

**לימוד האטיולוגיה ומניעת התפתחות מחלות הנגרמות על ידי מיני בוטריטיס בשושן לפני ואחרי קטיף בכדי  
לאפשר הובלה ימית של הפרחים**

מוגשת לקרן מדען ראשי של משרד החקלאות על ידי

יגאל אלעד - מחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים, מרכז וולקני elady@volcani.agri.gov.il

סמיר דרובי - מחלקה לטיפול בתוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מרכז וולקני

שמעון מאיר - מחלקה לטיפול בתוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מרכז וולקני

שושנה סלים ולאה כהן - מחלקה לטיפול בתוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מרכז וולקני

נדיה קורולב ודליה רב דוד - מחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים, מרכז וולקני

תמר להב - מדריכת פרחים

גדעון לוריא ונטע מור - מדריכי שה"מ, משרד החקלאות

Yigal Elad, Dept. of Plant Pathology and Weed Research, The Volcani Center, ARO

elady@volcani.agri.gov.il

Samir Droby, Shimon Meir, Shoshana Salim, Lea Cohen, Dept. of Post Harvest of Fresh Products, The Volcani Center, ARO

Nadia Korolev, Dalia Rav David, Dept. of Plant Pathology and Weed Research, The Volcani Center

Tamar Lahav, Flowers consultant

Gidon Lurie and Neta Mor, Extension Service, Ministry of Agriculture

July 2011

תשע"א תמוז

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים

תוצאות הניסויים אינן מהוות המלצות לחקלאים

\*חתימת החוקר \_\_\_\_\_

רשימת פרסומים

קורולב נדיה, ממייב מ', פריד ל', רב דוד ד', דרובי ס', גרה ע', להב ת', גוטמן ש', לוריא ג' ואלעד י' (2011) אטיולוגיה של צירבון בשושן הנגרם על ידי *Botrytis* spp. תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 54-55.

קורולב נדיה, ממייב מ', פריד ל', רב דוד ד', דרובי ס' ואלעד י' (2011) רגישות לפונגיצידיים בתבדידי *Botrytis cinerea* ו *B. elliptica* -משושן. תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 57.

פריד לימור, דרובי ס', רב דוד ד', קורולב נ', סלים ש', כהן ל', להב ת', לוריא ג' ואלעד י' (2011) תנאים להתפתחות מחלות הנגרמות על ידי מיני בוטריטיס בשושן. תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 55. Fryd, L., Droby, S., Rav David, D., Korolev, N., Salim, S., Cohen, L., Lahav, T., Loria, G. and Elad, Y. (2011) Microclimate conditions for the development of diseases caused by *Botrytis* species in liliium. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:262.

Korolev, N., Mamiev, M., Fryd, L., Rav David, D., Droby, S., Gera, A., La'av, T., Gutman, S., Luria, G. and Elad, Y. (2011) Etiology of *Botrytis* blight of lilies in Israel. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:261-262

Korolev, N., Mamiev, M., Fryd, L., Rav David, D., Droby, S. and Elad, Y. (2011) Sensitivity to fungicides in *Botrytis cinerea* and *B. elliptica* from lily. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:262-263.

## תקציר

הצגת הבעיה - צמחי השושן נפגעים בשני מיני בוטריטיס: *Botrytis elliptica* הספציפי לגידול זה ו-*B. cinerea*. המחלות גורמות כתמים נקרוטים אופייניים שמתפשטים במהירות. דווח על התפתחות כתמי בוטריטיס על הפעמונים לאחר הקטיף, במשך תקופת הקירור אצל המגדל ופסילת התוצרת ליצוא. מטרת המחקר - זיהוי הגורמים למחלה על הפרחים בשטחי הגידול ולאחר הקטיף ולימוד האטיולוגיה של המחלה על זני השושן השונים המגודלים בארץ; עמידות פטריות הבוטריטיס לתכשירי הדברה; פיתוח שיטה להערכת נגיעות רדומה בבוטריטיס; פיתוח טיפולים למניעת התפתחות המחלה לפני ואחרי הקטיף ובמהלך משלוח ימי. שיטות העבודה – איסוף חלקי צמח נגועים במבני גידול של שושן, אפיון העמידות לתכשירי הדברה על מצעי מזון, בחינת יעילות ההדברה של תכשירים שונים, פיתוח שיטת זיהוי מולקולארי, לימוד תנאי מיקרואקלים להתפתחות תוצאות עיקריות – שני מיני בוטריטיס – אליפטיקה וצינראה מבודדים מפרחים בחלקות גידול ולאחר קטיף. 45% מהסימפטומים נגרמים על ידי גורמים אחרים ולא על ידי בוטריטיס. נוצרו אוספי תבדידים משני המינים ואופיינו יכולותיהם להדביק שושן. זוהתה נגיעות באמצעים מולקולאריים. אופיינו תנאי מיקרואקלים להדבקה על ידי שני המינים. נראה שטווח הטמפרטורות המאפשר פעילות משמעותית של מחולל המחלה רחב יותר במין ב' אליפטיקה. בשני המינים ההדבקה משמעותית בלחות גבוהה. בקרב אוכלוסיות בוטריטיס נמצאו תבדידים עמידים לחומרי הדברה כימיים ונמצא ריבוי עמידויות בחלקם. שני מיני בוטריטיס הודברו בתנאים מבוקרים על ידי תכשירי הדברה אך לא בתנאי שדה (פרט לתכשיר יעיל אחד) הן בגלל עמידות והן מפני שהפונגיצידיים לא יועדו להדברת גורמי מחלה שאינם בוטריטיס. בתנאי משלוח נמצאה תערובת אפרודיון עם כלורתלוניל יעילה בהדברה. מסקנות והמלצות – בקרת אקלים לשם מניעת תנאים להדבקה. מניעת מדבק על ידי טיפול בחומר צמחי נגוע המוצא מהמבנים. טיפול כימי בפרחים קטופים.

עמוד	תוכן עניינים
2	תקציר
2	מבוא
3	פירוט עיקרי הניסויים
3	איתור בוטריטיס בזני שושן, בידוד מפעמונים ועלים, זיהוי ואיסוף תבדידים
4	זיהוי מולקולרי של בוטריטיס בשושן
5	אפיוני מחלות הנגרמות על ידי מיני בוטריטיס בתנאים מבוקרים
9	טיפול בשילוב לתובלה ימית בשושן לונגיפלורום
12	רגישות בוטריטיס לתכשירי הדברה בתנאי שדה
14	עמידות בוטריטיס לתכשירי הדברה
17	דיון
20	טופס סיכום עם שאלות מנחות

## מבוא:

העלווה והפרחים של צמחי השושן נפגעים במהלך הגידול ממחלות הנגרמות על ידי שני מיני בוטריטיס: *Botrytis elliptica* (בוטריטיס אליפטיקה) הספציפי לגידול זה ו-*B. cinerea* (ב' צינראה) שהנו רחב טווח ותוקף גידולים רבים. לא ברורה הייתה חשיבותו של מי מפתוגנים רבה יותר. המחלות מתפתחות על העלים והפרחים ("פעמונים") וגורמות כתמים נקרוטים אופייניים שמתפשטים במהירות. בשנים שלפני תחילת הפרויקט צפינו והתקבלו דיווחים ממגדלים ומדריכים על התפתחות כתמים על הפעמונים לאחר תקופת אחסון בקירור של 3-4 ימים. הופעת הכתמים על הפעמונים גורמת לפסילת המשלוח. מקור המחלה, ככל הנראה, הוא בהדבקות של הפטרייה עוד בשלב הגידול, או בהדבקות ישירות בשלב הפרח הקטוף. טרם הוברר מהו מין הבוטריטיס האחראי למחלה זו. שני סוגי ההדבקות, שלעיתים אינן ניכרות עדיין בשלב הקטיף או האריזה, מתפתחות במהלך האחסון והמשלוח המתבצעים בתנאים מעודדי מחלה (לחות גבוהה באריזה. אוורור החממה, שמירה על תנאים נאותים בבית האריזה, במקרר ובמשלוח

עשויים להפחית את הנגיעות בבוטריטיס אך בחורף הבעיה מחמירה בכל מקרה. נראה שמגפות של המחלה הפכו להיות נפוצות אצל חלק מהמגדלים ללא פתרון נאות למניעתן. הבעיה צפויה להחמיר עם המעבר הצפוי להובלה בים. גידול שושן הינו גידול ארוך ולכן דרושה הגנה על השושן במשך תקופה ארוכה ובמיוחד בתקופה שלפני הקטיפה שבה נוף צפוף ותנאי מיקרו אקלים נוחים להתפתחות המחלה.

ניסויים להדברה כימית שנעשו בעבר נכשלו או תרמו להדברה חלקית בלבד. לא ברור האם הסיבה להדברה לא מספקת נעוצה בתכשירים לא יעילים או עמידות של גורם המחלה. מניסיונו באוכלוסיות בוטריטיס בגידולים אחרים יתכן שהסיבה לכישלונות הדברה היא יעילות נמוכה של מעט מהתכשירים והתפתחות תבדידים עמידים בעלי יכולת הדבקה והשרדות טובים. מזה מספר שנים נכנסו לשימוש פונגיצידיים יעילים להדברת מחלות הנגרמות על ידי בוטריטיס מקבוצות כימיות כגון האנילינופירימידינים, פנילפירולים וההידרוקסיאנילידים עליהם נמנים ההידרוקסיאניליד טלדור (fenhexamid), האנילינופירימידינים פרופיקה (mepanipyrim) ומיתוס (pyrimethanil) וסוויץ' שהינו תערובת של אנילינופירימידין ופנילפירול (fludioxonil, cyprodinil, בהתאמה). מבדיקת תבדידי בוטריטיס שנעשתה בשנתיים האחרונות נראה שקיים פוטנציאל לפיתוח עמידות גם כלפי חומרים מהקבוצות החדשות.

**מטרות המחקר** הינן: לימוד בעיות בוטריטיס בשושן וזיהוי הגורמים למחלה על הפרחים בשטחי הגידול ולאחר הקטיפה וכן לימוד האטיולוגיה של המחלה על זני השושן השונים המגודלים בארץ; בדיקת מצב עמידות מיני הבוטריטיס לתכשירי הדברה מקובלים בחלקות שושן; פיתוח שיטה להערכת נגיעות רדומה בבוטריטיס ובדיקת הקשר בין רמת ההדבקה הרדומה לבין שיעור המחלה לאחר קטיפה ועד המכירה; פיתוח טיפולים למניעת התפתחות המחלה לפני ואחרי הקטיפה ובמהלך משלוח ימי.

### פירוט עיקרי הניסויים

#### איתור בעיות בוטריטיס בזני שושן, בידוד מפעמונים ועלים לשם זיהוי ויצירת אוסף תבדידים

לימוד ואיסוף נתונים על נגיעות בבוטריטיס בחלקות גידול של שושן. נערכו ביקורים תכופים בחלקות מגדלים לשם הערכת חומרת המחלה באתרים שונים במבנה הגידול, ונתוני גידול נוספים והטיפוליים הניתנים ע"י המגדלים בכדי להתמודד עם הבעיה. זוהו גורמי המחלה בחלקות שונות. נבדקו שיטות הטיפול והאריזה לאחר הקטיפה אצל המגדל או בבית האריזה וכן תלונות מהבורסות השונות ומשווקים בחו"ל והקשורות לנזקים מבוטריטיס בפרחים ששווקו מהחלקות. בשנות המחקר הראשונה והאחרונה היו אירועי מחלה חמורים יתר משנת המחקר האמצעית (2210). נבדקו מעל 800 דוגמאות עם סימני מחלה. *Botrytis spp.* בודדו מ 55% מהדוגמאות בעוד משאר הדוגמאות בודדו הפטריות *Alternaria, Fusarium, Penicillium spp.* ואחרות וכן חיידקים או שלא בודד דבר. בשני מקרים זהו נגיפים; במקרה הראשון זוהה נגיף הכתמים הצהובים של האירוס (Iris yellow spot virus (IYSV) ומקרה השני זוהה נגיף מוזאיקת המלפפון (Cucumber mosaic virus (CMV) על ידי ע' גרה.

