

דו"ח מסכם לתכנית מחקר מספר 1209-132

אפידמיולוגיה והדברה של מחלת הדידימלה (*Didymella bryoniae*)
במלפפונים ודלועים אחרים

**Epidemiology and control of *Didymella bryoniae*, causal agent of gummy
stem blight disease of cucumber and other cucurbits**

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות
נ"י

סטנלי פרימן, יגאל אלעד, מרסל מימון ודליה רב-דוד, פתולוגיה של צמחים, מנהל המחקר החקלאי
יגאל מירון, נטע מור, הישאם יוניס, ונביל גנאים, האגף לירקות, שירות ההדרכה והמקצוע

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

Yigal Elad, Plant Pathology and Weed Research, ARO, The Volcani Center, Bet
Dagan 50250. E-mail: elady@volcani.agri.gov.il

מאי, 2008

אייר תשס"ח

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקר

תקציר

1. הצגת הבעיה: מחלת הגבעול הזב (דידימלה) בדלועים, הפוגעת במלפפונים ובמלונים (גבעולים ופירות) בארץ ומהווה גורם מגביל לגידולים, נגרמת על-ידי הפטרייה *Didymella bryoniae*.
2. מטרות המחקר: ביצוע מבחן קוד ובחינת מקורות מדבק בחממות (זרעים, שאריות צמחים, מבנה החממה). לימוד דרכי השתמרות מידבק הפתוגן. לימוד הביולוגיה של הפתוגן (משמעות השלב המיני באפידמיולוגיה). אפיון מגוון אוכלוסיית הפתוגן בארץ. בחינת דרכי הדברה קולטורליות וכימיות (תכשירים חדשים, חיטוי חלל תרמי, סניטיציה). הדברה משולבת של הנגע.
3. שיטות ומהלך העבודה: נבחנו דרכי הדברה כימיות של הפתוגן בצמחים מאולחים בחממה. קטילת הגורם בקרקע נבחנה לאחר הטמנת מידבק ויישום טיפולים שונים. השתמרות מידבק הפתוגן נבדקה בחממה מאווררת ולא מאווררת בתנאי לחות שונים. שונות הגנטית של הפטרייה נבחנה ב-PCR. הועמד ניסוי שדה לבחינת אתר האילוח בפרח ובפרי ולהדברת הגורם בתכשירים כימיים.
4. תוצאות עיקריות: בודדו 41 תבדידים ממלפפונים ומלונים. הושלם מבחן קוד בשתילים. זוהה שלב המיני של הפתוגן. נסרקו כ-20 פונגיצידיים פוטנציאליים כנגד הגורם בצלחות ובשתילים בחממה. מידבק שנחשף לתנאי אוורור עם לחות יחסית גבוהה שרד טוב יותר מאשר מידבק שנחשף לחממה ללא אוורור ולחות יחסית נמוכה. מידבק שנטמן בקרקע בעומק עד 20 ס"מ נקטל באופן מוחלט על ידי תכשירי חיטוי שונים. לא נמצאה שונות גנטית בין תבדידי הפטרייה ממלון ומלפפון בשיטת ה-PCR. מניסוי השדה נמצא שההדבקה מתבצעת מצד הפרח ולא מצד העוקץ של הגבעול. החומר סיסטן בריסוס היה היעיל ביותר להדברת הפטרייה בניסוי השדה.
5. מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: נמצא שתבדידי הגורם אינם ייחודיים למלפפונים או מלונים ומתרחשת הדבקה צולבת בין הפונדקאים באילוח מלאכותי. קיום שלב המיני דורש מחקר מעמיק לגבי האפידמיולוגיה והישרדות הגורם. נמצאו מספר תכשירי הדברה מבטיחים להפחתת הגורם בשתילים מאולחים בחממה שנוסו בתנאי שדה. נמצא שמידבק הפתוגן שורד בתנאי אוורור ולחות בחממה. הפתוגן אינו מתנהג כפטריית קרקע טיפוסית ונקטל באופן מוחלט בקרקע לאחר חיטוי עם חומרים שונים. הפטרייה מדביקה מצד הפרח לכן למניעת הדבקת הפרי צריך להדבירה בעת הופעת הפריחה.

מבוא

מחלת הגבעול הזב (gummy stem blight) (דידימלה) בדלועיים, הנחשבת כמחלה עיקרית במלפפונים ומלונים, נגרמת על-ידי הפטרייה *Didymella bryoniae*. בשנים האחרונות החריפה המחלה במלפפון בחממות באזור המרכז (אחיטוב והמשולש) ובמלון בערבה. הפטרייה יכולה לתקוף את כל מיני הדלועים בעלים, גבעולים (חיגור) ופירות (ריקבון פנימי). הפטרייה יכולה לגרום לנזקים חמורים בשתילים ובפירות עד אובדן מוחלט של יבול. בחלק מאברי הצמח נראה ניקוד שחור זעיר שהינו גופי פרי הפזורים על פני אברי הצמח הנגועים. תוצאות המחקר יאפשרו להתמודד עם בעיה שקיימת כבר הרבה שנים אך החמירה בשנים האחרונות ולא זכתה לטיפול.

