

הדומה והשונה בין מחלות ההדרים גרינינג ועלעלת

משה בר-יוסף / גימלאוטק, mbjoseph@gmail.com

מאמר זה מוקדש לזכרו של ד"ר אהרון זלצר (1943-2010), חוקר בכיר במחלקה לגנטיקה של צמחים במכון וולקני, שהיה הראשון שבחן בארץ את נוכחותם של גורמים דמויי מיקופלסמה בצמחים חולי צהבון.



בטרם נעסוק בדומה ובשונה בין מחלות העלעלת והגרינינג, נחזור ונזכיר כמה נקודות שנהוג ללמדן בפרקי המבוא לקורס מחלות צמחים.

ראשית, צמחים עלולים להיזבק בגורמי מחלות שונים, כולל פטריות, חיידקים ונגיפים. לפני כ-50 שנה התברר כי חלק מהמחלות שלא ניתן היה לגדל את גורמיהם על קרקע מזון אך כן להעבירן מצמחים חולים לבריאים באמצעות הרכבות ונחשבו על כן כמחלות וירוס, נגרמות על ידי קבוצות של גורמי מחלה חדשים ושונים מכל מה שהוכר עד אז. וכך, במרוצת 1967 השתנה מדע הפיטופתולוגיה, שבתרגום לעברית פירושו מדע מחלות הצמחים, ונוספו לו שתי קבוצות של גורמי מחלה שלא היו מוכרים קודם. הקבוצה הראשונה כללה מחלות שגורמיהן הווירואידים לא רק שהיו חדשים לצמחים, הם גם לא היו מוכרים כגורמי מחלות באף קבוצת פונדקאים אחרת (ובסוגריים, עד היום לא מוכרים פונדקאים אחרים מלבד צמחים הנפגעים בוורואידים). הקבוצה השנייה כללה מיקרואורגניזמים שהיו מוכרים כגורמים למחלות בעלי חיים, אך עד אותה שנה לא דווח על מעורבותם במחלות צמחים. במאמר זה לא נעסוק בוורואידים, אף כי הדורים נושאים לפחות שישה מינים שונים שלהם. נתרכז בקבוצה גדולה של גורמי מחלה

שימה זו עוסקת בשתי מחלות הדורים: עלעלת, מחלה ותיקה בארץ המוכרת גם בשמה הלועזי Stubbness, וגרינינג, Greening, או הואנגלובינג, Huanglongbing, או אולי ירקת, שם מטעה משהו, כי מחלה זו גורמת בעיקר לצהבון העצים הפגועים (בסינית היא מכונה 'מחלת הדרקון הצהוב'). הירוק בשם המחלה מקורו בעובדה כי פירות של עצים נגועים בגרינינג אינם שוברים צבע כראוי ואזור הפיטם נשאר לעתים ירוק, בעוד שפירות העצים הבריאים בשלב זה יזהיבו בכל היקפם. חשוב להדגיש כי מחלת הגרינינג טרם חדרה לארצנו, אך אנו עוסקים בה שוב ושוב נוכח הנזקים הכבדים לתעשיות ההדר המסורתיות במרוצת העשור האחרון בארצות רבות בעולם. על פרדסני הארץ להכירה היטב ולעשות הכל על מנת למנוע את חדירתה לכאן

בתמונה למעלה: מופעי הגרינינג בעץ, בפרי ובעלווה

הגנת הצומח

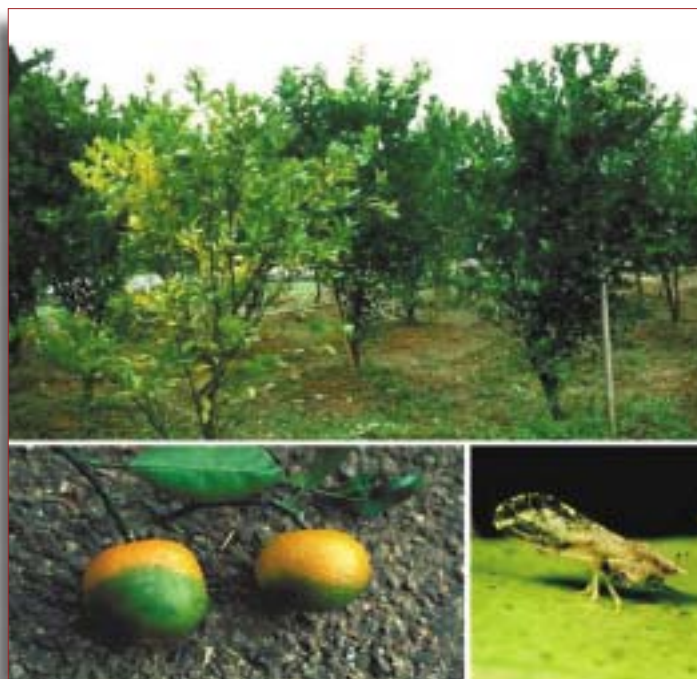
בתנאי מעבדה. היום קיימים כ-20 תת סוגים של פיטופלסמות הפוגעות במאות מינים שונים של צמחים.

