

דו"ח סופי לתוכנית מחקר 14 1600 132

**פוזריום רקבון הכתר במלפפון ובמלון: לימוד הביולוגיה והגנטיקה של המחלה
ומניעתה ע"י שימוש בצמחים מורכבים**

**Fusarium crown rot of melon and cucumber: Studying the biology and
genetics of the disease and disease prevention by using grafted plants**

מוגש לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות

מאת :

רוני כהן – מרכז מחקר נווה יער,
מנחם אדלשטיין - מרכז מחקר נווה יער
שמעון פיבניה – מו"פ ערבה
יוסי בורגר – מרכז מחקר נווה יער
סטנלי פרימן – מרכז וולקני,
דני יואל – מרכז מחקר נווה יער

Roni Cohen, Department of Plant Pathology and Weed Research, Newe Ya'ar
Research Center, Ramat Yishy 30095. ronico@volcani.agri.gov.il

Menahem Edelstien, Department of Vegetable Crops, Newe Ya'ar Research
Center, Ramat Yishy 30095. medelst@volcani.agri.gov.il

Shimon Pivonia, Arava Research and Development, Sapir, 86825,
shimonp@arava.co.il

Yosi Burger, Department of Vegetable Crops, Newe Ya'ar Research Center,
Ramat Yishy 30095. burger@volcani.agri.gov.il

Stenly Freeman, , Department of Plant Pathology and Weed Research,
Volcani Center, Bet Dagan, freeman@volcani.agri.gov.il

Dani Joel, Department of Plant Pathology and Weed Research, Newe Ya'ar
Research Center, Ramat Yishy 30095. dmjoel@volcani.agri.gov.il

תקציר: הפטרייה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum* (F.o.r.c) גורמת למחלת פוזריום רקבון הכתר ומהווה בעיה חקלאית קשה במלפפוני חממה. פטרייה זו מסוגלת לגרום לנזקים של ממש גם במלונים הגדלים בחממות, יחד עם זאת, אין בנמצא כל מידע על המחלה במלונים. 41 קווי מלון הודבקו בפתוגן. נמצא כי במלון קיים טווח תגובה רחב למחלה הכולל זנים רגישים לחלוטין עד לזנים עמידים לחלוטין. רגישות קווים אלו למחלה נבדקה בשתי שיטות הדבקה. השיטה המקובלת של טבילת שורשים בתרחיף נבגים והדבקה ע'י דקירת הגבעול במחט מאולחת. נמצא שהמחלה יכולה להתבטא במגוון של סימפטומים מנבילה ותמותת הצמח עד לסימני מחלה קלים של הצהבה ועיכוב בצימוח. יצרנו מיכלואים בין קווים עמידים לחלוטין, או עמידים חלקית לבין קו רגיש. תוצאות ההדבקה של ההורים והמכלוא מרמזות על הורשה הנראית דומיננטית אך בעלת רקע של עמידות כמותית. לצורך בירור מעמיק של אופן הורשת העמידות יצרנו אוכלוסיות נוספות של מלונים בעלי רקע עמידות שונה ובררנו חלקית את הורשת העמידות. נעשה בירור ראשוני של הרקע המולקולרי של הורשת העמידות לקראת בירור מעמיק לקראת יצירת סמנים שיסיעו לטיפוח מושכל של תכונה זו.

מעריכים מומלצים לבדיקת הדו"ח המדעי

- | | |
|-----------------------|--|
| 1. פרופ' יעקב קטן | katan @agri.huji.ac.il |
| 2. פרופ' אברהם גמליאל | agmliel@agri.huji.ac.il |
| 3. פרופ' יגאל אלעד | elady@volcani.agri.gov.il |

הצהרת החוקר הראשי: הממצאים בדו"ח זה הם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים.

תאריך: יולי 2015



חתימת החוקר:

תוכן העניינים

עמוד	
4	1. מבוא
4	2. מטרת המחקר
	3. פירוט עיקרי הניסויים - שנה א'
5	לימוד האינטראקציה בין הפתוגן צמח
	4. פירוט עיקרי הניסויים - שנה ב'
7	בחינת כנות דלעת לגידול מלפפון בחממה
9	מידת התחלואה והנבילה בקווי מלון עמידים ורגישים ובמיכלואים ביניהם
10	חדירה והתבססות של הפתוגן לרקמות צמחי מלון עמידים ורגישים
	5. פירוט עיקרי הניסויים - שנה ג'
11	יצירת תשתית לפיתוח סמן מולקולרי לעמידות במלון
11	6. דיון ומסקנות
15	7. סיכום עם שאלות מנחות
16	8. ספרות מצוטטת

1. מבוא

הפטריה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* (*F.o.r.c*) מוכרת כגורמת למחלת ריקבון הכתר במלפפון ובמלון (עמרי וחבו' 2009). מחלה זו גורמת לריקבון בצוואר השורש ובגבעול התחתון, כאשר באזור הרקוב יוצרת הפטרייה כמויות גדולות של נבגים בצבע כתום המתפזרים בקרקע ובאוויר ומאלחים את הסביבה.

מחלת ריקבון הכתר נמצאה ונחקרה לראשונה בשנת 1989 באי כרתים (Vakalounakis) 1996, מאז היא התפשטה גם לטורקיה, קנדה וספרד שם גרמה לנזקים משמעותיים בענף גידול המלפפונים (Rose et al. 2003; Tok & Kurt 2010; Moreno et al. 2001). בישראל זוהתה המחלה לראשונה בשנת 2000 ומאז הפכה למחלה משמעותית במלפפוני חממה, לאחרונה נתגלתה המחלה גם במלונים בערבה ובחבל לכיש ובחורף 2011 פגעה המחלה בקו טיפוח של מלון בחממות נווה יער וגרמה לו לנזק רב.

