

דו"ח מסכם לתכנית מחקר מספר 132-1250-09

אפידמיולוגיה והדברה של הפטרייה *Macrophomina phaseolina* בתות שדה

Epidemiology and control of the fungus *Macrophomina phaseolina* in strawberry

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

סטנלי פרימן, איידה צויבל פתולוגיה של צמחים וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי
נטע מור, צוריאל סנדו ז"ל, נביל גנאים האגף לירקות והגנת הצומח, שירות ההדרכה והמקצוע

Stanley Freeman, Dept of Plant Pathology and Weed Research, ARO, The Volcani Center,
P.O.Box 6, Bet Dagan 50250. E-mail: freeman@volcani.agri.gov.il

Neta Mor, Extension Service, Ministry of Agriculture, P.O.Box 6, Bet Dagan, 50250.
E-mail: netmor@shaham.moag.gov.il

Nabeel Gnayem, Extension Service, Ministry of Agriculture, P.O.Box 6, Bet Dagan,
50250. E-mail: nabgan@shaham.moag.gov.il

מאי, 2010

סיון תש"ע

**הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים**

חתימת החוקר

תוכן עניינים

2.....	תקציר
3.....	מבוא
3.....	מטרות מחקר
3.....	פירוט עקרי הניסויים
12.....	דיון
14.....	סיכום לדו"ח

תקציר

1. הצגת הבעיה: גורמי מחלות שוכני קרקע כגון מקרופומינה שתוקפים תות שדה הינם בין ההרסניים לגידול. לא ידוע האם הופעת מקרופומינה קשורה להפחתת השימוש במתיל ברומיד או לסיבות אחרות.
2. מטרות המחקר: א. לאפיין את מקור המידבק ההתחלי. ב. להגדיר את דרכי השתמרות הפתוגן מעונה לעונה. ג. להגדיר את הגורמים המשפיעים על תגובת הפונדקאי לפתוגן. ד. לאפיין את השונות והספציפיות של אוכלוסיות הפתוגן מגידולים שונים. ה. לפתח גישה להדברה מושכלת של המחלה.
3. שיטות העבודה: נדגמו צמחים ממוטטים ממקורות שונים לזיהוי מקרופומינה ע"י זריעת בידוד במצע סלקטיבי. הישרדות הקישיונות נבחנה ע"י זריעת דגימות קרקע על המצע. נבחנו מספר חומרי הדברה לעיכוב גידול. השפעת עקת חום ומים נבחנה ע"י חשיפת שתילים ל-30 מ"צ והצמאה. חיטוי קרקע בוצע בשדה לבחון הישרדות מידבק מוצנע והישרדות צמחים בקרקע מאולחת. נבחנה שונות גנטית של אוכלוסיית הפטרייה בשיטת ה-PCR.
4. תוצאות עיקריות: נאספו 149 תבדידים מתות ומפונדקאים אחרים לאחר בידוד במצע בררני שפותח למקרופומינה. שבועיים לאחר חשיפת האינקולום בקרקע, האוכלוסיה דעכה עד כ- 50% ו- 6 חודשים לאחר מכן הקישיונות לא שרדו. החומרים דלסן וטופז היו היעילים ביותר לעיכוב הפטרייה בצלחות. לא נמצא ספציפיות לפונדקאי של תבדידים מפונדקאים אחרים. עקת חום של 30 מ"צ הגבירה תמותת שתילים, כשלא היתה השפעה להצמאה. רוב טיפולי החיטוי קטלו את הפתוגן בשדה. נמצאה שונות גנטית בתוך אוכלוסיית הפתוגן אך ריצוף ה-rDNA לא היה שונה בין תבדידים יצוגיים.
5. מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: ככל הנראה הפטרייה שורדת בקרקע או בפונדקאים אחרים ותוקפת תות שדה בשטח – ולא מגיעה עם השתילה. החומרים דלסן וטופז יעילים להדברת הפתוגן בשדה. חיטוי קרקע באמצעות אדוכם היה יעיל להדברת הפתוגן בקרקע מאולחת. ניתן להשתמש במצע בררני לבידוד הפתוגן בעתיד.

מבוא

הפטרייה *Macrophomina phaseolina* היא פטריית קרקע טיפוסית שגורמת למחלות ריקבון שורשים (root rot) וריקבון פחם (charcoal rot) בתות שדה וגידולים רבים אחרים. הסימפטומים מתבטאים בנבילה ובתמותת שתילים במגוון רחב של צמחים. בשנתיים האחרונות, נתגלתה תופעת נבילת שתילי תות שדה במשתלות ובשדות מניבים בכ-30 חקלאים שונים באזורים שונים בארץ. בשדה, בתנאי טמפרטורה גבוהים (אופטימום הגידול כ-30 מ"צ) גורמת פטריית המקרופומינה לנבילת שתילי תות שדה תוך כחודש מההדבקה. השתילים (אמהות או/ו בנות) הנגועים מתנוונים, נובלים ומתים. משתילים פגועים ניתן לבדוד את הפטרייה מצינורות ההובלה, הכתר, השלוחות ומהחלקים העל קרקעיים. בעת הוצאת שתילי תות שדה מהמשתלה והעברתם לשדות המניבים הם חשופים בקיץ לטמפרטורות גבוהות ולתנאי עקת מים. במידה ושתילים נגועים שורדים, התפתחותם מעוכבת וקיימת פחיתה משמעותית ביבול. שתילה של צמחי מילוי לא משפרת בהכרח כי הניבה שלהם מאוחרת. גידול תות שדה בארץ התבסס על חיטוי הקרקע במתיל ברומיד, ולא ברור אם ההופעה הפתאומית של נזקי הפטרייה בשנים האחרונות קשורה להפחתת השימוש בחומר החיטוי או שהסיבה לכך היא פעילויות אגרוטכניות ו/או הורטיקולטורליות אחרות. לאחרונה הועלתה בפלורידה, ארה"ב ההשערה שהופעת המקרופומינה בתות שדה במדינה זו נבעה מהמעבר מחיטוי במתיל ברומיד לשיטות חיטוי חלופות. המותג "תות ביולוגי" מבוסס על השימוש באמצעים טבעיים להדברה ביולוגית של מזיקים (תוצרת חברת ביו-בי, שדה אליהו) ועל שימוש בפונגיצידיים שאינם פוגעים באויבים הטבעיים. בחירה של חומרי הדברה שלא יפרו את המאזן הביולוגי היא תנאי ליישומם. בנוסף, יש לפתח שיטת ישום כזו (כמו טבילה) שתפחית עד למינימום האפשרי את זיהום הסביבה.

מטרות המחקר

א. לאפיין את מקור המידבק ההתחלי. ב. להגדיר את דרכי השתמרות הפתוגן מעונה לעונה. ג. להגדיר את הגורמים המשפיעים על תגובת הפונדקאי לפתוגן. ד. לאפיין את השונות והספציפיות של אוכלוסיות הפתוגן מגידולים שונים. ה. לפתח גישה להדברה מושכלת של המחלה.

