

33
פ

פזריוס ומחלות שורש אחרות בריחן (בזיל)

דו"ח מסכם (1997) לתוכנית מחקר 823-0116-97

לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות.

מוגש ע"י

יעקב קטן, המחלקה למחלות צמחים ומיקרוביולוגיה, האוניברסיטה העברית, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון ואיכות הסביבה, רחובות

Dept. of Plant Pathol. & Microbiol., The Hebrew University, Faculty of Agricultural, Food & Environ. Sciences, Rehovot 76100

(e-mail: GAMLIEL@AGRI.HUJI.AC.IL; Fax: 08-9466794).

תלמה קטן, מינהל המחקר החקלאי - מרכז וולקני

הישאם יוניס, שה"מ - משרד החקלאות

א. מבוא

הריחן (בזיל *Ocimum basilicum*) הוא תבלין היצוא החשוב ביותר בישראל. אף כי באפיו הריחן הינו גידול קיצי, אצלנו הוא גדל במשך כל השנה, אך עונת היצוא העיקרית היא בחורף. גידול ריחן בארץ נעשה רק בבתי צמיחה. זהו גידול רב-קצירי, מרביס אותו מזרעים או משתילים, ומשך הגידול, בדרך כלל, כחצי שנה. הזנים העיקריים הם שוויצרי ואמריקאי והתוצרת משמשת כתבלין טרי או יבש, או להפקת שמן אתרי. מראשית גידול הריחן התעוררו בעיות של מחלות, שרובן לא זוהו בצורה פסקנית, אך נראה בעליל שהן גורמות מק בכל שלבי הגידול. ניכרת פגיעה בצמחים בגילים שונים, כולל תופעות ניוון לאחר הקציר. הצמחים המנוונים נפגעים על ידי מחלת הבוטריטיס, ובמותם הם מהווים מוקד להפצת מחלה זו. המפתח לפתרון בעית המחלות הוא, בראש וראשונה, זיהוי נכון של גורמי המחלות ומקורם, אשר יאפשר בחירת אמצעי המניעה וההדברה המטביים. בספרות מוזכרות מספר מחלות בגידול הריחן. עבודתנו התרכזה מלכתחילה בזיהוי פגעי שורש, צוואר השורש וחלקי הגבעול התחתונים אשר כולם קשורים בפתוגנים של קרקע או שיש להם זיקה לקרקע; בבירור השאלה האם תופעות הנזק והתמותה השונות גם בחלקי צמח אחרים נגרמות על ידי פתוגן אחד או יותר; האם יש זהות או שוני בין מחלת הפזריוס של ריחן בארץ לבין אלו שתוארו באירופה ובארצ"ב, היות שמצאנו סימפטומים חריגים - צברי נביגה על הגבעול - שלא תוארו בחו"ל; ובבירור המשמעות האפידמיולוגית של יצירת מידבק חיצוני.

ב. מטרות העבודה

זיהוי גורמי מחלות שורש בריחן, חקר תפוצתם, הביולוגיה שלהם והנזק שהם גורמים, ופיתוח שיטות זיהוי מעבדתיות בלתי-שגרתיות. הממצאים יאפשרו הכנת המלצות בדבר מניעת הפצת גורמי המחלה בארץ (למשל באמצעות חומר ריבוי נגוע - זרעים ושתילים) והקטנת הנזק, ויהוו בסיס לעבודת הצוותים העוסקים בפיתוח מימשק הדברה.

ג. פירוט הניסויים

1. אפיון המחלה וזיהוי הפתוגן

צמחי ריחן חולים נדגמו ביותר מ-20 מאתרים שונים בחמישה אזורים בארץ. הסימפטומים העיקריים שהובחנו בצמחים היו: נבילה שמכירה מחלות פחריום נבילה בצמחים אחרים; החמה, השחרה וריקבון של שורשים וצוואר השורש; כתמים ופסים שחורים, רציפים או מקוטעים, לאורך הגבעול והתפרחות; נקרחת והתייבשות של עלים ואמירים; עוות עלים; החמה בעצה; תמותה. במקרים רבים ניצפו סימנים אחדים או אף כולם בצמח הבודד. נצפתה שונות בחומרת המחלה הן בין צמחים והן בין חממות, כאשר המצב חמור במיוחד בחממות בהן נמשך גידול הריחן שנים אחדות ברציפות. על פני הגבעול של צמחים רבים נראתה שכבה אבקתית בצבע ורודד ובהסתכלות מיקרוסקופית התברר שהשכבה מורכבת מנבגים (מקרונידיה) אופייניים לפחריום (Fig. 1, 2 בנספח 1). הצמחים מוינו לקבוצות לפי הסימפטומים ונעשו בידודי פטריות מחלקי צמחים שהראו סימני נגיעות.