צורות פיזיולוגיות אחרות של הפטרייה *Fusarium oxysporum* מוכרות מזה שנים רבות כגורמי מחלות נבילה במיני דלועים שונים, אך בעוד שמחלות אלה ספציפיות למין מסוים ואפילו לזנים שונים באותו המין (Gordon & Martyn 1997), *F.o.r.c* אינה ספציפית למלפפון ומסוגלת לתקוף גם מלונים ודלועיים אחרים (Vakalounakis 2005; Punja & Parker 2000). מחלה זו שונה ממחלות נבילה בכך שבמהלכה נוצר ריקבון באזור צוואר השורש ונבגי הפטרייה מופצים באוויר, בעוד שמחלות הנבילה מתאפיינות באובדן טורגור של הפונדקאי ואברי הריבוי של הפטרייה שוכנים בקרקע בלבד. מנגנוני הפתוגנזה והעמידות של צמחים מסוימים למחלות נבילה במיני דלועים עמידים ורגישים נחקרו בעבר Beckman (1987). עם זאת, במחלת ריקבון הכתר של הדלועיים, מנגנונים כמעט ולא נחקרו, וקיימות שאלות רבות לגבי האינטראקציה בין הפתוגן לפונדקאיו.

2. מטרת המחקר:

1. לימוד האינטראקציה בין הפתוגן לצמח תוך שימוש בקווי מלון עמידים ורגישים.
2. לימוד טווח הפונדקאים של הפטרייה בסוגים, מינים וזנים שונים של משפחת הדלועיים.

המטרות הספציפיות של לימוד טווח הפונדקאים הם:

3. התמודדות עם המחלה במלפפון ובמלון ע"י שימוש בצמחים מורכבים על כנות דלעת וכנות מלון לימוד ההתאמה הפיזיולוגית, ההורטיקולטורית והפתולוגית בין כנה לרכב.
4. לימוד הגנטיקה ויצירת תשתית לפיתוח סמן מולקולרי לעמידות במלון.

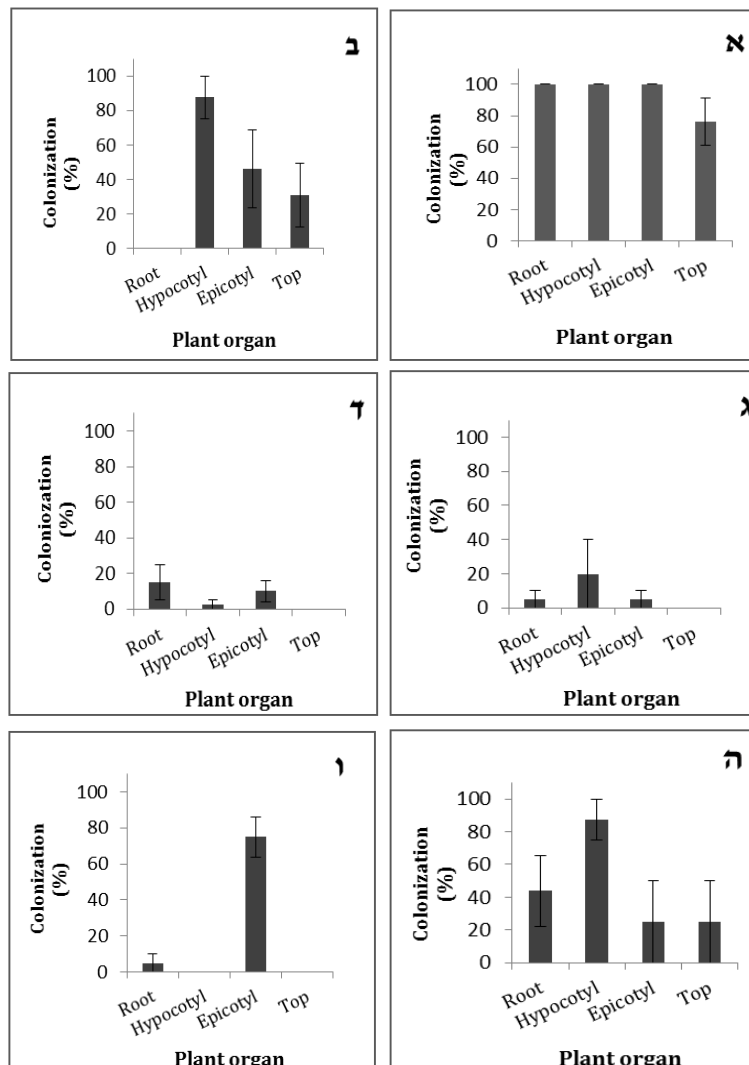
3. ניסויי שנה א' - לימוד האינטראקציה בין הפתוגן לצמח וטווח הפונדקאים.

התקדמות המחלה – השוואת אילוח באיברי צמח שונים ובשיטות הדבקה שונות

התקדמות המחלה נבדקה בצמחי מלפפון שאולחו בשיטות שונות: 1. טבילת השורשים במידבק; 2. מריחת מידבק על צוואר השורש; 3. אילוח ע"י פציעה בהיפוקוטיל עם מחט מאולחת 4. אילוח ע"י פציעה עם מחט מאולחת בחלק העל פסיגי. יישום מידבק בעלים או מריחת מידבק ללא פציעת הגבעול, לא גרמה להופעת מחלה. המחלה התבטאה בחומרה רבה ביותר בצמחים שאולחו ע"י טבילת מערכת השורשים (איור 1). הסימפטומים העיקריים היו החמה של הגבעול, אובדן טורגור, עיכוב צימוח ותמותה של הצמח. מופע המחלה בצמחים שאולחו ע"י פציעה עם מחט מאולחת (מעל ומתחת לפסיגים) היה ממוקד יותר לאזור האילוח. בצמחים אלה הופיעה באזור הפצע החמה שהתפתחה לריקבון, אך לא לוותה בדרך כלל בנבילה. בדיקת אכלוס הפטרייה בצמח ע"י שיטת הבידודים נעשתה בכל הטיפולים פרט לצמחים שהודבקו בעלים. התוצאות מראות כי בצמחים שאולחו בשיטות שגרמו להופעת המחלה, רמת אכלוס הצמח ע"י הפטרייה הייתה גבוהה במיוחד באזור האילוח, וברובם הפטרייה התפשטה לאזורים האחרים בצמח. בצמחים שאולחו ע"י מריחה של המידבק על הגבעול ללא יצירת פצע מוקדם, לא התפתחו סימפטומים. בדיקת האכלוס מראה כי בצמחים אלה הייתה נוכחות של פטרייה, אם כי נמוכה באופן משמעותי ביחס לצמחים החולים (איור 1).

איור 1. אכלוס איברי צמח במלפפון מהזן בית אלפא ע"י *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* לאחר אילוח באיברי צמח שונים.