מיני הבוטריטיס זהו כ *B. cinerea* ו-*B. elliptica* לפי גודל וצורת הנבגים ומורפולוגיית המושבה. על אגר תפוא"ד *B. elliptica* יצר מושבות לבנות עד אפרפרות וקשיונות קטנים מאלו של *B. cinerea*. *B. elliptica* לא יצרה נבגים אלא מועטים בלבד לאחר חשיפה לאור אולטרה סגול קרוב (nUV) בעוד הנבגה של *B. cinerea* הייתה רבה בחשכה והתעודדה על ידי אור יום ו nUV. נבגי *B. elliptica* הינם שקופים, דמויי ביצה ובאורך 25-36 מיקרון, גדולים יותר מנבגי *B. cinerea*. מכלל 458 שבודדו מתחילת המחקר, 144 זהו כ *B. cinerea* ו-314 זהו כ *B. elliptica* (טבלה 1). ב 2007-2008 לא מצוינים תבדידי *B. elliptica* כי עד לעונת 2009 לא זוהתה ה *B. elliptica* כראוי ונחשב בעינינו כ *Sclerotinia spp.* וזאת בגלל היות התפטיר לבן ובהיר והעדר הנבגה. לא נמצא הבדל בגודל ובצורת הסימפטומים שנוצרו על ידי שני מיני הבוטריטיס. *B. cinerea* בודד מ 14-15% מהעלים ועלי הכותרת ולעיתים בודדו שני המינים. רוב (53-73%) תבדידי *B. cinerea* מקורם מבארותיים ותנובות בעוד >95% מהתבדידים בבורגתה

ושדה יצחק היו של *B. elliptica*. ב 2011 התמקד המחקר בשדה יצחק. גם בעונה זו בודדו בעיקר תבדידי *B. elliptica*. *B. cinerea* בודד מפעמונים פתוחים (ב 9 מתוך 10 כאשר העשירי לא הניב גורם מחלה כלל) בעוד מניצנים ועלים בודד *B. elliptica* (טבלה 2).

טבלה 1: אוסף תבדידי בוטריטיס משושן שנצבר במהלך המחקר

	<i>B. cinerea</i>					<i>B. elliptica</i>				
	2007-8*	2009	2010	2011	סה"כ	2009	2010	2011	סה"כ	ישוב
בארותיים	24	12	2	...	38	...	5	...	5	בארותיים
כפר לימן	9	...	...	...	9	...	...	...	0	כפר לימן
משמרות	3	...	...	...	3	...	...	...	0	משמרות
בורגתה	24	...	2	...	26	...	45	...	45	בורגתה
שדה יצחק	2	3	4	44	53	118	47	96	261	שדה יצחק
תנובות	7	8	...	...	15	3	...	...	3	תנובות
סה"כ	69	23	8	44	144	121	97	96	314	

טבלה 2: שכיחות מיני ה Botrytis באברים נושאי סמפטומים בצמחי השושן בחלקות גידול

<i>B. cinerea</i> , %	<i>B. elliptica</i> , %	כתמי מחלה (מספר)	איבר הצמח
24	76	112	עלה
39	61	18	ניצן
100	0	9	פרח פתוח

### זיהוי מולקולרי של בוטריטיס בשושן

מספר תבדידי ב' צינראה שבודדו מענפי שושן כמתואר לעיל נשמרו במצב נקי או לא נקי ונבדקו במעבדה של ד"ר סמיר דרובי למידת זיהויים על ידי סמן המזהה בוטריטיס (תמונות 1). בכל העלים שהראו סמפטומים דומים לנגיעות בוטריטיס התקבלו תוצאות חיוביות בבדיקת ה-PCR. התחלים נתנו הגברה של DNA המזהים את הסוג בוטריטיס. התחלים (פריימרים) היו כלליים לבוטריטיס ולא ייחודיים לאחד המינים. לפיכך, בהמשך פותחו תחלים לזיהוי ב' אליפטקה וזאת לפי עבודה קודמת שנעשתה בהולנד. בעקבות ההצלחה בזיהוי מולקולרי של בוטריטיס לא המשכנו עם שיטות בעלות רזולוציה נמוכה יותר ובהן שימוש בתבדיד מסומן ב-GFP או בשיטת IMS-PCR. נוגדנים הקיימים היום לבוטריטיס מזהים את המעטפת הפוליסכרידית של הנבגים והתפטיר בספציפיות גבוהה אך כושר הזיהוי נמוך בהשוואה ל-qPCR.

נעשה שימוש ב RT PCR לזיהוי כל אחת מהפטריות בחומר צמחי. לכל דוגמה היו 3 חזרות. בזיהוי ב'

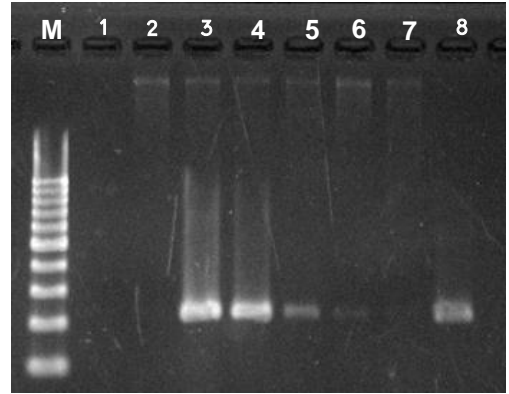
אליפטקה לכיול נלקחה דוגמת DNA של אליפטקה ותחלים (פריימרים) של אליפטקה, לביקורת נלקחה דוגמת DNA של צינראה שאף היא הורצה עם תחלים של אליפטקה וכן הוספו חזרות של מים. נתקבל זיהוי של ב' אליפטקה בכל מיהולי הפרימרים. בדומה דוגמאות DNA עם ב' צינראה נבדקו באמצעות RT PCR עם תחלים המיועדים לב' צינראה ולביקורת נלקחה דוגמת DNA של אליפטקה ואותם תחלים של ב' צינראה וכן הוספו חזרות של מים. התקבל זיהוי של הפטרייה בכל מיהולי התחלים.



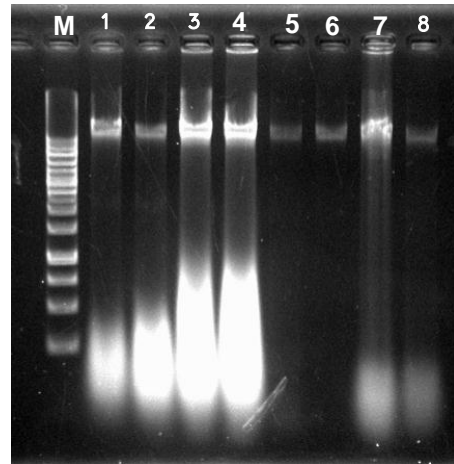
דוגמאות נגועות שהתקבלו מהשדה

הפקה של DNA מהרקמה הנגועה והרצה ב-PCR עם תחלים המשמשים לזיהוי *B. cinerea*

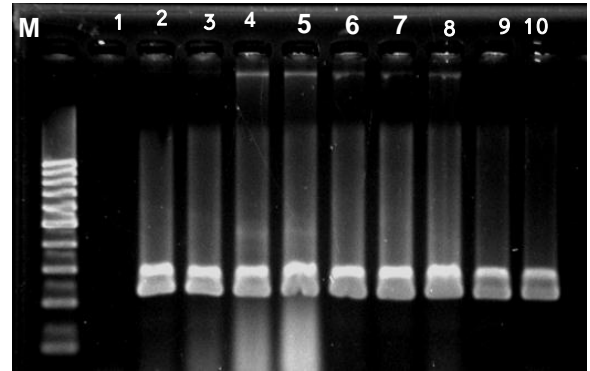
מס' באר	דוגמא (הדוגמאות מצולמות בדף הקודם)
1	ביקורת שלילית (מים)
2	עלה של שושן בריא
3	דוגמא 1
4	דוגמא 2
5	דוגמא 3
6	דוגמא 4
7	דוגמא 5
8	ביקורת חיובית (בוטריטיס)



מס' באר	דוגמא
1	דוגמא 1-34-1 - תבדיד 2-5
2	דוגמא 2-34-2 - תבדיד 2-5
3	דוגמא 1-35-1 - תבדיד 2-26 (לא נקי)
4	דוגמא 2-35-2 - תבדיד 2-26 (לא נקי)
5	דוגמא 1-36-1 - תבדיד 18
6	דוגמא 2-36-2 - תבדיד 18
7	דוגמא 1-37-1 - תבדיד 2-14 (לא נקי)
8	דוגמא 2-37-2 - תבדיד 2-14 (לא נקי)



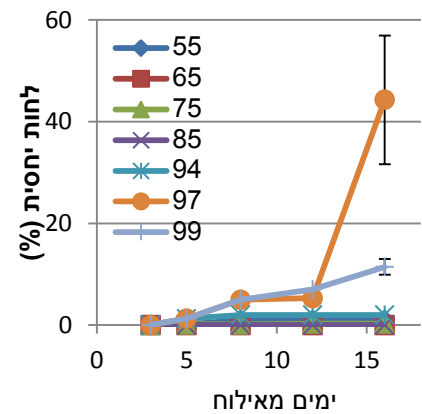
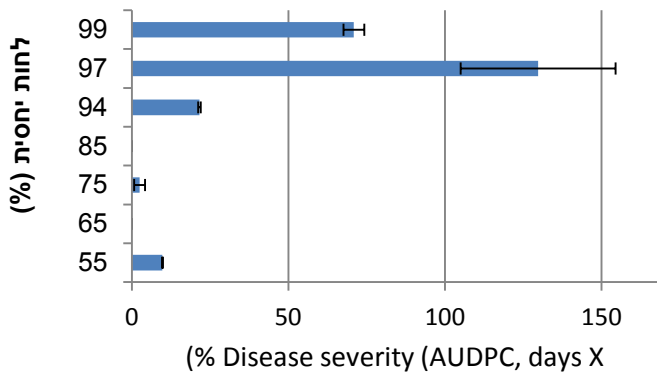
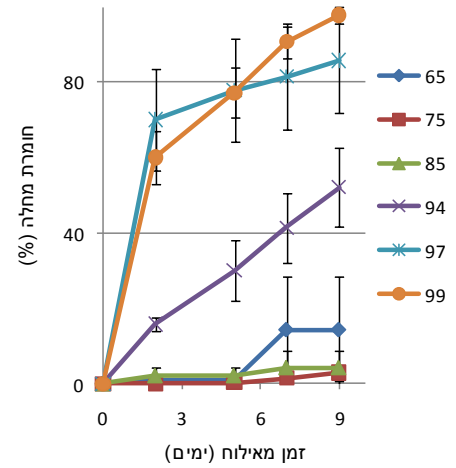
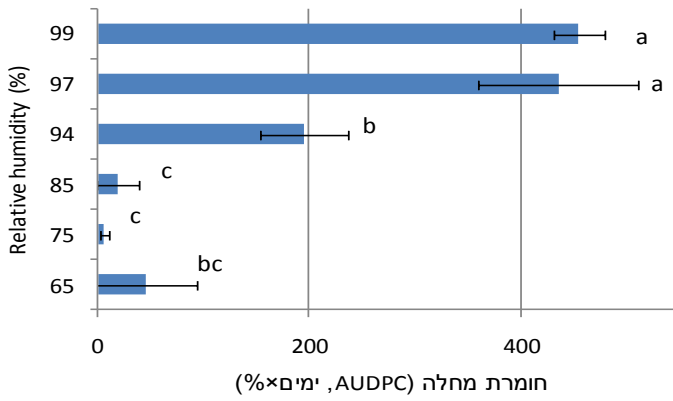
מס' באר	דוגמא
1	ביקורת שלילית (מים)
2	דוגמא 1-34-1 - תבדיד 2-5
3	דוגמא 2-34-2 - תבדיד 2-5
4	דוגמא 1-35-1 - תבדיד 2-26 (לא נקי)
5	דוגמא 2-35-2 - תבדיד 2-26 (לא נקי)
6	דוגמא 1-36-1 - תבדיד 18
7	דוגמא 2-36-2 - תבדיד 18
8	דוגמא 1-37-1 - תבדיד 2-14 (לא נקי)
9	דוגמא 2-37-2 - תבדיד 2-14 (לא נקי)
10	ביקורת חיובית (בוטריטיס 1-5, 100:1)