מטרות המחקר

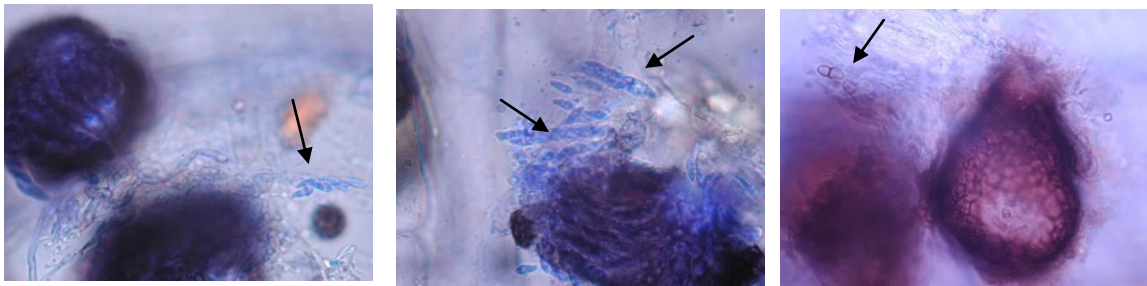
- א. ביצוע מבחן קוד ובחינת מקורות מדבק בחממות (זרעים, שאריות צמחים, מבנה החממה).
- ב. לימוד דרכי השתמרות מידבק הפתוגן.
- ג. לימוד הביולוגיה של הפתוגן (משמעות השלב המיני באפידמיולוגיה).
- ד. אפיון מגוון אוכלוסיית הפתוגן בארץ.

ה. בחינת דרכי הדברה קולטורליות וכימיות (תכשירים חדשים, חיטוי חלל תרמי, סניטציה).
ו. הדברה משולבת של הנגע.

עקרי הניסויים שבוצעו ותוצאות שהתקבלו

1. איסוף תבדידים לאפיון הגורם

במשך תקופת הפרויקט בודדו 41 תבדידי דידימלה (נספח 1). בודדו 33 תבדידים מצמחי מלפפון (25 מחממות באזור אחיטוב ו-13 מנתיב העשרה) ו-8 ממלון (3 מהערבה ו-5 מנתיב העשרה) מגבעולים, עלים ופירות נגועים. הזיהוי של תבדידים אלה אומת כדידימלה ע"פ קריטריונים מורפולוגיים, נוכחות גופי פרי אל-מיניים (פיקנידיה) על גבי כתמי מחלה וע"פ גודלם של הנבגים האל-מיניים. כמו כן, מצאנו את השלב המיני בצמחי מלפפון ומלון מודבקים טבעית וגם בצמחים שאולחו על ידנו באופן מלאכותי בגורם המחלה (תמונה 1).



תמונה 1. גופי פרי מיניים (פסאודופריטציה) עם אסקוסים ו-8 אסקוספורות דו-תאיות טיפוסיות (מסומן בחץ) של דידימלה שבודדו מצמח מלפפון מודבק באופן טבעי ומאולח באופן מלאכותי במחולל המחלה

2. השלמת מבחן קוך בדלועים שונים :

בוצעו ניסויי אילוח צולבים של מלפפון ומלון בתבדידי דידימלה מכל אחד מהפונדקאים. האילוח נעשה ע"י ריסוס 10^5 נבגים (אל-מיניים)/מ"ל. תבדידי דידימלה ממלון היו יותר וירולנטים מתבדידי מלפפון כשכשאיילחנו שתילי מלון בפתוגנים אלה. הם גרמו לתמותת השתילים תוך 7-10 ימים לעומת תבדידי מלפפון שעיקבו את הגידול והמיתו רק את חלק מהצמחים.

3. לימוד ביולוגיה של גורם המחלה

תוך כדי בידודים ואילוח שתילים נמצא השלב המיני של גורם המחלה (תמונה 1). ע"מ לבחון את יכולת ההדבקה של הנבגים המיניים, אולחו שתילי מלון ומלפפון באסקוספורות וצברי הפסאודוטציה (גופי פרי מיניים). כל השתילים שאולחו מתו מגורם המחלה 7-10 ימים לאחר האילוח.

4. בחינת תכשירי הדברה כנגד דידימלה בצלחות פטרי

נסרקו כ-20 פונגיצידיים פוטנציאליים כנגד הגורם במבחני רעילות בצלחות פטרי. הפונגיצידיים שנסקרו: מנצידן, ספרול 20, דותן, שביט, חוסן, טופז, אנויל 5, תלם, סיסטאן, מיראז F-, מיראז - 701B6028, מיראז - BN01360136, מיראז - 60110409 45, מרפאן + PCNB, אוריוס 25, שביט 25 EW, מגנט 50, נמרוד 25, AGF 2, ו- AG 3. נקבעו ערכי ED₅₀ (ח"מ) עבור כל חומר: מנצידן (80% mancozeb) - 5.5; חוסן (125 gr/L flutriafol) - 0.18; אנויל 5 (50 gr/L hexaconazole) - 0.05; סיסטאן E 12 (125 gr/L) - 0.23; מיראז F - (60% folpet + 15% prochloraz) - 0.2; מיראז - 136 (50% myclobutanil) - 0.23.