- א. טבילת שורש.
 ב. מריחת מדבק בצוואר השורש.
 ג. מריחת מידבק על ההיפוקוטיל.
 ד. מריחת מידבק גבעול על פסיגי.
 ה. יצירת פצע בהיפוקוטיל.
 ו. יצירת פצע גבעול על פסיגי.
 קווי שגיאה מציינים שגיאת תקן.



טווח פונדקאים

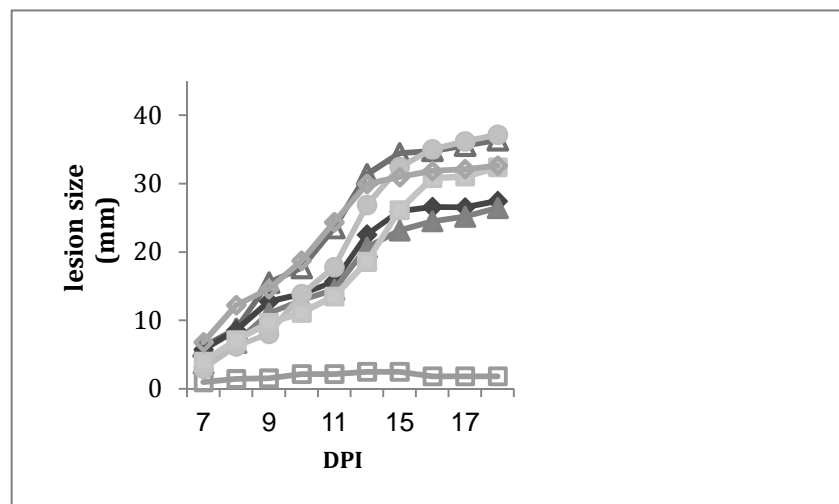
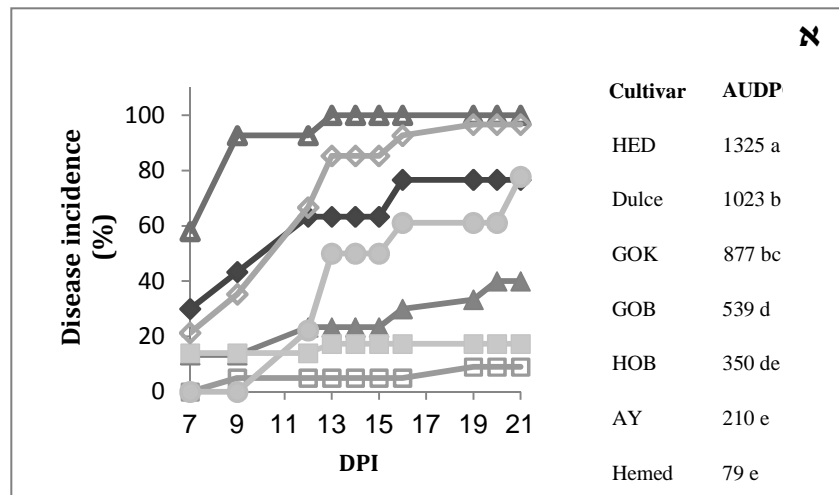
מבין זני הקישוא (*Cucurbita pepo*) וזני הדלעת (*Cucurbita maxima*, *Cucurbita* *mochata*)

שנסרקו לא נמצאו זנים הרגישים ל *F.o.r.c*. במחקר שהסתיים לא מכבר ביחידה לדלועיים בנווה יער נבדקה רגישות אבטיחים למחלה (טבלה 1). בעבודה הנוכחית עסקנו בעיקר באינטראקציה שבין *F.o.r.c* ומלון.

תגובת זני המלון (*Cucumis melo*) לפתוגן נבדקה בשתי שיטות האילוח. התוצאות משני הניסויים מצביעות על קשת רגישות רחבה לפתוגן בקרב הזנים שנבדקו, מזנים רגישים מאוד עד זנים עמידים (איור 2). חומרת המחלה בזנים דולצ'ה, HED וחמד הייתה דומה בשתי שיטות האילוח, כאשר הזנים דולצ'ה ו HED היו מאוד רגישים ובזן חמד כצפוי לא התפתחו סימפטומים. הזנים AY, GOK ו HOB לעומת זאת, הגיבו בצורה חזקה יותר לאילוח ע"י דקירה במחט מאולחת. בכדי לברר האם המחלה מתבטאת ברמה דומה בין שתי השיטות נבדק הקשר בין התוצאות של שני הניסויים. נמצא שקיימת קורלציה ברמת מובהקות $p < 0.0001$ בין שתי שיטות האילוח, שיעור השונות המוסברת הייתה ברמה של 56.7%.

איור 2. א. התקדמות המחלה בזני מלון שאולחו ע"י טבילת שורש במידבק *Fusarium oxysporum* f. *sp. radicis cucumerinum* מבוטאת ע"פ אחוז הצמחים המראים סימפטומים. ב. התקדמות המחלה בזני מלון שאולחו ע"י פציעת בהיפוקוטיל, מבוטאת ע"פ גודל הריקבון. AUDPC – סכום השטח מתחת לעקום התקדמות המחלה בכל זן.

—●— GOB —■— AY —◇— Dulce
—▲— HED —◆— GOK —▲— HOB
—□— Hemed
אותיות שונות מציינות שונות סטטיסטית ברמת מובהקות $p < 0.05$.



טבלה 1. ערכי תמותת צמחי אבטיח צעירים בתום שני ניסויים עיצים בהם הודבקו הצמחים בפטריה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum* ערכים המלווים באותה אות אינם נבדלים סטטיסטית ביניהם.

Accession	Wilt incidence (%)	
	Experiment 1	Experiment 2
Bet Alfa , Cucumber control	80 ab	73 a
Ein Dor, Melon control	24 cdefg	24 efgh
BDA	20 cdefg	23 fgh
COS	48 abcdef	12 gh
EMO	12 defg	35 cdefg
HUM	92 a	43 bcdef
KAQ	48 abcdef	64 ab
MAL	12 defg	9 h
NWAU	0 g	48 abcde
PI 459075	0 g	10 gh
PI 482260	52 abcde	11 gh
PI 296341	12 defg	0 h
PI 273481	8 efg	43 bcdef
PI 326515	64 abc	55 abcd
PI 270549	8 efg	41 bcdef
PI 307609	40 bcdefg	34 defg
PI 441722	16 defg	17 gh
PI 307750	4 fg	15 gh
RSC	84 ab	61 ab
WAN	12 defg	62 abc
WIS	56 abcd	71 a

מהתוצאות עולה שהעמידות שנמצאה אינה אחידה בשני הניסויים. הקווים שנמצאו עמידים במידה ברבה ביותר היו MAL, PI 459075 ו- PI 307750.

