

132-0932-98

קוד מחקר:

נושא: המשמעות הפיטופתולוגית של שונות גנטית באוכלוסיות פתוגניים שוכני קרקע (פוזריום, דוררת, מקרופומינה) ושיטה לזיהוי מהיר במעבדה

מוסד: מינהל המחקר החקלאי

ד"ר תלמה קטן

חוקר ראשי:

1

חוקרים שותפים:

1996-1998

תקופת מחקר:

8

מאמרים:

תקציר

מטרות המחקר: התאמת שיטת ה-VCG לזיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב תבדידי פוזריום ודוררת; איפיון תכונות והתנהגות במעבדה של כל קבוצה גנטית; איפיון התכונות הפיטופתוגניות של כל קבוצה גנטית ביחס לפונדקאים רלוונטיים; בחינת המיתאם בין התכונות הפיטופתוגניות של תבדידים מכל קבוצה גנטית לבין התנהגותם במעבדה, במטרה להמיר את מבחני הפתוגניות במבחני מעבדה למטרות זיהוי מהיר ואנליזת אוכלוסיות גדולות. עיקרי הניסויים והתוצאות: פוזריום במלון: גזע 1-2 נמצא לראשונה מחוץ לאזור בית נטופה. פוזריום בעגבניות: פוזריום הנבילה גורם לסימפטומים דמויי פוזריום ריקבון הכתר, כפי שנמצא במבחני VCG ופתוגניות. דוררת: נמצאו 4 קבוצות VCG בארץ, וכן ממצא ראשון של פתוטיפ משלך בכותנה בעמק החולה. המסקנות המדעיות: שיטת ה-VCG מאפשרת זיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב הפטריות האל-מיניות פוזריום ודוררת, והבחנה בין תבדידים פתוגניים ולא פתוגניים של פטריות אלו. הטסטרים שבידינו מכסים את כל טווח קבוצות ה-VCG בארץ כפי שהתגלה בפתוגנים שנחקרו בעבודה זו ובקודמותיה (*F.o. lycopersici*, *F.o. melonis*, *V. dahliae*, *F.o. radialis-lycopersici*). שיטת ה-VCG מאפשרת להבחין בין תת-מינים של פוזריום בעגבניה, בין קבוצות גזעים בפוזריום המלון, ובאופן חלקי בין פתוטיפים בדוררת. שיטת ה-VCG יכולה לשמש עזר רב בזיהוי ובאיפיון הפתוגנים בחומר ריבוי צמחי (כגון זרעים, שתילים ופקעות), ובמעקב אחריהם בחממה ובשדה. שכלול שיטת ה-VCG בדוררת דורש מחקר נוסף.

**המשמעות הפיטופתולוגית של שונות גנטית
באוכלוסיות פתוגנים שוכני קרקע (פחיריום, דוררת)
ושיטה לזיהוי מהיר במעבדה**

תלמה קטן ונדיה קורולב
המחלקה לפתולוגיה של צמחים - מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, בית דגן

**PHYTOPATHOLOGICAL SIGNIFICANCE OF
GENETIC DIVERSITY IN SOILBORNE PLANT
PATHOGENS**

Talma Katan and Nadia Korolev
Department of Plant Pathology, ARO – The Volcani Center,
Bet Dagan

e-mail: vpptlg@volcani.agri.gov.il

דו"ח סופי לתכנית מחקר 132-0932
לתקופה 31.12.1998-1.1.1996
מוגש לקרן המדען הראשי

צוות ההיגוי: 4 – הפחתת השימוש בחומרי הדברה (תת-ועדה: חקר התאלחות
קרקעות בפגעים שוכני קרקע – מניעה והדברה)

מבוא

פטטריות פתוגניות מהסוגים פוזריום ודוררת שוכנות בקרקעות שונות ומהוות בעיה פיטופתולוגית במספר גדולים רב. אומדן הנזק הצפוי מאוכלוסיית פתוגן בקרקע, וקבלת החלטות בדבר בחירת הגידול וממשק ההדברה, תלויים בין היתר ביכולת: (1) זיהוי הפתוגן בקרב המיקרופלורה; (2) הערכת כמותו; (3) איפיון תכונותיו הפיטופתוגניות ביחס לכל גידול (צמח).

