות לאחר ההדבקה. ביטוי האנזימים העיקריים המשתתפים בפרוק דפנות התאים, הכוללים גם את הצלולה Cel VI, מצויים תחת בקרה גלובלית של הגן *expA* וכן בקרות נוספות, כולל חישה קבוצתית (Quorum Sensing). ה-endopectate lyases, נחשבים לאנזימים העיקריים הגורמים לתסמינים של ריקבון רך. פרוק החומצה הפוליגלקטורונית נעשה בפריפלסמה של תאי הפתוגן במספר שלבים, תחילה יצירת אוליגומרים ולאחר מכן מונומרים העוברים הטמעה במטבוליזם של תאי החיידק.

כאמור יצירת האנזימים מפרקי הדופן בגורמי ריקבון רך הינה תחת בקרה של חישה קבוצתית שבה ל-*N-acyl homoserine lactone* (AHL) תפקיד מרכזי. צמחים טרנסגניים כמו תפוח אדמה, חציל, גזר ועוד, המבטאים נגזרות של קטונזות ממיני *Bacillus*, מראים עמידות לריקבון הרך (Dong et al., 2000). בנוסף לאנזימים מפרקי דופן נושא החיידק *Pcc* פרוטאזה הדרושה להשגת מקור חנקני לגידולו ברקמה הנגועה. *Pcc* מכיל מספר מנגנונים להפרשת האנזימים הדרושים לפרוק דפנות הצמח הכוללים את המערכת להפרשה כללית המכונה "Type II secretion system" המורכבת ממספר חלבונים. למרות יכולתו של גורם הריקבון הרך לתקוף צמחים רבים מבלי לגרום לתופעת עמידות, המתבטאת בתגובת רגישות היתר HR (הנגרמת ע"י מערכת ההפרשה מסוג 3), מכיל פתוגן זה גם את צבר הגנים *hrp/hrc* האופייניים למערכת זו ואשר לחלקם תפקיד מוכח בהפרשת האנזימים של גורם הריקבון הרך.

גם החיידק הגרם שלילי *Dickeya chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* גורם לריקבון רך על פונדקאים רבים. בפתוגן זה קימת שונות בספציפיות לצמחים שונים ובהתאם לכך חלוקה לפתוברים (Kado, 2010). יש לציין שגם חיידקים פיטופתוגנים אחרים מכילים בדרך כלל פקטינזות בכמות מוגבלת המסייעות לחדירתם לצמח אך אלו אינן גורמות לריקבון.

פיטוטוקסינים

פיטוטוקסינים הנוצרים ע"י חיידקים פתוגניים לצמחים אינם ספציפיים לפונדקאי ויכולים לגרום לתסמינים גם על צמחים רבים שאינם נתקפים ע"י הפתוגן היוצר אותם. הם משמשים כגורמי וירולנטיות המגבירים את סימני המחלה. בניגוד לגורמי וירולנטיות אחרים המדכאים את מערכת ההגנה של הצמח, ומאפשרים את התפתחות הפתוגן, הם אינם דרושים לעצם קיומה של המחלה. הטוקסינים coronatine, syringomycin, syringopeptin, tabtoxin and phaseolotoxin של הפתוגן *Pseudomonas syringae*, לדוגמה, נחקרו באינטנסיביות (Bender et al., 1999). ה-coronatine המזכיר במבנהו methyl jasmonate, הורמון הנוצר בצמח בתנאי עקה, גורם לסגירת הפיוניות, ה-

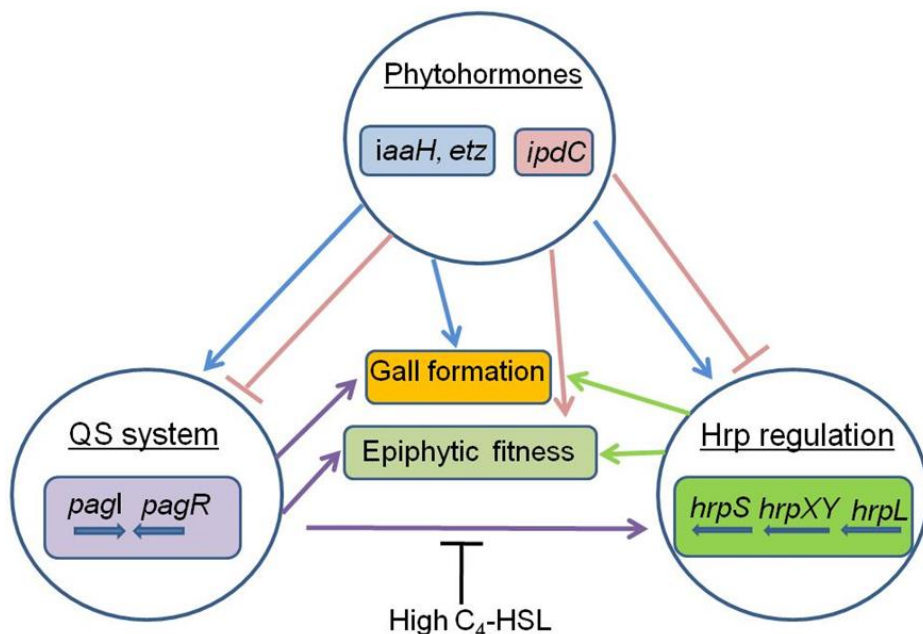
syringopeptin-ו-syringomycin יוצרים חורים בממברנת הצמח הגורמים לדליפת אלקטרוליטים, tabtoxin ו-phaseolotoxin מעכבים של האנזימים glutamine synthetase ו-ornithine carbamoyltransferase בהתאמה. מנגנון הפעולה של coronatine מעניין במיוחד (Melotto et al., 2017). בצמחים רבים הפיוניות, המהוות אתר חדירה חשוב לחיידקים פיטופתוגניים, נסגרות בלילה ונפתחות ביום. במחקרים שנעשו ב-*Arabidopsis thaliana* נמצא: א' שריכוזים ביולוגיים של coronatine היו אפקטיביים בפתיחת הפיוניות בחושך, ב' מוטנט חסר יכולת סינתזה של הטוקסין היה באופן מובהק פחות אפקטיבי בהדבקת הצמחים בחושך מאשר באור לעומת זן הבר, וג' הגן *cma* המקודד לביוסינתזה של coronatine, עובר אינדוקציה מיד לאחר שהוא בא במגע עם העלה ללא כל קשר לאור או לחושך. תוצאות אלה מציעות ש-*Pseudomonas syringae* DC3000 מפעיל את הטוקסין לפני חדירתו לעלים וגורם לפתיחת הפיוניות למרות שהחושך גורם לסגירתן.

בקה על ביטוי גורמי וירולנטיות

הבקה של ביטוי האפקטורים מסוג 3 ממשפחת ה- Hrp1 נחקרה לעומק בחיידקים *Pag* ו-*Pab* ותואר כאן בפירוט. הגנים לבקה של ה- T3SS (Hrp regulon), המצויים על הפלסמיד pPATH, הם *hrpS*, *hrpXY* ו-*hrpL* (Nizan et al., 2003). *hrpXY* אופרון מקודד למערכת דו-מרכיבית, *hrpS* מקודד לפקטור שיעתוק ממשפחת ה- NtrC ואילו HrpL פועל כסיגמה (sigma factor) שהינו חלבון המזהה פרומוטורים של גנים ומפעיל את השיעתוק שלהם, ובכך מביא לביטויים. חלבוני ה- HrpL שמורים היטב ברצף חומצות האמינו שלהם וכולם מכירים בחיידק רצף דומה (consensus sequence) המכונה "Hrp box". המודל לבקה שהוצע הוא כדלקמן: חלבון ה- HrpY שעובר פוספורילציה מפעיל את הגן *hrpS* וזה מפעיל את *hrpL*. חלבון ה- HrpL מפעיל גנים הנושאים "Hrp box" בפרומוטור (Nissan et al., 2005).

מערכת בקרה זו אינה פועלת לבדה אלא משולבת במערכות בקרה נוספות. כפי שהוזכר הפתוגניות של החיידקים *Pag* ו-*Pab* תלויה באופן מוחלט בפלסמיד הנושא את מערכת ההפרשה מסוג 3 שהועבר לחיידק במעבר אופקי. מעבר זה נמצא מלווה בהשתלבות ה- T3SS במערכות כרומוזמליות לבקה גלובלית של החיידק כגון חישה קבוצתית (QS) "Quorum sensing" (Chalupowicz et al., 2008) ו- Gac/Rsm post transcriptional global regulatory pathway (Panijel et al., 2013). חישה קבוצתית היא תקשורת בין תאית המאפשרת לחיידקים לקבל אינפורמציה על צפיפות התאים שלהם ובהתאם לכך לווסת את ביטוי הגנים. ל-QS בחיידקים תפקיד חשוב גם ביצירת הביופילם (Biofilm) המהווה שכבת חיידקים צפופה על פני משטחי צמח או בעל חיים ומשפרת את עמידות החיידקים לתנאים קשים ויכולת ההדבקה של הפונדקאים. בחיידקים גרם-שליליים רבים ה- QS מתאפיין בנוכחות חלבוני הבקה *LuxR*, המתפקד כ- Transcriptional regulator בעוד ש- *LuxI* אחראי ליצירת הסיגנל *N*-synthase (PagI ו- PagR) *Pantoea* acylhomoserine lactone המפעיל את ה- *luxR*. ההומולוגיים של חלבוני הבקה ב- *PagI* (PagI ו- PagR) *Pag824-1* (Chalupowicz et al., 2008). נמצא אחראי ליצירת הסיגנל *N*-butanoyl-L-homoserine lactone (C₄HSL). מוטציה בכל אחד משני חלבוני הבקה גרמה להקטנת העפץ בכ-50%. הפחתה גבוהה יותר בגודל העפצים (70% ל-90%) נגרמה על ידי ביטוי ביתר של PagI או הוספת עודף של הסיגנל C₄HSL. במחקר מקיף נמצאו יחסי גומלין בין מנגנון הבקה של ה-QS, יצירת ההורמונים אוקסין וציטוקינין ע"י הפתוגן, והגנים לבקה של ה- T3SS המצויים על ה-pPATH (Chalupowicz et al., 2009). שילוב של גורמי הבקה הידועים בפתוגניות של החיידקים *Pag* ו-*Pab* אפשר לראות באיור 1. הגנים לבקה- (Hrp regulon) של ה-T3SS מפעילים

את מערכת ה-T3SS. הפעלת ה-T3SS נעשית באמצעות ה-*hrp box*. ה-*PagR* פועל כ- "כחלבון בקרה המפעיל שעתוק" של הגנים ל-*"Hrp regulon"* תוך תלות בסיגנל C₄HSL המקודד ע"י *PagI*. במחקר נוסף נמצא ש-*PagR* ו-*PagI* גורמים גם לעליה בביטוי ה-*Gac/Rsm post-transcriptional pathway* (Panijel et al., 2013). מוטנטים בגנים של מסלול ה-*Gac/Rsm* או ביטוי ביתר שלהם משפיעים על ביטוי ה-*RsmA* (regulator of secondary metabolism) הפועל גם כגן בקרה חשוב של ה-*"Hrp regulon"* ומשפיע על הירולנטיות של החיידק ויכולת האכלוס שלו בצמח.



איור 1. יחסי גומלין בין פיטוהורמונים, חישה קבוצתית (QS) וגנים לרגולציה של *Hrp* המשפיעים על יצירת עפצים ואכלוס משטחי הצמח (Epiphytic fitness) בחיידק *Pantoea agglomerance* pv. *gypsophillae* (לקוח מ-Chalupowicz et al., 2009). המרכיבים השונים נתונים בתוך העיגולים. החיצים מסמנים את הגברת השפעת הרגולציה ואילו הקווים החסומים את הורדתה. ברמת הדבקה נמוכה (10^6 תאים למיליליטר) המסלול הפלסמידי לביויסינטיז של IAA בחיידק (*iaaH*) והציטוקינין (*etz*) מזרזים את ביטוי הגנים לבקרה של ה-QS (*PagI* ו-*PagR*) ומסלול הבקרה של ה-*Hrp regulon* (*hrpS hrpXY and hrpL*). לעומת זאת למסלול הכרומוזומלי ליצירת האוקסין בחיידק (*ipdC*) בקרה שלילית על שעתוק ה-*Hrp regulon* ומערכת ה-QS. ה-QS מזרז את ה-*Hrp regulon* ולכן הסיגנל C₄HSL בריכוז גבוה מעכב את ביטוי ה-QS והגנים של ה-*Hrp regulon*.

גורמי וירולנטיות בחיידקים גרם חיוביים הפתוגניים לצמחים

ההתקדמות בגנטיקה מולקולרית הביאה לאפיון מעמיק יותר של גורמי הירולנטיות גם בחיידקים גרם חיוביים הפתוגניים לצמחים הכוללים *Clavibacter*, *Streptomyces*, *Rhodococcus* ל-*Actinobacteria* או ל-*Candidatus*, *Spiroplasma* or *Phytoplasma* השייכים ל-*Firmicutes*. פרק זה יעסוק רק ב-*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (*Cmm*) ו-*Streptomyces* spp. הגורמים למחלות חשובות בארץ. חיידקונים (חיידקי *Phytoplasma*) מתוארים בפרק על מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי ווקטורים חרקים (פרקי מחלות חיידקים שוכני שיפה וחיידקים שוכני עצה).

Cmm הוא המין היחיד המוכר בסוג *Clavibacter*. תת-מינים אחרים של מין זה תוקפים פונדקאים אחרים כמו *C. m. ssp. sepedonicus*. התוקף צמחי תפוח אדמה. ה-*Cmm* חודר דרך פצעים או פתחים טבעיים ועובר דרך זרעים. הוא גדל בעיקר בצינורות העצה וגורם לנבילה, להופעת כיבים (cankers) על הגבעולים ומעין אבעבועות (blisters) בעלים המסייעים בהפצה המשנית של הפתוגן. הפתוגניות נגרמת באמצעות גורמי וירולנטיות הכוללים מווסתי שעתוק (Transcriptional regulators) הממוקמים על הכרומוזום ושני פלסמידים טבעיים (Eichenlaub & Gartemann, 2011; Nandi et al., 2018). הגנום של ה-*Cmm* רוצף במספר תבדידים והוא מכיל כרומוזום בגודל הנע בין 3.3-3.6 Mb ושני פלסמידים: *pCM1* (31-59 kb) ו-*pCM2* (64-109 kb). מחקרים רבים נעשו על התבדיר *Cmm382* השייך כאמור ל-Actinobacteria המאופיינים בתכולת GC גבוהה בכרומוזום. בתבדיר *Cmm382* אותר בכרומוזום אזור של 129 kb עם תכולת GC נמוכה יותר מזו שבכרומוזום המכונה "אי פתוגניות" (Pathogenicity island). אזור זה הנקרא *chp/tomA* נושא עליו גנים לפתוגניות משתי קבוצות. תת-אזור ה-*chp* מכיל גנים המקודדים לפרוטאזות וגנים נוספים לוירולנטיות, ואילו תת האזור *tomA* מקודד לאנזים *tomatinase* שגורם לפרוק ה-*tomatin*, המקנה הגנה בסיסית לצמח. ה-*chp/tomA* נמצא כ- "אי פתוגניות" כרומוזומלי יחיד בכל תבדירי ה-*Cmm* הפתוגניים לעגבנייה שרוצפו וחסר בתבדירי *Cmm* אנדופיטים בלתי פתוגניים. מלבד אי הפתוגניות בכרומוזום, ממוקמים גנים לוירולנטיות על שני הפלסמידים *pCM1* ו-*pCM2*. ה-*pCM1* חיוני לוירולנטיות ואילו ה-*pCM2* דרוש רק לוירולנטיות של תבדידים מסוימים אולם ברוב המקרים מצוי בכל התבדידים. תנועת ה-*Cmm382* בעגבנייה נמדדה על ידי סימונו ב- Green Fluorescence Protein (GFP) ומעקב באמצעות מיקרוסקופ קונפוקלי (Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM)). נמצא שהפתוגן מאכלס באופן ניכר את חלל צינורות הקסילים, תוך יצירת צברים של תאים וביופילם, ובמיוחד נקשר לספירלות של הדופן המשנית (Chalupowicz et al., 2012). במעקב אחר תבדיר הבר *Cmm382* נמצא שהגיע לאזור האפיקלי של הצמח תוך 15 ימים ואילו התבדידים *Cmm100* (החסר את שני הפלסמידים *pCM1* ו-*pCM2*), או *Cmm27* (החסר את אי הפתוגניות הכרוזומלי - *chp/tomA*) נשארו בעיקר באזור ההדבקה. תוצאות אלה תומכות בהשערה שגורמי וירולנטיות הממוקמים על אי הפתוגניות *chp/tomA* והפלסמידים דרושים לתנועת ה-*Cmm* ויצירת הצברים בצינורות הקסילים. עוד נמצא שגורמי וירולנטיות שונים אחראים ליצירת הסימפטום של blisters על העלים, ולהם תפקיד חשוב בהפצה המשנית של הפתוגן במשתלות עגבנייה, לעומת סימפטום הנבילה (Chalupowicz et al., 2017). סימון באמצעות GFP הראה שהחדירה לעלים נעשית בעיקר דרך הטריכומות (Trichomes). כאשר עלי עגבנייה הודבקו על ידי ריסוס של תבדיר הבר *Cmm382* או *Cmm100* (החסר *pCM1* ו-*pCM2*), הופיעו כתמים דמויי שלפוחית (blisters), בעוד שהחידק *Cmm27* החסר את אי הפתוגניות *chp/tomA* נשאר בלתי פתוגני. מכאן שנוכחות הפלסמידים חיונית לנבילה אך לא להופעת השלפוחיות. בנוסף, באמצעות מוטציות נמצא שגנים כרומוזומליים המקודדים ל-serine proteases וכן אנזימים מפרקי דופן ואתילן, הנוצר ע"י הצמח, חיוניים לנבילה (Balaji et al., 2008). גם שני מפעילי שיעתוק של ה-*Cmm* *Vatr1* ו-*Vatr2* חיוניים לפתוגניות (Savidor et al., 2014).

חיידקים גרם חיוביים מהסוג *Streptomyces* השייכים ל-Actinobacteria ידועים במגוון המורפולוגי שלהם וביכולתם ליצור מספר רב של מטבוליטים ביואקטיבים המשמשים לרפואת אדם ובעלי חיים כמו חומרי אנטיביוטיקה (Li et al., 2019). לעומת זאת יכולתם להדביק רקמות צמחים וליצור מחלות כמו גרב תפוח אדמה הינה תכונה נדירה בקרב תבדירי *Streptomyces*. מחקרים על מנגונית הפתוגניות של תבדירי *Streptomyces* בצמחים הדגישו את חשיבות הפיטוטוקסינים ממשפחת ה-Thaxtomins ביצירת הגרב (Loria et al., 2006).

מרבית הסטרפטומיצטים הפיטופתוגניים גורמים ל- "גרב מצוי" (common scab) על תפוחי אדמה. תיאור מפורט של התסמינים ניתן בפרק העוסק במחלות הנגרמות ע"י חיידקים בצמחים בישראל. בשנים האחרונות מחקרים מולקולריים על מיני סטרפטומיצטים קידמו את ההבנה כיצד מיקרואורגניזמים אלה מאכלסים צמחים חיים. הגנומים של מספר מינים פתוגניים ובלתי פתוגניים רוצפו ושימשו לאנליזה משווה ואיתור גורמי וירולנטיות שניתן לחלקם לשלוש קבוצות עיקריות: פיטוטוקסינים, פיטוהורמונים וחלבונים מופרשים. הפיטוטוקסינים הראשונים שאופיינו היו thaxtomins A and B ב- *S. scabies* והם נחשבים גם כיום כטוקסינים העיקריים בגרב של תפוחי אדמה. הם מורכבים מ- cyclic dipeptides שנוצרו מ- L-phenyl alanine ו- L-4-nitrotryptophan. קיימים מספר אנלוגיים ל- taxtomins כאשר ל- thaxtomin A הפעילות הגבוהה ביותר וקורלציה גבוהה בין ריכוזו לתסמינים שהוא גורם (Li et al., 2019). הביסניטזה של ה- taxtomins ייחודית למיני סטרפטומיצטים פתוגניים לצמחים וקשורה בנוכחות צבר גנים שמור. נוכחות צבר זה במיני סטרפטומיצטים השונים מבחינה פילוגנטית מעידה על התפקיד החשוב שיש למעבר גנים הוריזונטלי בהופעת מיני סטרפטומיצטים חדשים הגורמים לגרב בצמחים (Loria et al., 2006). פיטוטוקסינים נוספים שתורמים למחלת הגרב הם: coronafacoyl, cocanamycins ואחרים (Li et al., 2019). הפיטוהורמונים הנוצרים על ידי סטרפטומיצטים והחשובים לוירולנטיות הם בעיקר הציטוקינינים, האינדול חומצה אצטית (אוקסין) והאתילן. הציטוקינינים הידועים כהורמוני גדילה בגלל תפקידם בבקרת הגידול והתפתחותו, מסייעים למעבר חומרי המזון לאזורי ההדבקה וגידול הפתוגן. לאוקסין תפקיד קריטי בבקרה של גידול והתפתחות הצמח. יצירת אוקסין מטריפטופן נמצאה במספר מינים של *Streptomyces* כולל המסלול דרך Indole-acetamide שנמצא ב- *S. scabies* (Manulis et al., 1994). אתילן הינו הורמון נדיף בעל תפקיד חשוב בוויסות מערכות ההגנה של הצמח. תפקידו המדויק ביצירת הגרב עדיין אינו ברור. בנוסף זהו מספר חלבונים מופרשים המכונים אפקטורים המשפיעים על עוצמת המחלה (Li et al., 2019).

סיכום

גורמי הוירולנטיות בחיידקים פיטופתוגניים הם רבים ומגוונים ומייצגים את מרבית קבוצות החומרים המטבוליים הנוצרים ע"י החיידקים. חלקם דרושים לדיכוי מערכות ההגנה של הצמח והתפתחות המחלה וחלקם להגברת התסמינים וסימני המחלה בלבד. בשנים האחרונות התרכז המחקר בעיקר בהבנת מנגנוני הפעולה של גורמי הוירולנטיות בשיטות מתקדמות.

מקורות

- Balaji V., Mayrose M., Sherf O., Jacob-Hirsch J., Eichenlaub R., Iraki N., Manulis-Sasson S., Rechavi G., Barash I. and Sessa, G. (2008) Tomato transcriptional changes in response to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* reveal a role for ethylene in disease development. *Plant Physiology* 146: 1797-1809.
- Barash I. and Manulis-Sasson S. (2009) Recent evolution of bacterial pathogens: the gall-forming *Pantoea agglomerans* case. *Annual Review of Phytopathology* 47: 133-152.

- Bender C. L., Alarcón-Chaidez F. and Gross D. C. (1999) *Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases. *Microbiology Molecular Biological Reviews* 63: 266-292.
- Büttner D. (2016) Behind the lines—actions of bacterial type III effector proteins in plant cells. *FEMS Microbiology Reviews* 40: 894-937.
- Chalupowicz L., Barash I., Panijel M., Sessa G. and Manulis-Sasson S. (2009) Regulatory interactions between quorum-sensing, auxin, cytokinin, and the Hrp regulon in relation to gall formation and epiphytic fitness of *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophila*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 849-856.
- Chalupowicz L., Barash I., Reuven M., Dror O., Sharabani G., Gartemann K-H., Eichenlaub R., Sessa G. and Manulis-Sasson S. (2017) Differential contribution of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* virulence factors to systemic and local infection in tomato. *Molecular Plant Pathology* 18: 336-346.
- Chalupowicz L., Manulis-Sasson S., Itkin M., Sacher A., Sessa G. and Barash I. (2008) Quorum-sensing system affects gall development incited by *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophila*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 1094-1105.
- Chalupowicz L., Weinthal D., Gaba V., Sessa G., Barash I. and Manulis-Sasson S. (2013) Polar auxin transport is essential for gall formation by *Pantoea agglomerans* on gypsophila. *Molecular Plant Pathology* 14: 185-190.
- Chalupowicz L., Zellermann E-M., Fluegel M., Dror O., Eichenlaub R., Gartemann K.-H., Savidor A., Sessa G., Iraki N., Barash I. and Manulis-Sasson S. (2012) Colonization and movement of GFP-labeled *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* during tomato infection. *Phytopathology* 102: 23-31.
- Cornelis G.R. (2006) The type III secretion injectisome. *Nature Reviews Microbiology* 4: 811-825.
- Dong Y-H., Xu J-L., Li X-Z. and Zhang L-H. (2000) AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 3526-3531.
- Eichenlaub R. and Gartemann K-H. (2011) The *Clavibacter michiganensis* subspecies: molecular investigation of Gram-positive bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 49: 445-464.
- Gelvin S. B. (2003) *Agrobacterium*-mediated plant transformation: the biology behind the “gene-jockeying” tool. *Microbiological Molecular Biology Reviews* 67: 16-37.
- Jiménez-Guerrero I., Pérez-Montaña F., da Silva GM., Wagner N., Shkedy D., Zhao M., Pizarro L., Bar M., Walcott R. and Sessa G. (2020) Show me your secret(ed) weapons: a multifaceted approach reveals a wide arsenal of type III-secreted effectors in the cucurbit pathogenic

- bacterium *Acidovorax citrulli* and novel effectors in the *Acidovorax* genus. *Molecular Plant Pathology* 21: 17-37.
- Kado C. I. (2010) *Plant Bacteriology*. American Phytopathology Society Press. St. Paul, Min, USA.
- Kunkel B. N. and Harper C. P. (2018) The roles of auxin during interactions between bacterial plant pathogens and their hosts. *Journal of Experimental Botany* 69: 245-254.
- Li Y., Liu J., Díaz-Cruz G., Cheng Z. and Bignell D. R. (2019) Virulence mechanisms of plant-pathogenic *Streptomyces* species: An updated review. *Microbiology* 165:1025-1040.
- Loria R., Kers J. and Joshi M. (2006) Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. *Annual Review of Phytopathology* 44: 469-487.
- Manulis S., Shafrir H., Epstein E., Lichter A. and Barash I. (1994) Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. *Microbiology* 140: 1045-1050.
- Melotto M., Zhang L., Oblessuc P. R. and Sheng Y. (2017) Stomatal defense a decade later. *Plant Physiology* 174: 561-571.
- Nandi M., Macdonald J., Liu P., Weselowski B., Yuan Z. C. (2018) *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*: Bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. *Molecular Plant Pathology* 19: 2036-2050.
- Nissan G., Gershovits M., Morozov M., Chalupowicz L., Sessa G., Manulis-Sasson S., Barash I. and Pupko T. (2018) Revealing the inventory of type III effectors in *Pantoea agglomerans* gall-forming pathovars using draft genome sequences and a machine-learning approach. *Molecular Plant Pathology* 19: 381-392.
- Nissan G., Manulis S., Weinthal D. M., Sessa G. and Barash I. (2005) Analysis of promoters recognized by HrpL, an alternative σ -factor protein from *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophylae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18: 634-643.
- Nizan-Koren R., Manulis S., Mor H., Iraki N. and Barash I. (2003) The regulatory cascade that activates the Hrp regulon in *Erwinia herbicola* pv. *gypsophylae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16: 249-260.
- Panijel M., Chalupowicz L., Sessa G., Manulis-Sasson S. and Barash I. (2013) Global regulatory networks control the *hrp* regulon of the gall-forming bacterium *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophylae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26: 1031-1043.
- Savidor A., Chalupowicz L., Teper D., Gartemann K-H., Eichenlaub R., Manulis-Sasson S., Barash I. and Sessa G. (2014) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Vatr1 and Vatr2 transcriptional regulators are required for virulence in tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27: 1035-1047.
- Sokurenko E. V., Hasty D. L. and Dykhuizen D.E. (1999) Pathoadaptive mutations: Gene loss and variation in bacterial pathogens. *Trends in Microbiology* 7: 191-195.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 4: מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים

א' חיידקים שוכני שיפה

אופיר בהר

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

מחלות חיידקיות המועברות על ידי וקטורים חרקיים הן מחלות בהן גורם המחלה מוגבל לרקמה ממנה ניזון הווקטור המפיץ אותן. חיידקים גורמי מחלה המופצים על ידי חרקים ניזוני שיפה הינם שוכני שיפה ואלו המופצים על ידי חרקים מוצצי עצה יהיו שוכני עצה (פרק שני). בפרק זה אעמוד על מאפיינים ייחודיים של גורמי מחלות שוכני שיפה, יתוארו תסמיני המחלה, מחלות משמעותיות הנגרמות על ידם ויפורטו דרכים מקובלות וחדשות להתמודדות עמם. אתמקד בעיקר במחלות צהבון הגפן, צהבון הגזר ומחלת הגרינינג, אשר פגעה בתעשיית ההדרים בפלורידה בצורה כה קשה עד כדי איום ממשי על חיסולה. גילוי וקטור של המחלה באירופה בשנים האחרונות מעלה חששות שהמחלה תפלוש בקרוב גם לאירופה ולמזרח התיכון ותאיים על תעשיית ההדרים גם באזורנו.

אופן הציטוט: בהר א' (2021) **מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים, א' חיידקים שוכני שיפה.** פרק 4, ע' 56-71 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון** <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51904>



מבוא

מדוע לייחד פרקים נפרדים (ראו גם פרק על חיידקים שוכני עצה) על חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים? לכך יש שתי סיבות עיקריות, האחת, היא ההבדלים הביולוגיים והאפידמיולוגיים בין מחלות אלו לבין אלו הנגרמות על ידי חיידקים אחרים, והשנייה היא התפרצויות משמעותיות ביותר החל מתחילת המאה ה-21 של מספר מחלות שנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי חרקים, שהובילו לנזקים אדירי ממדים בגידולים אותם תקפו ולמעשה העלו במידה ניכרת את "יחסי-הציבור" הרדומים של מחלות אלו בקרב הסקטור החקלאי, המחקרי ואף בקרב הציבור כולו. על אף השתייכותם של חיידקים אלו לקבוצת החיידקים גורמי מחלות בצמחים, רב השונה על הדומה בינם לבין החיידקים גורמי המחלות בצמחים שאינם תלויים להפצתם בווקטור חרקי. בפרק זה יוצגו הבדלים אלו וכיצד הם באים לידי ביטוי במחלות בצמחים ובאופן בו אנו מנסים להתמודד איתן. יתוארו סוגי ומיני החיידקים העיקריים שנכללים בקבוצה זו, מחלות הרוח אסון להן גרמו, יובא המעט הידוע על מנגוני האלימות שלהם ונדון בדרכים להתמודדות עם המחלות שהם גורמים. לבסוף יועלו מספר שאלות שעדין פתוחות בתחום מחקר מרתק זה, שרק לאחרונה צובר את תשומת הלב הראויה לו מהקהילה המדעית.

מאפיינים כלליים של חיידקים שוכני שיפה

אחד המאפיינים הבולטים ביותר של קבוצת החיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים הוא הגנום הקטן שלהם ביחס לגנום של חיידקים גורמי מחלות אחרים בצמחים (טבלה 1). ניתן לראות, שגודל הגנום החיידקי, ובהתאם, מספר הגנים המקודדים של החיידקים בקבוצה זו, קטנים בהרבה מאלו של חיידקים שאינם תלויים בווקטור להפצתם. כך לדוגמה גודל הגנום של חיידקי *Candidatus Phytoplasma* (פיטופלסמה) נע בין 530,000 ל-880,000 בסיסים (Oshima et al. 2013), בעוד גודלו של הגנום של מיני חיידקים פתוגנים הנמנים על הסוגים *Acidovorax*, *Xanthomonas* ו-*Pseudomonas*, אשר אינם תלויים בווקטור להפצתם, גדול פי כמה והוא נע בין 5-6.5 מיליון בסיסים.

טבלה 1. גודל הגנום של חיידקים המשויכים עם מחלות צמחים ומועברים על ידי וקטור חרקי ושל חיידקים פתוגנים שאינם תלויים בווקטור חרקי

מקור	מספר גנים מקודדים לחלבון	תכולת GC (%)	גודל גנום (bp)	תלות בווקטור חרקי	מין החיידק
(Chung et al. 2013)	421	24.3	562,473	+	<i>Candidatus Phytoplasma aurantifolia</i> (PnWB)
(Chung et al. 2013)	479	21.4	601,943	+	<i>Ca. P. mali</i>
(Chung et al. 2013)	684	27.4	879,959	+	<i>Ca. P. australiense</i>
(Chung et al. 2013)	671	26.9	706,569	+	<i>Ca. P. asteris</i> (AYWB)
(Katsir et al. 2018)	1,172	34.8	1,302,651	+	<i>Ca. Liberibacter solanacearum</i> (ISR100)
(Duan et al. 2009)	1,136	36.5	1,227,204	+	<i>Ca. Liberibacter asiaticus</i>
(Davis et al. 2017)	1,573	25.56	1,599,709	+	<i>Spiroplasma citri</i>
(Van Sluys et al. 2003)	2,066	51.80	2,519,802	+	<i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>fastidiosa</i>
(Qian et al. 2005)	4,273	64.94	5,148,708	-	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (8004)
(Buell et al. 2003)	4,874	58.4	6,397,126	-	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> (DC3000)
(Yang et al. 2019)	4216	68.9	4,846,466		<i>Acidovorax citrulli</i> (M6)

ההבדל בגודל גנום החיידקים עומד בבסיס השוני בביולוגיה בין חיידקים אלו לחיידקים אחרים היות והוא זה שבגינן רוב החיידקים הללו אינם מסוגלים לחיות מחוץ לתא צמחי חי, או מחוץ לגופו של וקטור חרקי. סברה מקובלת היא, שהגנום המצומצם של חיידקים אלו הוא תוצאה של אבולוציה דגנרטיבית (degenerative), בה התפתחה תלות בין החיידק למאכסן שלו, אשר הובילה לאיבוד גנים הכרחיים לקיומו העצמאי של החיידק, בדומה לתהליך שהתרחש בין חיידקים סימביוטיים לבין מאכסניהם (Gonella et al. 2019; Oshima et al. 2013). כלומר, בניגוד לחיידקים

אחרים, שיכולים להתקיים על גבי שטח הפנים של העלים, בחללים בין-תאיים, בקרקע, על שאריות צמחים נרקבות ועוד, חיידקים אלו תלויים באופן מוחלט באורגניזם בו הם נמצאים ולכן הם מוגדרים כפרזיטים אובליגטוריים (ראו פרק מחלות צמחים). בהתאם לכך, מרבית החיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים אינם ניתנים לגידול במצע גידול מלאכותי. זו כנראה אחת הסיבות מדוע קבוצת חיידקים זו נחקרה מעט יחסית לחיידקים אחרים. הקושי בעבודה עם אורגניזם שלא ניתן לבידוד וגידול על מצע מזון מלאכותי, וכל המגבלות המשתמעות מכך, הרחיקו חוקרים רבים מלחקור את אותם חיידקים.

מאפיין נוסף של קבוצת חיידקים זו, הוא תלותם המוחלטת בווקטור חרקי להפצה בתנאים טבעיים. חשוב לציין כאן את ההסתייגות של "תנאים טבעיים", היות ומרבית חיידקים אלו יכולים לעבור בין צמחים על ידי הרכבה (חיבור בין רוכב נגוע על כנה בריאה וההיפך), ועם חלקם ניתן אף לבצע אילוח באופן מלאכותי. יחד עם זאת, הדרך בה גורמי מחלה אלו מופצים בתוך חלקה קיימת, או בין חלקות, היא אך ורק על ידי וקטור חרקי, ולא על ידי אמצעים אחרים כגון מגע פיזי, מים, רוח, כלי עבודה וכו' אשר כן יכולים להעביר חיידקים אחרים.

ניתן לחלק את הווקטורים של חיידקים אלו לחרקים הניזונים מרקמת השיפה, הרקמה האחראית על הובלת הסוכרים בצמח, ולחרקים הניזונים מרקמת העצה (ראו פרק חיידקים שוכני עצה), הרקמה האחראית להובלת המים בצמח. בהתאם לרקמה ממנה ניזון הווקטור החרקי, נקבעת גם הרקמה אותה מאכלס החיידק, ולכן חיידקים המועברים על ידי חרקים המאכלסים את רקמת השיפה מאכלסים את תאי השיפה ואילו חיידקים המועברים על ידי חרקים ניזוני עצה, מאכלסים את לוחות הכברה של העצה. בפרק זה נתמקד בחיידקים שוכני שיפה.

סוגי החיידקים

קבוצת החיידקים המאכלסת את רקמת השיפה כוללת בתוכה מספר מצומצם של סוגים: *Ca. Phytoplasma* (חיידקונים = פיטופלסמה), *Spiroplasma* (ברגונים = ספירופלסמה) ו- *Ca. Liberibacter* (ליבריבקטר). כאן המקום להבהיר, כי לחיידק אשר טרם תורבת ניתן השם *Candidatus* (או *Ca.* בקיצור) כתוספת לסוג החיידק. מבין הסוגי שהוזכרו לעיל רק הסוג ספירופלסמה ניתן לגידול במצע מזון מלאכותי. כל אחד מהסוגים שהוזכרו כולל בתוכו מספר מינים. בעוד הסוג פיטופלסמה כולל בתוכו מספר רב של מינים (מעל 20), הסוג ליבריבקטר כולל בתוכו בסה"כ ארבעה מינים הידועים כפתוגנים צמחיים והסוג ספירופלסמה כולל שלושה מינים (Hogenhout et al. 2014; Bové 2014; al. 2008).

חיידקים שוכני שיפה מועברים על ידי חרקים שונים הניזונים ממוהל השיפה של הצמחים. בתוך כך, חיידקי פיטופלסמה מועברים על פי רוב על ידי ציקדות מוצצות-שיפה מהמשפחות Cicadellidae (leafhoppers) ו-Fulgoridea (planthoppers), ומיעוטם על ידי מינים שונים של פסילות (psyllids). לעומתם, חיידקי ליבריבקטר מועברים באופן בלעדי על ידי פסילות. כך או כך, הווקטור החרקי רוכש את החיידק תוך כדי הזנה באמצעות חדקו ממוהל תאי השיפה של צמח נגוע. ברוב המקרים, החיידק ממשיך דרך תעלת המזון של החדק אל מערכת העיכול שם הוא מתרבה וממשיך אל ההמולימפה ואל בלוטות הרוק וכך הופך החרק אינפקטיבי (infective), כלומר בעל יכולת הדבקה (Hogenhout et al. 2008). תקופת זמן זו מרגע הרכישה ועד רגע הפיכתו של החרק לאינפקטיבי נקראת תקופה לטנטית והיא לרב נמשכת בין מספר ימים למספר שבועות (איור 1).

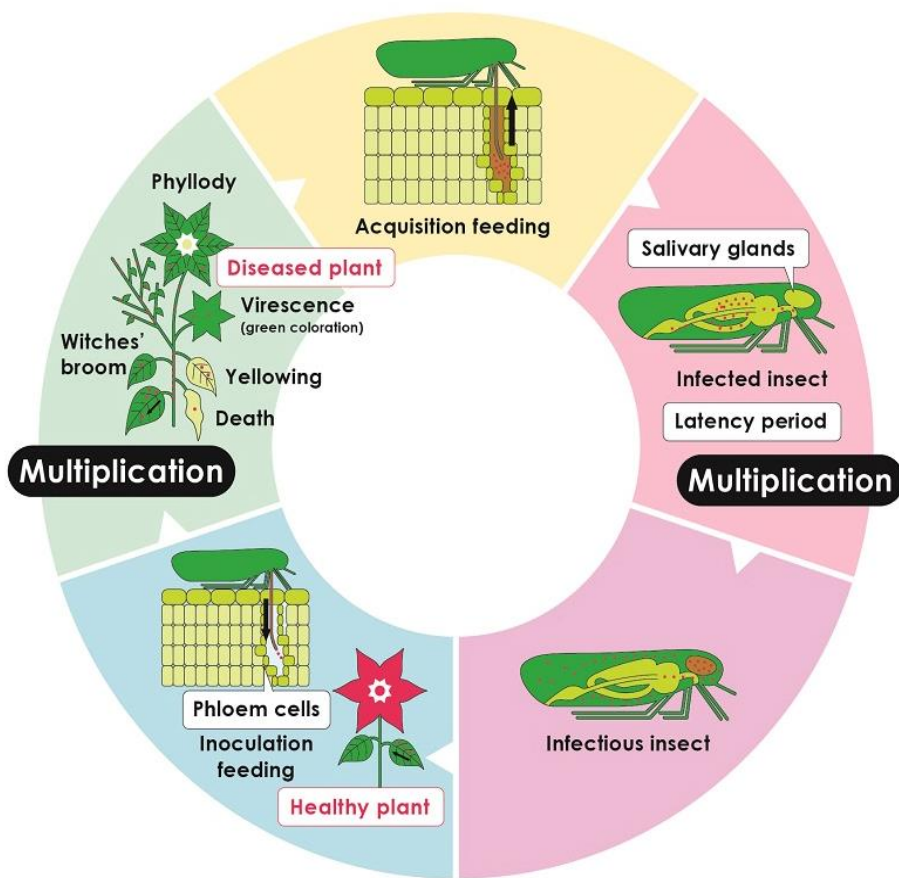
אחת התכונות הבולטות המבדילות חיידקים שוכני שיפה מכלל החיידקים הפתוגנים לצמחים, היא העובדה שהם שוכנים בתוך תא צמחי חי, בעוד מרבית החיידקים הפתוגנים לצמחים מאכלסים בעיקר את החללים הבין-תאים ברקמה הצמחית, ולמעשה לעולם אינם חודרים לתוך תא צמחי חי. לצערנו, קיים מעט מאוד מידע על האינטראקציה התוך תבנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 58

התאית בין גורם המחלה לתא הצמחי, אך אין ספק שזוהי נקודת הבלדל קריטית בינם לבין חיידקים אחרים שאחראית במידה רבה לאופיין המיוחד של מחלות אלו.

איור 1. מחזור מחלה אופייני למחלה חיידקית מועברת וקטור. בחלק העליון רוכש הווקטור את גורם המחלה מהרקמה בה הוא נמצא בצמח (שיפה/עצה) (רקע צהוב), לאחר מכן מתרבה גורם המחלה במערכת העיכול של החרק ומתפשט להמולימפה ולבלוטות הרוק (רקע ורוד-סגול).

חרק אינפקטיבי (רקע תכלת) הניזון מצמח בריא מעביר את גורם המחלה אל הרקמה ממנה הוא ניזון (שיפה/עצה). החיידק מתרבה בצמח, נודד לרקמות שונות ותסמיני מחלה אופייניים מופיעים (רקע ירוק). האיור

מתוך [Graduate School of Agricultural and Life Sciences / Faculty of Agriculture, University of Tokyo](http://www.gradschool.u-tokyo.ac.jp/graduate-school/graduate-school-of-agricultural-and-life-sciences/).



מחלות הנגרמות על ידי חיידקונים (פיטופלסמה) וברגונים (ספירופלסמה) (חיידקים גראם-חיוביים)

הסוגים פיטופלסמה וספירופלסמה הינם חיידקים גראם-חיוביים, חסרי דופן, המשתייכים לקבוצת ה-Mullicutes (רכי הדופן). גילויים של חיידקים אלו כחיידקים המשויכים עם תסמיני מחלות בצמחים הגיע בשלב מאוחר יחסית במדע מחלות הצמחים. בשנת 1967 הראתה קבוצה מיפן שצמחים המראים תסמיני נינוס, ומטאטא מכשפה, שעד לאותה עת סברו כי הם נגועים בוורוס, מאוכלסים על ידי חלקיקים פלאומורפים (בעלי צורות רבות), הנמצאים ברקמת השיפה של הצמח ולהם דמיון רב לחיידקי Mycoplasma (מיקופלסמה) (Doi et al. 1967). מיקופלסמה, היו ידועים באותה העת כחיידקים גראם-חיוביים חסרי דופן הגורמים למחלות בבעלי חיים ובני אדם. השיוך ההדוק של תסמיני המחלה עם נוכחות החלקיקים דמויי-המיקופלסמה, יחד עם העדר חלקיקים דמויי ווירוס באותם צמחים, והעובדה שטיפול באנטיביוטיקה טרציקלין הבריא את הצמחים והוביל להיעלמותם של החלקיקים דמויי-המיקופלסמה, תמכו בהשערה כי התסמינים נגרמים על ידי חלקיקים אלו הנמצאים בתאי השיפה של הצמח. בעיני רבים נחשבת עבודה זו לפורצת דרך בחקר מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקי פיטופלסמה וספירופלסמה. הדמיון למיקופלסמה מחד והאסוציאציה של חיידקים אלו עם צמחים מאידך, העניק להם ברבות הימים את השם Ca. Phytoplasma (פיטופלסמה) (Firrao et al. 2004).

מאז הגילוי בשנת 1967 נעשו מאמצים לא מבוטלים לבידוד גורם המחלה, אך עד היום טרם נמצא מצע מזון המאפשר בידוד או תרבות של חיידקים מהסוג פיטופלסמה. הקושי לבודדם על מצע מזון מלאכותי לכדי תרבית נקיייה

נובע בעיקר מהתלות המוחלטת שלהם ברכיבים המסופקים להם על ידי הצמח, או על ידי החרק הפונדקאי. ניסיונות לגדל את החיידקים על מצע מזון המכיל מיצויים צמחיים העלו חרס. משמעות הדבר היא, שמאז דווח לראשונה הקשר האפשרי בין חיידקי פיטופלסמה לבין תסמיני מחלה בצמח, לא הסתייע בידי המדע להוכיח באופן המקובל (מבחן קוך), כי חיידקים אלו הם הגורם הבלעדי והבלתי מעורער לתסמינים איתם הם משויכים.

הסוג פיטופלסמה כולל בתוכו מינים רבים, ובתוך מינים אלו טיפוסים גנטיים שונים. ככלל, הסוג פיטופלסמה הוא רב פונדקאי ומאכלס מינים שונים של צמחים, החל מעצים ועד גידולי ירקות וצמחי נוי (Weintraub and Jones 2009). במקרה של חיידקים מועברי וקטור, טווח הפונדקאים המעשי של החיידק נקבע לא רק על פי ההתאם הגנטי בינו לבין הפונדקאי, אלא גם על פי נוכחותו או העדרו של וקטור ממין מסוים. דוגמא מוחשית למצב זה מובאת בהמשך בפרק המחלות הנגרמות על ידי חיידקים שוכני עצה מהסוג *Xylella* (קסיללה).

חיידקים המשתייכים לקבוצת שוכני השיפה, על פי רב, אינם גורמים לתסמיני מחלה קלאסיים, כדוגמת כתמים נרקוטיים (נגרמים ממוות תאי), נבילה, כתמים מימיים, ריקבון רך ועוד (ראו פרק מחלות הנגרמות על ידי חיידקים בצמחים בישראל). חיידקים פתוגניים שוכני שיפה מאופיינים בשינויים התפתחותיים בצמח כדוגמת פריצה של צימוח וגטטיבי, מעבר מצימוח רפרודוקטיבי לצימוח וגטטיבי, התקצרות פרקים והצרות עלים. אחד התסמינים האופייניים ביותר לפיטופלסמה הוא תסמין שנקרא virescence המתאר מצב בו עלי הכותרת של הפרח הופכים ירוקים (הורקה) (איור 2א' ו 2ד'). תסמין אופייני נוסף, המופיע לעיתים בהמשך ל- virescence, הוא תסמין הנקרא phyllody (פילודיה) המתאר מעבר של רקמה רפרודוקטיבית (פרח) לצמיחה וגטטיבית על ידי יצירה של עלים, או אברים דמוי עלים וגבעולים (איור 2ב'). תסמינים אופייניים נוספים כוללים הצהבה (איור 2ג' ו 2ה') וריבוי פריצות עלים והתקצרות פרקים (איור 2ו', שקד) מופע שקיבל את הכינוי מטאטא מכשפה.

מחלות פיטופלסמה וספירופלסמה בישראל

בישראל (עד 2020), מחלות פיטופלסמה אינן מאוד נפוצות בגידולי שדה ובתי גידול, אך כן נראה כי הן מסבות נזק לגידולי מטעים וכרם. אחת ממחלות הפיטופלסמה הוותיקות בישראל היא מחלת צהבון הגפן. מחלה זו נגרמת בעולם על ידי שני טיפוסים שונים של פיטופלסמה הגורמים למחלות Bois Noir ו- Flavescence Dorée. בישראל מוכרת רק הראשונה, והיא מועברת על ידי הציקדה *Hyalasthes obsoletus* (Zahavi et al. 2013). מחלה זו נחשבת לגורם מגביל בגידול גפן יין, בעיקר בזנים הלבנים, ונמצאת באזורי גידול שונים בארץ בהם מגדלים גפן יין. תסמיני המחלה מתבטאים בהצהבה וסלסול של העלים (איור 2ג'), חנטה חסרה באשכולות ובהתאם פחיתה משמעותית ביבול לעומת גפנים בריאות.

גידולים אחרים שמראים תסמינים אופייניים למחלות פיטופלסמה בישראל כוללים נקטרינה, אפרסק ושקד, המראים שינוי צבע מוקדם בעלווה ותסמיני מטאטא מכשפה (איור 2ו'). יחד עם זאת, הקשר בין תסמינים אלו לבין גורם המחלה טרם הובהר בצורה מספקת ונסמך בעיקר על מבחני אסוציאציה בין נוכחות החיידק להופעת תסמיני מחלה ועל דיווחים מהספרות המציגים תסמינים דומים (דרור וחוברים 2019, אלון הנוטע).



איור 2. תסמינים אופייניים למחלות הנגרמות על ידי חיידקים שוכני שיפה. א' הורקה (virescence) של עלי הכותרת בצמח שומשום (צבעו הטבעי של הפרח הוא לבן); ב' מעבר מצמיחה רפרודוקטיבית (פריחה) לצמיחה וגטטיבית בשומשום תופעה הנקראת phyllody בה מתפתחים עלים מתוך הפרח במקום אברי פריחה; ג' הצהבה וסלסול עלים בגפן יין הנגרמים על ידי פיטופלסמה; ד' הורקה של עלי כותרת של הצמח וינקה; ה' צמח וינקה שעבר כולו לצמיחה וגטטיבית בלבד, אינו מייצר פרחים ומראה תסמיני הצהבה; ו' עץ שקד המראה תסמיני הצהבה; ז' תסמיני blotchy mottle ודעיכה כללית בהדרים האופייניים למחלת הגרינינג; ח' תסמיני זברה-צי"פ עם פיטופלסמה; ט' תסמיני ליבריבקטר (source: Constable 2010); ט' צמח גזר (מימין) נגוע בליבריבקטר ובו ריבוי פריצות עלים ('מטאטא מכשפה'), הצמח משמאל הוא ללא תסמינים. צילום: אופיר בהר (פרט ל- ח').

הסוג ספירופלסמה, גם הוא משתייך לקבוצת רכי-הדופן, אך כנרמז משמו, צורתו ספירלית ובכך הוא שונה מהסוג פיטופלסמה. בניגוד לפיטופלסמה, כן עלה בידם של חוקרים לבודד לכדי תרבית נקייה מינים מהסוג ספירופלסמה ולהוכיח את הקשר בינם לבין תסמיני המחלה (Daniels et al. 1973). בישראל, המחלה המשמעותית ביותר הנגרמת על ידי הסוג ספירופלסמה היא מחלת העלעלת (citrus little leaf disease) התוקפת הדרים. אך למיטב ידיעתנו ישנם עצים בודדים בארץ שנגועים במחלה והיא איננה מהווה גורם מגביל עבור גידול ההדרים בישראל.

מחלות הנגרמות על ידי ליבריבקטר (חיידק גראם-שלילי)

בניגוד לפיטופלסמה, שם טווח הפונדקאים הוא רחב מאוד, חיידקים מהסוג *Ca. Liberibacter* (ליבריבקטר) תוקפים מספר מצומצם יחסית של מיני צמחים. בסוג ליבריבקטר ישנם ארבע מינים סה"כ המשויכים עם מחלות צמחים. שלושה ממינים אלו משויכים עם אותה מחלה בהדרים הנקראת Huanglongbing (גרינינג, greening) והמינים נקראים *Ca. Liberibacter asiaticus/africanus/americanus* (Bové 2006). המין הרביעי נקרא *solanacearum* (נקרא גם *psyllaurosolanacearum*) ונמצא בשייך עם מחלה בצמחי תפוח אדמה ועגבנייה (Abad et al. 2009; Hansen et al. 2008; Liefting et al. 2008; Secor et al. 2009). בניגוד למחלת הגרינינג הידועה זה שנים רבות, המין *solanacearum* התגלה כגורם מחלה בצמחים בשלב מאוחר הרבה יותר. מספר שנים לאחר מכן, נמצא אותו מין גם בשייך עם צמחים ממשפחת הסוככים (Munyanza, Fisher, Nissinen, et al. 2010). עם ריבוי מספר הפונדקאים של המין *solanacearum* עלה הצורך לאפיין יותר לעומק את המין על ידי אנליזות גנטיות. האנליזה בה נעשה שימוש נקראת *multi-locus sequence typing (MLST)*, ובה מרצפים מספר גנים שמורים בגנום החיידק ומשווים את רצף חומצות הגרעין לרצפים של המין אשר בודד מהפונדקאים אחרים. באמצעות אנליזה זו, אופיינו נכון להיום כ-7 תתי מינים, או טיפוסים גנטיים המכונים הפלוטיפים (haplotypes), בתוך המין *solanacearum*.

מחלת ירקת (גרינינג) בהדרים

מחלת הגרינינג (ירקת) בהדרים ידועה בעולם כבר מהמאה ה-19 ומקורה בדרום מזרח אסיה (da Graca 1991). המחלה זכתה לפרסום עולמי משמעותי רק לאחר הגעתה לפלורידה בתחילת שנות האלפיים (Halbert 2005). פלורידה, היא אחת מיצרניות מיץ התפוזים הגדולה בעולם ושטחי גידול ההדרים במדינה זו הוא רב. המחלה הסבה נזק משמעותי ביותר לתעשיית ההדרים, עד כדי איום ממשי על קיומו של הענף כולו. כיום, כ-15 שנה מאז שזוהתה המחלה לראשונה בפלורידה, על אף השקעה כספית אדירה של הענף וגורמים נוספים במחקר, טרם נמצא פתרון יעיל להתמודדות עם המחלה בפלורידה. הייצור פחת בכ-70% בהשוואה לתקופה שקדמה להגעת המחלה לפלורידה ועלות הייצור עלתה ב-300%. הנזק שנגרם לתעשיית ההדרים בפלורידה הוא כמעט בלתי נתפס. מאז גילוי המחלה ועד לשנת 2018 פחת היקף גידול ההדרים בכ-50%, ויותר מ-6000 עובדים בתעשיית ההדרים איבדו את עבודתם (Singerman 2018; Singerman and Useche 2015). ההנחה הרווחת כיום היא שללא שינוי דרמטי במצב, תעשיית ההדרים בפלורידה תעלם תוך שנים ספורות. עבור מדינה שעד שנת 2006 יצרה כ-70% ממוצרי ההדר בארה"ב וחרטה את התפוז על דגלה, תרתי משמע, זו היא מכה נוראה הן מבחינה כלכלית ומבחינות מסוימות גם חברתית/תרבותית.

כאמור, מחלת הגרינינג משויכת עם שלושה מינים מהסוג ליבריבקטר, אך המין הנפוץ ביותר בארה"ב וזה שגורם לנזק הרב ביותר בפלורידה הוא המין *asiaticus*. מין זה מועבר על ידי הפסילה האסיאתית *Diaphorina citri* אשר גם היא היגרה לארה"ב מהמזרח אולם כ-7 שנים קודם לזיהוי המחלה (J. M. Bové 2006). הזנה יעילה של פסילה נגועה בחיידק מצמח הדר בריא, תוביל להעברה של החיידק אל תוך רקמת השיפה של העץ. ברקמת השיפה החיידק מתרבה ומתפשט לאזורי העץ השונים. מחקרים הראו שהחיידק נוטה לנוע עם כיוון זרימת המוטמעים בשיפה, אם כי בקצב איטי יותר, ממקור למבלע ולכן נמצא גם בשורשי העץ, בפירות ובזרעים (Etxeberria et al. 2016). על אף נוכחות החיידק על גבי הזרעים, אין בכך לגרום למעבר של המחלה באמצעות זרעים נגועים, ולמעשה נכון להיום אין עדויות ברורות שיתמכו בטענה שיש מעבר בזרעים (Albrecht and Bowman 2009; Graham et al. 2013; W). אגב, נושא זה שנוי במחלוקת גם במחלות חיידקיות אחרות בין אם אלו חיידקים מאכלסי שיפה או

עצה. בשני המקרים ישנן עדויות לכאן ולכאן, אם כי הדעה הרווחת אשר נתמכת במספר הרב יותר של מחקרים היא שאין מעבר של המחלה בזרעים באף אחת ממחלות אלו (Hartung et al. 2014; W.-B. Li et al. 2003; Loiseau et al. 2017; Mawassi et al. 2018).

תסמיני מחלת הגרינינג באים לידי ביטוי מספר חודשים לאחר האילוח (החל משלושה חודשים ועד שנה) ונראים הן בעלווה והן בפרי. בעלווה נראים כתמי הצהבה (כלורוזה) שאינם סימטריים משני צדדיו של העורק המרכזי של העלה (Blotchy mottle), הצהבה של ענפונים ותמותה לאחור, היפוך הבשלה ונשירה מוקדמת של הפרי, עיכוב גדילה ודעיכה כללית של העץ (איור 2'). נוכחותן של הפסילות נראית על פי רב על גבי הצימוח הצעיר והרענן (green flush) של העץ ואליהן מתלוות ההפרשות הסוכריות של הנימפות, הנראות כסלילי חוט לבנים-שקופים היוצאים מאחורי החרק.

צהבון הגזר

המין *Ca. Liberibacter solanacearum* זוהה לראשונה בשנת 2008 בארה"ב בגידול תפוח אדמה בשייך למחלה שנקראת zebra chip (Hansen et al. 2008), שנצפתה כבר מתחילת שנות ה-2000 במרכז אמריקה, מקסיקו ודרום ארה"ב (Munyanzeza 2012). אותו גורם מחלה נצפה גם בצמחי עגבנייה ותפ"א בניו זילנד (Liefiting et al. 2009). בדומה לליבריבקטר שמשייך עם מחלת הגרינינג בהדרים, גם המין הזה מועבר על ידי פסילה. תסמיני המחלה כוללים הצהבה של העלים, נינוס והחמה של צרורות ההובלה בזרעים (תפוח אדמה, גבעול מעובה), אשר לאחר טיגון משחירים ומשווים מראה מפוספס כשל זברה (Munyanzeza et al. 2007) (איור 2).

מספר שנים מאוחר יותר התגלה כי אותו מין תוקף גם צמחים ממשפחת הסוככיים (Apiaceae), כמו גזר, סלרי ואחרים (Munyanzeza, Fisher, Nissinen, et al. 2010). על אף שיוכם של גורמי מחלה אלו לאותו מין, הם נבדלים גנטית זה מזה והוגדרו כהפלוטיפים (Haplotypes) שונים. הטיפוסים שתוקפים תפ"א ועגבנייה נקראים הפלוטיפ A ו-B, ואילו הפלוטיפים שתוקפים צמחים ממשפחת הסוככיים קיבלו את האותיות C-E. מיני הפסילות שמעבירות את ההפלוטיפים השונים אינם זהים. את הפלוטיפים A ו-B מעביר מין אחד של פסילה שנקרא *Bactericera cockerelli*, או פסילת תפ"א. ההפלוטיפים שמאכלסים צמחים ממשפחת הסוככיים, נבדלים ביניהם במספר מאפיינים מהותיים, על אף שהם תוקפים את אותו מין של פונדקאי, ואף את אותם זנים. הפלוטיפ C, שנמצא בצפון אירופה במדינות כמו פינלנד, ושוודיה מועבר על ידי פסילת גזר שנקראת *Trioza apicalis* (Munyanzeza et al. 2010b; Nissinen et al. 2014). לעומת זאת הפלוטיפים D ו-E, מועברים על ידי פסילת גזר הנפוצה יותר באזור דרום אירופה ואגן הים התיכון הנקראת *Bactericera trigonica* (Tahzima et al. 2016; Mawassi et al. 2018).

בנוסף להבדל במין הפסילה המעבירה את החיידק, מחזור המחלה בצפון אירופה ובדרומה שונה באופן מהותי זה מזה. בצפון אירופה, גידול הגזר נערך בעונת הקיץ בלבד ובתקופת החורף חורפת פסילת הגזר *T. apicalis*, המשמשת וקטור לחיידק, בעצים מחטניים מהסוג אשוחית (*Picea*). עם בוא הקיץ והתפתחות הגזר בשדות, ינדדו הפסילות אל חלקות הגזר ויאלחו את הצמחים. הפסילות מעמידות לא יותר מדור אחד במהלך הגידול, ועם אסיפתן, חוזרות הפסילות הבוגרות לחרוף במחטניים סמוכים. בישראל לעומת זאת, מגדלים גזר כמעט כל השנה, ובהתאם, הפסילה נמצאת בשדות הגזר כמעט לאורך כל השנה. התקופה בה הפסילה נראית פחות היא תקופת הקיץ, שבה ישנו מעין חלון בגידול הגזר, לאחר שמזרעים האחרונים נאספים בחודש יוני לערך, והמזרעים החדשים יזרעו רק בסביבות אוגוסט-ספטמבר. הפסילה חוזרת להיראות בשדות גזר כבר בחודש נובמבר ואוכלוסיית הפסילה בשדות תלך ותגדל, בתוך כל חלקה בפני עצמה, עד לאסיף האחרון (התכתבות: דני שטיינברג). הפסילה יכולה להעמיד מספר מחזורים במהלך גידול הגזר ומהרגע שרכשה את החיידק, לאחר תקופה לטנטית מסוימת (בפסילה של תפ"א מוערכת תקופה

זו בכ- 14 יום; Sengoda et al. 2014), הופכת הפסילה להיות אינפקטיבית ותישאר כך עד סוף חייה. ככל שידוע, אין מעבר של החיידק בצורה אופקית מבוגרת לביצה.

גם תסמיני המחלה בגזר בצפון אירופה (הפלוטיפ C), שונים מאוד מאלו שנראים בגזר בדרום אירופה ואגן הים התיכון (הפלוטיפ D ו-E). בצפון אירופה תסמיני המחלה הבולטים כוללים הסגלה והצהבה של העלים, יחד עם עיכוב משמעותי בהתפתחות הגזר והאשרוש. לעומת זאת, התסמין האופייני ביותר להדבקה בליבריקטר בישראל וגם במדינות צפון אפריקה ודרום אירופה, הוא ריבוי פריצות של עלים חיקיים (איבוד שלטון קודקודי), הנקרא גם מטאטא מכשפה (איור 2ט'). תסמינים נוספים שמופיעים לעיתים בצמחים נגועים בליבריקטר הם הצהבת עלים, ריבוי שורשים צדדיים, צורת אשרוש מעוותת ועל פי רב אשרוש גדול מצמח שאינו נגוע.

מנגנוני אלימות של חיידקים שוכני שיפה

כפי שהוזכר קודם לכן, מיקומם של החיידקים שוכני השיפה בתוך תא צמחי חי מייחדת אותם משאר החיידקים הפתוגנים לצמחים. שוני מהותי זה מעלה שאלות רבות הנוגעות לאינטראקציה המולקולרית בין החיידק והתא הצמחי. לדוגמא, ידוע כי חיידקים פתוגנים רבים השוכנים בחללים הבין-תאיים עושים שימוש במערכת הפרשה מסוג 3, המאפשרת להם להעביר חלבונים ספציפיים מתא החיידק אל תוך התא הצמחי על מנת לקדם את התבססות החיידק בצמח (Galan and Collmer 1999).

כצפוי, מערכת הפרשה מסוג 3 לא נמצאה באף אחת מקבוצת החיידקים שוכני השיפה ולכן סביר להניח כי לחיידקים אלו מנגנונים אחרים להתערבות בביולוגיה התאית של הצמח לטובתם. ואכן, שתי קבוצות מחקר שונות הראו, כמעט במקביל, כי חיידקי פיטופלסמה מפרישים חלבונים אל מחוץ לתא ולחלבונים אלו מטרות ספציפיות בתא הצמחי (MacLean et al. 2014; Maejima et al. 2014). במקרה זה, החלבון מופרש מתא החיידק על ידי מערכת ההפרשה הכללית (General secretion pathway) אל תוך תא השיפה. שם, הוא בא באינטראקציה ומוביל לפירוק של חלבוני צמח בעלי MADS domain המעורבים בתהליך הפריחה בצמח. התוצאה של פעילות זו היא הופעת תסמיני פיטופלסמה אופייניים כגון phyllody ו-virescence (איור 2). החוקרים הצליחו למעשה לשחזר תסמיני פיטופלסמה גם כאשר החלבון לבדו בוטא בצמחים טרנסגניים. צמחים נגועים אלו מאבדים את היכולת להתרבות באמצעות זרעים ולמעשה זוכים במעין נעורי נצח כאשר הם ממשיכים להצמיח עוד ועוד עלים וענפים חדשים, אך ללא פרחים. החוקרים סיפקו גם הסבר אבולוציוני לתופעה בכך שצמחים שמבטאים את החלבון שמקורו בפיטופלסמה היו אטרקטיביים יותר עבור החרקים אשר משמשים כווקטורים של המחלה, כך שאכלוס הצמח על ידי החיידק מושך את הווקטור דווקא לצמחים אלו וכך תהליך ההפצה של החיידקים יעיל יותר (MacLean et al. 2014).

התמודדות עם מחלות חיידקיות שוכנות שיפה המועברות על ידי וקטורים חרקיים

ההתמודדות עם מחלות חיידקיות המועברות על ידי וקטורים היא מורכבת וזאת ממספר סיבות: א' יש להתמודד עם שני גורמים ביולוגיים לפחות, גורם המחלה והווקטור; ב' גורם המחלה למעשה אינו חשוף בשום שלב לסביבה החיצונית, אלא מוגן בתוך גופו של חרק או בתוך רקמות צמח, וג' ברגע שעץ נדבק בחיידק אין דרך מעשית לרפאו. את ההתמודדות עם מחלות חיידקיות המועברות על ידי וקטורים חרקיים נחלק למספר מישורים.

1. התמודדות עם הווקטור - ההתמודדות עם הווקטור היא האינטואיטיבית ביותר. חומרי הדברה כנגד חרקים יש למכביר, ויישומם יחסית פשוט, אם כי רבים מהם מוצאים מחוץ לחוק בגין רעילותם לסביבה. על מנת שריסוסים אלו יהיו יעילים כמובן שיש ללמוד בקפידה את מחזור החיים של החרק ולדעת מה הם המקום והזמן הנכונים ביותר ליישום **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 64

החומר לקבלת הדברה יעילה. בשונה מהתמודדות עם חרק כמזיק בפני עצמו, על מנת שהדברת הווקטור תהיה יעילה במניעת התפשטות המחלה, ההדברה צריכה להיות יעילה הרבה יותר מזו הנדרשת בהדברת חרק כמזיק. מדוע? היות וכל חרק אנפקטיבי (כלומר נושא את גורם המחלה ומסוגל להעבירו), הניזון לפרק זמן יעיל מצמח בריא, יעביר את המחלה, ולכן גם אם יודבר דקה לאחר מכן, העץ כבר הודבק והמחלה תתחיל להתפתח. זאת בשונה מחרק שהוא מזיק בפני עצמו, אשר פגיעה בגודל האוכלוסייה, או במשך נוכחותה על הגידול, גם ברמה שהיא נמוכה מ- 100% יכולה להפחית את הנזק בצורה מאוד משמעותית, היות וכאן עומס החרקים וההזנות לכל עץ יקבע את מידת הנזק, ולכן הפחתה של העומס הזה תפחית גם את הנזק.

2. הבראה של עצים נגועים - למעשה, קיימת מעט מאוד התמודדות ישירה כנגד החיידק. קיים חוסר ברור בחומרים סיסטמיים שיכולו 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. בפלורידה לדוגמה, שם מחלת הגרינינג הובילה לנזק כה קשה עד שהמגדלים ודרגים רמים יותר היו מוכנים לשקול כל טיפול שיבריא את העץ, הוצע ליישם אנטיביוטיקה בהזרקה לגזע העץ. הזרקות אלו הראו יעילות גבוהה בהרבה מאשר יישום בריסוס, ואף הובילו להכחדת אוכלוסיית הפתוגן בצמח, כך לפי דווח של Li et al. (2019). ימים יגידו אם טיפול זה יוביל למהפכה הכל-כך מיוחלת בהתמודדות עם המחלה בפלורידה.

אחת התופעות המסקרנות בנושא היא תופעת ההבראה של עצים נגועים בפיטופלסמה. תופעה זו מתוארת בספרות בגידולים שונים, וישנה הסכמה רחבה למדי שהתופעה אכן מתקיימת. למעשה, מדובר בעצים (רב-שנתיים) שהראו תסמיני מחלה, נבדקו במעבדה ונמצאו נגועים בפיטופלסמה (גורם המחלה), ובשנה העוקבת, או מספר שנים מאוחר יותר, תסמיני המחלה נעלמו ויחד איתם נעלמה גם נוכחות גורם המחלה (R Musetti et al. 2004; Rita Musetti et al. 2007). על אף הסקרנות הרבה שתופעה זו מייצרת, ועל אף הפוטנציאל האדיר שבהבנתה, נכון להיום אנחנו יודעים מעט מאוד על הבסיס המולקולרי שמאפשר את ההתנתקות הזו של הצמח הנגוע מגורם המחלה. תופעה זו הינה חריגה לא רק בתוך קבוצת החיידקים גורמי המחלות המועברים על ידי וקטורים, אלא גם בתוך קבוצת החיידקים הפתוגנים בכלל, היות ולמיטב ידיעתי יש מעט מאוד דיווחים (אם בכלל) על צמחים בהם התבסס גורם מחלה כלשהו, והצמח הראה תסמיני מחלה ברורים, ולאחר זמן מה הבריא לחלוטין מהמחלה.

מעניינים לא פחות הם דיווחים אשר מתארים שעצים שהבריאו מהמחלה לא נדבקים בה, גם אם גורם המחלה והווקטור נוכחים בחלקה (Osler et al. 2014). כלומר, העצים לא רק מתנקים מגורם המחלה ומבריאים, אלא גם מפתחים מעין חסינות מפני הדבקות מאוחרות. גם כאן, אין שום ידע משמעותי על הבסיס המולקולרי של התופעה. נקודה מעניינת היא שהתופעה מדווחת בעיקר (ואולי רק) בעצים נשירים (גפן, משמש ותפוח עץ). האם קיים קשר בין הפיסיולוגיה של עצים אלו, ונשירת כלל העלים בתקופת החורף לפני התעוררותם מחדש באביב, לתופעה? אולי? קשה לומר שנעשו הרבה ניסיונות להבנת הבסיס המולקולרי של התופעה, אך כן נעשו ניסיונות לנצל את התופעה במטרה להתמודד עם המחלה. כך לדוגמה, לקחו חוקרים עצי משמש שהבריאו מפיטופלסמה והשתמשו בהם כצמחי אם לרכב, מתוך הנחה שעץ שהבריא מן המחלה לא יחלה בה שוב כפי שתואר לעיל, ולכן שתילים שיוכנו מעצי אם אלו יהיו חסינים בפני המחלה. במחקר שנמשך במשך 9 שנים, נשתלו שתילי משמש שהוכנו מצמחי אם שהבריאו וצמחי אם שלא נחשפו למחלה ועקבו אחר התפתחות המחלה בעצים למשך 9 שנים. בעוד 93% מהצמחים שהוכנו מעצי אם בריאים הראו תסמיני מחלה, רק 1.5% מהצמחים שהוכנו מצמחי אם שהבריאו הראו תסמיני מחלה (Osler et al. 2014). תוצאה זו מעידה כי תכונת החסינות עוברת עם הרכב, והחוקרים משערים כי כנראה מדובר בשינויים אפיגנטיים בצמח שהזיכרון שלהם נשמר לאורך זמן.

3. טיפול במקור המדבק - לפני הטיפול במקורות המדבק, יש לקיים מערכת ניטור ודיאגנוסטיקה יסודית ויעילה על מנת שנוכל לזהות בזמן אמת התפרצויות של המחלה, הופעה של מוקדים חדשים וכו'. ללא אלו, סביר שפעולת הסניטציה לא תהיה יעילה. סניטציה היא אחת הפעולות המקובלות שנעשות במטרה להפחית את מקורות המדבק בחלקה. עם זאת היעילות של פעילות הסניטציה לא תמיד ברורה, ולעיתים הוכח שפעולות הסניטציה גרמו ליותר נזק מאשר המחלה עצמה (ראו מחלת Centner and Ferreira 2012, citrus canker in USA). מטרת הסניטציה היא לסלק חומר צמחי נגוע אשר יכול לשמש מקור לרכישת גורם המחלה על ידי

4. וקטורים. בעיה מרכזית בנוגע לסניטציה היא פער הזמן שקיים מרגע שעץ הודבק ומשמש כמקור מדבק, לרגע שבו מופיעים תסמיני מחלה. לעיתים קיים פרק זמן ממושך מאוד ממועד ההדבקה של העץ בידי חרקים ועד להופעת תסמיני מחלה. בחלק ניכר מזמן זה, סביר שהעץ יכול לשמש כמקור לחיידק עבור חרקים, ולכן סניטציה של עצים סימפטומטיים, גם אם נעשית ביעילות, יעילותה בהפחתת הפצת המחלה צריכה להיבדק אמפירית עבור כל מחלה ומחלה. נוסף על כך קיימים גם קשיים רגולטוריים וטכניים רבים בהסרת עצים נגועים אשר מובילים לכך שפעולות הסניטציה מתבצעות בתזמון מאוחר מדי.

5. צמחים עמידים - טרם נמצאו זנים שמראים עמידות מוחלטת לליבריקטר בהדרים ותפ"א, על אף סריקות זנים שנעשו. למיטב ידיעתי, גם כנגד מחלות פיטופלסמה שונות לא ידועה עמידות מוחלטת. שאלה מעניינת היא אם כך מדוע לא נמצאה עמידות כנגד גורמי מחלות חיידקיות שוכנות שיפה? כזכור, חיידקים אלו נבדלים מחיידקים אחרים במספר פרמטרים, הרקמה אותה הם מאכלסים בצמח, גודל הגנום המצומצם שלהם ואי הימצאותם בחללים הבין-תאיים. יכול להיות שאחד ממאפיינים אלו, או אף כולם יחד קשורים לקושי במציאת צמחים עמידים. יחד עם זאת חשוב לציין כי הקשיים שהוזכרו לעיל בעבודה עם גורמי מחלה אלו מקשים מאוד על ביצוע סריקת זנים רחבה וכי היקף המחקר על מחלות אלו הוא נמוך יחסית בהשוואה למחלות מודל אחרות.

6. חומר ריבוי נקי - שימוש בחומר ריבוי נקי מתבקש בכל הנוגע למחלות צמחים הן בגידולים חד שנתיים ובוודאי שבגידולים רב שנתיים. הקמת מטעי אם, נקיים מגורמי המחלה, מוגנים ברשתות כנגד וקטורים חרקיים, יחד עם בדיקות מעבדה שגרתיות של נוכחות הפתוגנים בעצים, יבטיחו במידה רבה ייצור של חומר ריבוי נקי ויפחיתו בצורה משמעותית הפצת מחלות. יש לציין, שבענפים מסוימים, במדינות שונות בעולם לא קיים פיקוח על מקור החומר הצמחי המשרת את המשתלות לייצור שתילים חדשים. כך שחומר צמחי יכול להילקח בצורה לא מבוקרת, וכמובן באופן לא מתוכנן, מעצים נגועים ובכך לגרום להפצה מסיבית של שתילים נגועים במחלה. הדבר רלוונטי במיוחד לעצים נשירים, מהן על פי רב לוקחים את הרכב בתקופת התרדמה, כאשר העץ ערום מעלים, ולא ניתן להבחין בתסמיני מחלה, ועצים נגועים נראים לכאורה בריאים. בישראל לדוגמה, ענפים רבים, כולל ענף השקד, עברו לבקר את אופן לקיחת חומר הריבוי על ידי המשתלות, ודאגו להקים מטעי אם של עצים שנבדקו ונמצאו בריאים, ומוקמו באזור בארץ שידוע כנקי מהמחלה. חשוב לציין שהשינוי שערך ענף השקדים בבקרה על חומר הריבוי בא בעקבות התפרצות הנגיעות בקסיללה והחשש מהפצת המחלה לכלל הארץ (ראו פרק חיידקים שוכני עצה). עוד בנושא חומר ריבוי נקי, טיפולי חום ברכב, לקטילת גורם המחלה, הוצעו עבור פיטופלסמה, קסיללה וליבריקטר והראו יעילות מסוימת בניקוי רכב מאולח בגורם המחלה (Caudwell et al. 1997; Hoffman et al. 2012; Sanderlin and Melanson 2008).

סיכום

הגלובליזציה של עולמנו כוללת מעבר של חומר צמחי וחומר ביולוגי אחר בין מדינות ומובילה להתפרצות של מחלות חדשות ושל מחלות מוכרות באזורים חדשים. סביר שתהליך זה ימשך היות ובימינו זה כמעט בלתי אפשרי לסגור את תבנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 66

גבולות המדינה ולמנוע חדירה של חומר צמחי שייתכן והוא נשא של מחלה כלשהיא. אי לכך, מחלות כגון אלו שנידונו בפרק זה, ימשיכו להתפשט ולגרום להפסדים משמעותיים עבור המגדלים ואף לנזקים חמורים יותר כפי שנוכחנו במקרה של מחלת הגרינינג בפלורידה וקסיללה באיטליה. הבנה של מצב זה מצריכה מחקר משמעותי בנושא מחלות חיידקיות המועברות על ידי וקטורים, שיאפשר התמודדות טובה ויעילה יותר עם המחלות הקיימות ועם אלו שעוד עתידות להופיע.

חלק מהשאלות ומהאתגרים שיעמדו בפני הקהילה המדעית העוסקת במחלות אלו כולל את הצורך להשקיע מאמצים רבים בניסיונות לתרבת את החיידקים אשר טרם תורבתו (פיטופלסמה, ליבריבקטר). תרבות גורמי מחלה אלו יתכן ויאפשר את השלמת מבחן קור וכמובן יאפשר מחקר מעמיק יותר על מנגנוני האלימות של חיידקים אלו והאינטראקציה שלהם עם צמחים. כמו כן, נדרש מחקר מעמיק בניסיון לאתר עמידות בצמחים למחלות חיידקיות שוכנות-שיפה, בין אם זו עמידות כמותית או עמידות מוחלטת, שכן עד היום ידוע מעט מאוד על הנושא והוא יכול לשמש פריצת דרך בהתמודדות עם מחלות הנגרמות על ידי חיידקים שוכני-שיפה. בהקשר זה, הבנה של המנגנון המולקולרי העומד מאחורי תופעת ההבראה עליה דיברנו גם כן יכול להוות פריצת דרך משמעותית ביכולת שלנו לפתח כלים יעילים להתמודדות עם המחלה. היכולת של חיידקים מועברי-וקטור לעבור בין אורגניזמים כה שונים זה מזה ולשגשג בהם, במיוחד לאור הגנום המצומצם שלהם, הוא ללא ספק מסקרן ביותר ובעל חשיבות רבה להבנת התלות של החיידק במאכסניו. הבנת התלות הזו תוכל לאפשר פיתוח של כלים חדשים שישימשו לשיבוש האינטראקציה של החיידק עם הווקטור ועם הצמח ויקשו על התבססות החיידק והמעבר שלו ביעילות מצמח לצמח.

בפן היישומי, יש צורך לבחון דרכים להדברה יעילה יותר של וקטורים, כמו גם לבחינת יישומם של תכשירים שונים שיאפשרו הבראה של עצים נגועים, או לכל הפחות הפחתה של קצב התפתחות המחלה בצמחים רב שנתיים. אתגרים רבים ושאלות רבות ומסקרנות עומדים לפתחנו ומחקר מעמיק ונמרץ יחד עם יכולת פיתוח בשילוב עם התעשייה יאפשרו לנו להבין טוב יותר את הבסיס של מחלות אלו וכך גם את היכולת שלנו להתמודד עמן בצורה יעילה.

מקורות

- Abad J. A., Bandla M., French-Monar R. D., Liefting L. W. and Clover G. R. G. (2009) First report of the detection of "*Candidatus Liberibacter*" species in zebra chip disease-infected potato plants in the United States. *Plant Disease* 93: 108.
- Albrecht U. and Bowman K. D. (2009) *Candidatus Liberibacter asiaticus* and Huanglongbing effects on citrus seeds and seedlings. *HortScience* 44: 1967–1973.
- Bové J. M. (2006) Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of plant pathology* 88: 7–37.
- Bové Joseph M. (2014) Huanglongbing or yellow shoot, a disease of Gondwanan origin: Will it destroy citrus worldwide? *Phytoparasitica* 42: 579–583.
- Buell C. R., Joardar V., Lindeberg M., Selengut J., Paulsen I. T., Gwinn M. L., et al. (2003) The complete genome sequence of the *Arabidopsis* and tomato pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 10181–10186.
- Caudwell A., Larrue J., Boudon-Padieu E. and Mclean G. D. (1997) Flavescence dorée elimination

- from dormant wood of grapevines by hot-water treatment. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 3: 21–25.
- Centner T. J. and Ferreira S. (2012) Ability of governments to take actions to confront incursions of diseases - a case study: Citrus canker in Florida. *Plant Pathology* 61: 821–828.
- Chung W.-C., Chen L.-L., Lo W.-S., Lin C.-P. and Kuo C.-H. (2013) Comparative analysis of the peanut witches'-broom phytoplasma genome reveals horizontal transfer of potential mobile units and effectors. *PLoS one* 8: e62770.
- da Graca J. V. (1991) Citrus greening disease. *Annual Review of Phytopathology* 192: 109–136.
- Daniels M. J., Markham P. G., Meddins B. M., a Plaskitt K., Townsend, R. and Bar-Joseph, M. (1973) Axenic culture of a plant pathogenic Spiroplasma. *Nature* 244: 523–524.
- Davis R. E., Shao J., Zhao Y., Gasparich G. E., Gaynor B. J. and Donofrio N. (2017) Complete genome sequence of *Spiroplasma citri* strain R8-A2T, causal agent of stubborn disease in citrus species. *Genome Announcements* 5: 1–3.
- Doi Y., Teranaka M., Yora K. and Asuyama H. (1967) Mycoplasma- or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or Paulownia witches' broom. *Japanese Journal of Phytopathology* 33: 259–266.
- Duan Y., Zhou L., Hall D. G., Li W., Doddapaneni H., Lin H., et al. (2009) Complete genome sequence of citrus huanglongbing bacterium, "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" obtained through metagenomics. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 1011–1020.
- Etcheberria E., Gonzalez P., Borges A. F. and Brodersen C. (2016) The use of laser light to enhance the uptake of foliar-applied substances into citrus (*Citrus sinensis*) leaves. *Applications in Plant Sciences* 4: 1500106.
- Firrao G., Andersen M., Bertaccini A., Boudon E., Bové J. M., Daire X., et al. (2004) "*Candidatus Phytoplasma*", a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 1243–1255.
- Galan J. E. and Collmer A. (1999) Type III secretion machines: Bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* 284: 1322–1329.
- Gonella E., Tedeschi R., Crotti E. and Alma A. (2019) Multiple guests in a single host: interactions across symbiotic and phytopathogenic bacteria in phloem-feeding vectors - a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 167: 1–15.
- Graham J. H., Johnson E. G., Gottwald T. R. and Irey M. S. (2013) Presymptomatic fibrous root decline in citrus trees caused by Huanglongbing and potential interaction with *Phytophthora* spp. *Plant Disease* 63: 290–298.
- Halbert S. E. (2005) The discovery of Huanglongbing in Florida. In: *Proceedings of the 2nd International Citrus Canker and Huanglongbing Research Workshop* (p. 50). Orlando, FL, USA.

- Hansen A. K., Trumble J. T., Stouthamer R. and Paine T. D. (2008) A new Huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllaurosus*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and environmental Microbiology* 74: 5862–5865.
- Hartung J. S., Nian S., Lopes S., Ayres A. J. and Brlansky R. (2014) Lack of evidence for transmission of *Xylella fastidiosa* from infected sweet orange seed. *Journal of Plant Pathology* 96: 497–506.
- Hoffman M. T., Doud M. S., Williams L., Zhang M.-Q., Ding F., Stover E., et al. (2012) Heat treatment eliminates ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ from infected citrus trees under controlled conditions. *Phytopathology* 103: 15–22.
- Hogenhout S. A., Oshima K., el Ammar D., Kakizawa S., Kingdom H. N. and Namba S. (2008) Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology* 9: 403–423.
- Katsir L., Zhepu R., Garcia D. S., Piasezky A., Jiang J., Sela N., et al. (2018) Genome analysis of haplotype D of *Candidatus Liberibacter solanacearum*. *Frontiers in Microbiology* 9: 1–13.
- Li J., Pang, zhiqian, Duan S., Lee D., Kolbasov V. and Wang N. (2019) The in planta effective concentration of oxytetracycline against *Candidatus Liberibacter asiaticus* for suppression of citrus Huanglongbing. *Phytopathology* 109: 2046–2054.
- Li W.-B., Pria W. D., Lacava P. M., Qin X. and Hartung J. S. (2003) Presence of *Xylella fastidiosa* in sweet orange fruit and seeds and its transmission to seedlings. *Phytopathology* 93: 953–958.
- Li W., Levy L. and Hartung J. S. (2009) Quantitative distribution of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” in citrus plants with citrus Huanglongbing. *Phytopathology*, 99: 139–144.
- Liefting L. W., Perez-Egusquiza Z. C. and Clover G. R. G. (2008) A new ‘*Candidatus Liberibacter*’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92: 1474–1474.
- Liefting L. W., Sutherland P. W., Ward L. I., Paice K. L., Weir B. S. and Clover G. R. G. (2009) Identification of a new *Liberibacter* species associated with diseases of solanaceous plants. *Plant Disease* 93: 208–214.
- Loiseau M., Renaudin I., Cousseau-Suhard P., Lucas P.-M., Forveille A. and Gentit P. (2017) Lack of evidence of vertical transmission of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ by carrot seeds suggests that seed is not a major transmission pathway. *Plant Disease* 101: 2104–2109.
- MacLean A. M., Orlovskis Z., Kowitzanich K., Zdziarska A. M., Angenent G. C., Immink R. G. H. and Hogenhout S. A. (2014) Phytoplasma effector SAP54 hijacks plant reproduction by degrading mads-box proteins and promotes insect colonization in a RAD23-dependent manner. *PLoS Biology* 12: e1001835.
- Maejima K., Iwai R., Himeno M., Komatsu K., Kitazawa Y., Fujita N., et al. (2014) Recognition of floral homeotic MADS-domain transcription factors by a phytoplasmal effector, phyllogen, induces phyllody. *The Plant Journal* 78: 541–554.

- Mawassi M., Dror O., Bar-Joseph M., Piasetzky A., Sjölund J., Levitzky N., et al. (2018) “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” is tightly associated with carrot yellows symptoms in Israel and transmitted by the prevalent psyllid vector *Bactericera trigonica*. *Phytopathology* 108: 1056–1066.
- Munyaneza J. E. (2012) Zebra chip disease of potato: Biology, epidemiology, and management. *American Journal of Potato Research* 89: 329–350. doi:Doi 10.1007/S12230-012-9262-3
- Munyaneza J. E., Crosslin J. M. and Upton J. E. (2007) Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “zebra chip,” a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* 10: 656–663.
- Munyaneza J. E., Fisher T. W., Nissinen A., Sengoda V. G., Lemmetty A. and Garczynski S. F. (2010) First report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Disease* 94: 639.
- Munyaneza J. E., Fisher T. W., Sengoda V. G., Garczynski S. F., Nissinen A. and Lemmetty A. (2010) Association of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” with the psyllid, *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe. *Journal of Economical Entomology* 103: 1060–1070.
- Musetti R, di Toppi L. S., Ermacora P. and Favali M. A. (2004) Recovery in apple trees infected with the apple proliferation phytoplasma: An ultrastructural and biochemical study. *Phytopathology* 94: 203–208.
- Musetti Rita, Marabottini R., Badiani M., Martini M. and Sanit L. (2007) On the role of H₂O₂ in the recovery of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Prosecco) from Flavescence dor´ee disease. *Functional Plant Biology* 34: 750–758.
- Nissinen A. I., Haapalainen M., Jauhiainen L., Lindman M. and Pirhonen M. (2014) Different symptoms in carrots caused by male and female carrot psyllid feeding and infection by ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*.’ *Plant Pathology* 63: 812–820.
- Oshima K., Maejima K. and Namba S. (2013) Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. *Frontiers in Microbiology* 4: 230.
- Osler R., Borselli S., Ermacora P., Loschi A., Martini M., Musetti R. and Loi N. (2014) Acquired tolerance in apricot plants that stably recovered from european stone fruit yellows. *Plant Disease* 98: 492–496.
- Qian W., Jia Y., Ren S. X., He Y. Q., Feng J. X., Lu L. F., et al. (2005) Comparative and functional genomic analyses of the pathogenicity of phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Genome Research* 15: 757–767.
- Sanderlin R. S. and Melanson R. A. (2008) Reduction of *Xylella fastidiosa* transmission through pecan scion wood by hot-water treatment. *Plant Disease* 92: 1124–1126.
- Secor G. A., Rivera V. V., Abad J. A., Lee I.-M., Clover G. R. G., Liefting L. W., et al. (2009) Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with zebra chip disease of potato

- established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease* 93: 574–583.
- Sengoda V. G., Cooper W. R., Swisher K. D., Henne D. C. and Munyaneza J. E. (2014) Latent period and transmission of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” by the potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae). *PloS one* 9: e93475.
- Singerman A. and Useche P. (2015) Impact of citrus greening on citrus operations in Florida. UF IFAS, Gainesville, pp. 1–6.
- Tahzima R., Massart S., Achbani E. H., Munyaneza J. E. and Ouvrard, D. (2016) First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with the psyllid *Bactericera trigonica* Hodkinson on carrots in Northern Africa. *Plant Disease* 101: 242.
- Teresani G. R., Bertolini E., Alfaro-Fernandez A., Martínez C., Tanaka F. A. O., Kitajima E., et al. (2014) Association of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a real-time PCR method for its detection. *Phytopathology* 104: 804–811.
- Van Sluys M. A., De Oliveira M. C., Monteiro-Vitorello C. B., Miyaki C. Y., Furlan L. R., Camargo L. E. A., et al. (2003) Comparative analyses of the complete genome sequences of Pierce’s disease and citrus variegated chlorosis strains of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Bacteriology* 185: 1018–1026.
- Yang R., Garcia D. S., Montañó F. P., Da Silva G. M., Zhao M., Guerrero I. J., et al. (2019) Complete assembly of the genome of an *Acidovorax citrulli* strain reveals a naturally occurring plasmid in this species. *Frontiers in Microbiology* 10: 1–17.
- Zahavi T., Sharon R., Sapir G., Mawassi M., Dafny-Yelin, M. and Naor V. (2013) The long-term effect of Stolbur phytoplasma on grapevines in the Golan Heights. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19: 277–284.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 5: מחלות צמחים הנגרמות על ידי חיידקים המועברים על ידי וקטורים חרקיים

ב' חיידקים שוכני עצה

אופיר בהר

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

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, ב' חיידקים שוכני עצה. פרק 5, ע' 72-78 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <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 תתי-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 נקרוטי 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, תמותת 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 *multiplax*, 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 שנתיים 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.

מנגנוני 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, אסטרזות 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 כסיגנל המיוצר ומופרש על ידי חיידקי קסיללה. מולקולת סיגנל 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 הסיגנל והוא נקרא *rpfG*. בהגיע ריכוז ה-DSF לסף מסוים בסביבת החיידקים, מופעלים גנים רבים המובילים לשינוי אופי ההתנהגות הקבוצתית של החיידק. כך לדוגמה, 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 חרקים

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 בתבדיל 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 (סבילויות), 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 לבדד 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.

מקורות

- 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.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 6: שיטות אבחון לגילוי ולזיהוי של חיידקים גורמי מחלות בצמחים

שולמית מנוליס-ששון ולאורה צ'לופוביץ

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

בפרק זה יתוארו מושגים כלליים על אבחון פתוגנים, בדגש על חיידקים גורמי מחלות בצמחים. מוצגות שיטות המבוססות על עקרונות שונים, כמו שיטות סרולוגיות ומולקולריות, תוך הדגשת היתרונות והחסרונות של השיטות השונות. כמו כן מוצגות השיטות המאפשרות לקבוע את רמת השונות הגנטית באוכלוסיית הפתוגן. מובאות דוגמאות לשימוש בשיטות השונות לאבחון חיידקים גורמי מחלות חשבים בישראל. לבסוף מוצגות שיטות חדשות המתפתחות כל הזמן.

אופן הציטוט: מנוליס-ששון ש' וצ'לופוביץ ל' (2021) שיטות אבחון לגילוי ולזיהוי של חיידקים גורמי מחלות בצמחים, פרק 6, ע' 79-96 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e54588>



מבוא

אבחון גורמי מחלות בצמחים משמעותו לגלות או לזהות את הפתוגן (גורם המחלה) מכלל אוכלוסיית המיקרואורגניזמים שבצמח. נתייחס לשלושה מושגים: Identification - זיהוי גורם המחלה. כלומר שיוך אורגניזם לא ידוע לקבוצה טקסונומית ידועה בהסתמך על תכונות מסוימות. Detection – גילוי או ניטור נוכחות אורגניזם מסוים בצמח הנדגם. Diversity - שונות גנטית באוכלוסיית הפתוגן, האם מבנה האוכלוסייה אחיד או שניתן להבדיל בין התבדידים השונים של הפתוגן (Louws et al., 1999). ניקח לדוגמה את המקרה של החיידק *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii*. התוקף פלרגוניום (ראו פרק מחלות צמחים הנגרמות ע"י חיידקים בישראל). כאשר מתקבל במעבדת אבחון צמח פלרגוניום עם סימני מחלה נרצה לדעת מה הגורם לכך, ולכן נבודד מהצמח את גורם המחלה ובאמצעות שיטות אבחון שונות ננסה לזהותו ולשייכו לקבוצה טקסונומית ידועה. לתהליך זה נקרא זיהוי. אולם כאשר נרצה לדעת אם צמחי פלרגוניום שאינם מראים סימני מחלה נושאים את החיידק הספציפי הזה ננסה בשיטות אבחון שונות לגלותו. לתהליך זה נקרא גילוי. אם יש בידינו אוסף של תבדידים שונים של החיידק שכולם הוגדרו כקסנטומונס פלרגוניי ונרצה לדעת האם האוכלוסייה אחידה או שניתן להבדיל בין התבדידים השונים, ננקוט בשיטות שונות המתאימות לבדיקת השונות הגנטית באוכלוסייה. בחירת שיטות האבחון המתאימות תלויה לרוב במטרת האבחון, זיהוי, גילוי או קביעת שונות האוכלוסייה.

לאבחון גורמי מחלות בצמחים יש מספר מטרות: 1. מציאת פתרון למחלה. זיהוי וגילוי גורם המחלה יכול להצביע על דרכים אפשריות להדברה כמו, כימית, ביולוגית, סולרית, משולבת, זנים עמידים, אמצעים אגרוטכניים שונים ועוד.

2. אבחון מוקדם של גורמי המחלה. במקרה כזה ניתן להימנע מהמחלה ע"י שימוש בחומר ריבוי נקי כמו זרעים, ייחורים או שתילים. 3. הבנת האקולוגיה והאפידמיולוגיה של המחלות. לימוד השונות באוכלוסיית הפתוגן יכול לעזור במציאת מקורות המדבק (אינקולום); האם המחלה התחילה ממוקד אחד או כמה מוקדים, האם אוכלוסיית הפתוגן אחידה. 4. הסגר (קרנטינה). מניעת החדירה של גורמי מחלה חדשים לארץ ניתן להשגה על ידי אבחון פתוגנים שונים בחומר הצמחי המיובא ובידוד הצמחים הנגועים או ניקויים מגורמי המחלה (Bull and Koike, 2015). שלב זה הוא חלק מתפקידם של השירותים להגנת הצומח ולביקורת של משרד החקלאות.

מהן התכונות שנדרוש משיטות אבחון מהימנות?

1. ספציפיות (specificity) היכולת לזהות את גורם המחלה במדויק בלי false positives (תשובה חיובית שגויה) כאשר אינו קיים או false negatives (תשובה שלילית שגויה) כאשר הוא קיים. ספציפיות גבוהה תאפשר אבחנה בין תבדידים פתוגנים לבלתי פתוגנים, בין ספרופיטים (לא פתוגנים החיים על רקמה מתה בעיקר לאחר תמותת הרקמה כתוצאה מהפתוגן) לפתוגנים.

2. רגישות (sensitivity) שמשמעותה המספר הקטן ביותר של תאי הפתוגן בדוגמא הניתנים לגילוי. שיטה טובה תאפשר לגלות ריכוז נמוך ביותר של הפתוגן. מבחינה מעשית חשוב שהרגישות תהיה מתחת לסף הגורם למחלה או כזה היכול לגרום לנזקים כלכליים. לרגישות חשיבות גדולה יותר בגילוי מאשר בזיהוי מכיוון שריכוז הפתוגן ברקמה חולה בד"כ גבוה, לעומת מצב של צמח ללא סימני מחלה כמו במקרה של אוכלוסייה לטנטית (פתוגן החי על הרקמה החיה אך יהפוך לפתוגן כאשר התנאים בצמח ובסביבה יתאימו) או במקרה של זרעים הנושאים את הפתוגן.

3. מהירות ביצוע הבדיקות. נרצה ששיטת האבחון תיתן תשובה מהירה ככל האפשר על מנת לאפשר קבלת החלטות בקשר לנקיטת אמצעים להקטנת נזקי המחלה או כדי לאפשר שימוש באצוות של זרעים נקיים, חומר ריבוי וגטיבי או מכירת גידול מסוים.

4. אמינות (reliability). צריך שהשיטה תהיה מהימנה, כך שבחזרות שונות תתקבל אותה תשובה.

5. בידוד לתרבית נקיה של הפתוגן. רצוי שהשיטה לא תחייב בידוד החיידק לתרבית נקיה כי אז תתאים לבדיקת מספר גדול של דוגמאות בו זמנית. לעומת זאת, לזיהוי הפתוגן יש צורך בבידוד לתרבית נקיה.

6. עלות נמוכה. תאפשר להגדיל את מספר הבדיקות.

באמצעות שיטות אבחון ניתן לזהות גורמי מחלה ברמות טקסונומיות שונות: סוג, מין, תת מין או פתור. רמה טקסונומית נמוכה יותר מעידה על כך ששיטת האבחון הינה ספציפית יותר ולכן מתאימה טוב למטרות האבחון.

שיטות האבחון

את שיטות האבחון ניתן לחלק באופן כללי לפי החלוקה הבאה:

1. מורפולוגיות הכוללות, בחינת סימני המחלה בצמח החולה, בידוד הפתוגן על מצעי מזון ובחינת המושבות, וביצוע מבחני פתוגניות.

2. ביוכימיות ופיזיולוגיות המבוססות על תכונות פיזיולוגיות ותזונתיות של הפתוגן.

3. סרולוגיות המבוססות על נוגדנים כנגד הפתוגן.

4. מולקולריות המבוססות על דנ"א או רנ"א והכוללות PCR וריצוף גנים או גנומים שלמים.

5. שיטות המתאימות לקביעת השונות באוכלוסיית הפתוגן.

6. שיטות אבחון חדשות וכאלה המבוססות על תגובת הצמח החולה.

כאן המקום להדגיש שלכל השיטות יש יתרונות וחסרונות אליהם נתייחס בתיאורן. לכן בחירת השיטה/שיטות בה ננקוט תלויה במטרת האבחון; זיהוי, גילוי או שונות אוכלוסייה.

1. שיטות מורפולוגיות

1.1. אחת מהדרכים הקלאסיות לזיהוי גורמי מחלה היא בחינת הצמח החולה. סימני המחלה העיקריים הנגרמים ע"י חיידקים הם כתמים, נבילה, כמישה, כיבים, ריקבון רך וגידולים (ראו פרק מחלות צמחים הנגרמות ע"י חיידקים בישראל). הסימפטומים הינם תגובה של הצמח ולכן יש מספר מוגבל של אפשרויות. יתכנו מספר חיידקים שיגרמו לאותם סימפטומים, או חיידק אחד הגורם לסימפטומים שונים באותו הפונדקאי. לפי מראה הנגע ניתן לקבל כיוון ראשוני לגבי הפתוגן ולצמצם את האפשרויות לבדיקה בשיטות אחרות שיאפשרו אבחון מדויק יותר.

הסימפטומים של המחלה כאמור, אינם מספיקים ומחייבים בידוד של הפתוגן וביצוע מבחן קוך (Koch). לבידוד החיידק מהצמח נלקחים לרוב חלקי צמח עם סימני המחלה. כשלא ניתן לראות סימפטומים נלקחות דגימות מהחלקים הידועים כמקומות החדירה הראשוניים של הפתוגן. הרקמה הנבחרת צריכה לאפשר ככל האפשר את בידוד הגורם הראשוני. חיידקים לרוב קל יותר לבודד משלבים מוקדמים של המחלה. רקמה במצב מתקדם מכילה יותר ספרופיטים הגדלים על הרקמה שניזוקה ע"י גורם המחלה הראשוני ואשר לרוב גדלים מהר יותר מהפתוגן על מצעים לא סלקטיביים. לפיכך, לרוב נלקחות רקמות הנראות בריאות בקרבת הרקמה החולה. לאחר בידוד החיידק צריך אוסף של תרביות לצורך השוואה (כביקורת חיוביות) או לקביעת שונות האוכלוסייה. שמירה של חיידקים ע"י העברה של התרבית ממצע למצע מידי פעם, יש לה חסרון מכיוון שהתרבית יכולה לאבד פתוגניות או לשנות תכונות אחרות. ישנן שיטות שונות לשימור תרביות בחיידקים, כשהנפוצה היא הקפאה בגליצרול ב-80°C - מ"צ למספר שנים או 20- לזמן קצר יותר. לאחר בידוד החיידק על מצעי מזון (ראו בהמשך) יש צורך לבצע מבחן קוך לשחזור המחלה. בפרק זה אנו מתייחסים למבחני פתוגניות כדרך לאבחון ללא השלב האחרון של מבחן קוך. התנאים הדרושים למבחני פתוגניות כוללים בחירת הפונדקאי המתאים לביצוע המבחן במקרה ויש לפתוגן מספר פונדקאים, בחירת החלק בצמח המתאים למבחן (פירות, עלים, נבטים, גבעולים או חלקי רקמה), בחירת ריכוז המדבק, תנאי ההדגרה, טמפרטורה, לחות ואת תקופת האינקובציה של המחלה מהדבקה עד להופעת הסימפטומים.

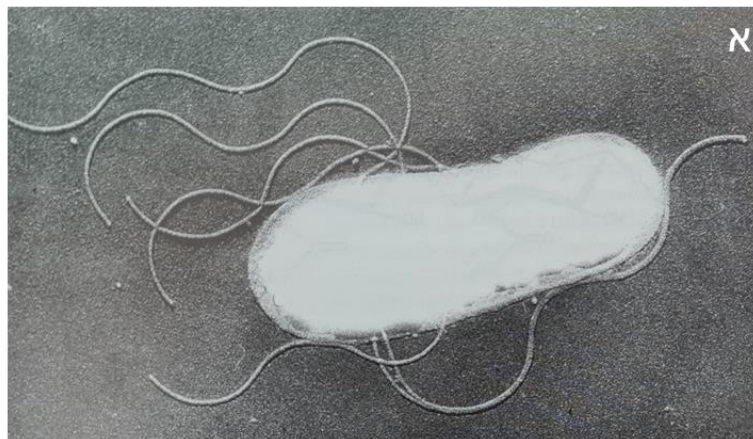
היתרונות והחסרונות של מבחני הפתוגניות כשיטה לאבחון: התשובה המתקבלת במבחן אינה תמיד ברורה ולעיתים נתונה להערכה סובייקטיבית. מבחני הפתוגניות נמשכים זמן רב ולא מתאימים ליישום בהיקף נרחב. יחד עם זאת, אם יש מבחן מהיר הוא יכול להיות יעיל לאבחון. עדיין משתמשים בשיטה זו בעיקר לזיהוי גורם המחלה. כאשר עלות של זרעי מכלוא גבוהה, הפתוגן נמצא בתוך הזרע ואין שיטה מספיק רגישה, מעדיפים להנביט דגימה של זרעים ולבדוק את הופעת הצמחים החולים בכלל הדגימה. זהו מבחן המתבסס על הופעת הסימפטומים - Seedling grow-out assay שהיא שיטה ישירה לבדיקת יכולת העברה של המחלה באצוות של זרעים.

בנוסף, מבחני פתוגניות משמשים לעיתים לאבחון חיידקים בתגובת רגישות יתר המכונה (Hypersensitive HR Response). חיידקים שונים כאשר הם מוחדרים לרקמות של צמח שאינו הפונדקאי יוצרים תגובת רגישות יתר, המתבטאת בכך שהתאים מסביב למקום החדירה מתים וכתוצאה מכך ההדבקה מוגבלת בשל חוסר אפשרות של הפתוגן להמשיך ולהתפתח. לרוב משתמשים במבחן זה בעיקר בטבק בגלל הנוחות להחדרת החיידק לעלה באינפילטרציה. לעיתים משתמשים בצמחים אחרים כמו עגבניות.

2.1. מורפולוגיה של הפתוגן. כאן הכוונה להסתכלות במיקרוסקופ או בבינוקולר על הפתוגן וכן הסתכלות על צורת המושבות המתפתחות על מצעי מזון כלליים או חצי-בררניים (semi-selective media). הסתכלות במיקרוסקופ אור מתאימה לפטריות אך לא לחיידקים. הסתכלות במיקרוסקופ אלקטרוני מתאימה בעיקר לנגיפים. בחיידקים ניתן לעיתים לראות שוטונים או את צורת התא (איור 1 א') אולם מכיוון שחיידקים רבים נראים דומים במיקרוסקופ זו אינה שיטה מעשית.

הסתכלות על צורת מושבות החיידק המתפתחות על מצעי מזון חשובה במקרים רבים של אבחון. הצלחת האידיאלית היא עם תרבית נקיה של הפתוגן המכילה מושבות המופרדות היטב (איור 1 ב' וג'). אולם לרוב זה אינו המצב, בעיקר כשיש ספרופיטים רבים ברקמת הצמח החולה. ולכן יש צורך במצעים חצי-בררניים הנותנים יתרון בגידול לפתוגן על פני הספרופיטים. מרכיבי מצעי המזון הבררניים כוללים מקורות פחמן שונים כמו סוכרים, פחממות מורכבות כמו פקטין, כיטין ועוד, מקורות חנקן אורגני או אנאורגני, מלחים שונים, אנטיביוטיקות שונות נגד חיידקים או חומרי הדברה נגד פטריות, חומרי צבע (אינדיקטורים) המשנים צבע לפי pH כמו crystal violet.

יתרונות מצעי המזון החצי בררניים הם העשרה של הפתוגן לעומת אורגניזמים אחרים שנמצאים בצמח החולה, בקרקע, במים וחלקי צמח נרקבים. החסרונות הם שלא ניתן באמצעותם להבחין בין תבדידים פתוגנים ללא פתוגנים או ברמה של תת מינים. כאשר מבודדים חיידקים מרקמת צמח חולה כדאי להשתמש בכמה מצעים, כמו לדוגמה במקרה של החיידק קלויבקטר משיגנזה התוקף עגבניות (איור 1 ד').



איור 1: א' החיידק *Agrobacterium tumefaciens* כפי שנראה במיקרוסקופ אלקטרוני שבו ניתן לראות את השוטונים. ב' מושבות החיידק *Erwinia amylovora* כפי שנראות על מצע חצי בררני CCT. ג' מושבות החיידק *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* כפי שנראות על מצע LPGA. ד' מושבות החיידק *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* כפי שנראות על מצעים שונים. תמונה א' נלקחה (Kado, 2010).

2. שיטות ביוכימיות-פיזיולוגיות

שיטות אלו, המבוססות על תכונות פיזיולוגיות ותזונתיות של הפתוגן בעקבות פירוק מרכיבי מצע שונים, מתאימות בעיקר לחיידקים (Schaad et al., 2001).

1.2. המבחנים השונים כוללים:

- צביעת גרם המבוססת על מבנה דופן החיידקים, כאשר חיידקים גרם שליליים נצבעים באדום ואילו הגרם חיוביים בסגול-כחול (איור 2 א').

- ניצול מקורות פחמן שונים כמקור לפחמן ולאנרגיה המתבטא בגידול התרבית או בשינויים החלים במצע בעקבות הגידול כמו יצירת חומצה או בסיס הניתנים לבדיקה באמצעות אינדיקטורים שונים. מבחנים אלו גם מראים האם הנשימה היא חמצונית או באמצעות תסיסה ולכן הגידול נבדק גם בתנאים אירוביים וגם אנאירוביים.

- ניצול פחמימנים וחומצות אורגניות שונות, לדוגמא, יצירת לבאן (levan) מסוכרוז. במצע המכיל ריכוז גבוה של סוכרוז יש חיידקים היוצרים את הפולימר המורכב מפרוקטוז והגורם ליצירת מושבות מוקואידיות כמו בארוויניה.

- ניצול תרכובות חנקן שונות, לדוגמא, חיזור Nitrate (NO_3). ישנם חיידקים אירוביים היכולים לגדול באופן אנאירובי במצעים העשירים בניטרט העובר חיזור לניטרט (NO_2) או N_2 . לחלק מחיידקים הניטרט הוא טוקסי ולכן יש חיזור שלו לחנקן גזי. את החיידקים מגדלים במצע המכיל ניטראט ואז בודקים נוכחות ניטרט באמצעות אינדיקטורים שונים.

- פעילות של אוראז (Urease), אנזים המפרק אוראה.

- פעילות Arginine dihydrolase.

- יצירת אינדולים כמו במקרה של פרוק חומצת האמינו טריפטופן.

- פירוק מקרומולקולות כמו חלבון ביצה, ג'לטין, עמילן או פקטאט.

- פעילות של ציטוכרום C אוקסידאז (cytochrome C oxidase). זהו קומפלקס של כמה חלבונים האחראים למעבר האלקטרונים בתהליך הנשימה.

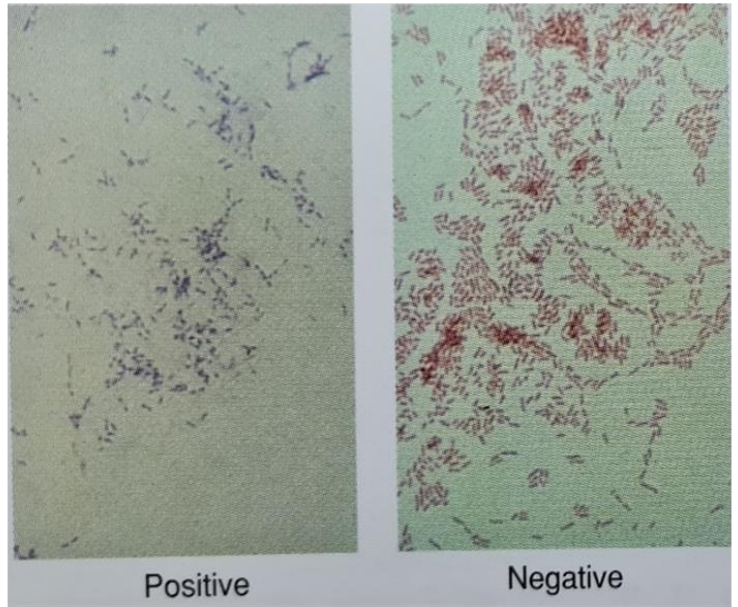
- גידול בטמפרטורה מעל 35 מ"צ.

שיטות אלו יכולות להיות בעלות ערך במקרים מסוימים ולאפשר הפרדה ברמת מינים או אפילו תת מינים. לדוגמא באיור 2 ב' אפשר לראות דוח תוצאות של המבחנים השונים המאפשרים להבחין בין מינים שונים של ארוויניה שאינם גורמים לריקבון רך. החסרונות של שיטות אלו הן שצריך בידוד של החיידקים לתרבית נקיה, הן אינן מאפשרות להבחין בין תבדידים פתוגנים לבלתי פתוגנים ואינן מתאימות לגילוי מכיוון שדרוש זמן ארוך לביצוע המבחנים.

2.2. פרופיל של חומצות שומניות (FAA (fatty acid analysis)

תאי חיידקים מכילים סוגים שונים של חומצות שומניות (מעל 100) המרכיבות בעיקר את ממברנות התא. חומצות השומן נבדלות באורך השרשרת הפחמנית ובמספר ומיקום הקשרים הכפולים. יש חומצות שומן מסועפות המכילות קבוצות שונות כמו הידרוקסי. פרופיל של חומצות שומניות מתבסס על סוג החומצות ועל הכמות היחסית שלהם ואלו ייחודיים לקבוצות שונות של חיידקים. מיצוי ואנליזה של חומצות אלו, לרוב לאחר אסטריפיקציה לקבלת מתיל אסטרים, יכולים לשמש לזיהוי חיידקים שונים. השיטה דורשת מכשיר של גז כרומטוגרף וחיבור למחשב לניתוח התוצאות. צריך ספריה על בסיס של פרופיל חומצות השומן של חיידקים ידועים. מכיוון שהרכב חומצות השומן אינו זהה בתנאי גידול שונים בונים את הספרייה בתנאים סטנדרטיים.

Test	<i>E. alni</i>	<i>E. amylovora</i>	<i>E. maltivora</i>	<i>E. nigripluens</i>	<i>E. paradisiaca</i>	<i>E. persicinus</i>	<i>E. psidii</i>	<i>E. pyrifoliae</i>	<i>E. quercina</i>	<i>E. rubrifaciens</i>	<i>E. salicis</i>	<i>E. tracheiphila</i>
Tobacco hypersensitivity	- ^a	+	+	-	ND	ND	-	+	-	-	-	ND
Pectate degradation ^c	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-
Growth factors required ^d	-	+	+	-	ND	ND	-	ND	+	-	-	+
Pink pigment on YDC	-	-	-	-	ND	+	-	ND	-	+	-	-
Growth at 36°C	+ ^d	-	-	+	ND	+	-	-	-	-	-	-
Growth at 39°C	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S from cysteine	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Urease	+ ^d	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole test	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	-	-	-	-	ND	+	-	-	-	-	-	-
Gelatin liquification	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid production from ^e :												
Salicin	+	-	-	+	+	+	+	ND	+	-	+	-
K-methyl glucoside	ND	-	-	ND	-	-	+	-	+	+	-	-
Melibiose	-	-	-	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Inositol	-	-	-	+	ND	ND	+	ND	ND	-	+	ND
L-arabinose	+	v	-	+	+	+	+	+	-	+	-	ND



איור 2. א' צביעת גרם להבחנה בין חיידקים גרם שליליים וגרם חיוביים. ב' טבלה המתארת תוצאות של מבחנים ביוכימיים ופיסיולוגיים שונים המאפשרים להבחין בין מינים שונים של החיידק ארוויניה שאינם גורמים לריקבון רך (Schaad et al., 2001).

התהליך דורש בשלב ראשון בידוד של החיידקים על מצעים סלקטיביים הנבחרים על פי הסימפטומים. לאחר בחירת מספר מושבות בודדות מהצלחות, מגדלים את החיידקים המבודדים בתנאים סטנדרטיים; ב-28 מ"צ על מצע Tryptic soya broth + agar (TSBA). תאי החיידקים שנאספים מצלחות אגר מורחפים במתנול וסודיום הידרוקסיד במבחנות שנחתמות ועוברות חימום. בתהליך זה דופן התא נהרסת וחומצות השומן הופכות למתיל אסטרים, שהם נדיפים ומתאימים להזרקה ל-GC. האסטרים עוברים מיצוי בממיס מתאים ומופרדים מהפאזה המימית, עוברים יבוש ולאחר מכן מוזרקים ל-gas liquid chromatography בתנאים מוגדרים. חומצות השומן משתחררות בהתאם לנדיפות ומקבלים הפרדה שלהן.

דו"ח התוצאות המתקבל נותן את הרכב חומצות השומן ואת כמותן. לדוגמא, 12:0 כלומר 12 פחמנים בלי קשר כפול. או 17:1 כלומר 17 פחמנים וקשר כפול אחד. הפרופיל המתקבל משווה לספריות של חיידקים ידועים באמצעות תוכנות מתאימות וניתנת התוצאה הקרובה ביותר. לעיתים מתקבלת יותר מתשובה אחת. ההחלטה מי מהם היא הנכונה תלויה במעבדת האבחון המשווה את התוצאות לסימפטומים. השיטה מתאימה לזיהוי חיידקים אך לא לגילוי. החסרונות, חייבים תרבית נקיה של החיידק, צריך גידול בתנאים סטנדרטיים וספריות מתאימות. הזיהוי הוא לרוב ברמה של מינים.

3.2. ניצול מקורות מזון – שיטת הביולוג (BIOLOG)

שיטת הביולוג הוצעה לראשונה בשנת 1989 והיא מבוססת על ניצול מקורות פחמן שונים כמקור אנרגיה יחיד, היוצר פרופיל ע"פ ניצול מקורות הפחמן. הבדיקה נעשית בפלטות של 96 בארות כשבכל באר יש מקור פחמן שונה (יש 95 מקורות פחמן שונים בפלטה). אם החיידק גדל ונושם מקבלים את ראקציית הצבע הסגול המתבססת על חיזור

Tetrazolium (היוצר פיגמנט סגול בנוכחות גורם מחזר) כתגובה לתהליך הנשימה ולא ע"י תוצר מטבולי כמו יצירת חומצה המתבססת על שינוי ב-pH (כפי שהוזכר לעיל בשיטות ביוכימיות-פיזיולוגיות). השיטה מתבססת על מספר גדול של מבחנים. יש 2^{95} או 4×10^{28} אפשרויות בפלטה אחת.

מהלך הבדיקה כולל כמה שלבים: 1. בידוד חיידקים מצמח חולה וקבלת מושבות בודדות. 2. צביעת גרם כדי לדעת אם החיידק גרם חיובי או שלילי (יש פלטות שונות). 3. גידול תרבית מבודדת על מצע מתאים והכנת תרחיף המדבק בעכירות מסוימת. 4. מהתרחיף מועברים 150 מיקרוליטר לכל באר בפלטה המכילה את הסוכר ואת הטטרזוליום. 5. הפלטה מועברת לאינקובציה ב-30-35 מ"צ למשך 4-24 שעות. 6. קריאת הפלטה בספקטרופוטומטר או באופן ויזואלי, קבלת דו"ח התוצאות והשוואה למאגר נתונים.

לחברה המספקת את הפלטות יש מאגר נתונים מחיידקים שונים אליהם משווים את התוצאות המתקבלות. במאגר יש מספר מאות של מיני חיידקים שונים. כאשר נמצא אורגניזם שאינו מופיע במאגר הוא מוסף למאגר כך שבפעם הבאה אפשר יהיה לזהותו. באופן כזה כל משתמש יכול להכין ספריות המתאימות לו. יש פלטות המתאימות לכל סוגי החיידקים גרם שליליים וגרם חיוביים, אירוביים ואנאירוביים וכן לחיידקים שגדלים לאט במצע. חסרונות השיטה: צריך לבדוד את החיידקים לתרבית נקיה, הפלטות יקרות ולכן הבדיקה לא נעשית באופן רוטיני אלא רק לאישור תוצאות שהתקבלו בשיטות אחרות במיוחד לגבי פתוגן חשוב או במקרה שצריך להחליט אם להשמיד את החומר הצמחי.

3. שיטות סרולוגיות

בשיטות אלו התחילו להשתמש החל משנות ה-70 של המאה הקודמת. הן מבוססות על יצירת נוגדנים שהן מולקולות של אימונוגלובולינים הנוצרים ע"י לימפוציטים בתגובה לגירוי אנטיגני. האנטיגן הוא בד"כ חלבון ממקור זר המעורר תגובה חיסונית בחיה (משתמשים לרוב בארנבות, עכברים קוויות או כבשים). ישנם נוגדנים פוליקלונליים המהווים אוכלוסייה כללית של נוגדנים המגיבים למספר אנטיגנים או למספר אפיטופים (אתרים אנטיגניים של אותו אנטיגן) ונוגדנים מונוקלונליים שהם אוכלוסייה זחה של נוגדנים המגיבים לאפיטופ אחד של אותו אנטיגן. היכולת לקשור לנוגדן מולקולות שונות כמו אנזימים אפשרה את השימוש הנרחב בשיטות אלו. בעזרת ראגנטים שונים יוצרים קונויגנטים עם הנוגדן, כאשר לרוב משתמשים באנזימים כמו: horseradish peroxidase, Alkaline phosphatase ו-B-galactosidase.

ישנן מספר שיטות סרולוגיות:

אגלוטינציה – זו השיטה הפשוטה ביותר הנקראת slide agglutination שמשמעותה היא היצמדות של תאי החיידקים ליצירת צברים הנובעת מהקשר אנטיגן-נוגדן בין תאים שכנים. לטיפה של הדוגמא הנבדקת מוסיפים נוגדנים ורואים (בעין או בבינוקולר) אם נוצרת אגלוטינציה. השיטה מתאימה לזיהוי חיידקים בתרבית.

דיפוזיה באגר - בשיטה זו נוגדנים ואנטיגנים עוברים דיפוזיה באגר ובנקודת המפגש נוצר פס לבן כתוצאה משקיעה של הקומפלקס נוגדן-אנטיגן. השיטה הידועה ביותר היא Double diffusion ouchterlony procedure. השיטה מתאימה לאנליזה של תבדידי פתוגן שונים לקביעת קבוצות סרוטיפיות.

Enzyme-linked immunosorbent assay (אליזה) - ELISA - פיתוח השיטה התאפשר בזכות היכולת לקשור למולקולת הנוגדן אנזימים. בשיטה יש קישור של הנוגדן או האנטיגן למצע מוצק המאפשר לבדוק את הראקציה נוגדן-אנטיגן באמצעות יצירת צבע לאחר פעילות האנזים על הסובסטר המתאים. יש אפשרויות שונות לשיטה (איור 3).

תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 85

יתרונות השיטות הסרולוגיות הן בכך שהשיטות יחסית ספציפיות ורגישות לגילוי הפתוגן, קלות לביצוע ומתאימות לבדיקת מספר דוגמאות גדול. החסרונות נובעים מכך שהנוגדנים יכולים להכיר אנטיגנים דומים בחיידק אחר תופעה הנקראת cross-reactivity. אפשר לפתור את הבעיה על ידי יצירת נוגדנים מונוקלונליים אולם אז יש חשש שלא יכירו את כל הסרוטיפים השונים של הפתוגן דבר המחייב הכנת נוגדנים כנגד כל סרוטיפ ידוע. בנוסף, לעיתים אנטיגנים שונים יכולים להשתנות בתנאי גידול שונים.

4. שיטות מולקולאריות

השיטות מבוססות על הגנטיפ ולכן יתרון הוא בכך שהן יציבות יותר ואינן מושפעות מתנאי הסביבה כמו תזונה, טמפרטורה, גיל התרבית או תנאים פיסיולוגיים אחרים של האורגניזם. הן ניתנות יותר בקלות לאנליזות סטטיסטיות וכאלה המבוססות אל תוכנות מחשב, וכתוצאה מכך הזיהוי והגילוי יותר מדויקים. שיטות אלו נכנסו לשימוש באופן מאסיבי לאבחון גורמי מחלות בצמחים החל משנות ה-90. ניתן לחלק את השיטות המולקולריות באופן כללי לכאלה המבוססות על הגנום באופן ישיר, לאלו המבוססות על PCR (Polymerase chain reaction) וכאלה המבוססות על ריצוף גנים או גנומים שלמים.

1.4. שיטות גנומיות ישירות ללא חיתוך הדנ"א. אחת מהשיטות הישירות מבוססת על הומוולוגיה ברמה של כלל הדנ"א (DNA-DNA hybridization). השיטה מתאימה להשוואה בין כלל הגנום של שני מינים או תבדידים שונים. לאחר מיצוי הדנ"א משני המינים וביצוע דנטורציה לקבלת דנ"א חד גדילי, מאחדים את הדנ"א משני המקורות ובודקים את הקינטיקה של היווצרות דנ"א דו-גדילי. השיטה מאפשרת השוואות ברמה גנטית של כל הגנום או של האזורים החוזרניים בגנום אחד. למעשה אחוז ההומוולוגיה ברמה של דנ"א כללי נחשב בעבר כמרכיב חשוב בהגדרה של מינים (Wayne et al., 1987) (70% DNA homology).

שיטה ישירה אחרת מבוססת על אפיון פרופיל של פלסמידים. מרבית החיידקים מכילים אחד או יותר פלסמידים אותם ניתן להפריד באלקטרופורזה על גלים של אגרוז לפי המשקל המולקולרי. הבדלים גדולים בגודל ובמספר הפלסמידים בין תבדידים שונים מהווים לרוב אינדיקציה לשייכות טקסונומית נמוכה. משתמשים בשיטה בעיקר בחיידקים אנימליים (תוקפי בעלי חיים). היא מתאימה למקרים שבהם יש אפידמיה ורוצים לדעת מה מקור הזיהום. שיטה אחרת מבוססת על גלאי DNA (dot or colony hybridization). גודל הגלאי יכול להיות ממספר קטן של בסיסים ועד 10 kb. אפשר לקבל את הגלאים בדרך אקראית ע"י שיבוט של מקטעים אקראיים וסריקה לספציפיות (shot-gun cloning). השיטה הספציפית היא באמצעות גנים הידועים כמעורבים בפתוגניות של החיידק ואינם נמצאים באורגניזמים קרובים אחרים. השיטה אינה מתאימה לבדיקות שגרתיות לגילוי מפני שהיא יקרה יותר ואינה רגישה מספיק. כמו כן יש בעיות של רקע הנובעות מחלקי ושרידי צמח ומהאוקלוסייה המיקרוביאלית הנמצאת בצמח. יחד עם זאת, אפשר להשתמש בה לזיהוי.

ישנן שיטות גנומיות ישירות לאחר חיתוך הדנ"א עם אנזימי רסטריקציה כמו השיטה PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) שתואר בסעיף 5 בהמשך בשיטות לקביעת השונות באוכלוסיית הפתוגן.

2.4. שיטות המבוססות על PCR (Polymerase chain reaction). זו השיטה השימושית ביותר הן לגילוי והן לזיהוי חיידקים גורמי מחלות בצמחים. כדי לזהות או לגלות בשיטה זו צריך תחלים (פריימרים) ספציפיים לפתוגן ביחד עם פרוטוקולים בעלי רגישות גבוהה. ישנן מספר דרכים לפיתוח תחלים בעלי ספציפיות לפתוגן: כאשר ידועים מנגנוני **תבנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **87**

הפתוגניות של החיידק אפשר להשתמש בידע לתכנון תחלים ספציפיים. כך לדוגמא, בחיידק אגרובקטריום טומפציאנס הגורם למחלת עפצים עקב נוכחות הפלסמיד (Ti (tumor-inducing), אפשר לסנתז תחלים על בסיס הרצף של גנים ליורולנטיות הנמצאים בפלסמיד. מכיוון שכל התבדידים הפתוגניים מכילים גנים ליורולנטיות האחראים להעברת הדנ"א מהחיידק לפונדקאי, תוכנו תחלים על בסיס הגנים ליצירת ההורמונים הצמחיים (Haas et al., 1995). בחיידקים פקטוליטיים, גורמי ריקבון רך בגידולים שונים, סונתזו תחלים על בסיס רצף הגנים ליצירת האנזימים הפקטוליטיים (Nassar et al., 1996). בסטרפטומיצטים משתמשים בתחלים המבוססים על רצף הטוקסין thaxtomin, המקודד ע"י האופרון *txtAB* והגורם ליצירת הסימפטומים האופייניים על גבי פקעות תפוא"א (Qu et al., 2008). כל המינים הפתוגניים של סטרפטומיצטים הידועים כיום נושאים צבר גנים לביוסנתזה של הטוקסין הנמצא על אי-פתוגניות גדול. ההתקדמות בפיענוח גנומים של פתוגנים שונים מאפשרת לפתח תחלים רבים המבוססים על גנים לפתוגניות. אולם ניתן לפתח תחלים ספציפיים גם כאשר רצף הדנ"א לא ידוע מראש. בדרך זו מתבססים על מציאת קטעי דנ"א ייחודיים לפתוגן, ריצוף המקטע ועל בסיס הרצף פיתוח תחלים ספציפיים לגילוי וזיהוי הפתוגן ברגישות גבוהה. מקורות לדנ"א לא ידוע כזה יכולים להיות מקטעי דנ"א משובטים המתקבלים בשיטות RAPD (random amplified polymorphic DNA, ו-rep-PCR (שתי השיטות יתוארו בהמשך), או מקטעים שהתקבלו ע"י insertion elements. כך לדוגמא פותחו תחלים ספציפיים לגילוי קסנטומונס התוקף פלרגוניום (Manulis et al., 1994). אפשר להשתמש ברצפים על בסיס דנ"א פלסמידי כמו במקרה של החיידק ארוויניה אמילובורה. מכיוון שהפלסמיד קשור ליכולת ההתאמה וההישרדות לסביבה של החיידק הוא נשמר ביציבות באוכלוסייה במטע (Bereswill et al., 1992).

ישנן גרסאות שונות לשיטת ה-PCR עם תחלים ספציפיים כמו: Nested-PCR - הגברה נוספת של תוצר PCR שהתקבל בשלב הראשון עם תחלים פנימיים לזוג הראשון. שלב זה מגביר את הספציפיות של PCR ע"י העלמה של תוצרים לא ספציפיים. מתאים גם לדוגמאות המכילות ריכוזים נמוכים של דנ"א המטרה.

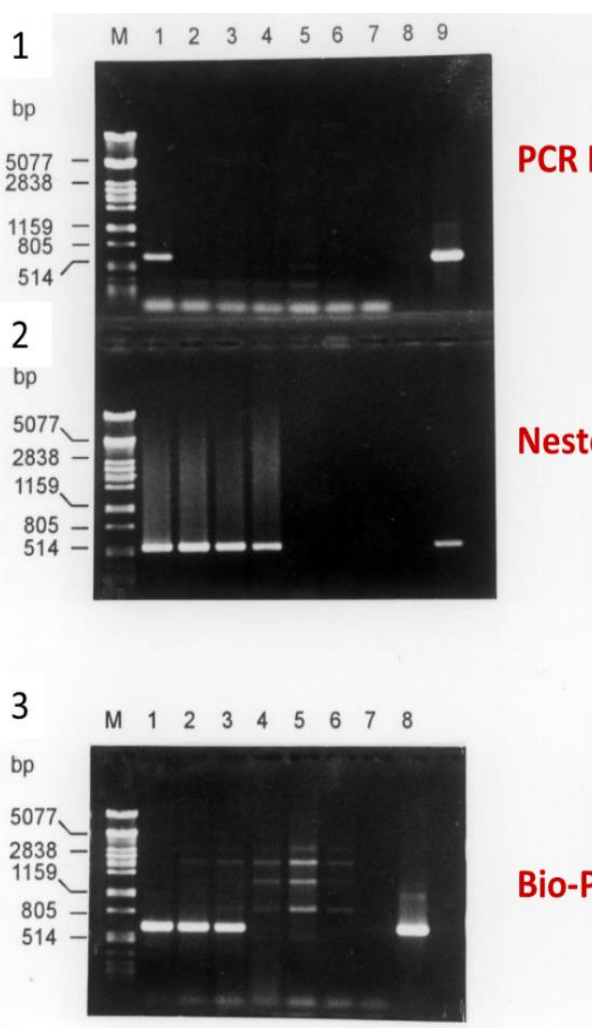
Bio-PCR – כוללת שני שלבים, כאשר בשלב הראשון יש גידול על צלחות עם מצע בררני ורק אח"כ כל מה שגדל על הצלחות עובר PCR. בדרך זו מרבים את תאי הפתוגן ומגבירים את רגישות הבדיקה. מתאים לפתוגנים שניתנים לגידול בתרבית ומתרבים מהר. דוגמאות לשתי השיטות האחרונות אפשר למצוא באבחון החיידק פנטואה אגלומראנס בייחורי גבסנית (איור 4) (Manulis, 1998).

multiplex PCR -זוהי ראקציית PCR שבה מאבחנים כמה פתוגנים בו זמנית. כאלה שיוצרים סימפטומים דומים או כשיש צורך לגלות פתוגנים שונים כמו בזרעים. אפשר גם להשתמש בכמה זוגות תחלים לפתוגן אחד, דבר המגביר את הספציפיות והביטחון בתוצאות. לדוגמא גילוי חיידקים מהסוגים קסנטומונס ורלסטוניה בו זמנית בייחורי פלרגוניום מיובאים.

Immunocapture-PCR, או Immunomagnetic מתבססות על שימוש בנוגדנים לריכוז תאי הפתוגן שיש ברסק הרקמה הנגועה ואח"כ ביצוע של PCR.

יתרונות ובעיות בשיטת ה-PCR לאבחון חיידקים בצמחים: הספציפיות הגבוהה של השיטה המבוססת על תחלים ספציפיים מאפשרת לזהות ולגלות את הפתוגן מתוך כלל המיקרואורגניזמים בלי בידוד לתרבית נקיה. השיטה רגישה מאוד ומאפשרת לעיתים לגלות תא בודד אחד בראקציה. היא מהירה וזולה יחסית ומתאימה לבדיקת מספר גדול של דגימות. אולם יש לשים לב לבעיות היכולות לגרום לקבלת תוצאות לא אמינות. מכיוון שרגישות השיטה גבוהה יש חשש לזיהומים ולקבלת תשובה חיובית שגויה (false positive). הזיהומים יכולים לנבוע מהגברה של דנ"א שאינו המטרה, דנ"א חיצוני מתאים או תרביות או אירוסולים, או מזיהומי דנ"א הנובעים מניסויים ובדיקות קודמות. זו נקודה חשובה במיוחד במקרה של גילוי ופחות בזיהוי מפני שבזיהוי לרוב יש בידוד של תרביות וכמות הדנ"א גדולה יותר. ולכן

צריך תמיד ביקורת שלילית בכל ניסוי לבדיקת הזיהומים. יתכנו גם בעיות של תשובה שלילית שגויה (false negative) הנובעות מנוכחות תרכובות שונות במיצי הצמחי אשר יכולות לעכב את האנזים Taq polymerase, או כתוצאה מפירוק דנ"א המטרה, או בעיות בראגנטים של הראקציה. ריכוז נמוך של דנ"א המטרה הופך את השלבים הראשונים של תהליך ההגברה לקריטיים. לתשובה שלילית שגויה יכולה להיות השפעה גדולה בקרנטינה או בתביעות כנגד חברות זרעים. צריך לכן תמיד ביקורת חיובית המכילה את אותם מרכיבי הראקציה ודנ"א המטרה של הפתוגן הנבדק בכל ניסוי. כאשר רגישות השיטה נמוכה מידי בגלל נוכחות מספר קטן של תאי הפתוגן או מעכבים בתערובת הראקציה, אפשר להגביר את הרגישות במספר דרכים: ביצוע nested-PCR, זיהוי התוצרים שעברו הגברה עם גלאי דנ"א, ביצוע immuno-capture PCR (ריכוז תאי החיידק באמצעות נוגדנים לפני ביצוע PCR) וכן שימוש בתחלים המבוססים על גנים בעלי מספר עותקים גבוה. צריך ללמוד מהו סף המדבק הגורם למחלה בתנאי שדה ואז להתאים את מתן התשובות בהתאם לסף זה.



איור 4. גילוי החיידק פנטואה אגלומראנס בייחורי גבסנית עם תחלים המבוססים על רצף הגן לביוסינתזה של ההורמון ציטוקינין. 1. שלב ראשון של PCR. 2. שלב שני עם פריימרים פנימיים לראשונים המכונה nested-PCR. 3. שיטת ה-Bio-PCR. M מייצג סמנים לגודל תוצרי ה-PCR. המספרים מ-1 עד 5 מייצגים ריכוזים שונים של החיידק במיהולים עשורניים בין 10^5 ל- 10^1 תאים למ"ל. שאר המספרים מייצגים ביקורות. באיורים 1 ו-2 מספר 8 מייצג ביקורת שלילית ואילו מספר 9 מייצג ביקורת חיובית. באיור 3 שתי הביקורות האחרונות מיוצגות במספרים 7 ו-8 בהתאם. ניתן לראות כי בשיטת ה-nested-PCR יש עליה ברגישות של פי 1000 לעומת PCR רגיל ואילו ב-Bio-PCR יש עליה ברגישות של פי 100.

Real-time PCR - בזמן אמת. ראקציית ה-PCR היא בעקרון כפי שתוארה לעיל אך כאן משתמשים בצבעים פלואורסנטיים למדידת הדנ"א המסונתז. התוצרים נקראים בזמן אמת תוך כדי הראקציה ואין צורך בהפרדה בגלל כפי שנעשה ב-PCR רגיל. צריך מכשיר PCR ומחשב עם התוכנות המתאימות. השיטה היא כמותית וניתן להשתמש בה מלבד אבחון גם מדידת ביטוי גנים (מדידת רמת הרנ"א) ועוד יישומים שונים. יש שתי שיטות עיקריות לזיהוי תוצר ב-real-time PCR: 1. שימוש בצבען פלואורסנטי כדוגמת סייבר גרין הנקשר בהעדפה לדנ"א דו גדילי תוך כדי יצירת

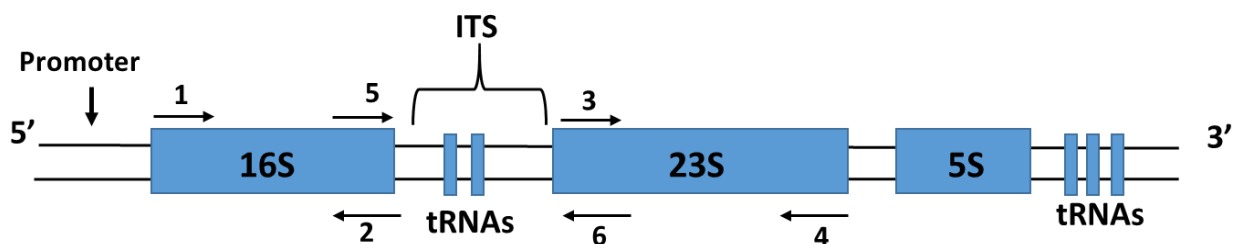
תוצרי הראקציה. עוצמת הפלואורסנציה מעל הרקע משמשת למדידת רמת הדנ"א. 2. באמצעות היברידיזציה עם גלאים ספציפיים. כדוגמה לאפשרות השנייה היא שיטת ה-Taqman. בשיטה זו מלבד התחלים הספציפיים מסנתזים גלאים קצרים שהם ספציפיים לדנ"א שעובר הגברה. לגלאי מחוברת מולקולת צבע פלואורסנטית וכן מולקולה נוספת הקולטת את הפלואורסנציה כאשר היא נמצאת בקרבת מולקולת הצבע. בזמן הסינתזה ע"י ה-Taq פולימראז מולקולת הגלאי מתפרקת ואז המולקולה הפלואורסנטית משתחררת ועקב כך יש עליה בפלואורסנציה. השיטה יותר ספציפית בגלל הגלאי אך יקרה יותר. דוגמאות לשימוש בשיטה זו הן גילוי קלויבקטר משיגנזה בצמחי עגבנייה (Ramachandran et al., 2021), או גילוי בו זמנית של מספר חיידקים בצמחי עגבנייה (Penezova et al., 2020). התוצאות בשיטת Real-time PCR נקבעות על פי מספר מחזורי ה-PCR לקבלת רמת פלואורסנציה מעבר לרמת הרקע, כאשר הסף נקבע מעט מעל הרקע. מספר המחזורים בהם הפלואורסנציה עולה על הסף נקרא Ct (threshold cycle). מתקבלות עקומות של הגברה בהן ניתן לראות את השלב בו מתקבל התוצר. ככל שיש יותר תוצר נקבל את התוצאה לאחר מספר מחזורים קטן יותר. צריך לעשות סדרת מיהולים של הדנ"א לקבלת עקומת כיוול סטנדרטית על מנת לחשב את רמת הדנ"א באופן אבסולוטי ולא יחסי. אפשר לראות את התוצאות גם בעקומות דיסוציאציה (עקומות של פירוק הגדילים) כאשר משתמשים בסייבר גרין. אם התוצרים מתקבלים באותה טמפרטורה ולא משנה הכמות זה מעיד על כך שזהו אותו תוצר. יש לכך חשיבות בשיטת הסייבר מכיוון שגם כאשר נוצר תוצר לא ספציפי תתקבל קריאה. אך כאשר עושים את עקומת הדיסוציאציה אפשר לדעת אם התוצר ספציפי. יתרונות השיטה הן כמותיות בעזרת עקומות כיוול, ספציפיות בעיקר עם הגלאי, ובסייבר גרין עם טמפרטורת הדיסוציאציה. השיטה רגישה ומהירה. החסרונות, עלות ומיומנות גבוהה של העובדים המבצעים את הבדיקה.

שיטה להגברה של דנ"א שלא באמצעות PCR. השיטה נקראת LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) ובה הראקציה נעשית במבחנה אחת בטמפרטורה קבועה אחת ואינה דורשת מכשיר כמו ב-PCR. רצף המטרה מוגבר בטמפרטורה קבועה כמו 60-65 מ"צ עם 2-3 סטים של תחלים ופולימראז מיוחד. לרוב משתמשים בארבעה תחלים שונים לזיהוי אזורים שונים בדנ"א המטרה דבר המוסיף לספציפיות. בגלל הטמפרטורה היחסית גבוהה אין צורך לעשות דנטורציה של הדנ"א. זיהוי התוצרים נעשה בצורה פוטומטרית ע"י עליה בעכירות או באמצעות הוספה של סייבר גרין. לשיטה פוטנציאל לשימוש בשדה בגלל פשטותה ועלותה הנמוכה. בשל הספציפיות של התחלים הגברת הדנ"א גבוהה מזו של ה-PCR. השיטה גם פחות רגישה למעכבים לעומת PCR בגלל שימוש בפולימראזות הרגישות פחות מה-Taq (Notomi et al., 2000).

יתרונות השיטה הן בכך שהגברת הדנ"א נעשית בטמפרטורה קבועה וביעילות גבוהה. אין צורך בדנטורציה של הדנ"א. ספציפיות גבוהה בגלל השימוש ב-4 תחלים המכירים 6 אזורים שונים בדנ"א המטרה. השיטה מהירה, אינה יקרה ואינה דורשת ציוד מיוחד. היתרון העיקרי שלה היא האפשרות של יישום בשדה. מגבלות השיטה: שימושית בעיקר לאבחון אך אינה יעילה לשיבוט או שימושים מולקולריים אחרים. בחירת התחלים מסובכת יותר ולכן קשה יותר לבחור את דנ"א המטרה (ישנן תוכנות לבחירת התחלים). בדיקה בו זמנית של מספר פתוגנים פחות אפשרית בגלל הסיכוי ליצירת דימרים בין התחלים השונים. מכיוון שהתוצר הוא קונקטמר קשה לראותו כפס אחד בג'ל. דוגמאות לשימוש בשיטה זו אפשר למצוא בחיידק ארוויניה אמילובורה (Buhlmann et al., 2013) ובקלויבקטר משיגנזה בזרעי ובצמחי עגבנייה (Yasuhara-Bell et al., 2015).

אנליזה באמצעות Ribosomal DNA-based PCR. אנליזה באמצעות הגברה של דנ"א המקודד לרנ"א ריבוזומלי. השיטה מתאימה לזיהוי פתוגנים ברמת מין ותת מין וכן לאפיון אוכלוסיות. בריבוזום של פרוקריוטים תת היחידה הגדולה 50S מורכבת מרנ"א 23S ו-5S עם 34 חלבונים, תת היחידה הקטנה 30S מורכבת מ-16S עם 21 חלבונים. האופרון של rDNA בפרוקריוטים כולל 3 גנים שהם פונקציונליים ושומרים מבחינה אבולוציונית. היחידה הקטנה 16S, היחידה הגדולה 23S והגן 5S (איור 5). בין הגנים יש אזור וריאבילי שעובר שיעתוק ITS (intergenic transcribed spacer) יש אסטרטגיות רבות המבוססות על רנ"א ריבוזומלי. תחלים לאזורים השמורים מכונים universal primers (תחלים אוניברסאליים) והם משמשים להגברה של מקטעי הגנים מטווח רחב ושונה פילוגנטית של חיידקים. ניתן להשתמש בתחלים 1 ו-2 להגברה של אזור ה-16S (מבוסס על העובדה כי בחיידקים הגן 16S שמור ביותר עם שינויים קטנים) או תחלים 3 ו-4 להגברה של אזור ה-23S (איור 5). את הרצפים אפשר להשוות לבנק הגנים, שבו מצויים כבר רצפים רבים מאורגניזמים שונים, ולזהות את הפתוגן ברמת המין. אפשר להשתמש בגנים לרנ"א ריבוזומלי לגילוי רגיש של פתוגנים אך רמת ההפרדה היא של מין/סוג. מאגר הרצפים גדל כל הזמן ולכן אנליזה של רצפי הגנים של דנ"א המקודד לרנ"א ריבוזומלי הופכת להיות יותר ויותר שימושית לזיהוי פתוגנים חדשים או בלתי ידועים ומיקרואורגניזמים הקשורים לצמחים שאינם ניתנים לזיהוי בדרכים שגרתיות במעבדה.

האופי האוניברסלי של תחלים אלו מאפשר להשתמש בהם לשיטות אחרות המבוססות על PCR המאפשרות ספציפיות גדולה יותר כמו **ITS-PCR** (Internally transcribed spacer). בשיטה זו משתמשים בתחלים שמורים על בסיס הגנים הריבוזומליים 16S ו-23S להגברה של אזור ה-ITS (תחלים 5 ו-6, איור 5). אזור זה בין שני הגנים יכול לכלול מספר גנים ל-tRNA ואזור שלא מקודד הנמצא תחת לחץ סלקציה מופחת ולכן יותר וריאבילי מזה של הגנים ל-16S או 23S. כאן הזיהוי מתבסס על מספר ואורך תוצרי ה-PCR. אפשר להגביר את הספציפיות ע"י חיתוך באנזימי רסטריקציה של תוצר ה-ITS-PCR, או ע"י אנליזה של רצף אזור זה. הגישה הכללית שבה נוהגים לרוב היא, בשלב ראשון משתמשים בתחלים אוניברסליים לגנים 16S ו-23S להגברה של אזור ה-ITS של הפתוגן ותבדידים קרובים לו ואח"כ תכנון תחלים ספציפיים על בסיס אנליזה השוואתית של רצף הדנ"א ונוכחות רצפים לא הומולוגיים.



איור 5. האופרון של דנ"א המקודד לרנ"א ריבוזומלי בפרוקריוטים. החיצים מציינים תחלים אוניברסליים.

אנליזה באמצעות ריצוף גנים שמורים

לזיהוי חיידקים ואפיון אוכלוסיות משתמשים בריצוף גנים לתחזוקה של התא (housekeeping genes) והשוואת הרצפים לאלו הנמצאים בבנק הגנים. כך לדוגמא, ריצוף הגן *gapA* (Cigna et al., 2017) אפשר להגדיר את החיידק *Pectobacterium brasiliense* התוקף תפוא"א, גם בעשב הבר חלמית, שהינו נפוץ בשדות תפוא"א בארץ (Tsrer et al., 2019). בנוסף, ריצוף גן זה אפשר לגלות לראשונה בישראל את המין *P. parmentieri* בשנת 2020 (Tsrer et al., 2020).

(al., 2020). לאבחון חיידקי סטרפטומיצטים בקרקע ובפקעות תפוז"א משתמשים לעיתים בגן *atpD* כפי שתואר ע"י Correea et al. (2015). שימוש בריצוף מספר גנים שמורים לאפיון אוכלוסיות פתוגנים יתואר בסעיף 5 בהמשך.

אנליזה באמצעות ריצוף גנומים שלמים

שיטות ריצוף הדנ"א התפתחו עם השנים והתהליך מסוכם יפה במאמר בעיתון Nature על 40 שנים לריצוף דנ"א (Shendure et al., 2017). הדור הראשון פותח ע"י סנגר ב- 1975, הדור השני פותח ב- 2005 כאשר בשיטה זו נעשה ריצוף בו זמנית של מספר מולקולות גדול. לשיטות מהדור השני קוראים next generation sequencing (NGS). כיום משתמשים בעיקר בפלטפורמה של חברת אילומינה. ב- 2015 פותחו שיטות ריצוף חדשות מהדור השלישי. הריצוף בשיטות אלו נעשה על מולקולה בודדת בזמן אמת. יש שתי חברות הפועלות בדרך זו אך באופן שונה, PacBio וחברת Oxford Nanopore Technologies. נתאר את השיטה של ננופור שבה הריצוף נעשה ע"י מעבר מולקולת הדנ"א דרך חור (nanopore) במכשיר הריצוף. מעבר המולקולה מייצר שינויים בזרם חשמלי הספציפיים לכל בסיס. המעבר של מולקולת הדנ"א מהיר אך מספיק לקריאת השינויים בזרם החשמלי; ניתן לקרוא 450 בסיסים לשניה בננופור אחד וניתן להגיע ל- 10 Gb בהרצה אחת. המכשיר קטן מאוד (ניתן להחזקה בכף יד), נייד ומתחבר ב- USB למחשב לעומת המכשיר הגדול של חברת PacBio. שיטת הננופור מאפשרת ריצוף של מקטעי דנ"א ארוכים, ניתנת לביצוע במעבדה והיא זולה באופן יחסי. גם הניתוח הביואינפורמטי הראשוני פשוט יחסית מכיוון שהחברה מספקת מספר תוכנות לאנליזה של הרצפים ולביצוע de novo assembly.

זיהוי פתוגנים בצמחים בהם סימני המחלה לא ברורים ואינם מצביעים בברור על גורם מחלה ידוע יכול להיות בעייתי מכיוון שהצמחים החולים נשלחים למעבדות שונות לבדיקת נוכחות גורמי מחלה אפשריים (נגיפים, פטריות וחיידקים) אולם למרות זאת לא תמיד מתקבלת תשובה לגבי גורם המחלה. ריצוף כלל הדנ"א מהצמח החולה בשיטת הננופור יכול לעזור במקרה זה. דוגמא לכך מתוארת במאמר (Chalupowicz et al., 2019) שבו הראנו כי ריצוף של כלל הדנ"א מצמחים נגועים בהם גורם המחלה לא היה ידוע אפשר להצביע על גורם אפשרי. לשיטת ריצוף זו יתרון בכך שבבדיקה אחת ניתן לגלות את גורמי המחלה כולל פתוגנים לא ידועים בארץ או כאלה שלא ניתנים לריבוי על מצעי מזון. השיטה יכולה לתת כיוון לחיפוש גורם מחלה אפשרי שביחד עם שיטות אחרות ניתן לאימות ביתר קלות. בשיטת הננופור אפשר היה לרצף במהירות את הגנום של חיידקי אצידוורקס שבודדו מסולניים ולהראות שהם דומים לאלו שתוקפים אבטיח (Chalupowicz et al., 2020).

5. שיטות לקביעת השונות באוכלוסיית הפתוגן

השיטות לקביעת השונות (Diversity assessment) מתאימות לקלסיפיקציה ואפיון טיפוסים שונים באוכלוסיית הפתוגן. הן מאפשרות ללמוד על הדינמיקה של אוכלוסיות הפתוגן ובכך לספק דרכים לפתרון מעשי של מחלות צמחים. באמצעות שיטות אלה אפשר גם לקבל מקטעים ספציפיים לפתוגן למטרות של זיהוי וגילוי. לצורך כך משתמשים ב- DNA fingerprinting – הצגה של קובץ מקטעי דנ"א מדוגמת דנ"א ספציפית, מעין טביעת אצבעות או ברקוד של מוצרים שונים. מרבית השיטות מבוססות על PCR אך ישנן שיטות כמו PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) ו-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) המבוססות על חיתוך הדנ"א.

1.5. שיטת ה- PFGE. בשיטה זו הדנ"א של כלל הגנום נחתך באמצעות אנזימי רסטריקציה נדירים. מתקבלות מולקולות מאוד גדולות של דנ"א ולכן ההפרדה נעשית בשדה חשמלי משתנה. שלא כמו באלקטרופורזה רגילה, שבה תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 92

ניתן להפריד על ג'לים של אגרוז מולקולות מ-100 בסיסים ועד 50 kb, מולקולות גדולות מ-50 kb ואף מעל 10 mb אפשר להפריד בשדה חשמלי משתנה. בחיידקים לא מפיקים את הדנ"א מכיוון שהוא נשבר אלא משתמשים בתאים שלמים וחיתוך הדנ"א נעשה ישירות בג'ל האגרוז. הרצת הדנ"א נעשית במכשיר מיוחד שבו מספר אלקטרודות המפוזרות מסביב לתא ההרצה. המכשיר מייצר שדות חשמליים משתנים בין כל זוג של אלקטרודות, כתוצאה מכך מולקולות הדנ"א הגדולות נעות במהירויות שונות דרך החללים שבג'ל האגרוז. את התוצאות ניתן להציג בדנדרוגרמות (עץ פילוגנטי). דוגמא לשימוש בשיטה זו לאפיון שונות האוכלוסייה אפשר למצוא בחיידק קלויבקטר משיגנזה (Kleitman et al., 2008) או דיקאה סולני (Van der Wolf et al., 2014).