– (prochloraz) 0.05 ; מיראז - 45 (45% prochloraz) - 0.03 ; אוריוס 25 (250 gr/L tebuconazole) –
0.15 ; מגנט 50 (500 gr/L imazalil) – 0.08.

5. בחינת הדברה כימית של הפתוגן בצמחים

בשנת 2005 נסרקו כ- 20 פונגיצידיים פוטנציאליים כנגד הגורם במבחני רעילות בצלחות פטרי. פונגיצידיים מבטיחים שערכבו את תפטיר הפתוגן בצלחות כגון: אנויל 5, מיראז F-, מיראז, מנצידן, אוריוס 25 נוסו בשני ניסויים להדברת הגורם שבוצעו בצמחי מלפפון ומתוארים להלן.

ניסוי ראשון: זרעי מלפפון הונבטו בורמיקוליט. חמישה צמחים הועברו לעציץ עם מצע קוקוס לבחינת הטיפול בחומר הדברה. כל החומרים רוססו בריכוז של 0.1%, יממה לפני האילוח בדידימלה (תבדיד מס' 12) בריכוז 10^5 נבגים/מ"ל (למעט החומרים משרי העמידות – ביון ו- AG3 שרוססו פעם נוספת ארבעה ימים לפני האילוח). החומרים המבטיחים שלא הפחיתו את תמותת השתילים (כגון: עמיסטר, אנויל, חוסן, אוקטב, סטרובי, סיגנום וסיסטאן) נוסו שוב בניסוי מורחב יותר. חומרים לא יעילים (כגון: אוריוס, מגנט וביון) לא נוסו שוב. בנוסף נבדקה פעילות פיטוטוקסיות של החומרים בניסוי השני.

ניסוי שני: הניסוי השני נערך באותה מתכונת של הניסוי הראשון אך לכל חומר נבדקו 30 צמחים שאולחו בשלושה תבדידים, 10 צמחים כל אחד. כמו כן, נוספו חמישה צמחים לבחינת פיטוטוקסיות לכל חומר. הערכת הנגיעות כתלות בתמותת שתילים נערכה שישה ימים לאחר האילוח (טבלה 1).

טבלה 1. אחוז תמותת שתילי מלפפון לאחר אילוח בשלושה תבדידי דידימלה מטופלים בחומרים שונים

חומר/תבדיד	8	12	20
ביקורת	47 B	100 A	100A
AG 3	18.5 CDE	96 A	98.5 A
Amistar	2.7 E	14.5 CDE	36 BC
Anvil 5	0 E	0 E	0 E
Hosen	1.8 E	3.1 E	31.6 BCD
Manzidan	0.5 E	10 DE	2.5 E
Octave	5 E	10.6 DE	8.6 DE
Stroby	0.7 E	13.6 CDE	31.5 BCD
Sygnum	0.5 E	0.5 E	0 E
Systhane12E	17.2 CDE	4 E	6.6 DE

הערכת נגיעות בוצעה לאחר 6 ימים. בטיפול הביקורת, הצמחים רוססו בנבגי הפטרייה בלבד והייתה ביקורת מים לא מרוססת. ערכים בטבלה המלווים באות זהה אינם נבדלים זה מזה ($P \leq 0.05$). נמצאו מספר חומרי הדברה יעילים להפחתת הנגיעות ומניעת תמותת השתילים. התכשירים היעילים ביותר היו אנויל וסיגנום. החומר אנויל לא צרב את העלים אך נראו מעט עוותי עלים. לעומתו, סיגנום גרם למעט

כתמי פיטוטוקסיות בעלים, בעיקר בשוליים. לא נראתה פיטוטוקסיות בצמחים לאחר הטיפול בחומרים חוסן, סטרובי ועמיסטאר.

7. הישרדות דידימלה בחממה בתנאים שונים

הצמחים ששימשו לניסוי הם צמחי מלפפון שעברו עיקור והודבקו בצורה סטרילית בתבדידי דידימלה מס' 8 ו 12. כשבועיים לאחר האילוח יובשו הצמחים המודבקים והוחזקו בטמפי' החדר לפני העמדת ניסוי ההישרדות בחממה. המידבק, שכלל חלקי גבעולים באורך 1-1.5 ס"מ, הוכנס לשקיות רשת; בכל טיפול חמש חזרות עם חמש חתיכות גבעול מודבקות בפטרייה בכל חזרה. הטיפולים היו: מידבק החשוף בחממה עם ובלי אוורור, בתנאי לחות (כשהשקיות הוכנסו לשקית אשפה שבתחתיתה מים) או ללא תנאי לחות. כל שלושה שבועות, מדגם מהמידבק הוצא מהשקיות ונזרע על צלחות מצע PDA שהכיל כלורמפניקול ללא חיטוי ונקבע אחוז הישרדות לפי חיות הפטרייה שצמחה מהגבעולים (טבלה 2). כמו כן, נערך מעקב אחר טמפי' ולחות לאורך כל היממה בכל הטיפולים בעזרת אוגרי נתונים מסוג Hobo (נספח 2).