הפטטריות מהסוג פוזריום (*Fusarium*) נפוצות מאוד בטבע וכוללות מינים וטיפוסים רבים. המין *F. oxysporum* הוא תקביץ הכולל טיפוסים שונים שרובם שוכני קרקע. בקרב אוכלוסיות פטרייה זו קיימת שונות גנטית המתבטאת ברמות אחדות: (1) הרוב הגדול של האוכלוסיות הוא ספרופיטי ואילו מיעוט קטן הוא פתוגני; (2) טיפוס הפוזריום הפתוגניים מראים ספציפיות גבוהה לפונדקאיהם, וכל טיפוס נחשב תת-מין (*forma specialis* = *f.sp.*) לדוגמה: תת המין *f.sp. lycopersici* תוקף את העגבנייה ותת המין *f.sp. melonis* תוקף את המלון; (3) כל תת-מין יכול לכלול גזעים פיסילוגיים שנבדלים זה מזה בוורולנטיות כלפי גוטיפים שונים של הפונדקאי. לא ניתן להבדיל בין הטיפוסים השונים על פי אמות-מידה מורפולוגיות ומיקרוסקופיות. היות שבמין מורכז זה לא קיים מחזור רבייה זוויגי (*sexual*), אין אפשרות למיין לתת-קבוצות שוות-ערך למין הבוטאני (*species*) באמצעות הכלאות.

הדרך המקובלת היחידה כיום להבחנה בין תבדיד פתוגני לבין תבדיד לא פתוגני ולזיהוי תת-המין היא באמצעות הדבקת צמחים (מבחן פתוגניות).

פטריית הדוררת *Verticillium dahliae* נחשבת רב-פונדקאית. רוב האוכלוסייה של פטרייה זו נחשב פתוגני לגבי גידולים אלה או אחרים ואילו התדירות של טיפוסים לא פתוגניים היא נמוכה. בעולם קיימים חילוקי דעות, הנובעים מממצאים סותרים, בדבר זרגת ההתמחות הפיסילוגית של הפטרייה שמתבטאת בוורולנטיות שונה כלפי פונדקאים שונים. לעתים, אומדן רמת המידבק בקרקע מאולחת שמתבסס על שיטות מעבדתיות מקובלות של מיהולי קרקע, לא תואם את רמת המחלה שמתפתחת בשדה, ואחד ההסברים (מבין אחדים אפשריים) לא-התאמה מעין זו טוען שבאוכלוסיית הדוררת קיימת שונות גנטית המתבטאת בפוטנציאל הוורולנטיות כלפי צמחים שונים. נושא זה מחקר אך מעט והינו שנוי במחלוקת. כמו בפוזריום, גם כאן הדרך היחידה להבחין בין תבדידים בעלי וורולנטיות שונה היא באמצעות מבחני פתוגניות על טווח פונדקאים.

כאמור, בהעדר מחזור מיני בפוזריום ובדוררת, אין אפשרות לברר קרבה גנטית בין תבדידים של כל אחת מפטריות אלו באמצעות הכלאות. בעשור האחרון פותחה לגבי פטריות אלו ואחרות שיטה בה הקרבה הגנטית נקבעת על פי יכולת התבדידים לקיים איחוי קורים הדדי ביניהם.

אף כי התופעה של איחוי קורים נפוצה בפטריות, אין היא מתרחשת באקראי אלא מבוקרת באופן גנטי ויכולה לחול רק בין תבדידים תואמים מבחינה גנטית. בפטריות שונות נמצא שהתהליך מבוקר על ידי 5-11 לוקוסים שונים שאחראים על תכונת ההתאם הוגטיבי (אל-מיני) של כל תבדיד ומכונים *vic* (Vegetative incompatibility) או *het* (Heterokaryosis). בין תבדידים שיכולים ליצור איחוי קורים הדדי ביניהם קיים התאם וגטיבי והם משויכים לאותה קבוצת התאם וגטיבי (Vegetative Compatibility Group) (= VCG), ואילו תבדידים שאינם מסוגלים לכך משויכים לקבוצות VCG שונות. לכל קבוצת VCG מאגר גנים משלה, היות שמעבר חומר גנטי מקבוצה לקבוצה חסום על ידי אי ההתאם הוגטיבי וחוסר היכולת ליצור איחוי קורים בין קבוצות.

בהתבסס על ידע מצטבר, השערת העבודה (היפותזה) שהיוותה בסיס למחקר זה הייתה שניתן להשתמש בגישת ה-VCG לזיהוי במבחני מעבדה שונות גנטית בעלת משמעות פיטופתולוגית, אשר תעיד על פוטנציאל ההתנהגות של תבדידי הפטריות בשדה.

מטרות המחקר

1. התאמת שיטת ה-VCG לזיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב תבדידי כל אחת מהפטריות.
2. איפיון תכונות והתנהגות במעבדה של כל קבוצה גנטית.
3. איפיון התכונות הפיטופתוגניות של כל קבוצה גנטית שהוגדרה ב(2) ביחס לפונדקאים רלוונטיים.
4. בחינת המיתאם בין התכונות הפיטופתוגניות של תבדידים מכל קבוצה גנטית לבין התנהגותם במעבדה, במטרה להמיר את מבחני הפתוגניות במבחני מעבדה למטרות זיהוי מהיר ואנליזת אוכלוסיות גדולות.