תמונות 1: זיהוי בוטריטיס צינראה באמצעות תחלים מזהי בוטריטיס

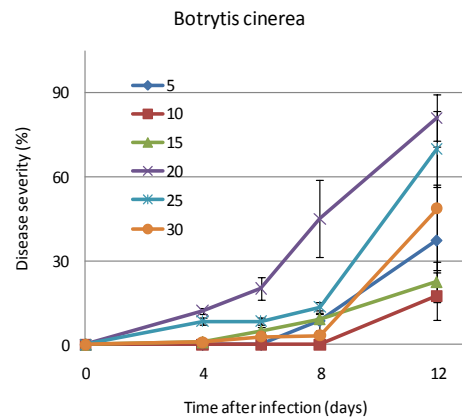
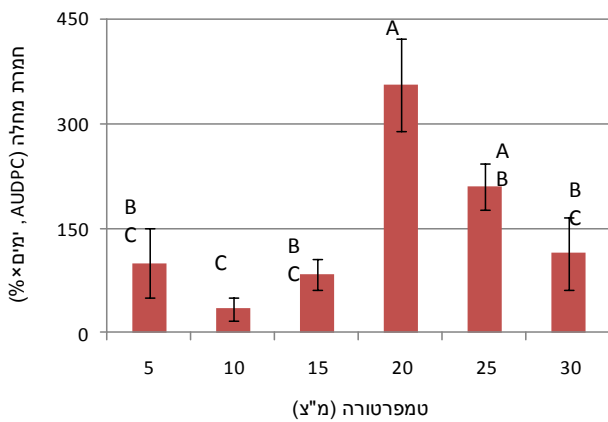
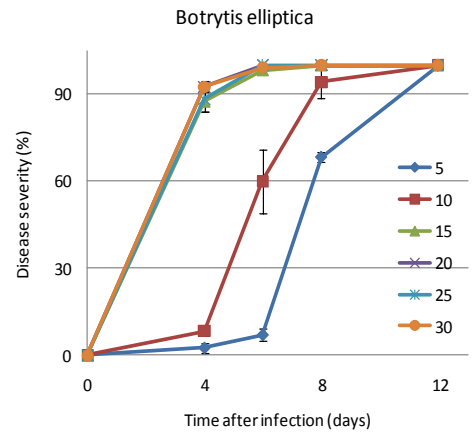
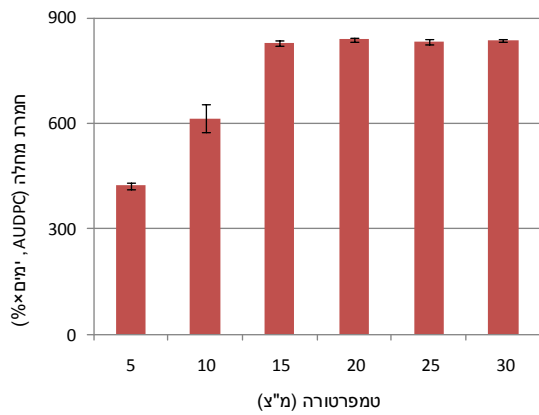
#### אפיוני מחלות הנגרמות על ידי מיני בוטריטיס בתנאים מבוקרים

תבדידים מיצגים משני מיני הפטרייה בוטריטיס שמשו לבחינת גורמים המשפיעים על התפתחות המחלות הנגרמות על ידם. עלה מבוגר מצמחים בגילים שונים היה רגיש במידה דומה להדבקה עלי ב' צינראה. עלה צעיר בצמחים לקראת פריחה היה רגיש. במידה רבה יותר מאשר עלה צעיר בצמחים מבוגרים. ללימוד השפעת הלחות על הדבקה של עלי שושן מנותקים הודגרו עלים מודבקים מעל תמיסות מלחים רוויות. המחלה הנגרמת על ידי ב' אליפטיקה הייתה חמורה יותר בעת הדגרה בלחוויות 94% ומעלה, אם כי באחד הניסויים, בלחות יחסית 94% הייתה חומרת המחלה נמוכה מזאת שבלחוויות יחסיות 99%-97%. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בתנאי 97% לחות יחסית מאשר ב 99 או 94% (איור 1).



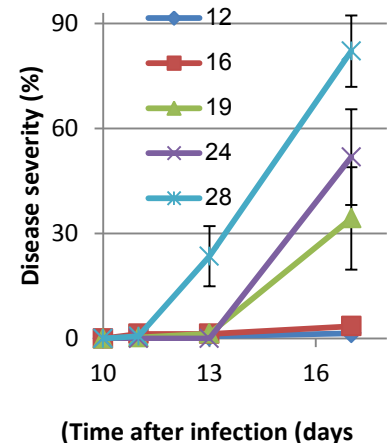
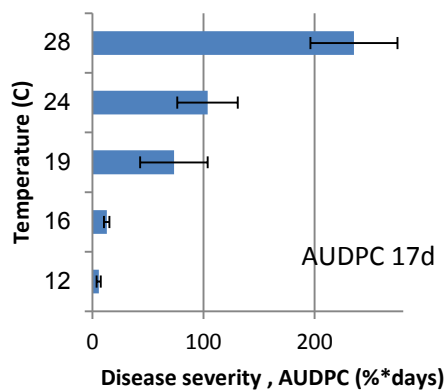
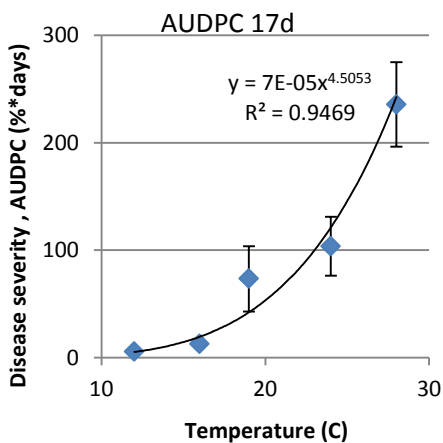
איור 1 : השפעת לחות יחסית על חומרת המחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס אליפטקה (למעלה) וב' צינראה (למטה) בעלי שושן מנותקים

בניסוי בו נבדקה השפעת הטמפרטורה על הדבקה של שני מיני בוטריטיס נמצא שב' אליפטקה גרם למחלה חמורה יותר מב' צינראה. תגובת שני המינים לטמפרטורה הייתה שונה. ב' אליפטקה גרם למחלה חמורה בטווח 15-30 מ"צ ולמחלה משמעותית גם בטמפרטורות הנמוכות יותר. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בטמפרטורה 20 מ"צ וכן הצליח להדביק עלים בכל הטמפרטורות אך במידה פחותה (איור 2).

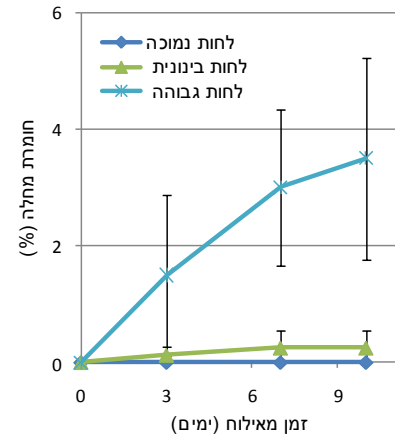
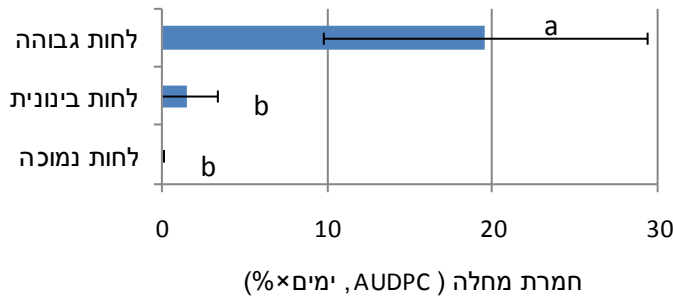
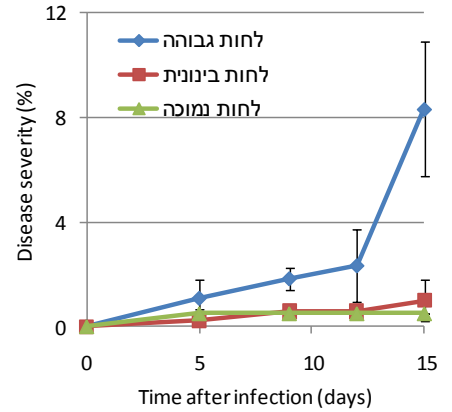
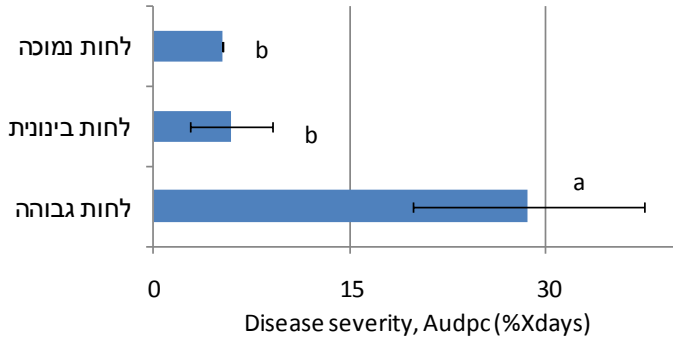


איור 2 : השפעת טמפרטורה על חומרת מחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס אליפטיקה (למעלה) ובי צינראה (למטה)

בצמחים שלמים שהודגרו בתאי צמיחה נמצא שככל שהטמפרטורה עלתה בטווח 12-28 מ"צ התקבלה מחלה חמורה יותר בעקבות הדבקה בבי צינראה (איור 3). הדבקת צמחים שלמים על ידי בי אליפטיקה התרחשה בלחות יחסית גבוהה בעוד בלחות יחסית נמוכה היא הייתה מזערית. לחות יחסית בינונית הביאה לתוצאות שונות בשני הניסויים המבטאות כנראה תנאים שונים בשני הניסויים. בניסוי נוסף הדבקת צמחים שלמים על ידי בי צינראה התרחשה בלחות יחסית גבוהה בעוד בלחות יחסית נמוכה היא לא התרחשה בכלל ובלחות יחסית בינונית נצפתה מחלה מעטה ביותר (איור 4).

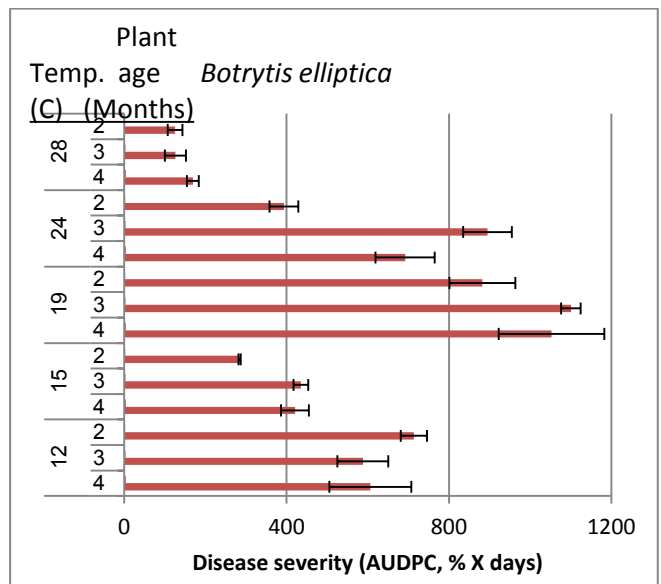
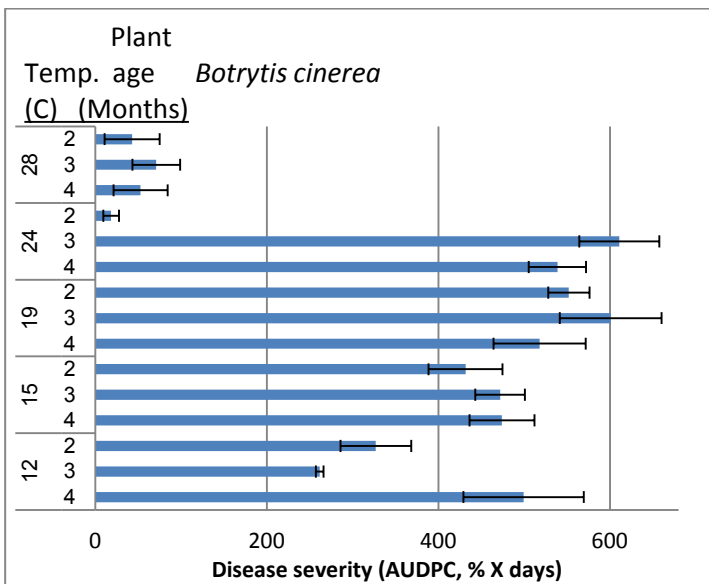


איור 3 : השפעת טמפרטורה על חומרת המחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס צינראה בצמחי שושן שלמים.



איור 4 : השפעת לחות יחסית על חומרת המחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס אליפטקה (למעלה) וב' צינראה (למטה) בצמחי שושן שלמים.