4. ניסויי שנה ב' - בחינת התאמת כנות דלעת לגידול מלפפון בחממה - מושב אחיטוב

לאחרונה התרחב השימוש בצמחי מלפפון מורכבים על כנות דלעת בעיקר בעונת החורף. היתרון בשימוש בצמחים מורכבים היה ידוע זה מכבר מניסויים שנערכו בארץ ובעולם. הגורם שמנע את הרחבת השימוש בצמחים מורכבים היה המחיר הגבוה של השתיל. לאחרונה הורידו המשתלות את מחיר השתיל המורכב ואפשרו בזאת את הרחבת השימוש בטכנולוגיה זו.

יתרונות השימוש בצמחים מורכבים גוברים בדרך כלל על העלות הכספית הניכרת הכרוכה בשיטת גידול זו. עד כה נעשה שימוש מועט בצמחים מורכבים בעונת הקיץ בשל מחזורי הגידול הקצרים למרות שעיקר הנזק ממחלות שוכנות קרקע נצפה באביב ובקיץ. מטרת העבודה הינה לנסות ולאתר כנות דלעת, שתעמוד בתנאי האקלים והסביבה בחממות בעונת

הקיץ, שתקנה עמידויות לפגעי קרקע, ובמקביל תאפשר יצור יבול בכמות ובאיכות שאינם נופלים ואף עולים על אלו המתקבלים בצמחים הלא מורכבים.
 כנות דלעת ומלון ששימשו בניסוי התקבלו ממקורות שונים (טבלה 2) . הצמחים הורכבו במשתלת "שורשים" במושב עין הבשור. הרכב בכל הניסויים היה מלפפון מהזן "נונם" (א.ב. זרעים) .

הניסוי נערך במשק דוד יצחק ובניו באחיטוב , במבנה מרובה גמלוני. שש שורות בודדות בכל גמלון ברוחב 7.5 מטר. כל צירוף של כנה - זן נשתל בשתי חזרות. 15 צמחים בכל חזרה. הצמחים נשתלו בתאריך 14.7.13. כל צמח נגזם והודלה לענף ראשי אחד.

טבלה 2: שמות ההכנות בתצפית ומקור הזרעים.

מספר	סימן/ שם הכנה	סוג	מקור הזרעים
1	53009	דלעת	הזרע
2	53006	דלעת	הזרע
3	53004	דלעת	הזרע
4	101	דלעת	אגרודיל
5	113	דלעת	אגרודיל
6	Victory	דלעת	אגרודיל
7	Secure	דלעת	אגרודיל
8	Root guard	דלעת	אגרודיל
9	Aintosa	דלעת	סמקו
10	Fr baegmani	דלעת	סמקו
11	Euramid	דלעת	סמקו
12	Rs 3536	דלעת	סמקו
13	Rs 3535	דלעת	סמקו
14	Heuk jong	דלעת	סמקו
15	O dae 07	דלעת	סמקו
16	Asia shintosa	דלעת	סמקו
17	טריומף	דלעת	ים תיכון
18	TZ 148	דלעת	הזרע
19	19012	דלעת	תרסיס
20	AQ	דלעת	אוריג'ין
21	BS - 1	דלעת	אוריג'ין

כנת דלעת TZ-148 משמשת כיום ככנה סטנדרטית בכל מיני הדלועיים ובכל עונות הגידול שימשה בניסוי זה כביקורת.

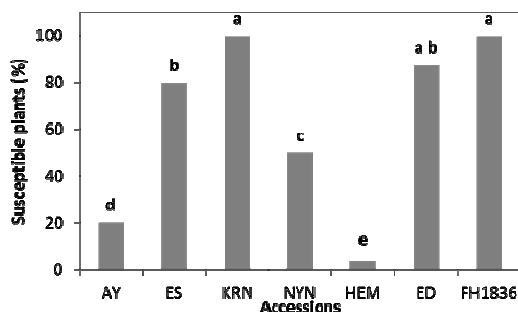
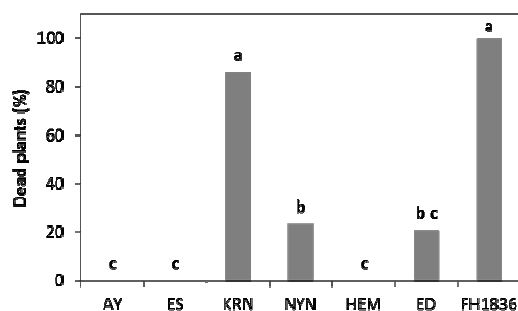
בניסויים שנערכו בשנים קודמות אותרה הכנה "טריומף" ככנה מצטיינת במבחן כנות בשל תכונות צימוח טובות מאוד שהיא מעניקה לצמח הרוכב , איכות הפרי ובשל עמידות חלקית להדבקה מהקרקע בוירוס CGMMV.