להלן רשימת אתרים ייצוגית שמהם נדגמו צמחי ריחן חולים (מחממה אחת או יותר): ירדנה, רחוב, נעמה, בית יצחק, מצליח, עין הבשור, חצבה, פארן.

ברוב הבידודים מצמחי ריחן חולים התקבל פחריום (בעיקר *F. oxysporum*) ולעתים רחוקות גם פטריות אחרות (*Fusarium sp.*, *Pythium*, *Rhizoctonia*). פחריום בודד מכל חלקי הצמח החולה (שורשים, צוואר השורש, גבעול, פטוטרת עלים, אמירים ותפרחות), כולל ענפים לא-סימפטומטיים שנלקחו מצמח חולה, וכן מצמחים בריאים לכאורה מחממות נגועות.

F. oxysporum בודד הן מרקמות פנימיות של הגבעול והן מנבגים חיצוניים שנוצרו על-פני הגבעול התחתון (טבלה 1).

פותרחה שיטת הדבקה לביצוע מבחני פתוגניות, שעיקריה: גידול צמחים מזרעים עד גיל 30 יום, טבילת שורשי הצמחים בתרחיף נבגים של הפטריה, שתילה וגידול בחממה בטמפ' 25-28 מ"צ, ומעקב אחר התפתחות סימני מחלה במשך 3 שבועות. בשיטה זו נבחנו יותר מ-400 תבדידי *F. oxysporum* ממקורות מגוונים (מאתרים שונים ומחלקי צמח שונים). שיעור התבדידים הפתוגנים נע בין כ-50% (תבדידי שורש) לבין 100% (תבדידים מגבעולים ומתפרחות). הפחריום הפתוגני הוגדר כ-*F. oxysporum* f.sp. *basilici* (FOBA) רוב תבדידי הפחריום שהתקבלו הן מרקמות גבעול פנימיות והן מנבגים חיצוניים על-פני הגבעול היו פתוגניים (טבלה 1). פתוגן זה הוא חריג, היות שהוא משלב תכונות של מחלת פחריום נבילה (vascular wilt) מחד גיסא, ומחלת ריקבון צוואר השורש (cortical rot)

שאינה נחשבת אופיינית ל-*F. oxysporum*, מאידך גיסא, לפיכך, מוצע לכנות את המחלה
 (שבדרך כלל מוכרת כ"פחריים הנבילה") *Fusarium wilt and crown rot of sweet basil*
 תיאור סכמתי של מופעי המחלה והפתוגן מובא באיור 1.

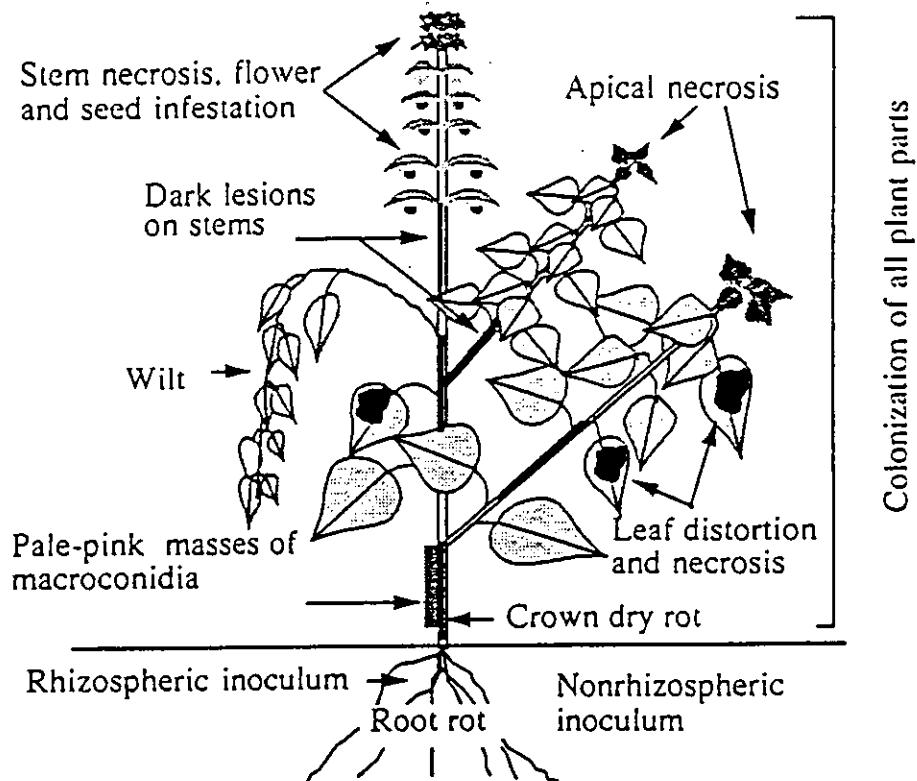


Fig. 3. Schematic diagram depicting the main symptoms of *Fusarium* disease in basil. Solid blocks represent necrosis and dark discoloration. Symptoms also include xylem discoloration.