2.5. שיטות המבוססות על PCR, כמו rep-PCR (repetitive DNA PCR-based genomic fingerprinting) האנליזה מבוססת על הימצאות רצפים חוזרניים ספציפיים בגנום. בחיידקים מצאו רצפים חוזרניים המכונים REP (repetitive extragenic palindromic sequences), ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus sequences), BOX-elements (Louws et al., 1998). כיום משתמשים במושג זה לגבי כל הרצפים החוזרניים גם בפטריות. השיטה מבוססת על תכנון תחלים כך שיתנו הגברה של קטעי דנ"א בין שני רצפים חוזרניים. התחלים הם אוניברסליים ונותנים הגברה של קטעי דנ"א בגדלים שונים. כך אפשר לקבל מערך של 10-30 קטעי דנ"א לגנום בגדלים שבין 200 בסיסים ל-6 kb. משתמשים בשיטה זו לזיהוי פתוגנים, להבחנה בין תבדידים שונים ולהערכת השונות הגנטית של פתוגנים לצמחים. יש תחלים מתאימים לחיידקים גרם שליליים או לגרם חיוביים. דוגמאות לכך אפשר למצוא באפיון אוכלוסיית החיידק קלויבקטר משיגנזה (Kleitman et al., 2008).

בשיטה אחרת המכונה RAPD (random amplified polymorphic DNA) משתמשים בתחלים שהם אוליגונוקלאוטידים קצרים (לרוב 10 בסיסים) בעלי רצפים אקראיים בתנאים המקלים על ראקציית ה-PCR (לרוב 35-40 מ"צ, ריכוז מלח גבוה, ריכוז DMSO נמוך). התחלים הקצרים מתחברים לדנ"א המטרה באתרים שהם חלקית או באופן מלא משלימים לרצף ולכן הראקציה נעשית בטמפרטורה נמוכה. באופן כזה מתקבלים תוצרי PCR בגדלים שונים המופרדים בג'ל של אגרוז. השיטה לא מחייבת ידע על רצף הדנ"א של המטרה, אך דורשת סריקה של מספר תחלים אקראיים כדי לקבל טביעת אצבעות רצויה. כך לדוגמא הראנו בחיידק קסנטומונס פלרגוניי כי שימוש בשיטה זו הצביע על אחדות האוכלוסייה ולכן ניתן היה לבודד קטע דנ"א ייחודי ולהשתמש בו לאבחון (Manulis et al., 1994). היתרונות של השיטה הן כמויות קטנות של דנ"א, אין צורך בידע מוקדם על רצף התחלים ודנ"א המטרה, השיטה קלה וזולה, מאפשרת לקבל כמה תוצרים בראקציה אחת, רנדומלית בגנום וניתנת לאוטומטיזציה. אם נמצא קטע שהוא ספציפי לקבוצה חיידקים מסוימת אפשר לעשות שיבוט, ריצוף ומזה לסנתז תחלים שהם ספציפיים לפתוגן למטרות של גילוי וזיהוי.

החסרונות של השיטה הן הצורך בדנ"א נקי וגבה מולקולרי, חשש מזיהומים מפני שהתחלים לא ספציפיים ויכולים להגביר מקטעים באורגניזמים מזהמים שונים, וכן הצורך בתנאי סטנדרטיזציה מחמירים בגלל רגישות הראקציה. כמו כן מקטעים בגדלים דומים לא בהכרח אחידים.

שיטה אחרת המכונה AFLP (amplified fragment length polymorphism) מזכירה את שיטת ה-RFLP בהבדל שאת התוצרים שעברו חיתוך מזהים ב-PCR ולא בהיברידיזציה דרומית (Savelkoul et al., 1999). הגדלים של מולקולות הדנ"א המתקבלות הם בד"כ עד 600 בסיסים והפרדת הדוגמאות נעשית לרוב בג'לים של אקריל אמיד. השיטה מראה נוכחות או העדר של מקטעי רסטריקציה ולא הבדל באורך והיא מתאימה לכל דנ"א בלי קשר למקור או לגודל. השיטה דורשת קצת יותר עבודה משתי השיטות האחרות. צריך לבודד דנ"א ברמת ניקיון גבוהה, חיתוך, ליגציה וסימון פלורוסנטי או סימון רדיואקטיבי. לדוגמא אפיון אוכלוסיית החיידק ארוויניה אמילורה (Rico et al., 2004).

שלושת השיטות ל- genomic fingerprinting שתוארו לעיל מתאימות להערכת השונות בפתוגנים שונים-Rep. PCR ו- AFLP מתאימות גם לקלסיפיקציה של פתוגנים לרמת המין, בעוד שה- RAPD מתאימה לכך פחות. לרוב, אוכלוסיות של פתוגנים מאפיינים ביותר משיטה אחת לצורך אנליזה השוואתית, מכיוון שלעיתים בשיטה אחת לא מוצאים פולימורפיזם ואילו בשיטה שניה כן.

3.5. שיטות המבוססות על ריצוף גנים. אחת מהשיטות שתוארו כבר לעיל מבוססת על ריצוף גנים לדנ"א ריבוזומלי. שיטה אחרת נקראת MLST (Multi Locus Sequence Typing) או MLSA (Multi Locus Sequence Analysis). השיטה מבוססת על ריצוף גנים לתחזוקה של התא והשוואת הרצפים. גנים לתחזוקה מתבטאים כל הזמן ודרושים לפעילויות בסיסיות של התא כמו סינתזת דנ"א, נשימה, סינתזת חלבונים וכו'. בשיטה זו בוחרים בין 8-10 גנים לתחזוקה, מבצעים את ראקציית ה- PCR ולאחר מכן מרצפים את התוצרים (בד"כ קטעים בין 400-500 בסיסים) ומשווים ביניהם. צריך לשם כך מאגר נתונים של הרצפים השונים. בחירת הגנים לתחזוקה שונה בין מינים שונים. ההבדל בין MLST ל- MLSA הוא באנליזה של התוצאות. ב- MLST כל רצף נחשב כאלל ואם רצף זה נחשב לאותו טיפוס. ב- MLSA מסתכלים על כל הרצף וכל השינויים ברצף נלקחים בחשבון. ב- MLST משתמשים לרוב בתבדידים השייכים למינים המוגדרים היטב ואילו ב- MLSA משתמשים למינים בהם הגבולות לא מוגדרים היטב. לדוגמא, אפיון תבדידי *Dickeya solani* מתפוחי אדמה נעשה לאחר ריצוף הגנים לתחזוקה *dnaX*, *dnaN*, *fusA*, *gapA*, *gyrA*, *purA*, *rplB*, *rpoS*, *recA* (Van der Wolf et al., 2014). יתרונות השיטה הן שהתוצאות הינן חד משמעיות, הדירות וניתנות לאנליזה דרך מאגרי מידע באינטרנט. החסרונות הן בכך שמכיוון ומשתמשים בגנים לתחזוקה ואלו שמורים, לא תמיד ניתן למצוא מספיק הבדלים בין הגנים של התבדידים השונים. לפעמים חשובים הבדלים ברמת הוירולנטיות של התבדידים ואלו לא נלקחים כאן בחשבון. למרות זאת זוהי שיטה חשובה שיש לה שימושים רבים באפידמיולוגיה של מחלות בעיקר אנימליות וכעת גם בצמחים.

6. שיטות אבחון חדשות וכאלה המבוססות על תגובת הצמח החולה. שיטות חדשות לאבחון פתוגנים מתפתחות כל הזמן על בסיס עקרונות השונים מאלו שתוארו לעיל או שילוב ביניהם. כך לדוגמא באמצעות Infrared Spectroscopy אפשר להבחין בין מינים שונים של פקטובקטריום ודיקאה התוקפים תפוחי אדמה (Abu-Aqil et al., 2020). שילוב של שיטות מולקולריות ואימונולוגיות בננוטכנולוגיה מאפשר פיתוח של מכשירים זעירים וניידים לגילוי פתוגנים ישירות בשדה. נושא זה מתאפשר בעקבות פיתוח ננו חלקיקים אליהם אפשר לקשור באופן קוולנטי מולקולות ביולוגיות שונות כמו חלבונים או חומצות גרעין. שטח מחקר זה עדיין בשלבים ראשונים של פיתוח והוא מסוכם במאמר סקירה (Kashyap et al., 2015).

בנוסף לשיטות האבחון הישירות המבוססות על גילוי וזיהוי הפתוגן, מפותחות שיטות עקיפות המתבססות על תגובת הצמח החולה. צמחים מפרישים תרכובות אורגניות נדיפות לסביבה לצרכים שונים כמו במהלך גידול, הגנה והישרדות. מולקולות אלו המופרשות מפני העלים יכולות להצביע על המצב הפיזיולוגי של הצמח מבלי שעצם הבדיקה תפגע בו. בעזרת GC-MS אפשר ללמוד את הפרופיל של מולקולות אלו. כך לדוגמא הוצע אף אלקטרוני (e-nose) למדידת פרופיל של החומרים המופרשים, אך עדיין יש בעיה בניתוח הנתונים (Martinelli et al., 2015). פרמטרים אחרים שנבדקים הם שינויי טמפרטורה של העלווה ופני השטח של הצמח, שינויי פלואורסנציה, שינויים ספקטראליים, שינויים בקצב הטרנספירציה של הצמח החולה לעומת הבריא ועוד (Fang and Ramasamy, 2015).

השיטות החדשות המתבססות על סנסורים וביוסנסורים לחישה מרחוק של הצמח החולה מספקות דרכים נוספות להתמודדות עם מחלות צמחים בשדה עוד לפני הופעת הסימפטומים, מאפשרות ללמוד על התפתחות המחלה בזמן ובמרחב ומקלות על ההחלטות האם ובאיזה אמצעים לנקוט להדברת המחלה (Oerke, 2020).

סיכום

בפרק זה הצגנו שיטות שונות לאבחון חיידקים ופתוגנים של צמחים באופן כללי. מהפכה בתחום חלה עם פיתוח השיטות הסרולוגיות והמולקולריות, בעיקר PCR, שאפשרו לזהות ולגלות את הפתוגנים בצמחים תוך ביצוע מספר רב של בדיקות בו זמנית ובעלויות לא גבוהות. יחד עם זאת יש לזכור שלכל השיטות יש יתרונות וחסרונות והן אינן נותנות תשובה מספקת בכל המקרים, ולכן צריך לבחור את השיטות המתאימות בהתאם לצורך הספציפי. אם לדוגמה רוצים לנטר גורם מחלה מסוים בסביבה ויש דרך מולקולרית או סרולוגית עדיף להשתמש בהן. לעומת זאת במקרים שלא ידוע מהו הגורם (כמו פתוגן המאלח פונדקאי חדש או פתוגן לא מוגדר) אפשר לבצע ריצוף כללי ואח"כ לאמת את התוצאות בשיטות אחרות. לאבחון בשדה אצל המגדל אפשר להשתמש בשיטות סרולוגיות כמו סטריפים עם נוגדנים או שיטות מולקולריות שלא באמצעות PCR. אך יש לזכור כי לרוב רגישות השיטות הללו נמוכה ולכן הן מתאימות רק לצמחים המראים סימני מחלה בהם ריכוז הפתוגן גבוה. פיתוח שיטות אבחון חדשות המתאימות לבניית סנסורים או ביוסנסורים לחישה מרחוק והמבוססות על תגובת הצמח שהתחיל לפני מספר שנים, ימשיך לדעתנו גם בעתיד ויספק דרכים נוספות לאבחון גורמי מחלות בצמחים.

מקורות

- Abu-Aqil G., Tsror L., Shufan E., *et al.*, (2020) Differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. phytopathogens using infrared spectroscopy and machine learning analysis. *Journal of Biophotonics* 13: e201960156.
- Bereswill S., Pahl A., Bellemann P., Zeller W. and Geider K. (1992) Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 3522-3526.
- Bühlmann A., Pothier J.F., Rezzonico F., *et al.*, (2013) *Erwinia amylovora* loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid pathogen detection and on-site diagnosis of fire blight. *Journal of Microbiological Methods* 92: 332-339.
- Bull C. T. and Koike S. T. (2015) Practical benefits of knowing the enemy: modern molecular tools for diagnosing the etiology of bacterial diseases and understanding the taxonomy and diversity of plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 53: 157-180.
- Chalupowicz L., Dombrovsky A., Gaba V., *et al.*, (2019) Diagnosis of plant diseases using the Nanopore sequencing platform. *Plant Pathology* 68: 229-238.
- Chalupowicz L., Reuven M., Dror O., Sela N., Burdman S. and Manulis-Sasson S. (2020) Characterization of *Acidovorax citrulli* strains isolated from solanaceous plants. *Plant Pathology* 69:1787-1797.

- Charlarmroj R., Himananto O., Seepiban C., *et al.*, (2013) Multiplex detection of plant pathogens using a microsphere immunoassay technology. *PloS ONE* 8: e62344.
- Corrêa D. B. A., Salomão D., Rodrigues-Neto J., Harakava R. and Destéfano S.A.L. (2015) Application of PCR-RFLP technique to species identification and phylogenetic analysis of *Streptomyces* associated with potato scab in Brazil based on partial *atpD* gene sequences. *European Journal of Plant Pathology* 142: 1-12.
- Fang Y. and Ramasamy R. P. (2015) Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors* 5: 537-561.
- Haas J. H., Moore L.W., Ream W. and Manulis S. (1995) Universal PCR primers for detection of phytopathogenic *Agrobacterium* strains. *Applied Environmental Microbiology* 61: 2879-2884.
- Kado C. I. (2010) *Plant Bacteriology*, American Phytopathological Society.
- Kashyap P. L., Kumar S. and Srivastava A. K. (2017) Nanodiagnosics for plant pathogens. *Environmental Chemistry Letters* 15: 7-13.
- Kleitman F., Barash I., Burger A., *et al.*, (2008) Characterization of a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* population in Israel. *European Journal of Plant Pathology* 121: 463-475.
- Louws F. J., Bell J., Medina-Mora C. M., *et al.*, (1998) rep-PCR mediated genomic fingerprinting: a rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology* 88: 862-868.
- Louws F. J., Rademaker J. and De Bruijn F. (1999) The three Ds of PCR-based genomic analysis of phyto-bacteria: diversity, detection and disease diagnosis. *Annual Review Phytopathology* 37: 81-125.
- Manulis S., Valinsky L., Lichter A. and Gabriel D. (1994) Sensitive and specific detection of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* with DNA primers and probes identified by random amplified polymorphic DNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 4094-4099.
- Manulis S., Kogan N., Valinsky L., Dror O. and Kleitman F. (1998) Detection of *Erwinia herbicola* pv. *gypsophylae* in gypsophila plants by PCR. *European Journal of Plant Pathology* 104: 85-91.
- Martinelli F., Scalenghe R., Davino S., *et al.*, (2015) Advanced methods of plant disease detection. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 1-25.
- Nassar A., Darrasse A., Lemattre M., *et al.*, (1996) Characterization of *Erwinia chrysanthemi* by pectinolytic isozyme polymorphism and restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments of *pel* genes. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 2228-2235.
- Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., *et al.*, (2000) Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* 28: e63.
- Oerke E.-C. (2020) Remote sensing of diseases. *Annual review of phytopathology* 58: 225-252.

- Peňázová E., Dvořák M., Ragasová L., et al., (2020) Multiplex real-time PCR for the detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and pathogenic *Xanthomonas* species on tomato plants. PLoS ONE 15(1): e0227559.
- Qu X., Wanner L. A. and Christ B. J. (2008) Using the TxtAB operon to quantify pathogenic *Streptomyces* in potato tubers and soil. Phytopathology 98: 405-412.
- Ramachandran S., Dobhal S., Alvarez A. M. and Arif M. (2021) Improved multiplex TaqMan qPCR assay with universal internal control offers reliable and accurate detection of *Clavibacter michiganensis*. Journal of Applied Microbiology doi:10.1111/JAM.15017
- Rico A., Ortiz-Barredo A., Ritter E. and Murillo J. (2004) Genetic characterization of *Erwinia amylovora* strains by amplified fragment length polymorphism. Journal of Applied Microbiology 96: 302-310.
- Savelkoul P., Aarts H., De Haas J., et al., (1999) Amplified-fragment length polymorphism analysis: the state of an art. Journal of Clinical Microbiology 37: 3083-3091.
- Schaad N. W., Jones J. B. and Chun W. eds. (2001) Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. St. Paul, Minnesota, USA: APS Press. The third edition is available at 2021.
- Shendure J., Balasubramanian S., Church G. M., et al., (2017) DNA sequencing at 40: past, present and future. Nature 550: 345-353.
- Tsrur (Lahkim) L., Lebiush S., Erlich O., Galilov I., Chalupowicz L., Reuven M., Dror O. and Manulis-Sasson S. (2019) First report of latent infection of *Malva nicaeensis* caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Israel. New Disease Reports 39: 4.
- Tsrur (Lahkim) L., Erlich O., Lebiush S., Galilov I., Hazanovsky M., Chalupowicz L., Reuven M., Dror O. and Manulis-Sasson S. (2020) First report of *Pectobacterium parmentieri*, one of the causal agents of potato blackleg and tuber soft Rot diseases, in Israel. Plant disease 104: 2288.
- Van Der Vlugt R. A., Van Raaij H., De Weerd M. and Bergervoet J. H. (2015) Multiplex detection of plant pathogens through the luminex magplex bead system. In Plant Pathology. Springer, pp. 283-299 .
- Van Der Wolf J. M., Nijhuis E. H., Kowalewska M. J., et al., (2014) *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 64: 768-774.
- Yasuhara-Bell J., Baysal-Gurel F., Miller S. A. and Alvarez A. M. (2015) Utility of a loop-mediated amplification assay for detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in seeds and plant tissues. Canadian journal of plant pathology 37: 260-266.
- Wayne L., Brenner D., Colwell R., et al., (1987) Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 37: 463-464.

פרק 7: מנגנוני הדברה ביולוגית

יגאל אלעד

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, 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 (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. מדבירים ביולוגיים רבים נחקרו מאז העשור השלישי של המאה העשרים וקיימים תכשירים מסחריים המבוססים על חיידקים, שמרים ופטטריות. 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 המשפעת 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. פרק 7, ע' 97-115 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <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 הביוטית 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 תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 98

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 קובע *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 (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.

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 (בקרקע ובמים), הן לבדם או בתערובות, או שאוכלוסייתם משתנה בסביבת הצמח, על פניו, בפילוספרה ובריזוספרה או בתוכו (ראו פרק על אנדופיטים) בעקבות טיפולים עקיפים המעודדים אותן. 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. לדוגמה 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) ופטריית 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*) בנבטי 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 אגרוזין 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, c, 1982; Hadar et al., 1979; Papavizas et al., 1982). אמבה נמצאה יעילה בפגיעה 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 קטיפ

הדברה ביולוגית טבעית נמצאה בעצי ערמון נגועים ב *Endothia parasitica* (Van Alfen et al., 1975). התופעה נקראה היפוורילנס (hypovirulence) 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 הפפיו המתמודד עם נגיף זה (Scenk et al., 2010).

קיימים מחקרים רבים בהם מדבירים מיקרוביאליים שיושמו על גבי צמחים הביאו לבקרת מחלות נוף (Andrews, 1992; Blakeman and Fokkema, 1982). מדבירים ביולוגיים עליהם נמנים מיני חיידקים, שמרים ופטריית 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; אזור 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).
חיידיקים 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

פטריית וחיידיקים 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 מדברים 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 במדברים 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 תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 101

Calderón et al., 2019; Gafni et al., 2015; Barda et al.,) (*Clavibacter michiganensis*) חיידקי בעגבנייה (2014).

ככלל מדברים ביולוגיים אלה מתחרים עם הפתוגן על גומחת (נישה) הפעילות שלו או על מקורות מזון, פריזיטים 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 מדברים 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	רקבון 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	רקבון 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>	Cease	גרב בתפוח ואגס (מיני <i>Venturia</i>)
<i>Muscador albus</i>	Muscador	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 tumefaciens</i>)
<i>Agrobacterium radiobacter</i> תבדיד 84 <i>Gliocladium catenulatum</i>	Galltrol A	עפץ חיידקי
<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>), <i>Verticillium</i> , עובש אפור (<i>B. cinerea</i>), חלפת (<i>Alternaria</i>), <i>Phomopsis</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	מחלות שורש (<i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>), עובש אפור (<i>B. cinerea</i>), קימחון, כשותית וקשיונה
	AQ10	קימחון
	Aspire	מחלות בפרי לאחר קטיף

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 ופטריית חוטיות יכולים להפחית פעילות של גרמי מחלה תוך צריכה של חמרי מזון זמינים (Blakeman, 1993; Blakeman and Fokkema, 1982; Funck Jensen and Lumsden, 1999; Loper and Buyer 1991). 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; Mercier and Wilson, 1994), השמר *Cryptococcus laurentii* (Janisiewicz et al., 1994) ומיקרואורגניזמים שונים על גבי עלי שעועית שעיכבו נביטת נבגי הפטרייה בוטריטיס (Elad et al., 1994 a b). תחרות על יסודות מזון ועל מרחב נמצאו גם במערכות אחרות כמו במערכת בה *Aureobasidium pullulans* מתחרה בפטרייה *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 יחס לתחרות על יוני ברזל, יוני מתכות שונות ואפילו מקורות פחמן. קשירת יוני הברזל יוחסה לסידרופורים המופרשים על ידי חיידקי פסאודומנס (Loper and Buyer, 1991; Elad and Baker, 1985 a, b).

חומרים מעכבים

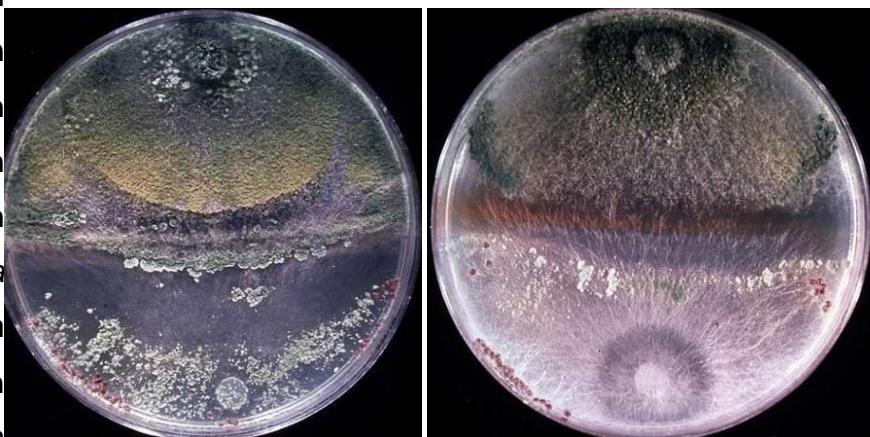
גם העבודות על יצור חומרים מעכבים על ידי מדברים ביולוגיים החלו לפני עשרות שנים. דווח שהפטרייה האנטגוניסטית *Trichoderma virens* (syn *Gliocladium virens*) מייצרת גליוטוקסין (gliotoxin) הרעיל ל *R. solani* יותר מאשר ל *Pythium ultimum* וגליווירין (gliovirin) הרעיל לריזוקטוניה ולא לפתיום (Howell et al., 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 מדבר 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 בתרבית מודגם באיור 3.

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 לטיפולים 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

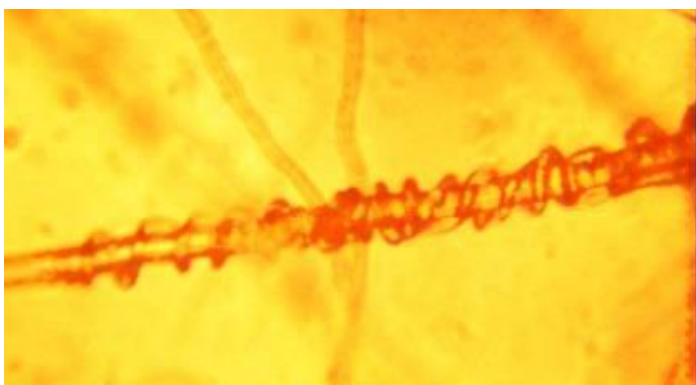
תרומת ההפרשה הממושכת של חמרי אנטיביוטיקה להדברה הביולוגית (Arseneault and Filion, 2017). המדביר הביולוגי *Pseudozyma aphidis* הנזכר לעיל מפריש חומרים חוץ תאיים אשר בתרבות מעכבים את החיידקים הפתוגנים *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia amylovora*, *Clavibacter michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens* (Barda et al., 2015).



איור 3. הדגמת יחסי מיקרואורגניזמים בתרבות בצלחות פטרי. תמונה עליונה: הפטרייה *Sclerotium rolfsii* גדלה מכיוון תחתית הצלחות ומעוכבת על ידי חומרים מעכבים המופרשים למצע על ידי חיידקים הגדלים בחלק העליון של הצלחת. באמצע: תפטיר הפטרייה *S. rolfsii* 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.

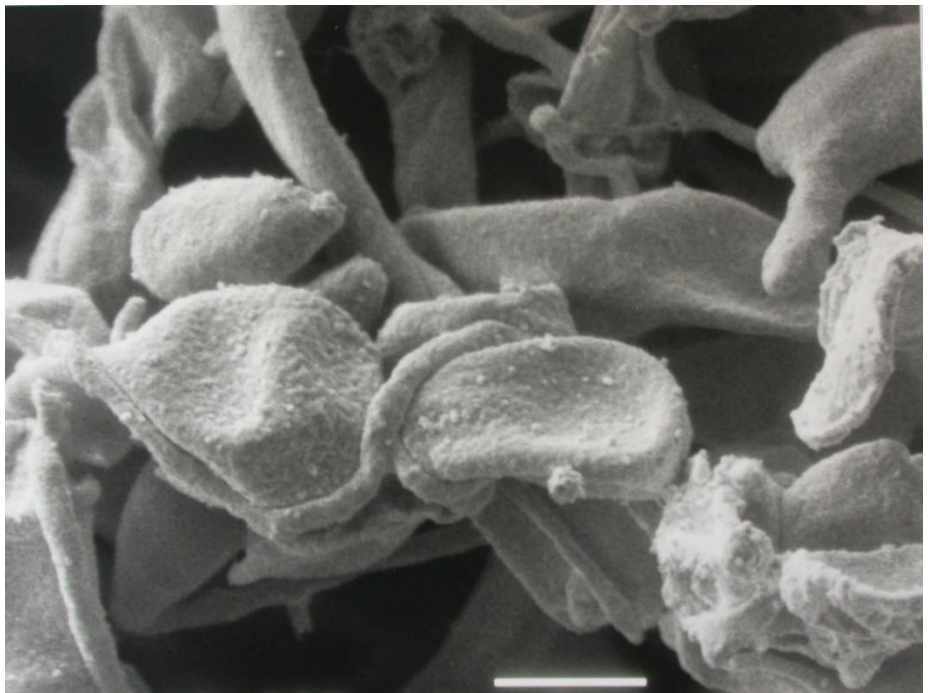


בתמונה התחתונה צילום מבעד למיקרוסקופ אור של קור הפטרייה *Rhizoctonia solani* המתפרס מימים לשמאל ועליו ליפופים של פטרייה פרזיטית מהסוג טריכודרמה. תמונות צולמו במהלך לימודים של הכותב בהנחיית פרופ' אילן חת, פרופ' יעקוב קטן ופרופ' יגאל הניס ז"ל.



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).

פרזיטיזם על גבי קורי פטריות ואברים נוספים שלהן תוארה רבות. עוד ב 1934 תיאר Weindling פרזיטיזם 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 האואומיצט פתיום ועוד (Adams, 1990; Lifshitz et al., 1984; Elad et al., 1983). היפרפרזיטיזם 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; Szejnberg et al., 1989). AQ נמצא פרזיט על גבי מיני קימחון רבים מהסוגים *Oidium*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Podosphaera*, *Uncinula*, *Leveillula*. אלטרנריה אלטרנטה נמצאה פרזיטית על גבי *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* גורם חילדון צהוב (חלדון הפסים) בחיטה (Zheng et al., 2017) וקיימות דוגמאות נוספות להיפרפרזיטיזם. הדגמת מיקופרזיטיזם של הפטרייה טריכודרמה בתרבית מובא באיור 3. באיור 4. מודגם פרזיטיזם של פטרייה על גבי *Cladosporium fulvum* גורם מחלת עובש עלים בעגבנייה.



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

אנזימים מפרקי דופן 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 and Gogorova, 1988; Lorito et al., 1993; Geremia et al., 1993; Ordentlich et al., 1988; Wisniewski 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 האואומיצט *Phytophthora capsici* והפטרייה *B. cinerea* (Reithner et al., 2011).

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 אסטרז, וצלולאז. עיכוב של אנזימים אלה (פרט לצלולאז) המיוצרים על ידי נבגי בוטריטיס נובטים וחודרים לרקמת עלי שעועית 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 נקרטרופים כמו *B. cinerea* עשויים להתבסס על חומר אורני כספרופיטים וליצור מדבק אשר מאוחר יותר ישמש להדבקת צמחים רגישים. עיכוב יצור המדבק בשדה עשוי לתרום לפחיתה בפוטנציאל המדבק של גורם המחלה כפי שנמצא עם המדביר הביולוגי *Ulocladium atrum* המדכא הנבגה של *B. cinerea* על עלי שושן ו *B. allii* ו *B. cinerea* 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 גווייה 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 (Meyer, De et al., 1998; איור 5). השראת העמידות התקבלה גם באמצעות תאים 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 (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

מדברים 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 שהמדברים 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.

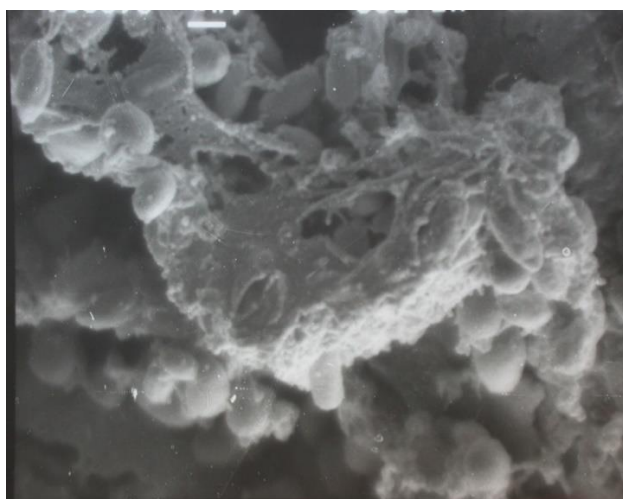
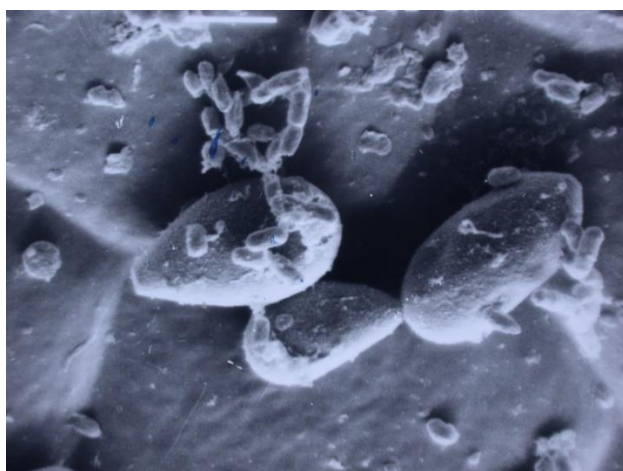
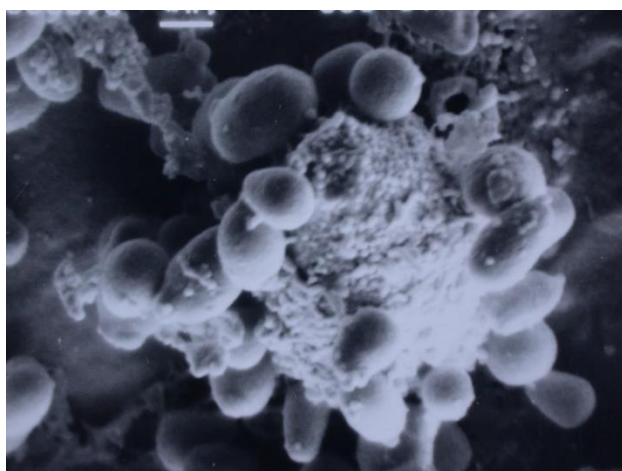


איור 5. הדברה ביולוגית של עובש אפור בצמחי פלפל על ידי השראת עמידות סיסטמית בעת יישום המדביר הביולוגי טריכודקס (*T. harzianum*) (T39). המדביר הביולוגי יושם בבית השורשים (ארבעה עציצים מימין) בעוד גורם המחלה רוסס על פני נוף צמחי הפלפל. משמאל צמחים נגועים באופן חמור בעובש אפור (היקש)

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 T39 *T. harzianum* 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 mycooides*) ושמר (*Pichia guillemontii*) 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).



איור 6. השפעת חיידק (*Bacillus mycooides*) ושמר (*Pichia guillemontii*) 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 מראוויין פישר ז"ל ומוקדשות לזכרו. פרויקט שילוב מיקרואורגניזמים להדברה ביולוגית היה בשיתוף ד"ר רותי גויצקי, פרופ' דני שטיינברג ופרופ' עמוס דינור.

בצד השראת עמידות מתקיימים מנגנונים שאינם קשורים בהמתת גורם המחלה והם תחרות ועיכוב גורמי פתוגנזה של גורם המחלה. היפרפרזיטיזם וחומרים מופרשים על ידי מדברים ביולוגיים פועלים ישירות על גורם המחלה ומייצגים שורה של תהליכים פסיולוגיים. נראה שחומרים מופרשים שנמצאו פעילים בתרבית 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 בתרבית (לדוגמא באיור 3) אינה בהכרח מלמדת שמנגנון הפעילות על פני הצמח, בריזוספרה או בפילוספרה, הינם אלה המודגמים בתרבית או שתרומתם חשובה יותר ממנגנונים אחרים.

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 Filion 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., Labbé 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, Malathrakis 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 Dinooor 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 Dinooor 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 Dinooor 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 postharvest 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 benzothiadiazole 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 mycoparasitism-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 Vlucht 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. Netherland 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.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 8: הדברה מיקרוביאלית באמצעות פטריות אנטומופתוגניות



ניצן בירנבאום^{1,2} ויקטוריה ריינגולד^{1,2}, סבינה מטבייב² ודנה מנט²

¹ הפקולטה לחקלאות, האוניברסיטה העברית
² המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תמונה: ביצה של חדקונית הדקל נגועה בפטרייה האנטומופתוגנית *Metarhizium brunneum*.
צילם: ד"ר אלכס פרוטסוב

תקציר

גורמי הדברה מיקרוביאליים הם מיקרואורגניזמים פתוגניים (מחוללי מחלה) או תוצרים ישירים שלהם, המסוגלים להפחית אוכלוסיות של פרוקי רגליים מזיקים. מיקרואורגניזמים אלה מהווים חלופה בת קיימה וידידותית לסביבה לתכשירי הדברה כימיים. מיני פטריות אנטומופתוגניות זהו לראשונה במחצית המאה ה-19 והתגלו כאמצעי הדברה של מזיקים בחקלאות. ממלכת הפטריות אחראית למידה רבה של קטילת פרוקי רגליים, ובה מיני הסוגים *Metarhizium* ו-*Beauveria* קטלניים לדרגות התפתחות שונות של חרקים ואקריות ומצויים בשימוש חקלאי נרחב. שימוש מושכל בתכשירים על בסיס פטריות אנטומופתוגניות יכול לצמצם ולעיתים אף להחליף את השימוש בתכשירים סינתטיים כנגד מזיקי צמחים. בפרק זה מוצגים מאפיינים ביולוגיים ומסחריים של פטריות אנטומופתוגניות מהסוגים הללו והפוטנציאל החשוב הגלום בהן בממשק ההדברה של מזיקי צמחים. הודגמה היתכנות השימוש בתכשירי פטריות אנטומופתוגניות להדברת ארבעה מיני מזיקים בבתי גידול שונים, תוך התייחסות לאתגרים המלווים את המחקר ואת היישום בארץ. מטרת המחקר, המתבצע במעבדה להדברה מיקרוביאלית של מזיקים במכון וולקני, מתמקדת באפיון ההזדמנויות לשילובם של מדבירים מיקרוביאליים במערכות בקרת מזיקים בבתי גידול חקלאיים בישראל. המחקר משלב מדע בסיסי בנושא יחסי פונדקאי-פתוגן ומדע יישומי בטכנולוגיות ייצור ופורמולציה של מדבירים מיקרוביאליים.

אופן הציטוט: בירנבאום נ', ריינגולד ו', מטבייב ס' ומנט ד' (2021) **הדברה מיקרוביאלית באמצעות פטריות אנטומופתוגניות** פרק 8, ע' 116-129 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e55398>



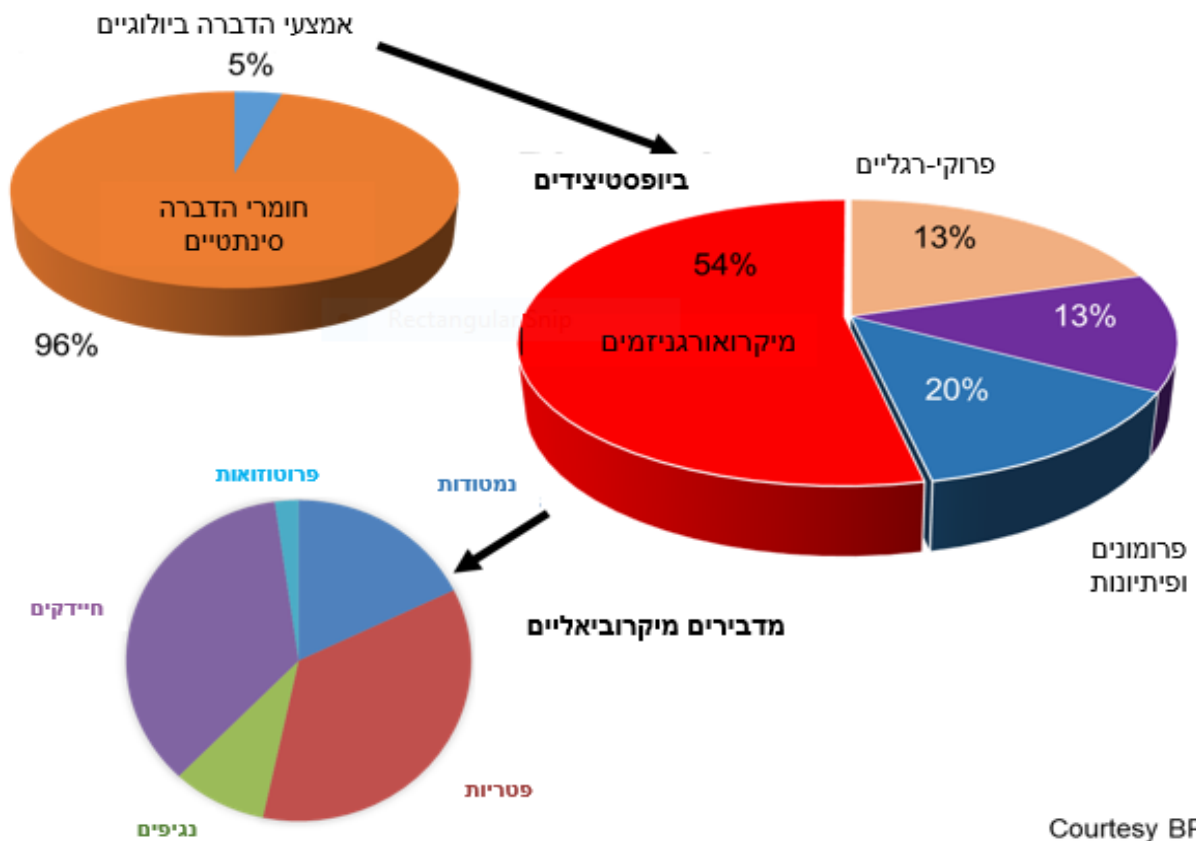
הדברה ביולוגית מיקרוביאלית

מושג ההדברה הביולוגית בחקלאות מתייחס לשימוש באוכלוסייה של יצור חי אחד כדי להפחית אוכלוסייה של יצור חי אחר המוגדר כגורם נזק לתוצרת חקלאית (אלעד, 2021). אחת הדוגמאות המוכרות היא השימוש במושיות להפחתת אוכלוסיות של כנימות עלה בגידולים שונים. אך הדברה ביולוגית אינה עושה שימוש בלעדי בפרוקי רגליים כטורפים או טפילים. חרקים, בדומה לבני אדם ובעלי חיים אחרים, סובלים ממחלות הנגרמות מגורמים אנטומופתוגניים כגון נגיפים, חיידקים, נמטודות ופטירות. מיקרואורגניזמים אלה נקראים באופן כללי אנטומופתוגנים - מחוללי מחלה בחרקים. התייעוד המדעי הראשון של מחוללי מחלה בחרקים, כמו גם ציון הדרך הראשון בתחום הפתולוגיה של חרקים, עלו ממחקריהם של האיטלקי אגוסטינו באסי והצרפתי לואי פסטר בדבורי דבש ותולעי משי. תופעה זו נרתמה על ידי מדענים לתועלת המין האנושי, כדי להפחית אוכלוסיות מזיקים בחקלאות. השימוש הראשון בגורם מחלה להדברת מזיקים בחקלאות נעשה בשנות ה-80 של המאה ה-19 על-ידי המדען איליה מטשניקוף (יליד אוקראינה, ממניחי היסודות לחקר המערכת החיסונית, זכה בפרס נובל בשנת 1908), שגידל פטרייה פתוגנית לחרקים, *Metarhizium anisopliae*, ויישם אותה כנגד חיפושית החיטה. ציון דרך משמעותי נוסף היה גילוי החיידק *Bacillus thuringiensis* (Bt) כגורם מחלה של עש הקמח. תרומתה של ישראל בתחום זה תועדה כאשר החוקרים הישראליים, ד"ר לאונרד גולדברג ופרופ' יואל מרגלית, מחלוצי ההדברה הביולוגית, דיווחו בשנת 1977 אודות חיידק הקוטל באופן מהיר במיוחד זחלי יתושים. אותו חיידק הוגדר בשם *Bacillus thuringiensis var. israelensis*. חיידקי Bt לסוגיהם השונים נמצאים בשימוש רב ברחבי העולם בעיקר להדברת עשים מזיקים בגידול פירות וירקות וכן יתושים וזבובאים.

מאז אותן תגליות גדולות, ובעקבות השימוש ההולך וגובר בגורמי מחלה לניהול אוכלוסיות מזיקים, התפתח שוק סחר דינמי המשיא תמורות אדירות במדד הצמיחה הממוצע. שוק הביופסטיצידים (חומרי ההדברה הטבעיים), המרכיב רק כ-5% משוק ההדברה העולמי, בעל צמיחה שנתית מהירה העומדת על כ-17% (איור 1). שוק הביופסטיצידים כולל אויבים טבעיים, פרומונים, פיתיונות ומיקרואורגניזמים. אלה האחרונים מהווים את החלק הגדול והפעיל ביותר בשוק הביופסטיצידים. המדברים המיקרוביאליים המשווקים כחלק מתכשירי הדברה כוללים תכשירים המבוססים על חיידקים, פטריות, נגיפים ונמטודות – כולם מחוללי מחלה בפרוקי רגליים.

הדרישה הציבורית להפחתה ואף לביעור מוחלט של שאריות כימיקלים בתוצרת חקלאית, יחד עם ההשפעות השליליות של חומרי הדברה כימיים או סינתטיים על הסביבה, העלו את הצורך לפתח אמצעים חלופיים לניהול אוכלוסיות מזיקים בחקלאות. צורך זה הוביל להתוויית מדיניות ותקנות חדשות, כגון חוק האיחוד האירופי להפחתת השימוש והחלפת חומרי הדברה סינתטיים. מדברים מיקרוביאליים מהווים אלטרנטיבה טובה לחומרי הדברה כימיים מכמה סיבות: הם בעלי ספציפיות מוגברת; הם מיושמים תוך בטיחות סביבתית ללא שאריות רעילות; עלויות הפיתוח והייצור שלהם נמוכות בהשוואה לתכשירי הדברה סינתטיים ולבסוף, ניתן להשיגם במחיר תחרותי.

בראייה יישומית ושיווקית, הכדאיות בפיתוח מדברים מיקרוביאליים נובעת גם מטווח הפונדקאים הרחב שעשוי להיות להם. לדוגמה, מין אחד של פטרייה אנטומופתוגנית עשוי לחולל מחלה שתוביל לתמותה במזיקים שונים ממספר מחלקות וסדרות טקסונומיות של פרוקי רגליים. באיור 2 מודגם טווח הפונדקאים הרחב של שני מיני פטריות אנטומופתוגניות המשמשות כחומר הפעיל בתכשירים מסחריים רבים ברחבי העולם, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*.



איור 1. השוואת גודל שוק חומרי ההדברה העולמי (בדולר אמרקאי) – חומרי הדברה סינתטיים לעומת ביו-פסטיצידים והמדברים הביולוגיים השונים, באדיבות BPIA.



איור 2. פטריות קוטלות חרקים *Metarhizium brunneum* ו-*Beauveria bassiana* ניחנות בטווח פונדקאים רחב, עובדה המאפשרת להן להדביק ולקטול מזיקים שונים, לרבות קרציות, עשים וחיפושיות.

שילוב תכשירי הדברה מיקרוביאליים בממשק הדברה של מזיקים פרוקי רגליים

ניתן לשלב מדברים מיקרוביאליים בפרקטיקות ניהול מזיקים קיימות ולשלבם עם טיפולים כימיים או אגרוטכניים. אסטרטגיית היישום העיקרית היא יישום מתגבר, קרי יישום כמות גדולה של המדביר הביולוגי, ללא ציפייה להישרדותו או התבססותו בסביבה. למעלה מ-200 תכשירי הדברה מיקרוביאליים אושרו להדברת מזיקים ברחבי העולם, כ-30 מתוכם מבוססי פטריות. מזיקי המטרה המרכזיים של התכשירים מבוססי הפטריות הם עשים, חיפושיות, כנימות עלה, תריפסים, טרמיטים ואקריות, קבוצות המהוות מזיקי מפתח בחקלאות (Van Lenteren et al., 2018).

מדברים מיקרוביאליים ניתנים ליישום במגוון אופנים, כתלות בגורם המחלה ובסוג התוארית (פורמולציה). כך למשל תכשירים מבוססי נגיפים וחיידקים על פי רוב מיושמים בעיקר בריסוס כנגד עשים מזיקי עלווה ונוברי פירות. ניתן ליישם גם תכשירי הדברה מבוססי חיידקים כגרנולות המכילות פיתיון המושכות את אוכלוסיית המזיק. תכשירים מבוססי פטריות אנטומופוטוגניות ניתנים ליישום במגוון אופנים, החל מריסוס עלוותי, ריסוס קרקע כנגד מזיקים שוכני קרקע, פיזור גרנולות עם פיתיון בקרקע או בפורמולציה אבקתית כנגד מזיקי מחסן (Bateman et al., 1993; Batta, 2004).
אולי שיטת היישום הכי שנויה במחלוקת של מדברים מיקרוביאליים היא זו של שימוש בגן המקודד לרעלן שמקורו מחיידק ה-Bt. גן הרעלן שמשוּבט לצמח מצטבר ברקמת הצמח ובכך גורם לו להיות רעיל כלפי מזיקים הניזונים עליו (Kalha et al., 2014). השיטה משמשת להתמודדות עם הקשים מהמזיקים ברחבי העולם.



איור 3. תיאור השלבים הנחוצים לפיתוח וייצור של מדביר מיקרוביאלי. הפטרייה האנטומופוטוגנית, *Metarhizium brunneum*, בודדה מחדקונית דקל אדומה נגועה. התבדיד מגודל באופן רציף על מצע מזון מלאכותי, ומרובה בביוֹרִיאקטור ליצירה של מסות תפטיר. נבגים יחידות אינפקטיביות ממוצים מהמצע ומוכנסים לתוארית לצורך יישום שדה כנגד חדקונית במטעי תמר (בתמונה מיושמת הפטרייה על ידי יערה לבנה). הפטרייה האנטומופוטוגנית *Metarhizium brunneum* בודדה מחדקונית דקל אדומה נגועה, התבדיד גודל באופן רציף על מצע מזון מלאכותי ומרובה בביוֹרִיאקטור, ליצירה של מאסות תפטיר. יחידות אינפקטיביות ונבגים מוצו מהמצע, הנבגים הוכנסו לתוארית לצורך יישום שדה כנגד חדקונית במטעי תמר.

צווארי בקבוק ביישום מוצלח של מדברים מיקרוביאליים

אחד מצווארי הבקבוק ביישום מוצלח ויעיל של מדברים מיקרוביאליים נובע מהשפעת תנאי הסביבה על גורם המחלה בפרוקי רגלים. לעתים תנאי אקלים קשים יכולים לעכב את התפתחות המחלה או לגרום לאיבוד חיוניות גורם המחלה. אחת הדרכים להתגבר על מכשול זה היא הפיתוח והשימוש בפורמולציות. פורמולציות יכולות לספק מעטפת הגנה לגורם המחלה ולאפשר לו להתפתח באין מפריע גם בהינתן תנאי סביבה קשים, ובכך מושגת יעילות קטילה של המדביר המיקרוביאלי. בנוסף לכך שפורמולציה יכולה לספק מעטפת הגנה לגורם המחלה, ניתן לתכנן פורמולציות חכמות

המאפשרות שחרור איטי של גורם המחלה, כפי שפורסם על ידי ד"ר אננט פאתל (Dr. Anant Patel) וחובי (Fachhochschule Bielefeld – University of Applied Sciences). במחקר זה פותח תכשיר גרגרי המכיל נבגים של פטרייה אנטומופוטוגנית ונבגי שמר. כאשר תכשיר זה מיושם בקרקע חל תהליך שחרור של דו תחמוצת הפחמן ושחרור של נבגי הפטרייה האנטומופוטוגנית. פורמולציה זו מצד אחד מושכת את חרק המטרה אל עבר גרגרי התכשיר ומאידך חושפת אותו לגורם המחלה, הנבגים (<https://workinggrouppatel.wordpress.com/attracap>). דוגמה נוספת לחשיבה מחוץ לקופסה הודגמה לאחרונה במעבדתנו במכון להגנת הצומח במרכז וולקני, כאשר הצמדנו בין שני גורמי מחלה, נמטודה ונבגי פטרייה אנטומופוטוגניים. היות שהנמטודה נעה באופן פעיל באיתור אחר חרק פונדקאי, צימוד הנבגים מאפשר הובלה מדויקת של שני מדברים מיקרוביאליים אלה אל מזיקי המטרה. תכשיר שכזה עשוי ליצור אופן פעולה סיסטמי נגד מזיקים, כפי שהודגם כנגד חדקונית הדקל האדומה (Satheeja Santhi et al., 2015).

פטריות אנטומופוטוגניות

פטריות ממלאות בטבע תפקידים רבים ומגוונים. האדם מסווג את הפטריות למזיקות ולמועילות, אך פני הדברים מורכבים יותר ולפטריות תפקידים חשובים עליהם נמנים פירוק חומר אורגני בקרקע. בתווך קרקע זה מצויות באופן טבעי גם הפטריות האנטומופוטוגניות, תוקפות חרקים. בטבע קיימות צורות שונות של יחסים בין פטריות וחרקים. ישנם חרקים המגדלים מושבות של פטריות כמקור הזנה. ישנם כאלה השוכנים בתוך גופי פרי של פטריות. מאידך, ישנן פטריות המתפתחות על גבי גופם של חרקים מבלי לגרום למותם. אך ישנן פטריות שעשויות לקטול חרקים וכך למעשה מווסתות באופן טבעי אוכלוסיות של פרוקי רגליים. אילולא היו קיימים גורמים מווסתים לאוכלוסיות של פרוקי רגליים יש להניח כי בתי הגידול בכל כדור הארץ היו קורסים תחת הנטל של פרוקי רגליים.

פטריות אנטומופוטוגניות הן קבוצה פוליפילטית בממלכת הפטריות הכוללת כ-1,600 מינים המחולקים על פני 5 מערכות: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Microsporidia ומערכת Entomophthoromycota, שהוקמה בשנת 2012 מתוך מערכת Zygomycota. כלל המערכות הללו דומות בכך שכולן תוקפות חרקים (Araújo and Hughes, 2016). המינים הנחקרים ביותר, ואלו המשמשים בהצלחה בדיכוי אוכלוסיות מזיקים, משתייכים לסדרת ה-Hyphomycetes במערכת ה-Ascomycota ומערכת ה-Entomophthoromycota (Charnley, 2007; Roberts and Hajek, 1992). מערכת ה-Entomophthoromycota מתאפיינת בכך שפטריות אנטומופוטוגניות ממערכה זו הינן ביטורפיות אובליגטוריות (ניזונות מתאים חיים בלבד). עקב תכונה זו, ועל אף יעילותן בדיכוי אוכלוסיות מזיקים, הקושי בגידולן באופן מסחרי, עקב אופיין הביטורפי, מונע מהן לשמש כמדברים ביולוגיים מסחריים. לעומתן, פטריות אנטומופוטוגניות מסדרת ה-Hyphomycetes ניחנות במחזור חיים המי-ביטורפי, כלומר, הפטרייה קוטלת את הפונדקאי כחלק ממחזור חייה ועוברת מצורת חיים ביטורפית לספרופיטית (הניזונה על חומר אורגני מת). פטריות אנטומופוטוגניות אלו מסוגלות לגדול גם על מצעים חליפיים כמו אורז או שיבולת שועל. הקטילה המהירה יחסית של הפונדקאי, היכולת לגדול באופן מסחרי וטווח הפונדקאים הרחב הפך את הפטריות האנטומופוטוגניות מסדרת ה-Hyphomycetes למועמדות טובות לשימוש מסחרי. תכונה נוספת ההופכת פטריות אלו למדבירות ביולוגיות טובות, היא יכולתן לשרוד ולשגשג בקרקע, על ידי פירוק חומר אורגני מת, או כאנדופיטיות על צמחים. אכן, הסוגים הנפוצים ביותר בקרב המיקואינסקטיצידיים (תכשירי הדברה כנגד חרקים המבוססים על פטריות) הם הסוגים *Metarhizium*, *Beauveria* ו-*Isaria* (Araújo and Hughes, 2016; Charnley, 2007; Roberts and Hajek, 1992).

פטריות מהסוג *Metarhizium* נפוצות בכל העולם (Bischoff et al., 2009a). לפטריות בסוג זה ובסוגים קרובים, סגנונות חיים מגוונים. *Metarhizium* מסוגלת להתקיים באחת משלוש צורות: (1) כטפילה על חרקים, (2) כספרופיטית (St. Leger, 2007), או (3) באסוציאציה עם צמחים (Wang and St Leger, 2007). כל אחד ממסלולי החיים האלו דורש את התפתחותם של מסלולי ביוסינתזה ייחודיים. כדי להתחיל את המסלולים הייחודיים הללו, דרושה תחילה הכרה של הפטרייה את המצע אליו הגיעה. העדפתה הראשונית של הפטרייה היא להזנה ספרופיטית. בהתאם, נמצא כי נוכחות סוכרים מועדפים, מגבילה אינטראקציות אנדופיטיות או אנטומופוטוגניות (St. Leger et al., 1989; Barelli et al., 2011). במצבים של מחסור בנוטריינטים, *Metarhizium* יכולה לפנות למסלול אנטומופוטוגני, על ידי התבטאות של חלבון ההיצמדות MAD1, או למסלול האנדופיטי, על ידי התבטאות של חלבון ההיצמדות MAD2 (Wang and St. Leger, 2007). במסלול האנטומופוטוגני, St. Leger מצא כי כדי ליצור מבני הדבקה דרוש שילוב של גירוי פיזי, על ידי מצע קשיח ומחסור בנוטריינטים (St. Leger et al., 1989). תגובה זו להרעבת סוכרים אינה אחידה במיני ה-*Metarhizium* השונים, למשל, גזעים התוקפים פשפשאים ייצרו מבני הדבקה בריכוזי סוכר גבוהים יותר מאשר גזעים התוקפים חיפושיות (St. Leger, 2007). גורם עקיף זה מאפשר ספציפיות מסוימת של גזעי הפטרייה, בהתאמה לסביבה הכימית שיוצר החרק, כדוגמת הפרשות טל דבש בפשפשאים. גורם נוסף לספציפיות הוא זהות השומנים הנמצאים בשכבות האפיקוטיקולה והשעווה של החרק, שנמצאו כפקטורים משמעותיים לעידוד או דיכוי גדילה אנטומופוטוגנית. נוכחות סוכרים, כגון גלוקוז ומלטוז, מדכאת את הגדילה במסלול האנדופיטי, בעוד הפרשות שורש ומיצויים צמחיים מעודדים גדילה במסלול זה. נמצא כי האינטראקציה האנדופיטית בין *M. robertsii* לצמחים מעודדת גדילה של שערות שורש ואת סיעוף מערכת השורשים. גם במסלול האנדופיטי, בדומה למסלול האנטומופוטוגני, נמצאה העדפה למיני צמחים מסוימים (Barelli et al., 2011; Sasan and Bidochka, 2012).

לפטריות מהסוג *Metarhizium* גנטיקה טבעית יציבה. אי הימצאותם של גזעים מיניים באזורים הממוזגים, יחד עם אי התאמה בין גרעינים, המונעת רבייה פאראסקסואלית (תהליך רקומבינציה בין גרעינים ללא מיזוג או יצירת זיגוטה), מקלות מאוד להבדיל בין תבדידים הנמצאים באזורים קרובים (St. Leger, 2007; Bidochka et al., 2001). מה הם, אם כן, הלחצים המרכזיים, מבין אלו שתוארו מעלה, המשפיעים על האבולוציה של הפטרייה? Bidochka et al. מצאו בבדיקה של גזעי *Metarhizium* באזור אונטריו, קנדה, כי הפיזור המרחבי של גזעים באזור מושפע מיכולתם להתמודד עם תנאי הסביבה, ולא מיכולתם להטפיל חרקים (Bidochka et al., 2001). בבדיקה מאוחרת יותר, מצאו Bischoff et al. כי גזעים אלו הם למעשה המינים הנפרדים *M. brunneum* ו-*M. robertsii* (Bischoff et al., 2009b). ממצאי עבר אלו, סביר להניח כי התמודדות עם תנאי הסביבה, והיכולת לשרוד בקרקע, הינם גורמים משמעותיים, ואולי אף המרכזיים באבולוציה של הסוג *Metarhizium*.

תהליך התקדמות המחלה ב-*Metarhizium brunneum*

את תהליך התקדמות המחלה ב-*M. brunneum*, ניתן לחלק לחמישה שלבים עיקריים (איור 4):

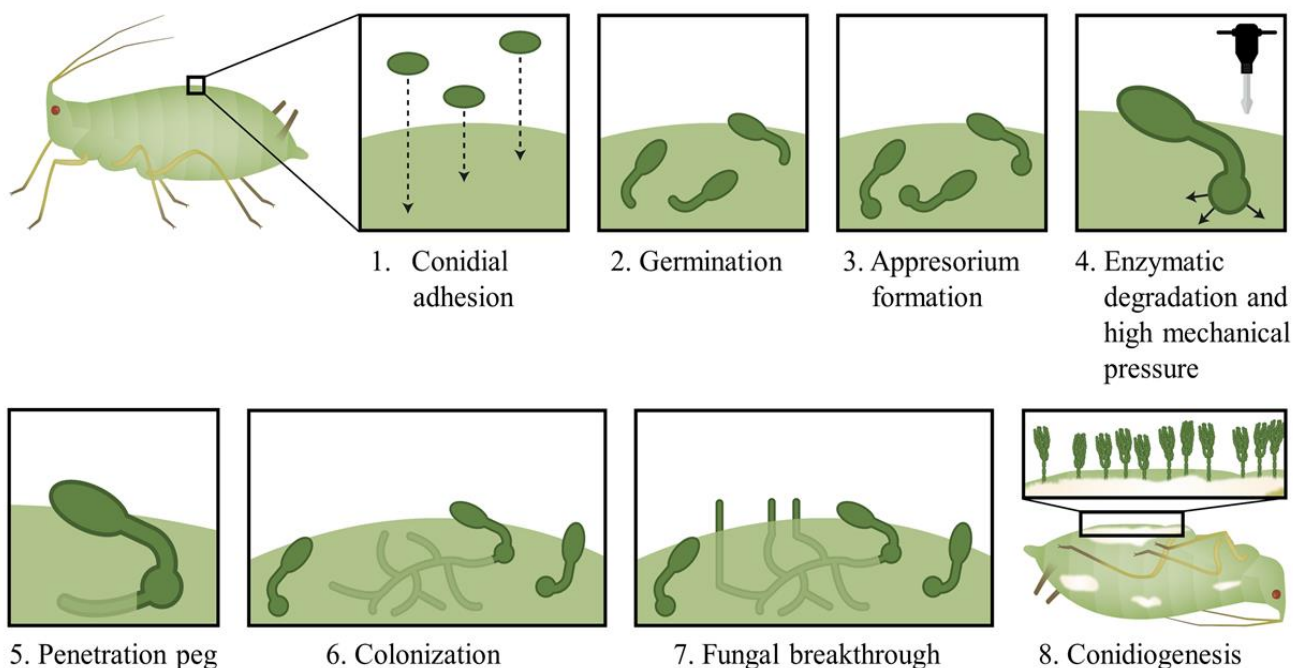
1. היצמדות: ההיצמדות בפטריות אנטומופוטוגניות מה-Hypocreales, נגרמת תחילה באופן בלתי ספציפי על ידי משפחת חלבונים הנקראים הידרופובינים. חלבונים אלו מצפים את דופן הנבג ומאפשרים היצמדות חזקה למשטחים הידרופוביים על ידי אינטראקציה פיזיקלית (Holder and Keyhani, 2005). עם התנפחות הנבג לקראת נביטה, נוצרים

חלבוני היצמדות חדשים. ב-*M. brunneum*, החלבון MAD1 אחראי להיצמדות ספציפית לקוטיקולת החרק של הנבג המתפתח ושל התפטיר בכלל. נמצא גם כי MAD1 לוקח חלק בתהליך הגדילה וחלוקת התא של הפטרייה (Wang and St. Leger, 2007).

2. נביטה ויצירת אפרסוריום: לאחר הצמדות הנבג, ובתנאי הסביבה הנכונים, הנבג ינבוט וייצר קורים אשר בקצותיהם מבנה דמויי כרית שנקרא אפרסוריום. הסיגנל לנביטה נובע משני גורמים, הראשון הוא קיום לחות מספקת לנביטת הנבג (Luz and Fargues, 1999), והשני הוא הימצאות תרכובות ספציפיות לפונדקאי על הקוטיקולה (Ment et al., 2010b).

3. חדירה: האפרסוריום שנוצר בקצה הקור, מפריש תערובת של פרוטאזות, כיטינאזות, וליפאזות המפרקות את החלבונים, הכיטין, והליפידים המרכיבים את הקוטיקולה, בהתאמה. כמו כן, נמצא כי תערובת החלבונים המופרשת על ידי הפטרייה תלויה בזהות הפונדקאי, על ידי זיהוי מרכיבים שומניים באפיקוטיקולה של הפונדקאי (Schrank and Vainstein, 2010). מבין אותם מרכיבים חלבוניים, נמצא כי הסובטיליסין Pr1A (subtlisin), הינו האנזים המרכזי הקשור ביכולת הפטרייה לחדור לחרק ולחולל מחלה (St. Leger et al., 1996).

4. אכלוס חלל הגוף: לאחר החדירה לחלל הגוף של החרק, הפטרייה מתפתחת שם באופן קורי, או על ידי גופים חד-תאיים, דמויי שמר, שנקראים בלסטוספורות. בשלב הראשון, מפרישה הפטרייה את האנזים טרהלאז, המאפשר פירוק של הסוכר טרהאלוז למונומרים וניצולם להזנת הפטרייה. התפטיר מפריש מטבוליטים משניים רבים המשמשים להחלשת מערכת החיסון, פגיעה בפונדקאי והפיכת מקורות מזון לזמינים עבור הפטרייה. הקבוצה המרכזית של אותם מטבוליטים משניים הינם הדסטרוקסינים, חלבונים רעילים לחרקים ולצמחים (Schrank and Vainstein, 2010).



איור 4. התפתחות פטריות אנטומופתוגניות מה-Hypocreales על גבי פונדקאי פרוק רגליים, מתוך Reingold et al., 2021.

5. הנבגה: כיוון שהסוג *Metarhizium* הינו הצורה האנאמורפית (אל-מינית) של הסוג *Metacordyceps* (Bischoff et al., 2009a), נתייחס בחלק זה לתהליך היצירה של נבגים אל-מיניים בלבד. לאחר קטילת הזחל והתפתחות מספקת של

הפטרייה, יתרחש תהליך ההנבגה. ההנבגה יכולה להיות חיצונית, על ידי פריצה של הקוטיקולה בנקודות שונות, בתהליך הדומה לתהליך החדירה (Schrank and Vainstein, 2010). נבגים אלו נקראים קונידיוספורות. במקרים של עקת יובש, ההנבגה תהיה פנימית ליצירה של כלמידוספורות. מטרתה של ההנבגה הפנימית היא, כנראה, יצירה של הגנה נוספת לנבג מפני תנאי סביבה עוינים (Ment et al., 2010a).

השפעת גורמי סביבה אביוטיים על התפתחות פטריות אנטומופתוגניות

גורמי סביבה אביוטיים (טמפרטורה, לחות יחסית, וקרינת UV) משפיעים רבות על ההתפתחות והפתוגניות של פטריות אנטומופתוגניות. למרות שקיימים כללי אצבע עבור השפעתו של כל גורם סביבה, למין הפטרייה, המיקום הגיאוגרפי ממנו נאסף התבדיד, ואף לעונה בה נאסף, ישנה השפעה מכרעת על תגובת התבדיד לשינוי באחד משלושת המשתנים המוזכרים. למען הסדר הטוב, נפריד את השפעתו של כל גורם סביבה.

טמפרטורה: כל חריגה מטמפרטורת האופטימום של התבדיד, לחום או לקור, גוררת עיכוב בנביטת הנבג והתפתחות התפטיר. בבדיקת תגובתם של 21 תבדידים המשתייכים לשישה מינים שונים לטמפרטורות שבין 10 ל-25 מ"צ, מצאו *Yeo et al.* (2003) כי באופן כללי עלייה בטמפרטורה בטווח זה משפרת את נביטת נבגי הפטרייה, את גדילתם במצע מזון, ואת הפתוגניות שלהם כלפי שני מינים של כנימות עלה. מחקר זה תומך בהשערה כי מינים המגיעים מאקלים טרופי או סאב-טרופי, כמו *M. anisopliae*, יתפקדו טוב יותר תחת טמפרטורות גבוהות מאשר מינים המגיעים מאזורים ממוזגים, ולהיפך. יחד עם זאת, מחקר זה, ומחקרים אחרים חשפו כי גם מינים הנחשבים טרופיים, יכולים להיות מותאמים לאקלים ממוזג במידה ובודדו מאזור ממוזג (Roberts and Campbell, 1976). גם בתגובה לחום ישנו קשר חזק בין יכולתה של הפטרייה להתמודד עם טמפרטורות גבוהות ומקורו הגיאוגרפי של התבדיד, כאשר טמפרטורות העולות על 30-36 מ"צ פוגעות באופן משמעותי גם בהתפתחות תבדידים מאזורים צחיחים וחמים, כפי שהודגם בניסויי in-vitro ובניסויי in-vivo (Ouedraogo et al., 2004; Saleem and Ibrahim, 2019).

לחות יחסית: לחות הינה פקטור משמעותי לנביטת הנבגים ולהתפתחות קורי הפטרייה, וניתן לקבוע ככלל אצבע כי דרושה לפטריות אנטומופתוגניות לחות גבוהה על מנת לנבט, לצמוח, ולפגוע בחרק (Ment et al., 2010a; Searle and Doberski, 1984). עם זאת, פקטור זה אינו משמעותי לאחר החדירה, שכן אז הפטרייה חשופה לסביבה המימית של ההמולימפה (Luz and Fargues, 1999). למרות כללי האצבע שהוצגו מעלה, ישנה השפעה לחרק המטרה, מין הפטרייה, התוארית, ואף המדיום שבו מבוצעת ההדברה על הלחות האופטימלית לפעילות הפטרייה, כך שהפטרייה עשויה להדביר את מזיק המטרה בצורה יעילה יותר תחת לחות נמוכה מאשר תחת לחות גבוהה (Athanassiou et al., 2017; Lord, 2005; Michalaki et al., 2006).

קרינת UV: קרינת UV הינה קרינה באורכי גל קצרים שמעבר לספקטרום האור הנראה, ומאופיינת באורכי גל של 400-100 ננומטר. קרינת UV מחולקת לשלוש תת-קטגוריות:

1. UVA – באורכי גל של 400-320 ננומטר, מהווה את חלק הארי של קרינת ה-UV החודרת את האטמוספירה (כ-95%). עיקר פגיעתה היא על ידי יצירת רדיקלים חופשיים מסוג ROS במים. לכן, פגיעתם מתבטאת בעיקר בפטריות פעילות מטבולית לאחר הנביטה (Braga et al., 2007).

2. UVB – באורכי גל של 320-280 ננומטר, מהווה חלק קטן מהקרינה החודרת את האטמוספירה. UVB פוגע בחומר גנטי באופן ישיר, ועל ידי כך מעכב את צמיחת הפטרייה או קוטל נבגים (Braga et al., 2002).

3. UVC – באורכי גל של 100-280 ננומטר, קרינה זו היא הפוגעת ביותר ביצורים חיים, אך היא מסוננת במלואה על ידי שכבת האוזון, ולכן אינה רלוונטית לבחינת עמידות פטריות אנטומופתוגניות לעקות UV (Alves et al., 1998). מידת הפגיעה של קרינת UV בכללותה, או הפרקציות השונות שלה, תלויה במין הפטרייה ובתבדיד, ובאה בקורלציה עם קו הרוחב ממנו בודד תבדיד הפטרייה הנבדק (Braga et al., 2007, 2002). דבר זה מחייב שני דברים מחוקר העוסק בעקות UV: הראשון הוא בחינת מידת החשיפה ל-UV הפוגעת בתבדיד הנבדק, על מנת לייצר פגיעה אמיתית. השני הוא סינון קרינת UVC, הגורמת לפגיעה חמורה בפטרייה מחד, אך מהווה מבחן לא מציאותי מאידך.

השפעת תואריות על יישום והתפתחות פטריות אנטומופתוגניות

ביישום של פטריות אנטומופתוגניות, היחידה התפקודית המיושמת, היא על פי רוב, הנבגים האל-מיניים (Conidia), אף על פי שנעשה גם שימוש בנבגים מיניים, בלסטוספורות, וחלקי תפטיר. תכשירים פטרייתיים (מיקואינסקטיצידים) יכולים להיות מיושמים בריסוס של תמיסות מים, שמן, אמולסיה, כאבקה, כחלק מפיתיון ואף על ידי אילוח מוקדם של הצמח (Charnley, 2007). בחלק זה, נתייחס ליישום של קונידיה בתואריות המיושמות בריסוס. דופן התא ההידרופובי של הקונידיה אינו מאפשר את שילובם במים טהורים ודורש חומרים משטחים או שילוב בשמן עם מחליב (אמולסיה), שיאפשרו את הכנסת הנבגים אל תוך המים (Charnley, 2007). שמנים אורגניים ומינרליים, כמו גם מסנני קרינה כימיים, יכולים להפחית או למנוע את הפגיעה הנגרמת מעקת UV. ראוי לציין כי, פרט למסנני קרינה כימיים, המנגנון דרכו שמנים מסייעים בהתמודדות הנבג עם עקות UV עדיין אינו ברור. כמו כן, Alves et al., מצאו כי גם המחליב משפיע על התמודדות הנבג עם עקת UV, כאשר שתי קבוצות נבגים של *M. anisopliae*, שנחשפו לאותו שמן אורגני יחד עם מחליבים שונים, הגיבו באופן שונה ביחס לביקורת (Alves et al., 1998; Moore et al., 1993). תואריות שמן, אם כשמן בלבד או כאמולסיה, נמצאו גם כמסייעות לנביטה ופעילות קוטלת החרקים של נבגים תחת תנאי יובש. ביישום של *M. anisopliae* var. *acidum* כנגד ארבה המדבר (*Schistocerca gregaria*) Bateman et al., מצאו כי תואריות שומנית מסייעת בירולנטיות של הנבגים תחת תנאי יובש (Bateman et al., 1993). במידה והשמן המשמש בתואריות הוא שמן מינרלי, יכולה להיות קטילה מוגברת עקב אפקט משולב בפגיעה בחרק, הן של הנבגים והן של התואריות. שמנים מינרליים משמשים כקוטלי חרקים בחקלאות עוד משלהי המאה ה-19. מחקרים רבים מצאו פגיעה של הפרקציה הפרפינית של שמנים מינרליים, דרך חסימה פיזית של הטרכיאות, פגיעה בממברנות תאים ואיברים שומניים, ודרך דחייה של הטלה ואכילה בסדרות חרקים רבות (Buteler and Stadler, 2011). בתכשירים רבים, נהוג גם לשלב פרקציה מוצקה אינרטי, כגון דיאטומיט, חרסיות ואף פחם (Charnley, 2007). נמצא כי אבקות אינרטיות שונות, משפרות את חיוניות הנבגים לאחר תקופת אחסון ממושכות, כנראה על ידי שליטה בלחות היחסית אליה הנבגים חשופים (Batta, 2004). כמו כן, נמצא כי אבקות אינרטיות אלו מסייעות בפעילות הנבגים, כנראה על ידי גירוד פיזי של קוטיקולת החרק, המאפשרת היצמדות רבה יותר של נבגים (Akbar et al., 2004).

סיכום והסתכלות עתידית

שימוש בגורמי הדברה מיקרוביאליים לניהול מזיקים יכול לספק פתרון ארוך טווח ולהוות חלופה מבטיחה וידידותית לסביבה לתכשירי הדברה כימיים. מדברים מיקרוביאליים הם מיקרואורגניזמים הניחנים בפוטנציאל גדול להדברת מזיקים, אך על מנת לאפשר יישום מוצלח ולהבטיח את ההישרדות של מדברים מיקרוביאליים בשדה יש לפתח פורמולציות חדשניות יחד עם פיתוח גישות יישומיות. אנו צופים כי המגמה העולמית של פיתוח ויישום מדברים תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 124

מיקרוביאליים תאומץ גם בישראל. השילוב של מחקר בסיסי ויישומי תוך שיתוף פעולה עם מו"פים אזוריים, חברות וחקלאים מקומיים תיצור אינטרס הדדי ושילוב של תכשירי הדברה מיקרוביאליים ויבסס מדברים מיקרוביאליים כאלטרנטיבה חדשנית וידידותית לסביבה לתכשירי הדברה קונבנציונליים. עם זאת, יש לעדכן את התקנות ומסלולי הרישוי עבור תכשירים אלה, עקב ההבדלים היסודיים בינם לבין תכשירי הדברה סינתטיים. ניתן להשיג זאת באמצעות יצירת הליך רישוי מהיר של תכשירי הדברה ידידותיים לסביבה ומתן סובסידיות לחקלאים שבחרים לשלב או להחליף חומרי הדברה סינתטיים בתכשירים ידידותיים.

הצלחתן של פטריות אנטומופאגניות בדיכוי אוכלוסיות חרקים, במערכות חקלאיות או טבעיות, תלוי בגורמים רבים: בזיהוי האינטימי שבין הפטרייה לפונדקאי, ביכולת הפטרייה לשרוד לאורך זמן במערכת האקולוגית, וביכולתה של הפטרייה להתפתח ולשגשג תחת תנאי הסביבה בנישה. ממחקרים רבים ניתן ללמוד כי השפעתה של התוארית על שרידות הנבגים לאורך זמן, ופעילותם האנטומופאגנית, מכרעת. עובדה זו מתחדדת בחשיבה על תנאי השדה בישראל, החושפים את הנבגים לתנאי קיצון של יובש וקרינה. הצלחתם של תכשירי הדברה מבוססי פטריות באקלים הישראלי תלויה, ראשית כל, בהבנתנו כיצד משפיעה התוארית על האינטראקציה בין הפטרייה לחרק. במחקר קודם, בשיתוף עם קבוצתנו, נמצא כי הפורמולציה הנחקרת במחקר זה, משפרת את יכולת הקטילה של נבגי *M. brunneum* (Yaakov et al., 2018). מחקר זה בא לבחון את מגוון ההשפעות של תוארית מסוג אמולסיה על מערכת פטרייה-פונדקאי, ולבודד את מידת השפעתה של התוארית על כל גורם במערכת.

תודות

כותבי שורות אלו רוצים להכיר בתרומתם הרבה של ד"ר גלינה גינדין, ד"ר מיכאל סמיש, פרופ' איתמר גלזר, פרופ' צבי מנדל, ד"ר אלכס פרוטסוב, מר מיכאל דוידוביץ', 'ביו-בי שדה-אליהו' ו'רימי' - עבור תמיכתם.

מקורות

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 עשבים.

<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51913>

Akbar, W., Lord, J. C., Nechols, J. R., Howard, R. W. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. Journal of Economic Entomology 97, 273–280. <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.273>

Alves, R. T., Bateman, R. P., Prior, C., Leather, S. R. 1998. Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. Crop Protection 17, 675–679. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00074-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00074-X)

Araújo, J. P. M., Hughes, D. P. 2016. Diversity of entomopathogenic fungi: Which groups conquered the insect body? Advances in Genetics 94, 1–39.

<https://doi.org/10.1016/BS.ADGEN.2016.01.001>

Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Rumbos, C. I., Kontodimas, D. C. 2017. Influence of Temperature and relative humidity on the insecticidal efficacy of *Metarhizium anisopliae*

- against Larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) on Wheat. Journal of Insect Science 17. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew107>
- Barelli, L., Padilla-Guerrero, I. E., Bidochka, M. J. 2011. Differential expression of insect and plant specific adhesin genes, Mad1 and Mad2, in *Metarhizium robertsii*. Fungal Biology 115, 1174–1185. <https://doi.org/10.1016/J.FUNBIO.2011.08.003>
- Bateman, R. P., Carey, M., Moore, D., Prior, C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. Annals of Applied Biology 122, 145–152. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04022.x>
- Batta, Y. A. 2004. Control of rice weevil (*Sitophilus oryzae* L., Coleoptera: Curculionidae) with various formulations of *Metarhizium anisopliae*. Crop Protection 23, 103–108. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2003.07.001>
- Bidochka, M. J., Kamp, A. M., Lavender, T. M., Dekoning, J., Croos, J. N. A. De 2001. Habitat association in two genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*: Uncovering cryptic species? Applied and Environmental Microbiology 67, 1335–1342. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1335-1342.2001>
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A., Humber, R. A. 2009a. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia 101, 512–530. <https://doi.org/10.3852/07-202>
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A., Humber, R. A. 2009b. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage . Mycologia 101, 512–530. <https://doi.org/10.3852/07-202>
- Braga, G. U. L., Flint, S. D., Miller, C. D., Anderson, A. J., Roberts, D. W. 2007. Both solar UVA and UVB radiation impair conidial culturability and delay germination in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Photochemistry and Photobiology 74, 734–739. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)0740734BSUAUR2.0.CO2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)0740734BSUAUR2.0.CO2)
- Braga, G. U. L., Rangel, D. E. N., Flint, S. D., Miller, C. D., Anderson, A. J., Roberts, D. W. 2002. Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogens *Verticillium lecanii* and *Aphanocladium album*. Mycologia 94, 912–920. <https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833149>
- Buteler, M., Stadler, T. 2011. 6 A Review on the mode of action and current use of petroleum distilled spray oils, in: Stoycheva, M. (Ed.), Pesticides in the Modern World. InTech, pp. 119–136.
- Charnley, A. K. 2007. Entomopathogenic fungi and their role in: Pest Control. Environmental and Microbial Relationships 159–187. https://doi.org/10.1007/978-3-540-71840-6_10
- Holder, D. J., Keyhani, N. O. 2005. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. Applied and environmental microbiology 71, 5260–6. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5260-5266.2005>
- Kalha, C. S., Singh, P. P., Kang, S. S., Hunjan, M. S., Gupta, V., Sharma, R. 2014. Entomopathogenic viruses and bacteria for insect-pest control, in: Integrated Pest

- Management: Current Concepts and Ecological Perspective. Elsevier Inc., pp. 225–244.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00013-0>
- Lord, J. C. 2005. Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favor efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bruchidae). *Biological Control* 34, 180–186.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2005.05.004>
- Luz, C., Fargues, J. 1999. Dependence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on high humidity for infection of *Rhodnius prolixus*. *Mycopathologia* 146, 33–41.
<https://doi.org/10.1023/A:1007019402490>
- Ment, D., Gindin, G., Glazer, I., Perl, S., Elad, D., Samish, M. 2010a. The effect of temperature and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in tick eggs. *Fungal Biology* 114, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.10.005>
- Ment, D., Gindin, G., Soroker, V., Glazer, I., Rot, A., Samish, M. 2010b. *Metarhizium anisopliae* conidial responses to lipids from tick cuticle and tick mammalian host surface. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, 132–139. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2009.12.010>
- Michalaki, M. P. Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Batta, Y. A., Balotis, G. N. 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Protection* 25, 418–425.
<https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2005.07.003>
- Moore, D., Bridge, P. D., Higgins, P. M., Bateman, R. P., Prior, C. 1993. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals of Applied Biology* 122, 605–616.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04061.x>
- Ouedraogo, R. M., Goettel, M. S., Brodeur, J. 2004. Behavioral thermoregulation in the migratory locust: a therapy to overcome fungal infection. *Oecologia* 138, 312–319.
<https://doi.org/10.1007/s00442-003-1431-0>
- Reingold V., Kottakota C., Birnbaum N., Goldenberg M., Lebedev G., Ghanim M., Ment D. 2021. Intraspecies variation of *Metarhizium brunneum* against the green peach aphid, *Myzus persicae*, provides insight into the complexity of disease progression. *Pest Management Science*, in press.
- Roberts, D., Campbell, A. 1976. Stability of Entomopathogenic Fungi. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer.* 10 : 19-76.
- Roberts, D. W., Hajek, A. E. 1992. Entomopathogenic fungi as biopesticides, in: Leatham, G.F. (Ed.), *Frontiers in Industrial Mycology*. Routledge, Chapman & Hall Inc., pp. 144–159.

- Saleem, A.-R., Ibrahim, R. A. 2019. Assessment of the virulence and proteolytic activity of three native entomopathogenic fungi against the larvae of *Oryctes agamemnon* (Burmeister) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 29, 21. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0120-1>
- Sasan, R. K., Bidochka, M. J. 2012. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *American Journal of Botany* 99, 101–107. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100136>
- Satheer Santhi, V., Salame, L., Nakache, Y., Koltai, H., Soroker, V., Glazer, I. 2015. Attraction of entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* to the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*). *Biological Control* 83, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.01.003>
- Schrank, A., Vainstein, M. H. 2010. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56, 1267–1274. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2010.03.008>
- Searle, T., Doberski, J. 1984. An investigation of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. as a potential biological control agent for *Oryzaephilus surinamensis* (L.). *Journal of Stored Products Research* 20, 17–23. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(84\)90031-6](https://doi.org/10.1016/0022-474X(84)90031-6)
- St Leger, R., Joshi, L., Bidochka, M. J., Roberts, D. W. 1996. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 6349–54. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.13.6349>
- St. leger, R. J. 2007. *Metarhizium anisopliae* as a model for studying bioinsecticidal host pathogen interactions, in: Vurro, M., Gressel, J. (Eds.), *Novel Biothechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. Springer, pp. 179–204.
- St.Leger, R. J., Butt, T. M., Goettel, M. S., Staples, R. C., Roberts, D. W. 1989. Production in vitro of appressoria by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Experimental Mycology* 13, 274–288. [https://doi.org/10.1016/0147-5975\(89\)90049-2](https://doi.org/10.1016/0147-5975(89)90049-2)
- Van Lenteren J. C., Bolckmans K., Köhl J., Ravensberg W. J., Urbaneja A. (2018): Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39-59.
- Wang, C., St Leger, R. J. 2007. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. *Eukaryotic cell* 6, 808–16. <https://doi.org/10.1128/EC.00409-06>
- Yaakov, N., Ananth Mani, K., Felfbaum, R., Lahat, M., Da Costa, N., Belausov, E., Ment, D., Mechrez, G. 2018. Single cell encapsulation via pickering emulsion for biopesticide Applications. *ACS Omega* 3, 14294–14301. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02225>
- Yeo, H., Pell, J. K., Alderson, P. G., Clark, S. J., Pye, B. J. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their

pathogenicity to two aphid species. *Pest Management Science* 59, 156–165.
<https://doi.org/10.1002/ps.622>

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 9: תנועת נגיפים מתא לתא בצמח

זיו שפיגלמן וחגית האק

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

נגיפים (וירוסים) צמחיים הינם ממחוללי המחלה החקלאיים החשובים הגורמים לנזקים קשים במגוון רחב של גידולים. אחת התכונות המשותפות לכלל נגיפי הצמחים היא יכולתם לנוע בצמח. לשם כך, הם מקודדים לחלבוני תנועה (movement proteins) המאפשרים לנגיף לנוע מתא לתא ולהתפשט בצמח השלם. נגיפים מסוגים שונים מקודדים למגוון רחב של חלבוני תנועה הפועלים באסטרטגיות תנועה שונות. חלבוני התנועה מנצלים את המערכת התאית של הפונדקאי על מנת להעביר את הנגיף מתא לתא. לשם כך, הם נקשרים למגוון אלמנטים בתא המודבק הכוללים חלבונים ספציפיים של הפונדקאי, השלד התוך תאי ודרך תעלות המקשרות בין הציטופלסמות של התאים (Plasmodesmata). במקרים מסוימים, מערכות ההגנה של הצמח מסוגלות לזהות את חלבוני התנועה ולהקנות עמידות כנגד הנגיף בתגובה לחלבונים אלו. לפיכך, חלבוני תנועה הינם גורם חשוב במהלך המחלה ובתגובת הצמח לנגיף.

אופן הציטוט: שפיגלמן ז' והאק ח' (2021) **תנועת נגיפים מתא לתא בצמח**. פרק 9, ע' 130-142 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51977>

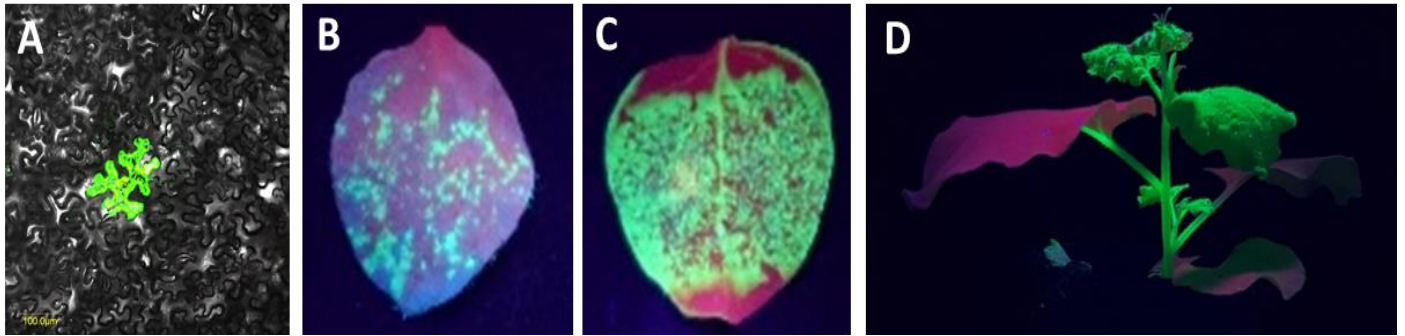


מבוא

מחלה נגיפית (ויראלית) של הצמח מתאפשרת באמצעות מספר מנגנונים מקבילים הכוללים בין היתר את שכפול הנגיף ונטרול מנגנוני הגנה צמחיים. אחד החשובים שבמנגנונים אלו הוא יכולת התנועה וההתפשטות של הנגיף בצמח. תנועת הנגיף מאפשרת לו להגיע לתאים חדשים ורקמות חדשות ולהפיץ את עצמו בצורה יעילה. ניתן לחלק תנועה ויראלית לשני שלבים עיקריים (Lucas et al., 2006). השלב הראשון הוא תנועה מתא לתא (איור 1A-C).

תנועה זו מתבצעת דרך תעלות המקשרות בין הציטופלסמות של התאים (Plasmodesmata (PD)), קשרים המחברים בין שני תאים סמוכים ויוצרים ביניהם המשכיות בתנועת הנוזל התוך תאי, הציטופלסמה. בתוך תעלות ה-PD מעוגנת הרשתית האנדופלסמית (Endoplasmic reticulum, ER) אשר היוצרת גם היא רצף בין שני התאים המקושרים (איור 2A). בצמחים בריאים, PD מאפשרים מעבר של מגוון מולקולות צמחיות הכוללות מטבוליטים, פפטידים, הורמונים, חלבונים ו-RNA. בזמן הדבקה נגיפית, חלבוני תנועה (movement proteins) של הנגיף מנצלים את ה-PD ומשנים את תכונותיה על מנת לאפשר תנועה בין-תאית. השלב השני הינו תנועה סיסטמית של הנגיף (איור 1D). שלב זה מתבצע לאחר שהנגיף נע מתא לתא והגיע לרקמות ההובלה של הצמח הכוללות את העצה (מערכת הולכת המים והמינרלים של הצמח) והשיפה (מערכת הולכת המוטמעים). בשלב זה, נגיפים חודרים למערכת השיפה **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **130**

ונעים בצינורות הכברה עם כיוון זרימת הולכת המוטמעים, מאברי מקור המייצרים סוכרים (בעיקר עלים בוגרים), לאברי מבלע הצרכים סוכרים (שורשים, קודקודי צמיחה, עלים צעירים פרחים ופירות).



איור 1. תנועה של Tobacco mosaic virus (רקומביננטי) המבטא את החלבון הפלואורסנטי GFP בצמח השלם. (A) בשלב הראשון ההדבקה מתרחשת בתאים בודדים. (B) בהמשך, הנגיף נע אל תאים סמוכים דרך תעלות ה-PD עד שהוא מגיע אל צרורות ההובלה (C). (D) הנגיף מתפשט דרך מערכת השיפה אל אברי המבלע של הצמח: עלים צעירים, קודקודים, שורשים, פרחים ופירות.

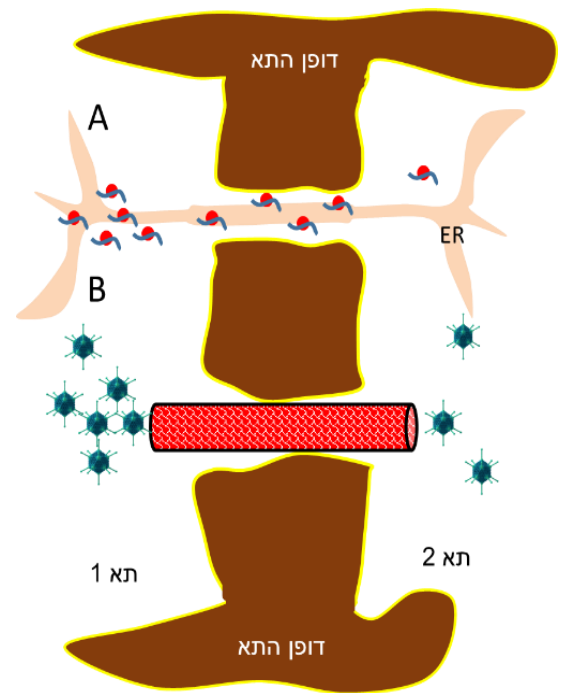
פרק זה עוסק במנגנונים המולקולריים והפיזיולוגיים המאפשרים תנועה ויראלית בצמח. רובו של הפרק עוסק בחלבון התנועה של נגיף המוזאיקה של הטבק Tobacco mosaic virus (TMV) השייך לסוג של הטובמווירוסים *Tobamovirus*. זאת משני טעמים: האחד הוא כי זהו המנגנון הנחקר ביותר לתנועה של נגיפים בצמח וקיים מודל מפורט ומבוסס על אופן פעולתו. השני הוא כי שניים מהנגיפים המזיקים ביותר לגידולי הירקות, Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) ו-Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) הינם מאותו סוג, *Tobamovirus*, ולהם ככל הנראה מנגנון תנועה דומה.

ראשית, נכיר מגוון חלבוני התנועה המאפשרים את מעברם של נגיפים שונים מתא לתא. לאחר מכן, נעסוק במנגנונים באמצעותם חלבוני תנועה ויראליים פועלים, כשההתמקדות תהיה באינטראקציה של חלבוני תנועה עם רכיבים תוך-תאיים וחלבונים של הצמח הפונדקאי. לבסוף, פרק זה יעסוק באינטראקציה של חלבון התנועה עם מערכת החיסון הצמחית.

אסטרטגיות תנועה מתא לתא של נגיפים צמחיים

התנועה של מולקולות אנדוגניות דרך PD הינה מבוקרת וספציפית. לפיכך, על חלבוני התנועה הנגיפיים בראש ובראשונה לשנות את הפעולה של תעלות אלו על מנת לאפשר מעבר חופשי של הנגיף. ניתן לחלק את תנועת הנגיפים לשני סוגים עיקריים: 1. **תנועה שלא בעזרת צינורית** (איור 2A): חלבוני תנועה נקשרים לחומצת הגרעין הנגיפי, ללא חלבון המעטפת, ולמעשה מעבירים אותה דרך PD. באופן תנועה זה, אין שינויים גדולים במבנה ה-PD אך תכונותיהן משתנות כך שהן יכולות להעביר מולקולות גדולות יותר. דוגמאות לסוגי נגיפים הנעים בצורה זו הן *Tobamoviruses* ו-*Tombusviruses* (Niehl and Heinlein, 2011). 2. **תנועה בעזרת צינורית** (איור 2B): חלבוני התנועה מתפלמרים ליצירת צינורית אשר חודרת דרך ה-PD, מרחיבה אותה ומגדילה את היכולת שלה להוליך מולקולות גדולות. אסטרטגיה זו מאפשרת מעבר ויריונים שלמים מתא לתא. נגיפים הפועלים באסטרטגיה זו עשויים להיות נגיפי RNA חד גדילי (כמו למשל הסוג *Bromovirus*, Van Lent et al., 1991), RNA דו גדילי (כמו *Tospovirus*, Storms

PD-ה, (et al., 1995) ו-DNA דו גדילי (כמו הסוג *Caulimovirus*, Perbal et al., 1993). יש לציין כי במנגנון זה, מרוקנת מהמרכיבים אותם היא מכילה, שתפקידם לבקר תנועה בין תאית ולמעשה הופכת לצינורית.



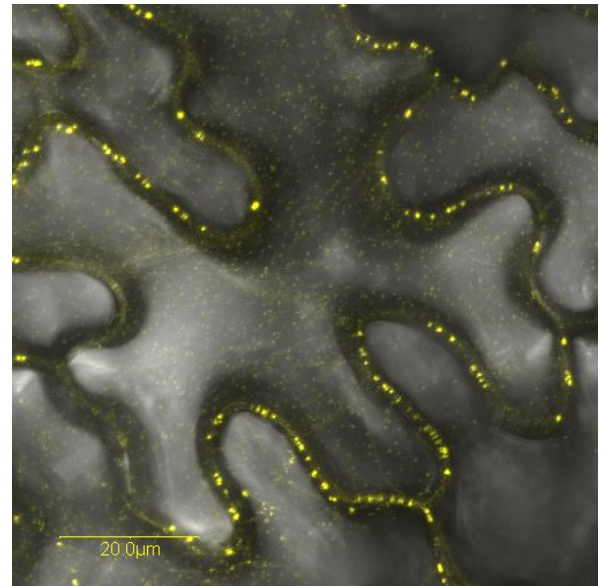
איור 2. שתי אסטרטגיות תנועה מתא לתא של נגיפים בצמח. (A) תנועה שלא בעזרת צינורית. הגנום הנגיפי נקשר לחלבוני תנועה המעבירים אותו מתא לתא. (B) תנועה בעזרת צינורית. צינוריות מרחיבות את מפתח ה-PD ומאפשרות מעבר של ויריונים שלמים.

חלבון התנועה של TMV – המודל הראשון לתנועת נגיפים מתא לתא

מחקרים אנטומיים פורצי דרך בנגיף TMV (סוג: *Tobamovirus*) מאמצע המאה הקודמת גילו כי חלקיקים נגיפיים מרוכזים ב-PD ובחוליות כברה של מערכת השיפה (Esau et al., 1968), ממצא שחיזק את ההשערה כי נגיפים לא נעים בצמח באופן דיפוזי, וכי קיימים מנגנונים מבוקרים המאפשרים את תנועתם. מאוחר יותר, הוכח כי התנועה והשכפול של TMV מבוקרים על ידי שני מנגנונים בלתי-תלויים (Nishiguchi et al., 1978). עבודה זו בוצעה באמצעות מוטנטים רגישי-טמפרטורה של TMV, בהם המחלה נעצרת כאשר הצמח נחשף לטמפרטורות גבוהות (32 מ"צ). בטמפרטורות אלו, נראה כי אין פגיעה בשכפול הנגיף בתא המודבק, אולם תנועתו מתא לתא מפסיקה. מאוחר יותר, התגלה כי המוטציה הגורמת לרגישות זו ממוקמת בחלבון הנגיפי במשקל 30 kiloDalton (30K) (Leonard and Zaitlin, 1982). מחקר נוסף גילה כי חלבון ה-30K אכן חיוני לתנועת הנגיף מתא לתא (Meshi et al., 1987). לפיכך חלבון זה קיבל את השם "חלבון התנועה" (Movement protein).

השלב הבא היה אפיון המנגנון באמצעותו חלבון התנועה מאפשר את מעבר הנגיף מתא לתא. Tomenius et al. (1987) גילו כי חלבון התנועה ממוקם ב-PD (איור 3), ממצא שהעלה את ההשערה כי חלבון התנועה משנה את תפקוד ה-PD על מנת לאפשר העברה של נגיפים. אכן, במחקר פורץ דרך, Wolf et al. (1989) מצאו כי חלבון התנועה מסוגל לשנות את תכונות ה-PD ומאפשרת למולקולות גדולות יותר לעבור דרכה. מאוחר יותר התגלה כי חלבון התנועה הוא בעל יכולת לקשור RNA חד-גדילי (Citovsky et al., 1990; Citovsky et al., 1992). מחקרים אלו סללו את הדרך למודל בו חלבון התנועה נקשר ל-RNA הנגיפי ומעביר אותו מתא לתא דרך PD. מחקרים נוספים אפיינו את האזורים בחלבון התנועה המאפשרים את שלוש הפונקציות הללו. חלבון התנועה מורכב מ-268 ח'אמינו. נמצא כי 55 חומצות אמינו בקצה ה-C טרמינלי של החלבון אינן חיוניות לתפקידו, אך ח'אמינו 195-213 חיוניות למיקומו ב-PD (Berna et al., 1991). עוד נמצא כי ח'אמינו במיקום 3-5 חיוניות לתפקוד החלבון (Lapidot et al., 1993). בנוסף,

נמצא כי החלק המרכזי של החלבון (ח' אמינו 126-224) חיוני לתפקידו בשינוי תכונות ה-PD (Waigmann et al., 1994). לאחרונה נמצא כי ח' האמינו 1-50 יכולות לשמש כסיגנל להגעה ל-PD ושאיחוי של מקטע זה לחלבונים אחרים יכול להוביל אותם ל-PD (Yuan et al., 2016). סדרת מחקרים חלוציים אלו היוותה תשתית ומודל ראשוני לחקר התנועה הנגיפית בצמח.



איור 3. ביטוי חלבון התנועה של TMV המאוחה לחלבון הפלואורסנטי YFP בתאי אפידרמיס של *Nicotiana benthamiana*. הנקודות בקצוות התאים הינן PD המקשרות בין תא לתא.

חלבוני תנועה אחרים

המחקר בחלבון התנועה של TMV פרץ דרך לסדרה של מחקרים המאפיינים את חלבוני התנועה של נגיפים שונים. נתמקד במספר סוגי נגיפים אשר להם מנגנוני תנועה שונים מזה של TMV.

חלבון התנועה 3a: מופיע בנגיפים מהסוגים *Bromovirus* ו-*Cucumovirus* הכוללים את Brome mosaic virus (BMV), המדביק בעיקר צמחים חד-פסיגיים ו-Cucumber mosaic virus (CMV) המדביק בעיקר צמחים דו-פסיגיים. נגיפים אלו נעים תנועה מבוססת צינורית כמתואר לעיל. בחלק ממיני הנגיפים, כמו CCMV, 3a מתפקד לבד בתנועה מתא לתא (Rao, 1997), אך ב-BMV, התנועה מתבצעת באמצעות פעולה משותפת של חלבון התנועה וחלבון המעטפת (Schmitz and Rao, 1996). עבור CMV התמונה מורכבת יותר, חלבון ה-3a יכול להספיק לצורך תנועת הנגיף מתא לתא, אולם בפועל, דרושה נוכחותו של חלבון המעטפת בכדי שהובלה זו תהיה יעילה (Ding et al., 1995; Kaplan et al., 1998). מוטציות ספציפיות ב-3a יכולות לגרום לקשירה חזקה יותר של ה-RNA הנגיפי ולתנועה המסתמכת על 3a ללא תלות ביצירה של ויריון שלם (Kaplan et al., 1998; Andreev et al., 2004). לפיכך נראה כי התנועה מתא לתא של CMV הוא תהליך מורכב ודינמי שלעתים מסתמך על חלבון המעטפת, אשר ככל הנראה מחזק את האפיניות בין חלבון התנועה ל-RNA הנגיפי.

חלבוני תנועה מסוג Triple gene block (TGB): מופיעים בסוגים שונים של נגיפים אך ניתן לחלקם שתי קבוצות עיקריות: אלו מהסוג של *Potex* ואלו מהסוג של Hordei-like המכילים נגיפים מהסוגים *Benyvirus*, *Hordeivirus*, *Pomovirus*, *Pecluvirus*. מדובר בשלושה חלבונים: TGBp1, TGBp2 ו-TGBp3 אשר פעולתם המשותפת חיונית לתנועה מתא לתא. ל-TGBp1 יכולת לקשור RNA (Donald et al., 1997) והוא בעל פעילות של helicase (Kalinina et al., 2002). החלבונים TGBp2 ו-TGBp3 הם חלבונים ממברנליים אשר נקשרים

ל-TGBp1 ומאפשרים לו להעביר את ה-RNA הנגיפי מתא לתא דרך PD (Lim et al., 2008). ב-potexvirus, כגון Potato virus X (PVX), נדרש גם חלבון המעטפת על מנת לאפשר תנועה מתא לתא (Lough, 2000).

חלבון התנועה BC1: מקודד ע"י נגיפי DNA חד-גדילי דו-חלקי מהסוג *Begomovirus*. חלבון זה נקשר סלקטיבית ל-DNA ולא ל-RNA באורך ובתצורה שמתאימים לשלב הרפליקציה של הנגיף (DNA דו-גדילי, אורך של 2-3 Kb). בנוסף יש לציין כי כיוון שמדובר בנגיף DNA, לאחר התנועה מתא לתא על הנגיף להיכנס לגרעין התא. לשם כך קיים חלבון נוסף בשם BV1 המשמש כ nuclear shuttling protein המכניס את גנום הנגיף לגרעין. ככל הנראה, שילוב החלבונים הנ"ל הינו חיוני לתנועת הנגיף מתא לתא (Gilbertson et al., 2003). חשוב לציין כי נגיפי *Begomovirus* חד חלקיים, כמו Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), מקודדים לחלבון C4 שכלל הנראה משמש כחלבון התנועה (Hak et al., 2015).

נגיפים ללא חלבוני תנועה ייחודיים: הסוג Potyvirus הינו בעל מספר מיני הנגיפים הרב ביותר מבין נגיפי הצמחים. באופן מפתיע, נגיפים אילו אינם מקודדים לחלבון תנועה ייעודי, אך ככל הנראה מפצים על כך בפעילותם המשותפת של חלבונים אחרים. חלבוני Potyvirus החיוניים לתנועה הינם חלבון המעטפת (Dolja et al., 1994; Dolja et al., 1995), חלבון ה- CI (Carrington et al., 1998) ו-P3N-PIPO (Wei et al., 2010; Wen and P3N-PIPO). כל החלבונים הנ"ל ממוקמים ב-PD ומוטציות בכל אחד מהחלבונים מונעת תנועה מתא לתא של הנגיף. לאחרונה נמצא שלחלבון P3N-PIPO יש יכולת תנועה מתא לתא ללא תלות בחלבוני הנגיף האחרים, וכי יכולת זו תלויה בחלבון PCaP1 של הצמח הפונדקאי (Vijayapalani et al., 2012). ראוי לציין כי קיימות עדויות כי לחלבון ה-HC-Pro תפקיד בוויסות התנועה ארוכת הטווח של הנגיף (Sáenz et al., 2002).

המנגנון התאי המאפשר תנועת נגיפים מתא לתא

חלבוני התנועה מאפשרים את מעבר הנגיף מתא לתא בעזרת אינטראקציה עם גורמים ספציפיים בתוך התא. ניתן לומר שחלבוני התנועה "משתלטים" על התא ורותמים מגוון רכיבים תאיים למשימה זו. בחלק זה, נתמקד במנגנון התאי המבקר את תנועת ה-TMV. מנגנון זה נחקר בצורה מעמיקה וכיום קיים מודל מפורט של תנועת TMV על שלביה השונים. בפרק זה נפרט את המנגנון התאי המבקר את התנועה וכיצד רכיבים מבניים שונים בתוך התא מווסתים תנועה זו.

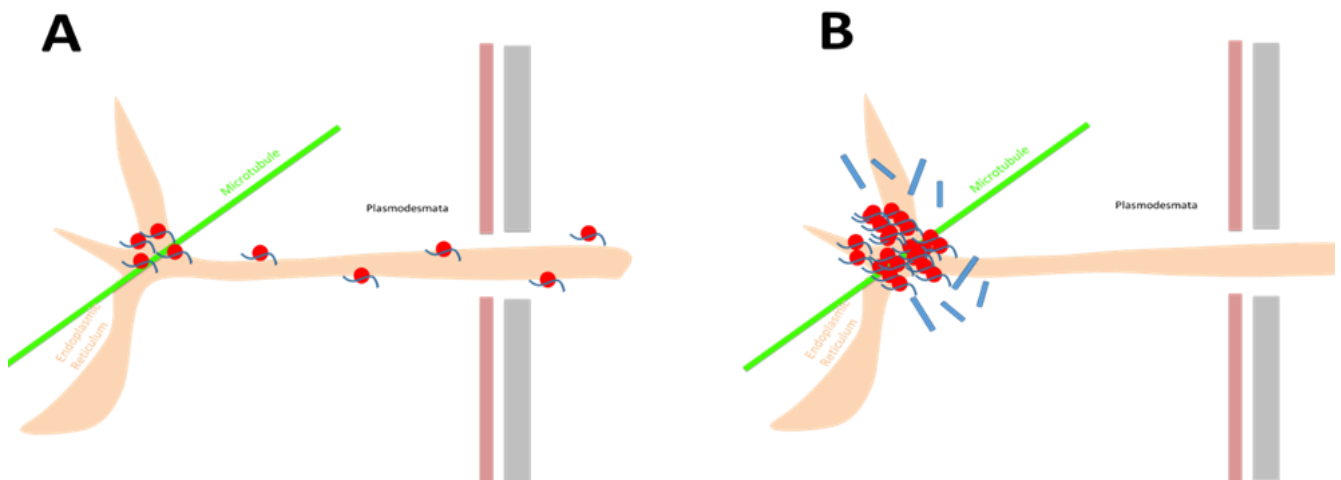
לאחר החדירה לתא, הנגיף יוצר גופיפים ממברנלים המשמשים לשכפולו (Viral Replication Complexes; VRCs) אך גם חיוניים לתנועה. גופיפים אלו כוללים את חלבוני התנועה, הגנום הנגיפי והרפליקאז הנגיפי. הם ממוקמים על הרשתית האנדופלסמית (Endoplasmic Reticulum, ER) ויכולים לנוע עליה או להיות נייחים (Heinlein, 2015). ה-VRCs הניידים מגיעים ל-PD לצורך תנועה וקיימות עדויות לכך ש-VRC שלמים יכולים לעבור מתא לתא (Kawakami et al., 2004). מצד שני, ייתכן ומדובר בתנועה דיפוזית דרך ה-ER שעובר בפלסמודסמה (Guenoune-Gelbart et al., 2008). ניתן לחלק את "חיי" ה-VRCs בתא לשלושה שלבים (ע"פ Heinlein, 2015):

1. **Early VRC (איור 4A):** גופיפים קטנים, נייחים בתוך התא, יכולים להגיע ל-PD ולעבור מתא לתא. תנועת הגופיפים האלה היא על רשת האקטין/רשתית אנדופלסמית והם נעצרים מדי פעם על צמתים של הרשתית האנדופלסמית עם מיקרוטובולי.

2. **Late VRC (איור 4B):** גופיפי הסגר גדולים, לא נייחים, המהווים למעשה "מפעלים ויראליים" המייצרים את ויריונים שלמים. נוצרים בעיקר לאחר שהנגיף כבר התפשט מהתא ונע לתאים הסמוכים. גופים אלו מעוגנים על צמתים בין רשת ה-ER למיקרוטובולי ומייצרים כמויות גדולות של הנגיף השלם.

3. שלב הפירוק: גופי ה-VRC מפורקים ע"י מערכת פירוק החלבונים בתא והתא חוזר לתפקוד תקין.

מחקרים רבים אפיינו את תפקיד השלד התוך תאי, הבנוי מאקטין ומיקרוטובולי, בתנועה של הנגיף. כיום, רוב המידע מצביע על כך שלאקטין יש תפקיד מכריע בתנועה של הנגיף. לעומת זאת, תפקיד המיקרוטובולי עודו לוט בערפל. פירוק אקטין באמצעות כימיקלים חוסם את התנועה מתא לתא של TMV אך לעומת זאת לפירוק כימי של מיקרוטובולי אין השפעה על התנועה (Kawakami et al., 2004). מיוזינים הם חלבונים מנוע (motor proteins) המאפשרים תנועה של אברונים וגופיפים לאורך סיבי האקטין. לאחרונה, Amari et al. (2014) הראו כי חלבוני מיוזין חיוניים לתנועה של TMV ולהכוונה של חלבון התנועה ל-PD. נראה שבעוד שלחלבוני המיוזין XI-2 ו-XI-K השפעה כללית על היווצרות ה-VRC והדינמיקה שלהם בתוך התא, לחלבוני מיוזין מקבוצת VIII תפקיד ישיר בתנועת הנגיף ל-PD ומשם לתא הסמוך.



איור 4. שלבי ההדבקה הנגיפית בתאים. (A) Early VRC: גופיפים ממברנליים קטנים נוצרים בצמתים שבין המיקרוטובולי ל-ER. גופים אלו הינם ניידים בתוך התא, יכולים להגיע ל-PD ולעבור לתא הסמוך. (B) Late VRC, נקראים גם Viral factories, גופיפים גדולים המעוגנים על צמתי ER ומיקרוטובולי ומשמשים לייצור ויריונים שלמים. גופיפים אלו אינם ניידים ולא נעים מתא לתא.

לגבי תפקידם של מיקרוטובולי, התמונה היא יותר מורכבת. קישור של חלבון התנועה של TMV עם מיקרוטובולי נצפתה עוד לפני למעלה מ-20 שנה (Heinlein et al., 1995; Heinlein et al., 1998), אולם עד היום לא ברור תפקידם בתנועה של הנגיף. למוטנטים של חלבון התנועה של TMV אשר לא נקשרים למיקרוטובולי הייתה דווקא תנועה מוגברת מתא לתא (Gillespie et al., 2002). כיום, ידוע שגופי ה-VRC, הכוללים את חלבוני התנועה, ממוקמים בצמתים בין המיקרוטובולי ל-ER. נקודות אלו משמשות לעגינה של מגוון אברונים תוך תאיים (Hamada et al., 2012) ומשמשות לעצירה של אברונים שהינם ניידים בתא. ייתכן שנקודות אלו משמשות לאינטראקציה בין רכיבי הנגיף השונים או בין הנגיף לבין חלבונים צמחיים הקשורים לתנועה. עוד ייתכן שהגופיפים הקשורים למיקרוטובולי משמשים מאגר של גופיפי תנועה המשוחררים בצורה מבוקרת לצורך תנועה מתא לתא. בכך, מיקרוטובולי מעכב את תנועת הנגיף, אך מדובר בעיכוב מבוקר המשמר "רזרבות" של נגיפים ניידים בתוך התא.

חלבונים צמחיים המעורבים בתנועת הנגיף מתא לתא

כפי שהוזכר לעיל, חלבוני התנועה הנגיפיים משמשים לתנועה מתא לתא בעזרת אינטראקציה עם חלבונים ספציפיים של הפונדקאי. אינטראקציות אלו מאפשרות לנגיף לרתום תהליכים תאיים על מנת לאפשר את מעבר הנגיף מתא לתא. במהלך 20 השנים אחרונות, נמצאו מספר חלבונים אליהם נקשר חלבון התנועה של TMV והמאפשרים את תפקודו. נפרט כמה מהם:

Pectin methylesterase (Chen et al., 2000): חלבון הממוקם בדופן התא, ונקשר לחלבון התנועה של TMV כמו גם לחלבוני תנועה של מספר נגיפים אחרים. היעדר קישור לחלבון התנועה גורם להפסקה של התנועה מתא לתא. בהתאם, השתקה של הגן המקודד ל- Pectin methylesterase גורמת לעיכוב בתנועה הסיסטמית של הנגיף (Chen and Citovsky, 2003).

MPB2C (Kragler et al., 2003): חלבון הנקשר ישירות לחלבון התנועה של TMV ולמיקרוטובולי. ביטוי ביתר של MPB2C מעכב את תנועתו של חלבון התנועה מתא לתא ומגביר את יכולת הקישור שלו למיקרוטובולי. השתקת MPB2C אינה משפיעה על תנועת הנגיף אך מפסיקה את הקישור שלו למיקרוטובולי (Curin et al., 2007). נתונים אלו מחזקים את ההשערה שקישור חלבון התנועה למיקרוטובולי מעכב את תנועת הנגיף ונראה כי MPB2C משמש כגורם מתווך בקישור זה.

Calreticulin (Chen et al., 2005): חלבון ממשפחה של חלבונים מסיסים קושרי סידן. נקשר לחלבון התנועה ומעכב את תנועתו לתא בכך שמונע את מיקומו ל-PD וגורם לו להקשר למיקרוטובולי, בדומה ל-MPB2C.

Ankyrin repeat-containing protein (ANK) (Ueki et al., 2010): חלבון אשר נקשר ישירות לחלבון התנועה של TMV ב-PD ומאפשר את תנועתו. לפיכך, תנועה ויראלית מוגברת בביטוי ביתר של ANK ומופחתת כאשר ANK מושתק. ANK מאפשר את התנועה מתא לתא ע"י פירוק של קאלוז, פוליסקריד המצוי ב-PD וחוסם אותה.

Synaptotagmin A (SYTA) (Lewis and Lazarowitz, 2010): נקשר לחלבון התנועה של TMV ו-begomovirus ומאפשר את תנועתם. השתקה או מוטציה ב SYTA גורמת לעיכוב בתנועה מתא לתא של הנגיף. SYTA ממוקם בצמתים שבין קרום התא ל-ER (Levy et al., 2015). בעת הדבקה ויראלית, האינטראקציה בין חלבון התנועה ל-SYTA גורמת לצמתים האלו לשנות את מיקומם ולהגיע ל-PD. מנגנון זה דרוש לתנועת הנגיף מתא לתא. לאחרונה התגלה ש-SYTA נקשר בחלבון התנועה לאותו רצף ח. אמינו אשר נמצא כחיוני להגעה ל-PD (Yuan et al., 2018). לפיכך, נראה ש SYTA הוא גורם חשוב בתנועה מתא לתא של הנגיף.

כיוון שהחלבונים המתוארים לעיל דרושים לתנועה של הנגיף, קיים בסיס להניח שפגיעה בהם באמצעות מוטציה תהיה אסטרטגיה מועילה לפיתוח עמידות לנגיפים. אחת הבעיות בגישה זו היא כי לרוב מדובר בחלבונים אשר להם גם תפקיד בהתפתחות התקינה של הצמח ופגיעה בהם ככל הנראה תפגע גם בצימוח וביבול.

אינטראקציה בין חלבוני תנועה ומנגנון העמידות של הצמח

כיום, האמצעי היעיל ביותר להקניית עמידות לנגיפים מבוסס על גנים דומיננטיים להגנה (R genes). רוב הגנים האלו מקודדים לרצפטורים מסוג nucleotide binding leucine rich repeat (NLR) (DeYoung and Innes, 2006). NLRs מזהים מולקולות ספציפיות או חלבונים של מחולל המחלה ע"י קשירתן בצורה ישירה או עקיפה (Padmanabhan and Dinesh-Kumar, 2014). קשירה זו מפעילה תגובת עמידות אשר מבודדת את מחולל המחלה, בד"כ ע"י הרג של הרקמה בתהליך המכונה Hypersensitive response (HR).

בעגבנייה, עמידות כנגד tobamovirus הושגה בעזרת הגן *Tm-2* והאלל שלו *Tm-2²* שמקורם בהכלאה עם מין הבר *Solanum peruvianum*. שני האללים מפעילים תגובת עמידות בצמח ע"י זיהוי של חלבון התנועה של הנגיף. בשנים האחרונות הופיעו גזעים עמידים של Tomato mosaic virus (ToMV) ששוברים את *Tm-2*. לפיכך, *Tm-2²* נותרה העמידות היחידה כנגד Tobamovirus בעגבנייה (Strasser and Pfitzner, 2007). *Tm-2²* מקודד לNLR אשר נקשר לחלבון התנועה הנגיפי. קשירה זו מתבצעת על קרום התא (Chen et al., 2017). קיים מידע סותר על האופן בו חלבון התנועה מזוהה ע"י *Tm-2²*. בתחילה, נמצא כי 30 ח' האמינו בקצה ה-C טרמינלי של חלבון התנועה חיוניים להפעלת *Tm-2²* (Weber et al., 1993; Weber and Pfitzner, 1998). אולם מחקרים מאוחרים יותר הראו כי מחיקה של הקצה ה-C טרמינלי עדיין מאפשרת את זיהוי חלבון התנועה ע"י *Tm-2²* (Weber et al., 2004; Chen et al., 2017).

לאחרונה הופיע tobamovirus חדש בשם ToBRFV, אשר מסוגל להתחמק מכל העמידויות הידועות בעגבנייה, כולל *Tm-2* ו *Tm-2²* (Luria et al., 2017). כיום, ToBRFV הינה המחלה הנפוצה ביותר בגידולי העגבנייה בארץ, ופוגעת קשות בכמותם ואיכותם של היבולים. העדר העמידות הגנטית כנגד ToBRFV גרם למחלה זו להפוך לאיום משמעותי על גידול העגבניות בעולם, ודיווחים חדשים מרחבי העולם מעידים כי מדובר במגיפה עולמית של ממש (Menzel et al., 2019; Cambrón-Crisantos et al., 2018; Yan et al., 2019; Ling et al., 2019). ביואינפורמטיות עולה כי שבירת העמידות נובעת ככל הנראה משינויים ברצף חלבון התנועה (Maayan et al., 2018). לפיכך, פענוח מנגנון האינטראקציה בין *Tm-2²* לחלבון התנועה יוכל לעזור להבין מהו הגורם להתחמקות מהעמידות וכיצד ניתן לשנות את אותו מנגנון בכדי ליצור עמידות חדשה ומקיפה יותר.

סיכום

תנועת נגיפים בצמח הינה מנגנון מורכב, הכולל מספר רב של אלמנטים הן מצד הנגיף והן מצד הצמח הפונדקאי. מנגנוני תנועה ויראליים עשויים לשמש כ"עקב אכילס" של הנגיף, אשר פגיעה בו יכולה להקנות עמידות מפני נגיפים. אולם, התמונה היא ככל הנראה מורכבת יותר. רוב האלמנטים של הפונדקאי אשר הנגיף נעזר בהם לתנועה הינם חיוניים להתפתחות תקינה של הצמח ומכאן שפגיעה בהם הינה בלתי אפשרית בטיפול של זנים חקלאיים. יש לזהות גורמים תאיים נוספים הדרושים לתנועת הנגיף אשר פגיעה בהם לא תהיה משמעותית לגדילה תקינה של הצמח ויהיה ניתן לפגוע בהם על מנת למנוע תנועה ויראלית. בנוסף, במהלך האבולוציה, צמחים פיתחו מנגנוני הגנה אשר מזהים את חלבוני התנועה הנגיפיים ומשתמשים בהם לתגובות הגנה. גישה נוספת לפיתוח עמידות היא חקר של מנגנונים אלו על מנת לפתח שיטות מתקדמות להקניית עמידות לנגיפים חדשים ושוברי עמידות.

מקורות

- Amari K., Di Donato M., Dolja V. V. and Heinlein M. (2014) Myosins VIII and XI play distinct roles in reproduction and transport of tobacco mosaic virus. PLoS Pathogens 10:e1004448.
- Andreev I. A., Kim S. H., Kalinina N. O., Rakitina, D. V., Fitzgerald A. G., Palukaitis P. and Taliansky M. E. (2004) Molecular interactions between a plant virus movement protein and RNA: Force spectroscopy investigation. Journal of Molecular Biology 339: 1041-1047.

- Berna A., Gafny R., Wolf S., Lucas W. J., Holt C. A. and Beachy R. N. (1991) The TMV movement protein: Role of the C-terminal 73 amino acids in subcellular localization and function. *Virology* 182: 682-689.
- Cambrón-Crisantos J. M., Rodríguez-Mendoza J., Valencia-Luna J. B., Rangel S. A., de Jesús García-Ávila C. and López-Buenfil J. A. (2018) First report of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in Michoacan, Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology* 37: 185-192.
- Carrington J. C., Jensen P. E. and Schaad M. C. (1998) Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. *The Plant Journal* 14: 393-400.
- Chen M. H. and Citovsky V. (2003) Systemic movement of a tobamovirus requires host cell pectin methylesterase. *The Plant Journal* 35: 386-392.
- Chen M. H., Sheng J., Hind G., Handa A. K. and Citovsky V. (2000) Interaction between the tobacco mosaic virus movement protein and host cell pectin methylesterases is required for viral cell-to-cell movement. *The EMBO Journal* 19: 913-920.
- Chen M. H., Tian G. W., Gafni Y. and Citovsky V. (2005) Effects of calreticulin on viral cell-to-cell movement. *Plant physiology* 138: 1866-1876.
- Chen T., Liu D., Niu X., Wang J., Qian L., Han L., Liu N., Zhao J., Hong Y. and Liu Y. (2017) Antiviral resistance protein Tm-2² functions on the plasma membrane. *Plant Physiology* 173: 2399-2410.
- Citovsky V., Knorr D., Schuster G. and Zambryski P. (1990) The P30 movement protein of tobacco mosaic virus is a single-strand nucleic acid binding protein. *Cell* 60: 637-647.
- Citovsky V., Wong M. L., Shaw A. L., Prasad, B. V. and Zambryski, P. (1992) Visualization and characterization of tobacco mosaic virus movement protein binding to single-stranded nucleic acids. *The Plant Cell* 4: 397-411.
- Curin M., Ojangu E. L., Trutnyeva K., Ilau B., Truve E. and Waigmann E. (2007) MPB2C, a microtubule-associated plant factor, is required for microtubular accumulation of tobacco mosaic virus movement protein in plants. *Plant Physiology* 143: 801-811.
- DeYoung B. J. and Innes R. W. (2006) Plant NBS-LRR proteins in pathogen sensing and host defense. *Nature Immunology* 7: 1243.
- Ding B., Li Q., Nguyen L., Palukaitis P. and Lucas W. J. (1995) Cucumber mosaic virus 3a protein potentiates cell-to-cell trafficking of CMV RNA in tobacco plants. *Virology* 207: 345-353.
- Dolja V. V., Haldeman R., Robertson N. L., Dougherty W. G. and Carrington J. C. (1994) Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *The EMBO Journal* 13: 1482-1491.
- Dolja V. V., Haldeman-Cahill R., Montgomery A. E., Vandenbosch K. A. and Carrington J. C. (1995) Capsid protein determinants involved in cell-to-cell and long distance movement of tobacco etch potyvirus. *Virology* 206: 1007-1016.

- Donald R. G., Lawrence D. M. and Jackson A. O. (1997) The barley stripe mosaic virus 58-kilodalton beta (b) protein is a multifunctional RNA binding protein. *Journal of Virology* 71: 1538-1546.
- Esau K. (1968) *Viruses in plant hosts. Form, distribution, and pathologic effects.* University of Wisconsin Press, Madison, USA, 225 p.
- Gilbertson R. L., Sudarshana M., Jiang H., Rojas M. R. and Lucas W. J. (2003) Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: insights into DNA trafficking. *The Plant Cell* 15: 2578-2591.
- Gillespie T., Boevink P., Haupt S., Roberts A. G., Toth R., Valentine T., Chapman S. and Oparka, K. J. (2002) Functional analysis of a DNA-shuffled movement protein reveals that microtubules are dispensable for the cell-to-cell movement of Tobacco mosaic virus. *The Plant Cell* 14: 1207-1222.
- Guenoune-Gelbart D., Elbaum M., Sagi G., Levy A. and Epel B. L. (2008) Tobacco mosaic virus (TMV) replicase and movement protein function synergistically in facilitating TMV spread by lateral diffusion in the plasmodesmal desmotubule of *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 335-345.
- Hak H., Levy Y., Chandran S. A., Belausov E., Loyter A., Lapidot M. and Gafni Y. (2015) TYLCV-Is movement in planta does not require V2 protein. *Virology* 477: 56-60.
- Hamada T., Tominaga M., Fukaya T., Nakamura M., Nakano A., Watanabe Y., Hashimoto T. and Baskin T. I. (2012) RNA processing bodies, peroxisomes, Golgi bodies, mitochondria, and endoplasmic reticulum tubule junctions frequently pause at cortical microtubules. *Plant and Cell Physiology* 53: 699-708.
- Heinlein, M. (2015) Plant virus replication and movement. *Virology* 479: 657-671.
- Heinlein M., Epel B. L., Padgett H. S. and Beachy R. N. (1995) Interaction of tobamovirus movement proteins with the plant cytoskeleton. *Science* 270(5244): 1983-1985.
- Heinlein M., Padgett H. S., Gens J. S., Pickard B. G., Casper S. J., Epel B. L. and Beachy R. N. (1998) Changing patterns of localization of the tobacco mosaic virus movement protein and replicase to the endoplasmic reticulum and microtubules during infection. *The Plant Cell* 10: 1107-1120.
- Kalinina N. O., Rakitina D. V., Solovyev A. G., Schiemann J. and Morozov S. Y. (2002) RNA helicase activity of the plant virus movement proteins encoded by the first gene of the triple gene block. *Virology* 296: 321-329.
- Kaplan I. B., Zhang L. and Palukaitis P. (1998) Characterization of cucumber mosaic virus. *Virology* 246: 221-231.
- Kawakami S., Watanabe Y. and Beachy R. N. (2004) Tobacco mosaic virus infection spreads cell to cell as intact replication complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 6291-6296.

- Kragler F., Curin M., Trutnyeva K., Gansch A. and Waigmann E. (2003) MPB2C, a microtubule-associated plant protein binds to and interferes with cell-to-cell transport of tobacco mosaic virus movement protein. *Plant Physiology* 134: 1870-1883.
- Lapidot M., Gafny R., Ding B., Wolf S., Lucas W. J. and Beachy R. N. (1993) A dysfunctional movement protein of tobacco mosaic virus that partially modifies the plasmodesmata and limits virus spread in transgenic plants. *The Plant Journal* 4: 959-970.
- Leonard D. A. and Zaitlin M. (1982) A temperature-sensitive strain of tobacco mosaic virus defective in cell-to-cell movement generates an altered viral-coded protein. *Virology* 117: 416-424.
- Levy A., Zheng J. Y. and Lazarowitz S. G. (2015) Synaptotagmin SYTA forms ER-plasma membrane junctions that are recruited to plasmodesmata for plant virus movement. *Current Biology* 255: 2018-2025.
- Lewis J. D. and Lazarowitz S. G. (2010) Arabidopsis synaptotagmin SYTA regulates endocytosis and virus movement protein cell-to-cell transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 2491-2496.
- Lim H. S., Bragg J. N., Ganesan U., Lawrence D. M., Yu J., Isogai M., Hammond J. and Jackson A.O. (2008) Triple gene block protein interactions involved in movement of Barley stripe mosaic virus. *Journal of Virology* 82: 4991-5006.
- Ling K. S., Tian T., Gurung S., Salati R. and Gilliard A. (2019) First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting greenhouse tomato in the United States. *Plant Disease* 103: 1439.
- Lough T. J., Netzler N. E., Emerson S. J., Sutherland P., Carr F., Beck D. L., Lucas W. J. and Forster R. L. (2000) Cell-to-cell movement of potexviruses: Evidence for a ribonucleoprotein complex involving the coat protein and first triple gene block protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 962-974.
- Lucas W. J. (2006) Plant viral movement proteins: Agents for cell-to-cell trafficking of viral genomes. *Virology* 344: 169-184.
- Luria N., Smith E., Reingold V., Bekelman I., Lapidot M., Levin I., Elad N., Tam Y., Sela N., Abu-Ras A. and Ezra N. (2017) A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring Tm-22 resistance genes. *PloS one*, 12(1), p.e0170429.
- Maayan Y., Pandaranayaka E. P., Srivastava D. A., Lapidot M., Levin I., Dombrovsky A. and Harel A. 2018. Using genomic analysis to identify tomato Tm-2 resistance-breaking mutations and their underlying evolutionary path in a new and emerging tobamovirus. *Archives of Virology* 163: 1863-1875.
- Menzel W., Knierim D., Winter S., Hamacher J. and Heupel M. (2019) First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany. *New Disease Reports* 39: 2044-0588.

- Meshi T., Watanabe Y., Saito T., Sugimoto A., Maeda T. and Okada Y. (1987) Function of the 30 kd protein of tobacco mosaic virus: involvement in cell-to-cell movement and dispensability for replication. *The EMBO Journal* 6: 2557-2563.
- Niehl A. and Heinlein M. (2011) Cellular pathways for viral transport through plasmodesmata. *Protoplasma* 248: 75-99.
- Nishiguchi M., Motoyoshi F. and Oshima N. (1978) Behaviour of a temperature sensitive strain of tobacco mosaic virus in tomato leaves and protoplasts. *Journal of General Virology* 39: 53-61.
- Padmanabhan M. S. and Dinesh-Kumar S. P. (2014) The conformational and subcellular compartmental dance of plant NLRs during viral recognition and defense signaling. *Current Opinion in Microbiology* 20: 55-61.
- Storms M. M., Kormelink R., Peters D., Van Lent J. W. and Goldbach R. W. (1995) The nonstructural NSm protein of tomato spotted wilt virus induces tubular structures in plant and insect cells. *Virology* 214: 485-493.
- Strasser M. and Pfitzner A. J. P. (2007) The double-resistance-breaking Tomato mosaic virus strain ToMV1-2 contains two independent single resistance-breaking domains. *Archives of Virology* 152: 903.
- Tomenius K., Clapham D. and Meshi T. (1987) Localization by immunogold cytochemistry of the virus-coded 30K protein in plasmodesmata of leaves infected with tobacco mosaic virus. *Virology* 160: 363-371.
- Van Lent J., Storms M., Van der Meer F., Wellink J. and Goldbach R. (1991) Tubular structures involved in movement of cowpea mosaic virus are also formed in infected cowpea protoplasts. *Journal of General Virology* 72: 2615-2623.
- Vijayapalani P., Maeshima M., Nagasaki-Takekuchi N. and Miller W. A. (2012) Interaction of the trans-frame potyvirus protein P3N-PIPO with host protein PCaP1 facilitates potyvirus movement. *PLoS Pathogens* 8: p.e1002639.
- Perbal M. C., Thomas C. L. and Maule A. J. (1993) Cauliflower mosaic virus gene I product (P1) forms tubular structures which extend from the surface of infected protoplasts. *Virology* 195: 281-285.
- Rao A. L. N. (1997) Molecular studies on bromovirus capsid protein. *Virology* 232: 385-395.
- Sáenz P., Salvador B., Simón-Mateo C., Kasschau K.D., Carrington J.C. and García, J.A. (2002) Host-specific involvement of the HC protein in the long-distance movement of potyviruses. *Journal of Virology* 76: 1922-1931.
- Schmitz I. and Rao A. L. N., (1996) Molecular studies on bromovirus capsid protein: I. Characterization of cell-to-cell movement-defective RNA3 variants of brome mosaic virus. *Virology* 226: 281-293.

- Ueki S., Spektor R., Natale D. M. and Citovsky V. (2010) ANK, a host cytoplasmic receptor for the Tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein, facilitates intercellular transport through plasmodesmata. PLoS Pathogens 6: p.e1001201.
- Waigmann E., Lucas W. J., Citovsky V. and Zambryski P. (1994) Direct functional assay for tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein and identification of a domain involved in increasing plasmodesmal permeability. Proceedings of the National Academy of Sciences 91: 1433-1437.
- Weber H., Ohnesorge S., Silber M. V. and Pfitzner A. J. P. (2004) The Tomato mosaic virus 30 kDa movement protein interacts differentially with the resistance genes Tm-2 and Tm-2 2. Archives of Virology 149: 1499-1514.
- Weber H. and Pfitzner A. J. (1998) Tm-22 resistance in tomato requires recognition of the carboxy terminus of the movement protein of tomato mosaic virus. Molecular Plant-Microbe Interactions 11: 498-503.
- Weber H., Schultze S. and Pfitzner A. J. (1993) Two amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the *Tm-2 (2)* resistance gene in the tomato. Journal of Virology 67: 6432-6438.
- Wei T., Zhang C., Hong J., Xiong R., Kasschau K. D., Zhou X., Carrington J. C. and Wang A. (2010) Formation of complexes at plasmodesmata for potyvirus intercellular movement is mediated by the viral protein P3N-PIPO. PLoS pathogens 6: p.e1000962.
- Wolf S., Lucas W. J., Deom C. M. and Beachy R. N. (1989) Movement protein of tobacco mosaic virus modifies plasmodesmatal size exclusion limit. Science 246 (4928): 377-379.
- Yan Z. Y., Ma H. Y., Han S. L., Geng C., Tian Y. P. and Li X. D. (2019) First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in China. Plant Disease 103: 2973-2973.
- Yuan C., Lazarowitz S. G. and Citovsky V. (2016) Identification of a functional plasmodesmal localization signal in a plant viral cell-to-cell-movement protein. MBio 7: e02052-15.
- Yuan C., Lazarowitz S. G. and Citovsky V. (2018) The Plasmodesmal localization signal of TMV MP is recognized by plant synaptotagmin SYTA. MBio 9: e01314-18.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 10: תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים

מירב לייבמן-מרקוס ומיה בר

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

בצמחים התפתחה מערכת חיסון שאינה נרכשת, אלא מולדת, להגנה מפני פתוגנים. מערכת החיסון המולדת בצמחים מבוססת על מנגנוני הגנה מורכבים ויעילים, תמידיים, דוגמת הציפוי השעונוני שעל פני העלים, או מושרים. התגובות המושרות כוללות תגובות מהירות ומידיות כגון הבססה (אלקליזציה) ופרץ תרכובות חמצן וחנקן פעילות, המתרחשות תוך שניות עד דקות ספורות מרגע זיהוי המיקרואורגניזם, וכן תגובות מורכבות וממושכות, הכוללות שינוי של דפוס ביטוי הגנים בצמח, וכפועל יוצא, שינוי מערך החלבונים והמטבוליטים. תגובות ההגנה בצמח מופעלות על ידי אליסטרורים (משרנים) כגון דפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMP). מולקולות MAMP בודדו ממגוון רחב של מיקרואורגניזמים פתוגניים ובלתי פתוגניים. רכיבים אלה מוכרים על ידי קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR) הכוללים רצפטורים של שטח פני תא הצמח, כגון קינאזות דמויי-קולטן (RLK) וחלבונים דמויי-קולטן (RLP), בהתאם לנוכחות או היעדר של דומיין הקינאז, בהתאמה. בעקבות זיהוי, מרכיבי ה-PRR מפעילים הגנה מתווכת-דפוסים (PTI). כדי להתגבר על מערך הגנה זה, פתוגנים פיתחו מולקולות אפקטור המופרשות לתוך תא הצמח, אשר מונעות PTI. קולטני-הגנה תוך תאיים מגיבים לאפקטורים הללו ומפעילים הגנה מתווכת-אפקטורים (ETI). לטובת הגנת הצמח, מגויס גם מערך השינוע התוך תאי, המאפשר בליעה תאית (אנדוציטוזה, בליעת חומר אל תוך התא בתהליך בו ממברנת התא מתקפלת כלפי פנים ונסגרת לכדי שלפוחית - אנדוזום) מתווכת-קולטן. תהליך ההתנתקות (אינווגיניציה, הקפלות שטח פני התא כחלק מתהליך האנדוציטוזה) של קולטני מערכת החיסון הממברנאלי יכול לשמש לסיום איתות, באמצעות פירוק של קומפלקס-קולטן משופעל, או להעברת איתות תוך תאי מאנדוזומים המכילים רצפטורים משופעלים. על כן, אין זה מפתיע שבקרי מערך השינוע התוך-תאיים נתונים לבקרה רבה ומהווים יעד למניפולציות בקרב פתוגנים שונים.

אופן הציטוט: לייבמן-מרקוס מ' ובר מ' (2021) **תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים**. פרק 10, ע' 163-143 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51974>



מבוא

לצמחים אין מערכת חיסון אדפטיבית, על כן, הם נסמכים על מערכת חיסון מולדת לחישה ולוחמה במיקרובים ומזיקים שונים. מערכת חיסון זו מקנה להם את היכולת להתגבר על הרוב המכריע של מיקרו-אורגניזמים פולשים. עם זאת, קורה ופתוגנים מתמחים מסוגלים להתגבר על החסינות המולדת של הצמח. פתוגנים אלו מהווים איום בלתי פוסק על

יכולת אספקת היבול החקלאי ברחבי העולם, ומעלים את הצורך בגידולים בעלי עמידות גבוהה ויעילה לפתוגנים. בצמחים התפתחה מערכת חיסון שאינה נרכשת, אלא מולדת, להגנה מפני פתוגנים. מערכת החיסון המולדת בצמחים מבוססת על מנגנוני הגנה מורכבים ויעילים, היכולים להיות תמידיים או מושרים בעת הצורך (ראו פרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים). תגובות ההגנה בצמח מופעלות על-ידי משרנים (אליסטרורים), הנקראים לעתים "דפוסים-מולקולריים" (Molecular patterns) - על פי רוב מולקולות המיוצרות או מצויות בקשר עם מיקרואורגניזמים שונים, לאו דווקא פתוגניים.

דפוסים אלה נקראים לעתים דפוסים משוייכים-מולקולרית למיקרואורגניזמים (MAMP, Microbe Associated Molecular Patterns), וכאשר ידוע כי מדובר בפתוגן - PAMP. מולקולות MAMP בודדו ממגוון רחב של מיקרואורגניזמים פתוגניים ובלתי פתוגניים. רכיבים אלה מוכרים על-ידי קולטנים (Receptors) צמחיים, המכונים קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR- Pattern Recognition Receptor) הכוללים רצפטורים על שטח פני התא של הצמח, כגון קינאזות דמויי-קולטן (RLK) וחלבונים דמויי-קולטן (RLP), בהתאם לנוכחות או היעדר של יכולת קינאז-פעילות זרחון, בהתאמה. בעקבות הזיהוי, קולטני ה-PRR מפעילים הגנה מתווכת-דפוסים (PTI- PAMP Triggered Immunity). בכדי להתגבר על מערך ההגנה הזה, פתוגנים פיתחו מולקולות אפקטור המופרשות לתוך תא הצמח, אשר מונעות או בולמות את תגובת ה-PTI. קולטני-הגנה תוך-תאיים מגיבים לאפקטורים הללו ומפעילים בתורם הגנה מתווכת-אפקטורים (ETI- Effector Triggered Immunity).

תגובות ההגנה הצמחיות

צמחים מאותגרים ללא הפסקה על-ידי גורמי פגע ובהם פטריות, אואומצטים, חיידקים, נגיפים, נימיות (נמטודות) ופרוקי רגליים, העלולים לגרום לפגיעה קשה ביבול. עם זאת, בטבע צמחים בדרך כלל עמידים לרוב הפתוגנים. מנגנוני ההגנה המשמשים את הצמחים נעים ממחסומים מבניים המצויים עוד בטרם פגש הצמח בפתוגן ושאינם ספציפיים, דוגמת הציפוי השעונוני שמצוי על פני העלים, לבין תרכובות כימיות שנוצרות בעקבות מפגש בין פתוגן לצמח פונדקאי (מאכסן) ספציפי. לאחר זיהוי MAMP ו/או אפקטור, מתרחש שפעול של המערכת החיסונית המולדת במסלולי הולכת אותות שיביאו להפעלתן של תגובות הגנה שונות כמפורט בסעיפים הבאים.

הבססה (אלקליניזציה)

תגובת ההגנה הראשונית, המתרחשת 0.5 עד 2 דקות לאחר עירור (אליסטרציה). אירוע זה מסתמך על שינויים דרסטיים בשטף של יוני מימן, אשלגן, כלור וסידן (H^+ , K^+ , Cl^- ו- Ca^{2+}) לאורך ממברנת התא (Garcia-Brugger et al., 2006). עליה ברמות הסידן הציטופלזמי, הינה צעד קריטי בתגובת PTI. העליה נוצרת בעקבות הצטברות יוני סידן בנוזל התילקואיד (שקיקים ממברנליים) של כלורופלסטים אשר גורם לעלייה מוגברת בשטף יוני הסידן לציטופלזמה (Nomura et al., 2012). פעולה זו מושגת על-ידי שפעול תעלת-מוליכות המאפשרת מעבר יוני סידן דרך ממברנת התא. שפעול זה הינו תולדה של זרחון קולטני PRR, שפעול חלבוני-G שמתפקדים כמתג מולקולרי, ושפעול תעלות ממברנליות על-ידי מעבר מחזורי של נוקלאוטידים (Ali et al., 2007; Qi et al., 2010). העליה ברמות הסידן התוך-תאי מזוהה על-ידי חלבונים קשורי-סידן (Reddy and Reddy, 2004) ומתווכת תהליכים חיסוניים אחרים בצמח, כולל בקרה על רמת תרכובות החמצן הפעילות (ROS) בתא, ייצור חומצה סליצילית (SA), וסגירת פיוניות (Muthamilarasan and Prasad, 2013). חלבוני קינאז תלויי-סידן (CDPK), המשמשים כחיישנים לזיהוי רמות הסידן התוך-תאי, עולים ממחקרים כאחת מחוליות המפתח המוקדמות באיתותי ה-PTI (Boudsocq et al., 2010).

פרץ תרכובות חמצן וחנקן פעילות

הייצור של תרכובות חמצן פעילות (ROS), דוגמת מי-חמצן (H_2O_2) וסופראוקסיד (על-חמצן, O_2^-) וקישור תרכובות חנקן פעילות (RNI) כגון חנקן-חמצני (NO) לחלבונים, הינם הפעולות הראשונות המתרחשות במהלך תגובת ההגנה בצמח, ומתחילות תוך דקות בודדות מרגע החשיפה למיקרואורגניזם או לפתוגן. העליה בתרכובות החמצן הפעילות מובילה לקישורים-צולבים של גליקו-פרוטאינים מבניים בדופן התא. הקישור-הצולב חיוני להתגוננות הצמח מפני מיקרואורגניזמים, שכן מצד אחד הקישור גורם לחיזוק והקשחת דופן התא ובכך מונע באופן פיזי חדירה של פתוגנים, ומאידך מתפקד כשליח שניוני מקומי וסיסמי שמעורר בתורו תגובות הגנה נוספות (Kadota et al., 2015; Gilroy et al., 2014). כמו כן, הרמות המקומיות של מי-החמצן מהוות מדד לשפעול מוות תאי מתוכנן (Programmed cell death, PCD). בנוסף, רמות מי-החמצן מהוות איתות המועבר לתאים השכנים על מקור ההדבקה, ומעודדות בהם ביטוי מוגבר של גנים המקודדים לרכיבי הגנה תאיים דוגמת גלוטטיון-S-טראנספראז וגלוטטיון פרוקסידאז (Tenhaken et al., 1995). תרכובות החמצן הפעילות הינן אנלוגים טוקסיים של תרכובות חמצן מחוזרות שפוגעות הן בפתוגן והן במאכסן. לכן, תרכובות החמצן הפעילות מתפקדות כחומר אנטי-מיקרוביאלי חשוב הדורש מנגנוני הגנה ורגולציה מוגברים למזעור נזק עצמי לצמח (Hammond-Kosack and Jones, 1996). יצור תרכובות החמצן הפעילות תלוי בעיקר ב- respiratory-burst-oxidase homolog D (RBOHD), הנשלט לרוב על-ידי רמות הסיידן (Gilroy et al., 2014; Kadota et al., 2015).

חיזוק דופן-התא

בכדי להצליח לחדור לתאי הצמח, על הפתוגן לחדור בשלב הראשון את דופן-התא הצמחי, אלא אם יש פתח טבעי או פציעה כלשהיא בדופן. אם כן, חיזוק דופן-התא יכול להגביר את יכולת ההתגוננות של הצמח. בנוסף לכך שחיזוק דופן-התא מונע חדירה של פתוגנים, הוא גם מעכב זליגה של התוכן הציטופלזמתי של התא החוצה, ובכך מקטין את הזמינות של נוטרינטים בחלל החוץ-תאי לפתוגנים ביוטרופיים. עבור פתוגנים פטרייתיים בעלי סגנון חיים נקרוטרופי, הנסמכים על הידרוליזה של דופן-התא כשלב מקדים לגדילת הקורים לתוך התא הצמחי, הדיפוזיה של טוקסינים ואנזימים מהפטרייה אל תוך התא מתעכב. הרבצה (דיפוזיה) של קאלוז (β -1,3-glucan צמחי) שמורכב בין דופן התא וממברנת התא, מגביל את יכולת החדירה של הפתוגן ומשמש כאינדיקטור מוסכם לזיהוי PTI (Bestwick et al., 1995). ייצור תרכובות החמצן הפעילות, התלויות ב-RBOHD, המתרחש בעקבות עירור, מעודד בסופו של דבר את יצירת הקאלוז בדופן התא. כמו כן, חסימה של הפלאזמודסמאטה על-ידי קאלוז, פוגעת ביכולת המעבר של גניפים מתא לתא בצמח (Beffa et al., 1996).

סגירת פיוניות

בתגובה לפתוגנים חיידקיים, הצמח משרה סגירה של פיוניות (Wang et al., 2012; Melotto et al., 2006). המנגנון לסגירת הפיוניות כולל עליה של יוני סידן בציטוזול. עליה חדה ברמות הסיידן החוץ-תאי מביא לפרץ תרכובות חמצן פעילות ו-RNI (הצטברות של מי-חמצן וחמצן-חנקתי) בתאים השומרים (Guard cells), שגורמת בתורה לעליה זמנית ברמות יוני הסיידן הציטוזולי בתאי הפיוניות ובכך לסגירתן (Zhang et al., 2008), ומתפקדת כמחסום פיזי המונע חדירה של פתוגנים. לסגירת הפיוניות השפעה שלילית על קצב הפוטוסינטזה של הצמח. הירידה בפוטוסינטזה בעקבות ההדבקה, הינה אסטרטגיית הגנה נוספת, בה הצמח נעזר בכדי להתחמק מפתוגנים (Bolton, 2009). שכן, הירידה

המהירה בהדעכה בלתי-פוטוכימית (NPQ non photochemical quenching), מגבילה את הזמינות של מקורות הפחמן עבור הפתוגן (Gohre et al., 2012).

שינוי דפוס ביטוי הגנים

בעקבות זיהוי המשרן/אפקטור והפעלת PTI/ETI מופעלות תגובות ההגנה בצמח. בכדי שתגובות אלו יתמשו, יש צורך בשינוי נרחב של מערך הגנים – וכתלות בכך מערך החלבונים בצמח. שינויים אלו מאפשרים את הפעלתן של תגובות הגנה מהירות – למשל אינדוקציה של הגן המקודד לחלבון המפתח בייצור האתילן, האנזים ACC-סינתאז, תוך פחות מרבע שעה מרגע המפגש עם מיקרואורגניזמים מסוימים (Sharfman et al., 2011), כמו גם את הוצאתם לפועל של תגובות הגנה מאוחרות יותר – כגון חלבונים אנטי-חידקיים, אנטי-פטריתיים וחלבונים הנחוצים להפעלה של מסלולי הורמוני הגנה (Vega et al., 2015; Du et al., 2015; Meller Harel et al., 2013; Yang et al., 2015).

חלבונים הקשורים לפתוגנים (PR)

איתותי ה-PTI וה-ETI מובילים לשטף של פעילות MAPK ולהפעלה של חלבוני השיעתוק של הגן WRKY. שיעתוק זה מביא בתורו לשפעול שיעתוק מאסיבי של שרשרת גנים הקשורים בפתוגנים בתא המודבק ובתאים הסובבים אותו (Muthamilarasan and Prasad, 2013). ביטוי גנים זה גורם לתרגום של חלבוני PR תוך וחוץ-תאיים שנוצרים ומצטברים בעקבות תקיפת הפתוגן. לחלבוני ה-PR יש תכונות טוקסיות אנטי-פטריותיות או אנטי-מיקרוביאליות כדוגמת כיטינאזות, גלוקאנאזות, חלבונים בעלי פעילות ליזוזימית, או חלבונים בעלי פונקציית חיזוק דופן-התא כגון גליקופורטאינים עשירים בפרולין (Balasubramanian et al., 2012). בנוסף, ההצטברות של תרכובות בעלות משקל מולקולרי נמוך, ליפופיליות ואנטי-מיקרוביאליות, הנקראים פיטואלקסינים, יכולה להימצא בקרבת מקור ההדבקה (Hammond-Kosack and Jones, 1996).

ויסות הורמונאלי

במורד מסלול האיתות של הפעלת PTI ו-ETI, קיים מגוון רחב של הורמונים צמחיים בעלי תפקידי מפתח ברשת הסבוכה של איתותים לחיסוניות בצמחים (Bari and Jones, 2009; Pieterse et al., 2009, 2012). תחילה, זוהו הורמוני הצמח כבקררים של גדילה והתפתחות (Santner and Estelle, 2009). חומצה סאליצילית (SA) וחומצה ג'סמונית (JA) מזוהים כיום כהורמוני הגנה מרכזיים וחשובים. מקובל לומר כי מסלול התגובות המבוקר על-ידי חומצה סאליצילית מופעל על-פי רוב והינו יעיל כנגד פתוגנים מיקרוביאליים מטיפוס ביוטרופי או המי-ביוטרופי, בעוד שמסלולי התגובה המתווכים על-ידי חומצה ג'סמונית פועלים כנגד פתוגנים נקרוטרופיים. שתי אסטרטגיות פעולה מנוגדות אלו, יוצרות מאזן כוחות גמיש המאפשר מערך בקרה שמתאים את עצמו ובעקבות כך את תגובותיו החיסוניות, בהתאם לאופי הפתוגן בו נתקל הצמח (Glazebrook, 2005). בשנים האחרונות, הוכח מספר פעמים כי קיימים חפיפה והיזון חוזר בין שני המסלולים ההורמונליים הללו, שככל הנראה אינם בלתי תלויים ברוב מיני הצמחים (Di et al., 2017; Thomma et al., 1998; Betsuyaku et al., 2018; Liu et al., 2016).

ההורמונים אתילן, חומצה אבסיסית (ABA), ג'יברלינים (GAs), אוקסינים, ציטוקינינים (CKs), בריסונוסטרואידים וחנקן-חמצני יכולים לשמש אף הם כמודולטורים של מערך האיתות החיסוני של הצמח (Pieterse et al., 2012). שינויים ברמות ההורמונים השונים או ברגישות אליהם, מתווכים מערך שלם של תגובות הגנה מותאמות/אדבטיביות שעשויות לעתים לבוא על חשבון הגדילה וההתפתחות של הצמח (ראו גם פרק השראת עמידות

בצמחים כנגד פתוגנים). ההרכב והתיזמון של כלל תרכובות ההורמונים בתא יכול לקבוע אם רקמת הצמח תהיה רגישה או עמידה בפני אורגניזם מסויים (Verhage et al., 2010).

ההורמון הגזי – אתילן מעורב בתהליכים רבים בחיי הצמח, בכללם במנגנונים שונים באמצעותם הצמח מגיב לתקיפת פתוגן (Broekaert et al., 2006). אחת מההתרחשויות התאיות הראשונות הניתנות לכימות, במהלך האינטרקציה צמח-פתוגן, היא עליה חדה ומהירה בייצור של אתילן. אינדוקציית חלבוני PR מתרחשת דרך מסלול בו אתילן וחומצה ג'סמונית פועלים באופן סינרגיסטי (Penninckx et al., 1998). כמו כן, טיפול באתילן מוביל לחיזוק דופן התא (Esquerre-Tugaye et al., 1979; Ecker and Davis, 1987). אתילן גם נחוץ לשם אטימה של העצה – תגובה המנעת את התפשטות הפתוגן דרך המערכת הוואסקולארית של הצמח (VanderMolen et al., 1983).