תוצאות

מחקר זה כלל שלוש מערכות של פתוגנים ופונדקאיהם: פוזריום במלון, פוזריום בעגבנייה, ודוררת בירקות ובגד"ש. בדו"ח זה מוקדש חלק נפרד לכל מערכת. מחקרי VCG שבוצעו במעבדתנו בשנים קודמות סיפקו את התשתית למבחני מעבדה בשיטה זו במחקר הנוכחי.

פוזריום במלון

תת המין *F.o. melonis* גורם למחלת פוזריום הנבילה במלון ומוכרים בו ארבעה גזעים פיסילוגיים (0, 1, 2, 1-2). בעבודות קודמות הגדרנו בקרב תבדידי הפתוגן בארץ שתי קבוצות VCG (מספריהן הסידוריים במערכת הבינלאומית: 0135, 0138) וזיהינו בהן את ארבעת הגזעים הפיסילוגיים. קבוצת VCG 0135 כללה תבדידים מגזע 0 ומגזע 2, וקבוצת VCG 0138 כללה תבדידים מגזע 1 ומגזע 1-2. גזע 0 וגזע 1 נמצאו בכל הארץ ואילו גזע 2 וגזע 1-2 נמצאו רק באזור בית נטופה. קבוצת VCG 0138 תוארה עד כה רק בישראל, קבוצת VCG 0135 נמצאה גם בצרפת, ואילו בארצות אחרות נמצאו 6 קבוצות VCG נוספות שהכילו כל אחת בין גזע אחד ל-4 גזעים. מהעבודה הקודמת מצויים בידינו טסטרים ספציפיים לכל קבוצת VCG.

במהלך מחקר זה נאספו כחמישים תבדידי פוזריום מצמחי מלון חולים, רובם מעמק יזרעאל ומיעוטם מהערבה ומאזור בית נטופה (גליל תחתון). במבחני פתוגניות לון הרגיש עין-דור הוגדרו כ-90% מהתבדידים כפתוגנים, והנותרים אומתו כלא פתוגנים במבחן חוזר. במבחני פתוגניות על סדרת זני בוחן (דיפרנציאלים) הוגדרו התבדידים מהערבה כגזע 1 והתבדידים מבית נטופה גזע 1-2. במבחני VCG, שכללו הכנת מוטנטים *nit* מכל תבדיד ובחינתם באמצעות הטסטרים שפותחו בעבר לקבוצות VCG 0135 ו-VCG 0138, שויכו תבדידי הערבה ובית נטופה לקבוצת VCG 0138. התבדידים הלא פתוגנים לא הגיבו עם אף אחד מהטסטרים.

תבדידי עמק יזרעאל התקבלו משדה בן כחמישים דונם מאזור שריד-מרחביה, שסבל מנגיעות חמורה עד כדי פסילתו מלהמשיך ולשמש לגידול מלונים. התבדידים משדה זה הוגדרו כגזע 1-2 ושויכו לקבוצת VCG 0138. זה כנראה הדיווח הראשון בדבר המצאות גזע 1-2 מחוץ לאזור בית נטופה, והאפיון הגנטי של הפתוגן בשדה האמור מצביע על השתייכותו לאוכלוסיית בית נטופה. עוצמת האילוח מעידה, לדעתנו, על מעבר מידבק של הפתוגן מאזור בית נטופה באמצעות כלי עיבוד חקלאיים שלא חוטאו ונשאו עמם שאריות

צמחים נגועים וקרקע מאולחת. ראוי להזכיר שאין בידינו זנים מסחריים זמינים עם עמידות לגזע 2-1.

לסיכום: בפוזריום המלון לא נמצאו טיפוסים גנטיים חדשים. הטסטרים הקיימים מסוגלים להבחין בין תבדידים פתוגניים לבין לא פתוגניים במבחני VCG במעבדה, וכן לשמש לזיהוי הטיפוסים השונים ולמעקב אחר תפוצתם בשדות. יש לנקוט אמצעים למניעת המשך הפצתו בבלי-דעת של גזע 2-1.

פוזריום בעגבניות

העגבנייה נתקפת ברוב אזורי הגידול בעולם על ידי שני תת-מינים של פוזריום: *F.o. lycopersici* (להלן FOL) הגורם למחלת הנבילה, *F.o. radialis-lycopersici-1* (להלן FORL) הגורם למחלת ריקבון הכתר. שתי המחלות נבדלות זו מזו בכמה היבטים חשובים הנוגעים לתנאי התפתחותן, לסימפטומים ולרגישות זנים. לעומת זאת, אין לפטריות עצמן מאפיינים שיבדילו אותן זו מזו או מפוזריום ספרופיטי שבטביבת צמח העגבנייה.