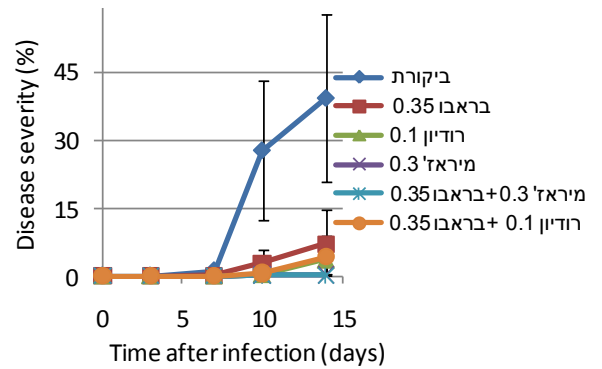
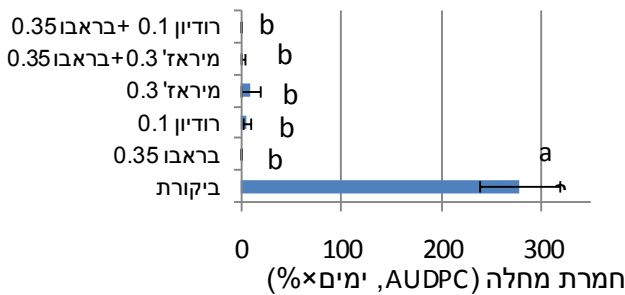
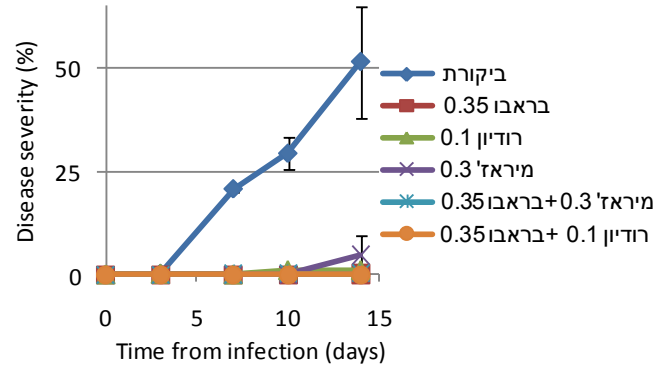
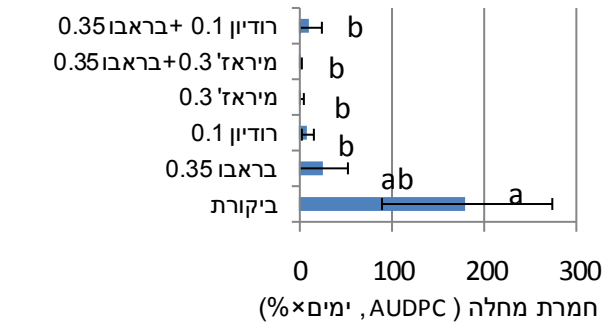
השפעת טמפרטורה על חומרת המחלה נבדקה בשילוב עם השפעת גיל הצמח. ב' אליפטקה גרם למחלה חמורה יותר בטמפרטורות 19-24 מ"צ בעוד בטמפרטורות 12-15 מ"צ חומרת המחלה הייתה נמוכה יותר. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בטווח טמפרטורות 12-24 מ"צ. שני גורמי המחלה גרמו למחלה מזערית בטמפרטורה 28 מ"צ. ככלל גיל הצמחים לא השפיע על חומרת המחלות אך בתנאי טמפרטורה שוליים (24 מ"צ בב' אליפטקה ו 12 ו 24 מ"צ בב' צינראה) התקבלה מחלה פחות חמורה בצמחים צעירים יותר (איור 5).



איור 5 : השפעת טמפרטורה (מ"צ) וגיל הצמח (חודשים) על נגיעות צמחי שושן שלמים בכל אחד משני מיני הבוטריטיס



השפעת תכשירי ההדברה בראבו (כלורתלוניל), רוברל או רודיון (איפרודיון) ומיראז' (פרוכלורז) לבדם או בשני שילובים על שני מיני בוטריטיס נבדקה בעלים מנותקים בתנאי לחות גבוהה (איור 6). כל התכשירים ושילוביהם הפחיתו את המחלה הנגרמת על ידי שני התבדידים פרט לבראבו שלא הפחית את המחלה הנגרמת על ידי ב' צינראה וזאת בגלל שונות רבה בהיקש (איור 6). בניסוי נוסף עם צמחים שלמים בעציצים יושמו הפונגיצידיים לאחר הדבקה בפרחים קטופים. המחלות הודברו על ידי שתי התערובות שהכילו בראבו ומיראז' ובראבו עם רודיון.



איור 6 : השפעת תכשירי הדברה על תחלואת עלים מנותקים של שושן בוטריטיס צינראה (למעלה) ובבוטריטיס אליפטקה (למטה). התפתחות המחלה במשך 14 ימים (ימין) וסיכומי השטח מתחת לעקומי התפתחות המחלה (משמאל)

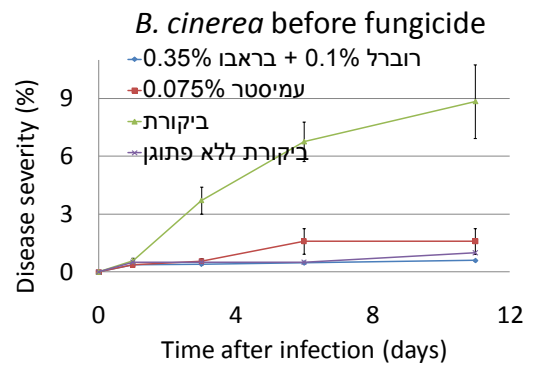
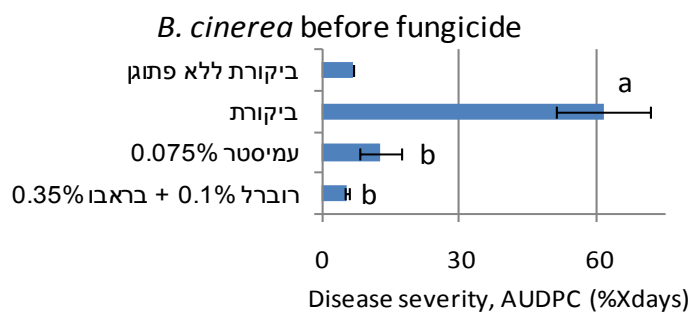
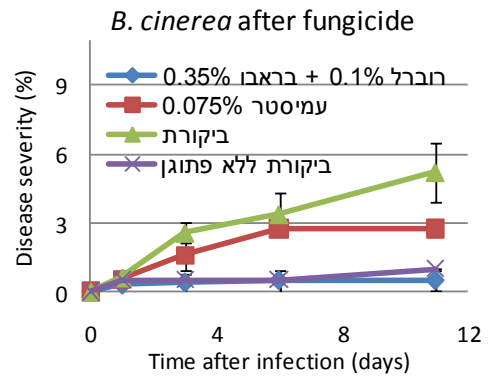
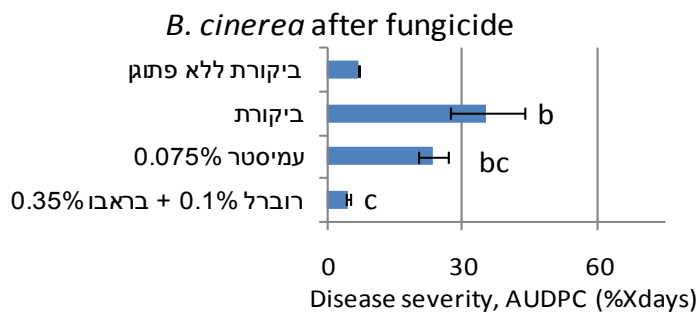
### טיפול בשילוב לתובלה ימית בשושן לונגיפלורום

פותח פרוטוקול על ידי צוות המעבדה של ס' דרובי: פרחי שושן נקטפים בשלב תפיחה ראשונית של הפעמון המוביל (11 ס"מ לפחות, פעמון ירוק) מועברים לאחר הקטיף לקירור של 4 שעות ללא כל הרוויה מוקדמת, כדי לשמור על גמישותם ולמנוע פגיעות מכאניות. לאחר מספר שעות בקירור הפרחים מוצאים למיון ואח"כ מוטענים בתמיסה הכוללת TOG-4 (חומר משמר שחומר הפעיל בו HQC-8 בריכוז של 0.2% ו־ TOG-3 בריכוז של 0.2% מכיל TBZ, Benzolconium chloride, 8-HQC (יון אמון רביעוני). לתמיסה אלו מוסיפים גיברלין בריכוז של 25 ח"מ; הפרחים מוטענים במשך 3-4 שעות בטמפרטורת מחסן ולאחר מכן מועברים עם תמיסת ההטענה לקירור של 2 מ"צ למשך לא פחות מ-24 שעות ועד למועד אריזתם; הפרחים נארזים בקירור בקרטון מס' 21 או 31 בתוספת נייר גרוס; אין לדחוס את הפרחים בקרטון בגלל הרגישות הרבה לפגיעות מכאניות; אין לשלב במשלוח פרחים עם מחלות, מזיקים, מכות מכאניות, צריבות, וירוס, עלווה פגומה ושלב פתיחה מעבר לתפיחה ראשונית של הפעמון המוביל. בהדמיית משלוח ימי של פרחים קטופים אשר אולחו בשני מיני הבוטריטיס (11 יום בקרור ו-14 ימים באגרסל בטמפרטורת החדר) נמצא ששני מיני הבוטריטיס פתוגנים של צמח השושן ללא השפעה מובהקת של גיל הפעמונים או העלים על שכיחות המחלה.

ניסויי הדברה כימית נערכו בפרחים קטופים תוך דימוי תנאי משלוח. הפרחים הובאו מחלקה מסחרית ונשאו על גביהם את שני גורמי המחלה. רמת המחלה הטבעית הייתה נמוכה בשני המקרים אך מעט משמעותית יותר בב'

אליפטקה מאשר בבי צינראה (איורים 7-8). לא נמצא הבדל מובהק בין תוצאות ההדבקה לפני יישום הפונגיצידיים לבין ההדבקה לאחר יישום הפונגיצידיים (יישום הפונגיצידיים לפני הדבקה) בעוד גורם ההדברה באמצעות פונגיצידיים נמצא מובהק הוא אשר יתואר. ב' צינראה הופחת באופן מובהק על ידי הפונגיצידיים ורובל עם בראבו היה יעיל יותר מאשר עמיסטר (אזוקסיסטרובין) (איור 7). לא נתקבלה הדברה מובהקת של ב' אליפטקה (איור 8).

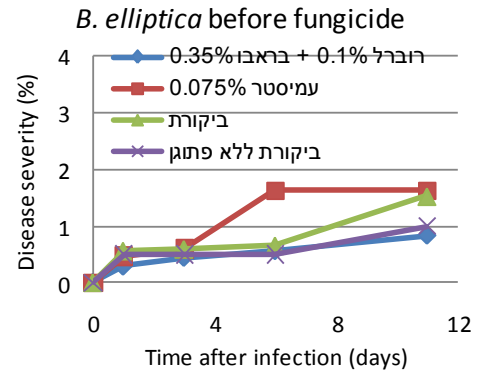
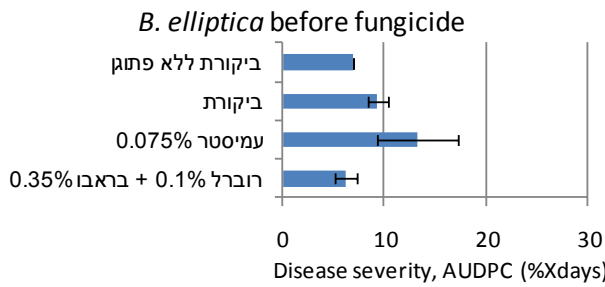
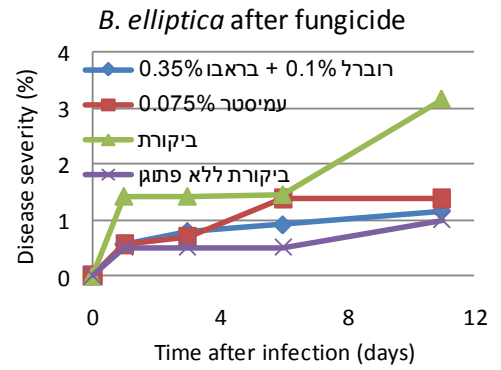
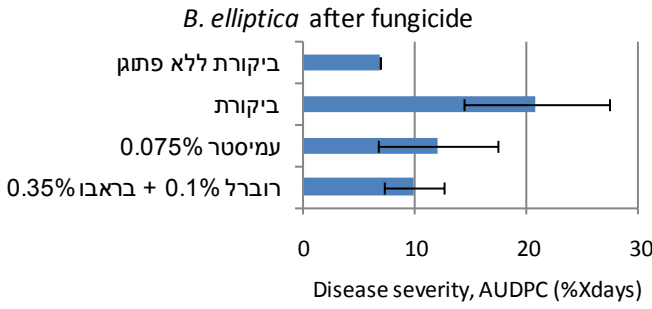
בניסוי נוסף עם פרחים קטופים בתנאי משלוח לא נמצא הבדל מובהק בין יישום תכשירי הדברה לפני הדבקה לבין יישום לאחר הדבקה (איורים 9-10). תערובת התכשירים רודיון עם בראבו הייתה יעילה יותר ממיראז' עם בראבו בהדברת שכיחות הנגיעות בב' אליפטקה בעלים (איור 9) בעוד ב' צינראה לא הודברה בכלל. בפעמוני הפרחים הפחיתו שתי תערובות החומרים את שני גורמי המחלה (איור 10).