תגובה רגישות-יתר (HR)

סימן הכר אופיני לתגובות ההגנה התאיות בצמח הוא מוות תאי מתוכנן (PCD) מהיר של התאים המודבקים (וברמה מסויימת גם של תאים שכנים למקור ההדבקה), המכונה תגובה רגישות-יתר (HR) (Greenberg, 1997). HR הוא למעשה צורה של מוות תאי מתוכנן בעל מאפיינים של תהליך מוות תאי אפופטוטי המתרחש בבעלי חיים (Dangl et al., 1996). מוות תאי מתוכנן זה הוא מעין צעד אלטרואיסטי המונע את התפשטות הפתוגן לשאר רקמת הצמח (איור 1).



איור 1. תגובת רגישות יתר (HR). זני עגבנייה שונים טופלו במשך EIX לקבלת תגובת רגישות-יתר. המשך הוזרק לעלים בריכוז 2 מיקרוגרם למ"ל וצולמו כ-72 שעות לאחר ההזרקה. בזן המתורבת M82, המכיל את הקולטן לזיהוי ה-EIX ניתן לראות תגובת רגישות-יתר באיזור המוזרק. בזן IL 7-5 (קו מאוכלוסית אינטרוגרסיה) (Eshed et al., 1992), תוצר של הכלאות חוזרות בין M82 לזן הבר (*S. pennellii*), בו לא קיים קולטן פעיל כנגד EIX, לא התפתחה תגובת רגישות-יתר באזור המוזרק. התמונות לקוחות מתוך עבודה שנעשתה במסגרת המאמר (Leibman-Markus et al., 2018b).

המוות התאי מבוקר על-ידי בקרים שליליים (רפרסורים) וכן על-ידי רמות החומצה הסליצילית בתא. תגובת רגישות-היתר יכולה להזין את עצמה שכן היא תורמת לשחרור הבקרים השליליים שלו (Hayward et al., 2009; Fu et al., 2012). בעקבות הפעלת איתות זה, כחלק מתהליך תגובת רגישות-היתר, יש קונדנסציה של הציטופלזמה **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **147**

והגרעין, איבוד המגע/קישור בין תא לתא ברקמה המאורגנת, שבירה של הדנ"א, היווצרות גופים אפופטוטיים, המתחות, התנפחות והתפוצצות של ממברנת התא (Coll et al., 2011).

תגובת רגישות יתר נחשבת לתוצאה הסופית של ETI, ועל-פי רוב אינה מתרחשת ב-PTI. ה-MAMPs: CBEL, EIX ו-harpins הם דוגמאות למשרני PTI שגורמים לתגובת רגישות-יתר בצמחים (Leibman-Markus et al., 2018a, 2018b). ייתרה מכך, הראו כי הפפטיד flg22 יכול לגרום לתגובת רגישות יתר בארבידופיסיס (Naito et al., 2008), בעוד שפלג'לין ממספר מיני חיידקים יכול לגרום לתגובת רגישות-יתר באורז ובטבק (Che et al., 2000; Taguchi et al., 2003; Hann and Rathjen, 2007). ממצאים אלו מדגימים עד כמה תגובת רגישות-היתר אינה נחלתו של ה-ETI בלבד ומתקיימת במגוון מקרים בתגובה ל-PTI.

מערכת החיסון הצמחית

חישת האותות מהסביבה והיכולת להגיב בהתאם חיוניים להשרדות אורגניזם בכלל וצמחים בפרט. צמחים נתקלים בשפע עצום של פתוגנים פוטנציאליים, אך לעיתים רחוקות בלבד מצליחים מיקרואורגניזמים אלו להוביל למחלות. עם זאת, פתוגנים עדיין גורמים לאובדן יבול משמעותי (Strange and Scott, 2005). בצמחים, מנגנוני ההגנה תלויים ביכולתו של כל תא ותא בצמח ליזום תגובות חיסוניות באמצעות קולטנים חוץ ופנים-תאיים (Dodds and Rathjen, 2010; Couto and Zipfel, 2016). מערכת החיסון בצמחים מופעלת על-ידי אחד משני סוגים של מולקולות: דפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMPs) המזוהים על-ידי קולטנים על פני התא, או אפקטורים המופרשים לתוך התא על-ידי הפתוגן ומזוהים על-ידי קולטנים תוך-תאיים (Thomma et al., 2011; Henry et al., 2013). שני סוגי המולקולות מובילים לחסינות המופעלות באמצעות דפוסים ואפקטורים (PTI / ETI) בהתאמה (Jones and Dangl, 2006).

חסינות המופעלת על-ידי דפוסים מולקולריים המצויים באסוציאציה למיקרואורגניזמים (PTI)

MAMPs, הידועים גם כדפוסים מולקולריים המצויים באסוציאציה לפתוגנים (PAMPs), הינם מוטיבים שמורים הקיימים במרכיבים החיוניים למיקרואורגניזמים או למיקרואורגניזמים שהינם פתוגנים, אשר צמחים יכולים לזהות, ובעקבות כך להפעיל את מערכת החיסון המולדת (Bent and Mackey, 2007). חסינות מולדת יכולה להיות משופעלת גם בעקבות זיהוי דפוסים מולקולריים שהינם תוצאה של חישה עצמית של נזק משני שנגרם למאכסן (DAMPs) (Böhme et al., 2014; Macho and Zipfel, 2014; Couto and Zipfel, 2016). חסינות זאת נקראת חסינות מופעלת באמצעות דפוסים (PTI). בעשור האחרון חלה התקדמות מחקרית מרשימה בכל הנוגע להכרת MAMPs ו-PTI (Boutrot and Zipfel, 2017; Noman and Aqeel, 2019). בין ה-MAMPs שנחקרו לעומק ניתן למנות את הפלג'לין החיידקי (או האפיטופ הפעיל המבוסס על פפטיד בן 22 חומצות-אמינו של הפלג'לין, flg22), גורם ההתארכות Tu (EF-Tu) (או האפיטופ הפעיל המבוסס על פפטיד בן 18 חומצות-אמינו של EF-Tu, elf18), RaxX-גופרתי, ליפו-פוליסקרידים ופפטידוגליקנים חיידקיים, וכיטואוליגוסכרידים (COs) פטרייתיים (Bigeard et al., 2015; Ranf et al., 2015; Macho and Zipfel, 2014).

צמחים חשים ב-MAMPs באמצעות קולטנים הממוקמים בממברנת התא (Dodds and Rathjen, 2010). קולטני זיהוי-דפוסים (PRRs) אלו קושרים את המשרנים באופן ישיר ובעקבות קישור זה מתרחשים שינויים מידיים בתא (Macho and Zipfel, 2014). נהוג לחלק את ה-PRRs לשתי קבוצות הנבדלות ביניהן ביכולת לזרז את חלבוני המטרה שלהם: קינאזות דמויי-קולטן (RLKs), או חלבוני דמויי-קולטן (RLPs), חסרי יכולת לזרז. RPKs בנויים תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 148

מאיזור חוץ-תאי עשיר בחזרות של לאוצין (eLRR), בעל פוטנציאל לתווך קישור ספציפי לליגנד/משרן, מקטע חוצה-ממברנה יחיד, ודומיין תוך-תאי בעל פעילות קינאז, המתווך את הולכת האותות. RLPs חולקים את אותו מבנה בסיסי כמו ה-RLKs, אך ללא הקינאז התוך-תאי. לפיכך, מניחים ש-RLPs מסתמכים על רכיבים אחרים כדי ליזום את האיתות התוך-תאי ונדרשים ליצור הטר-קומפלקס עם קולטני RLKs או עם חלבוני קינאז דמויי-קולטן ציטופלזמיים, כדי להמיר ולהעביר את האות מהמשרן לחלבונים במורד מסלול האיתות (Tör et al., 2009; Gust and Felix, 2014).

ה-RLK המאופיין ביותר הינו FLS2, המזהה את הפלג'לין החיידקי ואת הפפטידי הנגזר מהפלג'לין - flg22, ומוביל להשראת תגובות הגנה (Felix et al., 1999; Gomez-Gomez and Boller, 2000; Zipfel et al., 2004). FLS2 יוצר קומפלקס ממברנלי עם הרגולטור LRR-RLK BAK1 / SERK3 מייד עם חישת הפלג'לין (או ה-flg22) (Chinchilla et al., 2006; Schulze et al., 2010), דבר שמצביע על האפשרות ש-FLS2 ו-SERK3 מצויים בסמיכות זה לזה בממברנת התא (PM) עוד בטרם זוהה המשרן. מחקר מבני שנערך על בסיס גביש משותף שגובש מהחלקים החוץ-תאיים של FLS2 ו-SERK3 בקומפלקס עם הפפטיד flg22, חשף את המנגנונים העומדים בבסיס תפיסת flg22 על ידי FLS2 (Sun et al., 2013): Flg22 נקשר למשטח הקעור של הסופר-הליקס החוץ-תאי של FLS2, המתפרס על פני 14 רצפי LRR (LRR3-16). החלק החוץ-תאי של FLS2, הנושא את flg22, קשור באופן ישיר עם החלק החוץ-תאי של SERK3, כאשר האזור הקרובוקסי-טרמינאלי של FLS2, הנושא את flg22, מייצב את הדימריזציה של FLS2-SERK3 ומתפקד כמעין "דבק מולקולרי" בין שני החלקים החוץ-תאיים של שני הקולטנים. לפיכך, ההטר-דימריזציה של FLS2-SERK3 מתווכת הן על-ידי הליגנד/משרן והן על-ידי הקולטנים. לכן, בעוד ש-SERK3 אינו דרוש לשם הקישור הכולל של flg22 ל-FLS2 (Chinchilla et al., 2007), הוא מתפקד כקו-קולטן ל-flg22, החיוני לצורך הפעלת האותות התוך-תאיים (Sun et al., 2013).

הפרדיגמה של הפעלת איתות על-ידי קולטני קינאזות צופה כי קשירת ליגנד על-ידי הדומיין החוץ-תאי מובילה להפעלה של הדומיין הקינאזי התוך-תאי ולזרחון של מטרות במורד הזרם, דבר המוביל להולכת אותות תוך-תאית. עם זאת, RLPs שזוהו עד היום דורשים דימריזציה עם SERK3 (או עם חלבון אחר ממשפחת SERK) כדי להעביר את האות, למרות שיש להם דומיין קינאזי תוך-תאי עם פוטנציאל איתות (Macho and Zipfel, 2014). עובדה זו מצביעה על האפשרות שללא קשר לקיומו של דומיין קינאזי, גם RLP וגם RLP עדיין דורשים אסוציאציה עם RLP אחרים.

בעגבנייה (*Solanum lycopersicum*), מספר קולטנים מטיפוס RLP נמצאו מעורבים בתגובות ההגנה. אחד מקולטני ה-RLP הבולטים הוא LeEIX2, שמזהה ומגיב ל-MAMP פטרייתי בשם EIX. משפחת קולטני ה-Cf וקולטן ה-Ve1 מעגבנייה, מעניקים חסינות/עמידות בעקבות זיהוי של חלבוני-אפקטור מ-*C. fullvum* והאפקטור Ave1 מ-*V. dahliae*, בהתאמה (Takken et al., 1999; Ron and Avni, 2004; Van der Hoorn et al., 2005; Kawchuk et al., 2001).

בעקבות חישת וקשירת ה-MAMP, PRR מפעילים מערך רחב של תגובות, מהרמה התאית ועד רמת האורגניזם השלם, במטרה למנוע את התפשטות הפתוגן והתקדמות המחלה. אירועי PTI תוך-תאיים מוקדמים כוללים התפרצות מהירה של תרכובות חמצן פעילות (ROS), הפעלת חלבוני קינאז מאוקטבי-מיטוגן (MAPKs) כמו גם חלבוני קינאז תלויי-סידן, וביטוי גנים הקשורים לחסינות (Boller and Felix, 2009; Boudsocq et al., 2010). תגובת PTI מספקת בכדי להגן מפני מרבית המיקרואורגניזמים, לכן על הפתוגנים לחמוק או לדכא באופן פעיל את שכבת החסינות הראשונה הזו, בכדי להצליח ולגרום למחלה (Dou and Zhou, 2012; Dodds and Rathjen, 2010).

חסינות המופעלת על-ידי אפקטורים (ETI)

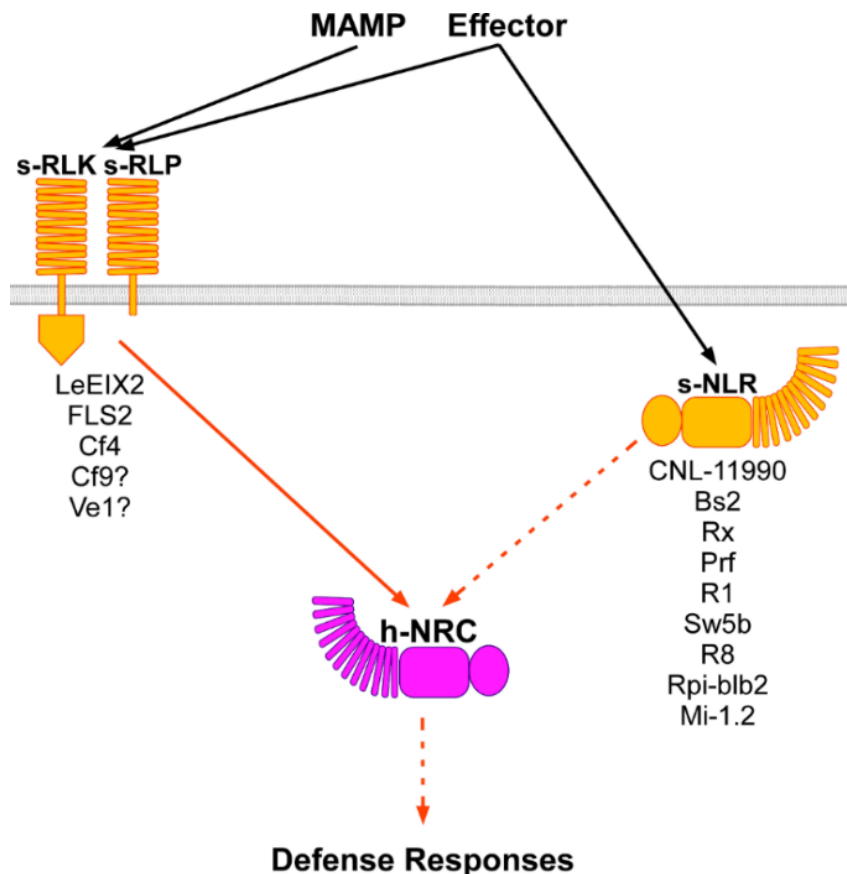
מיקרואורגניזמים שהצליחו להפוך לפתוגניים, פיתחו אסטרטגיות להתגבר על ה-PTI ולקדם התבססות מחלה על-ידי העברת מערך של חלבוני-אפקטור דרך דופן התא, לסביבה התוך תאית, באמצעות מערכת הפרשת סוג-III Type III secretion system (T3SS) (Deslandes and Rivas, 2012). ראוי לציין כי ידועים מספר אפקטורים יוצאי דופן, דוגמת האפקטורים ממשפחת ה-Cf, שאינם מופרשים לתוך תא המאכסן אלא מזוהים על-ידי רצפטורים ממבראנליים (de Wit, 2016; Hurlburt et al., 2018).

אפקטורים בתאים מודבקים מתמרנים את חילוף החומרים של המארח ומדכאים את איתותי ההגנה ואת תגובות ההגנה. לפיכך, הצמחים המאכסנים פיתחו מערך שני של חישה, המתווך על-ידי קולטני-חיסון תוך-תאיים, המזהים אפקטורים המועברים לצמח המאכסן (חלבונים א-וירולנטים (Avr)), באופן ספציפי. לאחר ההכרה, מופעלת תגובת איתות חיסונית, המובילה על פי לרוב למוות תאי מקומי באתר ההדבקה, המכונה תגובת רגישות-יתר (Hyper sensitive, HR) (Bernoux et al., 2011). קולטני-חיסון תוך-תאיים מגיבים לאפקטורים המועברים לתוך תא המאכסן, ומשפעלים חסינות המופעלת על-ידי אפקטור (ETI) (Bonardi et al., 2012; Cui et al., 2015). רוב הקולטנים החיסוניים התוך-תאיים חולקים הומולוגיה עם הקולטנים היונקיים דמויי ה-NOD. קולטנים אלו שייכים למשפחה של קולטנים קושרי-נוקלאוטידים בעלי דומיין עשיר בחזרות של לאוצין (NB-LRR או NLR, nucleotide-binding leucine-rich repeat). הפעלת NLRs מתרחשת באופן ישיר, על-ידי קשירת האפקטורים המופרשים על-ידי הפתוגן, או בעקיפין, על-ידי חישה בהפרעה/שינוי ברכיבי האיתות החיסוני של המאכסן הנגרמת על-ידי האפקטור (Win et al., 2012). קולטני ה-NLR מורכבים מדומיין מרכזי קושר נוקלאוטידים (nucleotide binding, NB) הכולל מוטיב P-loop קטליטי האחראי על מצב ההפעלה של ה-NLR, ודומיין קרבוקסי-טרמינאלי של LRR פולימורפי מאוד, בעל פוצנטיאל להקנות לקולטן את היכולת להכיר אפקטור ספציפי (Bonardi and Dangl, 2012). NLRs מסווגים לשתי תתי-קבוצות, בהתאם לדומיין האמינו-טרמינאלי שלהם: חלבוני NB- (Toll-like/interleukin 1 domain) TIR LRR (TNL) בעלי דומיין אמינו-טרמינאלי דמוי-Toll, וחלבוני NB-LRR (CNL) (coiled-coil) CC המאופיינים בדומיין אמינו-טרמינאלי הכולל סליל-coil (Marone et al., 2013).

מודלים מוקדמים הצביעו על ה-LRR כעל הדומיין האחראי על הכרה וזיהוי ספציפיים של האפקטור, המאפשר אינטראקציה ישירה עם האפקטור. מודל זה נכון לגבי כמה מערכות שבהן מושרות תגובות הגנה (Zhang et al., 2017). ממצאים חדשים שנתגלו בעשור האחרון, מצביעים על מודלים מורכבים יותר של חישת האפקטור. חלק מה-NLR חשים בשינויים שהאפקטורים גורמים במולקולות-מטרה אחרות במאכסן (Jones and Dangl, 2006). במקרים מסוימים, חלבוני-הטעיה מדמים מולקולות-מטרה מסוג זה במאכסן כדי לאפשר זיהוי על-ידי ה-NLRs (Van der Hoorn and Kamoun, 2008). מודלים עדכניים יותר מתארים רשתות מורכבות של NLRs, בהן מספר NLRs יכולים לתפקד יחד: NLR אחד פועל כ'חיישן' ונמצא באינטראקציה עם האפקטור, בעוד ה-NLR האחר פועל כ'עוזר' ויזום איתות חיסוני (Cesari et al., 2014; Wu et al., 2017, 2014). יתרה מזאת, נראה כי ל-NLR רבים מטיפוס 'חיישנים' ו-'עוזרים' יש רמות שונות של מתירנות וספציפיות, המאפשרים יצירה של רשת איתות מורכבת, מסועפת ורקומביננטית (Wu et al., 2017). הוכחו מספר מנגנונים רגולטוריים לפעילות NLR, כולל ויסות אינטרמולקולרי והומו והטרו-דימרטיזציה (Jubic et al., 2019; Wu et al., 2017). לאחרונה פוענח המבנה של חלבון ZAR1 (חלבון NLR מסוג CNL), שמדגים היווצרות של נקב בממברנת התא, בעקבות אינטראקציה עם אפקטור, שמוביל למוות תאי (Wang et al., 2019a, 2019b).

בסולניים, תת-משפחה של חלבוני NLR, המכונה NLR-הדרוש למוות-תאי (NRC), מצטיירת כמשפחה מרכזית של NLRs 'עוזרים' (h-NLRs), הדרושים למעברת האות ממספר NLRs 'חישנים' (s-NLRs) (Wu et al., 2017). מעניין לציין כי ל-h-NLRs יש את היכולת להעביר איתות גם בעקבות חישה של MAMP ו/או אפקטור שזוהו על-ידי קולטני LRP/RLK (איור 2) (Gabriels et al., 2007; Chen et al., 2016; Leibman-Markus et al., 2018a). כך שלמעשה, עולה כי ישנם חלבוני NRC שיכולים לשלב אותות בעקבות חישה/זיהוי על-ידי קולטני PRRs ו-s-NLRs כאחד ובכך משלבים איתותי PTI ו-ETI, ומהווים גורם מרכזי של חסינות בסולניים (Li et al., 2019; Jubic et al., 2019; Leibman-Markus et al., 2018a).

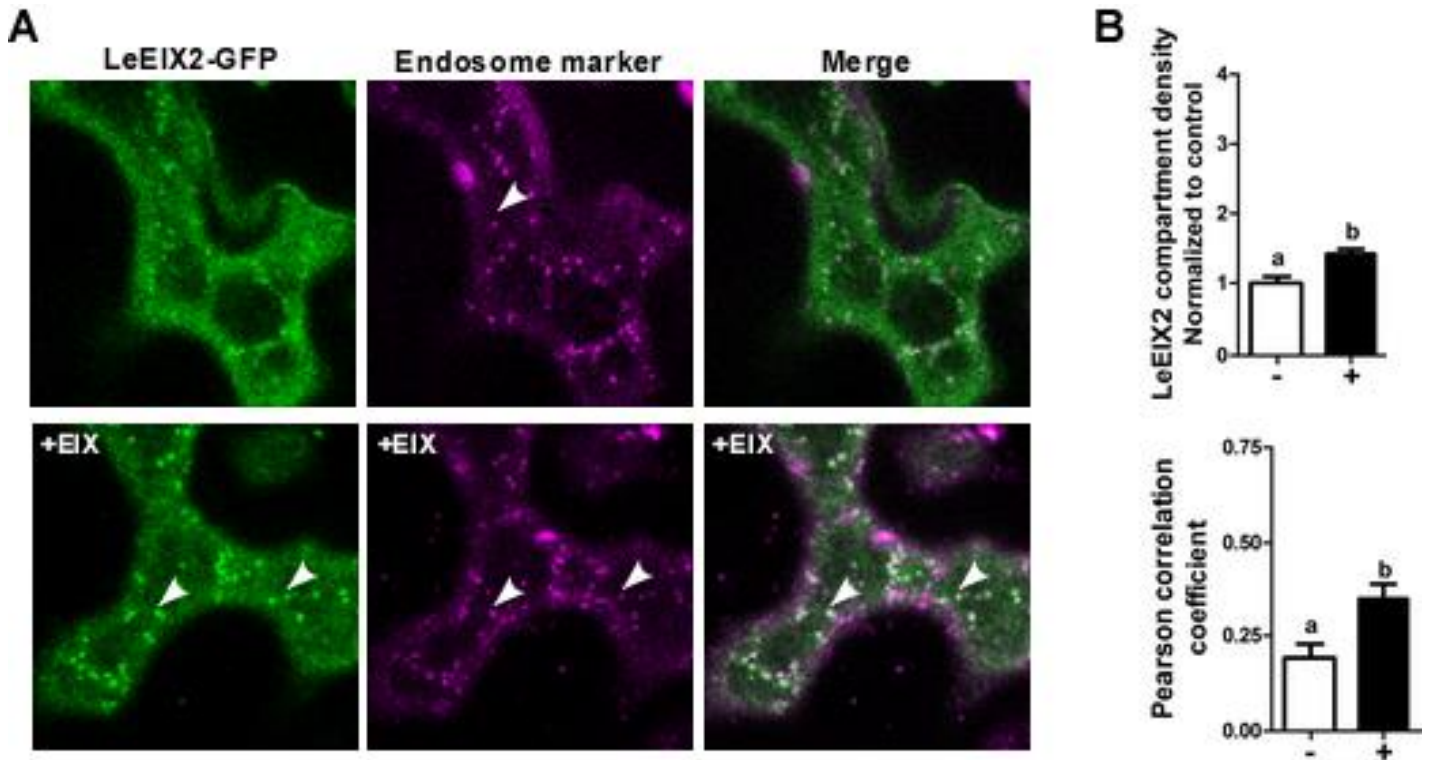
איור 2. סכמה המסכמת את איתותי ההגנה של הצמח המתווכים על-ידי קולטני NLR "עוזרים" מטיפוס NRC (h-NRC). חישה של משרנים (MAMPs) או אפקטורים על-ידי קולטני מערכת חיסון חוץ או תוך-תאיים המתפקדים כחיישני פתוגן (s-RLK, s-RLP) המובילים להתחלתו של מערך אותות תוך-תאי המתווכ על-ידי קולטני NLR "עוזרים" (h-NRC) (Leibman-Markus et al., 2018a)



שינוע תוך תאי כחלק ממנגנון ההגנה בצמח:

אנדוציטוזה הוא תופעה חיונית המתרחשת באוקריוטים, בה יש בליעה של חומר חוץ-תאי ו/או אינטרנליזציה של ממבראנת התא על חלבוניה, ומתקבלת וזיקולה/אנדוזומים תוך תאיים (Wu et al., 2014). בשנים האחרונות, התפקיד של אנדוציטוזה מתווכת-קולטנים (RME) במערכת החיסון של הצמח, נחקרה בהקשר של קולטני PRR כגון Bar and Avni, 2009; Bar et al., 2010; Ben Khaled et al., 2015; Toruno et al., 2016; Paez Valencia et al., 2016; Gu et al., 2017; Yun and Kwon, 2017). אנדוציטוזה מתווכת-קולטן, מוכרת זה מכבר כמנגנון להתחלת ולסיום איתות, באמצעות דגרדציה של קומפלקס-קולטן משופעל לאחר כניסתו משטח פני התא לתוך התא (Claus et al., 2018). בקרב בעלי החיים, הצטברו זה מכבר ראיות רבות המעידות על כך שאיתות הקולטנים אינו מוגבל לממבראנת התא בלבד (Gould and Lippincott-Schwartz, 2009; Sorkin and von Zastrow, 2009). עדויות לאיתות אנדוזומאלי, המתרחש בעקבות אנדוציטוזה של קולטנים בצמחים, נמצאו במגוון קולטנים דוגמת LeEIX2 ו-BRI1, FLS2, PEPR1 (Geldner et al., 2007). תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 151

Smith et al., 2014; Mbengue et al., 2016; Ortiz-Morea et al., 2016; Sharfman et al., 2011) במקרים אלו, ניתן לזהות הגברה של האנדוציטוזה מתווכת-קולטן בעקבות חישת משרן על-ידי קולטן זה (איור 3). בקרים של תנועה תוך-תאית נתונים בעצמם לבקרה ברמת השיעתוק ו/או לאחר התרגום, המשפיעה רבות על רמת פעילותם בתגובה לצורות רבות ושונות של איתותים חיסוניים (Paez Valencia et al., 2016). מניפולציות בבקרי תנועה מרכזיים מהווים אסטרטגיה חשובה ליכולת ההדבקה של פתוגן ו/או ליכולת של הצמח להתגונן, במקרים רבים (Pizarro et al., 2018; Ben Khaled et al., 2015; Toruno et al., 2016).



איור 3. אנדוציטוזה מתווכת-קולטן. מיקרוסקופיה קונפוקאלית של תאי אפידרמיס של *Nicotiana benthamiana* המבטאים את הקולטן מטיפוס RLP מסומן בחלבון פלורסנטי ירוק (LeEIX2-GFP) וסמן אנדוזומים באדום (VHA1a-mCherry) עם או בלי טיפול במשרן EIX. A. תמונות מיקרוסקופ קונפוקאלי. ראשי החץ מצביעים על אנדוזומים לדוגמה. B. גרף המציג את מספר האנדוזומים בהם מצוי הקולטן ואת כמות הקולטן שמצוי באותו מקום עם סמן האנדוזומים, בלי (-) ועם (+) נוכחות המשרן EIX. הכימות נעשה באמצעות תוכנת FIJI-ImageJ. הנתונים מציגים ממוצע \pm שגיאת תקן מ- $n \geq 30$ תמונות. מובהקות סטטיסטית נקבע על-פי מבחן one-way ANOVA עם Bonferroni post-test ($P \leq 0.05$). מבוסס על נתונים מתוך (Pizarro et al., 2019).

סיכום

באופן מסורתי, MAMPs (משרנים) מוגדרים כמולקולות שמורות ביותר במחלקה מיקרוביאלית מסויימת, החיוניות לכשירותו של המיקרואורגניזם (Nürnbergger and Brunner, 2002; Medzhitov and Janeway, 1997). מאידך, אפקטורים נחשבים לספציפיים למין, גזע או זן מסויים ובעלי יכולת להקנות לצמח ייתרון ביכולת ההדבקה (Bent and Mackey, 2007; Chisholm et al., 2006). יחד עם זאת, מספר משרנים ואפקטורים מסרבים "להקשיב להוראות" ומשתייכים לקבוצה הולכת וגדלה של מקרים יוצאי דופן לחלוקה המלאכותית שיצר האדם. למשל, החלבונים NEP1 ו-NEP1-like הם אפקטורים שתורמים ליכולת ההדבקה של הפתוגן, אך אף על פי-כן, הם שמורים בין חיידקים, פיטריות תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 152

ואאומוצטים (Vidhyasekaran, 2014; Thomma et al., 2011). גם חלבון האפקטור החוץ-תאי Eco6 והחלבונים השמורים האורטולוגים לו- LysM, harpin and crinkler תורמים ליכולת ההדבקה של פתוגנים אך שמורים בין חיידקים גרם-שליליים, פיטריות ואאומוצטיים (Thomma et al., 2011; Vidhyasekaran, 2014). מאידך, אנו מוצאים דוגמאות למשרנים עם תפוצה צרה ביותר כגון Ax21 ו- Pep-13 הקיימים רק במספר תבדידי החיידק *Xanthomonas* ומיני האאומוצט *Phytophthora*, בהתאמה. כמו כן, קיימים משרנים רבים כגון פלג'לין, ליפופוליסכרידים, כיטין, EIX ו- PWL התורמים ליכולת ההדבקה של הפתוגן (Thomma et al., 2011; Vidhyasekaran, 2014).

ההבחנה והחלוקה בין מערך ה-PTI וה-ETI, מבלבלת אף היא. על פי רוב ETI מתוארת כמובילה לתגובות הגנה מהירות יותר וחזקות יותר, המגיעות בשיאן למוות התאי המוכר כתגובת רגישות-יתר (HR) (Tsuda and Katagiri, 2010; Boutrot and Zipfel, 2017). אף על פי כן, אנו יודעים על מספר משרנים (MAMPs) שיכולים לגרום אף הם לתגובת רגישות-יתר, ביניהם פלג'לין, CBEL ו- EIX (Khatib et al., 2004; Hann and Rathjen, 2007; Ron and Avni, 2004; Naito et al., 2008). בעוד שניתן למצוא אפקטורים שגורמים ל-ETI חלש ביותר שאינו מגיע בהכרח לתגובת רגישות-היתר, למשל RPS4 ו- Ve1 המהווים אפקטורים של החיידק פסאודומונאס (*Pseudomonas*) והפטרייה ורטיציליום (*Verticillium*), בהתאמה (Van Esse et al., 2009; Wirthmueller et al., 2007).

הבחנה מבלבלת נוספת, הינה אופי הקולטנים שמתווכים את החסינויות השונות. חסינות ה-PTI מתווכת על-ידי קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR) מטיפוס RLP או RLP, המצויים על פני ממברנת-התא ופונים לחלל החוץ-תאי (Liang and Zhou, 2018). מנגד, ETI מתווכת על-ידי קולטנים תוך-תאיים ציטופלזמיים, בדרך-כלל מטיפוס NLR (Dodds and Rathjen, 2010). אך גם במקרה זה, הטבע אינו מתיישר באופן מושלם עם חלוקת המדענים. קיימות דוגמאות רבות של קולטנים ממבראנליים מטיפוס RLP שמזהים אפקטורים חוץ-תאיים ומשפעלים את מסלול ה-ETI, כגון Cf2, Cf4, Hcr9-4E, Cf5, Cf9, Ve1 ו- LepR3/RLM2 (Catanzariti et al., 2017; Dixon et al., 1996; Thomas et al., 1997; Dixon et al., 1998; Jones et al., 1994; Larkan et al., 2013; Westerink et al., 2004; Van Esse et al., 2009). כמו גם קולטן מטיפוס RLK שמגיב לאפקטור I-3 (Catanzariti et al., 2015). דוגמאות אלו מהוות עדות לחוסר ההתאמה והבעייתיות בניסיון שלנו לפשט, להגדיר ולקטלג. הצמחים אינם 'מודעים' לחלוקה ל-PTI ו-ETI, למשרנים ולאפקטורים אלא נלחמים במלחמת החימוש הבלתי נגמרת על שרידותם. אנו, כמי שנסמכים על גידול בר-קיימא של צמחים בכדי לכלכל את אוכלוסיית העולם הגדלה, שואפים להבין את המלחמה הזו על בוריה בכדי להבטיח את ניצחונם של הצמחים.

מקורות

- Ali R., Ma W., Lemtiri-Chlieh F., Tsaltas D., Leng Q., von Bodman S. and Berkowitz G. A. (2007) Death don't have no mercy and neither does calcium: Arabidopsis CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL2 and innate immunity. *Plant Cell* 19: 1081–1095.
- Balasubramanian V., Vashisht D., Cletus J. and Sakthivel N. (2012) Plant beta-1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters* 34: 1983–1990.
- Bar M. and Avni A. (2009) EHD2 inhibits ligand-induced endocytosis and signaling of the leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2. *The Plant Journal* 59: 600–611.

- Bar M., Sharfman M., Ron M. and Avni A. (2010) BAK1 is required for the attenuation of ethylene-inducing xylanase (Eix)-induced defense responses by the decoy receptor LeEix1. *The Plant Journal* 63: 791–800.
- Bari R. and Jones J. D. G. (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* 69: 473–88.
- Beffa R. S., Hofer R., Thomas M. and Meins Jr. F. (1996) Decreased susceptibility to viral disease of [β]-1,3-glucanase-deficient plants generated by antisense transformation. *Plant Cell* 8: 1001–1011.
- Bent A. F. and Mackey D. (2007) Elicitors, effectors and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* 45: 399–436.
- Bernoux M., Ellis J. G. and Dodds P. N. (2011) New insights in plant immunity signaling activation. *Current Opinions in Plant Biology* 14: 512–518.
- Bestwick C. S., Bennett M. H. and Mansfield J. W. (1995) Hrp mutant of *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* induces cell wall alterations but not membrane damage leading to the hypersensitive reaction in lettuce. *Plant Physiology* 108: 503–516.
- Betsuyaku S., Katou S., Takebayashi Y., Sakakibara H., Nomura N. and Fukuda H. (2018) Salicylic acid and jasmonic acid pathways are activated in spatially different domains around the Infection site during effector-triggered immunity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 59: 8–16.
- Bigeard J., Colcombet J. and Hirt H. (2015) Signaling Mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). *Molecular Plant* 8: 521–539.
- Böhm H., Albert I., Fan L., Reinhard A. and Nürnberger T. (2014) Immune receptor complexes at the plant cell surface. *Current Opinion in Plant Biology* 20: 47–54.
- Boller T. and Felix G. (2009) A renaissance of elicitors: Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology* 60: 379–406.
- Bolton M. D. (2009) Primary metabolism and plant defense--fuel for the fire. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 22: 487–497.
- Bonardi V., Cherkis K., Nishimura M.T. and Dangl J.L. (2012) A new eye on NLR proteins: Focused on clarity or diffused by complexity? *Current Opinion in Immunology* 24: 41–50.
- Bonardi V. and Dangl J. L. (2012) How complex are intracellular immune receptor signaling complexes? *Frontiers in Plant Science* 3: 237.
- Boudsocq M., Willmann M. R., McCormack M., Lee H., Shan L., He P., Bush J., Cheng S. H. and Sheen J. (2010) Differential innate immune signalling via Ca(2+) sensor protein kinases. *Nature* 464: 418–422.
- Boutrot F. and Zipfel C. (2017) Function, Discovery and exploitation of plant pattern recognition

- receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 55: 257–286.
- Broekaert W. F., Delaure S. L., De Bolle M. F. C. and Cammue B. P. A. (2006) The role of ethylene in host-pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology* 44: 6.1-6.24.
- Catanzariti A.-M., Do H. T. T., Bru P., de Sain M., Thatcher L. F., Rep M. and Jones D. A. (2017) The tomato *I* gene for Fusarium wilt resistance encodes an atypical leucine-rich repeat receptor-like protein whose function is nevertheless dependent on SOBIR1 and SERK3/BAK1. *The Plant Journal* 89: 1195–1209.
- Catanzariti A.-M., Lim G. T. T. and Jones D.A. (2015) The tomato *I-3* gene: a novel gene for resistance to Fusarium wilt disease. *New Phytologist* 207: 106–118.
- Cesari S., Bernoux M., Moncuquet P., Kroj T. and Dodds P.N. (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Frontiers in Plant Science* 5: 606.
- Che F. S., Nakajima Y., Tanaka N., Iwano M., Yoshida T., Takayama S., Kadota I. and Isogai A. (2000) Flagellin from an incompatible strain of *Pseudomonas avenae* induces a resistance response in cultured rice cells. *Journal of Biological Chemistry* 275: 32347–32356.
- Chen X., Zhu M., Jiang L., Zhao W., Li J., Wu J., Li C., Bai B., Lu G., Chen H., Moffett P. and Tao X. (2016) A multilayered regulatory mechanism for the autoinhibition and activation of a plant CC-NB-LRR resistance protein with an extra N-terminal domain. *New Phytologist* 212: 161–175.
- Chinchilla D., Bauer Z., Regenass M., Boller T. and Felix G. (2006) The Arabidopsis receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *Plant Cell* 18: 465–476.
- Chinchilla D., Zipfel C., Robatzek S., Kemmerling B., Nurnberger T., Jones J. D., Felix G. and Boller T. (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448: 497–500.
- Chisholm S. T., Coaker G., Day B. and Staskawicz B. J. (2006) Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124: 803–814.
- Claus L. A. N., Savatin D. V. and Russinova E. (2018) The crossroads of receptor-mediated signaling and endocytosis in plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 60: 827–840.
- Coll N. S., Epple P. and Dangl J. L. (2011) Programmed cell death in the plant immune system. *Cell Death and Differentiation* 18: 1247–1256.
- Couto D. and Zipfel C. (2016) Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Nature Reviews Immunology* 16: 537–552.
- Cui H., Tsuda K. and Parker J. E. (2015) Effector-triggered immunity: From pathogen perception to robust defense. *Annual Review of Plant Biology* 66: 487–511.
- Dangl J. L., Dietrich R. A. and Richberg M. H. (1996) Death don't have no mercy: Cell death

- programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell* 8: 1793–1807.
- de Wit P. J. G. M. (2016) *Cladosporium fulvum* effectors: Weapons in the arms race with tomato. *Annual Review of Phytopathology* 54: 1–23.
- Deslandes L. and Rivas S. (2012) Catch me if you can: Bacterial effectors and plant targets. *Trends in Plant Science* 17: 644–655.
- Di X., Gomila J. and Takken F. L. W. (2017) Involvement of salicylic acid, ethylene and jasmonic acid signalling pathways in the susceptibility of tomato to *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 18: 1024–1035.
- Dixon M. S., Hatzixanthis K., Jones D.A., Harrison K. and Jones J. D. G. (1998) The tomato Cf-5 disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucine-rich repeat copy number. *Plant Cell* 10: 1915–1925.
- Dixon M. S., Jones D. A., Keddie J. S., Thomas C. M., Harrison K. and Jones J. D. (1996) The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. *Cell* 84: 451–459.
- Dodds P. N. and Rathjen J. P. (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11: 539–548.
- Dou D. and Zhou J. M. (2012) Phytopathogen effectors subverting host immunity: Different foes, similar battleground. *Cell Host Microbe* 12: 484–495.
- Du H., Wang Y., Yang J. and Yang W. (2015) Comparative transcriptome analysis of resistant and susceptible tomato lines in response to infection by *Xanthomonas perforans* Race T3. *Frontiers in Plant Science* 6: 1173.
- Ecker J. R. and Davis R. W. (1987) Plant defense genes are regulated by ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 84: 5202–5206.
- Eshed Y., Abu-Abied M., Saranga Y. and Zamir D. (1992) *Lycopersicon esculentum* lines containing small overlapping introgressions from *L. pennellii*. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 1027–1034.
- Esquerre-Tugaye M. T., Lafitte C., Mazau D., Toppan A. and Touze A. (1979) Cell surfaces in plant-microorganism interactions: II. Evidence for the accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in the cell wall of diseased plants as a defense mechanism. *Plant Physiology* 64: 320–326.
- Felix G., Duran J. D., Volko S. and Boller T. (1999) Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *The Plant Journal* 18: 265–276.
- Fu Z. Q., Yan S., Saleh A., Wang W., Ruble J., Oka N., Mohan R., Spoel S. H., Tada Y., Zheng N. and Dong X. (2012) NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486: 228–232.
- Gabriels S.H., et al. (2007) An NB-LRR protein required for HR signalling mediated by both extra-

- and intracellular resistance proteins. *The Plant Journal* 50: 14–28.
- Garcia-Brugger A., Lamotte O., Vandelle E., Bourque S., Lecourieux D., Poinssot B., Wendehenne D. and Pugin A. (2006) Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 711–724.
- Geldner N., Hyman D. L., Wang X., Schumacher K. and Chory J. (2007) Endosomal signaling of plant steroid receptor kinase BRI1. *Genes and Development* 21: 1598–1602.
- Gilroy S., Suzuki N., Miller G., Choi W.G., Toyota M., Devireddy A. R. and Mittler R. (2014) A tidal wave of signals: Calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Trends in Plant Science* 19: 623–630.
- Glazebrook J. (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43: 205–227.
- Gohre V., Jones A. M., Sklenar J., Robatzek S. and Weber A. P. (2012) Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25: 1083–1092.
- Gomez-Gomez L. and Boller T. (2000) FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* 5: 1003–1011.
- Gould G. W. and Lippincott-Schwartz J. (2009) New roles for endosomes: From vesicular carriers to multi-purpose platforms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10: 287–292.
- Greenberg J. T. (1997) Programed cell death in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Plant Physiology* 48: 525–545.
- Gu Y., Zavaliev R. and Dong X. (2017) Membrane trafficking in plant immunity. *Molecular Plant* 10: 1026–1034.
- Gust A. A. and Felix G. (2014) Receptor like proteins associate with SOBIR1-type of adaptors to form bimolecular receptor kinases. *Current Opinion in Plant Biology* 21: 104–111.
- Hammond-Kosack K. E. and Jones J. D. G. (1996) Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* 8: 1773–1791.
- Hann D. R. and Rathjen J. P. (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *The Plant Journal* 49: 607–618.
- Meller Harel Y., Mehari Z. H., Rav-David D. and Elad Y. (2014) Systemic resistance to gray mold induced in tomato by benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. *Phytopathology* 104: 150–157.
- Hayward A. P., Tsao J. and Dinesh-Kumar S. P. (2009) Autophagy and plant innate immunity: defense through degradation. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 20: 1041–1047.
- Henry E., Yadeta K. A. and Coaker G. (2013) Recognition of bacterial plant pathogens: local, systemic and transgenerational immunity. *New Phytologist* 199: 908–915.
- Hurlburt N. K., Chen L.-H., Stergiopoulos I. and Fisher A. J. (2018) Structure of the *Cladosporium*

- fulvum* Avr4 effector in complex with (GlcNAc)₆ reveals the ligand-binding mechanism and uncouples its intrinsic function from recognition by the Cf-4 resistance protein. *PLOS Pathogens* 14: e1007263.
- Jones D. A., Thomas C. M., Hammond-Kosack K. E., Balint-Kurti P. J. and Jones J. D. G. (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* 266: 789–793.
- Jones J. D. G. and Dangl J. L. (2006) The plant immune system. *Nature* 444: 323–329.
- Jubic L. M., Saile S., Furzer O. J., El Kasmi F. and Dangl J. L. (2019) Help wanted: Helper NLRs and plant immune responses. *Current Opinion in Plant Biology* 50: 82–94.
- Kadota Y., Shirasu K. and Zipfel C. (2015) Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant Cell Physiology* 56: 1472–1480.
- Kawchuk L. M., et al. (2001) Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 98: 6511–6515.
- Ben Khaled S., Postma J. and Robatzek S. (2015) A moving view: subcellular trafficking processes in pattern recognition receptor-triggered plant immunity. *Annual Review of Phytopathology* 53: 379–402.
- Khatib M., Lafitte C., Esquerre-Tugaye M.-T., Bottin A. and Rickauer M. (2004) The CBEL elicitor of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* activates defence in *Arabidopsis thaliana* via three different signalling pathways. *New Phytologist* 162: 501–510.
- Larkan N. J., Lydiate D. J., Parkin I. A.P., Nelson M. N., Epp D. J., Cowling W. A., Rimmer S. R. and Borhan M. H. (2013) The *Brassica napus* blackleg resistance gene *LepR3* encodes a receptor-like protein triggered by the *Leptosphaeria maculans* effector AVRML1. *New Phytologist* 197: 595–605.
- Leibman-Markus M., Pizarro L., Bar M., Coaker G. and Avni A. (2018a) NRC proteins - a critical node for pattern and effector mediated signaling. *Plant Signaling and Behavior* 13: 1–4.
- Leibman-Markus M., Pizarro L., Schuster S., Lin Z. J. D., Gershony O., Bar M., Coaker G. and Avni A. (2018b) The intracellular nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor (SINRC4a) enhances immune signalling elicited by extracellular perception. *Plant, Cell and Environment* 41: 2313–2327.
- Li S., et al. (2019) The hypersensitive induced reaction 3 (HIR3) gene contributes to plant basal resistance via an EDS1 and salicylic acid-dependent pathway. *The Plant Journal* 3: 1–15.
- Liang X. and Zhou J.-M. (2018) Receptor-like cytoplasmic kinases: Central players in plant receptor kinase-mediated signaling. *Annual Review of Plant Biology* 69: 267–299.
- Liu L., Sonbol F.-M., Huot B., Gu Y., Withers J., Mwimba M., Yao J., He S.Y. and Dong X. (2016) Salicylic acid receptors activate jasmonic acid signalling through a non-canonical pathway to promote effector-triggered immunity. *Nature Communications* 7: 13099.

- Macho A. P. and Zipfel C. (2014) Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Molecular Cell* 54: 263–72.
- Marone D., Russo M. A., Laido G., De Leonardis A. M. and Mastrangelo A. M. (2013) Plant nucleotide binding site-leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes: active guardians in host defense responses. *International Journal of Molecular Science* 14: 7302–7326.
- Mbengue M., Bourdais G., Gervasi F., Beck M., Zhou J., Spallek T., Bartels S., Boller T., Ueda T., Kuhn H. and Robatzek S. (2016) Clathrin-dependent endocytosis is required for immunity mediated by pattern recognition receptor kinases. *PNSA* 113: 11034-11039.
- Medzhitov R. and Janeway C. A. (1997) Innate immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 91: 295–298.
- Melotto M., Underwood W., Koczan J., Nomura K. and He S. Y. (2006) Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell* 126: 969–980.
- Muthamilarasan M. and Prasad M. (2013) Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism. *Journal of Bioscience* 38: 433–449.
- Naito K., Taguchi F., Suzuki T., Inagaki Y., Toyoda K., Shiraishi T. and Ichinose Y. (2008) Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 1165–1174.
- Noman A. and Aqeel M. (2019) PRRs and NB-LRRs : From Signal Perception to Activation of Plant Innate Immunity. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 1882.
- Nomura H., et al. (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nature Communications* 3: 926.
- Nürnberg T. and Brunner F. (2002) Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 318–24.
- Ortiz-Morea F. A., et al. (2016) Danger-associated peptide signaling in *Arabidopsis* requires clathrin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 113: 11028-11033.
- Paez Valencia J., Goodman K. and Otegui M. S. (2016) Endocytosis and endosomal trafficking in plants. *Annual Review of Plant Biology* 67: 309–335.
- Penninckx I. A., Thomma B. P., Buchala A., Metraux J. P. and Broekaert W. F. (1998) Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 2103–2113.
- Pieterse C. M., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A. and Van Wees S. C. (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell Development and Biology* 28: 489–521.
- Pieterse C. M. J., Leon-Reyes A., Van der Ent S. and Van Wees S. C. M. (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology* 5: 308–316.

- Pizarro L., Leibman-Markus M., Schuster S., Bar M. and Avni A. (2019) Tomato Dynamin Related Protein 2A associates with LeEIX2 and enhances PRR mediated defense by modulating receptor trafficking. *Frontiers in Plant Science* 10: 936.
- Pizarro L., Leibman-Markus M., Schuster S., Bar M., Meltz T. and Avni A. (2018) Tomato prenylated RAB acceptor protein 1 modulates trafficking and degradation of the pattern recognition receptor LeEIX2, affecting the innate immune response. *Frontiers in Plant Science* 9: 257.
- Qi Z., Verma R., Gehring C., Yamaguchi Y., Zhao Y., Ryan C. A. and Berkowitz G. A. (2010) Ca²⁺ signaling by plant *Arabidopsis thaliana* Pep peptides depends on AtPepR1, a receptor with guanylyl cyclase activity and cGMP-activated Ca²⁺ channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107: 21193–21198.
- Ranf S., Gisch N., Schäffer M., Illig T., Westphal L., Knirel Y. A., Sánchez-Carballo P. M., Zähringer U., Hückelhoven R., Lee J. and Scheel D. (2015) A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Immunology* 16: 426–433.
- Reddy V. S. and Reddy A. S. (2004) Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry* 65: 1745–1776.
- Ron M. and Avni A. (2004) The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase Is a member of a resistance-like gene family in tomato. *The Plant Cell* 16: 1604–1615.
- Santner A. and Estelle M. (2009) Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature* 459: 1071–1078.
- Schulze B., Mentzel T., Jehle A.K., Mueller K., Beeler S., Boller T., Felix G. and Chinchilla D. (2010) Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. *Journal of Biological Chemistry* 285: 9444–9451.
- Sharfman M., Bar M., Ehrlich M., Schuster S., Melech-Bonfil S., Ezer R., Sessa G. and Avni A. (2011) Endosomal signaling of the tomato leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2. *The Plant Journal* 68: 413–423.
- Smith J. M., Salamango D. J., Leslie M. E., Collins C. A. and Heese A. (2014) Sensitivity to Flg22 is modulated by ligand-induced degradation and de novo synthesis of the endogenous flagellin-receptor FLAGELLIN-SENSING2. *Plant Physiology* 164: 440–454.
- Sorkin A. and von Zastrow M. (2009) Endocytosis and signalling: Intertwining molecular networks. *Nature Reviews of Molecular and Cell Biology* 10: 609–622.
- Strange R. N. and Scott P. R. (2005) Plant disease: a threat to global food security. *Annual Review of Phytopathology* 43: 83–116.
- Sun Y., Li L., Macho A. P., Han Z., Hu Z., Zipfel C., Zhou J. M. and Chai J. (2013) Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 342: 624–628.
- Taguchi F., Shimizu R., Inagaki Y., Toyoda K., Shiraishi T. and Ichinose Y. (2003) Post-translational

- modification of flagellin determines the specificity of HR induction. *Plant Cell Physiology* 44: 342–349.
- Takken F. L., Thomas C. M., Joosten M. H., Golstein C., Westerink N., Hille J., Nijkamp H. J., De Wit P. J. and Jones J. D. (1999) A second gene at the tomato Cf-4 locus confers resistance to *Cladosporium fulvum* through recognition of a novel avirulence determinant. *The Plant Journal* 20: 279–288.
- Tenhaken R., Levine A., Brisson L. F., Dixon R.A. and Lamb C. (1995) Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 4158–4163.
- Thomas C. M., Jones D. A., Parniske M., Harrison K., Balint-Kurti P., Hatzixanthis K. and Jones J. D. (1997) Characterization of the tomato Cf-4 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognitional specificity in Cf-4 and Cf-9. *Plant Cell* 9: 2209–2224.
- Thomma B. P., Eggermont K., Penninckx I. A., Mauch-Mani B., Vogelsang R., Cammue B. P. and Broekaert W. F. (1998) Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in Arabidopsis are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 15107–11.
- Thomma B. P. H. J., Nürnberger T. and Joosten M. H. A. J. (2011) Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant cell* 23: 4–15.
- Tör M., Lotze M. T. and Holton N. (2009) Receptor-mediated signalling in plants: Molecular patterns and programmes. *Journal of Experimental Botany* 60: 3645-3654.
- Toruno T. Y., Stergiopoulos I. and Coaker G. (2016) Plant-Pathogen Effectors: Cellular Probes Interfering with Plant Defenses in Spatial and Temporal Manners. *Annual Review of Phytopathology* 54: 419–441.
- Tsuda K. and Katagiri F. (2010) Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 459–65.
- Van der Hoorn R. A. and Kamoun S. (2008) From guard to geocoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20: 2009–2017.
- Van der Hoorn R. A. L., Wulff B. B. H., Rivas S., Durrant M. C., Van der Ploeg A., de Wit P. J. G. M. and Jones J. D. G. (2005) Structure-function analysis of cf-9, a receptor-like protein with extracytoplasmic leucine-rich repeats. *The Plant Cell* 17: 1000–1015.
- Van Esse H. P., Fradin E. F., De Groot P. J., De Wit P. J. G. M. and Thomma B. P. H. J. (2009) Tomato transcriptional responses to a foliar and a vascular fungal pathogen are distinct. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 245–258.
- Van der Molen G.E., Labavitch J. M., Strand L. L. and DeVay J. E. (1983) Pathogen-induced vascular gels: Ethylene as a host intermediate. *Physiologia Plantarum* 59: 573–580.

- Vega A., Canessa P., Hoppe G., Retamal I., Moyano T. C., Canales J., Gutiérrez R. A. and Rubilar J. (2015) Transcriptome analysis reveals regulatory networks underlying differential susceptibility to *Botrytis cinerea* in response to nitrogen availability in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science* 6: 911.
- Verhage A., Van Wees S. C. and Pieterse C. M. (2010) Plant immunity: It's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology* 154: 536–540.
- Vidhyasekaran P. (2014) PAMP signaling in plant innate immunity. In PAMP Signals in: Vidhyasekaran P. (ed.) *Plant Innate Immunity: Signal Perception and Transduction, Signaling and Communication in Plants*, Springer Science and Business Media, Dordrecht, the Netherlands, pp. 17–161.
- Wang J., Hu M., Wang J., Qi J., Han Z., Wang G., Qi Y., Wang H.-W., Zhou J.-M. and Chai J. (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* 364: eaav5870.
- Wang J., Wang J., Hu M., Qi J., Wang G., Han Z., Qi Y., Wang H.-W., Zhou J.-M. and Chai J. (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* 364(6435).
- Wang W. H., Yi X. Q., Han A. D., Liu T. W., Chen J., Wu F. H., Dong X. J., He J. X., Pei Z. M. and Zheng H. L. (2012) Calcium-sensing receptor regulates stomatal closure through hydrogen peroxide and nitric oxide in response to extracellular calcium in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany* 63: 177–190.
- Westerink N., Brandwagt B. F., De Wit P. J. G. M. and Joosten M. H. A. J. (2004) *Cladosporium fulvum* circumvents the second functional resistance gene homologue at the Cf-4 locus (Hcr9-4E) by secretion of a stable avr4E isoform. *Molecular Microbiology* 54: 533–545.
- Win J., Chaparro-Garcia A., Belhaj K., Saunders D. G., Yoshida K., Dong S., Schornack S., Zipfel C., Robatzek S., Hogenhout S. A. and Kamoun S. (2012) Effector biology of plant-associated organisms: concepts and perspectives. *Cold Spring Harb Symposium Quant Biology* 77: 235–247.
- Wirthmueller L., Zhang Y., Jones J. D. G. and Parker J. E. (2007) Nuclear accumulation of the *Arabidopsis* immune receptor RPS4 is necessary for triggering EDS1-dependent defense. *Current Biology* 17: 2023–2029.
- Wu C. H., Abd-El-Halim A., Bozkurt T. O., Belhaj K., Terauchi R., Vossen J. H. and Kamoun S. (2017) NLR network mediates immunity to diverse plant pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 114: 8113–8118.
- Wu L., Chen H., Curtis C. and Fu Z. Q. (2014) Go in for the kill. *Virulence* 5: 710–721.
- Yang Y.-X., Wang M. -M., Yin Y. -L., Onac E., Zhou G. -F., Peng S., Xia X. -J., Shi K., Yu J. -Q. and Zhou Y.-H. (2015) RNA-seq analysis reveals the role of red light in resistance against

- Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 in tomato plants. BMC Genomics 16: 120.
- Yun H. S. and Kwon C. (2017) Vesicle trafficking in plant immunity. Current Opinion in Plant Biology 40: 34–42.
- Zhang W., He S. Y. and Assmann S. M. (2008) The plant innate immunity response in stomatal guard cells invokes G-protein-dependent ion channel regulation. The Plant Journal 56: 984–996.
- Zhang X., Dodds P. N. and Bernoux M. (2017) What do we know about NOD-like receptors in plant immunity? Annual Review of Phytopathology 55: 205–229.
- Zipfel C., Robatzek S., Navarro L., Oakeley E. J., Jones J. D. G., Felix G. and Boller T. (2004) Bacterial disease resistance in Arabidopsis through flagellin perception. Nature 428: 764–767.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 11: השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים

מירב לייבמן-מרקוס, מיה בר ויגאל אלעד

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

בעקבות גירויים שונים כגון הדבקה על ידי פתוגן, התיישבות של מיקרואורגניזמים מועילים או פרוקי רגליים, וגירויים מגורמים כימיים ואביוטיים שמתפקדים כסמני אזהרה, צמחים יכולים לכונן מצב פיזיולוגי ייחודי להשראת עמידות – "תיחול" (Priming) בצמח. גירויים אלו יכולים להוות איתות אזהרה ולהביא לביסוס השראת העמידות בצמח. בעקבות חישת הגירוי, מתרחשים שינויים בצמח ברמה הפיזיולוגית המטבולית, האפי-גנטית וברמת השעתוק. במצב זה, כאשר הצמח יאותגר על ידי מיקרואורגניזם פתוגני, חרקים אוכלי צמחים, או אפילו גורמים ועקות אביוטיים, הוא יגיב באופן מהיר ו/או חזק יותר. למעשה, השראת עמידות היא אסטרטגיה אדפטיבית, המשפרת את יכולות ההגנה של הצמח ומאפשרת לו להגיב ביעילות גדולה יותר לכשיתקל באיום ממשי. השראת העמידות יכולה להיות בת-קיימה ולהימשך במהלך מחזור חיי הצמח ואפילו להיות מורשת לדורות הבאים, כזיכרון חיסוני בצמח. השראת עמידות מיושמת באופן מעשי באמצעות מדבירים ביולוגיים, חומרים סינתטיים הניתנים לצמחים, שינויי מיקרוביום בעקבות טיפולים בנוף או בקרקע ועל ידי טיפולים פיזיקליים.

אופן הציטוט: לייבמן-מרקוס מ', בר מ' ואלעד י' (2021) **השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים**. פרק 11, ע' 164-186 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52037>



מבוא

צמחים מקובעים במקומם ולכן אינם יכולים להימלט מפתוגנים, פרוקי רגליים או עקות אביוטיות. הם מתגוננים בעזרת מחסומים פיזיקאליים וכימיים כגון שעוות העלה, דופן התא ופיטואנטיסיפינים (Phytoanticipins - חומרים מעכבים (אנטיביוטים) המצויים בצמח עוד בטרם נחשף לפתוגן) שתורמים להישרדותם (Agrios, 2005)). בכדי להתמודד עם תנאי עקה סביבתיים (ביוטיים ואביוטיים כאחד), פיתחו הצמחים מנגנונים משוכללים לחישת עקות שונות ולהסתגלות אליהם על ידי שינויים פיזיולוגיים מהירים, דינמיים ומורכבים. במצב אידיאלי, שינויים אלו יובילו לעמידות מוגברת למול עקה קיימת, מבלי לגבות מחיר ממשי ולפגוע (משמעותית) בכושר (Fitness) של הצמח. הבנה מקיפה של המנגנונים המולקולאריים והפיזיולוגיים העומדים בבסיס העמידות המושרית כנגד מחלות, תוביל אותנו לתובנות מעמיקות יותר בכל הקשור לחישת גירויים והולכת אותות בצמח, ויאפשרו לנו להתמודד באופן טוב יותר ובר-קימא בניהול מחלות צמחים בטבע ובחקלאות.

עמידות מושרית (IR - Induced resistance)

עמידות מושרית (IR) היא רגישות ותגובתיות מוגברים לעקות, הודות לחשיפה קודמת לגירוי, אשר מובילה לעמידות ו/או סיבולת מוגברת. עד לתחילת שנות האלפיים, התעלמו מהעמידות המושרית במחקרי מערכת החיסון הצמחית וההתנגדות המושרית. בתחילת שנות האלפיים פורסמו מספר עבודות מקיפות (Prime-A-Conrath et al., 2002; Plant Group et al., 2006). מחקרים אלו התמקדו בהתניות להגברת תגובות ההגנה כנגד פתוגנים. כיום, מקובל להגדיר את העמידות המושרית כחלק בלתי נפרד מתנגודת מושרית. בצמח פועלים אמצעי הגנה כנגד תוקפים פוטנציאליים, תוך שהוא מכין את מערכת ההגנה שלו לתגובה מהירה ו/או חזקה יותר בעתיד. יתרה מכך, עמידות מושרית זו יעילה לא רק כנגד מתקפה עתידית של פתוגנים, אלא גם כנגד חרקים ופרוקי רגליים (Frost et al., 2008; Engelberth et al., 2004) וכנגד עקות אביוטיות (Theocharis et al., 2012; Beckers and Conrath, 2007).

עמידות מערכתית נרכשת (SAR - Systemic acquired resistance)

כאשר צמח מותקף על ידי פתוגן, הוא יכול לפתח עמידות כנגד קשת רחבה וייחודית של פתוגנים נוספים (Ryals et al., 1996; Durrant and Dong, 2004). העמידות המושרית (IR) על ידי פתוגן יכולה להתבסס ברקמה הסובבת את אתר ההדבקה הראשוני וגם ברקמות מרוחקות ובלתי מודבקות בצמח. העמידות הנוצרת בסמיכות לנקודת ההדבקה מכונה עמידות נרכשת מקומית (LAR - Localized acquired resistance) ואילו העמידות המתקבלת ברקמות מרוחקות מכונה עמידות נרכשת מערכתית (- Systemic acquired resistance SAR) (Ross, 1961b, 1961a; Hammerschmidt, 2009). העמידויות הנרכשות, המקומית והמערכתית כאחד, מאופיינות בעליה בחלבונים הקשורים בפתוגנים (ראו חלבונים הקשורים בפתוגנים בפרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים) שעשויים להיות גם בעלי תכונות אנטי-מיקרוביאליות ולתרום לעמידות (Van Loon et al., 2006). ואולם, זהות האותות המשוערים ממקום ההדבקה הראשוני לחלקים המרוחקים של הצמח, וגורמים לביטוי החלבונים הקשורים בתגובה לפתוגנים בפרט ולעמידות מערכתית נרכשת בכלל, עדיין אינה ברורה (Prime-A-Plant Group et al., 2006; Durrant and Dong, 2004; Grant and Lamb, 2006; Heil and Ton, 2008; Ryals et al., 1996). מחקרים רבים מעידים כי אחד משחקני המפתח החיוניים לקיום עמידות מערכתית נרכשת הינו חומצה סליצילית (SA) (Dong, 2001), אך אין זה ברור אם החומצה הסליצילית בעצמה הינה הגורם המשוער ממקור ההדבקה לשאר רקמות הצמח בכדי להשרות בהם את העמידות (Champigny and Cameron, 2009; Gao et al., 2015). מולקולות איתות נוספות החשודות כגורם האנדוגני המשוער ברקמות הצמח הינן נגזרת של חומצה סליצילית - מתיל-סליצילאט (MeSA), מולקולות איתות הנגזרות משומנים ובהן גם חומצה ג'סמונית (JA), חומצה אזלאית, פפטידים ותרבות חמצן פעיל (Vlot et al. (ROS) (2008). כלל הממצאים הללו מלמדים על האפשרות שלמעשה מדובר בשילוב של מספר גורמים/מולקולות שונים, ויתכן ויש מגוון שילובים המאפשרים איתותים מערכתיים הנחוצים לקבלת תגובת עמידות מערכתית מושרית בצמח.

בעקבות חישת הפתוגן, באמצעות קולטנים חוץ ותוך-תאיים המזהים דפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMP - microbe-associated molecular pattern) ואפקטורים, מפעיל הצמח מנגנוני הגנה מתווכי-דפוסים (PTI - PAMP-triggered immunity) ומתווכי-אפקטורים (ETI - Effector-triggered immunity) (ראו פרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים). מערכת החיסון נסמכת על מנגנוני הגנה המגויסים על ידי הצמח בתגובה למתקפה, ופתוגנים בתורם מנסים לדכא את המנגנונים הללו. דפוסים-מולקולריים שמצויים באסוציאציה עם פתוגנים (PAMP - Pathogen-associated molecular patterns) כמו גם דפוסים-מולקולריים שמקורם בצמח ומשתחררים בעקבות תקיפת פתוגן (DAMP - Damage-associated molecular patterns), יכולים להשרות

עמידות בצמחים. דפוסים-מולקולאריים אלו מגוונים באופיים הביוכימי ויכולים להיות פפטידים, פוליסכרידים או ליפידים, והצמח חש בהם בעזרת קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR - Pattern recognition receptor) או חלבוני עמידות (Thomma et al., 2011). שלא כמו אפקטורים, דפוסים-מולקולאריים שמצויים באסוציאציה עם פתוגנים, מעצם הגדרתם, אינם ספציפיים לזן או מין ואינם תורמים לזיהוי ולניבוי. דפוסים-מולקולאריים מעין אלו, יכולים להיות מצויים גם במיקרואורגניזמים בלתי פתוגניים (MAMP) (Thomma et al., 2011; Leibman-Markus et al., 2018) (ראו פרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים).

עמידות מערכתית מושרית (ISR - Induced systemic resistance)

מיקרואורגניזמים מועילים כוללים חיידקי ריזוספרה (ריזובקטריה) ופטריית המעודדות גדילה בצמח, PGPR ו-PGPF (Plant growth promoting rhizobacteria, fungi), בהתאמה, בעלי השפעה חיובית באינטרקציה ההדדית בין המיקרואורגניזם לצמח המארח. האינטרקציה הראשונית בין המיקרואורגניזם המועיל לצמח יוצרת יחסי גומלין של כימיקלים לביסוס הסימביוזה. אף על-פי כן, האיתותים/אנטרקציה האלה יכולים לשמש גם כגירוי להשראת עמידות (De Vleeschauwer and Höfte, 2009; Oldroyd et al., 2009; Yamazaki and Hayashi, 2015).

עמידות מערכתית המושרית על ידי חיידקי ריזוספרה

אכלוס של שורשי הצמח על ידי קווי חיידקי שורש וריזוספרה בלתי פתוגניים מעודדי צמיחה (PGPR) מסוימים, כגון קווים שונים מהסוגים פסאודומונאס (Ahn et al., 2007; Van Loon, 2007; Van Loon (et al., 1998), בצילוס (Kloepper et al., 2004) או ברדיריזוביום (Cartieaux et al., 2008), יכולים לגרום לתגובת התנגדות מובהקת ובעלת ספקטרום רחב, בשורשים ובנוף כאחד. סוג זה של עמידות נקרא עמידות מערכתית מושרית מתווכת ריזובקטריה (Rhizobacteria-mediated ISR) (De Vleeschauwer and Höfte, 2009; Van Loon, 2007; Van Loon et al., 1998). בניגוד לעמידות מערכתית נרכשת, עמידות מערכתית מושרת אינה כוללת ביטוי או הצטברות חלבונים הקשורים בפתוגנים או בחומצה סליצילית (Pieterse et al., 1996). מנגנון עמידות זה מתווך דווקא על ידי ההורמונים הצמחיים חומצה ג'סמונית ואתילן (Pieterse et al., 1996). לפיכך, למרות שלעמידות מערכתית נרכשת ולעמידות מערכתית מושרית יש תוצאה פנוטיפית דומה, הן פועלות במנגנונים הורמונאליים שונים אם כי חופפים באופן חלקי.

עמידות מערכתית המושרית על ידי פטריות מועילות

אינטראקציה בין צמחים לפטריות בלתי-פתוגניות המעודדות את גדילת הצמח (PGPF) יכולה אף היא לגרום לעמידות מערכתית מושרית רחבת טווח. דוגמאות לפטריות מועילות המעודדות גדילה בצמח, שפועלות כמשרות עמידות, הן מיני טריכודרמה ומיקוריזה. לטריכודרמה סגנון חיים אופורטוניסטי, היא בלתי וירולנטית וחייה בסימביוזה עם צמחים (Harman et al., 2012). טריכודרמה יכולה לגרום להפעלה של התנגדות מערכתית מושרית (ISR) ולהפעלה של מנגנונים מולקולריים המתווכים הגנה כנגד טווח רחב של פתוגנים. כתלות בתבדיד הטריכודרמה, ההשפעה החיובית של הפטריה על הצמח יכולה לכלול השפעות נוספות כגון שיפור במאזן הפנימי של הורמוני הצמח, שיפור היעילות הפוטוסינתטית, והפחתת עקות א-ביוטיות (Rubio et al., 2017; De Palma et al., 2019; Gupta and Bar, 2020). בשל יתרונותיה המובהקים, תבדידים רבים של טריכודרמה משמשים בחקלאות כמדבירים ביולוגיים או מטייבי גידול להגנה על יבול מפני מחלות (Pieterse et al., 2014b).

פטריות מיקוריזה אף הן עשויות להקנות לצמח הגנה מפני פתוגנים (Jung et al., 2012). על-אף ההוכחות הנרחבות ליעילותה של המיקוריזה בהשראת עמידות, המנגנון בו היא מגרה את תגובת ההגנה בצמח אינו ברור (Jung et al., 2012). אחד הסממנים לאינטרקציה סימביוטית בין צמח למיקוריזה היא הצטברות של מי-חמצן (H_2O_2), לכן יתכן שתרכובות חמצן פעילות הן הגורם האנדוגני המאותת להשראת העמידות (Fester and Hause, 2005). מולקולות נוספות שעשויות להיות מעורבות באיתות הן ליפוכיטואוליגוסכרידים (Maillet et al., 2011) כמו גם חלבונים שונים, מולקולות קטנות ומיקרו-רנ"א (Delaux et al., 2013).

עמידות מושרית פרוקי רגליים

חרקים פרוקי רגליים אוכלי צמחים יכולים להשרות עמידות בצמח על ידי גירויים ממוצא ביולוגי או פיזי. גירויים ביולוגיים כוללים הפרשות גוף, חיידקים הקשורים לחרקים, דפוסים מולקולריים הקשורים לחרקים (IAMP – Insects – associated molecular patterns) וגירויים כתוצאה מהטלת ביצים (Hilker and Fatouros, 2015; Hilker and Meinert, 2010; Howe and Jander, 2008). הגירויים הפיזיים כוללים תבניות חוזרות בזמן ובמרחב (spatiotemporal) של תנועת החרקים וחישה על ידי הטריכומות של תנועת חרקים על העלים (Hilker and Peiffer et al., 2009; Meinert, 2010; Howe and Jander, 2008; Peiffer et al., 2009). יתר על כן, פרוקי רגלים משרים יצור של מולקולות צמחיות נדיפות המשרות, בתורן, עמידות בחלקי הצמח המרוחקים כמו גם בצמחים שכנים (Frost et al., 2008).

עמידות מושרית חומרים כימיים

תרכובות כימיות רבות, טבעיות וסנתטיות כאחד, הוכחו כמשרות עמידות בצמח (Kuć, 2001). העמידות המושרת כתוצאה מתרכובות אלה בדרך כלל נוטה להיות חוזרתית/עקבית על-כן, חוקרים מעדיפים להשתמש בהן לשם ביצוע מחקרים מולקולריים וגנטיים על תיחול. התרכובות הכימיות הידועות כמשרות עמידות רבות ומגוונות (Oostendorp et al., 2001). בפרק זה נציין שתיים מהן – חומצה סילצילית (SA) וחומצה בטא-אמינובוטירית (β -BABA - aminobutyric acid).

חומצה סילצילית ואנלוגים סינתטיים - חומצה 2,6-דיכלורואיזוניקוטיניק והנגזרת המתיל אסתרית שלה (שניהם מכונים INA) הינן התרכובות הסינתטיות הראשונות שדווחו כמשרות עמידות נרכשת - SAR (Kessmann et al., 1994). כמה שנים מאוחר יותר, זוהתה החומצה הבנזו (1,2,3) תיאביאזול-7-פחמתית S-מתיל-אסטר (BTH) כמפעילה סינתטית חזקה ביותר של SAR (Friedrich et al., 1996; Görlach et al., 1996; Lawton et al., 1996). כיום נהוג להניח כי חומצה סילצילית, INA ו-BTH משרים עמידות נרכשת באותו מסלול איתות (Ryals et al., 1996). חומצה בטא-אמינו-בוטירית (BABA) - במשך השנים הראו כי מגוון רחב של חומצות אמינו יכולות לגרום לעמידות נרכשת בצמחים (Kuć, 2001). מהנחקרות שבהן היא, חומצה בטא-אמינו-בוטירית (BABA). התגלה כמשרה רבת עוצמה של עמידות כנגד עקות אביוטיות (Zimmerli et al., 2008; Jakab et al., 2005), נמטודות (Oka et al., 1999), חרקים (Hodge et al., 2005), ופתוגנים מיקרוביאליים (Cohen, 2002; Jakab et al., 2001). באופן מפתיע, תוארו מקרים/מערכות שונות בהן עמידות מושרת BABA הינה תלוית חומצה סילצילית, ומקרים אחרים בהם העמידות אינה מתווכת על ידי חומצה סילצילית (או על ידי אתילן) אלא דווקא על ידי חומצה אבסיסית (Ton and Mauch-Mani, 2004; Zimmerli et al., 2001, 2000).

פגיעה פיזית ברקמת הצמח מהווה פתח/נקודת תורפה לפלישת פתוגן. עם זאת, מתברר כי פציעה, בין אם נגרמה על ידי נזק מכני ובין אם כתוצאה מאכילה על ידי חרקים, יכולה בעצמה להשרות עמידות נרכשת מקומית ומערכתית (Chassot et al., 2008; Green and Ryan, 1972; Francia et al., 2007; Ryan, 1990). עמידות מושרית פציעה (WIR - Wound induced resistance) כוללת הפעלת גנים רבים, ביניהם גנים המקודדים למעכבי פרוטאזות, שיכולים לעכב אנזימים חיוניים להתפתחות סימפטום של המחלה או לעיכול של רקמת הצמח במעי החרק (Green and Ryan, 1972; Ryan, 1990). עמידות מושרית פציעה יכולה להיות במסלול תלוי חומצה ג'סמונית (Howe and Jander, 2008), אם כי ניתן להשרות עמידות זו גם במסלול שאינו תלוי חומצה ג'סמונית (Reymond et al., 2000). דאליות המרמזת על האופי המורכב של תגובת הפצע בצמחים.

עמידות מושרית גירויים אביוטיים

מחקרים בארבידופסיס ועגבניות הראו כי חשיפה חוזרת של צמח לעקה אביוטית קלה כגון חום, קור או מלח, יכולה להשרות עמידות בצמח (Singh et al., 2014; Gupta et al., 2020). גורמים אביוטיים נוספים שיכולים להשרות עמידות הם חשיפה לאור אולטרה סגול או לאוזון (Yalpani et al., 1994; Hsu et al., 2013), כמו גם עקה כתוצאה ממתכת כבדה כגון נחושת (Winter et al., 2012).

שינויים בעקבות גירויים

שלב התיחול (Priming) מתייחס לתהליך הביולוגי בו הצמח רוכש עמידות. הוא מתחיל מרגע החשיפה/חישה של הגירוי הראשוני, וכולל את כל השינויים המתרחשים בצמח לאחר תפיסת הגירוי והכנת הצמח לתגובות מוגברות בהינתן אתגר חוזר, למשל על ידי פתוגן. שינויים אלה מתרחשים ברמה הפיזיולוגית המולקולרית והאפיגנטית; הם יכולים להתרחש תוך שניות או שעות לאחר הגירוי; הם יכולים להיות ארעיים או להמשך במשך כל חיי הצמח ואפילו לעבור בהורשה לדורות הבאים. גירויים שונים שמשרים תיחול בצמח, עשויים לעורר שינויים דומים, כמו גם שינויים יחודיים ותלויי גירוי.

שינויים פיזיולוגיים ושינויים בדפוס ביטוי גנים

אחת התגובות הראשונות המתרחשות בתא, בעקבות חישת גירוי, היא שינויים ארעיים ברמות הסיידן התוך תאי (ראו הבססה בפרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים) המתרחשים שניות עד דקות מרגע החישה. אנו מזהים עליה מהירה בריכוזי הסיידן הציטוזולי בתאים הסמוכים לתא המאותגר. עליה זו חיונית לקבלת עמידות נרכשת מקומית (Marhavý et al., 2019; Beneloujaephajri et al., 2013; Chassot et al., 2008). רמות הסיידן יכולות לשפועל חלבוני קינאז-תלויי סידן (Campos-Soriano et al., 2011). השינוי ברמות הסיידן יכול לגרום גם לשינויים במפל ריכוזי היונים לאורך הממברנה אשר מוביל לקיטוביות ממברנאלית (Jeworutzki et al., 2010), שבתורה גורמת לשיפוע מסלולי איתות לעמידות נרכשת מקומית ולשיפוע המסלול ההורמונאלי של חומצה ג'סמונית (Mousavi et al., 2013). תהליך מהיר נוסף שמתרחש בעקבות חישת גירוי הינו פרץ תרכובות חמצן פעילות (ROS) (ראו פרץ תרכובות חמצן וחקן פעילות בפרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים). וויסות עדין של רמות תרכובות החמצן הפעילות חיונית לתהליך התיחול (Balmer et al., 2015; Marhavý et al., 2019). השינויים המהירים ברמות הסיידן, בהבססה

וברמות תרכובות החמצן הפעילות, גורמים בתורם לאירועי זירחון נרחבים שמהווים חלק ממסלולי האיתות להגנה בצמח (Conrath et al., 2015). ככלל, השינויים בדפוס הגנים הינו כמוזכר בתגובות הגנה לעיל. תהליך נוסף המתרחש במהלך התיחול לקבלת עמידות נרכשת מקומית ומערכתית הוא שינויים נרחבים בדפוס ביטוי הגנים (ראו שינוי דפוס ביטוי הגנים בפרק תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים): מזהה עליה נרחבת בביטוי פקטורי שיעתוק, המתפקדים כבקרים חיוביים של מגוון גנים המעורבים בתגובות הגנה (Van Der Ent et al., 2009). חלק מהשינויים הללו משותפים למאקטבי תיחול שונים וחלקם יחודיים ותלויי גירוי ספציפי (Van Der Ent et al., 2009).

שינויים מטבוליים

הצטברות צורות בלתי-פעילות של הורמוני הגנה מסתמן כשלב חיוני לשיפעול ההגנה ומאידך, למוטנטים במנגנוני תיחול והגנה יש במקרים רבים פגיעה ברמות הבאזליות של ההורמונים הללו (Camañes et al., 2012). מאקטבי תיחול יכולים לגרום לעליה ברמות מטבוליטים ראשוניים כגון חומצות אמינו, חומצה טרי-קרבוקסילית, קסיליטול ועוד רבים אחרים (Gamir et al., 2014). ממחקרים שניתחו מאקטבי תיחול שונים, עולה כי קיימת תת-קבוצה של מטבוליטים שמשנתנה בעקבות כלל הגירויים/המאקטבים. מטבוליטים אלו מכונים "טביעת האצבע" לתיחול (Gamir et al., 2014). הם עוברים אינדוקציה קלה בתהליך התיחול, אך מצטברים באופן מהיר ו/או חזק בעקבות חישת פתוגן בצמחים שעברו תיחול בהשוואה לצמחים שלא חוו תיחול (Gamir et al., 2014). יתרה מכך, חיידקים מסויימים משחררים מטבוליטים אורגניים נדיפים שיכולים לתווך עמידות מערכתית (Ryu et al., 2004). מטבוליטים אלו, המשוחררים על ידי מיקרואורגניזמים מועילים, יכולים להיות תלויי זן הפונדקאי (Farag et al., 2006). ומנגד, אכלוס של מיקרואורגניזמים מועילים גורם לשינויים ברמות המטבוליטים בצמח הפונדקאי, כגון שינויים ברמות החומצה הסליצילית, הג'סמונית והאבסיסית (Pozo et al., 2015). במקרים מסויימים, לא מתקבל שינוי במטבוליטים אורגניים נדיפים המופרשים על ידי הצמח, בעת האכלוס של מיקרואורגניזמים מועילים, אולם הודות לתהליך התיחול שמשרים המיקרואורגניזמים בצמח, פונדקאי המאחסן מיקרואורגניזמים מועילים יגרום לדגם שונה של מטבוליטים אורגניים נדיפים לכשיתקל באיום ממשי/חוזר (Leitner et al., 2010).

מכיוון שמיקרואורגניזמים מועילים משתמשים בפחממות ותרכובות חנקן מהצמח לצרכיהם המטבוליטיים, הם משפיעים על מאזן הפחמן והחנקן של המטבוליזם הראשוני בצמח המאחסן (Schweiger and Müller, 2015; Smith et al., 2009). שינויים אלו, עשויים להוות בעצמם גירוי לאיקטוב התיחול. תופעה נוספת שנמצאה קשורה בצמחים שלא חוו איקטוב לתיחול בעצמם, אך הינם מקושרים דרך רשת תפטיר של פטריות מועילות לצמחים שכנים שכן אוקטבו. בצמחים הלא מאוקטבים מלכתחילה נמצאה עליה בגנים הקשורים לעמידות. במקרה זה נמצא ששפעול מסלול האותות הינו תלוי החומצה הג'סמונית ושחרור מטבוליטים אורגניים נדיפים דוחי חרקים (Song et al., 2014). כל אלו מלמדים על יכולת מעבר אותות מאקטבי תיחול דרך תפטיר הפטרייה המועילה.

שינויים אפיגנטיים

הטבעה גנטית, פרה-מוטציות (Epigenetica), פעילות טרנספוזונים והשתקת גנים הינן תופעות אפיגנטיות המתרחשות בכל האורגניזמים החיים. המנגנונים המובילים להן כרוכים בשינויים במבנה הכרומטין, אשר בסופו של דבר יכולים לשנות תהליכים גנומיים כגון שיעתוק, שכפול ורקומבינציה. תיחול מבוסס על הרעיון ששינויים מסויימים בצמח יכולים להשפיע על תגובות עתידיות. על בסיס רעיוני זה, עלתה ההשערה שמודיפיקציות אפיגנטיות עשויות

להוות חלק מהמנגנון שמשפיע על תגובות לאתגרים בינטיים ואביוטיים עתידיים (Van den Burg and Takken, 2009; Bruce et al., 2007). ואכן, בשנים האחרונות הראו כי שינויים ברמות ביטוי של פקטורי שיעתוק המשפעלים מסלולי הגנה תלויי חומצה סלצילית, כמו גם חומצה ג'סמונית, תלויים במודיפיקציות ברמת הכרומטין (Alvarez et al., 2007). מנגד, מניפולציות כימיות בכרומטין יכולות להשפיע על שפעול של מסלולי ההגנה (Walley et al., 2008). יתרה מכך, הראו כי גירוי ראשוני (על ידי BABA, הפועל כמשרן כימי לעמידות) אינו מוביל לשפעול של ביטוי גנים, אך גורם לשינויים במבנה הכרומטין, כך שפרומוטורים של גנים הקשורים בעמידות הופכים להיות חשופים/נגישים יותר, ולכן מתבטאים חזק ומהר יותר בעקבות זיהוי איום בינטי שניוני (Jeworutzki et al., 2010; Po-Wen et al., 2013). כמו כן, מוטנטים הפגועים במתילציית דנ"א, עמידים יותר כנגד חיידקים. זיהום חיידקי מוביל לירידה ברמות מתילציית הדנ"א במהלך תגובת ההגנה בעוד שמתילציית-יתר מעודדת ביטוי גנים הקשורים בעמידות (López Sánchez et al., 2016).

תגובתיות מוגברת בעקבות השראת עמידות

תפיסה/חישה מוגברת של פתוגן

אחת מתכונות המפתח לעמידות בצמח היא חישה מהירה ויעילה יותר של הסביבה בכלל ושל פתוגנים בפרט. ואכן, מצאו שמשרני עמידות כימיים גורמים לעליה ברמת קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR) ובהתאמה לעלייה בתגובתיות למשרנים פתוגניים (Tateda et al., 2014). לאחרונה, בעזרת עבודה מיקרוסקופית, הצליחו להראות שפגיעה במקבץ תאים בשורש גורם לעליה בתגובתיות לדפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMP) (Zhou et al., 2020).

דרך נוספת לקבלת חישה מוגברת, שאינה נובעת משינויים בקולטני התא, היא שינויים ברמה המבנית של הצמח, המאפשרים לו ניטור טוב יותר של סביבתו – למשל על ידי שינויים בטריכומות. מאקטבי תיחול שונים יכולים לגרום לעליה במספר הטריכומות בצמח ובכך להגדיל את הרגישות ויכולת החישה של הצמח לחרקים אוכלי צמחים (Peiffer et al., 2009; Boughton et al., 2005).

איתות ותגובות הגנה מוגברים

תיחול משמעו שחשיפה לגירוי ראשוני כלשהו, תוביל לאיתות, תגובתיות ולבסוף עמידות מוגברים בעקבות חישה של גירוי חוזר (Mauch-Mani et al., 2017). ואכן, קיימים דיווחים אודות מגוון תגובות הגנה מהירות/חזקות יותר, בצמחים שעברו תיחול: שפעול תיחול על ידי משרנים שונים מגבירה את פרץ תרכובות החמצן הפעילות המיוצרות בעקבות גירוי שניוני (Mauch-Mani et al., 2017). תיחול גורם בין היתר לסגירה מהירה יותר של הפיוניות, לשם בלימת חדירה חיידקית (Pieterse et al., 2014a; Baccelli and Mauch-Mani, 2016). אחד מגורמי האיתות העיקרים בתהליך ההגנה, הוא זרחון. על כן, אין זה מפתיע שיש זרחון מוגבר וממושך יותר בצמחים מאוקטבי תיחול, בעקבות חישת גירוי שניוני (Beckers et al., 2009; Hsu et al., 2013). ביטוי גנים מהיר ו/או מוגבר, הינו דוגמה נוספת לתגובתיות יתר בצמחים מאוקטבי תיחול (Singh et al., 2014; Chassot et al., 2008). בצמחים הנתקלים באתגר חוזר (שכבר עברו תיחול), ניתן לראות עליה בכמות החלבונים דוגמת חלבונים הקשורים בפתוגנים (חלבוני PR) ועליה בכמות האנזימים האנטי-מיקרוביאליים דוגמת גלוקאנזות, כיטינאזות ועוד (Baccelli and Mauch-Mani, 2016; Song et al., 2015). כמו גם עליה במטבוליטים שונים (Mauch-Mani et al., 2017). ואילו תגובת ההגנה האולטימטיבית –

תגובה רגישות-יתר (HR), מתעצמת אף היא בצמחים שעברו תהליך של תיחול (Trouvelot et al., 2008; Baccelli and Mauch-Mani, 2016).

משך השראת העמידות

תיחול להשראת עמידות משפיע על פנוטיפ עתידי, בעקבות גירוי ראשוני. למעשה, ניתן להגדירו כמעין זיכרון חיסוני, המאפשר לצמחים לזכור מצבים מאתגרים. שינויים אפיגנטיים הם אחד המנגנונים המאפשרים לצמחים לרכוש "זיכרון" ולאפשר שינויים ארוכי טווח ביכולת התגובה החיסונית.

תגובות ארוכות טווח באותו הדור

שינויים אפיגנטיים במבנה הכרומוטין, על ידי מתילציית דנ"א ומודיפיקציות לאחר התרגום, מקנות זיכרון ארוך טווח הנמשך למשך חיי אותו הפרט וגורמות לתיחול מנגנוני ההגנה לקראת מתקפה עתידית (Pastor et al., 2013). משך השפעת השינויים האפיגנטיים עשוי להיות תלוי גירוי: בעוד מחקרים מסויימים מראים כי שינויים במתילציה ובדה-מתילציה של הדנ"א אינם משפיעים על העמידות המערכתית הנרכשת כארבעה שבועות אחרי הגירוי הראשוני (López Sánchez et al., 2016), מחקרים אחרים מראים עמידות ברת-קימא כנגד חרקים ופתוגנים בעקבות טיפול במשרני עמידות (כגון חומצה ג'סמונית ו-BABA) עוד בשלב הזרע לפני הנביטה (Worrall et al., 2012). עמידות ארוכת טווח יכולה להתקיים גם ללא שינויים ישירים בדנ"א. איקטוב תיחול על ידי BABA אינו גורם לשינויים ישירים בדנ"א, אך הוא מחייב פעילות של היסטון-טרנספראז לשם קבלת עמידות ארוכת טווח (Luna et al., 2014), דבר המצביע על טרנס-בקרה ברמה האפיגנטית.

עמידות בין-דורית מבוססת בקרת שיעתוק

צמחים יכולים לפתח סיבולת לעקות על ידי שינויים פיזיים, שיכולים לגבות מחיר התפתחותי. על כן, על הצמחים להיות מסוגלים לבטל את השינויים הפיזיולוגיים מקני הסיבולת, כאשר העקה חולפת. מודיפיקציות אפיגנטיות הינם אסטרטגיה אבולוציונית נהדרת לאדפטציה לאתגרים סביבתיים מכיוון שהם מתרחשים מהר, יכולים להיות מורשים לדור הבא, ויכולים להיות הפיכים.

הגילוי כי מתילציות בדנ"א יכולות לעבור בתורשה, הוליד את ההשערה שתכונות אפיגנטיות מורשות לדורות הבאים. המחקר הראשון שהראה עמידות מוגברת בצאצא לצמח שהודבק בוורוס פורסם כבר בשנת 1983 (Roberts, 1983). רעיון זה הוכח לאורך השנים בהרחבה, גם בקרב גידולים חקלאיים (Walters et al., 2013; Terhorst et al., 2012; Rasmann et al., 2012; Martínez-Aguilar et al., 2016). בין היתר ניתן לראות בצאצאים בעלי עמידות מוגברת, עליה בתדירות הרקומבינציות ההומולוגיות (Molinier et al., 2006; Boyko et al., 2007), המצביעה על שינויים בבקרה האפיגנטית. כיום ידועים מגוון מאקטבי תיחול, כימיים או ביוטיים, שמקנים עמידות בין-דורית במנגנונים תלויי חומצה סליצילית, כמו גם במנגנונים תלויי חומצה ג'סמונית (Luna et al., 2012; Rasmann et al., 2012; Slaughter et al., 2012).

עמידות לאחד, במחיר של רגישות לאחר - לעמידות בין-דורית עשוי להיות גם מחיר אותו ישאו הצאצאים. לדוגמה, פגיעה במאזן החומצה הסליצילית והג'סמונית: צאצאים לצמחים שעברו תיחול על ידי חומצה סליצילית, מראים בקרה שלילית על מסלול החומצה הג'סמונית ולכן רגישות יתר לפטריות נקרטרופיות (Luna et al., 2012), בין היתר בשל

שינויים אפיגנטיים (López et al., 2011). דהיינו, מאקטבי עמידות מסויימים יכולים להקנות עמידות בין-דורית ספציפית במנגנון הורמונאלי אחד, במחיר של רגישות לאתגרים המתווכים על ידי מנגנון הורמונאלי אחר. דעיכת העמידות המושרית - כאמור, לתיחול המאוקטב דרך מנגנון הורמונאלי אחד עשוי להיות אפקט שלילי על עמידות המתווכת דרך מנגנון הורמונאלי אחר (Luna et al., 2012). כמו כן, התיחול עשוי לגרום לרגישות יתר שתוביל ל"אזעקות שווא" (Crisp et al., 2016; Martinez-Medina et al., 2016). כל אלו מעלים את השאלה, שמא עדיף לצמח "לשכוח" את עקות העבר בכדי לא לסכן פגיעה בהתפתחות, ביבול וכמובן בשרידות (Crisp et al., 2016). על הצמח למצוא את נקודת האיזון האידיאלית וזו, ככל הנראה, תלוייה בעוצמת האתגר הראשוני, ובשכיחות הופעתו בדורות הבאים (Luna et al., 2012; Singh and Roberts, 2015).

מוטנטים בעלי פנוטיפ של עמידות-מושריית תמידית

עליה בפרמטרים של הגנה במצב בזאלי, ללא חשיפה לגירוי כלשהו, תוארה במספר מוטנטים ו/או צמחים מהודנסים גנטית. צמחים אלו הם למעשה בעלי מנגנוני הגנה מאוקטבים תמידית (Conserved active defense): למשל צמחים המבטאים ביתר את החלבון NPR1 או ERF/2AP, כמו גם צמחים מוטנטים בגן המקודדים ל-cpr1-1 (Van Hulst et al., 2006). הסיכון באקטיבציה מתמדת של מערכת החיסון, הוא בפגיעה ביבול ו/או בכשירות של הצמח בשל שינוע משאבים ו/או הצטברות תרכובות רעילות (Van Hulst et al., 2006; Ning et al., 2017).

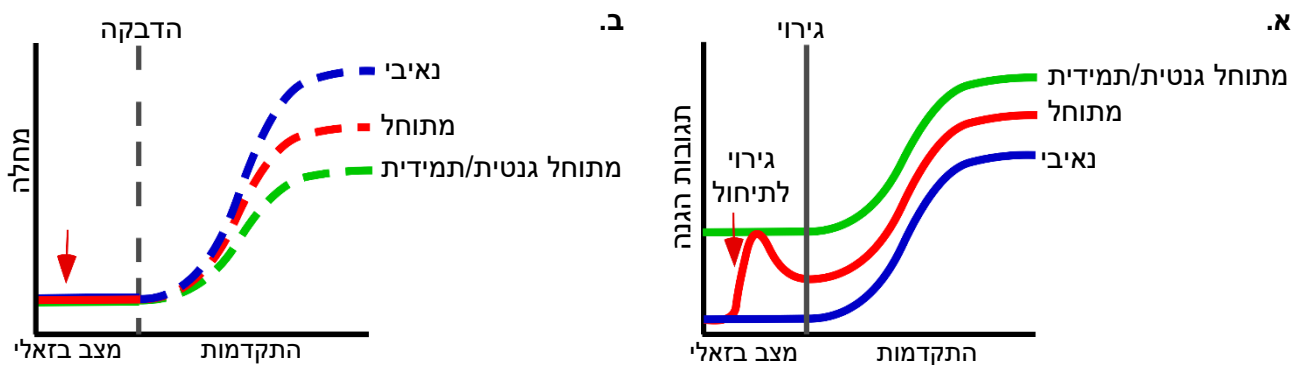
בספרות מתוארים גם צמחים בעלי תיחול מאוקטב תמידית (Constitutively primed defence): המוטנט *edr1-1* נמצא במצב של תיחול תמידי ומציג פגיעה מזערית בפיטנס (Frye and Innes, 1998; Van Hulst et al., 2006). המוטנט *nrc4a* מראה חיסוניות מולדת (Innate immune) מוגברת שמקנה לו עמידות מוגברת למגוון רחב של מזיקים ופתוגנים ללא כל פגיעה נראית ביבול ו/או בכשירות (Pizarro et al., 2020). למעשה, לצמח זה יש רמה נמוכה של שפעול תמידי של תגובות ההגנה, במצב בזאלי, שאינן גובות מחיר פיזיולוגי ניתן לזיהוי, אך מאפשרות לו להגיב בצורה עוצמתית יותר בעקבות גירוי ו/או הדבקה, וכפועל יוצא, מקנות לו חסינות מוגברת כנגד טווח רחב של פתוגנים ומזיקים (איור 1). לצמח מעין זה יש פוטנציאל חקלאי אדיר, שכן הוא מאפשר הפחתת שימוש בחומרי הדברה ללא התפשרות על כמות ואיכות היבול.

עמידות מושרית למעשה

משרן העמידות הכימי הידוע ביותר הינו BTH המוזכר לעיל ובפרסומים רבים (Ryals et al., 1996). החומר פותח לשימוש מסחרי כתכשיר בשם ביון ונמצא משרה עמידות בגידולים שונים. בעבודות שלנו בין השרה עמידות סיסטמית כנגד כשותית הגפן (*Plasmopara viticola*) (Perazzolli et al., 2009), עובש אפור (*Botrytis cinerea*) בצמחי עגבנייה (Meller Harel et al., 2014) וקימחון תות-שדה (*Sphaerotheca macularis*) (Pertot et al., 2008; Meller Harel et al., 2013).

הדברה ביולוגית ובכלל זה המדביר שפותח במחלקה לפתולוגיה של צמחים והיה תכשיר מסחרי (*Trichoderma harzianum* T39) ברחבי העולם, מבוססת על מנגנונים שונים להדברת מחלות צמחים. T39 משרה עמידות כנגד מחלות צמחים שונות (Elad, 2000). בין היתר, יישום של הפטרייה בבית השורשים משרה עמידות ססטמית בנוף לדוגמא כנגד עובש אפור וקשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*) (De Meyer et al., 1998) קימחון הדלועיים (*Podosphaera xanthii*) (Okon Levy et al., 2015) וקימחון תות שדה (Meller Harel et al., 2013). נוכחות טריכודרמה בריזוספירה ועלי הצמחים הביאה לשינוי במיקרופלורה, כך ששיעור החיידקים שבודדו ואשר כשלעצמם **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **172**

הינם משרני עמידות, עלה במידה רבה יחסית להיקש ללא המדביר הביולוגי (Okon Levy et al., 2004; Elad, 2005, 2015). מוטנטים בגנים הקשורים בפיטוהורמונים בארבידופסיס שמשו לבחינת המוטציה שבהימצאותה בצמח לא מתקיימת העמידות הסיסטמית. T39 לא השרתה עמידות בצמחים עם מוטציות שונות במסלול האתילן כך שמסלול האתילן חשוב להשראת העמידות בעוד אוקסין וחומצה סליצילית לא נמצאו מעורבים (Korolev, 2008). בצמחי עגבנייה עלתה מידת תיחול (priming) הגנים לשדרוך הצמח הקשורים במסלולי הביוסנטזה של חומצה סליצילית ואתילן בעקבות טיפול קרקע ב T39 (Meller Harel et al., 2014).



איור 1. מודל מייצג של תיחול וגירוי חוזר מפתוגן ושל הדבקה.

א' צמחים משפעלים תגובות הגנה בעקבות גירוי, למשל זיהוי פתוגן (כחול), גירוי מוקדם יותר, המאקטב תיחול, גורם לתגובות הגנה עוצמתיות ו/או מהירות יותר (אדום). צמח בעל תיחול מאוקטב תמידית, דוגמת *nrc4a*, מראה שפעול ברמה נמוכה של תגובות ההגנה ללא גירוי מקדים, המאפשר לא להגיב בעוצמתיות מירבית בחשיפה לאיום ממשי (ירוק).

ב' התקדמות מחלה בצמח בתנאים רגילים (כחול מקוקו), עיכוב בקצב התקדמות המחלה בצמחים שעברו תיחול (אדום מקוקו) ועיכוב כמעט מלא של התפתחות המחלה בצמח בעל תיחול מאוקטב תמידית, דוגמת *nrc4a* (ירוק מקוקו). התמונה מבוססת על מודל מתוך עבודה שנעשתה במסגרת המאמר (Pizarro et al., 2020).

חיטוי קרקע סולרי נהוג מזה שנים באזורים וגידולים בהם אפשרי לפרוס פוליאיתילן על הקרקע במשך תקופה בקיץ. חיטוי סולרי מביא לבקרת מחלות המועברות בקרקע ונמצא גם משרה עמידות כנגד מחלות נוף מסויימות כפי שהודגם בעובש אפור בעגבנייה, מלפפון, תות-שדה ושעועית וקימחון הדלועיים במלפפון. שיפור יעילות בהדברת מחלות נוף התקבל עם שילוב החיטוי הסולרי עם טריכודרמה T39 (Okon Levy et al., 2005; 2015). נמצא שבקרקע בה בוצע חיטוי סולרי עוד לפני השתילה, התרבו חיידקי בצילוס ופסאודומונס משרי עמידות בנוף הצמחים וכן אקטינומיצטים בעלי פוטנציאל להדברה ביולוגית. בעגבנייה הטיפולים השפיעו על ביטוי גנים. בקרת גנים במסלולי חומצה סליצילית ואתילן דוכאה ו $Pi2$, במסלול חומצה ג'סמונית, שופעל. עם ההדבקה בבוטריטיס, טיפולי חיטוי סולרי וטריכודרמה שפעלו גנים בכל שלושת הקבוצות האלה. חיטוי סולרי שפעל גנים הקשורים בפתוגנזה (PR proteins, *PR1a*, *GluB* and *CHI9*) כעדות לתיחול הצמחים על ידי טיפול זה (Okon Levy et al., 2015). לפיכך לא רק טריכודרמה אלא גם חיטוי סולרי משרה עמידות ססטמית וזאת ישירות או באמצעות שינויי מיקרופלורה. בדומה, קומפוסט נמצא במחקרים שונים כמדכא מחלות. Yogev et al. (2010) תיארו השראת עמידות על ידי קומפוסט כחלק ממנגוני בקרת מחלות בצמחים.

ביו-פחם הינו תוצר פירוליזה של פסולות שונות ובכללן חקלאיות. יישום ביו-פחם בקרקע הביא לעמידות נוף צמחים כנגד מחלות בעגבנייה ופלפל (עובש אפור וקמחונית) ומזיק (אקרית עיוותים) בפלפל ומחלות נוף בתות-שדה (גרבר וחוב', 2011; Elad et al., 2010; Meller Harel et al., 2012). השראת העמידות יוחסה לחומרים ייחודיים בביו-פחם ולמיקרואורגניזמים המועשרים בו ואשר כשלעצמם משרים עמידות כנגד מחלות הנוף (Elad et al., 2010; Kolton et al., 2014). ביו-פחם בקרקע הפחית עובש אפור בנוף צמחי עגבנייה טיפוסית בר ומוטנטים לחומצה סליצילית, ואתילן אבל מוטנט חסר לחומצה ג'סמונית (*def1*) לא אפשר השראת עמידות. מעבר לכך ביו-פחם הביא לתיחול הצמחים לתגובות הגנה בגנים *Pti5* הקשור לאתילן ו *Pi2* הקשור לחומצה ג'סמונית ולהצטברות פראוקסיד עם ההדבקה בבוטריטיס (Mehari et al., 2015).

במחקרי השפעת מיקרואקלים על חומרת מחלות נמצא קשר שלילי בין טמפרטורות בית שורשים לבין מחלות נוף בחממות בזיל הנגרמות על ידי *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* ו *Peronospora belbahrii* (כשותית הריחן). משמעות הממצאים הינה שתיתכן השראת עמידות סיסטמית מבית השורשים לנוף הבזיל (Elad et al., 2016; Elad et al., 2017). בדומה טיפולי חום פאסיבי על ידי סגירת מבני הגידול ביום הביאו להפחתת קימחון (*Oidium neolycopersici*) בעגבנייה (Jacob et al., 2008) וקמחונית (*Leveillula taurica*) בפלפל (Elad et al., 2007) בחממות וחיפוי קרקע המחמם את בית השורשים הביא להפחתת כימחון (*Phytophthora infestans*) ועובש אפור בעגבניות חממה (Shtienberg et al., 2010). כדי לאמת את תופעת השראת העמידות על ידי חימום בית השורשים נערך מחקר בו עציצים עם מצע ושורשי הצמחים חוממו בעוד נוף הצמחים לא התחמם ונמצא שאכן טיפול פיזיקלי כחימום בית שורשים מביא לעמידות נוף הצמחים בעגבנייה (Elad, 2018) ובבזיל (Elad et al., 2016). במחקר מעמיק עם שלושה פתוגנים תוקפי נוף בעגבנייה, פטרייה נקרוטרופית *B. cinerea*, חיידק המיביוטרופ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* הגורם לכתמי עלים חיידקיים ופטרייה ביוטרופית *O. neolycopersici* (קימחון) נמצאה השראת עמידות סיסטמית התלויה בחומצה סליצילית. טיפול החום השרה חסינות שתוצאתה עליה בביטוי גנים, מיני חמצן פעיל (reactive oxygen species) ותפוקה של אתילן כשהצמחים טופלו בחימום בית שורשים וזאת גם כאשר לא הודבקו בפתוגנים (Gupta et al., 2020). ביו-פחם פעיל גם נגד מחלות קרקע (Jaiswal et al., 2013) מק-שורש (*Rhizoctonia solani*) ומקמקת (*Pythium aphanidermatum*). בנוסף, במערכת ריקבון כתר העגבנייה (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*) אנליזה טרנסקריפטומית (RNA-seq) של צמחי עגבנייה הראתה שביו-פחם בקרקע הביא לתיחול שהתבטא בשפעול גנים הקשורים בתגובת הגנה כגון אלה הקשורים בחומצה ג'סמונית, ציטוקינינים, אוקסין, brassinosteroids, ביוסנטזה של פלבנואידים, של פנילפרופנואידים ושל דופן תא (Jaiswal et al., 2020).

כאמור, חומרים עשויים גם להשרות עמידות כנגד מחלות צמחים. חומצת אמינו המיושמת לנוף צמחים או לקרקע מביאה להפחתת מחלות נוף, כפי שהודגם למשל בעובש אפור בצמחי עגבנייה, פטוניה וארבידופסיס (Oliva et al., 2019) ובפירות מנגו ואבוקדו כנגד גחלון (*Colletotrichum gloeosporioides*) וריקבון עוקץ (*Lasiodiplodia theobromae*) על ידי טיפולים לפני ולאחר קטיף (Kumar P et al., 2020a). בפרחי חרצית הצטברו החומרים benzaldehyde ו phenylacetate והוגבר ביטוי גנים הקשורים לאיתות יוני סידן ורצפטור קינאז כעדות לתגובת הגנה. חומרים אנטי-פטריותיים נדיפים כגון פנילאצטאלדהיד ואאוגנול נשמרו וקוניפרין שהוא חומר מוצא למונוגלינול המשמש בליגניפיקציה בדפנות התא עלה כתוצאה מהטיפול. בנוסף הופחתו רדיקלים חופשיים של חמצן, יצירת אתילן שקשורים בהזדקנות עלי כותרת והגברת רגישות (Kumar V et al., 2020b).

חומרים אחרים, קוטלי עשבים (הרבצידים), תוארו כמשרני עמידות למחלות צמחים. ההרביציד dinitramine השרה עמידות כנגד מחלת מגלת המלון הנגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Cohen et al., 1986). באותה מידה מצאו Cohen et al. (1987) שמוסת הצמיחה פקלובוטראזול וחומרים דומים השרו עמידות של נבטי מלון למגלת המלון וזאת ללא רעילות ישירה לגורם המחלה. ההרביציד dinitroaniline השרה עמידות של נבטי עגבנייה גם כנגד שתי מחלות חיידקית, נבילה חיידקית הנגרמת על ידי *Pseudomonas solanacearum*, וכיב חיידקי הנגרם על ידי *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* וכנגד מגלת העגבנייה (הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) ללא רעילות ישירה לחיידקים ולפטרייה (Cohen et al., 1992). נמצא שגנים של עקה וכאלה הקשורים להגנת הצמח מעורבים בהשראת עמידות על ידי ההרביציד טריפלורלין כנגדת מגלת המלון (Lotan-Pompan et al., 2007). גלווטיין שהנו חומר שתפקידו לסלק חומרים זרים עולה בשורשי עגבנייה ומלון אחרי טיפול בהרבצידים כנגד מגלת ועשוי לתרום לנטרול גורמי פתוגנזה כמו גם ההרבצידים (Bolter et al., 1993).

סיכום

בעשורים האחרונים חל גידול משמעותי באוכלוסית האדם. גידול זה לווה בתהליכים של אורבניזציה והתפתחות תרבות צריכה מאסיבית. כל אלו הביאו לצימצום השטחים החקלאיים מחד, ולעליה בדרישה לתוצרת חקלאית מנגד, ודחקו את החקלאים לשימוש מאסיבי בחומרי הדברה. שימוש זה הלך וגבר עם העליה המתמדת בהתפתחות זני פתוגנים עמידים לחומרים אלו. בעשור האחרון אנו עדים לשינוי תודעתי שמתרחש בקרב הציבור והחקלאים כאחד, באשר לנזק האקולוגי והבריאותי שגורמים חומרי הדברה. מודעות גוברת זו, דוחפת את המדענים והחקלאים, לחפש אחר אלטרנטיבה בריאה יותר, ידידותית יותר לסביבה וברת קיימא. השראת עמידות בצמחים מסתמנת כדרך יעילה וידידותית לשמירה על יבול חקלאי מניב, באופן בטוח וללא פגיעה סביבתית. למעשה, ניתן לדמות טיפולים להשראת עמידות למתן חיסון לצמח, שכן גירויים לתיחול מקנים לצמח זיכרון חיסוני. אך בעוד חיסון הינו כנגד פתוגן מסוים, תיחול מקנה עמידות מוגברת כנגד טווח רחב של פתוגנים; משפר את יכולות ההגנה של הצמח, ומאפשר לו להגיב בעילות גדולה יותר לעקות ביוטיות ואביוטיות.

על כן, חקר המנגנונים להשראת העמידות, חיפוש אחר משרני עמידות נוספים, שיפור הפרוטוקולים לטיפול במשרני עמידות קיימים, כמו גם יצירת צמחים בעלי תיחול מאוקטב תמידית-הינם מאבני המפתח ליצירת חקלאות מניבה, ברת קיימא וידידותית לסביבה. עלינו להמשיך ולחקור ולפתח אפיקים אלו בייתר שאת.

מקורות

- גרבר א', זילבר א', אלעד י', מלר הראל י', רב דוד ד', בורנשטיין מ', שולחני ר' וכן כליפא ח' (2011) השראת עמידות סטטמית בצמחים על ידי ביו-פחם בקרקע. שדה וירק חוברת 228 (פברואר) עמ' 26-32.
- Agrios G. N. (2005) How plants defend themselves against pathogens. In: Plant Pathology (Elsevier), pp. 207–248.
- Ahn I. P., Lee S.W. and Sun S.C. (2007) Rhizobacteria-induced priming in Arabidopsis is dependent on ethylene, jasmonic acid, and NPR1. Molecular Plant-Microbe Interactioun 20: 759–768.
- Alvarez-Venegas R., Abdallat A. Al, Guo M., Alfano J. R. and Avramova Z. (2007) Epigenetic control of a transcription factor at the cross section of two antagonistic pathways. Epigenetics 2: 106–115
- 175 תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני)

- Bacelli I. and Mauch-Mani B. (2016) Beta-aminobutyric acid priming of plant defense: the role of ABA and other hormones. *Plant Molecular Biology* 91: 703–711.
- Balmer A., Pastor V., Gamir J., Flors V. and Mauch-Mani B. (2015) The “prime-ome”: Towards a holistic approach to priming. *Trends Plant Sciences* 20: 443–452.
- Beckers G. J. and Conrath U. (2007) Priming for stress resistance: from the lab to the field. *Current Opinions in Plant Biology* 10: 425–431.
- Beckers G. J. M., Jaskiewicz M., Liu Y., Underwood W. R., He S. Y., Zhang S. and Conrath U. (2009) Mitogen-Activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 21: 944–953.
- Beneloujaephajri E., Costa A., L'Haridon F., Métraux J. P. and Binda M. (2013) Production of reactive oxygen species and wound-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Botrytis cinerea* are preceded and depend on a burst of calcium. *BMC Plant Biology* 13: 160.
- Bolter C., Brammal R. A., Cohen R. and Lazarovits G. (1993) Glutathione alteration in melon and tomato roots following treatment with chemicals which induce disease resistance to fusarium wilt. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 42: 321-336.
- Boughton A. J., Hoover K. and Felton G. W. (2005) Methyl jasmonate application induces increased densities of glandular trichomes on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *J. Chemical Ecology* 31: 2211–2216.
- Boyko A., Kathiria P., Zemp F. J., Yao Y., Pogribny I. and Kovalchuk I. (2007) Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants: (Virus-induced plant genome instability). *Nucleic Acids Research* 35: 1714–1725.
- Bruce T. J. A., Matthes M. C., Napier J. A. and Pickett J. A. (2007) Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Science* 173: 603–608.
- Van den Burg H. A. and Takken F. L. W. (2009) Does chromatin remodeling mark systemic acquired resistance? *Trends in Plant Science* 14: 286–294.
- Camañes G., Pastor V., Cerezo M., García-Andrade J., Vicedo B., García-Agustín P. and Flors V. (2012) A deletion in NRT2.1 attenuates pseudomonas syringae-induced hormonal perturbation, resulting in primed plant defenses. *Plant Physiology* 158: 1054–1066.
- Campos-Soriano L., Gómez-Ariza J., Bonfante P. and San Segundo B. (2011) A rice calcium-dependent protein kinase is expressed in cortical root cells during the presymbiotic phase of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biology* 11: 90.
- Carteaux F., Contesto C., Gallou A., Desbrosses G., Kopka J., Taconnat L., Renou J.-P. and Touraine B. (2008) Simultaneous interaction of *Arabidopsis thaliana* with *Bradyrhizobium* sp. strain ORS278 and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 leads to complex transcriptome changes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 244–259.

- Champigny M. J. and Cameron R. K. (2009) Action at a Distance. Long-distance signals in induced resistance. *Advances in Botanical Research* 51: 123–171.
- Chassot C., Buchala A., Schoonbeek H., MÃcotraux J. -P. and Lamotte O. (2008) Wounding of *Arabidopsis* leaves causes a powerful but transient protection against *Botrytis* infection. *Plant Journal* 55: 555–567.
- Cohen R., Riov J., Lisker N. and Katan J. (1986) Involvement of ethylene in herbicide induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology* 76: 1281-1285.
- Cohen R., Yarden O., Riov J., Lisker N. and Katan J. (1987) Paclobutrazol and other plant growth retardant chemicals increase resistance of melon seedlings to fusarium wilt. *Plant Pathology* 36: 558-564.
- Cohen R., Cuppels D. A., Brammal R. A. and Lazarovits G. (1992) Induction of resistances toward bacterial pathogens of tomato by dinitroaniline herbicides. *Phytopathology* 82: 110-114.
- Cohen, Y.R. (2002) β -aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens. *Plant Disease* 86: 448–457.
- Conrath U., Beckers G. J. M., Langenbach C. J. G. and Jaskiewicz M. R. (2015) Priming for Enhanced Defense. *Annual Review of Phytopathology* 53: 97-119.
- Conrath U., Pieterse C. M. J. and Mauch-Mani B. (2002) Priming in plant-pathogen interactions. *Trends in Plant Science* 7: 210–6.
- Crisp P. A., Ganguly D., Eichte, S. R., Borevitz J. O. and Pogson B. J. (2016) Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover and epigenetics. *Scientific Advances* 2: e1501340.
- 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 Vleeschauwer D. and Höfte M. (2009) Chapter 6 rhizobacteria-induced systemic resistance. *Advances in Botanical Research* 51: 223–281.
- Delaux P. M., Séjalon-Delmas N., Bécard G. and Ané J. M. (2013) Evolution of the plant-microbe symbiotic “toolkit”. *Trends in Plant Science* 18: 298–304.
- Dong X. (2001) Genetic dissection of systemic acquired resistance. *Current Opinions In Plant Biology* 4: 309–314.
- Durrant W. E. and Dong X. (2004) Systemic Acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42: 185–209.
- Elad Y. (2000) Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection* 19: 709-714.
- 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., Messika Y., Brand M., Rav David D. and Sztejnberg A. (2007) Microclimate effect on *Leveillula taurica* powdery mildew of sweet pepper. *Phytopathology* 97: 813-824.
- Elad Y., Rav David D., Meller Harel Y., Borenshtein M., Ben Kalifa H., Silber A. and Graber E. R. (2010) Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. *Phytopathology* 100: 913-921.
- Elad Y., Omer C., Nisan Z., Harari D., Goren H., Adler U., Silverman D. and Biton S. (2016) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses *Peronospora belbahrii* downy mildew. *Annals of Applied Biology* 168: 373–389.
- Elad Y., Rav David D., Israeli L. and Fogel M. (2017) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses white mould and grey mould. *Plant Pathology* 66: 105–114.
- Elad Y. (2018) Disease management: Disease suppression by cultural means and through biocontrol. *Acta Horticulturae* No. 1207: 105–113.
- Engelberth J., Alborn H. T., Schmelz E. A. and Tumlinson J. H. (2004) Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 1781–1785.
- Farag M. A., Ryu C. M., Sumner L. W. and Paré P. W. (2006) GC-MS SPME profiling of rhizobacterial volatiles reveals prospective inducers of growth promotion and induced systemic resistance in plants. *Phytochemistry* 67: 2262–2268.
- Fester T. and Hause G. (2005) Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. *Mycorrhiza* 15: 373–379.
- Francia D., Demaria D., Calderini O., Ferraris L., Valentino D., Arcioni S., Tamietti G. and Cardinale F. (2007) Wounding induces resistance to pathogens with different lifestyles in tomato: role of ethylene in cross-protection. *Plant Cell and Environment* 30: 1357–1365.
- Friedrich L. et al. (1996) A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant Journal* 10: 61–70.
- Frost C. J., Mescher M. C., Carlson J. E. and De Moraes C. M. (2008) Plant defense priming against herbivores: getting ready for a different battle. *Plant Physiology* 146: 818–24.
- Frye C. A. and Innes R. W. (1998) An arabidopsis mutant with enhanced resistance to powdery mildew. *Plant Cell* 10: 947–956.
- Gamir J., Sánchez-Bel P. and Flors V. (2014) Molecular and physiological stages of priming: how plants prepare for environmental challenges. *Plant Cell Reports* 33: 1935–1949.
- Gao Q.-M., Zhu S., Kachroo P. and Kachroo A. (2015) Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00228>
- Görlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengy G., Beckhove U., Kogel K. H., Oostendorp M., Staub T., Ward E., Kessmann H. and Ryals J. (1996) Benzothiadiazole, a novel class of inducers of

- systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8: 629–643.
- Grant M. and Lamb C. (2006) Systemic immunity. *Current Opinions in Plant Biology* 9: 414–420.
- Green T. R. and Ryan C. A. (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: A possible defense mechanism against insects. *Science* 175: 776–777.
- Gupta R. and Bar M. (2020) Plant Immunity, priming and systemic resistance as mechanisms for *Trichoderma* spp. *Biocontrol* 81–110. DOI: 10.1007/978-981-15-3321-1_5
- Gupta, R., Leibman-Markus, M., Marash, I., Kovetz, N., Rav-David, D., Elad, Y. and Bar, M. (2021) Root zone warming represses foliar diseases in tomato by inducing systemic immunity. *Plant, Cell & Environment* 44:2277–2289. <https://doi.org/10.1111/pce.14006>
- Hammerschmidt R. (2009) Chapter 5 Systemic Acquired Resistance. *Advances In Botanical Research* 51: 173–222.
- Harman G. E., Herrera-Estrella A. H., Horwitz, B. A. and Lorito M. (2012) Special issue: *Trichoderma*-from basic biology to biotechnology. *Microbiology* 158: 1–2.
- Heil M. and Ton J. (2008) Long-distance signalling in plant defence. *Trends in Plant Science* 13: 264–272.
- Hilker M. and Fatouros N. E. (2015) Plant responses to insect egg deposition. *Annual Review Entomology* 60: 493–515.
- Hilker M. and Meiners T. (2010) How do plants “notice” attack by herbivorous arthropods? *Biological Review* 85: 267–280.
- Hodge S., Thompson G. A. and Powell G. (2005) Application of DL- β -aminobutyric acid (BABA) as a root drench to legumes inhibits the growth and reproduction of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) . *Bulletin of Entomological Research* 95: 449–455.
- Howe G. A. and Jander G. (2008) Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology* 59: 41–66.
- Hsu F. C., Chou M. Y., Chou S. J., Li Y. R., Peng H. P. and Shih M. C. (2013) Submergence confers immunity mediated by the WRKY22 transcription factor in Arabidopsis. *Plant Cell* 25: 2699–2713.
- Van Hulten M., Pelser M., Van Loon L. C., Pieterse C. M. J. and Ton J. (2006) Costs and benefits of priming for defense in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 5602–5607.
- Jacob D., Rav David D., Sztjenberg A. and Elad Y. (2008) Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolycopersici*. *Phytopathology* 98: 270-281.
- Jaiswal A. K., Elad Y., Graber E. R. and Frenkel O. (2013) *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. *Soil Biology & Biochemistry* 69: 110–118.

- Jaiswal A. K., Alkan N., Elad Y., Sela N., Philosoph A. M., Graber E. R. and Frenkel O. (2020) Genes and pathways involved in biochar-mediated plant growth promotion and systemic resistance against crown rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. *Scientific Reports* 10: 13934.
- Jakab G., Cottier V., Toquin V., Rigoli G., Zimmerli L., Métraux J. P. and Mauch-Mani B. (2001) β -aminobutyric acid-induced resistance in plants. *European Journal of Plant Pathology* 107: 29–37.
- Jakab G., Ton J., Flors V., Zimmerli L., Métraux J. P. and Mauch-Mani B. (2005) Enhancing Arabidopsis salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. *Plant Physiology* 139: 267–274.
- Jeworutzki E., Roelfsema M. R. G., Anschütz U., Krol E., Elzenga J. T. M., Felix G., Boller T., Hedrich R. and Becker D. (2010) Early signaling through the arabidopsis pattern recognition receptors FLS2 and EFR involves Ca^{2+} -associated opening of plasma membrane anion channels. *Plant Journal* 62: 367–378.
- Jung S. C., Martinez-Medina A., Lopez-Raez J. A. and Pozo M. J. (2012) Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. *Journal of Chemical Ecology* 38: 651–664.
- Kessmann H., Staub T., Hofmann C., Maetzke T. and Herzog J. (1994) Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology* 32: 439–459.
- Kloepper J. W., Ryu C. M. and Zhang S. (2004) Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259–1266.
- Kolton M., Frenkel O., Elad Y. and Cytryn E. (2014) Potential role of flavobacterial gliding-motility and type IX secretion system complex in root colonization and plant defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 27: 1005–1013.
- Korolev N., Rav David D. and Elad Y. (2008) The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. *BioControl* 53: 667-683.
- Kuč J. (2001) Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology* 107: 7–12.
- Kumar V., Hatan E., Bar E., Davidovich-Rikanati R., Doron-Faigenboim A., Wang R., Spitzer-Rimon B., Elad Y., Alkan N., Lewinsohn E. and Oren-Shamir M. (2020b) Phenylalanine increases chrysanthemum flower immunity against *Botrytis cinerea* attack. *The Plant Journal* 104: 226-240.
- Kumar Patel M., Maurer D., Feygenberg O., Ovadia A., Elad Y., Oren-Shamir M., Alkan N. (2020a) Phenylalanine: A promising inducer of fruit resistance to postharvest pathogens. *MDPI Foods* 9: 646 pp 1-12.

- Lawton K. A., Friedrich L., Hunt M., Weymann K., Delaney T., Kessmann H., Staub T. and Ryals J. (1996) Benzothiadiazole induces disease resistance in Arabidopsis by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *Plant Journal* 10: 71–82.
- Leibman-Markus M., Pizarro L., Bar M., Coaker G. and Avni A. (2018) NRC proteins - a critical node for pattern and effector mediated signaling. *Plant Signaling & Behaviour* 13:8, e1507404.
- Leitner M., Kaiser R., Hause B., Boland W. and Mithöfer A. (2010) Does mycorrhization influence herbivore-induced volatile emission in *Medicago truncatula*? *Mycorrhiza* 20: 89–101.
- López A., Ramírez V., García-Andrade J., Flors V. and Vera P. (2011) The RNA Silencing Enzyme RNA Polymerase V Is Required for Plant Immunity. *PLoS Genetics* 7: e1002434.
- López Sánchez A., Stassen J. H. M., Furci L., Smith L. M. and Ton J. (2016) The role of DNA (de)methylation in immune responsiveness of Arabidopsis. *Plant Journal* 88: 361–374.
- Lotan-Pompan M., Cohen R., Yarden O., Portnoy V., Burger Y. and Katzir N. (2007) Trifluralin herbicide-induced resistance of melon to fusarium wilt involves expression of stress- and defense-related genes. *Molecular Plant Pathology* 8: 9-22.
- Luna E., Bruce T. J. A., Roberts M. R., Flors V. and Ton J. (2012) Next-generation systemic acquired resistance. *Plant Physiology* 158: 844–853.
- Luna E., LÃ³pez A., Kooiman J. and Ton J. (2014) Role of NPR1 and KYP in long-lasting induced resistance by Î²-aminobutyric acid. *Front. Plant Science* 5: 184.
- Luna E. and Ton J. (2012) The epigenetic machinery controlling transgenerational systemic acquired resistance. *Plant Signaling & Behaviour* 7: 615–618.
- Maillet F. et al. (2011) Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* 469: 58–64.
- Marhavý P., Kurenda A., Siddique S., Dénervaud Tendon V., Zhou F., Holbein J., Hasan M. S., Grundler F. M., Farmer E. E. and Geldner, N. (2019) Single-cell damage elicits regional, nematode-restricting ethylene responses in roots. *EMBO Journal* 38 (10). DOI: 10.15252/emj.2018100972
- Martínez-Aguilar, K., Ramírez-Carrasco, G., Hernández-Chávez, J.L., Barraza, A. and Alvarez-Venegas, R. (2016) Use of BABA and INA as activators of a primed state in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Frontiers in Plant Science* 7: 653.
- Martinez-medina A., Flors V., Heil M., Mauch-mani B. and Pieterse C. M. J. (2016) Recognizing Plant Defense Priming. *Trends in Plant Sciences* 21: 818–822.
- Martinez-Medina A., Flors V., Heil M., Mauch-Mani B., Pieterse C. M. J., Pozo M. J., Ton J., Van Dam N.M. and Conrath U. (2016) Recognizing Plant Defense Priming. *Trends in Plant Sciences* 21: 818–822.
- Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E. and Flors, V. (2017) Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. *Annual Review of Plant Biology* 68: 485–512.

- 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., Elad Y., Rav-David D., Borenshtein M., Shulchani R., Lew B. and Graber E. R. (2012) Biochar-induced systemic response of strawberry to foliar fungal pathogens. *Plant and Soil* 357: 245-257.
- Meller Harel Y., Rav David D. and Elad Y. (2013) Soil treatment with the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39 induces disease resistance in strawberry plants. *Fresenius Environmental Bulletin* 22: 1742-1747.
- 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 benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. *Phytopathology* 104: 150-157.
- Molinier J., Ries, G., Zipfel, C. and Hohn, B. (2006) Transgeneration memory of stress in plants. *Nature* 442: 1046–1049.
- Mousavi S. A. R., Chauvin A., Pascaud F., Kellenberger S. and Farmer E. E. (2013) GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling. *Nature* 500: 422–426.
- Ning Y., Liu W. and Wang G.-L. (2017) Balancing Immunity and Yield in Crop Plants. *Trends in Plant Sciences* 22: 1069–1079.
- Oka Y., Cohen Y. and Spiegel Y. (1999) Local and systemic induced resistance to the root-knot nematode in tomato by DL- β -amino-n-butyric acid. *Phytopathology* 89: 1138–1143.
- Okon Levy N., Elad Y., Katan J., Baker S. C. and Faull J. L. (2005) *Trichoderma* and soil solarization induced microbial changes on plant surfaces. *IOBC/WPRS Bulletin* 29(2): 21-26.
- 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.
- Oldroyd G. E. D., Harrison M. J. and Paszkowski U. (2009) Reprogramming plant cells for endosymbiosis. *Science* 324: 753–754.
- Oliva M., Hatan E., Kumar V., Galsurker O., Nissim-Levi A., Ovadia R., Galili G., Lewinsohn E., Elad Y. and Alkan N. (2019) Increased phenylalanine levels in plant leaves reduces susceptibility to *Botrytis cinerea*. *Plant Science* 290: 110289.
- Oostendorp M., Kunz W., Dietrich B. and Staub T. (2001) Induced disease resistance in plants by chemicals. *European Journal of Plant Pathology* 117: 19–28.
- De Palma M., Salzano M., Villano C., Aversano R., Lorito M., Ruocco M., Docimo T., Piccinelli A. L., D'Agostino N. and Tucci M. (2019) Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus *Trichoderma harzianum*. *Horticultural Research* 6: 5.

- Pastor V., Luna E., Mauch-Mani B., Ton J. and Flors V. (2013) Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany* 94: 46–56.
- Peiffer M., Tooker J. F., Luthe D. S. and Felton G. W. (2009) Plants on early alert: Glandular trichomes as sensors for insect herbivores. *New Phytologist* 184: 644–656.
- Perazzolli M., Dagostin S., Ferrari A., Elad Y. and Pertot I. (2009) Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. *Biological Control* 47: 228-234.
- Pertot I., Fiamingo F. and Elad Y. (2008) Evaluation of efficacy and SAR activity of bion (benzothiadiazole BTH) in strawberry. *Acta Horticulturae* No. 807: 739-743.
- Pieterse C. M. J., Van Wees S. C. M., Hoffland E., Van Pelt J. A. and Van Loon L. C. (1996) Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant Cell* 8: 1225–1237.
- Pieterse C. M. J., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C. M. and Bakker P. A. H. M. (2014a) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology* 52: 347–375.
- Pieterse C. M. J., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C. M. and Bakker, P. A. H. M. (2014b) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology* 52: 347–375.
- Pizarro L., Leibman-Markus M., Gupta R., Kovetz N., Shtein I., Bar E., Davidovich-Rikanati R., Zarivach R., Lewinsohn E., Avni A. and Bar M. (2020) A gain of function mutation in SINRC4a enhances basal immunity resulting in broad-spectrum disease resistance. *Communications in Biology* doi: 10.1038/s42003-020-01130-w
- Po-Wen C., Singh P. and Zimmerli L. (2013) Priming of the *Arabidopsis* pattern-triggered immunity response upon infection by necrotrophic *Pectobacterium carotovorum* bacteria. *Molecular Plant Pathology* 14: 58–70.
- Pozo M. J., López-Ráez J. A., Azcón-Aguilar C. and García-Garrido J. M. (2015) Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 205: 1431–1436.
- Prime-A-Plant Group C. et al. (2006) Priming: getting ready for battle. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 1062–1071.
- Rasmann S., De Vos M., Casteel C. L., Tian D., Halitschke R., Sun J. Y., Agrawal A. A., Felton G. W. and Jander G. (2012) Herbivory in the previous generation primes plants for enhanced insect resistance. *Plant Physiology* 158: 854–863.
- Reymond P., Weber H., Damond M. and Farmer E. E. (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12: 707–719.
- Roberts D. A. (1983) Acquired resistance to Tobacco mosaic virus transmitted to the progeny of

- hypersensitive tobacco. *Virology* 124: 161–163.
- Ross A. F. (1961a) Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology* 14: 329–339.
- Ross A. F. (1961b) Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology* 14: 340–358.
- Rubio M. B., Hermosa R., Vicente R., Gómez-Acosta F. A., Morcuende R., Monte E. and Bettiol W. (2017) The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. *Frontiers in Plant Sciences* 8: 294.
- Ryals J. A., Neuenschwander U. H., Willits M. G., Molina A., Steiner H. -Y. and Hunt M. D. (1996) Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8: 1809–1819..
- Ryan C. A. (1990) Protease inhibitors in plants: Genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 28: 425–449.
- Ryu C. M., Farag M. A., Hu C. H., Reddy M. S., Kloepper J. W. and Paré P. W. (2004) Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 134: 1017–1026.
- Schweiger R. and Müller C. (2015) Leaf metabolome in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinions in Plant Biology* 26: 120–126.
- Shtienberg D., Elad Y., Bornstein M., Ziv G., Grava A. and Cohen, S. (2010) Polyethylene mulch modifies greenhouse microclimate and reduces infection of *Phytophthora infestans* in tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. *Phytopathology* 100: 97–104.
- Singh P. and Roberts M. R. (2015) Keeping it in the family: Transgenerational memories of plant defence. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources* 10. 26. DOI: 10.1079/PAVSNNR201510026
- Singh P., Yekondi S., Chen P. W., Tsai C. H., Yu C. W., Wu K. and Zimmerli L. (2014) Environmental history modulates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity in a histone acetyltransferase1-dependent manner. *Plant Cell* 26: 2676–2688.
- Slaughter A., Daniel X., Flors V., Luna E., Hohn B. and Mauch-Mani B. (2012) Descendants of primed *Arabidopsis* plants exhibit resistance to biotic stress. *Plant Physiology* 158: 835–843.
- Smith F. A., Grace E. J. and Smith S. E. (2009) More than a carbon economy: Nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 182: 347–358.
- Song Y., Chen D., Lu K., Sun Z. and Zeng R. (2015) Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. *Frontiers in Plant Sciences* 6: 786.
- Song Y. Y., Ye M., Li C., He X., Zhu-Salzman K., Wang R. L., Su Y. J., Luo S. M. and Zeng R. (2014) Hijacking common mycorrhizal networks for herbivore-induced defence signal transfer between tomato plants. *Scientific Reports* 4: 1–8.

- Tateda C., Zhang Z., Shrestha J., Jelenska J., Chinchilla D. and Greenberg J. T. (2014) Salicylic acid regulates Arabidopsis microbial pattern receptor kinase levels and signaling. *Plant Cell* 26: 4171–4187.
- Terhorst C. P., Lau J. A., Terhorst C. P., Lau J. A., Kellogg W. K. and Terhorst Á C. P. (2012) Direct and indirect transgenerational effects alter plant-herbivore interactions. *Evolution Ecology* 26: 1469–1480.
- Theocharis A., Bordiec S., Fernandez O., Paquis S., Dhondt-Cordelier S., Baillieul F., Clément C. and Barka E. A. (2012) *Burkholderia phytofirmans* PsJN primes *Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low nonfreezing temperatures. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25: 241–9.
- Thomma B. P. H. J., Nürnberger T. and Joosten M. H. A. J. (2011) Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI Dichotomy. *Plant Cell* 23: 4–15.
- Ton J. and Mauch-Mani B. (2004) β -amino-butyric acid-induced resistance against necrotrophic pathogens is based on ABA-dependent priming for callose. *Plant Journal* 38: 119–130.
- Trouvelot S., Varnier A. L., Allègre M., Mercier L., Baillieul F., Arnould C., Gianinazzi-Pearson V., Klarzynski O., Joubert J. M., Pugin A. and Daire X. (2008) A β -1,3 glucan sulfate induces resistance in grapevine against *Plasmopara viticola* through priming of defense responses, including HR-like cell death. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 232–243.
- Van Der Ent S., Van Hulten M., Pozo M. J., Czechowski T., Udvardi M. K., Pieterse C. M. J. and Ton J. (2009) Priming of plant innate immunity by rhizobacteria and β -aminobutyric acid: Differences and similarities in regulation. *New Phytologist* 183: 419–431.
- Van Loon L. C. (2007) Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology* 119: 243–254.
- Van Loon L. C., Bakker P. A. H. M. and Pieterse C. M. J. (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review Phytopathology* 36: 453–483.
- Van Loon L. C., Rep M. and Pieterse C. M. J. (2006) Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology* 44: 135–162.
- Vlot A. C., Klessig D. F. and Park S. W. (2008) Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Current Opinion Plant Biology* 11: 436–442.
- Walley J. W., Rowe H. C., Xiao Y., Chehab E. W., Kliebenstein D. J., Wagner D. and Dehesh K. (2008) The chromatin remodeler SPLAYED regulates specific stress signaling pathways. *PLoS Pathogens* 4: e1000237.
- Walters D. R., Ratsep J. and Havis N. D. (2013) Controlling crop diseases using induced resistance: Challenges for the future. *Journal of Experimental Botany* 64: 1263–1280.
- Winter T. R., Borowski L., Zeier J. and Rostas M. (2012) Heavy metal stress can prime for herbivore-induced plant volatile emission. *Plant Cell and Environment* 35: 1287–1298.

- Worrall D., Holroyd G. H., Moore J. P., Glowacz M., Croft P., Taylor J. E., Paul N. D. and Roberts M. R. (2012) Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. *New Phytologist* 193: 770–778.
- Yalpani N., Enyedi A. J., León J. and Raskin I. (1994) Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Planta* 193: 372–376.
- Yamazaki A. and Hayashi M. (2015) Building the interaction interfaces: host responses upon infection with microorganisms. *Current Opinion in Plant Biology* 23: 132–139.
- Yogev A., Raviv M., Hadar Y., Cohen R., Wolf S., Gil L. and Katan J. (2010) Induced resistance as a component of compost suppressiveness. *Biological Control* 54: 46-51.
- Zhou F., Emonet A., Déneraud Tendon V., Marhavy P., Wu D., Lahaye T. and Geldner N. (2020) Co-occurrence of damage and microbial patterns controls localized immune responses in roots. *Cell* 180: 440-453.e18.
- Zimmerli L., Hou B. H., Tsai C. H., Jakab G., Mauch-Mani B. and Somerville S. (2008) The xenobiotic β -aminobutyric acid enhances *Arabidopsis* thermotolerance. *Plant Journal* 53: 144–156.
- Zimmerli, L., Jakab, G., Metraux, J. P. and Mauch-Mani B. (2000) Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by β -aminobutyric acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 97: 12920–12925.
- Zimmerli L., Métraux J. P. and Mauch-Mani B. (2001) β -Aminobutyric acid-induced protection of *Arabidopsis* against the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. *Plant Physiology* 126: 517–523.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 12: השפעת יסודות הזנה על מחלות צמחים

יגאל אלעד

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

מינרלים חיוניים לגדילה והתפתחות של צמחים ומשפיעים על האינטראקציה צמח-פתוגן. למינרלים בצמח השפעה על רגישותו למחלות. נמצאו מקרים מעטים של השפעה ישירה על גורם המחלה ומקרים רבים בהם ההשפעה של ההזנה מושגת על ידי שינוי תפקודי או מבני בתאי הצמח ורקמותיו. בנוסף לרגישות רקמת צמח להתפתחות הדבקה בפתוגן תיתכן גם השפעה על אופן הגידול של הצמח אשר יכולה להביא לשינוי במיקרואקלים על פניו וכך להשפיע על פעילות הפתוגן או השתמרותו, לדוגמה, עידוד של שלבי מחלה מוגברי לחות. תוארו השפעות של יסודות הזנה N, P, K, Mn, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, ושל אניונים Cl ו-SO₄. פעילות צורני החנקן (NH₄, NO₃) אינה דומה זה לזה. ריכוזי היסוד משפיעים על מידת השפעתו על מחלות צמחים וייתכנו מקרים של הפחתת מחלות בריכוז גבוה או בריכוז חסר של היסודות. השפעת היסוד יכולה להיות כתוצאה משינוי בריכוזו ברקמת הצמח אך מאחר וקליטת יסוד, הובלתו וקיבועו באתרי צמח שונים משפיעים רבות גם על גורלם של יסודות אחרים ההשפעה יכולה להיות לא ישירה. במחקרנו נמצאו דוגמאות שבהן ההשפעה של יון מיושם הינה על ידי שינוי בריכוז של יסוד אחר ברקמת הצמח הנתקפת על ידי פתוגן. בסקירת המחקרים שערכנו נמצאו יסודות הזנה כדוגמת הסיידן הפועלים כנגד מחלה במערכות צמח-פתוגן רבות ובכללן גידולי ירקות ופרחים. במקרים אחרים פעילות היסוד יכולה להיות שונה בתכלית באותו גידול באשר לגורמי מחלה שונים ובגידולים שונים באשר לאותו פתוגן או פתוגנים שונים. לפיכך לא ניתן להקיש ממערכת פתוגן-צמח אחת למערכת אחרת ויש צורך ללמוד כל מערכת באופן עצמאי. איכות המים, כמות ההדשיה ומשטר ההשקיה משפיעים לא רק על גידול הצמח והפזיולוגיה של אבריו, המיקרואקלים בנוף והרטיבות בקרקע אלא גם על הזנת הצמח ופיזור יסודות ההזנה ברקמותיו. לפיכך להיבטי ההשקיה השפעות שונות על התפתחות מחלות בצמחים אשר לא נחקרו דיין ורק מקצתן תואר בפרק זה. יסודות הזנה יכולים לפעול באמצעות מנגנונים שונים כנגד מחלות צמחים ובכלל זה השראת עמידות.

אופן הציטוט: אלעד י' (2021) **השפעת יסודות הזנה על מחלות צמחים**. פרק 12 ע' 214-187 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52967>



מבוא

מינרלים חיוניים לגדילה והתפתחות של צמחים ומשפיעים על האינטראקציה צמח-פתוגן. למינרלים החיוניים לצמח תיתכן השפעה על חומרת נגיעות במחלות (Huber and Graham, 1999) אשר הינה ספציפית למערכת צמח-מחלה-

מינרל מסוימים. זמינות המינרלים משפיעה על גדילת הצמח וע"י כך יכולה לשנות את המיקרו-אקלים בסביבתו ולהשפיע על שלבים בהתפתחות המחלה כגון חדירה והנבגה (Marschner, 1995). ריכוז המינרלים משפיע על הפיסיולוגיה והביוכימיה בצמח, פעילות אנזימתית, בניין דופן התא, חדירות הממברנה ועל סינתזה והצטברות של תרכובות כימיות כגון פנולים (ליגנין), סוכרים וחומצות אמינו (Graham, 1983). דישון עלוטי במינרלים כגון חנקן, אשלגן, מנגן ואבץ אף השרו עמידות סיסטמית (Dordas, 2008). בנוסף, ריכוז המינרלים במי ההשקיה עשוי לשנות את הריזוספירה וע"י כך להשפיע על רגישות הצמח למחוללי מחלות (Marschner, 1995). שימוש בהזנה מינרלית להפחתת חומרת הנגיעות יחד עם אמצעים קולטוראליים נוספים (ראו פרק אמצעים תרבותיים) יכול להיות אפקטיבי בבקרה של מחלות צמחים (Oborn et al., 2003; Dordas, 2008). הזנת הצמח משפיעה על מחלות המועברות בקרקע (Engelhard, 1989) ועל מחלות נוף (Dordas, 2008; Elad et al., 1995). לדוגמא, לגבי מגלת הסויה (*Fusarium oxysporum*) דווח שריכוזים גבוהים של זרחן הגבירו רגישות למחלה בעוד אשלגן, מגנין, סידן, גפרית וברזל השרו עמידות בצמחים (Cai et al., 2020). בפרק זה בתחילה יתוארו חלק בלבד מהשפעות יסודות הזנה שונים ובהמשך יתוארו מחקריו עם אותם יסודות במערכות צמח-פתוגן בגידולי ירק, תבלין ופרחים. השפעת יסודות ההזנה על פיסיולוגיה של צמחים או על ביטוי מחלות בהם מובאת כפי שמחברי הפרסומים תיארו אותה. ייתכן שבמערכות צמחים שונות התופעות קשורות בתהליכים משניים שלא היו ברורים לחוקרים והם דורשים מחקרים נוספים. הדוגמאות שמובאות עוסקות במחלות הנגרמות על ידי חיידקים, אאומיצטים ופטריית התוקפים אברי צמח שונים מתחת ומעל לפני מצע הגידול.

חנקן (N) - חיוני לגדילה והתפתחות של צמחים ומיקרואורגניזמים ובדרך כלל נצרך בריכוזים גבוהים (Xu et al., 2012). לחנקן השפעה על קליטת יסודות אחרים לצמח ועל רמת החומציות בריזוספירה (Bar-Tal et al., 2001). חנקן מהווה רכיב חשוב בחומצות גרעין, חומצות אמינו, חלבונים, ובכללם אנזימים וכלורופיל והינו גורם מרכזי בצימוח וגטטיבי. חנקן נקלט לצמח כמולקולת אמון (NH_4^+) או כמולקולת חנקה (NO_3^-) ותנועתו בצינורות ההובלה לרוב כחנקה. זמינות שתי צורות החנקן לצמח מאפשרת לו וויסות pH תוך תאי ואחסון חלק מהחנקן בעלות אנרגטית נמוכה (Marschner and Rimmington, 1988).

לחנקן השפעות מגוונות על מחלות צמחים התלויות לעיתים בצורן, N-NH_4^+ N-NO_3^- , והגברה או הפחתה של מחלה עשויה להיות תלויה מין צמח ופתוגן ובכלל זה חיידקים, אאומיצטים, פטריות ונגיפים (Huber and Watson, 1974). ככלל פרזיטים פקולטטיביים המעדיפים רקמה מזדקנת או נעזרים בשחרור טוקסינים בכדי להרוג את תאי הפונדקאי כך שגורמים התומכים בפעילות מטבולית של תאי הפונדקאי ומעכבים את הזדקנות הרקמה יכולים להגביר את סבילות הפונדקאי להם (Durdas, 2008) בעוד פרזיטים אובליגטוריים ניזונים ישירות מתאים חיים של הפונדקאי וריכוזי חנקן גבוהים בצמח מביאים לצימוח ווגטטיבי מהיר יותר והצטברות צימוח צעיר שבדרך כלל יותר רגיש למחלות (*Fusarium oxysporum* f. sp. (Robinson and Hodges, 1972). בצמחי עגבנייה הוגברה מחלה הנגרמת על ידי *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* בריכוזי חנקן גבוהים בצמח, פחתו תפקודי אנזימים הקשורים במטבוליזם של פנילפרופנואיד ונצפתה ירידה בתכולת ליגנין, קלוז, טילוז ורישיטין להם תפקידים בחיזוק דופן תא ובהגנה מפני פתוגנים (Hoffland et al., 2000). כשותית הפרג (*Peronospora arborescens*) החמירה עם העלייה בריכוז החנקן (Thakore and Doshi, 1995) ובדומה כשותית הגפן (*Plasmopara viticola*) הוחמרה ובמקביל פחתה סינתזת הפיטואלקסין רסברטרול בריכוזי חנקן גבוהים (Bavaresco and Eibach, 1987). שתי מחלות נוף בבצל, כשותית הבצל (*Peronospora destructor*) וכימשון שקעים (*Stemphylium vesicarium*) הושפעו מריכוז החנקן הכללי (Acharya and תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 188

(Shrestha, 2018). כשותית בדגניים הוגברה על ידי חנקה בדשן (Tobergte and Curtis, 2013). בדומה חנקן השפיע באופן שלילי על מגלת הסויה (Cai et al., 2020). בדגניים חומרת חלדונות וכשותיות בדרך כלל עולה בריכוזי חנקה גבוהים (Tobergte and Curtis, 2013). לעומת זה ריכוז אמוניום חנקתי גבוה הפחית את כשותית הדלועיים (*Pseudoperonospora cubensis*) במלפפון (Papadaki et al., 2019) ובדומה ריכוז חנקה גבוה בקרקע הפחית את חומרת מחלות הנגרמות על ידי *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* ו-*Pythium* וריכוזי אמון גבוהים הפחיתו את מחלות הנגרמות על ידי *Thielaviopsis basicola*, *Sclerotium rolfsii* ו-*Gibberella zeae* (Harrison and Shew, 2001; Celar, 2003).

שעור האמון בכלל הדשן החנקני אף הוא עשוי להשפיע על חומרת מחלות צמחים. חומרת חסלון הופחתה על ידי אמוניום גפרתי בחיטה (Ghadamkheir et al., 2020a) וכך גם קליטה מוגברת של אמון נמצאה נחוצה לעמידות אורז ל *Rhizoctonia solani* (Chi et al., 2019). תופעה שונה לחלוטין – הגברת חומרת מחלה על ידי אמון נמצאה בריקבון כתר העגבנייה (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*) על ידי Duffy and Defago (1999).

זרחן (P) – נקלט על ידי שורשי צמחים באחת משתי צורות – $H_2PO_4^-$ ו HPO_4^{2-} . זרחן הינו מרכיב במולקולות רבות בצמח כגון אנזימים ושאר חלבונים ובפוספו-חלבונים, פוספוליפידים וחומצות גרעין כך שהוא חשוב בכל מחזור חיי הצמח וברפרודוקטיביות שלהם. זרחן קשור בהבכרה ואיכות פירות ובכל התהליכים המטבוליים ברקמות הצמח. בין היתר לזרחן חשיבות בתהליכים פוטוסינטטים ומולקולות NADP, מולקולות שימור אנרגיה והעברתה במולקולות ADP ו ATP ותהליכי חמצון חיזור (Marschner, 1995).

דישון זרחני הפחית את חומרת קישיון הבטטה (*Macrophomina phaseolina*) בסויה בצד הפחתה של מיקוריזה (Spagnoletti et al., 2018) ובניסויי עציצים יושם הדשן סופרפוספאט אשר הפחית חסלון (*Gaeumannomyces graminis*) בשורשי חיטה בכדי 50% ושעור הפחתת המחלה היה במתאם ישר עם ריכוז הזרחן המיושם (Ghadamkheir et al., 2020a). גם מחלות נוף הופחתו על ידי זרחן; דישון מוגבר בזרחן בשדה תפוח-אדמה הפחית את חומרת כימשון (*Phytophthora infestans*) ואת התפשטות המחלה (Dey and Chakraborty, 2016). גחלון (*Colletotrichum gloeosporioides*) בתות-שדה שגדל בהידרופניקה ללא סחרור מים הופחת על ידי זרחן (Nam et al., 2006) ו תוספת זרחן בשדה הפחיתה באופן בינוני את חלדון עלי החיטה (*Puccinia triticina*) (Sweeney et al., 2000).

אשלגן (K) – הינו הקטיון הנפוץ ביותר ברקמות הצמח וריכוזו כ-6% מכלל החומר היבש בצמח (Romheld and Kirkby, 2010) קליטתו לצמח היא בצורתו החד ערכית ותנועתו קלה בעצה ובשיפה ובין רקמות הצמח (Marschner, 1995). אשלגן מתפקד כקטיון מלווה לאניונים כדוגמת חנקה ומשמש כרגולטור למטען החשמלי בתא (Suelter, 1970). יש לו תפקיד בויסות רמת החומציות בציטוזול ובכלורופלסט ובפעילות של ראקציות אנזימתיות (Marschner, 1995). אשלגן משפיע על תהליכי פוטוסינתזה, פתיחה וסגירה של פיוניות, ויסות לחץ טורגור, אוסמורגולציה, התארכות תאים, שפעול של אנזימים וסינתזה של חלבונים (Romheld and Kirkby, 2010; Suelter, 1970).

אשלגן מפחית רגישות צמחים למחלות עד לריכוזו האופטימלי לגדילה (Huber and Graham, 1999). אשלגן מעודד את התעבות הדופן בתאי האפידרמיס ולוקח חלק בפתיחת הפיוניות להן תפקיד במניעה של חדירת פתוגנים (Marschner, 1995). אשלגן בריכוזים גבוהים מעודד סינתזה של פולימרים שונים ומפחית סינתזה של תרכובות כגון סוכר מסיס, חומצות אורגניות, חומצות אמינו ואמידים שמשמשים לתזונת פרזיטים (Romheld and Kirkby, 2010).

בריכוזי אשלגן מעודדים היווצרות של מולקולות חמצן פעיל (ROS) והורמונים צמחיים כגון חומצה ג'סמונית, אתילן ואוקסין (Wang and Wu, 2010; Ashley et al., 2006). כשותית הגפן (Pushpavathi et al., 2020) הופחתה על ידי מקורות אשלגן שונים וצורת יישום שונות. פעילות אנזים פניל אמוניה ליאז (PAL) הגברה וריכוז פנולים עלה בעקבות הטיפול. בבזיל נמצא כי תוספת של אשלגן מעלה את ריכוז הפנולים (rosmarinic acid, chicoric acid) ואת הפעילות האנטי-אוקסידנטית בצמח (Nguyen et al., 2010). בדרך כלל ריכוז אשלגן גבוה ברקמת הצמח מפחית את חומרת הנזקים של מחלות ומזיקים. אשלגן קשור בהפחתת עובש האפור (*Botrytis cinerea*) בבזיל כפי שיתואר בהמשך (Yermiyahu et al., 2015) ובהפחתת כשותית (*Peronospora alta*) בפסיליום (Mandal et al., 2008). ריסוס אשלגן חנקתי הפחית חומרה ושכיחות של כתמי חלפת (*Alternaria macrospora* ו-*A. alternata*) בכותנה והפחיתו נשירת עלים (Bhuiyan et al., 2007). אשלגן כלורי הפחית את חומרת חלדון עלי חיטה (*Puccinia triticina*) אך החוקרים שיערו שגם ליון הכלוריד (Cl) הייתה תרומה (Sweeney et al., 2000).

סידן (Ca) – נקלט לצמח כיון Ca^{2+} וחוצה את השורשים דרך הפלסמודסטמה או דרך האפופלסט ותנועתו בגבעול היא דרך העצה (White, 2001) ותלויה בקצב הדיות במהלך היום ובלחץ השורשים בלילה וקליטתו מושפעת מחומציות הריזוספרה ומתחרות עם יונים הטעונים במטען חיובי כדוגמת אשלגן ומגניום (Bar-Tal et al., 2001). ריכוזו בצמח בין 0.1 ל-5% ממשקל החומר היבש (Marschner, 1995). סידן מתווך גדילה קוטבית של תאים, זרימה ציטו-פלזמתית, מיטוזה וציטוקנזה (Melorose et al., 2015). יש לו תפקידים מבניים רבים והוא משמש כשליח שניוני ברשת הסיגנלים בתא, משפעל אנזימים ומשנה קונפורמציה של חלבונים קושרי סידן כגון קלמודולין, קינאזות ופקטורי שעתוק (White and Broadley, 2003).