FOL – בפוזריום הנבילה מוכרים שלושה גזעים פיסילוגיים: גזע 1 וגזע 2 נפוצים בכל העולם וגזע 3 מוגבל בתפוצה ואינו מוכר בארץ. במחקרים על השונות הגנטית בפתוגן זה, כולל תבדידים אחדים מישראל, הוגדרו עד כה ארבע קבוצות VCG. הקבוצה הראשית VCG 0030 כללה תבדידים מארצות רבות וגם מישראל, קבוצת VCG 0031 כללה תבדידים מיפן, מארה"ב ומאירופה, קבוצות VCG 0032 ו-VCG 0033 כללו תבדידים מארה"ב, וקבוצת VCG 0034 כללה תבדידים מקוריאה. הופעת הגזעים השונים ותדירותם בקבוצות ה-VCG השתנתה מאזור גיאוגרפי אחד למשנהו.

בבדיקות שביצענו בעבר אושר הסיווג של תבדידים ישראליים מגזע 1 ומגזע 2 לקבוצת VCG 0030 ופותחו טסטרים ספציפיים. כיום מגדלים בארץ זני עגבנייה עמידים לגזע 1 שרובם עמידים גם לגזע 2, אולם בשנים האחרונות התרחבו שטחי הגידול של זני צירי שאינם עמידים לפוזריום הנבילה.

FORL – בפתוגן ריקבון הכתר לא מוכרים גזעים פיסילוגיים. ידועים גנוטיפים עמידים של עגבנייה ומתנהלות תכניות טיפוח, אך זנים עמידים נכנסים לגידול בקצב איטי. בעבודתנו בעבר זיהינו בקרב אוכלוסיות הפטרייה בארץ 5 קבוצות VCG, שלוש ראשיות (מספריהן VCG 0092, 0091, 0090) ושתיים משניות (מספריהן VCG 0093, 0096), ופותחו טסטרים ספציפיים.

מחלת ריקבון הכתר התפשטה בכל הארץ ונמצאה הן בעגבניות רגילות, בשדה ובחממה, והן בעגבניות צ'רי.

מאז שנת 1992 נתקלנו בתופעה בלתי מוכרת בעגבניות צ'רי בחממה: פוזריום שבווד מצמחים עם סימנים דמויי ריקבון הכתר (במיוחד - נבגים חיצוניים על פני גבעול תחתון) ונחשב כ-FORL, הדביק זן עגבנייה רגיש אך לא זן עמיד לגזע 1 של FOL ולפיכך נחשב כ-FOL גזע 1 (תבדיד FORL מדביקים בדרך כלל את כל זני המבחן המקובלים). מאז נצפתה התופעה מדי שנה בתדירות משתנה במספר חממות באזורים שונים, ועוררה כמה שאלות: האם הצמחים נגועים בו-זמנית על ידי שני הפתוגנים? האם מדובר בגזע אן בטיפוס חדש של FOL או FORL? האם התופעה קשורה בגנוטיפים מיוחדים של עגבניות צ'רי ו/או בשינויים בתנאי הגידול של זנים אלה? לנבגים הנוצרים על פני הגבעול משמעות אפידמיולוגית חשובה, בגלל הסיכון להפצת המחלה באוויר ולאילוח מחדש של קרקעות מחוטאות. מטרת המחקר הייתה לברר באופן מדויק את זהותו ותכונותיו של הפוזריום הגורם למחלה זו.

המחקר הקיף חממות מתשעה אתרים בצפון הארץ, במרכזה ובדרומה. תבדיד פוזריום התקבלו מרקמות גבעול, ממאקרוקונידיה על פני הגבעול ומריוספירה של צמחים חולים. כמו כן בודדו מושבות פוזריום מחוטי פלסטיק, מקירות הפלסטיק ומלכידות אוויריות בחממות נגועות. בסך הכל נבדקו כ-330 תבדיד פוזריום מ-85 צמחים חולים וכ-120 תבדידים ממקורות אחרים בחממות. הבדיקות כללו הכנת מוטנטים *nit* מכל תבדיד ובחינתם נגד הטסטרים הקיימים של FOL ושל FORL, וכן מבחני פתוגניות לעגבניות שבוצעו במדגם מייצג.

במבחני VCG, כל 38 התבדידים שמקורם בגבעולים הגיבו חיובית עם הטסטרים של פוזריום הנבילה ולא עם אלה של ריקבון הכתר, ולפיכך זוהו כ-FOL; מתוך מדגם של 15 תבדידים מקבוצה זו, 14 הוגדרו כגזע 1 ואחד הוגדר כגזע 2. בקרב תבדידי מאקרוקונידיה שהתקבלו מ-47 צמחים, התבדידים מ-46 צמחים זוהו כ-FOL במבחני VCG, ובמדגם של 45 תבדידים מקבוצה זו הוגדרו כולם כגזע 1. תבדידי מאקרוקונידיה מצמח אחד (מתוך 47) זוכו כשייכים ל-VCG 0090 II של FORL, אך בשום מקרה לא נמצאו שני הפתוגנים באותו הצמח. באופן דומה הוגדרו כל התבדידים מחוטים ומקירות פלסטיק, ורוב התבדידים מריוספירה (96%) ומלכידות אוויריות (86%), כגזע 1 של FOL, בעוד שתבדידים לא פתוגנים מריוספירה ומלכידות לא הגיבו עם אף אחד מהטסטרים במבחני VCG.