איור 1. תיאור סכמתי של מופעי פחריים פתוגני בריחן: נקרוזות והשחרה מסומנים בשחור.

טבלה 1. פתוגניות של תבדידי *Fusarium oxysporum* שהתקבלו מצמחי ריחן חולים ומחממות.

מספר התבדידים נבדקו פתוגנים		סימני מחלה	מקור התבדידים
חלקי צמח			
10	21	ריקבון שחור	שורש
34	57	ריקבון	גבעול תחתון
52	56	החמת עצה, כתמים	גבעול
28	28	גושי נבגים	נבגים על גבעול
52	52	נבילה, נקרוזה	קדקוד
34	34	נקרוזה	פרח
30	30	אין	זרע ירוק
42	52	אין	זרע בשל
קרקע או טוף			
23	30		לא ריזוספירה
29	30		ריזוספירה
חממה			
56	255		לכידות מהאוויר
37	114		מבנה החממה ¹

¹ קירות פלסטיק, עמודי בטון, הוטים וצינורות פלסטיק עד גובה 100 ס"מ.

2. אפידמיולוגיה

הימצאות נבגים חיצוניים על פני הגבעול, כפי שתוארה לעיל, העלתה את האפשרות שפתוגן שוכן-קרקע זה עלול להיות מופץ גם בדרך האויר. גבעולים נושאי נבגים נדגמו מאתרים שונים בארץ, הנבגים הורחפו במים (Fig. 2 בנספח 1), נספרו ונבדקו לחיותיות ולפתוגניות. נמצא שמספר הנבגים לס"מ גבעול נע בין 2-44 מיליונים. שיעור הנביטה של הנבגים הללו היה 95% ויותר. בכל צמח חולה נמצאו 1-5 גבעולים נושאי נבגים, כשאורך הרקמה המנביגה 40-5 ס"מ לצמח. על פי נתונים אלה הוערך שיעור הנבגים לצמח חולה 10^7 - 10^9 . במדגם של 28 נבגים מצמחים שונים, כולם נמצאו פתוגנים לריחן (טבלה 1). בניסויים הבאים נבחנה האפשרות שנבגים אלה מהווים מקור מידבק פוטנציאלי לאילוח החממה לאורך כל עונת הגידול.

במטרה לבחון קיומו של מידבק אוירי ולאמוד את כמותו, נחשפו צלחות עם מצע ברירני לפטריות בתממות בהן נמצאו צמחי ריחן חולים, ארבע פעמים במהלך עונת הגידול (טבלה 2). מתוך 255 תבדידי *F. oxysporum* שנלכדו בצלחות, 56 היו פתוגנים לריחן והוגדרו כ-FOBA. שיעור הלכידות עלה עם התעצמות המחלה והתבגרות הצמחים, ובמקביל עלה חלקם של התבדידים הפתוגניים. מהלך המחלה והלכידות היו דומים בתממות שונות ובעונות שונות.

נבחנה האפשרות שהמידבק האוירי עלול לאלה את קירות החממה וחלקים נוספים בתוכה. צמר גפן סטרילי לח שימש לקבלת "משטחים" מחלקי החממה הנבדקים וזריעה על גבי מצע ברירני לפטריות (טבלה 3). פטריות פתוגני FOBA נמצא על-גבי קירות פלסטיק (מקירות צפוניים בשיעור גבוה יותר מאשר מקירות דרומיים שבהם נמדדה טמפרטורה יותר גבוהה), עמודי בטון (אך לא עמודי מתכת שנוטים להתחממות), חוטי פלסטיק וצינורות פלסטיק. בכל המקרים פטריות פתוגני אותה רק עד גובה 100 ס"מ.

שיעור אוכלוסיית FOBA בקרקע ובטוף המשמשים כמצעי גידול ובריזוספירת הצמחים, הוערך בשיטת המיהול על גבי מצע ברירני לפטריות. נמצאו אוכלוסיות גדולות של הפתוגן (עד 20,000 גופי ריבוי לגרם), למרות שהמצעים חוטאו לפני השתילה, מימצא המעיד על אילוח משני לאחר החיטוי.