טבלה 2. בדיקת הישרדות (אחוז) שני תבדידי דידימלה בתנאים שונים

מס' תבדיד	טיפול										
	12		8		12		8		12		
	12	8	12	8	12	8	12	8	12	8	
	חממה ללא אוורור				חממה מאווררת				חדר		
	עם לחות		ללא לחות		עם לחות		ללא לחות				
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	27.7.06
	100	20	80	80	100	100	100	100	100	100	17.8.06
	100	0	80	80	100	100	100	100	100	100	7.9.06
	40	0	20	60	100	100	80	60	80	100	28.9.06
	60	0	0	40	80	80	20	40	60	60	19.10.06

המידבק שנחשף לתנאי אוורור ולחות גבוהה שרד טוב יותר לעומת זה שהיה חשוף בחממה ללא אוורור ובלחות יחסית נמוכה. בתנאי חדר שרד המידבק הכי טוב ללא חשיפה לטמפי' גבוהות ולחות נמוכה.

8. הישרדות דידימלה בקרקע לאחר חיטוי בחומרים שונים

הניסוי הועמד בחלקת השדה של הפקולטה לחקלאות ברחובות בקיץ 2006. בכל חלקה הוטמנו חמש חזרות (חתיכות גבעולים מודבקים בדידימלה) בעומק 20 או 0 ס"מ (ע"פ השטח). שבוע לאחר היישום נבחנה יעילות הטיפול ע"י זריעת המידבק במצע. הטיפולים היו: טלודריפ (50 גר"/ממ"ר), מתיל ברומיד (50 גר"/ממ"ר); אדיגן (43 סמ"ק/ממ"ר) ביקורות מחופה וחדר (טבלה 3).

חמש חתיכות מכל טיפול נשטפו ב 0.03 אקונומיקה למשך 5 שניות ואחר כך נשטפו במים סטריליים לסילוק שאריות האקונומיקה. החתיכות נזרעו על PDAC לגידול. הייתה קטילה מוחלטת של הפתוגן בכל טיפול בעומק 20 ס"מ בקרקע, תבדיד 12 לא שרד על פני השטח בהיקש לכן לא ניתן ליחס את הקטילה בתבדיד זה בטיפולי החיטוי. לעומת זה תבדיד 8 נקטל על ידי הטיפולים גם בפני השטח. כל זאת בהשוואה להישרדות חלקית בביקורת השדה לעומת הישרדות גבוהה של המידבק בביקורת שהוחזק בתנאי חדר במעבדה.

טבלה 3. אחוז הישרדות דידימלה בקרקע לאחר חיטוי בחומרים שונים

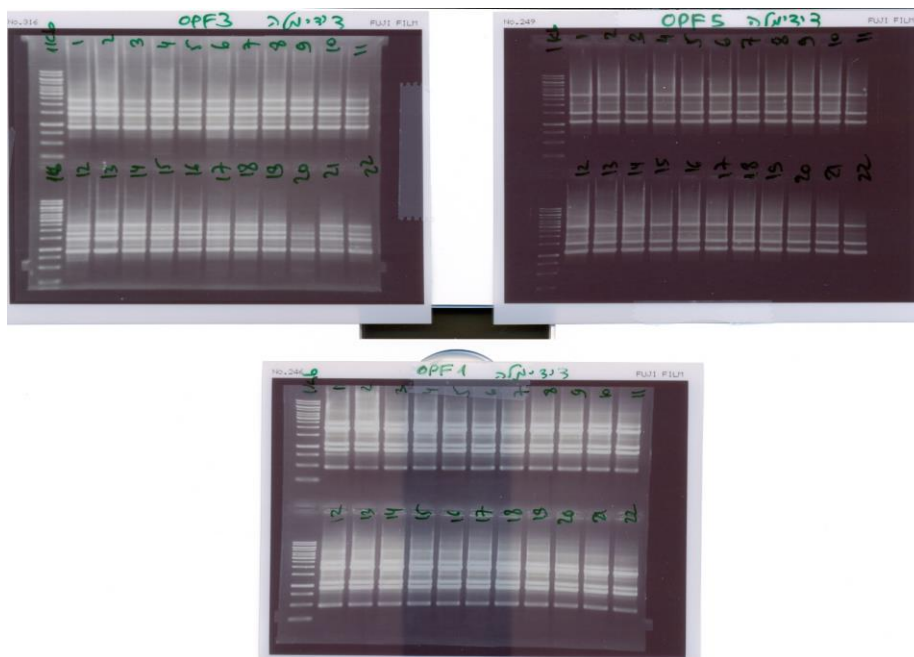
תבדיד ועומק ההטמנה				טיפול
12		8		
20 ס"מ	0 ס"מ	20 ס"מ	0 ס"מ	
0	0	0	0	טילודריפ
0	0	0	0	אדיגן
0	0	0	0	מתיל ברומיד
25	0	25	15	ביקורת שטח
	65		80	ביקורת חדר