הקבוצה הנוספת נקראת ספירופלסמות (*Spiroplasma*), הכוללת יצורים חד תאיים חסרי דופן בעלי מבנה סלילי, המוקנה להם על ידי חלבון בשם ספירלין, המעורב בקביעת צורתם המיוחדת. קבוצה שלישית ושונה של מיקרואורגניזמים (שויכה בשלב ראשון לקבוצת MLO) כוללת חיידקים בעלי דופן שבמהלך האבולוציה עברו רדוקציה בגודל ובמרכיבים גנטיים חשובים, תוך התאמה לאורח חיים של טפילות מוחלטת. חיידקים אלה, בניגוד לחיידקים רבים אחרים המסוגלים לחיות מחוץ לתאי המאכסן, מוגבלים באתרי קיומם לתוככי צינורות השיפה של צמחים ובתוך גופם של חרקים מסוימים, המעבירים אותם מצמחים נגועים לבריאים. בנוסף, בניגוד לחיידקים רבים אחרים, טרם נמצאה דרך לגדל את החיידקים שוכני השיפה בתנאי מבחנה על מצע מזון מלאכותי.

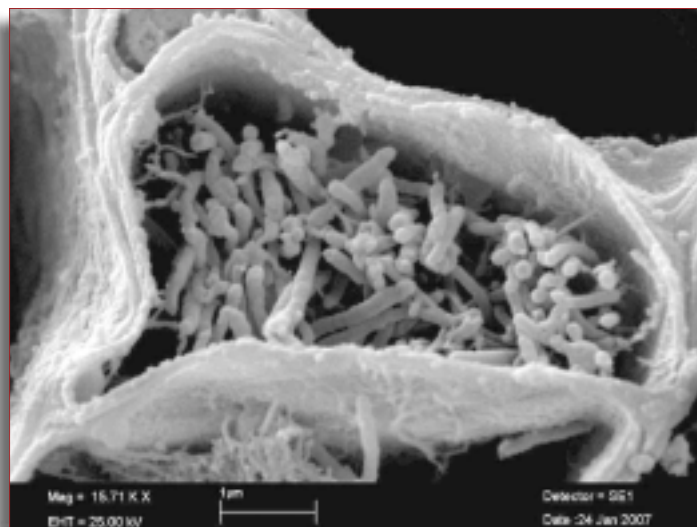
הבדל גדול נוסף בין מחלות וירליות למחלות הנגרמות על ידי פטריות מתבטא בכך, שבחלק מהאחרונות יש לגורמי המחלה צורה אופיינית שקל לזהותה גם ללא מיקרוסקופ. מדובר בפטריות הגורמות למחלת החילדון בשורה של דגניים, כמו גם לפחמון ורקבונות פרי בהדרים הנגרמים על פניציליום ירוק או כחול. במחלות אחרות, דוגמת הדיפלודיה והאלטרנריה, קל לזהות את נגיניהן הכהים ללא בדיקה מדקדקת, אלא לפי צבע גורם המחלה. בניגוד לפטריות הגורמות למחלות, שחלק משמעותי מחייהן נמצאות מחוץ לתאי הפונדקאים, הנגיפים כולם שוכנים אך ורק בתוך התאים עצמם, הם חסרי צבע ועל כן זיהויים אפשרי רק לאחר הפעלת שורה של טכניקות מורכבות.

אחת השיטות המקובלות לזיהוי נגיפים ויצורים מיקרוסקופיים אחרים, שלא ניתן לגדלם על קרקע מזון מלאכותי בתנאי מעבדה, היא באמצעות המיקרוסקופ האלקטרוני, בהגדלות של עשרות אלפים. ניתן להוסיף על כך שיטות המבוססות על נוגדנים סגוליים המתקשרים למעטפות החלבוניות או למעטפות הממברנליות של הנגיפים. בשנים האחרונות נוספו לשיטות אלו שיטות מולקולריות אחרות, המזהות נגיפים וגורמי מחלות אחרים בהתבסס על הסגולות הייחודיות של המרכיבים התורשתיים של אלה. בנושא זה נעסוק באחת הכתבות הבאות.