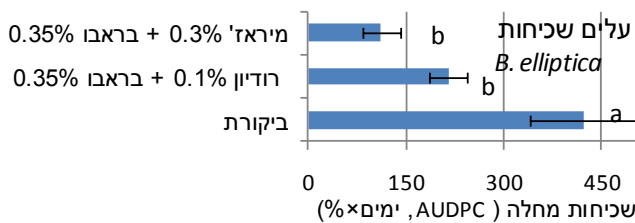
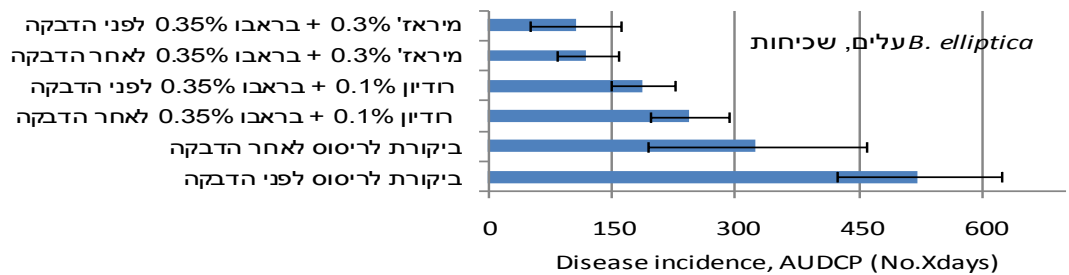
ניתוח שונות: גורם מועד היישום לא נמצא מובהק בעוד גורם חומר ההדברה נמצא מובהק

Level	$P \leq 0.0001$	Least Sq Mean	Source	F Ratio	Prob > F
ביקורת	A	48.4	מועד הריסוס	1.5592	0.2278
עמיסטר 0.075%	B	18.3	חומר הדברה	37.947	<.0001
רובל + 0.1% בראבו 0.35%	C	5.0	מועד הריסוס*חומר הדברה	6.8242	0.0062

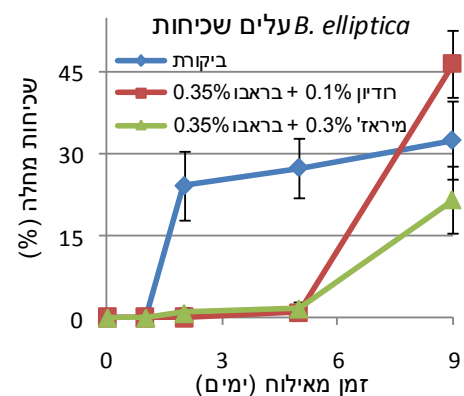
איור 7: הדברת בוטריטיס צינראה באמצעות תכשירי הדברה בפרחים קטופים תוך הדמיית תנאי משלוח. הפונגיצידיים יושמו לפני הדבקה בפתוגן (למעלה) או אחרי הדבקה בפתוגן.



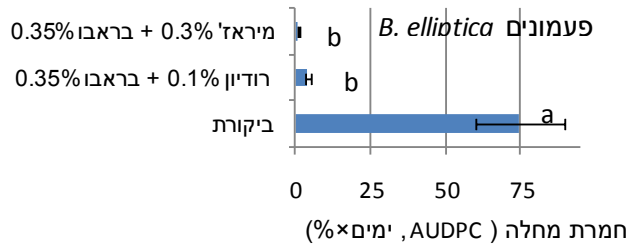
איור 8 : הדברת בוטריטיס אליפטקה באמצעות תכשירי הדברה בפרחים קטופים תוך הדמיית תנאי משלוח. הפונגיצידיים יושמו לפני הדבקה בפתוגן (למעלה) או אחרי הדבקה בפתוגן. ניתוח שונות : גורם מועד היישום וגורם טיפול הריסוס לא נמצאו מובהקים



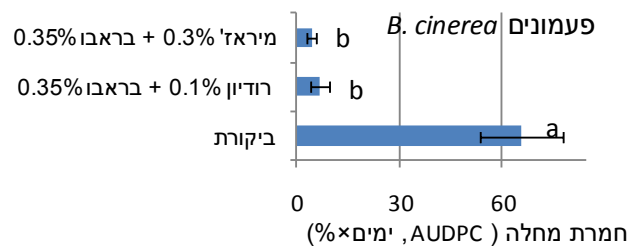
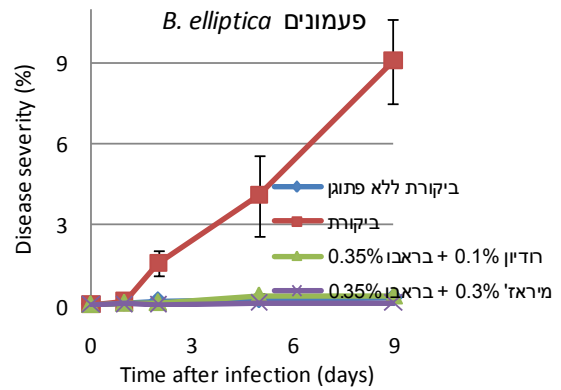
Level	Prob > F	Least Sq Mean
ביקורת	A	423.3333
חודיון+בראבו	B	215.8333
מיראז'+בראבו	B	112.0833



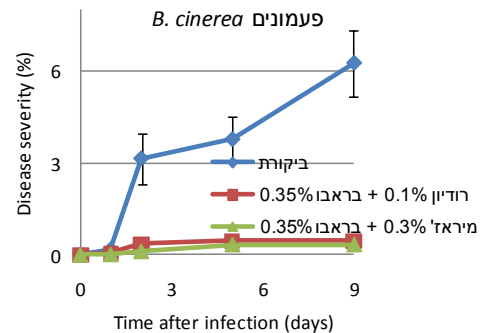
איור 9 : שכיחות מחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס אליפטקה בעלים של שושן קטוף. למעלה מוצגים כל הטיפולים – לא נמצא הבדל בין יישום לפני ואחרי הדבקה ולכן מוצגות תוצאות הניסוי ללא גורם מועד ההדבקה (למטה).



Level	Prob > F	Least Sq Mean
ביקורת	<.0001	74.9
רודיון+בראבו		4.1
מיראז'+בראבו		0.9



Level	Prob > F	Least Sq Mean
ביקורת	<.0001	65.70625
רודיון+בראבו		6.475
מיראז'+בראבו		4.29375



איור 10 : הדברת בוטריטיס אליפטיקה (למעלה) ובי צינראה בפעמונים של פרחי שושן באמצעות תכשירי הדברה בפרחים קטופים תוך הדמיית תנאי משלוח. הפונגיצידיים יושמו לפני הדבקה או לאחר הדבקה בפתוגן והניתוח נעשה במשותף אך לכל גורם מחלה בנפרד.

רגישות בוטריטיס לתכשירי הדברה בתנאי שדה

ניסוי שדה לבדיקת יעילות תכשירים להדברת בוטריטיס בשושן צחור (שדה יצחק - חורף 2010-2011) נערך על ידי נחמיה מרקוביץ, עמוס עובדיה, תמר להב ויגאל אלעד. מטרת הניסוי הייתה בחינת היעילות של תכשירים שונים להדברת בוטריטיס ובחינת בטיחות התכשירים לשושן.

שושן מזן "וואיט-הבן", שתילת 27.10.2010; השקיה: טפטוף; קרקע: חול.

תכשירים: עמיסטר (תר) – 250 גרם AZOXYSTROBIN בליטר; סוויץ' (גר) – 37.5% CYPRODINIL ו 25.0% FLUDIOXONIL; סיגנום (גר) – 6.7% PYRACLOSTROBIN ו 26.7% BOSCALID; טלדור (תר) – 500 גרם FENHEXAMID בליטר; אוהיו (תר) – 500 גרם FLUAZINAM בליטר; רוברל (אר) – 50% IPRONIL; בראבו (תר) – 500 גרם CHLOROTHALONIL בליטר (טבלה 4); היישום: מרסס גב לחץ מוטורי עם מוט ריסוס המצויד בפומיות קוניות ב 9.12.2010, 16.12.2010, 24.12.2010, 30.12.2010 ו 6.1.2011. מתכונת הניסוי: בלוקים באקראי, 4 חזרות, כל חזרה שורה באורך 6.5 מטר. הגידול בתחילת הניסוי היו הצמחים בגובה כ 30 ס"מ. בתחילת הניסוי הייתה נוכחות כתמי בוטריטיס שהוסרו ונספרו לאחר הריסוס הראשון. הערכות נעשו בתאריכים 9.12.2010, 16.12.2010, 24.12.2010, 30.12.2010, 6.1.2011 ו 18.1.2011. בכל חזרה נספרו כתמי הבוטריטיס האופייניים והוסרו. בחזרות ללא סניטציה הכתמים סומנו ולא הוסרו.

הניסוי הועמד על נגיעות ברמה מבטיחה, לאחר שהחקלאי החל בריסוסים ולפני שביצע סניטציה יסודית, אך

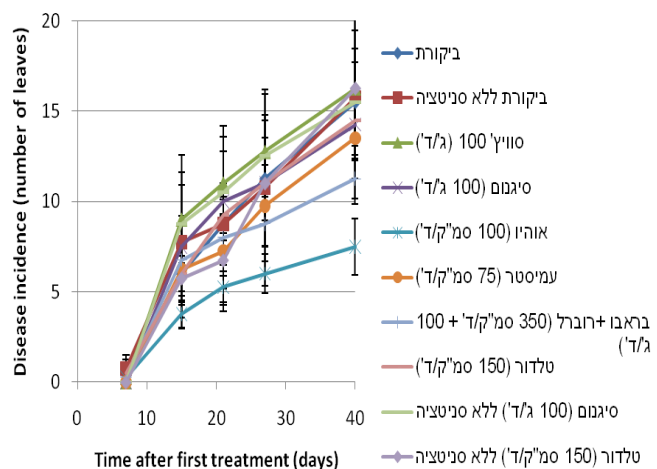
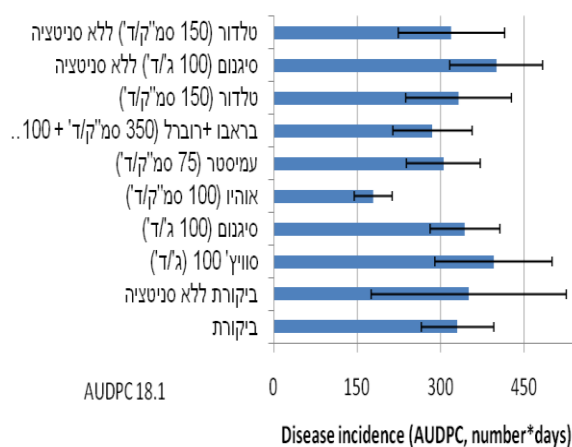
מזג אוויר חם ויבש לאחר תחילת הניסוי והפסקת ההמטרות לקליטה מיטבית, גרמו לירידה בקצב הופעת הסימפטומים של הבוטריטיס בחלקת הניסוי ובשטח כולו. בשבועיים האחרונים של הניסוי מזג האוויר היה חורפי וניכרה עלייה קלה ברמת הנגיעות. שתיים עד שלוש הספירות הראשונות (ספירת האפס והסמוכות לה), הן ספירות שיש בהן מרכיב של המצב לפני התחלת הניסוי ולכן הוצגו הנתונים המצטברים ללא ספירת האפס ובטבלה נפרדת ללא הספירה שאחריה. הספירה התבצעה בחלק העליון של הצמח, תוך הזזה מינימאלית של הצמחים, כך שככל שהזמן עבר השפעת הטיפולים הייתה משמעותית יותר. הדבר התבטא בהקטנת השונות בין החזרות והדמיון בין ההיקש עם/בלי הסניטציה.

התכשיר המעניין ביותר הוא האוהיו במינון 100 סמ"ק/ד', שההדברה באמצעותו הייתה הטובה ביותר. תכשירים נוספים בעלי פעילות ניכרת היו העמיסטר במינון 75 סמ"ק/ד' והשילוב בראבו 350+רוברל 100. השילוב בראבו ורוברל גרם לכלוך העלווה בשארית אבקתית אפורה. התכשירים סיגנום במינון 100 ג'ד' וטלדור במינון 150 ג'ד' היו חלשים מאוד. ההפתעה הגדולה היא, שסוויץ' במינון 100 ג'ד', התכשיר בעל המוניטין הרב בהדברת בוטריטיס, לא הראה פעילות כלל ואין לנו הסבר לכך (טבלה 2, איורים 11, 12). רוב הכתמים נצפו על העלים החדשים ביותר, שלא נחשפו לתכשיר בריסוס האחרון. הדבר מצביע על כך שקצב הופעת הכתם האופייני של הבוטריטיס הוא מהיר מאוד על אברי הצמח החדשים, שלא קיבלו ריסוס. יתכן וצריך לבצע ריסוסים בתדירות גבוהה יותר. טיפול הסניטציה לא השפיע על חומרת המחלה.