9. הדבקה באמצעות נבגים מיניים

השלב המיני של דידימלה (בתבדיד 12) נוצר לאחר אילוח של גבעולי צמחי מלון מנותקים. כעבור שבועיים נוצרו גופי פרי מיניים (פריטציה) ע"ג הגבעולים. הגבעולים נוערו במים במכשיר stomacher בכדי לשחרר בעדינות רק את הנבגים אל תוך התמיסה. לאחר מכן, הנבגים סוננו דרך פד גאזה, סורכזו ונקבע ריכוז של 10^4 נבגים מיניים (אסקוספורות)/מ"ל. כמות של 10 מיקרוליטר הושמה על עלי מלפפון וכן רוססו 5 צמחי מלון לבחון את פתוגניות השלב המיני של התבדיד. הטיפולים הושמו בתא לח למשך 3 ימים. יום לאחר האילוח הופיעו כתמים נקרוטיים בעלווה המאולחת ולאחר 4 ימים כל חמשת הצמחים המאולחים באסקוספורות מתו. ביקורות צמחים ועלים שטופלו במים נשאר בריאים.

10. שונות גנטית בין תבדידי דידימלה ממלפפון ומילון

DNA של אוסף 41 התבדידים של דידימלה (ממלון ומלפפון – נספח 2) הופק לקביעת שונות הגנטית של הפטריה בשיטת ה-PCR עם שלושה פריימרים של חברת אופרון (OPF-1, OPF-3, OPF-5) (תמונה 2). בגיל בתמונה 2, מוצגים 22 מתוך 41 התבדידים. לא נמצאה שונות גנטית בין תבדידי הפטרייה ממלון ומלפפון בשיטה זו. תוצאה זהה התקבלה עם שאר 19 התבדידים.



תמונה 2. השוואת שונות הגנטית של תבדידי דידימלה בשיטת ה-PCR

11. ניסוי שדה להדברת דידימלה בפירות**מטרות הניסוי**

- א. בחינת היעילות של התכשירים מיראז', סיגנום, סיסטאן ועמיסטר, להדברת המחלה בפירות כשקיים לגביהם מידע על פעילות למניעת הנגיעות בדידימלה בצוואר השורש של צמחי המלפפון ביישום בהגמעה לקרקע.
- ב. בחינת היעילות עמיסטר ושל התכשיר סיסטאן, "קרוב משפחה" של האנוויל, שנמצא יעיל בניסוי ביישום על הנוף בעציצים.

שיטות וחומרים

הניסוי כלל שתי מלפפון מזן IV40 שנשתלו ב- 15 אוקטובר, 2007 באחיטוב. הניסוי נערך בבלוקים באקראי, 5 חזרות, כל חזרה ערוגה באורך 8 מטר, כל ערוגה עם שתי שורות צמחים. התכשירים שנכללו בניסוי: סיגנום (גר) – boscalid 26.7% + pyraclostrobin 6.7%; עמיסטר (תר) - 250 גרם azoxystrobin בליטר; סיסטאן (תמ) 240 גרם myclobutanil בליטר; מיראז' - 450 גרם prochloraz בליטר (טבלה 4). מועדי היישום: 3.12.07, 17.12.07 ו 6.1.08 כשהיישום בריסוס באמצעות מרסס גב לחץ מוטורי עם רובה ריסוס בנפח תרסוס 85-100 ליטר. היישום בהגמעה היה לכל צמח בנפח תמיסה של 150 סמ"ק.

טבלה 4. טיפולים בניסוי שדה להדברת דידימלה בפירות

מס'	התכשיר	הריכוז (%)	המינון (סמ"ק לשתיל)	יישום	הערות
1	היקש				
2	סיגנום		0.1	הגמעה לקרקע	קיים מידע על יעילות ביישום לקרקע
3	סיסטאן 24		0.04	הגמעה לקרקע	אין מידע ביישום לקרקע
4	עמיסטר		0.1	הגמעה לקרקע	קיים מידע על יעילות ביישום לקרקע
5	מיראז'		0.2	הגמעה לקרקע	קיים מידע על יעילות ביישום לקרקע
6	סיסטאן 24	0.04		יישום בריסוס עלווה	אין מידע ביישום בריסוס
7	עמיסטר	0.1		יישום בריסוס עלווה	אין מידע ביישום בריסוס