פירוט עקרי הניסויים**א. בחינת מקור המידבק במשתלות גרעין, יסוד ושדה**

נדגמו צמחים לזיהוי פתוגנים שוכני קרקע (על פי חוק) ע"י השירותים להגנת הצומח ולביקורת של משרד החקלאות ממשתלות הגרעין ויסוד. במשך השנים 2006 עד 2009, במסגרת המחקר הנוכחי, נדגמו צמחים נבולים וממוטטים רבים ממשתלות השדה ושדות המניבים ע"מ לזהות את הפתוגן מבין פטריות שוכני קרקע ביניהם: מקרופומינה, קולטוטריכום, פיטופתורה, ריזוקטוניה וורטיציליום). חלקי צמח (שורשים, כתר, שלוחות וגבעולים) חוטאו ונזרעו על מצעים שונים לגילוי הפתוגנים. לא נמצאה נוכחות של מקרופומינה במשתלת הגרעין ויסוד בשנות 2006-9 אך לא ניתן לשלול שמקור זה של חומר ריבוי נקי לחלוטין מאחר והמדגם הינו אקראי. לעומת זה בשנת 2006 עד 2009 נתגלו מקרים רבים של מקרופומינה במשתלות השדה וכמו כן בשדות המניבים. חלק מרשימת התבדידים מופיעים בטבלה 1.

טבלה 1. רשימת חלק מהבדידים של מקרופומינה שבודדו ממשתלות ושדות מניבים במשך 2006 ו- 2009

תאריך	מקום	זן	מס' תבדידים	מקור
13.7.06	צופית	פסטיבל	1	משתלה
13.7.06	טירה	תמר	1	משתלה
13.7.06	קדימה	הדס	6	משתלה
1.8.06	הוד השרון	יעל	1	משתלה
1.8.06	צור משה	לא ידוע	1	משתלה
3.8.06	גן חיים	תמר	4	משתלה
3.8.06	קלנסואה	הדס	1	משתלה
3.8.06	טירה	יעל	1	משתלה
7.8.06	הוד השרון	חירות	1	משתלה
19.11.06	קלנסואה	הדס	1	שדה
14.12.06	משמרת	יעל	3	שדה
23.7.07	גן שומרון	הדס	2	משתלה
23.7.07	קלנסואה	יעל	5	משתלה
1.8.07	משמרת	הדס	6	משתלה
20.11.07	כפר מעס	יעל	1	שדה
20.11.07	הוד השרון	יעל	3	שדה
20.11.07	רעננה	יובל	1	שדה
28.11.07	משמרת	פסטיבל	6	שדה
29.11.07	קלנסואה	הדס	2	שדה
13.12.07	מושב פורת	הדס	3	שדה
7.8.08	צור משה	פסטיבל	1	משתלה
7.8.08	צור משה	תמר	4	משתלה
7.8.08	צור משה	הדס	4	משתלה
3.12.08	טירה	הדס	3	שדה
7.12.08	צור משה	פסטיבל	2	שדה
7.12.08	צור משה	הדס	3	שדה
7.12.08	צור משה	יעל	2	שדה
15.4.09	קדימה	הדס	2	משתלה
23.7.09	קדימה	תמיר	2	משתלה
29.7.09	צופית	פסטיבל	4	משתלה
29.7.09	קדימה	יובל	2	משתלה
29.7.09	משמרת	תמיר	2	משתלה
23.8.09	פורת	הדס	2	משתלה
29.8.09	משמרת	פסטיבל	5	משתלה
10.12.09	גבעת חן	הדס	2	שדה

בשנת 2006 בודדו 17 תבדידי מקרופומינה ממשתלות שדה באזורים שונים מזנים שונים ובהמשך הגידול בודדו 4 תבדידים משדות המניבים. בשנת 2007 בודדו 13 תבדידי מקרופומינה ממשתלות השדה באזורים שונים מזנים שונים כבהמשך הגידול בודדו 16 תבדידים משדות המניבים. בשנת 2008 בודדו עוד 19 תבדידי מקרופומינה ממשתלות ושדות המניבים. בשנת 2009 בודדו עוד 21 תבדידי מקרופומינה ממשתלות ושדות המניבים כאשר באוסף הכללי (המכיל תבדידי הפטרייה משנים קודמות) נמצאים 381 תבדידים מתות שדה ועוד 11 מפונדקאים אחרים (כגון: מלון, אבטיח, שקד, לאוקוספורום, ארליה וחמנית).

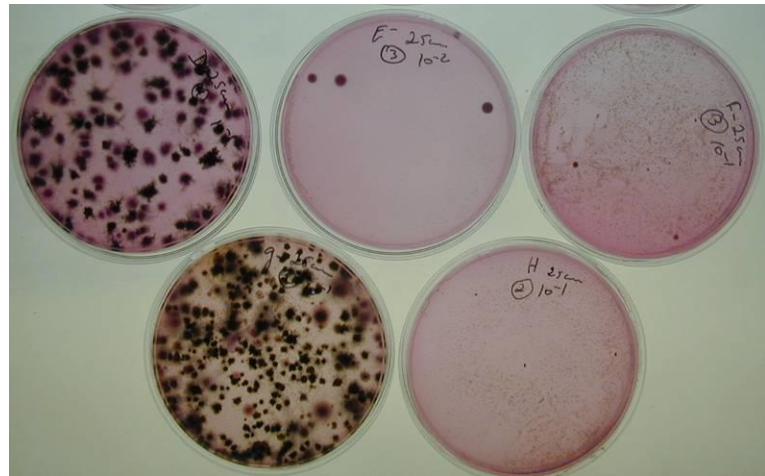
ב. בחינת פתוגניות לתות שדה של תבדידי מקרופומינה מגידולים אחרים

בניסוי עציצים, נשתלו שתילי תות שדה (זן תמר, רגיש לפתוגן) בקרקע מאולחת בתבדידי מקרופומינה (5×10^4 קשיונות/גר' קרקע) מהפונדקאים הבאים: תות שדה, ארליה, מלון, אבטיח, לאוקוספורום ושקד. הניסוי בוצע פעמים כשהצמחים גודלו בטמפרטורה של 25 מ"צ בחממה ולכל תבדיד הודבקו 10 צמחים.

לאחר שבועיים חלה תמותת שתילים ו- 38 ימים לאחר מכן נרשמה מ- 80 עד 100% תמותה ע"י התבדידים השונים, המעיד על אי ספציפיות התבדידים לפונדקאי מסוים ויכולת התקפה בוטנית רחבה.