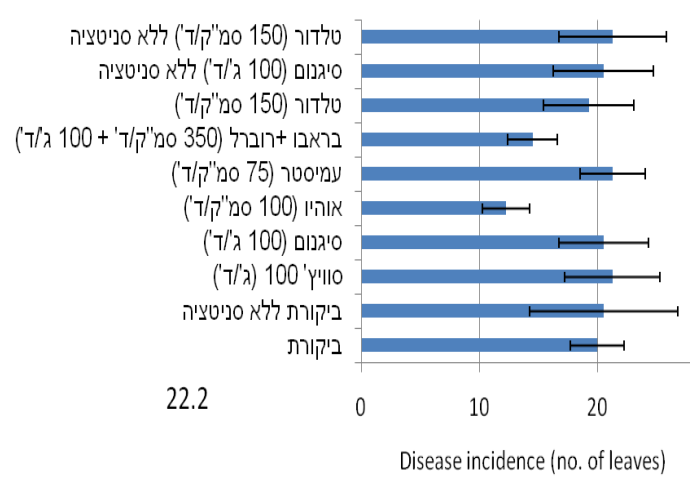
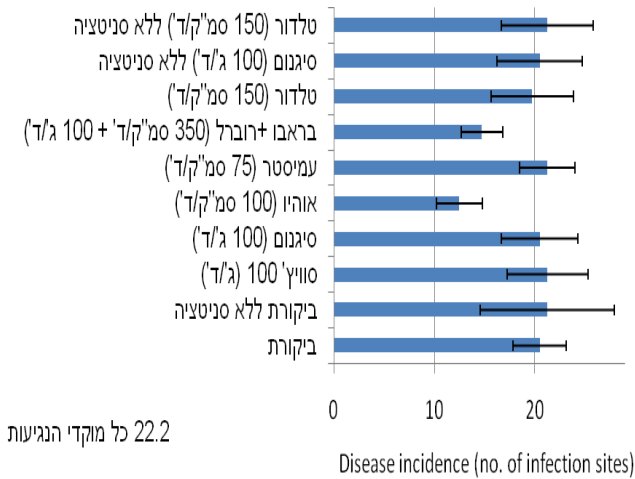
טבלה 2: שכיחות כתמי מחלה הנגרמת על ידי בוטריטיס בניסוי שדה בשושן

מספר כתמי בוטריטיס ממוצע בחזרה						טיפול
18.1.11	6.1.11	30.12.10	24.12.10	16.12.10	9.12.10	ומינון (סמ"ק/ד')
5.25	א 2.50	א 2.75	א 2.25	א 3.75	א 7.00	היקש
5.00	א 2.00	א 2.00	א 2.50	א 5.25	א 10.25	היקש ללא סניטציה
3.50	א 1.75	א 2.00	א 3.75	א 5.25	א 12.25	סוויץ' 100
3.25	א 1.00	א 2.50	א 3.00	א 4.50	א 9.50	סיגנום 100
1.50	א 0.75	א 1.50	א 1.75	א 2.00	א 8.00	אוהיו 100
3.75	א 2.50	א 1.00	א 1.25	א 5.00	א 9.75	עמיסטר 75
2.50	א 0.75	א 1.25	א 2.25	א 4.50	א 12.50	רוברל + בראבו 350
3.50	א 1.75	א 3.25	א 1.25	א 4.75	א 12.75	טלדור 150
3.00	א 2.00	א 1.75	א 1.25	א 7.25	א 13.75	סיגנום 100 ללא סניטציה
4.75	א 3.25	א 2.00	א 2.00	א 3.75	א 8.00	טלדור 150 ללא סניטציה

טיפולים בעלי אותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית ברמה של 0.05 לפי SNK



איור 11: ניסויי הדברת צרבון בחלקת שושן מסחרית. טיפולי הניסויים כללו יישום תכשירי הדברה עם הסרת עלים נושאי סמפטומים (סניטציה) ושלושה טיפולים ללא סניטציה של עלים נגועים.



איור 12 : השפעת טיפולים כימיים על הצירבון בשושן בהערכה מאוחרת שנערכה ב 22.2.11. הערכת מספר העלים הנגועים (ימין) ומוקדי נגיעות הכוללים גם פרחים (שמאל).

### עמידות בוטריטיס לתכשירי הדברה

מספר הריסוסים הרב בתכשירי הדברה עשוי להביא להתפתחות מואצת של גזעי פטרייה עמידים לתכשירי ההדברה ולירידה ביעילותם. בדקנו את רגישות אוכלוסיות בוטריטיס (*B. elliptica* ו *B. cinerea*) שבודדו מהאוויר או מחלקי צמחים לתכשירים מקבוצות הכימיקלים (טבלה 3) וזאת על ידי ביסוס נתוני הרגישות של תבדידים, קביעת סף המעבר לריכוזים המעידים על עמידות תבדידים ואוכלוסיות ואפיון העמידות שלהם כלפי תכשירים שונים.

טבלה 3 : הבוטריטיצידיים שנבחנו במחקר זה

Class	Active ingredient	Fungicide
Anilinopyrimidines	Pyrimethanil	Mythos
Benzimidazoles	Benomyl	Benlate
Dicarboximides	Iprodione	Rovral
Hydroxylanilide	Fenhexamid	Teldor
Polyoxines	Polyoxine AL	Polar

**מבחני רגישות :** תבדידי ב' צינראה וב' אליפטיקה שמשו לבדיקת רגישות במבחן גידול מושבה מתפטיר ; דסקיות תפטיר ללא נבגים מתרבית בת 17 שעות של ב' צינראה ומתרבית ב' אליפטיקה בת 7 ימים (אכלוס צלחת רק בתום כשבועיים) על מצע Czapek Dox Agar medium (CDA) ללא פונגיצידי (ביקורת) ועם הפונגיצידיים בשישה ריכוזים (0.001 to 10.0 µg a.i. per ml). במהלך תאור העמידות נעשה שימוש במונחים DD, EC<sub>50</sub>, ו-RG כדלקמן : EC<sub>50</sub> = הריכוז המונע גידול תפטיר במחצית ; DD = הריכוז המאפשר לחלק תבדידים לשתי קבוצות : דיכוי ואי-דיכוי בנוכחות הפונגיצידי ; RG = קוטר ממוצע של מושבה במצע עם פונגיצידי מבוטא כ-% מקוטר ממוצע בביקורת (מצע בלי פונגיצידי) ; RG בריכוז DD השתמשנו כמבחן מפושט. שני המדדים (RG ו-EC<sub>50</sub>) נמצאים במתאם גבוה זה לזה ( $P < 0.0001$ ). לבדיקת רגישות פונגיצידיים 50 תבדידים ראשוניים מכל פטרייה נבדקו על טווח ריכוזי פונגיצידיים לקביעת הריכוז הגורם ל 50% עיכוב (EC<sub>50</sub>) והריכוז המבדיל בין רגישות לעמידות (discriminatory dose=DD). שאר התבדידים נבדקו במצע עם הריכוז המבדיל. 40-50 תבדידים ראשוניים בכל מין פטרייה שמשו לקביעת ריכוז הפונגיצידי שמעכב 50% מהגידול (EC<sub>50</sub>) והריכוז המבדיל [discriminatory concentration (DD)] נקבע לשם הבדלה בין תבדידים עמידים ורגישים. שאר התבדידים נבדקו על הריכוז המבדיל.

**Anilinopyrimidines** נבדקו 100 תבדידי ב' צינראה על 0.1 µg/ml of pyrimethanil (DD). פיזור השכיחות של

ערכי RG הוא בשתי קבוצות (איור 16) 70 תבדידים לא גדלו על DD או שערך RG שלהם היה פחות מ 10%. ממוצע  $EC_{50}$  לתבדידים אלה היה  $0.05 \mu\text{g/ml}$  והם רגישים לאנילינופירימידינים (AniS). 19 תבדידים בעלי  $RG \geq 50\%$  הינם בעלי עמידות גבוהה לפירימתניל (AniR). הם גדלו על ריכוז של  $1 \mu\text{g/ml}$  ללא עיכוב בגידול המושבה ועל ריכוז  $10 \mu\text{g/ml}$  עוכבו ב 20-40%. ערכי  $EC_{50}$  לתבדיד AniR היו  $>10 \mu\text{g/ml}$  והם נבדלו מתבדידים רגישים ב  $RF > 200$ .

11 תבדידים בעלי  $RG > 10$  הוגדרו כפחותי עמידות (AniLS). שכיחות רבה של ב' צינראה עמידים נמצאה בבארותיים, כפר לימן, ושדה יצחק ובשאר המקומות לא נמצאה עמידות. ככל הידוע לנו לא תועדה עד כה עמידות ב' אליפטקה לאנילינופירימידינים. ריכוז נמוך מ  $0.01 \mu\text{g/ml}$  לא עיכב או עיכב מעט את גידול התבדידים האלה בעוד ריכוזים גבוהים מ-  $5 \mu\text{g/ml}$  עכבו אותם מאד. ערכי  $EC_{50}$  השתנו בין  $0.03-0.6 \mu\text{g/ml}$  בפיזור נורמלי (איור 18, טבלה 6). ערכי  $EC_{50}$  וערכי RG המקבילים על מצע עם  $5 \mu\text{g/ml}$  פירימתניל היו במתאם ( $r = 0.7$ ;  $P < 0.01$ ) דבר המאשר שערכי RG מיצגים נאמנה את הרגישות לפירימתניל. ריכוז  $5 \mu\text{g/ml}$  פירימתניל נבחר כמבדיל (DD) ורגישות 122 תבדידים נוספים נבחנו במבחן פשוט של RG על DD. ערכי RG של 99% מהתבדידים השתנו באופן רציף מ 0-13% ורק שני תבדידים מבורגתה נראו פחות רגישים בהיותם בעלי RG של 30%.

**Benzimidazoles**. מאה תבדידי הב' צינראה אופיינו בהתפלגות לשתי קבוצות רגישות לפי ערכי RG. ערכי  $EC_{50}$  של 30 תבדידים היו בין  $0.02-0.04$  וממוצע  $0.03 \mu\text{g/ml}$  והוגדרו כרגישים. תבדידים אלה לא גדלו במצע המכיל 0.1 ויותר  $\mu\text{g/ml}$  (DD). שאר 70 התבדידים גדלו ללא עיכוב על מצע המכיל בנומיל, היו בעלי ערכי  $EC_{50} > 10 \mu\text{g/ml}$  והוגדרו עמידים (BenR). הפנוטיפים הרגישים והעמידים נבדלו ב  $RF < 300$  ולכן העמידים הוגדרו כבעלי עמידות גבוהה. שכיחות גבוהה של עמידים נמצאה בבארותיים, כפר לימן ושדה יצחק.

רגישות תבדידי ב' אליפטקה לבנומיל נבדקה בעבר ותבדידים רגישים היו בעלי  $EC_{50} < 0.1 \mu\text{g/ml}$  וריכוז מעכב מינימאלי (MIC (minimal inhibitory concentration)) של  $>100 \mu\text{g/ml}$ . בעבודה הנוכחית ריכוזים של  $1.0 \mu\text{g/ml}$  לא עכבו או עכבו מעט גידול תבדידים וריכוזים  $> 5 \mu\text{g/ml}$  עיכבו את גידולם של חלק מהתבדידים בעוד תבדידים אחרים גדלו על גבי ריכוזים 5 ו-  $10 \text{mg/ml}$  ללא עיכוב או עוכבו מעט. הקבוצה הראשונה הוגדרה כרגישה והשנייה נחשבה עמידה (BenR). ערכי  $EC_{50}$  של 50 תבדידים היו בין  $0.3-10 \mu\text{g/ml}$  ואף יותר בשתי קבוצות לא רציפות. ערכי  $EC_{50}$  וה RG המתאים על מצעים עם  $5 \mu\text{g/ml}$  בנומיל היו בעלי מתאם גבוה ( $r = 0.99$ ;  $P < 0.0001$ ). זה מאשר את שערכי ה RG ייצגו נאמנה את רגישות התבדידים לבנומיל. ריכוז  $5 \mu\text{g/ml}$  בנומיל שימש כ DD לבחינת רגישותם של 122 תבדידים נוספים. כל תבדידי ב' אליפטקה משדה יצחק היו עמידים לבנומיל ותבדידי בורגטה ומעט תבדידי בארותיים ותנובות היו רגישים.