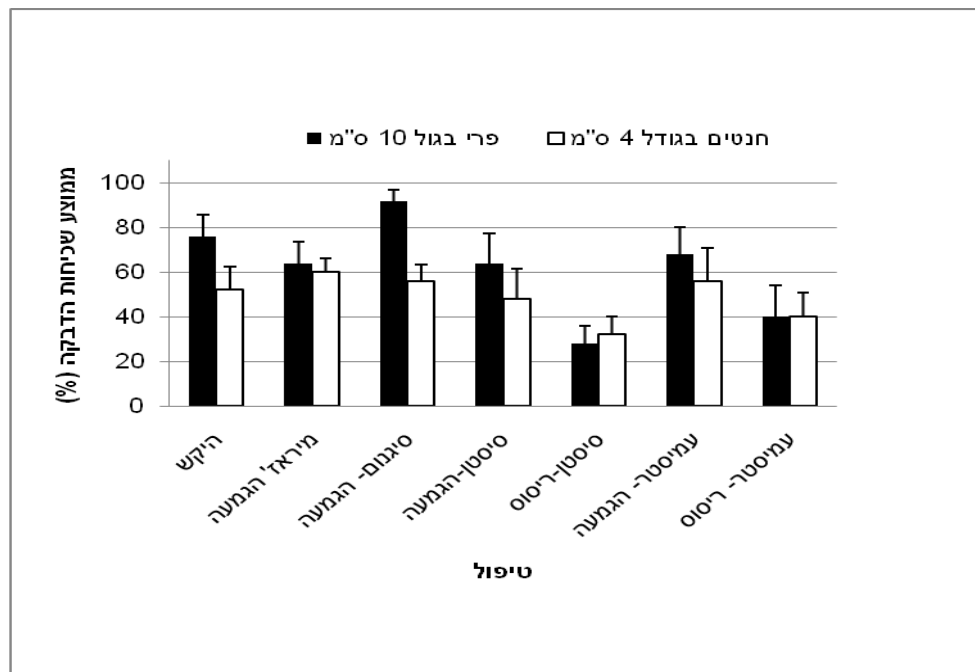
הגידול בתחילת הניסוי היה בשלבי קטיף והצמחים עברו את גובה החוט העליון של ההדלייה כשהיתה קיימת נגיעות חזקה בכל החממה. פירות בגדלים שונים נדגמו לבדיקת נוכחות הפתוגן במעבדה בתאריכים 19.12.08, 31.12.07 ו 14.1.08. בכל חזרה נדגמו 5 חנטים קטנים (כ- 4 ס"מ) ו 5 פירות גדולים (כ- 10 ס"מ). כל פרי נחתך לשני חלקים – צד העוקץ וצד הפרח (הפיטם). כל חלק נזרע בצלחת פטרי עם מצע PDA לאחר חיטוי חיזוני לגילוי דידימלה. במקביל, נערכה ספירות לנגיעות בדידימלה בפרי בתאריכים 11.12.07 (8 ימים מהיישום הראשון), 19.12.07 (יומיים מהיישום השני) ו 6.1.08. בכל חזרה נספרו והוסרו החנטים הטריים הנגועים בדידימלה (טבלה 5). בשדה לא נתקבל חומר שהפחית את המחלה באופן מובהק.

טבלה 5. תוצאות ספירת נגיעות בדידימלה בפרי המלפפון בשדה

מס' התכשיר	ריכוז (%)	מספר פירות נגיעים ממוצע בחזרה		
		מינון (סמ"ק לשתיל)	11.12.07	19.12.08
1 היקש		16.8 א	18.2 א	18.8 א
2 סיגנום-הגמעה	0.1	14.0 א	14.8 א	15.2 א
3 סיסטאן-הגמעה	0.04	11.2 א	13.0 א	13.6 א
4 עמיסטר-הגמעה	0.1	11.6 א	13.8 א	14.4 א
5 מיראז'-הגמעה	0.2	13.8 א	15.2 א	15.6 א
6 סיסטאן-ריסוס	0.04	14.4 א	15.6 א	15.6 א
7 עמיסטר-ריסוס	0.1	10.6 א	10.6 א	10.6 א

טיפולים בעלי אותיות זהות אינם נבדלים סטטיסטית ברמה של $P < 0.05$ לפי SNK. מהערכת הנגיעות בשדה, לא נמצא הבדל מובהק בין הטיפולים לביקורת.

בבדיקות מעבדה כמעט שלא נמצאה נגיעות בחנטים ובפירות בצד העוקף (5 מתוך 1050 מלפפונים). הנגיעות נמצאה רק בצד הפרח, דבר המלמד שהאילוח הראשוני מתבצע דרך הפרח (מצד הפיטם) ואין העברה סיסטמית של הפתוגן דרך הגבעול לפרי. בהערכת הנגיעות לאחר זריעות קצוות הפירות והחנטים (צד העוקף וצד הפרח) במצע, טיפול הסיסטאן בריסוס נמצא מספר הפירות המאולחים המועט ולא היו הבדלים מובהקים בהשוואה להיקש הלא מטופל (איור 1).



איור 1. שכיחות ההדבקה של דידימלה בחנטים ופירות (הדבקה מצד הפרח) בטיפולים השונים לאחר זריעת בידוד (ב- 19.12.07).