ג. פיתוח מצע סלקטיבי לבידוד הפטריה

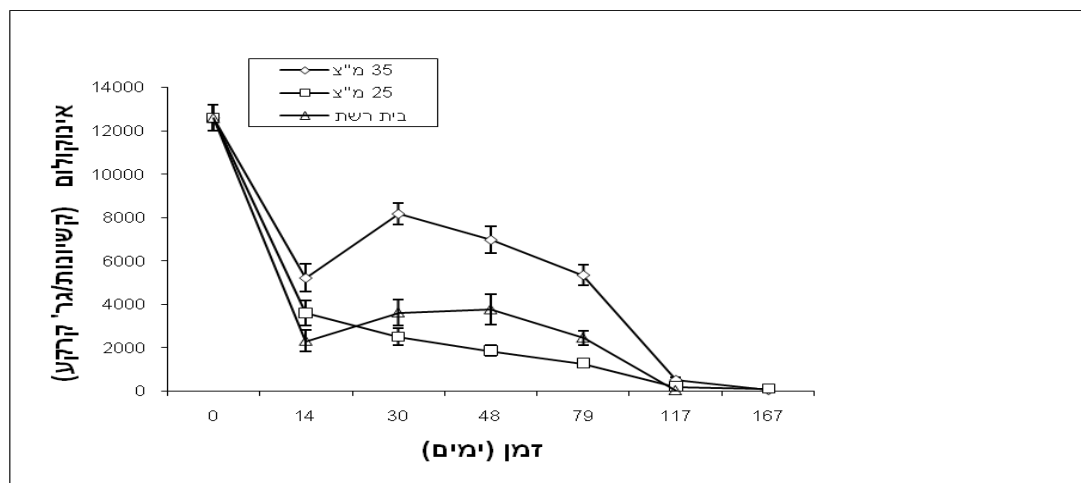
פטריית המקרופמינה שוכנת קרקע לכן היה קיים צורך לפתח מצע סלקטיבי לבידוד ובחינת ההשרדות של הפתוגן בקרקע. מצע סלקטיבי פותח על בסיס חומרי אנטיביוטיקה והדברה להם עמידים הפטריה מקרופמינה המוכנסים למצע הגידול (תמונה 1). המצע מבוסס על עמידות לסטרפטומיצין, כלורמפניקול, רוברל ו-Rose Bengal. הרכב המצע שפותח (גר'לי): $MgSO_4 \cdot 7H_2O=2.5$, $KH_2PO_4=2.7$, $Peptone=1.0$, $Sucrose=10$, $Agar=20$, $Yeast\ extract=1.0$, רוברל (1250µl from 40mgr/20mlstock solution), ה' לקטית (200 µl/250ml), 90 מגר' Rose Bengal, 0.25 גר' כלורמפניקול, 0.25 גר' סטרפטומיצין.



תמונה 1. בידוד הפטריה מקרופמינה לאחר זריעת בידוד במצע סלקטיבי (צלחות עם מושבות טיפוסיות שחורות) בצד שמאל.

ד. לימוד דרכי השתמרות הפתוגן בקרקע

הישרדות גופי הקיימא, קישיונות, של הפטרייה נבחנה לאורך זמן לאחר אילוח קרקע וחשיפה לתנאי הדגרה מבוקרים של 25 ו- 35 מ"צ וחשיפה לתנאי סביבה חיצוניים בחודשי הקיץ (אוגוסט עד נובמבר). תנאים אלה מדמים את עונת המעבר כשהשתילים מועברים מהמשתלות לשדות המניבים. בהמשך, דגימות קרקע מאולחת נזרעו על מצע ברנני לפטרייה לבחון את אחוז ההישרדות בתנאים השונים (איור 1).

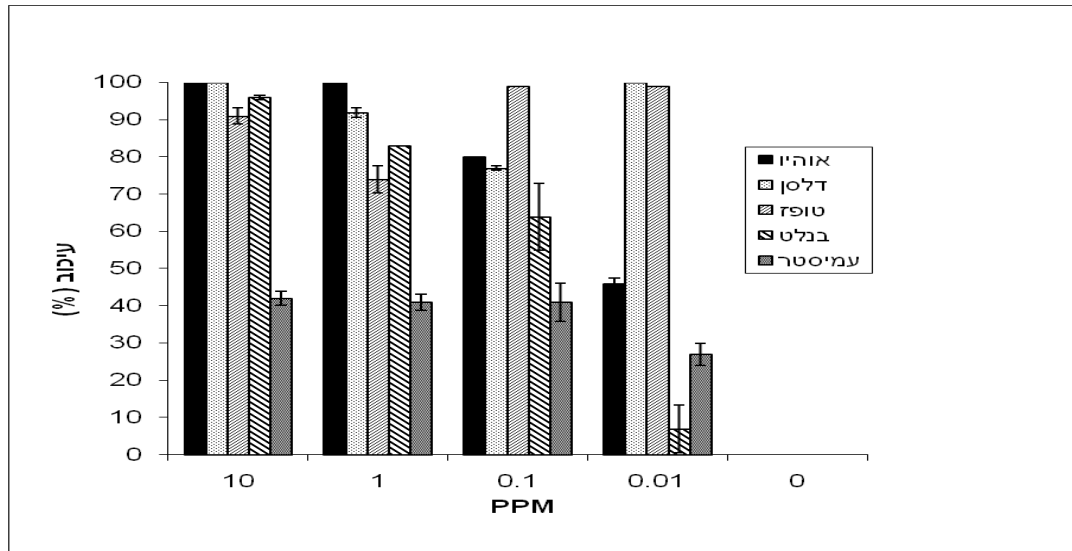


איור 1. הישרדות של קישיונות של מקרופמינה בקרקע.

שבועיים לאחר חשיפת האינקולום בקרקע לתנאים שונים (25 ו- 35 מ"צ וחשיפה לתנאי חוץ בבית רשת), האוכלוסיה דעכה מהר מאד עם הישרדות של כ- 50%. כעבור 4 חודשים אוכלוסיית הפתוגן דעכה לערכים מאד נמוכים ו- 6 חודשים לאחר תחילת הניסוי הקישיונות לא שרדו.

ה. סריקת חומרי הדברה של גורם המחלה

בסריקה של מספר רב של חומרי הדברה (כ-30 במספר) נבחנה השפעתם של אלה הפעילים ביותר בריכוזים בין 0-10 ח"מ לעיכוב גידול הפטרייה בצלחות פטרי (איור 2).



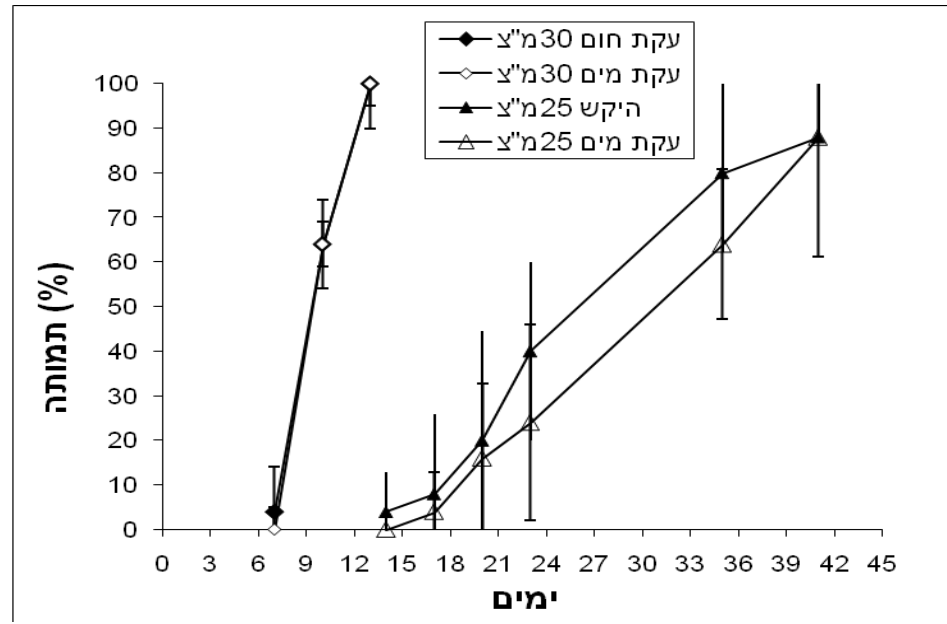
איור 2. השפעת חומרי הדברה שונים על עיכוב גידול הפטרייה מקרופומינה בצלחות

מבין החומרים היעילים שנסרקו, דלסן וטופז עיכבו את הפטרייה באחוזים הגבוהים ביותר בריכוזים הנמוכים ביותר של 0.01 ח"מ חומר פעיל.