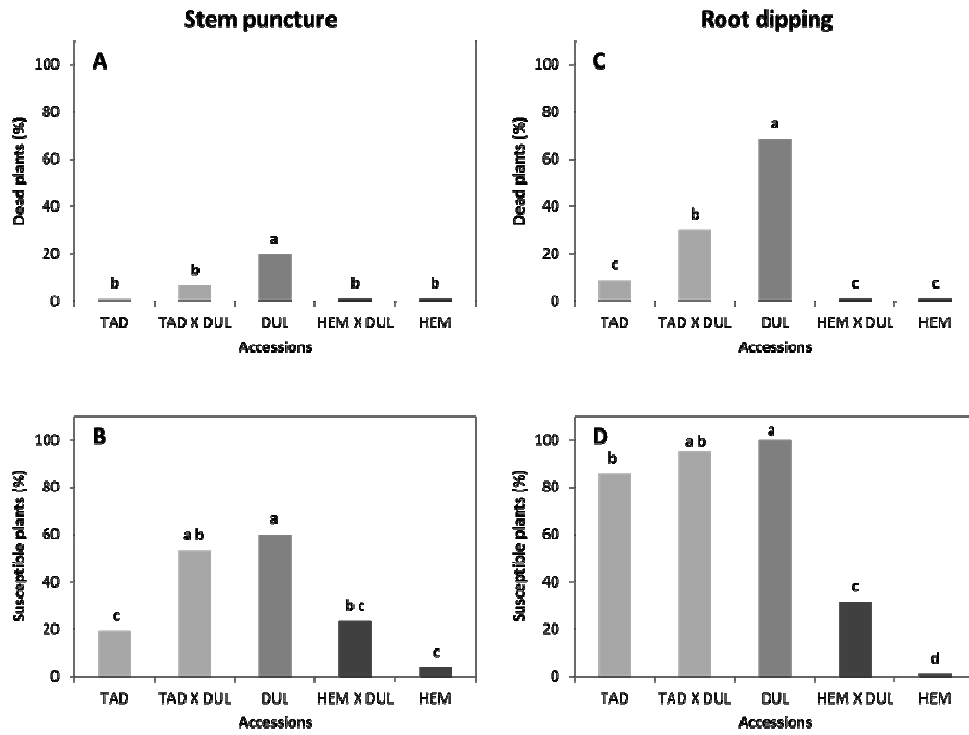
הרחבת השימוש בצמחי מלפפון מורכבים בשנה האחרונה מצד אחד ונוכחות של וירוסים וגורמי מחלות קרקע מצד שני מחייבת יצירת תשתית מקצועית להרחבה אפשרית של השימוש בצמחי מלפפון גם בעונות האביב הקיץ והסתיו. שימוש בצמחים מורכבים בעונת הקיץ הנחילה בעבר אכזבה בשל תופעת כמישת הצמחים בשלב שיא התפתחותם ונשיאת היבול. יתכן שתהליכי למידה ושיפור בביצועי ההרכבה במשתלות מאפשר כיום גידול צמחי מלפפון מורכב גם באמצע הקיץ, בחממות, מבלי שתופעה זאת תחזור על עצמה. מבין הכנות בעבודה זאת בלטו בביצועיהם הכנות 53009, 53004 ("הזרע גנטיקס", טיפוח נווה יער), "טריומף" ("ים תיכון זרעים") ו-19012 ("תרסיס"). כולן הצטיינו בצימוח טוב, באיכות פרי טובה, בהנבה רצופה ובשמירה על צמח חיוני וירוק עד סוף עונת הגידול. היתרון של כנת "טריומף" על פני הכנות האחרות שהצטיינו בעבודה זאת נעוץ בעמידותה (כ 70% לווירוס CGMMV).

נמצא כי אפשר להרחיב את השימוש בצמחי מלפפון מורכבים גם לעונות האביב הקיץ והסתיו מבלי לחשוש מהופעת קמילה שנגרמה כנראה מבעיה של מעבר מים מהכנה לחלקי הצמח העליונים ולפירות. יודגש כי יתכנו תוצאות שונות, בהרכבת רוכבים אחרים על כנות אלה בשל ההבדל הקיים בדרך כלל בהתאמה בין כנות שונות לרוכבים שונים. התוצאות המובאות מתייחסות לתנאי ניסוי זה בלבד.

מידת הנבילה והתחלואה בקווי עמידים, רגישים, ובמכלוא ביניהם: במהלך העבודה מצאנו שיש הבדלים ברגישות צמחי מלון למחלה המתבטאים במידת הנבילה אך גם במידה בה צמחים מבטאים סימפטומים אחרים של המחלה. (איור 3). שני זני מלון עמידים, הזן חמד (HED) העמיד מאד והזן TAD העמיד חלקית, אינו נובל אך מראה סימני מחלה. TAD, הכולאו עם הזן הרגיש DUL. מתוצאות ההדבקה המראים את אחוז הצמחים המתים ואת אלו שמראים סימני מחלה (איור 3), נראה ש HED מסוגל להקנות למכלוא עמידות ברמה גבוהה יותר מאשר מקנה הזן TAD. נראה גם שהעמידות נוטה יותר להיות דומיננטית אך יש לה מאפיינים כמותיים (איור 4)

איור 3: רגישות קווי מלון למחלת פוזריום רקבון הכתר בעקבות הדבקה בשיטת טבילת השורשים. באיור העליון, אחוז הצמחים נובלים. באיור התחתון, אחוז הצמחים הרגישים (נבילה, הצהבה, עיכוב גידול). ערכים המלווים באותה אות אינם נבדלים סטטיסטית ביניהם.