סידן חשוב לתפקוד ויציבות הממברנה ובמחסור בו ישנה דליפה של תרכובות כגון סוכרים וחומצות אמינו מהציטופלזמה לאפופלסט שמעודדים הדבקה בפתוגנים (Marschner, 1995). סידן מצוי בדופן התא כ-Ca polygalacturonates שנדרש ליציבות למלת הביניים וכשריכוזו ברקמת הצמח יורד ישנה עליה ברגישות לחדירת פטריות (Huber and Graham, 1999). קטיון הסידן מתפקד במערכת ההגנה של הצמח כמולקולת איתות או פועל דרך חלבונים קושרי סידן שמתפקדים כקינאזות וכפקטורי שעתוק. כמו כן, סידן לוקח חלק בתהליכים כגון סגירת פיוניות, ייצור פיטואלקסינים, פעילות של חלבוני פתוגנזה (PR), ביטויי גנים ובתגובת רגישות יתר (HR) Lecourieux (et al., 2006; Levine et al., 1996; Romeis et al., 2000). בנוסף, פטריות פתוגניות מפרקות את למלת הביניים בעזרת אנזימים פקטוליטיים כדוגמת פוליגלקטורנאז בעוד פעילות אנזימים אלו מעוכבת ע"י סידן (Bateman and Lumsden, 1965). סידן הגביר עמידות מספר מיני צמחים נגד גורמי מחלה המשתייכים למיני פיתום, סקלרוטיניה, בוטריטיס ופוזריום (Graham and Webb, 1991). העלאת ריכוז הסידן במי ההשקיה הפחית הנבגה של *B. cinerea* בגבעולי בזיל (Yermiyahu et al., 2006). סידן הניתן בריסוס הפחית רגישות למחלת הכשותית הנגרמת ע"י *Sclerospora graminicola* בצמחי דוחן (Geetha and Shetty, 2002). סידן חנקתי הפחית את ריקבון כתר העגבנייה אך החוקרים (Duffy and Defago, 1999) שיערו שליון החנקה גם יש תרומה להפחתת המחלה. חומרת נבילה חיידקית (*Ralstonia solanacearum*) בעגבנייה הופחתה על ידי סידן בתמיסת ההשקיה ורמת אוכלוסיית החיידקים פחתה (Yamazaki, 2004).

מגניום (מגנזיום Mg) – ממלא תפקיד חשוב בהזנת הצמח (Kirkby and Mengel, 1976). ריכוזו הכללי בתא הוא בין 15 ל-25 מילימולר (Moomaw and Maguire, 2008) - רובו קשור או משולב ברכיבי התא. מגניום נע בצינורות השיפה, **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 190

נאגר בוקואולות שבתאי העלים ומספק פוטנציאל אוסמוטי רב. קליטתו מושפעת מריכוז שאר המינרלים בתמיסת הקרקע ובמיוחד סידן, אשלגן ומנגן (Huber and Jones, 2012). כ-20% מסך כל המגנין בעלים משולב באמצע מולקולת הכלורופיל ולכן הינו בעל חשיבות לתהליך הפוטוסינתזה (White and Broadley, 2009) והוא מהווה רכיב המקשר בין תתי היחידות של הריבוזום ומתאם בין חומצות גרעין ולכן דרוש לסינתזת חלבונים. מגנין מגשר בין אנזים לסובסטרט בהרבה ראקציות כולל פוספורלציה ודה-פוספורלציה ומשתתף במגוון תהליכים בסיסיים בחיי תא כגון המרת אנרגיה (ATP), היווצרות דנ"א ורנ"א, מיטוזיס ובמטבוליזם ובתנועה של פחממות (Marschner, 1995).

בשל היכולת של מגנין לתפקד בסינרגיזם או אנטגוניזם עם מינרלים אחרים (במיוחד סידן, אשלגן ומנגן) השפעתו על מחלות משתנה בהתאם לתנאים הסביבתיים (Huber and Jones, 2012). לדוגמא, מגלת (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) בכותנה מופחתת כאשר מגנין זמין לעומת זאת ריכוזים גבוהים של מגנין מעכבים ספיגה של סידן ומחמירים את שכיחות הניקוד החיידקי (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) בעגבנייה ובפלפל. למגנין תפקיד בתנועת תוצרי הפוטוסינתזה בשיפה וחלוקתם למבלעים. במחסור במגנין ישנה הצטברות של סוכר, עמילן וחומצות אמינו בעלים דבר המעודד התפתחות וחדירה של פתוגנים (Cakmak and Kirkby, 2008; Johnes and Huber, 2007). בדומה לסידן, מגנין הוא רכיב מבני בלמלת הביניים ויחדיו הם הופכים את שכבת הפקטין לעמידה יותר בפני פירוק ע"י אנזימים פקטוליטיים של פתוגנים (Bateman, 1964). מגנין מפחית כשותית (*Peronospora arborescens*) בתרד, וכשותית (*Peronospora tabacina*) בטבק (Edreva et al., 1984; Szepessy, 1982).

יסודות קורט – יסודות כגון נחושת, ברזל, מנגן, אבץ, מוליבדן, ניקל ובורון שהינם חיוניים לכל הצמחים הוסקולריים. רובם פועלים כקו-פקטורים לאנזימים ממשפחת המטלואנזימים, ולחלקם תפקיד בשמירה על יציבות המבנה של חלבונים. הם מעורבים בתפקוד התא ובתהליכים מטבוליים כגון סנתזה של מטבוליטים ראשוניים ושניוניים, מטבוליזם של אנרגיה, הגנה על התא, בקרה על גנים, קליטה של הורמונים והולכת סיגנלים (Hansch and Mendel, 2009). ליסודות קורט השפעה על תכולת פנולים וליגנין בצמח ועל תגובת הצמח לפתוגנים (Marschner, 1995). יסודות כגון מנגן ונחושת נמצאו במערכת קימחון - מלפפון כיונים חליפים המשחררים מהמברנה יוני סידן שלהם יחד עם חומצה סליצילית תפקיד בהפעלה של מערכת ההגנה (Reuveni et al., 1997).

מנגן (Mn) – יסוד בעל חשיבות רבה בפיתוח סבילות למחלות נוף (Graham and Webb, 1991). למנגן תפקידים כמתכת קטליטית ובשפעול של חלבונים ואנזימים כגון סופראוקסיד דימוטאז שמעורב בייצור מי חמצן ובהגנה על הממברנה מנזקי רדיקלים חופשיים (Hansch and Mendel, 2009). הוא מעורב בלפחות שני שלבים במסלול הסינתזה של ליגנין החיוני להגנת הצמח (Gross, 1981). ריסוס עלויותי ב-MnCl₂ הפעיל הגנה סיסטמית מושרית נגד קימחון במלפפון, והעלה את תכולת β 1,3-glucanase גם בצמחים שלא הודבקו בפתוגן (Reuveni et al., 1997). למנגן השפעה ישירה על פתוגנים וביכולתו לעכב אקסואנזימים של פטריות דוגמת האנזים פקטין מתילאסטראז שמפרק את דופן תא הצמח ואת האנזים אמינופפטידאז שאחראי לספק חומצות אמינו לפטרייה (Boosalis et al., 1965). מנגן מפחית מחלות נוף כגון כשותיות, קימחונות ועוד (Dordas, 2008). נמצא שהזנה במנגן מעלה עמידות לקימחון הדלועיים (*Podospheera fuliginea*) בעלי מלפפון על ידי העלאת יכולת להתמודד עם אבדן המים הנגרם על ידי פגיעת דופן התאים מהפתוגן (Eskandari and, Sharifnabi, 2019). הוספה של מנגן מעכבת את פעילות הברזל כנראה ע"י יצירת תחרות ישירה שמשפיעה על ספיגת הברזל לפתוגן (Graham, 1983). אינטראקציה אנטגוניסטית

תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **191**

בין מתכות כגון ברזל ומנגן נפוצה ביחסי פונדקאי-פתוגן. ריסוס במנגן הפחית את מחלת כתמים מעוינים בחיטה (Drechslera tritici-repentis) (Simoglou and Dordas, 2006), חלדון כתום (*Puccinia kuehnii*) בקנה סוכר (et al., 2019) (Mesquita al., 2019), גחלון (*Colletotrichum lagenarium*) במלפפון (Eskandari et al., 2020) וחלדון (*Hemileia vastatrix*) בקפה (Perez et al., 2020). בדומה Brennan (1992) מצא שחיטה רגישה יותר לחסלון כשקיים מחסור של מנגן בעלים.

אבץ (Zn) – חשוב לאנזימים במסלול סינתזת חלבונים, יצירת אנרגיה, כפקטור שעתוק ובתחזוקה של מבנה ושלמות הממברנה (Kramer and Clemens, 2005). אנזימים המושפעים מאבץ מעורבים בשעתוק דנ"א, עיבוד רנ"א ובתרגום חלבונים (Freyermuth et al., 2000). יישום אבץ מפחית את חומרת המחלה כנראה בשל הרעילות שלו לפתוגנים ולא דרך המטבוליזם של הצמח (Graham and Webb, 1991). כמשפעל של Cu/Zn-SOD אבץ מעורב בהגנה על הממברנה מפני נזקי חמצון דרך דה-טוקסיפיקציה של רדיקלי סופראוקסיד (Cakmak, 2000). פגיעה בשלמות הממברנה ע"י רדיקלים מגבירה דליפה של תרכובת כגון סוכרים וחומצות אמינו ויוצרת סביבה עדיפה לפרזיטים (Graham and Webb, 1991; Marschner, 1995). אבץ הפחית את הרגישות לקימחון (*Erysiphe polygoni*) בכרוב ולפת (Tolmison and Webb 1958), חלון (*Gaeumannomyces graminis var. tritici*) בחיטה (*Drechslera tritici-repentis*) (Simoglou and Dordas, 2006), חלדון הקפה (*Hemileia vastatrix*) (Perez et al., 2020), *Pyricularia grisea* במכבדי אורז (Filippi, and Prabhu, 1998) וחלפת (*Alternaria grandis*) בתפוח-אדמה (Machado et al., 2018). לעומת זה החמרה במחלת כתם חום (*Bipolaris oryzae*) באורז התרחשה עם העלייה בריכוזי אבץ בעלים (Moreira et al., 2013).

ברזל (Fe) – מעורב בפוטוסינתזה, בנשימה מיטוכונדריאלית, הטמעה של חנקן, סינתזת הורמונים כגון חומצה יסמונית וג'יברלין, יצירה וסילוק של חמצן פעיל (ROS) ובהגנה של הצמח נגד פתוגנים (Hansch and Mendel, 2009). ברזל חיוני גם למיקרואורגניזמים, ומפעיל אנזימים שמעורבים בהדבקת הצמח בפתוגן. לכן, תיתכן השפעה חיובית או שלילית על רגישות הצמח למחלה (Dordas, 2008; Graham and Webb, 1991). ברזל מעורב בתגובת הצמח לזיהוי פתוגנים, רב-ברזל (Fe^{3+}) מתווך פרץ חמצוני של H_2O_2 שיחד עם שתף יוני ברזל מפעיל שעתוק גנים הקשורים לפתוגנזה (Liu et al., 2007). ברזל הפחית את חומרת חלדון החיטה ו-*Colletotrichum Musae* בבונה (Graham, 1991) ו-*Sphaeropsis malorum* ושל כרוב ל-*Olpidium brassicae* (Graham, 1983). ברזל הגביר את חומרת מחלת החסלון (*Gaeumannomyces graminis var. tritici*) בשעורה (Dordas, 2008) והפחית מחלה זו בחיטה (Ghadamkheir et al., 2020b).

נחושת (Cu) – חיונית לפוטוסינתזה ולנשימה במיטוכונדריה, למטבוליזם של פחמן וחנקן, להגנה מנזקי חמצון ולסינתזה של דופן התא. נחושת נמצאת בתא בשני מצבי חמצון Cu^{1+} (לא יציב) ו- Cu^{2+} מה שמאפשר לה פעילות חמצון חיזור בראקציות ביוכימיות ולכן לנחושת פוטנציאל ליצור רדיקלים חופשיים ולגרום לנזקים לחלבונים ולדנ"א. בכדי למנוע רעילות יוני נחושת נקשרים לחלבונים כגון מתלתיונין וצ'פרונים ומונעים את ההצטברות בתא (Marchant et al., 2006). לאנזימים שדורשים נחושת לפעילותם כגון פוליפנולאוקסידאז ופנולאז תפקיד מרכזי בסנתזה של ליגנין **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 192

(Loneragan, 1981; Bussler, 1981). נחושת משמשת כקו-פקטור לרצפטור של אתילן ובהעדר נחושת האפיניות של הרצפטור לאתילן יורדת משמעותית (Rodríguez et al., 1999). נחושת משמש כפונגציד לבקרה של מחלות צמחים כנחושת אוקסיכלוריד או בתרכובות כגון מרק בורדו. ריכוז הנחושת בצמח הוא בין 1-10 חלקים למיליון מחומר יבש. חומרת מחלה גבוהה יותר במחסורי נחושת דווחה במקרים של *Alternaria helianthi* בחמנייה, ארגוט הנגרם ע"י *Claviceps purpurea* בשיפון ושעורה ו-*Septoria tritici* בחיטה (Graham, 1983; Toms, 1958). בנוסף, תוספת דישון בנחושת הפחיתה את חומרת הנגיעות ב-*Sclerotinia minor* באגוז-אדמה (Hallock and Porter,) (1981) ו-*Gaeumannomyces graminis var. tritici* בחיטה (Ghadamkheir et al., 2020b; Reis et al., 1982).

השקיה

השקיה משפיעה על גידול הצמח, המיקרואקלים בסביבתו ובשכבת הגבול בין פני הצמח לסביבתו. השקיה גם משפיעה על רגישות רקמת הצמח לגרמי המחלה ועל פעילות הפתוגנים. השקיה ואופוטנספירציה משפיעים על הלחות והטמפרטורה באזור הצמח, ולזמינות המים השפעה על הפיזיולוגיה, קצב הגידול, לחץ הטורגור, סגירה ופתיחה של פיוניות, התמודדות עם עקות וחיוניות הצמח (Rotem and Palti, 1968). ישנו מתאם שלילי בין קצב הטנספירציה לטמפרטורת העלה ובעקת מים טמפרטורת העלה עולה (Austin and Wilcox, 2011). טמפרטורת הנוף בין משטרי השקיה שונים יכולה להשתנות בטווח של 3-5 מ"צ (Blad et al., 1974; Weiss et al., 1980). הפחתת תדירות השקיה ע"י הארכת המרווחים בין ההשקיות נמצאה יעילה בהפחתת מחלת כשותית בכשות הנגרמת ע"י *Pseudoperonospora hutnuli* בקליפורניה (Spencer, 1981). הגבלת מועדי ההשקיה במהלך היום הפחיתה נגיעות *Botrytis cinerea* בגבעולי עגבנייה (Dik and Wubben, 2007). במקרים אחרים, שכיחות המחלות *Alternaria sesami* בסומסום ו-*Sclerotium bataticola* בסורגום פחתה בניסויי שדה ע"י תוספת השקיה (Rotem and Palti, 1968). שמירה על לחות גבוהה של 74-79% בקרקע הפחיתה את חומרת מחלת הכשותית הנגרמת ע"י *Peronosclerospora sorghi* בסורגום (Spencer, 1981). איכות המים אף היא עשויה להשפיע על רגישות הצמח ופעילות הפתוגנים אך אין על כך מידע מחקרי.

מחקרים בהדברת מחלות נוף

מחקרים על השפעת יסודות הזנת הצמח על יחסי צמח-פתוגן התפתחו בהדרגתיות. יישום היונים נעשה תוך שימוש במלחים שונים והתחשבות בתנאי הגידול, השפעת המיקרואקלים על קליטת חומרים ובדיקת תנאים להגעת היסודות לרקמות בהן נדרשים היסודות. היישום נעשה במתן בהשקיה או בריסוס. בהשקיה ניתן למנן ריכוזים שונים של יסוד נבחר בשעה שריכוז שאר היסודות נשאר בהתאם למערכת שנבנתה במרכז מחקר גילת (Erel et al., 2008). הצמחים גדלים ככל האפשר במצע אינרטי כימית (פרלייט) בריסוס ניתנים קטיונים המלווים באניונים שונים כגון כלוריד וסולפאט וגם לאניונים תיתכן השפעה במערכת הנבדקת. לאחר יישום משטרי הזנה ריכוזי יונים שונים באברי הצמחים נבדקים ונלמד הקשר בין ריכוזים אלה לבין חומרת או שכיחות מחלה לפני או אחרי קטיף. אנאליזות כאלה יכולות להצביע על קשרים שלא נצפו מראש בין יסודות הזנה ומחלות צמחים ולבדיקת השפעה של יסודות הזנה נוספים על מחלות צמחים. מדע הזנת הצמחים שונה בתכלית ממדע מחלות הצמחים וכרוך במומחיות אשר במחקרינו נתרמה על ידי מומחים בנושא ובהם רות גן-מור ז"ל, אשר בר-טל, אורי ירמיהו, אפרים ציפילביץ וחובריהם ומומחים נוספים, כפי שיוצג בהמשך.

הפטרייה *Botrytis cinerea* גורמת לנזקים בצמחים רבים ובכלל זה לצמחי נוי וירק (Elad, 1997; Elad and Evensen, 1995). פרחי ורד קטופים נטבלו בבסיסם בתמיסות סידן כלורי וסידן גפרתי במשך יומיים והודגרו בתנאים מעודדי עובש אפור (*Botrytis cinerea*, איור 1); טיפולי הסידן הפחיתו ב- 60% את חומרת המחלה. בהמשך טופלו שיחי ורד בחממה מסחרית ב- 3.5 mM סידן חנקתי והמחלה בפרחים שהתפתחו הופחתה אף היא. נמצא שהסידן הפחית יצור אתילן על ידי הפרחים אשר כשלעצמו מעודד את הזדקנותם ורגישותם לפטרייה בוטריטיס וכן עיכב יצור האנזים פוליגלאקטורונאז ופרוק פקטין על ידי הפטרייה (Volpin and Elad, 1991; Elad and Volpin, 1988). בעבודה מאוחרת יותר עם שיחי ורד בחממה, העלאת ריכוז הסידן מ- 0.5 ל 5 mM הגבירה את ריכוז הסידן בפרחים וחומרת עובש אפור לאחר קטיף הייתה במתאם שלילי עם ריכוז הסידן בעלה דיאגנוסטי ובעלי הכותרת. אשלגן ומגניון הפחיתו את קליטת הסידן בפרחים ולכן הגבירו את רגישותם למחלה (Bar-Tal et al., 2001). בדומה דישון בסידן חנקתי לשיחי רוסקוס הפחית עובש אפור (איור 2) בענפים קטופים. גם טיפול ריסוס בכל אחת משלושת תרכובות הסידן (כלורי, גפרתי וחנקתי) או מתן סופר פוספאט $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + \text{CaSO}_4$ מכיל 22% סידן) או גבס (CaSO_4) למצע הגידול של שיחי רוסקוס הפחיתו את העובש האפור בענפים קטופים (Elad and Kirshner, 1992).



איור 1. עובש אפור בעלה כותרת של ורד (פרח שמאלי) ונקודות ('אבעבועות') (פרח ימני) הנגרמים על ידי *Botrytis cinerea*. צילום: יגאל אלעד

הוספה של סידן ובמידה פחותה אשלגן לדשן הפחיתו עובש אפור בחנטיים וגבעולים של מלפפון (איור 3) בחממות מסחריות. הזנה באשלגן הפחיתה גם את כשותית הדלועיים (*Pseudoperonospora cubensis*) ושני היסודות לא הפחיתו את חומרת קימחון הדלועיים (איור 4). הוספת סידן לתמיסת הדשן וכן טיפולים למצע הגידול בגבס או בסופר פוספאט הפחיתו עובש אפור גם בחציל ופלפל (איור 5) לאחר הדבקה מלאכותית בבוטריטיס (Elad et al., 1992). דישון צמחי שעועית ב 1-3 mM סידן כלורי וחנקתי הפחיתו עובש אפור (איור 6) יותר מאשר 5 mM. בעגבנייה הפחית סידן חנקתי עובש אפור בעלים וכתמי רפאים בפירות (איור 6). נוצר פחות אתילן בעלים מצמחים מטופלי סידן וכן נוזל שטיפה מהעלים עודד פחות את גידול הפטרייה בוטריטיס לעומת נוזל ששטף עלי צמחים לא מדושנים בסידן. ממצא זה מעיד על הפיכת ממברנות התאים לפחות פרמאביליות ויותר מיוצבות בזכות הסידן שהגיע אליהם. גם בעגבנייה יישום הגבס והסופר פוספאט בקרקע הפחיתו עובש אפור (Elad and Volpin, 1992).



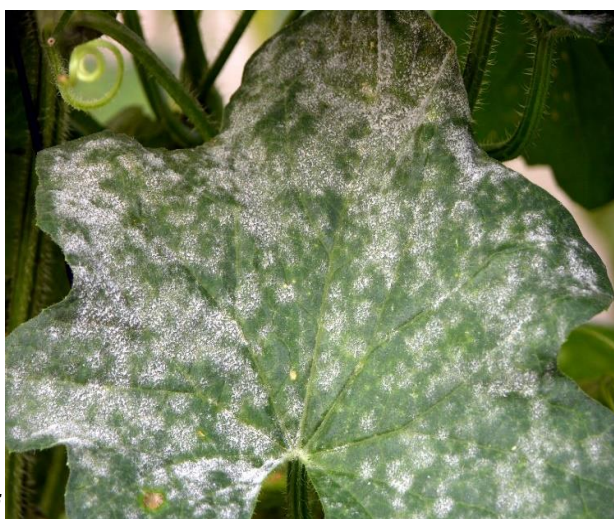
איור 2. עובש אפור בעצבנית גדולה (רוסקוס) הנגרם על ידי *B. cinerea*. בפילוקלד (ימין) ובגבעול (שמאל). צילומים: יגאל אלעד



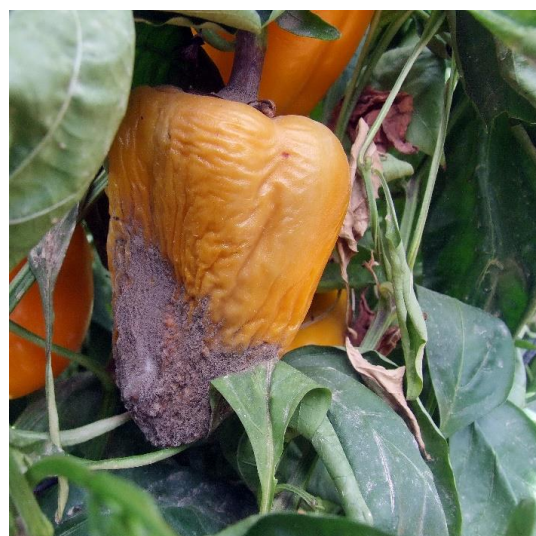
איור 3. עובש אפור (*B. cinerea*) בחנט מלפפון (ימין), גבעול מלפפון (שמאל). צילומים: יגאל אלעד

עובש אפור בריחן מתוק (בזיל)

עובש אפור הנגרם על ידי *B. cinerea* בבזיל מהווה מחלה חשובה בחלקת הגידול ובענפים קטופים (איור 7, Elad et al., 2014). חומרת נגיעות במחלה נמצאה במתאם אקספוננציאלי שלילי לריכוז האשלגן (K) בתמיסת השקיה בעציצים ובענפי הבזיל. ריסוס בזיל במלח אשלגני בצמחים המוזנים בריכוז אשלגן נמוך הפחית אף הוא את חומרת העובש האפור (Yermiyahu et al., 2015). בתנאים כמו-מסחריים הזנה בריכוז נמוך יחסית של אשלגן בבזיל הביאה להחמרה של עובש אפור. חומרת המחלה לאחר קטיף הייתה במתאם שלילי עם ריכוז האשלגן בענפים הקטופים וזאת כתוצאה מעמידות ל *B. cinerea* בצמחים. לא התקבלה הפחתה תוספתית של המחלה בעת שילוב דישון באשלגן עם תכשירי הדברה כימיים (Yermiyahu et al., 2015; ישראלי, 2011). הזנה בסיידן הביאה להפחתה בשעור ההנבגה של *B. cinerea* בגבעולי בזיל בעוד חנקן, ובעיקר אמון הגבירו את חומרת ההנבגה (Yermiyahu et al., 2006).



איור 4. כשותית הדלועיים *Pseudoperonospora cubensis* (שמאל למעלה) וצד תחתון (שמאל למעלה) וקימחון הדלועיים (*Podosphaera xanthii*) בעלה מלפפון (למטה). צילומים: יגאל אלעד



איור 5. עובש אפור (*B. cinerea*) בפרי פלפל (ימין) וחנוט חציל (שמאל). צילומים: יגאל אלעד



איור 6. נגיעות הנגרמת על ידי הפטרייה *B. cinerea* בצמחי עגבנייה ובשעועית (ימין למטה). בצמחי עגבנייה, סמפטומים בגבעול (ימין למעלה) ובעלעל (שמאל למעלה). בפירות עגבנייה עובש אפור (ימין בשורה האמצעית) וכתמי רפאים (שמאל שורה אמצעית). צילומים: יגאל אלעד

קשיונה גדולה בבזיל

Sclerotinia sclerotiorum תוקפת מיני צמחים רבים ובכללם בזיל וגורמת לקשיונה גדולה בעקבות פיזור נבגי שק (אסקוספורות) או כתוצאה מנביטת קשיונות באדמה (איור 8). בבזיל התקיפה בעיקר בבסיס הגבעול ובמגפה חמורה גם באמירי הצמחים (Elad et al., 2015). מתאם בין ריכוז החנקן בנוף וחומרת ק' גדולה בצמחי בזיל ובענפים קטופים היה לינארי חיובי בעוד עליה בריכוז האשלגן בתמיסת ההשקיה וברקמת הבזיל הייתה במתאם אקספוננציאלי שלילי עם חומרת המחלה (Dalia Rav David et al., 2019; ישראלי, 2011). בדומה, ריסוס נוף באשלגן הפחית את חומרת

המחלה. ריכוז אשלגן נמוך בתמיסת ההשקיה בתנאים כמו-מסחריים הגביר את הרגישות לק' גדולה. הזנה בסידן הפחיתה את חומרת המחלה אבל ללא תוספתיות עם טיפולי הסידן. שילוב מתן אשלגן או סידן בהשקיה עם ריסוס אשלגן בשדה או ריסוס פונגיצידי הביאו לתוספתיות בהפחתת המחלה לאחר קטיף אבל ריסוס האשלגן לא הפחית את המחלה כפי שהפחית הפונגיצידי. לפיכך יישום מושכל של אשלגן או סידן יכולים להפחית ק' גדולה בבזיל (Dalia Rav) (David et al., 2019).



איור 7. עובש אפור (*B. cinerea*) בגבעול בזיל (ימין) ובקדקוד ענף ועלים (שמאל). צילומים: יגאל אלעד



איור 8. קשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*) בבסיס גבעול בזיל (ימין) וגופי פרי (אפוטציה) של הפטרייה שמקורם בקישיון בעומק האדמה (למעלה). צילומים: יגאל אלעד

האואומיצט *Peronospora belbahrii* גורם למחלה החשובה ביותר בבזיל (איור 9, Elad et al., 2016). מחקר נרחב למד את השפעת מאקרו ומיקרו אלמנטים על המחלה בניסויי עציצים, ארגזי גידול בתנאים חצי מסחריים ובתנאי שדה בתחנת צבי שבבקעה (ניסן, 2016). בעציצים הגדלת ריכוז החנקן (N) הכללי במי ההשקיה עד כדי 10.7 mM הביאה לריכוזים עולים של N בנוף הבזיל ולהחמרת כשותית הריחן. גם בתנאי שדה תוספת N הגבירה חומרת מחלה. הגדלת חלק האמון (NH_4^+) בדישון החנקני שמורכב גם מניטראט (NO_3^-) מ 10 ל 40% הפחיתה מחלה. בבדיקות ריכוז יסודות שונים בענפי הזיל נמצא מתאם חיובי עם עלייה בחומרת המחלה לחלק מהם ולחלק אחר נמצא מתאם שלילי כך שיתכן שפעולת החנקן בהגברת מחלה הייתה כתוצאה משינוי ביסודות הזנה אחרים (Elad et al., 2021a-c).



איור 9. עלה בזיל נגוע בכשותית הריחן (*Peronospora belbahrii*) (ימין) וחלקות ניסוי בהשטרי הזנה בעלות חומרת מחלה ברמות שונות (למטה). צילומים: יגאל אלעד



העלאת ריכוז האשלגן (K) במי ההשקיה במדורג עד כדי 5.1 mM העלתה את ריכוז היסוד בענפי הבדיל ואת חומרת המחלה בעוד ריסוס של מלחי אשלגן (KCl ו- K_2SO_4) העלה אף הוא את ריכוז ה-K בענפים אך הפחית את חומרת המחלה. העלאת ריכוז הסידן (Ca) במי ההשקיה עד כדי 6 mM הביא לפחיתה הדרגתית בחומרת המחלה וריסוס ב CaCl_2 הפחית אף הוא את המחלה. בדומה העלאת ריכוז המגניזיום באופן הדרגתי עד ריכוז 5 mM גם הוא הפחית באופן הדרגתי את חומרת הכשותית. בתנאי שדה העלאת ריכוז ה Ca וה Mg הפחיתה את המחלה בחלקות

הניסוי בעוד שילוב בין היסודות לא שיפר את ההדברה. ריסוס בשדה של K_2SO_4 שיפר את הדברת המחלה בחלק מהטיפולים האלה בשדה. טיפול במתכונת ריסוסי פונגיצידיים בשילוב עם הטיפולים האלה שפרה את הפחתת המחלה אך לא באופן סינרגיסטי. הפעילות של Mg התקבלה כשהקטיון מלווה באניונים כלוריד או סולפאט. שילוב Mg עם טיפול ריסוסי פונגיצידיים הפחית טוב יותר את המחלה מכל טיפול בנפרד. לפיכך Mg וכן Ca וריסוס K הינם בעלי פוטנציאל להפחתת כשותית הריחן.

גם מיקרואלמנטים נבדקו לצורך בקרת כשותית הריחן. לאחר בדיקה של תערובת כילטים וכילטים בודדים (EDTA) של Fe, Cu, Zn, Mn ובניסויים חצי מסחריים נבחרו האבץ והמנגן להמשך מחקר ונמצאו יעילים בהפחתת כשותית הריחן בניסוי שדה והן במתן בריסוס והן במתן במי ההשקיה. יישום בשילוב עם Mg במי ההשקיה לא שיפר את ההדברה. יישום בריסוס או בהגמעה של כל אחד מהמיקרואלמנטים בשילוב עם טיפול ריסוסי פונגיצידיים הביא לשיפור יעילות ההדברה באופן סינרגיסטי.

קימלון בעצי לימון

מחלת הקימלון (מלסקו, באיטלקית, "מחלת היובש") נגרמת ע"י הפטרייה הפתוגנית *Plenodomus tracheiphilus* הגורמת להתנוונות חלקי העץ, לירידה משמעותית בכמות היבול ולבסוף למות העץ הנגוע (איור 10).



איור 10. מחלת הקימלון (*Plenodomus tracheiphilus*) בעצי הדר. עלה עם סמפטומים של המחלה (ימין למעלה), עץ ליים נגוע (כרם מהר"ל, שמאל למעלה) ועץ לימון צעיר נגוע (מרכז מחקר גילת, ימין למטה). צילומים: יגאל אלעד ודוד עזרא.

בעבודת גמר של אלמוג י' (2017) נבדקה השפעת יסודות הזנה על רגישות צמחי לימון למחלה. נבחנו היסודות: חנקן, אשלגן, מגניום, סידן, אבץ, קורטין, ברזל ונחושת בהדשיה ובריסוס. לאחר חודש של הזנה התבצעה אנליזה של ריכוזי

מינרלים בענפים. בניסויי ההדשיה בהם נבדקו חנקן, זרחן ואשלגן, עלייה בריכוזי חנקן במי ההשקיה הובילה לפחיתה בחומרת המחלה ע"פ מבחני מתאם בעוד זרחן לא הביא לשינויים משמעותיים. 40% אמון מתוך החנקן הכללי הגביר את חומרת המחלה יחסית ל-10% אמון. נמצא מתאם שלילי בין ריכוז החנקן בעלים, כש 10 או 40% מהחנקן שבדשן המיושם הוא אמון, לבין חומרת המחלה. נמצא מתאם שלילי מובהק ($P \leq 0.05$) בין ריכוז הסיידן בעלים לחומרת המחלה, עליה בריכוז הסיידן הביאה לפחיתה בחומרת המחלה בטיפול ההדשיה בהם ניתנו 40% אמון במי ההשקיה. נמצא קשר מובהק ($P \leq 0.05$) בין ריכוז הסיידן בעלים לחומרת המחלה, עליה בריכוז הסיידן הביאה לפחיתה בחומרת המחלה בטיפול ההדשיה בהם ניתנו 40% אמון במי ההשקיה.

ריסוס באשלגן גופרתי בריכוז של 0.5%, הביא לירידה בחומרת המחלה. יתר על כן, בניסויים שנעשו על מנת לבחון האם האשלגן פועל בעת יישום באתר שונה מאתר ההדבקה נמצא שריסוסי אשלגן סולפט בריכוז של 0.5% בעלים הבוגרים של הצמח הפחית את חומרת המחלה בעלים הצעירים ובנוסף העלתה ריכוז של אשלגן במי ההשקיה (20-200 מ"ג/ל) הביאה להפחתה בחומרת המחלה. אולם, בניגוד לכך, נמצא קשר מובהק ($P \leq 0.05$) בין עליה בריכוז האשלגן בעלים, בטיפול ההדשיה בהם 10 ו-40% מהחנקן הכללי הוא אמון לבין עליה בחומרת המחלה. ריסוס עלים במגנין גופרתי (0.5%) הביא לירידה בחומרת המחלה והתקבל מתאם שלילי בין המגנין בעלים לחומרת המחלה. בדומה, ריסוס עלים בסיידן גופרתי (0.5%) הביא לירידה בחומרת המחלה ונמצא מתאם בין ריכוז הסיידן בעלים להפחתת חומרת מחלה (אלמוג, 2017; Almog et al., 2017).

באשר למיקרואלמנטים, דישון עלוותי בברזל (0.05%) ובכלאט נחושת (0.01%), הביאו לירידה בחומרת המחלה. בניסויים בהם תכשירי הנחושת קוצייד (נחושת הדרוקסיד) בריכוז 0.1% ומרק בורדו בריכוז 0.1% ניתנו בהגמעה התקבלה פחיתה בחומרת המחלה וריסוס קוצייד בריכוז 0.1% הפחית את שכיחות המחלה. מסקנות המחקר שלעיל הביאו למסקנה שהפחתת קימלון באמצעות נחושת מתרחשת בעקבות השראת עמידות בעצים ואכן בניסויים בפרדסים הפחיתו יישום כילאט נחושת וכן יישום משרן העמידות קנון (אשלגן זרחיתי) את חומרת המחלה (עזרא ד' ואלעד י', לא פורסם).

קמחונות

קימחון הדלועיים הינו מחלה פטרייתית (*Podosphaera xanthii*) נפוצה במלפפון בכל העולם. בניסויי עציצים עם מצע פרלייט נמצאה חומרת מחלה נמוכה בריכוזי N גבוהים, ריכוזי P נמוכים, ריכוזי Mg גבוהים ולא הושפעה מ Ca במי ההשקיה. ריסוס ב KCl, CaCl₂ ו-MgCl₂ הפחיתו קימחון במלפפון בעציצים. מלחי Cl אלה היו יעילים יותר מהמלח NaCl, נראה שלכלוריד עצמו יש תרומה לפעילות ושילוב Ca + Mg לא היה יעיל מכל מלח בנפרד. בניסוי חממה (המדמה גידול מסחרי) בארגזים גדולים ולאורך תקופה ארוכה הופחת הקימחון על ידי MgCl₂, MgCl₂+K₂SO₄, על ידי KH₂PO₄ (MKP). ועל ידי סופרסולפאט (K₂Ca₂Mg(SO₄)₄ • 2H₂O). חומרת הקימחון במלפפון הוגברה על ידי N בריכוז גבוה והופחתה על ידי K בריכוז נמוך ו P בריכוז גבוה בעת הזנה במי ההשקיה. בגידול בעציצים גדולים הופחת קימחון העגבנייה (*Oidium neolycopersici*) (איור 11) על ידי ריסוס במלחים K₂SO₄, CaCl₂, MgCl₂, פוליסולפאט ו MKP.

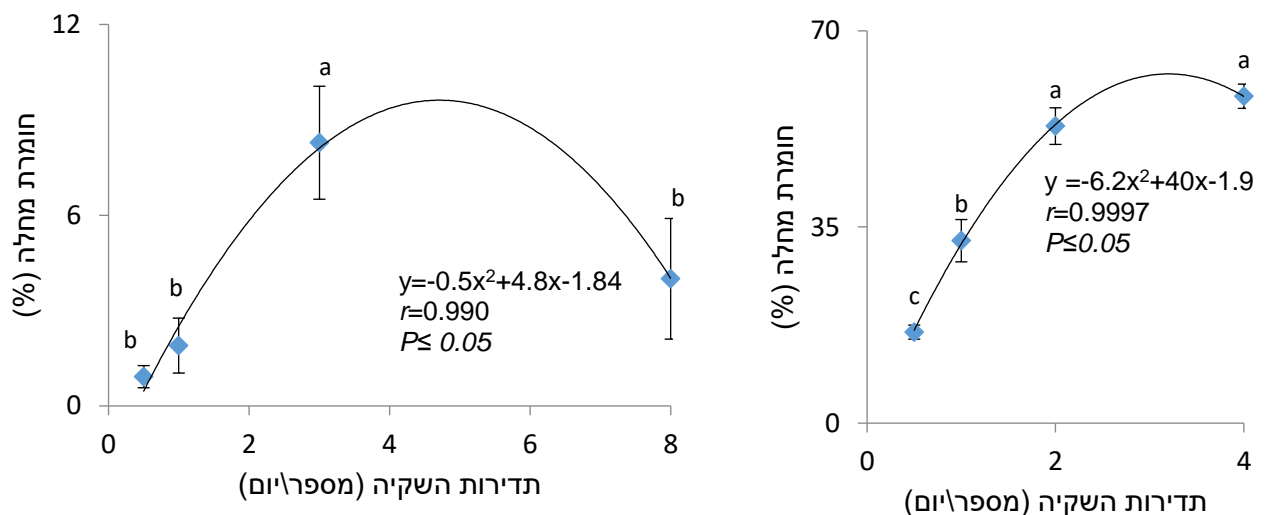


איור 11. עלה מלפפון עם סמפטומים של קימחון הדלועיים
 (שמאל) (*Podosphaera xanthii*) ועלה עם סמפטומים של קימחון
 העגבנייה (*Oidium neolycopersici*), (שמאל).
 צילום: יגאל אלעד

*מחקר קימחון הדלועיים, קימחון העגבנייה וכשותית הדלועיים נעשה על ידי דור ברנע בהנחיית יגאל אלעד ואורי ירמיהו.

כשותית הדלועיים במלפפון

כשותית הדלועיים תוקפת אף היא בחומרה צמחי מלפפון והינה מחלה מוגברת לחות הנגרמת על ידי אואומיצט (*Pseudoperonospora cubensis*) (איור 12). בניסויי עציצים מקבילים לנזכר לעיל, נמצאה חומרת מחלה נמוכה ריכוזי זרחן נמוכים, ריכוזי Mg גבוהים וריכוזי Ca גבוהים במי ההשקיה. ריסוס ב KCl, CaCl₂ ו-MgCl₂ הפחיתו כשותית במלפפון בעציצים ונראה שלכלוריד עצמו יש תרומה לפעילות. בניסוי החממה בארגזים גדולים הופחתה הכשותית על ידי MgCl₂+K₂SO₄, MgCl₂, K₂SO₄ ו-MKP.

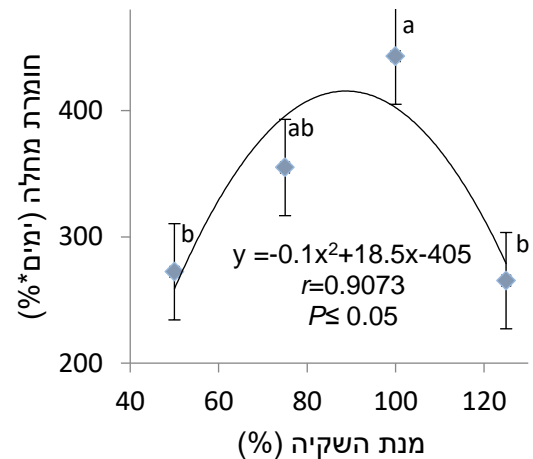


איור 12. השפעת תדירות השקיה יומית על חומרת מחלת כשותית הריחן בבזיל בניסויים שנערכו במנהל המחקר החקלאי (ימין) וכפר מנחם (שמאל). * = ערכי חומרת המחלה וערכי היבול מייצגים ממוצע של ארבע חזרות. מוצגת משוואת הרגרסיה וקווים אנכיים המציינים את שגיאת התקן (SE). בכל מדד ערכים שלא מלווים באותיות זהות שונים זה מזה באופן מובהק ($P \leq 0.05$) לפי מבחן שונות Tukey-Kramer HSD. מתוך ע"ג של זיו ניסן (2016).

השקיה

השפעות תדירות ההשקיה, מנת ההשקיה ואיכות מי ההשקיה (השקיה במים מליחים) נלמדה בניסויים שונים בבזיל במספר אתרים בישראל.

בבחינת השפעת תדירות ההשקיה נמצאה עליה בחומרת כשותית הריחן בבזיל עד ל-4 מנות ביום ופחיתה בחומרת המחלה בתוספת השקיות ל 8 פעמים ביום (איור 12). חומרת המחלה עלתה עם העלייה במנת מי ההשקיה ביממה (אחוז החזר מהתאיידות יומית) עם העלייה במנת ההשקיה עד למקסימום במנת השקיה של 100% ופחתה במנת השקיה של 125% (איור 13). נתונים אלה מעבודת הגמר, ניסן ז' (2016).



איור 13. השפעת מנת השקיה יומית (%) החזר מהתאיידות פוטנציאלית) על חומרת כשותית הריחן בגידול בזיל בתנאים מסחריים. חומרת המחלה מתוארת כשטח מתחת לעקום התפתחות המחלה (AUDPC) בכל מנת השקיה. מתוך ע"ג ליאור ישראלי.

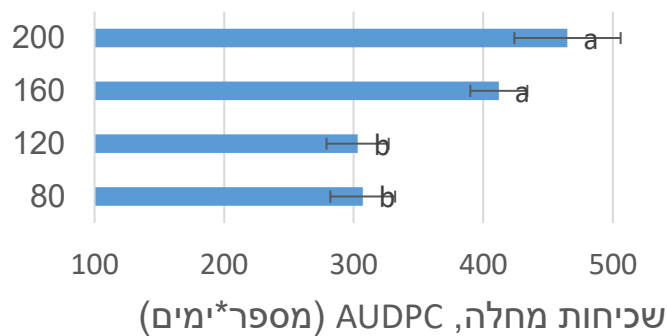
- הערה תחתית באיור 13.

בניסוי שנערך בתחנת זוהר (מו"פ ערבה תיכונה וצפונית) נבדקה השפעת מנת ההשקיה על שכיחות עובש אפור בבזיל. נתנו מנות השקיה בשעור 80-200% מליזימטר ונבדקה שכיחות המחלה. נבחנה השקיה בארבע מנות מים ובעומד 30 שתילים למטר ערוגה, בארבעה מבנים מאווררים בהם יושם הדשן הבסיסי בלבד. מנות ההשקיה כונו 80-200%. ההשקיה הייתה לפי ליזימטר בנפח של 1000 ליטר שהיה מוטמן בשדה בתוך שורת גידול במרכז מנהרה. בליזימטר גודלו צמחים באותו עומד שתילה כמו בשדה. כמויות המים שנכנסו לליזימטר הוערכו על ידי הכפלה של ספיקת הטפטפות וזמן ההפעלה וכמות הנקז נאספה מתחתית הליזימטר ונשקלה. כיוון שההשקיה הייתה בעודף רב בטיפול אשר בו היה הליזימטר (200%) וכיוון שההשקיה הייתה בתדירות גבוהה ניתן להזניח את איבר האוגר של הקרקע והאופוטורנספירציה חושבה על ידי הפחתה של כמות הנקז מכמות ההשקיה. לאחר מכן הוכפלו הערכים של האופוטורנספירציה הנמדדת בערכים הבאים: 2, 1.6, 1.2, ו-0.8 (80-200%). כדי לקבל את כמות ההשקיה. במנות השקיה 160-200% התקבלה שכיחות מחלה גבוהה יותר מאשר במנות השקיה 80-120% (איור 14). מנת ההשקיה הגבוהה הביאה ליבול גבוה יותר (אלעד וחוב', 2013).

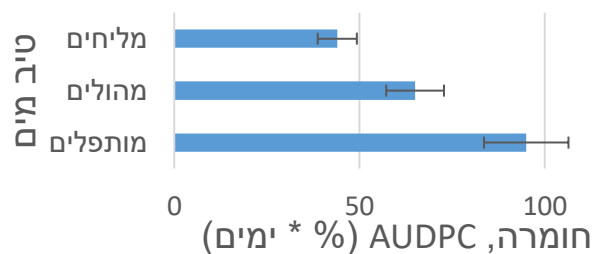
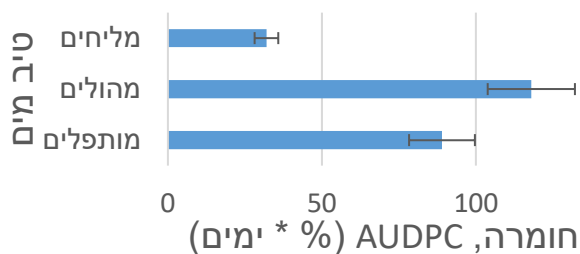
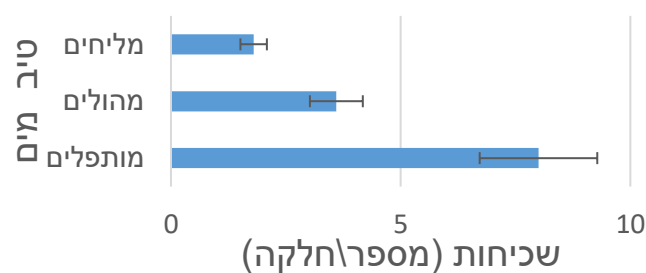
צמחי בזיל גדלו בהשקיה עם מים בשלוש רמות איכות, EC 1.6, 2.8, 4.5 dS m⁻¹ (מליחים, מהולים ומותפלים, בהתאמה). במהלך הגידול בחממה בתחנת זוהר בכיכר סדום. במהלך הגידול התפתחה מחלת עובש אפור בגבעולי הבזיל ושכיחות המחלה הייתה הנמוכה ביותר במים המליחים (איור 15). ענפים שנקטפו בחלקות המטופלות במים באיכויות השונות הודבקו שני גורמי מחלה. רגישות הענפים לבוטריטיס הייתה מדורגת במתאם הפוך לאיכות המים (רגישות פחותה במים מליחים) ורגישותם לסקלרוטיניה הייתה נמוכה בחומר הצמחי מהשקיה במים מליחים (איור 15).

איור 14. השפעת מנת השקיה (80-200% מליזימטר) במבנה מאורר ועומד צמחים 30\מ"ר על שכיחות צמחים הנגועים בעובש אפור במהלך עונת הגידול בחורף 2011/12. צמחי הבזיל דושנו בהדשיה בסיסית וגודלו בקרקע קלה בתחנת זוהר, כמקובל בגידול מסחרי (אלעד וחוב', 2013). * הערה תחתית כמו באיור 13.

מנת השקיה
(% מבסיס)

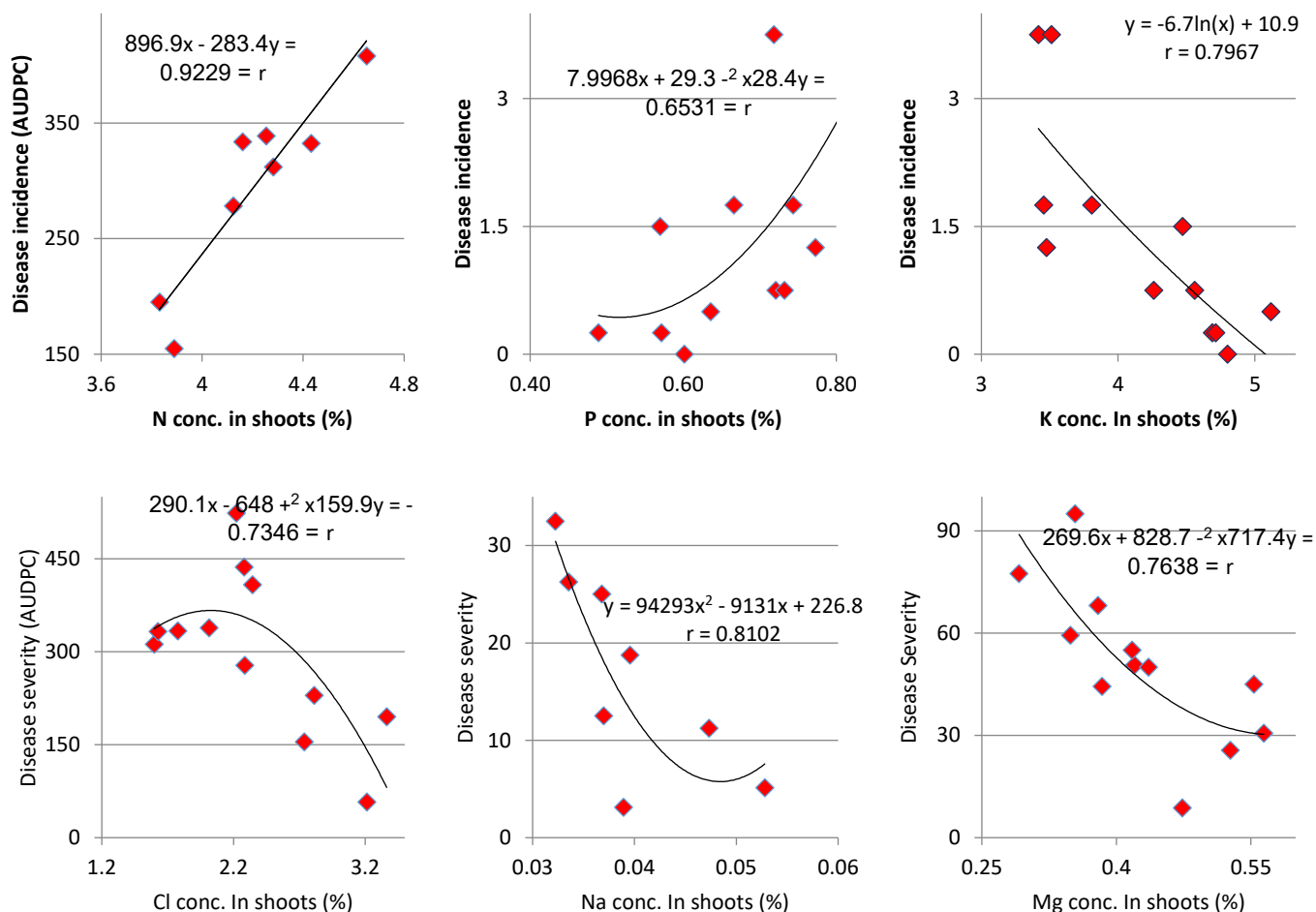


איור 15. השפעת איכות המים על נגיעות בזיל בעובש אפור ורגישות ענפים קטופים למחלות. שכיחות עובש אפור בצמחי בזיל שהושקו במים מליחים, מהולים ומותפלים בחממה בתחנת זוהר (ימין). רגישות ענפים קטופים מחלקות הניסוי ל *Botrytis cinerea* (ימין למטה) ול *Sclerotinia sclerotiorum* (שמאל למטה). *הערה תחתית כמו באיור 13.



*ניסויים עם הררי ד', מדואל ע', צעירי א', פיבניה ש' (מו"פ ערבה תיכונה וצפונית) ירמיהו א', בן-גל א' (מנהל המחקר החקלאי), לזרוביץ נ' (אוניברסיטת בן גוריון) וסילברמן ד' (שה"מ).

ענפי בזיל מחלקות הניסוי הפרטניות נבדקו למידת רגישותם לעובש אפור ונערכה אנליזה של ריכוז יסודות הזנה. נבדק מתאם בין חומרת המחלה וריכוזי היסודות. חומרת המחלה הייתה במתאם חיובי עם ריכוזי חנקן וזרחן בענפים. נמצא מתאם שלילי בין חומרת המחלה לריכוזי אשלגן, כלוריד, נתרן ומגניון (איור 16). תוצאות אלה יכולות להסביר את פחיתת המחלה והרגישות בענפי בזיל שגדלו על מים מליחים. בנוסף, נראה שגם במקרה זה עלייה בריכוז אשלגן ומגניון קשורה בפחיתת רגישות הרקמה.



איור 16. חומרת עובש אפור (*B. cinerea*) בבזיל שמקורו בחלקות ניסוי בתחנת זוהר וריכוזי יסודות בענפים. חשובו מתאמים בין ריכוז כל יסוד הזנה לבין חומרת המחלה. מוצגת נוסחת קו המתאם וערך r. - נתונים בשיתוף עם ירמיהו א' ופינגולד א'.

סיכום

יסודות הזנה משפיעים לא רק על גידול צמחים ותפקודם ברמות השונות של התא ומרכיביו, הרקמה הצמחית וכלל איברי הצמח אלא גם על רגישותם למחלות צמחים וזאת בדרך כלל תוך שינוי ברגישות המאחסן לשלבים שונים בהתפתחות הפתוגן והמחלה הנגרמת על ידו. נמצאו מקרים בהם יסודות ההזנה משפיעים ישירות על גורם המחלה ומעכבים באופן משמעותי שלב חשוב במהלך התפתחותו ומקרים רבים יותר בהם ההשפעה של ההזנה מושגת על ידי שינוי תפקודי או מבני בתאי הצמח ורקמותיו. בנוסף לרגישות רקמת צמח להתפתחות הדבקה בפתוגן תיתכן גם השפעה על אופן הגידול של הצמח אשר יכולה להביא לשינוי במיקרואקלים על פניו וכך להשפיע על פעילות הפתוגן או השתמרותו. לדוגמה, גידול נוף סבוך כתוצאה מדישון חנקני יכול להביא להעלאת הלחות היחסית בתוך נוף הגידול, מיעוט אוורור והגברה של משך נוכחות מים חופשיים על פני רקמות צמח רגישות והתפתחות של גורמי מחלה מוגברי רטיבות.

תוארו השפעות של יסודות הזנה N, P, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn ושל אניונים Cl ו SO₄. פעילות צורני החנקן (NH₄, NO₃) אינה דומה זה לזה. ריכוזי היסוד משפיעים על מידת השפעתו על מחלות צמחים וייתכנו מקרים של הפחתת מחלות בריכוז גבוה או בריכוז נמוך של היסודות. השפעת היסוד יכולה להיות כתוצאה משינוי בריכוז ברקמת הצמח אך מאחר וקליטת יסוד אחד, הובלתו וקיבועו באתרי צמח שונים משפיעים רבות גם על גורלם של **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **205**

יסודות אחרים, נראה שגם השפעת היסוד הנבדק על יסודות אחרים תוצאתה נובעת גם מההשפעה של היסודות האחרים. במחקרנו נמצאו דוגמאות שבהן ההשפעה של יון מיושם אחד הינה על ידי שינוי בריכוז של יסוד שני ברקמת הצמח הנתקפת על ידי פתוגן.

השפעות פרטניות של יסודות הזנה מסוימים הן לעיתים מעודדות ולעיתים מפחיתות מחלה. בסקירת המחקרים שערכנו נמצאו יסודות הזנה כדוגמת הסידן הפועלים כנגד מחלה במערכות צמח-פתוגן רבות ובכללן גידולי ירקות ופרחים. במקרים אחרים פעילות היסוד יכולה להיות שונה בתכלית באותו גידול באשר לגורמי מחלה שונים ובגידולים שונים באשר לאותו פתוגן או פתוגנים שונים. לפיכך לא ניתן להקיש ממערכת פתוגן-צמח אחת למערכת אחרת ויש צורך ללמוד כל מערכת באופן עצמאי.

איכות המים, כמות ההדשיה ומשטר ההשקיה משפיעים לא רק על גידול הצמח והפזיולוגיה של אבריו, המיקרואקלים בנוף והרטיבות בקרקע אלא גם על הזנת הצמח ופיזור יסודות ההזנה ברקמותיו. לפיכך להיבטי ההשקיה השפעות שונות על התפתחות מחלות בצמחים אשר לא נחקרו דיין ורק מקצתן תואר בפרק זה.

יסודות הזנה יכולים לפעול באמצעות מנגנונים שונים כנגד מחלות צמחים. אחד המנגנונים הפחות נחקרים הינו השראת עמידות וחסינות בצמח. מערך השינויים במפל הגנים המופעל על ידי היסודות השונים עשוי להביא לתופעות עמידות צמחיות אשר יש לחקרה בייחוד במקרים בהם כמות החומר הנדרשת לקבלת הפחתה ברגישות הצמח הינה נמוכה ביותר כמו בעת יישום מיקרואלמנטים.

תודות

רבים היו שותפים למחקרי השפעת הזנת הצמח על מחלות צמחים. ירמיהו אורי, חנה וולפין, אינה פיינגולד, שושנה סוריאנו, דליה רב-דוד, בן להב, מנחם בורנשטיין, רן שולחני, בני קירשנר ז"ל, חן עומר, יפעת אלמוג, דוד עזרא, זיו ניסן, דור ברנע, משה פוגל, דני הראל, אריאל יפה ואחמד הושאלה, אשר בר-טל, אלון בן-גל ורות גן-מור במנהל המחקר החקלאי; ציון דקו ושחר יצחק, תחנת עדן, מו"פ עמק המעיינות; זיו קליינמן, אפריים ציפליביץ, זיווה גלעד ואחיעם מאיר, תחנת צבי, מו"פ הבקעה; דפנה הררי, שמעון פיבניה, עמי מדואל, שבתאי כהן, אורי צעירי במו"פ ערבה תיכונה וצפונית; הישאם יונס, ינון סטרשנוב, דוד סילברמן, שמעון ביטון, אורי אדלר משה"ם ומועצת הצמחים; נפתלי לזרוביץ מאוניברסיטת בן גוריון; מרדכי דודאי, הגר ארבל בבית ספר תיכון כפר מנחם. המחקרים מומנו על ידי קרן מדען ראשי במשרד החקלאות, ארגון מגדלי ירקות, ארגון מגדלי תבלינים, מועצת הצמחים וארגון מגדלי פרחי נוי.

מקורות

אלמוג י' (2017) השפעת הזנת מינרלית, משרני עמידות, ומיקרואורגניזמים אנדופיטיים על מחלת הקימלון בלימון. עבודת גמר שהוגשה לאוניברסיטה העברית בירושלים (בהנחיית יגאל אלעד דוד עזרא ואורי ירמיהו) 61 ע'. אלעד י', פוגל מ', הררי ד', מדואל ע', צעירי א', פיבניה ש', ירמיהו א', בן גל א', לזרוביץ נ', קניגסבוך ד' וסילברמן ד' (2013) הדברה תרבותית וכימית של עובש אפור (*Botrytis cinerea*) בבזיל. דו"ח מחקר במו"פ ערבה תיכונה וצפונית. 15 ע'.

<http://agri.arava.co.il/wp-content/uploads/Control-gray-mold-Botrytis-cinerea-basil-11-12.pdf>

ישראלי ל' (2011) השפעת ריכוז יסודות ההזנה במי ההשקיה, הדברה כימית בריסוס וחיטוי קרקע על תחלואת בזיל מתוק בעובש אפור וקשינה גדולה. עבודת גמר שהוגשה לאוניברסיטה העברית בירושלים (בהנחיית יגאל אלעד ואורי ירמיהו). 73 ע'.

ניסן ז' (2016) השפעת הזנה מינרלית ומשטר השקיה על רגישות צמחי בזיל למחלת הכשותית הנגרמת על ידי *Peronospora belbahrii*. עבודת גמר שהוגשה לאוניברסיטה העברית בירושלים (בהנחיית יגאל אלעד ואורי ירמיהו). 100 ע'.

Acharya B. and Shrestha R. K. (2018) Nitrogen level and irrigation interval on mitigating stemphylium blight and downy mildew in onion. International Journal of Applied Sciences and Biotechnology 6: 17-22.

Almog Y., Rav-David D., Burnstein M., Liarzi O., Lahav B., Yermiyahu U., Ezra D. and Elad Y. (2017) Influence of plant nutrition and biotic and abiotic induced resistance on Mal Secco in lemon. Phytoparasitica 45: 257 (abstract).

Ashley M. K., Grant M. and Grabov A. (2006) Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. Journal of Experimental Botany 57: 425–436.

Austin C. N. and Wilcox W. F. (2011) Effects of fruit-zone leaf removal, training systems, and irrigation on the development of grapevine powdery mildew. American Journal of Enology and Viticulture 62: 193–198.

Bar-Tal A., Aloni B., Karni L. and Rosenberg R. (2001) Nitrogen nutrition of greenhouse pepper. II. Effects of nitrogen concentration and $\text{NO}_3 : \text{NH}_4$ ratio on growth, transpiration, and nutrient uptake. HortScience 36: 1252–1259.

Bar-Tal A., Baas R., Ganmore-Neumann R., Dik A., Marissen N., Silber A., Davidov S., Hazan A., Kirshner B. and Elad Y. (2001) Rose flower production and quality as affected by Ca concentration in the petal. Agronomie 21: 393-402.

Bateman D. F. (1964) An induced mechanism of tissue resistance to polygalacturonase in *Rhizoctonia*-infected hypocotyls of bean. Phytopathology 54: 438–445.

Bateman D. F. and Lumsden R. D. (1965) Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 55: 734–738.

Bavaresco L. and Eibach R. (1987) Investigations on the influence of N fertilizer on resistance to powdery mildew (*Oidium tuckeri*), downy mildew (*Plasmopara viticola*) and on phytoalexin synthesis in different grapevine varieties. Vitis 26: 192–200.

Bhuiyan S. A., Boyd M. C., Dougall A. J., Martin C. and Hearnden M. (2007) Effects of foliar application of potassium nitrate on suppression of Alternaria leaf blight of cotton (*Gossypium hirsutum*) in northern Australia. Australasian Plant Pathology 36: 462-465.

Blad B. L., Steadman J. R. and Weiss A. (1978) Canopy structure and irrigation influence white mold disease and microclimate of dry edible beans. Phytopathology 68: 1431–1437.

- Boosalis M. G., Mankau R., Baker K. F. and Snyder W. C. (1965) Parasitism and predation of soil microorganisms. pp. 374-391. Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens. Baker KF. and Snyder WC (eds). University of California Press, Los Angeles, USA.
- Brennan R. (1992) The role of manganese and nitrogen nutrition in the susceptibility of wheat plants to take-all in Western Australia. Nutrient Cycling in Agroecosystems 31: 35-41.
- Bussler W. (1981) Microscopical possibilities for the diagnosis of trace element stress in plants. Journal of Plant Nutrition 3: 115–128.
- Cai H. Tao N. and Guo C. (2020) Systematic investigation of the effects of macro-elements and iron on soybean plant response to *Fusarium oxysporum* infection. The plant Pathology Journal 36: 398-405.
- Cakmak I. (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist 146: 185–205.
- Cakmak I. and Kirkby E. A. (2008) Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage. Physiologia Plantarum 133: 692–704.
- Celar F. (2003) Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. Biological Control 28: 19–24.
- Dey S. and Chakraborty A. (2016) Influence of agronomic practices on severity of late blight of potato (*Phytophthora infestans*). Journal of Applied & Natural Science. 8: 1302-1305.
- Dik A. J. and Wubben J. P. (2007) Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. pp. 319–333. Botrytis: Biology, Pathology and Control. Y Elad, B Williamson, P Tudzynski, N Delen (eds). Kluwer Springer, Netherlands.
- Dordas C. (2008) Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. Agronomy for Sustainable Development 28: 33–46.
- Duffy B. K. and Defago G. (1999) Macro- and microelement fertilizers influence the severity of Fusarium crown and root rot of tomato in a soilless production system. HortScience 34: 287-291.
- Edreva A., Molle E., Schiltz P. and Coussirat J. C. (1984) A biochemical study of tobacco subjected to cotyledon-test conditions: Effect of magnesium, reactions of resistant and non-resistant plants to *Peronospora tabacina*: II. Peroxidase activity in uninfected tobaccos. Annales du Tabac Recherche et Ingenierie Section 2 (France). 218: 165.
- Elad Y. (1997) Responses of plants to infection by *Botrytis cinerea* and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. Biological Reviews 72: 381-422.
- Elad Y. and Evensen K. (1995) Physiological aspects of resistance to *Botrytis cinerea*. Phytopathology 85: 637-643.

- Elad Y., Fogel M., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D. and Adler U. (2015) White mould of sweet basil: Conditions influencing its development in greenhouses and cultural measures for disease management. *Plant Pathology* 64: 951-960.
- Elad Y., Israeli L., Fogel M., Rav David D., Kenigsbuch D., Chalupowicz D., Maurer D., Lichter A., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D., Maduel A., Pivonia S. and Adler U. (2014) Conditions influencing the development of sweet basil grey mould and cultural measures for disease management. *Crop Protection* 64: 67-77.
- Elad Y., Kleinman Z., Nisan Z., Rav-David D. and Yermiyahu U. (2021a) Effect of calcium, magnesium and potassium on sweet basil downy mildew (*Peronospora belbahrii*). *Agronomy* 11, 688. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040688>.
- Elad Y., Nisan Z., Kleinman Z., Rav-David D. and Yermiyahu U. (2021b) Nitrogen and NH₄⁺ fertilization effect on *Peronospora belbahrii* downy mildew of sweet basil. *Phytoparasitica* 49:1013–1026. DOI 10.1007/s12600-021-00922-y
- Elad Y., Nisan Z., Kleinman Z., Rav-David D. and Yermiyahu U. (2021c) Microelements effect on downy mildew (*Peronospora belbahrii*) of sweet basil. *Plants* 2021, 10, 1793. <https://doi.org/10.3390/plants10091793>
- Elad Y., Omer C., Nisan Z., Harari D., Goren H., Adler U., Silverman D. and Biton S. (2016) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses *Peronospora belbahrii* downy mildew. *Annals of applied Biology* 168: 373–389.
- Elad Y. and Kirshner B. (1992) Calcium reduces *Botrytis cinerea* damages to plants of *Ruscus hypoglossum*. *Phytoparasitica* 20: 285-291.
- Elad Y. and Shtienberg D. (1995) *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables; chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Reviews* 1: 15-29.
- Elad Y. and Volpin H. (1988) The involvement of ethylene and calcium in gray mold of pelargonium, ruscus and rose plants. *Phytoparasitica* 16: 119-131.
- Elad Y. and Volpin H. (1993) Reduced sensitivity to grey mould (*Botrytis cinerea*) of bean and tomato plants by means of calcium nutrition. *Journal of Phytopathology* 139: 146-156.
- Elad Y., Yunis H. and Volpin H. (1993) Effect of nutrition on susceptibility of cucumber, eggplant and pepper crops to *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Botany* 71: 602-608.
- Engelhard A. W. (ed.) (1989) *Soilborne Plant Pathogens: Management of Diseases with Macro- and Microelements*. APS Press, St. Paul, MN USA. 217 pp.

- Erel, R., Dag, A., Ben-Gal, A., Schwartz, A., and Yermiyahu, U. 2008. Flowering and fruit-set of young olive (*Olea europaea* L. cv. Barnea) trees in response to nitrogen, phosphorus and potassium. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 133:639–647.
- Eskandari S., Höfte H. and Zhang T. (2020) Foliar manganese spray induces the resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Journal of Plant Physiology* Mar-Apr pp. 246-247.
- Eskandari S. and Sharifnabi B. (2019) The modifications of cell wall composition and water status of cucumber leaves induced by powdery mildew and manganese nutrition. *Plant Physiology and Biochemistry* 145: 132-141.
- Filippi M. and Prabhu A. (1998) Relationship between panicle blast severity and mineral nutrient content of plant tissue in upland rice. *Journal of Plant Nutrition* 21: 1577-1587.
- Freyermuth S. K., Bacanamwo M. and Polacco J. C. (2000) The soybean Eu3 gene encodes an Ni-binding protein necessary for urease activity. *The Plant Journal* 21: 53–60.
- Geetha H. M. and Shetty H. S. (2002) Induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola* using benzothiadiazole, calcium chloride and hydrogen peroxide - A comparative evaluation. *Crop Protection* 21: 601–610.
- Ghadamkheir M., Valikovich P. T., Bayat M. and Lyashko M. 2020a Effect of nitrogen and phosphorus application on take-all fungal disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Research on Crops* 21: 370-374
- Ghadamkheir M., Valikovich P. T., Orujov E., Valentin V. and Yunlong P. (2020b) Control of Take-all disease of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* through micronutrients (Zn, Fe and Cu). *Research on Crops* 21: 375-379,
- Graham R. D. (1983) Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Advances in Botanical Research* 10: 221–276.
- Graham R. D. and Webb M. J. (1991) Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. *Micronutrients in Agriculture* 2: 329–370.
- Gross G. G. (1981) The biochemistry of lignification. *Advances in Botanical Research* 8: 25–63.
- Hansch R. and Mendel R.R. (2009) Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* 12: 259–266.
- Huber D. M. and Graham R. D. (1983) Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Advances in Botanical Research* 10: 221–276.
- Huber D. M. and Jones J. B. (2012) The role of magnesium in plant disease. *Plant and Soil* 368: 73–85.
- Huber D. M. and Watson R. D. (1974) Nitrogen form and plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 12: 139-165.
- Hallock D. L. and Porter D. M. (1981) Effects of applied plant nutrients on sclerotinia blight incidence in peanuts. *Peanut Science* 8: 48–52.

- Harrison U. J. and Shew H. D. (2001) Effects of soil pH and nitrogen fertility on the population dynamics of *Thielaviopsis basicola*. *Plant and Soil* 228: 147–155.
- Hoffland E., Jeger M. J. and Van Beusichem M. L. (2000) Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. *Plant and Soil* 218: 239–247.
- Huber D. M. and Jones J. B. (2012) The role of magnesium in plant disease. *Plant and Soil* 368: 73–85.
- Jones J. B. and Huber D. M. (2007) Magnesium and plant disease. Pp. 95–100. *Mineral Nutrition and Plant Disease*. Datnoff, LE, WH Elmer, and DM Huber (eds), The American Phytopathological Soc Press, Saint Paul, USA.
- Kirkby E. and Mengel K. (1976) The role of magnesium in plant nutrition. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 139: 209–222.
- Kramer U. and Clemens S. (2005) Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. Pp. 215–271. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification*. M. Tamas, E. Martinoia (eds). Springer, Berlin.
- Lecourieux D., Ranjeva R. and Pugin A. (2006) Calcium in plant defence-signalling pathways: Tansley review. *New Phytologist* 171: 249–269.
- Leigh R. A. and Wyn Jones R. G. (1984) A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. *New Phytologist* 97: 1–13.
- Levine A., Pennell R. I., Alvarez M. E., Palmer R. and Lamb C. (1996) Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response. *Current Biology* 6: 427–437.
- Liu G., Greenshields D. L., Sammynaiken R., Hirji R. N., Selvaraj G. and Wei Y. (2007) Targeted alterations in iron homeostasis underlie plant defense responses. *Journal of Cell Science* 120: 596–605.
- Loneragan J. F. (1981) Distribution and movement of copper in plants. Pp. 165-188, In *Copper in Soils and Plants*. JF Loneragan, AD Robson and RD Graham (eds). Academic Press, Sydney, Australia.
- Mandal K. Saravanan R. and Maiti S. (2008) Effect of different levels of N, P and K on downy mildew (*Peronospora plantaginis*) and seed yield of isabgol (*Plantago ovata*). *Crop Protection* 27: 988–995.
- Machado P. P., Steiner F., Zuffo A. M. and Machado R. A. (2018) Could the supply of boron and zinc improve resistance of potato to early blight? *Potato Research* 61 169-182.
- Marschner H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd. Academic Press, London, UK. 889 pp.
- Marschner H. and Rimmington G. (1988) Mineral nutrition of higher plants. *Plant Cell Environment* 11: 147–148.
- Melrose J. and Perroy R. and Careas S. (2015) Calcium and plant development. *Statewide Agricultural Land Use Baseline* 1: 397–439.

- Merchant S. S., Allen M. D., Kropat J., Moseley J. L., Long J. C., Tottey S. and Terauchi A. M. (2006) Between a rock and a hard place: Trace element nutrition in chlamydomonas. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1763: 578–594.
- Mesquita G. L., Tanaka F. A. O., Zambrosi F. C. B., Chapola R., Cursi D., Habermann G., Massola N. S., Ferreira V. P., Gaziola S. A. and Azevedo R. A. 2019 Foliar application of manganese increases sugarcane resistance to orange rust. *Plant Pathology* 68: 1296-1307.
- Moomaw A. S. and Maguire M. E. (2008) The unique nature of Mg²⁺ channels. *Physiology* 23: 275–285.
- Moreira W. R., Rodrigues F. A. and Duarte H. S. S. (2013) Effect of zinc on the development of brown spot in rice. *Journal of Phytopathology* 161: 749-751.
- Nam M. H., Jeong S. K., Lee Y. S., Choi J. M. and Kim H. G. (2006) Effects of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium nutrition on strawberry anthracnose. *Plant Pathology* 55: 246-249.
- Nguyen P. M., Kwee E. M. and Niemeyer E. D. (2010) Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry* 123: 1235–1241.
- Oborn I., Edwards A. C., Witter E., Oenema O., Ivarsson K., Withers P. J. A., Nilsson S. I. and Stinzing A. R. (2003) Element balances as a tool for sustainable nutrient management: a critical appraisal of their merits and limitations within an agronomic and environmental context. *European Journal of Agronomy* 20: 211–225.
- Perez C. D. P., Pozza E. A., Pozza A. A. A., Elmer W. H., Pereira A. B., Guimaraes D. da S. G. and Monteiro A. C. A. (2020) Boron, zinc and manganese suppress rust on coffee plants grown in a nutrient solution. *European Journal of Plant Pathology* 156: 727-738.
- Pushpavathi Y., Satisha J., Shivashankara K. S., Satisha G. C., Sriram S. and Lakshminarayana Reddy M. L. (2020) Potassium fertilization in relation to downy mildew disease incidence in grape leaves. *Vitis* 59: 71-76.
- Rav David D., Yermiyahu U., Fogel M., Faingold I. and Elad Y. (2019) Plant nutrition for management of white mold in sweet basil. *Phytoparasitica* 47: 99-115
- Reis E. M., Cook R. J. and McNeal B. L. (1982) Effect of mineral nutrition on take-all of wheat. *Phytopathology* 72: 224-229.
- Reuveni M., Agapov V. and Reuveni R. (1997) A foliar spray of micronutrient solutions induces local and systemic protection against powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginia*) in cucumber plants. *European Journal of Plant Pathology* 103: 581–588.
- Robinson P. W. and Hoddges C. F. (1977) Effect of nitrogen fertilization on free amino acid and soluble sugar content of *Poa pratensis* and on infection and disease severity by *Drechslera sorokiniana*. *Phytopathology* 67: 1239-1244.
- Rodríguez F. I., Esch J. J., Hall A. E., Binder B. M., Schaller G. E. and Bleecker A. B. (1999) A

- copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from arabidopsis. *Science* 283: 996-998.
- Romheld V. and Kirkby E. A. (2010) Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. *Plant and Soil* 335: 155–180.
- Romeis T., Piedras P. and Jones J. D. (2000) Resistance gene-dependent activation of a calcium-dependent protein kinase in the plant defense response. *The Plant Cell* 12: 803–816.
- Rotem J. and Palti J. (1969) Irrigation and plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 7: 267–288.
- Simoglou K. B. and Dordas C. (2006) Effect of foliar applied boron, manganese and zinc on tan spot in winter durum wheat. *Crop Protection* 25: 657-663.
- Spagnoletti F. N., Leiva M., Chiocchio V. and Lavado R. (2018) Phosphorus fertilization reduces the severity of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) and the arbuscular mycorrhizal protection in soybean. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science* 181: 855-860.
- Spencer D. M. (1981) *The Downy Mildews*. Academic Press, London, UK. 636 pp.
- Suelter C. H. (1970) Enzymes activated by monovalent cations. *Science* 168: 789–795.
- Sweeney D., Granade G., Eversmeyer M. and Whitney D. (2000) Phosphorus, potassium, chloride, and fungicide effects on wheat yield and leaf rust severity *Journal of Plant Nutrition* 23: 1267-1281.
- Szepessy I. (1982) The effect of foliar Mg application on the disease resistance and yield of poppy. *Agrokémia és Talajtan* 31: 333–338. Abstract, original in Hungarian.
- Thakore B. B. L. and Doshi A. (1995) Influence of host nutrition on the development of downy mildew disease of opium poppy. *Indian Phytopathology* 48: 335-338.
- Tobergte D. R. and Curtis S. (2013) Nitrogen form and plant disease. *Journal of Chemical Information and Modeling* 53: 1689–1699.
- Tolmison J. A. and Webb M. J. W. (1958) Control of turnip and cabbage mildew (*Erysiphe polygoni* DC.) by zinc. *Nature* 181: 1352–1353.
- Toms J. (1958) The use of copper and zinc in cereal growing districts of Western Australia. *The Journal of Agriculture of Western Australia (3rd Series)*. 7: 197–203.
- Xu G., Fan X. and Miller A. J. (2012) Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 63: 153–182
- Volpin H. and Elad Y. (1991) Influence of calcium nutrition on susceptibility of rose flowers to gray mold. *Phytopathology* 81: 1390-1394.
- Wang Y. and Wu W-H. (2010) Plant sensing and signaling in response to K⁺ deficiency. *Molecular Plant* 3: 280–287.
- Weiss A., Hipps L. E., Blad B. L. Steadman J. R. (1980) Comparison of within-canopy microclimate and white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) development in dry edible beans as influenced by canopy structure and irrigation. *Agricultural Meteorology* 22: 11–21.

- White P. J. (2001) The pathways of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany* 52: 891–899.
- White P. J. and Broadley M. R. (2003) Calcium in plants. *Annals of Botany* 92: 487–511.
- White P. J. and Broadley M. R. (2009) Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets—iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist* 182: 49–84.
- Yamazaki H. (2004) Studies on the enhancement of resistance to bacterial wilt of tomato by calcium uptake *Bulletin of the National Institute of Vegetable and Tea Science (Japan)*, Mar 2004, (no.3) p. 1-56. Japanese, English Summary
- Yermiyahu U., Israeli L., Rav David D., Faingold I. and Elad Y. (2015) Higher potassium concentration in shoots reduces gray mold in sweet basil. *Phytopathology* 105: 1059-1068.
- Yermiyahu U. Shamai I. Peleg R. Dudai N. and Shtienberg D. (2006) Reduction of *Botrytis cinerea* sporulation in sweet basil by altering the concentrations of nitrogen and calcium in the irrigation solution. *Plant Pathology* 55: 544–552.
- Yermiyahu U., Halpern M. and Shtienberg D. (2020) NH_4 fertilization increases susceptibility of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) to grey mould (*Botrytis cinerea*) due to decrease in Ca uptake. *Phytoparasitica* 48(3) DOI: 10.1007/s12600-020-00832-5

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 13: בקרת מחלות צמחים באמצעים קולטורליים

יגאל אלעד

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

אמצעים קולטורליים (תרבותיים, אגרוטכניים) הינם אלה הננקטים לצרכים חקלאיים ושאינם בהכרח קשורים ישירות להגנת הצומח אך משפיעים על בריאות הגידול, או כאלה שבאופן ישיר מיועדים להגנת הצומח ואינם כוללים יישום אמצעי הדברה כימיים או ביולוגיים. את הפעולות מבצעים בשדה או בסביבה המשפיעה על השדה בין עונות הגידול, לפני זריעה או שתילה, במהלך הגידול ואף לאחר הוצאת התוצר מהשדה. האמצעים נסמכים על פעולות עיבוד ואחזקה של הקרקע, חומר הריבוי, הצמחים והעשבים בחלקת הגידול, השקיה והזנה. תוצאתם הפחתה בכמות המדבק ובפוטנציאל גרימת מחלות, מניעת מחלות, דחייתן או הפחתת חומרתן. מבין האמצעים יש כאלה שהינם יעילים למספר עונות גידול ואילו אחרים השפעתם זמנית וקצרת טווח. בפרק זה מתוארים האמצעים כפי שנקטו משחר הגידול החקלאי, בחקלאות מודרנית במחצית המאה העשרים בישראל, בחקלאות בעולם לפני ובמהלך הגידול בשדה הפתוח ובגידולי חממה.

אופן הציטוט: אלעד י' (2021) **בקרת מחלות צמחים באמצעים קולטורליים**. פרק 13, ע' 215-227 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51961>



מבוא

מחלות צמחים מסיבות נזק רב לצמחי תרבות ולגידולים חקלאיים. מאז שתורבתו צמחים הקדישו המגדלים מאמצים להתמודדות עם פגעים ובכלל זה עם גורמי מחלה שונים. בסקירה על הדברה קולטורלית בראי ההיסטוריה מציין Haward (1996) שיטות קדומות מתחילת הציביליזציה החקלאית ובהן שריפה, חילופי גידולים, עיבוד וניהול קרקע ומיקום חלקת השדה. עיקר האמצעים המשמשים לבקרת מחלות, גם בעידן בו מתקיים שימוש רב בתכשירי הדברה כימיים, הינם קולטורליים. מתוך ניסיון רב שנים במסגרת המעשה החקלאי, ננקטות שיטות להימנעות ממחלות אשר אינן כוללות שימוש בחומרים רעילים ואשר מפחיתות נזקי מחלות, דוחות את הופעתן או מביאות את הנזק אל מתחת לסף כלכלי.

נבו (1992), במחקרו על פגעים בגידולים חקלאיים, מזהה שיטות הדברה בתקופת המקרא והמשנה את השיטות של מחזור זרעים והימנעות משתילה תכופה של גידולים דומים שנה אחר שנה, הימנעות מעודפי מים הגורמים לריקבון שורשים ובעקבות זאת נשירת עלים, הסרת עפצים שנוצרים על ידי חיידקים (סניטציה) והפחתת רטיבות נוף ובכלל זה טללים להפחתת מחלות מוגברות-לחות (התלויות בלחות מרובה).

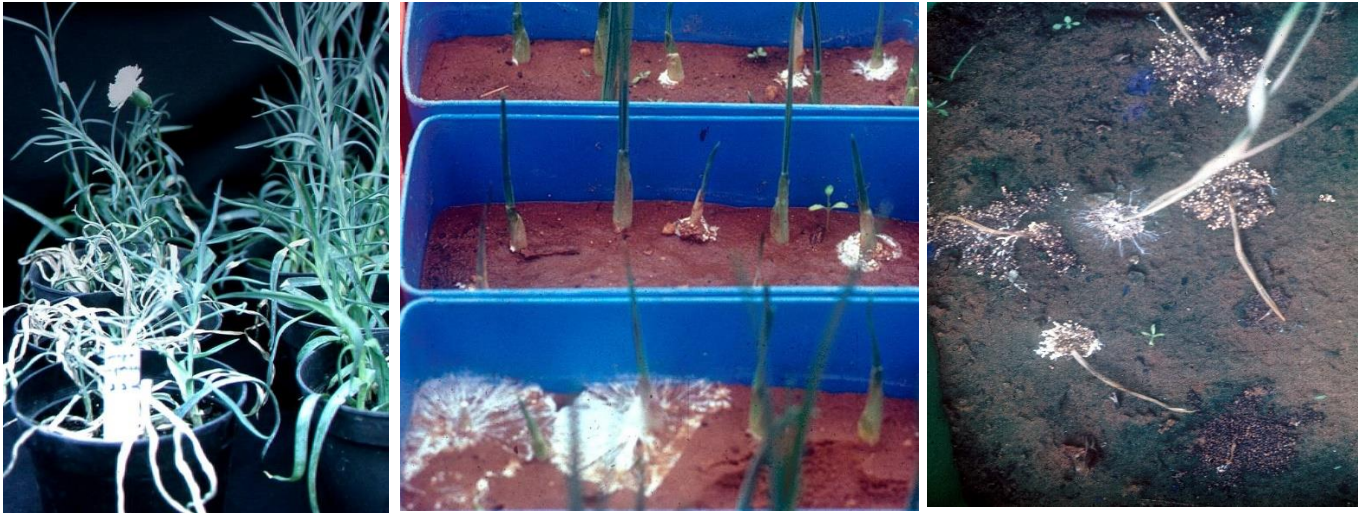
בפרק זה יסקרו שיטות הדברה תרביתית (= קולטורלית, =אגרוטכנית). אמצעים אלה כוללים פעולות שאינן יישום אמצעי הדברה כימיים או ביולוגים וזאת בין עונות הגידול, לפני זריעה או שתילה, במהלך הגידול ועם התוצר לאחר הוצאתו מהשדה. האמצעים נסמכים על פעולות עיבוד ואחזקה של הקרקע, חומר הריבוי, הצמחים האמצעים הפיזיים שסביבם והעשבים, השקיה והזנה וכל זאת בשדה ובסביבתו הקרובה והרחוקה. האמצעים התרביתיים הינם אלה שנקטים לצרכים אגרונומיים שבמקורם אינם בהכרח קשורים ישירות להגנת הצומח או כאלה שבאופן ישיר מיועדים להגנת הצומח כגון סניטציה של חומר צמחי נגוע. בפרק זה מתוארים האמצעים כפי שהתבטאו בחקלאות מודרנית מקדימה במחצית המאה העשרים בישראל, בחקלאות בעולם לפני ובמהלך הגידול ובגידולי חממה.

אמצעים קולטורליים בחקלאות המתחדשת בישראל

בספר של יפה (חבר בקבוצות הראשונים בדגניה, ממייסדי נהלל, ויזם ומנהל ראשון של תנובה) בו מתוארים גידולים רבים מתחילת המאה ה-20 הוצע לנהוג "הגנה מקדמת" ומופיעות הנחיות טיפול למניעת מחלות ובכללן סניטציה והסרת חלקי צמח נגועים ועקירת צמחים נגועים בגורמי מחלה, שריפה של חומר צמחי נגוע, הפסקת השקיה בייחוד באדמה כבדה וקלטור יסודי, עידור ועיבוד יסודי, ייבוש שרשי גזר לפני אחסונו ומחזור זרעים ("...טעם חשוב מאד לחלוף הזרעים הוא להגן על הצמחים מחלקות במחלות, מאחר שלכל משפחת צמחים מחלותיה המיוחדות לה, העוברות ממין למין במשפחה אחת, אך ברבן אינן עוברות ממשפחה אחת למשפחה אחרת...") (יפה 1921).

פלטי (1948) מהמחלקה לפתולוגיה בתחנה לחקר החקלאות, רחובות, הציע דרכים להימנעות ממחלות המועברות בקרקע (איור 1) ובכללן אלה הנגרמות על ידי אקטינומיצטים ומיני *Botrytis*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Plasmodiophora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Verticillium*. פלטי סיכם את האמצעים: א' מחזור זרעים המתחשב בגורמי המחלה המצויים בשדה, בעונות בהן הם מסבים נזק וברגישות צמחי התרבות להם; המחזור יכול לכלול ייבוש הקרקע למשך עונה כדי להפחית למשל מדבק של *Rhizoctonia solani* ולרזר התפתחות של חיידקים המתחרים בפטריות המזיקות; ב' חריש עמוק להצנעת מדבק ובעיקר קשיונות; ג' "אמצעים היגייניים" למניעת מעבר מדבק מחלקה לחלקה, שימוש בחומר ריבוי נקי, הימנעות בהזנת בעלי חיים בחומר צמחי נגוע מפני שגורמי הריבוי של מחלות צמחים שורדים במעבר במעי שלהם, שימוש בחומר צמחי בריא להכנת קומפוסט, עקירת צמחים נגועים וצמחים בריאים מסביבם וחיטוי כלי עבודה; ד' זיבול וסידוד; ה' השקיה נכונה והימנעות מעודפי מים בכל החלקה או באזורים מסוימים, מניעת הרטבה של צוואר השורש, המטרה עדינה למניעת התזה של חלקיקי קרקע עם מדבק לצמחים; ו' ביעור עשבים הנפגעים בעצמם בגורמי המחלות ועיבוד קרקע אך בצורה שלא יפגעו שורשים; ז' (חסר במקור); ח' חיטוי קרקע (הדברה כימית); ט' זנים עמידים; י' חלקות מיוחדות לגידולים רגישים; י"א טופוגרפיה וסוג הקרקע.

חורין וחוב' (1954) הציעו שיטות אגרוטכניות להתמודדות עם מחלות בגן הירק. א' הרחקת חלקות של אותו מין זו מזו ובייחוד כאלה שאינן בנות אותו גיל; שתילת החלקות המוקדמות בחלק המזרחי של הגן באזורים בהם הרוח השולטת היא מערבית; ב' טיפולי חום עדינים לחומר צמחי כגון בצלצולים; ג' הימנעות מהמטרה בגידולים הנתקפים על ידי מחלות מוגברות-לחות; ד' השקיה בזמן שיש טל על גבי הצמחים או לכל המאוחר מוקדם בבוקר וסיום ההשקיה כשרוח מייבשת את הנוף; ה' אוורור הצמחים על ידי מניעת צפיפות, ריווח ביניהם ושתילת שורות עם כיוון הרוח השולטת; ו' שתילה על גבי גודיות לניקוז עודפי המים; ז' חיפוי קרקע; ח' מחזור זרעים, ביעור עשבים וחריש עמוק; ט' תברואה ומחזור זרעים.



איור 1. דוגמאות למחלות המועברות בקרקע. קשיונות של קשיון רולפס (*Sclerotium rolfsii*) וצמחי איריס נגועים בפתוגן זה (ימין למעלה ובאמצע), מגלת בציפורן (*Fusarium oxysporum*, שמאל למעלה) וקשיונה גדולה פלפל (קישיון ותפטיר) וקשיון שממנו נבטו אפוטציות (גופי פרי) של הפטרייה בשדה גזר (למטה מימין ובאמצע).



בדומה, פרץ ופאפו (1961) הזכירו את השימוש בזרעים, פקעות ושתילים בריאים, סניטציה והיגיינה של השדה כולל כלי עבודה, השמדת עשבים, השקיה וזיבול, אך הוסיפו גם את התאמת הצמחים לשטח, תנאי הקרקע והאקלים השוררים באזור, שימוש בכנות מתאימות לתנאים וכנות עמידות וזאת בצד טיפולי מניעה כימיים. סיכום רחב של אמצעים תרבותיים לבקרת מחלות בהיבט רחב נעשה על ידי Palti (1981) בספר המסכם לא רק ידע מישראל אלא גם יישומים הנוהגים בחקלאות ברחבי העולם המתפתח והמפותח ובפרק בספר מחלות צמחים בישראל (פלטי וחוב', 1998).

אמצעים קולטורלים לפני ובמהלך הגידול

על אמצעים שתוארו לעיל אפשר להוסיף אמצעים נוספים המפורטים כאן:

- אתר השדה צריך להיות מאוחר במחשבה תחילה כך שמבחינת תנאי אקלים יתאים לגידול מיטבי של הצמחים אך לא מתאים למחלות החשובות של הגידול. מיקום השדה באזור נמוך יחסית לסביבתו כרוך במיקרואקלים קר וטלול יותר מהאזורים הגבוהים יותר. מקום גבוה עשוי להיות מאוורר יותר משדה נמוך ובהתאם גם רטיבות הנוף רבה יותר ומחלות מוגברות-לחות יתעצמו.

- עמידות הגידול למחלות – ככלל רוב הצמחים הינם חסינים (immunity) לגורמי מחלות ולמעשה רק מיעוטם רגישים ובהם מתבטא הנזק בחקלאות. עמידות (resistance) הינה תכונה טבעית או כזאת המוקנית לזנים מסוימים של גידול כנגד מחלה והיא הדרך המועדפת להתמודדות עם מחלות צמחים. סבילות (tolerance) מתייחסת לזנים נגועים, נושאי סימני מחלה בדומה לזן רגיל - רגיש, אך הם נושאי פרי ובעלי יכולת גידול כאילו לא נפגעו במחלה.

- בנוסף לשימוש בזנים עמידים לגידול אפשר להשתמש בהם גם ככנות עמידות בייחוד למחלות המועברות בקרקע (ראו פרק הרכבות). חשוב להשתמש בעמידות בכל מקרה שהיא זמינה ובעיקר במקרים בהם הפתוגן נוכח בקרקע.
- עומק זריעה ושתייה, בדרך כלל שטחיים, למניעת חולי נופל ומחלות קרקע כגון מק שורש ומקמקת וזאת לצמצום חשיפת הנבט לגורמי הריבוי של המחלה בעת הצצתו או התבססות השתיל באדמה.
- במסגרת מחזור זרעים, נמצא שגידול והצנעת צמחים ממיני משפחת המצליבים ואחרים עשויים לפעול כנגד מדבק המצוי בקרקע (Klein et al., 2011). לדוגמא, ריקבון כתר הדלועיים (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radices*-) ומדבק של הפטרייה הופחתו על ידי שאריות בן חרדל (רוקולה (*Diplotaxis tenuifolia*), טרגון (*Artemisia dracuncululus*), מרווה (*Salvia officinalis*) וברוקולי (*Brassica oleracea* var. *italica*).
- הצפת השטח דווחה במקרים שונים כיעילה בהפחתת מדבק של פטריות וחיידקים הסובלים מתנאי המחסור בחמצן, הצטברות פחמן דו חמצני או פעילות מיקרוביאלית (Bruehl, 1987; Katan, 2010).
- בתחום הסניטציה הנזכרת לעיל, בחלקות בהן ממוחזרים המים יש צורך לטפל במים בסינון, חיטוי ובכלל זה חיטוי פיזי (קרינה אולטרה סגולה), למניעת מעבר חיידקים הומניים וחיידקים גורמי מחלות צמחים, גורמי ריבוי של אואומיצטים וכל גורמי ריבוי הנישאים במים.
- גידול מעורב של צמחים נהוג במקומות שונים בעולם. זריעה לחילופין (שורות שונות בשדה, רצועות זריעה רחבות) עם זנים בעלי רגישות שונה ועמידות ובעלי רקע גנטי שונה או אפילו מינים שונים, עוזרת למנוע התעצמות של מגפות בהשוואה לזריעה של זן אחיד בחלקה שלמה.
- השמדת חומר צמחי נגוע, חלקי צמח או צמחים חולים שנעקרו וכן עשבים, חשובה להפחתת המדבק בשדה ובסביבתו, אך שריפה שהייתה מותרת בעבר אינה מותרת היום אלא במקרים מיוחדים. צמחי ספיח שמקורם בגידול קודם עלולים לגרום להדבקה מוקדמת בגורמי מחלה ויש צורך להרחיקם. דוגמא חשובה להרחקת פונדקאי ביניים באה מצרפת במאה ה-17. הרשויות בצרפת הכירו בעובדה ששיחי ברברי בקרבת שדות דגנים היו קשורים להופעת חילדון בדגניים והורו בחוק על השמדת השיחים (Katan, 2010).
- סריקת החלקה לעיתים מזומנות ואיתור מוקדם של צמחים נגועים ("פיקוח") מאפשרים התמודדות עם מגפות בעודן באבן.
- זיהוי נכון של גורמי מחלות. הזיהוי המדויק, ככל שיהיה מוקדם יותר בשלבי התפתחות המגפה, יועיל יותר להתמודדות עם המחלה ולמניעת נזקים (ראו פרקי אבחון מחלות צמחים).
- כנזכר לעיל, מועד, קצב, כמות ושיטת השקיה באופן שתימנע תוספת רטיבות על פני הצמחים ועידוד פתוגנים מוגברי-לחות או מחלות התוקפות את צוואר השורש הינם אמצעים חשובים למניעת התפשטות מגפות. לכך תורמת רבות השקיה בטפטוף. אם כי הרטבת הנוף במידה רבה יכולה לפעול כנגד נבגי קימחון שאינם שורדים זמן רב במים חופשיים – כאמור אמצעי זה יעודד מחלות מוגברות-לחות ולכן שכרו יצא בהפסדו.
- שימוש בהזנה מדויקת של הצמח ביסודות הקשורים בהפחתת רגישות הצמח לגורמי מחלה מסוימים יכול להפחית נגיעות במערכות צמח – פתוגן שונות, כנסקר בפרק הזנת צמחים ומחלות.
- פעילות כנגד וקטורים של גורמי מחלות ימנעו התבססות מחלות נגיפיות, נגיפונים (וירואידים) וחיידקונים (פיטופלסמה) (ראו פרקי מחלות המועברות על ידי ווקטורים חרקים).
- טיפולים פיזיקליים, טיפולי חום לחומר ריבוי – בעבר היה נהוג לטפל בחיטה, שעורה ושיבולת שועל באמצעות מים חמים למניעת פחמון. בדומה היה שימוש באנרגיית השמש לאותה מטרה – זרעים הוספגו מים במשך 4-5 שעות ולאחר מכן יובשו בשמש. טיפול באוויר חם או במים חמים (לעיל) בחומר צמחי יועד כנגד נגיפים בחומר צמחי.

- חיטוי סולרי של הקרקע נחקר רבות ומיושם בישראל. חיפוי הקרקע הרטובה בפוליאיתילן למשך תקופה באביב או בקיץ גורם לתמותה של גורמי מחלה, התפתחות מיקרואורגניזמים מועילים ושינוי שיווי המשקל לטובתם ועידוד הדברה ביולוגית בגידולים שונים המגודלים לאחר החיטוי (Gamliel and Katan, 2009). חיטוי סולרי גורם אפילו להשראת עמידות סיסטמית בגידול הנשתל לאחר הטיפול (Okon Levy et al., 2015) כפי שהודגם בקימחון ועובש אפור במלפפון ועגבנייה (ראו פרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים).
- טיפול בקיטור הינו אמצעי פיזיקלי המיושם, בגלל עלותו הרבה, במצעי גידול וחלקות מוגבלות בגודלן. תוצאת טיפול זה לפני השתילה או הזריעה הינה קטל של גורמי מחלה רבים וזרעי עשבים מסוימים אך עלותו רבה (Dabbene et al., 2003).
- נמצא שמיצוי קומפוסט המיושמים בגידול מפחיתים מחלות שונות (Elad and Shtienberg, 1994; Weltzien and Ketterer, 1986). תמציות קומפוסט מכילות מיקרואורגניזמים, יסודות הזנה וחומרים שונים אשר להם חלק בפעילות ההדברה אך אמצעי הדברה זה אינו הדייר בהרכבו ולכן תוצאות יישומו משתנות. מבין המחלות שהודברו היו כאלה הנגרמות על ידי מיני פוזריום וכן כיב חיידקי בעגבנייה (Yogev et al., 2009) ונמצא שמנגנון חשוב לו ניתן לייחס את ההדברה הינו השראת עמידות (Yogev et al., 2010).
- רגולציה – חוקים ורשות ציבורית או ממשלתית המונעים כניסת חומר צמחי נגוע, גורמי מחלה או מוצרים וחפצים מזהמים הינם כלי חשוב בהתמודדות עם התבססות פגעים חדשים באזורים ומדינות שלא היו בהם לפני כן. הסיכון לכניסת פגעים חדשים גדל עם התגברות הגלובליזציה בתחום המסחר בתוצרת חקלאית וקרנטינה הינה כלי חשוב למניעת הנזק הפוטנציאלי.

הדברה תרבותית בגידולי חממה

עצמת האור המגיעה לצמחים עשויה להשפיע על חומרת מחלה. נמצא שהצללה של דלעת מחמירה את קימחון הדלועיים (*Podosphaera xanthii*) בעלי גידול זה בעוד חשיפה יתרה לשמש מפחיתה את חומרת הקימחון (Leibovich et al., 1996). בניגוד לכך, הצללה הפחיתה קמחונית (*Leveillula taurica*) בפלפל. בשני המקרים יש לשקול גם את השפעת עצמת הקרינה על ההנבה; בפלפל הצללה מפחיתה גם את כמות היבול (Elad et al., 2007). איכות האור אף היא משפיעה על חומרת מחלות. סינון אור בתחום האולטרא סגול ו/או בתחום האדום רחוק הפחית קשיונה גדולה בכמה גידולים על ידי הפחתת נביטת אפוטציות (גופי פרי) מקשיונות והפחית מחלות צמחים אחרות (Sasaki et al., 1985). סינון B-UV על ידי יריעת פוליאיתילן הפחית עובש אפור ועובש עלים (*Cladosporium fulvum*) בעגבנייה, קשיונה גדולה וקימחון במלפפון (Elad, 1977) והנבגה של הפטרייה בוטריטיס (Reuveni et al., 1987). מאוחר יותר נמצא שפעילות יריעה מסננת אור הינה משמעותית יותר בהדברת כשותית הדלועיים (*Pseudoperonospora cubensis*) (אלעד יגאל, ידע אישי). נמצא גם שסינון האור מפחית מזיקים ומחלות נגיפיות המועברות על ידם (Antignus et al., 1996) אך גם השפיע באופן שלילי על האוריינטציה של חרקים מועילים בחממה. מעניין לציין שפעילות סינון האור המוזכרת לעיל כנגד עובש אפור התרחשה למרות שחלק מאוכלוסיית הפטרייה *B. cinerea* אינה מושפעת מאיכות האור לצורך הנבגה. הפעולה כנגד עובש אפור וככל הנראה נגד *P. cubensis* שאינו מושפע מאיכות האור אף הוא הינה באמצעות הגברת עמידות הצמח למחלות (Elad, 1996).

השקיה ואופוטרינספירציה בתוך החממה וגשם מחוץ לחממה תורמות להעלאת הלחות בחממה ולהיתכנות רטיבות על פני חלקי צמח רגישים למחלות. נוף רטוב כתוצאה מהשקיה נמצא נגוע יותר בעובש אפור (Trolinger and Strider, 1984). הגבלת מועדי השקיה ביום הפחיתה נגיעות גבעולי עגבנייה במחלה זאת בחממה (Dik and תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 219

Wubben, 2004). בתנאי הגידול האינטנסיבי ניתן להניח כי המדבק של גורמי מחלה כגון *S. sclerotiorum*, *B. cinerea* ו-*Peronospora belbahrii* (כשותית הריחון) אינו גורם מגביל בחממות גידול בזיל מתוק בעונות סתיו, חורף ואביב. תנאי המיקרו-אקלים במבנים מעודדים או מגבילים את עוצמת המגפות הנגרמות על ידי גורמי מחלה אלה. בסקרים נמצא שתנאים גיאוגרפיים ומקומיים, אשר מפחיתים אוורור ותנועת אוויר במבנים, כגון מיקום המבנה, כיוונו וגובהו, מעודדים את הופעת המחלות במבנים. כמובן, העדר חימום ויבוש אקטיבי מעודד הופעת מחלה, וזאת ללא קשר לגיל הגידול בעוד פעולות אוורור וחימום באוויר יבש קשורות ברמות מחלה נמוכות במבנים (אלעד וחוב' 2013 א-ב; Omer and Elad, 2016; Elad et al., 2014b, 2015).

חימום אקטיבי מאפשר בקרת מחלות עלים (Hausbeck et al., 1996; Dik & Wubben 2004) על ידי ייבוש הנוף והפחתת הלחות היחסית (Elad and Shteinberg, 1995). הפחתת הלחות היחסית עשויה למנוע מחלות עלים מוגברות-לחות כגון אלה הנגרמות על ידי בוטריטיס, קשיונה גדולה, מיני כשותית וחיידקים (Elad and Shteinberg, 1995; Elad, 1999; Elad et al., 2015). חימום מיבש את אוויר החממה ומביא לתנועת האוויר במבנה ולייבושו וליבוש נוף הצמחים, אך חישובי עלות-תועלת עם תוספת יבול והפחתת מחלות מראה שהפעולה הזאת אינה כדאית כלכלית ולכן בדרך כלל אין שימוש בחימום אקטיבי בישראל.

אוורור נאות של נוף הגידול גורם אף הוא לפחיתה של הלחות בחממה ושל התקופה בה מכוסים חלקי צמח בשכבת מים. ניתן להגביר את אוורור הגידול על ידי הגדלת הפתחים בצדי החממה, הצבת החממה בהתאם לכיווני הרוחות הנפוצות ובאתרים מוגבהים יחסית לסביבה, שינוי רשתות הצד (הסרה או שינוי צפיפות), החלפת אויר פעילה באמצעות מאווררים וכן סחרור אויר המוזכר בהמשך. כל הפעולות האלה לא רק מפחיתות את לחות האוויר אלא עשויות לתרום להעלאת טמפרטורת הנוף יחסית לסביבתו ולהפחתת משך ומידת הרטיבות על אברי צמח רגישים (Legard et al., 2000; Trolinger and Strider, 1984).

סחרור אוויר בחממה תורם להעלאת טמפרטורת הנוף יחסית לסביבתו ולהפחתת משך ומידת הרטיבות על פני אברי צמח רגישים (Legard et al. 2000; Trolinger and Strider, 1984) וזאת למרות שהלחות היחסית בחממה אינה פוחתת. סחרור אוויר הפחית את חומרת כשותית הריחון (*P. belbahrii*) בבזיל (Omer and Elad, 2016) (איור 2). סחרור אוויר ידוע כמעכב הנבגת גרמי מחלות עלים מוגברות-לחות בגידולים חקלאיים שונים. הודגם בתנאים מבוקרים כיצד רוח מהירות של למעלה מ-0.1 מ/ש הפחיתה את הנבגת גורם הכשותית (*Bremia lactucae*) בחסה ומעל 0.5 מנעה אותה לחלוטין על ידי הפחתת הרטיבות פני העלה מתחת לסף ההנבגה. כשהאוויר עומד ללא סחרור כלל מספר הנבגים לעלה עלה לינארית בתחום 81-100% לחות יחסית (Su et al. 2004). תוצאות דומות נמצאו בכימסון (*Phytophthora infestans*) (שאף היא מחלה מוגברת-לחות) בצמחי תפוח-אדמה (Harrison 1992).

אמצעי נוסף להפחתת לחות בחממה הוא חיפוי קרקע על ידי יריעות פוליאיתילן. שימוש בשיטה זו נמצא בעבר תורם להפחתת מחלת העובש האפור (Elad, 2000; Shpialter et al., 2009) ולאחר מכן להפחתת כימסון (*P. infestans*) בעגבנייה (Shteinberg et al. 2004; Cohen et al. 2006). הממצא העיקרי שעלה הוא שחיפוי קרקע בפוליאיתילן שצדו התחתון שחור וצדו העליון כסוף השפיע בצורה משמעותית על התפתחות מחלות נוף (קימחון, עובש אפור ועובש עלים): בעוד שבחממות עם קרקע חשופה התפתחו מגיפות קשות עד כדי השמדה מוחלטת של צמחי העגבנייה (איור 3).



איור 2. מסחרר אויר בחממה בתחנת ניסויים עדן של מו"פ עמק המעינות (א' משמאל למעלה) למניעת כשותית הריחן בבזיל (ב' עלה בזיל נגוע ב *Peronospora belbahrii*, גורם כשותית הריחן. בנוסף, הערוגות נשתלו בצפיפות מקובלת ובצפיפות מופחתת של צמחים.

בחממות עם חיפוי קרקע המחלות התפתחו מאוחר יותר וחומרת המחלה הייתה נמוכה יותר. בחממות עם חיפוי קרקע משך הרטיבות של העלים במהלך הלילה היה קצר יותר מאשר בחממות עם קרקע חשופה. החיפוי בפוליאטילן גורם לעליה של טמפרטורות הקרקע במשך היום. כתוצאה מכך שטף החום שנפלט מהקרקע בחממות עם חיפוי קרקע משנה את טמפרטורת הצמחים במשך הלילה ובכך את נקודת הטל. עקב כך נדחה המועד בו מתעבים מים על העלווה, משך הזמן בו העלווה רטובה מתקצר ונמנעת התפתחות מחלות מעודדות-לחות. בבזיל נמצא הנוף הקטוף פחות רגיש להתפתחות ריקבון בעקבות חיפוי קרקע בפוליאטילן בהשוואה לנוף מחלקות חשופות (Elad et al., 2014b, 2015). חיפוי קרקע הפחית גם את כשותית הריחן (Omer and Elad, 2016) ללא הבדל בין צבעי הפוליאטילן ששימש לחיפוי וכמו במקרים אחרים תרם גם בתוספת יבול בגלל חימום בית השורשים ושטף החום לנוף. בנוסף, יריעת פוליאטילן על קרקע גידול ליזיאנטוס יצרה חיץ בין עלים שבדרך כלל נוגעים בקרקע הרטובה ומנע את הרטבתם הישירה והינגעותם בעובש אפור (Shpialter et al., 2009).

בניסויים בתחנות בעמק המעינות ובכיכר סדום, הושפעו המחלות מצפיפות שתילת הבזיל; בצפיפות שתילה מופחתת לכדי מחצית מהמקובל (15-16 גושים/מ"ר) הפחיתה משמעותית את עובש אפור, קשיונה גדולה וכשותית הריחן מאשר בצפיפות שתילה המקובלת (30-32 גושים/מ"ר). יבול הבזיל הושפע מצפיפות השתילה בעיקר בקציר הראשון, אך בבזיל מבוצעים מספר קצירי ענפים וכלל היבול הנקצר לא נגרע. ברמת מחלה גבוהה אפילו הוגבר היבול בשתילה מדוללת. לאחר קציר נמצאה עמידות לעובש אפור וקשיונה גדולה בענפים שמקורם בשתילה המרווחת. ריחון השתילה גרם להפחתת נגיעות בחלקות, בגלל אוורור נאות של נוף הצמחים ואפילו נמצאה הפחתת רגישות הנוף ודחיית ההדבקה למועד מאוחר בעונת הגידול (אלעד וחוב' 2013, א, ב). שינויים במתכונת השתילה ועיצוב הנוף לפחיתה בצפיפות משפיעים על המיקרואקלים בתוך נוף הצמח ואת סיכויי המגע שבין הצמחים, לכן דווח שבחלקות צפופות הייתה נגיעות מוגברת (Legard et al., 2000; Trolinger and Strider, 1984).



איור 3. חיפוי מצע על ידי יריעות פוליאיתילן בחממה בתחנת עדן של מו"פ עמק המעינות. התמונה צולמה לאחר שתילה בסתיו והביא לבקרת מחלות נוף במהלך החורף. משמאל: גבעול בזיל נגוע בעובש אפור (*Botrytis cinerea*, למעלה) וקשיונה גדולה (*Sclerotinia sclerotiorum*, למטה).

חימום פאסיבי על ידי כיסוי החממה בפוליאיתילן הינה שיטה מקובלת בעונות קרות. בניסויים אשר בחנו שיטות בקרת אקלים להפחתת מחלות מוגברות-לחות וקמחונות בחממות פלפל, עגבנייה ובזיל, העלאת טמפרטורה ביום על ידי סגירת צידי החממה הביאה להפחתה משמעותית בקמחונית הפלפל (*L. taurica*) ובקימחון העגבנייה (*Oidium neolycopersici*) ובשלוש מחלות נוף של בזיל. לעומת זאת חומרת מחלה גבוהה נצפתה בחממות מאווררות אשר התאפיינו בממשקי גידול רגילים הכוללים אוורור במהלך היום. חימום פאסיבי של מנהרות עבירות לגידול בזיל במהלך החורף מביא לעליה ביבול (Shapiro et al., 2014). טווח הטמפ' במהלך היום בתוך המנהרה עשוי לעלות ב-7-20 מ"צ מעל הטמפרטורות השוררות מחוץ למנהרה. בחממות בזיל מכוסות פוליאיתילן אשר נשארו סגורות למשך 6 שעות כל יום הטמפרטורה הגיעה ל-42 מ"צ בתקופת החורף, שכיחות מחלת העובש האפור פחתה משמעותית ויבול הבזיל עלה (Elad et al., 2014b). באופן מפתיע בתנאים אשר שררו במנהרות העבירות, העלייה בטמפרטורת האוויר לא הביאה לעליה דומה בטמפרטורת העלים. בהתחשב בכך שהעלים אכלסו ב *P. belbahrii* (גורמת כשותית), ניתן לשער כי השפעת החום הגבוה בחממה המסחרית על כשותית הבזיל אינו נובע מהשפעה ישירה של הטמפרטורה על גורם המחלה, אלא על ידי השראת עמידות בצמח הפונדקאי (Elad et al., 2016).

כדי לאמת זאת, הפרדת החלק המחומם של הצמח והאיברים המודבקים כפי שנעשתה על ידנו בניסויי עציצים, אפשרה הבנה של השפעת החימום על הפונדקאי. חשיפת השורשים לטמפרטורות גבוהות הדומות לאלו הנפוצות בחממות הניסוי, הביאה לדיכוי מחלות נוף (כשותית הריחון, עובש אפור וקשיונה גדולה) בבזיל ועובש אפור בנוף עגבנייה. כלומר כל הפתוגנים הודבקו בנוף והנוף לא נחשף לטמפרטורות הגבוהות אלא רק בית השורשים של הצמחים.

כמו כן, השפעת החימום נצפתה גם שבוע-שבועיים לאחר שהצמחים הועברו מטיפול חשיפת בית השורשים לטמפרטורות גבוהות לממשק חימום מיטבי להתפתחות כשותית הבזיל (טמפרטורות נמוכות יותר). חימום בית השורשים השרה עמידות להתפתחות המחלה (Elad et al., 2014a, 2016). זוהי דוגמא להשראת עמידות באמצעים פיזיקליים אשר נראה כי הינה מתרחשת בחימום הקרקע על ידי חיפוי עם יריעת פוליאיתילן (פרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים).

Aharoni et al. (2010) הדגישו כיצד חימום האוויר לאחר קציר ל-38 מ"צ למשך שמונה שעות בסביבת צמחי בזיל שנקצרו אחר-כך או בערב, הפחית משמעותית את רגישות הצמחים לפגעי קור ולריקבון הנגרם על ידי הפטרייה *B. cinerea* (איור 4) והחיידק *Erwinia carotovora*, ואפשרו אחסון של זני בזיל מסוימים בתשע מ"צ, טמפרטורה אשר בדרך כלל גורמת לנזקים משמעותיים לעלי הבזיל הקטוף. בנוסף, חימום צמחי בזיל בחממה יומיים-שלושה לפני קציר העלים כמעט לחלוטין את תופעת כתם שחור שנגרם על ידי פתוגנים שונים (בעיקר *Alternaria* spp.); הטיפול כלל חימום ל-42 מ"צ למספר שעות על ידי סגירת החממה (Kenigsbuch et al., 2010). (Chang et al., 2005) הראו כי צמחי בזיל אשר גודלו בטמפרטורה של 25 מ"צ למשך שבועיים היו גבוהים יותר, בעלי חומר אורגני יבש רב יותר ושטח עלים גדול יותר בהשוואה לצמחים אשר גודלו בטמפרטורות אחרות. בנוסף, סך השמנים הנדיפים בעלים טריים בצמחים אשר גודלו בטמפרטורות של 25-30 מ"צ למשך שבועיים היה גבוה פי שלושה מאשר בצמחים אשר גודלו בטמפרטורה של 15 מ"צ. טמפרטורה גבוהה משפיעה גם על הרכב השמנים הנדיפים. תנאי גידול חמים יותר (25 מ"צ) הביאו להצטברות של שמן הציפורן (Euganol) (Chang et al., 2005) אשר לו תכונות אנטי-מיקרוביאליות (Dhara and Tripathi, 2013) ונמצא משרה עמידות בצמחי עגבנייה (Wang and Fan, 2014).



איור 4. נגיעות ענפי בזיל קטופים בעובש אפור (*Botrytis cinerea*).

סיכום

תרומת ההדברה הקולטורלית למניעת מחלות ובקרתן הינה חשובה ובעלת פוטנציאל רב להפחתת נזקים בגידולים חקלאיים ובצמחייה בכלל. נראה שיש צורך להכיר על בוררין את מערכות הצמח-פונדקאי המטופלות ואת התנאים המעודדים את המחלות כדי להביא לבקרה יעילה של הפגעים. תנאים אלה עשויים להשתנות בין אזורים ובין גידולים. האמצעים התרבותיים דורשים תחכום לצורך יישומם ועשויים להיות מורכבים ודורשי סבלנות, אבל ההישענות עליהם

עוזרת להימנע מיישום אמצעים יחידניים כמו תכשירי הדברה. שילוב אמצעים תרבותיים לפני ובמהלך הגידול מבטיח הצלחה רבה יותר בהתמודדות עם מחלה ומאפשר הזדקקות פחותה לחמרי הדברה כימיים. חשוב לנצל את הפוטנציאל שבאמצעים אלה בתקופה בה היצע האמצעים הכימיים מצטמצם בגלל מגבלות שימוש או כאשר אוכלוסיות עמידות של פתוגנים מתפתחות כנגד חמרי הדברה כימיים והמגדלים נזקקים לחלופות הדברה מועילות.

מקורות

אלעד י', ישראלי ל', פוגל מ', רב דוד ד', סילברמן ד', ביטון ש', דוברינין ס', חדד י', יצחק ש', דקו צ', גלעד ז', מאיר א', הררי ד', פיבניה ש', לויטה ר', מדואל ע', צעירי א', הראל ד', יחזקאל ח', אסקירה א' ואדלר א' (2013א) חוס"ן בזיל: הדברת עובש אפור (בוטריטיס) בזיל מתוק (ריחן) באמצעים תרבותיים (אגרוטכניים). שדה וירק 2013: 40-48.

אלעד י', ישראלי ל', פוגל מ', רב דוד ד', סילברמן ד', ביטון ש', דוברינין ס', חדד י', יצחק ש', דקו צ', גלעד ז', מאיר א', הררי ד', פיבניה ש', לויטה ר', מדואל ע', צעירי א', הראל ד', יחזקאל ח', אסקירה א', ואדלר א' (2013ב) מיזם חוס"ן בזיל: קשיונה גדולה (סקלרוטיניה) בריחן (בזיל) והדברתה באמצעים אגרוטכניים ופונגיצידיים. שדה וירק 2013: 36-43.

חורין מ', פלטי י' ומלר ש' (1954) מחלות בירקות. ע' י' מ' מרגלית, הוצאת ספרית-השדה, תל אביב, 75 עמ'.
יפה א' ל' (1921) מקצועות החקלאות, ספר ראשון: גדול ירקות כרך ב: מקצועות החקלאות. הוצאת האריאל, תל אביב, 230 עמ'.

נבו ד' (1992) פגעים בגידולים חקלאיים והדברתם בארץ-ישראל בתקופת המקרא והמשנה. עבודת דוקטוראט, אוניברסיטת בר אילן 390 עמ'.

פלטי י' (1948) פגעי השורש בגידולי שדה וגן. הוצאת ספריית השדה, תל אביב, 87 עמ'.
פלטי י', שוהם ח' ובן-אריה צ' (1998) הדברה באמצעים אגרוטכניים. בספר מחלות צמחים בישראל, הוצאת המחלקה לפרסומים מדעיים, מרכז וולקני, בית דגן, עורכים: רותם י', פלטי י' ובן יפת י', ע' 157-166.

פרץ י' ופאפו ש' (1961) מחלות ומזיקים בצומח. ענברי, י' (עורך), הוצאת המשק החקלאי, תל אביב 215 עמ'.
Aharoni N., Kenigsbuch D., Chalupowicz D., Faura-Mlinski M., Aharon Z., Maurer D., Ovadia A., and Lers A. (2010) Reducing chilling injury and decay in stored sweet basil. *Israel Journal of Plant Sciences* 58: 167–181.

Antignus Y., Cohen S., Mor N., Messika Y. and Lapidot, M. (1996) The effects of UV-blocking greenhouse covers on insects and insect-borne virus diseases. *Plasticulture* 112: 15-20.

Bruehl G.W. (1987) *Soil-Borne Plant Pathogens*. MacMillan, New York, NY, USA.

Chang X. M., Alderson P. G. and Wright C. J. (2005) Effect of temperature integration on the growth and volatile oil content of basil (*Ocimum basilicum* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80: 593–598.

Cohen S., Ziv G., Elad Y., Grava A. and Shtienberg D. (2006) Influence of polyethylene mulch on night microclimate, dew point and *Phytophthora infestans* infection in non-heated tomato greenhouses in southern Israel. *Acta Horticulturae* No. 718: 277-282.

- Dabbene F., Gay P. and Tortia C. (2003) Modeling and control of steam soil disinfection processes. *Biosystems Engineering*, 84: 247–256, doi:10.1016/S1537-5110(02)00276-3
- Dhara L. and Tripathi A. (2013) Antimicrobial activity of eugenol and cinnamaldehyde against extended spectrum beta lactamase producing Enterobacteriaceae by *in vitro* and molecular docking analysis. *European Journal of Integrative Medicine* 5: 527–536.
- Dik A. J. and Wubben J. P. (2004) Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses. In: Elad Y., Williamson B., Tudzinzy B. and Dellen N., eds., *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwers Academic Publishers, Dordrecht, the Netherland, pp. 319-333.
- Elad Y. (1997) Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse crops. *Crop Protection* 16: 635-642. DOI: 10.1016/S0261-2194(97)00046-X
- Elad Y. (1999) Plant diseases in greenhouses. In: Stanhill G. and Enoch H.Z., eds., *The Greenhouse Ecosystem*, Elsevier, the Netherlands, pp. 191-210.
- Elad Y. (2000) Changes in disease epidemics on greenhouse grown crops. *Acta Horticulturae* No. 534: 213-220. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.534.24
- Elad Y., Fogel M., Rav David D., Messika Y., Jacob D., Silverman D., Shapiro D., Adler U., Esquira I., Yitzhak S., Deko T., Harary D., Maduel A. and Pressman E. (2014) Daytime solar heat treatment for the suppression of foliar plant pathogens in polyethylene-covered greenhouses. *Acta Horticulturae* No. 1015: 89-94. DOI:10.17660/ActaHortic.2014.1015.9
- Elad Y., Fogel M., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D. and Adler U. (2015) White mould of sweet basil: Conditions influencing its development in greenhouses and cultural measures for disease management. *Plant Pathology* 64: 951-960. DOI: 10.1111/ppa.12317
- Elad Y., Israeli L., Fogel M., Rav David D., Kenigsbuch D., Chalupowicz D., Maurer D., Lichter A., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D., Maduel A., Pivonia S. and Adler U. (2014b) Conditions influencing the development of sweet basil grey mould and cultural measures for disease management. *Crop Protection* 64: 67-77. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.06.006
- Elad Y., Messika Y., Brand M., Rav David D. and Szejnberg A. (2007) Effect of colored shade nets on pepper powdery mildew (*Leveillula taurica*). *Phytoparasitica* 35: 285-299. DOI: 10.1007/BF02981163
- Elad Y., Omer C., Nisan Z., Harari D., Goren H., Adler U., Silverman D. and Biton S. (2016) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses *Peronospora belbahrii* downy mildew. *Annals of applied Biology* 168: 373–389. DOI: 10.1111/aab.12269
- Elad Y. and Shtienberg D. (1994) Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). *Crop Protection* 13:109-114. DOI: 10.1016/0261-2194(94)90160-0

- Elad Y. and Shtienberg D. (1995) *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables; chemical, cultural, physiological and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Reviews* 1: 15-29. DOI: 10.1007/BF00140331
- Gamliel J. and Katan J. (2009) Control of plant disease through soil solarization. In: Walters D., ed., *Disease Control in Crops*, Wiley-Blackwell, Singapore, pp. 166-220.
- Harrison J. G. (1992) Effects of the aerial environment on late blight of potato foliage—a review. *Plant Pathology* 41: 384–416.
- Hausbeck M. K, Pennypacker S. P. and Stevenson R. E. (1996) The use of forced heated air to manage botrytis stem blight of geranium stock plants in a commercial greenhouse. *Plant Disease* 80: 940–943.
- Howard R. J. (1996) Cultural control of plant diseases: A historical perspective, *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 145-150. DOI: 10.1080/07060669609500639
- Katan J. (2010) Cultural approaches for disease management: Present status and future perspectives. *Journal of Plant Pathology* 92: S4.7-S4.
- Kenigsbuch D., Chalupowicz D., Aharon Z., Maurer D., Ovadia A. and Aharoni N. (2010) Preharvest solar heat treatment for summer basil (*Ocimum basilicum*) affects decay during shipment and shelf life. *Acta Horticulturae* No. 880: 161–166.
- Klein E., Katan J. and Gamliel A. (2011) Soil suppressiveness to *Fusarium* disease following organic amendments and solarization. *Plant Disease* 95: 1116-1123.
- Legard D. E. (2000) Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. *Plant Disease* 84: 531-538.
- Leibovich G., Cohen R. and Paris H. S. (1996) Shading of plants facilitates selection for powdery mildew resistance in squash. *Euphytica* 90: 289-292.
- 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. DOI: 10.1111/ppa.12255
- Omer C. and Elad Y. (2016) Integrated management of downy mildew caused by *Peronospora belbahrii* with focus on cultural techniques. *Phytoparasitica* 44: 72 (abstract).
- Palti J. (1981) *Cultural Practices and Infections Crop Diseases*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Reuveni R., Raviv M. and Bar R. (1989) Sporulation of *Botrytis cinerea* as affected by photo-selective polyethylene sheets and filters. *Annals of applied Biology* 115: 417-424.
- Sasaki T., Honda Y., Umekawa M. and Nemoto M. (1985) Control of certain diseases of greenhouse vegetables with ultra- violet-absorbing vinyl film. *Plant Disease* 69: 530-533.
- Shapiro D., Deko T., Itshak I., Silverman D., Sacks M., Adler U., Esquira I. and Stiglitz Y. (2014) An innovative way for heating greenhouses using solar energy during the winter for summer crop production. *Acta Horticulturae* No. 1015: 37-44.

- Shpialter L., Rav David D., Dori I., Yermiyahu U., Pivonia S., Levite R. and Elad Y. (2009) Cultural methods and environmental conditions affecting gray mold and its management in *lisianthus*. *Phytopathology* 99: 557-570. DOI: 10.1094/PHYTO-99-5-0557
- Shtienberg D., Elad Y., Bornstein M., Ziv G., Grava A. and Cohen S. (2010) Polyethylene mulch modifies greenhouse microclimate and reduces infection of *Phytophthora infestans* in tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. *Phytopathology* 100: 97-104.
- Su H., Van Bruggen A. H. C., Subbarao K. V. and Scherm H. (2004) Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity, and wind in controlled conditions. *Phytopathology* 94: 396–401.
- Trolinger J. C. and Strider D. L. (1984) Botrytis blight of *Exacum affine* and its control. *Phytopathology* 74: 1181-1188.
- Wang C. and Fan Y. (2014) Eugenol enhances the resistance of tomato against tomato yellow leaf curl virus. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94: 677–682.
- Weltzien H. C. and Ketterer, N (1986) Control of downy mildew, *Plasmopara viticola* (de Bary) Berlese et de Toni, on grapevine leaves through water extracts from composted organic wastes. *Journal of Phytopathology* 116: 186-188.
- Yogev A., Raviv M., Hadar Y., Cohen R. and Katan J. (2006) Characterization of composts suppressive towards *Fusarium* pathogens and diseases. *European Journal of Plant Pathology* 116: 267-278.
- Yogev A., Raviv M., Hadar Y., Cohen R., Wolf S., Gil L. and Katan J. (2010) Induced resistance as a component of compost suppressiveness. *Biological Control* 54: 46-51.
- Yogev A., Raviv M., Kritzman G., Hadar Y., Cohen R. and Katan J. (2009). Suppression of bacterial canker of tomato by compost. *Crop Protection* 28: 93-103.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

ליאור בלנק

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

ההתפתחות של פגעים בכלל, ושל מחלות צמחים בפרט, בגידולים חקלאיים בזמן ובמרחב הוא תהליך דינמי מורכב. גורמים רבים וקשרי הגומלין שביניהם, משפיעים על התפתחות הפתוגנים השונים. בכלל זה גורמים אביוטיים (לדוגמה- טמפרטורה, לחות, גשם ורוחות) וגורמים ביוטיים (לדוגמה- וקטורים המעבירים פתוגנים ורגישות הפונדקאי). על ההפצה במרחב משפיעים גם גורמים גאוגרפיים שונים, הרכב ומבנה הנוף, הפיזור ומידת הקישוריות (Connectivity) של הפונדקאי במרחב. למרות ההתקדמות במחקר בנושא שהתרחשה בשנים האחרונות, הידע לגבי ההשפעות של הגורמים השונים על ההטרוגניות בזמן ובמרחב של פגעים נותר מוגבל. בנוסף לגורמים אלו, גם האדם המבצע מניפולציות במערכת החקלאית ובמערכת הטבעית הסמוכה לה, משפיע על תפוצת הפתוגן ומידת האילוח של השדות. המערכת הביולוגית הכוללת מורכבת עוד יותר, היות וקיים מעבר של פתוגנים מהמערכת החקלאית למערכת הטבעית ובחזרה. תחום המחקר שעוסק בקשר בין מבנה הנוף והתפשטות מחלות נקרא "אפידמיולוגיה של הנוף". תחום מחקר זה קיבל עד היום תשומת לב מועטה יחסית. בפרק זה תתואר חשיבות ההתייחסות לבחינת ההיבט המרחבי של התפשטות מחלות צמחים במערכות חקלאיות באופן כללי תוך מתן דגש לגורמים גאוגרפיים וסביבתיים שונים.

אופן הציטוט: בלנק ל' (2021) היבטים מרחביים של התפשטות מחלות צמחים במערכות חקלאיות. פרק 14, ע' 228-236 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51948>



מבוא

חלק ניכר מהתוצרת החקלאית אובד בהשפעת מחלות שונות. מירב המשאבים להתמודדות עם מחלות מכון לפיתוח ושימוש באמצעי הדברה שונים. לשימוש בהיקף נרחב בחומרי הדברה עלולות להיות השלכות שליליות, ביניהן זיהום הקרקע והסביבה, פגיעה במגוון הביולוגי ובבריאות האדם. אחת הדרכים להתמודד בצורה מושכלת עם גורמי המחלה ובכך לצמצם את השימוש בחומרי הדברה היא להבין ולכמת את הגורמים המשפיעים על התפשטות המחלות בזמן ובמרחב.

האתגר במחקר כזה הוא בהטרוגניות הרבה של המערכות החקלאיות בזמן ובמרחב. המערכת החקלאית מורכבת מסוגים שונים של גידולים ומחזורי גידולים, כאשר כל חלקה מנוהלת על פי ממשק המיוחד לה ולצד שטחים פתוחים ובנויים (איור 1).



איור 1. דוגמאות לנף חקלאי המורכב מגידולי שדה, מטעים וחממות, לצד שטחים בנויים ואזורים טבעיים. א' תמונה מרחפן באזור בקעת הנדיב, ב' תצלום ממטוס (אורטופוטו) באזור בקעת הנדיב.

האופי הדינמי-מרחבי של התהליכים האפידמיולוגיים מציב אתגר ייחודי למחקר ולדרך ניהול התפשטות הפגעים בסביבה החקלאית ובסביבה הטבעית הסמוכה, א' במערכות אלה מתקיימות אינטראקציות מגוונות ביוטיות ואביוטיות, שלא כולן ידועות, ומעורבים בהן משתנים סביבתיים רבים, שההשפעות שלהם אינם בהכרח לינאריות (Meentemeyer et al., 2012; ב' האופי ההטרוגני של המשתנים הביוטיים והאביוטיים המניעים את הדינמיקה של הפגעים קשה למדידה ולכימות וכולל מגוון של סקאלות מרחביות (Levin, 1992). בגלל הבעייתיות הקיימת בחקר המערכת

הביולוגית הכוללת, ההתמודדות עם פגעים מתבצעת בעיקר ברמת החלקה הבודדת ויש מספר קטן של מקרים בהם ממשק הדברה מיושם בקנה מידה אזורי.

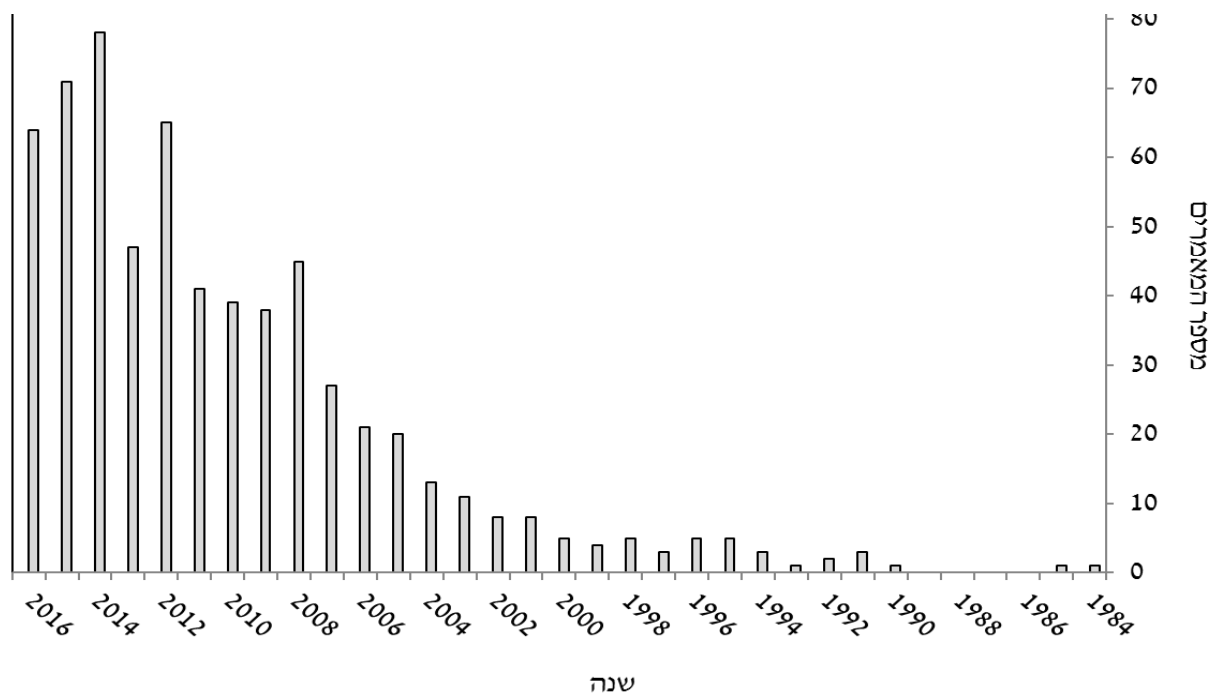
השפעות הנוף

אפידמיולוגיה של הנוף

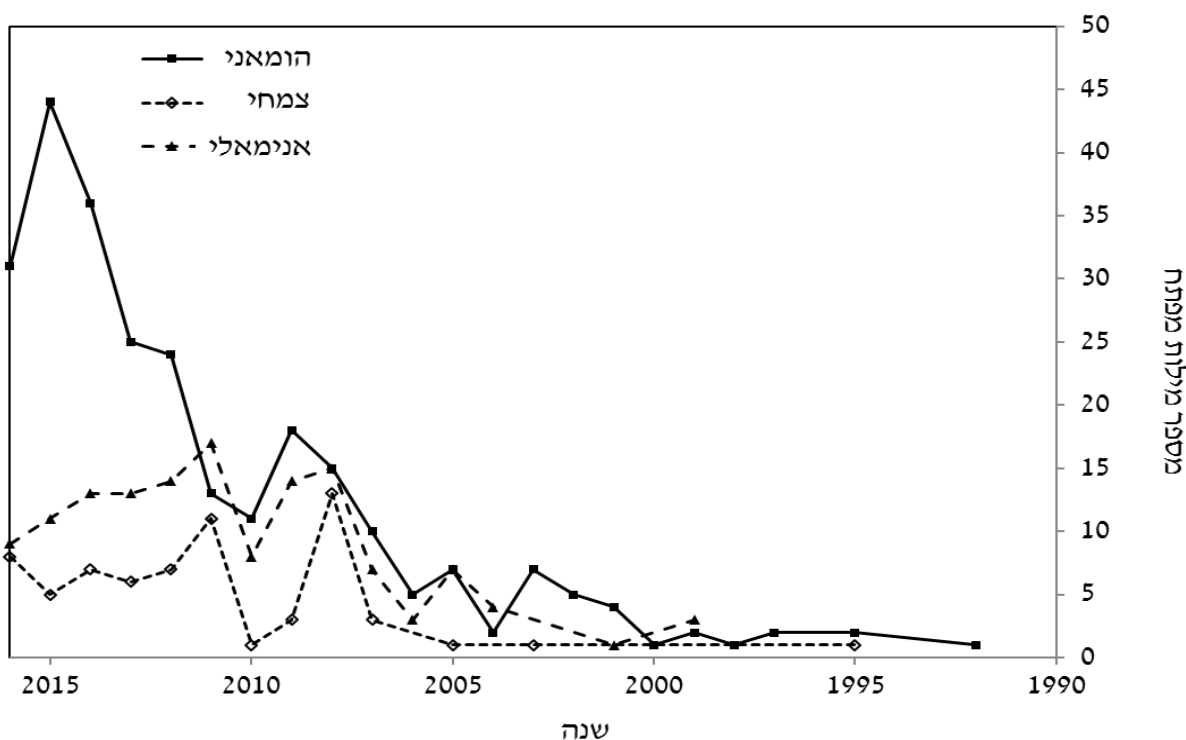
לפתוגנים מגוון של צורות הפצה. בחלק מצורות ההדבקה מעבר הפתוגן מפרט נגוע לפרטים לא נגועים סמוכים מחייב מגע ישיר ביניהם. באחרים המעבר אינו ישיר ומתווך לדוגמא על ידי רוח (למשל כימסון בתפוחי אדמה) או נתזי מים (למשל אסקוכיטה בחמצה) ויש פתוגנים שהמעבר שלהם מתווך על ידי ווקטור (לדוגמא- החיידק *Xylella fastidiosa* המועבר על ידי החרק *Philaenus spumarius*, ראו פרק חיידקי שיפה). לרוב, ההסתברות להדבקה קטנה באופן ניכר ככל שהמרחק מהפרט הנגוע גדל. כתוצאה מכך, משתנים המשפיעים על מיקום הפתוגן, הפונדקאי והווקטור חשובים להבנת הדינמיקה המרחבית והעתית של התהליך האפידמיולוגי.

תחום המחקר הנקרא "אקולוגיה של הנוף" החל להתפתח בשנות ה-80 של המאה הקודמת בניסיון למצוא את הקשר בין תהליכים אקולוגיים כמו הפצה, למבנה והרכב הנוף בקנה מידה גדול (Turner, 2005). במקביל להתפתחות תחום מחקר זה, התפתח תחום משיק הנקרא "אפידמיולוגיה של הנוף" המשלב רעיונות ומתודולוגיות מתחום האקולוגיה הנופית עם תהליכים אפידמיולוגיים (Ostfeld et al., 2005). תחום מחקר זה מתמקד בהבנת הגורמים והתוצאות של מבנה הנוף על מחלות (Ostfeld et al., 2005; Reisen, 2010). ראשיתו של תחום המחקר של האפידמיולוגיה הנופית מיוחס לאיוון פבלובסקי (Pavlovsky, 1966), שעוד בשנות ה-30 של המאה הקודמת טווה את המונח "אפידמיולוגיה נופית". אבל התחום התפתח באופן משמעותי רק מספר עשורים אחרי כן (איור 2) בין השאר בזכות ההתפתחות שחלה במערכות מידע גיאוגרפיות (GIS), מערכות מיקום (GPS), חישה מרחוק ומערכות חישוביות מתקדמות שאפשרו מחקר של תהליכים בקנה מידה גדול ושילוב של נתונים ומשתנים רבים. ההתפתחות בתחום מבוססת על תצפיות לפיהן מחלות נוטות להיות מוגבלות בתפוצתן הגיאוגרפית. השונות המרחבית הרבה בתפוצת מחלות נובעת מהטרוגניות בסביבה ובתנאים הביולוגיים התומכים בפתוגן. תחום המחקר של האפידמיולוגיה המרחבית גורס כי הבנת הקשר בין תפוצת הפתוגן והתנאים הביולוגיים והא-ביולוגיים יכולה לעזור בחיזוי של סיכון התפשטות הפתוגן (Meentemeyer et al., 2012).

מספר המאמרים המוקדשים לבחינת ההשפעה של הנוף על מחלות הומניות גדל במהירות (איור 3). עבור מערכות צמחיות התחום עדיין נמצא בראשיתו. ככל הנראה הסיבות לכך נובעות מהקושי של איסוף נתונים בשטחים גדולים שהוא מסובך ויקר והעובדה שמרחב חקלאי מורכב בדרך כלל ממספר גדול של מגדלים שנכונותם לשתף פעולה עם מחקרים כאלו הוא פעמים רבות נמוך. יתכן וזה נובע מהתפיסה המסורתית שניהול פגעים במערכות חקלאיות נעשה כתלות במה שקורה בחלקה עצמה, ללא השפעות אפשריות של הסביבה הקרובה והרחוקה (Plantegenest et al., 2007) וגם מהעדר של טכנולוגיות נגישות לאיסוף ושיתוף מידע. אפשרות של שיתוף מידע גם מעלה חששות של פגיעה בפרטיות בקרב מגדלים (Coble et al., 2016).



איור 2. השינוי השנתי במספר הפרסומים העוסקים באפידמיולוגיה מרחבית.

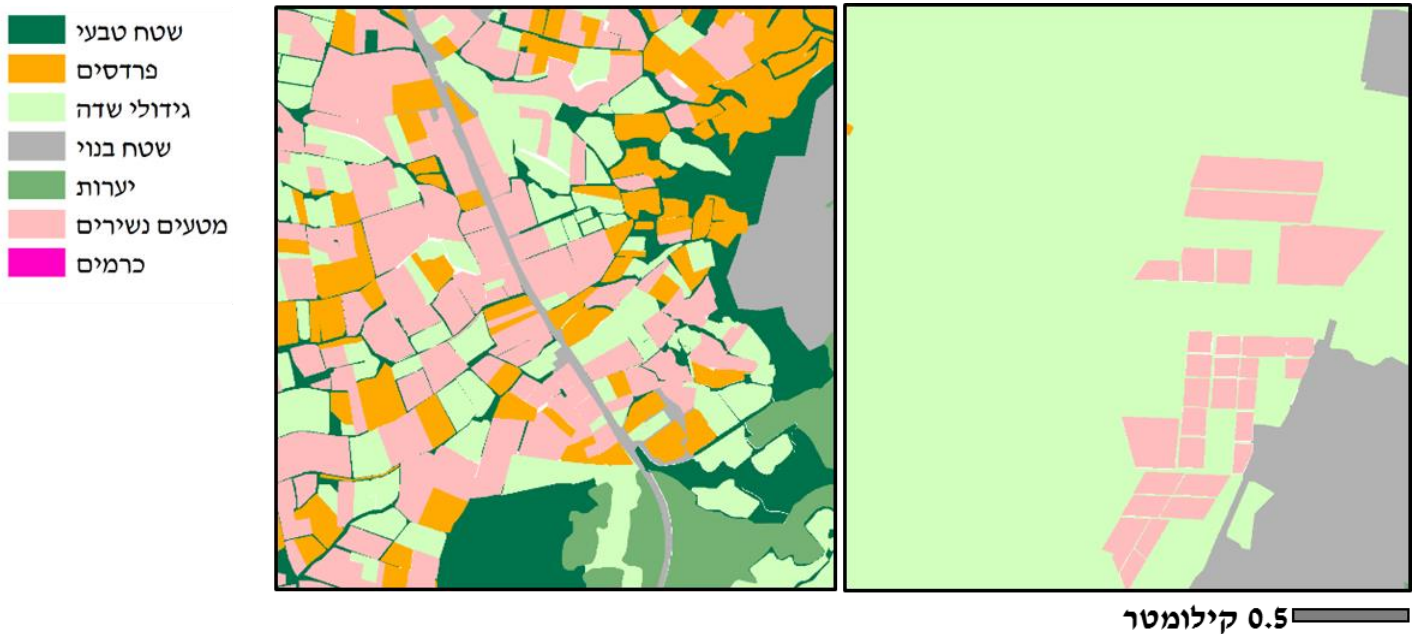


איור 3. המגמות בזמן של מילות מפתח במאמרים העוסקים באפידמיולוגיה מרחבית בחלוקה לאפידמיולוגיה הומנית, אנימלית ובצמחים.

השפעת מרכיבי הנוף על דינמיקה של מחלות

הרכב הנוף מתייחס לחלק היחסי אותו תופסים מרכיבים שונים בנוף (לדוגמא- אחוז השטח הבנוי או החקלאי) (איור 4). ההרכב הנופי עשוי להכיל פונדקאים שונים של הפתוגן ובכך להשפיע על השפעת של מקור המדבק ובכך להשפיע על ההסתברות שהגידול החקלאי יפגע, תופעה המכונה לעיתים מקור-מבלע (Source-sink). לדוגמא, במחקר של

Hemileia vastatrix הגורם לחלדון הקפה נמצא שחלקות הנמצאות באזורים בהם יש כיסוי נרחב של מטעי קפה, רמת הנגיעות בחילדון גדולה מזו של אזורים בהם יש מעט מטעי קפה (Avelino et al., 2012). דוגמא נוספת היא של הפתוגן *Plenodomus tracheiphilus* הגורם למחלת קימלון (מל סקו) בלימון. נמצא שככל שפרדסי הלימון קרובים יותר לישובים, כך גדלה רמת הנגיעות במחלה (Ben-Hamo et al., 2020). החוקרים שיערו שעצי לימון הגדלים בישובים, שאינם מטופלים כנגד גורם המחלה, מהווים מקור מדבק לפרדסים הסמוכים. החוקרים סייגו מסקנה זו וציינו שייתכן והקשר שנמצא נובע משינוי במשטר הריסוסים בפרדסים הנמצאים בסמוך לישובים בהשוואה לפרדסים מרוחקים.



איור 4. שתי דוגמאות של נופים בעלי הרכב שימושי קרקע שונה. מימין, דוגמא לנוף בו ההטרורגניות נמוכה ושבו גידולי שדה מהווים את עיקר השטח. משמאל, דוגמא לנוף הטרורגני הכולל מספר שימושי קרקע, בעיקר מטעים ופרדסים. מתוך (Chakuki, 2019).

פונדקאים הנמצאים מחוץ לחלקות הגידול, הן בשטח טבעי והן בחלקות חקלאיות סמוכות, יכולים לשמש כמקום מפלט (Refuge) בזמנים בהם פונדקאים שונים אינם זמינים (לדוגמא, כאשר היבול נקטף במטעים מסוג אחד אך לא בסוג אחר) או כאשר התנאים בהם אינם מאפשרים את התפתחות הפתוגן או הוקטור. בנוסף, עבור heteroecious pathogens (לדוגמא, חילדון מהסוג *Gymnosporangium* בעצי Cedar-apple) או חילדון קנה-החיטה *Puccinia graminis*) או עבור וקטורים שונים הזקוקים ליותר מפונדקאי אחד להשלמת מחזור החיים, נוף הטרורגני, המכיל מספר פונדקאים, עשוי להיות הכרחי.

הדינמיקה של מחלות מושפעת לא רק על ידי גורמים המגבילים את פיזור הפתוגנים הקשורים לנוף ברמת הפסיפס והמבנים הגיאוגרפיים, אלא גם על ידי ההשפעות של גורמים הקשורים לאתר, המשפיעים באופן ישיר על פתוגנים או על רגישות הפונדקאי. לדוגמא, Manter et al. (2003) מצאו שבמדרונות דרומיים התפתחו יותר תסמיני needle cast הנגרמים על ידי *Phaeocryptopus gäumannii* בעצי אשוח דאגלס במערב ארצות הברית מאשר במדרונות הפונים לכיוונים אחרים. Blank et al. (2019) דיווחו שמידת האילוח של יערות אורן בפטרייה *Fusarium*

circinatum הגורמת כיבים בענפים בחבל קנטבריה בצפון ספרד, יורדת ככל שהיער רחוק יותר מהים ובדומה, צומח טבעי מאולח יותר בפטרייה *Podosphaera plantaginis* הגורמת את קימחון הפנטגו בסמוך לאזור החוף (Laine and Hanski, 2006). בשני המקרים ההשערה הייתה שתנאי הסביבה באזורים הסמוכים לים (לחות, טמפרטורה, משקעים ורוח) טובים יותר להתפתחות פתוגנים אלו.

קישוריות

התבססות של פתוגן צמחי תלויה במגוון של גורמים, ביניהם יכולת ההפצה של הפתוגן, שהיא מהגורמים המרכזיים המשפיעים על התפתחותו (Fitt et al., 2006). קישוריות נופית (Landscape connectivity) מוכרת כגורם חשוב בהתפשטות גורמי מחלה וככל שהקישוריות הנופית גדלה, כתוצאה מפעולות אנתרופוגניות (התרחבות ישובים, סלילת כבישים ועוד), כך חשיבותה בהבנת תהליכים אפידמיולוגיים גדלה. הקטנת הקישוריות בין אזורים במרחב יכולה להפחית את הנגיעות במחלות.

במחקר על התפשטות האומויצט *Phytophthora ramorum* בנוף הטרוגני בצפון קליפורניה, נמצא שהאומויצט שנע באופן פסיבי בנתזי מים ברוח מושפע ממידת הקיטוע של הנוף, זאת, למרות שחומרת המחלה בכל אתר הושפעה יותר מתנאי הסביבה המקומיים (Ellis et al., 2010). במחקר אחר נמצא שהעליה בנטיעת יערות לצורכי תעשייה הובילה לעליה בכיסוי של מיני אורן שונים בדרום-מערב ארה"ב והובילה לירידה בקיטוע של יערות לעומת התקופה שלפני ההתיישבות האירופאית באמריקה. שינויים אלה גרמו לעליה בהתפשטות של חילדון, Fusiform rust (Perkins and Matlack, 2002). לעיתים התפשטות של מחלות על ידי הגברת הקישוריות נובעת מגורמים אנתרופוגניים. לדוגמא, נמצא כי עליה בקישוריות הנגרמת על ידי בוץ וחומר אורגני המועברים על ידי רכבים על כבישים עשויה להעלות את ההתפשטות של *Phytophthora lateralis* (Jules et al., 2002). מחקרים נוספים הראו שכבישים משמשים כמסדרונות הפצה לפתוגנים, לדוגמא נוכחות גורם הקימחון *P. plantaginis*, שהוזכר לעיל, נמצאת בקשר ישר לקרבה לכבישים (Laine and Hanski, 2006).

סקלה מרחבית

אתגר מרכזי במחקר של מחלות בצמחים נובע מהעובדה שמקור רוב הידע בנושא דינמיקה של מחלות הוא בקשר בין פונדקאי-פתוגן-סביבה בסקאלה מרחבית מצומצמת המייצגת לרוב חלקה חקלאית. אבל, תהליכים אפידמיולוגיים מתרחשים פעמים רבות בקנה מידה רחב יותר בדומה לתהליכים אקולוגיים (Blank et al., 2013; Blank and Blaustein, 2014), תהליכים אפידמיולוגיים אינם מתרחשים בסקאלה בודדת בגלל שמינים חווים את הסביבה בהתאם להיסטוריית החיים שלהם (למשל, מנגנון ההפצה), מגוון ותפוצת הפונדקאים והמאפיינים האביוטיים של הסביבה. כאשר בוחנים תפוצה של פתוגן בסקאלה נופית, פעמים רבות התפוצה אינה אחידה במרחב וקיימים אזורים בהם רמת הנגיעות גבוהה יותר מאשר באזורים אחרים. לדוגמא, מחקרים הראו שרמת הנגיעות במחלות שונות עשויה להשתנות כתלות, לדוגמא, בקרבה לים (Blank et al., 2019, Laine and Hanski, 2006), לכבישים (Laine and Hanski, 2006) או לישושים (Ben-Hamo et al., 2020). תתכן גם התקבצות של המחלה באזורים מסוימים כתלות בממשק החקלאי שמיישם כל חקלאי (Blank et al., 2016) או כתלות בגורמי סביבה כמו סוג הקרקע (Mas and Verdú, 2018; Williams et al., 2009). אך גם כאשר בוחנים תפוצה של פתוגן בסקאלה של החלקה הבודדת, מתברר במקרים רבים שהתפוצה אינה אקראית אלא נוטה להתקבץ (Madden and Hughes, 1995).

הבחירה באיזו סקלה מרחבית לבחון תפוצת מחלות תלויה בהבנת האפידמיולוגיה של כל פתוגן (לדוגמה - הפצה באוויר או הפצה בנתזי מים) ובמטרות המחקר. שאלות מחקר בקנה מידה של עשרות אלפי קילומטרים, יבחנו למשל את ההשפעה של פתוגנים על האקוסיסטמה (לדוגמה - השפעת פתוגן על המבנה והדינמיקה של יער, Garnas, 2011). בקנה מידה קטן יותר של עשרות עד מאות קילומטרים תעלנה שאלות הבוחנות את ההשפעה של תפוצת הפונדקאי על התפשטות הפתוגן (Kauffman, 2006). למעשה, מחקרים מוגבלים בזמן ובמשאבים מכתיבים בדרך כלל את סקאלות המרחב והזמן שאינם בהכרח מתאימים לבחינת התהליך האפידמיולוגי.

מיפוי סיכונים

אפידמיולוגיה של הנוף משלבת מידע ממספר מקורות ומודלים (סטטיסטיים ומתמטיים) כאשר המטרה היא להבין טוב יותר ולחזות תהליכים אפידמיולוגיים. לחלק מהמודלים מאפיינים של חיזוי תפוצה גיאוגרפית של פתוגנים (מודלים סטטיים) (Blank et al., 2019; Papaix et al., 2015) בעוד אחרים בוחנים את הדינמיקה בזמן ובמרחב של התקדמות התהליך האפידמיולוגי (מודלים דינמיים) (Meentemeyer et al., 2012). במחקר שבחן את השימוש בשני הסוגים של מידול מחלות, נמצא ש - 74% מהמחקרים בתחום השתמשו במודלים סטטיים ולא דינמיים (Meentemeyer et al., 2012).