מבחינת אפשרויות הזיהוי, החיידקים נמצאים במחצית הדרך. ראשית, הם גדולים פי מאות מנגיפים, ואף כי בדרך כלל הם חסרי צבע יש חיידקים דוגמת סרטיה (*Serratia*) וחיידקים נוספים בעלי צבע. הם דומים לפטריות רבות, כי בניגוד לנגיפים, אותם לא ניתן לגדל על קרקעות מזון, חיידקים ופטריות ניתן לגדל על קרקעות מזון מתאימות ולקבל תרביות חיידקים מבודדות בתנאי מעבדה. אולם, בעוד שפטריות שגדלו בצלחות ניתן לעתים קרובות לזהות במיקרוסקופ אור, ההבדלים הגדולים בין מאות ואלפי סוגים ומינים של חיידקים אינה מספיקה. יש לערוך בדיקות מפורטות יותר של התנהגותם במצעי מזון שונים, כמו גם בדיקות המבוססות על פרופילים של מרכיבי החיידקים, כדי לאפשר אבחון בין מינים שונים בעלי צורה מורפולוגית דומה.



תמונה 1: למעלה - עץ צהוב נגוע בגרינינג, למטה מימין - פטילת ההדר, משמאל - פירות הדר נגועים, בהם אזור הפיטם נשאר ירוק בעוד שהקליפה באזור העוקץ שברה צבע והפכה זהובה



תמונה 2: תא שיפה גדוש חיידקי *Liberibacter asiaticus*. התמונה צולמה על ידי פרופ' אליזבט קיטיגמה מאוניברסיטת פירסיקה, סאן פאולו, ברזיל

שתחילה כונו בשם גורמים דמויי מיקופלסמה (*Mycoplasma like organism - MLO*). לימים פוצלה קבוצה זו לכמה תת-קבוצות. הראשונה בהן נקראת בשם פיטופלסמות (*Phytoplasma*), והיא כוללת גורמי מחלה דמויי חיידקים חסרי דופן, בעלי צורה פלאזמופית (רבת פנים), שעדיין לא ניתן לגדלם על קרקע מזון מלאכותית

ברשימה זו נעסוק כאמור, בעיקר בדמיון ובשוני שבין מחלת העלעלת, הוותיקה בארץ ומוכרת מזה כ-80 שנה, לבין מחלת הגרינינג, שכאמור טרם חדרה לאגן הים התיכון אך מתפשטת בקצב נמרץ ופוגעת מאז 2004 בפרדסי ברזיל, פלורידה, קובה וארצות מרכז אמריקה, כולל מקסיקו.

היסטוריה

העלעלת מוכרת באגן המזרחי של הים התיכון וכן במרוקו וקליפורניה, שם כונתה בשם מחלת העיקשת (*Stubborn*). בארץ דווח עליה מסוף שנות ה-20' של המאה הקודמת והיא כונתה אז 'המחלה החדשה'. מחלה זו נתגלתה לראשונה על ידי פרופ' ישראל רייכרט ז"ל, שהיה המקים והמנהל הראשון של המחלקה למחלות צמחים בתחנה לחקר החקלאות ברחובות, זו שממנה צמחו לימים מינהל המחקר החקלאי ומכון וולקני. פרופ' רייכרט הניח כי העלעלת, אותה תיאר כמחלה קסרומורפית (מחלת יובש), שהתגלתה בקרב הנטיעות הנרחבות של עצי ההדר באותה עת ונגרמה כתוצאה מתנאי החמסין הקשים ששררו בארץ בסוף שנות ה-20'. לימים התברר כי גם במקרה זה, כבמקרים רבים אחרים הקשורים למדע ולמדענים, כולל הטובים שבהם, התיאור הטוב של הסימפטומים נשאר בבחינת עדות קיימת שלא איבדה ממקורותיה במרוצת הזמן, ואילו ההסברים שניתנים לגורמים להופעת המחלות השתנו במובהק בעקבות מידע חדש שנצבר מאז.