3. ההרכב הגנטי של אוכלוסיית FOBA ופיתוח שיטת אבחון מעבדתית.

ההרכב הגנטי של אוכלוסיית הפטריות מריחן אופיין בשיטת ההתאם האל-מיני

(התאם וגטטיבי VCG= Vegetative compatibility grouping). הוכנו מוטנטים *nit*

(nitrate nonutilizing) מתאימים ופותחו תבדידי בוחן (tester) לזיהוי קרבה גנטית הן בקרב תבדידים מישראל והן בהשוואה לתבדידי רפרנס מחו"ל. תוצאות מבחני ההתאם האל-מיני הושו לתוצאות מבחני הפתוגניות. נבחנו כ-160 תבדידים מייצגים וכולם שוייכו לקבוצת VCG אחת ויחידה, אף כי תבדידים אלה התקבלו מצמחים בעלי סימפטומים מגוונים, כולל נבגים שנוצרו על-פני הגבעול. ממצא זה מלמד שכל תבדידי FOBA שנבחנו משתייכים

לשבט גנטי (clone) של *F. oxysporum* שהוא כנראה, ייחודי לריחן. כל התבדידים הפתוגניים לריחן השתייכו לקבוצת VCG זו, ואילו תבדידים לא פתוגניים לא השתייכו לקבוצה זו (טבלה 4). תבדידי FOBA לא היו פתוגניים לעגבניות ולא השתייכו לקבוצות VCG שמאפיינות את הפחירים גורם מחלת הכתר בעגבניה (*F.o. radialis-lycopersici*) שאף הוא יוצר נבגים אוויריים. בהשוואה עם תבדידי FOBA מחו"ל, נמצא שהתבדידים מישראל שייכים לאותה קבוצה גנטית עם תבדידים מאיטליה ומארה"ב, ואפשר להניח שהמחלה הגיעה לישראל ממקורות אלה באמצעות זרעים מאולחים בפתוגן. היות שנמצא מיתאם מלא בין מבחני הפתוגניות לבין מבחן ההתאם האל-מיני, יכול ההתאם האל-מיני לשמש לאבחון מעבדתי מהימן של הפתוגן ללא צורך במבחני פתוגניות. זו שיטת אבחון פשוטה יותר, שתאפשר בדיקת מידגמים גדולים של תבדידי פחירים הן לצורך מעקב אפידמיולוגי והדברתי והן לגילוי FOBA במכסות זרעים עם שיעורים נמוכים של הפתוגן על רקע אילוח בפחירים ספרופיטי.

טבלה 2. מידבק אווירי של פחריוס בחממות ריחן

חממה	מועד דגימה (ימים משתילה)	צמחים חולים (%)	מושבות לצלחת	תבדידי פחריוס	
				נבדקו	% פתוגנים
1	44	5	0.78	25	12
	67	8	0.50	15	13
	76	38	1.75	56	20
	100	62	6.60	66	30
2	28	0	0.03	2	0
	51	3	0.25	7	14
	60	21	0.66	33	15
	84	45	2.55	51	27

טבלה 3. אילוח מבנה החממה בפחריוס פתוגני.

מקור	אביגדור ¹						עין הבשור	
	אכלוס			תבדידים			אכלוס	תבדידים
	%	נבדקו	פתוגנים	%	נבדקו	פתוגנים	%	נבדקו
עמודי בטון	- ¹	-	-	-	-	-	85	20
עמודי מתכת	0	0	0	0	0	0	0	0
חוטי פלסטיק	23	14	50	28	17	47	28	17
קיר צפוני	85	15	20	47	21	38	47	21
קיר דרומי	16	4	25	8	3	33	8	3
צינורות חימום	2 ² לנ	לנ	לנ	17	20	20	17	20

¹ מינהרה עבירה ללא עמודי בטון.² לא נבדק.

טבלה 4. מיתאם בין פתוגניות והתאם אל-מיני של תבדידי פחריום מריחן.