תוצאות אלו מלמדות שהמחלה שתוארה לעיל בעגבניות צרי נגרמה על ידי פתוגן פוזריום הנבילה FOL (בעיקר גזע 1), ולא על ידי פוזריום ריקבון הכתר (FORL) כפי שנחשד תחילה. לא נמצאה ראיה לנוכחות בו-זמנית של שני הפתוגנים. התוצאות מצביעות על אפשרות לחפיפה בסימפטומים של המחלות הנגרמות על ידי שני תת-מינים אלה של פוזריום בעגבניות. השימוש בטסטרים שפיתחנו ובמבחן ה-VCG נמצא אמין ביותר להבחנה מעבדתית בין שני תת-המינים הללו, ובינם לבין פוזריום לא פתוגני. לא נמצאו טיפוסים גנטיים חדשים בין התבדילים הפתוגניים לעגבניות.

לסיכום: בדומה לפוזריום ריקבון הכתר, יכול גם פוזריום הנבילה, בתנאים מסוימים, לייצר נבגים (מאקרוקונידיה) על פני הגבעול התחתון של צמח העגבנייה. נבגים אלה מהווים מידבק עם פוטנציאל להפצה אווירית, לאילוח חלל החממה ולאילוח מחדש של מצעים מחוטאים. הטסטרים המצויים בידינו מסוגלים להבחין בין תת-מיני הפוזריום הפתוגניים לעגבנייה, ובינם לבין לא פתוגנים, במבחן VCG במעבדה. להבחנה זו חשיבות בניסויי שדה הנערכים במהלך טיפוח זני עגבניות עמידים, וכן בייצור זרעי עגבניות פטורים מפוזריום. כמו כן יכולים הטסטרים ושיטת ה-VCG לשמש למעקב אחר הפתוגנים הללו בשדה.

דוררת

פטריית הדוררת *Verticillium dhaliae* נחשבת רב-פונדקאית. בעולם קיימים חילוקי דעות, הנובעים מממצאים סותרים, בדבר דרגת ההתמחות הפיסיולוגית של הפטרייה שמתבטאת בוירולנטיות שונה כלפי פונדקאים שונים. מחקרים השוואתיים התמקדו בעיקר בהבדלים שבין הפונדקאים השונים – ברמת המשפחה, הסוג, המין הבוטני והזן – והשפעתם על יחסי הצמח והפטרייה ועל התפתחות המחלה. לעומת זאת, מחקרים על אודות השונות בקרב אוכלוסיית הפתוגן ומשמעותה הביולוגית והפיטופתולוגית – מעטים ומצומצמים יחסית. עם זאת, כתוצאה מעבודות שונות, מקובלת הדעה שהחציל הוא פונדקאי בעל רגישות כללית לתבדילים ממקורות שונים, ולעומתו לפלפל רגישות סלקטיבית מאוד. בקליפורניה זוהה בשנות הששים גזע מיוחד של דוררת הגורם נזקים כבדים לכותנה, גם בזנים שנחשבו סבילים לכאורה. גזע זה גורם לנשירת עלים קשה ומכונה, לפיכך פתוטיפ משלך (D = defoliating) והוא מהווה איום מתמיד על גידול הכותנה. בשנים האחרונות נמצא גזע זה גם בספרד, באסיה התיכונה ובסין. מחקר

מצמצם הראה שאלומות היתר כלפי כותנה לא בהכרח באה לידי ביטוי דומה על פונדקאים אחרים כגון עגבנייה.

מחקרי VCG הראשונים בדורות נערכו בארה"ב בסוף שנות השבעים, ונמשכים מאז שם ובארצות אחרות. בעבודות שנערכו בארה"ב בין השנים 1983-1992 וכללו כמה מאות תבדידים, בעיקר מתפוא"ד אך גם מגידולים אחרים ומקרקע, נחלקו כל התבדידים לארבע קבוצות VCG, שסומנו VCG 1 - VCG 4. מחקרים מאוחרים יותר אימתו חלוקה זו, וכמו כן הביאו לחלוקתן של שלוש מן הקבוצות (VCG 1, VCG 2, VCG 4) כל אחת לשתי תת-קבוצות (B, A) כך שבסך הכל זוהו ב-*V. dahliae* בשיטה זו שבע קבוצות גנטיות. כל תבדידי פתוטיפ D-כותנה שנבדקו שויכו בעבודות אלו לקבוצת VCG 1, ורוב התבדידים מתפוח אדמה השתייכו לקבוצת VCG 4. החלוקה לקבוצות ותת-קבוצות VCG שצוינה לעיל מקובלת על העוסקים בתחום זה בכל העולם, אשר משתמשים בתבדידי בוחן של קבוצות אלו לסיווג אוכלוסיות דוררת מקומיות.