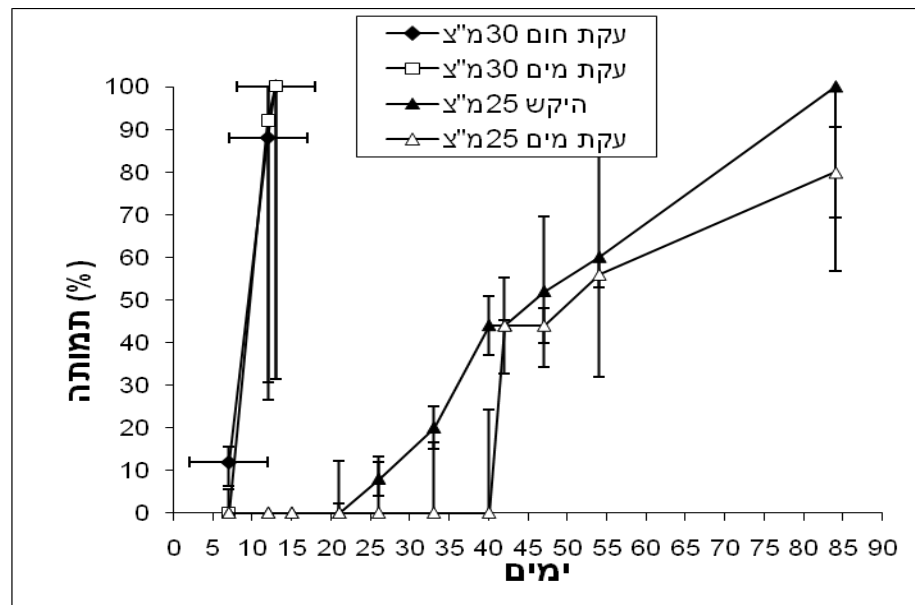
ו. בחינת תנאי עקה ההופכים שתיל לרגיש לפתוגן

בניסוי עציצים, נשתלו שתילי תות שדה (זן תמר, רגיש לפתוגן) בקרקע מאולחת במקרופומינה (5×10^4) קשיונות/גר' קרקע). הניסוי בוצע פעמים כשהצמחים נחשפו לטמפרטורה של 25 מ"צ בחממה כהיקש וטמפרטורה של 30 מ"צ באינקובאטור ששימש עקת חום. כמוכן הצמחים נחשפו לעקת מים שכללה השקיה של מחצית נפח המים לשתיל ההיקש שקיבל כ-200 מלי מים כל יומיים. בכל ניסוי היו 25 עציצים לכל טיפול: היקש 25 מ"צ, עקת מים ב- 25 מ"צ, עקת חום של 30 מ"צ, עקת מים + עקת חום.

בשני הניסויים כל הצמחים שנחשפו לעקת חום של 30 מ"צ מתו כעבור כשבועיים בהשוואה לאלה שגדלו בטמפ' של 25 מ"צ (איור 3 ו-4). בטמפ' של 25 מ"צ תמותת שתילים רק החלה כשבועיים עד שלושה שבועות לאחר השתילה ותמותה מלאה התקבלה כשלושה חודשים לאחר השתילה (איור 4). לא היתה השפעה לתנאי עקת המים כשתמותת השתילים הושפעו בעיקר מעקת החום.



איור 3. ניסוי 1 – בחינת עקת חום ומים על תמותת שתילי תות שדה המאולחים בפתוגן מקרופומינה.



איור 4. ניסוי 2 – בחינת עקת חום ומים על תמותת שתילי תות שדה המאולחים בפתוגן מקרופומינה.

ז. הדברה של גורם המחלה בשדה

(I) תצפיות בחלקה מסחרית- גאולים 2008/9 ו- 2009/10

במהלך השנים 2008 עד 2010 נערכו שתי תצפיות בחלקות מסחריות בשדות מניבים במושב גאולים לבחינת תחליפי מתיל ברומיד להדברת מקרופומינה. שתי התצפיות נערכו באותה חלקה שנתיים ברציפות במושב גאולים. בחלקה זו גדלו תות שדה כחמש שנים ברצף והיא חוטאה מידי שנה במתיל ברומיד. על רקע טיפול במתיל ברומיד מספר שנים ברצף, לא נצפו בעיות קרקע מיוחדות. החיטויים נערכו על גבי ערוגות קיימות ללא עיבוד קרקע. הערוגות עברו חידוש ותיחוח קל לפני החיטויים. בתצפית 2009/10 נעשתה גם פתיחה ברוטר של הערוגות.

בכל אחד מהתצפיות לפני החיטויים הוטמן בעומק 25 ס"מ חומר נגוע במקרופומינה - בתצפית 2008/9 הוצנע 10 גרי' מידבק הפתוגן (1.6×10^4 קשיונות/גרי' קרקע) עטוף בגרביוני ניילון בעומק 25 ס"מ. לכל טיפול הוצנעו 4 גרביונים (חזרות/חלקות) וכשבווע לאחר גמר החיטוי המידבק הוצא מהקרקע ונזרע במצע מזון בררני למקרופומינה כדי לבחון את יעילות הטיפול. בתצפית 2009/10 הוטמנו בצורה דומה - קטעי חומר צמחי (כתרים של תות שדה) נגועים באופן טבעי בפתוגן - 5 כתרים ב- 4 חזרות לכל טיפול. גודל החלקות 3-5 ערוגות באורך 50 מטר. חלקות היקש פוזרו בטיפולים השונים בארבע חזרות באורך של 10 מטר כל אחת. בכל אחד מהטיפולים סומנו 4 קטעים באורך 4 מטר לשקילת יבול יריעות לחיפוי - יריעת פוליאיתילן בעובי 40 מיקרון למעט טיפולי הכלורופיקרין הפלדין והמתיל ברומיד בתצפית 2009/10 שחופו ביריעה אטומה תוצרת פוליטיב. רשימת הטיפולים מופיעה בטבלה 2. החדרת התכשירים ב- 30-40 מ"ק מים לדונם. הכלורופיקרין והפלדין ניתנו ב- 20 מ"ק מים לדונם. מועד שתילה תצפית 2008/9 - 23-24/9/08. זן - 328. מועד שתילה תצפית 2009/10 - 6/10/09. זן - 329. בתצפיות נערך מעקב אחר הגידול - משקל צמח ושורש ממוצע וציון כללי עם סיום הגידול ושקילת יבול במהלך העונה.