דיון

1. מחלת הגבעול הזב (דידימלה) בדלועים, נגרמת על-ידי הפטרייה *Didymella bryoniae*, פוגעת במלפפונים ובמלונים במקומות שונים בארץ ומהווה גורם מגביל לגידולים אלה. ללא טיפול בגורם עלולה הבעיה להחמיר ולגרום להפסדי יבול ניכרים.
2. נוכחות הפטריה נקבעה על ידי בידוד במצעים מקובלים כשבדדו 41 תבדידים ממלפפונים ומלונים. הושלם מבחן קודך בשתילים ונמצא שתבדידי הגורם אינם ייחודיים למלפפונים או מלונים ומתרחשת הדבקה מצולבת בין הפונדקאים באילוח מלאכותי. ככלל, צמחי מלון היו רגישים יותר לתבדידי הפתוגן בהשוואה למלפפון. אוכלוסיות הפתוגן אופיינו בשיטות מולקולריות בהמשך המחקר.
3. זוהה השלב המיני של הפתוגן ומבחן קודך שוחזר עם מידבק זה. קיום שלב המיני דורש מחקר מעמיק לגבי האפידמיולוגיה והישרדות הגורם. תנאי ההתפשטות והדבקת שתילים באמצעות נבגים מיניים עלולה להיות שונה מאשר התפשטות והדבקה באמצעות נבגים אל-מיניים. במקרים דומים נבגים מיניים משתחררים עם התייבשות גופי הפרי שעל פני הצמח ותפוצתם באוויר מהווה פוטנציאל הדבקה משמעותי ביותר.
4. נסרקו כ- 20 פונגיצידים פוטנציאליים כנגד גורם המחלה ונקבעו ערכי ED₅₀ (ח"מ) עבור כל חומר. החומרים היעילים ביותר להדברת הפתוגן נוסו בשתילים כשעוד לא נבחנה מידת הפיטוטוקסיות שלהם. חומרים שהיו יעילים גם בשתילים בחממה נוסו בניסוי שדה לפי מגבלות הגידול.
5. נמצאו מספר חומרי הדברה יעילים ביותר לקטילת הפתוגן בצמחים מאולחים כגון אנוויל וסיגנום. שימוש בחומרים אלה ונוספים יהווה פיתרון הדברה כימית בשדה.
6. מידבק הפתוגן שנחשף לתנאי אוורור ולחות גבוהה שרד טוב יותר לעומת זה שהיה חשוף בחממה ללא אוורור ולחות יחסית נמוכה ולכן, התאמת תנאי הסביבה בחממה לתנאים אלה עלולים להפחית את רמת המידבק האינפקטיבי.
7. בניסוי חיטוי בשדה הייתה קטילה מוחלטת של הפתוגן בכל טיפול הדברה, דבר המצביע על כך שהפתוגן אינו פטרייה השוכנת קרקע ואינו מסוגל לשרוד בקרקע לאורך זמן.
8. השלב המיני שנוצר היה אינפקטיבי וייתכן שהיווצרות שלב זה יכול לתרום לשונות הגנטית של הפתוגן ולגוון בעמידות/ רגישות אוכלוסיות שונות.
9. במבחן לבחינת שונות גנטית בין תבדידי הדידימלה ממלון ומלפפון באמצעות שיטת ה-PCR לא נמצאו הבדלים בין האוכלוסיות. לנוכח ממצא זה, סביר להניח שאין ספציפיות לגידול מסוים מבין הדלועים שנבדקו (מלון ומלפפון) ואין ייחודיות בין אוכלוסיות הפתוגן שנבדקו.
10. בניסוי השדה לא נתקבל חומר שהפחית את המחלה באופן מובהק. כמו כן נמצא שההדבקה מתבצעת מצד הפרח ולא מצד העוקץ של הגבעול. לכן, למניעת הדבקת הפרי צריך להדביר את הפתוגן המופץ באוויר באמצעות ריסוסים בעת הופעת הפריחה.

פרסומים מדעים מהמחקר

נמסר דווח בע"פ ב- 20.2.06 במסגרת יום עיון "מחקרים חדשים" המאורגן ע"י המדען הראשי של משרד החקלאות.

אנו מודים למדען הראשי של משרד החקלאות עבור מימון מחקר זה. תודות לחברת אגרונומיה, שירותים חקלאים, בסיועי בהעמדת ניסוי השדה.

סיכום לדו"ח מחקר מס': 1209-132**מטרות המחקר:**

ביצוע מבחן קוך ובחינת מקורות מדבק בחממות; לימוד דרכי השתמרות מידבק הפתוגן; לימוד הביולוגיה של הפתוגן (משמעות השלב המיני באפידמיולוגיה); אפיון מגוון אוכלוסיית הפתוגן בארץ; בחינת דרכי הדברה קולטורליות וכימיות (תכשירים חדשים, חיטוי חלל תרמי, סניטציה); הדברה משולבת של הנגע.