מחלת הדוררת בארץ פוגעת בעיקר בתפוא"ד ובאגוא"ד בנגב המערבי ובכותנה מטיפוס אקאלה בכל הארץ. באזורים אחרים מופיעה המחלה באורח פחות סדיר, בתלות בסוג הגידול ובתולדות השדה. המחלה עלולה לפגוע גם בעצים שניטעו בשדות מאולחים (אבוקדו, זית, שקד) וכן בצמחי נוי. בתחילת המחקר לא ידענו אם גזע defoliating (D) של כותנה נמצא בארץ.

המחקר כלל כ-600 תבדידי דוררת שהתקבלו מצמחים חולים, מעשבי בר ומקרקע, מ-45 אתרים בארץ. מבין 15 הפונדקאים ששימשו כמקור לפתוגן, העיקריים היו כותנה (נגב מערבי, אזור חדרה, עמק יזרעאל, עמק החולה) ותפוח אדמה (דרום הארץ בלבד; כולל בידוד מפקעות; חלק מהתבדידים נתרם על ידי ד"ר לאה צרור - מאמ"ץ נגב). כמו כן התקבלו תבדידים מאגוזי אדמה, עגבנייה, חציל, חרצית וגידולים נוספים.

בשלב מוקדם של מבחני VCG, שכלל הכנת מוטנטים *nit* מכל תבדיד, התברר לנו שהשיטה המקובלת בעולם לקבלת מוטנטים אלה אינה משביעה רצון: למרות העבודה הרבה שהושקעה, יבול המוטנטים היה נמוך ובלתי מספק. במטרה להתגבר על הבעיה פותח מצא כלורטן משופר (WAC, מבוסס על אגר מים) אשר איפשר קבלת מוטנטים *nit* מכל התבדידים בכמות ואיכות מתאימות למבחני VCG.

מוטנטים אלה שימשו למיון כל התבדידים לקבוצות VCG על פי תבדידי הבוחן הבינלאומיים. כ-70% מהתבדידים שויכו לקבוצת VCG 4B, כרבע לקבוצת VCG 2B, וכ-5% לקבוצת VCG 2A. כל קבוצת VCG כללה תבדידים מפונדקאים שונים, כך שלא נמצא

מיתאם בין קבוצת VCG לבין הפומקאים שמהם התקבלו התבדדים. לעומת זאת, הסתמנה חלוקה גיאוגרפית-אזורית של קבוצות ה-VCG: בדרך כלל תבדדי קבוצת VCG 48 היו מזרזים הארץ ואילו תבדדי קבוצת VCG 2B היו מצפונה (עמק יזרעאל); תבדדי קבוצת VCG 2A נמצאו בשיעור נמוך במערב עם שתי הקבוצות הראשיות. בין תבדדי כל קבוצת VCG נמצא דמיון מורפולוגי שהבדיל אותם מתבדדי קבוצות VCG אחרות. על מצע CDA תבדדי קבוצת VCG 2B פיתחו מושבות מעוטות תפטיר שצבען אפור כהה עד שחור, ואילו תבדדי קבוצת VCG 48 פיתחו מושבות עם תפטיר לבן עד אפור בהיר שנעשו בהדרגה יותר כהות. בקבוצת VCG 2B נראו במיקרוסקופ מיקרו-קשיונות מרובים, לא רגולריים בצורתם ומורכבים מתאים גדולים; המיקרו-קשיונות בקבוצת VCG 48 היו פזורים, עגולים ומורכבים מתאים קטנים. הבדל בין שתי הקבוצות ניכר גם בצורת הקונידיופורים ובצפיפותם. תבדדי קבוצת VCG 2A ייצגו מורפולוגיית ביניים בין שתי הקבוצות הראשיות. צורת ההטרקוריונים בקרב כל אחת מקבוצות ה-VCG תאמה את מורפולוגיית התבדדים.

תגובת התבדדים לטמפרטורות שונות נבדקה על ידי גידולם בטווח 15-35 מ"צ במשך 3 שבועות והשוואת קצב הצמיחה והמלניזציה. תבדדי קבוצת VCG 2B צמחו היטב בטווח 18-24 מ"צ עם טמפרטורת אופטימום בסביבות 21 מ"צ. תבדדי קבוצת VCG 2A ו-VCG 48 צמחו היטב בטווח 18-27 מ"צ עם טמפרטורת אופטימום בסביבות 24-27 מ"צ. טמפרטורה של 27 מ"צ גרמה לדיכוי מלא של המלניזציה בקבוצת VCG 48 ולעיכובה בקבוצת VCG 2A, בעוד שהמלניזציה של תבדדי קבוצת VCG 2B לא הייתה רגישה לטמפרטורה זו.