(II) ניסוי משתלת תות שדה במושב גבעת חן 2009

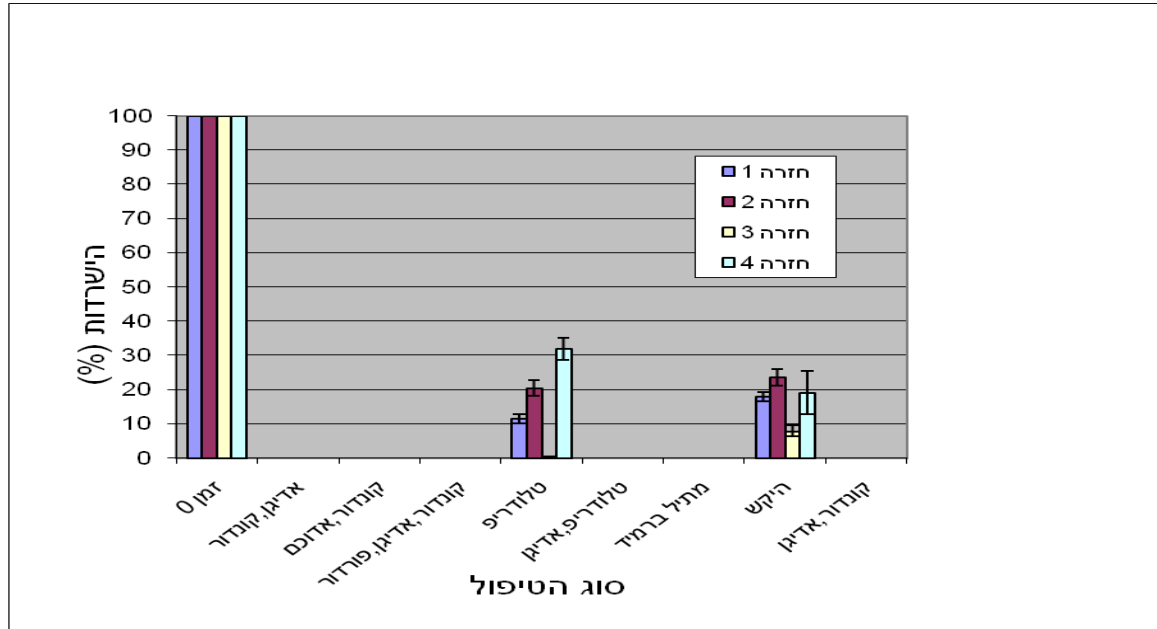
הניסוי נערך בחלקה שגדל בה תות שדה לפני שנתיים ומאז גידלו בחלקה תירס וכרוב ללא חיטוי קרקע. מתכונת הניסוי - בלוקים באקראי בארבע חזרות. גודל חזרה - 3.6 מטר רוחב X 10 מטר אורך. מרווחים בין שלוחות טפטוף - 40 ס"מ. לפני החיטויים הוצנע מידבק הפתוגן בעומק 25 ס"מ בדומה לתצפית 2008/9. רשימת הטיפולים מופיעה בטבלה 2. החדרת תכשירים ב- 25-30 מ"ק מים לדי. שימוש ביריעה אטומה של פוליטיב בעובי 35 מיקרון. מועד שתילה - 20/8/09. זן - 328. בניסוי המשתלה נערך מעקב אחר הנגיעות במחלה, נספרו צמחי האם החולים וסך שתילי הבת שהתפתחו בכל צמח אם.

טבלה 2. רשימת הטיפולים בניסויי ההדברה בשדה

תצפית גאולים 2008/9	תצפית גאולים 2009/10	משתלה בגבעת חן 2009
קונדור 20 לי"ד' + אדוכם 44 לי"ד'	אדוכם 44 לי"ד' + קונדור 20 לי"ד'	אדוכם 44 לי"ד' + קונדור 20 לי"ד'
קונדור 20 לי"ד' + אדוכם 73 לי"ד'	אדוכם 44 לי"ד'	אדוכם 44 לי"ד'
קונדור 20 לי"ד' + אדוכם 44 לי"ד' + פורדור 400 לי"ד'	אדוכם 73 לי"ד'	אדוכם 70 לי"ד'
טלודריפ 50 ק"ג/ד'	כלורופיקרין 40 ק"ג/ד'	מתיל ברומיד 30 ק"ג/ד'
טלודריפ 50 ק"ג/ד' + אדוכם 44 לי"ד'	כלורופיקרין 20 ק"ג/ד' + פלדין 60 לי"ד'	היקש
מתיל ברומיד 50 ק"ג/ד'	כלורופיקרין 20 ק"ג/ד'	
קונדור 20 + אדוכם 44 - 3 שלוחות טפטוף	מתיל ברומיד 30 ק"ג/ד'	
היקש - 4 קטעים של 10 מטר כל אחד	היקש - 4 קטעים של 10 מטר כל אחד	

תוצאות- תצפיות בגאולים

בתצפיות בגאולים לא נצפתה נגיעות במחלה. התוצאות שמוצגות להלן הן תוצאות ההדברה של חומר צמחי וקרקע מאולחת בקשיונות של מקרופומינה שהוטמנו לפני החיטויים השונים. בתצפית 2008/9 כל הטיפולים חוץ מטלודריפ היו יעילים לקטילת הגורם אך גם בהיקש (שהיה מחופה בפוליאתילן) היתה דעיכה בהישרדות גורם המחלה בהשוואה למידבק ההתחלתי, זמן 0 (איור 5).



איור 5. הישרדות מידבק מקרופומינה לאחר טיפולי חיטוי קרקע לקטילת גורם המחלה- תצפית גאולים, 2008/9