**Dicarboximides**. לפי מידע מוקדם בתבדידי ב' צינראה בעלי רגישות ערכי ה  $EC_{50}$  לגידול תפטיר הם  $0.1-0.3 \mu\text{g/ml}$  בעוד בתבדידים עמידים ערכי ה  $EC_{50}$  הם  $0.8-3.0 \mu\text{g/ml}$  או ערכים מעל  $10 \mu\text{g/ml}$ . לפי מידע זה תבדידים בעלי  $EC_{50} \geq 0.8 \mu\text{g/ml}$  וערכי  $RG \geq 15\%$  על מצעים עם  $1 \mu\text{g/ml}$  איפרודיון (DD) נחשבים עמידים. ערכי RG של מאה תבדידי ב' צינראה משושן התפזרו בקבוצות בטווח של 0-95%. 34 מתבדידים אלה היו עמידים (DicR). שכיחות רבה של תבדידים עמידים לדיקרבווקסאימידיים (58%-44) נמצאה בבארותיים, כפר לימן ושדה יצחק. באותם מקומות היתה גם שכיחות גבוהה של עמידות לאנילינופירימידינים ובנזאימידאזולים. קו הבסיס ל  $EC_{50}$  של תבדידי ב' אליפטקה רגישים כלפי הדיקרבווקסאימיד אפרודיון נמצא בעבר כ  $0.2-0.5 \mu\text{g/ml}$ . תבדידים עמידים הם בעלי  $EC_{50}$  של  $0.5-5.0 \mu\text{g/ml}$  וערכי MIC היו 0.1 ו  $10-30 \mu\text{g/ml}$ , בהתאמה. בעבודה הנוכחית ל 47 תבדידי ב' אליפטקה היו ערכי  $EC_{50}$  בין  $0.6-2.1 \mu\text{g/ml}$ , אף תבדיד לא גדל על מצע עם  $10 \mu\text{g/ml}$  אפרודיון אבל כל התבדידים גדלו על מצע המכיל  $1 \mu\text{g/ml}$  אפרודיון. תוצאות אלה מתאימות חלקית להערכות שפורסמו בעבר. נראה שכל התבדידים בעלי

עמידות נמוכה לדיקרבווקסאימידים אך מבחנים נוספים ממשיכים. ערכי  $EC_{50}$  וה  $RG$  המקבילים על מצע עם 1  $\mu g/ml$  אפרודיון היו בעלי מתאם גבוה ( $r = 0.82$ ;  $P < 0.0001$ ), עובדה המאשרת את היות ה  $RG$  מיצגים טובים של הרגישות לאפרודיון. ריכוז 1  $\mu g/ml$  שימש לכן כמבדיל (DD) בבדיקת 122 תבדידים נוספים. ערכי ה  $RG$  התפלגו באופן רציף כך ש 99% מהתבדידים היו בתחום 24-73% ולתבדיל אחד היה ערך  $RG$  114%.

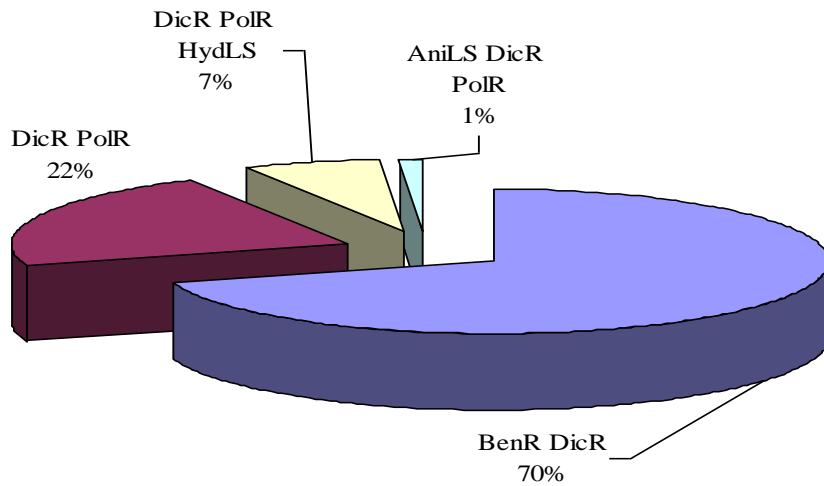
**Polyoxines**. רגישות ב' צינראה לפוליאוקסין AL נבדקה במבחן המלא ובמבחן הפשוט. בחמישים תבדידים ריכוז 0.1  $\mu g/ml$  לא עיכב או עיכב מעט את הפטרייה. ריכוז 1  $\mu g/ml$  הביא לתגובות של העדר עיכוב עד עיכוב רב בתבדידים שונים וריכוז 10  $\mu g/ml$  עיכב את כל התבדידים. ערכי  $EC_{50}$  של התבדידים היו בין 0.5-6.1  $\mu g/ml$ , ל 35 התבדידים שהיו רגישים יותר היו ערכי  $EC_{50}$  0.5-1.5  $\mu g/ml$  (ממוצע 0.8  $\mu g/ml$ ) ו 15 אלה שרגישותם הייתה פחותה היו עם  $EC_{50}$  3.9-6.5 (ממוצע 5.2  $\mu g/ml$ ). בסיס הרגישות נקבע בתבדידים שלא נחשפו כלל לחומר.  $RG$  הממוצע של ב' צינראה משושן היה גבוה מזה שנמצא בגידולים אחרים ושעור העמידים (תבדידים עם  $RG$  מעל 65%) אף הוא היה גבוה יותר בשושן. פיזור השכיחות של הרגישויות לפוליאוקסין AL היה מוטה לכיוון עמידות באוכלוסיות בוטריטיס מהשושן, כנראה בגלל חשיפת האוכלוסיות לתכשיר. גם בקבוצה כימית זו רוב התבדידים בבארותיים ושדה יצחק היו עמידים ובתנובות רק 20% מהתבדידים היו עמידים.

אין מידע מוקדם על רגישות ב' אליפטקה לפוליאוקסינים. בעבודה הנוכחית הריכוז הממוצע שגרם 50% עיכוב גידול תפטיר ( $EC_{50}$ ) נקבע על מצעי מזון עם 5 ריכוזי פונגיצידי. נבחנו 50 תבדידים משדה יצחק. ריכוזים פחותים מ 0.1  $\mu g/ml$  לא עכבו או עכבו מעט את גידול תפטיר התבדידים, ריכוז 5 ו-10  $\mu g/ml$  עכבו מאד את גידול חלק מהתבדידים. ערכי  $EC_{50}$  של התבדידים משדה יצחק היו בין 0.3-1.0  $\mu g/ml$ . ריכוז 10  $\mu g/ml$  שימש כמבדיל (DD) לבדיקת עוד 120 תבדידים. תבדידי שדה יצחק לא גדלו או שגדלו בשיעור פחות מ 40% מהביקורת הלא מורעלת בעוד רוב תבדידי בורגטה, בארותיים ותנובות גדלו בשיעור 40-70% מהביקורת. תבדידים אלה נחשבו עמידים.

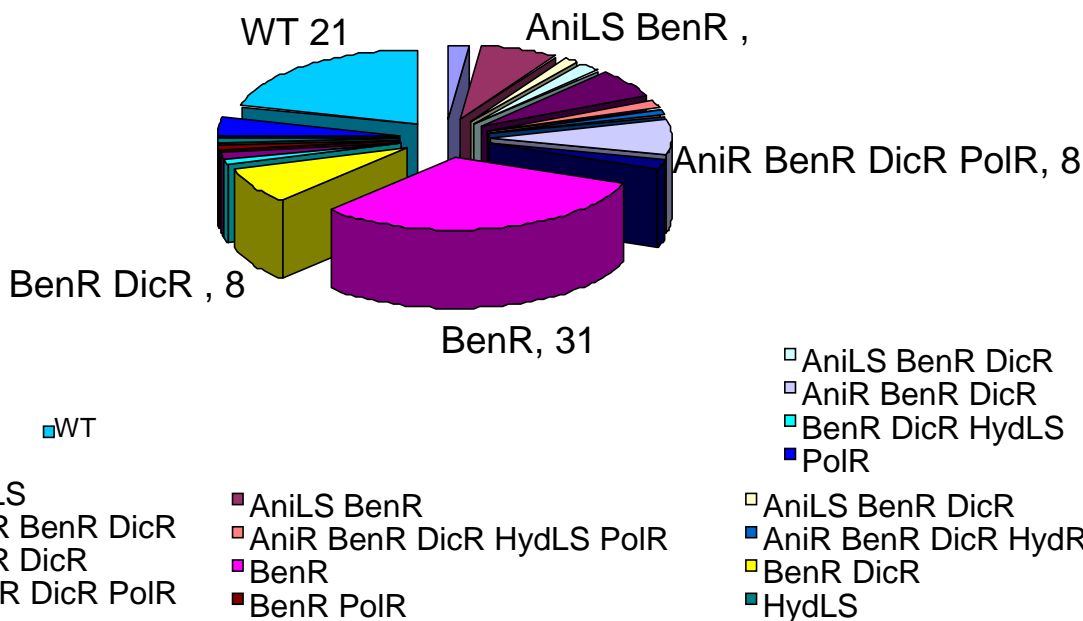
**Fenhexamid**. בעבודה קודמת ערכי  $EC_{50}$  של תבדידי ב' צינראה היו בין 0.003-0.069  $\mu g/ml$  ובממוצע 0.01  $\mu g/ml$ . תבדידים לא גדלו על מצעים עם 10-1  $\mu g/ml$  פנהקסמיד והגיבו באופן משתנה על מצע עם 0.1  $\mu g/ml$ , ריכוז ששימש כ DD. על מצעי ה DD, 99 תבדידים משושן הראו 0 עד פחות מ- 20%  $RG$  ותבדיל אחד מבארותיים הראה 50%  $RG$ . תבדיל זה נחשב עמיד לפנהקסמיד (HydR). היה לו  $EC_{50}$  של 0.12  $\mu g/ml$  ונבדל מהתבדידים הרגישים בפקטור (RF) 12. השאר הוגדרו רגישים (HydS). אין נתונים מוקדמים על רגישות ב' אליפטקה לפנהקסמיד. בעבודה הנוכחית נבחנו 40 תבדידים משושן בבית יצחק. ערכי  $EC_{50}$  היו מפוזרים נורמלית בין 0.01-0.08  $\mu g/ml$  (איור 28). ריכוזים מעל 0.1  $\mu g/ml$  עכבו מאד גידול תפטיר ואף תבדיל לא גדל על מצע עם 1.0  $\mu g/ml$  פנהקסמיד. ריכוז 1.0  $\mu g/ml$  שימש כמבדיל (DD) לבדיקת 120 תבדידים נוספים. על ריכוז זה כ- 90% לא גדלו או יצרו מושבה של 20% מהביקורת ונחשבו רגישים (HydS). כ 10% מהתבדידים יצרו מושבות בגודל 20-35% מהביקורת ונחשבו פחותי עמידות לפנהקסמיד (HydLS). תבדידים פחותי עמידות לא נמצאו בשדה יצחק אלא בשאר האתרים.

**פנוטיפים שנמצאו וריבוי עמידויות**. מסך 100 תבדידי ב' צינראה 21% היו רגישים לכל פונגיצידי הנבדקים ונחשבו טיפוס הבר (Wild Type = WT). שאר 79% מהתבדידים הוגדרו ב- 16 פנוטיפים עם עמידות או רגישות פחותה לפונגיצידי אחד (38% מהתבדידים) או יותר. הפנוטיפים הנפוצים היו AniR (8%), BenR DicR (8%), BenR (31%), BenR DicR PolR (8%) (איור 14). נמצאו 10% מהתבדידים עמידים לאנילינופירימידינים ורובם של אלה היו עמידים גם לפונגיצידיים אחרים. תבדיל אחד הוגדר כ HydR. ארבעה פנוטיפים תוארו ב- 172 תבדידי הב' אליפטקה. לא נמצא כל תבדיל רגיש (WT) לפונגיצידיים מכל הקבוצות (איור 13).





איור 13 : פנוטיפים של עמידות בתבדידי *B. elliptica* משושן.



איור 14 : פנוטיפים של עמידות בתבדידי *B. cinerea* משושן.

**דין:**

במחקר הצירבון בשושן זיהינו שני מיני בוטריטיס – אליפטיקה וצינראה שאחראים לגרימת מחלה. שני המינים בודדו מפרחים ועלים בחלקות גידול ולאחר קטיף. לפני תחילת המחקר הייתה ברורה חשיבותו של ב' אליפטיקה בעוד ב' צינראה לא היה ידוע כגורם חשוב בהדבקת פרחי שושן. מצאנו שבמהלך הגידול כשליש מתבדידי הבוטריטיס המבודדים נמנים על ב' צינראה בעוד מפרחים פתוחים ולאחר קטיף רוב רובם של התבדידים נמנים על מין זה. אבל רק מ 55% מהדוגמאות בודדו מיני בוטריטיס בעוד משאר הדוגמאות בודדו הפטריות *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium spp.* ואחרות וכן חיידקים או שלא בודד דבר. לא ברור ולא נראה לנו שפטריות אלה חשובות בפרחי שושן אך בשני מקרים בהם טרחנו ובדקנו אפשרויות אחרות זוהו נגיפים; במקרה הראשון זוהו נגיף הכתמים הצהובים של האירוס (*Iris yellow spot virus (IYSV)*) ומקרה השני זוהו נגיף מוזאיקת המלפפון (*Cucumber mosaic virus (CMV)*) על ידי ע' גרה. נראה שסמפטומים האופייניים לבוטריטיס אליפטיקה כפי שתוארו בעבר ויוחסו לפטרייה זו נגרמים בשושן על ידי מין זה, מין בוטריטיס נוסף (צינראה) וגורמים שונים כגון נגיפים ואולי אפילו גורמים אביוטיים. גורמים אחרונים אלה לא נחקרו בעבודה זו אך יתכן שהופעת סמפטומים כתוצאה מגורמים אביוטיים גוררת הופעה של פטריות כמיני הספרופיטים פוזיום, אלטרנריה ופניציליום שהוזכרו.