הפתוגניות של כ-60 תבדדים מייצגים מקבוצות ה-VCG השונות השוותה לגבי שני גידולים, כותנה אקאלה SJ2 וחציל "מלכה שחורה" (לא נכללו במחקר זה תפוחי אדמה שנחקרים בתכנית אחרת 1010-132), בשיטת טבילת השורשים. על פי הפתוגניות לכותנה חולקו התבדדים לשני פתוטיפים: פתוטיפ לא-משלך (ND, non-defoliating) שמשרה סימני מחלה חלשים עד בינוניים, ופתוטיפ דמוי-משלך (DL, defoliating-like) שמשרה סימני מחלה חמורים. בתוך כל פתוטיפ נעשתה חלוקת משנה על פי הפתוגניות לחציל: פתוטיפים ND1 ו-DL1 משרים סימנים בינוניים עד קשים, פתוטיפ ND2 משרה סימנים חלשים, ופתוטיפים DL2 ו-ND3 אלימים במיוחד. תבדדי קבוצת VCG 2A, רוב תבדדי קבוצת VCG 48 ומקצת תבדדי קבוצת VCG 2B (לא מכותנה) נכללו בפתוטיפ

ND1. מקצת תבדידי קבוצות VCG 2B ו-VCG 4B נכללו בפתוטיפ DL2. יתר הפתוטיפים כללו תבדידי קבוצת VCG 2B (לא מכותנה).

בסוף עונת 1997 אותר בעמק החולה מוקד חדש של נגיעות קשה של דוררת בכותנה. משלושה שדות נגועים התקבלו בשנים 1997-1998 כ-30 תבדידים: בנוסף לתבדידי קבוצת VCG 2B שנמצאו בשלושת השדות, נמצאו בשדה אחד תבדידי קבוצת VCG 1 הידועים כפתוטיפ D המסוכן (משלך). הפתוגניות של תבדידי קבוצת VCG 1 כלפי שלושה גידולים (כותנה, חציל, במיה) נבחנה בהשוואה לתבדידים מקבוצות VCG אחרות. במיה הייתה רגישה ביותר וכל הצמחים מתו תוך 21 יום ממועד ההדבקה, ללא תלות בפתוטיפ. תבדידי קבוצת VCG 1 גרמו נינוס, נשירת עלים ותמותה בצמחי כותנה ובכך אושר איפיונים כפתוטיפ D, בעוד שהמחלה בחציל הייתה חלשה עד בינונית. זהו הדיווח הראשון על המצאות פתוטיפ D-כותנה בישראל; פוטנציאל הנזק שלו ושל הפתוטיפים האחרים מהווה נושא מחקר של תכנית חדשה.

משדות תפוחי אדמה וכותנה נגועים בדוררת התקבלו, בנוסף ל-*V. Dahliae*, גם מיני ורטיציליום לא פתוגנים (*V. nigrescens*, *V. tricorpus*). שיטת ה-VCG מאפשרת להבחין בינם לבין *V. dahliae*.

לסיכום: באוכלוסיית הדוררת בארץ זוהו ארבע תת-קבוצות VCG (מתוך שבע מוכרות בעולם) שנבדלות זו מזו בתדירותן ובתפוצתן האזורית. הבדלים פנוטיפיים בין קבוצות ה-VCG תומכים בהנחה שהן מייצגות ישויות גנטיות נפרדות. שיטת ה-VCG מאפשרת להבחין בבדיקה מעבדתית בין קבוצות אלו, ובינן לבין מיני ורטיציליום לא פתוגנים. כמו כן מאפשרת השיטה לזהות במעבדה את פתוטיפ D-כותנה. התוצאות מצביעות בבירור על קיום פתוטיפים שונים של דוררת. למעט VCG 1/פתוטיפ D-כותנה, הקשר VCG/פתוטיפ אינו חד-משמעי. כקבוצה, תבדידי VCG 2B אלימים כלפי כותנה יותר מתבדידי קבוצות VCG 2A ו-VCG 4B, אך נמצאו חריגים בשני הכיוונים. התמונה חלקית בלבד גם לגבי פתוגניות קבוצות ה-VCG לחציל. דרוש מחקר נוסף לבירור הקשר VCG/פתוטיפ הן בכותנה ובחציל והן בגידולים נוספים.

סקירת

1. שיטת ה-VCG מאפשרת זיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב הפטריות האל-מיניות פוזריום ודוררת, והבחנה בין תבדידים פתוגנים ולא פתוגנים של פטריות אלו.

2. הטסטרים שבידינו מכסים את כל טווח קבוצות ה-VCG בארץ כפי שהתגלה בפתוגנים שנחקרו בעבודה זו ובקודמותיה (*F.o. lycopersici*, *F.o. melonis*, *V. dahliae*, *F.o. radialis-lycopersici*).
3. שיטת ה-VCG מאפשרת להבחין בין תת-מינים של פוזריום בעגבנייה, בין קבוצות גזעים בפוזריום המלון, ובאופן חלקי בין פתוטיפים בדוררת.
4. שיטת ה-VCG יכולה לשמש עוזר רב בזהוי ובאיפיון הפתוגנים בחומר ריבוי צמחי (כגון זרעים, שתילים ופקעות), ובמעקב אחריהם בחממה ובשדה.
5. שכלול שיטת ה-VCG בדוררת דורש מחקר נוסף.