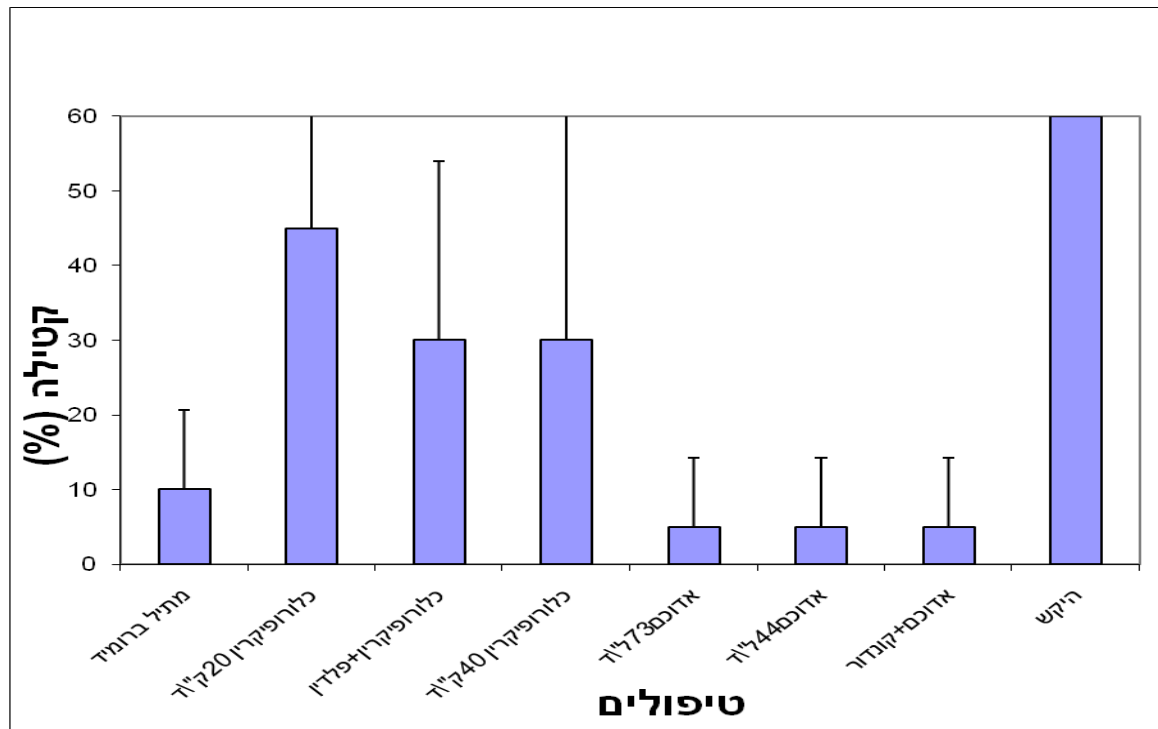
מהנתונים המוצגים בטבלה 3 ניתן לראות הבדל במופע הצמחים במהלך הגידול המתבטא בציון הכללי ובמשקל צמחים ושורשים שבוצע עם סיום הגידול. לא נמצא יתרון לשילוב של פורדור לשילוב המקובל- אדוכם וקונדור. לא נמצא יתרון לשילוב טלודריפ עם אדוכם. מנתוני המשקלים והציון הכללי לחלקה המוצגים כאן נראה שחלקות ההיקש נראו פחות טובות מטיפולי החיטוי אך לרוב לא מובהק סטטיסטית. טיפול הקונדור בתוספת האדוכם ב- 3 שלוחות נתן את התוצאות הטובות ביותר וזאת מכיוון שהם הושקו לאורך כל העונה בשלוש שלוחות טפטוף לעומת שתי שלוחות טפטוף בשאר החלקה.

טבלה 3. נתוני יבול, משקל צמח ושורש ממוצע וציון כללי לחלקות בטיפולים השונים- תצפית 2008/9

הטיפול	יבול בק"ג/ד'	משקל צמח בגר'	משקל שורש	ציון כללי ב %
קונדור+אדוכם 44 3)	2251	114 א	38 א	84 א
קונדור+אדוכם 73	2124	97 אב	25 ב	78 אב
קונדור+אדוכם 44	2054	109 אב	24 ב	76 אב
מ. ברומיד 50	1942	82 אב	22 ב	74 אב
טלודריפ 50	1861	97 אב	30 אב	78 אב
טלודריפ+אדוכם 44	1765	109 אב	25 ב	79 אב
קונדור+אדוכם	1848	117 א	26 אב	81 אב

				44+פורדור		
ב	66	ב	19	ב	66	1750
היקש						

בתצפית 2009/10 טיפולי האדוכם ומתיל ברומיד היו היעילים ביותר להפחתת רמת המידבק (איור 6) בדומה לתצפית משנה קודמת (איור 5). הכלורופיקרין לבד ובשילוב עם הפלדין לא היו יעילים בהפחתת המדבק שהוטמן בקרקע. זאת בדומה לתצפית 2008/9 שבה הטלודריפ המכיל אף הוא כלורופיקרין, לא הדביר את המחלה.

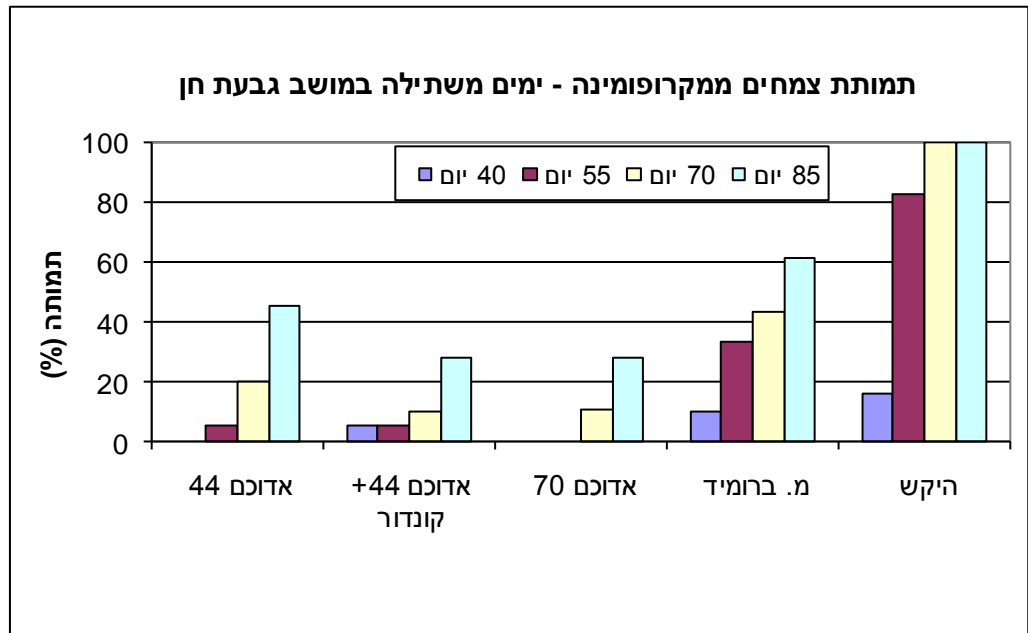


איור 6. השפעת טיפולי חיטוי על כתרים נגועים שהוטמנו בחלקות לפני החיטוי- תצפית 2009/10.

ניסוי הדברה במשתלה במושב גבעת חן

בניסוי המשתלה נצפתה נגיעות קשה במחלת המקרופומינה בקרקע ומוצגים נתוני תמותת שתילים כתוצאה מהמחלה. מהקשיונות שהוטמנו בקרקע לפני החיטויים, לא התקבלו תוצאות, בגלל זיהומים בצלחות מפטריות אחרות.

תמותת השתילים בניסוי ההדברה במשתלה במושב גבעת חן הגיעה ל- 100% בהיקש, לאחר 70 יום (איור 7). בסיום הניסוי (ביום 85) ניתן לראות שהשילוב של אדוכם עם קונדור ואדוכם 70 הביא להישרדות הגבוהה יותר של שתילים, באופן מובהק מהביקורת ושאר הטיפולים של אדוכם 44 ומתיל ברומיד (טבלה 4). כמוכן, טיפול אדוכם 70 הביא לכמות גבוהה ביותר של צמחי בת, באופן מובהק מיתר הטיפולים (טבלה 4).