מודלים סטטיים

בקרת מחלות בקנה מידה נופי על ידי פיתוח יכולות חיזוי והערכת סיכונים הופך להיות מטרה חשובה ויישומית ככל שהמידע הגיאוגרפי, הסביבתי והאקלימי הופך להיות זמין ומדויק יותר (Ostfeld et al., 2005). כאשר המטרה היא חיזוי התפתחות של מחלות, נדרשים לרוב מודלים מורכבים הכוללים התייחסות למרכיבים שונים של הסביבה, האקלים והביולוגיה של הפתוגן כדי לספק תוצר ברמת דיוק גבוהה. כדי לשלב את המגוון הרב של המשתנים המקומיים (לדוגמה - ממשק הדברה ודישון), האקלימיים (לדוגמה - טמפרטורות ומשקעים), הטופוגרפיים (לדוגמה - מפנה ושיפוע מדרון), הנופיים (לדוגמה - אחוז השטח החקלאי בנוף או הקרבה לישובים) יש להשתמש במודלים סטטיסטיים רבי משתנים (לדוגמה - Generalized Linear Models או Generalized Linear Mixed models) (Ben-Hamo et al., 2020;) (Blank et al., 2016, 2019).

מודלים דינמיים

מודלים אלו כוללים מודלים מתמטיים המשלבים מורכבות עתית ומרחבית לכימות דינמיקה של אוכלוסיות ויכולים לעזור בתכנון ניהול מושכל יותר של המחלות. אך קיים אתגר גדול בשילוב מידע גיאוגרפי במודלים אפידמיולוגיים דינמיים. הבעיה העיקרית היא באיסוף מידע אמין ואיכותי על נוכחות מחלות במרחב גדול שכולל בעלי עניין (stakeholders) רבים. בנוסף, היכולת לבצע ניסויים בפתוגנים בקנה מידה גדול בחלקות מסחריות מוגבלת ביותר בגלל חשש לפגיעה ביבול. אתגרים אלו תורמים לכך שלרוב מידע המשמש לפיתוח מודלים מבוסס על סימולציות או מידע שיוצר באופן מלאכותי ולא על מידע מחלקות מסחריות. Skelsey et al. (2009) פיתח מודל לחיזוי הדינמיקה בזמן ובמרחב של מחלת הכימשון הנגרמת על ידי מנבגי *Phytophthora infestans*. Firester et al. (2018) בחן את הדינמיקה בזמן ובמרחב של כימשון תוך התבססות על נתוני ניטור בחלקות מסחריות ופיתח מודל מתמטי המאפשר להעריך את הסיכון להתפרצות המחלה בכל נקודה במרחב תוך התבססות על נתוני אקלים (לחות יחסית וכיוון הרוח) והבנת האפידמיולוגיה של הפתוגן. מחקרים אלו מאפשרים לנהל את ממשק ההדברה כנגד הפתוגן תוך הערכת סיכונים מרחבית באופן שלא

קיים כיום עבור מחלה זו. כיום, כדי למנוע את התפתחות המחלה והנזק, חלקות תפוחי אדמה מרוססות בתדירות גבוהה, לרוב פעם אחת מידי שבוע, בתכשירי הדברה כימיים.

מקורות

- Avelino J., Romero-Gurdián A., Cruz-Cuellar H. F. and Declerck F. A. (2012) Landscape context and scale differentially impact coffee leaf rust, coffee berry borer, and coffee root-knot nematodes. *Ecology Applications* 22: 584–596.
- Ben-Hamo M., Ezra D, Krasnov H, Blank L (In press) Spatial and temporal dynamics of Mal Secco disease spread in lemon orchards in Israel. *Phytopathology*
- Blank, L. and Blaustein L. (2014) A multi-scale analysis of breeding site characteristics of the endangered fire salamander (*Salamandra atra*) at its extreme southern range limit. *Hydrobiologia* 726: 229–244.
- Blank L., Cohen Y., Borenstein M., Shulhani R., Lofthouse M., Sofer M. and Shtienberg D. (2016) Variables associated with severity of bacterial canker and wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouses. *Phytopathology* 106: 254–261.
- Blank L., Linker R. and Carmel Y. (2013) A multiscale analysis of herbaceous species richness in a Mediterranean ecosystem. *Journal of Plant Ecology* 6: 113–121.
- Blank L., Martín-García J., Bezos D., Vettrano A. M., Krasnov H., Lomba J. M., Fernández M. and Díez J. J. (2019) Factors affecting the distribution of pine pitch canker in Northern Spain. *Forests* 10: 305.
- Chakuki D. (2019) Multiple spatial and temporal scales analyses of two noxious species in vineyards – A case study from the Mediterranean area of Israel. MSc Thesis. Tel-Aviv, Israel: Tel-Aviv University.
- Coble K., Griffin T., Ahearn M., Ferrell S., McFadden J., Sonka S., Fulton J., et al (2016) Advancing US Agricultural Competitiveness with Big Data and Agricultural Economic Market Information, Analysis, and Research. Council on Food, Agricultural, and Resource Economics (C-FARE)
- Ellis A. M., Václavík T. and Meentemeyer R. K. (2010) When is connectivity important? A case study of the spatial pattern of sudden oak death. *Oikos* 119: 485–493.
- Firester B., Shtienberg D. and Blank L. (2018) Modeling the spatio-temporal dynamics of *Phytophthora infestans* at a regional scale. *Plant Pathology* 67: 1552–1561.
- Fitt B. D., McCartney H. A. and West J. S. (2006) Dispersal of foliar plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. in *The epidemiology of Plant Diseases*. Springer Pp. 159–192.
- Jules E. S., Kauffman M. J., Ritts W. D. and Carroll A. L. (2002) Spread of an invasive pathogen over a variable landscape: A nonnative root rot on Port Orford cedar. *Ecology* 83: 3167–3181.
- Laine A.-L. and Hanski I. (2006) Large-scale spatial dynamics of a specialist plant pathogen in a fragmented landscape. *Journal of Ecology* 94: 217–226.

- Levin S. A. (1992) The problem of pattern and scale in ecology: The Robert H. MacArthur award lecture. *Ecology* 73: 1943–1967.
- Madden L. V. and Hughes G. (1995) Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 529–564.
- Manter D. K., Winton L. M., Filip G. M. and Stone J. K. (2003) Assessment of Swiss needle cast disease: Temporal and spatial investigations of fungal colonization and symptom severity. *Journal of Phytopathology* 151: 344–351.
- Mas M.T. and Verdú A. M. (2018) Soil spatial distribution in a smut fungus-annual grass interaction: Exploring patterns to understand disease dynamics at plot scale. *Fungal Ecology* 33: 40–51.
- Meentemeyer R. K., Haas S. E. and Václavík T. (2012) Landscape epidemiology of emerging infectious diseases in natural and human-altered ecosystems. *Annual Review of Phytopathology* 50: 379–402.
- Ostfeld R. S., Glass G. E. and Keesing F. (2005) Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends in Ecology and Evolution* 20: 328–336.
- Papaix J., Burdon J. J., Zhan J. and Thrall P. H. (2015) Crop pathogen emergence and evolution in agro-ecological landscapes. *Evolutionary Applications* 8: 385–402.
- Pavlovsky E. N. (1966) *Natural Nidality of Transmissible Diseases with special reference to the Landscape Epidemiology of Zoonoses*. USA: University of Illinois Press
- Perkins T. E. and Matlack G. R. (2002) Human-generated pattern in commercial forests of southern Mississippi and consequences for the spread of pests and pathogens. *Forest Ecology and Management* 157: 143–154.
- Plantegenest M., Le May C. and Fabre F. (2007) Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of the Royal Society Interface* 4: 963–972.
- Reisen W. K. (2010) Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annual Review of Entomology* 55: 461–483.
- Skelsey P., Kessel G. J. T., Rossing W. A. H. and Van der Werf W. (2009) Parameterization and evaluation of a spatiotemporal model of the potato late blight pathosystem. *Phytopathology* 99: 290–300.
- Turner MG (2005) Landscape ecology: what is the state of the science? *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 36: 319–344.
- Williams N., Hardy G. S. J. and O'Brien P. A. (2009) Analysis of the distribution of *Phytophthora cinnamomi* in soil at a disease site in Western Australia using nested PCR. *Forest Pathology* 39: 95–109.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 15: השפעת שינויי אקלים על מחלות צמחים

יגאל אלעד וליאור בלנק

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

שינויי אקלים המתהווים בעולם ישפיעו על מערכות ביולוגיות כגון אלה בהן מעורבים צמחים וגורמי מחלה. בעשורים הקרובים צפויים שינויים במשתני אקלים שונים ובהם טמפרטורות יום ולילה, משכי טל וכמויות, גרעון בלחץ אדים, כמויות משקעים ופיזורם העונתי, תפרוסת ארועי הגשם ועוצמתם, עצמת רוחות, אירועי קיצון כשיטפונות, חום, קור ויובש קיצוניים, ריכוז הפחמן הדו חמצני באוויר ורמת האוזון עשויים להשפיע ישירות או בעקיפין על הפתוגנים כמו גם על גידול ופזיולוגיה של צמחים, על רגישותם למחלות ועל ההדבקה שלהם על ידי פתוגנים. עקת מליחות וזמינות מים לצמח, שינויים בממשקי השקיה והזנת צמחים, הידלדלות קרקעות אף להם פוטנציאל להשפיע על רגישות הצמחים. צפוי ששינויי האקלים יביאו לשינויים בחומרת מחלות, מגוון הגידולים אותן הן תוקפות, פיזור גיאוגרפי שלהן ועל ההתמודדות מקומית ואזורית איתן. אכן, בכמה מחקרים בהם נעשה שימוש במודלים לחיזוי אקלים ומודלים של גידול ופתוגן הביאו לחיזוי תופעות אלה במספר מערכות צמח-פתוגן. בדרך כלל מדווחת בספרות תחזית להחמרה בחומרת מחלות, הקדמה במועד תחילתן והרחבת התפשטותן, אך גם פחיתה בחומרת מגפות באזורים שונים נצפתה במחקרים תיאורטיים.

אופן הציטוט: אלעד י' ובלנק ל' (2021) **השפעת שינויי אקלים על מחלות צמחים**. פרק 15, ע' 237-252 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51910>

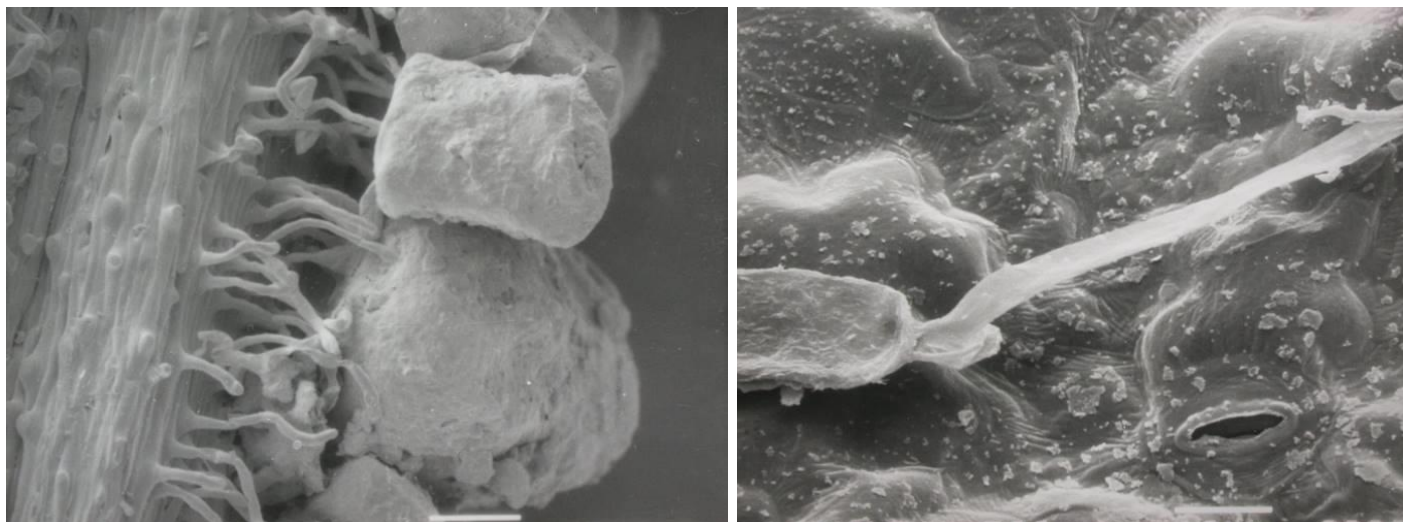


מבוא

השירות המטאורולוגי דיווח שהטמפרטורה הממוצעת בישראל עלתה בכ-1.4 מ"צ מ-1950 ועד 2017. לפי מודלים אקלימיים מקובלים הטמפרטורה הממוצעת צפויה לעלות עוד בכמ"צ אחת עד 2050. מ 1950 חלה עלייה במספר הימים והלילות החמים, במיוחד בקיץ, וירידה במספר הימים והלילות הקרים ומגמה זו צפויה להימשך. כמות המשקעים הכללית בישראל פחתה במקצת בשלושים השנים האחרונות, בעיקר בצפון מזרח (אגן ניקוז של הכנרת), ועל פי תחזיות המודלים לסוף המאה ה-21 היא תפחת בשיעור ממוצע של בין 15 ל 25% ביחס לתקופה 1961-1990 (יוסף וחוב', 2019).

מחלות צמחים הן תוצאתן של האנטראקציה בין גורם מחלה וירולנטי, רקמה צמחית רגישה לפתוגן והסביבה הביולוגית והא-ביוטית של הצמחים. שינויי האקלים הינם בעלי פוטנציאל השפעה על הצמח, הפתוגן ועל המיקרוביום שמסביבו וכן על האינטראקציה בין גורמים אלו (Elad and Pertot, 2014). [מיקרואורגניזמים על גבי שורש ועלה

מודגמים באיור 1]. מבין התנאים שמשתנים בתחום האקלים ואשר להם פוטנציאל השפעה על הגורמים המעורבים בקיומן של מחלות צמחים נמנים שינויים בטמפרטורות יום ולילה, משכי ארועי טל וכמות הטל, שינויים בלחץ אדים (לחות יחסית), כמויות משקעים ופיזורם העונתי, תפרוסת סופות ועוצמתן, עצמת רוחות, אירועי קיצון כשיטפונות, חום, קור ויובש קיצוניים (Chakraborty, 2005; Eastburn et al., 2011).



איור 1. תמונות מיקרוסקופ אלקטרוני סורק של מיקרואורגניזמים על פני צמחים. נבג לבילולה (קמחונית) וקור מצומקים ומיקרואורגניזמים שונים על פני עלה פלפל (ימין למעלה), יונקות, שורש מלפפון ומיקרואורגניזמים (שמאל למעלה) וקורים ונבגי פטרייה (טריכודרמה) בצד חיידקים על גבי שורש מלפפון (למטה).

ריכוז הפחמן הדו חמצני באוויר ורמת האוזון השתנו אף הם מאז המהפכה התעשייתית (Adarose et al., 1991;) (Amthor, 1995). מבין השינויים הלא ישירים בצמחים ובסביבתם אשר עשויים להשפיע על רגישות צמחים ועל ההדבקה שלהם על ידי פתוגנים ניתן למנות עקת מליחות וזמינות מים לצמח, שינויים בממשקי השקיה והזנת צמחים, הידלדלות קרקעות, שינויים פיזיולוגיים בצמחים, שינויים במאזנים הורמונליים, תהליכי התעוררות פקעים, פריחה, חנטה והבשלה של פירות, שינויים בנוף הצמחים כתוצאה מעלייה בריכוז פחמן דו חמצני. השינויים המוזכרים הינם בעלי פוטנציאל השפעה רב על חומרת מחלות, מגוון הגידולים אותן הן תוקפות, פיזור גיאוגרפי של מחלות הצמחים ועל ההתמודדות מקומית ואזורית איתן.

השפעת שינוי אקלים על גורמי מחלות צמחים

בקנה מידה רחב

התפוצה של פתוגנים תלויה בתפוצת הפונדקאי, בממשק ניהול המזיקים, בתפוצת הוקטור (אם הם נחוצים להפצת הפתוגן) ובתנאי הסביבה. מניחים שעם עליית הטמפרטורות אזורי התפוצה של גורמי מחלות ישתנו ויכללו שטחים גאוגרפיים חדשים אשר בהם הם יתקלו בפונדקאים פוטנציאליים חדשים (Baker et al., 2000). לדוגמא, מודלים אקלימיים חוזים צמצום במספר ימי הקיפאון באזורים צפוניים ובכך, לדוגמא, היכולת של מחלות לשרוד את החורף תשתפר (Karl and Trenberth 2003). התפשטות של פתוגנים לאזורים חדשים יכולה גם לנבוע משינוי בתפוצה של הצמחים הפונדקאים או מהתפשטות של וקטורים. צמח שפולש לאזור חדש יכול להוות קרש קפיצה לפתוגנים שעשויים למצוא בגידולים חקלאיים שונים פונדקאיים מתאימים, לדוגמא העשב קודזו (*Pueraria lobata*) שמהווה פונדקאי של חלדון הסויה (*Phakopsora pachyrhizi*) (Li et al., 2010).

שלבי גידול של גורמי מחלה כגון יצור נבגים ונביטתם, קצב גידול קורים וגורמי פתוגנים המופעלים על ידי גורמי המחלה מושפעים מטמפרטורה, לחות יחסית ורטיבות (Colhoun, 1973). תקופות ממושכות יותר בטווח המיטבי של תנאי מיקרואקלים מעודדים את התפתחות הפתוגנים ואת התפתחות המגפות שהם גורמים (Agrios, 2005). הישרדות גורמי מחלה בהעדר צמח מאחסן בקיץ או בחורף מושפעת מטמפרטורה ולחות יחסית. נראה שבאזורים טרופיים שינויי האקלים יפגעו בהישרדותם של פתוגנים בגלל האדפטציה הגבוהה שלהם לתנאים הקיימים (Ghini et al., 2011a) אך באזורים אחרים בהם תנודות המיקרואקלים משמעותיות יותר נראה ששינויי האקלים יגבירו את תאימותם של הפתוגנים לתנאים החדשים (Deutsch et al., 2008).

בקנה מידה מקומי

תנאי מיקרואקלים כגון רטיבות וטמפרטורה משפיעים בזמנים על גורמי מחלה. לדוגמא, עם פחיתת הרטיבות, לכאורה הייתה צריכה לפחות חומרת כשותית הגפן בצפון מערב איטליה אבל עליית הטמפרטורה מפצה על כך והתחזית הינה להחמרה במחלה זאת עם ההתחממות הגלובלית וזאת מפני שמגפות יתחילו מוקדם יותר באביב (Salinari et al., 2006). תופעת הפיצוי בין גורמים המשפיעים על מגפה הוצעה לפני שנים רבות על ידי רותם במחלקה לפתולוגיה של צמחים (Rotem, 1978). מגפות של פתוגנים פוליציקלים מושפעות ממספר הדורות בתקופה נתונה. ככל שעונות גידול יהיו ממושכות יותר כתוצאה מההתחממות הגלובלית כן יתארך הזמן לצורך התרבות הפתוגן והפצתו וליצירת דורות נוספים בדרכי ריבוי אל מיניות ומיניות וזאת בשעה שצמחי הגידול עצמו לא משתנים במספר מחזורי ההתפתחות שלהם (Caffarra et al., 2012; Davis et al., 2005).

השפעת האקלים על הצמח המאחסן ועל האינטראקציה עם הפתוגנים

טמפרטורה ורטיבות

צמחים מגיבים לשינויי אקלים בשינוי פרופיל ביטוי הגנום שלהם וכתוצאה מהאנטראקציה בין גורמים פסיולוגים שונים האחראים על התפתחותם ותהליכים חיוניים ברקמותיהם, על הפנולוגיה שלהם ובכלל זה ההזדקנות של רקמות, תכולת סוכרים, עמילן ופולימרים אחרים, ריכוזי חנקן ופנולים, ביומסת שורש ונוף, מספר עלים, שטחם וצפיפותם, כמות השעווה והרכבה, צפיפות פיוניות והפרשות שורשים ובין היתר גם על רגישותם לגורמי מחלה. רגישות להדבקת פתוגנים והתבססותם ברקמה יכולה להשתנות עם השינויים בגורמים אלה (Colhoun, 1973). רטיבות וטמפרטורה יכולות להשפיע על רגישות צמחים (McElrone et al., 2003). בדומה עקת יובש יכולה אף היא להשפיע על רגישות

למחלות, להפחית נגיעות במחלות המועברות בקרקע בגלל הגבלת גידול שורשים (Huisman, 1982) או להגביר את הרגישות (Schoeneweiss, 1975) וזאת על ידי השפעה על רמת החומצה האבסיסית שכשלעצמה משפיעה על תגובת הגנה בה מעורבים חומצות סליצילית וג'סמונית או אתילן (Asselbergh et al., 2008).

פחמן דו חמצני ואוזון

בריכוזי פחמן דו חמצני גבוהים משתנה פעילות פסיולוגית של הצמח וכן הארכיטקטורה של הצמח. אברי צמח נעשים גדולים יותר מוגברים הפוטוסינתזה, שטח העלים, גובה הצמחים והביומסה שלהם (Eastburn et al., 2011; Pritchard et al., 1999). כתוצאה האוויר בין אברי הצמח פחות ובתנאי לחות יחסית ורטיבות מוגברים על פני אברי הצמח יתפתחו פתוגנים מוגברי-לחות ביתר עצמה ונמצא ש'פוריות' פתוגן הייתה גבוהה לאחר חשיפה חוזרת לרמה גבוהה של פחמן דו חמצני (Chakraborty and Datta, 2003). מאידך פחמן דו חמצני עשוי להשפיע על עמידות צמחים בבדיקה של מספר מערכות צמח-פתוגן באשר להשפעת פחמן דו חמצני בריכוז גבוה דווחה עלייה בחומרת מחלה בשש מתוך עשר מערכות בהן מעורבים פתוגנים ביוטרופים ופחיתתה בחומרת מחלה בארבע מערכות אחרות. בתשע מתוך 15 מערכות שנסקרו עם פטריות נקרטרופיות עלתה חומרת המחלה, בארבע מערכות פחתה החומרה ולא השתנתה חומרת המחלה בשתיים מהן (Chakraborty et al., 2000b).

נלמדה השפעה של פחמן דו חמצני על שלוש מחלות בסויה: כתם חום (*Septoria glycines*), כשותית (*Peronospora manshurica*) ונבילה פתאומית (*Fusarium virguliforme*). התגובה לרמת פחמן דו חמצני מוגברת הייתה שונה בין המחלות: כשותית הופחתה, מחלת כתם חום הוגברה במעט ונבילה פתאומית לא הושפעה כלל; בשני המקרים הראשונים נמצאה תרומה גם לשילוב פחמן דו חמצני עם אוזון ברמה מוגברת (Eastburn et al., 2010). חלדון בצפצפה (*Populus spp.*) הוגבר על ידי פחמן דו חמצני בגלל שינויים במאפייני פני השטח בעלים (Karnosky et al., 2002) בעוד בתנאים אלה בעצי אדר עלתה מחלת כתמי עלים כתוצאה משינויים בפסיולוגית הפיזיולוגיות וכימיית העלה (McElrone et al., 2003).

Magnaporthe oryzae גורמת לכתמים על צמחי אורז (מחלת Rice blast) ו-*Rhizoctonia solani* גורמת לשידפון נדן. Kobayashi et al. (2006) למדו את ההשפעה של עליית ריכוז הפחמן הדו חמצני באוויר מהריכוז הקיים לריכוז מוגבר ($200-480 \mu\text{mol mol}^{-1}$) על חומרת שתי המחלות בתנאי שדה. צמחי האורז היו יותר רגישים ל *M. oryzae* ונמצא בעליהם פחות סיליקון אשר לו מיוחסת הקניית עמידות למחלה. שדפון הנדן הוגבר ובמקרה זה יוחס השינוי לנוף הסבוך יותר באווירה עשירה בפחמן דו חמצני אשר תרם למגע רב לסיכוי רב יותר של ריזוקטוניה לפגוש רקמה רגישה למחלה (Kobayashi et al., 2006).

שינויים צפויים גם באוכלוסיות מיקרואורגניזמים שונים, שוכני קרקע ונוף אשר להם אינטראקציה עם צמחים ואשר משפיעים על ביטוי מחלות בצמחים. מיקרואורגניזמים אנדופיטים מאכלסים צמחים רבים מבלי לגרום לתסמיני מחלה נראים לעין. אנדופיטים יכולים להשפיע חיובית על הצמח המאחסן באמצעות זירוז אספקת יסודות מזון לאברי הצמח, הפרשת פקטורי גדילה והורמונים צמחיים, הגנה מפני עקות ביוטיות כמו מחוללי מחלה וסבילות גבוהה לעקות אביוטיות כגון יובש, חום או מליחות גבוהים (Liarzi & Ezra, 2014). השפעת שינויי אקלים נלמדה במערכת הסמביוזה בין צמח *Lolium arundinaceum* (זון) לאנדופיט הפטרייתי *Neotyphodium coenophialum*. נמצא שבריכוז פחמן דו חמצני גבוה התקיים אכלוס רב יותר בפטרייה מאשר בריכוז רגיל של הגז באוויר. האכלוס לא הושפע מעליית טמפרטורה והגברת גשם (Brosi et al., 2011). מיקוריזה שאף היא תורמת לצמח (Fitter et al., 2000). עליה בריכוז פחמן דו חמצני באוויר, על ידי העשרת מקורות פחמן זמינים בצמח, השפיעו על מיקרואורגניזמים שבקשר עם הצמח **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **240**

ובכלל זה על מיקוריזה (Drigo et al., 2010; Fitter et al., 2000). נראה שההשפעה של רמת פחמן דו חמצני גבוהה תלויה בהשפעה הפרטנית על גורם המחלה, בהשפעה על הצמח ורגישותו, בהשפעה על מיקרואורגניזמים אחרים ועל האנטראקציה בניהם ומשתנה בכל צרוף מין פתוגן – מין צמח.

לא ניתן להגיע להכללה באשר להשפעת אוזון על רגישות צמחים למחלות (Plazek et al., 2005). רמת אוזון גבוהה משפיעה על מבנה ותכונות פסיולוגיות של עלים כך שיושפעו תהליכי פתוגנזה (Karnosky et al., 2002). אוזון מאיץ תהליכי הזדקנות ותמותה ולכן יכול לעודד הדבקה על ידי פתוגנים נקרוטרופים (Sandermann, 2000) אך הוא גם יכול לעודד אליסטרופים המשפיעים על מטבוליזם משני בצמחים ותגובה היפרסנסיטיבית (רגישות יתר) ועמידות מושרית (Sandermann, 2000; von Tiedemann and Firsching, 1993). רמה מוגברת של אוזון פגעה בגידול של שעורה אך הגבירה עמידות הגידול כנגד רשתת השעורה (*Drechslera teres*) בשעה שריכוז גבוה של פחמן דו חמצני שיפר את גידול השעורה אבל השפעתו על עמידות למחלה הייתה מוגבלת (Plessl et al., 2005). חילודן בעצי אדר הוגברו על ידי אוזון כפי שהוגברו על ידי פחמן דו חמצני (לעיל) (Karnosky et al., 2002).

שינויי מגפות מתועדים בעולם

שינויי אקלים מתרחשים כבר במשך מספר עשורים וקיימות תופעות צמחיות מתועדות המיוחסות לשינויי אקלים אלה. לדוגמא, תמותה נרחבת של עצים בצפון אמריקה יוחסה לעליית טמפרטורה ולשינויים במשקעים ורטיבות (Van Mantgem et al., 2009). עידוד הדבקה בכמה מיני *Phytophthora* והתרחשות ריקבון שורשים יוחסה לעלייה בממוצע הטמפרטורה בחורף, עליה בחורף ופחיתה בקיץ בירידת משקעים ונטייה לגשמים כבדים יותר מאשר בעבר שהתרחשו במרכז אירופה (Jung, 2009).

לאורך חופי אורגון בארצות הברית עלתה טמפרטורת החורף ב 0.2-0.4 מ"צ וגשמי אביב התגברו ב 7-15 מ"מ בעשור מאז 1970. הפטרייה *Phaeocryptopus gaeumannii* הגורמת לחוורת ופגיעה במחטים של אשוח ופוגעת בגידול העצים הביאה למגפות חמורות מאז תחילת שנות התשעים של המאה שעברה באזור זה (Hansen et al., 2000). המחלה נמצאה במתאם חיובי עם הצטברות ימי מעלה בחורף ומשך רטיבות העלים באביב ובסתיו (Manter et al., 2005; Stone et al., 2008). עלית הטמפרטורה הצפויה באזור הפסיפי צפון מערבי בארה"ב הביאו חוקרים להעריך שחומרת המגפות הנגרמות על ידי *P. gaeumannii* תגבר (Stone et al., 2008).

שינויי אקלים השפיעו על פיזור גיאוגרפי וחומרה של כיב גבעול (*Leptosphaeria maculans*) בלפתית בדרום אנגליה. תחילת מגפות הוקדמה בעשרה ימים והחומרה גברה ב 18% בארבעת העשורים האחרונים של המאה ה-20 וזאת במתאם לעלייה בטמפרטורה בעיקר בחורף (Sun et al., 2000; Evans et al., 2008). תחילת מגפות כתמת (*Cercospora*) בסלק (איור 2) בגרמניה הקדימה ב 2-12 ימים בין 1998 ל 2007, החמירה והופיעה באזורים צפוניים יותר בעקבות עליית טמפרטורה (Richerzhagen et al., 2011).

חיזוי שינויים במחלות צמחים כתוצאה משינויי אקלים צפויים

חיזוי מגפות לטווח זמן ארוך הינו מורכב ביותר. מחקרים על התנהגות פתוגנים, צמחים ומחלות בודקים בדרך כלל השפעות של גורם א-ביוטי בודד או מספר גורמים מועט, לדוגמא, השפעות טמפרטורה, לחות יחסית, קרינה בקמחונות עגבנייה (*Oidium neolycopersici*), פלפל (*Leveillula taurica*) ותות שדה (*Sphaerotheca macularis*) (Elad et al., 2007; Jacob et al., 2009; Amsalem et al., 2005).

כבדוגמת עובש אפור (*Botrytis cinerea*) במלפפון וליזיאנטוס (Shpialter et al., 2009; Yunis et al., 1990) שמקורם בתנאים מבוקרים (איור 4).



איור 2. כתמת בעלי סלק (*Cercospora beticola*).



איור 3. מחלות קימחון בגדולים שונים. קימחון התות (*Sphaerotheca macularis*) בפרי ובעלה (למעלה), קימחון העגבנייה (*Oidium neolycopersici*, ימין למטה) וקימחון בעלה פלפל (*Leveillula taurica*, שמאל למטה).

בנוסף ניתן להשתמש בנתונים מניסויים בתנאי שדה אשר מתוארים כשעות x מעלה או שעות x אחוזי לחות יחסית או משך זמן מעל ערך מסוים של פרמטר מיקרואקלימי והקשר שלהם להתפתחות שלבים במגפות טבעיות של

מספר מחלות בגידול (Elad et al., 2014; 2015, 2016) וכפי שמתואר באיור 5. במהלך שינויי האקלים, מתרחשים בין היתר שינויי טמפרטורה ולחות יחסית. שינויים אלה הינם לכאורה מועטים ונמדדים במ"צ בודדות ובטווחי לחות יחסית מוגבלים אך השפעתם במשך התפתחות מגפות בשדה הינה משמעותית ביותר (איור 5). בעבודותינו שלעיל עם גורמי מחלות נוף שונים ובמאמר של Elad and Pertot (2014) עם קימחון העגבנייה הודגם ששינויים קלים בטמפרטורה (מדרגות של 2 מ"צ) במשך מהלכה של מגפה של פתוגנים פוליציקלים משפיעים באופן משמעותי ביותר על חומרת מחלה.

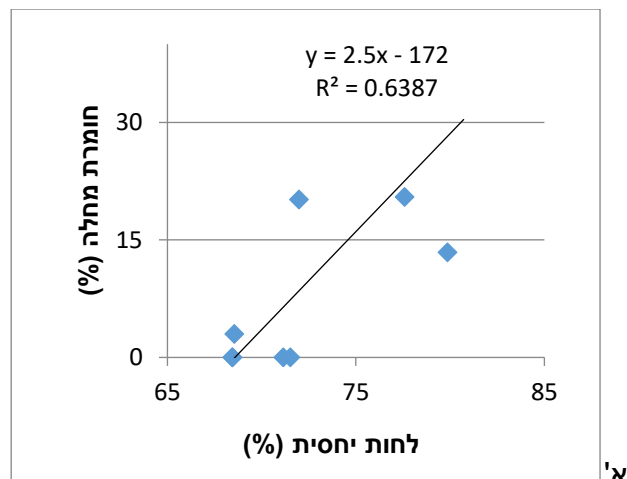
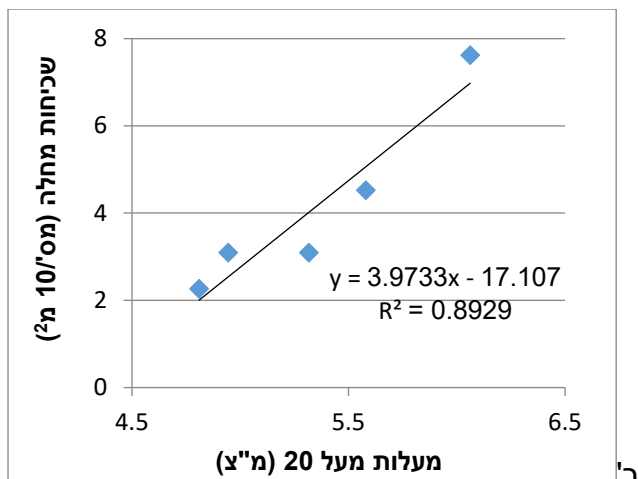


איור 4. עובש אפור בפרי מלפפון (ימין) ובגדם גבעול של צמח ליזיאנטוס (שמאל).

נתונים אלה של השפעות מיקרואקלים על שלבים חשובים במעגל הביולוגיה של גורמי מחלה ומודלים של מחלות (Jeger and Pautasso, 2008) משולבים במודלים אקלימיים גלובליים (לדוגמא Pope et al., 2000). מלבד הקשיים בחיזוי אקלימי לדוגמא מגבלת חיזוי המשקעים הצפויים, אשר בהם איננו עוסקים בפרק זה, קיימים קשיים מובנים בשילוב מידע ביולוגי עם מודלים אלה וזאת מפני שהשפעת פרמטרים בודדים על מערכת ביולוגית אינה לוקחת בחשבון את כל ההשפעות הא-ביוטיות האפשריות, ייתכן והשפעה מסוימת ממסכת על השפעה אחרת, קיימות השפעות אקולוגיות כלליות על מערכות צמח-פתוגן אשר אינן נלקחות בחשבון, שינויים באופן הגידול של צמחים, וייתכנו שינויים אוביקטיביים לא חזויים בזנים ורגישותם ובאמצעים תרבותיים (ראו פרק בקרת מחלות צמחים באמצעים קולטורליים) שישפיעו אף הם על מגפות בצומח. למרות זאת נעשו חיזויים למחלות בגידולים חקלאיים וביערות והם מובאים להלן.

חיזוי עבור גידולים חקלאיים

בגלל היות הפתוגנים והצמחים אורגניזמים חיים המושפעים מתנאי המיקרואקלים המתרחשים סביבם, צפוי ששינויי האקלים ישפיעו עליהם ועל האינטראקציה בניהם כך שבכל מערכות צמח-פתוגן שונות התרחשות של מחלות הצמחים הנגרמות תשתנה (Coakley et al., 1999). למרות זאת, מידת השינויים וטבעם, חיוביים או שליליים, אינם ברורים. בנוסף, היעילות של חומרי הדברה תלויה בטמפרטורת הסביבה (Greiner et al 2019) ובתנאים של שינויי אקלים קיצוניים היכולת להתמודד עם מחלות עשויה להיפגע (Matzrafi 2019).



איור 5. השפעת שינויי מיקרואקלים על חומרת מחלות. נתוני לחות יחסית וטמפרטורה נמדדו במהלך תקופת החורף במנהרות עבירות מכוסות פוליאיתילן בהן התרחשו תנאי מיקרואקלים שונים ונגרמו מגפות כשותית הריחן ועובש אפור באופן טבעי. א' השפעת לחות יחסית על חומרת כשותית הריחן בבזיל, ב' השפעת טמפרטורה על שכיחות מחלת העובש האפור בבזיל. בשורה התחתונה: מימין עלי בזיל נגועים בכשותית הריחן (*Peronospora belbahrii*) ומשמאל גבעולי בזיל נגועים בעובש אפור (*Botrytis cinerea*).

התארכות עונות הגידול הצפויה באזורים שונים בעולם היא סיבה עיקרית להחמרת מגפות בגידולים (Menzel and Fabian, 1999) וזאת כתוצאה מעלייה במספר מחזורים במחלות פוליציקליות (מחלות רבות מחזורים) וכתוצאה מהשפעה רבה יותר של מחלות מונוציקליות. פותחו מודלים לחיזוי מגפות במספר מערכות צמח-פתוגן שהוזכרו בסעיף הקודם ובניהן לכיב גבעול בלפתית (*L. maculans*) בבריטניה (Evans et al., 2008), כשותית הגפן (*P. viticola*) בצפון מערב איטליה (Salinari et al., 2006), קימחון הגפן (*Erysiphe necator*) בצפון איטליה (Caffarra et al., 2012), חלדון הקפה (*Hemileia vastatrix*) בברזיל (Ghini et al., 2011b), כתמת בסלק סוכר (*Cercospora beticola*) בגרמניה (Richerzhagen et al., 2011) ולמחלת סיגוה שחורה (*Mycosphaerella fijiensis*) בברזיל (Ghini et al., 2007). חיזוי מגפות הנגרמות על ידי גורמי מחלה אלה עם שינויי אקלים בעתיד מתוארים להלן.

כיב גבעול שהיא מחלה הגורמת נזק רב בלפתית מושפעת מטמפרטורה וגשם ומגפות חמורות שלה מתרחשות בדרום אנגליה. לעומת זאת בסקוטלנד הצפונית והקרה יותר המחלה מתבטאת רק בכתמי עלים ללא נזק ללפתית (Evans et al., 2008). מודלים לחיזוי התפתחות מגפות כיב גבעול שולבו במודלים לחיזוי אקלים לשם קביעת מועד

תחילת המחלה בת המחזור אחד בעונה (מונציקלית), תנאי הגשם והטמפרטורה מאז סיום הגידול הקודם אשר משפיעים על הישרדות מדבק בשאריות צמחים, מועד הופעת הכיב בגבעול המושפע מימי מעלה שמעודדים את המעבר של הפתוגן מעלה עם כתמי מחלה לעבר הגבעול באביב. הרצת המודלים חזתה התרחבות האזורים הגיאוגרפיים במהלך 20 שנה לכיוון אזורים ללא בעיית כיב גבעול בצפון אנגליה (Evans et al., 2008; Sun et al., 2000). בעבודתם של Salinari et al. (2006) על הביטרופ *P. viticola* נמצא שהמודלים לחיזוי אקלים מנבאים טמפרטורות מתאימות יותר אבל פחות גשם בחודשים מאי-יוני בצפון מערב איטליה בעשורים שאחרי 2030. עליית הטמפרטורה יעודדו מגפות של כשותית הגפן בשעה שהפחיתה במשקעים לא מפחיתה את חומרת המגפות באותה מידה כי העלייה בטמפרטורה תפצה על הפחתת הרטיבות. Salinari et al. (2006) חישובו שידרשו יותר פעולות הדברה בהשוואה לנהוג בתקופה נוכחית שהינה בסיס להשוואות. לעומת זאת בסימולציית מודלים להתפתחות קימחון הגפן ולגידול גפן בתנאי תקופה של עליית טמפרטורה נמצא שחומרת הקימחון תפחת בייחוד בעונות בהן תחילת המגפה מתאחרת (Caffarra et al., 2012) (איור 6).



איור 6. קימחון הגפן (*Erysiphe necator*) בעלה (ימין) ובאשכול ענבים (שמאל).

נערכו סימולציות מגפות עתידיות של חלדון הקפה באזורים שונים בברזיל על בסיס תקופת הדגירה בין הדבקה להופעת סמפטומים של המחלה ומודלים לחיזוי אקלים בשנות העשרים, החמישים והשמונים של המאה ה-21. Ghini et al. (2011) מצאו שיתרחשו תקופות דגירה קצרות יותר בתקופות אלה. בניגוד לכך, קבוצת המחקר Ghini et al. (2007) מצאו שהתפוצה של מחלת סיגטוגה שחורה בבננה בברזיל תצטמצם. נביטת נבגי *C. beticola* והדבקה מתרחשת בלחות גבוהה ורטיבות ובתנאי 20-30 מ"צ. נמצא שכתמת בסלק סוכר הנגרמת על ידי פטרייה זו תתפשט ותחמיר באזורים צפוניים יותר בגרמניה. Richerzhagen et al. (2011) מצאו גם שידרשו יותר יישומי פונגיצידיים לצורך הדברה של המחלה.

מחלות צמחים של עצי יער

יערות מכסים שטחים נרחבים, כשליש מפני השטח בעולם, לעיתים הם הומוגנים מבחינת מין העץ השולט ביער, לכן מחלות ביער עלולות להתפשט על שטחים נרחבים ולגרום נזקים ניכרים (Dobson and Crawley, 1994). הפנולוגיה וגידול עצי היער יושפעו משינויי הטמפרטורה, ריכוז פחמן דו חמצני, משקעים ואפילו אירועים קיצוניים שעלולים

להתרחש ביתר שאת כך שהמערכת האקולוגית בתחומי היערות תשתנה (Leblanc and Foster, 1992). נראה שבעקבות שינויים א-ביוטיים ישתנו קצב גידול העצים, הגחה של ניצנים, גודל עלים, קוטר הגזע ועובי הקליפה והתפתחות שורשים. בנוסף תשתנה התפוצה הגיאוגרפית של מיני עצי היער (Saxe, 2001). כל אלה ישפיעו על הופעת מחלות ועל רגישות להן (Marçais et al., 2001). יתוארו כאן השפעות צפויות של שינויי אקלים על מגפות כיב גזע ודעיכת עצים (*Phytophthora cinnamomi*) בצרפת (Bergot et al., 2004), ריקבון שורשים (*Phytophthora*) בעצי אשור (Jung, 2009), מחלות התוקפות עצים בעקה (Sturrock et al., 2011) וחילדון שלפוחית (*Cronartium ribicola*) במחטי אורן (Kinloch, 2003).

Bergot et al. (2004) חישוב את השינויים העיתיים בהישרדות של האומויצט המועבר בקרקע *P. cinnamomi* ביערות אלון. הישרדותו המוגבלת בתקופת הייחוס של המחצית השנייה של המאה ה-20 נובעת מטמפרטורות נמוכות בחורף. בבדיקת מודל אקלימי והתמרה לטמפרטורת הפלואם בעצים נמצא פוטנציאל להישרדות הפתוגן בחורפים עם ההתחממות. כתוצאה מהישרדות נרחבת יותר בחורף טוענים החוקרים שתפוצת המחלה תתרחב במאות קילומטרים עד סוף המאה הנוכחית (Bergot et al., 2004). שלבים נוספים במעגל הביולוגי של המחלה יושפעו אף הם משינויי האקלים. בדומה, מחלות הנגרמות על ידי גורמי ריקבון אלה וגורמים נוספים צפויים להחמיר במיני עצים אחרים ובכללם מיני אלונים (*Quercus*), אלמון (*Alnus*), אדר (*Acer*) ואורן (*Pinus*) (Jung, 2009; Sturrock et al., 2011).

עצים הסובלים מעקה א-ביוטית עלולים להיפגע גם מגורמי מחלות ביוטיות. מאחר וצפויה בעתיד חשיפה מרובה לעקת יובש, נראה שיעלה גם הסיכוי להדבקה בגורמי מחלות קרקע, מאכלסי פצעים ופתוגנים רדומים בעצה של העץ (Sturrock et al., 2011). כך ירבו תקיפות שורש על ידי מיני *Armillaria*, פטריות יוצרות כיבים כמו *Botryosphaeria* ו *Diplodia* ודעיכת יערות כתוצאה מהדבקות במיני *Phytophthora*, *Armillaria* ופתוגנים נוספים. התפתחות שונה תוארה לחילדון שלפוחית במחטי אורן לבן (*C. ribicola*) אשר בסופו של דבר גורם למללת (dieback) בענפים ותמותת עצים. מחלה זו מתפתחת במיקרואקלים קריר וברטיבות (> 20 מ"צ) ולכן צופים שהיא תפחת בעתיד, כשתקופות רטיבות באביב ותחילת הקיץ יפחתו והטמפרטורה תעלה (Kinloch, 2003; Sturrock et al., 2011). ככלל נראה שבחלק מהמגפות הנגרמות על ידי גורמי מחלה ישתנו מועדי תחילת המגפות והחומרה שלהן וישתנו האזורים הגאוגרפים לתפוצתן. פתוגנים מסוגלים לעבור בין אזורים שונים בקצב מהיר יותר מאשר צמחים ולכן סביר שמגוון המחלות התוקף גידול מסוים ישתנה באזור ספציפי בהתאם לתפוצת הגידול (Elad and Pertot, 2014). בנוסף, רגישות הצמחים למחלות תשתנה בגלל השינויים בתנאים הא-ביוטיים ותשפיע על מגפות.

וקטורים של גורמי מחלות

גורמי מחלה כגון נגיפים (ראו פרק וקטורים של נגיפי צמחים) או חיידקים מסוימים (ראו פרקי מחלות חיידקים ומחלות חיידקים שוכני שיפה ושוכני עצה) מועברים על ידי פרוקי רגליים בין צמחים (Jones, 2009). פעילות וקטורים אלה עשויה להיות מושפעת משינויי אקלים (Canto et al., 2009). שינויי האקלים ישפיעו על אוכלוסיות החרקים, הישרדות שלהם בין עונות, אוכלוסיות צמחי בר שמאכסנות חרקים, האנטראקציה של גורם המחלה עם החרק ויכולות ההעברה על ידי החרקים, מידת המשיכה של החרקים למאכסנים הצמחיים, פיזורם הגאוגרפי של הווקטורים, זמינות מאכסנים חדשים ומספר מחזורי חיים שמשלימים החרקים. בנוסף ישפיעו שינויי האקלים על גורמי המחלה, מידת יציבותם ויכולתם להדביק את הצמח, לנוע ולהתרבות בתוכו.

סיכום

על שינויים בעלי פוטנציאל השפעה על הגורמים המעורבים בקיומן של מחלות צמחים נמנים שינויים בטמפרטורות יום ולילה, משכי ארועי טל וכמות הטל, שינויים בלחץ אדים (לחות יחסית), כמויות משקעים ופיזורם העונתי, תפוסת סופות ועוצמתן, עצמת רוחות, אירועי קיצון כשיטפונות, חום, קור ויובש קיצוניים ועלייה בריכוז פחמן דו חמצני באוויר. שינויים לא ישירים בצמחים ובסביבתם אשר עשויים להשפיע על רגישות צמחים ועל ההדבקה שלהם על ידי פתוגנים הם עקת מליחות וזמינות מים לצמח, שינויים בממשקי השקיה והזנת צמחים, הידלדלות קרקעות, שינויים פיזיולוגיים בצמחים, שינויים במאזנים הורמונליים, תהליכי התעוררות פקעים, פריחה, חנטה והבשלה של פירות ושינויים בנוף הצמחים כתוצאה מעלייה בריכוז פחמן דו חמצני.

נראה שבחלק מהמגפות הנגרמות על ידי גורמי מחלה ישתנו מועדי תחילת המגפות והחומרה שלהן וישתנו האזורים הגאוגרפיים לתפוצתן ויכללו שטחים גאוגרפיים חדשים אשר בהם הם יתקלו בפונדקאים פוטנציאליים חדשים. התפשטות של פתוגנים לאזורים חדשים יכולה לנבוע גם משינוי בתפוצה של הצמחים הפונדקאים או מהתפשטות ופעילות של וקטורים. תקופות ממושכות יותר בטווח המיטבי של תנאי מיקרואקלים מעודדים את התפתחות הפתוגנים ואת התפתחות המגפות שהם גורמים ואת הישרדות גורמי מחלה בהעדר צמח מאחסן בקיץ או בחורף. נראה ששינויי האקלים יגבירו גם את תאימותם של הפתוגנים לתנאים החדשים. מגפות של פתוגנים פוליציקלים המושפעות ממספר הדורות בתקופה נתונה כל שכלל שעונות גידול יהיו ממושכות יותר כתוצאה מההתחממות הגלובלית כן יתארך הזמן לצורך התרבות הפתוגן והפצתו וליצירת דורות נוספים בדרכי ריבוי אל מיניות ומיניות. בנוסף, רגישות הצמחים למחלות תשתנה בגלל השינויים בתנאים הא-ביוטיים ומידת הוירולנטיות של הפתוגנים יכולה להשתנות אף היא עם התנאים ולהשפיע על מגפות של מחלות צמחים.

מודלים של אקלים חזוי, גידול ומחלות צמחים חוזים בדרך כלל החמרה במחלות ובדרישה לאמצעי הדברה אם כי בכמה מערכות פתולוגיות צמחיות חזויה הקלה בחומרה או בתפוצת המחלה.

תודות

מחקרו של יגאל אלעד נעשה במימון הפרובינציה של טרנטו פרויקט Envirochange אשר סוכם בין היתר במאמר סקירה בנושא המהווה נדבך לפרק זה:

(Elad Y. and Pertot I. (2014) Climate change impacts on plant pathogens and plant diseases. Journal of Crop Improvement 28: 99-139.)

מקורות

יוסף י', בהר"ד ע', אוזן, ל', כרמונה י', חלפון נ', פורשפן א', לוי י' וסתיו נ' (2019) שינוי האקלים בישראל מגמות עבר ומגמות חזויות במשטר הטמפרטורות והמשקעים. דו"ח מחקר מס' 4000-0804-2019-0000075, נובמבר 2019 השירות המטאורולוגי 20 עמ'

http://ims.gov.il/ims/PublicPDF/ClimateChangeInIsraelReport_20191128.pdf

Adaros G., Weigel H. J. and Jäger H. J. (1991) Growth and yield of spring rape and spring barley as affected by chronic ozone stress. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 98: 513–525.

Agrios G. N. (2005) Plant Pathology, 5th ed. Elsevier Academic Press, London.

- Amsalem L., Freeman S., Rav-David D., Nitzani Y., Sztejnberg A., Pertot I. and Elad Y. (2005) Biology and epidemiology of powdery mildew caused by *Sphaerotheca macularis* on strawberry. *European Journal of Plant Pathology* 114: 283-292.
- Amthor J. S. (1995) Terrestrial higher-plant response to increasing atmospheric [CO₂] in relation to the global carbon cycle. *Global Change Biology* 1: 243–274.
- Asselbergh B., De Vleeschauwer D. and Höfte M. (2008) Global switches and fine-tuning ABA modulates plant pathogen defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 709–719.
- Baker R. H. A., Sansford C. E., Jarvis C. H., Cannon R. J. C., MacLeod A. and Walters K. F. A. (2000) The role of climatic mapping in predicting the potential geographical distribution of non-indigenous pests under current and future climates. *Agricultural Ecosystem and Environment* 82: 57–71.
- Bergot M., Cloppet E., Pérarnaud V., Déqué M., Marçais B. and Desprez-Loustau M. -L. (2004) Simulation of potential range expansion of oak disease caused by *Phytophthora cinnamomi* under climate change. *Global Change Biology* 10: 1539–1552.
- Brosi G. B., McCulley R. L., Bush L. P., Nelson J. A., Classen A. T. and Norby R. J. (2011) Effects of multiple climate change factors on the tall fescue–fungal endophyte symbiosis: Infection frequency and tissue chemistry. *New Phytologist* 189: 797–805.
- Caffarra A., Rinaldi M., Eccel E., Rossi V. and Pertot I. (2012) Modeling the impact of climate change on the interaction between grapevine and its pests and pathogens: European grapevine moth and powdery mildew. *Agricultural Ecosystem and Environment* 148: 89–101.
- Chakraborty S. (2005) Potential impact of climate change on plant-pathogen interactions. *Australasian Plant Pathology* 34: 443–448.
- Coakley S. M., Scherm H. and Chakraborty S. (1999). Climate change and plant disease management. *Annual Review of Phytopathology* 37: 399–426.
- Colhoun J. (1973) Effects of environmental factors on plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 11: 343–364.
- Davis M. B., Shaw R. G. and Etterson J. R. (2005) Evolutionary responses to changing climate. *Ecology* 86: 1704–1714.
- Deutsch C. A., Tewksbury J. J., Huey R. B., Sheldon K. S., Ghalambor C. K., Haak D. C. and Martin P. R. (2008) Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105: 6668–6672.
- Dobson A. and Crawley M. (1994) Pathogens and the structure of plant communities. *Tree* 9: 393–398.
- Drigo B., Pijl A. S., Duyts H., Kielak A. M., Gamper H. A., Houtekamer M. J., Boschker H. T. S., Bodelier P. L. E., Whiteley A. S., Van Veen J. A. and Kowalchuk G. A. 2010. Shifting carbon

- flow from roots into associated microbial communities in response to elevated atmospheric CO₂. Proceedings of the National Academy of Science USA 107: 10938–10942.
- Eastburn D. M., DeGennaro M. M., DeLucia E. H., Dermody O. and McElrone A. J. (2010) Elevated atmospheric carbon dioxide and ozone alter soybean diseases at SoyFACE. Global Change Biology 16: 320–330.
- Eastburn D. M., McElrone A. J. and Bilgin D. D. (2011) Influence of atmospheric and climatic change on plant–pathogen interactions. Plant Pathology 60: 54–69.
- Elad Y., Fogel M., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D. and Adler U. (2015) White mould of sweet basil: Conditions influencing its development in greenhouses and cultural measures for disease management. Plant Pathology 64: 951-960.
- Elad Y., Israeli L., Fogel M., Rav David D., Kenigsbuch D., Chalupowicz D., Maurer D., Lichter, A., Silverman D., Biton S., Yitzhak S., Harari D., Maduel A., Pivonia S. and Adler U. (2014) Conditions influencing the development of sweet basil grey mould and cultural measures for disease management. Crop Protection 64: 67-77.
- Elad Y., Messika Y., Brand M., Rav David D. and Sztejnberg A. (2007) Microclimate effect on *Leveillula taurica* powdery mildew of sweet pepper. Phytopathology 97: 813-824.
- Elad Y., Omer C., Nisan Z., Harari D., Goren H., Adler U., Silverman D. and Biton S. (2016) Passive heat treatment of sweet basil crops suppresses *Peronospora belbahrii* downy mildew. Annals of applied Biology 168: 373–389.
- Elad Y. and Pertot I. (2014) Climate change impacts on plant pathogens and plant diseases. Journal of Crop Improvement 28: 99-139.
- Evans N., Baierl A., Semenov M. A., Gladders P. and Fitt B. D. L. (2008) Range and severity of a plant disease increased by global warming. Journal R. Soc. Interface 5: 525–531.
- Fitter A. H., Heinemeyer A. and Standdon P. L. (2000) The impact of elevated CO₂ and global climate change on arbuscular mycorrhizas: A myco-centric approach. New Phytologist 147: 179–187.
- Ghini R., Bettiol W. and Hamada E. (2011a) Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: Current knowledge and perspectives. Plant Pathology 60: 122–132.
- Ghini R., Hamada E., Gonçalves R. R. V., Gasparotto L. and Pereira J. C. R. (2007) Análise de risco das mudanças climáticas globais sobre a sigatoka-negra da bananeira no Brasil [Risk analysis of climatic change on black sigatoka on banana in Brazil]. Fitopatologia Brasileira, Lavras 32: 197–204.
- Ghini R., Hamada E., Pedro Jr. M. J. and Gonçalves R. R. V. (2011b) Incubation period of *Hemileia vastatrix* in coffee plants in Brazil simulated under climate change. Summa Phytopathologia 37: 85–93.

- Greiner S. D., Racca P., Jung J. and von Tiedemann A. (2019) Determining and modelling the effective period of fungicides against septoria leaf blotch in winter wheat. *Crop protection* 117: 45–51.
- Hansen E. M., Stone, J. K. Capitano B. R., Rosso P., Sutton W. and Winton L. (2000) Incidence and impact of Swiss needle cast in forest plantations of Douglas fir in coastal Oregon. *Plant Disease* 84: 773–778.
- Huisman O. C. (1982) Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. *Annual Review Phytopathology* 20: 303–327.
- Jacob D., Rav David D., Sztjenberg A. and Elad Y. (2008) Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolycopersici*. *Phytopathology* 98: 270-281.
- Jung T. (2009) Beech decline in Central Europe driven by the interaction between *Phytophthora* infections and climatic extremes. *Forest Pathology* 39: 73–94.
- Karl T. R. and Trenberth K. E. (2003) Modern global climate change. *Science* 302: 1719-1723. DOI: 10.1126/science.1090228
- Karnosky D. F., Percy K. E., Xiang B., Callan B., Noormets A., Mankovska B., Hopkin A., Sober J., Jones W., Dickson R. E. and Isebrands J.G. (2002) Interacting elevated CO₂ and tropospheric O₃ predisposes aspen (*Populus tremuloides* Michx.) to infection by rust (*Melampsora medusae* f. sp. *tremuloidae*). *Global Change Biology* 8: 329–338.
- Kinloch Jr. B. B. (2003) White pine blister rust in North America: Past and prognosis. *Phytopathology* 93: 1044–1047.
- Kobayashi T., Mew T. W. and Hashiba T. (1997) Relationship between incidence of rice sheath blight and primary inoculum in the Philippines: Mycelia in plant debris and sclerotia. *Annals Phytopathological Society of Japan*. 63: 324–327.
- Leblanc D. C. and Foster J. R. (1992) Predicting effects of global warming on growth and mortality of upland oak species in the Midwestern United States: A physiologically based dendroecological approach. *Canadian Journal of Forestry Research* 22: 1739–1752.
- Li X., Esker P. D., Pan Z., Dias A. P. Xue L. and Yang X. B. (2010) The uniqueness of the soybean rust pathosystem: An improved understanding of the risk in different regions of the world. *Plant Disease* 94: 796–806.
- Liarzi O. and Ezra D. (2014) Endophyte-mediated biocontrol of herbaceous and non-herbaceous plants. In: Verma V. and Gange A. (eds), *Advances in Endophytic Research*, Springer, New Delhi, India, pp. 335-369.
- Manter D. K., Reeser P. W. and Stone J. K. (2005) A climate-based model for predicting geographic variation in Swiss needle cast severity in the Oregon coast range. *Phytopathology* 95: 1256–1265.

- Marçais B., Bouhot-Delduc L. and Le Tacon F. (2001) Possible effects of global change on symbiotic micro-organisms, pathogens and pests in forests. *Revue Forestiere Francaise* 52(Special): 99–118.
- Matzrafi M. (2019) Climate change exacerbates pest damage through reduced pesticide efficacy. *Pest Management Science* 75: 9–13.
- McElrone A. J., Sherald J. L. and Forseth I. N. (2003) Interactive effects of water stress and xylem limited bacterial infection on the water relations of a host vine. *Journal of Experimental Botany* 54: 419–430.
- Menzel A. and Fabian P. (1999) Growing season extended in Europe. *Nature (London)* 397: 659.
- Plazek A., Hura K., Rapacz H. and Zur I. (2001) The influence of ozone fumigation on metabolic efficiency and plant resistance to fungal pathogens. *Journal of Applied Botany* 75: 8–13.
- Plessl M., Heller W., Payer H. -D., Elstner E. F., Habermeyer J. and Heiser I. (2005) Growth parameters and resistance against *Drechslera teres* of spring barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Scarlett) grown at elevated ozone and carbon dioxide concentrations. *Plant Biology* 7: 694–705.
- Pope V., Gallani M. L., Rowntree P.R. and Stratton R. A. (2000) The impact of new physical parametrizations in the Hadley Centre climate model – hadam3. *Climate Dynamics* 16: 123–146.
- Pritchard S. G., Rogers H. H., Prior S. A. and Peterson C. M. (1999) Elevated CO₂ and plant structure: A review. *Global Change Biology* 5: 807–837.
- Richerzhagen D., Racca P., Zeuner T., Kuhn C., Falke K., Kleinhenz B. and Hau B. (2011) Impact of climate change on the temporal and regional occurrence of *Cercospora* leaf spot in Lower Saxony. *Journal of Plant Disease and Protection* 118: 168–177.
- Rotem J. (1978) Climatic and weather influences on epidemics. In: *Plant Disease, Advanced Treatise*, Horsfall J. G. and Cowling E. B. (eds.), vol. 2 Academic Press, NY, USA pp. 317–337.
- Salinari F., Giosuè S., Tubiello F. N., Retorri A., Rossi V., Spanna F., Rosenzweig C. and Gullino M. L. (2006) Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. *Global Change Biology* 12: 1299–1307.
- Sandermann Jr. H. (2000) Ozone/biotic disease interactions: Molecular biomarkers as a new experimental tool. *Environmental Pollution* 108: 327–332.
- Saxe H., Cannell M. G. R., Johnsen O., Ryan M. G. and Vourlitis G. (2001) Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist* 149: 369–400.
- Schoeneweiss D. F. 1975. Predisposition, stress, and plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 13: 193–211.

- Shpialter L., Rav David D., Dori I., Yermiyahu U., Pivonia S., Levite R. and Elad Y. (2009) Cultural methods and environmental conditions affecting gray mold and its management in *lisianthus*. *Phytopathology* 99: 557-570.
- Stone J. K., Coop L. B. and Manter D. K. (2008) Predicting effects of climate change on Swiss needle cast disease severity in Pacific Northwest forests. *Canadian Journal of Plant Pathology* 30: 169–176.
- Sun P., Fitt B. D. L., Gladders P. and Welham S. J. (2000) Relationships between phoma leaf spot and development of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Annals of Applied Biology* 137: 113–125.
- Sturrock R. N., Frankel S. J., Brown A. V., Hennon P. E., Kliejunas J. T., Lewis K. J., Worrall J. J. and Woods A. J. (2011) Climate change and forest diseases. *Plant Pathology* 60: 133–149.
- Van Mantgem P. J., Stephenson N. L., Byrne J. C. Daniels L. D., Franklin J. F., Fulé P. Z., Harmon M. E., Larson A. J., Smith J. M., Taylor A. H. and Veblen T. T. (2009) Widespread increase of tree mortality rates in the western United States. *Science* 323: 521–524.
- von Tiedemann A. and Firsching K. H. (1993) Effects of ozone exposure and leaf age of wheat on infection processes of *Septoria nodorum* Berk. *Plant Pathology* 42: 287–293.
- Yunis H., Elad Y. and Mahrer, Y. (1990) Effect of air temperature, relative humidity and canopy wetness on gray mold of cucumbers in unheated greenhouses. *Phytoparasitica* 18: 203-215.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 16: אפידמיולוגיה מרחבית ושימוש במדע הנתונים לחקר תהליכים אפידמיולוגיים - מקרי

מבחן

ליאור בלנק¹ ויפית כהן²

¹ המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

² המחלקה להנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון, המכון להנדסת מערכות חקלאיות וביולוגיות, מכון וולקני - מינהל המחקר החקלאי, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

התפשטות פתוגנים במערכות חקלאיות בזמן ומרחב היא תהליך מורכב ודינמי. ההטרוגניות בפיזור המחלה קיימת בקנה מידה אזורי וגם בקנה המידה של החלקה הבודדת. האופי ההטרוגני של המשתנים הביולוגיים והאביוטיים המניעים את הדינמיקה של הפגעים קשה למדידה ולכימות וכוללת מגוון של סקאלות מרחביות. בשנים האחרונות פותחו טכנולוגיות לאיסוף ושיתוף נתונים. כמו כן השתכללו מערכות מידע גיאוגרפיות וכלים סטטיסטיים חדשניים לניתוח נתונים, ובכלל זה נתונים מרחביים. פרק זה עוסק בחקר הגורמים המשפיעים על הדינמיקה של פתוגנים בזמן ובמרחב ומתמקד בשלושה פתוגנים שיש להם חשיבות רבה במעשה החקלאי.

אופן הציטוט: בלנק ל' ויפית כ' (2021) אפידמיולוגיה מרחבית ושימוש במדע הנתונים לחקר תהליכים אפידמיולוגיים - מקרי מבחן. פרק 16, ע' 253-257 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51955>



מבוא

התפשטות פתוגנים מערכות חקלאיות בזמן ומרחב היא תהליך מורכב ודינמי. לרוב פיזור הפגעים במרחב ומידת הנזק שהם גורמים אינה הומוגנית (Blank et al., 2016; Mendelsohn et al., 2018). ההטרוגניות בפיזור המחלה קיימת בקנה מידה אזורי וגם בקנה המידה של החלקה הבודדת (Ben-Hamo et al., 2020). ההטרוגניות נובעת מכך שגורמים רבים, וקשרי הגומלין שבניהם, משפיעים על התפתחות אוכלוסיית הפגעים בזמן ובמרחב, בכלל זה גורמים א-ביוטיים (כמו טמפרטורה, משך רטיבות, גשם, רוח וכו') (Firester et al., 2018; Tsrar et al., 2020; Blank et al., 2019) וגורמים ביוטיים (כמו רגישות הפונדקאי, מעורבות של אורגניזמים אחרים כמו וקטורים המעבירים ווירוסים וכו') (Krasnov et al., 2019). אופיים הדינמי של תהליכים אפידמיולוגיים מציב אתגר ייחודי למחקר ולהתמודדות עם הפתוגן, היות ובמערכות אלה מתקיימות אינטראקציות מגוונות (שלא כולן ידועות) ומעורבים בהן משתנים סביבתיים רבים, שההשפעות שלהם אינן בהכרח לינאריות (Metz et al., 2012). יתר על כן, האופי ההטרוגני של המשתנים הביולוגיים והאביוטיים המניעים את הדינמיקה של הפגעים קשה למדידה ולכימות וכוללת מגוון של סקאלות מרחביות

(Levin 1992; Thébaud et al., 2006; Ben-Hamo et al., 2020). כתוצאה מכך, עד כה, היו מעט ניסיונות לבחון את הדינמיקה של פתוגנים בקנה מידה אזורי במרחב ובזמן.

בשנים האחרונות עם התפתחות הטכנולוגיות לאיסוף ושיתוף נתונים, פיתוח מערכות מידע גיאוגרפיות (ממ"ג) משוכללות וכלים סטטיסטיים חדשניים לניתוח נתונים, ובכלל זה נתונים מרחביים, נעשה במחקר החקלאי שימוש בגישה שקבלה את הכינוי 'אקואינפורמטיקה' (Rosenheim and Gratton, 2017). על פי גישה זו מנותחים נתוני תצפיות רבים שנאספו במערכת החקלאית ובמערכת הטבעית הסמוכה לה (ובכלל זה נתונים גיאוגרפיים). הניתוח מאפשר לאפיין את הגורמים המשפיעים על התפתחות הפגעים ולהגיע לתובנות לגבי הדינמיקה של התפתחות הפגעים בזמן ובמרחב ב"עולם האמיתי".

השפעה רבה נודעת להיבט המרחבי, מבנה הנוף והרכבו על התפוצה והמאפיינים האפידמיולוגיים של מזיקים וגורמים פתולוגיים במערכות חקלאיות (Plantegenest et al., 2007). נופים חקלאיים מאופיינים בנוף הטרוגני ופסיפס מרחבי שכולל מגוון שטחים גידול חקלאיים, ובמגוון שימושי וכיסויי קרקע שונים (Bennett et al., 2006), אזורי טבעיים פתוחים, יערות, אזורי מרעה, חורש, מקווי מים שונים, וכן שימושי קרקע אנתרופוגנים כגון כבישים, אזורי עירוניים, שבילים, פארקים, ועוד (Bennett et al., 2006). בנוסף, הנוף החקלאי עובר שינויים בזמן (שינוי עונות, שינוי מחזורי חיים של הצמחים (פנלוגיה וכדומה)) ושינויים במרחב (כגון, שינויים בכיסוי הקרקע הנובע ממחזורי גידולים (crop-rotation), שינויים כתוצאה מפעילות אנתרופוגניות, ועוד). שינויים אלו עשויים להשפיע על דינמיקה של הפגעים במרחב ובזמן (Bennett et al., 2006). בגלל הבעייתיות של חקר המערכת הכוללת, ממשק ההדברה של פגעים מתבסס כיום על מידע שנאסף ברמת החלקה הבודדת וזה הבסיס לשיטת ה'הדברה המשולבת' (IPM או ICM). ממשק הדברה מתואם בכל חלקות הגידול באזור, מכונה 'ממשק הדברה אזורי' (Area-Wide ICM) ומאפשר להתמודד עם הפגעים טוב יותר מאשר ממשק הדברה המתבצע ברמת החלקה הבודדת (Vreysen et al., 2007). ממשק הדברה אזורי חיוני במיוחד במקרים בהם הפגעים מופצים למרחק או שהם רב-פונדקאים ובאזורים בהם עונת הגידול של הפונדקאים הרגישים ארוכה ומאפשרת לפגעים לעבור מגידול אחד למשנהו. יישום העקרונות של ממשק הדברה אזורי מחייב מידע וידע על הדינמיקה של הפגעים בסביבה החקלאית ובסביבה הטבעית הסמוכה לה. פרק זה עוסק בחקר הגורמים המשפיעים על הדינמיקה של פתוגנים בזמן ובמרחב ומתמקד בשלושה פתוגנים שיש להם חשיבות רבה במעשה החקלאי: האומומיצט *Phytophthora infestans* המחולל את מחלת הכימסון בתפוח-אדמה ובעגבנייה (פרק מודל מרחבי עיתי); הפטרייה *Erysiphe necator* המחוללת את קימחון הגפן (פרק דינמיקה של התפשטות), והפטרייה *Plenodomus tracheipuilus* המחוללת את מחלת המל-סקו בהדרים (פרק קימלון בזמן ובמרחב).

סיכום שלוש דוגמאות

הפיזור של פגעים במרחב החקלאי ומידת הנזק שהם גורמים אינם הומוגניים (Ben-Hamo et al., 2020; Blank et al., 2016; Firester et al., 2018; Goldshtein et al., 2020; Sokolsky et al., 2013). גורמים רבים, וקשרי הגומלין שביניהם, משפיעים על התפתחות אוכלוסיית הפגעים בזמן ובמרחב. עד לשנים האחרונות מחקרים בתחום הגנת הצומח התבססו על איסוף מידע באופן ידני, מחקר במעבדה וביצוע ניסויים מבוקרים בהם נבחנו מספר קטן של טיפולים לשם הסקת מסקנות. בגלל מורכבות המערכות הביולוגיות והמספר הרב של הגורמים העשויים להשפיע על הפגעים ועל חומרת פגיעתם, לא ניתן תמיד להגדיר בניסויים מבוקרים את החשיבות של גורם בדיד זה או אחר ולהגיע למסקנה מהימנה לגבי חשיבותו מפני שהשפעתו עשויה להיות תלויה בגורמים נוספים תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 254

שלא נכללו בניסויים. יתרה מכך, ניסויים מבוקרים עשויים להניב ממצאים שהם אמנם נכונים אך חלקיים מאחר והם לא מייצגים את תנאי הגידול המסחריים. דרך אפשרית להתגבר על בעיה מחקרית זו היא להתמקד במערכת הטבעית-חקלאית הכוללת. זאת, על ידי איסוף נתונים כמותיים המבטאים את התהליכים המתרחשים במערכת המשקית וניתוחם בכלים מתאימים. גישה זו התפתחה בשנים האחרונות הודות להתפתחות הטכנולוגיות לאיסוף ושיתוף נתונים, פיתוח מערכות מידע גיאוגרפיות וכלים סטטיסטיים חדשניים לניתוח נתונים, ונגישות גדלה לתוצרים של חישה מרחוק (לדוגמה מלוויינים, מטוסים ומרחפנים) ומקורב (לדוגמה מחיישנים בקרקע או על כלים חקלאיים). על פי גישה זו מנותחים נתוני תצפיות רבים שנאספו במערכת החקלאית ובסביבתה הקרובה. הניתוח מאפשר לאפיין את הגורמים המשפיעים על תפוצת הפגעים ולהגיע לתובנות לגבי הדינאמיקה של הפגעים בזמן ובמרחב (Rosenheim and Gratton 2017).

התמקדנו בשלושה פתוגנים שיש להם חשיבות רבה במעשה החקלאי. ההשערה שעמדה בבסיס המחקרים האלו היא שההפצה/תנועה של פגעים במרחב מושפעת מגורמים מקומיים, המצויים בתוך החלקה, ומגורמים חיצוניים, הנמצאים בסביבת החלקה. בנוסף, אנו מניחים שפגעים בעלי אופי שונה מושפעים באופן שונה מהסביבה (Avelino et al., 2012) (פרקי אפידמיולוגיה מרחבית).

כדי לפתח עקרונות כלליים לגבי דרך השימוש וצורת היישום של המימד המרחבי-עיתי בעת פיתוח גישות של ממשק הדברה משולבת אזורית, בחנו את החשיבות שיש לגורמים שונים המאפיינים את החלקה ואת סביבתה. עבור כל אחד מפגעי המודל ניתחנו בשיטת האקואינפורמטיקה נתונים היסטוריים שנאספו מעשרות עד מאות חלקות גידול במשך מספר שנים.

לגישת המידע מספר יתרונות חשובים על פני הגישה האמפירית. ישנם תהליכים שאי אפשר לבחון בקנה מידה קטן (השפעות של שינויי אקלים, שימושי קרקע או טופוגרפיה על תפוצת מחלות ומזיקים) (Drenkhan et al., 2020). בנוסף, מחקר בגישת המידע מתבצע בחלקות מסחריות ולכן תוצאותיו רלוונטיות למערכת החקלאית והן זוכות לאמון של המגדלים. אך חשוב לזכור שאת הקשרים המתקבלים בגישת המידע יש לפרש בזהירות. מתאם בין משתנים לא מרמז על סיבתיות, גם כאשר מספר התצפיות גדול. לכן חשוב לבחון את התופעות ביחס להיפותזות מבוססות ובמידת האפשר לבחון בגישה אמפירית את התוצאות שאין להן תימוכין בתחום.

גישת המידע אינה גישה חדשה והיא תמשיך להתפתח ולהשתפר עם הזמן. למשל באופן איסוף הנתונים ובשיטות ניתוח מותאמות לבסיס נתונים גדולים עם אוטוקורלציות בזמן ובמרחב. מחקר חקלאי יישומי צריך לקחת בחשבון את היתרונות של גישת המידע ובהתאם לתכנן באופן מושכל את איסוף הנתונים בשדה, שילוב של מקורות מידע כמו חישה מרחוק, חיישנים שונים ומידע מטאורולוגי ובנוסף לתכנן את הניסויים המשלימים לגישה זו. מסגרת מחקרית כזו תהיה בעלת תועלת רבה ותאפשר לבסס מסקנות במגוון של סקאלות ולנסח עקרונות לממשק חקלאי מצד אחד מותאם יותר לאזור הגידול ומצד שני למדויק יותר ברמת החלקה. היעד המרכזי בגישה זו היא אופטימיזציה של הממשק החקלאי והיא עשויה להוביל לצמצום השימוש בחומרי הדברה ואף לשיפור היבול בעקבות התמודדות טובה יותר עם הפגע.

מקורות

Avelino J., Romero-Gurdián A., Cruz-Cuellar H. F., and Declerck F. A. (2012) Landscape context and scale differentially impact coffee leaf rust, coffee berry borer, and coffee root-knot nematodes. *Ecological Applications* 22: 584–596.

- Drenkhan R., Ganley B., Martín-García J., Vahalík P., Adamson K., Adamčíková K., et al., (2020) Global geographic distribution and host range of *Fusarium circinatum*, the causal Agent of pine pitch canker. *Forests* 11: 724.
- Ben-Hamo M., Ezra D., Krasnov H. and Blank, L. (2020) Spatial and temporal dynamics of Mal Secco disease spread in lemon orchards in Israel. *Phytopathology* 110: 863-872.
- Bennett A. F., Radford J. Q. and Haslem A. (2006) Properties of land mosaics: implications for nature conservation in agricultural environments. *Biological Conservation* 133: 250–264.
- Blank L., Cohen Y., Borenstein M., Shulhani R., Lofthouse M., Sofer M., et al., (2016) Variables associated with severity of bacterial canker and wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouses. *Phytopathology* 106: 254–261.
- Blank L., Martín-García J., Bezos D., Vetraino A. M., Krasnov H., Lomba J. M., et al., (2019) Factors affecting the distribution of pine pitch canker in northern Spain. *Forests* 10: 305.
- Firester B. Shtienberg D. and Blank L. (2018) Modeling the spatio-temporal dynamics of *Phytophthora infestans* at a regional scale. *Plant Pathology* 67: 1552–1561.
- Goldshtein E., Cohen Y., Hetzroni A., Cohen Y. and Soroker V. (2020) The spatiotemporal dynamics and range expansion of the red palm weevil in Israel. *Journal of Pest Sciences* 93: 691-702.
- Krasnov H., Cohen Y., Goldshtein E., Mendelsohn O., Silberstein M., Gazit Y., et al., (2019) The effect of local and landscape variables on Mediterranean fruit fly dynamics in citrus orchards utilizing the ecoinformatics approach. *Journal of Pest Sciences* 92: 453–463.
- Levin S. A. (1992) The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology* 73: 1943–1967.
- Mendelsohn O., Dayan T., Aidlin-Harari S., Silberstein M., Orlov V. and Blank L. (2018) Mediterranean fruit fly subplot hot spots prediction by experts' experience. *Journal of Applied Entomology* 142: 371–379.
- Metz M. R., Frangioso K. M., Wickland A. C., Meentemeyer R. K. and Rizzo D. M. (2012) An emergent disease causes directional changes in forest species composition in coastal California. *Ecosphere* 3: 1–23.
- Plantegenest M., Le May C. and Fabre F. (2007) Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of the Royal Society Interface* 4: 963–972.
- Rosenheim J. A. and Gratton C. (2017) Ecoinformatics (big data) for agricultural entomology: pitfalls, progress, and promise. *Annual Review of Entomology* 62: 399–417.
- Sokolsky T., Cohen Y., Zahavi T., Sapir G. and Sharon R. (2013) Potential efficiency of grapevine leafroll disease management strategies using simulation and real spatio-temporal disease infection data. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19: 431-438.
- Thébaud G., Sauvion N., Chadø euf J., Dufils A. and Labonne G. (2006) Identifying risk factors for European stone fruit yellows from a survey. *Phytopathology* 96: 890–899.

Tsrur L., Lebiush S., Hazanovsky M., Erlich O. and Blank L. (2020) Aerial dispersal of *Spongospora subterranea* sp. f. *subterranea*, the causal agent of potato powdery scab. European Journal of Plant Pathology. In Press.

Vreysen M. J. B., Robinson A. S. and Hendrichs J. (2007) Area-wide Integrated Pest Management (AW-IPM): Principles, Practice and Prospects. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 17: מודל מרחבי-עתי בסקלה אזורית המתאר את הדינמיקה בזמן ובמרחב של כימשון

בתפוח-אדמה

בנג'מין פירסטר¹, דני שטיינברג² וליאור בלנק²

¹ תיכון האנטר, ניו יורק, ארה"ב

² המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

מבוסס על המאמר-

Firester B, Shtienberg D and Blank L (2018). Modeling the spatiotemporal dynamics of *Phytophthora infestans* at a regional scale. *Plant Pathology* 67: 1552-1561

תקציר

מחלת הכימשון, הנגרמת על ידי האאומיצט *Phytophthora infestans*, היא אחת מהמחלות החשובות בתפוח-אדמה ובעגבנייה בארץ ובעולם. נכון להיום, אין נתונים כמותיים בספרות על ההתקדמות והדינמיקה של המחלה בסקלה אזורית. בהעדר ידע זה, מגדלים מיישמים פונגצידים בשדות תפוחי אדמה כאמצעי זהירות כנגד כימשון, ללא תלות במידת הסיכון. בפרק זה אנו מציגים מודל מתמטי להתפשטות כימשון בקנה מידה אזורי תוך שימוש בנתונים אמפיריים. המודל שימש ליצירת מפות סיכון המכמתות את הסתברות ההדבקה העתידית באזור. מפות סיכון אלו יכולות לעזור למגדלים לייעל את ההתמודדות עם כימשון ואת השימוש בפונגצידים. בנוסף, המודל יכול לשמש בכדי לעקוב אחרי ההתפשטות של זנים מסוימים של הפתוגן אשר עלולים להיות בעלי רמות שונות של אגרסיביות או בעלי עמידויות לפונגצידים שונים. הגישה המוצגת בפרק זה מאפשרת לעקוב אחר התפשטות מחלות בזמן ובמרחב תוך שימוש בנתונים אמפיריים ומאפשר להתחקות אחר מאפיינים שונים הקשורים להפצת מחלות.

אופן הציטוט: פירסטר ב', שטיינברג ד' ובלנק ל' (2021) מודל מרחבי-עתי בסקלה אזורית המתאר את הדינמיקה בזמן ובמרחב של כימשון בתפוח-אדמה. פרק 17 ע' 258-267 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51952>



מבוא

מחלת הכימשון בתפוח-אדמה (איור 1) ובעגבנייה הנגרמת על ידי *Phytophthora infestans* היא מחלת הנוף החשובה ביותר בגידולים אלה בארץ ובעולם (Fry, 2020). אברי הריבוי האל מיניים של הפתוגן, ספורנגיה, נוצרים ברקמות נגועות כששוררים תנאים של לחות גבוהה וטמפרטורות ממוזגות. הספורנגיה מופצים בהתזה בטיפות מים ודרך האוויר למרחקים. קצב התפתחות המחלה בתנאי סביבה מיטביים עשוי להיות מהיר מאד והמחלה עלולה לגרום להרס מוחלט של היבול (Fry, 2020). הגורמים הסביבתיים המשפיעים על ההפצה של מנבגי הכימשון ידועים, אבל

בספרות המקצועית קיים מעט מאד מידע כמותי אודות ההפצה של גורם המחלה במרחב החקלאי (Zwankhuizen et al., 1998) כדי למנוע את התפתחות המחלה והנזק, חלקות תפוח אדמה ועגבנייה מרוססות בתדירות גבוהה, לרוב פעם אחת מידי שבוע ומספר הריסוסים עשוי להגיע ל- 15 ויותר בעונה. הכימסון הוא עדיין מחלה משמעותית הגורמת לנזקים גדולים ליבולים של תפוח-אדמה ועגבנייה מדי שנה ברחבי העולם (Small et al., 2015; Haverkort et al., 2009).



איור 1. כימסון
(*Phytophthora*)
infestans) בעלה תפוח-
אדמה.
תמונה על ידי יגאל אלעד

אירועי הפצה בקנה מידה אזורי חשובים עבור הבנת הדינמיקה בקנה מידה גדול של פגעים (Brown and Hovmøller, 2002). עבור *P. infestans*, הנבגה מתרחשת כאשר רקמות צמח נגועות נחשפות לתנאי לחות יחסית גבוהה ($RH > 90\%$) במשך כ- 10 שעות בטמפרטורות מתונות (10-20 מ"צ). כאשר הלחות היחסית יורדת, המנבגים משתחררים ממקומם ויכול להתפזר בדרכים שונות למגוון מרחקים (Fry et al., 2013) ובכלל זה הם יכולים להיות מופצים למרחקים גדולים באמצעות הרוח (Skelsey et al., 2009). המנבגים יכולים לשרוד ברוח כל עוד הטמפרטורה וקרינת השמש אינן גבוהות מדי (Fry et al., 2013).

מנבגים המופצים ברוח הוא תהליך שקשה לחקור ולכמת. נכון להיום, אין נתונים כמותיים בספרות על הסתברות ההפצה והמרחק המקסימאלי שמנבגי *P. infestans* יכולים להתפשט באמצעות הרוח. הדבר אינו מפתיע בהתחשב בקשיים הברורים בעריכת ניסויים בקנה מידה גדולה עם מחלה זו. תצפיות מפורטות לכימות הדינמיקה הכללית של התקדמות המחלה לא נערכו, וכפי שידועים לנו, לא בוצעו מחקרים אשר כמתו את ההפצה של מנבגי *P. infestans* בקנה מידה אזורי.

החשיבות של חיזוי ההתפשטות של כימסון מוכר בספרות ככלי חשוב במניעת כימסון ויכול לעזור בצימצום השימוש בפונגציטים (Fry, 2016). כדי לייעל את ההתמודדות עם כימסון פותחו מערכות תומכות החלטה (DSS)

(Small et al., 2015; Fry, 2016; Andrade-Piedra et al., 2005). כלים אלה מסייעים לחקלאים להבין את מידת הסיכון, אך כלים אלו מוגבלים היות והם אינם מתייחסים לנוכחות כימסון במרחב. בעבודה זו פיתחנו מודל מרחבי דינמי עבור *P. infestans* בקנה מידה אזורי. המודל פותח תוך שימוש בנתוני ניטור של המחלה באזור מערב הנגב בישראל. המודל אומת באמצעות סט נתונים עצמאי שנאסף באזור בעונות אחרות. המודל שימש ליצירת מפות סיכון המכמתות את הסתברות ההדבקה העתידית באזור. מפות סיכון אלו יכולות לעזור למגדלים לייעל את ההתמודדות עם כימסון ואת השימוש בפונגיצידיים. בנוסף, המודל יכול לשמש בכדי לעקוב אחרי ההתפשטות של זנים מסוימים של הפתוגן אשר עלולים להיות בעלי רמות שונות של אגרסיביות או בעלי עמידויות לפונגיצידיים שונים.

אזור המחקר

הנתונים ששימשו במחקר זה לבנות ולאמת את המודל נאספו מחלקות מסחריות באזור צפון-מערב הנגב בישראל. גודלו של האזור הוא כ- 20×35 ק"מ (~500 קמ"ר). באזור זה מספר רב של שדות תפוחי אדמה לצד גידולי שדה אחרים. האקלים של האזור הוא צחיח למחצה, והמשקעים השנתיים הממוצעים הם כ- 250 מ"מ. בעונה מבוצע ניטור אינטנסיבי וכל חלקה מנוטרת פעמיים בשבוע לתסמינים של כימסון.

בסיס הנתונים

הנתונים ששימשו לבניית המודל נאספו בין החודשים אוקטובר ומרץ בשנים 2004-5. הנתונים בהם השתמשנו כדי לאמת את המודל נאספו בין החודשים אוקטובר ומרץ בשנים 2007-8, 2014-5 ו 2015-6. המודל מבוסס על הנתונים הבאים: התאריך שבו זוהו לראשונה תסמיני כימסון בכל חלקה, המיקום של השדה, ונתונים מטאורולוגיים (טמפרטורה, לחות יחסית, וכיוון רוח) שנאספו על ידי השירות המטאורולוגי במרווחים של 10 דקות בתחנה הממוקמת בתוך האזור. בעזרת נתונים אלה, חישבנו שתי פונקציות הסתברות נפרדות כדי להעריך את ההסתברויות של הדבקת שדה לא נגוע על ידי שדות נגועים בכימסון. פונקציית הסתברות אחת מבוססת על המרחקים בין השדות, והשנייה מבוססת על הזווית בין הווקטור משדה נגוע וווקטור הרוח. פונקציית הסתברות אלה שימשו: (א) ליצור מודל מרחבי המזהה את כיוון ההדבקה של הפתוגן, וכן (ii) ליצור מפות סיכון המנבאות את ההסתברות שאזורים לא נגועים במרחב יודבקו על ידי שדות נגועים.

פיתוח המודל

חישוב פונקציית המרחק

השתמשנו בנתוני 2004-5 כדי לחשב את ההסתברות של הפתוגן להתפשט במרחב כפונקציה של המרחק משדות נגועים. בשבוע הראשון של דצמבר 2005 (המכונה להלן "שבוע 1"), המחלה זוהתה לראשונה בשלושה מקומות סמוכים. בשבוע הבא (המכונה להלן "שבוע 2"), המחלה התפשטה ל-10 שדות בכיוונים דומים. בהתבסס על כיוון הרוח, זה היה סביר מאוד כי 10 מיקומים נגועים אלה מקורם באחד משלושה המקומות החולים בשבוע הקודם. יצרנו מעגלים קונצנטריים סביב שלושת השדות הנגועים בשבוע הראשון עם ברדיוס של 1,000 מטרים. ההסתברות של הדבקה במרחק נתון מנקודת המוצא לאחר שבוע הוא פרופורציונלי לחלק היחסי של שדות תפוח-אדמה במרחק שהודבקו בשבוע השני. הסתברויות אלו השתנו ביחס הפוך עם המרחק (איור 2א).

אותם נתונים נותחו גם לכימות ההשפעה של הזווית מווקטור הרוח. לשם כך, בנינו אלגוריתם שעובר על נתוני האקלים ומזהה את התנאים המתאימים להנבגה: תנאי לחות של 90% ומעלה למשך 10 שעות בטמפרטורה שגבוהה מ 10 מעלות צלסיוס. כדי שהמנבגים יתייבשו הטמפרטורה צריכה לעלות אך עד סף מסוים של קרינה שעשוי לפגוע במנבגים. תנאי לחות דומים צריך גם כדי להדביק צמחים בשדה היעד. תנאים אלו צרכים להתקיים 5-8 ימים לפני התצפית של תסמיני המחלה. תנאים אלו זהו על ידי האלגוריתם והגדירו את מסגרת הזמן הרלוונטית להפצה. כיוון הרוח במסגרת הזמן הזו זוהתה כווקטור ההפצה.

לכל אחד מעשרת אירועי ההדבקה בשבוע השני חושב הזווית מווקטור ההפצה שזוהה (איור 2). ההסתברות של הדבקה מנקודת המוצא הוא פרופוזיונלי לחלק היחסי של השדות בחלק שנתחם על ידי זווית זו. יש לציין שההסתברות היא יחסית ואינה מוחלטת ומשמשת לבחינת סבירות ההדבקה בכל מיקומי השדות. לכל שדה חדש שהודבק, המרחק לכל שדה שכבר היה מודבק בשבוע הקודם חושב ונבחנה ההסתברות בהתאם לשתי פונקציות ההסתברות שתוארו. ההנחה היא שכל שדה הודבק ממקור יחיד, כך שנבחרה ההסתברות המחושבת הגבוהה ביותר מכל ההסתברויות שמקורן בכלל השדות המודבקים. נבחנו 3 יחסים המתארים את התרומה של פונקציית המרחק ופונקציית הכיוון: 1:1, 1:6, ו-1:10 (איור 3).

בניית מפות הסיכון

מפות הסיכון נוצרו עם נתוני עונת 2014-15. על ידי איחוד מתמטי של כל ההסתברויות עבור כל נקודה במרחב מכל מקורות המדבק האפשריים. לפיכך, מפת הסיכונים מציגה את ההסתברות היחסית של הדבקה עבור כל מיקום במשך שבוע אחד במהלך העונה. ההסתברויות הן יחסיות ותהיינה שונות בכל שבוע, שכן הן תלויות במספר השדות הנגועים. כדי ליצור את מפת הסיכון, לוקחים בחשבון את המרחק (γ) והזווית (θ). בהינתן וקטור הרוח הנוכחית (ϕ) הנוסחה הבאה מחשבת את ההסתברות של ההדבקה עבור כל נקודה במרחב (x, y):

$$P(x, y) = \frac{\frac{10^{2.996}}{\sqrt[3]{\gamma^4}} + 6 * \frac{10^{-0.524}}{|\theta - \phi|^{0.472}}}{7}$$

נוסחה זו מייצגת את הממוצע המשוקלל של גרסיות המרחק והזווית מווקטור הרוח, אשר ינועו בטווח שבין 0 ו-1.

אימות המודל

המודל אומת עם נתונים שנאספו בעונות 2006-7, 2014-15 ו-2015-16. סך הכול נבחנו 10 שבועות. אימות המודל בשיטות מקובלות לא אפשרי בגלל שהיקף המידע מוגבל (מספר קטן יחסית של שדות הודבקו בכל שבוע) ובגלל שהוא מבוסס רק על נתוני נוכחות (Presence only). למרות שהמחלה לא נמצאה בשדות רבים, אין ודאות שהמחלה לא הייתה נוכחת (False negative).

לשם אימות המודל השתמשנו במיקומי השדות המודבקים ו-70 אתרים שנבחרו אקראית באזור. בנינו אלגוריתם הבוחן את כל כיווני הרוח האפשריים מ 0 ועד 360 מעלות באינטרבלים של 2 מעלות, ועבור כל כיוון רוח מכל שדה שכבר היה מודבק, האלגוריתם חישב את ממוצע ההסתברויות של השדות הנגועים והנקודות האקראיות. מכיוון שאין שום דרך לדעת בדיוק היכן לא הייתה מחלה, הנקודות האקראיות מייצגות שדות לא מודבקים. גם אם חלק מהנקודות

האקראיות היה בשדה נגוע, עדיין כיוון הרוח הממוצע מייצג שדות לא נגועים. הערכים בכיוון הרוח שהניבו את ההפרש החיובי הגדול ביותר בהסתברות ההדבקה בין כיוון הרוח הממוצע אל השדות הנגועים בפועל והממוצע למיקומים שנבחרו באקראי ייצגו את כיווני הרוח שרחוקים מאקראי ולכן תומכים במודל. כיווני רוח אלו הושאו לכיווני הרוח שנצפו ביום בו התרחשה ההפצה. אם כיוון הרוח החזוי תואם את כיוון הרוח הנצפה, הרי המודל מצליח להבדיל בין שדות נגועים לשדות לא נגועים.

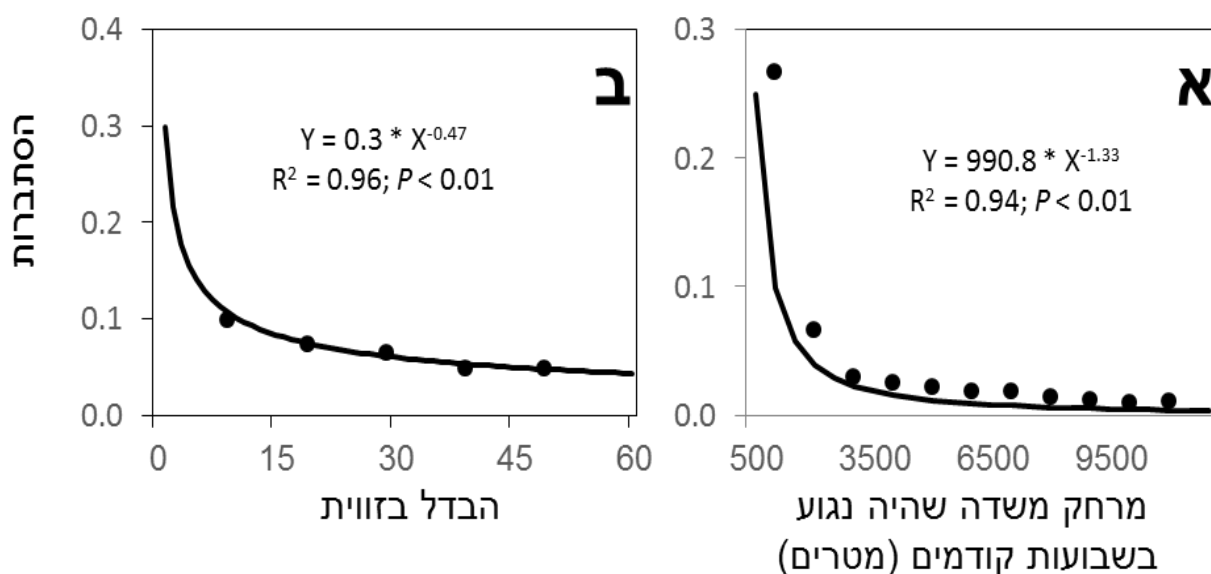
סימולציות של התפשטות גנוטיפים שונים

בכדי להדגים את יתרונות המודל, בנינו שתי סימולציות באמצעות המודל- סימולציה של גנוטיפים שעמיד לחומר הדברה (לדוגמא, מפנוקסם) וגנוטיפ בעל אגרסיביות גדולה. לשם כך בחרנו בצורה אקראית שישה מיקומים של שדות נגועים. בשלושה שדות יש פתוגן (G1) wild type, שניים בעלי עמידות לחומר הדברה (G2) ופתוגן עם אגרסיביות גבוהה.

פיתוח המודל

חישוב פונקציות מרחק וזווית מוקטור הרוח

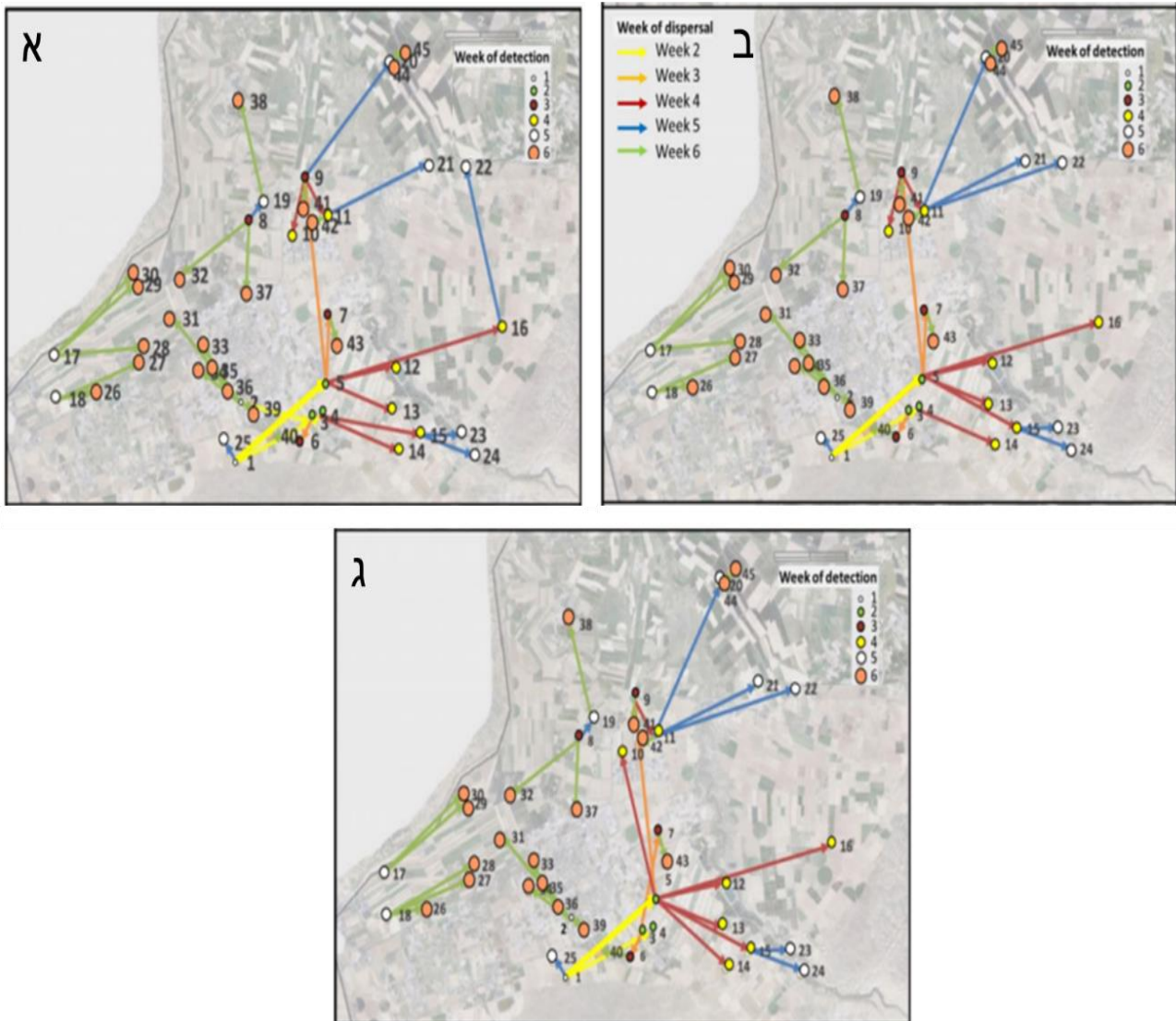
חישבנו את הסתברויות ההפצה במרחקים שונים (איור 2א) ובזוויות שונות מוקטור הרוח (איור 2ב) באמצעות נתוני ניטור ונתונים מטאורולוגיים מעונת 2005-6. שתי הפונקציות הן היפרבוליות. הערך הקריטי בו פונקציית המרחק מגיע ל-1 הוא 295 מטרים, פחות מהרדיוס של שדה ממוצע.



איור 2. ההסתברות שמחלה בשדה מסוים מקורה בשדה נגוע בשבועות קודמים כפונקציה של: מרחק בין שדות (א) וההבדל בזווית מוקטור הרוח (ב). הנתונים לאנליזה זו מקורם בנתונים מעונת 2004-5.

בנינו שלושה מודלים בכדי למצוא את הפרמטרים המתאימים למודל הסופי (איור 3). היחס בין מרכיב הרוח למרכיב המרחק שנראה המתאים ביותר הוא 1:6 היות והחיבורים בין שדות נגועים לשדות מודבקים הוא הסביר ביותר. לדוגמא, שדה 22 קרוב דומה מאוד לשדה 21 בזווית. היות והם הודבקו באותו זמן והם במקומות די דומים, הגיוני היה ששניהם הודבקו על ידי אותו מקור או לפחות ממקורות קרובים. לכן יחס של 1:3 (איור 3א) פחות סביר. באופן דומה,

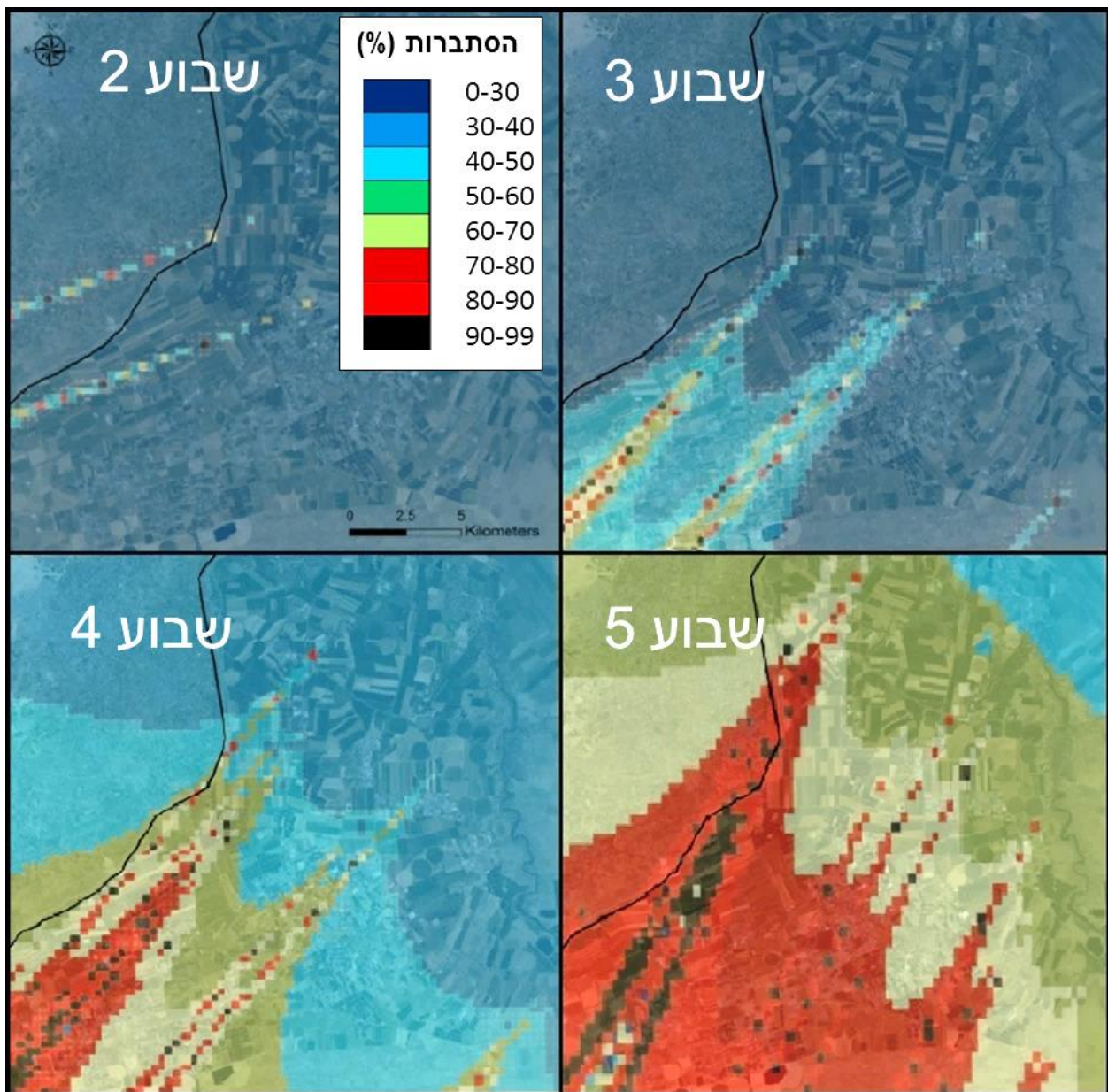
ההדבקה של שדה 7 משדה מקור 3 אינו סביר היות ששדה 5 קרוב יותר וההבדל בזווית הרוח די קטן. לכן יחס 1:10 (איור 3ג) פחות סביר. בעיות אלו אינן מתקיימות ביחס של 1:6 (איור 3ב).



איור 3. אימות של המודל באמצעות נתוני 2004-5. מוצגים שלושה מודלים השונים ביחס התרומה של הרוח והמרחק לתחזית המודל- א. 1:1; ב. 6:1 ו- ג. 10:1. העיגולים והמספרים הסמוכים מייצגים את חלקות תפוחי-האדמה המאולחים. זמן ההדבקה מצויין על ידי צבע חצים וגודל העיגול. החצים מציינים איך המחלה התפשטה משדה לשדה, כאשר כל חץ מציינ את המקור עם ההסתברות הגבוהה ביותר להדביק את שדה היעד עלפי המודל. שדות שאין חץ המוביל אליהם, הם או שדות שהודבקו בשבוע הראשון או שנקבע על ידי המודל שהם הודבקו ממקור חיצוני שאינו חלקה מודבקות קודמת שנוטרה במחקר זה.

מפות סיכון

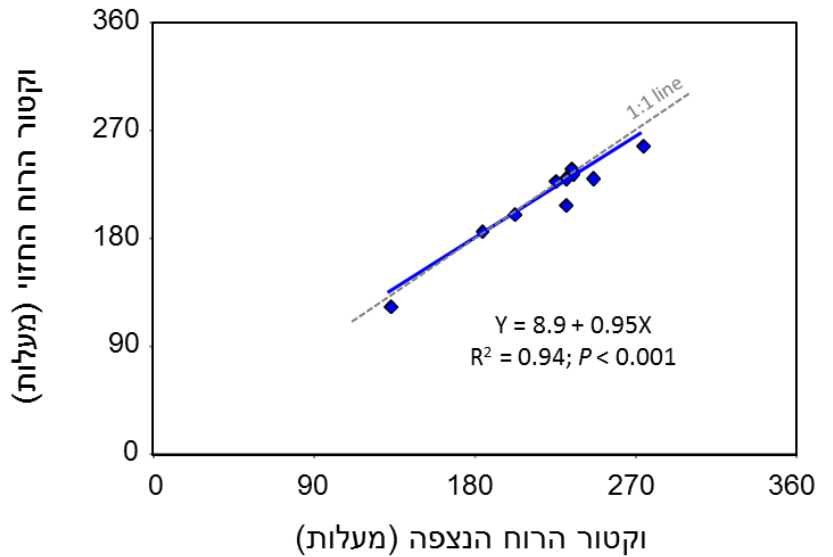
מפות הסיכון מדגימות כיצד המודל הדינמי במרחב ובזמן ישתמש במידע על שדות נגועים ובנתונים מטאורולוגיים כדי לכמת את הסתברויות היחסיות להדבקה בכלל האזור (איור 4). ביחס לאזור בו נמצאים השדות הנגועים, ההסתברות להדבקה באזורים הדרום מערביים גבוהות יותר. ככל שהעונה מתקדם, שטח האזור, שחזוי להיות בעל הסתברות גבוהה להדבקה, גדל.



איור 4. מפות סיכון שנוצרו באמצעות מידע שנאסף ב-2014-15. הצבעים השונים מייצגים את הסתברות ההתפשטות של המחלה מהשדות הנגועים במערב הנגב. כל מפה מייצגת את הסתברות ההפצה בכל שבוע. (א) 1 ועד ל-6 בנובמבר 2014. כיוון וקטור רוח המצטבר היה 249° ; (ב) 7 ועד ל-13 בנובמבר 2014. כיוון וקטור רוח המצטבר היה 226° ; (ג) 14 ועד ל-20 בנובמבר 2014. כיוון וקטור רוח המצטבר היה 220° ; (ד) 21 ועד ל-26 בנובמבר 2014. כיוון וקטור רוח המצטבר היה 220° .

אימות המודל

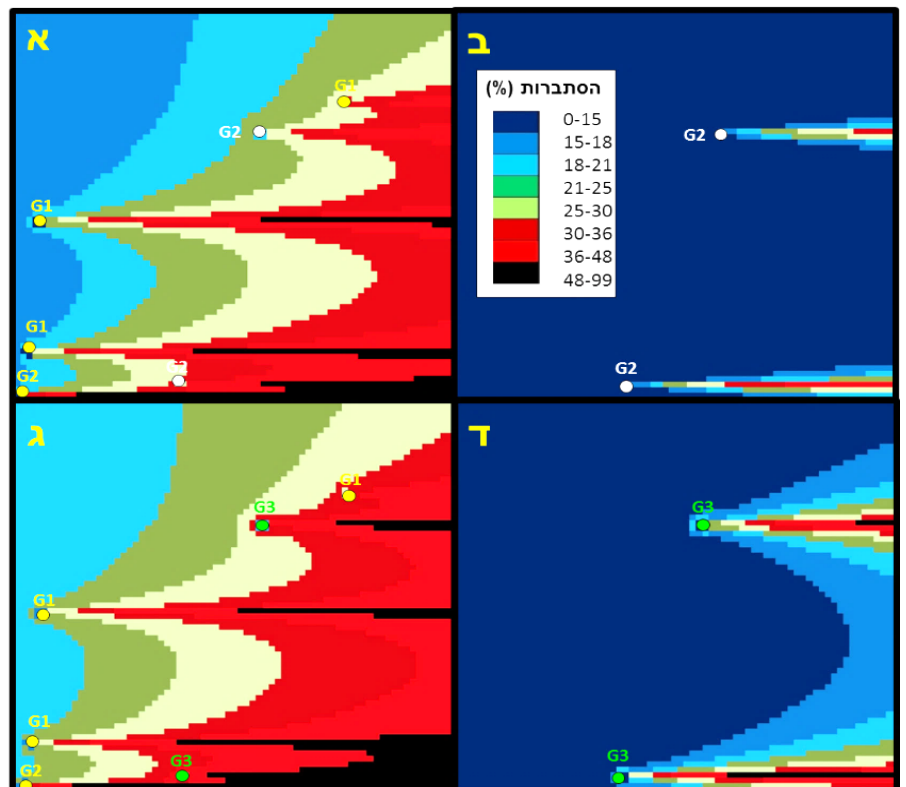
כאשר השוואנו את ערכי כיוון הרוח החזוי לערכי כיוון הרוח הנצפה, ההפרש הממוצע היה 7.7 מעלות (שורש ממוצע הריבועים, RMS, שווה ל-9.66) וההבדל בין הממוצעים עמד על 3.1 מעלות. באיור 5 אפשר לראות את ההשוואה בכיוון הרוח בין חזוי לנצפה ב-10 שבועות שונים ($r=0.94$; $P\text{-value}<0.001$).



איור 5. אימות של המודל האמצעות נתונים מעונות 2006-7, 2014-2015 ו-2015 (שלא שימשו לבניית המודל). נקודות מייצגות כיווני רוח חזויים ונצפים. קו הרגרסיה מציין את הקורלציה בין חזוי למצוי והקו האפור מייצג התאמה מושלמת תאורטית בין שני המשתנים.

סימולציות של התפשטות גנוטיפים שונים

הסימולציות מראות שהמודל מאפשר לזהות, מיתוך סך כל ההסתברויות שמקורן בכל השדות הנגועים באזור (איור 6א), את ההסתברות להדבקה על ידי שדות נגועים מסוימים (איור 6ב). בנוסף, הסימולציות מדגימות את העליה בהסתברות ההדבקה כאשר יש גנוטיפ אגרסיבי יותר, גם בסך כל ההסתברויות באזור (איור 6ג) וגם כאשר משווים רק שדות מסוימים (איור 6ד).



איור 6. שימושים אפשריים של המודל על ידי יצירת סימולציות של מפות סיכון. בסימולציות אלו כיוון הרוח נקבע ל 90 מעלות (רוח מערבית). העיגולים מייצגים שישה שדות מודבקים שמיקומם נקבע באופן אקראי. G1 - פתוגן wild type; G2 - פתוגן עם רגישות לרודמיל אך אם אגרסיביות זהה ל wild type ו-G3 - פתוגן עם אגרסיביות גבוה.

בעבודה זו אנחנו מציעים מתודולוגיה חדשה לזהות את מסלול ההפצה של מחלות בזמן ובמרחב ופיתוח מודל דינאמי עבור *P. infestans*. בקנה מידה אזורי תוך שימוש בנתוני ניטור היסטוריים של המחלה שנאספו באזור צפון-מערב הנגב. בעיה ידוע עם נתוני מחלות רבות היא שבדרך כלל הנתונים מתעדים רק את האתרים בהם המחלה נצפתה (persence-only), אך לא מאשרים את האתרים בהם לא נצפתה המחלה. מחקרים בתחום חיפשו דרכים להתגבר על מגבלות כאלה (Sutrave et al., 2012). טכניקות אימות מודל רבות בדקו את המודלים על ידי השוואת ההצלחות והכישלונות של המודל באמצעות סימולציה לעומת נתוני אמת (Rykiel 1996), אבל כאשר רק נתוני נוכחות זמינים, לא ניתן להשתמש בטכניקות אלה. במחקר זה, אנו מציעים שיטה של אימות מודל שיכול להשתמש בנתוני נוכחות בלבד ואינו דורש כמויות גדולות של נתונים, אבל עדיין יכול להעריך ביעילות את המודל.

בשל הזמינות של נתוני נוכחות בלבד, הדרך היחידה לאמת את המודל הייתה תוך בחינת ווקטור הרוח. לעומת כיוון הרוח הנצפה, המודל היה מסוגל לחזות את כיוון הרוח בסטייה של מעלה בחלק מהשבועות. בנוסף, בתוך כל שבוע של התפשטות, המודל לא רק ניבא בדיוק כמה ימים של התפשטות היו בכל שבוע (מבוסס על מזג אוויר מתאים עבור הפתוגן) אלא גם מצא במדויק את כל הימים בהם התקיימו תנאים מתאימים. זה מוכיח שהמודל יכול לייצג את המורכבות של התפשטות על ידי הרוח בהצלחה. למרות שהרוח משנה את כיוונה בכל יום, עדיין המודל הצליח לכמת את ההתפשטות בצורה מדויקת. המתודולוגיה שפותחה בעבודה זו היא ספציפית לכימסון. הקלט הדרוש עבור המידול הוא מינימלי, וכולל את מיקומם של שדות נגועים בעונה והפרופורציה של שדות תפוחי האדמה באזור. לכן, המודל יכול להיות מיושם גם באזורים אחרים תוך שינויים לא רבים.

הערכת הסיכון וחיזוי כימסון יכולים להיות כלי רב עוצמה כדי להילחם בכימסון ולעזור למנוע שימוש עודף בפונגיצידיים. בידוד אזורים הנמצאים בסיכון יכול לעזור למגדלי להגן טוב יותר על החלקות שלהם תוך שימוש בטיפול התואם את מידת הסיכון, אבל ללא ספק היכולת של המודל לאתר אזורים הנמצאים בסיכון נמוך הוא חשוב לפחות באותה מידה. בחלקות בעלות סיכון נמוך המגדלים יכולים לרסס פחות פונגיצידיים וכך לחסוך עלויות ומצמצם סיכונים סביבתיים. ידיעת הערכת סיכונים נכונה יכולה לעזור לחקלאים לנטר טוב יותר על החלקות שלהם ולמקד את המשאבים שלהם בתחומי הסיכון הרלבנטיים ביותר.

יתרון נוסף של שימוש במודל שלנו הוא היכולת לעקוב אחרי ההתפשטות של גנוטיפים שונים של הפתוגן. זה יעזור מגדלים לרסס את הפונגיצידיים המתאימים. לדוגמא, ל- *mefenoxam / metalaxyl* יעילות גבוהה מאוד כנגד זנים רגישים של המחלה, אבל הם גם מאוד יקרים. קוטלי פטריות פרוטקטנטיים (כגון *mancozeb* או *chlorothalonil*) הם פחות יעילים אבל זולים יחסית. שימוש בקוטלי פטריות פרוטקטנטיים בזמנים עם סיכון נמוך של התפשטות הפתוגן יש השלכות כלכליות; החלת קוטלי פטריות פרוטקטנטיים באזורים בהם נמצא הפתוגן העמיד עלולה לגרום להפסדים משמעותיים. עם זאת, מגדלים לא תמיד יודעים את הסבירות של התפשטות הפתוגן ואת התגובה של אוכלוסיות הפתוגן לפונגיצידיים שונים. יתכן כי תבדידים עמידים בחלקה יכולים לסכן שדות סמוכים. כמו כן ייתכן ששדות אחרים (אפילו באזורים אחרים) יהיו בסכנה. הבנת ההיבטים במרחב ובזמן של התפשטות זיהום תשפר בחירת חומר ההדברה ותקטין את הסיכונים של מגיפות לא מבוקרות.

- Andrade-Piedra J. L., Hijmans R. J., Juárez H. S., Forbes G. A., Shtienberg D. and Fry W. E. (2005) Simulation of potato late blight in the Andes. II: Validation of the LATEBLIGHT model. *Phytopathology* 95: 1200–1208.
- Brown J. K. and Hovmøller M. S. (2002) Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science* 297: 537–541.
- Fry W. E. (2016) *Phytophthora infestans*: New tools (and old ones) lead to new understanding and precision management. *Annual Review of Phytopathology* 54: 529–547.
- Fry W. E. (2020) *Phytophthora infestans*: The itinerant invader; “late blight”: The persistent disease. *Phytoparasitica*. 48: 87-94.
- Fry W. E., McGrath M. T., Seaman A., Zitter T. A., McLeod A., Danies G., et al., (2013) The 2009 late blight pandemic in the eastern United States—causes and results. *Plant Disease* 97: 296–306.
- Haverkort A. J., Struik P. C., Visser R. G. F. and Jacobsen E. (2009) Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato Research* 52: 249–264.
- Skelsey P., Kessel G. J. T., Holtslag A. A. M., Moene A. F. and Van der Werf W. (2009) Regional spore dispersal as a factor in disease risk warnings for potato late blight: a proof of concept. *Agriculture and Forest Meteorology* 149: 419–430.
- Small I. M., Joseph L. and Fry W. E. (2015) Development and implementation of the BlightPro decision support system for potato and tomato late blight management. *Computers and Electronics in Agriculture* 115: 57–65.
- Zwankhuizen M. J., Govers F. and Zadoks J. C. (1998) Development of potato late blight epidemics: Disease foci, disease gradients, and infection sources. *Phytopathology* 88: 754–763.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 18: הדינמיקה של התפשטות קמחון הגפן בזמן ובמרחב בסביבה החקלאית

הלנה קרסנוב^{1,2}, דודו חקוקי¹, יפית כהן², שמוליק עובדיה³ וליאור בלנק¹

- ¹ המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון
- ² המחלקה להנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון, המכון להנדסת מערכות חקלאיות וביולוגיות, מכון וולקני - מינהל המחקר החקלאי, דרך המכבים 68, ראשון לציון
- ³ יקבי כרמל

תקציר

אזורים חקלאיים מאופיינים בנוף הטרוגני הכולל בין השאר מגוון של גידולים חקלאיים לצד שטחים טבעיים, מיוערים, בנויים ועוד. לנוף ולסביבה יש השפעה על הדינמיקה של אוכלוסיות ותהליכים אקולוגיים שונים במרחב ובזמן. מחקר בקנה מידה גדול מקבל בשנים האחרונות תשומת לב רבה יותר כחלק מההבנה שהמרחב יכול להשפיע על רמת החלקה הבודדת. שימוש בכלים ממוחשבים בניתוח מרחבי בעזרת מערכות מידע גיאוגרפיות (ממ"ג) (Geographic Information Systems; GIS) להבנה ולכימות של תופעות מרחביות נעשה בשנים האחרונות נפוץ יותר ומאפשר הבנה טובה של תופעות מרחביות שלא התאפשרו באמצעי בקרה וניטור מסורתיים. הבנת ההשפעות של גורמים מרחביים על פגעים שונים בחקלאות יכולה לשפר את ממשק הדברת המזיקים. בפרק זה בחנו את ההשפעות של הנוף והסביבה (לדוגמא- טופוגרפיה, אקלים וקרע) בסקאלה רחבה על התפוצה של קימחון הגפן (*Uncinula necator*). הפגע נوتر ב- 218 חלקות כרמים מסחריות של גפן היין באזור שפלת יהודה. מצאנו שברמה המקומית הנגיעות של קימחון הגפן תלויה במידה רבה בזן הגפנים, בשטח החלקה ובמספר הריסוסים שיושמו בה. בנוסף, מצאנו שקימחון הגפן מושפע משטחי מטעים נשירים ומקרבה ליישובים. הממצאים של המחקר מאשרים את השפעתם של גורמים מסוימים הן בסקאלה המקומית והן בסקאלה האזורית.

אופן הציטוט: קרסנוב ה', חקוקי ד', כהן י', עובדיה ש' ובלנק ל' (2021) **הדינמיקה של התפשטות קימחון הגפן בזמן ובמרחב בסביבה החקלאית**. פרק 18, ע' 268-277 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51958>



מבוא

מחלת קימחון הגפן (*Uncinula necator*) (איור 1) היא אחת ממחלות העלים והפרי החשובות בכרם בארץ ובעולם (Gadoury et al. 2012). גורם מחלת קימחון הגפן היא פטרייה שהינה טפיל אובליגטורי התוקפת את הגפן בכל שלב בחייו אבל קיימים הבדלים ברמת הפטוגניות בגפנים על פי שלבי התפתחות השונים של הגפן. המחלה מתפתחת על כל אברי הגפן הירוקים, אך הנזק המשמעותי נגרם לאשכולות והוא יכול לגרום לאובדן מוחלט של היבול. הפטרייה מופצת על ידי נבגים המופצים על ידי הרוח (Gadoury et al. 2012; עובדיה 2005). מקור הפתוגן בחוף המזרחי של

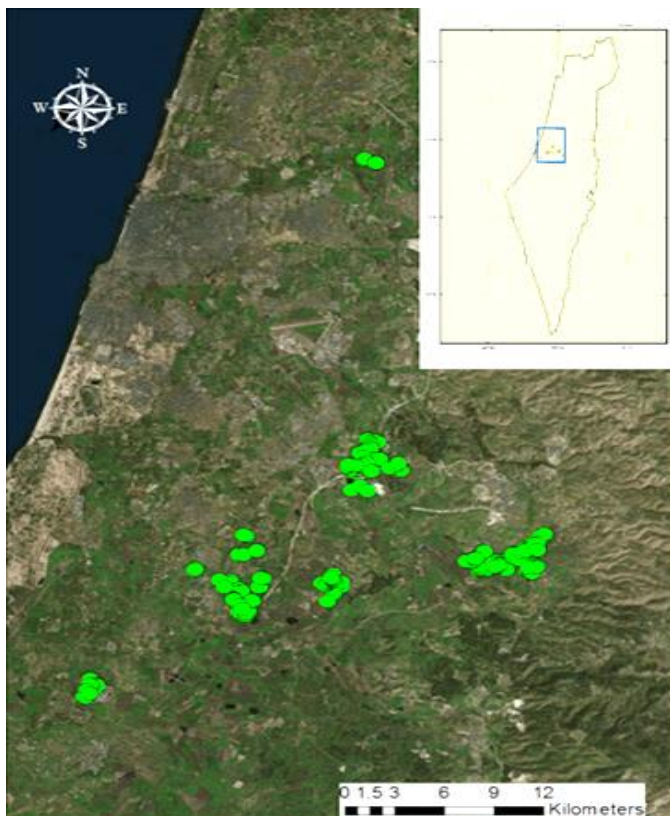
ארה"ב, משם הופץ במאה ה-19 לאירופה ולשאר העולם. במחקר זה אנו בדקנו את השפעת מאפייני החלקות, הנוף והתכסית על קמחון הגפן בחלקות כרמים באזורים שונים בארץ. מחקר זה משפר את ההבנה שלנו על הקשר בין הסביבה של הכרמים ושל השינויים במרחב ובזמן, והשפעתו על האפידמיולוגיה של קמחון הגפן. ככל הידוע לנו מהספרות, לא נערך בארץ מחקר שעסק באפידמיולוגיה המרחבית של פגע זה.



איור 1. תסמיני קמחון הגפן (*Uncinula necator*) בעלה (ימין) ובאשכול (שמאל). תמונות על ידי יגאל אלעד

איסוף הנתונים

שטח המחקר ממוקם בנוף חקלאי מעורב במרכז הארץ (איור 2). השטח מאופיין בשימוש חקלאי מגוון עם התערבות אנושית אינטנסיבית. נעשתה דיגיטציה של 218 חלקות כרמים. הדיגיטציה בוצעה על צילומי אוויר ברזולוציה גבוהה (0.25 מ'). הנתונים עליהם מבוסס המחקר נאספו בשנים 2013, 2014, 2016 ו-2017. לא נכללו נתונים מ-2015 בגלל היותה שנת שמיטה.



איור 2. מיקום אזור המחקר בישראל (ימין למעלה) ומיקום חלקות הכרמים המנוטרות (עיגולים ירוקים)

כימות המשתנים

ניטור קימחון הגפן בכרם

החל מתחילת הבלבוב ועד לשלב ראש גפרור (שלב פנולוגי המתאר את תחילת יצירת האשכול) נבדקה שכיחות המחלה בעלים. משלב ראש גפרור ועד לתחילת בוחל (השלב של שינוי צבע הגרגירים) נבדקו האשכולות. בכל חלקה נבחרו ארבע נקודות דגימה בצורה אקראית- בשתי שורות. שתי נקודות דגימה בכל שורה המרוחקות כ- 30 מטר האחת מהשנייה. בכל נקודת דגימה נספרו 50 עלים או אשכולות (תלוי במצב הפנולוגי של הגפן) ברצף. בסיום הספירה של ארבע נקודות הדגימה, חושבה שכיחות העלים/האשכולות הנגועים מתוך 200 שנדגמו.

המשתנה המוסבר

עבור הקמחון, המשתנה המוסבר הוא ערך הנגיעות המקסימאלי שנמצא במהלך כל העונה, כלומר הערך הגבוה ביותר של אשכולות נגועים מתוך ה 200 שנדגמו באופן אקראי (MLI). ערך זה נבחר היות והוא מאפשר השוואה בין חלקות ובין שנים ואינו מושפע מהפנולוגיות השונות של השנים השונות שעשויות להשפיע על ממוצע ו/או סה"כ הנגיעות בעונה בכל חלקה.

משתנים מקומיים

נתונים לגבי זן הגפן, גיל החלקה ומספר ריסוסים התקבלו מבסיס הנתונים של יקבי כרמל (טבלה 1).

טבלה 1. תיאור סטטיסטי של המשתנים המקומיים שנבחנו

משתנה מקומי	ממוצע \pm שגיאת תקן (מינימום-מקסימום)
שטח חלקה (ha)	21.86 \pm 12.04 (3-65)
זן הגפנים לפי רגישות לקימחון הגפן	רגיש (30); לא רגיש (58); רגישות בינונית (59); לא ידוע (20)
גיל החלקה (שנים)	18.2 \pm 5.2 (7-38)
תאריך הבציר- מוקדם (יולי-אוגוסט) או מאוחר (ספטמבר-אוקטובר)	מוקדם (64); מאוחר (104)
מספר ריסוסים נגד קימחון הגפן	3.56 \pm 0.07 (0-9)

משתני נוף

מיפוי שימושי הקרקע

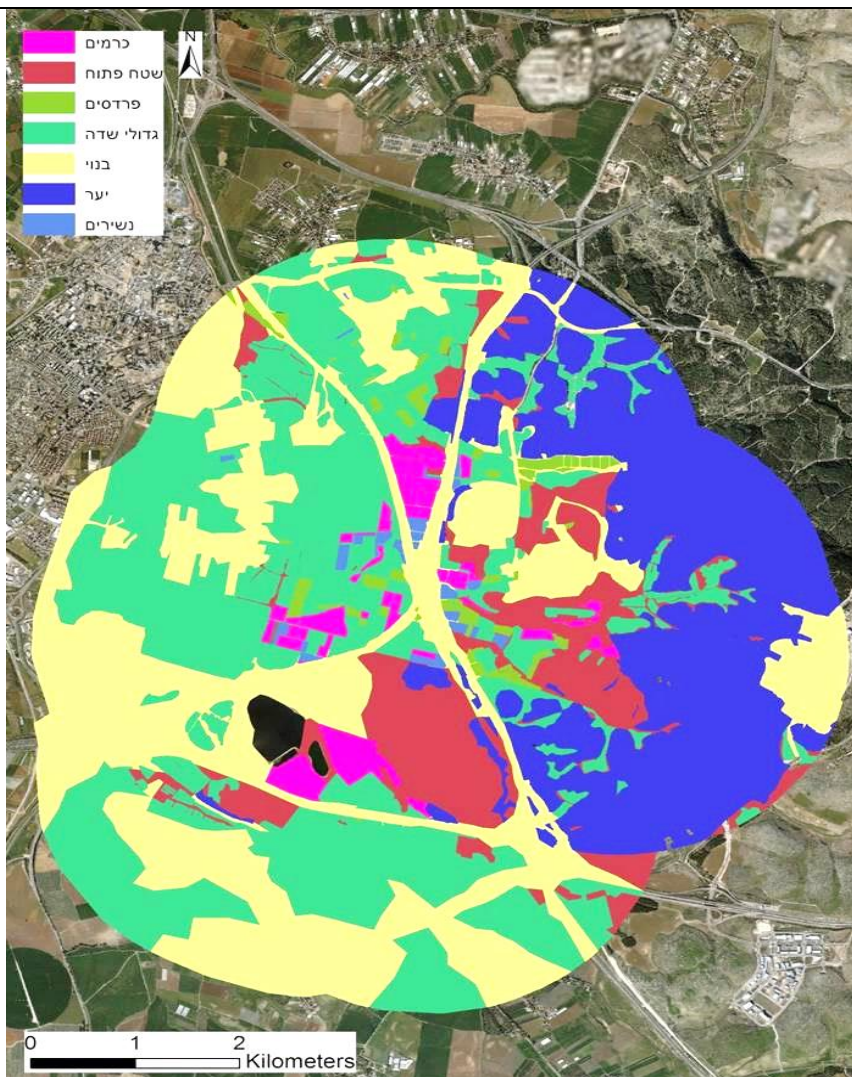
שכבת שימושי הקרקע של עד 1 ק"מ מהכרמים נוצרה באמצעות דיגיטציה ידנית על בסיס צילומי אוויר (Orthophotos) ברזולוציה גבוהה (0.25 מ') (המרכז למיפוי ישראל) תוך שילוב שכבות מידע קיימות ממשרד החקלאות והממ"ג הלאומי. מיפוי שימושי קרקע מסביב לכל כרם כלל: 1) שטחים חקלאיים שהתחלקו לנשירים, גד"ש, פרדסים ואחרים (לדוגמה בריכות דגים, חממות) 2) יערות; 3) כבישים ו-4) שטחים בנויים (טבלה 2; איור 3). התהליך נעשה בסביבת תוכנת ArcMap 10.5 (ESRI).

לאחר שבחנו את התפלגות שימושי הקרקע השונים סביב הכרמים, החלטנו להוציא מהמשך האנליזה את שימושי הקרקע שהופיעו רק ליד מספר קטן של כרמים: יערות, פרדסים, שימושים חקלאיים אחרים ושטחים בנויים. במקום שטח של שטחים בנויים מסביב לכרמים חישבנו עבור כל כרם את המרחק הקצר ביותר לשטח הבנוי. במקום שטח **270** **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני)

כרמים חישבנו שטח גוש כרמים הכולל את השטח של כל הכרמים הנמצאות בסמוך לכרמים המנוטרים. משתנה זה מתאר בצורה טובה יותר את הפיזור האמיתי של הכרמים שלרוב מגודלים בגושים.

טבלה 2. תיאור סטטיסטי של המשתנים המרחביים והנופיים

ממוצע \pm שגיאת תקן (מינימום-מקסימום)	משתנה מרחבי
11.79 ± 11.5 (0-50.63)	שטח בנוי מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
0.04 ± 0.32 (0-2.55)	שטח מיוער מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
11.72 ± 0.50 (0.12-47.90)	שטח גוש כרמים מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
18.25 ± 15.04 (0-68.29)	שטח גד"ש מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
11.96 ± 9.63 (0-40.93)	שטח מטעים מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
13.29 ± 15.14 (0-47.54)	שטח גידולים חקלאיים אחרים (לדוגמא- ירקות, פרחים) מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
1.27 ± 3.36 (0-23.81)	שטח הדורים מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
34.72 ± 21.21 (1.82-89.48)	שטח פתוח מסביב לחלקה, 500 מטר (ha)
685 ± 21.58 (0-1838.4)	מרחק מישוב הכי קרוב (מ')



איור 3. דוגמא למיפוי שימושי קרקע בחלק מאזור המחקר.

משתני מבנה הנוף

מבנה הנוף כומת באמצעות ארבע אינדקסים (טבלה 3): מספר הכתמים, צפיפות גבול הכתמים (Edge density), קישוריות בין כתמים (Patch cohesion index) ואינדקס שאנון למגוון. החישוב של שלושת האינדקסים הראשונים נעשה עבור חלקות של מטעים נשירים שבמרחק 500 מטרים מהכרמים.

טבלה 3. משתניים נופיים

משתנה	ממוצע \pm שגיאת תקן (מינימום-מקסימום)
מספר הכתמים	2.5 \pm 1.8 (1-7)
צפיפות גבול הכתמים	0.007 \pm 0.0003 (0.0001-0.018)
קישוריות בין כתמים	9.02 \pm 0.04 (5.4-9.6)
אינדקס שאנון למגוון	1.34 \pm 0.17 (0.6-1.86)

משתנים טופוגרפיים

בנוסף, נעשה שימוש במודל פני השטח Digital Elevation Model (DEM) ברזולוציה של 33 מטר פיקסל ליצירת שכבות גובה טופוגרפי, מפנה זווית המדרון (טבלה 4).

טבלה 4. משתנים טופוגרפיים

משתנה	ממוצע \pm שגיאת תקן (מינימום-מקסימום או מספר חלקות עבור משתנה קטגוריאלי)
גובה	139 \pm 4.96 (40-247)
מפנה	North (72); East (18); South (24); West (76)
שיפוע	3.57 \pm 0.44 (0-33.5)

ניתוח הנתונים

בחנו קורלציה בין כל המשתנים בכל אחת מארבע קבוצות המשתנים באמצעות קורלציה פירסון ואינדקס Variance Inflation Factor (VIF). לא מצאנו קורלציה גבוהה בין המשתנים המסבירים בכל אחת מארבע קבוצות המשתנים וערכי VIF היו קטנים מ-5, עובדה המצביעה על ערכי קורלציה נמוכה בין המשתנים (Neter et al. 1989).

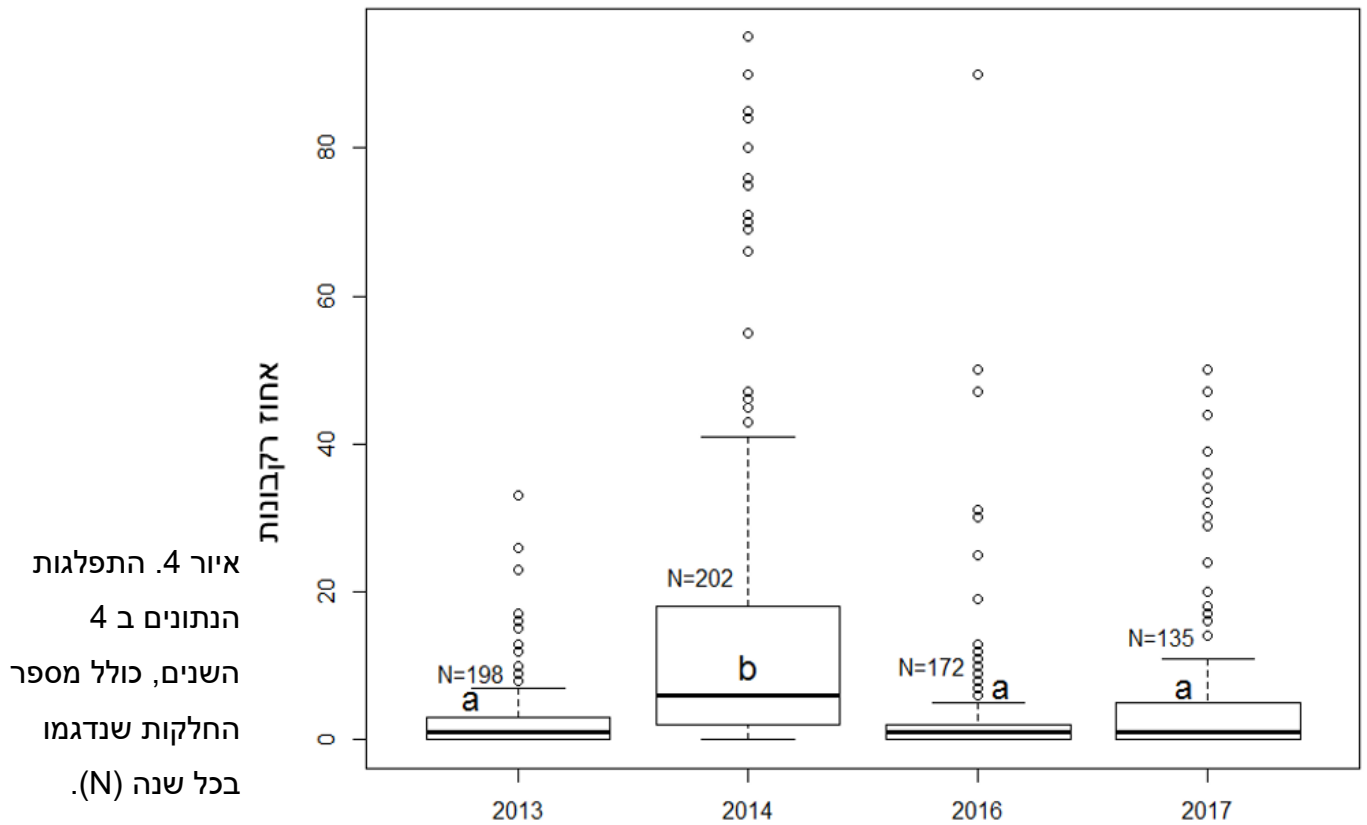
ניתוח הנתונים נעשה תוך שימוש במודל Generalized Linear Mixed effect Models (GLMM) על מנת לנתח את השפעת הגורמים המקומיים והנופיים על הנגיעות המקסימאלית. המודל השתמש בהתפלגות פואסונית בגלל ריבוי האפסים, ומיקום החלקה והשנה הותאמו כמשתנים אקראיים על מנת לשלוט בדגימות חוזרות בין השנים. האנליזות בוצעו ב R באמצעות החבילה lme4.

התאמו מספר מודלים נפרדים (מפורט בהמשך) ונבחרו המשתנים המשמעותיים מכל מודל (P value < 0.05) שאח"כ שולבו במודל משולב סופי. נבדקו גם קורלציות בין המשתנים השונים שנכנסים למודלים. המודלים הם:

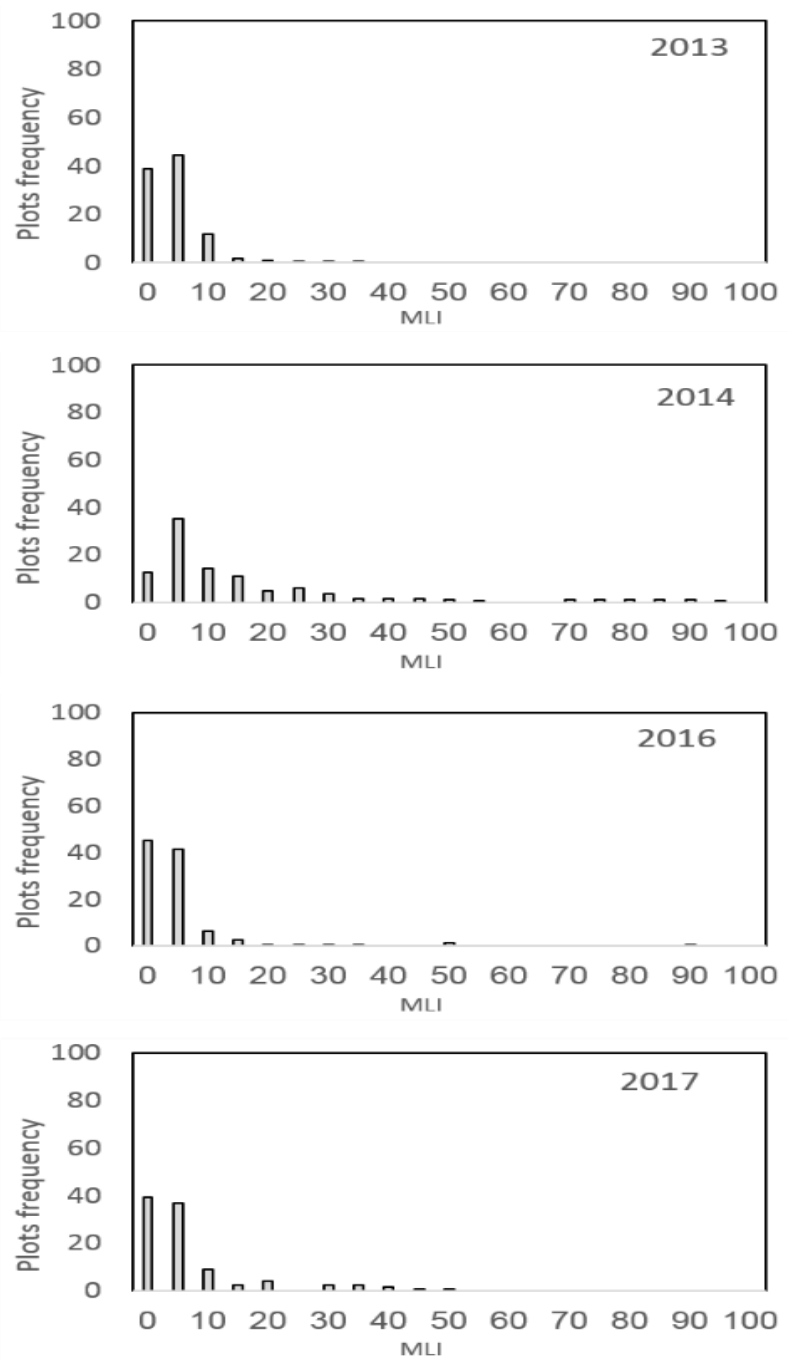
1. מודל מקומי הכולל את המשתנים המקומיים (טבלה 1).
2. מודל נופי הכולל את שימושי הקרקע השונים (טבלה 2).
3. מודל נופי הבודק השפעת גורמים טופוגרפיים: גובה, שיפוע זווית מדרון (טבלה 4).
4. מודל נופי שבודק את השפעת מדדים של מבנה הנוף (טבלה 3).

תוצאות

איור 4 מתאר את התפלגות הנגיעות המקסימאלית (המשתנה המוסבר) בארבע השנים שנבדקו במחקר. מבחן kruskal-wallis לבחינת שוניות הראה כי ב-2014 היה הנגיעות גבוה בצורה משמעותית משאר העונות. בנוסף ישנו הבדל במספר החלקות שנדגמו בכל שנה (202-135).



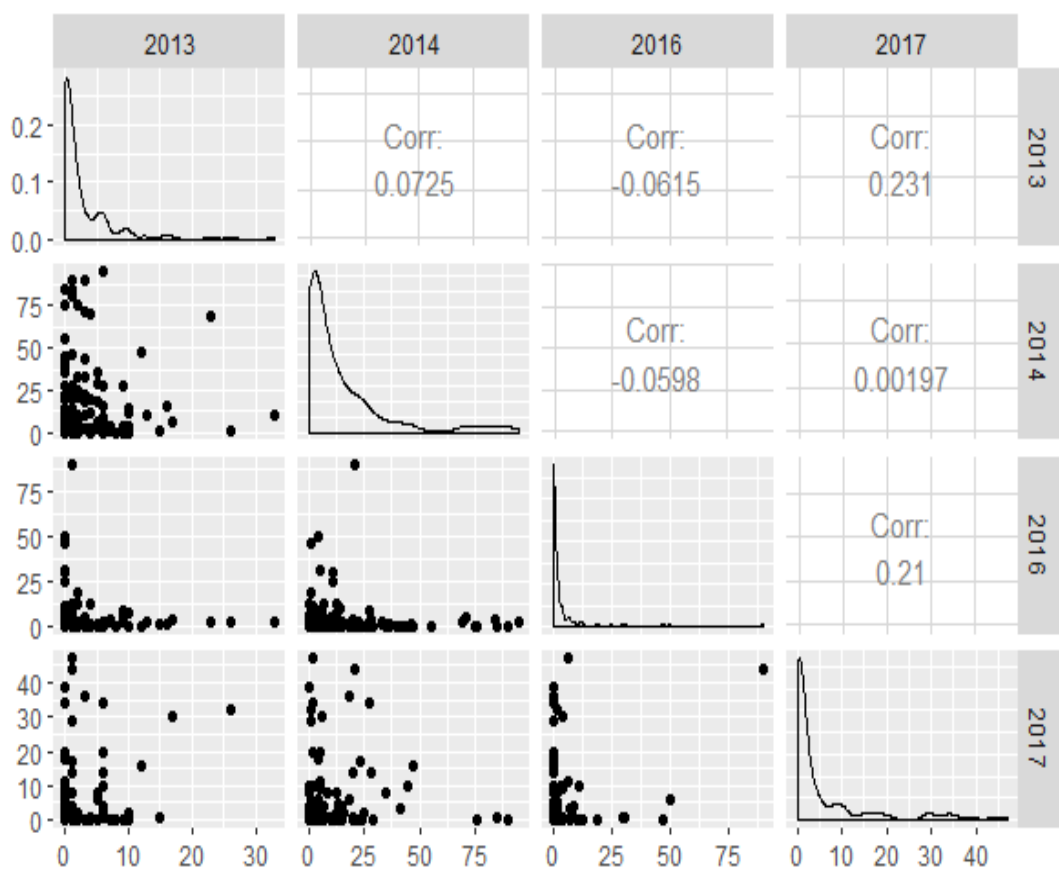
איור 5 מראה שקיימת התפלגות רחבה בנתוני הנגיעות בכל ארבעת השנים. יש מספר לא מבוטל של חלקות בהן לא נמצא קמחון.



איור 5. התפלגות הנגיעות בקימחון הגפן

איור 6. מראה כי לא קיים קשר בנגיעות בקמחון בין השנים, כלומר, חלקה שנגועה בקימחון לא בהכרח הייתה נגועה בשנה שלפני או שתהיה נגועה בשנה שאחרי.

איור 6. בחינת הקשר
בנגיעות בין ארבעת
שנות המחקר



המודל הראשון הינו מודל הבוחן את הקשר בין הגורמים המקומיים של החלקה על אחוז הריקבנות באשכולות כתוצאה ממחלת הקימחון (טבלה 5). מודל זה מצא שהמשתנים המובהקים הינם: שטח החלקה- ככל ששטח החלקה גדול יותר כך יש פחות אשכולות מאולחים בקמחון; מספר הריסוסים- ככל שמספר הריסוסים גדל אחוז האשכולות המאולחים גדול יותר; זנים-בזן הרגיש נמצא אחוז האשכולות המאולחים הגדול ביותר.

טבלה 5. תוצאות המודל המקומי

P-value	מקדם	
0.13	0.10	גיל חלקה
0.0005***	-0.28	שטח חלקה
1.23e-13***	0.44	ריסוסים
0.023*	0.55	זן- לא ידוע
0.004**	0.55	זן- רגישות בינונית
3.27e-05***	1.01	זן-רגיש
0.97	0.006	בציר מאוחר

זנים משתנה קטגוריאלי ביחס לזן הלא רגיש; בציר משתנה קטגוריאלי ביחס לבציר מוקדם

מודל שימושי הקרקע מצא ששטח המטעים ומרחק מישובים הינם המשתנים המובהקים היחידים (טבלה 6). ככל שהמרחק מהישובים קטן ו/או ששטח המטעים גדול יותר, כך יש יותר נזק ממחלת הקמחון. המודל השלישי הינו מודל הבודק השפעת גורמים טופוגרפיים (טבלה 7). מודל זה מראה שמחלת הקימחון לא מושפעת ממשתנים אלו. המודל הרביעי הינו מודל נופי שבדק את השפעת מדדים של מבנה הנוף (טבלה 8). מצאנו שיש קשר מובהק וחיובי בין מדד צפיפות השוליים ובין אחוז האשכולות הנגוע בקימחון.

טבלה 6. תוצאות מודל שימושי קרקע

<i>P</i> -value	מקדם	
0.39	-0.07	שטח גוש כרמים
0.49	-0.05	שטח גד"ש
0.00***	0.27	שטח מטעים
0.03**	-0.17	מרחק מישובים
0.40	0.07	שטח פתוח

טבלה 7. תוצאות המודל של המשתנים הטופוגרפיים

<i>P</i> -value	מקדם	
0.8	-0.07	מפנה (south)
0.22	-0.31	מפנה (west)
0.67	-0.11	מפנה (north)
0.15	0.11	שיפוע
0.058	-0.14	גובה טופוגרפי

מפנה מדרון משתנה קטגוריאלי ביחס לזווית הכי קטנה בין 0-45.

טבלה 8. תוצאות המודל של משתני מבנה הנוף

<i>P</i> -value	מקדם	
0.009***	83.9	צפיפות גבול הכתמים (נשירים)
0.8	0.02	מספר הכתמים (נשירים)
0.88	-0.03	קישוריות בין כתמים (נשירים)
0.9	0.03	אינדקס שאנון למגוון

לצורך הניתוח המרחבי השתמשנו בנתונים היסטוריים שנאספו מ - 218 חלקות כרם חלקות גפן במשך ארבע שנים. בתחילה בחנו אם בכל אחת מהחלקות היה מתאם בחומרת המחלה בין שנים עוקבות והתברר שלא קיים קשר בנגיעות בקמחון בין השנים. המודלים הסטטיסטיים הבוחנים את הנגיעות בקמחון זיהו מספר משתנים חשובים. ברמה המקומית של הכרם מצאנו שיש קשר בין זן הגפנים, שטח החלקה ומספר הריסוסים ובין הנגיעות בקמחון הגפן. ידוע שלזנים שונים רגישות שונה לקמחון הגפן (עובדיה 2005) ובעבודה זו הראינו כי בקבוצת הזנים הרגישים נמצא האילוח הרב ביותר בקמחון. כמו כן מצאנו שחומרת המחלה בחלקות קטנות הייתה גבוהה יותר מאשר חומרתה בחלקות גדולות. יתכן שגודל החלקה נמצא בקשר למידת האינטנסיביות של הגידול ולהכשרה של המגדל. בדרך כלל חלקות קטנות מטופלות על ידי מגדלים פחות מנוסים ובצורה פחות אינטנסיבית (חלקות "בוטיק"). ממצא זה נתמך גם בעובדה שנמצא קשר מובהק וחיובי בין צפיפות השוליים של מטעי נשירים שסמוכים לכרמים ובין אחוז הרקבנות ומעיד, אולי, על משקי גידול קטנים. בחלקות קטנות היחס בין השוליים לשטח הוא גדול יותר מאשר בחלקות גדולות. נמצא גם כי חלקות שנמצאו בהם יותר אשכולות נגועים בקמחון יושמו יותר ריסוסים בתכשירי הדברה. ממצא זה נובע ככל הנראה מהעובדה שעל פי ממשק ההדברה המשולבת המקובל בכרמים הנסקרים מיישמים ריסוסים כנגד הקמחון רק בתגובה לזיהוי גורם המחלה. לכן, בכרמים בהם זוהתה המחלה ריסו מספר פעמים גדול יותר מאשר בחלקות בהן גורם המחלה לא זוהה.