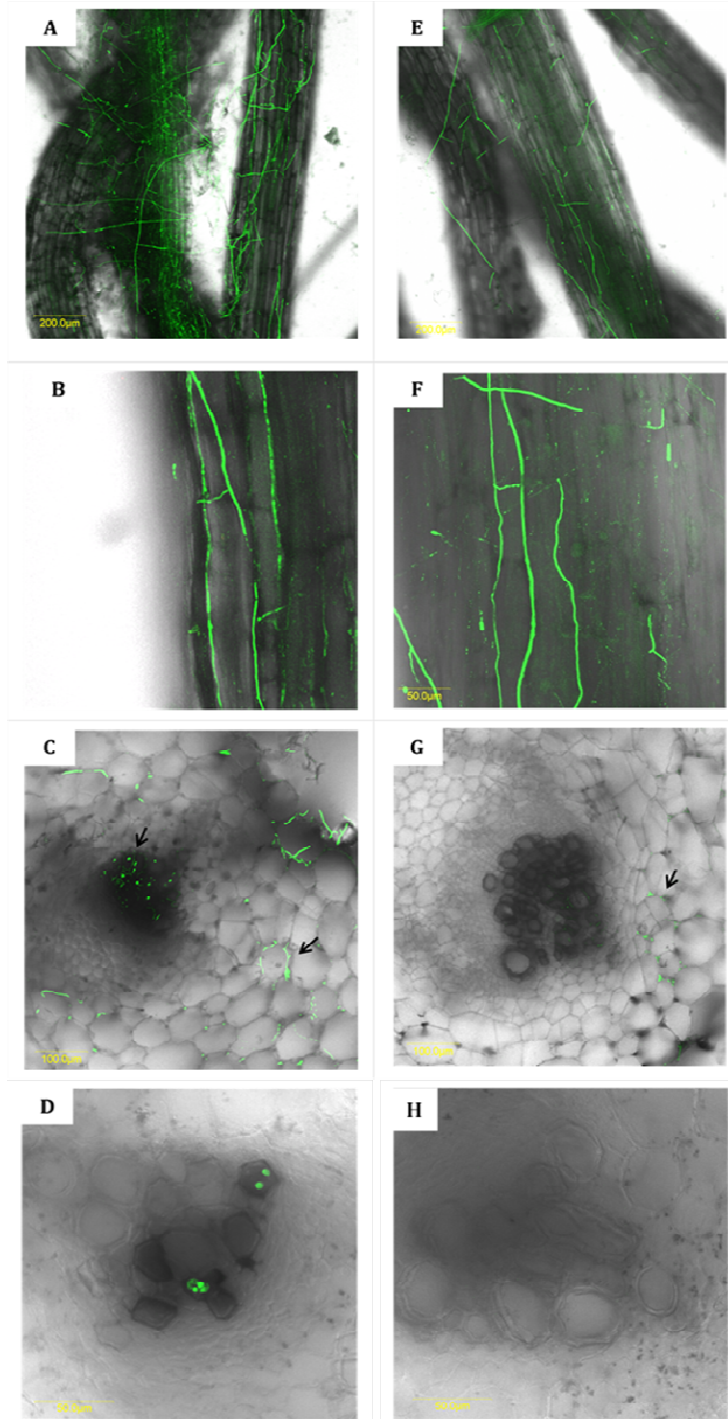




איור 4: רגישות קווי מלון עמידים רגישים והמיכלואים ביניהם למחלת פוזריום רקבון הכתר נגרמת ע"י הפטריה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum*. ההדבקה בשיטת טבילת השורשים. A – ו C – אחוז צמחים מתים. B – ו D – סך כל הצמחים צמחים המראים סימפטומי מחלה. A – ו B – הדבקה בדקירה במחט מאולחת. C – ו D. הדבקה בטבילת שורשים. ערכים המלווים באותה אות אינם נבדלים סטטיסטית ביניהם

חדירה והתבססות של הפתוגן לרקמות צמחי מלון עמידים ורגישים : צמחי מלון עמידים מהזן חמד (HED) והזן הרגיש דולצה (DUL), הודבקו בפתוגן מותמר בסמן הפלואורסצנטי GFP (Zvirin et al., 2010). בחתכים שנעשו 10 ימים לאר ההדבקה נמצא שהפטריה חדרה לשני הזנים העמיד והרגיש אבל התבססה והתפשטה רק בזן הרגיש. התבססות הפטריה בזן העמיד נבלמה ונמצאה רק סמוך לאזור ההדבקה (איור 5).

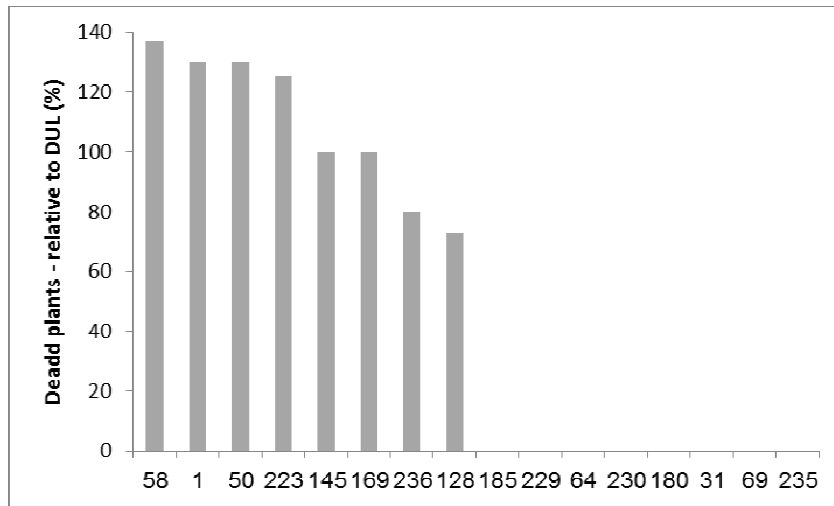
איור 5: התפתחות הפטריה
Fusarium oxysporum f. sp.
radices cucumerinum
 המותמרת בסמן פלואורסנטי
 בצמח רגיש מהזן Dulce
 (תמונות ABCD) ובזן העמיד
 Hemed, (תמונות EFGH).
 מופע הפטריה על הצד החיצוני
 זהה בצמחים העמיד והרגיש
 אך נבדל בחדירה אל תוך
 הצמח. מתפתח ברגיש ונבלם
 בעמיד.



5. ניסויי שנה ג' - יצירת תשתית לפיתוח סמן מולקולרי לעמידות במלון

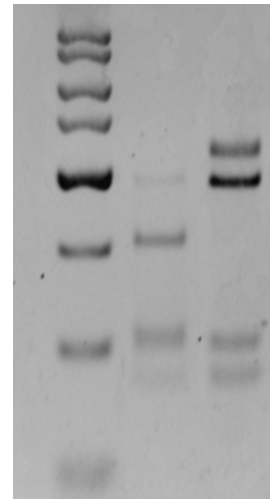
ביחידה לדלועיים קיים מאגר גנטי הכולל בין השאר משפחות F₆ מהכלאות בין זני המלון טמדיו (Temdew) הרגיש למחלה דולצה (Dulce) העמיד. הכלאות אלו נוצרו למחקר באיכות פרי אף היות והורה אחד עמיד ואחד רגיש ניתן לנצל אוכלוסיות אלו למחקר עמידות.

166 משפחות F₆ הודבקו ב-Forc. שמונה משפחות רגישות ושמונה עמידות נבחרו. הצמחים נדגמו במועדים שונים לאחר ההדבקה ונשלחו לריצוף RNA.



איור 6: מידת התחלואה בפוזריום רקבון הכתר (אחוז צמחים מתים) במשפחות F_6 שנבדקו. מידת התחלואה בהשוואה לדולצ'ה ההורה הרגיש. היו משפחות בהם הרגישות הייתה גבוהה מרגישות ההורה הרגיש. לפי ה-SNPs שנמצאו נבחר אזור אחד בגנום MELO3C008413, פריימרים מתאימים תוכננו ונמצאו אנזימי חיתוך לכמה SNPs באזור זה. באיור 7 ניתן לראות שקיים חיתוך שונה בין העמיד לרגיש. נבחנו זנים עמידים אחרים להתאמה לאזורי החיתוך. בחלק נמצא חיתוך דומה ובחלק החיתוך לא תאם. ההערכה היא שקיימים מנגנוני עמידות שונים לפטריה. בהמשך העבודה נבדקים אזורים נוספים בגנום מתוך תקווה למצוא אפשרות לסמנים נוספים או סמנים משלימים שיאפשרו לזהות זנים עמידים בעלי מנגנון עמידות אחר.