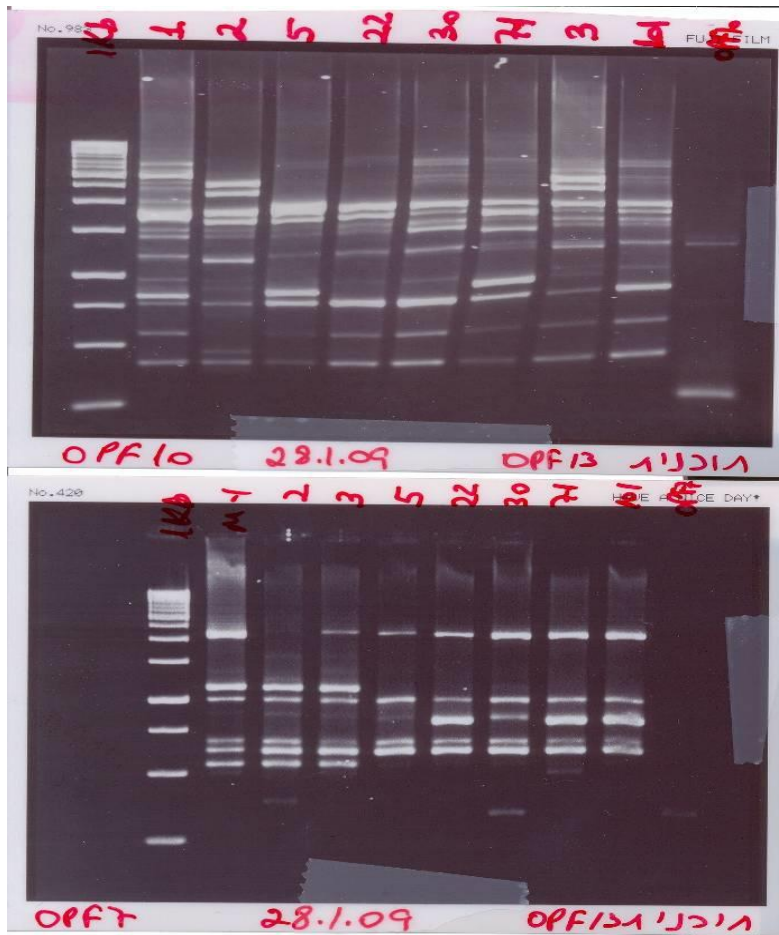
איור 7. נתוני תמותת צמחי אם לאורך זמן בניסוי משתלה בגבעת חן 2009

טבלה 4. תמותת צמחי אם, מסי שתילי בת וציון כללי לחלקה - 85 יום משתילה במשתלה בגבעת חן 2009

טיפול	אחוז צמחים מתים	מסי שתילי בת בממוצע לצמח	ציון לחלקה מ-0-100
היקש	100 א	2.6 ב	2.5 ב
מ. ברומיד	61.3 אב	28.8 אב	50 אב
אדוכם 44	45 אב	30.1 אב	57.5 א
אדוכם +44 קונדור	28.1 ב	37.2 אב	67.5 א
אדוכם 70	28.3 ב	42.7 א	63.8 א

ח. אפיון מולקולרי של אוכלוסיות הפתוגן

DNA של 149 תבדידי המקרופומינה מתות שדה שנמצאים באוסף הופק בכדי לבחון את השונות הגנטית של האוכלוסיה. לאחר ההפקה, ה-DNA עבר הגברה עם פריימרים אקראיים בכדי לקבוע האם קיימות קבוצות גנטיות שונות לפי הרכב פסי ההגברה. נמצאו כ-8 קבוצות שונות, כשבכל באר נמצא נציג של קבוצה מסוימת (תמונה 2).



תמונה 2. גיל עליון מייצג DNA של נציגי מקרופומינה שהוגברו עם פריימר OPF10 ו- הגיל התחתון עם פריימר OPF7. מקור התבדידים: 1-גבעת חן; 2-קלנסואה; 3-קלנסואה; 5-קלנסואה; 22-גבעת חן; 30-משמרת; 71-קלנסואה; 101-טירה.

כמוכן, מקטע ה- ITS של ה- DNA הריבוזומלי של הנציגים הנבחרים מתות שדה (תמונה 2) ועוד שלושה נציגים מגידולים שונים (מלון, אבטיח ולאוקוספורום) הוגבר והמקטעים עברו ריצוף כדי לבחון האם קיימת שונות גנטית בתוך המין לפי שיטה זו. מתוצאות הריצוף לא נמצא שונות גנטית ומעקובות הבסיסים היו זהים בין כל 11 התבדידים שרוצפו.

דיון

א. סך 90 תבדידים של מקרופומינה נאספו משנת 2006 ו- 2009 כאשר 138 תבדידים נאספו מתחילת הופעת המחלה שקורם מתות שדה (חלקם ממשותלות שדה וחלקם משדות מניבים). לא בודד אף תבדיד ממשותלות היסוד והגרעין. בעקבות ממצא זה, סביר להניח שהפתוגן לא מופץ ממקור זה אלא שורד בשדה ומאלח שתילים בסביבה זו. עוד 11 תבדידים של מקרופומינה בודדו מפונדקאים אחרים (כגון: מלון, אבטיח, שקד, לאוקוספורום, ארליה וחמנית).

ג. פטרית המקרופומינה שוכנת קרקע לכן היה צורך לפתח מצע סלקטיבי לבידוד ובחינת ההישרדות של הפתוגן בקרקע. מצע סלקטיבי פותח על בסיס חומרי אנטיביוטיקה והדברה להם עמידים הפטריה

מקרופומינה המוכנסים למצע הגידול. המצע נמצא בשימוש לבידוד הפתוגן מחומר צמחי נגוע ולקביעה כמותית של פרופגולים של הפטריה בקרקע.

ד. בניסוי עציצים, נשתלו שתילי תות שדה (זן תמר, רגיש לפתוגן) בקרקע מאולחת בתבדידי מקרופומינה (5×10^4 קשיונות/גר' קרקע) מהפונדקאים הבאים: תות שדה, ארליה, מלון, אבטיח, לאוקוספורום ושקד. הניסוי בוצע פעמים כשהצמחים גודלו בטמפרטורה של 25 מ"צ בחממה ולכל תבדיד הודבקו 10 צמחים. לאחר שבועיים חשיפה בטמפרטורה של 25 מ"צ חלה תמותת השתילים ולאחר 38 ימים נרשמה מ-80 עד 100% תמותת השתילים המאולחים על ידי התבדידים השונים, המעיד על אי ספציפיות התבדידים לפונדקאי מסוים ויכולת התקפה רחבת היקף.

ה. בניסוי עציצים בקרקע מאולחת בפתוגן בחממה ובתנאים מבוקרים, הצמחים נחשפו לעקת מים ועקת חום של 30 מ"צ. כל הצמחים שנחשפו לעקת חום מתו כעבור כשבועיים בהשוואה לאלה שגדלו בטמפ' של 25 מ"צ. ב-25 מ"צ תמותת השתילים רק החלה כשלושה שבועות לאחר השתילה ותמותה מלאה התקבלה כעבור שלושה חודשים. לא היתה השפעה לתנאי עקת המים כשתמותת השתילים הושפעה בעיקר מעקת החום. תוצאות ניסויים אלה מצביעות על השפעת החום לטובת הפתוגן כשהטמפרטורה האופטימלית לגידול הפטריה גבוהה יחסית לפתוגנים אחרים. עקת ההצמאה פחות ובכלל לא משפיעה על תמותת השתילים. לכן, כשטמפרטורת הקרקע יורדות, כגון בחודשי החורף, יש פחות סכנה להתפרצות המחלה לעומת באביב וקיץ כשהטמפרטורות עולות.