מספר האתרים	מקור	מספר התבדידים	פתוגניות	התאם אל-מיני
2	שורש	3	+	+
		2	-	-
5	גבעול תחתון	8	+	+
		1	-	-
7	גבעול	14	+	+
		1	-	-
4	קודקוד	12	+	+
2	פרח	4	+	+
2	זרע ירוק	10	+	+
2	זרע בשל	13	+	+
7	נבגים חיצוניים	28	+	+
1	מידבק אווירי	8	+	+
		1	-	-
6	לא ידוע	19	+	+

5. העברת המחלה בזרעים

חשיבות הזרעים בהפצת מחלת הפחירוס נבדקה במחקר זה בהיקף מצומצם בלבד, עקב מגבלות התקציב. בדיקה זו דורשת בידוד הרבה תבדידים ממכסות זרעים רבות, במטרה לגלות אפילו שיעור נמוך של פחירוס פתוגני, על רקע אפשרי של אילוח זרעים בפחירוס לא פתוגני. זרעים בשלים הופקו מצמחים חולים משני אתרים (עין הבשור וחצבה) ונבחנו לנוכחות פחירוס. תבדידי פחירוס שהתקבלו מזרעים אלה אופיינו בשיטת ההתאם האל-מיני ונבחנו לפתוגניות. נמצא ששיעור גבוה מן הצמחים החולים נשא זרעים מאולחים בפתוגן FOBA. יתר על כן, חלק ניכר מזרעים אלה הצמיח צמחים חולים שנשאו דור חדש של זרעים מאולחים. אף כי ידוע שפחירוס פתוגני ככלל נוטה לדעוך בהדרגה בזרעים מאוחסנים, נמצא שכעבור שנה בטמפרטורת החדר שרדו יותר מ- 50% מהאילוח המקורי בזרעים.

ד. מסקנות והשלכותיהן

1. המופעים השונים של מחלת הפחירוס בריחן נגרמים על-ידי פתוגן יחיד.
2. המיתאם המלא שנמצא בין מבחני פתוגניות לזיהוי גנטי מהווה בסיס לשיטת איבחון מעבדתית, באמצעות התאם אל-מיני, המאפשרת מעקב אחר אוכלוסיות הפתוגן בחומר ריבוי ובמחקרי אפידמיולוגיה והדברה.
3. היות שפטריות *Fusarium oxysporum* נחשבות כפתוגנים שוכני קרקע מובהקים, יצירת מידבק אווירי והפצתו מהווה תופעה יוצאת דופן, עם השלכות אפידמיולוגיות חמורות.
4. פוטנציאל הפצת הפתוגן באמצעות זרעים מקנה לו כושר הפצה רב ביותר. הוא מהווה סיכון לאילוח קרקעות חדשות ובמיוחד מצעים מנותקים, ולאילוח משני של קרקעות לאחר חיטוי.

ה. פרסומים בכתב ובע"פ

1. Gamliel A, Katan T, Yunis H, Katan J (1996) Fusarium wilt and crown rot of sweet basil: involvement of soilborne and airborne inoculum. *Phytopathology* 86:56-62 (נספח 1).
2. Katan T, Gamliel A, Katan J (1996) Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* from sweet basil in Israel. *Plant Pathol.* 45:656-661 (2 נספח).
3. גמליאל א, קטן ת, קלייטמן פ, יוניס ה, קטן י (1996) מחלת הפחירוס בבזיל - אבחון, אפידמיולוגיה וגישות להדברה. תקצירי הרצאות, הוועידה ה- 17 של החברה הישראלית לפיטופתולוגיה, עמוד 48.

3. סיכום חדש לדוחות מחקר 1997

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר. תודה.
הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.	
איסוף צמחים חולים ובידוד פתוגנים; פיתוח וביצוע מבחני פתוגניות; לימוד ההרכב הגנטי של אוכלוסיית הפתוגן; חקר האפידמיולוגיה, דרכי ההישרדות וההפצה של הפתוגן.	
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.	
בוצע סקר של תפוצת המחלה ואפיונה. פותח מבחן פתוגניות והפתוגן הוגדר. פותח מבחן לאפיון גנטי ושיטת איבחון מעבדתית. נמצא שהפתוגן מופץ הן בקרקע והן באוויר ושורד גם בזרעים. נמצא מיתאם מלא בין פתוגניות לזיהוי גנטי.	
3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.	
המופעים השונים של המחלה נגרמים על-ידי פתוגן יחיד שאליו משתייכת כל אוכלוסיית הפתוגן בארץ. הפתוגן יוצר נבגים אוויריים - מימצא בעל השלכות על אפידמיולוגיה והדברה.	
4. הבעיות שנתרו לפתרון ואו השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן.	
פיתוח מימשק הדברה כוללני צריך לכלול (1) אמצעים להדברת המיזבק האווירי, ו- (2) מניעת הפצת הפתוגן באמצעות זרעים.	
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים - כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.	
פורסמו שני מאמרים בעיתונות בינלאומית; המימצאים נמסרו בכנסים מדעיים, וכן בכנסים מקצועיים. פרטים בגוף הדו"ח.	