איור 7. חיתוך באנזים Hin1II - דולצ'ה (אמצעי) וטמדיו (מימין) (משמאל סולם אינדיקציה לגודל הדנ"א). קיים הבדל ברור בין ההורה הרגיש להורה העמיד.



6. דיון ומסקנות

מחלת פוזריום רקבון הכתר הנגרמת ע"י הפטריה *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices cucumerinum* (Forc), מוכרת בעיקר במלפפוני חממה. המחלה מסיבה נזקים בעונות המעבר בהם הטמפרטורה מתונה. בקיץ המחלה פחות תוקפנית וכמעט ואינה גורמת לנזקים. בשנים האחרונות נצפתה המחלה גם במלונים וגרמה במקרים מסוימים נזקים של ממש. לא קיים כל ידע על המחלה במלונים ומבחינה זו המחקר הנוכחי היה מחקר ראשוני והפרסום שנבע ממנו (Cohen et al., 2015), היה הראשון בעולם שדיווח על חקר מחלה זו במלונים. בניסויי הדבקה בפוזריום, ניתן לשחזר מחלה ע"י הדבקה הצמחים בשיטת טבילת השורשים אך להבדיל מגורמי מחלות פוזריום הנבילה המדביקים רק דרך השורש, ניתן להדביק ב *FORC* גם ע"י פציעת תת הפסיג במחט מאולחנת. הסימפטומים המתקבלים בשיטה זו משחזרים בדיוק את מופע המחלה בשדה. שיטת הדבקה זו מאפשרת גם מחקרים בצמחים מורכבים בהם ניתן להדביק רק את הרכב ללא מגע של הפתוגן בשורשי הכנה. אכן, בניסויים שערכנו הצלחנו להראות במקרים מסוימים תופעה של השראת עמידות ברוכב על כנה עמידה (ממצאים אלו אינם נכללים בדו"ח). מופע של השראת עמידות יכול להוות חלק מסך העמידות שמקנה הכנה ויש בכוונתנו להמשיך בכיוון מחקרי זה.

להבדיל מפטריות השייכות לסוג *Fusarium oxysporum* התוקפות דלועיים באופן ספציפי, *FORC* מסוגלת לתקוף מספר מינים במשפחת הדלועיים. מלפפונים הם הפונדקאים בהם דווחה הרמה הגבוהה ביותר של נזק אך מלונים גם מאוימים ע"י פטריה זו ובהדבקות מלאכותיות נמצא שהפטריה מסוגלת לתקוף גם אבטיחים (טבלה 1). הנזק מהמחלה יכול להיות שונה בהתאם לאופי ההדבקה ולתגובת הצמח המודבק. יתכן מצב בו צמחים יראו סימני הצהבה, גידול לקוי או כמישה חלקית ולא ינבלו ויש מצב בו הזן הנבדק רגיש במיוחד ויגיב בתמותה (איור 2, איור 3 ואיור 4). מצב זה של תמותה מלאה לעומת סימפטומים מחלה ללא תמותה מציב בעיה בלמוד הגנטיקה של העמידות. בהכלאות שנערכו בין הזן העמיד חמד (HED) לזן הרגיש דולצ'ה (DUL) ולזן העמיד חלקית טמדיו (TAD) נמצא שלמנגנון העמידות אופי של עמידות דומיננטית אך נראה שרמת העמידות ואופן תחלואת הצמחים מושפעת מרמת העמידות השונה של שני הזנים (איור 4). נראה שישנם יותר ממנגנון עמידות אחד ומנגנון הורשת העמידות ילמד בתוכניות מחקר עתידיות. חדירת הפטריה וההתבססות ברקמות הצמח שונות בעמידים וברגישים. בצמח הרגיש הפטריה חודרת ומגיעה לצינורות העיצה משם היא מתפשטת ליתר חלקי הצמח ואילו בצמח העמיד התבססות הפטריה הפתוגנית בצמח נבלמת. (איור 5). בחלק זה של המחקר השתמשנו בפטריה אליה החדרנו סמן פלוארסנטי (GFP) המאפשר מעקב קל אחר מיקום הפטריה תוך שימוש במיקרוסקופ בעל התקן לזיהוי תאורה פלוארסנטית (Zvirin et al., 2010) בירור מנגנון העמידות נמשך במחקר במתקיים כעת ביחידה לדלועיים בנווה יער. במסגרת המחקר אנו מדביקים אוכלוסיות שונות שהן תוצרי הכלאות בין זנים עמידים לרגישים ומאפיינים בדרך זו את מספר הגנים המעורבים בהורשת העמידות. בנוסף אנחנו מתקדמים גם במישור של המחקר המולקולרי (איור 6 ואיור 7). לחלק זה של המחקר שתי מטרות. המטרה היישומית היא למצוא סמנים מולקולריים לעמידות שישכללו את תהליך הטיפוח לעמידות ומטרה אחרת היא להעמיק למצוא את המנגנונים הביוכימיים הנשלטים ע"י הגנים לעמידות.

הדברת המחלה נסמכת על שני נדבכים. הראשון הוא הדברה כימית הנעשית ע'י הגמעה של תכשירי הדברה (בעיקר מקבוצת הפרוכלראז) במהלך הגידול. היות והפטריה תוקפת תחילה מבחוץ פנימה שיטת הדברה זו יכולה להיות יעילה למדי. הדרך השנייה היא שימוש בצמחים מורכבים. לרוב הכנות עמידות מסוג

non-host לפטריית הפוזריום כך שרוב הכנות המשמשות להרכבה עמידות למחלה. לעיתים בעיקר לקראת סוף הגידול כאשר הצמח נחלש נצפית הינגעות של הרכב מעל נקודת ההרכבה. השימוש בצמחים מורכבים הולך ומתרחב גם להדברת פוזריום רקבון הכתר (Pavlou et al., 2002) אך מיועד בנוסף להתגברות על ה FORC גם למטרות אחרות, העלאת און הצימוח היבול ואיכותו (איור 8), הארכת משך הגידול, עמידות לקור ועמידות לוירוס CGMMV. ההתאמה בין כנה לרכב יכולה להיות שונה בין עונות הגידול. כנה שתתאים לגידול הקייצי לא תהייה בהכרח מתאימה למלפפוני חורף. לפיכך מתבצעים כל הזמן בחינות של צירופי כנה ורכב כדי למצוא את הצירוף המיטבי לעונות השונות (טבלה 2). העמידות ל *Forc* אינה צריכה לדעתנו להוות מכשלה לבחירת כנה מתאימה כי היא נמצאת ברוב המקרים Build in כתכונה הקיימת בדלעות. מחלת פוזריום רקבון הכתר נחקרה בעיקר במלפפוני חממה. מחקר זה הוא ראשוני בארץ ובעולם השופך אור על האינטראקציה שבין *Forc* למלונים.