ו. הישרדות גופי הקיימא, קישיונות, של הפטרייה נבחנה לאורך זמן לאחר אילוח קרקע וחשיפה לתנאי הדגרה מבוקרים של 25 ו-35 מ"צ וחשיפה לתנאי סביבה חיצוניים בחודשי הקיץ (אוגוסט עד נובמבר). תנאים אלה מדמים את עונת המעבר כשהשתילים מועברים מהמשתלות לשדות המניבים. שבועיים לאחר חשיפת האינקולום בקרקע לתנאים השונים (25 ו-35 מ"צ וחשיפה לתנאי חוץ), האוכלוסיה דעכה מהר מאוד וכעבור שבועיים ירדה ההישרדות עד כ-50%. כעבור 4 חודשים אוכלוסיית הפתוגן דעכה לערכים מאד נמוכים ו-6 חודשים לאחר תחילת הניסוי הקישיונות לא שרדו. יתכן והמידבק החשוף שלא נמצא בתוך חומר צמחי נגוע, רגיש יותר לתנאי הסביבה בהשוואה לחומר "מוגן" החבוי בתוך רקמה נגועה (כגון כתרים ושורשים).

ז. בסריקה של מספר רב של חומרי הדברה (כ-30 במספר) נבחנה השפעתם של אלה הפעילים ביותר בריכוזים בין 0-10 ח"מ לעיכוב גידול הפטרייה בצלחות פטרי. מבין החומרים שנסקרו, דלסן וטופו עיכבו את הפטרייה באחוזים הגבוהים ביותר ובריכוזים הנמוכים ביותר של 0.01 ח"מ חומר פעיל. בעקבות עבודה זו, החומר דלסן נמצא בשימוש אצל החקלאים לקטילת הגורם בטבילת שתילים נגועים לפני העברתם לשדה המניב.

ח. בתצפיות שדה להדברת גורם המחלה ע"י חיטוי בפומיגנטים שונים הוצנע מידבק של קישיונות וכתרים של הפתוגן בקרקע. כל הטיפולים חוץ מטלודריפ וכלורופיקרין היו יעילים לקטילת הגורם אך גם בהיקש (שהיה מחופה בפוליאיתילן) היתה דעיכה בהישרדות גורם המחלה. ייתכן שקישיונות הפטריה רגישות יחסית לחשיפה ישירה לחומרים אך כושר ההישרדות יכול לעלות כשהמידבק "מוגן" בתוך חומר צמחי נגוע (כגון כתרים ושורשים).

ט. בניסוי חיטוי קרקע במשתלת תות שדה בגבעת חן, נצפתה נגיעות קשה במחלת המקרופומינה. תמותת השתילים במשתלה הגיעה ל- 100% בהיקש, לאחר 70 יום. שילוב של אדזוכס עם קונדור ואדזוכס 70 לבדו הביא להישרדות הגבוהה יותר של שתילים, באופן מובהק מהביקורת ושאר הטיפולים שכללו אדזוכס 44 ומתיל ברומיד. כמוכן, טיפול אדזוכס 70 הביא לכמות גבוהה ביותר של צמחי בת, באופן מובהק מיתר הטיפולים.

י. DNA של 149 תבדידי המקרופומינה שנמצאים באוסף הופק בכדי לבחון את השונות הגנטית של האוכלוסייה. לאחר ההפקה, ה-DNA עבר הגברה עם פריימרים אקראיים בכדי לקבוע האם קיימות קבוצות גנטיות שונות לפי הרכב פסי ההגברה. באפיון מולקולרי בשיטת ה-PCR לקביעת שונות גנטית של אוכלוסיות הפתוגן, נמצאו 8 קבוצות שונות מתוך אוכלוסיית הפטריה, וייתכן שיש קבוצות נוספות. כמוכן, מקטע ה-ITS של ה-DNA הריבוזומלי של נציגים של הקבוצות השונות הוגבר ורוצף. מתוצאות הריצוף לא נמצא שונות גנטית בין תבדידי הנציגים ומעקובות הבסיסים היו זהים בין כל 11 התבדידים שרוצפו. דבר זה מצביע על שונות נמוכה יחסית במין פטריה זה מאחר ומקטע ה-ITS נתון לשינוי ומשמש לקביעת שונות גנטית של מינים שונים של פטריות.

פרסומים מדעים מהמחקר

Zveibil, A., and Freeman, S. (2005). First report of crown and root rot in strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Israel. *Plant Disease* 81:1014.

אנו מודים למדען הראשי של משרד החקלאות עבור מימון מחקר זה.

סיכום לדו"ח מחקר מס': 1250-132**מטרות המחקר**

א. לאפיין את מקור המידבק ההתחלי. ב. להגדיר את דרכי השתמרות הפתוגן מעונה לעונה. ג. להגדיר את הגורמים המשפיעים על תגובת הפונדקאי לפתוגן. ד. לאפיין את השונות והספציפיות של אוכלוסיות הפתוגן מגידולים שונים. ה. לפתח גישה להדברה מושכלת של המחלה.

עיקרי הניסויים ותוצאות

נאספו 149 תבדידים מתות ומפונדקאים אחרים לאחר בידוד במצע בררני שפותח למקרופומינה. שבועיים לאחר חשיפת האינקולום בקרקע, האוכלוסיה דעכה עד כ- 50% ו- 6 חודשים לאחר מכן הקישיונות לא שרדו. החומרים דלסן וטופו היו היעילים ביותר לעיכוב הפטרייה בצלחות. לא נמצא ספציפיות לפונדקאי של תבדידים מפונדקאים אחרים. עקת חום של 30 מ"צ הגבירה תמותת שתילים, כשלא היתה השפעה להצמאה. רוב טיפולי החיטוי קטלו את הפתוגן בשדה. נמצאה שונות גנטית בתוך אוכלוסיית הפתוגן אך רצף ה-tDNA לא היה שונה בין התבדידים היצוגיים.

מסקנות מדעיות והשלכות

ככל הנראה הפטריה שורדת בקרקע או בפונדקאים אחרים ותוקפת תות שדה בשטח – ולא מגיעה עם השתילים מהמשתלה. החומרים דלסן וטופו נמצאו יעילים להדברת הפתוגן בשדה. חיטוי קרקע באמצעות אדוכם היה יעיל להדברת הפתוגן בקרקע מאולחת. ניתן להשתמש במצע בררני לבידוד הפתוגן בעתיד.

הבעיות שנותרו לפתרון

להמשיך לאפיין את מקור המידבק ההתחלי ולהמשיך להגדיר את דרכי השתמרות הפתוגן מעונה לעונה.

הפצת ידע:

Zveibil, A., and Freeman, S. (2005). First report of crown and root rot in strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Israel. *Plant Disease* 81:1014.

פרסום הדו"ח: אנו ממליצים לפרסם את הדו"ח **רק בספריות.**