מצאנו שקמחון הגפן מושפע משטחי מטעים נשירים ומקרבה לישובים. יתכן והקרבה לישובים קשורה בממשק הדברה פחות מחמיר שמתקיים בסמוך לישובים. החשיבות של מטעים נשירים איננה ברורה היות שהם אינם מהווים פונדקאי לפטרייה. יתכן שקיים קשר בין אזורים בהם מגדלים מטעים נשירים ולתנאי סביבה שמועדפים גם על ידי הפטרייה. כמו כן, יתכן והקשר נובע ממשנתה שלישו לא ידוע שלא נכלל בעבודה. באופן דומה איננו מבינים את הקשר לחשיבות צפיפות קצה חלקות המטעים והשפעתם על הקמחון. פטריית הקמחון איננה מופצת למרחקים גדולים ולכן אין לשער שהיא מגיעה ממקורות חיצוניים ולא היינו מצפים לקשר מובהק בין צפיפות שוליים ובין נגיעות. יתכן שגם במקרה זה, ובהמשך להסבר שניתן עבור השפעת גודל החלקה, הקשר שנמצא נובע ממשנתנים נוספים שלא נכללו בעבודה זו. לסיכום, הממצאים של המחקר מאשרים את השפעתם של גורמים מסוימים כמו רגישות הזנים, וחושפים דפוסים שלגביהם לא קיימת כיום היפותזה ברורה, אך הם ראויים לחקירה נוספת.

מקורות

- עובדיה ש. 2005. אפידמיולוגיה של מחלת קמחון הגפן *Uncinula necator* ופיתוח מערכת תומכת החלטה להדברה. עבודת דוקטוראט, האוניברסיטה העברית.
- Gadoury D. M., CADLE-DAVIDSON L., Wilcox W. F., Dry I. B., Seem R. C. and Milgroom, M. G. (2012) Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): A fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph. *Molecular Plant Pathology* 13: 1–16.
- Sutrave S., Scoglio C., Isard S. A., Hutchinson J. S. and Garrett K. A. (2012) Identifying highly connected counties compensates for resource limitations when evaluating national spread of an invasive pathogen. *PLoS One*. 7:e37793.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 19: הגורמים המשפיעים על התפתחות מחלת הקימלון (Mal Secco) בזמן ובמרחב בפרדסי לימון בישראל

מרים בן חמו, דוד עזרא, הלנה קרסנוב וליאור בלנק

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

מבוסס על מאמר:

Ben-Hamo M, Ezra D, Krasnov H, and Blank L (2020). Spatial and temporal dynamics of Mal Secco disease spread in lemon orchards in Israel. *Phytopathology* 110: 863-872

תקציר

מחלת הקימלון (Mal Secco) נגרמת על ידי הפטרייה *Plenodomus tracheiphilus* ונפוצה בכל אזורי גידול ההדרים בישראל. המחלה גורמת לניוון ותמותת העצים הנגועים ופוגעת בייצוא ההדרים מישראל. תצפיות בשדה מצביעות על כך שמיני ההדרים הרגישים ביותר למחלה הם אתרוג, ליים ולימון. הבנת דפוס התפשטות המחלה בזמן ובמרחב ומעקב אחר מועדי התפרצות המחלה, עשויים לסייע להבנתנו את מקורות ההדבקה ודרכי ההדבקה במחלה. במחקר שמתואר בפרק זה נאספו נתונים בשני קני מידה שונים: (1) עצים נגועים ברמת החלקה: דגימה חודשית של נגיעות העצים בשבעה פרדסים, (2) חלקות נגועות ברמה אזורית: דגימה שנתית של נגיעות ב 75 פרדסים ברחבי הארץ. הסקר שביצענו בחלקות לימון במשך שלוש שנים, העלה שישנם חודשים שבהם אין שינוי בכמות העצים הסימפטומטיים. בחלקות שנדגמו והראו החרפה במחלה במהלך תקופת המחקר, ההחמרה נצפתה בחודשי הקיץ המאוחרים, אך גם במהלך החורף, ככל הנראה הודות לטמפרטורות גבוהות יחסית. אחת החלקות שדגמנו היא חלקה נגועה במחלת הקימלון ואף על פי כן לאורך כל שלוש שנות המחקר, לא ראינו עלייה במספר העצים המראים את הסימפטומים של המחלה. עובדה זו, בנוסף להבדלים שמצאנו בקצב התפשטות המחלה בחלקות שונות, עשויים להעיד כי אפשר להתמודד עם המחלה או לפחות להאט את התפשטותה.

אופן הציטוט: בן חמו מ', עזרא ד', קרסנוב ה' ובלנק ל' (2021) הגורמים המשפיעים על התפתחות מחלת הקימלון (Mal Secco) בזמן ובמרחב בפרדסי לימון בישראל. פרק 19, ע' 278-288 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51943>



מבוא

קימלון הינה מחלה שפוגעת בהדרים באמצעות חדירה של הפטרייה *Plenodomus tracheipuilus* למערכת ההובלה של העץ הפונדקאי (Nigro et al., 2011) (איור 1). המחלה הופיעה לראשונה במספר איים יוונים בשנת 1894 ומאז תפוצתה התרחבה לכל אזור אגן הים התיכון והים השחור (Nigro et al., 2011). תצפיות בשדה מצביעות על כך

שמיני ההדרים הרגישים ביותר למחלה הם אתרוג, ליים ולימון, למרות שהדבקה מלאכותית מובילה להתפתחות המחלה בכל מיני ההדרים (EPPO CABI 1997). עץ נגוע במחלה מראה ירידה משמעותית ביבול ועל כן למחלה השלכות כלכליות משמעותיות על יצור לימון באזורי התפוצה של הפטרייה הפתוגנית (Migheli et al., 2009). בנוסף, הדברה כימית ומשטר סניטציה קפדני לא הוכיחו עצמם כיעילים בבלימת התפשטות המחלה וחקלאים רבים נאלצים לעשות שימוש בזנים עמידים יותר למחלה שמעמידים מספר קטן יותר של פירות ומאיכות ירודה בהשוואה לזנים הרגישים (Nigro et al., 2011; Gulsen et al., 2007). אחת ההערכות היא, שטיפול יעיל במחלה היה מוביל להכפלת ייצור הלימונים באזורים הנגועים במחלה (Cutuli, 1985).

בשנת 2016, יוצרו 19 מיליון טון לימונים ברחבי העולם, כאשר כ-18% מתוצרת הלימונים העולמית הגיעה מאזורים הנגועים במחלת הקימלון (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016). כמו כן, הפטרייה מחוללת המחלה מוגדרת כ"פתוגן הסגר" בכל המדינות בהן קיים גידול הדרים ועל כן הרשויות בהן דורשות מהיצואנים אישור לכך שהפרי מגיע מאזור נקי מהמחלה ברדיוס של קילומטר אחד לפחות. פרדסים שעונים על הגדרה זו הולכים ומתמעטים באזורי התפוצה של המחלה, ובישראל בפרט, ואי לכך ייצוא ההדרים מישראל עומד בפני איום כלכלי חמור.



איור 1. קימלון בעלה (ימין) ובעץ ליים. תמונות על ידי יגאל אלעד

ההדבקה הראשונית במחלת הקימלון מתרחשת אחת לשנה באמצעות נבגים שמוצאם מגופי פרי א-מיניים (pycnidia) המצויים על ענפונים קמלים, או מקורים (hyphae) המצויים על משטחי עץ חשופים, מתים או חיים (EPPO CABI, 1997). הספורות מתחילות את ההתמיינות שלהן במהלך הסתיו והחורף על גבי איברים נגועים של העץ הפונדקאי או בקרקע, והחדירה לפונדקאי נעשית דרך פצעים חשופים. לכן גורמים כמו רוח, קרה, ברד ועיבוד חקלאי תורמים להפצה של המחלה (Timmer et al., n.d). הפטרייה מסוגלת לשרוד בקרקע, למשל בתוך ענפונים נגועים, למשך יותר מארבעה חודשים, וענפים או ענפונים נגועים שנגזמו עשויים לשמש כמקור להפצת המחלה במשך שבועות. העצים מתחילים להראות סימנים ראשונים של המחלה בחודשי האביב וחודשי הקיץ המוקדמים כאשר העצים בשיא צמיחתם, למרות שהמחלה לא ממשיכה להתקדם במהלך הקיץ. התקדמות המחלה מתחדשת בחודשי הקיץ המאוחרים עם הבשלתם של גופי הפרי הא-מיניים, שאחראיים להדבקה הראשונית (Grasso and Perrotta, 1980). דרך הדבקה נוספת, אבל נדירה יותר, נעשית בסוף הקיץ ובתחילת הסתיו, במהלך סופות גשמים ורוחות חזקות ומקורה

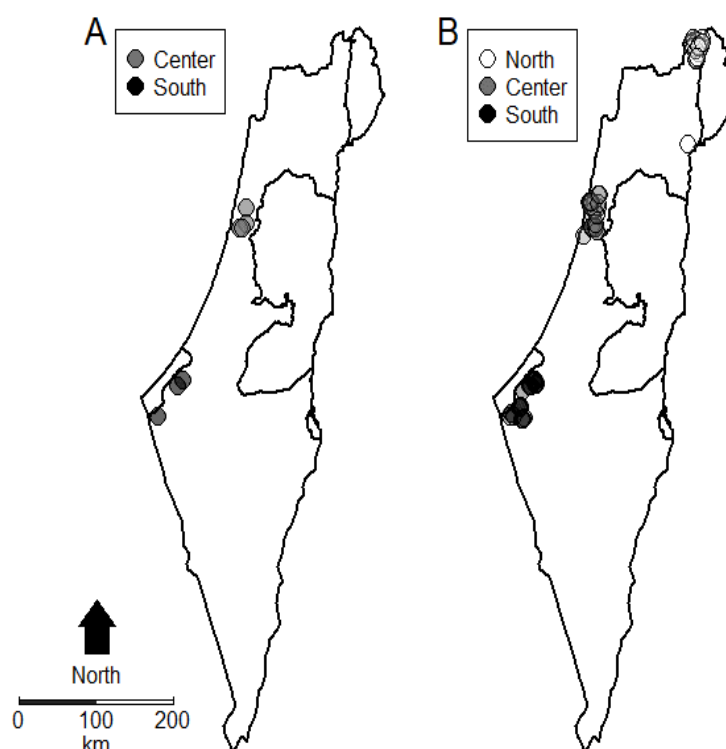
ב-*phialoconidia* שמיוצרים במהירות ובשפע על פני ענפונים פצועים. כמו כן, הודגם כי ישנה נוכחות של הפטרייה הפתוגנית גם ב-10 הס"מ העליונים של שכבת הקרקע (Russo et al., 2009; Licciardello et al., 2006). מעקב אחר תבנית התפשטות המחלה בין העצים בחלקה ומעקב אחר מועדי התפרצות המחלה, עשויים לסייע להבנתנו את מקורות ההדבקה ודרכי ההדבקה במחלה בפרדסי הלימונים בישראל.

איסוף נתונים

אספנו נתונים כמותיים המבטאים את חומרת המחלה בשני קני מידה שונים בין השנים 2015-2017: (1) עצים נגועים ברמת החלקה: דגימה חודשית של נגיעות העצים בארבעה פרדסים באזור השרון ובשלושה פרדסים באזור חבל אשכול; (2) חלקות נגועות ברמה אזורית: דגימה שנתית של נגיעות חלקות בשלושה אזורים בארץ: בחבל אשכול, בשרון ובעמק החולה הצפוני.

התפשטות המחלה ברמת החלקה

המחקר כלל דגימה של ארבעה פרדסים באזור השרון ושלושה פרדסים באזור הנגב (איור 2A). מדי חודש לאורך שלוש שנות המחקר, דגמנו אזורים קבועים בכל פרדס (10 שורות לרוחב עם 20-30 עצים לאורך), בהם הערכנו את נגיעות העץ עלפי הקטגוריות: (1) עץ בריא שלא נראה עליו ענפונים או ענפים נגועים; (2) עץ שיש עליו ענפון אחד נגוע במחלה; (3) עץ שיש עליו מספר ענפונים נגועים במחלה; (4) עץ שיש עליו בין ענף בודד לחמישה ענפים נגועים במחלה; (5) עץ שיש יותר מחמישה ענפים נגועים במחלה והנוף דליל; (6) עץ מת; (7) עץ שנעקר.



איור 2. החלקות שנדגמו לאורך תקופת המחקר. (A) שבעת חלקות הלימונים שנדגמו לצורך בחינת התפשטות המחלה בתוך החלקה. (B) 75 החלקות שנדגמו לצורך בחינת פיזור המחלה ברמה האזורית.

על מנת לאפיין את התקדמות המחלה לאורך תקופת המחקר בכל אחת מהחלקות, חישבנו את שכיחות המחלה (Disease incidence) בכל חלקה כאחוז העצים הסימפטומטיים (דרגת נגיעות גדולה מ-4) בכל חודש וחישבנו את תבונת חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 280

קצב ההדבקה (r) בכל אחת מהחלקות. כדי לקבוע האם ישנם מוקדי נגיעות בחלקה או שהעצים הסימפטומטיים פזורים בצורה אקראית בחלקה השתמשנו במבחן ריפלי לאוטוקורלציה מרחבית (Ripley's K-test). לבסוף, בדקנו את תבנית ההתפשטות המרחבית של המחלה בחלקות העצים בהן מצאנו גם אוטוקורלציה מרחבית וגם החרפה בחומרת המחלה לאורך שנות המחקר. מטרתנו היתה להבדיל בין שלוש תבניות אפשריות של הפצה: התפשטות המחלה בתוך שורות העצים, התפשטות המחלה בין שורות העצים והתפשטות המחלה בכל הכיוונים (אקראית).

על מנת להבחין בין תבניות התפשטות המחלה במרחב, בנינו מודל רגרסיה לוגיסטי, בו בדקנו את הקשר בין נגיעות של עץ מסוים בחלקה והנגיעות של עצים שכנים: בתוך שורה, בין שורות ובכל הכיוונים גם יחד. הבחירה במודל הסופי שיתאר את דגם ההפצה במרחב של המחלה נעשתה על פי שילוב של שלושה קריטריונים: P -value, אחוז השונות המוסברת באמצעות המודל (R^2) וערך ה-AIC.

ניתוח פיזור המחלה ברמה האזורית

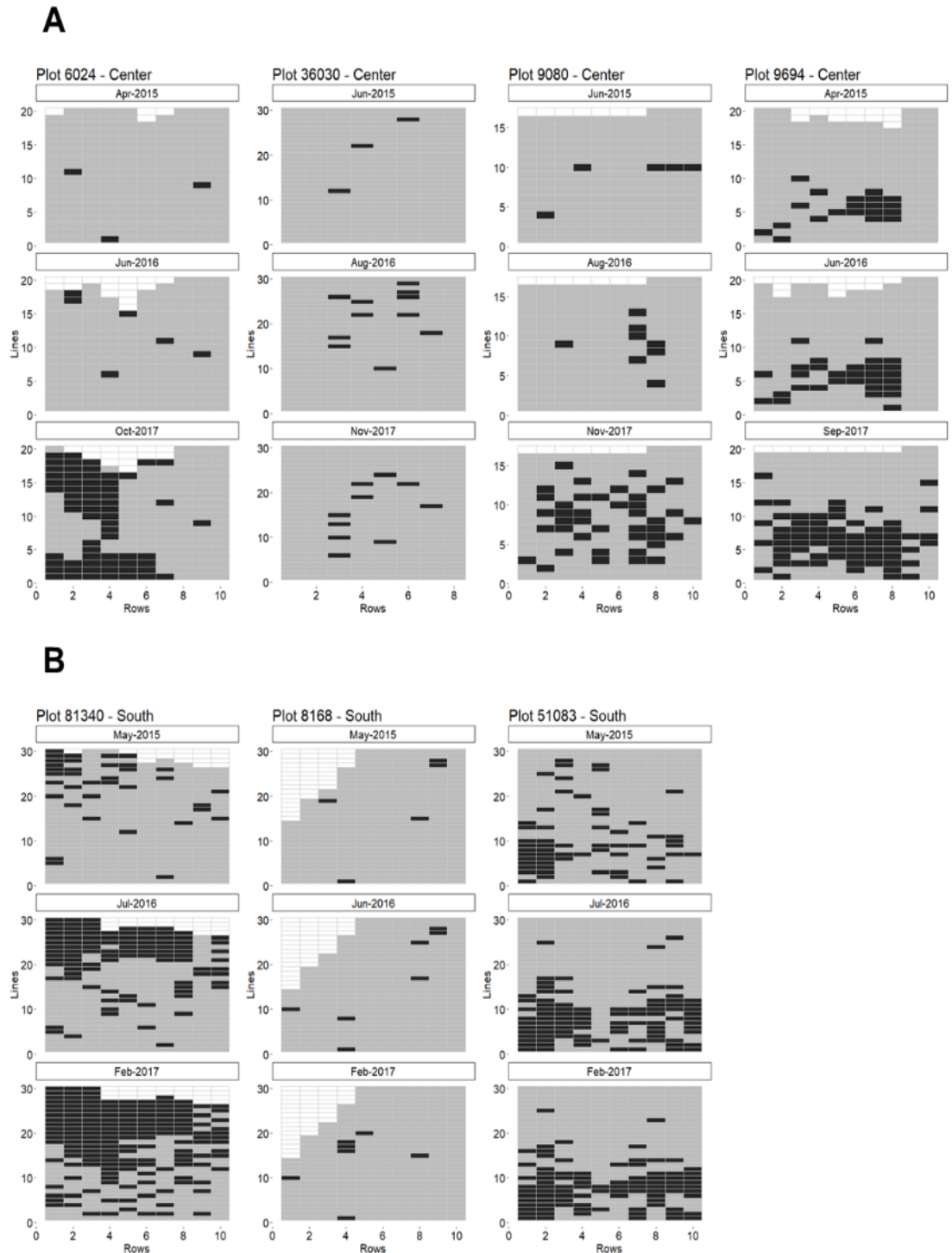
המחקר כלל דגימה של 75 חלקות משלושה אזורים מייצגים בארץ: חלקות עצי לימון באזור הנגב ($n = 26$), מאזור השרון ($n = 26$) וחלקות עצי ליים מאזור הגולן ($n = 23$; איור B2). כל אחת מהחלקות נסקרה אחת לשנה בין השנים 2015-2017, כשנגיעות החלקה הוערכה על פי הקטגוריות: (1) חלקה בה כל העצים בריאים, (2) חלקה בה בחלק מהעצים יש ענפים נגועים, (3) חלקה בה בחלק מהעצים יש ענפים נגועים, אך אין בה עצים שיש עליהם מספר רב של ענפים נגועים, (4) חלקה בה יש לפחות עץ אחד שיש עליו מספר רב של ענפים נגועים, אך אין בחלקה עצים מתים או עצים שנעקרו, (5) חלקה בה יש עצים מתים ועצים שנעקרו בשכיחות של עד 10% מהעצים, (6) חלקה בה 10-50% מהעצים מתו או נעקרו, ו-(7) חלקה בה יותר מ-50% מהעצים מתים או עקורים. בנוסף, עבור כל אחת מהחלקות שנסקרו נאספו הנתונים הבאים: גיל החלקה, זן הלימון, אזור גיאוגרפי, סוג הכנה, מספר קווי השקיה, גובה העצים, מרווחים בין העצים בתוך השורות, מרווחים בין השורות, שטח החלקה, גובה טופוגרפי, שיפוע החלקה וכמות משקעים. בנוסף, חישבנו את השטח של שימושי הקרקע המצויים סביב כל חלקה ברדיוס של 500 מטרים: פתוח, אורבני, מטעים, גידולי שדה, ההדרים ומטעי לימון.

כיוון שמספר התצפיות שלנו היה קטן ביחס למספר המשתנים הבלתי תלויים, בשלב הראשון צמצמנו את מספר המשתנים הבלתי תלויים. לשם כך, השתמשנו בשתי שיטות שונות לבניית שני מודלים: (1) אינדקס ה-LMG ו-(2) שימוש בפונקציית ה-varimp בחבילת caret של R. בנוסף, בנינו מודל שלישי שכלל ששה משתנים שהוגדרו כחשובים על ידי שתי השיטות ביחד. בשלב השני, השוונו בין שלושה המודלים. כל אחד משלושת המודלים הינו מודל רגרסיה רבת-משתנים (Linear mixed-effect model), בו מצב החלקה כפי שהוערך על ידי הסוקרים הוא המשתנה התלוי, מספר החלקה הוא משתנה בלתי תלוי רנדומלי, והמשתנים הבלתי תלויים הם אלו שהוגדרו כחשובים על ידי כל אחת מהשיטות. אם מצאנו שמשתנה קטגוריאלי היה משמעותי, ביצענו בנוסף מבחן Tukey's multiple post-hoc comparisons כדי לקבוע אלו רמות של אותו משתנה קטגוריאלי הן בעלות השפעה מובהקת.

התפשטות המחלה ברמת החלקה

באזור השרון היו שלוש חלקות בהן היתה עליה במספר העצים הנגועים עם הזמן (6024, 9080, 9694 באיור A3) ובאזור הנגב היו שתי חלקות עם עליה במספר העצים הנגועים (81340 ו-51083 באיור B3). בשלב הבא, התמקדנו אך ורק בחמש החלקות עבורן מצאנו עליה במספר העצים הנגועים לאורך המחקר. תחילה, אפיינו את התקדמות תבנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **281**

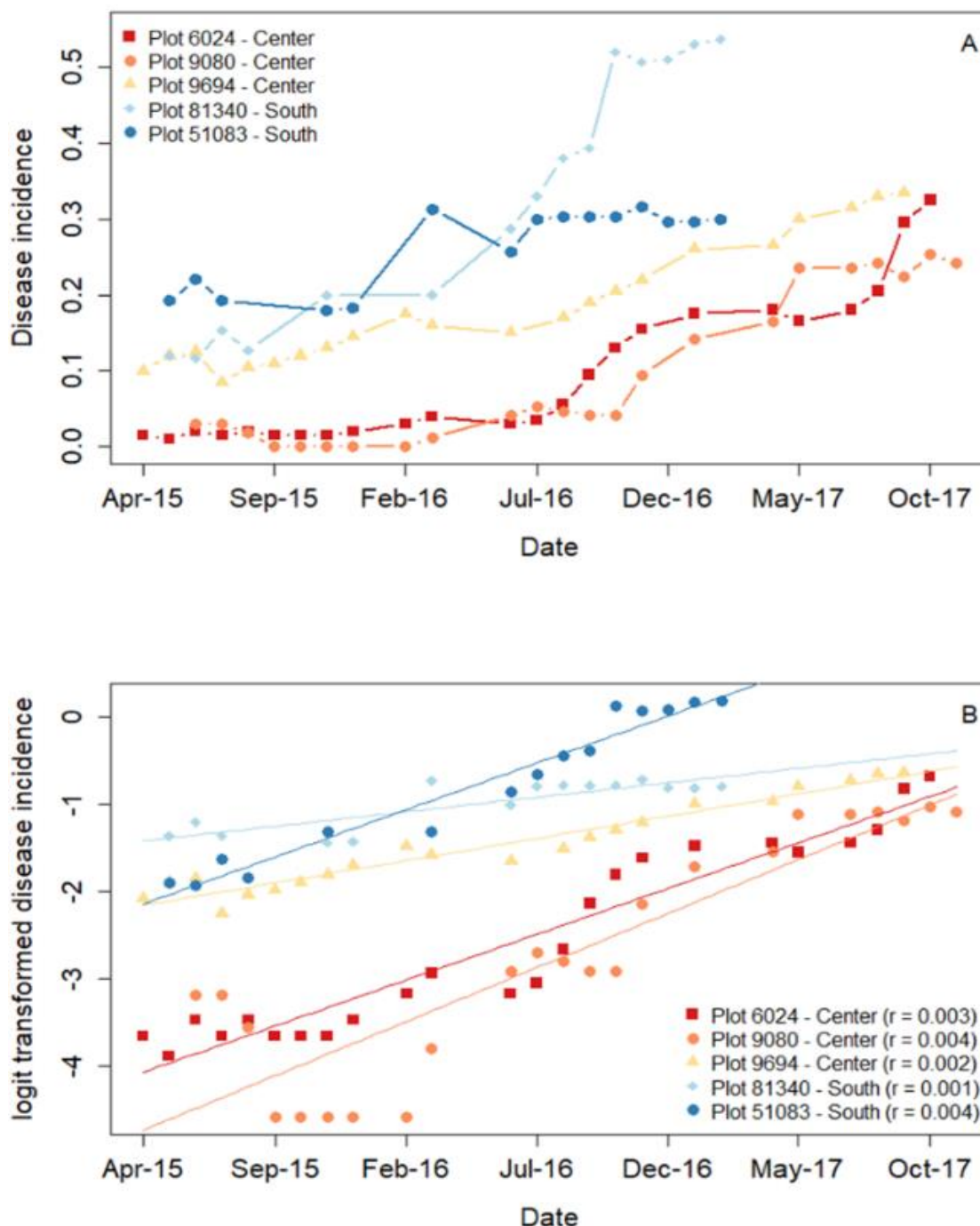
המחלה בכל אחת מהחלקות לאורך חודשי המחקר (איור A4). לאחר מכן, חישבנו את קצב התקדמות המחלה עבור כל אחת מהחלקות (איור B4) ומצאנו כי קיימים הבדלים בקצב התקדמות המחלה בין החלקות, למרות שלא ניתן לקבוע זאת באופן סטטיסטי. כך לדוגמא, חלקה 81340 מראה את קצב ההתקדמות האיטי ביותר (0.001/day) ואילו חלקות 9080 ו-51083 מראות את קצב ההתקדמות המהיר ביותר (0.004/day).



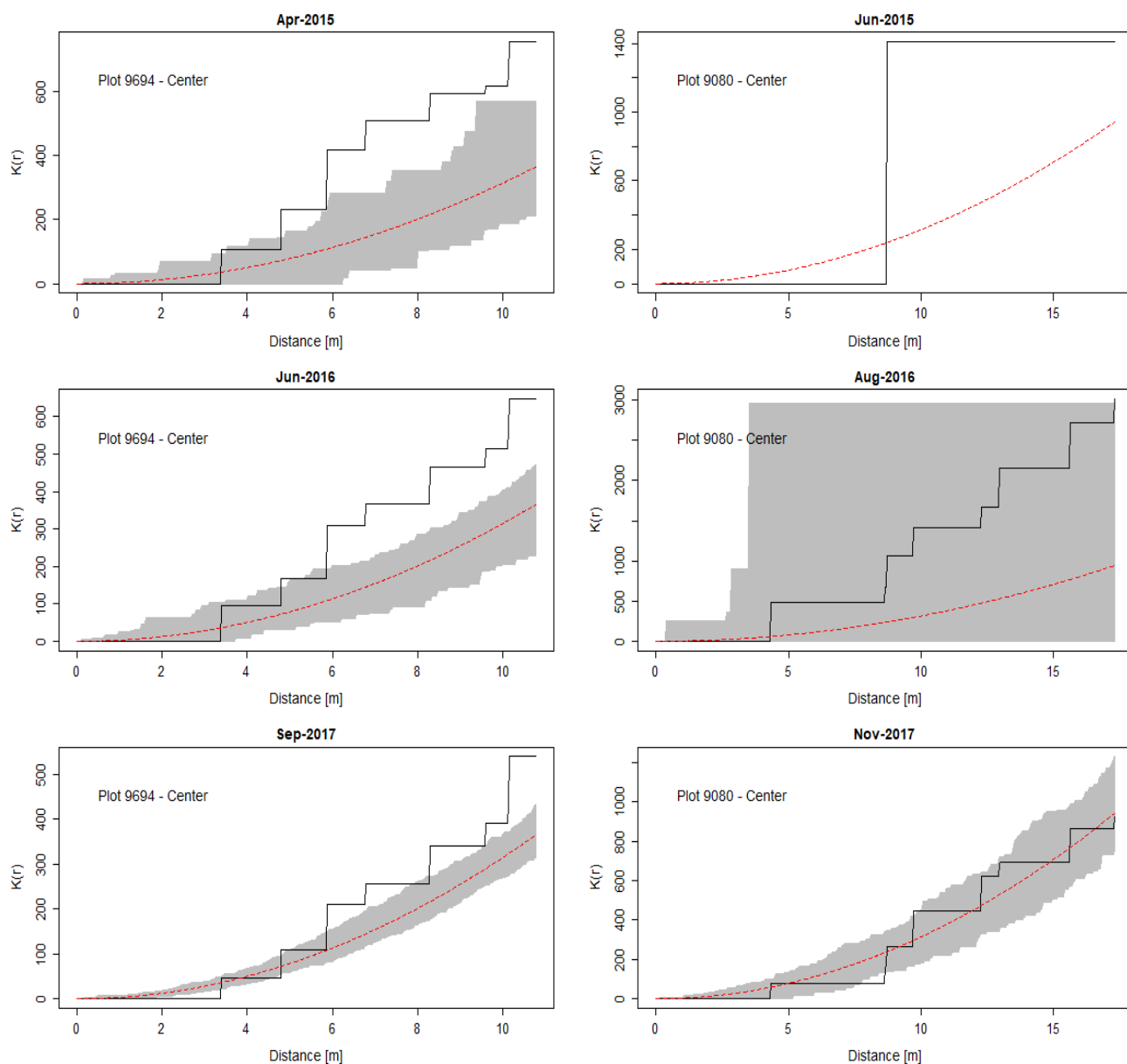
איור 3. השינוי בשכיחות המחלה מאזור השרון (A) ומחבל אשכול (B). כל משבצת מייצגת עץ חולה בשחור (נגיעות שדורגה כ-5 ומעלה) או עץ בריא באפור (נגיעות שדורגה נמוכה מ-5). משבצות לבנות הן משבצות שלא נסקרו באותו החודש או משבצות שבהן לא קיים עץ.

על מנת לקבוע האם ישנם מוקדים של המחלה במרחב, בצענו מבחן אוטוקורלציה מרחבית (Ripley's K-test) עבור חמש החלקות שבהן עלתה במספר העצים הנגועים בכל אחד מחודשי הדגימה. מצאנו כי שתי חלקות מאזור השרון (חלקות 6024 ו-9694) ושתי חלקות מאזור הנגב (חלקות 81340, 51083) מראות

אוטוקורלציה מרחבית בעוד שביתר החלקות הפיזור המרחבי של העצים החולים במרחב לא היה שונה סטטיסטית מפיזור אקראי. איור 5 מציג את ערך K המוערך לעומת ערך K התיאורטי עבור חלקה 9694 מאזור השרון שבה מצאנו כתמיית מובהקת בפיזור העצים הנגועים במרחב ועבור חלקה 9080 מאזור השרון שבה פיזור אקראי של עצים נגועים במרחב.



איור 4. התקדמות המחלה בשבע חלקות הלימון שנדגמו במהלך תקופת המחקר. (A) שכיחות המחלה, (B) טרנספורמצית logit לשכיחות המחלה לאורך תקופת המחקר. השיפוע של קווי הרגרסיה מייצג את קצב התקדמות המחלה (r) והוא ביחידות של אחוזי נגיעות ליום.



איור 5. השינוי בערך K כתלות במרחק המקסימלי בין עצים שכנים עבור שתי חלקות לימון מייצגות בשלוש נקודות זמן נבחרות. הקו השחור מייצג את האומדן של ערך K והקו האדום המקווקו מייצג את ערך K התיאורטי שמעיד על פיזור רנדומלי של העצים הנגועים. האזור האפור מייצג את הגבולות העליון והתחתון של הערך התיאורטי של K . קו שחור מעל לגבול העליון של ערך K התיאורטי מצביע על כתמיות (כמו בחלקה 9694 המוצגת משמאל) בנגיעות של העצים בחלקה.

בשלב הבא, בחנו את אותן החלקות שהראו אוטוקורלציה מרחבית כדי להעריך האם ישנה כיווניות מוגדרת להתפשטות המחלה במרחב. בשיטה ראשונה לבדיקת כיווניות התפשטות המחלה במרחב (רגרסיה לוגיסטית), מצאנו ששלוש חלקות (9694, 81340 ו-51083) מראות התפשטות של המחלה בתוך שורות עצים. עבור חלקה 6024

התוצאות לא היו חד משמעיות ובחלקה 9080 התוצאות הראו התפשטות אקראית. ייתכן שהדבר נובע מכך שהמחלה עוברת לעצים סמוכים אך לא בהכרח לשכנים המידיים של העץ הנגוע.

הגורמים המשפיעים על התפתחות המחלה ברמה האזורית

כדי לבחור את המשתנים הבלתי תלויים שיכללו במודל השתמשנו בשני מדדים שונים כפי שמתואר בשיטות לעיל ובחרנו באמצעות כל אחת מהן את שבעת המשתנים החשובים ביותר (טבלה 1). מודל שלישי כלל ששה משתנים בלבד, שהיו חופפים בין שתי השיטות השונות. ניתן לראות, כי אין הבדלים מהותיים בין שלושת המודלים וכי באופן עקבי אותם המשתנים יוצאים משמעותיים בתרומתם לשונות בחומרת המחלה בחלקות הנדגמות. מתוצאות הרגרסיה רבת המשתנים, עולה כי זן הלימון ($F_{4,50} = 15.01, P < 0.001$; איור 6A) והשטח המיושב סביב החלקה ($F_{1,50} = 5.36, P = 0.02$; איור 6B) משפיעים על חומרת המחלה. באופן ספציפי, מצאנו כי יש הבדל בחומרת המחלה בין חלקות שבהן זן הלימון הוא אינטרדונטו, שבו רמת המחלה נמוכה יותר, ובין חלקות שבהן זן הלימון הוא יוריקה אלן, אך לא מצאנו הבדלים בחומרת המחלה בין זנים אחרים של המחלה.

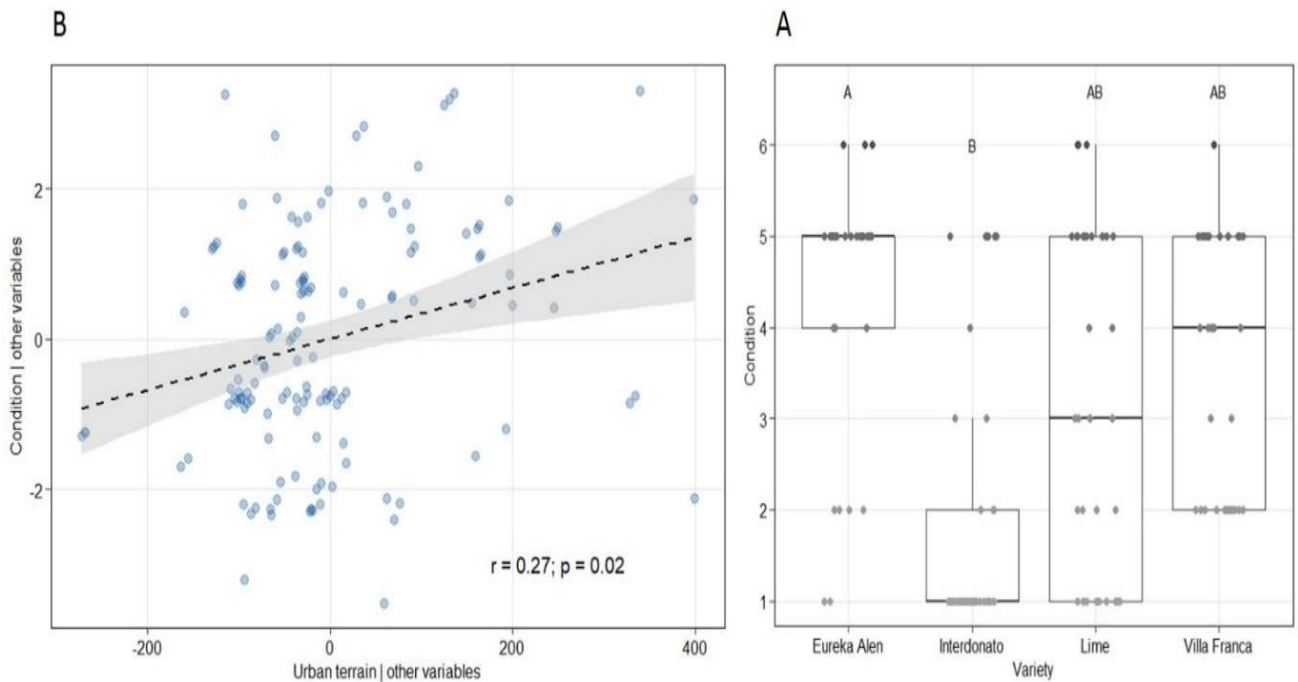
טבלה 1. שלושה מודלים שונים וערכי ה-p-value עבור כל אחד מהמשתנים. המשתנה הבלתי תלוי האחרון שונה בין שלושת המודלים ונעדר לחלוטין מהמודל השלישי.

	מודל 1	מודל 2	מודל 3
זן	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P < 0.001$
גובה	$P = 0.7$	$P = 0.8$	$P = 0.6$
אזור	$P = 0.7$	$P = 0.6$	$P = 0.7$
שטח אורבני	$P = 0.03$	$P = 0.04$	$P = 0.02$
שטח לימונים	$P = 0.096$	$P = 0.11$	$P = 0.08$
משקעים	$P = 0.6$	$P = 0.3$	$P = 0.6$
מרווח בין שורות/מספר קווי השקיה/NA	$P = 0.5$	$P = 0.2$	
AIC	581.16	457.87	586.31

דיון

התפתחות המחלה ברמת החלקה

המעקב שביצענו אחר חלקות לימון בודדות במשך שלוש שנים, מעלה שישנם חודשים שבהם אין שינוי בכמות העצים הסימפטומטיים, אך אלו אינם תואמים בהכרח את חודשי הקיץ. בחלקות שנדגמו והראו חרפה במחלה במהלך תקופת המחקר, ההחמרה נצפתה בחודשי הקיץ המאוחרים, אך גם במהלך החורף, ככל הנראה הודות לטמפרטורות גבוהות יחסית.



איור 6. ההבדל בחומרת המחלה בחלקות שנדגמו כתלות בזן הלימון שגדל באותה החלקה (A) וכתלות בשטח האזור המיושב במרחק של 500 מטרים (B). מודל הרגרסיה שנבחר לצורך איור זה, הוא מודל 3 מטבלה 3 לעיל. השטח האפור מייצג את שגיאת התקן של קו הרגרסיה.

מבין שבע חלקות הלימון שנדגמו לאורך תקופת המחקר, מצאנו שחלקה 8168 מחבל אשכול, לא הראתה עליה במספר העצים הנגועים לאורך תקופת המחקר. מכאן שיתכן וחלקה 8168 מטופלת היטב באופן שמסייע לבלימת המחלה בה. הסבר אפשרי נוסף הוא קיומם של תנאי סביבה ייחודיים סביב החלקה, אך אנו מעריכים כי הסבר זה סביר פחות מאחר וההבדלים בתנאי הסביבה בין החלקות השונות שנדגמו בחבל אשכול הם קטנים. חמש החלקות הנותרות הראו עליה במספר העצים הנגועים לאורך תקופת המחקר. מצאנו שקצב התקדמות המחלה היה שונה בין חלקות הלימון שנדגמו ונע בין 0.001 ל-0.004 עצים ליום. קיימים מספר הסברים אפשריים להבדלים הנצפים בקצב התקדמות המחלה בין החלקות. כך למשל, ידוע כי זן הלימון משפיע על קצב התקדמות הפתוגן בתוך העץ הנגוע (EPPO CABI 1997). בנוסף, אופן הטיפול בחלקה גם משפיע על קצב ההתקדמות בה (Nigro et al., 2011). קצב התקדמות המחלה שמצאנו הוא איטי ביחס למחלות אחרות (Van der Plank 1963). עם זאת, יש לזכור שערכי ה- r חושבו עבור חלקות שיתכן ועוברות טיפול לבלימת המחלה (למשל, גיזום וסניטציה) ועל כן ייתכן שערך r המחושב נמוך מקצב התקדמות המחלה לולא היתה התערבות חקלאית. בנוסף, ייתכן שההערכה שלנו של r היא הערכה בחסר, כיוון שהחישוב מניח התקדמות אחידה של המחלה לאורך השנה, בעוד שידוע כי התקדמות המחלה מוגבלת לעונות מסוימות בלבד. בנוסף, מצאנו ששלוש חלקות מראות התפשטות של המחלה בתוך שורות העצים דגם זה של התפשטות המחלה עשוי להעיד על כך שהפתוגן מועבר באמצעות העיבוד החקלאי של החלקה שנעשה בתוך שורות העצים. דפוס פיזור לאורך שורות, הנובע מהעיבוד החקלאי, נמצא גם עבור מחלות אחרות (Sharabani et al., 2013).

מצאנו כי המחלה פחות חמורה בחלקות שבהן זן הלימון הוא אינטרדונטו, בהשוואה לחלקות מזן יוריקה, אך לא בהשוואה לזנים אחרים. תוצאות אלו תואמות מחקר שנעשה בעבר על חומרת מחלת הקימלון בארץ (Solel and Spiegel-Roy 1978). עם זאת, אף על פי שמחקר זה מצא גם רגישות שונה של עצי הלימון למחלה כתלות בכנה, אנחנו לא מצאנו הבדלים בחומרת המחלה בין חלקות לימונים שהורכבו על כנות שונות. כמו כן, מצאנו שהמחלה חמורה יותר בחלקות שיש צפיפות גבוהה יותר של שטח מיושב סביבן, בהשוואה לחלקות לימון שצפיפות השטח המיושב סביבן נמוכה יותר, אם כי הקשר הסטטיסטי שנמצא היה חלש יחסית. הפטרייה הפתוגנית שגורמת למחלת הקימלון מועברת בטיפות גשם הנישאות ברוח, אבל ייתכן שעצי לימון לא מטופלים ביישובים שסביב החלקות, מהווים מקור הדבקה לחלקות הלימון הסמוכות אליהם. עם זאת, לא קיימת עדות מוצקה באשר ליכולת של הפטרייה מחוללת המחלה לעבור מרחקים העולים על מטרים ספורים וייתכן שהקורלציה החיובית בין חומרת המחלה בפרדסים והשטח המיושב סביבם נובעת מגורמים אחרים. דבר זה מקבל חיזוק נוסף מכך שבגינות פרטיות עצי הלימון כמעט ואינם מראים תסמינים של מחלת הקימלון (ד' עזרא, מידע אישי).

תוצאה מפתיעה שעלתה מהניתוח הסטטיסטי שלנו, היא שאין קשר מובהק בין צפיפות פרדסי הלימונים סביב החלקות וחומרת המחלה שבהן. ההשערה שלנו, שהופרכה, היתה שככל שצפיפות פרדסי הלימון גבוהה יותר סביב חלקה מסוימת, כך חומרת המחלה בה תהיה חריפה יותר. התוצאות שלנו מקבלות תימוכין ממחקר קודם שבדק את מרחק ההפצה של הפטרייה ומצא כי אינה עולה על 30-40 מטרים. למעשה לא ידוע על שלב מיני בפטרייה זו וההנחה היא כי הספורות מפוזרות למרחקים קצרים בתוך טיפות מים שנישאות באוויר עם הרוחות (Tuttobene 1994).

מקורות

- Cutuli G. (1985) Malattie crittogamiche e alterazioni da cause non parassitarie. Trattato Agrumicoltura 2: 23–102.
- EPPO (1997) *Deuterophoma tracheiphila*. Quarantine Pests for Europe. Wallingford, UK: CAB International.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016) Worldwide lemon production in tonnes. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
- Licciardello G., Grasso F. M., Bella P., Cirvilleri G., Grimaldi V. and Catara V. (2006) Identification and detection of *Phoma tracheiphila*, causal agent of citrus Mal Secco disease, by real-time polymerase chain reaction. Plant Disease 90: 1523–1530.
- Grasso S. and Perrotta G. 1980. Variazioni stagionali nella germinabilità delle picnidiospore di *Phoma tracheiphila*. Rivista di Patologia Vegetale Serie IV, Vol. 16, No. 1/2 (pp. 19-24).
- Gulsen O., Uzun A., Pala H., Canihos E. and Kafa G. (2007) Development of seedless and Mal Secco tolerant mutant lemons through budwood irradiation. Scientia Horticulturae 112: 184–190.
- Migheli Q., Cacciola S. O., Balmas V., Pane A., Ezra D. and di San Lio G. M. (2009) Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide. Plant Disease 93: 852–867.

- Neter, J., Wasserman, W., and Kutner, M. H. 1989. Applied linear regression models. 2nd Edition, Richard D. Irwin, Inc., Homewood.
- Nigro F., Ippolito A. and Salerno M. G. (2011) Mal secco disease of citrus: a journey through a century of research. *Journal of Plant Pathology* 93: 523–560.
- Russo M., Grasso F. M., Bella P., Licciardello G., Catara A. and Catara V. (2009) Molecular diagnostic tools for the detection and characterization of *Phoma tracheiphila*. *Acta Horticulturae* No. 892: 207–214.
- Sharabani G., Manulis-Sasson S., Borenstein M., Shulhani R., Lofthouse M., Chalupowicz L. and Shtienberg D. (2013) The significance of guttation in the secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouses. *Plant Pathology* 62: 578-586.
- Solel Z. and Spiegel-Roy P. (1978) Methodology of selection of lemon clones for tolerance to Mal Secco (*Phoma Tracheiphila*). *Phytoparasitica* 6: 129–134.
- Tuttobene R. (1994) Monitoring of *Phoma tracheiphila* inoculum. *Difesa Delle Piante*. 17:69–74.
- Van der Plank J. E. (1963) *Plant Diseases-Epidemics and Control*. New York, USA: Academic Press New York.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 20: מחלות צמחים ממשפחת הדלועיים וטיפוח לעמידות

רוני כהן

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי

תקציר

אבטיח, מלון, קישוא ודלעת (דלועיים, *Cucurbitaceae*), מהווים חלק חשוב בחקלאות הישראלית ובתזונת האדם. צמחים אלו גדלים כמעט בכל עונות השנה, חלקם בשטחים פתוחים וחלקם כגידולים חסויים במנהרות נמוכות או בבתי צמיחה ובתי רשת. הצמחים חשופים למגוון מחלות חיידקיות, נגיפיות וכאלו הנגרמות ע"י פטריות ואאומיצטים. תגובת הצמחים למחלות מושפעת במידה רבה מתנאי הגידול ותנאי הסביבה השוררים במשך עונת הגידול. מגוון זה יכול לגרום לתגובה שונה בעונות השונות לאותם גורמי מחלה. במאמר נסקור את התגובה של דלועיים שונים לארבע מחלות פטרייתיות המועברות בקרקע: המגלת (*Fusarium oxysporum*) בצורות מתמחות (*forma speciales*) ייחודיות הגורמות לנבילה במלון ובאבטיח ולריקבון כתר הדלועיים (*F. oxysporum f. sp. radicans-cucumerinum*). מחלת קשיון הבטטה (*Macrophomina phaseolina*) וההתמוטטות הפתאומית בדלועיים (*Monosporascus cannonballus*), ושתי מחלות עלים, קימחון הדלועיים הנגרמת על ידי פטרייה (*Podosphaera xanthii*) וכשותית הדלועיים הנגרמת על ידי אאומיצט (*Pseudoperonospora cubensis*). מחלות הנגרמות ע"י חיידקים ונגיפים יתוארו בפרקים אחרים.

אופן הציטוט: כהן ר' (2021) מחלות צמחים ממשפחת הדלועיים וטיפוח לעמידות. פרק 20, ע' 289-302 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51922>



מבוא

בפרק זה תתואר האינטראקציה בין צמחים ממשפחת הדלועיים לשש מחלות צמחים חשובות; ארבע מחלות נישאות קרקע ושתי מחלות עלים:

- מגלת המלון, מחלת נבילה וסקולרית הנגרמת ע"י הפטרייה (*Fusarium oxysporum f. sp. melonis (Fom)*)
- מגלת האבטיח, מחלת נבילה וסקולרית הנגרמת ע"י הפטרייה (*Fusarium oxysporum f. sp. niveum (Fon)*)
- ריקבון הכתר של המלפפון והמלון הנגרמת ע"י הפטרייה (*Fusarium oxysporum f. sp. radicans-cucumerinum (Forc)*)
- מחלת קשיון הבטטה (ריקבון פחם) הנגרמת ע"י הפטרייה *Macrophomina phaseolina*
- מחלת ההתמוטטות הפתאומית של מלונים ואבטיחים הנגרמת ע"י הפטרייה *Monosporascus cannonballus*, הפוגעת בשורש ובצואר השורש וגורמת נבילה
- קימחון הדלועיים (מחלת עלים) הנגרמת ע"י הפטרייה *Podosphaera xanthii*.
- כשותית הדלועיים (מחלת עלים) הנגרמת ע"י האאומיצט *Pseudoperonospora cubensis*

הקניית עמידות היא הדרך היעילה, הבטוחה והידידותית ביותר לסביבה ומהווה נדבך חשוב במארג ההדברה המשולבת של מחלות הצמחים. הגנטיקה השולטת על מופע המחלה וחומריתה אינה חזות הכל, הכרת הפתוגנים, תהליכי הפתוגנזה ולימוד האינטראקציה בין הצמחים לסביבה ולגורמי המחלה יחד עם לימוד הורשת עמידות, יכולה להתוות דרך ולייעל את תהליכי הטיפול לעמידות ואת השימוש המושכל בזנים העמידים. ברוב המקרים, רמת העמידות למחלות מושפעת מתנאי הסביבה בהם שרוי הצמח. למשל, עוצמת התאורה והטמפרטורות בהם גדל הצמח יכולות להשפיע על רמת התחלואה של צמחי מלון בקימחון ובמגלת (Burger et al., 2003), לטמפרטורה השפעה מכרעת בביטוי העמידות לכשותית במלון ועומס פרי משפיע דרמטית על שיעור הנבילה בצמחים נגועים בפטרייה (Cohen et al., 2000) *Monosporascus cannonballus*.

תגובת זני מלון ואבטיח למגלת (פוזריום הנבילה)

מחלת המגלת של המלון והאבטיח נגרמת ע"י הפטריות *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* ו- *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* בהתאמה. הפטריות שוכנות בקרקע ומסוגלות לתקוף את הצמחים בכל גיל. לרוב הצמחים נתקפים ומתים עוד לפני חנטת הפירות. הצמחים נובלים כתוצאה של חסימה פיזית של צינורות הובלת המים יחד עם פעילות של אנזימים פקטוליטיים וטוקסינים המופרשים ע"י הפטרייה. הדברה כימית של פוזריום הנבילה ע"י מתן קוטלי פטריות לקרקע לרוב אינה יעילה כנראה בגלל המיקום של הפטרייה בצינורות הקסילים והקושי של הגעת חומרי ההדברה אליה. לעומת זאת, חומרי הדברה נמצאו יעילים בהדברת ריקבון כתר הדלועיים כנראה בגלל מיקום הפטרייה ברקמות החיצוניות של הצמח (בן יפת וחוב', 1998).

מגלת המלון - לפטרייה שוכנת הקרקע *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* ארבעה גזעים פיזיולוגיים, 0,1,2 ו-1.2 הנבדלים בכושרם לגרום מחלה בזני מלון שונים (Rabinowitch and Cohen, 2012). ישנם זני מלון העמידים לכל ארבעת הגזעים של הפתוגן. במלון קיימים לפחות שני טיפוסים עמידות גנטית: עמידות מונוגנית (גן יחיד) ועמידות פוליגנית (רבת גנים) (monogenic and polygenic resistances). העמידות לגזעים 0 ו-1 נשלטת ע"י הגן Fom 2 והעמידות לגזעים 0 ו-2 נשלטת ע"י הגן Fom 1. גנים אלו הינם דומיננטיים ומקנים עמידות יציבה הבאה לידי ביטוי בגילי הצמח השונים וכמעט שאינה מושפעת ע"י שינוי ברמת המידבק ותנאי סביבה משתנים. לעומת זאת, העמידות הפוליגנית (Perchepped and Pitrat, 2004) לגזע 1.2 של הפתוגן פחות יציבה ומושפעת מתנאי הסביבה.

נראה שעמידות או רגישות שונה, שאינה מוגדרת גנטית, קימת גם בזני מלון שאין בהם את הגנים לעמידות והם מוגדרים רגישים. זנים אלו יכולים להגיב באופן שונה לריכוזי מידבק או תנאי סביבה בהם יגודלו לאחר ההדבקה מוצגת בטבלה 1 (Burger et al., 2003).

הטיפול לעמידות למגלת קל יחסית לעומת הטיפול לעמידויות אחרות בעיקר בגלל שהגנים לעמידות הם דומיננטיים וניתן לברור בקלות יחסית את הצמחים העמידים והרגישים בהדבקה כבר בשלב הנבט (איור 1). לכן חברות הזרעים דורשות מהמטפחים עמידות לשלושת גזעי הפטרייה 0, 1 ו-2. אכן, רוב זני המלון המשוחררים לשוק עמידים למחלה זו. חלק קטן מהזנים עמיד ברמות שונות לגזע 1.2 הנשלט ע"י קבוצת גנים רצסיביים (Herman and Perl-Treves, 2007).

טבלה 1. תדירות מחלה בזני מלון וקווי טיפוח שהודבקו במגלת המלון (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*)

גזע 1

שם הזן – קו טיפוח	תיאור העמידות	צמחים מתים (%)
נוי עמיד		96 a
נוי יזרעאל		27 de
קרימקה	רגיש – אין גנים לעמידות	57 bc
עין דור		92 a
אשכולית העמקים		43 cd
אננס יוקנעם		82 a
ערבה		24 de
וונדרטה		65 b
דולצ'ה	עמיד לגזע 2, רגיש לגזע 1	60 b
FM 025		54 bc
FM 018		32 de
FM 004		36 de
FM 023		26 de
FM 014		34 de
FM 024		26 de
דובלון		70 b
חמד		19 e

ערכי שכיחות מחלה המלווים באותה אות אינם נבדלים סטטיסטית ביניהם. הטבלה על פי Burger et al., 2003.



איור 1. הדבקה בפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. מימין נבילה אופיינית של צמח מלון בעקבות הדבקה טבעית בפטרייה ומשמאל הדבקה מלאכותית של נבטי מלון בפטרייה לצורך ברירת צמחים עמידים מתוך אוכלוסיית טיפוח מתפצלת.

מגלת האבטיח - שלושה גזעים של הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* הגורמת למחלת מגלת האבטיח תוארו בספרות. גם כאן, ההבדלים בין הגזעים מבוססים על התגובה להדבקה של זני אבטיח דיפרנציאליים. גזעים 0 ו-1 תוארו בארה"ב וגזע 2 תואר לראשונה ע"י דוד נצר בישראל (Netzer et al., 1977). גזע זה נמצא מאוחר יותר גם בארה"ב. עמידות חלקית לגזעים 0 ו-1 קיימת בזני אבטיח אמריקאים אבל עמידות לגזע 2 היותר אגרסיבי לא קיימת בזני אבטיח מסחריים (Rabinowitch and Cohen, 2012). מגלת האבטיח המופיעה כגורם עיקרי כמעט ולא מוכרת בישראל. התמוטטויות באבטיח נגרמות במקרים רבים ע"י קומפלקס של מחלות. מגלת האבטיח כגורם יחיד בעל סימפטומים אופייניים נצפית לעיתים באבטיח "מללי" לזרעים הגדל בתנאי בעל או השקיה חלקית.

רקבון כתר הדלועיים במלון ומלפפון

מחלת ריקבון הכתר במלפפון ובמלון נגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* (*F.o.r.c.*). המחלה חדשה יחסית, היא הוגדרה לראשונה בכרתים (Vakalounakis, 1996) ודווחה בשנת 2000 במערב קנדה (Punja and Parker, 2000). סמפטומי מחלה ראשונים נצפים בדרך כלל כחודש לאחר שתילת המלפפונים. לאחר ההדבקה בפטרייה נוצר סדק בגבעול ובהמשך מתפתח ריקבון בצוואר השורש ובגבעול התחתון באזור הרקוב נוצרות כמויות גדולות של נבגים בצבע ורוד-כתום המתפזרים בקרקע ובאוויר. המחלה מתבטאת יותר בתנאי טמפרטורה מתונה ומופיעה בעיקר בסתיו ובאביב. הופעת הריקבון מלווה בהחממה של צרורות ההובלה, אובדן טורגור, הצהבה ולבסוף התמוטטות הצמח. ריקבון חיצוני, נביגה חיצונית והפצת הנבגים באוויר, מבדילה פטרייה זו מצורות מתמחות אחרות (*f. sp.*) של פטריות פוזריום אחרות הפתוגניות לדלועים, בהן הפגיעה היא בעיקר בצינורות הובלת המים. במחלה זו אין נקרוזה חיצונית והנבגים אינם מופצים באוויר. ההפצה האווירנית של הנבגים מאפשרת לפטרייה ליצור מקורות אילוח מתחדשים במהלך העונה, ולשרוד על מבנה החממה ולאחל מחדש קרקעות ואת חלל החממה לאחר חיטוי.

הפטרייה מסוגלת לחדור לצמח דרך השורשים וגם דרך פצע בגבעול. ממצא זה ממחיש את חשיבות ההפצה האווירנית של נבגי הפטרייה, באמצעותה היא מסוגלת לאלח מחדש חממות מחוטאות ולאכלס צמחים גם דרך הנוף (Cohen et al., 2015). בסקירת חומר גנטי נמצאו קווי מלון עמידים ורגישים לפטרייה היכולים לשמש בסיס לטיפוח לעמידות או ככנות עמידות. במחקר גנטי נמצא שהעמידות בקווי מלון מסוימים נשלטת ע"י שני גנים, אחד דומיננטי והשני רצסיבי (Elkabetz et al., 2016). נראה שממצא זה נכון לקוי טיפוח מסוימים ומנגנון עמידות נוסף, כללי יותר, הוא בעל אופי כמותי.

בניסוי הרכבה (ראו פרק הרכבות דלועיים בישראל) נמצא שכנות מלון עמידות מסוגלות להשרות עמידות חלקית למחלה ברוכב שאולח ע"י פציעת הגבעול ללא אינטראקציה של הפטרייה עם הכנה. מבעד למקרוסקופ נמצא שבצמחי מלון רגישים המשמשים ככנה הפטרייה חודרת דרך החלל הבין תאי של רקמת הפרנכימה למערכת העצה, ודרכה מתפשטת לשאר חלקי הצמח. אולם, בצמחי מלון עמידים שמשמשים ככנה חדירת הפטרייה למערכת העצה נמנעת ונוכחות הפטרייה מוגבלת לאזור האילוח (Cohen et al., 2015). בדיקת נוכחות של טוקסינים המיוצרים ע"י הפטרייה נעשתה ע"י מבחן ביולוגי על עלים ונבטי מלון. נמצא כי הפטרייה מייצרת חומצה פוזרית ונגזרות של חומצה פוזרית הידועות כבעלות פעילות טוקסית, אולם גם צמחי המלון העמידים לפטרייה הראו רגישות לטוקסינים אלה (אורגיל, 2014).

בשנים האחרונות רוב המלפפונים הגדלים בישראל בין אוקטובר לאפריל מורכבים על כנות דלעת (ראו פרק הרכבות דלועיים בישראל). השימוש בצמחים מורכבים גרם לירידה דרמטית בהופעת המחלה ולמעשה מגדלי

המלפפונים בישראל רואים בה פגע חמור שהיה וחלף ואינו מהווה יותר איום של ממש. יחד עם זאת, חשוב להכיר את המחלה. ישנם מקרים שמחלות שנעלמו חוזרות בעקבות שינויים באגרנטכניקה, החלפת זנים ושינויים סביבתיים.

קשיון הבטטה במלון ובאבטיח

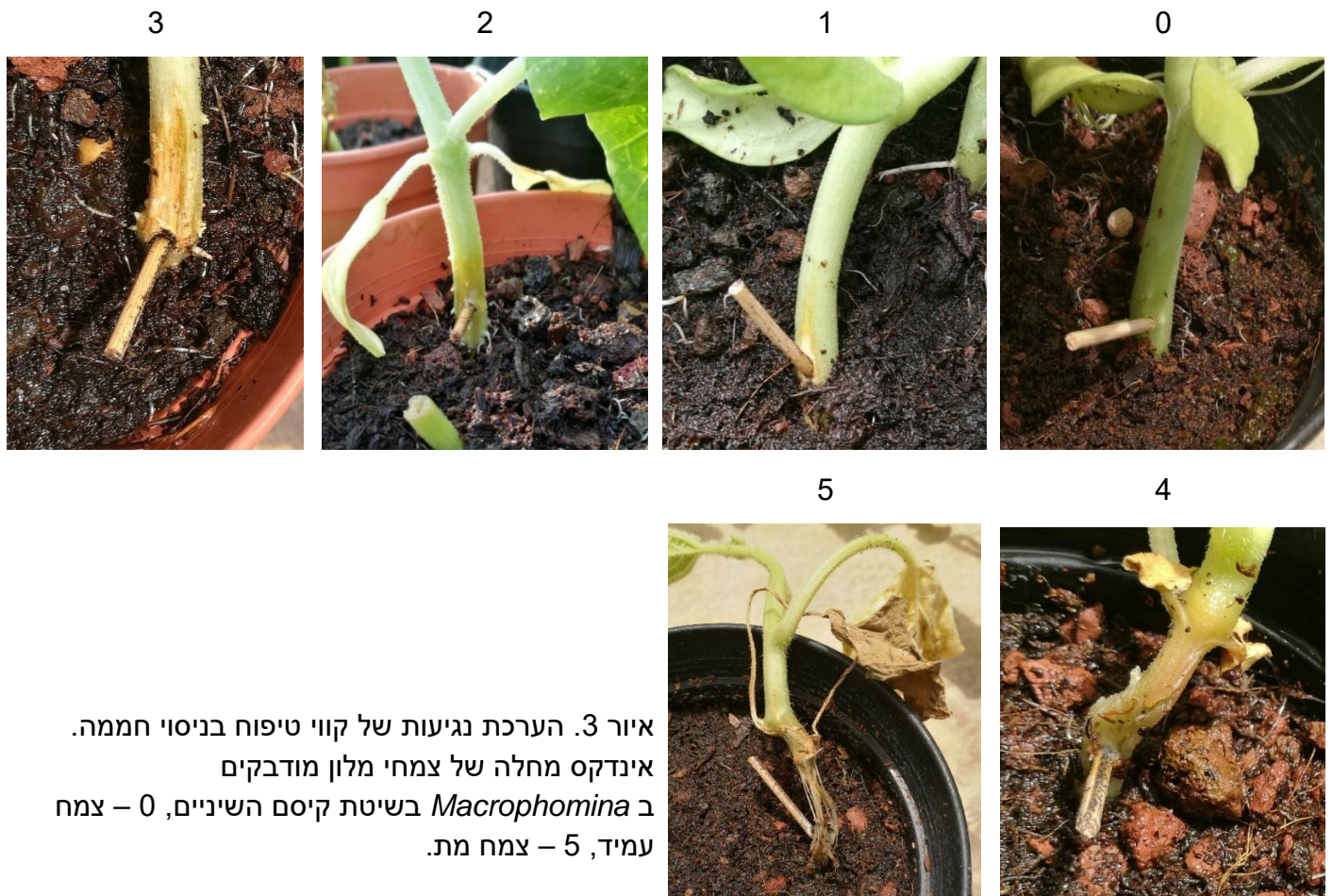
מחלת קשיון הבטטה (רקבון הפחם, Charcoal rot) הנגרמת ע"י הפטרייה *Macrophomina phaseolina* היא מחלה רב-פונדקאית התוקפת כחמש מאות מיני צמחים השייכים למשפחות בוטניות שונות הכוללות צמחים עשבוניים ועצים. בישראל גורמת המחלה לנזקים קשים במגוון רחב של גידולי שדה כמו כותנה (ראו פרק מקרופומינה בכותנה), חמנית, תירס וחמצה. קשיון הבטטה התגלה לפני מספר שנים גם בזנים שונים של תות שדה במשתלות ובשדות מניבים באזורים שונים בישראל *M. phaseolina* גורמת לנזקים בעיקר בגידולי קיץ החשופים לעקות יובש וחום. הנזק המשמעותי ביותר בין גידולי הירקות בישראל נגרם לאבטיח ולמלון (איור 2). המחלה גרמה, בשנות השבעים של המאה שעברה, להפסקה כמעט מוחלטת של גידול מלון בנגב המערבי והיא אחד הגורמים העיקריים לשימוש באבטיחים ומלונים מורכבים (ראו פרק הרכבות דלועיים בישראל) ברוב שטחי המשתל ישראל.



איור 2. הדבקה מלאכותית של צמח מלון בפטרייה *Macrophomina phaseolina* בשיטת הקיסם המאולח. מימין חתך אורך בגבעול. למעלה נקודת הדקירה למטה, הצטברות של קשיונות שחורים של הפטרייה (סמפטום ריקבון פחם). שמאל החמה של קליפת הגבעול, סימפטומים חיצוניים אופייניים של הדבקה ב *M. phaseolina*.

M. phaseoloina יוצרת בצמחי מלון סימפטומים אופייניים של ריקבון על צוואר השורש ויצירה מהירה של קשיונות שחורים ברקמת הפרנכימה של לב הגבעול (איור 2, Cohen et al., 2016). לעומת זאת צמחי אבטיח הנגועים בפטרייה נובלים ללא סימפטומים ייחודיים על הגבעול וגם כמעט ולא נוצרים קשיונות בגבעול הנגוע במחלה (Cohen et al 2016), השפעת הפתוגן על הצמחים וגרימת מחלה תלויה במידה רבה גם בגורמים סביבתיים כמו הגידול הקודם, סוג הקרקע, הטמפרטורה השוררת בשדה ונגיעות הצמחים בגורמי מחלה נוספים. אכן, נזקי המחלה נצפים בעיקר בזרעיות ושתילות מאוחרות כאשר הצמחים נחשפים לטמפרטורות קרקע ואוויר גבוהות ובשדות בהם השקיה לקויה וחושפת את הצמחים לעקות יובש (Cohen et al. 2012).

במחלות צמחים רבות ובכלל זה במחלת קשיון הבטטה ידוע שהפטרייה גורמת לנזק ע"י פעילות משולבת של רעלנים הגורמים להרעלת פעילויות ביולוגיות של הצמח ואנזימים שונים המפרקים את רקמות הצמח. במאמר סקירה שפורסם לאחרונה מרוכז הידע העדכני של האינטראקציה בין *M. phaseolina* לצמחים שונים ותפקידי האנזימים והטוקסינים של הפטרייה בפתוגנזה (Islam et al., 2012). תגובת צמחים עמידים ורגישים לטוקסינים המופרשים על ידי פטריות פתוגניות יכולה להוות לעיתים סמן אמין לעמידות כאשר הטוקסינים מהווים גורם פתוגני ראשוני. טכניקה זו זכתה להצלחה במקרים מסוימים אך לא הייתה עקבית במיני צמחים אחרים. גם במערכת ה- *Macrophomina* – קיימת אי הסכמה בספרות בדבר חשיבות הטוקסינים ליצירת סמפטומטי המחלה. ישנם מקרים בהם נמצאו טוקסינים שהפטרייה יצרה בתרבית אך אלו לא גרמו לסמפטומים ומקרים אחרים בהם נטען שטוקסינים יכולים לשמש ככלי לסלקציה של צמחים לעמידות או לרגישות. הידע בדבר מנגנוני העמידות למחלה דל אף הוא. לאחרונה התפרסמה עבודה של חוקרים ספרדים שתיעדו שונות בעמידות מלונים למחלה אך לא הוצע מנגנון גנטי המסביר את הורשת העמידות (Ambrósio et al., 2015). לימוד הפתוגנזה של הפטרייה והעמידות למחלה דורש הדבקת צמחים צעירים. לאחרונה הצלחנו לכייל מערכת הדבקה בעזרת קיסמי עץ מאולחים שיכולה להוות כלי עזר משמעותי בקידום המחקר (איור 3).



נבילה פתאומית בדלועיים (*Monosporascus cannonballus*)

סמפטומי הנבילה של צמחי מלון מבוגרים הנגרמת ע"י הפטרייה *M. cannonballus* מופיעים לקראת הקטיפה כאשר הצמח עמוס בפרי. סמפטומי המחלה אינם מובהקים. לפיכך המחלה נקראת במקומות מסוימים נבילה פתאומית -

(Martyn and Miller, 1996) Root rot and vine decline (Cohen et al., 2000) Sudden wilt
M. cannonballus מסוגלת לחדור לשורשים של דלועיים שונים אך סימפטומטי נבילה משמעותיים מוכרים רק במלון
 ואבטיח. המחלה מוכרת באזורים חמים וצחיחים כמו דרום ארה"ב, דרום ספרד, צפון אפריקה, סעודיה, פקיסטן והודו.
 בישראל המחלה מוכרת בערבה וגרמה בעבר לנזקים קשים (Cohen et al., 2000).
 עמידות יציבה לנבילה פתאומית אינה מוכרת. כמו במחלות אחרות קיים טווח תגובה וניתן למצוא זנים או קווי
 טיפוח העמידים מעט יותר מהאחרים. לתנאי סביבה השוררים במהלך הגידול השפעה רבה על חומרת המחלה. מופע
 המחלה חמור יותר בגידול סתווי בו טמפרטורות הקרקע והאוויר גבוהות לעומת התפתחות איטית ומתונה בגידול של
 מלוני אביב. חיטוי קרקע עם מתיל-ברומיד היה במשך שנים רבות הדרך היחידה והיעילה להתמודדות עם המחלה.
 חקלאי הערבה השקיעו כסף ועבודה רבה בהכנת השטח לחיטוי, פרישת יריעות פלסטיק והזרמת מתיל-ברומיד כטיפול
 שיגרתי לפני שתילה. הטיפול במתיל-ברומיד מזיק לסביבה ולפיכך הוצא משימוש בשנת 2005 ואינו זמין יותר. טיפול
 בפונגיצידיים המיושמים בהשקיה דרך מערכת הטפטוף מספר פעמים במהלך הגידול פותח בערבה, Cohen et al.,
 (2000; Pivonia et al., 2010) 4). טיפול זה שווה ביעילותו למתיל-ברומיד ויעיל יותר מחיטוי קרקע חלופיים.
 מחיר הטיפול נמוך משמעותית מחיטוי קרקע אלטרנטיביים. אכן, טיפול בחומרי הדברה נעשה טיפול שבשגרה אצל
 מגדלי המלונים והעלים כמעט לחלוטין את המחלה שהיוותה איום חמור על מגדלי המלונים. הרכבת מלונים ואבטיחים
 על כנות דלעת עמידות לפטרייה מהווה חלופה נוספת (ראו פרק הרכבות דלועיים בישראל). השימוש בצמחים מורכבים
 מתאים לתנאים מסוימים, בעיקר למלוני אביב ובשאר העונות נעשה שימוש נרחב בהדברה כימית (Pivonia et al.,
 2010).



איור 4. מחלת התמוטטות פתאומית
 במלון. משמאל צמחים מתים. מימין,
 צמחים בריאים שטופלו בפונגיצידי
 azoxystrobin. הצילום באדיבות ד"ר
 שמעון פיבניה, מו"פ ערבה תיכונה
 וצפונית.

קימחון הדלועיים

קימחון הדלועיים יכול להיגרם ע"י שתי פטריות *Golovinomyces chiciracearum* ו- *Podospaera xanthii*.
 הפטרייה *P. xanthii* הינה חשובה ונפוצה יותר והיא הגורם לקימחון הדלועיים בישראל. *G. chiciracearum* נפוצה
 יותר בארצות מרכז אירופה בתנאי קיץ גשום ומתון (Jahn et al., 2002). למחלת מאפיינים ייחודיים. סמפטומי המחלה
 נראים ככתמים לבנים של תפטיר ונבגים על עלים (כהן, 1998, איור 5) בניגוד לפתוגנים אחרים, הפטרייה גורמת לנזק
 רק לרקמת האפידרמיס ואינה חודרת למזפיל העלה. נביטת נבגי הקימחון ייחודית ונבדלת מרוב הפטריות הפתוגניות.

נבגי הפטרייה מכילים מים ויכולים לנבוט בלחות חיצונית לא גבוהה. נבגי הפטרייה נפוצים באוויר. מחזור החיים של הפטרייה מנביטה וחדירה לאפידרמיס ועד לנביגה ושחרור נבגים הוא כשבוע ימים בתנאים מיטביים. בצמחי מלון, סימפטומים ראשונים של המחלה מתגלים בדרך כלל בצד התחתון של עלים מבוגרים כנראה בגלל שצל וטמפרטורות מתונות תורמות להתפתחות הפטרייה. נזקים כלכליים של מחלת הקימחון מוכרים במלון, מלפפון, אבטיח, קישוא ודלעת (Jahn et al., 2002, Sitterly, 1979).

זן המלון הראשון העמיד לקימחון PMR 50 שוחרר לראשונה בארה"ב בשנת 1932. שש שנים לאחר מכן נמצא בדרום קליפורניה קימחון על המלונים העמידים. הגזע החדש של הפתוגן נקרא אז גזע 2 (race 2). גזע חדש של הפתוגן הוכרז. בכך נפתח המרוץ בין הפתוגן למטפחי המלון. זנים עמידים משוחררים ולאחר זמן מה מגיעים גזעים חדשים של הפתוגן המתגברים על עמידות זו. זיהוי גזעי הקימחון מושג באמצעות הדבקה של סידרת זנים בעלי עמידויות שונות (זנים דיפרנציאליים). מספר גזעי הקימחון, (השונות הגנטית), גדול ותלוי לפיכך במספר זני המלון הדיפרנציאליים ובמגוון העמידויות הגנטיות שהם מכילים. מספר גזעי המלון לא ידוע ומוערך בעשרות (et al., 2016). לקראת רישום זנים חדשים, חברות הזרעים בודקות במבחנים רשמיים במעבדות המוסמכות לכך, את העמידות למספר מצומצם של גזעים, בדרך כלל גזעים 1, 2, 3 ו-3.5, כאשר ברור לכל שזאת היא בדיקה חלקית בלבד לצורך אחריות משפטית למקרים של תביעה מצד חקלאים. ברור גם שכדאי שטיפוח לעמידות יעשה בארץ היעד. מלון שטופח לעמידות בישראל למשל, לא יהיה בהכרח עמיד בארץ אחרת או בעונת גידול אחרת.



איור 5. קימחון הדלועיים בעלה מלפפון.

כמו במחלות צמחים אחרות, התפתחות המחלה תלויה בגורמים ביוטיים וא-ביוטיים רבים, כך שלימוד האפידמיולוגיה, ההדברה והגנטיקה אינם פשוטים ויש צורך להקפיד על תנאי סביבה הדירים כדי להשיג תוצאות אמינות. בגידול מלונים במנהרות עבירות בערבה למשל, הקימחון מפסיק להתפתח כאשר הטמפרטורות עולות לקראת בוא הקיץ. במחקר אפידמיולוגי שנערך בנווה יער מצאנו שכאשר הדבקנו קישואים עמידים, רגישים ואת הורי המכלואים, ההורה העמיד וההורה הרגיש הגיבו אחרת בתנאי תאורה שונים. המכלוא וההורה העמיד היו חופשיים מקימחון בתאורה הטבעית אבל פיתחו סימני מחלה כשגדלו תחת רשת צל (Leibovich et al., 1996, איור 6).

חקלאים משתמשים לעיתים ברשת צל או ריסוס בסיד להורדת טמפרטורה בחודשי הקיץ. פעולה אגרוטכנית זו עלולה להיות חרב פיפיות. חוסר תשומת לב והכרה לקויה של הגידול והמחלות התוקפות אותו יכולה לגרום לתחלואה ניכרת כאשר משתמשים בחוסר זהירות ברשת צל. מאידך, גידול תחת רשת צל המחמיר את המחלה, יכול לשמש כלי יעיל אצל מטפחי דלועיים לברירה מחמירה של צמחים עמידים מתוך אוכלוסיות מתפצלות.



איור 6. תגובת אוכלוסיית טיפוח זהות של קישואים לקימחון הדלועיים בתנאי תאורה משתנים. בתמונה הימנית, נגיעות כבדה של חלק מהקווים בגידול תחת רשת צל. בתמונה השמאלית, אותה אוכלוסייה של קווי קישוא חופשית ממחלה בגידול בשטח פתוח.

כשותית הדלועיים

כשותית הדלועיים הנגרמת ע"י האואומיצט (דמוי-פטרייה) *Pseudoperonospora cubensis* מהווה איום חמור על דלועיים שונים הגדלים באזורים קרירים ולחים (כהן, 1998). נגרמת נקרזה בצבע צהוב-חום בעלי מלפפון ומלון עד כדי קמילה של כל הנוף (איור 7). האואומיצט יוצר בצד התחתון של העלה מנבגים המכילים חי-נבגים (zoospores) המשתחררים מהמנבג ויכולים להדביק ביעילות רבה צמחים אחרים בתנאי קור, רטיבות ולחות יחסית גבוהה. לגורם המחלה חמישה טיפוי פתוגנזה (Pathotypes) בעלי כושר לגרום מחלה לסוגי דלועיים שונים (Thomas et al., 1987, טבלה 2). פתוטייפ 1 ו 2 נמצאו ביפן. באירופה ובארצות הברית נפוצים טיפוסים 4 ו 5. טיפוס 3, התוקף רק מלון ומלפפון, נפוץ בישראל. בקיץ 2002 נמצא בישראל טיפוס כשותית חדש שתקף דלעת (*Cucurbita pepo*) והוגדר כטיפוס 5. לשאלות בדבר מקור הטיפוס החדש, היקף תפוצתו והאם הוא כאן כדי להישאר אין כרגע תשובה. במלון נמצאו מספר מקורות עמידות ששימשו למחקר העמידות ולטיפוח (Cohen et al., 1985; Thomas et al., 1988). ברוב המקרים הגנים מקנים עמידות חלקית. העמידות תלויה לעיתים בתנאי סביבה. בקו PI 124111F למשל, העמידות היא תלויה טמפרטורה. העמידות במיטבה בטווח טמפרטורות של 21-25 מ"צ ופוחתת משמעותית כאשר הצמחים גדלים בטווח של 12-15 מ"צ (Balas et al., 1993). הטיפוח לעמידות נעשה בעיקר ע"י סילוק של פרטים או קווים רגישים במיוחד והעלאת רמת העמידות הכללית. מלפפוני שדה ותיקים דוגמת הזן בית אלפא רגישים מאד לעומת זני מלפפון חדשים בעלי רמת עמידות גבוהה יותר. גם זני מלון ותיקים כמו ה"אננס יוקנעם" המקורי מאד רגישים לעומת זני מלון חדשים הגדלים בקיץ הישראלי כמעט ללא מחלה. יחד עם זאת, יש לשים לב להתפתחות סמפטומטי מחלה בשדה ולהגיב בהתאם. הדברת המחלה ע"י שימוש בזנים עמידים בלבד אינה אפשרית בדרך כלל,

יש צורך לשלב זנים עמידים חלקית עם טיפולי הדברה כימית בעיקר כאשר מגדלים צמחים בחממות בתנאי סביבה המעודדים התפתחות מחלה.



איור 7. כשותית הדלועיים במלפפון הגדל בחממה מכוסה פוליאתילן. צדו העליון (ימין למעלה) והתחתון (שמאל למעלה) של עלה ומראה כללי של צמחי מלפפון (למטה). צילומים על ידי יגאל אלעד.

טיפול לעמידות

הטיפול לעמידות לצורך הפחתת נזקי מחלות היא הגישה היעילה והידידותית ביותר לסביבה. רוב זני התרבות הוותיקים היו רגישים למחלות. ותיקי החקלאים זוכרים שאי אפשר היה לסיים עונת גידול של מלפפוני שדה מטיפוס בית אלפא ללא קמילה מסיבית שנגרמה ע"י מחלת כשותית הדלועיים. הטיפול לעמידות התחיל בשנות הארבעים והחמישים של המאה שעברה (Sitterly, 1979). הטיפול התבסס על הכלאות של מיני בר עמידים בקווים תרבותיים ודחיקת התכונות השליליות של זן הבר ע"י הכלאות מחזירות להורה הרגיש, בעל התכונות ההורטיקולטוריות הרצויות. הטיפול כיום מתבסס בחלקו על שימוש בזנים קיימים, "פתיחת הזן" ע"י הכלאה עצמית וחיפוש של תכונות חדשות או כאלו שיתאימו לדרישות המטפח. הגישה לטיפול לעמידות תלויה בגישה של המטפח. מטפח בעל אוריינטציה פיטופתולוגית ידגיש את העמידות בעוד הורטיקולטוריסט יסתכל בעיקר על תכונות הפרי והטיפול לעמידות יעשה בעיקר ע"י סילוק הפרטים או קווי הטיפול הרגישים.

טבלה 2. מיון טיפוסים הדבקה (Pathotype) של האוואמיצט *Pseudoperonospora cubensis* על סמך ניסויי הדבקה שנערכו ביפן, ארה"ב וישראל

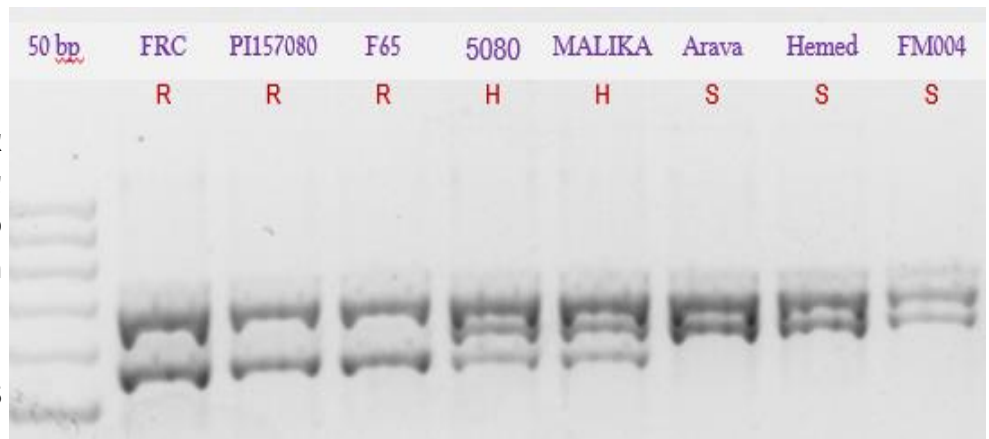
תבדיד ומדינה					צמח פונדקאי	
T	C	M1, M2	C 2	C 1		
ארה"ב	ארה"ב	יפן, ישראל	יפן	יפן		
+	+	+	+	+	<i>Cucumis sativus</i>	מלפפון
+	+	+	+	+	<i>Cucumis melo var. reticulatus</i>	מלון
+	+	+	+	-	<i>Cucumis melo var. conomon</i>	מלון
+	+	+	-	-	<i>Cucumis melo var. acidulus</i>	מלון
+	+	-	-	-	<i>Citrulus lanatus</i>	אבטיח
+	-	-	-	-	<i>Cucurbita spp.</i>	דלעת
5	4	3	2	1	(Pathotype) טיפוס הדבקה:	

על פי Thomas et al. (1987).

תכנית הטיפול תלויה גם באופן ההורשה של העמידות למחלה. במחלות מועברות בקרקע דוגמת מחלת קשיון הבטטה (*Macrophomina phaseolina*) או ההתמוטטות פתאומית במלון (*Monosporascus cannonbaius*), העמידות בהורים "עמידים" בדרך כלל חלקית וההורשה של מחלות אלו כמו גם מחלות פטריות אחרות של הדלועיים (למעט פוזריום הנבילה) היא פוליגנית, כך שמציאת צמחים עמידים לאחר הכלאה של הורה רגיש בהורה עמיד היא כמעט תמיד בלתי מספקת. יתרה מכך, ביטוי הגנים לעמידות מושפעים מהרקע הגנטי של זן התרבות וביטוי העמידות אינו זהה בזנים בעלי רקע גנטי שונה. לתנאי הסביבה השוררים בסביבת הצמח ולעונת הגידול השפעה דרמטית על תגובת הצמחים לגורם המחלה. יתכן מאד מצב שזן שטופח למשל בישראל ונמצא עמיד יתנהג אחרת במקום אחר בעולם בו שוררים תנאי הסביבה שונים או שתבדדי הפתוגן שונים במידה זו או אחרת מאלו הנמצאים בישראל.

יוצא מכלל זה הוא הטיפול לעמידות נגד מחלת פוזריום הנבילה של המלון (Rabinowitch and Cohen, 2012). העמידות למחלה זו מיוחדת בגלל מספר גורמים: העמידות מורשת ע"י גנים דומיננטיים - לרוב, מופע המחלה הוא ברור: צמח חולה או בריא. תגובת הנבטים הצעירים המודבקים בגורם המחלה מייצגת נאמנה את ההתנהגות של הצמח הבוגר - נבט בריא יהיה גם צמח בריא. האפשרות לברירת צמחים עמידים היא קלה יחסית ונעשית ע"י הדבקות של נבטים בחממה או ע"י סמנים מולקולריים לעמידות לגזעים מסוימים הנמצאים במעבדת המטפח (איור 8). לפיכך, יש דרישה מחברות הזרעים לטפח זנים עמידים לשני גזעי הפוזריום ולהצהיר על כך בתווית. מבחינה חקלאית, העמידות המוצהרת לפוזריום אולי פחות חשובה כי מחלת הפוזריום היא רק אחת ממחלות המועברות בקרקע וכמעט אף פעם לא מופיעה כמחלה בודדת בשדה אלא בתוך קומפלקס של מחלות. יחד עם זאת, האפשרות להצהיר על עמידות משמשת במקרים רבים כמקדם מכירות.

איור 8. סמן מולקולרי לברירת צמחים עמידים ורגישים למחלת פוזריום הנבילה של המלון הנגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (race 1), S-רגיש, H-עמיד הטרוזיגוט, R-עמיד הומוזיגוט.



האפשרות להצהיר על עמידות על גבי התווית מכתובה גם דרישה מחברות זרעים להצהיר על עמידות לגזעים מסוימים של קימחון הדלועיים (Lebeda et al., 2016). בעבר המטפח היה מצהיר על עמידות או עמידות חלקית למחלה. כיום נדרש המטפח להצהיר על עמידות לגזעים מסוימים של הפתוגן. גם במקרה הזה, מספר הגזעים הקיימים בטבע וההשפעה של תנאי הסביבה על מופע אפשרי של המחלה עושה דרישה זו לפחות נכונה ופחות מעשית אבל האפשרות המעבדתית לבדוק מכתובה את הדרישה הזאת, שוב, כמקדם מכירות והגנה מפני תביעות משפטיות של החקלאים.

מקורות

אורגיל ג' (2014) פוזריום ריקבון הכתר במלפפון ומלון: לימוד הביולוגיה של המחלה והתמודדות עמה ע"י צמחים מורכבים. עבודת-גמר, מוגשת לפקולטה לחקלאות, מזון ואיכות הסביבה ע"ש רוברט ה. סמית האוניברסיטה העברית בירושלים לשם קבלת תואר 'מוסמך למדעי החקלאות'.
 בן יפת י', מנוליס ש' ופלטי י' (1998) פוזריום (מגלת) (*Fusarium spp.*), מתוך רותם י', פלטי י' ובן יפת י' (ע') מחלות צמחים בישראל, הוצאת מרכז וולקני, בית דגן, ע' 283-292.
 כהן י' (1998) מחלות בדלועיים, מתוך רותם י', פלטי י' ובן יפת י' (ע') מחלות צמחים בישראל, הוצאת מרכז וולקני, בית דגן, ע' 365-374.

Ambrósio M. M. Q., Dantas, C. A., Martinez-Perez E., Alexis C., Medeiros A. C., Nunes G. H. S. and Pico M. B. (2015) Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. Euphytica 206: 287–300.

Balas M., Cohen Y. and Bar Joseph M. (1993) Temperature-dependent resistance to downy mildew in muskmelon: Structural response. Physiological and Molecular Plant Pathology 43: 11-20.

Burger Y., Katzir N., Tzuri G., Portnoy V., Saar U., Shriber S., Perl-Treves R. and Cohen R. (2003) Variation in the response of melon genotype to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1 as determined by inoculation tests and by molecular markers. Plant Pathology 52: 204-211.

Cohen R., Omari N., Porat A. and Edelstein M. (2012) Management of *Macrophomina phaseolina* in melons using grafting or fungicide soil application: Pathological, horticultural and economical aspects. Crop Protection 35: 58-63.

- Cohen R., Pivonia S., Burger Y., Edelstein M., Gamliel A. and Katan J. (2000) Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. *Plant Disease* 84: 496-505.
- Cohen R., Elkabetz M. and Edelstein M. (2016) Variation in the responses of melon and watermelon to *Macrophomina phaseolina*. *Crop Protection* 85: 46-51.
- Cohen R., Orgil G., Burger Y., Saar U., Elkabetz M., Tadmor Y., Edelstien M., Belausov E., Maymon M., Freeman S. and Yarden O. (2015) Differences in the responses of melon accessions to *Fusarium* crown rot and their colonization by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum*. *Plant Pathology* 64: 655-663.
- Cohen Y., Cohen S., Eyal H. and Thomas C. E. (1985) Inheritance of resistance to downy mildew in *Cucumis melo* PI 124111. *Cucurbit Genetics Cooperative Report* 8: 36–38.
- Elkabetz M., Paris H. S., Burger Y., Hanan A. and Cohen R. (2016) Two genes for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum* in melon (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae). *Scientia Horticulturae* 201: 57–60.
- Herman R. and Perl-Treves R. (2007) Characterization and inheritance of new source of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in *Cucumis melo*. *Plant Disease* 91: 1180-1186.
- Islam M. S., Haque M. S., Islam M. M., Emdad E. M., Abdul Halim A., Hosen, Q. M., Hossain M. Z., Ahmed B., Rahim S., Rahman M. S., Alam M. M., Hou S., Wan X., Saito J. A., and Alam A. (2012) Tools to kill: Genome of one of the most destructive plant pathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. *BMC Genomics* 13: 493.
- Jahn M., Munger H. M. and McCreight J. D. (2002) Breeding cucurbit crops for powdery mildew resistance. In: Belanger R. R., Bushnell W. R., Dik A. J. and Carver T. L. W. (eds.), *The Powdery Mildews, A Comprehensive Treatise*. APS Press, St. Paul, MN. pp. 239-248.
- Lebeda A., Kristkova E., Sedláková B., McCreight J. D. and Coffey M. D. (2016) Cucurbit powdery mildews: Methodology for objective determination and denomination of races. *European Journal of Plant Pathology* 144: 399-410.
- Leibovich G., Cohen R. and Paris H. S. (1996) Shading of plants facilitates selection for powdery mildew resistance in squash. *Euphytica* 90: 289-292.
- Martyn R. D. and Miller M. E. (1996) *Monosporascus* root rot and vine decline, an emerging disease of melons worldwide. *Plant Disease* 80: 716-725.
- Netzer D., Niego and Galun E. (1977) A dominant gene conferring resistance to *Fusarium* wilt in cucumber. *Phytopathology* 67: 525-527.
- Perchepped L. and Pitrat M. (2004) Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in melon. *Phytopathology* 94: 1331-1336.
- Pivonia S., Gerstl Z., Maduel A., Levita R. and Cohen R. (2010) Management of *Monosporascus* sudden wilt of melon by soil application of fungicides. *European Journal of Plant Pathology* 128: 201-209.

- Punja Z. K. and Parker M. (2000) Development of *Fusarium* root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. Canadian Journal of Plant Pathology 22: 349–363.
- Rabinowitch H. D. and Cohen R. (2012) Chapter 9. Genetics and breeding for resistance and grafting for protection against *Fusarium oxysporum* wilts. In: Gullino M. L., Katan J. and Garibaldi A. (eds), *Fusarium Wilts of Greenhouse Vegetable and Ornamental Crops*, APS Press, St. Paul Minnesota USA.
- Thomas C. E., Inaba T. and Cohen S. (1987) Physiological specialization in *Pseudoperonospora cubensis*. Phytopathology 77: 1621-1624.
- Sitterly W. R. (1979) Powdery mildew of Cucurbits. In: Spencer D. M. (ed.), *The Powdery Mildews*. Academic Press, New York, pp. 359-379.
- Vakalounakis D. J. (1996) Root and stem of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* f. sp. nov. Plant Disease 80: 313–316.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 21: הרכבות דלועיים בישראל, המצב הקיים ואתגרי העתיד

רוני כהן¹ ומנחם אדלשטיין²

¹ המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי
² המחלקה לחקר ירקות וגידולי שדה, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי

תקציר

בשני העשורים האחרונים, התרחב משמעותית היקף השימוש בצמחים מורכבים ממשפחת הדלועיים. המניע העיקרי לשימוש בצמחים מורכבים נובע מהצורך למנוע נזקים הנגרמים על ידי פגעי קרקע במקרים בהם עמידות גנטית אינה זמינה ושימוש בחומרי הדברה או שיטות אגרוטכניות אינם יעילים. הרכבת צמח רגיש על כנה עמידה יוצרת צמח "עמיד" לפגעי קרקע ללא צורך בתהליכי טיפוח ארוכים הנדרשים להשגת תכונות הקשורות לאיכות הפרי וחיי המדף. הרכבה תוך מינית (מלון על מלון עמיד למשל), מקנה עמידות גבוהה ואינה משפיעה על איכות הפרי תוך הקניית עמידות נגד פתוגן מסוים או אפילו נגד גזע ספציפי של אותו הפתוגן. הרכבה בין מינית (על כנת דלעת), מקנה הגנה נגד טווח רחב של מחלות אך לעיתים סוג הרכבה כזה משפיע לרעה על כמות ואיכות הפרי. בנוסף לעמידות כנגד פגעי קרקע ניתן לעיתים להקנות לצמחים עמידות כנגד פגעים פיזיולוגיים ועקות א-ביוטיות.

אופן הציטוט: כהן ר' ואדלשטיין מ' (2021) **הרכבות דלועיים בישראל, המצב הקיים ואתגרי העתיד** פרק 21, ע' 303-312 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51919>



מבוא

השימוש בשתילי ירקות מורכבים על כנות עמידות נפוץ במזרח הרחוק מזה מספר עשורים (Lee and Oda, 2003). יישום טכנולוגיה זו בחקלאות המערבית החלה מאוחר יותר וזכתה לעידוד משמעותי בעקבות צמצום או איסור השימוש במתיל ברומיד לחיטוי קרקע (Davis et al., 2008). המניע העיקרי לשימוש בצמחים מורכבים נובע מהצורך למנוע או להפחית נזקים הנגרמים על ידי פגעי קרקע במצבים בהם עמידות גנטית אינה זמינה ושימוש בחומרי הדברה או שיטות אגרוטכניות אינם יעילים. הרכבת צמח רגיש על כנה עמידה יוצרת צמח "עמיד" בתהליך מהיר ללא צורך בתהליכי טיפוח ארוכים כדי להקנות לצמחים תכונות הקשורות בשיפור של איכות הפרי וחיי המדף. יתרה מכך, שימוש בצמחים מורכבים מאפשר תגובה מהירה להופעה של פתוגן חדש או גזע אלים של פתוגן מוכר. ביצועי הצמחים המורכבים תלויים בהתאמה גנטית ופיזיולוגית בין הכנה לרוכב ומושפעים מתנאי הסביבה השוררים בשדה. לשימוש בצמחים מורכבים (דלועיים שונים), יש לעיתים יתרונות נוספים מלבד מניעת נזקי מחלות. צמחים מורכבים מתמודדים טוב יותר עם עקות סביבתיות, עמידים לטמפרטורות קרקע נמוכות, עמידים למלח, מונעים חדירה של מזהמים לצמח, קולטים ביעילות רבה מים ומינרלים מהקרקע ומניבים יבול רב ואיכותי. דלועיים מורכבים הוכנסו לראשונה לשימוש ניסיוני בישראל בשנת 1995 כאחת החלופות לחיטוי קרקע במתיל ברומיד (אדלשטיין וחוב', 1997).

ההנחה הייתה שביצועי הצמח המורכב תלויים בעיקר בכנה ושמציאת כנה מתאימה תאפשר אימוץ מהיר של שיטה זו לפי המתכונת הנהוגה במזרח אסיה. המציאות הייתה שונה. כמו בגידול של זן חדש, גם בצמחים מורכבים יש צורך בלימוד מדוקדק של ביצועי הצמח והתאמתו לעונות השנה ולאזורי הגידול. יתרה מכך, ביצועי הצמח המורכב מושפעים במידה רבה מתכונות הרוכב ולא רק מביצועי הכנה. השימוש בדלועיים מורכבים מתרחב במהירות בישראל. הרוב המוחלט של האבטיחים הגדלים בישראל מורכבים ובכלל זה כל האבטיחים במישתלים המוקדמים הגדלים בערבה ובצפון ים המלח. השימוש במלונים מורכבים החל לתפוס אף הוא תאוצה במיוחד בחקלאות האורגנית שם אין פתרון אחר למחלות המועברות בקרקע (Edelstein et al., 2015). בשל מחירו הגבוה יותר של צמח מורכב (כפול 3) מצמח לא מורכב (עלות של שני זרעים ופעולת ההרכבה במשתלה) החקלאים מפחיתים את מספר הצמחים לדונם כדי לחסוך במחיר השתילים המורכבים. האבטיח המורכב מפצה על שינוי העומד ביבול שאינו נופל מהיבול המושג באבטיח לא מורכב הנשתל בעומד המקובל והשימוש באבטיח מורכב מניב רווח לחקלאי. בשנים האחרונות נחקר הקשר בין העומד והיבול במלון מורכב כדי למסד ולהרחיב את השימוש במוצר זה. מטרת השימוש והיקפי הגידול של דלועיים בישראל מוצגים בטבלה 1.

טבלה 1: ההיקפים ומטרות השימוש באבטיחים, מלונים ומלפפונים מורכבים בישראל – הנתונים נכונים לעשור השני של המאה ה-21. ההיקפים והשימושים יכולים להשתנות.

סוג הצמח	מחלה או עקה א-ביוטית	עונת גידול	אחוז מכלל שטחי הגידול	חלופות
אבטיח רגיל	ריקבון הבטטה (מקרופומינה), התמוטטות מאוחרת בדלועיים (מונוספוראסקוס), עייפות קיץ קרקע, מליחות	אביב - קיץ	< 90%	אין, רוב האבטיחים מורכבים
אבטיח מיני או מיקרופומינה, טמפרטורות קרקע נמוכות	מיקרופומינה, מונוספוראסקוס, עייפות קרקע, קיץ	אביב - קיץ	< 70%	אבטיח לא מורכב, היקף האבטיח המורכב הולך וגדל
מלון קיץ, טיפוס אננס, שטח פתוח	מגלת (פוזריום הנבילה), מקרופומינה	קיץ	~ 15%	זנים עמידים למגלת, הגמעה בפונגיצידיים להדברת מקרופומינה
מלון אביבי, חממות, טיפוס גליה	מונוספוראסקוס, ריקבון יבש (פוזריום סולני), ריקבון כתר הדלועיים (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis cucumerinum</i>), מליחות	אביב, קיץ, סתיו	~ 15%	הגמעה בפונגיצידיים
מלפפון חממה, קיץ		קיץ	לא משתמשים במורכב, עונת גידול קצרה	מלפפון לא מורכב
מלפפון חממה, חורף	ריקבון כתר הדלועיים, גבעול זב (דידימלה), נימור ומוזאיקה ירוקה במלפפון (CGMMV), אביב טמפרטורות קרקע נמוכות	חורף, אביב	< 90%	

בחירת הכנה - הרכבות בין ותוך מיניות

ניתן להפחית נזקי מחלות המועברות בקרקע על ידי הרכבה תוך מינית או ע"י הרכבה בין מינית. בעגבנייה, קיים מגוון רחב של גנוטיפים בעלי עמידויות מוגדרת נגד נגיפים (וירוסים), פטריות ונימיות (נמטודות) וההרכבות התוך מיניות (עגבנייה על עגבנייה), הן הנפוצות בגידול זה (Pico et al., 2017). במלונים, ההרכבה הנפוצה היא בין מינית בעיקר על כנת דלעת המקנה עמידות רחבת טווח כנגד ריקבון שורש וצוואר שורש (Root and stem rot diseases) ובכך תורמת להפחתת הנזקים. הרכבות תוך מיניות, מלון מורכב על כנת מלון, משמשות בעיקר כדי למנוע את מחלת המגלת הנגרמת על ידי גזעים ייחודיים של פטריית הפוזריום ייחודיים למין (forma specials - צורה מתמחה) הגורמים נבילה. במקרה זה, מרכיבים מלון רגיש על מלון בעל עמידות מונוגנית למחלה. חשוב לציין שזמינות של קווי מלון בעלות עמידות גנטית מאפשרות טיפוח לעמידות והשימוש בצמח מורכב מאפשר להקנות עמידות לצמח רגיש באופן מדי, כאשר לכל סוג של הרכבה יתרונות אך גם חסרונות. הרכבה תוך מינית, מקנה עמידות גבוהה, אינה משפיעה על איכות הפרי והכנה מקנה עמידות נגד פתוגן מסוים או אפילו נגד גזע ספציפי של אותו הפתוגן. הרכבה על כנת דלעת, מקנה הגנה כנגד טווח רחב של מחלות ופגעים ביוטיים וא-ביוטיים אך לעיתים סוג הרכבה זה משפיע לרעה על כמות ואיכות הפרי.

מחלות מלון

מגלת (פוזריום הנבילה)

מחלת המגלת מהווה גורם מגביל לגידול מלוני "אננס" בעמקי הצפון. ביצועי צמחים מורכבים והקשר למופע הנבילה הנגרם על ידי *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* נחקר בעמק בית נטופה שם נמצאו כל ארבעת הגזעים הפיזיולוגיים של הפטרייה. זנים בעלי עמידות גנטית לפוזריום קיימים אך איכותם נופלת לעיתים מזו של הזנים הרגישים. הרכבה של זן איכותי רגיש על כנת מלון עמידה יוצרת צמח עמיד בעל פירות איכותיים. בניסויים שנערכו בעמק בית נטופה (חורב וחוב', 2001) לא נצפתה נבילה במלונים שהורכבו על מלון עמיד ועל כנות דלעת לעומת תמותה מלאה של צמחים לא מורכבים. יבול המלונים היה גבוה משמעותית במלונים שהורכבו על כנות מלון לעומת מלון שהורכב על כנות דלעת. היבול הגבוה ביותר התקבל מצמחי מלון מהזן אופיר שהורכבו על כנת מלון אדיר (שניהם מטיפוס אננס), לעומת מלון אופיר שהורכב על מלון מהזן אורקה השייך לטיפוס שרנטייה. ממצא זה מצביע על התאמה בין כנות לרכבים בין מלון לדלעת ואפילו בין זני המלון. הפחתה באחוז הצמחים החולים הושפעה גם מרגישות הרכב. אחוז הצמחים החולים בזן "אננס עין דור" (רגישות גבוהה), לא מורכב ובצמחי עין דור מורכבים על כנת דלעת היו 82 ו-20% בהתאמה, לעומת 36 ו-0% תמותה בזן "אופיר" (רגישות בינונית) לא מורכב ומורכב בהתאמה. בניסוי זה שנערך בנווה יער בקרקע חופשית ממחלה, לא נצפתה נבילה באף אחד מהצירופים והיבול היה דומה בכל הטיפולים. ממצא זה מראה שתהליך ההרכבה (בהיעדר מחלה), לא השפיע על היבול.

התמוטטות פתאומית בערבה

מחלת התמוטטות פתאומית בדלועיים הנגרמת ע"י הפטרייה *Monosporascus cannonballus* מהווה גורם מגביל לגידול מלונים באזורים יבשים וחמים ברחבי העולם ובערבה (Cohen et al., 2000). חיטוי קרקע במתיל ברומיד שימש במשך שנים טיפול הכרחי לפני שתילה של מלונים בערבה. יחד עם זאת, התמוטטות מלאה או חלקית של שדות נצפתה גם לאחר חיטוי קרקע בגלל אילוח מהיר מחדש או חיטוי קרקע לא מיטבי. הרכבת צמחי מלון על כנות דלעת

מנעה את המחלה ברמות שונות כוללות בשיטת בעונה ובשיטת הגידול. ההרכבות היו יעילות יותר בעונה האביבית הקרירה והארוכה יותר. הפחתת נזקי המחלה הייתה יעילה פחות בעונת הגידול הסתוית הקצרה והחמה יותר. גידול שרוע של צמחי מלון מורכבים בתנאי סביבה לא מיטביים יכול להיות בעייתי. מלונים מורכבים שנשתלו במחצית יולי בקרקע מחוטאת בעין חצבה לא התפתחו כראו. הצמחים נשאר ירוקים אך הנוף נשאר קטן ומצומצם והצמחים הניבו פירות מועטים וקטנים. צמחים מורכבים שנשתלו על אותה קרקע בעונה האביבית התפתחו בצורה תקינה. ידוע ששרשי דלעת רגישים לטמפרטורות קרקע גבוהות. גידול מלונים על ערוגות המחופות בפלסטיק צהוב (המונע התחממות יתר בניגוד לחיפוי פלסטיק שקוף) יכול לפתור את בעיית חימום הקרקע ולאפשר גידול צמחי מלון מורכבים גם בעונות החמות (איור 1).



איור 1. רגישות שורשי הכנה לטמפרטורות קרקע גבוהות. מימין מלונים מורכבים בערוגה מחופה בפלסטיק שקוף המאפשרת חימום הקרקע ופוגעת בצימוח. משמאל, מלונים מורכבים שתולים בערוגה מחופה בפלסטיק צהוב השומרת על טמפרטורה נמוכה יותר ומאפשרת גידול תקין.

התמוטטות מלונים בעמק יזרעאל

מלונים מטיפוס אננס הגדלים במהלך הקיץ בעמק יזרעאל נתקפים במחוללי מחלות הגורמים להתמוטטות בשיעורים משתנים התלויים בין השאר בזנים ובתנאי הסביבה השוררים במהלך העונה. משורשי צמחים מתמוטטים מבודדים לרוב הפטריות *Macrophomina phaseolina* ומיני *Fusarium* הגורמים ככל הנראה לנבילה. נמצא שצמחי מלון המורכבים על כנת דלעת לא התמוטטו כתוצאה מהמחלה (Cohen et al., 2012). לעיתים נצפים סימפטומים אופייניים ברוכב הנוצרים ע"י חדירת הפתוגן דרך הכנה. יחד עם זאת הקצב האיטי של התפתחות המחלה אינו גורם לקטל הצמח ומאפשר גידול וקבלת יבול גבוה ואיכותי (איור 2).

הרכבות באבטיח

היקפי השימוש באבטיח מורכב הוא הגדול ביותר מבין הדלועיים. נראה שהסיבה לכך היא כושרו של האבטיח לפצות ביבול על ירידה במספר צמחים ליחידת שטח. כושר פיצוי זה מאפשר לחקלאי להוזיל את הוצאות הגידול ע"י הקטנת עומד השתילה בחמישים אחוזים ועדיין להרוויח. השימוש באבטיח מורכב להפחתת נזקי מחלת המגלת (פוזריום הנבילה), הוא המדווח ביותר בספרות העולמית. בישראל לעומת זאת מחלה זו כגורם מחלה יחיד נמצאת בעיקר בעמק בית נטופה ובעמק החולה כאשר בשאר האזורים נפגע האבטיח ע"י מחלות אחרות או קומפלקס של מחלות המועברות בקרקע.



איור 2. צמח מלון מורכב נגוע ב-
Macrophomina phaseolina. הפטרייה
 חודרת לכנה אך אינה גורמת נזק, גדלה
 לאט וכאשר מגיעה לרוכב, גורמת לכיב
 אופייני מעבר לנקודת ההרכבה.
 ההתפתחות האיטית של המחלה מונעת
 את הנזק. התמונה צולמה לאחר סיום
 הקטיפה. הצמח חולה אך לא מת ומניב
 יבול גבוה ואיכותי.

בגידול האביבי המוקדם בערבה משתמשים באבטיח מורכב למניעת התמוטטות מאוחרת הנגרמת ע"י הפטרייה
M. cannonballus והתמוטטות הנגרמת על ידי נגיף כתמי נמק במלון (MNSV) Melon necrotic spot virus.
 במקרה של ההתמוטטות הנגיפית יש לצמח המורכב יתרון על פני חיטויי קרקע שאינם קוטלים נגיפים ולפיכך אינם
 מסוגלים למנוע התמוטטות מסוג זה. בעונות הגידול של האביב המאוחר ושיא הקיץ אבטיחים מורכבים כדי למנוע
 נזקים הנובעים מתופעת "עייפות קרקע ודעיכת יבולים". תופעה זו מאופיינת בצימוח מעוכב של הצמחים, נבילה חלקית
 ויבול מועט של אבטיחים קטנים (איור 3).



איור 3. בתמונה הימנית, פירות קטנים ונוף מעוכב. תופעת "עייפות קרקע" ודעיכת יבול האופיינית לגידול עוקב של
 אבטיחים. משמאל - גידול תקין, פירות גדולים ונוף מפותח של אבטיחים המורכבים על כנת דלעת.

התופעה מוכרת בעיקר בשדות בעלי היסטוריה של גידול אבטיח. הגורם לתופעה אינו ברור אך נראה שהוא נגרם
 מגורמים ביולוגיים היות וחיטוי קרקע פותר את הבעיה. כמו בהתמוטטות של צמחי מלון בעמקי הצפון, גם כאן, משורשי

צמחים מתמוטטים מבודדים לרוב הפטריות *Macrophomina phaseolina* ומיני *Fusarium* הגורמים או תורמים ככל הנראה להתמוטטות. באבטיח מורכב יש לעיתים פגיעה באיכות הפרי המתבטאת בגידים לבנים בציפת הפרי, חלילות וקושי של ציפת הפרי. המחקר מתרכז כרגע במציאת צירופי כנה ורוכב והתאמה של אגרוטכניקה ייחודית למניעת תופעות אלו. המחקר הבסיסי מתרכז בחיפוש סיגנלים המועברים מכנה לרוכב וגורמים לפחיתה באיכות.

הרכבות במלפפון

רקבון כתר הדלועיים הנגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* היא מחלה חדשה שדווחה במקומות שונים בעולם במלפפונים הגדלים בחממות (Vakalounakis et al., 1996). ניתן להדביר את המחלה בהצלחה מסוימת ע"י הגמעת הצמחים בחומרי הדברה או בחיטוי קרקע וחלל החממה באמצעי חיטוי שונים. בניסויים שנערכו בכרתים נמצא שרמת המחלה הופחתה ל 0 עד 25% בניסויים שונים לעומת 96% תמותה במלפפונים לא מורכבים. בניסויים שנערכו ע"י חוקרים מדריכי משרד החקלאות ושתלנים דווח על תוצאות דומות. נראה שחרף ההצלחה המוכחת של צמחים מורכבים, שימוש בשיטה זו היה מוגבל בגלל המחיר הגבוה של השתיל וחוסר כדאיות כלכלית. לאחרונה, עקב הורדת מחירי השתילים והיתרון ההורטקולטורי של מלפפון מורכב (בעיקר בעונת הגידול החורפית) גדל היקף השימוש בשתילים אלו (מירון, 2014). גורם נוסף המאיץ את השימוש במלפפונים מורכבים הוא האיום מנגיף נימור ומוזיאיקה הירוקה במלפפון (CGMMV), המופץ בדרכים שונות וגם דרך הקרקע (ראו פרק נגיפים בדלועיים). קיימות כנות בעלות עמידות חלקית לנגיף ואלו משמשות להפחתה חלקית של הנגיעות שמקורה בקרקע. מלפפונים גדלים בכל השנה והאתגר הוא להתאים כנות לזנים החורפיים ולזנים הקיציים. המטרה ארוכת הטווח היא להאריך את הניבה של המלפפון המורכב כך שיתאפשר לגדל שני גידולים בשנה לעומת שלושה המקובלים כיום.

דלועיים מורכבים ונימיות

עמידות לנימיות (נמטודות) דוגמת זאת הקיימת בעגבניות אינה מוכרת בזנים מסחריים של דלועיים. יחד עם זאת יש דירוג של רגישות בדלועיים ואלו יכולים לשמש ככנות לצורך הפחתת נזקי נמטודות. במחקר שנערך בקליפורניה נמצא שמלונים שהורכבו על מלון עמיד או על דלעת פיתחו פחות עפצים במהלך הגידול אך לא מנעו התמוטטות הצמחים שהופיעה לקראת סוף העונה. תוצאות דומות נצפו גם בניסויים שנערכו בישראל (איור 4).



איור 4 : נזקי נמטודות במלון מורכב (מימין) ובמלון לא מורכב משמאל. למרות הנגיעות של שורשי הכנה, גודל מערכת השורשים מהווה פיצוי המאפשר התפתחות טובה יותר (אך לא מיטבית) של הצמח המורכב.

היעדר עמידות טובה נגד נמטודות יכולה לסכן את השימוש בצמחים מורכבים באתרים בעלי אילוח כבד בנמטודות. יחד עם זאת המידע בקשר לרמת היעילות של הכנות הקיימות כיום לוקה בחסר ויש צורך בלימוד מקיף של סוגיה זו. בניסויי חממה שנערכו במשותף בנווה יער ובגילת נמצא חומר גנטי בעל עמידות גבוהה לנמטודות (Edelstein et al., 2010). נראה שניתן יהיה להשתמש בחומר כזה לטיפול כנות דלעת בעלות עמידות משופרת לנמטודות. מבין הדלועיים, האבטיח הוא העמיד ביותר לנמטודות. ישנה אפשרות לטפח כנות אבטיח בר שימשו כנות לאבטיח תרבותי ואלו ישמשו ספציפית לאזורים בהם הפגע העיקרי הוא נמטודות. הרכבה של אבטיח על אבטיח תמנע או תצמצם את הפגיעה באיכות הפרי הנצפית לעיתים בהרכבות של אבטיח על כנת דלעת. ניסויים בהתאמה של כנות אבטיח נעשים ביחידה לדלועיים בנווה יער וע"י עמיתים למחקר בצפון ובדרום קרולינה, ארה"ב (This et al., 2016; Cohen et al., 2014).

עקות פיזיולוגיות וא-ביוטיות

עמידות למליחות ובורן

החקלאות הישראלית בכלל ובאזורים חמים ויבשים בפרט תלויה בהשקיה. עקב המחסור במים גובר השימוש במים מטהרים בדרגות שונות להשקיית גידולים חקלאיים. במים מטהרים חבויה סכנה של רעילות לצמחים רגישים היות ומים אלו מכילים לעיתים מלחים ומתכות כבדות בריכוזים העלולים לסכן גידולי תרבות. בניסויים חממה מבוקרים ובניסויי שדה נמצא שצמחים מורכבים על כנות דלעת עמידים יותר למליחות, לריכוזי בורן גבוהים ולמתכות כבדות (Edelstein and Ben-Hur, 2012). בניסויי מעבדה נמצא ששורשי הדלעת מקטינים את קליטת המלחים וגם מקטינים את העברתם לנוף הצמחים (Edelstein et al., 2011). ממצאים אלו יכולים להרחיב את השימוש בצמחים מורכבים מעבר למטרה העיקרית להם נועדו, הפחתת נזקי מחלות צמחים. הקליטה הסלקטיבית של כימיקלים עלולה להיות חרב פיפיות. מחד ניתן לגדל צמחים מורכבים ולהימנע מהרעלות מלח ומתכות כבדות ומאידך, לעיתים נצפים סימני חסר במיקרו-אלמנטים הנדרשים להזנת הצמח. ממצאים אלו ממחישים את הצורך בפיתוח ממשק דישון ייחודי לצמחים מורכבים (Edelstein et al., 2016).

התמוטטות פיזיולוגית

דוגמא לעקות סביבתיות שיכולות לגרום לעיכוב בגידול או אף לתמותה של צמחים מורכבים (שאינה מיוחסת למחלות המועברות בקרקע), מתרחשת לעיתים תכופות בצפון הערבה בצמחי מלון מורכבים הנשתלים באביב, גדלים בהדליה ונקטפים בתחילת הקיץ (Cohen et al., 2007, אור 3). הגורמים להתמוטטות אינם ברורים אך ההנחה היא שהגורם להתמוטטות הוא חשיפת מערכת השורשים לטמפרטורות קרקע גבוהות יחד עם קליטה וטרנסלוקציה לקויים של מינרלים הנדרשים להזנת הצמח. תנאי סביבה אלו יחד עם צמח מודלה הנושא פרי רב וחשוף לקרינה מכל צדיו (לעומת צמח שרוע המצל על הפירות), מקשים על הצמח המורכב להתפתח כהלכה. בניסויים שערכנו מצאנו שונות בשיעור ההתמוטטות הפיזיולוגית בין כנות שונות וקשר לביצועי הורי המכלואים שנבדקו. בחירת הורים מתאימה היא אחת התכונות המכוונות את הטיפול.

טיפול כנות

טיפול כנות בהיעדר מידע מקדים - כנות הדלעת המשמשות כיום הן לרוב מכלואים בין מיני הדלעת *Cucurbita maxima* ל- *C. moschata*. מקורן של רוב כנות הדלעת הוא ממזרח אסיה. כנות שטופחו בישראל נמצאו עדיפות

בחלק מהמקרים על כנות יבוא. למרבה הצער, ייצור מסחרי של כנות אלו בארץ הופסק בשל מחיר ייצור גבוה שאינו בר תחרות לכנות המיוצרות במזרח הרחוק. בניגוד לטיפוח רגיל, בו המטפח רואה לנגד עיניו את הפרי ומטפח לתכונות רצויות, טיפוח הכנות אינו נסמך על ידע של תכונות מערכת השורשים של הכנה, אלא מתבסס על הכלאות אקראיות בין קווי הורים השייכים לשני מיני הדלעת ובחינת ביצועי רוכבים שונים (זנים שונים של מלון, אבטיח, מלפפון) על כנות אלו. הסיבה לשימוש במכלוא הבין-מיני אינה ברורה. תכנית הטיפוח של כנות דלעת שנערכה בנווה יער לקחה את הצורך בהכלאות בין-מיניות כ"תורה מסיני" וכפרדיגמה שנקבעה במקומות אחרים. יחד עם זאת, כלל לא בטוח שזו הדרך הנכונה להתקדם. מבירור שנעשה אצל חוקרים ומטפחים ממקומות אחרים בעולם, נטען שהמכלוא הבין-מיני מקנה לעיתים און צימוח (vigor), אבל כלל לא ברור אם תכונה זו מתקיימת בכל ההכלאות ואם היא רצויה בכל המקרים, מסייעת או מפריעה (Edelstein et al., 2004). באבטיחים למשל, כנות בעלות און צימוח רב גורמות במקרים רבים להגדלת הפרי, לפחיתה באיכות הפרי ולעיוותים הבולטים בעיקר באבטיחי מיני מורכבים. בנוסף, כנות הדלעת הבין-מיניות עקרות. מחד, עקרות המכלוא הינה תכונה הרצויה אצל חברות הזרעים היות והיא מאפשרת הגנה על החומר הגנטי, אבל מאידך, ייצור זרעים מהכלאות בין-מיניות קשה. פעמים רבות אין התאמה בין קווי הזכר לנקבה, חלק ניכר מהזרעים ריק ואחוז הנביטה של הנותרים לקוי. הצורך במכלוא בין-מיני מייקר ומסרביל את ייצור הזרעים. מידע בסיסי על תכונות של קווי *C. moschata* – ו *C. maxima* שישמש ככלי עזר לטיפוח מושכל אינו קיים. יחד עם זאת, עם התרחבות השימוש בצמחים מורכבים התמונה מתחילה להתבהר ובצד היתרונות מתגלים גם חסרונות של כנות הדלעת.

סיכום ומסקנות

השימוש בהרכבה של כנה רגישה על רוכב עמיד היא טכנולוגיה ישנה ומוכרת בעצי פרי ובצמחים רב שנתיים אחרים. צפוי שהשימוש בירקות מורכבים ילך ויתרחב יחד עם המגמה של הפחתה בשימוש בחומרי הדברה מחד ומאידך הגדלת העניין והחשיבות של החקלאות האורגנית. שילוב טכנולוגיה זו עם טכנולוגיות אוהדות סביבה אחרות (ראו פרק הדברה קולטורלית) תקל את הכניסה לעידן שאחרי המתיל ברומיד. יחד עם זאת, יש עוד הרבה מה ללמוד ולשפר. נראה שההתגברות על המחלות הוא החלק הפשוט יותר בסיפור בעוד לימוד הפיזיולגיה של ההתאמה בין כנה לרוכב היא החלק המסובך של המחקר העומד לפנינו. הטכנולוגיות המולקולאריות הזמינות כיום מספקות כלים חדשים למחקר המעבר של אותות (סיגנלים) בין הכנה לרוכב הגורמים להגברה או הפחתה בביטוי גנים ברוכב המשפיעים על ביצועי הצמח המורכב. קידום הרכבת צמחים בירקות מצריך לפיכך שילוב של תרומה מחקרית יחד עם שיפור האגרוטכניקה ומציאת דרכים להוזיל את מחיר הצמח המורכב.

מקורות

אדלשטיין מ', כהן ר', פאריס ה', פיבוניה ש', אופנבר ר' ומדואל ע' (1997) הרכבת צמחי מלון על כנות דלעת מהסוג *Cucurbita*. גן שדה ומשק מס' 10 ע' 61-64.

חורב כ', אדלשטיין מ', שריבר ש', בורגר י', כהן ר' ועומרי נ' (2001) שימוש במלונים מורכבים להפחתת הנזק ממחלת פוזריום הנבילה. גן שדה ומשק מס' 4 ע' 34-36.

מירון, י. (2014). מבחן צירופי כנה ורוכב במלפפון בחממה בעונת החורף. יבול שיא 102: 26-33.

Aloni B., Karni L. Deventurero G., Levin Z., Cohen R., Katzir N., Lotan-Pompan M., Edelstein M., Aktas H. Turhan E. Joel M. D., Horev C. and Kapulmik Y. (2008) Physiological and biochemical

- changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between and Cucurbita rootstocks and melon scion. *Journal of Horticulture Science and Biotechnology* 83: 777-783.
- Aloni B., Edelstein M., Cohen R. and Karni L. (2011) Hormonal signaling in rootstock-scion interactions. *Scientia Horticulturae* 127: 119-126.
- Cohen R., Horev C., Burger Y., Shriber S., Hershenhorn J., Katan J. and Edelstein M. (2002) Horticultural and pathological aspects of Fusarium wilt management using grafted melons. *HortScience* 37: 1069-1073.
- Cohen R., Pivonia S., Burger Y., Edelstein M., Gamliel A. and Katan J. (2000) Towards integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. *Plant Disease* 84: 496-505.
- Cohen R., Burger Y., Horev C., Porat A. and Edelstein M. (2005) Performance of Galia type melons grafted onto Cucurbita rootstock in *Monosporascus cannonballus*-infested and non-infested soils. *Annals of Applied Biology* 146: 381-387.
- Cohen R., Burger Y., Horev C., Koren A. and Edelstein M. (2007) Introducing grafted cucurbits to modern agriculture: The Israeli experience. *Plant Disease* 91: 916-923
- Cohen R., Eizenberg H., Edelstein M., Horev C., Lande T., Porat A., Achdari G. and Hershenhorn J. (2008) Evaluation of herbicides for grafted watermelons and melons grown in the Arava Valley of southern Israel. *Phytoparasitica* 36: 66-73.
- Cohen R., Omari N., Porat A. and Edelstein M. (2012) Management of *Macrophomina* wilt in melons using grafting or fungicide soil application: Pathological, horticultural and economical aspects. *Crop Protection* 35: 58-63.
- Cohen R., Tyutyunik J., Fallik E., Oka Y. Tadmor Y. and Edelstein M. (2014) Phytopathological evaluation of exotic watermelon germplasm as a basis for rootstock breeding. *Scientia Horticulturae* 165: 203-210.
- Davis A. R., Perkins-Veazie P., Sakata Y., Lopez-Galarza S., Meroto, J. V., Lee S. G., Huh Z. S., Miguel A. King S. R., Cohen R. and Lee J. M. (2008) Cucurbit grafting. *Critical Reviews in Plant Science* 27: 50-74.
- Edelstein M. Ben-Hur M., Cohen R., Burger Y. and Ravina I. (2004) Boron and salinity effects on grafted and non-grafted melon plants. *Plant and Soil* 269: 273-284.
- Edelstein M., Burger Y., Horev C., Porat A., Meir A. and Cohen R. (2004) Assessing the effect of genetic and anatomic variation of Cucurbita rootstocks on vigor, survival and yield of grafted melons. *Journal of Horticulture Science and Biotechnology* 79: 370-374.
- Edelstein M., Oka Y., Burger Y., Eizenberg H. and Cohen R. (2010) Variation in the response of cucurbits to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. *Israel Journal of Plant Sciences* 58: 77-84.
- Edelstein M., Plaut Z. and Ben-Hur M. (2011) Sodium and chloride exclusion and retention by non-grafted and grafted melon and *Cucurbita* plants. *Journal of Experimental Botany* 62: 177-184.

- Edelstein M. and Ben-Hur M. (2012) Use of grafting to mitigate chemical stresses in vegetables under arid and semiarid conditions. In: Advances in Environmental Research Vol. 20, Daniels J.A., eds., Nova Science Publishers, Inc. pp.163-179.
- Edelstein M., Tyutyunik J., Fallik E., Meir A., Tadmor Y. and Cohen R. (2014) Horticultural evaluation of exotic watermelon germplasm as potential rootstocks. *Scientia Horticulturae* :165 196-202.
- Edelstein M., Koren A., Omer S. and Cohen R. (2015) The history and current status of Cucurbitaceous grafting in Israel. *Chronica Horticulturae* 55: 10-13.
- Edelstein M., Cohen R., Elkabetz M., Pivonia S., Maduel A., Sadeh-Yarok T. and Ben-Hur M. (2016) The potential of enriched fertilization in overcoming nutritional deficiency in grafted melons. *HortScience* 51: 435-438.
- Lee J. M. and Oda M. (2003) Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. *Horticultural Reviews* 28: 61-124.
- Pico M. B., Thompson A. J., Gisbert C., Yetisir H. and Bebeli P. J. (2017) Grafting resources for rootstock breeding. In: *Vegetable Grafting: Principles and Practices*, Colla G., Perez-Alfocea F. and Schwarz D., eds., CABI Oxfordshire UK. pp. 22-69.
- Thies J. A., Ariss J. J., Kousik C. S., Hassell R. L. and Levi A. (2016) Resistance to Southern Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Wild Watermelon (*Citrullus lanatus* var. *citroides*). *Journal of Nematology* 48: 14–19.
- Vakalounakis D. J. 1996 Root and stem of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* f. sp. nov. *Plant Disease* 80: 313–316.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 22: מקרופומינה בכותנה – הדגמת תהליכי מחקר באינטראקציה בין פתוגן, צמח וסביבה

רוני כהן ומיטל אלקבץ

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מרכז מחקר נווה יער, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, רמת ישי

תקציר

הפטרייה *Macrophomina phaseolina* גורמת למחלת קישיון הבטטה (ריקבון הפחם, Charcoal rot) בכחמש מאות פונדקאים ממשפחות בוטניות שונות כולל בכותנה. בעבר התבסס גידול הכותנה בעיקר על כותנה מטיפוס אקאלה השייכת לסוג *Gossypium hirsutum* וגידול מצומצם יותר של כותנה מטיפוס פימה השייך לסוג *G. barbadense*. לאחרונה, בשל שיקולים כלכליים, חלה ירידה בשטחי הגידול של הכותנה מטיפוס אקאלה העמיד חלקית למקרופומינה, לעומת עליה בגידולי זני הפימה הרגישים למחלה. במאמר זה מודגם מחקר שמטרתו למצוא כיצד ניתן להפחית את נזקי המחלה. הדבקת צמחים הביאה לאכלוס ביתר של השורשים בגורם המחלה אבל לא התקבלה הגברת מחלה בעקבות הדבקה זאת. נראה שהצמחים מגיעים לאיזון צמח-פטרייה והופעת המחלה תלויה בשינוי תנאי גידול הגורמים לצמח להיכנס לעקה. הדברה כימית אינה יעילה ואינה הכרחית. חומרי ההדברה משפיעים אמנם על כמות הפטרייה בצמח אך גורמים לפחיתה במחלה רק בחלק קטן מהמקרים. הקדמת ההשקיה והקפדת יתר על מניעת עקת יובש במיוחד בתחילת הגידול, נמצאה כגורם משמעותי בהפחתת המחלה. לקראת המשך המחקר יש צורך בשיפור משמעותי של האמצעים להערכה מדויקת של המחלה בצמח והפיזור בשדה בכל שלבי הגידול, שיפור במדידת היבול בחלקות קטנות וביורר הקשר בין המחלה ליבול.

אופן הציטוט: כהן ר' ואלקבץ מ' (2021) מקרופומינה בכותנה – הדגמת תהליכי מחקר באינטראקציה בין פתוגן, צמח וסביבה. פרק 22, ע' 313-323 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51916>



Abstract

Cohen, R. and Elkabetz, M. 2021. *Macrophomina phaseolina* in cotton: Demonstration of research approaches for studying the interaction between pathogen, plant and environment. In: Elad, Y., Dombrovsky, A., Manolis- Sason, S. and Ezra, D. (ed). *New Insights in Plant Pathology*. Department of Plant Pathology and Weed Research, Agricultural Research Organization (ARO), Ministry of Agriculture, Rishon LeZiyyon, Israel <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51916>

Macrophomina phaseolina is a soil-borne, plant pathogenic fungus that causes a variety of diseases in more than 500 plant species, including cotton. In the past, cotton cultivation in Israel was based on Acala-type (*Gossypium hirsutum*) cultivars. During the past 20 years, because of global economic changes, cotton cultivation in Israel shifted to Extra Long Staple (ELS) Pima-type (*G. barbadense*). **313** תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני)

barbadense) cultivars that generated higher economic value to growers. Plant mortality caused by *Macrophomina* was known to affect Acala-type cultivars, however, disease severity appears to be greater in the Pima-type cotton. It seems that the pathogen can penetrate the plants and co-exists with it. Disease symptoms will appear only after the plant is exposed to heat or drought stress. Fungicides applied through the drip-irrigation system would have limited efficacy because cotton is typically seeded in two rows per bed, toward the edges, yet the drip irrigation pipe is placed in the middle of the bed. Also, the pathogen could be expected to be unaffected at soil depths where a fungicide cannot reach. Irrigation, water quantities and their timely application are key factors in cotton plant development and can affect not only yield and fiber quality but also disease incidence and severity. Indeed, during the summer of 2018, a leading cotton grower demonstrated that carefully planned and conducted irrigation and proper insect management to minimize stress prevented damage from *Macrophomina*. Monitoring the dynamics of disease progress is problematic in cotton where walking in the mature field is almost impossible. Applications of remote-sensing technologies can provide real-time, accurate estimations of disease location and progress in large fields throughout the growing season.

מבוא

הפטרייה *Macrophomina phaseolina* גורמת למחלת קישיון הבטטה (ריקבון הפחם, Charcoal rot) בכחמש מאות פונדקאים ממשפחות בוטניות שונות (Su et al., 2001). רוב גידולי הקיץ הגדלים בישראל; תירס, סורגום, אבטיח, מלון, אפונה, חמצה, שעועית, חמנית, ושומשום רגישים למחלה (Cohen et al., 2016). גידולים בעלי מחזור ארוך כמו תות שדה וצמחים רב שנתיים כמו פרח שעווה, שקד ואקליפטוס דווחו גם הם כמי שנתקפו במחלה.

על שורשי צמחים מתים מתפתחים במהירות מיקרו-קישיונות (micro-scelortia) של הפטרייה המהוות אברי השתמרות בקרקע (Meyer et al., 1974). הקישיון נובט בקרבת שורש של צמח רגיש וחודר אל השורש בעזרת אנזימים המפרקים את דופן התא אך דרך פצעים ופתחים טבעיים (Mayek et al., 2001). תפטיר הפטרייה גדל דרך הקורטקס וחודר לצינורות הובלת המים. הנבילה נגרמת כתוצאה מנקרוזה של השורש והגבעול התחתון וגם מחסימה של צינורות הובלת המים (Kaur et al., 2012). דרך נוספת בה הפטרייה גורמת לתמותה הוא יצירת טוקסינים. חומרים אלו מסיסים במים, נעים עם זרם הטרנספירציה ומרעילים את כל חלקי הצמח (Islam et al., 2012).

הפטרייה מקרופומינה מוכרת בעולם כגורמת מחלת נבילה גם בכותנה. המחלה דווחה בארה"ב, פקיסטן ומצרים (Mahmoud et al., 2006). גידול הכותנה בישראל משתנה במשך השנים כתלות במצב המים הזמינים, איכות הסיבים הנדרשים בשוק העולמי (זנים) והמחירים אותם ניתן לקבל בשווקים אלו. בין השינויים הבולטים שקרו במשך הכותנה בישראל ניתן לראות את הירידה בשטחי הגידול של טיפוס האקאלה (עמיד חלקית למקרופומינה) לעומת עליה בגידול זני הפימה הרגישים למחלה. יחד עם העלייה בהיקפי גידול זני הפימה עלתה גם שכיחות הנזקים הנגרמים מגורמי מחלות קרקע. משורשי צמחים נובלים וגם מצמחים בריאים מבודדות פטריות מסוגים שונים. הפטרייה הבולטת בתדירות הגילוי היא *M. phaseolina*. בשנים האחרונות ובמיוחד בעונת הגידול 2016 נמדדו טמפרטורות גבוהות, עדות (אולי) להתחממות הגלובלית ולקשר בעליה במחלה. לפטרייה מחוללת המחלה מנגוני תוקפנות שונים (Bellaloui, 2012). הפטרייה ידועה כאוהדת חום וכזאת הגורמת לנזקים לצמחים המצויים בעקה. השפעת פתוגנים

שוכני קרקע על הצמחים תלויה גם באינטראקציה עם גורמים ביוטיים וסביבתיים כמו הגידול הקודם, סוג הקרקע, הטמפרטורה השוררת בשדה ונגיעות הצמחים בגורמי מחלה נוספים.

בדיון מקדים למחקר, במטרה לברר כיצד ניתן להפחית את נזקי המחלה בכותנה עלו הכיוונים הבאים:

- הדברה כימית: עיטוי זרעים וזילוף פונגיצידיים בפס הזריעה והגמעה בפונגיצידיים במהלך עונת הגידול.
- אגרוטכניקה: מחזור זרעים להפחתת כמות המידבק בקרקע, הפחתת גורמי עקה, שינויים בממשק ההשקיה, ושימוש בצמחי כיסוי.

- טיפוח לעמידות: איתור קווי זן הכותנה פימה סבילים למחלה ושימוש במכלוא בין מיני.

- חקלאות מדייקת: הערכת מחלה בשדה והקשר בין מחלה ליבול.

במאמר מתוארים מהלך המחקר בכותנה בין השנים 2016-2019 והתובנות שהוטמעו אצל החקלאים כדי להפחית את נזקי המחלה.

הוכחת גורם המחלה והדברה כימית של המחלה

השלמת מבחן קורן להוכחת אחריות המקרופומינה למחלת הנבילה ותסמיני המחלה בשדה

כדי להוכיח את אחריות המקרופומינה למחלה נערכו מספר ניסויים: זרעי כותנה נזרעו בעציצים בקרקע מאולחת ברסק תפטיר וקשיונות הפטרייה. אחוז הנביטה, איכות הנבטים וגובה הנבטים היו נמוכים בהשוואה לנבטים שגדלו בקרקע הביקורת ללא הפטרייה. צמחי כותנה בגיל 40 יום מזריעה הודבקו בשני שדות בעמק החולה ע"י הגמעה של רסק פטרייה לצמחים. סימפטומים ברורים של נבילה נצפו עשרה ימים לאחר ההדבקה. באותם שדות, צמחים הודבקו גם בעזרת קיסמי שיניים מאולחים. אזור ההדבקה נמצא מאוכלס בפטרייה אבל הצמחים לא חלו. בניסויי שדה בעמק חפר ובעמק יזרעאל בהם הדבקנו זרעים בפס הזריעה או צמחים צעירים ע"י הגמעה של רסק פטרייה, מצאנו אכלוס משמעותי של שורשי הצמחים אבל לא הצלחנו לגרום למחלה.

נראה שהאילוח בפטרייה מצליח ולא מהווה גורם מגביל אבל הופעת תסמינים מתרחשת רק בחלק מהמקרים ותלויה במידה רבה בתנאי הסביבה. תסמיני המחלה בהדבקה טבעית, מופיעים בדרך כלל בסמוך לפריחה. כאשר בתחילה עלי הצמח מצהיבים (איור 1 א') תופעה הנגרמת כנראה מרעלנים (טוקסינים) המופרשים ע"י הפטרייה ונעים אל אברי הצמח העליונים ע"י זרם המים. מאוחר יותר נצפית נבילה של הצמח שנשאר זקוף (איור 1 ב'). תסמין אופייני נוסף הוא החמה של צרורות הצינורות הנובעת מפעילות של הרעלנים ותגובת הנגד של הצמח (איור 1 ג'). מאוחר יותר כאשר השורשים הדקים מתחילים להירקב ניתן לראות כמות רבה של קשיונות מתחת לקליפת השורש (איור 1 ד').

הדברה כימית – הפחתת כמות הפטרייה בשורשים

מספר חומרי הדברה, בעיקר מקבוצת הסטרובילורנינים, נמצאו יעילים בעיכוב גידול מקרופומינה בתרבות. הפונגיצידיים אזוקסיטרובין (עמיסטר), פירקלוטרובין+בוסקליד (סיגנום) ואחרים נבחנו במספר ניסויי שדה. יישום חומרי ההדברה נבחן בשדה בשיטות ומועדי יישום שונים. עיטוי זרעים נמצא יעיל למשך 12 ימים מזריעה. לאחר מכן השפעת החומר פגה כתוצאה ממיהול במי ההשקיה, פירוק של החומר או גדילת השורשים מעבר לאזור בו נמצא הפונגיצידי. זילוף לפס הזריעה או יישום חומר הדברה במהלך הגידול נמצא יעיל והפחית את כמות הפטרייה בשורשים (איור 2).



ב



א

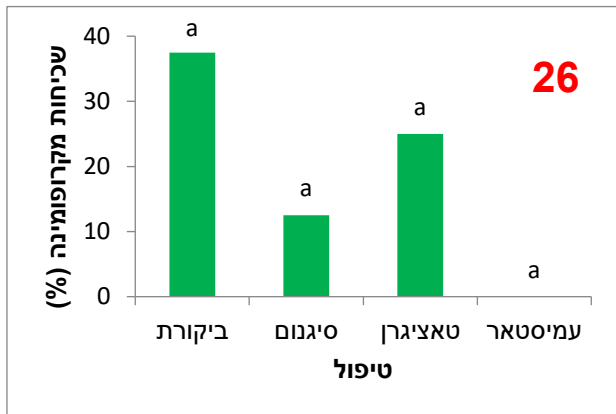
איור 1. תסמינים של קשיון הבטטה בכותנה: א' הצהבת עלים, תסמינים ראשונים של המחלה, ב' נבילה של כל הצמח שנשאר זקוף, ג' החמה של צורות הצינורות בגבעול, ד' קשיונות תחת קליפת השורש.



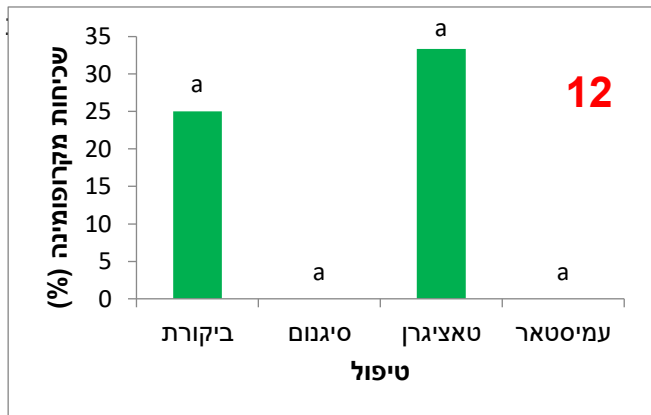
ד



ג



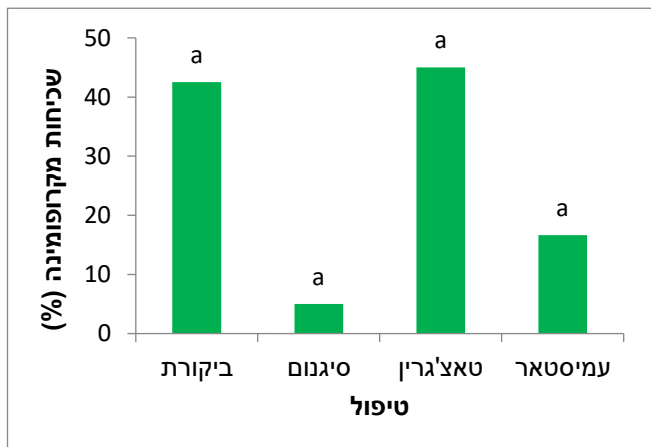
26



12

א

איור 2. שכיחות המצאות מקרופומינה בשורשי צמחי כותנה. א' אכלוס שורשים 12 יום לאחר זריעה וזילוף הפונגיצידי לפס הזריעה. ב' אכלוס שורשים 26 יום לאחר זריעה וזילוף. ג' אכלוס שורשים 60 יום לאחר זריעה וזילוף. יישום נוסף של הפונגיצידיים ניתן 32 יום מזריעה באמצעות מערכת הטפטוף.

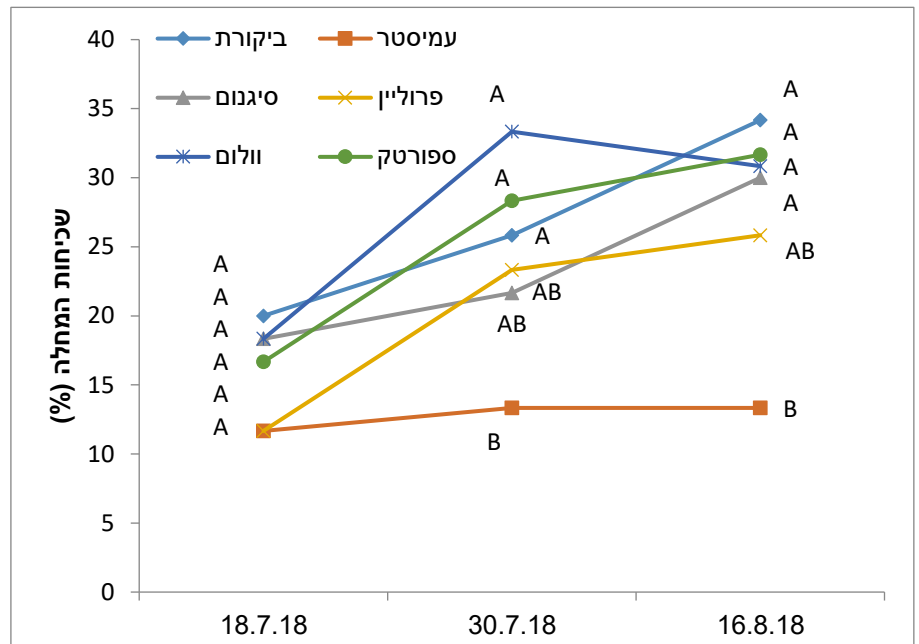


60

ג

בחינת יעילות הדברה כימית על שכיחות המחלה בשדה

חומרי ההדברה ספורטק, וולום, פרוליין סיגנום ועמיסטר שנמצאו יעילים בניסויי מעבדה יושמו לצמחי כותנה בניסוי שדה בקיבוץ חפץ חיים. החומרים יושמו דרך מערכת הטפטוף שלוש פעמים; 33, 60 ו 90 יום לאחר הזריעה. הפחתה משמעותית של שכיחות המחלה (הערכה של אחוז הצמחים החולים) נצפתה רק בטיפול העמיסטר (איור 3). הניסוי נקטף ולא נמצאו הבדלים ביבול בין הטיפולים. הקשר בין כמות הפטרייה בצמח, הופעת המחלה, רמת המחלה והיבול לא ברור וצריך להיבדק בניסויים בעתיד.



איור 3. שכיחות מחלה (אחוז צמחים חולים) בניסוי ההדברה בחפץ חיים. השדה נזרע ב 10.3.2018. ניתנו שלושה טפולים, 33, 60 ו 90 יום מזריעה. הנגיעות הוערכו במהלך החודשים יולי ואוגוסט 2018.

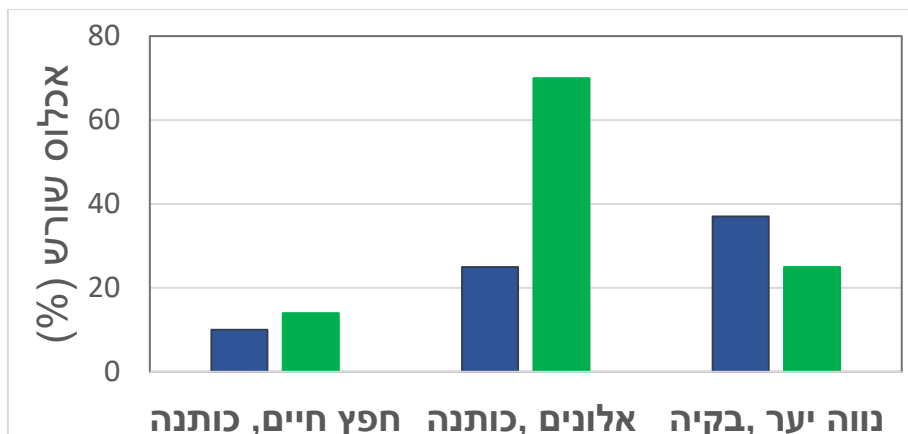
אגרוטכניקה וממשק השקיה

כמות המידבק בקרקע, הקשר למחלה והרלוונטיות של ניסויי עציצים

מקובל לחשוב שקיים קשר הדוק בין רמת המידבק לרמת המחלה. בניסויי הכותנה נראה שהקשר קיים במקרים מסוימים אבל הוא לא בהכרח קשר הדוק וברור שקיימים גורמים נוספים שיקבעו את רמת התחלואה. בניסוי עציצים בו הדבקנו קווי כותנה מטיפוס פימה של חברת "זרעי ישראל" הצלחנו לגרום למחלה. בנבטים נמצאו דרגות נגיעות שלא תאמו למידע על רגישות קווי טיפוח אלו בשדה. גידול הכותנה הוא תהליך של כחצי שנה המתחיל באביב המוקדם ומסתיים בסתיו. בעונת גידול ארוכה הצמח נחשף לתנאי קרקע וסביבה משתנים וברור שכמות המידבק היא מדד חשוב אך לא יחידי שיקבע את הופעת המחלה ואת חומריתה.

הקשר בין רמת המידבק או פוטנציאל ההדבקה בקרקעות שונות נבדק. דגמנו קרקע משלושה אתרים לאחר סיום הגידול: שדה כותנה בקיבוץ אלונים שלא נצפתה בו מחלה, שדה בקיה בנווה יער ושדה כותנה בקיבוץ חפץ חיים שנצפתה בהם רמת מחלה גבוהה מאד. הקרקע שימשה לניסוי עציצים. זרענו בעציצים עם הקרקעות השונות זרעי כותנה מהזן V 70 ובדקנו את רמת אכלוס השורשים שבועיים וחודש לאחר הזריעה (איור 4).

איור 4. אכלוס שורשי כותנה V 70 במקרופומינה – גידול בקרקעות שונות בתא צמיחה. העמודה הכחולה, אכלוס שורשים שבועיים מזריעה. עמודה ירוקה, אכלוס שורשים חודש מזריעה.



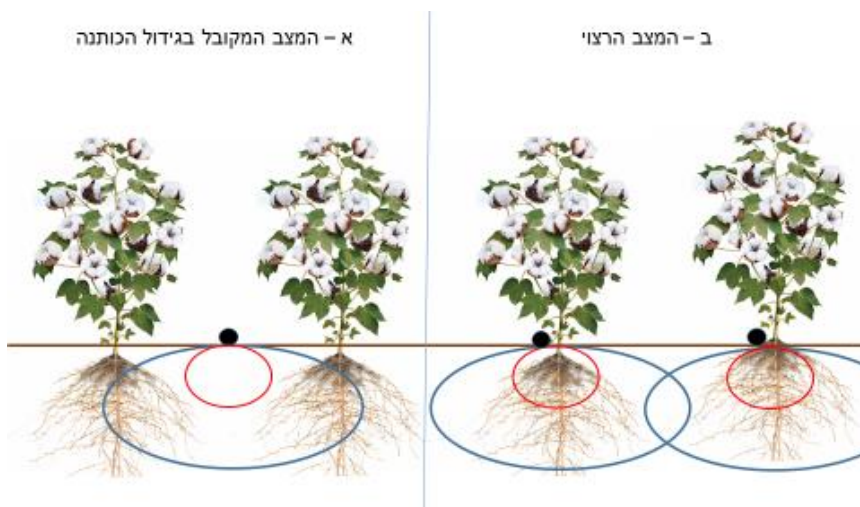
נמצא שדווקא בקרקע חפץ חיים בה נצפתה רמת המחלה הגבוהה ביותר היה אכלוס שורשי הנבטים הנמוך ביותר ואילו בשדה באלונים בה גדלה כותנה רגישה שלא חלתה נצפתה רמת אילוח או פוטנציאל הדבקה גבוה ביותר.

השקיה – פיזור המים והשפעה על רמת התחלואה

בשדות הכותנה מניחים את קווי הטפטוף במרכז הערוגה בין שתי שורות צמחים (איור 5 א – המצב הקיים) לעומת הנחה של שלוחות הטפטוף ליד כל שורת צמחים כמקובל בגידול ירקות (איור 5 ב – המצב הרצוי). הצבת קווי הטפטוף בין שורות הצמחים נובעות בעיקר מטעמי חסכון בצידוד ההשקיה. השקיה כזאת, כאשר הטפטפת אינה נמצאת בסמיכות לצוואר השורש, אינה אופטימאלית. קיים בזבז של מים המשקים גם את הקרקע שבין השורות. השקיה כזאת יכולה לגרום לעקה כאשר רק צד אחד של מערכת השורשים מושקה והצד השני חשוף להסתדקויות של הקרקע ולחימום יתר. ואכן, בניסוי בחפץ חיים בו ניסינו את שתי שיטות ההשקיה נמדדה טמפרטורה של 27 מ"צ בצד המושקה לעומת 32 מ"צ בצד הלא מושקה של השורש. המסיסות במים של חומרי הדברה המיושמים דרך הטפטוף נמוכה מאד בדרך כלל ולעיתים הם נספחים בחוזקה לקרקע. כאשר מיישמים חומרי הדברה שמסיסותם נמוכה דרך מערכת הטפטוף, יש סיכוי גבוה לחוסר יעילות או אף בזבז כסף. ברוב המקרים חומר ההדברה אינו מגיע לשורשים או רק חלק קטן ממנו מגיע ליעדו.

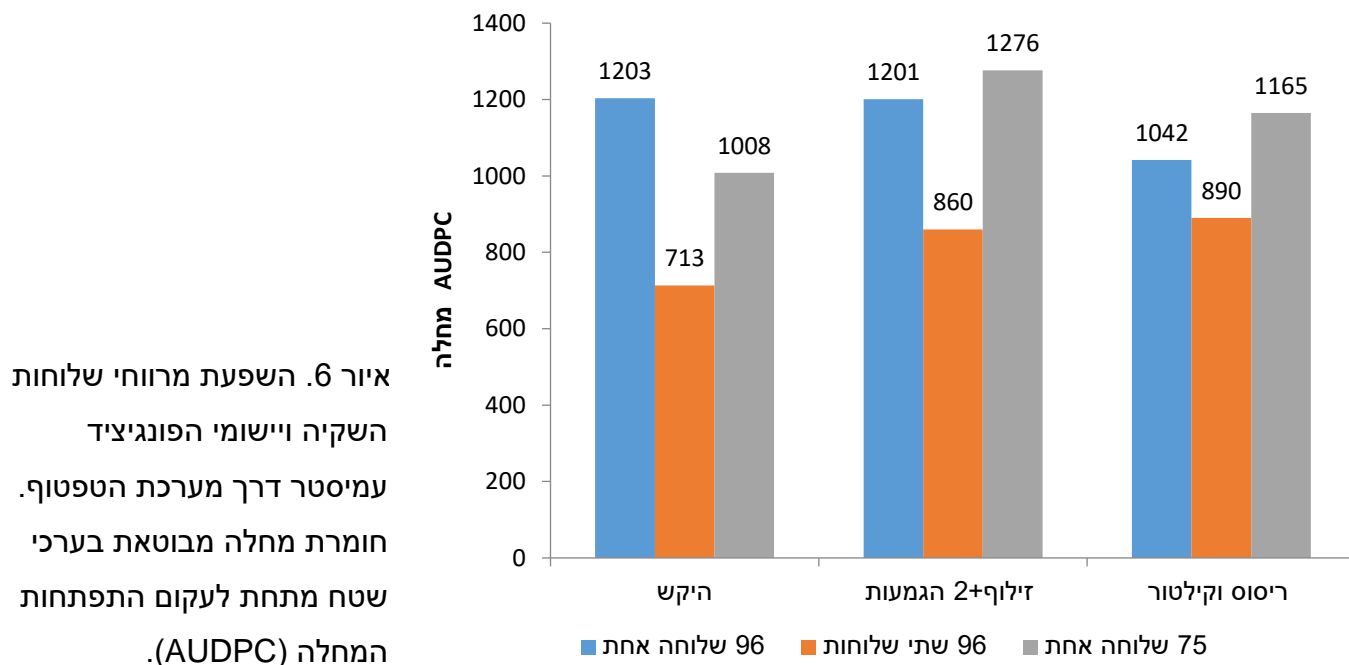
א – המצב המקובל בגידול הכותנה

ב – המצב הרצוי



איור 5. השקיית כותנה: א. המצב המקובל – פרישת קווי הטפטוף באמצע הערוגה בין שתי שורות צמחים. ב – המצב הרצוי. הצבת שלוחות טפטוף ליד כל שורת צמחים. קו כחול – פיזור סכמתי של המים. קו אדום – פיזור סכמתי של חומרי הדברה.

בניסוי בחפץ חיים בדקנו שילוב של טיפולי הדברה יחד עם טיפולי השקיה. ערכי המחלה הנמוכים ביותר נמצאו בחלקות שהושקו בשתי שלוחות לערוגה (איור 5 ב – המצב הרצוי ואיור 6), ללא קשר לטיפולי ההדברה. בניסוי נמצא שהשקיה בשתי שלוחות יכולה להפחית את אחוז הצמחים החולים וזאת כנראה ע"י יצירת תנאי גידול מיטביים והפחתת תנאי עקה.