עיקרי הניסויים ותוצאות:

בודדו 41 תבדידים ממלפפונים ומלונים. הושלם מבחן קוך בשתילים. זוהה שלב המיני של הפתוגן. נסרקו כ- 20 פונגיצידיים פוטנציאליים כנגד הגורם בצלחות ובשתילים בחממה. מידבק שנחשף לתנאי אוורור עם לחות יחסית גבוהה שרד טוב יותר מאשר מידבק שנחשף לחממה ללא אוורור ולחות יחסית נמוכה. מידבק שנטמן בקרקע בעומק 0 עד 20 ס"מ נקטל באופן מוחלט על ידי תכשירי חיטוי שונים. לא נמצאה שונות גנטית בין תבדידי הפטרייה ממלון ומלפפון בשיטת ה-PCR. מניסוי השדה נמצא שההדבקה מתבצעת מצד הפרח ולא מצד העוקץ של הגבעול.

מסקנות מדעיות והשלכות:

נמצא שתבדידי הגורם אינם ייחודיים למלפפונים או מלונים ומתרחשת הדבקה צולבת בין הפונדקאים באילוח מלאכותי. קיום שלב המיני דורש מחקר מעמיק לגבי האפידמיולוגיה והישרדות הגורם. נמצאו מספר תכשירי הדברה מבטיחים להפחתת הגורם בשתילים מאולחים בחממה שנוסו בתנאי שדה. נמצא שמידבק הפתוגן שורד בתנאי אוורור ולחות בחממה. הפתוגן אינו מתנהג כפטריית קרקע טיפוסית ונקטל באופן מוחלט בקרקע לאחר חיטוי עם חומרים שונים. הפטרייה מדביקה מצד הפרח לכן למניעת הדבקת הפרי צריך להדבירה בעת הופעת הפריחה.

הבעיות שנותרו לפתרון:

לימוד הביולוגיה של הפתוגן (משמעות השלב המיני באפידמיולוגיה). המשך בחינת השתמרות הפתוגן ובחינת מקורות מדבק בחממות (זרעים, שאריות צמחים, מבנה החממה). ניסויי שדה נוספים להדביר את גורם המחלה בפרי בהתבסס על הממצא שההדבקה מתרחשת דרך הפרח.

הפצת ידע:

נמסר דווח בע"פ ב- 20.2.06 במסגרת יום עיון "מחקרים חדשים" המאורגן ע"י המדען הראשי של משרד החקלאות.

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

מס' תבדיד	פונדקאי	מקור	איזור
דידימלה 1	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 2	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 3	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 4	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 5	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 6	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 7	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 8	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 9	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 10	מלפפון	לא ידוע	אחיטוב
דידימלה 11	מלון	לא ידוע	ערבה
דידימלה 12	מלון	לא ידוע	ערבה
דידימלה 13	מלון	לא ידוע	ערבה
דידימלה 14	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 15	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 16	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 17	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 18	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 19	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 20	מלפפון	פרי	נתיב העשרה
דידימלה 21	מלפפון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 22	מלון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 23	מלון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 24	מלון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 25	מלון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 26	מלון	גבעול	נתיב העשרה
דידימלה 27	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 28	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 29	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 30	מלפפון	פרי	אחיטוב
דידימלה 31	מלפפון	פרי	אחיטוב
דידימלה 32	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 33	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 34	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 35	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 36	מלפפון	פרי	אחיטוב
דידימלה 37	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 38	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 39	מלפפון	גבעול	אחיטוב
דידימלה 40	מלפפון	פרי	אחיטוב
דידימלה 41	מלפפון	פרי	אחיטוב

טמפרטורה (מ"צ) ממוצעת במשך היום והלילה במהלך הניסוי

חממה לא מאווררת עם לחות		חממה לא מאווררת ללא לחות		חממה מאווררת עם לחות		חממה מאווררת ללא לחות		חדר		תאריך
יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	
41.8	30.4	39.5	28.8	38.4	25.9	35	26.3	23.6	27.9	27.7.06
41.3	29.7	39.2	28.2	38.5	24.9	34.7	25.2	23.6	24.4	17.8.06
40.8	30	38.7	28.7	37.7	26	34.7	26	22.5	25.2	7.9.06
39.1	28	36.9	27.3	36	24.4	32.9	24.6	24.8	27.5	28.9.06
32.4	25.6	30.8	25	30.8	22.2	28.1	22.8	24.8	25.6	19.10.06

לחות יחסית (%) ממוצעת במשך היום והלילה במהלך הניסוי

חממה לא מאווררת עם לחות		חממה לא מאווררת ללא לחות		חממה מאווררת עם לחות		חממה מאווררת ללא לחות		חדר		תאריך
יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	יום	לילה	
67.7	91.6	46.9	101.9	57.2	92	44.8	77.9	42.7	45.3	27.7.06
74.3	90.4	48.1	102.7	54.4	95.2	44	75.5	40.7	39.7	17.8.06
75.1	96.9	45.2	97	87.6	101.3	45.3	75.4	40.2	42.2	7.9.06
82.5	97.9	37.9	86.6	81.1	101.2	46.3	74.4	36.7	46.8	28.9.06
88	97.6	65.4	94.3	93.2	101.7	54.8	68.8	29.4	39.2	19.10.06