מבין התבדידים שנבדקו נמצאו רבים עמידים לפונגיצידיים. רק 21% מתבדידי ה'ב' צינראה ואף תבדיד ב' אליפטיקה היו רגישים לכל הפונגיצידיים. בקרב אוכלוסיות בוטריטיס נמצאו תבדידים רבים עמידים לחומרי הדברה כימיים ונמצא ריבוי עמידויות בחלקם. תופעה זו מעידה על שימוש נרחב בפונגיצידיים בחלקות השושן ועל פוטנציאל כישלון בהדברת המחלה באמצעות פונגיצידיים. אך פוטנציאל כישלון זה אינו נעוץ רק בהופעת העמידות אלא גם בכך שכחצית מהסימפטומים המיוחסים למיני הבוטריטיס למעשה לא נגרמים על ידי בוטריטיס וכמובן פונגיצידיים לא ימנעו את ההשפעות השונות שמקורן לא בבוטריטיס.

במהלך המחקר נוצרו אוספי תבדידים משני המינים ואופיינו יכולותיהם להדביק שושן. הצלחנו להתגבר על המכשלה של העדר יצור נבגים על ידי ב' אליפטיקה ותבדידי שני המינים הדביקו ויצרו סמפטומים. יכולת ההדבקה של שני המינים הביאה אותנו לבדיקות רחבות של התנאים המשפיעים על התפתחות המחלות. אופיינו תנאי מיקרואקלים להדבקה על ידי שני המינים. מבחנים לפוטנציאל ההשפעה של תנאי מיקרואקלים על הדבקה נערכו עם עלים מנותקים. המחלה הנגרמת על ידי ב' אליפטיקה הייתה חמורה יותר בעת הדגרה בלחות 94% ומעלה, אם כי באחד הניסויים, בלחות יחסית 94% הייתה חומרת המחלה נמוכה מזאת שבלחות יחסיות 97-99%. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בתנאי 97% לחות יחסית מאשר ב 99 או 94%. ב' אליפטיקה גרם למחלה חמורה יותר מב' צינראה. תגובת שני המינים לטמפרטורה הייתה שונה. ב' אליפטיקה גרם למחלה חמורה בטווח 15-30 מ"צ ולמחלה משמעותית גם בטמפרטורות הנמוכות יותר. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בטמפרטורה 20 מ"צ וכן הצליח להדביק עלים בכל הטמפרטורות אך במידה פחותה.

בצמחים שלמים שהודגרו בתאי צמיחה ניתן לחזות במידה רבה יותר את השפעת תנאי המיקרו אקלים על המחלה. נמצא שככל שהטמפרטורה עלתה בטווח 12-28 מ"צ התקבלה מחלה חמורה יותר בעקבות הדבקה בב' צינראה. הדבקת צמחים שלמים על ידי ב' צינראה התרחשה בלחות יחסית גבוהה בעוד בלחות יחסית נמוכה היא לא התרחשה בכלל ובלחות יחסית בינונית נצפתה מחלה מעטה ביותר. הדבקת צמחים שלמים על ידי ב' אליפטיקה התרחשה בלחות יחסית גבוהה בעוד בלחות יחסית נמוכה היא הייתה מזערית. לחות יחסית בינונית הביאה לתוצאות שונות בשני הניסויים המבטאות כנראה תנאים שונים בשני הניסויים. השפעת טמפרטורה על חומרת המחלה נבדקה גם בשילוב עם השפעת גיל הצמח. ככלל גיל הצמחים לא השפיע על חומרת המחלות אך בתנאי טמפרטורה שוליים (24 מ"צ בב' אליפטיקה ו 12 ו 24 מ"צ בב' צינראה) התקבלה מחלה פחות חמורה בצמחים צעירים יותר. ב' אליפטיקה גרם למחלה חמורה יותר בטמפרטורות 19-24 מ"צ בעוד בטמפרטורות 12-15 מ"צ חומרת המחלה הייתה נמוכה יותר. ב' צינראה גרם למחלה חמורה יותר בטווח טמפרטורות 12-24 מ"צ. שני גורמי המחלה גרמו למחלה מזערית בטמפרטורה 28 מ"צ. מהניסויים בעלים מנותקים נראה שטווח הטמפרטורות המאפשר פעילות משמעותית של מחולל המחלה רחב יותר במין ב' אליפטיקה אך בצמחים שלמים לא אומת הבדל זה. בשני המינים ההדבקה משמעותית בלחות גבוהה.

שני מיני הבוטריטיס הודגרו בתנאים מבוקרים על ידי תכשירי הדברה אך לא בתנאי שדה. בתנאי מעבדה נבחרו תבדידים רגישים לתכשירי הדברה בעוד בשדה מצויה תערובת של תבדידים בעלי רגישות שונה לתכשירי הדברה ולכן ייתכן כישלון הדברה. בנוסף לכך, כאמור לעיל, רק מחצית מהסימפטומים הנראים לעין מקורם בהדבקה על ידי מיני בוטריטיס. גורמי סמפטומים אחרים לא יודגרו על ידי הפונגיצידיים המיועדים לבקרת בוטריטיס. תוצאת כישלון ההדברה על ידי רוב התכשירים בשדה דומה למה שדווח בעבר בניסויים שנערכו בחלקות שושן. פותח פרוטוקול למשלוח ימי של פרחי שושן במעבדתו של סמיר דרובי. על רקע פרוטוקול זה נוסו תכשירי הדברה תוך סימולציה של תנאים לאחר קטיף. תערובת של אפרודיון וכלורתלוניל נמצאה יעילה במידה רבה בהפחתת נזקי הצירבון לאחר קטיף. בעלים שהראו סמפטומים דומים לנגיעות בבוטריטיס התקבלו תוצאות חיוביות בבדיקת ה-PCR. התחלים היו כלליים ונתנו הגברה של DNA המזהים את הסוג בוטריטיס. לפיכך, בהמשך פותחו תחלים לזיהוי ב' אליפטיקה. במקרים בהם הייתה הדבקה בבוטריטיס הוא זוהה כך שנראה שיש לנו אפשרות לזהות הדבקה במיני הבוטריטיס השונים.

בתצפיות בחלקות שושן נראה שרמת המחלה הייתה נמוכה באזורים קרובים לפתחי הצד של המבנה בעוד

במקומות מרוחקים בפתחי אוורור רמת המחלה גבוהה. בנוסף, מהניסויים בתנאים מבוקרים ניתן להסיק שהאמצעי הטוב ביותר להדברת מיני בוטריטיס הינו בקרת אקלים. הפחתת הלחות היחסית, מניעת רטיבות בנוף הגידול עשויה להפחית כמחצית מהסימפטומים בנוף הבזיל. במהלך המחקר הוצע למגדלים להתקין מסחררי אוויר במבנים מועדים לצירבון. לצערי בגלל קשיים שונים לא בוצעה ההמלצה. נוף השושן סבוך ובתנאי לחות יחסית גבוהה סביר שתנועת אויר תמנע היווצרות מים חופשיים. נראה שאמצעי תרבותי זה הינו בעל פוטנציאל רב יותר מזה של תכשירי ההדברה. בנוסף, במהלך המחקר נערך סקר בחלקות שושן ונמצא שחומר צמחי רב, ובכלל זה חומר צמחי נגוע, מושלך לא רחוק ממבני גידול. סביר שרקמה נגועה במזבלה מאולתרת מהווה מקור מדבק לגורמי המחלה הביוטיים. הרחקה והיפטרות ממוקדי נגיעות אף הן יכולות לעזור בהפחתת עוצמת המדבק במבנים.

<p>1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</p> <p>צמחי השושן נפגעים בשני מיני בוטריטיס: <i>Botrytis elliptica</i> הספציפי לגידול זה ו-<i>B. cinerea</i>. המחלות גורמות כתמים נקרוטים אופייניים שמתפשטים במהירות. דווח על התפתחות כתמי בוטריטיס על הפעמונים לאחר הקטיף, במשך תקופת הקירור אצל המגדל ופסילת התוצרת ליצוא. מטרת המחקר - זיהוי הגורמים למחלה על הפרחים בשטחי הגידול ולאחר הקטיף ולימוד האטיולוגיה של המחלה על זני השושן השונים המגודלים בארץ; עמידות פטריות הבוטריטיס לתכשירי הדברה; פיתוח שיטה להערכת נגיעות רדומה בבוטריטיס; פיתוח טיפולים למניעת התפתחות המחלה לפני ואחרי הקטיף ובמהלך משלוח ימי.</p>
<p>2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.</p> <p>איסוף חלקי צמח נגועים במבני גידול של שושן, אפיון העמידות לתכשירי הדברה על מצעי מזון, בחינת יעילות ההדברה של תכשירים שונים, פיתוח שיטת זיהוי מולקולארי, לימוד תנאי מיקרואקלים להתפתחות תוצאות עיקריות - שני מיני בוטריטיס - אליפטקה וצינראה מבודדים מפרחים בחלקות גידול ולאחר קטיף. 45% מהסימפטומים נגרמים על ידי גורמים אחרים ולא על ידי בוטריטיס. נוצרו אוספי תבדידים משני המינים ואופיינו יכולותיהם להדביק שושן. זוהתה נגיעות באמצעים מולקולאריים. אופיינו תנאי מיקרואקלים להדבקה על ידי שני המינים. נראה שטווח הטמפרטורות המאפשר פעילות משמעותית של מחולל המחלה רחב יותר במין ב' אליפטקה. בשני המינים ההדבקה משמעותית בלחות גבוהה. בקרב אוכלוסיות בוטריטיס נמצאו תבדידים עמידים לחומרי הדברה כימיים ונמצא ריבוי עמידויות בחלקם. שני מיני בוטריטיס הודברו בתנאים מבוקרים על ידי תכשירי הדברה אך לא בתנאי שדה (פרט לתכשיר יעיל אחד) הן בגלל עמידות והן מפני שהפונגיצידיים לא יועדו להדברת גורמי מחלה שאינם בוטריטיס. בתנאי משלוח נמצאה תערובת אפרודיון עם כלורתלוניל יעילה בהדברה.</p>
<p>המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרת המחקר בתקופת הדו"ח.</p> <p>בקרת אקלים לשם מניעת תנאי להדבקה. מניעת מדבק על ידי טיפול בחומר צמחי נגוע המוצא מהמבנים. טיפול כימי בפרחים קטופים.</p>
<p>האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח</p> <p>הרצאה אחת בפני מגדלי שושן ובוועידה השנתית של העמותה למחלות צמחים:</p> <p>קורולב נדיה, ממייב מ', פריד ל', רב דוד ד', דרובי ס', גרה ע', להב ת', גוטמן ש', לוריא ג' ואלעד ל' (2011) אטיולוגיה של צירבון בשושן הנגרם על ידי <i>Botrytis spp.</i> תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 54-55.</p> <p>קורולב נדיה, ממייב מ', פריד ל', רב דוד ד', דרובי ס' ואלעד י' (2011) רגישות לפונגיצידיים בתבדידי <i>Botrytis cinerea</i> ו-<i>B. elliptica</i> - משושן. תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 57.</p> <p>פריד לימור, דרובי ס', רב דוד ד', קורולב נ', סלים ש', כהן ל', להב ת', לוריא ג' ואלעד י' (2011) תנאים להתפתחות מחלות הנגרמות על ידי מיני בוטריטיס בשושן. תקצירי הכנס השנתי של העמותה הישראלית למחלות צמחים, ע' 55.</p> <p>Fryd, L., Droby, S., Rav David, D., Korolev, N., Salim, S., Cohen, L., Lahav, T., Loria, G. and Elad, Y. (2011) Microclimate conditions for the development of diseases caused by <i>Botrytis</i> species in liliium. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:262.</p> <p>Korolev, N., Mamiev, M., Fryd, L., Rav David, D., Droby, S., Gera, A., La'av, T., Gutman, S., Luria, G. and Elad, Y. (2011) Etiology of <i>Botrytis</i> blight of lilies in Israel. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:261-262</p> <p>Korolev, N., Mamiev, M., Fryd, L., Rav David, D., Droby, S. and Elad, Y. (2011) Sensitivity to fungicides in <i>Botrytis cinerea</i> and <i>B. elliptica</i> from lily. Abstracts of presentations at the 32<sup>nd</sup> Congress of the Israeli Phytopathological Society, Phytoparasitica 39:262-263.</p>
<p>פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)</p>
<p>כך</p>