איור 8 : מימין, צמחי מלפפון מורכבים על כנת דלעת וצמחי מלפפון שאינם מורכבים משמאל. ההבדלים בגודל הצמחים ואון הצימוח ניכרים בבירור.

7. סיכום על שאלות מנחות :

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה	
1.	לימוד האינטראקציה בין הפתוגן לצמח תוך שימוש בקווי מלון עמידים ורגישים.
2.	לימוד טווח הפונדקאים של הפטרייה בסוגים, מינים זנים שונים של משפחת הדלועיים. המטרות הספציפיות של לימוד טווח הפונדקאים הם:
3.	התמודדות עם המחלה במלפפון ובמלון ע"י שימוש בצמחים מורכבים על כנות דלעת וכנות מלון
4.	לימוד ההתאמה הפיזיולוגית, ההורטיקולטורית והפתולוגית בין כנה לרוכב. לימוד הגנטיקה ויצירת תשתית לפיתוח סמן מולקולרי לעמידות במלון .
עיקרי התוצאות	
1.	השווינו אילוח בפטריה באיברי צמח (מלון) שונים ובשיטות הדבקה שונות
2.	למדנו את טווח הפונדקאים של ה <i>FORC</i>
3.	ערכנו ניסויי שדה (מושב אחיטוב) לבחינת התאמת כנות דלעת לרוכב, זני מלפפון.
3.	לימוד ראשוני של הורשת העמידות לימוד מידת הנבילה והתחלואה בקווי מלון עמידים ורגישים ובמכלוא ביניהם
4.	לימוד חדירה והתבססות של תבדיד <i>FORC</i> פלוארסנטי לצמחי מלון עמידים ורגישים.
5.	ניסויים ראשוניים ליצירת תשתית מולקולרית בדרך לפיצוח סמן לזיהוי הגן לעמידות.
מסקנות מדעיות והשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח ?	
מטרות המחקר לתקופת הדו"ח הושגו במלואן. מחקר זה הוא הראשון בעולם המתייחס למחלה זו במלונים. למדנו על האינטראקציה בין המלון לפתוגן ובידנו הכלים להמשך המחקר ולייסוד מערכת שתתמוך בטיפוח לעמידות.	
בעיות שנתרו לפתרון	
על אף שלא הוגדרו כמטרות המחקר כדאי להמשיך בפיתוח סמן מולקולרי, להמשיך לברר את הורשת העמידות ברקעים גנטיים שונים ולהמשיך בבירור השראת עמידות בין כנה לרוכב.	
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח. פירסומים בכתב, הרצאות וימי עיון.	
1. המחקר פורסם במסגרת עבודת גמר לתואר שני של גידי אורגיל שהוגשה לאוניברסיטה העברית : "פוזריום ריקבון הכתר במלפפון ומלון: לימוד הביולוגיה של המחלה והתמודדות עימה ע"י צמחים מורכבים"	
2. גידי אורגיל הציג את העבודה במסגרת הכנס השנתי (2014) של העמותה הישראלית למחלות צמחים.	
3. המחקר התפרסם בעיתונות מדעית מבוקרת:	

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 <i>Fusarium</i> crown rot and their colonization by <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis cucumerinum</i> . <i>Plant Pathol.</i> 64:655-663.
פרסום הדו"ח
ניתן לפרסם את הדו"ח ללא הגבלה.

8. ספרות מצוטטת

עומרי, נ., גנאים, נ., יונס, ה., אבו טועמה, מ., אדלשטיין, מ. וקטן, י. 2009. מניעת פוזריום רקבון הגבעול והשורש במלפפון חממה במצע מנותק ע"י ידי שימוש בצמחים מורכבים. שדה ירק. גיליון 9: 53-55.

Beckman, C.H. 1987. The Nature of Wilt Diseases of Plants. St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press.

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 Pathol.* 64:655-663.

Gordon, T.R. and Martyn, R.D. 1997. The evolutionary biology of *fusarium oxysporum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35:111–128.

Moreno, A., Alferes, A., Aviles, M., Dienes, F., Blanco, R. and Santos, M. 2001. First report of of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis cucumerinum* in Spain. *Plant Dis.* 85: 1206-1210.

Pavlou, G. C., Vakalounakis, D. J. and Ligoxigakis, E. K. 2002. Control of root and stem rot of cucumber, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, by grafting onto resistant rootstocks. *Plant Dis.* 86:379-382.

Punga, Z.K., and Parker, M. 2009. 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.

Rose, S., Parker, M. and Punja, Z,X. 2003. Efficacy of biological and chemical treatments for control of fusarium root and stem rot on greenhouse cucumber. *Plant. Dis.* 87:1462-1470.

Tuk, F.M. and Kurt, S. 2010. Pathogenicity, vegetative compatibility and amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radiciis cucumerinum* isolates from Turkish greenhouses. *Phytoparasitica*.38:253-260.

Vakalounakis, D.J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radiciis cucumerinum* f. sp. nov. *Plant Dis.* 80:313-6.

Vakalounakis, D.J., Doulis, A.G. and Klironomou, E. 2005. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radiciis-cucumerinum* attacking melon under natural conditions in Greece. *Plant Pathol.* 54: 339-346..

Zvirin, T., Herman, R., Brotman, Y., Denisov, Y., Belaausov, E., Freeman, S. and Perl-Treves, R. 2010. Differential colonization and defence responses of resistant and susceptible melon lines infected by *Fusarium oxysporium* race 1.2. *Plant Pathol.* 59:576-585.