צמחי כיסוי – תצפית צנן חורפי

לצמחי כיסוי, בעיקר צמחים ממשפחת המצליבים, פוטנציאל להפחית מחלות. צמחים אלו הגדלים בחורף לפני עונת הגידול מכילים חומרי טבע היכולים להיות רעילים ולהפחית את אוכלוסיית הפתוגנים בקרקע. צנן חורפי נזרע בחוות עכו בחורף 2017-8. הצנן הומת בעזרת קוטל עשבים ותוחח לקרקע. בתצפית היו ארבעה טיפולים: מצע גידול-כרב), צנן עם ובלי הדבקה במקרופומינה וכרב ללא צנן עם ובלי הדבקה במקרופומינה (איור 7).

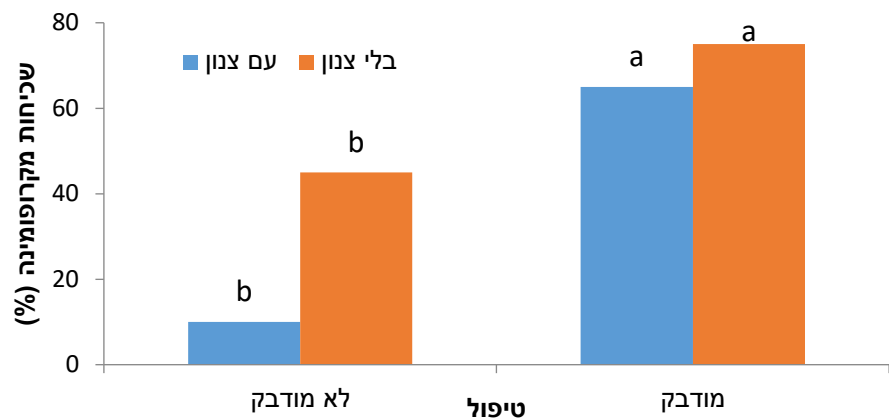
כרב צנן חורפי וההדבקה במקרופומינה גרמו לעיכוב בצימוח הכותנה. העיכוב השתחרר במהלך הגידול. בסוף הגידול, צמחי הכותנה שגדלו על ערוגות הצנן היו ירוקים יותר, כנראה כתוצאה מחנקן שהשתחרר משאריות צמחי הצנן שהוצנעו לקרקע. ההדבקה הגדילה את אכלוס הפטרייה בשורשי הכותנה. אכלוס השורשים בקרקע הביקורת ללא הדבקה היה 45%. בצמחי הכותנה שגדלו על קרקע ביקורת והודבקו גדל האכלוס ל 75% ובצמחי כותנה שגדלו על כרב צנן והודבקו ירד האכלוס ל 65%. אכלוס השורשים של צמחי כותנה שגדלו על כרב צנן ללא הדבקה היה 10% בלבד. הפטרייה בצמחים המודבקים גרמה לעיכוב בהתפתחות אך לא גרמה להגברת המחלה. כרב הצנן הפחית גם את אכלוס הצמחים במקרופומינה וגם את מספר הצמחים החולים. תוצאות התצפית היו מרשימות. ראינו עיכוב צימוח (ללא מחלה של ממש) גם ע"י ההדבקה וגם ע"י שאריות הצנן. אכלוס השורשים הושפע מההדבקה וגם משאריות הצנן ובסוף הניסוי ראינו גם פחיתה של 75% בתחלואה. בקיץ 2019 חזרנו על ניסוי כרב הצנן בצורה מפורטת. לצערנו לא נצפו הבדלים בין הטיפולים.

בעונת הכותנה של 2018 חקלאי גד"ש קבוצת יבנה החליטו לשנות את האגרוטכניקה המקובלת ולהקפיד על הפחתת עקות והשקיה נאותה. בדרך כלל מנסים לזרוע בקרקע רטובה (זריעה ברטוב), כאשר מסתמכים על גשמים שיורדים בסוף החורף. זריעה כזאת יכולה להיות בעייתית ולגרום לנביטה לא אחידה. בעונת הגידול 2018 כל החלקות ביבנה הונבטו בטפטוף למניעת נביטה והצצה לקויות. בדרך כלל ההשקיה הראשונה ניתנת לקראת הפריחה.



א

איור 7. א' שתי שורות מימין קרקע ללא צנן. שתי שורות משמאל כרב צנן חורפי. שורות פנימיות מודבקות במקרופומינה. בכרב הצנן חלו 3 ו 4 צמחים מתוך 100 במודבק ובלא מודבק בהתאמה ובקרקע ללא הצנן 10 ו 12 צמחים במודבק ובלא מודבק בהתאמה. ב' אכלוס שורשים (%) בטיפולי הקרקע וההדבקה בניסוי.



ב

ביבנה ההשקיה הייתה נדיבה והוקדמה כדי לבנות צמח חסון. כנימות עש וכנימות עלה הודברו בקפדנות כדי להפחית עקות ביוטיות. השקיה מרובה יכולה להיות חרב פיפיות ולגרום לעיתים לצימוח מוגבר על חשבון יצירת פרחים והלקטים. מגדלי כותנה מיישמים לעיתים מווסתי צמיחה כדי לעצור את הצימוח. חומרים אלו יכולים לגרום עקה ופחיתה ביבול והשימוש בהם שנוי במחלוקת. ביבנה החליטו להיזהר מהשקיה עודפת ולא ליישם את חומרי הנינוס. אכן, ממשק הגידול מנע מחלה וחלקות הכותנה היבול גבוה (איור 8).

טיפוח לעמידות

בעבר התבסס גידול הכותנה בעיקר על כותנה מטיפוס אקאלה השייכת לסוג *Gossypium hirsutum* וגידול מצומצם יותר של כותנה מטיפוס פימה השייך לסוג *G. barbadense*. יבול האקאלה גבוה ביחס לפימה אבל הוא בעל סיב קצר הפודה מחיר נמוך יחסית בשוק העולמי. הכותנה מטיפוס פימה בעלת סיב ארוך ואיכותי וכדאית יותר לגידול. דא עקה שכותנת הפימה רגישה למקרופומינה בעוד האקאלה עמידה יותר. כדי לשלב בין יבול גבוה, איכות טובה ועמידות יצרו בחברת "הזרע" את המכלוא הבין-מיני הנקרא אקאלפי (אקאלה+פימה). אכן, המכלוא כובש שטחים אצל מגדלי הכותנה החוששים מנזקי המחלה. יחד עם זאת, שיפור או פתרון בעיית המקרופומינה יטה את הכף שוב לכיוון הפימה הפודה מחיר טוב יותר. חברת זרעי ישראל המטפחת כותנה מטיפוס פימה שוקדת לאחרונה על פיתוח זנים חדשים שישלבו תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 320

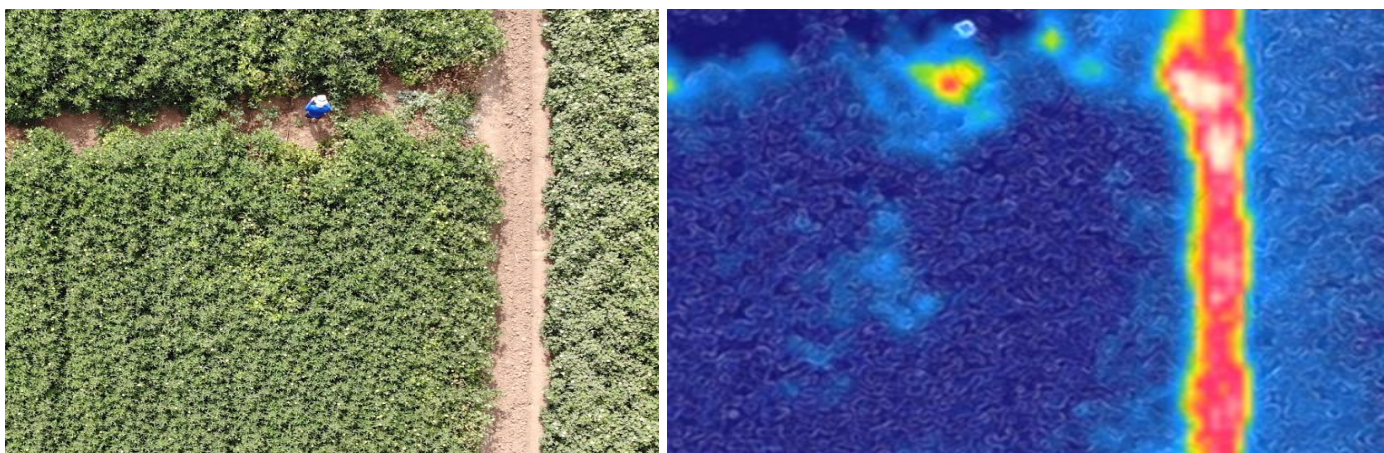
יבול גבוה ואיכותי יחד עם עמידות משופרת לתנאי עקה ולמקרופומינה וטיפוסים חדשים ישוחררו למבחנים בקנה מידה משקי כבר בעונת 2020.



איור 8. מימין כותנה בריאה באוגוסט 2018 לעומת רמת מחלה גבוהה באוגוסט 2017.

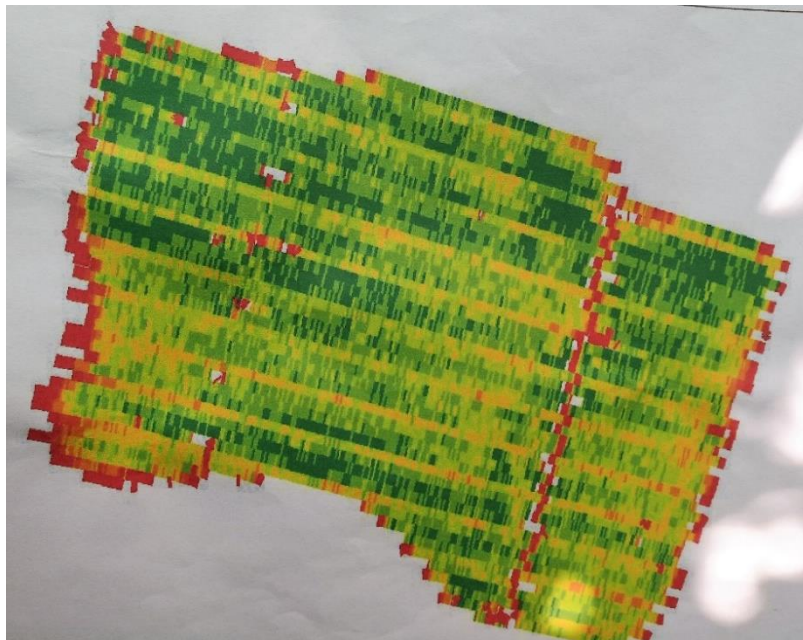
נגיעות, יבול והקשר בניהם

הערכת רמת המחלה היא תנאי הכרחי במערכת מחקרית. נבילת צמחי כותנה המיוחסת למקרופומינה יכולה להיגרם גם ע"י גורמים אחרים ולא דווקא רק ע"י מקרופומינה. החמה של צורות הצינורות מקובלת כתסמין אופייני אך למיטב ידיעתנו תסמין זה לא הוכח כקשור בהכרח רק למחלה זו. גם הערכת הנגיעות ופיזור בשדה בעיתי משהו. בניגוד לירקות שקומתם נמוכה והמחלה ברורה וניתנת להערכה מדויקת, שדה הכותנה גבוה. לקראת הפריחה הנוף נסגר ולא ניתן להיכנס לחלקה ולהעריך את מספר הצמחים החולים ואת פיזורם בשדה. עם התקדמות השימוש ברחפנים נעשו מספר ניסיונות להעריך נגיעות במקרופומינה בעזרת צילום רגיל או צילום תרמי (איור 9). מתוצאות ראשוניות ניתן לראות שצילומים כאלו אכן מסוגלים להראות צמחים חולים אך יש צורך להמשיך את המחקר כדי לדייק את הצילום ולהסיק מסקנות ראויות.



איור 9. ניסיונות להערכת נגיעות ע"י צילום מרחפן, שדה כותנה בקדמה. משמאל צילום רגיל ומימין צילום תרמי. בשני הצילומים ניתן לראות כתם של נגיעות ראשוניות במקרופומינה.

קטיף הכותנה הינו מכני. בישראל קיימת רק קטפת ניסיונות אחת השייכת לחברת זרעי ישראל. בחלק מהניסויים שלנו נעשה שימוש בקטפת זו. לתפעול הקטפת יש צורך במפעיל ובקבוצת פועלים לשקילה ידנית ורישום של יבול הכותן. בנוסף לכך, הקטפת אינה זמינה תמיד ומחיר תפעולה גבוה. בקטפות הכותנה החדשות יש אפשרות לקבל מפת יבולים מכוונת GPS (איור 10). גם כאן יש צורך במחקר נוסף בשיתוף חוקרי הנדסה חקלאית וחקלאות מדייקת כדי לחבר את תוצאות הערכת הנגיעות בעזרת צילומי האוויר במהלך העונה למפות היבולים.



איור 10. מפת יבול מקושרת לנתוני GPS. קטפות הכותנה החדשות יכולות ליצור מפת יבולים.

סיכום

הדבקת הצמחים והופעת מחלה – ניתן כמעט תמיד להדביק ביעילות. נמצא יתר אכלוס של הצמחים בגורם המחלה לאחר ההדבקה. יחד עם זאת כמעט ולא רואים הגברת מחלה בעקבות הדבקה. נראה שהצמחים מגיעים לאיזון צמח-פטרייה והופעת המחלה תלויה בשינוי תנאי גידול הגורמים לצמח להיכנס לעקה.

הדברה כימית – חומרי ההדברה משפיעים על כמות הפטרייה בצמח סמוך ליישום. מאוחר יותר כאשר הצמח גדל והשורש מעמיק, יתכן וחומרי ההדברה לא מגיעים לכל נפח השורשים. בניסוי ההדברה בחפץ חיים נצפה יתרון מסוים והשפעה ארוכת טווח לפונגיצידי עמיסטר (על מופע המחלה) לעומת חומרי הדברה אחרים. יחד עם זאת נראה שהדברה כימית אינה הכרחית.

אגרוטכניקה והשקיה – גורם משמעותי ביותר המשפיע על תחלואת הצמחים. הקפדה על השקיה נאותה במיוחד לפני הפריחה נמצאה כגורם משמעותי בהפחתת המחלה (ראו גם פרק הדברה אגרוטכנית).

הערכת נגיעות והקשר ליבול – יש צורך בשיפור משמעותי של האמצעים להערכה מדויקת של המחלה, מדידת היבול בחלקות קטנות ובירור הקשר בין המחלה ליבול.

המחקר נערך במשך ארבע שנים במטרה לספק לחקלאים רקע להבנת האינטראקציה בין גורם המחלה לתנאי הגידול (סביבה) וכלים להפחית את המחלה ואת נזקיה. המסקנות העולות מהמחקר מצביעות על קשר הדוק בין ממשק הגידול ובעיקר, ממשק ההשקיה על הופעת המחלה ועל חומרתה. יש עדיין צורך להמשיך ולחקור את הקשר שבין מופע המחלה, חומרתה ותפוצתה בשדה על היבול ועל איכותו. השקיית הכותנה בשנים האחרונות מתבססת בעיקר על מים מושבים. הקשר בין איכות המים לעקות היכולות להיגרם ממים המכילים חומרים רעילים והקשר האפשרי

לתחלואת הצמחים לא נחקר כלל. בעקבות הופעת המחלה גובר המאמץ אצל חברות הזרעים למצוא זנים עמידים יותר לעקות סביבתיות שישתלבו בממשק אינטגרטיבי שמטרתו להשיג כותנה בריאה ויבולים גבוהים.

תודות

במהלך המחקר זכינו לשיתוף פעולה פורה מאנשים רבים וטובים. אנשי מועצת הכותנה, מדרכי שה"מ בעבר ובהווה, אנשי חברות הכימיקלים אגן, מכתשים ולידור, חברות הזרעים הזרע וזרעי ישראל וחברת נטפים. הניסויים לא יכלו להתבצע ללא העזרה של צוותי גד"ש חפר, קבוצת יבנה, אלונים, עין חרוד איחוד, גן שמואל, בית השיטה, גד"ש העמק ותחנת הניסויים עדן שבעמק המעיינות. יבואו כולם על הברכה.

מקורות

- Cohen R., Elkabetz M. and Edelstein M. (2016) Variation in the responses of melon and watermelon to *Macrophomina phaseolina*. Crop Protection 85: 46-51.
- Bellaloui N., Mengistu A., Zobiole L. H. S. and Shier W. T. (2012) Resistance to toxin-mediated fungal infection: role of lignins, isoflavones, other seed phenolics, sugars, and boron in the mechanism of resistance to charcoal rot disease in soybean. Toxin Reviews 31: 16-26
- Islam S., Haque Md. S., Islam M. M., Emdad E. M. et al. (2012) Tools to kill: Genome of one of the most destructive plant pathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. BMC Genomics 13: 493.
- Kaur S., Dhillon G. S., Brar S. K., Vallad G. E., Chand R. and Chauhan V. B. (2012) Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: Biology, economic importance and current diagnostic trends. Critical Reviews in Microbiology 38: 136-151.
- Mahmoud Y. A., Aly A. A., Omar M. R. and Ismail A. W. 2006. Variation in sensitivity among some isolates of *Macrophomina phaseolina* from cotton roots to flutolanil fungicides. Mycobiology 34: 98-103.
- Mayek Pérez N., López Castañeda C., López Salinas E., Cumpián Gutiérrez J. and Acosta Gallegos J. A. (2001) Resistance to *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. in common bean under field conditions in Mexico. Agrobiencia 35: 649-661.
- Meyer W. A., Sinclair J. B. and Khare M. N. (1974) Factors affecting charcoal rot of soybean seedlings. Phytopathology 64: 845-849.
- Mihail J. D. (1989) *Macrophomina phaseolina*: Spatio-temporal dynamics of inoculum and of disease in a highly susceptible crop. Ecology and Epidemiology 79: 848.
- Su G., Suh S. O., Schneider R. W. and Russin, J. S. (2001) Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology 91: 120-126.

פרק 23: מחלות גחלון (אנתרקנוז) בגידולים שונים

סטנלי פרימן

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

מחלת הגחלון (אנתרקנוז) הנגרמת על ידי פטריות מהסוג קולטוטריכום (*Colletotrichum*) גורמת נזקים בפונדקאים רבים. הפטרייה פוגעת מעל ומתחת לפני הקרקע, נישאת בזרעים ותוקפת פירות לפני ואחר הקטיף. לאחרונה, הסוג קולטוטריכום עבר שינויים בסיווג הטקסונומי לאחר ריצוף של מספר גנים לקביעת המין. בישראל מחלת הגחלון פוגעת קשה במשתלות ושדות מניבים של תות-שדה, מנגעת כלנית תרבותית, גורמת להתמוטטות בשתילי לימונים, ופוגעת בפקעות תפוח-אדמה. כמו כן, הפטרייה תוקפת פרי אבוקדו לפני קטיף ובאחסון, ופוגעת בפרי השקד לפני קטיף. קיימים גידולים נוספים הנפגעים על ידי הפטרייה.

אופן הציטוט: פרימן ס' (2021) **מחלות גחלון (אנתרקנוז) בגידולים שונים**. פרק 23, ע' 324-335. בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e52034>



הקדמה

הסוג קולטוטריכום (*Colletotrichum*) כולל פתוגנים בעלי חשיבות רבה הפוגעים במספר רב של פונדקאים עשבוניים ומעוצים באברים שונים השוכנים מתחת ומעל פני הקרקע (Freeman et al., 1998). באופן מסורתי, הסוג קולטוטריכום הינו השלב האל-מיני של הפטרייה וחלק מהמינים להם נמצא שלב מיני משויכים לסוג גלומרלה (*Glomerella*) (Zhang et al., 2006). פטריות מהסוג קולטוטריכום תוקפות בעיקר באזורים טרופים וסובטרופים אך קיימים מינים שעלולים לפגוע גם בתנאים של אזורים ממוזגים (Cannon et al., 2012). נפגע בעיקר ייצור של פירות, כגון פירות באזורים ממוזגים בעולם, לדוגמה בתות-שדה, אבוקדו, מנגו והדרים וגם פירות המשמשים כמזון בסיסי בעולם כמו בננה. הפתוגן יכול להוות גורם הרסני כגון בקפה (מחלת פולי קפה – coffee berry disease) ולפגוע בגידולי שדה כמו דגנים, תירס, סורגום וקנה סוכר. הפטרייה דורגה ברשימת עשרת הפתוגנים החשובים במחקר בעולם, על בסיס חשיבות מדעית וכלכלית (Dean et al., 2012).

מיני קולטוטריכום נחשבים כפתוגנים עיקריים שמחוללים את המחלה גחלון (אנתרקנוז Anthracnose). במאמר זה משמשים לחילופין השם העברי (גחלון) והלועזי (אנתרקנוז) ששימש בעבר לתיאור המחלה. תסמינים של גחלון מאופיינים ע"י כתמי עלים שקועים בעלים, גבעולים פרחים ופירות. הפטרייה יכולה לגרום לתסמינים של ריקבון כתר ושורשים (לדוגמה בתות-שדה), נבילת נבטים ועוד (Waller et al., 2002). הפתוגן יכול גם לגרום לתסמינים של ריקבון

אדום של קנה סוכר, ריקבון פולי קפה, ריקבון הכתר של בננה וכתמי עלים של חמצה (Lenne, 2002) ובישראל זוהה בגידולים רבים כפי שמוזכר ברשימת מחלות הצמחים (אלעד וחוב', העמותה למחלות צמחים).

מיני קולטוטריכום רבים נשאים בזרעים (seedborne), ויכולים לשרוד כספרופיטים בקרקע ו/או על חומר צמחי מת. עיקר ההפצה מתרחשת בהתזת נבגים במים (גשם או השקיה מעל הנוף) או באמצעות רוח המפיצה נבגים מיניים (Ascospores) (Nicholson and Moraes, 1980). ההדבקה מתרחשת באמצעות כרית הדבקה (Appressorium) שמתפתחת מנבגים נובטים על פני משטח העלה או הפרי ובעקבות לחץ טורגור שמאפשר את חדירת הקוטיקולה (Prusky et al., 2000) ובמקרים מסוימים בעזרת תפטיר חודרני (Bailey et al., 1992). התבססות הפטרייה ברקמות הצמח נעזרת ביצירת של אפקטורים וירולנטים פטרייתיים (Kleeman et al., 2012).

פטרייה שחדרה לרקמת הצמח נשארת במצב ביוטרופי (biotrophic) או לטנטי (רדום) ללא הופעת סימפטומים חיצוניים. מצב זה יכול להתקיים לתקופה קצרה (1-3 ימים; O'Connell et al., 2000) או לתקופה ארוכה יחסית (חודש ויותר; Prusky and Plumbly 1992). לאחר התקופה הרדומה, הפטרייה עוברת למצב נקרוטרופי (necrotrophic) (גרירת מחלה) שכתוצאה מכך גורמת לתמותת תאים והופעת סימפטומים, לדוגמה, של כתמי עלים וריקבון ענפים ופירות (Sharma et al., 2017). כמו כן, המעבר ממצב ביוטרופי לנקרוטרופי יכול להתבטא בהפסדי יבול קשים לאחר הקטיף מאחר והתוצרת החקלאית נראית ללא סימפטומים, כביכול בריאה, לפני אחסונה (Prusky and Plumbly, 1992). ידוע גם על מיני קולטוטריכום שונים היכולים לשכון בצמח כאנדופיטים (Cannon et al., 2012).

מיני קולטוטריכום נלמדו בעבר כאורגניזם מודל. לדוגמה, שלב מיני וטיפוסי הכלאה (mating types) פורסמו לפני יותר ממאה שנה (Edgerton 1912) ומנגנונים גנטיים נחקרו לעומק בשנות ה-40-50 של המאה שעברה (Wheeler, 1950). כמובן, אנטראקציית פתוגן-צמח גם נחקרה באותה תקופה (Barrus, 1918) וכן בשנות ה-80 של המאה שעברה (O'Connell et al., 1985). מחלת אנתרקוז בתירס שהינה חשובה ברמה עולמית נחקרה בהיבטים גנטיים ואינטראקציה עם הפונדקאי (Vaillancourt et al., 2000). קולטוטריכום בצמחים ממשפחת המצליבים נחקרו לאחרונה בהקשר לגנים לפתוגנזה, מוטגנזה, ריצוף גנומי וביטוי גנים בשיטת הטרנסקריפטום (O'Connell et al., 2012). עבודה מעמיקה נעשתה בנושאי מנגנוני פתוגנזה של קולטוטריכום כגון, אנזימים האחראים לפירוק דפנות תאים, גנים האחראים לחדירת רקמות פונדקאים, וטוקסינים האחראים לפתוגניות (Tanaka et al 2009; Fujihara et al., 2010). רצפי גנומים שלמים של מיני קולטוטריכום רבים מאפשרים לימוד מעמיק של האינטראקציה בין הפתוגן לפונדקאי (Han et al., 2016; Gan et al., 2019).

קבוצות קולטוטריכום עיקריות (major clades)

לאחרונה, הקלסיפיקציה של הסוג קולטוטריכום עברה מהפכה (Cannon et al., 2012). הקיבוץ הפילוגנטי היה מבוסס בעבר על ריצוף הגנים של ה-ITS Internal transcribed spacer rDNA אך לאור אי הדיוק בהגדרות ואי הבהירות על סמך קריטריונים מורפולוגיים (גודל נבג, נושאי נבגים, שלב מיני, קצב גידול וצבע מושבות בצלחות פטרי) עברו לריצוף של מספר גנים (multi locus sequencing) לקביעת המין (Weir et al., 2012). לדוגמה, השוואת הרצפים של שני גנים TUB2 ו-GAPDH למאגרי הידע (NCBI) מאפשרים להבדיל בין מינים של הסוג של *C. acutatum* (Damm et al., 2012). למרות זאת השוואת רצף ה-ITS מאפשר להבדיל בין הסוגים העיקריים של קולטוטריכום כגון (*C. acutatum* ו-*C. gloeosporioides* יותר 7 הקבוצות - clades).

במשך שנים נחשבו מיני קולטוטריכום כספציפיים לפונדקים שלהם, ועדיין אין מספיק מידע בנידון. הרבה מחקרים על הפתוגן מוגבלים לתבדידים רבים לפונדקאי ספציפי (Buddie et al., 1999; González et al., 2006; Gazis et al., 2011), דבר המקטין את השונות הגנטית בתוך האוכלוסיות הנבחנות. לדוגמה, (Mackenzie et al., 2007) הבחינו בהעברת חומר גנטי בין אוכלוסיית הפתוגן *C. acutatum* מצמחי בר לאוכלוסיות שהיו על צמחי תות-שדה בשדות סמוכים. עובדה זו מדגימה את המגבלה של ניסויים בפונדקאי יחיד. מיני קולטוטריכום יכולים לשרוד כאנדופיטים (פטוריות הנוכחות בתוך רקמה צמחית ללא גרימת תסמיני מחלה) דבר המקשה על ההבנה של לימוד ספציפיות לפונדקאי (Rojas et al., 2010). לכן, בידוד הפטרייה מחומר צמחי אינו בהכרח מצביע על הפטרייה כפתוגן לטנטי עם שלב ביוטרופי; והבדלה בין שני שלבי החיים יכולה להיות בעייתית. (Freeman and Rodriguez, 1993) הראו שמוטציה יחידה יכולה להפוך תבדוד פתוגני מהמין *C. magna* לאנדופיט מועיל בעל תכונות של מדביר ביולוגי (Redman et al., 1999). השפעה של גנים בודדים נפוצה במיני קולטוטריכום כפי שהודגם באינטראקציה *C. graminicola* לבין תירס כפונדקאי (Thon et al., 2000).

ישנם מינים שהם פתוגניים ספציפיים לפונדקאי. בעבר דווח על תבדידים של מיני קולטוטריכום כמדבירים ביולוגים ספציפיים להדברת עשבי בר (Bailey, 2014; TeBeest, 1996). לדוגמה, שני תכשירים, הראשון BioMal פורמולציה של *C. gloeosporioides* f. sp. *malvae* להדברת העשב *Malva pusilla* והתכשיר Collego שהינו פורמולציה של *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* שהיה בשימוש להדברת העשב *Aeschynomene virginica*. ישנם מיני קולטוטריכום, מעטים אומנם, שתוקפים חרקים ובמקרים נדירים גם בני אדם ויונקים הנתקפים על ידי הסוג. נושא מיני קולטוטריכום שהינם ספציפיות לפונדקאי ומינים שהינם רב פונדקאים נדון בהמשך.

מיני קולטוטריכום בגידולים בישראל

בישראל, מחלת הגחלון מוכרת במשתלות והשדות המניבים של תות-השדה. היא פוגעת גם בכלנית ומועברת בעיקר בפקעות, גורמת להתמוטטות שתילי לימונים, פוגעת בפקעות תפוח-אדמה ובשקד. המחלה תוקפת גפרי אבוקדו לפני הקטיף ובאחסון. קיימים גידולים נוספים הנפגעים ע"י הפטרייה.

גחלון בתות-שדה

תות-שדה גדל בישראל בכל עונות השנה. בקיץ מגדלים את המין במשתלות כמקור לחומר שתילה בשדה המניב. בסוף הקיץ – תחילת הסתיו שתילי בת ממשתלות הקיץ נשתלים בשדות, והשדה מניב עד האביב – תחילת הקיץ. גחלון בתות-שדה נגרם על-ידי מיני *Colletotrichum* שהוזכרו. למחלה מגוון תסמינים והיא מופיעה בכל שלבי הגידול. הפטרייה נפוצה בכל אזורי העולם בהם גדל תות-שדה (פרימן, 1995). המחלה הרסנית במשתלות תות-שדה בהן היא מתבטאת בשתילי האם המתמוטטים ואינם מייצרים שלוחות הנזקקות לריבוי והפקת שתילי בת. ביטוי המחלה הוא בכתר הנרקב, ובשטח המניב הפירות בדרגות הבשלה שונות נפגעים ע"י הפתוגן (איור 1).

כפי שהוזכר, אבחונם של מיני קולטוטריכום בכלל, ואלה הפוגעים בתות-שדה בפרט, קשה בשיטות מורפו-טקסונומיות (כגון גודל וצורת נבגים, צבע מושבה וקצב גידול). למשל הפטרייה *C. acutatum*, הגדלה במצע סלקטיבי, תוארה כבעלת פיגמנט כתום עם מאסה של נבגים בגודל ממוצע של $4 \times 15 \mu\text{m}$ ומחודדים בשני הקצוות בצורה אופיינית למין, אולם נתונים אלה לא בהכרח עקביים. פותחו שיטות מולקולריות לצורך אבחנה מדויקת של המינים השונים (Freeman and Katan, 1997). שיטות מבוססת PCR, עם תחלים ספציפיים יכולות לזהות שלושה סוגי

קולטוטריכום בתות-שדה. חשיבותו של ממצא זה הינה בכך שלמיני הקולטוטריכום השונים רגישות שונה לחומרי הדברה.



איור 1. תסמיני מחלת האנתרקנוז בתות-שדה: אברי תות-שדה שונים פגועים. פירות עם צברי נבגים כתומים בשקעים חומים כתרים ושורשים נרקבים.

גחלון בכלנית

גחלון בכלנית הופיע לראשונה בארץ בשנת 1978, ומאז המחלה מופיעה מדי פעם אך לא בכל עונה. בכלנית מתבטא הנזק בסלסול עלים והתמוטטות שתילים בשדה, כתמים בלתי רגולריים בעלים, וריקבון נצרים ועמודי פריחה (איור 2). באיברים אלה נוצרות נקרוזות שקועות המלוות בצברי נבגים בגוון כתום. הגורם זוהה ב-1998 כ- *C. acutatum*, סוג שנפוץ בארץ ומחולל גחלון גם בתות-שדה (Freeman et al., 2000). המחלה נפוצה באזורי גידול כלנית באירופה, כגון, אנגליה, הולנד ואיטליה.



איור 2. תסמיני מחלת האנתרקנוז בכלנית: סלסול עלים והתמוטטות שתילים בשדה, כתמים בלתי רגולריים בעלים (א), ריקבון נצר ועמודי תפרכת (ב).



מספר רב של תבדידי קולטוטריכום בודדו ישירות מפקעות (דבר המצביע על נגיעות במקור הריבוי הצמחי). רוב התבדידים בודדו מהעלוה הנגועה בשדה. ברוב עונות הגידול הופיע קולטוטריכום כבר בחודש אוקטובר, ונמצא בפקעות יבוא מהולנד. המחלה הופיעה בכל אזורי הגידול בארץ (הרי ירושלים, בני ציון במישור החוף, וציפורי בצפון). נשאלה שאלה, האם אוכלוסיות הפטרייה בארץ הינן ספציפיות לכל גידול או שאותה אוכלוסייה גורמת למחלה בגידולים שונים. לא נמצאו צמחי כלנית בר נגועים במחלה באביב ובסתיו אך ייתכן שעונת הגידול התרבותי אינה חופפת את זו של טיפוס הבר. מאחר שפרחים ופקעות של כלנית מיוצאים לארצות אחרות, קיימת חשיבות עליונה להבטיח שחומר זה יהיה נקי ממחלת הקולטוטריכום, שאם לא כן, עלול להיגרם נזק (מעבר לכלכלי) לתדמיתה של מדינת ישראל כיצואנית חומר ריבוי איכותי.

ספציפיות לתות-שדה, כלנית ולפונדקאים אחרים בניסויים בחממה נמצא שניתן לאלח באופן מלאכותי צמחי כלנית בתבדידים שמקורם מתות-שדה ולקבל מחלה האופיינית לגחלון (אנתרקנוז) בכלנית. כמו כן, ניתן לאלח באופן מלאכותי צמחי תות-שדה בתבדידים שמקורם מכלנית ולקבל מחלה האופיינית לאנתרקנוז בתות-שדה. לצורך העניין, מספר רב של תבדידים אולחו בשני הפונדקאים בכדי לאמת את הממצאים בתנאי חממה (Freeman et al., 2000). תבדידי הפתוגן *C. acutatum* שבודדו מכלניות נגועות בשדה לא היו שונים מאלה שהיו קיימים כבר באוסף תבדידים והשתייכו לפי הגדרות מורפולוגיות ואפיונים מולקולריים לסוג *C. acutatum*. הוכח, בשיטות PCR, כי המין התוקף כלנית הינו מהסוג *C. acutatum* ולא *C. gloeosporioides* כפי שדווח קודם לכן (Freeman et al., 2000).

כאמור, מספר מיני *Colletotrichum* יכולים לתקוף פונדקאי אחד כמו תות-שדה, ומין יחיד של הפתוגן יכול לפגוע בפונדקאים רבים (ראו הקדמה). נמצא ש-*C. acutatum* יכול לשרוד ולהתרבות בשתילי חציל, עגבנייה או פלפל מבלי שנראה סימני מחלה (Horowitz et al., 2000). במקביל, מעשבי בר (בקיה וקייצת) הגדלים בסמיכות לצמחי תות-שדה נגועים, בודד הפתוגן *C. acutatum*. באילוח פירות וירקות ב-*C. acutatum* ניתן להבחין בתסמיני המחלה במספר מיני צמחים, תופעה המעידה על קיום הדבקה צולבת.

תנאי הפצת גורם המחלה ונזקיה בכלנית ובתות-שדה

נבגי *Colletotrichum* מתרבים בלחות מרובה ובטמפרטורות של 15-30 מ"צ - תנאים המתקיימים במשתלות ובשטח הפריחה של כלנית וגורמים למחלה בשתילים. נבגי הפתוגן מתפזרים באמצעות התזה של טיפות מים, חרקים, כלים חקלאיים, על גבי צמחים נגועים ובקרקה (Howard et al., 1992). בשדות תות-שדה נגועים עלול אובדן הפרי להגיע ל-50%, למרות ריסוסים תכופים והרחקת ניצנים, פרחים ופירות נגועים.

הישרדות והדברת גורם המחלה

בקליפורניה מדבק של *C. acutatum* מתות-שדה יכול לשרוד עד תשעה חודשים בקרקע (Howard et al., 1992). לכן חשוב לחטא את הגומה ממנה הוצא שתיל נגוע לפני שתילת שתיל חדש, וחיטוי שטח נגוע לפני שתילתו בגידול חדש. מאחר והמידבק יכול לשרוד בקרקע במשתלות של צמחים נגועים, קיימת אפשרות להתפשטות הפתוגן מהמשתלה לשדה המניב.

כאמור, מקור עיקרי של מחוללי האנתרקנוז נמצא בחומר ריבוי נגוע, שתילים ממשתלות תות-שדה ופקעות כלנית. על כן יש להקפיד על חומר צמחי נקי, או להשתמש בקווים עמידים למחלה. ציון, כי התפשטות הפתוגן מוגברת על ידי המטרה מעל לנוף, ועלולה להתפשט על גבי כלים, מכונות חקלאיות ועובדים הנעים משדות נגועים לבריאים.

בארה"ב מטפלים נגד אנתרקנוז במשתלות בטיפול חום לשיתלי תות-שדה רדומים ובריסוסים בתכשירי הדברה שונים. פונגיצידיים אלה הינם פרוטקטנטים כנגד הדבקה ואינם מצליחים לקטול גורמי מחלה שהתבססו ברקמה צמחית. קוטל הפטריות פרוכלורז יעיל במיוחד כנגד אנתרקנוז בתות-שדה, בריסוס ובטבילת שתילים (Freeman et al., 1997), אך יכול לגרום נזק פיטוטוקסי לכלנית.

גחלון בלימוניום

לימוניום גדל באזור הערבה ובנגב, בעמק חפר ובשרון. הסוג לימוניום, ממשפחת העופרתיים (Plumbaginaceae), מחולק למינים רב שנתיים וחד שנתיים. המינים החד שנתיים נקראים עדעד ומשתייכים למין *L. sinuatum*. זנים אלה הדורשים קור לגידולם. חלק משיתלי העדעד מיוצרים מזרעים וחלק מתרבות רקמה. המינים הרב שנתיים מכונים לימוניום, והם מעדיפים טמפרטורות גבוהות לגידולם. הזנים המגודלים כיום בישראל המשתייכים ללימוניום הם בעיקר מהמין אלאיטיקה ובהם הזנים מיין בלו, סילבר פינק וזנים מקבוצת הספורה. זן פופולארי נוסף המשתייך ללימוניום הוא הבלט לארד, פרח מכלוא שמקורו מ- *L. latifolium* ו- *L. caspi*. כל השתילים ממינים אלו מיוצרים מתרבות רקמה. הלימוניום הוא צמח הידוע בחוסנו וניתן לגדל את הצמח שנים רבות, לעיתים למעלה מ 10 שנים.

תופעת התמוטטות לימוניום בערבה החלה ב- 1995 בחלקות בודדות ומאז התפשטה לשטחי לימוניום חדשים וגרמה לנזקים כבדים, שיעור ההתמוטטות נע בין 20-50 אחוזים. הנזק הנגרם לחקלאי נובע הן מהצורך בהחלפת השתיל, שמחירו גבוה, והן מהפסד פוטנציאלי של ענפי פריחה. התמוטטות צמחי הלימוניום מתרחשת בעיקר בקיץ. רוב זני הלימוניום שגדלים בארץ ובעיקר הזנים בלטלארד ומיסטי רגישים להתמוטטות וגורם המחלה זוהה כפטרייה *C. gloeosporioides* (Pivonia et al., 2000; Bar Lavan et al., 2004). בכל אזורי הגידול בהם נמצאו צמחים חולים ומתים, בודד גורם המחלה מצוואר השורש. כאשר יש תנאי לחות מתאימים, תסמיני המחלה מופיעים בנוסף לצוואר השורש גם בעלווה, בגבעולים, ובעמודי התפרחות (Maymon et al., 2006). הפטרייה מנגעת לימוניום באזור הכתר והשורשים באופן סמוי (לטנטי) במהלך חודשי החורף וגורמת להתמוטטות עם עליית הטמפרטורות בעיקר בחודשים יוני-אוקטובר (איור 3). סמני מחלה ראשוניים אופייניים הם: גלילת עלים בוגרים כלפי חוץ, התייבשות של עלעלי הפרחים ונבילת שושנת עלים צעירה הפורצת לאחר הגיזום.

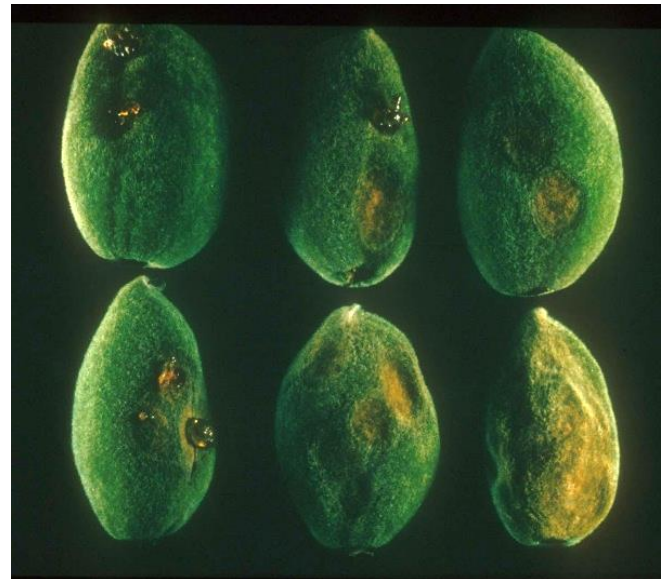
לעיתים מופיע בשתילות קיציות חדשות שיעור נמוך מאוד של תמותה כתוצאה מאילוח בפטרייה. תמותה זו יכולה להוות סימן ראשוני לבעיה שתתגלה בשדה רק בקיץ העוקב. בערבה, עיקר ההפצה של הנבגים נעשית במהלך הקטיפים והגיזומים ממקור אילוח לצמח בריא באמצעות העובדים וכלי העבודה. בערבה, נמצאו באוכלוסייה מסוימת של לימוניום נגוע, בחלקה שהומטרה, גופי פרי מיניים, פריציה, המכילים אסקוסים ואסקוספורות (*Glomerella cingulata*) (Bar Lavan et al., 2004). נמצאה שונות גנטית של אוכלוסיות הפתוגן שהתבטא בעמידות לבנזאימידאזולים. קיום השלב המיני יכול לתרום לשונות הגנטית (Maymon et al., 2006). להתפתחות המחלה בצמח דרושים תנאי רטיבות לצורך נביטת נבגי הפטרייה וחדירתם לצמח כאשר ייבוש אזור הכתר מקטין את התפתחות המחלה. ייבוש אזור הכתר הושג ע"י השקיה בטפטוף טמון בעומק 30 ס"מ.



איור 3. תסמיני מחלת האנתרקנוז בלימונים: נבילה לאחר פגיעה בכתר והשורשים (א') ולאחר מכן התמוטטות ותמותת שתילים (ב').

שקד

הפטרייה *C. acutatum* תוקפת פירות צעירים ונפוצה בכל מטעי השקד בארץ. תסמיני המחלה מתבטאים בתחילת מרץ עם הופעת חנטים צעירים. בפירות צעירים הפטרייה חודרת את הקליפה הירוקה ואת הקליפה הרכה של בית הגלעין ופוגעת בגלעין הרך והצעיר. בחתך בפרי נגוע ניתן להבחין בהחמה, זיבת שרף ותפטיר לבן על פני ובתוך חלל. על פירות צעירים נראים כתמים כתומים בגודל 5-10 מ"מ השקועים ולפעמים מופרש שרף על פני הכתם (איור 4). בחודשים אפריל מאי, הכתמים גדלים והופכים חומים עם הפרשה של זיבה המכילים צברי נבגים.



איור 4. תסמיני מחלת האנתרקנוז בשקד: פירות צעירים עם כתמים בעלי צברי נבגים כתומים השקועים, ולפעמים מופרש שרף על פני הכתם.

הפגיעה בפרי נמשכת עד להתקשות בית הגלעין ולאחר מכן הפרי מצטמק והופך למומיה. בהשפעת הפגיעה בפירות שושנות העלים הצמודות לפירות מתייבשות והמחלה מתבטאת בענפים יבשים הנושאים מומיות שבהן הפטרייה נשמרת מעונה לעונה. פירות הנגועים בצד העוקץ נושרים, אך הפטרייה יכולה לשרוד לעונה הבאה על גבי

העוקצים הנגועים. עוצמת המחלה ותפוצתה מושפעת מגשם בסוף הפריחה. הנבגים שמתפתחים מהמומיות ועוקצים מהעונה הקודמת מופצים בתנאי גשם, מדביקים פירות צעירים וגורמים למחלה. מחלת האנתרקנוז מסוגלת לפגוע בענפים ולגרום לתמותת עצים שלמים בהתקפה קשה. גיזום ענפים נגועים נושאי מומיות ועוקצים נגועים עוזר להפחית את עוצמת המחלה. בהתקפה קשה נחוץ לשלד את העץ. ריסוסי תכשירי הדברה נגד הפטרייה, כשישה שבועות לאחר הפריחה ועד התקשות בית הגלעין, עוזרים להפחית נזקים ולהעלות את היבול.

בתבדידי *C. acutatum* התוקפים שקד בתנאי הארץ, לא נמצא שלב מיני. לאחר אפיון בשיטות מולקולריות, נמצא כי ישנה שונות גנטית בין המינים התוקפים שקד לעומת אבוקדו (Freeman et al., 2000) ולכן אפיון המין של הקולטוטריכום שתוקף שקד או אבוקדו חשוב מאוד. חשיבות זו נובעת מסמיכות הקיימת בהרבה מקומות בין מטעים נגועים באנתרקנוז מהפונדקאים השונים והצורך בתזמון בקרת המחלות במידה והם רב פונדקאים. נמצא שהפתוגן שתוקף שקד בארץ הינו קלונאלי וספציפי לשקד בתנאי הארץ והפתוגן שזוהה בשקד לא בודד מאבוקדו. האוכלוסיות משני הפונדקאים אופיינו בשיטות מולקולריות כדי לבחון את הסוגיה (Freeman et al., 2000; 2001).

גחלון באבוקדו

גידול האבוקדו בארץ הינו בעל ערך רב לצריכה מקומית וליצוא (Dor, 2015). לפי דיווח זה היקף הגידול כ- 80,000 דונם עם יצור של כ- 100,000 טון פרי. בתנאי הגידול הסובטרופיים בארץ, עם מזג אוויר ים תיכוני של גשמי חורף, הגידול נפגע קשה ע"י מיני קולטוטריכום לאחר הקטיף בעקבות חנטה בחורף בתנאי לחות גבוהים (Freeman et al., 1998). לכן, חיי המדף והשיווק של הפרי בתקופה זו מאד נפגעים כתוצאה מהמחלה. המחלה בפירות מאופיינת ע"י כתמים נקרוטיים שחורים בעלי צברי נבגים בצבע כתום (Prusky and Kotze, 1994) (איור 5).



איור 5. תסמיני מחלת האנתרקנוז באבוקדו: כתמים נקרוטיים שחורים בעלי צברי נבגים בצבע כתום.

הדבקת הפירות מתרחשת במטע כשנבגי הפטרייה נובטים, מייצרים כריות הדבקה (אפרסוריה) אך נשארים רדומים עד הבשלת הפרי. לאחרונה נמצא שהפתוגן חורף על גבי עלים יבשים וטריים ועל ענפונים טריים במטעי אבוקדו בארץ (Sharma et al., 2017). במזג אוויר טרופי דווח שהפטרייה שורדת על עלים יבשים וגבעולים, בנוף העץ וגם על הקרקע (Nelson, 2008). דווח שהמין העיקרי שתוקף אבוקדו שייך למין *C. gloeosporioides* (Freeman et al., 1998). לאור הרביזיה הטקסונומית בסוג למינים ושייכות ספציפיות של אוכלוסיות קולטוטריכום לפונדקאי, ישנה חשיבות עליונה לאפיון הפתוגן לבקרתה. בעבודה שנעשתה לאחרונה, הוגדר מין חדש *C. perseae* השייך לסוג *C.*

gloeosporioides שתוקף אבוקדו בארץ (Sharma et al., 2017). באותו מחקר, נמצאו עוד 9 מינים שתוקפים אבוקדו בארץ, וכולם היו בעלי פתוגניות דומה לפרי ואיברים ווגטיביים שונים של עץ האבוקדו.

תפוח-אדמה

מחלת ניקוד שחור הנגרמת על ידי הפטרייה ממין *C. coccodes* מפחיתה יבולים ופוגעת באיכות פקעות תפוח אדמה (Johnson et al., 2018). הפתוגן שורד בקרקע ובשאריות צמחים באמצעות קשיונות ובפקעות באמצעות קשיונות ותפטיר בתוך צינורות ההובלה של הפקעת. נבגי הפטרייה מופצים באמצעות רוח, סופות חול וטיפות מים. האטיולוגיה ואפיון אוכלוסיות של המין קולטוטריכום בתפוח-אדמה נקבעו באמצעות התאם וגטיבי, מורפולוגיה ושיטות מולקולריות (Johnson et al., 2018). הפתוגן עלול לגרום לפחיתת יבול בזנים רגישים, בייחוד בתנאי עקת יובש והשקיה לא מיטבית. נמצא כי המחלה גורמת להפחתת יבול עד כ- 30% בזנים הרגישים. מניסויים במעבדה והשדה נמצא שהמחלה מופיעה באופן חמור יותר בתנאי יום קצר (סתיו-חורף) ובתאורה קצרה של עד 8 שעות אור. קיים סינרגיזם בין המחלה הנגרמת על ידי קולטוטריכום לבין דוררת בתפוח-אדמה ושתי המחלות יחדיו גורמות לנזק גדול יותר מאשר כל אחת בנפרד. בעבודה שנעשתה על התאם ווגטיבי באוכלוסיית הפטרייה שמקורה בתפוח-אדמה מאירופה וישראל נמצאו 8 קבוצות, אופיינו מדדים שונים הקשורים בהתפתחות הפטרייה כגון טמפרטורת גידול, קצב יצירת קשיונות pH ועוד (Johnson et al., 2018).

סיכום

בעולם, מחלת הגחלון (אנתרקנוז) פוגעת בפונדקאים רבים, מעל ומתחת לפני הקרקע. גורמי המחלה נישאים בזרעים, והמחלה תוקפת פירות לפני ואחר הקטיף. לאחרונה, הסוג קולטוטריכום סווג ל- 9 קבוצות שונות ולמינים חדשים רבים לאחר ריצוף של מספר גנים. לדוגמה הגנים TUB2 ו-GAPDH מבדילים בין מינים בתוך סוגים שונים ובכלל זה ב- *C. acutatum*. בארץ, הפתוגן תוקף תות-שדה וכלנית שגדלים בסמיכות זה לזה ונמצא ששני הפונדקאים רגישים לאותו מין וסוג של הפטרייה, *C. acutatum*. לעומת זה, קיימת ספציפיות לפונדקאי למין שתוקף שקד כאשר אבוקדו אינו נפגע ממין זה למרות ששני הגידולים גדלים זה לצד זה. מאחר ומחלת האנתרקנוז בעלת תחום רחב של פונדקאים, צריך לבחון את אמצעי ההפצה והפוטנציאל לפגיעה בגידולים נוספים בתנאי הארץ.

מקורות

פרימן ס' (1995) מחלה חדשה במשתלות ובשטח המניב של תות שדה בארץ שמחוללת הפטרייה קולטוטריכום. השדה חוברת ג', כסלו תשנ"ו, עמ' 35-40.

Bailey K. L. (2014) The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. In: Abrol D. P., ed., Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective, San Diego, CA, Elsevier, pp. 245–266.

Bar Lavan Y., Pivonia S., Katan J., Zviebil A. and Freeman S. (2004) Characterization, survival and affect of heat treatments on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of *Limonium* decline. *Phytoparasitica* 32: 188.

Barrus M.F. (1918) Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) B. & C. *Phytopathology* 8: 589–605.

- Buddie A. G., Martinez-Culebras P., Bridge P. D., Garcia M. D., Querol A., et al., (1999) Molecular characterization of *Colletotrichum* strains derived from strawberry. *Mycological Research* 103: 385–394.
- Cannon P. F., Damm U., Johnston P. R. and Weir B. S. (2012) *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology* 73: 181–213.
- Damm U., Cannon P. F., Woudenberg J. H. C. and Crous P. W. (2012) The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73: 37–113.
- Dean R., Van Kan J. A. L., Pretorius Z. A., Hammond-Kosack K. E., Di Pietro A. et al., (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13: 414–430.
- Dor R. (2015) Israel's avocado industry - Overview. Israeli Agriculture International Portal <http://www.israelagri.com/?CategoryID=493&ArticleID=1036>.
- Edgerton C. W. (1912) Plus and minus strains in an ascomycete. *Science* 35: 151.
- Freeman S. and Katan T. (1997) Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. *Phytopathology* 87: 516-521.
- Freeman S. and Rodriguez R. J. (1993) Genetic conversion of a fungal plant pathogen to a non-pathogenic endophytic mutualist. *Science* 260: 75–78.
- Freeman S., Katan T. and Shabi E. (1998) Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease* 82: 596-605.
- Freeman S., Minz D., Jurkevitch E., Maymon, M. and Shabi E. (2000) Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. *Phytopathology* 90: 608-614.
- Freeman S., Minz D., Maymon M. and Zveibil A. (2001) Genetic diversity within *Colletotrichum acutatum* sensu Simmonds. *Phytopathology* 91: 586-592.
- Freeman S., Nizani, Y., Dotan S., Even, S. and Sando T. (1997) Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse and field conditions. *Plant Disease* 81: 749-752.
- Freeman S., Shabi E. and Katan T. (2000) Characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of anemone (*Anemone coronaria* L.). *Applied and Environmental Microbiology* 66: 5267-5272.
- Fujihara N., Sakaguchi A., Tanaka S., Fujii S., Tsuji G. et al. (2010) Peroxisome biogenesis factor PEX13 is required for appressorium-mediated plant infection by the anthracnose fungus *Colletotrichum orbiculare*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23: 436–445.
- Gan P., Tsushima A., Hiroyama, R. et al., (2019) *Colletotrichum shiso* sp. nov., an anthracnose pathogen of *Perilla frutescens* in Japan: molecular phylogenetic, morphological and genomic evidence. *Scientific Reports* 9: 13349. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50076-5>.
- Gazis R., Rehner S. and Chaverri P. (2011) Species delimitation in fungal endophyte diversity studies and its implications in ecological and biogeographic inferences. *Molecular Ecology* 20: 3001–3013.

- González E., Sutton T. B. and Correll J. C. (2006) Clarification of the etiology of Glomerella leaf spot and bitter rot of apple caused by *Colletotrichum* spp. based on morphology and genetic, molecular and pathogenicity tests. *Phytopathology* 96: 982–992.
- Horowitz S., Sharon A., and Freeman S. (2000) Host specificity and survival of *Colletotrichum acutatum* from strawberry. *Phytoparasitica* 28: 280.
- Howard C. M., Maas J. L., Chandler C. K. and Albrechts E. E. (1992) Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. *Plant Disease* 76: 976-981.
- Johnson D. A., Geary B. and Tsrer (Lahkim) L. (2018) Review: Potato Black Dot – The Elusive Pathogen, Disease Development and Management. *American Journal of Potato Research* 95: 340-350.
- Lenné J. M. (2002) Some major plant diseases. In: Waller J. M., Lenné J. M. and Waller S. J., eds., *Plant Pathologist's Pocketbook* 3rd ed. CABI, Wallingford, UK: 4–18.
- Mackenzie S. J., Seijo T. E., Legard D. E., Timmer L. W. and Peres N. A. (2007) Selection for pathogenicity to strawberry in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from native plants. *Phytopathology* 97: 1130–1140.
- Maymon M., Zveibil A., Pivonia S., Minz D. and Freeman S. (2006) Identification and characterization of benomyl-resistant and -sensitive field isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from statice (*Limonium* spp.). *Phytopathology* 96: 542-548.
- Nelson S. (2008) Anthracnose of avocado. Co-operative Extension Services. *Plant Disease*-58.
- Nicholson R. L. and Moraes W. B. C. (1980) Survival of *Colletotrichum graminicola*: importance of the spore matrix. *Phytopathology* 70: 255–261.
- O'Connell R. J., Bailey J. A. and Richmond D. V. (1985) Cytology and physiology of infection of *Phaseolus vulgaris* by *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiological Plant Pathology* 27: 75–93.
- O'Connell R. J., Thon M. R., Hacquard S., Amyotte S. G., Kleemann J. et al., (2012) Life-style transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics* doi:10.1038/ng.2372.
- Pivonia S., Levita R., Tzuberi G., Zveibil A., Nizani Y. and Freeman S. (2000) Decline of perennial *Limonium* cultivars caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytoparasitica* 28: 286-287.
- Prusky D. and Kotze J. (1994) Postharvest diseases of avocado: Anthracnose. In: Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, W. T. and Rohrbach, K. G. eds. *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. APS Press, St. Paul, MN., USA, 1994, pp. 72–73.
- Prusky D. and Plumbley R. A. (1992) Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruit. In: Bailey J. A., and Jeger M. J., eds. *Colletotrichum*. Biology, Pathology and Control, CABI, Wallingford, UK, pp. 289–307.

- Prusky D., Freeman S., Dickman M.B. eds. (2000) *Colletotrichum*. Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction. APS Press, St Paul, USA.
- Redman R. S., Ranson J. C. and Rodriguez R. J. (1999) Conversion of the pathogenic fungus *Colletotrichum magna* to a nonpathogenic, endophytic mutualist by gene disruption. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 969–975.
- Sharma G., Maymon M. and Freeman S. (2017) Epidemiology, pathology and identification of *Colletotrichum* including a novel species associated with avocado (*Persea americana*) anthracnose in Israel. *Scientific Reports* 7: 15839.
- Tanaka S., Ishihama N., Yoshioka H., Huser A., O'Connell R. et al., (2009) *Colletotrichum orbiculare* *ssd1* mutant enhances plant basal resistance through activation of a mitogen activated protein kinase pathway. *Plant Cell* 26: 155-156.
- TeBeest D. O. (1996) Biological control of weeds with plant pathogens and microbial pesticides. In: Sparks D. L., eds., *Advances in Agronomy*, Vol 56, San Diego, Elsevier Academic Press Inc., pp. 115–137.
- Thon M. R., Nuckles E. M. and Vaillancourt L. J. (2000) Restriction enzyme-mediated integration used to produce pathogenicity mutants of *Colletotrichum graminicola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 1356–1365.
- Vaillancourt L., Wang J. and Hanau R. (2000) Genetic regulation of sexual compatibility in *Glomerella graminicola*. In: Prusky D., Freeman S., and Dickman M.B., eds., *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction*. APS Press, St Paul, USA, pp. 29–44.
- Waller J. M., Lenné J. M. and Waller S. J. (2002) *Plant Pathologists's Pocketbook*. CABI, Wallingford, UK.
- Weir B., Johnston P. R. and Damm U. (2012) The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 21: 2517–2526.
- Wheeler H. E. (1950) Genetics of *Glomerella*. VIII. A genetic basis for the occurrence of minus mutants. *American Journal of Botany* 37: 304–312.
- Zhang N., Castlebury L. A., Miller A. N., Huhndorf S. M., Schoch C. L. et al. (2006) An overview of the systematics of the *Sordariomycetes* based on a four-gene phylogeny. *Mycologia* 98: 1076–1087.

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

צביקה מנדל, אלכסיי פרוטסוב, מרסל מימון וסטנלי פרימן

המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

חיפושיות אמברוזיה יוצרות מערכת יחסים הדוקה ואובליגטורית עם מיני פטריות אל מיניים. הפטריות נישאות על ידי החיפושיות, המהוות את מצע המזון הבלעדי שעליו הן ניזונות ומתפתחות. הופעת פטריות סימביוטיות כנ"ל כפתוגנים של צמחים היא תופעה חדשה יחסית, והיא תוצאה של המעבר של המינים מבית גידולם הטבעי לבתי גידול חדשים. חיפושיות אמברוזיה התפתחו בנפרד בשתי תת משפחות במשפחת החדקונית - בתת משפחת חיפושיות האמברוזיה Platypodinae ובתת משפחת חיפושיות הקליפה Scolytinae.

חיפושיות האמברוזיה נוברות את מחילותיהן בעומק עצת הירך של עצים פונדקאים. בישראל מוכרים עשרה מיני חיפושיות האמברוזיה משתי תת המשפחות יחד, לפחות שמונה מהם מינים פולשים. רק אחד המינים הוא מזיק קשה, חיפושית האמברוזיה של האבוקדו *Euwallacea fornicatus* הנושאת ומגדלת במערכת הגלריות שלושה מיני פטריות סימביוטיות, *Fusarium euwallaceae*, *Graphium euwallaceae* ו-*Paracremonium pembeum*. פטריית הפוזריום אינה מתפשטת מעבר ל-2-3 ס"מ מדופן הגלריה הנוצרת על ידי החיפושית, והיא למעשה הפתוגן במערכת, ותפקידה 'להתעמת' עם הרקמה הבריאה. פטרייה זו מצליחה לשרוד בעצה החיה של אבוקדו ומיני העצים האחרים. הפטרייה גרפיום היא המזון העיקרי של הזחלים והבוגרים הצעירים. תסמיני הפגיעה החיצוניים והנזק הנגרמים על ידי חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, נבדלים על פי העץ המותקף. באבוקדו התקיפה ניכרת בפריצת סוכרים לבנה, עצי אפרסמון מגיבים בהפרשת גומי צמיג שחור, עצי דולב ואלון מגיבים בזיבת גומי נוזלית שקופה. גם דפוס האכלוס שונה במיני עצים שונים: בעצי אלון, דולב או אדר, ההתקפה והאכלוס המוצלח מתרכזים בגזע ובבדים, ולא בענפים הדקים כמו באבוקדו. תסמין הניכר במיני עצים שונים מאופיין בהכתמה של סיבי העצה בפסים בצבע חום-כתום. תסמין בולט נוסף הוא התייבשות הענפים. ההתייבשות היא תוצאה של שיבוש מעבר המים בגזע ובענפים. החיפושית תוקפת מספר גדול ומגוון של מיני עצים פונדקאים. לא נמצא קשר הדוק בין הקרבה הגנטית של העצים לבין יכולתם לשמש פונדקאים מתאימים לרבייה של החיפושית. רק 13.9% מכלל מיני העצים שנבחנו התאימו להתרבות החיפושית, כ-55.9% מכלל מיני העצים שנבחנו נתקפו אך לא נמצאו מתאימים לרבייה, והשאר כלל לא הותקפו. הקושי בהתמודדות עם החיפושיות נובע מהיעדר אויבים טבעיים יעילים ומהצורך להגיע באמצעות תכשירים לעומק העצה. מוצג סיכום יעילות במעבדה של תשעה קוטלי חרקים סיסטמיים מסחריים כנגד זחלי החיפושית והשפעה של 39 תכשירים על עיכוב התפתחות הפוזריום הסימביוטי. שפע מיני חיפושיות האמברוזיה ביערות הטרופיים והסובטרופיים מצביע גם על פוטנציאל הנזק הקשה שעלול להיגרם אם יפלו לישראל מינים חדשים מקבוצה זו.

אופן הציטוט: מנדל צ', פרוטסוב א', מימון מ' ופרימן ס' (2021) פתוגנים סימביוטיים כמחוללי מחלות צמחים: נגע האמברוזיה בישראל. פרק 24, ע' 336-359 בספר תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e55413>



פרוקי רגלים נשאי מיקרואורגניזמים מחוללי מחלות הם מהמסוכנים בתחום הרפואה, הווטרנריה וחקלאות (Power 1992). במקרים רבים הקשר בין המיקרואורגניזם לנשא הוא הדוק, והתנהגות הנשא מוכתבת למעשה (במישרין או בעקיפין באמצעות הפונדקאי, בעל חיים או צמח) ע"י המיקרואורגניזם הסימביוטי (Eigenbrode et al., 2018). כמעט כל הפתוגנים של צמחים הנישאים ע"י חרקים שייכים לארבע ממלכות: נגיפים, חיידקים, פטריות ונימיות (נמטודות). יש להניח שמשך זמן האבולוציה המשותפת בין החרק למיקרואורגניזם קבע למעשה האם יחסי הגומלין ביניהם תהיה שיתופית או בעייתית עבור הנשא. תמונת ההשפעה של המיקרואורגניזם על ביצועי הנשא היא דלה ברוב המערכות שנחקרות מוכרת, כמו ציקדות המעבירות את הקסיללה *Xylella fastidiosa* במקרים של הפסילות (*Diaphorina citri*, *Trioza erytreae*) המעבירות את חיידקי *Liberibacter* המחוללים את מחלת צהבון הגזר, או במקרה של כנימות עלה הנושאות את מיני *Closterovirus* מחוללי מחלת הטריסטזה בהדרים. ידע משמעותי פורסם אודות מחולל מחלת Greening בהדרים על הפסילה הנשאית (Galdeano et al. 2020), ועל ההשפעה שלילית של נגיפים מקבוצת ה-Rhabdoviruses על הישרדות כנימות העלה הנושאות (Sylvester and Richardson, 1992). זכרי תריפס קליפורני שנושאים את הנגיף TSWV (Tomato spotted wilt virus), מחולל מחלת הנבילה בעגבנייה, אוכלים פי שלושה מזכרים שאינם נושאים את הנגיף (Stafford et al. 2011). היתרונות בהעברת הפתוגן במקרה של יקרוניות מהסוג *Monochamus* המעבירות נימית פתוגנית *Bursaphelenchus xylophilus* מתבטאים בכך שעצי אורן שלקו במחלת הנבילה באורנים, הנגרמת ע"י הנימית, הם פונדקאים נוחים להתרבות היקרונית. יתרון זה קיים במקרה של חיפושיות קליפה המעבירות את הפטריות *Ophiostoma ulmi* ו-*Ophiostoma novo-ulmi* המחוללות את המחלה ההולנדית של האלמוס. היתרון של נשיאת פטריות הסימביוטיות ע"י חיפושיות אמברוזיה (ראו להלן) יוצר מערכת יחסים הדוקה ואבולוגטורית. הפטריות הנישאות ע"י החיפושיות מהוות את מצע המזון עליו ניזונות ומתפתחות החיפושיות. הופעת פטריות סימביוטיות כנ"ל כפתוגנים של צמחים היא תופעה חדשה יחסית, שההתייחסות אליה תורחב בהמשך הפרק.

פטריות סימביוטיות וחרקים אוכלי צמחים

מינים רבים ברוב קבוצות חרקים רבות פיתחו יחסים סימביוטיים עם פטריות. בארבע סדרות חרקים יש קבוצות בהן התלות בין החרק לפטריות הפכה מוחלטת. נמלים, טרמיטים, צרעות עץ וחיפושיות אמברוזיה. בשתי הקבוצות הראשונות מדובר בחרקים חברתיים המגדלים את הפטריות בקינים בקרקע במנותק מהצמח. נמלים גוזרות עלים משתייכות לסוגים *Atta* ו-*Acromyrmex* והן מגדלות פטריות מהסוגים *Leucoagaricus* ו-*Leucocuprinus* (Basidiomycetes), כל מין נמלה אימץ לו מין מסוים של פטרייה (2001 Mueller et al). הנמלים גוזרות את העלים ומביאות את הקטעים שנגזרו אל תוך הקרקע עליהם הן מגדלות את הפטריות. ביערות הנטועים בדרום אמריקה נגרם נזק עצום ע"י נמלים גוזרות עלים בשל צריכה עצומה של העלווה. כ-15% ממיני הטרמיטים המוכרים מתפתחים באופן מוחלט על פטריות מהסוג *Termitomyces*. הטרמיטים הבוגרים ניזונים על העצה של העצים הפונדקאים, הפטריות גדלות על הפרשות הטרמיטים בתוך הקינים בקרקע ומשמשות מזון לחלים (Rouland-Lefèvre, 2000). בשתי הקבוצות האחרות הפטריות הסימביוטיות גדלות בתוך העצה של הצמח הפונדקאי. בצרעות עץ (Hymenoptera: Siricidae) מוכרים מיני פטריות מהסוג *Amylostereum* (Basidiomycetes). הפטריות מוחדרות ע"י הנקבה המטילה לתוך עצת עצי אורן והן מכשירות את העצה באמצעות פעילות אנזימטית כמצע הזנה והתפתחות עבור זחלי הצרעות (Slippers et al., 2003). הנזק לעצי האורן נגרם בשל הפעילות הפטרייתית והנבירות של הזחלים ונגרם על

רקע מפגש חדש בין צרעת העץ לבין מיני אורן רגישים. יחסי הגומלין בין חיפושיות אמברוזיה לפטריות הסימביוטיות נדונים בהרחבה בסעיפים הבאים.

מי הן חיפושיות האמברוזיה

חיפושיות אמברוזיה התפתחו בנפרד בשתי תת משפחות במשפחת החדקונית Curculionidae: בתת משפחת חיפושיות האמברוזיה Platypodinae שכל 1,500 המינים בה הן חיפושיות אמברוזיה, והיא מייצגת את הסימביוזה המוקדמת ביותר בין חרקים לפטריות, שהחלה לפני כ-100 מיליון שנים (Jordal, 2015), ותת משפחת חיפושיות הקליפה Scolytinae שכ-30% מבין 6,000 המינים שבה הם חיפושיות אמברוזיה. בניגוד לחיפושיות הקליפה "האמתיות" המתפתחות בסות (הקורטקס) של העץ, חיפושיות האמברוזיה נברות את מחילותיהן בעומק עצי הירך. במסגרת זו נפנה מבט בעיקר לחיפושיות האמברוזיה מה-Scolytinae. גידול הפטריות במשפחה זו החל לפני כ-50 מיליון שנה, תת המשפחה עצמה הופיעה כבר לפני 100-120 מיליון שנה (Jordal and Cognato, 2012). גופי הפרי של הפטריות והנבגים יוצרים בתוך המחילות בעצה בית גידול מתאים לחיפושיות ומקור מזון עשיר בפחמימות וחלבונים (Lundgren, 2009). הקבוצה המתקדמת ביותר בגידול הפטריות מאגדת את המינים בשבט המונופילקטי Xyleborini (monophyletic tribe) הכולל כ-1,200 מינים שרובם הגדול מקורו ביערות הטרופיים בחצי הכדור הדרומי (Farrell et al., 2001; Jordal, 2002).

בית הגידול העיקרי של חיפושיות האמברוזיה הם עצים חולים, חלשים מאד או כאלה שנכרתו (Francke-Grosmann, 1967). יחד עם זאת, הפטריות שהחיפושיות מגדלות מתקשות להתחרות עם הפטריות הבסיסה הטיפוסיות (Basidiomycetes) שמאכלסות ומפרקות את העצים החלשים והמתים. פטריות הבסיסה למעשה מקצרות את חלון הזמן בו חיפושיות האמברוזיה יכולות להתרבות בבתי הגידול האלה לכדי דור אחד או לעיתים שניים (Frankland, 1998). בשל כך, רוב חיפושיות האמברוזיה נוטות לאכלס עצים שנפגעו לא מכבר, אם כי ישנם מינים שיכולים להתחרות עם מיני ה-Basidiomycetes ואחרים המסוגלים לתקוף עצים חיים, (Hulcr and Stelinski, 2017), אלה האחרונים הם מיעוט קטן (Grousset et al., 2020) והפכו למזיקים על רקע פעילות של האדם. מערכת הרבייה של מיני השבט Xyleborini היא ארנוטוקיה המכונה Haplo-diploidy, כלומר נקבות שאינן מופרות מטילות ביצים מהן יתפתחו זכרים בלבד. רוב האוכלוסייה הן נקבות. הזכרים חסרי כושר תעופה. הנקבות מזדווגות בעיקר עם אחיהן במערכת הגלריות עוד לפני שהן מגיחות מהעץ בו הן התפתחו. הנקבות עוזבות את העץ מופרות, ולכן הצורך בפרומון מין לתקשורת ארוכת טווח בין הזוויגים אינה נדרשת. ההצלחה האקולוגית של חיפושיות האמברוזיה קשורה ליכולתן לנצל את העצה כמצע, בשל מערכת המין האופיינית, ובעיקר על רקע יכולת הפטריות שהן נושאות להתפתח במספר גדול של מיני עצים מקבוצות שונות (Rabaglia et al., 2006). אימוץ הפטריות כמזון בלעדי וההתמחות במינים מסוימים הביא לשגשוג של מינים בשבט Xyleborini. עם זאת, השגשוג התרחש בבתי הגידול הטרופיים המאופיינים בלחות וטמפרטורה גבוהים (Jordal et al., 2000). המעבר להתפתחות על פטריות התרחש באופן נפרד מספר פעמים בקבוצות חיפושיות קליפה שונות, ובעיקר על עצים רחבי עלים (Farrell et al., 2001). יש שונות מורפולוגית מעטה בין הבוגרים של מינים קרובים, ולעיתים רק שימוש בכלים מולקולאריים מאפשר להבחין ביניהם.

מי הן הפטריות הסימביוטיות שנישאות על ידי חיפושיות האמברוזיה

חיפושיות האמברוזיה נושאות בדרך כלל מיני פטריות אל מיניים (anamorphic species) בעיקר מהסוגים *Ambrosiella* ו-*Raffaelea*, אך גם *Leptographium*, *Ophiostoma*, ו-*Fusarium* (Six 2012), שה"כ מוכרים 16 תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 338

קווי התפתחות אבולוציוניים נפרדים של גידול פטריות ע"י חיפושיות אמברוזיה (O'Donnell et al., 2015; Aoki et al., 2019). הפטריות הסימביוטיות של רוב חיפושיות האמברוזיה אינן מסוגלות לפרק ליגנין, ולכן צורכות פחמימות פחות קשות-פירוק המאפיינות עצים במצב חולשה (Licht and Biedermann, 2012). בשונה מהפטריות המשמשות נמלים גוזרות עלים או טרמיטים, הגיוון בין מיני הפטריות הסימביוטיות של חיפושיות אמברוזיה הוא גדול מאד ושונה מאלה שהנמלים או הטרמיטים נושאים (Huang et al., 2019). עצת העץ הפונדקאי מאולחת בפטריות הסימביוטיות ע"י החיפושיות. אברי הנשיאה של הפטריות בגוף החיפושית מכונים המיקנגיה mycangia (ביחיד מיקגניום) מצויים בקבוצות שונות של חיפושיות אמברוזיה על אברים שונים, כמו מעל המנדיבולות בראש החיפושית, בפרק השני של החזה, או בכנפי החפייה. הנקבה נושאת במיקנגיום מספר מיני פטריות, הממשיכות להתפתח בתוכן תוך כשהן צורכות חומצות אמינו חופשיות שמספקת החיפושית (French and Roeper, 1973). בבוגרים הצעירים לאחר הגיחה מהגולם המיקנגיום ריק ושטוח, בנקבות הבוגרות בזמן ההתפזרות ותקיפת עצים חדשים המיקנגיום מנופח ומלא בפטריות, במהלך נבירת המחילות בעצה הנקבה משחררת את הפטריות והמיקנגיום הופך ריק ושטוח (Li et al., 2019). מעגל התפתחות של הפטריות הסימביוטיות כולל שתי פאזות, הפאזה הסימביוטית symbiotic phase כאשר הפטרייה תחת השליטה של החיפושית, ופאזת ההתפתחות בעצה aposymbiotic phase המתקיימת במינים רבים גם ללא נוכחות החיפושית.

תקיפת עצים ע"י חיפושיות אמברוזיה והפגיעה בעץ הפונדקאי

ההופעה של חיפושיות אמברוזיה מחוללי מחלות בעצים חיוניים היא חדשה ומפתיעה. המעבר של חלק מהמינים מבית גידולם הטבעי לבתי גידול חדשים מהווה סכנה ואתגר ממשקי לא פשוטים. במפגשים חדשים אלה בין חיפושית האמברוזיה לעץ, מדובר במין חיפושית הנחשב תמים או בלתי מזיק בבית גידולו הטבעי אשר נושא מין פטרייה שאף הוא מאופיין באופן כזה. מיני חיפושיות האמברוזיה הפולשים, בעיקר מהשבט Xyleborini, תוקפים בהצלחה עצים בריאים, או לכאורה בריאים, בבתי הגידול החדשים שלהם, עצי נוי, מטע ויער, ואינם מוכרים כאלימים בבתי הגידול הטבעיים שלהם. המפגשים החדשים הם לעיתים אלימים מאד והתוצאה היא תחלואה קשה ותמותה של העץ. בעשרים השנים האחרונות מספר המקרים של מפגשים אלימים שמחוללים מיני חיפושיות אמברוזיה הולך וגדל (Ploetz et al., 2013). עצים חיים המאכלסים ע"י חיפושיות אמברוזיה הם בד"כ כאלה הגדלים בתנאי עקה, כמו כשל מערכת השורשים בשל פגיעה מכאנית, הצפה, או מחסור במים, אך גם עצים שנטעו בבתי גידול שאינם מתאימים, שבירות, בעיות התאמה של כנה רוכב, ולעיתים נזקי פתוגנים, בעיקר במערכת השורשים או פגיעה ע"י מזיקים ראשוניים (Ranger et al., 2010). כך לדוגמה הפטרייה הסימביוטית *Raffaelea lauricola* הנישאת ע"י החיפושית *Xyleborus glabratus*, שבת גידולה הטבעיים הם במזרח אסיה, גורמת לתמותה מהירה של מיני עצים ממשפחת העריים (Lauraceae) בצפון אמריקה, בעיקר מיני הסוג *Persea*, אך עץ הקמפור בן אותה המשפחה, שבית גידול הטבעי מצוי המרחב התפוצה הטבעי של החיפושית, עמיד לפטרייה (Fraedrich et al., 2014). חיפושית האמברוזיה מהמין *Euwallacea perbrevis* היא מין מקומי בסרילנקה, וגורמת לנזקים קשים למטעי התה במקום, צמח התה הוא אינו מקומי שם, והפונדקאים המקוריים של החיפושית מבין הצמחייה הטבעית בסרילנקה אינם מוכרים (Walgama, 2012). דוגמא אחרת היא החיפושית *Megaplatypus mutates* (השייכת לתת משפחת חיפושיות האמברוזיה), בית גידולה הטבעי היא דרום אמריקה, והיא תוקפת בעוצמה רבה עצי קזוארינה (שמוצאה באוסטרליה) הנטועים בצ'ילי, או עצי צפצפה באיטליה (Alfaro et al., 2007). Hulcr and Dunn (2011) הציעו שלושה תנאים שבעקבותיהם תתרחש תקיפה של עצים ע"י מיני חיפושיות אמברוזיה פולשים: (א) פלישה לאזור חדש, (ב) היעדר היכולת להבחין

בין הנדיפים של עץ בריא לעץ פגוע במיני עצים שאינם מוכרים לחיפושית, ו- (ג) יכולת של הפטרייה הסימביוטית להתגבר על עמידות העץ המותקף או לגרום להפעלה נרחבת של תגובת רגישות יתר (suicidal over-reaction hypersensitivity).

חיפושיות אמברוזיה בישראל

בישראל מוכרים 38 מינים מתת משפחת חיפושיות הקליפה Scolytinae, מתוכם 7 מיני חיפושיות אמברוזיה, ובנוסף, שלושה מינים מתת משפחת חיפושיות האמברוזיה Platypodinae. מבין עשרה מיני חיפושיות האמברוזיה בישראל (טבלה 1) משתי תת המשפחות לפחות שמונה (ואולי כולם) הם מינים פולשים, בעוד שמבין 32 מיני ה- Scolytinae שאינם חיפושיות אמברוזיה, רק מין אחד הוא פולש. המין הראשון מבין ה- Platypodinae, *T. solidus*, התגלה לראשונה בישראל ב- 1973 בתל אביב (Halperin, 1976a), והראשון מבין ה- Scolytinae, *X. saxeseni*, נמצא כאן עוד בשנות ה-30 של המאה ה-20 (Bodenheimer, 1937). יש להניח שגם המינים הנדירים מקבוצה זו התאקלמו בישראל. כך לדוגמה המינים *X. monographus*, *X. saxesenii*, ו- *X. crassiusculus* נלכדו בשמורת אלון תבור (חורשת הארבעים) (Buse et al., 2013)..

טבלה 1. מיני חיפושיות האמברוזיה המוכרים בישראל והפטריות הסימביוטיות המלוות אותן.

שכיחות ונזק בישראל	מוצא ופונדקאים	פטריות סימביוטיות עיקריות	מין החיפושית	תת משפחה
נדיר, ללא נזק	תת סהרה, מקומי? רחבי עלים	לא מוכרות	<i>Euplatypus hintzi</i> *	Platypodinae
נדיר, ללא נזק	דרום אמריקה, רחבי עלים	<i>Raffaelea</i> sp.	<i>Euplatypus parallelus</i>	
מזיק לאלביציה צהובה, לא שכיח	מזרח אסיה, רחבי עלים	לא מוכרות	<i>Treptoplatypus solidus</i>	
נזק קשה: אבוקדו (בעיקר האס), דולב, מיני אלון אקזוטיים, אדר מילני, ועוד	מזרח אסיה, רחבי עלים	<i>Fusarium euwallaceae</i> <i>Graphium euwallaceae</i> <i>Paracremonium pembeum</i>	<i>Euwallacea fornicatus</i>	Scolytinae
נזק קל, חרוב	ככל הנראה דרום מזרח אסיה, רחבי עלים	לא מוכרות	<i>Euwallacea denticulus</i>	
נדיר, ללא נזק	מרכז אירופה וצפון אמריקה, מיני משפחת האורניים	<i>Phialophoropsis ferruginea</i>	<i>Trypodendron lineatum</i>	
נדיר, ללא נזק	אזור הממוזג בחצי הכדור הצפוני, רחבי עלים ועצי מחט	<i>Ambrosiella sulphurea</i> <i>Fusicolla acetilerea</i>	<i>Xyleborinus saxeseni</i>	
נדיר, ללא נזק	האזורים הטרופיים של יבשת נדיר, ללא נזק אמריקה, רחבי עלים	<i>Raffaelea</i> sp. <i>Ambrosiella</i> sp.	<i>Xyleborus affinis</i>	
נדיר, ללא נזק	ככל הנראה מערב אירופה ואזור הים התיכון	<i>Raffaelea montetyi</i>	<i>Xyleborus monographus</i>	
נדיר, ללא נזק	דרום מזרח אסיה, רחבי עלים	<i>Ambrosiella roeperi</i>	<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	

* לא ברור אם המוצא של הסוג הוא אפריקה או דרום אמריקה (Jordal, 2015).

תשעה מהמינים לא גורמים לנזק של ממש, וסביר שאכלוס עצים חיים היא תוצאה של חולשה מוקדמת של העץ ולא האכלוס הוא הגורם להתדרדרות במצבו של העץ. מיני עצים מסוימים רגישותם רבה יותר למין זה או אחר, המתבטא במשיכה חזקה למין עץ מסוים ורגישות לפטריות הסימביוטיות שהוא נושא. כמו האינטראקציה בין *T. solidus* למיני אלביציה *Albizia* spp. או *Euwallacea denticulus* הפוגע לעיתים בעצי חרוב. פגיעה קשה מחולל המין *Euwallacea fornicatus* שאודותיו יורחב בהמשך.

חיפושית האמברוזיה של האבוקדו והפטריות הסימביוטיות שהיא נושאת

כעשרה מיני חיפושיות אמברוזיה נחשבים למינים בעלי חשיבות כלכלית רבה ברחבי העולם, מבניהם שלושה מינים מהסוג *Euwallacea*, חיפושית האמברוזיה של התה (*E. perbrevis*) (Tea shot hole borer), חיפושית האמברוזיה של אזור זרם הקורושיו (אזור צפון האוקיאנוס השקט) *E. Kuroshio* (Kuroshio shot hole borer) וחיפושית האמברוזיה של האבוקדו *E. fornicatus* (Polyphagous shot hole borer). כל השלושה הם מזיקים לעצים באזורי הפלישה שלהם או למיני עצים אקזוטיים שנטעו בבית גידולם הטבעי. כל השלושה, כמיני חיפושיות אמברוזיה רבים אחרים, תוקפים מספר רב של מיני עצים, יש חפיפה רבה ברשימות הפונדקאים של כל אחד מהם. חשוב לציין שעד לשנת 2016 כל שלושת המינים עדיין כונו בספרות המקצועית *Euwallacia fornicatus* או *Euwallacia near fornicatus* (Smith et al., 2019). הקושי להבחין בין שלושת המינים על פי מאפיינים מורפולוגיים נותר זמן רב, גם לאחר שהתבררו ההבדלים הברורים ביניהם באמצעות מאפיינים מולקולריים והעובדה שכל אחד מהם נושא מיני פטריות סימביוטיות נפרדים. הסוג *Euwallacea* כולל כ-56 מינים (Alonso-Zarazaga and Lyal, 2009); והם מיני חיפושיות האמברוזיה המגדלות מיני הסוג פוזריום (Nectriaceae; *Fusarium*; Hypocreales) כפטריות סימביוטיות, מינים אלה מהווים קבוצה מונופילקטית אחת המוגדרת כ- *Ambrosia Fusarium Clade* (AFC) בקומפלקס המינים של *Fusarium solani*. ובנוסף, פטריות סימביוטיות אלה הן יוצאות דופן בכך שהן חלק מקבוצה של פטריות פתוגניות המחוללות נזקים בבית גידול טבעיים ומערכות חקלאיות (Kasson et al. 2013).

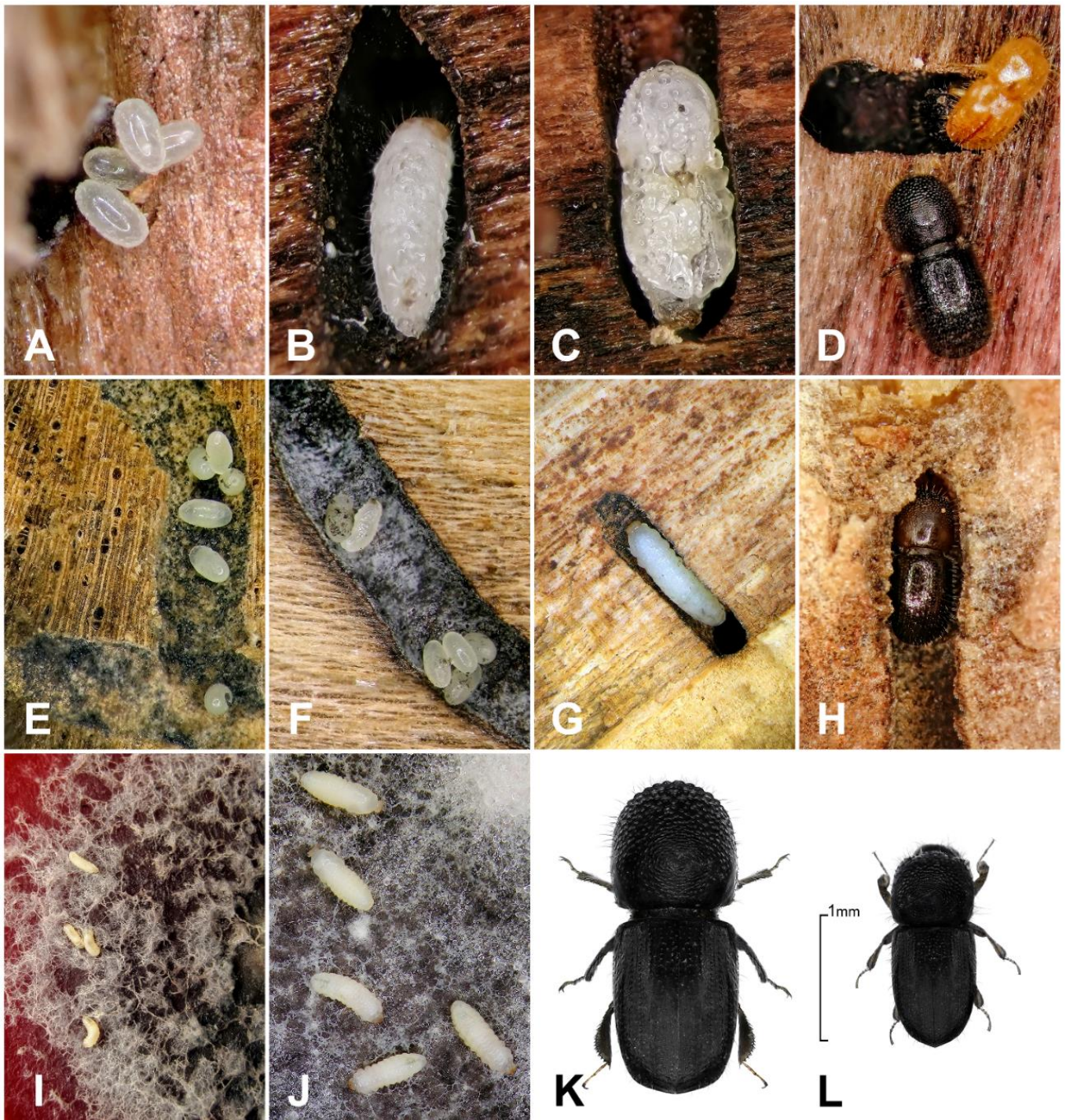
הגילוי הראשון של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו *Euwallacia fornicatus* היה בישראל ב-2009 בעצי אבוקדו בקיבוץ גליל ים, אך ללא ספק החיפושית התבססה בישראל כמה שנים מוקדם יותר. בארה"ב התגלתה החיפושית בקליפורניה ב-2012, בעקבות הדיווחים מישראל, וגם שם הסתבר שהחיפושית הייתה במדינה לפחות עשור קודם (Eskalen et al. 2012). בדרום אפריקה התגלה הפגע ב-2016 (Paap et al. 2018). מאוחר יותר נמצא שמרחב התפוצה הטבעי של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו כולל את המרחב של צפון תאילנד, וייטנאם, סין וטאיוואן, ואזור אוקיאנווה (Stouthamer et al., 2017). החיפושית נושאת ומגדלת במערכת הגלריות שלושה מיני פטריות סימביוטיות, *Fusarium euwallaceae*, *Graphium euwallaceae* ו-*Paracremonium pembeum* (Freeman et al., 2013; Freeman et al., 2016; Lynch et al., 2016).

היבטים בביולוגיה והפעילות העונתית של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו

הזכרים מהווים 15-20% מאוכלוסיית הבוגרים, הם חסרי כנפיים ונותרים בד"כ בתוך מערכת המחילות שם הם מזדווגים. הנקבות מעופפות אל עץ הפונדקאי אליו הן נמשכות וחודרות דרך קליפה חיה לאזור העצה. החדירה עשויה להתרחש בכל חלקי הגזע וענפים מקטרים שונים, בהתאמה למין הפונדקאי. ההטלה מתחילה בשבוע השני לחדירה. הנקבה מטילה בממוצע ביצה אחת ליום וההטלה נמשכת כ-10 ימים, אך בתנאים מיטביים היא מתארכת לחודש.

תובנות חדשות במחלות צמחים, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) 341

משך תקופת הדגירה של הביצה הוא כ- 7 ימים. התפתחות שלוש דרגות זחל נמשכת 18-30 ימים בהתאמה לטמפרטורה. התפתחות הגולם נמשכת 7-9 ימים. הנקבה נמצאת קרוב לצאצאיה במהלך התפתחותם. על פי תצפיות במעבדה משך ההתפתחות ב-25 מ"צ נמשך כ- 60 ימים. תמונה 1 מציגה את דרגות ההתפתחות של החיפושית.



תמונה 1. דרגות ההתפתחות של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו. A-D אבוקדו. A-ביצים לאחר חשיפה של הגלריה, B-זחל, C-גולם, D-בוגרת בשלה, ולמעלה זכר צעיר טרם התקשות הקוטיקולה, E-H עצת קיקיון, E-ביצים בגלריה, F-צבר ביצים וזחל לאחר הבקיעה המלחך את הפטרייה הגדלה על דופן הגלריה, G-זחל בגלריה, H-נקבה בוגרת נוברת את הגלריה. I-J זחלים מלחכים את תפטיר הפוזריום הסימביוטי הגדל על מצע מזון PDA בצלחת פטרי, K-נקבה בוגרת בשלה, L-זכר בשל.

החיפושית מקימה שלושה דורות בשנה במטע האבוקדו, שלושה גלי תעופה חופפים ששיאם באפריל, יוני וספטמבר-אוקטובר. לאחר שהגיוח, הנקבות בוחרות את העצים לתקיפה לפי מגוון נדיפים של העץ שאמור להצביע על התאמת העץ להתפתחות הפטריות שהן נושאות. גם האינטראקציה בין הפטרייה הסימביוטית לעץ הפונדקאי גורמת לשחרור נדיפים המושכים את החיפושית (Hulcr et al., 2011). בדומה למיני חיפושיות אמברוזיה אחרים בבתי הגידול החדשים, גם חיפושית האמברוזיה של האבוקדו נמשכת ותוקפת מיני עצים שכלל לא יתאימו להתפתחותן (ראו סעיף 11).

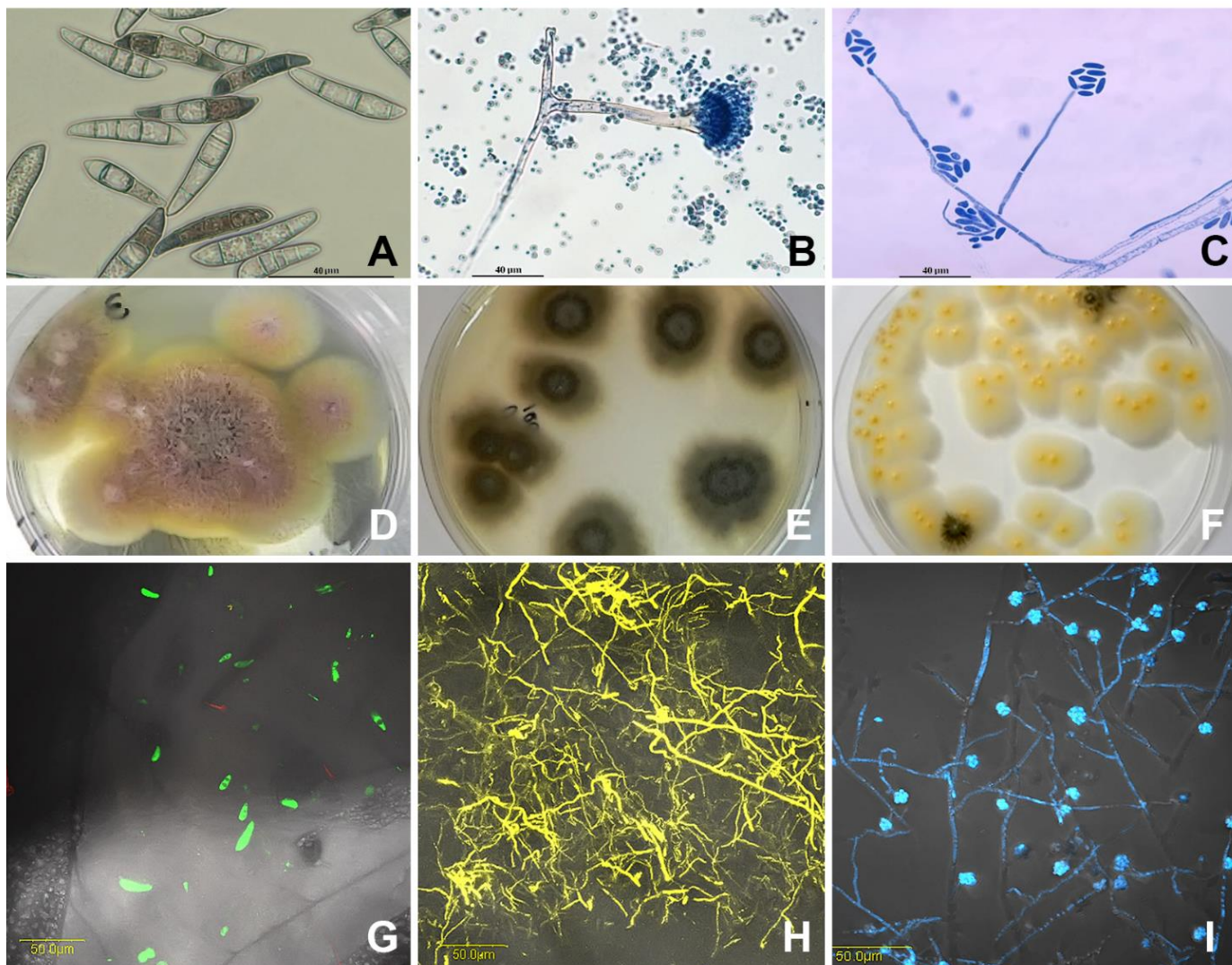
אתנול מהווה קירומון למיני חיפושיות אמברוזיה רבים אחרים (Ranger et al., 2018). אתנול נמצא ברקמות בריאות של העץ, אך חולשה או מחלה מעלה את ריכוזו באופן דרמטי (Kimmerer and Kozlowski, 1982; MacDonald and Kimmerer, 1991). עם זאת נראה שאין המשיכה הראשונית של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו לאתנול, מצב המאפיין מיני חיפושיות אמברוזיה אחרים התוקפים עצים חיים (Rabaglia et al., 2019). אין כל ספק שחיפושית האמברוזיה של האבוקדו קוטלת בבתי הגידול החדשים שלה עצים חיים (Mendel et al., 2019; Paap et al., 2018; Coleman et al., 2019). עם זאת, ההגדרה "עץ בריא" אינה פשוטה ונתונה למחלוקת בספרות המקצועית, בעיקר בשל העובדה שעצים הנראים לכאורה בריאים נחשפו קודם לגורם עקה (Grousset et al., 2020). Keler (1956) טבע את המונחים 'חרקים ראשוניים' ו'חרקים משניים', וקבע שחרקים ראשוניים הם "those which prefer completely healthy plants in full vigor". בעקבותיו Rudinsky (1962) הציע שחיפושיות קליפה ואמברוזיה הם בעיקרם מזיקים משניים. אחרים בעקבותיו הבחינו בין מינים ראשוניים ומשניים גם ממקרב שתי קבוצות אלה (Kuhnholz et al., 2001; Coleman et al., 2019). אין ספק שחיפושית האמברוזיה של האבוקדו נכללת בשתי הקבוצות, הנימוקים מופעים בתת הפרקים הבאים.

הפטריות הסימביוטיות של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו

חיפושית האמברוזיה של האבוקדו נושאת כאמור שלושה מיני פטריות סימביוטיות, *Fusarium euwallaceae*, *Graphium euwallaceae* ו-*Paracemonium pembeum*, המכונים כאן פוזריום, גרפיום ו- אקרמוניום, בהתאמה. תמונה 2 מציגה התפטיר והנבגים של כל אחד משלושת מיני הפטריות המתפתחים בצלחות פטרי. כולם הם מינים חדשים למדע. כמות הפוזריום בחיפושיות הבשלות לגיחה (הניכרות בקוטיקולה כהה כמעט שחורה בהשוואה לצבע חום-כתום של הבוגרות הצעירות) לפני הגיחה גדולה בין פי 10 עד 100 מזו שבאלה הצעירות (Freeman et al., 2019). הבוגרת המגיחה נושאת במיקנגיה כמות זעירה של שני מיני הפטריות האחרות. בזמן החדירה לעצה הנקבה מאלחת את הגלריה בעיקר בפוזריום. הפוזריום אינו מתפשט מעבר ל 2-3 ס"מ מדופן הגלריה, במקרים נדירים הוא נמצא במרחק של 10 ס"מ.

פטריית הפוזריום משרתת ארבע מטרות עיקריות: (1) החלשה של עמידות הרקמה כדי לפעול בתוך העץ החי, כלומר פטרייה זו היא למעשה הפתוגן במערכת, ותפקידה הראשוני במהלך החדירה של החיפושית הוא 'להתעמת' עם הרקמה הבריאה, (2) הפוזריום מהווה את מקור המזון הראשון של החיפושית (החיפושית אינה ניזונה מהעץ עצמו) ואת המזון הראשון של הזחלים הצעירים, (3) והוא זה המאפשר את השגשוג של שני מיני הפטריות האחרים על רקמת העצה שנחלשה או המתה. מעניין לציין שכל שלושת מיני הפטריות מתפתחים יחד בהצלחה על מצע מלאכותי ללא עיכוב או הפרעה ביניהם, (4) הפוזריום ככל הנראה משרה את יצירת הנדיפים הטיפוסיים המעצימים את המשיכה של הנקבות לעץ המותקף. הגרפיום מהווה את המזון העיקרי של הזחלים והבוגרים הצעירים, יתכן שללא הכנת רקמת העצה המאוכלסת ע"י הפוזריום יימנע שגשוג הגרפיום בגלריות ותימנע בשל כך התפתחות הזחלים. תפקידה של

האקרמוניום אינו ברור. במחקר של המחברים נמצא שזחלי החיפושית משלימים את התפתחותם על המצע המלאכותי עליו גדלים הפוזריום או הגרפיום, אך לא על אקרמוניום. כל שלושת מיני הפטריות בודדו מענפי אבוקדו, קיקיון, אדר מילני ואלון ארך עוקצים.



תמונה 2. נבגים ותפטירים של שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות. A) *Fusarium euwallaceae* – נבגים, D- מושבות, G- נבגים זוהרים); *Graphium euwallaceae* (B- נבגים, E- מושבות, H- תפטיר ונבגים זוהרים); *Paracremonium pembium* (C- נבגים, F- מושבות, I- תפטיר ונבגים זוהרים).

בחנו את פאזת ההתפתחות בעצה (Aposymbiotic phase) של שלושת מיני הפטריות בעצי אבוקדו מהזנים האס ואטינגר, באלון ארך עוקצים וקיקיון, וזאת בשלושה אופנים: (1) בענפים חיים בהם האכלוס נכשל, כלומר התבצע ניסיון חדירה של החיפושית אך לא התקיימה הרבייה עצמה, (2) ענפים חיים לתוכם הזרקנו את הפטריות, כל אחד ממיני הפטריות בענפים נפרדים, (3) השוואה של נוכחות שלושת מיני הפטריות בענפים כחודש לאחר האכלוס המוצלח (נוכחות זחלים) מול ענפים יבשים שהגיחה מהם הסתיימה 6-12 חודשים קודם לכן (Freeman et al. 2019). (1) פטריית הפוזריום בודדה בכל דגימות העצה כבר ימים אחדים לאחר החדירה ובמהלך שנה שלמה לאחר החדירה הכושלת של החיפושית (הבדיקות לא התארכו מעבר לשנה). הגרפיום והאקרמוניום לא התגלו בימים הראשונים

לאחר ניסיון החדירה הכושל, אבל התגלו 3-7 שבועות ו 1-4 שבועות, לאחר מכן, בהתאמה. בהמשך הדגימות שנמשכו שנה שני המינים האלה לא התגלו יותר.

(2) אילוח הפטריות באופן מלאכותי לענפי הזנים האס ואטינגר, הראתה שבחודשים הראשונים לאחר ההזרקה לא ניכרים הבדלים גדולים בתגובת הפרשת הסוכר הטיפוסית (ראו תת פרק 10) מהכיבים שנוצרו בעקבות אילוח שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות (ושני יישומי ביקורת שכללו, אילוח הפוזריום *Fusarium mangiferae* המחולל את מחלת עיוות התפרחות במנגו, והזרקת מים). בחלוף הזמן, ניכר שבכיבים שנוצרו בעקבות אילוח הפוזריום הסימביוטי נמשכה פעילות ניכרת של הפרשת הסוכר יותר מאשר הכיבים האחרים. מצב זה היה זהה בשני זני האבוקדו שנבחנו. ניכר ששני מיני הפוזריום שאולחו שורדים ברקמה החיה של ענפי האבוקדו ללא קושי, והם בודדו כמעט בכל הדגימות לאורך כל תקופת התצפיות שנמשכה כ- 25 חודשים. שני מיני הפטריות הסימביוטיות האחרים, הגרפיום והאקרמוניום למעשה נעלמים חודשיים לאחר האילוח, אם כי האקרמוניום נותר בחלק קטן מהדגימות תקופות ארוכות, אך בכמויות זעירות. תמונה דומה התקבלה גם באילוח באמצעות הזרקה לענפי אלון ארך עוקצים ולגזעי קיקיון. על פי רוב, שני מיני הפוזריום שרדו היטב ברקמה המאולחנת, ואילו הגרפיום שרד כחודשיים בלבד. גם במקרה זה נראה שהאקרמוניום שרד תקופה ארוכה, אם כי במידה פחותה לעין שיעור מזו של שני מיני הפוזריום. (3) בענפים יבשים שהגיחה מהם הסתיימה 6-12 חודשים קודם לכן, רק בדגימות בודדות התגלה הפוזריום ובכמויות זעירות, ואילו הגרפיום והאקרמוניום התגלו ברוב הדגימות ובכמות ניכרת.

לפיכך, המסקנה היא שהפוזריום הסימביוטי הוא למעשה הפתוגן במערכת, ותפקידו 'להתעמת' עם הרקמה הבריאה, פטרייה זו מצליחה לשרוד בעצת אבוקדו ובעצת מיני העצים האחרים שנבדקו. הגרפיום, שהיא המזון העיקרי של הזחלים והבוגרים הצעירים. לאחר הגיחה והתייבשות הענף, נרשמת דעיכה של הפוזריום שכלל הנראה אינה שורדת היטב ברקמה המתה, לעומת מיני הפטריות הסימביוטיות האחרות המצליחות ככל הנראה לשרוד היטב על רקמה שהוחלשה ומתה גם לאחר גיחת החיפושיות. להישרדות זו יש ככל הנראה השלכה גם על תופעה אחרת חשובה והיא מעבר של חיפושיות האמברוזיה על מוצרי עץ בין מדינות והפצתן באזורים חדשים כמינים פולשים. כלומר, יתכן שיכולתן של הגרפיום והאקרמוניום לשרוד ברקמה המתה היא זו שמאפשרת לחיפושיות לשרוד מסע של משלוחי עצים מהמזרח הרחוק אל נמלי המערב, מסע שאורך שבועות רבים, ובסופו מגיעות החיפושיות ומתבססות בבתי הגידול החדשים. ההתאמה זו של גרפיום ואקרמוניום להתרבות ברקמה המתה מודגמת גם באמצעות יכולתן לגדול גם בטווח טמפרטורה של 35-40°C, בעוד שהפוזריום מפסיק להתפתח בטמפרטורה של 35°C (Freeman et al. 2019).

תסמיני הפגיעה והנזק הנגרמים ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו

תמונה 3 מציגה את התסמינים השונים המאפיינים את הפגיעה בעצי אבוקדו. מבין שורה של תסמינים שלושה הם המאפיינים העיקריים את פגע האמברוזיה באבוקדו. הבולט ביותר היא פריצה סוכרים (7-carbon sugars), הפרשה הנראית כקצף לבן שהתגבש וכוללת בעיקר mannose-7-epoxide ו-perseitol (Liu et al. 1999). הפרשת הסוכרים מופיעה 2-7 ימים לאחר החדירה הראשונית, ועוצמתה היא פועל יוצא של חיוניות הרקמה ובריאות העץ. בעצים חלשים, ובעיקר בענפים או בגזעים שנפגעו בעבר ע"י הפגע, ההתפרצות הסוכרית היא מעטה. התפרצות סוכרית ניכרת גם במקרה של פגיעה פיזית של ענפי האבוקדו (כמו חיגור). עם זאת, הכיב הנוצר כתוצאה מחדירת החיפושית הוא בעל צורה אופיינית. הפרשה עוצמתית של הסוכרים מעידה למעשה על מניעת האכלוס של החיפושית (תמונה 3B).

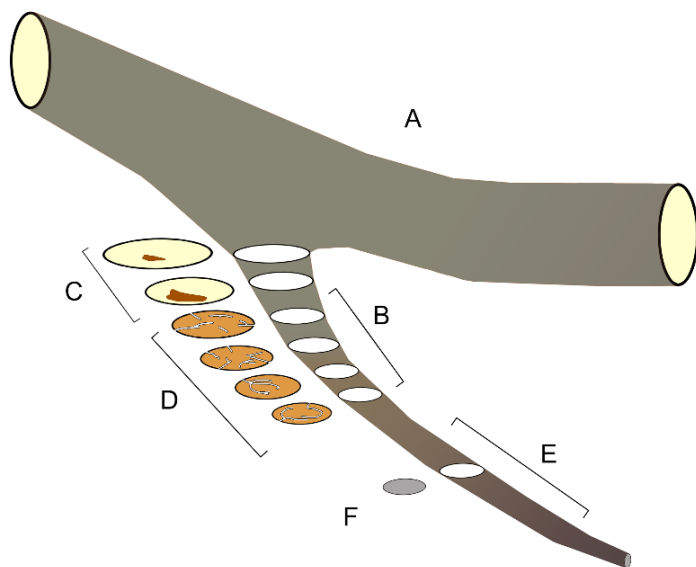


תמונה 3. תסמיני הפגיעה של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו בעצי אבוקדו. -A- אכלוס טיפוסי של החלק של הענף הסמוך לנקודת ההתפצלות, B- כיבים גדולים על ענפי אבוקדו המעידים על תגובת הגנה מוצלחת, C- כיבים קטנים המאפיינים חולשה של הרקמה והצלחת ההתבססות של החיפושית, D- תגובה אופיינית של הפרשה סוכרית זעירה בנקודות הגיחה של הבוגרים טרם התייבשות הענף, E- השוואה בין הפרשה סוכרית כתוצאה מחיגור (כיב ימני) וכיב טיפוסי הנגרם בעקבות חדירת החיפושית, F- חתך בבסיס ענף (זן פינקרטון) עם גלריות אופייניות של החיפושית, G- ענף שנשבר כתוצאה מחולשה פיזית שנגרה בעקבות נבירת הגלריות, H- אכלוס משני (כיבים קטנים) לצד אכלוס ראשוני (הכיב הגדול). I-K הכתמה המתפשטת לאורך סיבי העצה בענפי אבוקדו בהתאמה לכמות החדירות.

התסמין השני ניכר כשחושפים את העצה, ומאופיין בהכתמה של סיבי העצה בפסים בצבע חום- כתום, לעיתים מתמשכת למרחק של מטר ויותר ממקום החדירה של החיפושית. לעיתים חלק משטח העצה מוכתם, כשהנגיעות רבה, כל שטח העצה נצבע (תמונות 3I, 3J ו-3K). מיצוי של העצה המוכתמת הצביע על הימצאות שישה פלבנואידים בעיקר

quercetin, naringenin, epicatechin ו-taxifolin (Freeman et al., 2018). יש להניח שנוכחות הפלבנואידים קשורה לפעילות של הפוזריום, חומרים אלה מוכרים (בין השאר) במהלכי העיכוב של צמחים כנגד פתוגנים (Galeotti et al. 2008). החמה של העצה אופיינית גם לפגעים אחרים, אם כי זו המושרת ע"י פגע האמברוזיה נבדלת בכך שהסות (הקליפה החיה) נותר בריא. ההחמה של העצה היא תסמין קבוע גם בתקיפה מוצלחת של מיני עצים אחרים ע"י החיפושית.

התסמין השלישי המאפיין את הפגיעה באבוקדו הוא התייבשות הענפים, בעיקר הדקים ואלו שבגודל ביניים, ורק לעיתים נדירות הבלדים. התייבשות ענפים באבוקדו אינה אופיינית לפגע האמברוזיה לבדו. ענפים מתייבשים בשל שורה של גורמים, וביניהם גם מעורבות של פטריות הבוטריוספריה. ראוי לציין שהחיפושית אינה תוקפת ענפים הנגועים ע"י פטריות זרות (מבחינתה). השילוב של נבירת הגלריות והימצאות הפוזריום משבשת את מעבר המים ומחוללת את ההתייבשות הטיפוסית של תמותה לאחור. האכלוס האופייני של עץ האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה ניכר, על פי רוב, בבסיסי הענפים (איור 1, תמונה 3A, ו-3F). באבוקדו, החיפושית נוטה לתקוף ואף מצליחה יותר ליצור גלריות רבייה בענפים דקים יחסית. האכלוס בבסיס הענף מאפשר לפטריות ליהנות משטף חומרי הזנה ומים שמקורם בענף הראשי. התפתחות הגלריות והרחבת השטח בו מתפתחת פטריית הפוזריום גורמים ליצירת מחסום המשבש את זרימת המים לחלקי הענף הרחוקים, מעבר לאזור הגלריות. כתוצאה מכך מתייבשים חלקיו הרחוקים של הענף. תופעה זו ניכרת לעיתים גם בענפים עבים יחסית. אנו מעריכים שפגיעה בענפים עבים כרוכה בניסיונות התקפה חוזרים ונשנים או בחולשה מסוימת של הענף עצמו שאינו מסוגל עוד להגיב לניסיונות האכלוס של החיפושית (Mendel et al., 2017). תהליך האכלוס מתחיל במקרים רבים בהתקפות סרק של החיפושית, וכרוך ככל הנראה, באילוח של פוזריום בלבד, ללא משמעות רבה של שני מיני הפטריות הסימביוטיות האחרים. פרק הזמן שעובר משלב ההתקפה הראשון על הענף ועד גיחת הצאצאים הראשונה עשוי להימשך אף שנתיים כשנתיים. תיאור זה מדגיש את החשיבות של טיפול בכיבים וגיזום ענפים המראים סימני פגיעה אופייניים.



איור 1. סכמה של אכלוס ענף אבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה *Euwallacea fornicatus*. A. ענף בריא, B. קטע מאוכלס של ענף פגוע. C. חתכים בקטע החי של הענף, עם ההכתמה הטיפוסית. D. חתכים בקטע המאוכלס של הענף עם גלריות פעילות של החיפושית. E. קטע יבש שאינו מכלוס. F. חתך אופייני בקטע E.

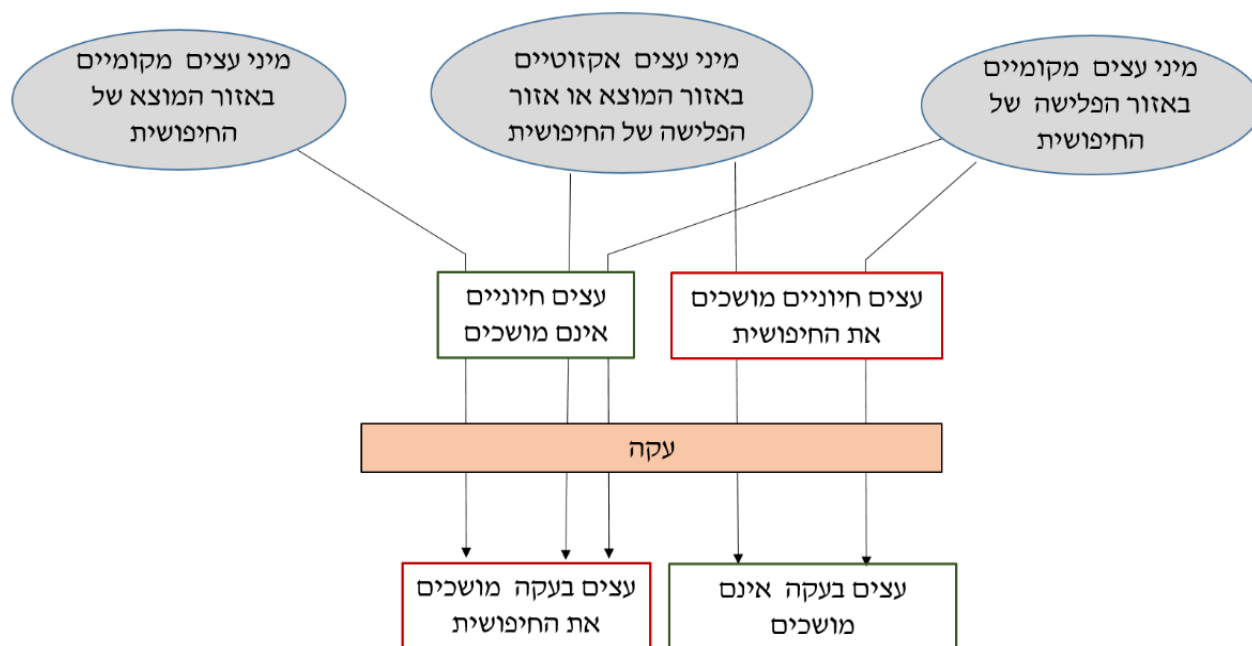
הפגיעה המכאנית שנגרמת ע"י נבירת החיפושית נדרשת, אך כשלעצמה אינה מספיקה לביטוי מלא של תגובת העץ ונדרשת עם המעורבות של הגורם הפתוגני (Maffei et al., 2007). התגובה של מיני עצים שונים להתקפה של החיפושית אופיינית לתגובת ההגנה הטיפוסית של העץ המוגברת בשל פעילות הפוזריום. לדוגמא, עצי אפרסמון מגיבים

בהפרשת גומי צמיג שחור, עצי דולב ואלון מגיבים בזיבה גומי נוזלית שקופה. גם דפוס האכלוס שונה במיני עצים שונים, כך בעצי אלון, דולב או אדר, התקפה והאכלוס המוצלח מתרכזים בגזע והבדים ולא בענפים הדקים כמו באבוקדו. גם במקרים אלה הכשל נגרם כתוצאה השיבוש מעבר המים בגזע והענפים. הנזק לעץ הוא כמותי, כלומר נדרשות חדירות מוצלחות רבות של החיפושית על מנת לערער את בריאותו את העץ או הענף המאוכלס.

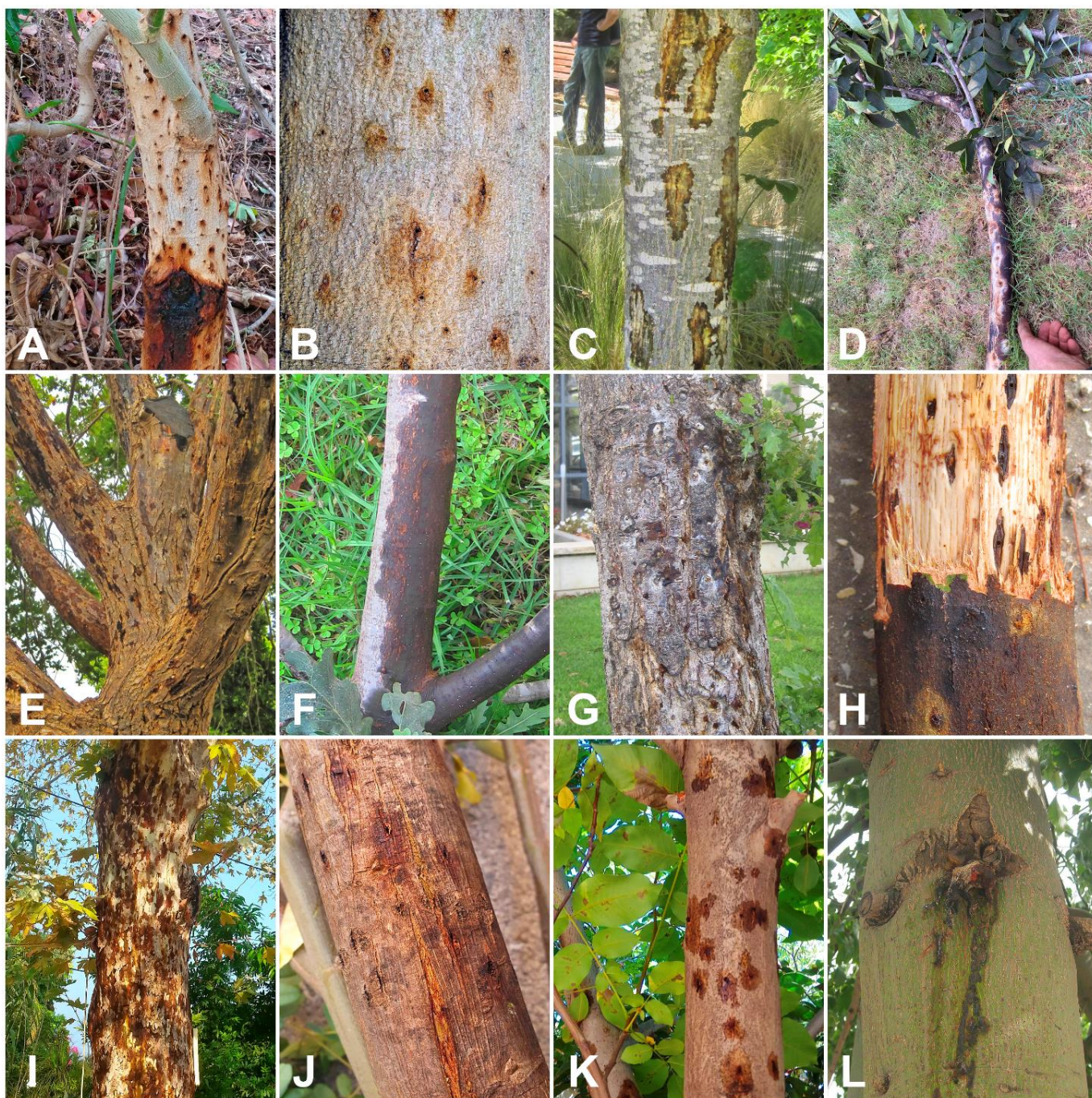
טווח הפונדקאים של חיפושיות האמברוזיה והגורמים המשפיעים

מינים רבים של חיפושיות אמברוזיה בשבט *Xyleborini* מאופיינים במספר גדול ומגוון של מיני עצים פונדקאים. בחינה של טווח העצים הפונדקאים של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו בישראל וקליפורניה מצביע על כך שבשני האזורים מינים מקומיים ואקזוטיים נתקפים. עם זאת בקליפורניה יותר מיני עצים מקומיים מומתים ע"י החיפושית בישראל המצב הוא הפוך (Mendel et al., 2021). עצים מסוגים אחדים הם רגישים במיוחד בשני האזורים (Mendel et al. 2021) אך כך גם בסין (Li et al., 2015) ובדרום אפריקה (Paap et al., 2018).

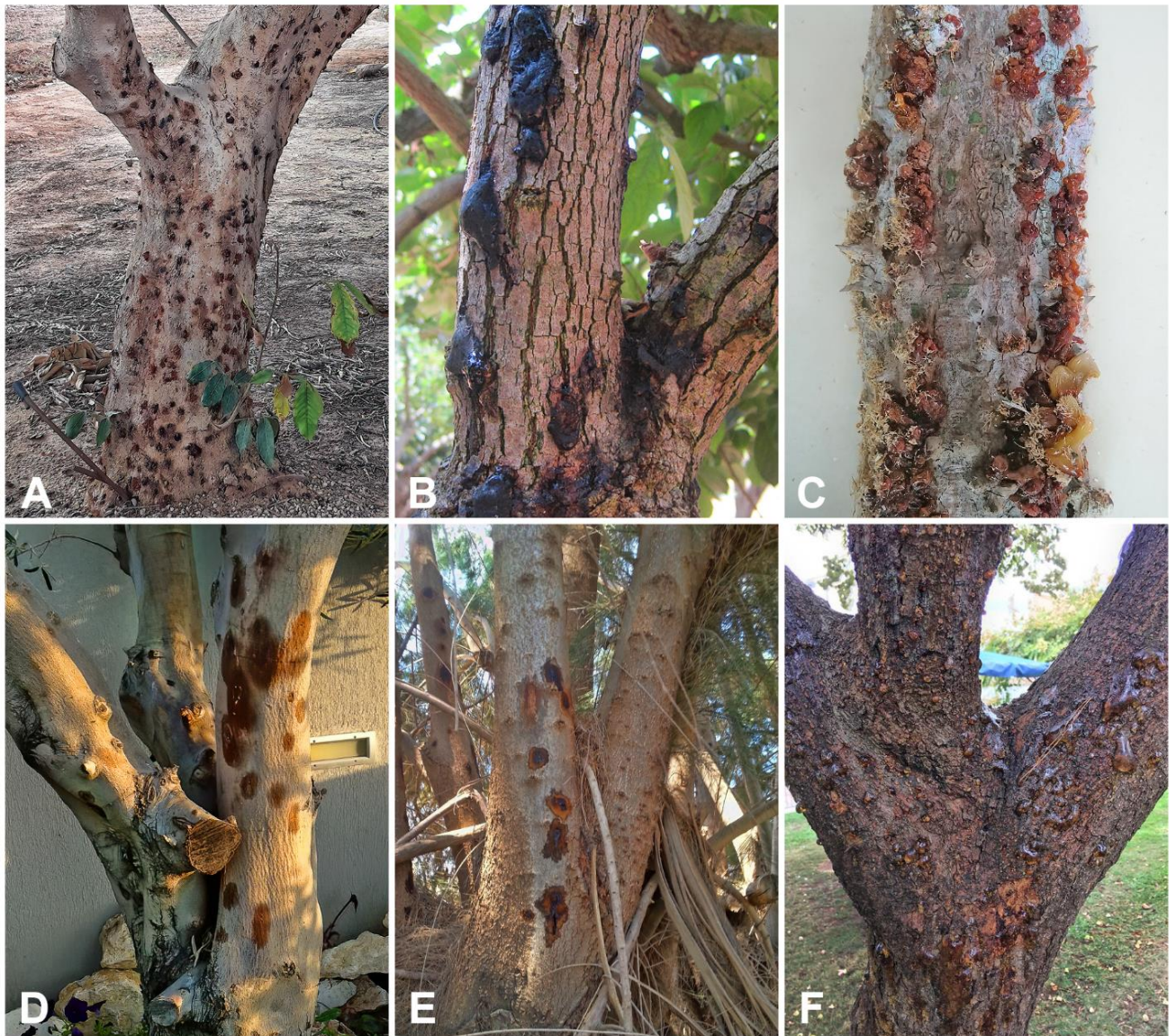
כמה מיני *Xyleborini* כמו חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, מגיבים לנדיפים שנוצרו כתוצאה מפעילות הפטריות הסימביוטיות (Hulcr et al., 2011) ולנדיפי עץ פונדקאי אחרים (Martini et al., 2017) (אך לא לאתנול, ראו תת פרק 8). בבתי הגידול החדשים אליהם פלשו חיפושיות האמברוזיה משיכה לנדיפי הצמח לעיתים מטעה וגורמת לחיפושיות לתקוף מיני עצים שאינם מתאימים לרביית החיפושיות (Kendra et al., 2011; Mendel et al., 2017). חיפושית האמברוזיה של האבוקדו נמשכת למינים עצים בריאים כשהם בריאים לחלוטין, כמו אבוקדו, קיקיון, או מיני אדר, בהם מתקיימת הרבייה, למיני עצים כמו אפרסמון, או כוריזיה שאינם מתאימים לרבייה. החיפושית נמשכת לעצים אחרים כשהם מצב של חולשה קשה, או לעצים שהותקפו לא מכבר ע"י החיפושית שהתקפות הקודמות כשלו. תמונה 4 מציגה את תסמיני התגובה החיצוניים של מיני עצים המתאימים לרביית החיפושית, ואילו תמונה 5 מציגה את סימני התגובה להתקפת החיפושית של מיני עצים שאינם מתאימים לרבייתה. איור 2 מציג מודל מתאר את האפשרויות השונות.



איור 2. מודל המתאר את דפוס המשיכה של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו לעצים פונדקאים בהתאמה לבית הגידול.



תמונה 4. תסמיני הפגיעה חיצונית של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו במינים שונים של עצים המתאימים לרביית החיפושית. A-קיקיון *Ricinus communis*, B- מבט מקרוב על כיבים בקיקיון, C – כתי "מים" אופייניים אדר מילני *Acer negundo*, D- כיבים טיפוסיים בפקאן *Carya illinoensis*, E - H אלון ארך עוקצים *Quercus pedunculifolia* - כיבים רבים על ענפים, F- סימני "מים" המעידים על אכלוס, G- תצורת קליפה בעץ שהתנוון כתוצאה מהאכלוס ע"י החיפושית, H- הסרת הסות וחשיפת הכיבים האופייניים, I- תגובה חריפה של דולב מזרחי *Platanus orientalis* כתוצאה מאכלוס צפוף של החיפושית, J – כיבים בענף של מכנף נאה, K- כיבים בגזע של אגוז מלך *Juglans regia*, L- תגובה כתוצאה של חדירת החיפושית בברכיכטון הסלעים *Brachychiton populneum*.



תמונה 5. תסמיני הפגיעה חיצונים של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו במינים שונים של עצים שאינם מתיימרים לרביית החיפושית. A -שעועית הגלידה *Inga edulis*, B -אפרסמון *Diospyros kaki*, C -כוריזה *Chorisia speciosa*, D -זית *Olea europaea*, E -קזוארינה *Casuarina glauca*, F - הפרשת גומי חזקה בפנסית *Koelreuteria bipinnata*.

טווח מיני העצים הפונדקאים של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו נבחן במקביל בישראל ובקליפורניה. הסקר כלל 602 מיני עצים ומינים רבים משותפים, רובם אקזוטיים. הוגדרו שלוש קטגוריות של עצים בהתאמה להתנהגות החיפושית:

מין עץ מתאים לרבייה: כאשר נמצאו דרגות התפתחות צעירות של החיפושית בגלריות והשלמת מחזור ההתפתחות. עצים מקבוצה זו היוו רק 13.9% מכלל מיני העצים נבחנו.

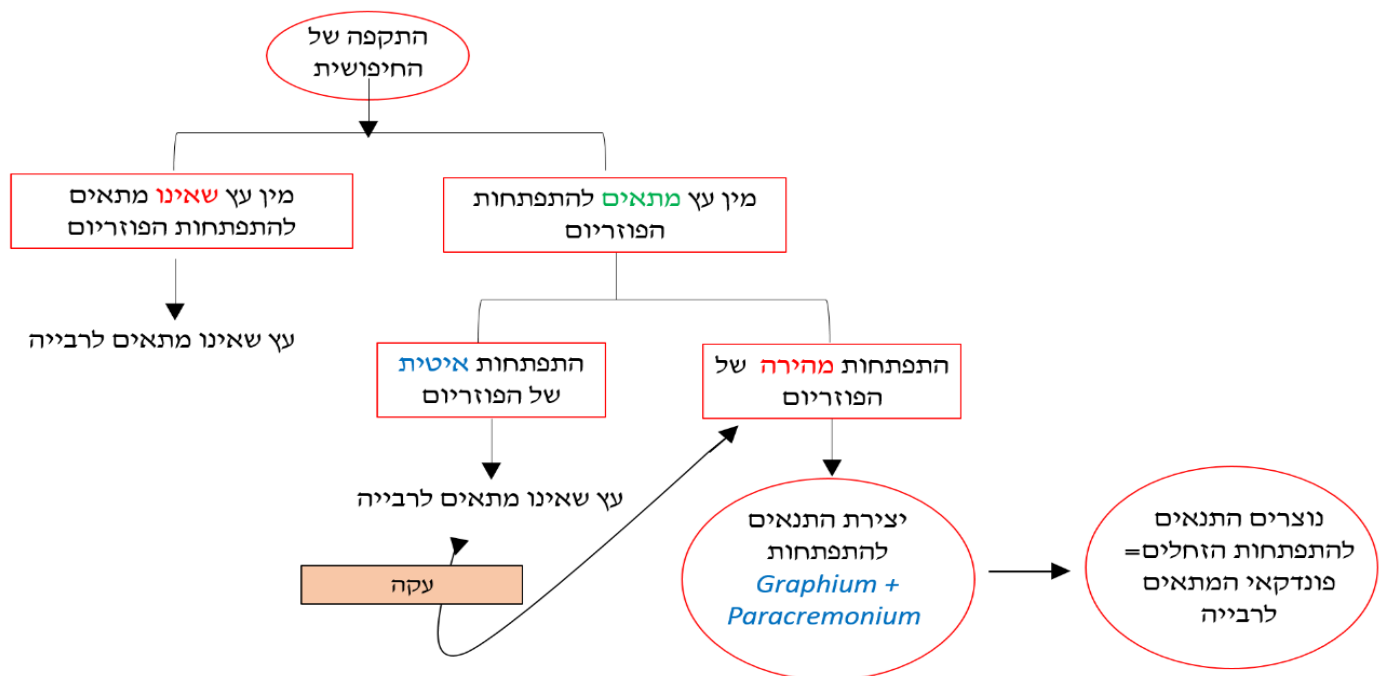
מין עץ שנתקף אך אינו מתאים לרבייה: נצפו חורי חדירה וכיבים טיפוסיים, בד"כ בודד הפוזריום האופייני, אך לא נמצאו דרגות התפתחות צעירות של החיפושית בגלריות. עצים מקבוצה זו היוו 55.9% מכלל מיני העצים שנבחנו.

מין עץ שאינו נתקף: כאשר לא נצפו כיבים טיפוסיים או חורי חדירה והעץ הנבדק נמצא בשכנות לעצים שנתקפו. עצים מקבוצה זו היוו 30.2% מכלל מיני העצים נבחנו.

לא נמצא קשר הדוק בין הקרבה הגנטית של העצים לבין יכולתם לשמש פונדקאים מתאימים לרבייה של החיפושית. אמנם העצים שנבחנו מייצגים 315 סוגים ב 85 משפחות, מספר המינים בכל משפחה או סוג היה שונה מאד, ולכן לניתוח הקשר בין הקבוצה הסיסטמטית של העצים לבין רגישותם לחיפושית נבחנו רק את אותם הסוגים הבוטניים הכוללים לפחות 10 מינים, ומשפחות המייצגות ע"י לפחות 20 מיני עצים. ניתוח זה הראה שמבין 10 הסוגים שנבחנו אדר, אלון ושיטה כללו את אחוז המינים המתאימים לרבייה הגבוה ביותר, ואילו בסוג אקליפטוס לא התגלה אף לא מין אחד מתאים. תמונה דומה התקבלה בבחינת המשפחות. במשפחות האשוריים (Fagaceae) המגנוליים (Magnoliaceae) והחלמיתיים (Malvaceae), 90% ממיני העצים מותקפים, מבין מינים שנבחנו במשפחת ההדסיים (Myrtaceae) רק 25.6% נתקפו. חשוב לציין את השונות ברגישות בתוך הסוגים. כך לדוגמה שבעה מבין 21 סוגי העצים שנבחנו ומייצגים ע"י לפחות ע"י 5 מינים, כללו עצים בכל שלושת הקטגוריות. השונות הגדולה נצפתה אף בין זני האבוקדו שחלקים רגישים מאד, כמו האס, ואחרים כמעט ואינם נפגעים, כמו אטינגר.

לא מעט מיני עצים מותקפים כשהם חיוניים ומשמשים לרבייה מוצלחת של החיפושית. מבין המינים הבולטים הנחשבים רגישים מאד נמצא אדר מילני, אלון ארך עוקצים ומיני דולב. יחד עם זאת, מבין העצים שנמצאו מתאימים לרביית החיפושית, יש גם רבים כאלה, שהותקפו בהצלחה רק לאחר חולשה בשל גורם ראשוני אחר, כמו במקרה של אלון תבור או אלון מצוי שכעצים חיוניים הם עמידים מאד להתקפת החיפושית. מכאן מיני עצים רבים שהותקפו והחיפושית לא הצליחה להתרבות בהם, אולי יתאימו לרבייה בעקבות חולשה.

איור 3 מדגים מודל תאורטי המסביר מה הם התנאים בהם יתאים מין עץ מסוים לרבייה של חיפושית. ההשערה הנגזרת מהמודל היא שהצלחת הרבייה היא פועל יוצא של שגשוג הפוזריום הסימביוטי שנושאת החיפושית. כך ישנם מיני עצים, כמו אדר מילני בהם הפוזריום מתגבר ללא קושי על עמידות הרקמה בעצים חיים, ומקרים אחרים שרק חולשה של הרקמה תאפשר את שגשוגו (Mendel et al., 2021).



איור 3. מודל תיאורטי המסביר מהם התנאים בהם עץ מותקף ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו עשוי להיות מתאים לרבייה: התנאי לרבייה הוא שגשוג הפטרייה הסימביוטית *Fusarium euwallaceae*.

העברת פטריות פתוגניות (שאינן סימביוטיות) ע"י חיפושיות אמברוזיה

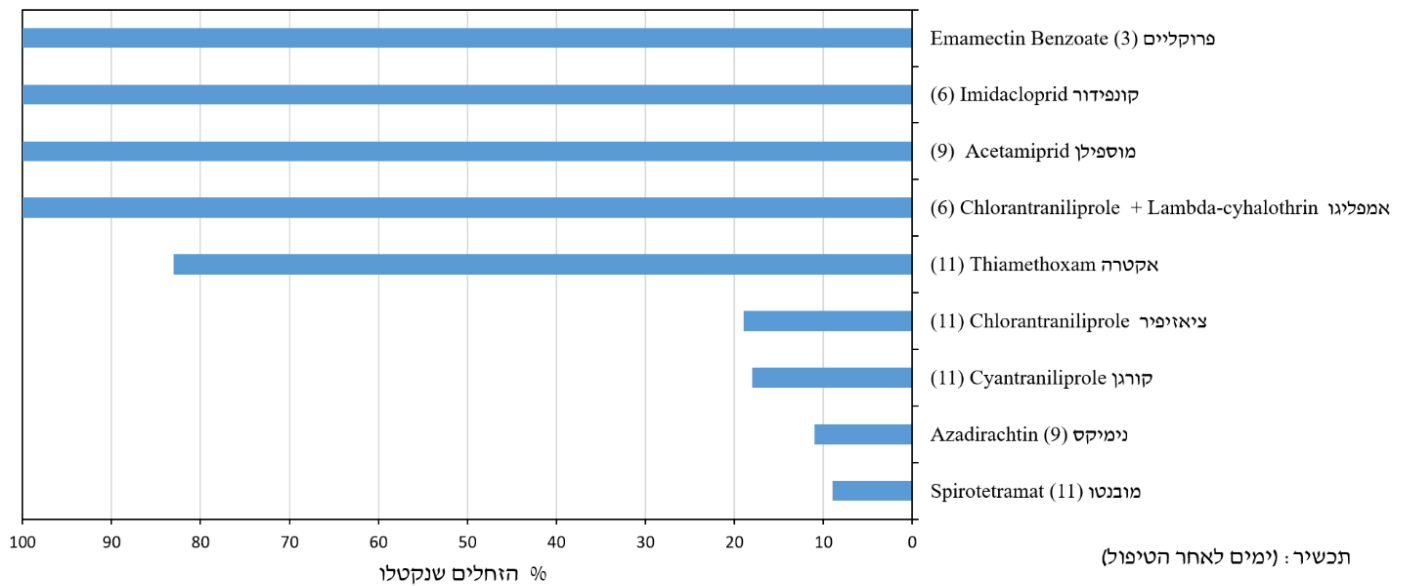
חיפושיות אמברוזיה נושאות מיקרוארגניזמים שונים, בעיקר פטריות וחיידקים, חלקים ספציפיים ורבים אחרים נאספו ממצע ההתפתחות של החיפושיות ע"י הנקבות העוזבות את העץ בו הן התפתחו (Hulcr et al., 2012; Rassati et al., 2019). לעיתים נאספות פטריות סימביוטיות השייכות למיני חיפושיות אמברוזיה אחרות (Carrillo et al., 2014). שפע מיני המיקרוארגניזמים מעוברים לעצים החדשים המותקפים. משתני בית הגידול קובעים למעשה את הרכב המיקרוביום microbiome (Barra-Juarez et al., 2018). יש להניח, במידה רבה של בטחון, שלא מעט פתוגנים עלולים לעבור מעצים חלשים או מתים מהם הגיחו החיפושיות אל עצים חיים. במהלך התקיפה חיפושית האמברוזיה פוצעת את העץ ויוצרת את התנאים הנוחים להתבססות של פתוגן המוחדר במהלך הפציעה. המידע על תחלואה הנגרמת ע"י חיפושיות אמברוזיה בשל רכישת פטריות "זרות" מבית הגידול הוא מועט. בישראל, נצפה נזק לעצים שאינם פונדקאים מתאימים לרביית חיפושית האמברוזיה של האבוקדו והותקפו ע"י החיפושית. כך לדוגמא, תיעדו המחברים (מידע שלא פורסם) נזק קשה לעצי צפצפה מכסיפה *Populus alba* כתוצאה מהתקפה של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו. צפצפה מכסיפה אינה מתאימה להתפתחות החיפושית, אך ניסיונות האכלוס של החיפושית הביאו להתנוונות העץ. נזק כזה נגרם כאשר העץ המותקף גדל בשכנות לעץ מתאים לרבייה של החיפושית.

ממשק ההדברה של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו והפוזריום הסימביוטי

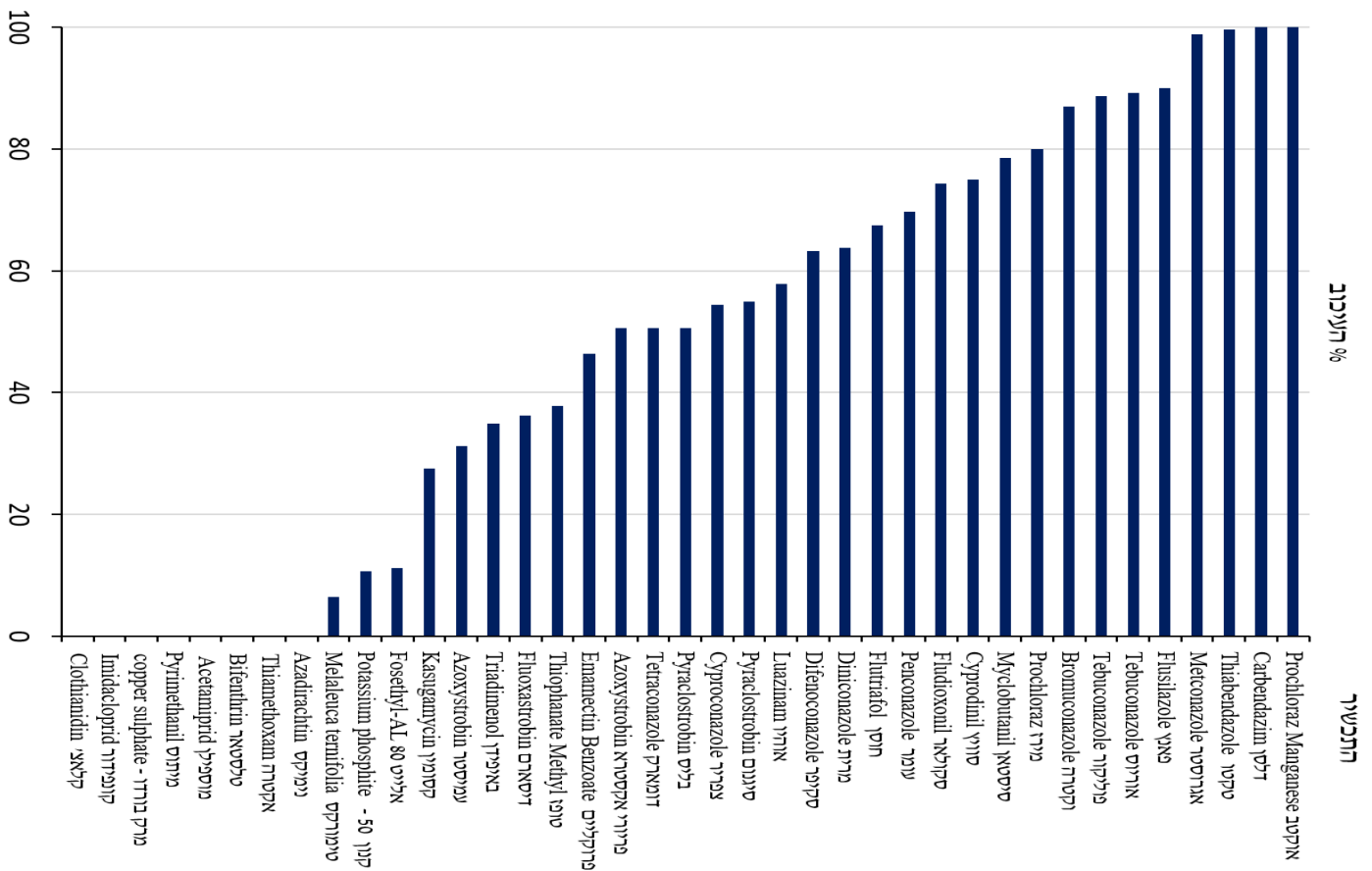
כמו במקרים רבים אחרים של גורמי מחלה הנשאים ע"י חרקים, ממשק ההדברה מכוון כנגד הנשא - החיפושית או הפתוגן - הפוזריום סימביוטי (או כנגד שניהם יחד). ממשק מניעה והדברה של חיפושית האמברוזיה במטעי האבוקדו, הגידול החקלאי היחיד הנפגע ע"י הנגע, מחייב גישה שונה מזו שנדרשת ליישום בשטחי הנוי. בחינה של השימוש בלכידה המונית של החיפושיות אינה יעילה, ככל הנראה בשל המשיכה החלשה לפיתיונות המסחריים בהשוואה עוצמת המשיכה של העצים המאוכלסים. בשל ההימנעות המבורכת בשימוש בתכשירי הדברה חריפים במטעי האבוקדו בישראל, והמגבלה הכלכלית ליישם תכשירים סיסטמיים, גם כאלה הנחשבים ידידותיים לסביבה, באמצעות הזרקה לגזע, ההדברה הכימית של החיפושית אינה אפשרות מעשית. כיום, הגישה המיטבית להתמודד עם הנגע במטעי האבוקדו היא שמירה על סניטציה יעילה של המטע, תוך הסרת קטעי צמרת מאוכלסים בחיפושית.

אמצעי ההדברה הכימית הנ"ל אפשריים להדברת הנגע בעצי נוי. המחברים בחנו תשעה קוטלי חרקים סיסטמיים מסחריים כנגד זחלי החיפושית המתפתחים במעבדה על תפטיר הפוזריום הסימביוטי. כמה מהתכשירים שנבחנו (איור 4). חלקם הראו יעילות קטילה גבוהה, פרוקליים Emamectin Benzoate, קונפידור Imidacloprid ו- קורגן Cyantraniliprole. כל השלושה הם תכשירים סיסטמיים.

נבחנו גם השפעת 39 תכשירים על עיכוב התפתחות הפוזריום הסימביוטי, רובם קוטלי פטריות, אך גם תשעה קוטלי חרקים (איור 5). שמונה התכשירים המצטיינים (כולם קוטלי פטריות מובהקים) בבדיקת המעבדה היו אוקטב Prochloraz Manganese, דלסן Carbendazim, טקטו Thiabendazole, אגרוסטר Metconazole, פאנץ Flusilazole, אוריוס ו-פוליקור Tebuconazole ו- וקטרה Bromuconazole. מעניין לציין שפרוקליים גם עיכב ב- 50% את התפתחות הפוזריום. בקליפורניה נמצא הזרקה לגזע של Emamectin Benzoate בשילוב עם קוטל הפטריות Propiconazole הפחיתה באופן חד את האכלוס עצי דולב בחיפושית ומנעו במידה רבה אכלוס של החיפושיות בעצים בריאים (Grosman et al., 2019). יש להניח שהתכשירים הסיסטמיים לא יועילו הרבה בעצים המאוכלסים בכבדות ע"י החיפושית, היות וזרימת המים העצה הנגועה משובשת וכך גם נמנעת הגעת התכשיר למקום הימצאות החיפושיות והפטריות הסימביוטיות.



איור 4. בחינה של תשעה קוטלי חרקים סיסטמיים מסחריים בריכוז של 10 מקק כנגד זחלי החיפושית המתפתחים במעבדה על תפטיר הפוזריום הסימביוטי.



איור 5. בחינה של 39 תכשירי פונגיצידיים בריכוז של 10 מקק על עיכוב התפתחות הפוזריום הסימביוטי הגדל בצלחות פטרי.

חיפושיות האמברוזיה והפטרויות שהן נושאות, בעיקר כמינים פולשים, מחוללות תחלואה קשה למיני עצים שונים. הנזק הוא על פי רוב פועל יוצא של הפציעה של העץ במהלך החדירה ופציעת העצה ע"י החיפושית, ואילו העצה בפטריות הסימביוטיות של החיפושיות. לעיתים הפגיעה נגרמת ע"י הפטריות הסימביוטיות הפועלות כפתוגנים אלימים, או בשל אילוח העץ המותקף במיני פטריות שנאספו מהסביבה, והפציעה מאפשרת להן להתבסס בעץ המאולח. בישראל מוכרים עשרה מיני חיפושיות אמברוזיה ורק אחד המינים, חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, הוא מזיק קשה הגורם לנזקים במטעי האבוקדו, אך אלים במיוחד כלפי חלק מעצי הנוי. שפע מיני חיפושיות האמברוזיה ביערות הטרופיים והסובטרופיים מצביע גם על פוטנציאל הנזק הקשה שעלול להיגרם אם יפלו לישראל מינים חדשים מקבוצה זו, ואיתן מינים חדשים של פטריות סימביוטיות שמידת אלימותן כלפי מיני העצים בישראל קשה לחיזוי. היות לחיפושיות אמברוזיה אין אויבים טבעיים יעילים, ההתמודדות עם מיני קבוצה זו היא קשה, בעיקר בשל הקושי להתמודד עם האורגניזמים האחראיים לנזק כשהם בעומק העצה.

הבעת תודה

המחברים מבקשים להודות ליונתן מעוז למגדלי אבוקדו באזורים שונים בארץ, לגננים ואנשי הגן הבוטני בגבעת רם, לחברי צוות המחקר במנהל המחקר החקלאי – מכון וולקני, טכנאים וסטודנטים, לשותפים המחקר מקליפורניה, לאנשי המדור לבריאות היער בקק"ל ולאנשי חברות ההדברה, על תרומתם החשובה לביצוע המחקר במעבדה ובשדה.

מקורות

- Abe, T., Bignell, D. E. and Higashi, M (2000) *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses and Ecology*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.
- Alfaro, R., Humble, L., Gonzalez, P., Villaverde, R. and Allegro, G. (2007) The threat of the ambrosia beetle *Megaplatypus mutatus* (Chapuis) (= *Platypus mutatus* Chapuis) to world poplar resources. *Forestry* 80, 471-479. doi: 10.1093/forestry/cpm029
- Alonso-Zarazaga, M. A. and Lyala, C. H. C. (2009) Catalogue of family and genus group names in Scolytinae and Platypodinae with nomenclatural remarks (Coleoptera: Curculionidae). *Zootaxa* 2258:134 pp.; ISBN 978-1-86977-408-0 (Online edition) .
- Aoki, T., Smith, J. A., Kasson, M. T., Freeman, S., Geiser, D. M., Geering A. D. W. and O'Donnell, K. (2019) Three novel Ambrosia Fusarium Clade species producing clavate macroconidia known (*F. floridanum* and *F. obliquiseptatum*) or predicted (*F. tuaranense*) to be farmed by *Euwallacea* spp. (Coleoptera: Scolytinae) on woody hosts, *Mycologia*. ISSN: 0027-5514 (Print) 1557-2536 (Online): <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1647074>
- Barra-Juarez, L.A., Desgarnes, D., Vázquez-Rosas-Landa, M., Villafan, E., Alonso-Sánchez, A., Ferrera-Rodríguez, O., Moya, A., Carrillo, D., Cruz, L., Carrión, G., López-Buenfil, A., García-Avila, C., Ibarra-Laclette, E. and Lamelas, A. (2018) Impact of rearing conditions on the ambrosia beetle's microbiome. *Life*. 8(4):63. <https://doi.org/10.3390/life8040063>

- Bodenheimer, F. S. (1937) Prodrusus Faunae Palestinae. Essai sur les éléments zoogéographiques et historiques du Sud-Quest de sous-règne Paléarctique. Mémoires présentés a l'Institut d'égypte, 43: 1–286.
- Buse, J., Assmann, T., Friedman, A. L. L., Rittner O. and Pavlicek, T. (2013) Wood-inhabiting beetles (Coleoptera) associated with oaks in a global biodiversity hotspot: a case study and checklist for Israel. The Royal Entomological Society, Insect Conservation and Diversity, 6: 687–703.
- Carrillo, D. et al. (2014) Lateral transfer of a phytopathogenic symbiont among native and exotic ambrosia beetles. Plant Pathol. 63: 54–62.
- Coleman, T., Poloni, A., Chen, Y., Thu, P., Li, Q., Sun, J. et al. (2019) Hardwood injury and mortality associated with two shot hole borers, *Euwallacea* spp., in the invaded region of southern California, USA, and the native region of Southeast Asia. Ann. For. Sci. 76: 61. doi: 10.1007/s13595-019-0847-6
- Eigenbrode, S. D., Bosque-Perez, N. A. and Davis T. S. (2018) Insect-borne plant pathogens and their vectors: ecology, evolution, and complex interactions. Annu. Rev. Entomol. 63:169–91 .
- Eskalen, A., Gonzalez, A., Wang, D., Twizeyimana, M, Mayorquin, J. and Lynch, S. (2012) First report of a *Fusarium* sp. and its vector tea shot hole borer (*Euwallacea fornicatus*) causing Fusarium dieback on avocado in California. Plant Dis. 96: 1070.
- Fraedrich, S., Harrington, T. and Best, G. (2014) *Xyleborus glabratus* attacks and systemic colonization by *Raffaelea lauricola* associated with dieback of *Cinnamomum camphora* in the southeastern United States. Forest Pathol. 45: 60-70. doi: 10.1111/efp.12124.
- Freeman, S., Sharon, M., Maymon, M., Mendel, Z., Protasov, A., Aoki, T., Eskalen, A. and O'Donnell, K. (2013) *Fusarium euwallaceae* sp. nov.—a symbiotic fungus of *Euwallacea* sp., an invasive ambrosia beetle in Israel and California. Mycologia 105(6):1595–1606. DOI: 10.3852/13-066
- Freeman, S., Sharon, M., Dori-Bachash, M., Maymon, M., Belausov, E., Maoz, Y., Margalit, O., Protasov, A. and Mendel, Z. (2016) Symbiotic association of three fungal species throughout the life cycle of the ambrosia beetle *Euwallacea nr. fornicatus*. Symbiosis 68: 115–128. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0356-9>.
- Freeman, S., Miller, G., Maymon, M., Elazar, M., Protasov, A. and Mendel, Z. (2018) Interactions between three symbiotic fungi associated with an invasive ambrosia beetle and their host trees in Israel. European 14th Conf. Fungal Genet. Haifa, Israel, p. 60. <http://www.ecfg14.org/scientific-program/>
- Freeman, S., Miller, G., Protasov, A., Maymon, M., Elazar, David-Schwartz, R. et al. (2019) Aposymbiotic interactions of three ambrosia beetle fungi with avocado trees. Fungal Ecol. 39, 117-130.