פרסומים:

1. קטן ת, שלזין א, קלייטמן פ, קטן י (1996). יצירת נבגים של פתוגן פוזריום הנבילה על גבעולי עגבניות צירי והפצתם בחממה. (תקציר) ועידה 17, החברה הישראלית לפיטופתולוגיה. עמוד 49.
2. קורולב נ, קטן י, קטן ת (1997). שונות, תפוצה ותכונות של קבוצות התאם וגטטיבי בפטרייה *Verticillium dahliae* בישראל. (תקציר) ועידה 18, החברה הישראלית לפיטופתולוגיה. עמוד 12.
3. קורולב נ, חימנו-דיאז ר, קטן י, קטן ת (1998). התאם וגטטיבי ופתוגניות של תבדיד *Verticillium dahliae* מכותנה בישראל ובספרד. (תקציר) ועידה 19, החברה הישראלית לפיטופתולוגיה. עמוד 42.
4. קורולב נ, קטן י, קטן ת (1999). טיפוס דוררת אלים במיוחד לכותנה התגלה בישראל. (תקציר) ועידה 20, החברה הישראלית לפיטופתולוגיה. עמוד 47.
5. Korolev N, Katan T (1997). Improved medium for selecting nitrate-nonutilizing (*nit*) mutants of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 87: 1067-1070.
6. Korolev N, Katan J, Katan T (1997). Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* and their regional distribution in Israel. (abstract) Seventh Int. *Verticillium* Symp., p.21.
7. Katan T, Shlevin E, Katan J (1997). Sporulation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology* 87: 712-719.
8. Korolev N, Katan T (1999). Vegetative compatibility grouping in *Verticillium nigrescens* and *V. tricornutum*. *Mycol. Res.* 103: 65-76.

3. סיכום עם שאלות מנחות לדוחות מחקר 1998

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 הפניה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתכנית העבודה:

התאמת שיטת ה-VCG לזיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב תבדידי פוזריום ודוררת; איפיון תכונות והתנהגות במעבדה של כל קבוצה גנטית; איפיון התכונות הפיטופתוגניות של כל קבוצה גנטית ביחס לפומדקאים רלוונטיים; בחינת המיתאם בין התכונות הפיטופתוגניות של תבדידים מכל קבוצה גנטית לבין התנהגותם במעבדה, במטרה להמיר את מבחני הפתוגניות במבחני מעבדה למטרות זיהוי מהיר ואנליזת אוכלוסיות גדולות.

2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופת אליה מתייחס הדו"ח:

פוזריום במלון: גזע 1-2 נמצא לראשונה מחוץ לאזור בית נטופה.
פוזריום בעגבניות: פוזריום הנבילה גורם לסימפטומים דמויי פוזריום ריקבון הכתר, כפי שנמצא במבחני VCG ופתוגניות.
דוררת: נמצאו 4 קבוצות VCG בארץ, וכן ממצא ראשון של פתוטיפ משלך בכותנה בעמק החולה.

3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו:

שיטת ה-VCG מאפשרת זיהוי מעבדתי של קבוצות גנטיות בקרב הפטריות האל-מיניות פוזריום ודוררת, והבחנה בין תבדידים פתוגנים ולא פתוגנים של פטריות אלו.
הטסטרים שבידינו מכסים את כל טווח קבוצות ה-VCG בארץ כפי שהתגלה בפתוגנים שנחקרו בעבודה זו ובקודמותיה (*F.o. lycopersici*, *F.o. melonis*), שיטת ה-VCG מאפשרת להבחין בין תת-מינים של פוזריום בעגבניה, בין קבוצות גזעים בפוזריום המלון, ובאופן חלקי בין פתוטיפים בדוררת. שיטת ה-VCG יכולה לשמש עזר רב בזיהוי ובאיפיון הפתוגנים בחומר ריבוי צמחי (כגון זרעים, שתילים ופקעות), ובמעקב אחריהם בחממה ובשדה. שכלול שיטת ה-VCG בדוררת דורש מחקר נוסף.

4. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים): התייחסות המשך המחקר לגביהן:

פוטנציאל הנזק של פתוטיפ D-כותנה ושל פתוטיפים אחרים של דוררת מהווים נושא מחקר של תכנית חדשה.
דרוש מחקר נוסף לבירור הקשר VCG/פתוטיפ דוררת בירקות ובגד"ש.

5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח – יש לפרט: פרסומים –

כמקובל בביליוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון – יש לפרט מקום ותאריך.

רשימת מאמרים ותקצירים בדו"ח.