- Galdeano, D. M., de Souza Pacheco, I., Alves, G. R. et al. (2020) Friend or foe? Relationship between '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' and *Diaphorina citri*. *Trop. Plant Pathol.* 45: 559–571. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00375-4>
- Galeotti, F., Barile, E., Curir, P., Dolci, M., Lanzotti, V. (2008) Flavonoids from carnation (*Dianthus caryophyllus*) and their antifungal activity. *Phytochem. Lett.* 1: 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2007.10.001>.
- Grosman, D. M., Eskalen, A. and Brownie, C. (2019) Evaluation of emamectin benzoate and propiconazole for management of a new invasive shot hole borer (*Euwallacea nr. fornicatus*, Coleoptera: Curculionidae) and symbiotic fungi in California sycamores. *J. Econ. Entomol.* 112(3): 1267–1273 doi: 10.1093/jee/toy423
- Grousset, F., Gregoire, J., Jactel, H., Battisti, A., Beloglavec, A., Hrasovec, B., et al. (2020) The risk of bark and ambrosia beetles associated with imported non-coniferous wood and potential horizontal phytosanitary measures. *Forests*, 11: 342. doi: 10.3390/f11030342
- Halperin, J. (1976a). The first occurrence of an Ambrosia beetle (family Platypodidae) in Israel. *La-Yaaran* 26: 21-25 (Hebr.): 43 (Engl. summary) .
- Hulcr, J. and Dunn, R. (2011) The sudden emergence of pathogenicity in insect-fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 278: 2866-2873. doi: 10.1098/rspb.2011.1130
- Hulcr, J., Mann, R. and Stelinski, L. (2011) The scent of a partner: ambrosia beetles are attracted to volatiles from their fungal symbionts. *J. Chem. Ecol.* 37: 1374-1377. doi: 10.1007/s10886-011-0046-x
- Hulcr J., Rountree N. R., Diamond S. E., Stelinski, L. L., Fierer, N. and Dunn, R. R. (2012) Mycangia of Ambrosia Beetles Host Communities of Bacteria. *Microb. Ecol.* 64: 784–793. DOI 10.1007/s00248-012-0055-5
- Jordal, B. H. (2015) Molecular phylogeny and biogeography of the weevil subfamily Platypodinae reveals evolutionarily conserved range patterns. *Mol. Phylogenet. Evol.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev..05.028>
- Kasson, M., O'Donnell, K., Rooney, A., Sink, S. and Ploetz, R. (2013). An inordinate fondness for Fusarium: Phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. *Fungal Genet. Biol.* 56: 147-157.
- Keler, S. (1956) *Entomologisches Wörterbuch*. AUA. Akademie Verlag, Berlin, Germany, 679 pp.
- Kendra, P., Montgomery, W., Niogret, J., Pena, J., Capinera, J., Brar, G. et al. (2011) Attraction of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*, to avocado, lychee, and essential oil lures. *J. Chem. Ecol.* 37, 932-942. doi: 10.1007/s10886-011-9998-0
- Kimmerer, T., and Kozlowski, T. (1982). Ethylene, ethane, acetaldehyde, and ethanol production by plants under stress. *J. Plant Physiol.* 69: 840-847.

- Kühnholz, S., Borden, J. and Uzunovic, A. (2001) Secondary ambrosia beetles in apparently healthy trees: adaptations, potential causes and suggested research. *Integr. Pest Manage. Rev.* 6, 209-219. doi: 10.1023/A:1025702930580
- Li, Q., Guo, H., Zhao, Y., Zhang, G., He, G. and Liu, B. (2015) Damage caused by *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Scolytidae) and its control techniques in Kunming. *Plant Prot.* 41: 193-196.
- Liu, X., Robinson, P., Madore, M., Witney, G. & Arpaia, M. (1999). 'Hass' avocado carbohydrate fluctuations. I. Growth and phenology. *J. Am. Soc. Horticultural Sci.* 124: 671–675.
- Lynch, S., Twizeyimana, M., Wang, D., Mayorquin, J., Na, F., Kayim, M. et al. (2016) Identification, pathogenicity, and abundance of *Paracremonium pembeum* sp. nov. and *Graphium euwallaceae* sp. nov. - two new mycangial fungal associates of the polyphagous shot hole borer (*Euwallacea* sp.) in California. *Mycologia* 108: 313-329. doi: 10.3852/15-063
- MacDonald, R. and Kimmerer, T. (1991) Ethanol in the stems of trees. *Plant Physiol.* 82, 582-588.
- Maffei, M., Mithofer, A. and Boland, W. (2007) Before gene expression: early events in plant-insect interaction. *Trends Plant Sci.* 12, 310-316. doi: 10.1016/j.tplants.2007.06.001
- Mendel, Z., Protasov, A., Maoz, Y., Maymon, M., Miller, G., Elazar, M. et al. (2017). The role of *Euwallacea* nr. *fornicatus* (Coleoptera: Scolytinae) in the wilt syndrome of avocado trees in Israel. *Phytoparasitica* 45: 341-359. doi: 10.1007/s12600-017-0598-6
- Mendel, Z., Lynch, S.C., Eskalen, A., Protasov, A., Maymon, M. and Freeman, S. (2021) What determines host range and reproductive performance of an invasive ambrosia Beetle *Euwallacea fornicatus*; Lessons from Israel and California. *Front. For. Glob. Change* 4: 654702. doi: 10.3389/ffgc.2021.654702
- Mueller, U. G., Schultz, T. R., Currie, C. R., Adams, R. M. M. and Malloch, D. (2001) The origin of the attine ant fungus mutualism. *J. Hygiene* 76: 169–197.
- O'Donnell, K., Sink, S., Libeskind-Hadas, R., Hulcr, J., Kasson, M., Ploetz, R. et al. (2015) Discordant phylogenies suggest repeated host shifts in the *Fusarium euwallaceae* ambrosia beetle mutualism. *Fungal Genet. Biol.* 82: 277-290. doi: 10.1016/j.fgb.2014.10.014
- Paap, T., de Beer, Z., Migliorini, D., Nel, W. and Wingfield, M. (2018) The polyphagous shot hole borer (PSHB) and its fungal symbiont *Fusarium euwallaceae*: A new invasion in South Africa. *Australas. Plant Pathol.* doi: 10.1007/s13313-018-0545-0
- Ploetz, R., Hulcr, J., Wingfield, M. and de Beer, Z. (2013). Destructive Tree Diseases Associated with Ambrosia and Bark Beetles: Black Swan Events in Tree Pathology? *Plant Dis.* 97: 856-872.
- Power, A. G. (1992) Patterns of virulence and benevolence in insect-borne pathogens of plants. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 11: 351–372.

- Rabaglia, R., Cognato, A., Hoebeke, E., Johnson, C., Labonte, J., Carter, E. et al. (2019) Early detection and rapid response; a 10-year summary of the USDA Forest Service Program of surveillance for non-native bark and ambrosia beetles. *Am. Entomol.* 65: 29-42. doi: 10.1093/ae/tmz015 .
- Rabaglia, R., Dole, S. and Cognato, A. (2006) Review of American Xyleborina (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) occurring North of Mexico, with an illustrated key. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 1034-1056.
- Ranger, C., Biedermann, P., Phuntumart, V., Beligala, G., Ghosh, S., Palmquist, D. et al. (2018). Symbiont selection via alcohol benefits fungus farming by ambrosia beetles. *PNAS*. doi: 10.1073/pnas.1716852115
- Ranger, C., Reding, M., Persad, A. and Herms, D. (2010) Ability of stress-related volatiles to attract and induce attacks by *Xylosandrus germanus* and other ambrosia beetles. *Agric. Forest Entomol.* 12: 177-185.
- Rassati, D., Marini, L. and Malacrinò, A. (2019) Acquisition of fungi from the environment modifies ambrosia beetle mycobiome during invasion. *PeerJ*, 7, e8103. <https://doi.org/10.7717/peerj.8103>
- Rouland-Lefèvre C. (2000) Symbiosis with fungi. In: *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*, eds. Abe, T., Bignell, D. E. and Higashi, M. (Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands), pp. 289–306 .
- Sylvester E. S. and Richardson J. (1992) Aphid-borne Rhabdoviruses—Relationships with Their Vectors. In: Harris K.F. (eds.) *Advances in Disease Vector Research*. *Advances in Disease Vector Research*, Vol 9. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2910-0_10
- Stouthamer, R., Rugman-Jones, P., Thu, P., Eskalen, A., Thibault, T., Hulcr, J. et al. (2017) Tracing the origin of a cryptic invader: phylogeography of the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) species complex. *Agric. For. Entomol.* 19: 366-375. doi: 10.1111/afe.12215
- Slippers, B., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D. and Wingfield, M. J. (2003) A review of the genus *Amylostereum* and its association with woodwasps. *South African J. Sci.* 99: January/February 70-74.
- Smith, S., Gomez, D., Beaver, R., Hulcr, J., and Cognato, A. (2019). Reassessment of the species in the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) complex after the rediscovery of the “lost” type specimen. *Insects* 10: 261-271.
- Stafford, C. A., Walker G. P. and Ullman D. E. (2011) Infection with a plant virus modifies vector feeding behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (23): 9350-9355; DOI: 10.1073/pnas.1100773108

Walgama, R. (2012) Ecology and integrated pest management of *Xyleborus fornicatus* (Coleoptera: Scolytidae) in Sri Lanka. J. Integr. Pest Manage. 4:3, doi: 10.1603/IPM11031

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 25: מחלות פטרייתיות בקנביס

סטנלי פרימן, שחר ירושלמי ומרסל מימון

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, המכון להגנת הצומח, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

בשנים האחרונות תעשיית הקנביס הרפואי בארץ מתקדמת בקצב מהיר ביותר, וחברות קנביס נבחרות נסחרות בבורסה. במהלך השנים, חלק מהחוות רכשו ניסיון וידע שאינו מועבר לחוות אחרות, אך עדיין קיים חוסר ידע מבוסס מחקרים בנוגע לנושאים אגרונומיים רבים בתחום הקנביס, כאשר תחום מחלות הצמחים הוא בין הבולטים שבהם. מחלות שונות פוגעות בגידול באופן קשה, והמגדלים נאלצים להתמודד עמן תוך הגבלות מחמירות לגבי שימוש בחומרי הדברה. אופיינו גורמי המחלה העיקריים שנמצאו בגידולי קנביס ברחבי הארץ, ובהם גורמי מחלות בעלווה ושוכני קרקע. מחלות עיקריות שנמצאו בעלווה הן כתמי חלפת הנגרמים על ידי *Alternaria alternata* ועובש אפור הנגרם על ידי *Botrytis cinerea*; בקרקע זוהתה מגלת, מחלת נבילה הנגרמת ע"י *Fusarium oxysporum*. כמו כן נמצאו קימחון (*Golovinomyces cichoracearum*), עובש צהוב (מיני *Aspergillus*), עובש ורוד (*Trichothecium roseum*) ועובשים נוספים שעדיין לא הוגדרו.

אופן הציטוט: פרימן ס', ירושלמי ש' ומימון מ' (2021) **מחלות פטרייתיות בקנביס**. פרק 25, ע' 360-367 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e53255>



הקדמה

קנביס (*Cannabis sativa* L.) הוא עשב עונתי ממשפחת הקנאביים (*Cannabaceae*) (McPartland et al., 2017). צמח הקנביס ניתן לגידול בשתי שיטות עיקריות, גידול בחממה או בחוץ (Chandra et al., 2017), ולכל שיטה יתרונות וחסרונות. אחד מן ההבדלים העיקריים בין השיטות הוא זמן מחזור הגידול. מחזור הגידול בחוץ נע בין חמישה לשבעה חודשים, בתלות בזמן השתילה ובזן בעוד שבחממה ניתן לעבור מגידול וגטטיבי לפרודוקטיבי בתוך 3-4 חודשים באמצעות קיצור אורך היום (פחות מ-12 שעות תאורה) (Chandra et al., 2017).

בשנים האחרונות, עולה השימוש והפופולריות של צמח הקנביס בארץ ובעולם. חומרים המופקים מצמח הקנביס הרפואי משמשים לטיפול במגוון מחלות, כגון בחילות, חוסר תאבון, סוגי סרטן מסוימים, טרשת נפוצה, אפילפסיה, תסמונת טורט ועוד (Ben Amar 2006; Kusari et al., 2013). המחקר בשימושי צמח הקנביס, והעניין הציבורי ההולך וגובר בו, מאפשרים את המשך פיתוחם של חוות לגידול קנביס רפואי. קיומם של מחקרים חדשניים מאפשרים לטפל במחלות השונות בבני אדם באמצעות קנביס רפואי ובאמצעות החומרים הפעילים המופקים ממנו. בעולם בכלל ובארץ בפרט, מתגבר בשנים האחרונות הגידול והשימוש בקנביס רפואי בהובלת היחידה לקנביס רפואי (יק"ר) של משרד

הבריאות. במסגרת פעולותיה מנסה היק"ר להגדיר אמות מידה במסגרת ה-IMC-GAP, לגבי דרישות האיכות הנדרשות ממגדלי הקנביס הרפואי בארץ לאורך כל שלבי גידול הצמח כדי להבטיח מוצר איכותי ובטוח לשימוש למטופלים.

יחד עם זאת, קיימים מספר אתגרים בהתמודדות עם מחלות צמחים בקנביס: 1. מחסור בידע במחלות צמחים התוקפות את הגידול ושיטות הנדרשות להתמודד עמן. 2. הגבלות מחמירות על שימוש בחומרי הדברה, מחשש לחשיפת מטופלים בצמח לחומרים אלו. 3. קיומו של צורך ממשי בהסדרת מדיניות הקנביס הרפואי. דוגמה לכך היא כללי האיכות של נוהל 151 ב-IMC-GAP שפורסם על ידי היק"ר המתייחס לכמות העובשים והשמרים בגרם תפוחית. סעיף זה הוא בעל חשיבות עליונה לאיכות החומר המגיע אל המטופל, אך בניסוחו העכשווי לוקה בחסר (https://www.health.gov.il/hozer/mmk151_2016.pdf). 4. הפרקטיקה החקלאית הנפוצה בקרב מגדלי קנביס והעלייה ברגישות לפתוגנים.

שנים רבות של הכלאות בין מינים קרובים גנטית ושימוש בייחורים על מנת להבטיח שדות גידול של צמחים נקביים בלבד, הובילו להפחתת השונות הגנטית במאגר הגנים בצמח ובכך לעלייה ברגישות לפתוגנים שונים (Clarke and Merlin, 2016). בנוסף לפגיעה הישירה בתפוקת היבול, מספר פתוגנים עלולים לפגוע באופן ישיר במטופלים הצורכים אותו לצרכים רפואיים. דוגמה לכך היא שני מקרים של מטופלים בעלי מערכת חיסון מוחלשת שצרכו קנביס למטרות הפחתת כאב ופיתחו מחלת אספרגילוזיס חודרני בריאות. מחלה זו נגרמת כתוצאה מחשיפה למינים שונים של הפטרייה אספרגילוס (*Aspergillus spp.*) בעקבות עישון קנביס נגוע בפטרייה המייצרת טוקסינים רעילים לאדם (Gargani et al., 2011). בהתבסס על דיווחים מחוות גידול בארץ ודוחות ממערך ההדרכה וסיוורים של משרד החקלאות, עולה כי היקף הנזקים לצמח בתחומי הגנת הצומח מגיע לעשרות אחוזים. נכון להיום מרבית הבעיות נותרות ללא מענה מקצועי והן דורשות מחקר נוסף.

בחוות גידול בקנדה, הפתוגנים העיקריים שהתגלו כגורמים לפגיעה בשורשים ובאזור הכתר בצמחי קנביס הם אואומיצטים מהסוג *Pythium* כגון *Pythium dissotocum*, *P. myriotylum*, *P. aphanidermatum*, *P. ultimum*, *P. catenulatum* and *P. catenulatum* ובנוסף, פטריות מהסוג פוזריום *Fusarium solani*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum* (Punja et al., 2018; 2019).

פטרייה חשובה נוספת שפוגעת בקנביס היא *Golovinomyces cichoracearum* האחראית למחלת הקימחון המתבטאת בהופעת אבקה לבנה, בעיקר על העלים אך לעיתים בשלב מתקדם גם על הגבעול ובתפרחות (Punja et al., 2019). גורמי מחלה נוספים שבודדו מתפרחות עם סימפטומים של עובש זהו כ-*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* ו-*Penicillium olsoni* (Punja et al., 2019).

מחלות פטריות בקנביס בישראל

שורש וגבעול

מגלת-משורשים וגבעולים של צמחי קנביס שסבלו מתסמיני נבילה, בודדו *Fusarium oxysporum* ו-*F. solani*. שתי הפטריות הללו מוכרות כפתוגניות בצמחי קנביס בעולם (Punja et al., 2018; Punja 2020). אך בשונה מהמחקר שנעשה בקנדה, בישראל לא נמצאו מיני האואומיצט *Pythium* אלא רק *Fusarium* (Jerushalmi et al., 2020). בשלב הראשון של המחלה בנבטים, חלה התייבשות של העלים, ובהמשך מצהיבים ומסתלסלים. בשלבי מחלה מתקדמים, הצמח נובל ומת (איור 1). בצמחים בוגרים, ניתן להבחין בכתמי צבע סגול כהה המאפיינים את הפטרייה, בחתך הגבעול (Jerushalmi et al., 2020).

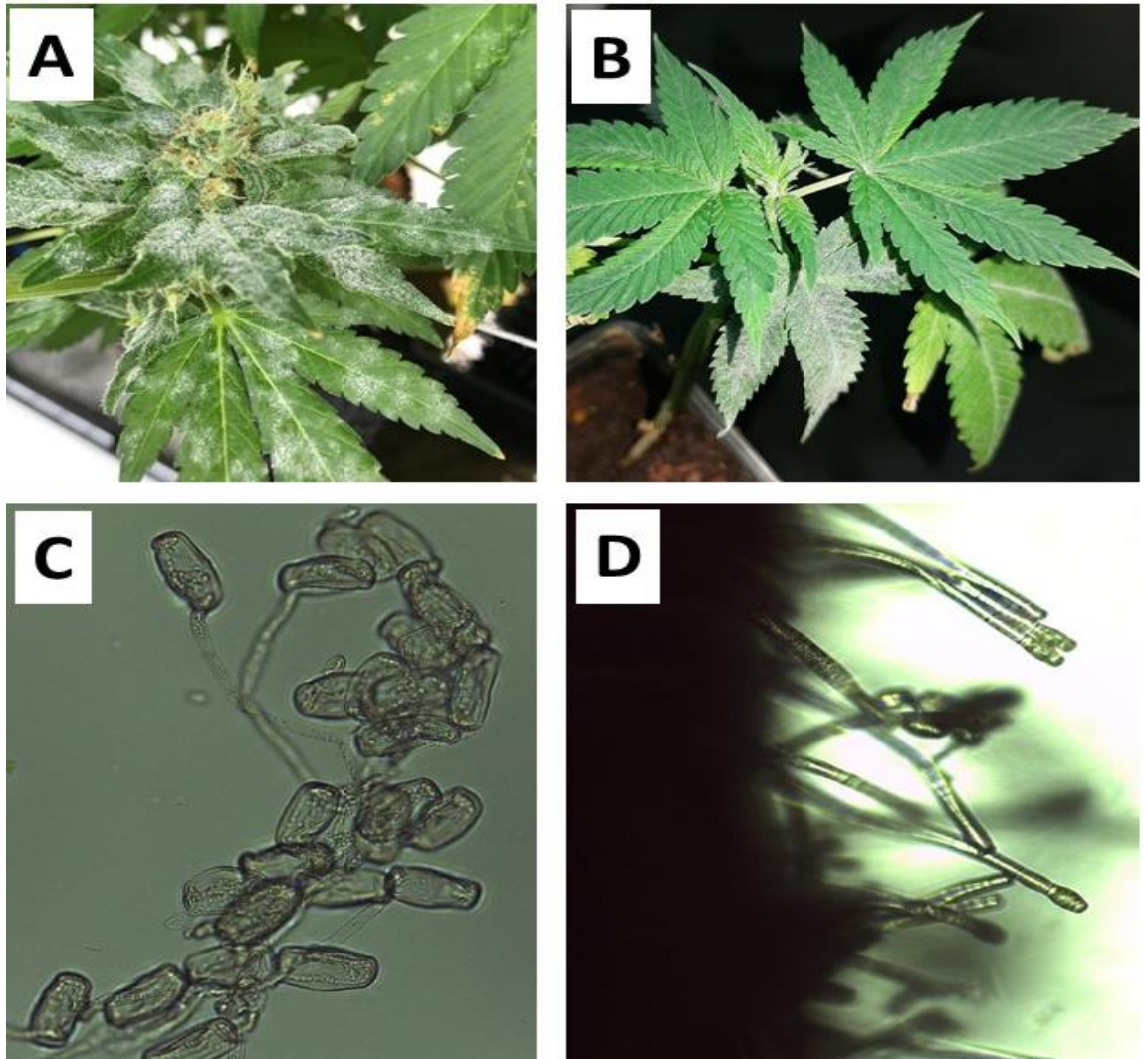


איור 1. צמחי קנביס שאולחו בתמיסת סליין (א' וב') בהשוואה לצמחים שאולחו בתבדיד *Fusarium oxysporum* (ג') וד') ניתן לראות נבילה כללית ללא הצהבה של העלים (ד') בהשוואה לצמח בריא שגודל באותם תנאים (ב'). בנוסף, מערכת השורשים מנוונת בצמח המאולח (C) לעומת הבריא (א).

עלים ותפרחות

קימחון - קימחון בקנביס וקנבוס (Hemp) נגרם על ידי פרזיט אובליגטורי גם בגידול חוץ וגם בחממות (McPartland et al., 2017). גורמי הקימחון יכולות להיות מספר פטריות: *Golovinomyces spadiceus* התוקף המפ מסחרי במספר מדינות בארה"ב (Szarka et al., 2019; Farinas and Peduto Hand 2020); *Golovinomyces cichoracearum sensu lato* שתוקף קנביס רפואי בקנדה (Pépin et al., 2018) ומינים אלה שתוקפים גם לתת (Weldon et al., 2020). בארץ לא זוהתה המחלה עד לשנת 2019, כאשר התגלה קימחון בשלוש חוות מסחריות לפחות (Maymon et al., 2020).

נגרם נזק חמור שהתבטא בהפסדי יבול תפרחות ניכרים, בדומה לדיווחים בספרות (Pépin et al., 2018). תסמיני מחלה ראשוניים כללו כתמים לבנים זעירים עם נבגים בצדו התחתון של העלה שלאחר מכן התלכדו וכיסו את כל שטח העלה, גבעולים ותפרחות. נבגי הפטרייה הינם שקופים בצורת חבית על נושאי נבגים בשרשרות (איור 2).



איור 2. קימחון בקנביס רפואי הנגרם ע"י הפטרייה *Golovinomyces cichoracearum* (A,B) תסמיני מחלה אופייניים בעלים ותפרחות (C) נבגי הפטרייה (D) נושאי נבגי הפטרייה.

כתמי חלפת - מחלה הנגרמת על ידי פטרייה מהמין *Alternaria alternata*. המחלה פוגעת בעיקר בתפרחות נקביות, אם כי דווח על מספר מקרים של בידוד הפתוגן מכתמי נקרוזה בעלי הקנביס (McPartland et al., 2017; Jerushalmi et al., 2020). המחלה מתבטאת בהתפתחות עובש בחלקים פנימיים של התפרחת, ומשם היא מתפשטת (איור 4A). תחילה מופיעה רקמה מתה בצבע חום באזור הנגע, עם התפתחות המחלה, ניתן להבחין בתפטר אפרפר המתפשט על התפרחת (Jerushalmi et al., 2020).

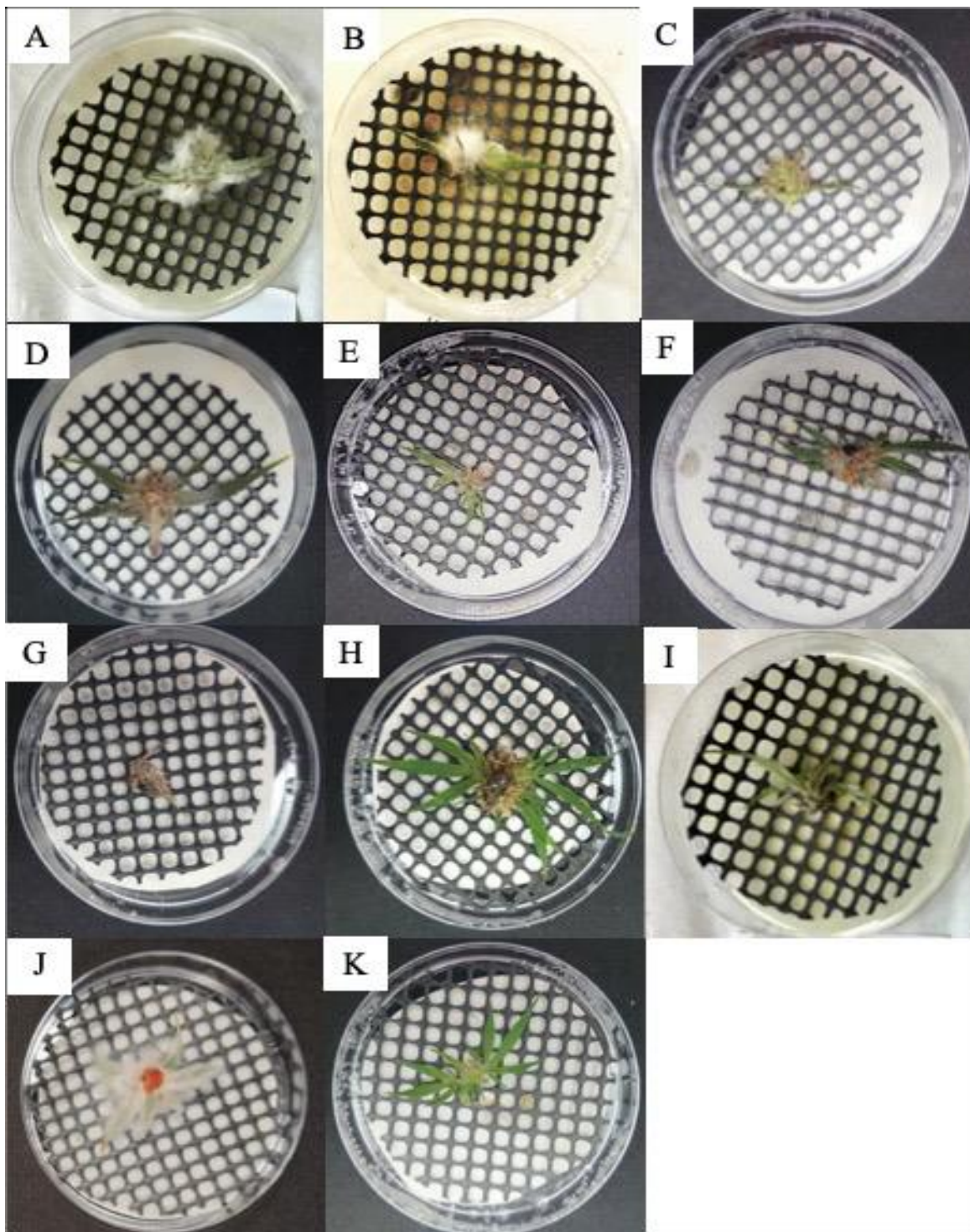
A. alternata גדלה באופן אופטימלי בטמפרטורות של 28-30 מ"צ וככל הנראה חודרת לפרחים כשהם צעירים מאוד ומתפרצת לאחר שהתפרחות גדולות וצפופות (McPartland et al., 2017). הפטרייה *A. alternata* מייצרת מספר מיקוטוקסינים כגון: אלטרניול (AOH), אלטרניול מונומתיל אתר (AME), אלטניון (ALT) ועוד. טוקסינים אלו בעלי אפקט שלילי על מכרסמים ועל תאים אנושיים והוכחו כקרצינוגנים (Ostry 2008).

עובש אפור - תוקפת תפרחות קנביס ונגרמת על ידי הפטרייה *Botrytis cinerea* הנפוצה ומוכרת בעולם (Punja, 2018). תסמיני המחלה דומים מאוד לכתמי חלפת, וללא בדיקה מיקרוסקופית או בידודים, קשה מאוד להבדיל ביניהן (איור 3, B4). בשונה מ *A. alternata* הטמפרטורה האופטימלית להדבקה ונביטת נבגים היא 20 מ"צ, וטמפי הגדילה האופטימלית היא 24 מ"צ. *B. cinerea* משגשגת באקלים קריר ולח (McPartland et al., 2017). תסמיני המחלה הראשונים מתפתחים בחלקים הפנימים של התפרחות ולכן קשה להבחין בהם בתחילה, בהמשך עלי המניפה (העלים הצמודים לתפרחת עצמה) מצהיבים ונובלים, הפטרייה ממשיכה להתפשט ומתחילה לייצר קורים אפורים העוטפים את כל התפרחת (McPartland et al., 2017; Jerushalmi et al., 2020).



איור 3. צמחי קנביס נגועים בעובש אפור ותסמיני המחלה בשלבי גידול שונים. (A) צמח בוגר לקראת סיום שלב ההפרחה, (B) תפרחות טריות ו- (C) תפרחות לאחר גיזום עלעלים וייבוש.

עובש צהוב – הסוג *Aspergillus* כולל מעל 500 מינים שונים של פטריות, לרוב נקרוטרופיות וניזונות מחומר צמחי מת. בקנביס, פטריות מסוג זה נחשבות בעיקר כגורמי עובש בתפרחות מאוחסנות. עיקר העניין בפטריות אלו נובע מהסכנה הבריאותית לצרכני קנביס ובמיוחד לצרכני קנביס רפואי. פטריות מסוג זה פתוגניות גם לבני אדם ועלולות להוביל לזיהומים וסיבוכים כגון מחלת אספרגילוזיס חודרני בריאות (Gargani et al., 2011; Ruchlemer et al., 2015). במספר מקרים, מטופלים בקנביס רפואי הסובלים ממערכת חיסונית מוחלשת נפטרו כשמקור ההדבקה היה קנביס נגוע באספרגילוס. בנוסף לאפשרות של הדבקה ישירה, פטריות אלו ובמיוחד *A. flavus* ידועות כיצרניות מיקוטוקסינים, אפלאטוקסינים רעילים מאוד לבני אדם, בעלי LD₅₀ של 0.25-0.55 מ"ג לק"ג (McPartland et al., 2017). בנוסף, מספר טוקסינים מקבוצה זו ידועים כקרצינוגנים (D'Mello et al., 1999; McPartland et al., 2017). במחקרנו נמצאו שני מיני אספרגילוס, (איור 4C) *A. flavus* ו *A. westerdijkiae* (איור 4D), גורמים לעובש בתפרחות טריות. תסמיני המחלה בתפרחות כללו עובש עם קורים בהירים ובשלב מתקדם מופיעים נבגים בצבע צהוב עד צהוב וורוד, בהתאם למין הפטרייה (Jerushalmi et al., 2020).



איור 4. תוצאות מבחן קוך בתפרחות מנותקות שאולחו ב: A- *Alternaria alternata*, B- *Botrytis cinerea*, C- *Cladosporium* spp., D- *Aspergillus flavus*, E- *Aspergillus westerdijkiae*, F- *Cladosporium tenissium*, G- *Penicillium citrinum*, H- *Penicillium stecki*, I- *Trichothecium roseum*, J- *Fusarium equiseti*, K- *Trichothecium roseum*. שיקורת, שאולחה בקוביית אגר סטרילי.

עובש וורוד – עובש בתפרחות הנגרם על ידי הפטרייה *Trichothecium roseum*. ניתן להבדיל עובש זה מאחרים במופע הנבגים הוורודים על גבי הקורים הלבנים שנוצרים בתפרחות (Jerushalmi et al., 2020). הפטרייה מתפשטת בצורה מיטבית באקלים חם ולח, ולכן דרך יעילה להפחתת המחלה מבוססת על סניטציה ויבוש בתי גידול **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **365**

(McPartland et al., 2017). פטרייה זו ידועה כיצרנית מיקוטוסינים הקרויים Trichothecene. מיקוטוקסינים אלו גורמים לשורה ארוכה של פגיעות בתאים אוקריוטים ובניסוי מעבדה על יונקים גרמו למגוון תסמינים כגון דלקות, הקאות, נזק לרקמות ועוד (Edite Bezerra da Rocha et al., 2014).

עובשים אחרים - מספר רב של פטריות נוספות עשויות לייצר עובש בתפרחות קנביס בוגרות, כדוגמת פטריות מהסוגים *Cladosporium* spp. (איור 4E ו 4F), *Fusarium* spp. (איור 4J), ו *Penicillium* spp. (איור 4G ו 4H). מבין מיני פניציליום ופוזריום ישנם מינים המסוגלים לייצר מיקוטוקסינים שונים. אולם ההבחנה בין סוגי העובשים מתאפשרת באמצעות בידוד, זיהוי מיקרוסקופי ומולקולרי (Jerushalmi et al., 2020).

סיכום

מספר מחלות נפוצות בקנביס גורמות באופן ישיר להפסדים ניכרים ביבול, מעבר לכך בעקבות רגולציה אדוקה על רמות זיהום מיקרוביאלי בתפרחות, נגיעות בפטריות אלו עלולה לגרום לפסילת חומר צמחי שעל פניו נראה תקין. פתוגניים מסוימים שנמצאו כנפוצים בקנביס עלולים אף להוות איום ישיר על בריאות המשתמשים על ידי חשיפתם למיקוטוקסינים רעילים. מעבר לקשיים אלו, ההגבלה החמורה בשימוש בחומרי הדברה בתעשיית הקנביס, במיוחד בשלב ההפרחה, מובילה לצורך במציאת פתרונות להפחתת זיהומים וגורמי מחלות באמצעים אגרוטכניים שונים. בכדי לקדם מאמצים אלו דרוש ידע ומאמץ מחקרי רב בנושאי המחלות התוקפות את גידול הקנביס ודרכי התפשטותן.

מקורות

- Ben Amar M. (2006) Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. *Journal of Ethnopharmacology* 105: 1–25.
- Chandra S., Lata H., Khan I. A. and ElSohly M. A. (2017) *Cannabis sativa* L.: Botany and horticulture. In: *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing, Cham, pp 79–100.
- Clarke R. C. and Merlin M. D. (2016) Cannabis domestication, breeding history, present-day genetic diversity, and future prospects. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences* 35: 293–327.
- D'Mello J. P. F., Placinta C. M. and Macdonald A. M. C. (1999) *Fusarium* mycotoxins: A review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology* 80: 183–205.
- Edite Bezerra da Rocha M., Freire F. da CO, Erlan Feitosa Maia F. *et al.* (2014) Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control* 36: 159–165.
- Farinas C. and Peduto Hand F. (2020) First report of *Golovinomyces spadiceus* causing powdery mildew on industrial hemp (*Cannabis sativa*) in Ohio. *Plant Disease* 104: 2727–2727.
- Gargani Y., Bishop P. and Denning D. W. (2011) Too many mouldy joints - marijuana and chronic pulmonary aspergillosis. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 3: e2011005.
- Jerushalmi S., Maymon M., Dombrovsky A. and Freeman S. (2020) Fungal pathogens affecting the

- production and quality of medical cannabis in Israel. *Plants* 9: 882. doi: 10.3390/plants9070882
- Kusari P., Kusari S., Spiteller M. and Kayser O. (2013) Endophytic fungi harbored in *Cannabis sativa* L.: Diversity and potential as biocontrol agents against host plant-specific phytopathogens. *Fungal Diversity* 60: 137–151.
- Maymon M., Jerushalmi S. and Freeman S. (2020) First report of *Golovinomyces cichoracearum sensu lato* on *Cannabis sativa* in Israel. *New Disease Reports* 42: 11.
- McPartland J. M., Clarke R. C. and Watson D. P. (2017) Hemp diseases and pests: Management and biological control - an advanced treatise. CABI, Wallingford.
- Ostry V. (2008) *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal* 1: 175–188.
- Pépin N., Punja Z. K. and Joly D. L. (2018) Occurrence of powdery mildew caused by *Golovinomyces cichoracearum sensu lato* on *Cannabis sativa* in Canada. *Plant Disease* 102: 2644.
- Punja Z. K. (2020) Epidemiology of *Fusarium oxysporum* causing root and crown rot of cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) plants in commercial greenhouse production. doi: 10.1080/07060661.2020.1788165
- Punja Z. K. (2018) Flower and foliage-infecting pathogens of marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology* 40: 514–527.
- Punja Z. K., Collyer D., Scott C. *et al.* (2019) Pathogens and molds affecting production and quality of *Cannabis sativa* L. *Frontiers Plant Sciences* 10: 1–23.
- Punja Z. K., Scott C. and Chen S. (2018) Root and crown rot pathogens causing wilt symptoms on field-grown marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology* 40: 528–541.
- Ruchlemer R., Amit-Kohn M., Raveh D. and Hanuš L. (2015) Inhaled medicinal cannabis and the immunocompromised patient. *Support Care Cancer* 23: 819–822.
- Szarka D., Tymon L., Amsden B. *et al.* (2019) First report of powdery mildew caused by *Golovinomyces spadiceus* on industrial hemp (*Cannabis sativa*) in Kentucky. *Plant Disease* 103: 1773.
- Weldon W. A., Ullrich M. R., Smart L. B. *et al.* (2020) Cross-infectivity of powdery mildew isolates originating from hemp (*Cannabis sativa*) and Japanese hop (*Humulus japonicus*) in New York. *Plant Health Progress*. doi: 10.1094/PHP-09-19-0067-RS

אין להעתיק תמונות ואיורים מפרקי הספר

פרק 26: מחלות תפוח-אדמה בישראל

לאה צרור

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי, המכון להגנת הצומח, מרכז מחקר גילת

תקציר

פתוגנים, הכוללים פטריות, אואומיצטים, חיידקים, נגיפים ופרוטוזואה, גורמים למחלות שונות בתפוח-אדמה (תפוא"ד) ומובילים לנזקים כלכליים כבדים. הנזקים, המתבטאים כפחיתת יבול ו/או פגיעה באיכות של פקעות זריעה ופקעות למאכל ולתעשייה, משפיעים ברמה הגלובלית על כל שרשרת ייצור תפוא"ד. יתרה מכך, מאחר שחלק מהפתוגנים הינם שוכני קרקע (עם טווח פונדקאים רחב), יש צורך בנקיטת אמצעים דרסטיים, יקרים ולעיתים אף סותרים את הכללים בחקלאות בת קיימא, להקטנת האילוח. בפרק זה מתוארות מחלות חשובות בתפוא"ד בתנאי הגידול בישראל, תוך ציון הביולוגיה של הפתוגן, האפידמיולוגיה של המחלה והאמצעים להתמודדות עם המחלה ולצמצום הנזקים. בעידן של שינויי אקלים וההתחממות הגלובלית, ההתמודדות עם מחלות חדשות, או עם מחלות מוכרות המתפרצות מחדש, מהווה אתגר לקהילה המדעית. ככל שהיבטים שונים של המחלות ייחקרו באמצעות כלים מתקדמים, כך יהיה ניתן להגיע לפתרונות יעילים יותר להדברת המחלות ולהפחתת הנזקים הכלכליים.

אופן הציטוט: צרור ל' (2021) **מחלות תפוח-אדמה בישראל**. פרק 26, ע' 368-403 בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי - מכון וולקני, ראשון לציון <https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e57737>



מבוא

תפוח-אדמה בישראל

ייצור תפוחי אדמה (תפוא"ד) בישראל קשור באופן ישיר לייצור באירופה מכמה סיבות: הזנים אירופאים, פקעות הזריעה (להלן ייקראו 'זרעים', הגם שאינם זרעים אמיתיים אלא פקעות המשמשות לריבוי וגטטיבי) מיובאות מאירופה (הולנד, צרפת, גרמניה וסקוטלנד), ובחורף יש יצוא של תוצרת טרייה מזנים נדרשים באירופה. הגידול בארץ המרוכז באזור הנגב המערבי ובצפון הנגב, נעשה בשתי עונות עיקריות בהיקף של כ- 75,000 דונם בכל עונה: עונת האביב - זריעות דצמבר-פברואר, שימוש בזרעי יבוא (כ- 25-30,000 טון) ועונת סתיו-חורף - זריעות ספטמבר-נובמבר, שימוש בזרעים מקומיים שגודלו באביב (כ- 35,000 טון). לדוגמה, היקף הייצור בעונת 2018/19 הגיע לכ- 590 אלף טון (280 אלף לשיווק טרי בשוק מקומי, 75,000 לשיווק לתעשייה, 210,000 טון ליצוא, 25,000 טון לייצור זרעים לסתיו) (ארליך, 2019).

למרות שמיובאות רק אצוות מאושרות ע"י השירותים להגנת הצומח ולביקורת בהתאם לדרישות הפיטוסניטריות של מדינת ישראל, זרעי היבוא (שהם בד"כ דור שישי-שביעי או גבוה מכך) המגיעים לארץ בכל שנה מהווים מקור נגיעות במחוללי המחלות השונים אשר נישאים על פני הפקעת, עדשתיות, סדקים ופצעים, או בצרורות ההובלה של

הפקעת, באופן גלוי לעין או בסמוי (Tsrer et al., 1999a; Tsrer et al., 2012). נזקים כבדים עלולים להיגרם כתוצאה מהתפתחות מחלות ישירות במהלך עונת האביב, ובנוסף, בגלל מעבר גורמי המחלה גם לפקעות בת המשמשות לזריעה בעונת הסתיו-חורף, נגרם נזק גם בגידול החורפי. יתרה מכך, חלק ניכר מהפתוגנים הנישאים בזרעים הינם גם שוכני קרקע ולכן עלול להיגרם אילוח קרקעות המהווה בעיה גם בטווח הארוך, לא רק בתפוא"ד, אלא אף בגידולים נוספים הרגישים לחלק מהפתוגנים (לדוגמה, דוררת באבוקדו).

מחלות תפוח-אדמה

המחלות החשובות בתפוא"ד בישראל נגרמות ע"י מגוון רחב של מיקרואורגניזמים ביניהם: נגיפים, חיידקים, פטריות, אואומיצטים, ואף פרוטוזואה. מאחר והריבוי הינו וגטיבי, גורמי מחלה רבים נישאים בזרעים (על פניהם או בתוכם באופן סמוי) וחלקם הינם גם שוכני קרקע. המחלות השונות עלולות לפגוע בגידול ולגרם לפחיתה משמעותית ביבול ו/או באיכות הפקעות המשווקות. המחלות השונות עלולות להסב אובדני יבול ונזקים כלכליים ניכרים. המחלות גורמות לפגיעה בגידול כבר בשלב השדה אך חלקן גורמות להפחתת איכות התוצרת מאחר והן מתגברות ביתר שאת באחסון ושינוע של התוצרת. מחלות תפוא"ד כוללות מחלות נוף (לדוגמה כימשון וחלפת) בהן המחלה תוקפת את החלקים העל-אדמתיים של הצמח עם תסמינים כגון הצהבות עלים, נקרוזות עלים פטוטורות וגבעולים, ונבילה. כל אלה, פוגעים בהתפתחותו התקינה של הצמח ומקטינים את פוטנציאל היבול הסופי. אולם כתוצאה ממשקעים ו/או השקיה, נבגים ו/או תפטיר הנשטפים לקרקע עלולים להדביק את הפקעות ולגרם לנזק ישיר לאיכות הפקעות ולמשקלן.

חלק מהמחלות מתפתחות באופן מיטבי בעת אחסון הפקעות בתנאים של לחות מרובה וטמפרטורה נמוכה יחסית. גם מחלות אלה תחילתן במהלך גידול הצמח בשדה ולעיתים נראים תסמינים כבר בשלב האסיף. מחלות אחסון כוללות ריקבון (לח או יבש) ופגמים 'קוסמטיים' בקליפת הפקעות, לדוגמה מקמקת (פיתיום), כתמי כסף, ריקבון יבש (פוזריום). המחלות הקוסמטיות (Blemish diseases) של תפוא"ד פוגעות בעיקר באיכות הפקעות המשווקות והן כוללות ונימור שחור (ריזוקטוניה), כתמי כסף, ניקוד שחור (קולטוטריכום), גרב מצוי וגרב אבקתי. מאז שהחלו לשטוף את הפקעות לפני שיווקן כל הפגעים הקוסמטיים על הקליפה מתגלים מתחת לשאריות הקרקע, ובשל דרישת הצרכנים לפקעות חלקות ללא פגמים עלתה חשיבותן של מחלות אלה ונדרשים פתרונות וגישות שונות על מנת למזער נזקים. מחלות שוכנות קרקע תוקפות את החלקים התת-אדמתיים של הצמח [שורשים, סטולונים (שלוחות שבקצותיהן מתפתחות פקעות הבת), גבעול תת-אדמתי ופקעות] והן עלולות לפגוע ישירות בפקעות אך גם בתפקוד הצמח עקב חדירה לשורשים ו/או אף לצרורות ההובלה של הצמח, לדוגמה, הפתוגנים הפטרייתיים ורטיציליום וקולטוטריכום.

להיווצרות מחלה 'מוצלחת' נדרשים שלושה גורמים עיקריים – פונדקאי רגיש, פתוגן יעיל ותנאי סביבה המעודדים את התפתחות המחלה. באופן כללי, התמודדות עם מחלות נישאות בזרעים או בחומר ריבוי ובקרקע מחייבת שילוב של גישות הדברה שונות, תוך התחשבות בגורמים ביוטיים וא-ביוטיים המשפיעים על המחלה, וכך גם בתפוא"ד. הגישה העיקרית מתבססת על שימוש בזנים עמידים/סבילים למחלות, אולם בפועל מגדלים גם זנים רגישים בגלל ביקוש גבוה בשווקים השונים. הדרך היעילה והזולה להתמודד עם מחלות שוכנות קרקע המועברות בזרעים היא ע"י שימוש בחומר ריבוי נקי ממחלות. ניתן לעשות זאת ע"י בחירת אצוות זרעי יבוא נקיות ככל שניתן לעונת האביב וייצור זרעים מקומיים באיכות גבוהה לסתיו-חורף. אולם, בד"כ חומר הריבוי נגוע, ואז טיפולים מתאימים עשויים להפחית את פוטנציאל המחלה במהלך העונה, ואת בעיית אילוח הקרקעות. גישות נוספות בהתמודדות עם המחלות כוללות שימוש בקרקע נקיה מפתוגנים, גידול תפוא"ד במחזור 'זרעים' של 4-5 שנים, הימנעות מגידולים רגישים למחלות עיקריות/חשובות מבחינה כלכלית, השקיה ודישון אופטימליים להימנעות מעקות א-ביוטיות, זריעה בתנאים מיטביים ומניעת מים עומדים, **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **369**

סניטציה במהלך הגידול, אחסון ושינוע של תוצרת, לדוגמה, כלי עיבוד, מכלי אחסון, מי שטיפה של תוצרת טרייה וכו', אחסון מיטבי בטמפ' מתאימות עם אוורור למניעת היווצרות התעבות מים על הפקעות. בממשק של הדברה כימית, נדרשים שילובים במיכל הריסוס ו/או יישום לחילופין של פונגיצידיים מקבוצות פעולה שונות (סיסטמיים ופעילי מגע) בכדי להקטין את הסיכוי/סיכון של היווצרות גזעים עמידים של הפתוגן. בנוסף, הדברה מיטבית של עשבייה המקטינה את שכיחותם של פונדקאי משנה וכן הדברת מזיקים המקטינה את הפצתם של פתוגנים ו/או פגיעות בעלים או בשורשים המאפשרים חדירה קלה ואינטנסיבית של פתוגנים לצמח.

מחלות הנגרמות ע"י פטריות

מק שורש ונימור שחור (ריזוקטוניה) Black scurf, Rhizoctonia stem canker

גורם המחלה: *Rhizoctonia solani*

הפטרייה *R. solani* שהינה שוכנת קרקע ורב פונדקאית, גורמת למחלות חולי נופל ואחרות בגידולים רבים תוך גרימת נזקים כלכליים משמעותיים, ברמה גלובלית (Powelson and Rowe, 2008; Banville and Carling, 2001). בתפוא"ד, תסמיני מחלה הנגרמים על ידי ריזוקטוניה מתבטאים בשתי פאזות של הגידול, בחלקים התת- והעל-אדמתיים; הדבקה בשלב התפתחות הצמח גורמת לכיבים בגבעול (stem canker) והדבקה של פקעות גורמת ליצירת קשיונות על גבי הקליפה (black scurf) (תמונה 1) (Tsrar and Warshavsky, 2006; Tsrar, 2010a; Powelson and Rowe, 2008). הנזק העיקרי הנגרם במחלה הוא פגיעה באיכות היבול, כשהבולט בהם הוא קשיונות שחורים לא רגולריים בגדלים שונים על פני הקליפה אשר אינם נשטפים במים. בנגיעות קשה אף מתפתחים סדקים, עיוותים ('בובות') ושקעים יבשים בפקעות. כאשר הנגיעות מתבטאת כבר בשלבים מוקדמים של התפתחות הצמח עלולות להופיע נקרוזות בקצות הנבטים לפני הצצה, הגורמות לעומד לקוי. הכיבים בבסיס הגבעול הינם בצבע חום כהה והם עלולים לגרום לחיגור הגבעול והתמוטטות הצמח. כיבים עלולים להיווצר גם בסטולונים ובשורשים, וכך לפגוע בתפקודם ולהקטין את היבול (מספר פקעות ו/או משקלן).



תמונה 1. קשיונות אופייניים של ריזוקטוניה על גבי הקליפה (ימין ומרכז), וסדקי גידול (שמאל)

סימפטומים המופיעים בחלק העל-אדמתי כוללים שינויי צבע העלים (הצהבות ו/או צבע סגול), במיוחד באמירי הצמח, הופעת פקעיות בחיק גבעולים, וננסות הצמח. הנזק עלול להיות גם כמותי ולא רק איכותי (פקעות נגועות בקשיונות שחורים), עד כדי פחיתת יבול של 30%. בנגיעות קשה מופיע בבסיס הגבעול תפטיר ורדרד בהיר שהוא השלב המיני

של הפטרייה, *Thanatophorus cucumeris*. הנזק ממחלות הריזוקטוניה חמור יותר בטמפ' נמוכות וברטיבות קרקע גבוהה משום האטה בקצב ההצצה ועיכוב התפתחות גבעולים וסטולונים. המחלה בד"כ אינה מושפעת מתנאי האחסון ולכן אינה מוגדרת כמחלת אחסון, אולם ישנם דיווחים על התפתחות מועטה של תסמיני וסימני המחלה באחסון בטמפ' של 10-15 מ"צ בלחות גבוהה.

בפטרייה ריזוקטוניה קיימים מספר טיפוסים המוגדרים על פי יכולת איחוי תפטיר בין תבדידים שונים, המקטלגת אותם לקבוצות אנסטומוזיס (anastomosis group - AG) שונות. מוכרות כיום 13 קבוצות AG, כשהקבוצה AG-3 היא השכיחה ביותר בתפוא"ד. ישנה חשיבות רבה לקבוצת ה-AG מהיבט אפידמיולוגי ויעילות ההדברה תלויה בקבוצת האנסטומוזיס (Sharon et al., 2006; Tsrer, 2010a). הפטרייה כאמור הינה שוכנת קרקע אך נישאת גם בזרעי תפוא"ד, כאשר לשני מקורות אילוח אלה חשיבות רבה בהתפתחות המחלה על גבי הפקעות (Tsrer et al., 2005a; Brierley et al., 2016), אך החשיבות היחסית של כל גורם מידבק מושפעת מגורמים אחרים כגון טמפ' הקרקע, גיל פיסולוגי של הזרעים, משך הזמן להצצה וכו'.

ממשק הדברה כולל את האמצעים הכלליים הקשורים בהתמודדות עם מחלות שוכנות קרקע ונישאות בזרעים (פקעות זריעה). הדברה ביולוגית באמצעות קומפוסט ומיקרואוגניזמים מדברים ביולוגיים כגון טריכודרמה ותבדידי ריזוקטוניה היפווירולנטיים (בעלי אלימות נמוכה) (Miller and Hopkins, 2008; Tsrer et al., 2001a; Tsrer, 2010a) ובנוסף, יישום פונגיצידיים לזרעים ו/או לקרקע, שמניב תוצאות יעילות מאד בהדברה. יישום התכשירים אפשרי ע"י טיפול זרעים לפני שתילה, אך הדרך המקובלת ביותר היא ריסוס קרקע בפס הזריעה. חשוב לציין כי חומרת הנגיעות בקשיונות על גבי הפקעות מתגברת בפרק הזמן שבין הקמלת הנוף לאסיף, כנראה בגלל השינויים הפיסולוגיים בפקעות כתוצאה מהשמדת הנוף, ובנוסף, שחרור חומרים נדיפים מפקעות, שורשים וסטולונים המתפרקים בקרקע. לכן, קיצור משך השהיית הפקעות בקרקע לאחר השמדת הנוף עשוי להקטין משמעותית את היקף הנזק.

כתמי כסף Silver scurf

גורם המחלה: *Helminthosporium solani*

מחלת כתמי הכסף הנגרמת ע"י הפטרייה *H. solani* אינה גורמת לפחיתת יבולים בעת האסיף, אולם פוגעת קשה באיכות הפקעות (Errampalli et al., 2001; Gudmestad, 2008). המחלה מתפתחת ביתר שאת במהלך האחסון ופקעות נגועות עלולות להצטמק ולאבד ממשקלן. מאחר וכיום נהוגה שטיפה של פקעות טרם שיווקן, בעיית כתמי הכסף משמעותית יותר, בדומה למחלות קוסמטיות אחרות, ובעקבות הדרישות לאיכות גבוהה יותר ומודעות גוברת של הצרכנים הנזק הכלכלי משמעותי. הנזק הנגרם ע"י הפטרייה מתבטא בהופעת כתמים עגולים לא-רגולריים בצבע אפור-כסוף על פני הפקעת, עד לכיסוי שטח רחב של הפקעת (תמונה 2) (Tsrer and Warshavsky, 2006).

בתנאי אחסון חלה הפצה של הנבגים בחלל ופקעות נגועות עלולות להדביק ביעילות פקעות שכנות. 'כתמי הכסף' מהווים נקודות תורפה דרכם מתרחש איבוד לחות, ואכן במהלך אחסון ממושך מאבדות הפקעות את מוצקותן, הן מצטמקות וכתוצאה מכך ישנו פחת גדול במשקל. בזנים שהפקעות שלהם בצבע אדום חל שינוי צבע באזור הנגוע והנזק בולט יותר. מקור המדבק העיקרי הוא נבגי הפטרייה הנישאים בזרעים. הפטרייה חודרת בד"כ דרך העדשתיות של הפקעת ופוגעת בקליפה ללא חדירה לעומק. הפגיעה העיקרית היא במראה הקוסמטי של הפקעת מלבד הצטמקות באחסון ארוך או לקוי. הדבקות הפקעות נעשית לפני האסיף בתנאים של לחות גבוהה שהינה תנאי הכרחי להתפתחות המחלה. ככל שהפקעת נמצאת בקרקע זמן רב יותר התסמינים מתגברים. המחלה מתעצמת באחסון בתנאים של לחות גבוהה בהם נוצרת התעבות של מים על גבי הפקעות המעודדת את התפתחות הפטרייה.



תמונה 2. כתמי כסף אופייניים בזנים בעלי קליפה אדומה ולבנה (ימין ומרכז); פקעת מצומקת והנבגה בקצוות הכתמים (שמאל)

מחלת כתמי הכסף מתפתחת בטמפ' של 8-10 מ"צ, ובצורה פחותה בטמפ' נמוכות מ-5 מ"צ. הגלדה (dry curing) של הקליפה בפקעות המיועדות לאחסון ב-15 מ"צ עשויה להפחית את התבטאות המחלה באופן ניכר. מקור המידבק העיקרי הוא נבגי הפטרייה הנישאים על גבי פקעות הזריעה, שכן כושר הישרדות הפטרייה בקרקע על גבי שאריות צמחים מוגבל ביותר וניתן לקיצור בעת שתילה של פקעות זריעה נגועות בקרקע בתנאי לחות וטמפ' מתאימים, נבגי הפטרייה מתפתחים בשוליים של 'כתמי הכסף' על הפקעת ומשתחררים לקרקע במהלך הגידול, וכך חלה הדבקה של פקעות הבת. משום שהזרעים מהווים את מקור הנגיעות, הממשק להדברת המחלה מתמקד בעיקר בטיפולים מתאימים המיושמים בזרעים (לדוגמה, ריסוס בנפח נמוך של תכשירים שונים) (Tsrör and Peretz, 2002, 2004b). בעבר הזרעים טופלו בתכשירים מקבוצת תיאבנדזולים, אך מרבית תבדידי הפטרייה כיום עמידים לתכשיר. לכן, למניעת היווצרות גזעים עמידים של הפטרייה לתכשירים בעלי מנגנוני הדברה ספציפיים, יש לנקוט בשילוב תכשירים הפועלים במנגנוני הדברה שונים. בין הזנים ישנה רגישות שונה, אך בד"כ זנים בעלי קליפה אדומה רגישים יותר או שתמיני המחלה בהם בולטים יותר בהשוואה לזנים בעלי קליפה בהירה. כאמור, המחלה מוגדרת כמחלת אחסון ולכן תנאים מיטביים באחסון, כגון אוורור נאות, טמפ' נמוכות, הכנסת הפקעות כשהן במצב הגלדה מלאה, וחיטוי מתקני האחסון (החדרים ומכלי האחסון השונים), עשויים למנוע או להקטין במידה רבה את התפתחות המחלה (Rowe and Powelson, 2008).

ניקוד שחור (קולטוריקום) Black dot

גורם המחלה: *Colletotrichum coccodes*

מחלה זו נחשבה במשך זמן רב כמחלה מתונה התוקפת בעיקר צמחים חלשים ללא פגיעה ביבול. בנוסף, הפטרייה קולטוריקום הייתה מעורבת בסינדרום התמותה המוקדמת של תפוא"ד (Potato Early Dying) הנגרמת ע"י מספר פתוגנים כשהעיקרי בהם הוא *Verticillium dahliae* מחולל הדוררת (Rowe and Powelson, 2008). אך כיום, לאור דיווחים רבים (צפון אמריקה, אירופה, דרום אפריקה וישראל), ברור כי המחלה שכיחה במרבית אזורי הגידול והיא

פוגעת וגורמת לנזקים כלכליים ניכרים בתפוא"ד (Johnson et al., 2018; Tsrer et al., 1999b; Tsrer and Warshavsky, 2006).

הפטרייה *C. coccodes* תוקפת שורשים, סטולונים, גבעולים ועלים מוקדם יחסית בעונת הגידול. המחלה פוגעת באיכות הפקעות ועלולה אף לגרום פחיתת יבול, בייחוד בתנאי עקה. בישראל ובמדינות נוספות דווח על פחיתת יבול של עד 30% בזנים רגישים גם בנוכחות קולטוטריכום בלבד ללא פתוגנים אחרים (Tsrer et al., 1999b; Tsrer and Johnson, 2000; Johnson et al., 2018). הסימפטומים של המחלה כוללים כתמים חומים על העלים, על פטוטרות ועל הגבעולים, הצהבת עלים, נבילה ותמותה מוקדמת של הצמחים. תופעות הנבילה והתמותה המוקדמת של צמחים בשדה דומות לתסמינים הנגרמים ע"י מחלת הדוררת. על גבי הפקעות נראים כתמים בצבע חום-אפור מלווים בקשיונות שחורים של הפטרייה. סימני המחלה בפקעות דומים ביותר לסימני מחלת כתמי הכסף (תמונה 3). לעיתים עלולים להיווצר בפקעות גם תסמינים הדומים לחלפת (כתמים שקועים יבשים) (Glais and Andrivon, 2004). בנוסף, על פני הפקעות, בגבעולים תת-אדמתיים, בסטולונים ובשורשים מופיעים קשיונות, שהם גופים ברי-קיימא באמצעותם שורדת הפטרייה בקרקע במשך שנים רבות (תמונה 4).



תמונה 3. תסמיני קולטוטריכום על הפקעות; קשיונות קטנות המופיעות על הכתמים האפורים



תמונה 4. קשיונות של קולטוטריכום בגבעולים יבשים (קש) של תפוא"ד

הפטרייה קולטוטריכום מועברת ומופצת ביעילות רבה על ידי פקעות זריעה (על פני הפקעות ואף בצורה סמויה בתוך צרורות ההובלה) (Johnson et al., 2018; Tsrer et al., 1999a,b). בנוסף לכך, במהלך הגידול, הפטרייה מופצת גם באוויר באמצעות נבגים, בדומה למחלות נוף כגון חלפת או כימשון. הדבקות בפטרייה מתרחשות מוקדם

יחסית בעונה, ללא יצירת תסמינים, אלא רק כאשר הצמח נחשף למצב עקה או עם תחילת הזדקנותו. לעיתים, התסמינים המתפתחים בנוף אינם ספציפיים וניתן לטעות באבחון בגלל הדמיון לתסמיני דוררת, הזדקנות טבעית או מחסורי חנקן.

הפטרייה אינה מועברת מפקעת לפקעת באחסון, אך הדבקות סמויות הופכות לסימפטומטיות והכתמים מתרחבים עד לכיסוי נרחב של פני הפקעת. גבעולים יבשים הנשארים בחלקה עלולים להשפיע על מחזורי הגידול הבאים של תפוא"ד באותן חלקות. השפעת המחלה על יבול בתפוא"ד אינה עקבית, ומרמזת על אינטראקציה בין הפתוגן לבין גורמים ביוטיים וא-ביוטיים (Johnson et al., 2018; Tsrer and Hazanovsky, 2001c; Brierley et al., 2015; Nitzan and Tsrer, 2003; Tsrer, 2004a). בין הגורמים לכך: שונות באוכלוסיית הפתוגן, שונות הפונדקאי (זני תפוא"ד, בכירות הזן), תנאי סביבה ומשך הגידול, יישום תכשירי הדברה, תנאי אחסון, יחסי גומלין עם פתוגנים נוספים (כגון ורטיציליום וספונגוספורה) וכו'. בארץ, המחלה חמורה יותר בעונת סתיו-חורף (טמפ' גבוהות יחסית), בהשוואה לאביב, באדמות חול קלות ועניות בחומר אורגני (בדומה לחומרת מחלת הדוררת). צמחים ממשפחת הסולניים (כולל עשבי בר) הינם פונדקאים למחלה.

שונות באוכלוסיית הפתוגן: השלב המיני של הפטרייה אינו מוכר, אך ישנם מספר טיפוסים באוכלוסייה המוגדרים ומאופיינים כקבוצות התאם וגטטיבי (VCG (Vegetative Compatibility Groups), תבדידים השייכים לאותה קבוצה יכולים באמצעות איחוי קורים לבצע שחלוף של חומר גנטי. לתבדידים השייכים לאותה קבוצה ישנן תכונות דומות כגון אלימות כלפי הפונדקאי. בפטרייה קולטוטריכום מוכרות תת-אוכלוסיות מאירופה וישראל, צפון אמריקה, אוסטרליה ודרום אפריקה. בתת-אוכלוסייה אירופה-ישראל מוכרות 8 קבוצות VCGs, כאשר לתבדידים מקבוצות 5 ו-6 אגרסיביות רבה ביותר לתפוא"ד ולקבוצה 1 נמוכה ביותר (Nitzan et al., 2002; Shcolnick et al., 2007). בתת-אוכלוסייה של צפון אמריקה ישנן 7 קבוצות שונות מתת-אוכלוסייה אירופה-ישראל, בתת-אוכלוסייה של תבדידים מאוסטרליה 6 קבוצות התאם ואילו בתת-אוכלוסייה של תבדידים מדרום אפריקה לא ניתן היה למיין לקבוצות מכיוון שיצירת המוטנטים בתהליך הגדרת הקבוצות לא היה יעיל (Nitzan et al., 2006; Ben-Daniel et al., 2010). בין תת-אוכלוסיות מהיבשות השונות ישנן אינטראקציות מועטות העשויות לבוע ממסחר בזרעים במידה מוגבלת.

שונות תת-אוכלוסיית הקולטוטריכום מהיבשות השונות נבחנה גם בשיטה מולקולרית amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Alananbeh et al., 2014). הממצאים מאנליזה זו מצביעים כי האוכלוסייה העולמית של קולטוטריכום מהווה בעצם אוכלוסייה אחת רחבה עם 5 קבוצות עיקריות וכנראה מאותו מקור, אך הבידוד הגיאוגרפי של היבשות גרם כנראה לתת-צברים (VCG/AFLPs) ייחודיים.

הפטרייה תוקפת את הצמח באמצעות אנזימים שונים ביניהם פקטאט ליאז האחראי על פירוק דופן התא; תבדידים אגרסיביים הפרישו את האנזים מוקדם יותר. מוטנטים פגועים בגן ליצירת האנזים איבדו את הפתוגניות שלהם באופן חלקי (Ben-Daniel et al., 2012).

בממשק ההדברה של מחלה זו יש להתחשב בכל מקורות הנגיעות האפשריים בדומה למחלות אחרות המועברות בזרעים ובקרקע (Johnson et al., 2018; Tsrer et al., 1999b). בניסויי שדה בהם נבחנה השפעת פונגיצידיים המיושמים בפקעות זריעה ולא בריסוס פס הזריעה על הפחתת קולטוטריכום בתפוא"ד, נמצאו מספר תכשירים יעילים בהפחתת הפטרייה על פקעות הבת ולא בשאריות הצמחים הנותרים בשדה לאחר האסיף (המהווים את מקור המידבק למחזורי הגידול הבאים). חיטוי קרקע במתאם סודיום אינו יעיל, (Tsrer and Johnson, 2000; Johnson et al., 2018).

דורת הנגרמת ע"י הפטרייה שוכנת הקרקע *Verticillium dahlia*, הינה אחת המחלות העיקריות בתפוא"ד בישראל ובאזורי גידול אחרים בעולם (לדוגמה, מערב ארה"ב). מין נוסף של הפטרייה, *V. albo-atrum*, אופייני לאקלים ממוזג (טמפ' עד 21 מ"צ) ואינו מייצר קשיונות לא אובחן מעולם בישראל. הפטרייה תוקפת צמחים רבים, מעל 200 מינים, ביניהם גידולים חקלאיים רבים הכוללים מלבד תפוא"ד גם אגוזי אדמה, עגבניות, חצילים, מלונים, פלפלים, תות שדה, זיתים, אבוקדו, מנגו, נקטרינה, וגם צמחי בר שונים. הפטרייה שורדת בקרקע ובשאריות צמחים שנים רבות אף ללא פונדקאי באמצעות קשיוניות (*micro sclerotia*) הנוצרים על גבי השורשים וצואר השורש של הצמח הנגוע בסוף תקופת גידולו. בנוכחות פונדקאי מתאים קורים הנובטים מהקשיונות חודרים לשורשים הצעירים, לקורטקס ולצינורות העצה שם נוצרים נבגים המוסעים באמצעות המים עד לאמירים (Powelson and Rowe, 1993; Rowe and Powelson, 2002; Tsrar and Warshavsky, 2006).

הפטרייה ורטיציליום היא הגורם העיקרי לסינדרום ההזדקנות המוקדמת בתפוא"ד (Potato Early Dying; Powelson and Rowe, 1993). תסמיני המחלה כוללים: הצהבת עלים בצורה אופיינית חד צדדית (unilateral) בעלעלים או ענפים, והתייבשותם במהלך העונה, החמה בצורות ההובלה בבסיס הצמח ובפקעות, ננסות, נבילה ותמותה מוקדמת של הצמח (תמונות 5, 6).



תמונה 5. הצהבות עלים בצורה חד צדדית (שמאל) נבילה, הזדקנות מוקדמת ותמותה של צמחים בשדה (ימין)

המחלה גורמת לפחיתה של עד כמחצית מהיבול בזנים רגישים (בעיקר ירידה בגודל הפקעות ולא במספרן) והיא מושפעת מאינטראקציות ביוטיות וא-ביוטי (Dung and Johnson, 2012; Johnson and Dung, 2010). בסינדרום PED לוקחים חלק אורגניזמים נוספים כגון נמטודות חופשיות (*Pratylenchus penetrans*), פטריות (כגון קולטוטריכום), פרוטוזואה כגון (*Spongospora*) וחיידקים (*Pectobacterium*). המחלה מושפעת מגורמים א-ביוטיים שונים כגון עקות חום (טמפ' ושיעור גבוה של דיות *Evapotranspiration*), היא חמורה יותר בעונת הסתיו-חורף, רטיבות קרקע גבוהה, ובהשקיה מרובה.

מקבוצה 2 (A, B) התוקפים בנוסף לתפוא"ד גם גידולים אחרים כגון עגבנייה, פלפל וכו'. במערב ארה"ב הקבוצה הדומיננטית היא VCG 4A; קבוצות התאם שונות באזורי גידול תפוא"ד שונים בעולם קשורים כנראה במסחר ושינוע של פקעות זריעה.

במחקר שנעשה לאחרונה באמצעות טכנולוגיה של genotyping-by-sequencing (GBS), נמצא כי תבדידים מעשבי בר וגידולי תרבות שנאספו מחלקות עם היסטוריית דוררת בתפוא"ד היו זהים גנטית לתבדידים שמקורם מתפוא"ד, לכן, עשבי בר א-סימפטומטיים וגידולי תרבות במחזור הגידולים עלולים להוות 'מחסן' לאוכלוסיית הפטרייה מקבוצת ההתאם הדומיננטית בתפוא"ד VCG 4B, הפתוגניים לגידולים רבים. כל התבדידים ממאכסנים א-סימפטומטיים (בעיקר עשבי בר) היו מקבוצת התאם 4B בדומה לתבדידים מתפוא"ד ללא הבדלים גנטיים ביניהם, ואילו קבוצות VCG 2A, 2B, 4A נמצאו רק במאכסנים סימפטומטיים (Bautista-Jalon et al., 2021).

הפטרייה מופצת כאמור באמצעות פקעות זריעה (Tsrer et al., 1999a), קרקע נגועה המוסעת ברוח, זבל בע"ח, כלי עיבוד חקלאיים, ומי נגר ומכאן נגזר גם ממשק ההדברה. הגישות במניעת המחלה או הקטנת הנזק כוללות: שימוש בזנים סבילים, אך לעיתים החקלאים מגדלים גם זנים רגישים לאור דרישות השוק; שימוש בחומר ריבוי נקי הינו אמצעי חשוב במיוחד במניעה של הפצת המחלה ואילוח הקרקע, שכן המחלה הנגרמת ישירות רק ממקור נגיעות זה אינה חמורה, מכיוון שנדרש זמן ארוך להתבססות הפטרייה בקרקע וקיום מספר מחזורי גידול לקבלת ריכוז מידבק גבוה ואפקטיבי כאשר מידת הנגיעות בקרקע מושפעת במידה רבה גם ממחזור הגידולים בחלקה נתונה; סניטציה (כולל הדברת עשביה), וכן תנאי גידול אופטימליים (בעיקר הימנעות מהשקיה ודישון עודפים).

חיטוי קרקע טרום זריעה אפשרי בשיטות שונות כגון חיטוי סולארי, תוספים אורגניים, מדברים ביולוגיים והצנעת זבל ירוק (בעיקר ממשפ' המצליבים), אולם באופן מעשי השיטה העיקרית הינה חיטוי קרקע באמצעות מתאם סודיום (אדיגן) ביישום דרך מערכת ההשקיה או בהזרקה לקרקע, שיטה יעילה המפחיתה את רמת הדוררת בצורה מספקת עם יבולים גבוהים (Tsrer et al., 2005b). בשנים האחרונות נצפה חוסר עקביות ביעילות החיטוי הקשור כנראה בתופעה של פירוק ביולוגי מואץ של התכשיר בחלקות חקלאיות ע"י מיקרואורגניזמים בקרקע במיוחד לאחר יישומים חוזרים. לאחרונה דווח על ניסיון להפחית את המחלה בתפוא"ד (ובארטישוק באיטליה) באמצעות יישום פונגיצידיים. בניסויי בעצצים התקבלה יעילות גבוהה אולם בניסויי שדה התוצאות לא היו טובות דיין בכדי להצדיק שימוש מסחרי ונדרש המשך מחקר למציאת פרוטוקול ליישום יעיל יותר (Bubici et al., 2019).

נלפת Early blight

גורם המחלה: *Alternaria solani*

מחלת החלפת נחשבת כמחלת הזדקנות המתחילה בעלים המבוגרים וגורמת לכתמים נקרוטיים כהים בעלי עיגולים חד-מרכזיים (קונצנטריים) אופייניים (Tsrer, 2001; Jindo et al., 2021; Van der Waals et al., 2001; Rotem 1994; and Warshavsky, 2006). בהדבקת פקעות מופיעים על הקליפה כתמים עגולים כהים שקועים ויבשים (תמונה 7). חלפת גורמת לפחיתת יבול כתוצאה מתמותה מוקדמת של הנוף ובנוסף, התפתחות הריקבון היבש על הפקעות גורמת לפגיעה באיכותן ולשיווקן. המחלה הינה פוליציקלית, הדבקה ראשונית מתבצעת באמצעות נבגים המופצים באמצעות רוח, מים או חרקים עם חדירה ישירה לעלים או דרך פצעים שטחיים באפידרמיס. הדבקות משניות גורמות להתפתחות והתגברות תסמיני המחלה עד ליצירת אפידמיה. המחלה מתגברת מאד בעת סופות חול או בעקבות הזנת מזיקים הפוצעים אף הם את פני העלים. אילוח הפקעות חל במהלך האסיף במגע ישיר בין עלים נגועים לבין פקעות. המחלה מתפתחת בטווח רחב של טמפרטורות 10-35 מ"צ עם אופטימום של 20-30 מ"צ. הנבגים דמויי אלה עם מקור אופייני **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **377**

ארוך, בעלי דופן עבה בצבע חום בגלל תכולת מלנין המקנה לנבגים כושר הישרדות בשיירי צמחים בקרקע. ההנבגה החלה בעיקר אחרי השקיה או אחרי לילה עם רטיבות גבוהה מושפעת מקרינת השמש וניתן לראות את העיגולים הקונצנטריים בתגובה לחשיפה לשמש (Stevenson 1993).



תמונה 7. כתם קונצנטרי אופייני לחלפת על העלה (שמאל); ריקבון יבש שקוע בפקעת (ימין)

מין אחר של הסוג אלטרנריה, *A. alternata*, גורם לתופעת הכתמים החומים (Brown spot) הדומים למחסורי מנגן או פגיעת אוזון. המחלה הנגרמת על ידי *A. alternata* נקראת חלפת מנקדת. בניגוד למין *A. solani* התוקף בעיקר עלים מבוגרים, *A. alternata* תוקפת גם צמחים צעירים וגורמת ליצירת כתמים חומים ללא עיגולים חד-מרכזיים בעלים (בהתחלה בצד התחתון של העלה). הפטרייה אינה יכולה לחדור ישירות לעלה אלא רק דרך פצעים או פתחים טבעיים. טווח טמפר' של מין זה הוא 10-40 מ"צ עם אופטימום של 20-30 מ"צ. גם בהדבקה במין זה עלולה לחול הדבקת פקעות ועם תסמיני מחלה הדומים לאלה הנגרמים בחלפת.

ממשק הדברה כולל שימוש בזנים סבילים, בד"כ זנים בכירים הינם רגישים יותר למחלה. הימנעות מהשקיה בשעות חמות לאחר סופות חול והימנעות מאסיף של פקעות שקליפתן אינה יציבה. תכשירי הדברה פרוטקנטיים מגנים או מדברים את המחלה בשדה. בנגיעות חמורה נעשה שימוש בתכשירים סיסטמיים ייעודיים בעלי יעילות רבה (Van der Waals et al., 2001; Jindo et al., 2021).

ריקבון יבש (פוזריום) *Fusarium dry rot*

גורם המחלה: מיני פוזריום; *Fusarium* spp.

המחלה נגרמת ע"י קומפלקס של מיני פוזריום, ביניהם: *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. coeruleum* (syn. *F. solani* var. *coeruleum*), *F. sambucinum* (syn. *F. sulphureum*), *F. roseum* *F. oxysporum*.

המחלה מוגדרת כמחלת אחסון מאחר והיא פוגעת בפקעות בעיקר במהלך האחסון. התסמין האופייני הינו ריקבון יבש וקשה בצבע חום-שחור, בעוצמות שונות, לעיתים בצורת טבעות קונצנטריות סביב רקמה מתייבשת. הקליפה שוקעת ובחלל הנגע נראה לעתים תפטיר לבן של הפטרייה (תמונה 8). מתחת לאזור הטבעות הקונצנטריות ניתן להבחין ברקמה נקרוטית בצבע חום. בנוכחות חיידקים פקטוליטיים החודרים באזורים נגועים, עלול הריקבון להפוך במהירות לריקבון רך ולגרום לפירוק מוחלט של הפקעת (Wharton, 2007; Gudmestad, 2008; Rowe and Powelson, 2008; Tsrar and Warshavsky, 2006).

הפטרייה הנישאת בזרעים ואף שוכנת קרקע, תוקפת בעיקר פקעות פגועות (שנפצעו במהלך האסיף, המיון, הובלה והאחסון). הפגיעה העיקרית כאמור היא בעיקר באיכות הפקעות המאוחסנות. המחלה מתפתחת בטמפ' של 15-25 מ"צ בלחות גבוהה, אך עלולה להתפתח גם בטמפ' נמוכות יותר. פקעות רקובות מצטמקות והופכות למומיות תוך אובדן 6-60% מהפקעות. הפתוגן חודר לפקעת דרך פצעים ופגיעות מכניות המתרחשות בעיקר בעת האסיף, ולכן, המחלה מתבטאת מאוחר יותר באחסון. מפקעות זריעה נגועות מתפתחים גבעולים דקים מועטים, העומד לקוי ולכן עלול להיגרם אובדן יבול כבר בשלב השדה.

ממשק ההדברה כולל שימוש בזנים סבילים, הימנעות מפגיעות מכניות בפקעות במהלך האסיף, המיון והשיווק, עם הגלדה מיטבית של הקליפה והימנעות משימוש במכלי אחסון ובציוד מאולחים. בנוסף, ישנם תכשירים כימיים מורשים לחיטוי פקעות לפני האחסון ולפני זריעה, אך חלק מהמינים עמידים לחלק מהפונגיצידיים (Slack, 1993; Rowe and Powelson, 2008).



תמונה 8. ריקבון יבש הנגרם ע"י פוזריום (ימין ומרכז); תפטיר לבן של הפטרייה מופיע באזור הנגוע (שמאל)

מחלות הנגרמות ע"י אאומיציטים

כימשון *Late Blight*

גורם המחלה: *Phytophthora infestans*

כימשון הינה המחלה המוכרת והמשפיעה ביותר בתפוא"ד. בשנים 1846-1849 התחולל הרעב הגדול באירלנד (Great Irish Famine) שנגרם כתוצאה מהתפרצות מחלה זו שהביאה להשמדה של יבולי תפוא"ד, לתמותה של כמיליון איש ולהגירה של שני מיליון איש לצפון אמריקה (Erwin and Fry 2008; Rowe and Powelson, 2008; Ribeiro, 1996; Stevenson 1993; Vleeshouwers et al., 2011). גם כיום, למרות התקדמות רבה בתחום פיתוח פונגיצידיים, זנים עמידים ומערכות לחיזוי התפרצות המחלה, כימשון נחשבת עדיין למחלה קשה מאחר ואין אמצעים יעילים לנטרול מוחלט שלה בהתפרצות בשדה. למעשה מניעת המחלה היא המפתח להתמודדות עמה.

המחלה גורמת לפחיתה רבה ביבול, בעיקר אם ההדבקה התרחשה בשלבי הגידול הראשונים וגם איכות הפקעות עלולה להיפגע. פקעות נגועות ברמה נמוכה או באופן סמוי עלולות להירקב באופן מוחלט במהלך האחסון או במהלך שינוע בתובלה ימית. כאמור, בנגיעות קשה המחלה עלולה לגרום להשמדה מוחלטת של כל היבול. תסמיני המחלה:

כתמים כלורוטיים ונקרוטיים בעלים, בגבעולים ובפטוטרות, המוקפים בהילה אפורה של תפטיר לבן הנושא מנבגים (Tsror and Warshavsky, 2006). בנגיעות גבוהה ובתנאים מעודדי מחלה (בעיקר לחות גבוהה) הנוף מושמד תוך מספר ימים (תמונות 9, 10). הפתוגן הנשטף לקרקע מגיע לפקעות וגורם לכתמים חומים יבשים המתפתחים במהירות רבה לריקבון מוחלט (תמונה 11).



תמונה 9. כתמים חומים כהים בעלים (ימין); כתם אפרפר בצדו התחתון של העלה עם הנבגה (שמאל).



תמונה 10. גבעולים נגועים בכימשון

התפרצות המחלה תלויה בנוכחות מידבק ראשוני והתקדמותה תלויה בתנאי מזג האוויר. הדבקה ראשונית של הצמחים עלולה להתרחש כבר משלב ההצצה. תנאי ההדבקה הם כ- 4 שעות של מים חופשיים על פני הצמח בטמפרטורות קרירות של 12-22 מ"צ. הדבקת הפקעות מתרחשת באמצעות חי-נבגים (zoospores) החודרים לקרקע עם המים או במגע ישיר בין עלים וגבעולים נגועים לבין הפקעות. בארץ, ההופעה הראשונה של המחלה נצפית בד"כ בסוף אוקטובר תחילת נובמבר. והיא דועכת במאי.

האואומיצט *P. infestans* נחשב לפתוגן עם יכולת אבולוציונית גבוהה (high evolutionary potential) שכן הצלחתו של האואומיצט ההרסני אינה רק הודות לאלימותו הרבה אלא גם הודות ליכולתו להסתגל במהירות ולתקוף צמחים עמידים (Vleeshouwers et al., 2011; Fry et al., 2009). הרכב אוכלוסיית הפתוגן בישראל נלמד במשך 36 שנים (1983-2019) (Cohen et al., 2020) ונבדקו מספר גורמים, ביניהם: רגישות תבדידים לפונגיצידיים מקבוצת **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **380**

phenylamide, זוויג (mating type), גזע וגנוטיפ. המבנה הפנוטיפי והגנוטיפי של תבדידים מתפוא"ד השתנו באופן ניכר משנה לשנה, מעונה לעונה, במהלך העונה, ואף בתוך החלקה במהלך העונה. השתנות תכופה בהרכב האוכלוסייה חלה בעיקר בגלל אינטרודוקציה שנתית של תבדידי פיטופטורה מאירופה (באמצעות זרעי יבוא נגועים בכימשון גלוי או סמוי) וכתוצאה מתהליכי סלקציה fitness-driven. יכולת המעבר של הפתוגן בין העונות בארץ על גבי פקעות, צמחי ספיח או צמחי בר סולניים (כגון ויטניה משכרת ופטוניה); כושר הישרדות ותחרות בין התבדידים האנדמיים לתבדידים המיובאים, הקשור בעיקר בשינויים החלים מעונה לעונה ובמהלך העונה (Cohen et al., 2020). הפתוגן שורד בקרקע באמצעות אואוספורות או על ספיח תפוא"ד ופונדקאים אחרים ממשפ' הסולניים כגון עגבנייה וצמחי בר ממשפ' הסולניים.



תמונה 11. כתמים חומים-בגוון חלודה בתוך הפקעות הנגועות בכימשון (ימין); תפטיר מתפתח בפקעת נגועה חתוכה (שמאל)

מניעת המחלה מספר היבטים חשובים. הפתוגן עלול לשרוד בפקעות נגועות הנותרות בקרקע לאחר האסיף או בערימות של פקעות פסולות בגלל נגיעות במחלה. לכן, יש לאסוף את כל הפקעות במחזור הגידול הקודם ולבער צמחי ספיח בחלקה, להשמיד או לסלק מצבורים של פקעות נגועות. כמו כן, להימנע משימוש בזרעים נגועים באופן סמוי. התפשטות המחלה לאחר הופעת מוקד מחלה ראשוני בשדה תלויה מאד בתנאי מזג האוויר, טמפ' מעל 10 מ"צ ולחות יחסית מעל 95% ולכן נדרשים פיקוח ומעקב בשדה, ריסוסי מניעה והתאמת משטר ריסוסים לתחזיות התפשטות המחלה על פי תנאי מזג האוויר.

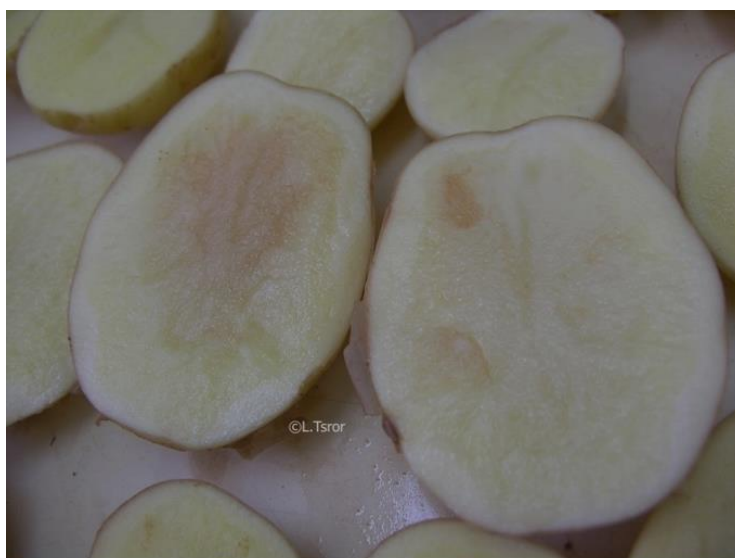
התמודדות עם הכימשון מחייבת גישה אינטגרטיבית הכוללת שילוב של אמצעים שונים. קיימים זנים עמידים למחלה (זהו למעשה האמצעי העיקרי בו נוקטים בסקטור האורגני), אלא שהעמידות עלולה להישבר מהר יחסית עם הופעת גזעים פיסילוגיים חדשים של הפתוגן. בנוסף, שימוש בזרעים חופשיים מהפתוגן, סניטציה הכוללת ביעור צמחי ספיח ופונדקאים אחרים הנמצאים בשדה, השקיה בלילה למניעת היווצרות תנאים מיטביים להדבקה, עיבודי קרקע ללא חריצים למניעת הדבקה של פקעות, אחסון בתנאים מיטביים עם אוורור וזרימת אויר חופשית והוצאת פקעות נגועות מהאחסון למניעת הדבקה של פקעות שכנות. האמצעי המקובל להדברת המחלה הינו ריסוס בפונגיצידיים מונעים או סיסטמיים. בד"כ, מניעת המחלה מתאפשרת ע"י משטר ריסוסים בתכשירי הדברה בעלי תחום פעולה רחב ועצירת

המחלה באמצעות תכשירים סיסטמיים המיושמים רק בעת הצורך ובד"כ בשילוב של תכשיר עם רכיב בעל טווח פעולה רחב להקטנת הסיכוי להיווצרות גזעים עמידים.

ריקבון ורוד Pink Rot

גורם המחלה *Phytophthora erythroseptica*

ריקבון ורוד נגרם ע"י אאומיצט ממין אחר של פיטופטורה (Erwin and Ribeiro, 1996; Rowe and Nielsen, 1981). המחלה אובחנה בישראל ב- 2013-14 אך כנראה הייתה מצויה כבר קודם לכן ללא גרימת נזק ולכן לא אובחנה. המחלה הופיעה רק בנגב המערבי בעונת החורף. הפתוגן תוקף חלקים תת-אדמתיים של הצמח. לעיתים חל עיכוב בהתפתחות הצמחים, התעבות בבסיס הגבעול התת-אדמתי עם החמה-השחרה בצרורות ההובלה. פקעות עלולות להירקב ללא תסמינים בנוף. התסמין האופייני של ריקבון ורוד בפקעות שגם מקנה לה את שמה הינו ריקבון פנימי נטול ריח עם הפרשת נוזל (ooze). בעת חיתוך הפקעות האזור הנגוע משנה את צבעו מאפור בהיר לוורוד-סלמון ומאוחר יותר לצבע חום כהה-שחור (תמונה 12). עם הזמן הפקעת נרקבת לחלוטין (Gudmestad, 2008; Miller and Scheider, 2003).



תמונה 12. הופעת צבע ורוד (סלמון) בפקעות חתוכות הנגועות בריקבון ורוד

המחלה עלולה לגרום לפגיעה ביבול ברמות שונות ואף לפגיעה באיכות הפקעות (Wharton and Kirk, 2009). הפתוגן מועבר בזרעים באופן סמוי והוא אף שורד בקרקע באמצעות אואוספורות. לכן, אחד האמצעים במניעת המחלה הינו שימוש בזרעים חופשיים מגורם המחלה והימנעות משימוש בחלקות בעלות היסטוריה של ריקבון ורוד בעבר. אוורור מאולץ בתנאים יבשים וקירור מהיר של הפקעות עשוי להגביל את התפתחות המחלה באחסון. בהתמודדות עם ריקבון ורוד נעשה שימוש בפונגיצידיים המפחיתים כימסון או פיתיום (Wicks et al., 2000), אך בעילות מוגבלת. בנוסף, יישום חומצה פוספיטית נמצא יעיל בהפחתת המחלה (Al-Mughrabi et al., 2007).

מקמקת הנגרמת על-ידי האוואמיצט *Pythium ultimum* (Powelson and Rowe, 2008), הינה מחלה בעייתית בעיקר באזור הנגב בזריעות המוקדמות של ספטמבר (טמפרטורות גבוהות יחסית) עם אסיף בינואר-פברואר (טמפרטורות נמוכות יחסית). המחלה מאופיינת בכתמים חומים-שחורים על הפקעת, המתחילים באזור הסטולון ועלולים להתפשט על פני כל הפקעת (תמונה 13) (Tsrer and Warshavsky, 2006).



תמונה 13. תסמיני מקמקת (פיתיום) בפקעות נגועות בדרגות שונות

המחלה גורמת לפגיעה קשה באיכות הפקעות בגלל הפגיעה במראה הקוסמטי והיווצרות ריקבון לח, המתפתחים בשלב מתקדם כאשר חיידקים פקטוליטיים מתרבים בפקעות. תסמיני המחלה נראים בדרך כלל רק לאחר שריפת נוף, והם מתגברים במהלך הזמן. הפקעות הנגועות אינן ניתנות למיון, שכן בזמן האסיף הפקעות מכוסות בקרקע המסתירה את מרבית הכתמים, וכתוצאה מכך נגרם נזק כלכלי קשה לגידול. מקור הנגיעות הינו מידבק הפתוגן השורד בקרקע באמצעות אוואספורות. ההדבקה מתרחשת כנראה דרך עדשתיות פתוחות ודרך פצעים בתנאי רטיבות. עיקר ההדבקה מתרחשת בשלהי הגידול, ומתגברת במיוחד באסיף ובמיון בגלל פגיעות מכניות המעודדות את חדירת הפתוגן לפקעות (Salas and Secor, 2001). אוכלוסיות הפתוגן בקרקע תוקפות גם פונדקאים נוספים רבים כגון גזר, אגוזי אדמה, אפונה וכו'.

ממשק ההדברה כולל שימוש בזנים שרגישותם פחותה (Hollingshead et al., 2020), מניעת פגעים מכניים באסיף ובמיון ואוורור נאות באחסון. חיטוי קרקע במתאם סודיום יעיל ומפחית את רמת המידבק, אלא שבחלקות עם פירוק מואץ הוא אינו אפקטיבי. הדברה כימית באמצעות תכשירי הדברה סיסטמיים היעילים כנגד כימשון, יעילים גם בהפחתת פיתיום. יישום מטלקסיל בפס הזריעה לפני או בריסוסי נוף במהלך עונת הגידול או שילוב של שתי השיטות הפחית באופן מובהק את שיעור הנגיעות בפקעות (צרור וחוב' 2018, 2019, 2021a). הטיפול היעילים ביותר היו ריסוס נוף במועד סמוך להקמלת הנוף (כ- 3 שבועות לפני אסיף) או במועד הזריעה כטיפול קרקע בפס הזריעה.

גורם המחלה: *Spongospora subterranea* subsp. *subterranea* הפתוגן הינו מיקרואורגניזם אאוקריוטי מסדרת ה- Plasmodiophoraceae מממלכת הפרוטוזואה. לפתוגן צורת חיים טפילית מוחלטת, הוא מתקיים ומשלים את מחזור החיים רק בתוך תא צמחי חי (Merz and Falloon, 2009; Merz, 2008).

הגרב האבקתי בתפוא"ד עלול לגרום לנזק כלכלי כבד בעיקר כתוצאה מפגיעה קשה באיכות הפקעות, עד כדי פסילתן לשיווק. דיווחים מניו-זילנד ואוסטרליה מצביעים גם על פחיתה משמעותית ביבול כתוצאה מפגיעה במערכת השורשים, אך בישראל ובמערב ארה"ב לא תועדה הקטנה ביבולים (Falloon et al., 2016; Johnson and Cummings, 2015; Tsrör et al., 2019a, 2020c). המחלה זוהתה לראשונה בגרמניה ב-1841. מקורה ככל הנראה מהאנדים ובעקבות התרחבות המסחר בפקעות תפוא"ד היא התפשטה ברחבי העולם.

תסמיני המחלה האופייניים העיקריים מופיעים על הפקעות בצורת פצעים כהים (בקוטר של 2-20 מ"מ) הפורצים את קליפת הפקעת כלפי חוץ (תמונה 14) והם יכולים לכסות חלקים ניכרים מפני הפקעות ולגרום לפגיעה קשה באיכותן. ברמות נגיעות גבוהות נוצרים בפקעת גם עיוותים וגידולי משנה (Tsrör and Warshavsky, 2006). הפצעים (הדומים לעתים לפצעי הגרב המצוי) מכילים אבקה כהה של צברי נבגי-קיימא (Sporosori) ובכל אחד כ- 700 נבגים; מכאן נגזר שם המחלה "גרב אבקתי". בנוסף על התסמינים בפקעות מופיעים עפצים על גבי השורשים והסטולונים וגם הם מכילים את נבגי הקיימא אשר באמצעותם שורד הפתוגן בקרקע למשך כ-20 שנים (תמונה 15). גופי-הקיימא שורדים גם מעבר במערכת העיכול של בע"ח (Balendres et al., 2017).



תמונה 14: תסמינים של גרב אבקתי על פקעות מזנים שונים (3 תמונות עליונות); המופע ה'סרטני' של המחלה, פקעות מעוותות עם גידולי משנה (תמונות תחתונות, ימין ומרכז); פקעות עם תסמינים אופייניים בשש רמות נגיעות (תמונה תחתונה מימין)



תמונה 15: עפצים הנגרמים ע"י מחולל הגרב האבקתי בשורשים (ימין) ובסטולונים (שמאל)

גרב אבקתי מתפתח בתנאים מתאימים (פונדקאי, טמפרטורה ולחות), רק בתגובה להפרשות אקסודאטים מהצמחים הפונדקאים (Balendres et al., 2016a). כאשר מכל נבג נובטת זואוספורה (חי-נבג) ראשונית בעלת שוטונים (primary zoospore), המתפתחת לפלסמודיום ראשוני, לאחר מכן לזואוספורנגיום, בו מתפתחות זואוספורות משניות (secondary zoospore), אף הן בעלות כושר תנועה, החודרות לשורשים, לסטולונים ולפקעות (Balendres et al., 2016b). הדבקות משניות יכולות להישנות ולחזור על עצמן באותה עונה בהתאם לתנאי הסביבה ולכן המחלה הינה פוליציקלית, דהיינו די בריכוז מידבק נמוך בכדי לגרום למחלה חמורה (Brierley et al., 2013). תנאי הסביבה כאמור הינם הגורם המכריע בהתפתחות המחלה, בהתבסס על נוכחות מידבק, טמפרטורה (שחרור זואוספורות - 5-25 מ"צ, הדבקות פקעות - 11-14 מ"צ, יצירת עפצים - 17-20 מ"צ), לחות גבוהה ונוכחות מים חופשיים, חוסר אורור/ניקוז הקרקע (ריכוז חמצן נמוך). גם מחזורים של הרטבה וייבוש (כפי שנהוג במשטר השקיה לסירוגין) מעודדים את התפתחות המחלה, ומשום כך גם בקרקע חולית עלולים להתפתח תנאים מתאימים להתבטאות המחלה (Van der Graaf et al., 2007).

בארץ, המחלה מופיעה הן באביב והן בחורף במידה ומתקיימים התנאים הנדרשים להתפתחותה. הפתוגן מועבר ומופץ ביעילות באמצעות פקעות זריעה (בעיקר יבוא מסקוטלנד ומגרמניה), רוחות, סופות חול, כלי עיבוד וכן בזבל (שורד מעבר במערכת עיכול של בעלי-חיים). כל אלה מקשים מאוד על ההתמודדות עם הפתוגן. חשוב לציין שמקור הנגיעות המשמעותי יותר להתבטאות מחלה בפקעות הינו נגיעות בקרקע ואילו לנגיעות בפקעות הזריעה תפקיד חשוב בהפצת המחלה ובאילוח קרקעות. אולם, כאשר נגיעות הזרעים גבוהה והתנאים מתאימים להתפתחות מחלה, עלולה להתרחש הדבקה והופעת תסמינים בפקעות הבת ובשורשים, תוך הסבת נזק כלכלי ליבול. הפתוגן מוכר גם כווקטור של נגיף ה-MOP TOP, הגורם לסדקים בפקעת. בישראל, תסמיני הנגיף לא נצפו עד כה. במחקר שנעשה לאחרונה, נמצא כי מחולל הגרב האבקתי מופץ באמצעות רוח וסופות חול וכך חלקות בתולות או חלקות מחוטאות מתאלחות. הפתוגן אובחן במלכודות נבגים שהוצבו בחלקות בור בסמוך לחלקות בעלות היסטוריה של גרב אבקתי וכן בדגימות קרקע שנאספו בחלקות הבור (Tsrer et al., 2020a).

טווח הפונדקאים של הפתוגן מצומצם כולל צמחי תרבות, החשוב ביניהם עגבנייה וכן עשבי בר ממשפ' הסולניים וממשפחות נוספות. במחקר שנעשה לאחרונה ארץ, נאספו עשבי בר וצמחי ספיח של גידולי התרבות, הנותרים מעונות

גידול קודמות בשטח וכן מחלקות עם הסטוריית גרב אבקתי וחלקם נמצאו חיוביים לפתוגן ללא כל תסמינים נראים לעין. הרגישות של המינים הללו אושרה גם בהדבקות מלאכותיות. כמו כן נאספו גידולי תרבות שונים הגדלים במחזור עם תפוא"ד ונמצא כי צמחי חיטה היו חיוביים. בצמחים נבדקה נוכחות עפצים בשורשים (אשר לא נמצאו באף אחד מהמינים במהלך המחקר), ונוכחות הפתוגן בתאי השורש נבדקה ברמה המיקרוסקופית וברמה המולקולרית (באמצעות אנליזת qPCR). נמצא כי 16 מיני בר מ-8 משפחות וחיטה תרבותית ממשפחת הדגניים היו נגועים בפתוגן באופן סמוי. בין מיני הבר נמצאו: סולנום שחור וסולנום זיתני (סולניים); דגנין מצוי, חפורית קטנה ויבלית מצויה (דגניים); טוריים מצויים, כרוב החוף ומנתור מצוי (מצליבים); ירבוז לבן (ירבוזיים); כף אווז האשפות, כף אווז הגינות ומלחית הבורית (סלקיים); אספסת מצויה וקדד מדברי (קטניות); כנפון זהוב (מורכבים) וקוטב מצוי (זוגניים). בהדבקות מלאכותיות נמצאו חיוביים לפתוגן 13 מיני בר מ-8 משפחות, ו-12 גידולי תרבות מ-5 משפחות. המינים הם: סולנום שחור (סולניים); זיפן מצוי, חפורית מוזרה וחפורית קטנה (דגניים); חרדל השדה, חרדל/כרוב שחור וטוריים מצויים (מצליבים); ירבוז לבן וירבוז מופשל (ירבוזיים); כף אווז האשפות (סלקיים); חלמית מצויה (חלמיתיים); אמיתה גדולה (סוכניים); חרצית השדות (מורכבים) ו-עגבנייה (סולניים); חיטה תרבותית (זנים: "גליל", "יובל", "דורום", "C9 שיבולת שועל" פאיה 4", שעורה "מענית", "נוגה" (דגניים); צנונית (מצליבים); בצל ירוק (שושניים); אגוזי אדמה ואספסת (קטניות) (Tsrer et al., 2020b).

ממשק ההדברה של גרב אבקתי מורכב ומתבסס על מספר גישות ואמצעים (Falloon, 2008). הוא כולל שימוש בזרעים נקיים, אך יש לציין כי עלולה להיות גם נגיעות סמויה שאינה מנוטרת; שימוש בקרקע נקיה מהפתוגן, ובדיקה מעבדתית מבוססת PCR לנוכחות הפתוגן בקרקע (Brierley et al., 2009); זנים סבילים - אין בנמצא כיום זנים מסחריים עמידים למחלה, ובניסויי שדה בחלקות נגועות ובניסויים עם הדבקה מלאכותית שנערכו בארץ נמצאה שונות רבה ברגישות הזנים המקובלים (Tsrer et al., 2021c; Falloon, 2009); מניפולציה מלאכותית בתנאים ובייחוד בטמפרטורה - הכוונת מועד הזריעה בחורף לאוקטובר במקום נובמבר והלאה, עשויה להקטין את הסיכוי להדבקה בפתוגן והתפתחות המחלה, משום שהטמפרטורות אינן נמוכות דיין (Tsrer et al., 2021c); כמו כן, כיסוי הנוף ברשת אגריל בפאזה הראשונה של הגידול (שבוע אחרי זריעה עד גמר יצירת פקעות 60-70 יום לאחר זריעה) משפיע על הטמפרטורה, העולה במספר מעלות כך שהמחלה מעוכבת התפתחות (Tsrer et al., 2020c).

הדברה כימית כוללת טיפולי קרקע שונים: חיטוי קרקע בתכשירים מחטאי קרקע טרום שתילה, מתאם-סודיום ביישום דרך המים במערכת השקיה וכלורופיקרין בהזרקה לקרקע מלווה בכיסוי פלסטיק (, צרור וחובי 2012, 2014, 2016, 2019, 2019a, 2019). כלורופיקרין נמצא יעיל בהפחתת המחלה בפקעות הבת ובהפחתת יצירת העפצים בשורשים אלא שמסיבות שונות לא קודם הרישוי של התכשיר בישראל, בעוד שבארה"ב הוא אמצעי מקובל אך בהידוק קרקע ולא כיסוי בפלסטיק לאחר היישום. מתאם סודיום נמצא אף הוא יעיל בהפחתת גרב אבקתי אלא שבמינונים גבוהים יותר מאשר נהוג ליישם להדברת מחלת הדוררת. רמת הפתוגן בקרקע בעקבות חיטוי הקרקע עם שני התכשירים הופחתה במידה משמעותית ומובהקת. אולם, בסוף עונת הגידול, אוכלוסיית הפתוגן עלתה שוב לרמות המידבק ההתחלתיות (לפני החיטוי), ומכאן ניתן להסיק כי יעילותם מוגבלת לעונת גידול אחת בלבד. בעבר, מתיל ברומיד נמצא יעיל בהדברת המחלה אך נאסר השימוש בו. בנוסף, גם טיפולי קרקע בפונגיצידיים, ביישום לקרקע בפס או לרוחב הערוגה ותיחוח, בעיקר מבוססי fluazinam הראו יעילות רבה בהפחתת המחלה והנזק (, Tsrer et al., 2019a, 2020c).

רגל שחורה וריקבון רך של פקעות וגבעולים Blackleg and soft rot diseases

גורמי המחלה: *Pectobacterium* spp.; *Dickeya* spp.

החיידקים מהסוגים *Dickeya* ו-*Pectobacterium* ממשפחת *Pectobacteriaceae* (בעבר נקראו חיידקי ארוויניה - *Erwinia*) גורמים למחלות בגידולים רבים בנוסף לתפוא"ד הכוללים ירקות, גידולי שדה, צמחי נוי ועצי פרי שונים (גזר, כרוב, סלרי, פלפל, אורז, תירס, נץ חלב, יקינטון, דליה, חרצית, מנגו ועוד). התסמינים במגוון פונדקאים הינם בעיקר ריקבון רך של גבעולים ופקעות, הצהבות עלים ותמותת צמחים. המחלות הנגרמות ע"י חיידקים פקטוליטיים פוגעות באופן ניכר בגידול תפוא"ד בעולם בכלל ובישראל בפרט, תוך גרימת נזקים חמורים בשדה ובתוצרת מאוחסנת.

התסמינים האופייניים של מחלות הרגל השחורה וריקבון רך בתפוא"ד כוללים ריקבון שחור של בסיס הגבעול ('רגל שחורה'), ושל הגבעולים העליונים, הנגרמים בעיקר ע"י הסוג *Pectobacterium* (תמונה 16) ונבילה איטית של צמחים הנגרמת בעיקר ע"י הסוג *Dickeya* (תמונה 17) (Tsrer and Warshavsky, 2006). בנוסף, שני הסוגים גורמים גם לריקבון רך (soft rot) של הפקעות העלול להתחיל בשדה ולהקטין באופן משמעותי את ההצצה, ולהתגבר בזמן אסיף, שינוע ובאחסון. תסמיני המחלה והנזקים לגידול נגרמים על פי רוב ע"י קומפלקס של מינים משני הסוגים הנ"ל, וזאת באמצעות אנזימים פקטוליטיים המפרקים את הדפנות ואת למלות הביניים של תאי הצמח.

התפוצה הגבוהה קשורה בעיקרה במסחר הגלובלי בחומר ריבוי וגטטיבי נגוע כגון פקעות תפוא"ד לזריעה ופקעות או בצלים של צמחי נוי. חלק מחיידקים אלה הינם וסקולאריים, המתבססים בצרורות העצה ומתפשטים בצמח באופן סיסטמי וגורמים לנבילה של הצמח. רטיבות/לחות גבוהה (בקרע, בנוף ועל פני הפקעות) גורמת לתנאים אנאירוביים מקומיים ואוורור לקוי (ריכוז נמוך של חמצן) המעודדים את התפתחות החיידקים. החיידקים אינם שורדים בקרקע אך יכולים לעבור מצמח לצמח בנוכחות מים חופשיים ולהתקיים לתקופה קצרה כספרופיטים. בנוסף לחומר ריבוי נגוע הם מופצים גם באמצעות שאריות צמחים, מי השקיה, גשם, אירוסול, מיכון חקלאי, פונדקאים אלטרנטיביים ובאמצעות עשבי בר המהווים פונדקאי ביניים (Tsrer et al., 2009; 2010b; 2019b).

בסוג *Pectobacterium* מוכרים כיום 12 מינים: *P. aroidearum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculorum*, *P. brasiliense*, *P. cacticida*, *P. carotovorum*, *P. odoriferum*, *P. parmentieri*, *P. peruviense*, *P. polaris*, *P. punjabense* *P. wasabiae* - שמונה ממינים אלו נמצאו בתפוא"ד, כשהעיקריים הגורמים נזק כבד הם *P. atrosepticum*, *P. parmentieri*, *P. carotovorum*, *P. brasiliense* ו-*P. atrosepticum*. בסוג *Dickeya* מוכרים 6 מינים: *D. aquatica*, *D. chrysanthemii*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. fangzhongdai*, *D. paradisiaca*, *D. solani*, *D. zeae* - and *D. zeae* - רק שניים מהם נמצאו בתפוא"ד, ושניהם גורמים לנזק כבד - *D. solani* ו-*D. dianthicola*. לחיידקי *Pectobacterium* טווח פונדקאים רחב ושליש מהם הינם פונדקאים גם של הסוג *Dickeya* (Charkowski et al., 2020; Toth et al., 2011).

לתנאי הסביבה השפעה גדולה על התפרצות המחלות. לדוגמה, *P. parmentieri* ו-*P. atrosepticum* לא יתפתחו בטמפרטורות מעל 33 מ"צ, ואילו *P. carotovorum*, *P. brasiliense* ו-*D. solani* יתפתחו בטמפ' גבוהות יותר (עד 39 מ"צ). ייצור פקעות זריעה מתבסס על שימוש בצמחונים חופשיים מהפתוגנים להפקת פקעיות (mini-tubers). אולם, עם הגידול בשדה מתפתחות אוכלוסיות החיידקים הפקטוליטיים וככל שמספר הדורות בשדה גבוה יותר, כך עולה שיעור הנגיעות (בד"כ סמויה) בפקעות הזריעה. התפשטות אינטנסיבית של החיידקים הפקטוליטיים מתרחשת בעיקר באסיף, אז מועברים החיידקים מגבעולים ופקעות נגועות לפקעות נקיות. החיידקים נמצאים בצרורות

ההובלה בצד הסטולון ובעדשתיות על פני הפקעת. הנגיעות הסמויה היא הבעייתית מאחר ולא נראים לעין כל תסמיני מחלה.



תמונה 16. תסמינים הנגרמים על ידי *Pectobacterium*. הצהבת עלים (תמונה עליונה), ריקבון שחור בבסיס הגבעול (ימין) וריקבון רך בפקעות (שמאל)

בארץ, מינים שונים של *Pectobacterium* פוגעים בירקות ובצמחי נוי; המינים העיקריים כיום הפוגעים בתפוא"ד הם *Dickeya solani* (Ds) ו-*Pectobacterium brasiliense* (Pbr). ייצור תפוא"ד בארץ קשור באופן ישיר לגידול תפוא"ד באירופה מאחר ישראל מייבאת בכל שנה כ- 25-30,000 טון פקעות זריעה לעונת האביב. מקור הנגיעות בחיידקים הפקטוליטיים הוא בפקעות הזריעה המיובאות הנגועות באופן סמוי (Tsror et al., 2012). הנזק הכבד נגרם **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד' (פתולוגיה של צמחים, מכון וולקני) **388**

כתוצאה מהתפתחות המחלות במהלך עונת האביב, ובנוסף, משום העברת החיידקים גם לפקעות בת המשמשות לזריעה בעונת הסתיו-חורף, נגרם נזק גם בגידול החורפי. המאפיין את החיידקים הפקטוליטיים הללו הוא התאמה לטמפרטורות גבוהות יחסית. ההתחממות הגלובלית עשויה להסביר את ההתפרצות שחלה באירופה ועל אחת כמה וכמה בישראל. התבטאות מחלה בשדה מקורה בפקעות זריעה נגועות, אך בתנאי סביבה שאינם מעודדים (טמפי ולחות) המחלה נשארת סמויה.



תמונה 17. תסמינים הנגרמים ע"י *Dickeya solani*. נבילה (ימין למעלה), התייבשות עלים (שמאל למעלה), החמה בצרורות הובלה (שמאל למטה) וריקבון פקעות (מרכז וימין למטה).

החיידק Ds, הינו מין חדש שהתגלה ב- 2005 (Tsrör et al., 2009, 2013); צרור וחוב' 2008, 2011, 2012, ומשום האלימות שלו בטמפי' גבוהות יחסית וטווח הפונדקאים הרחב שלו (הכולל לדוגמה עגבנייה, גזר, צנונית, תירס ומגוון צמחי נוי), הוא מוגדר כחיידק הסגר בישראל, עם אפס סבילות לאינטרודוקציה שלו בפקעות זריעה של תפוא"ד. מקור החיידק בבצלי יקינטון בהולנד, הועבר לתפוא"ד והופץ באמצעות פקעות זריעה בכל אירופה והגיע גם לישראל. תבדידי חיידקים שבודדו מצמחים בארץ, הגם שהינם זהים מבחינה מולקולרית לתבדידים אירופיים, אלימים

יותר. Ds היה המין הדומיננטי בתפוא"ד באירופה ובישראל עד 2013 ומאז נמצא במגמת ירידה. לעומת זאת, החיידק Pbr שהתפשט באירופה גם כן באמצעות פקעות זריעה נגועות באופן סמוי, נמצא במגמת עלייה ניכרת והוא הדומיננטי כיום. בנוסף גם המין *P. parmentieri* שהתגלה לראשונה בישראל בשנת 2020 נמצא במגמת עלייה (Tsrer et al., 2020d). סף הנגיעות בחיידקי *Pectobacterium* הינו 0.5% תסמיני רגל השחורה. לאוכלוסיית חיידקי Pbr שונות רבה והם מצויים כאמור בגידולים רבים אחרים (Tsrer et al., 2021b).

ממשק ההדברה של החיידקים הפקטולטיים להפחתת נזקים מתבסס בעיקר על שימוש בפקעות זריעה חופשיות מהחיידק, המושג ע"י ניטור חומר ריבוי. בשנים האחרונות פותחו פרוטוקולים לניטור נגיעות סמויה בפקעות זריעה המבוססים על הדגרת החומר הצמחי במצע העשרה ואנליזות מולקולריות (PCR, RT-PCR) תוך שימוש בתחלים (פריימרים) ופרובים ספציפיים לכל מין חיידק. בנוסף, נעשים מאמצים רבים ע"י חברות הזרעים ומוסדות מחקר שונים בעולם בכיוון של טיפוח זנים עמידים למחלות הרגל השחורה, אולם עד כה טרם פותחו זנים מסחריים עמידים. כמו כן, אין בנמצא טיפולים כימיים יעילים מלבד ריסוסי נוף בתכשירי נחושת העשויים להפחית מעט את ריקבון הגבעולים. באופן כללי, ממשק אופטימלי להפחתת הנגיעות (מלבד שימוש בפקעות זריעה נקיות) כוללים סניטציה בכל מערכי הגידול, אסיף ושינוע של תוצרת (כלי מיכון, מערכי מיון, חדרי אחסון) ותנאי אחסון מיטביים (לחות גבוהה, טמפ' נמוכה, אוורור).

גרב מצוי וגרב עמוק Common Scab; Deep pitted scab

גורמי המחלה: *Streptomyces* spp.

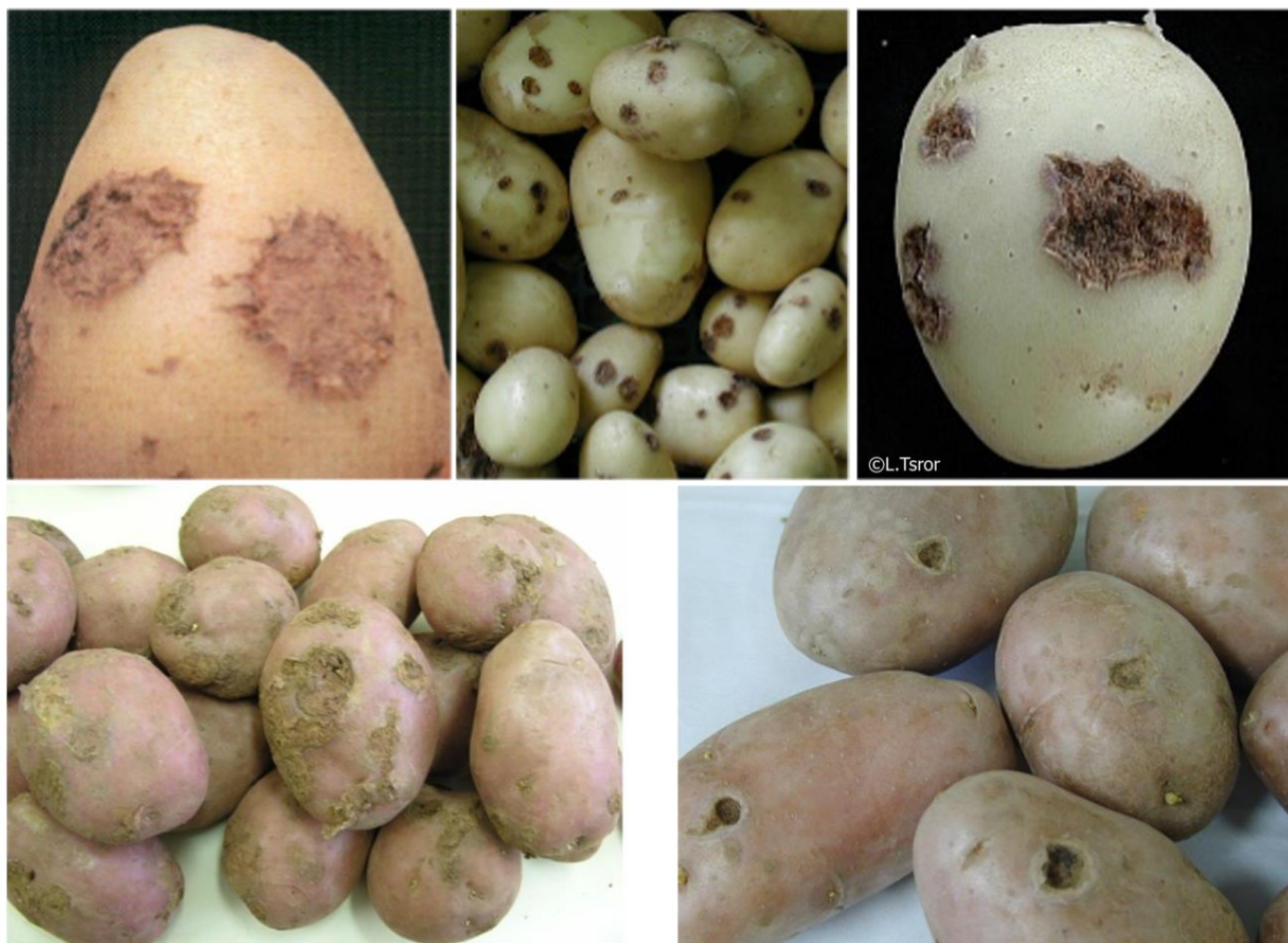
מחלת הגרב המצוי בתפוא"ד נגרמת ע"י חיידקים גרם חיוביים בעלי תפטיר חוטי השורדים בקרקע באמצעות ספורות למשך זמן רב (מעל 12 שנים). יש לציין כי מתוך אוכלוסיות חיידקי הסטרפטומיצטים בקרקע רק חלק קטן הם פתוגניים לצמחים בעוד שהשאר מועילים (ייצור אנטיביוטיקה, הדברה ביולוגית של פתוגנים וכו').

מחלות הגרב למיניהן גורמות לפגיעה קשה באיכות הפקעות (המיועדות לשווק כתוצרת טרייה ולתעשייה, ופקעות זריעה) ללא הפחתה ביבול. בנוסף לכך, מאחר והפתוגן שורד בקרקע למשך זמן רב, עלול להיגרם נזק לטווח הארוך בגלל אילוח קרקעות אשר לעיתים גורר פסילת חלקות לעיבוד.

תסמיני המחלה כוללים מגוון מופעים של כיבים על הפקעות, שטוחים, עמוקים, בולטים על פני הקליפה כיבלות, דמויי רשת וכו' (תמונה 18) (Tsrer and Warshavsky, 2006). גרב מצוי כולל מופע של פצעים שטחיים על פני הפקעת, בקוטר 5-8 מ"מ בצבע חום ומופע 'רשת' בו קליפת הפצע מורמת מעלה 1-2 מ"מ או שקועה קלות. גרב עמוק מתבטא בכיבים בעומק שעלול להגיע ל-15 מ"מ. הכיבים הינם בלתי רגולריים ומלווים בסדקים בקצות הפצע. יצירת הכיבים מתחילה כ-50 יום לאחר הזריעה, והם מתרחבים ומעמיקים עם התפתחות הפקעת. המחלה אינה מוגדרת כמחלת אחסון מאחר ואין המשך התפתחות הכיבים במהלך האחסון ובד"כ גם אין הדבקות משנה הגורמות לריקבון.

במחקר שנעשה לאחרונה נמצא כי המינים העיקריים בארץ כוללים את *S. scabiei*, *S. turgidiscabiei*, *S. europaeiscabiei* (מנוליס-ששון ש. וצרור ל., מידע שטרם פורסם). מינים אלה נפוצים באירופה וכנראה שהם חודרים ומתבססים בארץ באמצעות זרעי היבוא המגיעים לארץ בכל שנה. ליצירת תסמיני המחלה האופייניים נדרש הטוקסין thaxtomin, גורם הפתוגניות העיקרי המוכר במחלות הגרב (Loria et al., 2006). למחוללי הגרב בתפוא"ד יש טווח פונדקאים רחב, הכולל גם צנוניות, סלק, גזר, בטטה, אגוזי אדמה, ועוד גידולי שורש. מיני החיידקים הגורמים למחלת הגרב העמוק בתפוא"ד פוגעים קשות באגוזי אדמה, וגורמים למחלת היבללת בגידול זה.

החיידקים מסוגלים לשרוד בקרקע מעל 12 שנים גם ללא נוכחות פונדקאי. העברה והפצת הגרב נעשית בעיקר באמצעות זרעי תפוא"ד, ובנוסף גם באמצעות כלי עיבוד, רוחות וסופות חול, נגר מי השקיה וכו'.



תמונה 18: תסמיני גרב מצוי/עמוק הנגרמים ע"י חיידקי *Streptomyces*

שכיחות המחלה בישראל גבוהה במיוחד בנגב המערבי בו מגדלים במחזורי גידול אינטנסיביים תפוא"ד, אגוזי אדמה וצנוניות בקרקעות חוליות העניות מאד בחומר אורגני ולכן, כנראה מעודדות את המחלה. ממשק ההדברה של המחלה כולל שימוש בזנים סבילים למחלה, שימוש בזרעים נקיים מהמחלה, מחזור גידולים עם גידולים שאינם רגישים למחלה, הקטנת pH הקרקע והגדלה של רטיבות הקרקע, אולם אמצעי זה אינו יעיל כנגד הגרב העמוק אלא רק כנגד המינים הגורמים לגרב המצוי. חיטוי קרקע באמצעות פורמלין נחשב ליעיל, הגם שהינו בעייתי מהיבטים של בטיחות ונזק סביבתי ולכן מותר ליישום רק בחלקות הרחוקות ממקום יישוב. בנוסף לכך, בחלקות נגועות בהן נעשו חיטויים רבים בפורמלין הטיפול אינו יעיל, בגלל פירוק מיקרוביאלי מואץ. טרם נמצא תכשיר כימי יעיל לחיטוי זרעים, אמצעי שאמור לספק פתרון מיטבי ע"י עצם מניעת אילוח הקרקעות. לאחרונה, פותחה שיטה המבוססת על qPCR המאפשרת לגלות קרקעות הנגועות בסטרפטומיצטים פתוגניים ולהימנע משימוש בחלקות הנגועות (מנוליס-ששון וצורר, שטרם פורסם).

המחלה הינה מחלת הסגר, הרסנית ומזיקה בכל העולם, עם מספר גזעים התוקפים מעל 50 משפחות בוטניות. היא אינה קיימת בישראל ונעשים מאמצים רבים להבטיח שהפתוגן לא יחדור לארץ באמצעות אצוות זריעה נגועות. המחלה גורמת לנזקים משמעותיים ליבול, בעיקר באזורי גידול חמים. התסמינים בנוף כוללים נבילה (דומה לעקת מים), נינוס, והצהבת העלים וכן הופעת צבע חום בצנורות ההובלה. לעתים הנבילה עלולה להופיע בתחילה רק בחלק אחד של הצמח, ומאוחר יותר להתפתח בכל הצמח (Tsrur and Warshavsky, 2006). בתנאי גידול חמים המחלה מתפתחת במהירות עד לתמותת הצמח. התסמינים בפקעות כוללים החמה בצנורות ההובלה של הפקעת, המתפתחת לריקבון מלווה בהפרשות בצבע קרם שהן מאסה חיידקית (ooze). ההפרשות עלולות להופיע גם בעיניים (תמונה 19).



תמונה 19: פקעת נגועה בריקבון חום

כאמור, בכל אזורי גידול תפוא"ד יש אפס סבילות למחלה בזרעים ובפקעות למאכל ולתעשייה, כולל בישראל. המחלה עלולה להוביל להשמדה של אצוות, ולמגבלות חמורות בייצור תפוא"ד באזורים נגועים ובסביבתם ואף ביצוא למדינות אחרות נקיות מהמחלה. החיידק מזהם מקורות מים המשמשים להשקיה. עלויות הניטור של המחלה והכחדתה בשדות נגועים גבוהות ביותר. מאחר והחיידק עלול להגיע בזרעי יבוא ולמרות התקנות המחמירות ואישור אצוות נקיות בלבד (על פי בדיקת מעבדה בארץ המוצא) השירותים להגנת הצומח ולביקורת מחייבים בדיקת האצוות המגיעות לארץ ורק כאשר האצוות הוגדרו כחופשיות מהחיידק בבדיקות מעבדה ניתן להשתמש בהן לגידול האביבי. מקור הנגיעות העיקרי הוא פקעות זריעה נגועות באופן סמוי, המתרחשת בעיקר בטמפרטורות נמוכות. באופן זה מחולל המחלה עלול לשרוד באחסון, ובשינוע למרחקים ארוכים. בתנאים מתאימים של טמפרטורות גבוהות ולחות מרובה המחלה מתפתחת במהירות. החיידק שורד בקרקע (בעיקר בשיירי צמחים) ובצמחים פונדקאים רבים, כולל עשבים. הפצת המחלה מתרחשת בעיקר ע"י העברת פקעות זריעה. אולם החיידק מועבר גם באמצעות תנועת בני אדם וכלי עיבוד, ומקורות מים מזהמים המשמשים להשקיה. נוכחות נמטודות עפצים עלולה להגביר את שיעור ועוצמת המחלה.

אין כל אמצעי כימי יעיל להדברת המחלה. ממשק הדברה המתבסס בעיקר על גילוי מוקדם של המחלה בחומר הריבוי עשוי למנוע ולהפחית את הפצתה והתבססותה של המחלה. במידה והתגלתה המחלה בשדה נתון, אסור לגדל בו לפחות שנתיים כל גידול אחר רגיש לחיידק.

מחלות הנגרמות ע"י נגיפים (מחלות ויראליות)

Potato leaf roll virus (PLRV) עלי תפוח אדמה

תסמיני המחלה העיקריים הינם התקפלות העלים כלפי מעלה המתחילה בעלים העליונים ונמשכת גם בעלים התחתונים, הצהבת העלים, העלעלים נעשים נוקשים וננסות כללית של הצמח (תמונה 20). בפקעות לעיתים מופיעים כתמים נקרוטיים, העלולים להחמיר במהלך האחסון. המחלה גורמת לפחיתת יבול ולפסילה של פקעות זריעה נגועות. בשילוב עם מחלות ויראליות אחרות כגון PVY הנזק הרסני (Tsrer and Warshavsky, 2006).



תמונה 20: צמח נגוע בנגיף התקפלות עלי תפוח אדמה PLRV

המחלה מועברת באמצעות פקעות נגועות ומופצת ע"י כנימות עלה הניזונות ממוהל התאים. העברת הנגיף הינה מתמדת (persistent), הכנימה מודבקת לאחר תקופה לטנטית הנדרשת למעבר הנגיף במערכת העיכול ולאחר מכן בבלוטות (salivary glands). הנגיף אינו מועבר במגע או באמצעים מכניים. ממשק ההדברה מתבסס על שימוש בפקעות זריעה נקיות, ביעור של צמחים נגועים בשדה, והדברה יעילה של הכנימות. מספר זנים מוכרים כסבילים למחלה.

Potato virus X (PVX) X תפוח אדמה

התסמינים האופייניים של PVX כוללים הצהבות עלים בין העורקים, עלעלים קטנים, מוזאיקה בעלים, וכתמים נקרוטיים בפקעות (תמונה 21) (Tsrer and Warshavsky, 2006). המחלה גורמת לפחיתת יבול ולפגיעה באיכות הפקעות. פקעות זריעה נגועות ייפסלו לשימוש.



תמונה 21: נגיעות צמחים בנגיף תפוא"ד X – הצהבות עלים בין העורקים (שמאל ומרכז), כתמים נקרוטיים בעלים (ימין)

הנגיף מועבר בפקעות זריעה ומופץ במגע בין צמחים ובין שורשים, מגע באמצעים מכניים, בע"ח, אדם, וכו'. ממשק ההדברה של PVX מסתמך על שימוש בפקעות זריעה נקיות, ביעור צמחים נגועים והימנעות או הגבלה בתנועה בשדה נגוע, שטיפה או חיטוי של כלי עיבוד.

נגיף תפוח אדמה Y (PVY)

תסמינים אופייניים של PVY כוללים מפרקי גבעול קצרים, כתמים נקרוטיים נקודתיים בעלים, עיוותים ונימור בעלים צעירים, נשירת עלים, נבילה ותמותה מוקדמת של הצמח. בפקעות מופיעים סדקים בעוצמות משתנות (תמונה 22). PVY הינו הנגיף הנפוץ ביותר בתפוא"ד בכל אזורי הגידול והוא עלול לגרום לנזק משמעותי ביבול ולפגיעה באיכות הפקעות. כמו כן פקעות זריעה נגועות נפסלות לשימוש. הנגיף מועבר ע"י פקעות זריעה ומופץ באמצעות כנימות אך גם במגע בין צמחים (Tsrar and Warshavsky, 2006).



תמונה 22: תסמיני נגיעות בנגיף תפוא"ד Y – סדקים בפקעות (מרכז וימין), צמח מעוכב (שמאל)

שימוש בחומר ריבוי נקי וביעור צמחים נגועים בשדה הינם האמצעים העיקריים להפחתת המחלה. בנוסף, להדברה יעילה של אוכלוסיות הכנימות תרומה גדולה במניעה והפחתת נגיעות והנזקים הפוטנציאליים.

Potato Tuber Necrotic Ringspot כתמים נקרוטיים בפקעות תפוח אדמה

נגיף Potato Virus Y^{NTN} (PVY^{NTN})

התסמינים הטיפוסיים של המחלה מופיעים בפקעות, כתמים נקרוטיים בצבע חום מוקפים בהילה בצבע כהה יותר. לעיתים הרקמה הנקרוטית מתייבשת ונסדקת, אך הנזק מוגבל לשכבת הפרידרם (תמונה 23). תבדיד ה-PVY^{NTN} גורם למוזאיקה בעלים בדומה לתסמינים הנגרמים ע"י גזעים אחרים של PVY (Tsrar and Warshavsky, 2006). הנגיף מועבר אף הוא באמצעות פקעות זריעה ומופץ ע"י כנימות. המחלה נפוצה יותר באזורים חמים. ממשק ההדברה דומה לממשק הננקט כנגד נגיפים דומים.



תמונה 23: תסמיני נגיף תפוא"ד Y^{NTN} בפקעות

סיכום

בפרק זה תוארו המחלות העיקריות המאפיינות את ייצור תפוא"ד בארץ הנגרמות ע"י מגוון רחב של מיקרואורגניזמים. בחלקן יש פגיעה בחלקים על-אדמתיים, הצהבת עלים, נבילה, תמותת עלים ובחלקן פגיעה בחלקים תת-אדמתיים, ריקבון יבש, לח, או נגעים בפקעות המפחיתים את איכות התוצרת, ופגיעה במערכת השורשים. הבנה וחקר האפידמיולוגיה של המחלות השונות יחד עם פיתוח שיטות אבחון מתקדמות המאפשרות ניטור כמותי של פתוגנים בחומר ריבוי ו/או בקרקע, מובילים לפיתוח ויישום של גישות הדברה אינטגרטיביות. הפתוגנים מקורם בחומר הריבוי, בקרקע (כולל קרקע המוסעת ברוח או במים), שאריות צמחים, עשבי בר המשמשים כפונדקאים חלופיים, מיכון ותשתיות אחסון. ההתמודדות עם מחלות ויראליות ובקטריאליות מתבססת בעיקר על גילוי מוקדם של נגיעות והימנעות משימוש בחומר ריבוי נגוע. בהתמודדות עם מחלות פטריות ואלה הנגרמות ע"י אואומיצטים, מלבד מניעה ע"י שימוש בחומר ריבוי ובקרקע נקיה, נכללים אמצעי הדברה שונים.

מקורות

- ארליך, נ. (2019) גידול תפוחי אדמה בישראל בעונת 19/2018: נתונים וכמויות. שדה וירק מס' 327 יולי-אוגוסט 2019 ע' 58-63.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., זיג, א., ורשבסקי, ש., טרופנוב, ו. (2008) ארוויניה קריזנטמי בתפוחי אדמה. שדה וירק. 5: 51-53.
- צור, ל., ארליך, א., חזנבסקי, מ., בן-דניאל, ב.ח., לביוש, ש., זיג, א. (2011) זיהוי נגיעות סמויה ב-*Dickeya* spp. בפקעות זריעה של תפוחי-אדמה באמצעות אנליזה מולקולארית והקשר למופע המחלה בשדה. שדה וירק 235: 37-40.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., בן-דניאל, ב.ח., חזנבסקי, מ., אהרון, מ., זיג, א. (2012) פיתוח שיטה לבדיקת *Dickeya solani* בפקעות זריעה של תפוחי-אדמה והקשר עם מופע המחלה בשדה. שדה וירק 43-45: 247.
- צור, ל., ארליך, א., לביוש, ש., חזנבסקי, מ., אהרון, מ., בינפלד, י., ולנסקי, מ., גרשבסקי, א., מהרשק, ג., זיג, א., קפלן, ח. (2012) הדברת גרב אבקי בתפוחי-אדמה. שדה וירק 47-50: 247.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., טבריוזוב, ק., אהרון, מ., זיג, א. (2013) אבחון דיקיאה בפקעות להבטחת חומר ריבוי נקי. שדה וירק 259: 38-40.
- צור, ל., רוזנברג, א., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., אהרון, מ., זיג, א., בינפלד, י., ולנסקי, מ., גרשבסקי, א., מהרשק, ג., שגב, ג. (2014) הדברה של מחלת הגרב האבקי בתפוח-אדמה. שדה וירק מס' 271 אוגוסט 2014 עמוד 39-44.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., טבריוזוב, ק., גלילוב, א., שפירא, ר., גבר, ל. (2016) ממשק להדברת גרב אבקי בתפוח אדמה: מהנעשה בעונת המחקר 16/2015, שדה וירק מס' 295 | אוגוסט 2016 ע' 45-50.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., מהרשק, ג., שגב, ג., זיג, א. (2018) הדברת פיתיום בתפוחי אדמה - ניסוי סתיו-חורף 18/2017. שדה וירק מס' 319 | אוגוסט 2018 עמוד 56-60.
- צור, ל., ארליך, א., חזנבסקי, מ., שגב, ג., מהרשק, ג., זיג, א. (2019) הדברת מחלת הפיתיום בעונת סתיו-חורף 19/2018 שדה וירק מס' 327 | יולי-אוגוסט 2019 עמוד 66-70.
- צור, ל., לביוש, ש., ארליך, א., חזנבסקי, מ., וולוז'ני, א., לביא, ע., זיג, א., שטרן, א. (2019) הדברת גרב אבקי בתפוח אדמה. שדה וירק מס' 327 | יולי-אוגוסט 2019 עמוד 70-76.
- Al-Mughrabi, K. I., Peters, R. D., Platt, H., Moreau, G., Vikram, A., Poirier, R., MacDonald, I. (2007) In-furrow applications of metalaxyl and phosphite for control of pink rot (*Phytophthora erythroseptica*) of potato in New Brunswick, Canada. *Plant Disease* 91: 1305-1309.
- Alanbeh, K. M., Tsror (Lahkim), L., Gudmestad, N. C. (2014) Genetic diversity of a global population of *Colletotrichum coccodes* using amplified fragment length polymorphism markers. *American Journal of Potato Research* 91: 75-87.
- Balendres, M. A., Nichols, D. S., Tegg, R. S., Wilson, C. R. (2016a) Metabolomes of potato root exudates: compounds that stimulate resting spore germination of the soil-borne pathogen *Spongospora subterranea*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 64: 7466–7474.
- Balendres, M. A., Tegg, R. S., Wilson, C. R. (2016b) Key events in pathogenesis of *Spongospora* diseases in potato: a review. *Australasian Plant Pathology* 45: 229–240.

- Balendres, M. A., Tegg, R. S., Wilson, C. R. (2017) Resting spore dormancy and infectivity characteristics of the potato powdery scab pathogen *Spongospora subterranea*. *Journal of Phytopathology* 165: 323–330.
- Banville, G. B., Carling D. E. (2001) Rhizoctonia canker and black scurf. In: Compendium of Potato Diseases. Stevenson, W. R., Loria, R., Franc, G., Weingartner, D. P. (eds) St. Paul, MN, APS Press, pp 36-37.
- Bautista-Jalon, L. S., Frenkel, O., Tsrer, L., Malcolm, G. M., Gugino, B., Lebiush, S., Hazanovsky, M., Milgroom, M. G., Jiménez-Gasco, M. del M. (2021) Genetic differentiation of *Verticillium dahliae* populations recovered from symptomatic and asymptomatic host. *Phytopathology* 111: 149-159.
- Ben-Daniel, B., Bar-Zvi, D., Tsrer (Lahkim), L. (2012) Pectate lyase affects pathogenicity in natural isolates of *Colletotrichum coccodes* and in *pelA* gene-disrupted and over expressing mutant lines. *Molecular Plant Pathology* 13: 187-197.
- Ben-Daniel B., Bar-Zvi, D., Johnson, D., Harding, R., Hazanovsky, M., Tsrer (Lahkim), L. (2010) Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes* subpopulations from Australia and genetic links with subpopulations from Europe/Israel and North America. *Phytopathology* 100: 271-278.
- Brierley, J. L., Hilton, A. J., Wale, S. J., Woodhall, J. W., Lees, A. K. (2016) The relative importance of seed- and soil-borne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3 in causing black scurf on potato. *Potato Research* 59: 181-193.
- Brierley, J. L., Hilton, A. J. Wale, S. J., Peters, J. C., Gladders, P., Bradshaw, N. J., Ritchie, F., MacKenzie, K., Lees, A. K. (2015) Factors affecting the development and control of black dot on potato tubers. *Plant Pathology* 64: 167-177.
- Brierley, J. L., Stewart, J. A., Lees, A. K. (2009) Quantifying potato pathogen DNA in soil. *Applied Soil Ecology* 41: 234-238.
- Brierley, J. L., Sullivan, L., Wale, S. J., Hilton, A. J., Kiezebrink, D. T., Lees, A. K. (2013) Relationship between *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* soil inoculum level, host resistance and powdery scab on potato tubers in the field. *Plant Pathology* 62: 413–420.
- Bubici, G., Marsico, A. D., Gaber, L., Tsrer (Lahkim), L. (2019) Evaluation of thiophanate-methyl in controlling *Verticillium* wilt of potato and artichoke. *Crop Protection* 119: 1-8.
- Cohen, Y., Rubin, A. E., Galperin, M., Shamaba, E., Zig, U., Cooke, D. E. L. (2020) Migration and selection enforced multiple phenotypic and genotypic changes in the population of *Phytophthora infestans* in Israel during the last 36-Year period. Preprints 2020010321 (doi: 10.20944/preprints202001.0321.v1).
- Dung, J. K. S., Johnson, D. A. (2012) Roles of infected seed tubers and soilborne inoculum on *Verticillium* wilt of 'Russet Burbank' potato. *Plant Disease* 96: 379-383.

- Erwin, D. C., Ribeiro, O. K. (1996) *Phytophthora Diseases Worldwide*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society (APS) Press.
- Errampalli, D., Saunders, J. D., Holley, J. D. (2001) Emergence of silver scurf (*Helminthosporium solani*) as an economically important disease of potato. *Plant Pathology* 50: 141-153.
- Falloon, R. E. (2009) Control of powdery scab of potato, towards integrated disease management. *American Journal of Potato Research* 85: 253–260.
- Falloon, R. E., Merz, U., Butler, R., Curtin, D., Lister, R., Thomas, S. (2016) Root infection of potato by *Spongospora subterranea*: Knowledge review and evidence for decreased plant productivity. *Plant Pathology* 65: 422–434.
- Fry, W. (2008) *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology* 9: 385–402.
- Fry, W., Grünwald, N., Cooke, D., McLeod, A., Forbes, G., Cao, K. (2009) Population genetics and population diversity of *Phytophthora infestans*. In: *Oomycete Genetics and Genomics: Diversity, Interactions, and Research Tools*, eds. K. Lamour, S. Kamoun, pp. 139–64. Hoboken, NJ, Wiley-Blackwell.
- Glais, I., Andrivon, D. (2004) Deep sunken lesions – an atypical symptom on potato tubers caused by *Colletotrichum coccodes* during storage. *Plant Pathology* 53: 254.
- Gudmestad, N. C. (2008) Potato health from sprouting to harvest. In D.A. Johnson (Ed.), *Potato Health Management* (2nd ed.) (pp. 67–77). St. Paul, MN: American Phytopathological Society (APS) Press.
- Hollingshead, A. K., Olsen, N. L., Thornton, M., Miller, J., Schisler, D. A., Siliniger, P. J. (2020) Potato cultivar susceptibility to *Pythium leak* as influenced by harvest and early storage temperatures. *American Journal of Potato Research* 97: 393-403.
- Jindo, K., Evenhuis A., Kempenaar C., et al. (2021) Holistic pest management against early blight disease towards sustainable agriculture. *Pest Management Science* 2021; 1-10.
- Joaquim, T. R., Rowe, R. C. (1991) Vegetative compatibility and virulence of strains of *Verticillium dahliae* from soil and potato plants. *Phytopathology* 81: 552–558.
- Johnson, D. A., Dung, J. K. S. (2010) *Verticillium* wilt of potato – the pathogen, disease and management. *Canadian Journal of Plant Pathology* 32: 58-67.
- Johnson, D. A., Geary, B., Tsrer (Lahkim), L. (2018) Review: Potato Black Dot – The Elusive Pathogen, Disease Development and Management. *American Journal of Potato Research* 95: 340-350.
- Johnson, D. A., Cummings, T. F. (2015) Effect of powdery scab root galls on yield of potato. *Plant Disease* 99: 1396-1403.

- Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., Subbarao, K. V. (2009) Diversity, pathogenicity; and management of *Verticillium* Species. Annual Review of Phytopathology 47: 39–62. doi: 10.1146/annurev-phyto-080508-081748.
- Larkin, R. P., Honeycutt, C. W., Olanya, O. M. (2011) Management of Verticillium wilt of potato with disease-suppressive green manures and as affected by previous cropping history. Plant Disease 95: 568-576.
- Levin, A. G., Lavee, S., Tsrur, L. (2003) Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. Plant Pathology 52: 212-218.
- Merz, U. (2008) Powdery scab of potato – occurrence, life cycle and epidemiology. American Journal of Potato Research 85: 241-246.
- Merz, U., Falloon, R. E. (2009) Review: powdery scab of potato - increased knowledge of pathogen biology and disease epidemiology for effective disease management. Potato Research 52: 17–37.
- Miller, J. S., T. D. M., Schneider, A. T. (2003) Managing pink rot of potato. in: Idaho Potato Conference.
- Miller, J. S., Hopkins B. G. (2008) Checklist of a holistic potato health management plan. Potato Health Management, 2nd ed. D. A. Johnson, ed. American Phytopathological Society, St. Paul. MN.
- Nitzan, N., Tsrur (Lahkim), L., Johnson, D. A. (2006) Vegetative compatibility groups and aggressiveness of North American isolates of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of potato black dot. Plant Disease 90: 1287-1292.
- Nitzan, N., Tsrur (Lahkim), L. (2003) Effect of temperature and pH on in vitro growth of *Colletotrichum coccodes* isolates. American Potato Journal 80: 95-99.
- Nitzan, N., Hazanovsky, M., Tal, M., Tsrur (Lahkim), L. (2002) Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of black dot on potato. Phytopathology 92: 827-832.
- Powelson, M. L., Rowe, R. C. (1993) Biology and management of early dying of potatoes. Annual Review of Phytopathology 31: 111–126.
- Powelson, M. L., Rowe, R. C. (2008) Managing diseases caused by seedborne and soilborne fungi and fungus-like pathogens. Chapter 19. In: Potato Health Management, 2nd Edition, ed. D. A. Johnson, pp. 183–195. St. Paul, Minn, American Pathological Society Press.
- Rotem, J. (1994) The genus Alternaria: biology, epidemiology and pathogenicity. St. Paul, Minn, American Pathological Society Press.
- Rowe, R. C., Nielsen, L. W. (1981) Pink Rot. American Phytopathological Society, St. Paul, Minn.
- Rowe, R. C., Powelson, M. L. (2002) Potato early dying: Management challenges in a changing production environment. Plant Disease 86: 1184–1190.

- Rowe, R. C., Powelson, M. L. (2008) Potato health management: A holistic approach. In: D. A. Johnson (Ed.), Potato health management (2nd ed.) (pp. 1–5). St. Paul, MN: American Phytopathological Society (APS) Press.
- Salas, B., Secor, G. A. (2001) Leak. In: Compendium of Potato Diseases, 2nd Edition, ed. W.R. Stevenson, R. Loria, G. D. Franc, D. P. W, 30-31. St. Paul: American Phytopathological society.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Sneh, B. (2006) The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. Mycoscience 47: 299-316.
- Shcolnick, S., Dinooor, A., Tsrer (Lahkim), L. (2007) Additional vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes* subpopulations from Europe and Israel. Plant Disease 91: 805-808.
- Stevenson, W. R. (1993) Management of early blight and late blight. Pages 141 -147. In: Potato Health Management. Rowe, R.C. (ed), APS Press, St. Paul, MN.
- Toth, I. K., Van Der Wolf, J. M., Saddler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Tsrer (Lahkim), L., Elphinstone, J. G. (2011) Review: *Dickeya* species: An emerging problem for potato production in Europe. Plant Pathology 60: 385-399.
- Tsrer (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M. (1999b) The effect of *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) on potato yield, tuber quality and stem colonization during spring and autumn. Plant Disease 83: 566-568.
- Tsrer (Lahkim), L., Warshavsky, S. (Eds) (2006) Compendium of Potato Diseases and Pests in Israel (Hebrew and English editions). Israel Vegetable Grower Organization, Tel-Aviv, pp.87.
- Tsrer (Lahkim), L. Shapira, R., Erlich, O., Hazanovsky, M., Lebiush, S. (2020b) Characterization of weeds and rotational crops as alternative hosts of *Spongospora subterranea*, the causal agent of powdery scab in Israel. Plant Pathology 69: 294–301.
- Tsrer (Lahkim), L., Ben-Daniel, B., Chalupowicz, L., Van der Wolf, J., Lebiush, S. Erlich, O., Dror, O., Barel, V., Nijhuis, E., Manulis-Sasson, S. (2013) Characterization of *Dickeya* strains isolated from potato grown under hot-climate conditions. Plant Pathology 62: 1097–1105.
- Tsrer (Lahkim), L., Barak, R., Sneh, B. (2001a) Biological control of black scurf on potato under organic management. Crop Protection 20: 145-150.
- Tsrer (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M., Mordechi-Lebiush, S., Sivan, S. (2001b) Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. Plant Pathology 50: 477-482.
- Tsrer (Lahkim), L., Lebiush, S., Hazanovsky, M., Erlich, O. (2020c) Control of potato powdery scab caused by *Spongospora subterranea* by foliage cover and soil application of chemicals under field conditions with naturally infested soil. Plant Pathology 69: 1070-1082.

- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M., Lebiush, S. (2019a) Control of potato powdery scab (*Spongospora subterranea*) in Israel with chloropicrin, metam sodium or fluazinam. *Crop Protection* 124: 104836. DOI: 10.1016/j.cropro.2019.05.030
- Tsrur (Lahkim), L., Peretz-Alon, I. (2005a) The influence of the inoculum source of *Rhizoctonia solani* on development of black scurf on potato. *Journal of Phytopathology* 153: 240-244.
- Tsrur (Lahkim), L., Lebiush, S., Erlich, O., Galilov, I., Chalupowicz, L., Reuven, M., Dror, O., Manulis-Sasson, S. (2019b) First report of latent infection of *Malva nicaeensis* caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Israel. *New Disease Reports* 39: 4.
- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M., Ben Daniel, B., Zig, U., Lebiush, S. (2012) Detection of *Dickeya* spp. latent infection in potato seed tubers using PCR or ELISA and correlation with disease incidence in commercial field crops under hot-climate conditions. *Plant Pathology* 61: 161-168.
- Tsrur (Lahkim), L., Lebiush, S., Erlich, O., Ben-Daniel, B., Van der Wolf, J. (2010b) First report of latent infection of *Cyperus rotundus* caused by a biovar 3 *Dickeya* sp. (Syn. *Erwinia chrysanthemi*) in Israel. *New Disease Reports* 22, 14.
- Tsrur (Lahkim), L., Lebiush, S., Erlich, O., Blank, L. (2020a) Aerial dispersal of *Spongospora subterranea* sp. f. *subterranea*, the causal agent of potato powdery scab. *European Journal of Plant Pathology* 158: 391-401.
- Tsrur (Lahkim), L. (2004a) Effect of light duration on severity of black dot caused by *Colletotrichum coccodes* on potato. *Plant Pathology* 53: 288-293.
- Tsrur (Lahkim), L. (2010a) Review: Biology, epidemiology, and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology* 158: 649–658.
- Tsrur (Lahkim), L., Hazanovsky, M. (2001c) Effect of co-inoculation by *Verticillium dahliae* and *Colletotrichum coccodes* on disease symptoms and fungal colonization in four potato cultivars. *Plant Pathology* 50: 483-488.
- Tsrur (Lahkim), L., Peretz-Alon, I. (2002) Reduction of silver scurf on potatoes by pre- and post-storage treatment of seed tubers with imazalil. *American Journal of Potato Research* 79: 33-37.
- Tsrur (Lahkim), L., Peretz-Alon, I. (2004b) Control of silver scurf on potato by dusting or spraying seed tubers with fungicides before planting. *American Journal of Potato Research* 81: 291-294.
- Tsrur (Lahkim), L., Aharon, M., Erlich, O. (1999a) A survey of bacterial and fungal seedborne diseases in imported and domestic potato seed tubers. *Phytoparasitica* 27: 215-226.
- Tsrur (Lahkim), L., Johnson, D. A. (2000b) *Colletotrichum coccodes* on potato. Pages 362-373 In: *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction*. D. Prusky, S. Freeman, M. B. Dickman, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M. (1999b) The effect of *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) on potato yield, tuber quality and stem colonization during spring and autumn. *Plant Disease* 83: 566-568.
- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, Lebiush, Galilov, I., Hazanovsky, M., Chalupowicz, L., Reuven, M., Dror, O., Manulis-Sasson, S. (2020d) First report of *Pectobacterium parmentieri* one of the causal agents of potato blackleg and tuber soft rot diseases in Israel. *Plant Disease* 104: 2288. PDN. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0226-PDN>
- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, O., Hazanovsky, M. et al. (2021a) Fungicide field treatments to control potato leak caused by *Pythium ultimum*. *American Journal of Potato Research* 98: 115–121.
- Tsrur (Lahkim), L., Erlich, O., Lebiush, S., Hazanovsky, M., Zig, U., Slawiak, M., Grabe, G., Van der Wolf, J. M., Van de Haar, J. J. (2009) Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *European Journal Plant Pathology* 123: 311-320.
- Tsrur (Lahkim), L., Hélias, V., Mordechai-Lebiush, S., Erlich, O., Hazanovsky, M., Chalupowicz, L. et al. (2021b) Characterization of *Pectobacterium brasiliense* strains from potato and vegetables in Israel. *Plant Pathology* 70: 2179-2187.
- Tsrur (Lahkim), L., Lebiush, S., Hazanovsky, M. Marshak, G., Segev, G., Zig, U. (2021c) Effect of planting date and potato cultivar on powdery scab caused by *Spongospora subterranea*. *Phytoparasitica* 49: 1007–1012.
- Tsrur (Lahkim), L., Shlevin, E., Peretz-Alon, I. (2005b) Efficacy of metam sodium for controlling *Verticillium dahliae* prior to potato production in sandy soils. *American Journal of Potato Research* 82: 419-423.
- Tsrur, L., Erlich, O., Peretz-Alon, I., Cahlon, Y., Hadar, A., Cohen, Y., Klein, L. (2000a) Control of *Verticillium dahliae* prior to potato production by soil fumigation with chloropicrin. *Acta Horticulture* 532: 201-204.
- Van de Graaf, P., Wale, S. J., Lees, A. K. (2007) Factors affecting the incidence and severity of *Spongospora subterranea* infection and galling in potato roots. *Plant Pathology* 56: 1005–1013.
- Van der Waals J. E, Korsten L., Aveling T. A. S. (2001) A review of early blight of potatoes. *African Plant Protection* 7: 91–102.
- Vleeshouwers, V. G. A. A., Raffaele, S., Vossen, J. H., Champouret, N., Oliva, R., Segretin, M. E., Rietman, H., Cano, L. M., Lokossou, A., Kessel, G., Pel, M. A., Kamoun, S. (2011) Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annual Review of Phytopathology* 49: 507-531.
- Wharton, P., Kirk, W. (2007) *Fusarium* dry rot. <http://www.potatodiseases.org/dryrot.html>

- Wharton, P., Kirk, W. (2009) Michigan potato diseases. Pink Rot. 2016.
<http://www.potatodiseases.org/lateblight/pinkrot.html>
- Wicks, T. J., Davoren, C. W., Hall, B. H. (2000) Fungicidal control of *Phytophthora erythroseptica*:
The cause of pink rot on potato. American Journal of Potato Research 77: 233–240.