היום אנו יודעים, כי אומנם המחלה עלולה לפגוע יותר בעקבות שנות חמסינים, אך היובש והחמסין אינם פוגעים ישירות בשתילי ההדר. ציקדות מסוימות, המפצות את מחלת העלעלת, נוטשות בעקבות החמסינים את הפונדקאים הטבעיים עליהם גדלו, בעיקר צמחי בר ממשפחת המצליבים, ומתחילות לנדוד ולחפש פונדקאים ירוקים חדשים. את אלה הם מוצאות במקומות מושקים ולחים יותר. כיוון שעצי הדר צעירים נטועים ברווחים המזכירים את פיזורם הטבעי של אותם צמחי בר, נוטות הציקדות לנחות בשטחי הדריים שניטעו לא מכבר. המפגש של ציקדה טעונה בספירופלסמה ציטרי (*Spiroplasma citri*), שהוא כזכור חידק חסר דופן החי בצינורות ההובלה של פונדקאים שונים, כולל מיני מצליבים ולאחרונה מתברר כי גם בגזר ובזני הדר מסוימים, יתבטא בנגיעות במחלת העלעלת של העצים הצעירים. יצוין כי עצי הדר אינם פונדקאים מוצלחים של הציקדות מעבירות העלעלת, ולאחר שנחתו על עצי ההדר, טעמו ממוהל השיפה והדביקו את הפונדקאי החדש, מתרחקות הציקדות מהשתילים הצעירים ופונות כנראה לעץ הדר סמוך, כדי לבחון אם טעמו טוב יותר. מוכרים המקבצים של שניים ויותר עצי הדר נטועים בעלעלת, המקובלים בהתפשטות טבעית של גורמי מחלה שונים אחרים המופצים על ידי חרקים מוצצים.

ואולם, ההקבצה במקרה של העלעלת ייחודית. ברוב ההקבצות האחרות מדובר במצב בו העץ שאולח משמש לאחר פרקי זמן שונים, ולפעמים שנים, כמוקד להפצת גורם המחלה לעצים השכנים, ואילו במקרה של העלעלת העץ שנוגע אינו מהווה מקור להדבקה. טעמו אינו ערב לחרק, הוא ננטש מיד והחרק, הטעון בתאי



תמונה 3: עץ ולנסיה בנגב הצפוני נגוע בעלעלת. גידולו של העץ מעוכב, עליו מראים תופעות של צהבון ופירותיו שונים מהנורמלי בהיותם קטנים ומעוותים



תמונה 4: חלקה צעירה במרכז אמריקה נגועה בגרינינג. כל העצים בחלקה חולים ומנוונים

אולם כאמור, יש גם חידקים מסוימים שעד היום לא הצליחו לגדלם על קרקע מזון. אחת הדוגמאות לכך היא חידק הגורם למחלות הגרינינג בהדרים, וכן חידק מאוד קרוב ודומה הגורם למחלת ירקות קשה הנקראת זברה ציפס (מחלת הציפס המנומר) בתפוחי אדמה. חידקים אלה, הכלולים בסוג חדש הנקרא ליבריקטר (*Liberibacter*), הם שוכני שיפה ומקביעת הרצף התברר כי הם חסרים פונקציות פיזיולוגיות שונות. מצב זה מוסבר בטפיליות המיוחדת שהם פיתחו ובתלותם בחרקים מוצצים מסוג פסילות, המסוגלות להעבירן לאחר מציצת מוהל צינורות השיפה של עצים נגועים לצינורות השיפה של עצים בריאים. להזכירם, צינורות השיפה הם שמובלים את המוטמעים הנוצרים בעלים לחלקי הצמח האחרים.

באופן טבעי על צמחי בר דוגמת מלוח ומצליבים אחרים ומועברות לצמחי הדר כשתנאי הסביבה גורמים להן לנדוד לשטחי גידול. כיוון שההדר רגיש, הרי ציקדה נגועה שתבחר להתיישב על צמח הדר צעיר תזביק את העץ במחלה. אולם כאמור, הציקדות אינן חיות בשלום עם צמחי ההדר ואינן משלימות עליהם מחזור חיים. מחלת הגרינינג לעומת זאת, נגרמת מחידק שלא ניתן בשלב זה לגדלו על קרקע מזון והוא מופץ באמצעות פסילות, שהן חרקים מוצצים החיים על הדרים, מסוגלים להשלים עליהם כמה מחזורי חיים בכל שנה, אוכלוסייתם על כן גבוהה מאוד והם מסוגלים לקלוט את החידק הזה מכל עצי ההדר ובכל גיל ולהזביק בהם את כל העצים בחלקה ובשכנותיה.

להבדלים הללו השלכות אפידמיולוגיות וכלכליות גדולות על מהלכי המחלות הללו ועל חיי הפרדס והפרדסנים.

ומהשוני לדמיון המפתיע שבין שתי המחלות

הסימפטומים של עלעלת וגרינינג דומים במידה רבה. בשתי המחלות העלים של הצמחים הנגועים מראים בעונות מסוימות סימני רעב למוטמעים כמו גם סימנים להפרעות מטבוליות, המתבטאות בעיקר בפיזור בלתי אחיד של המוטמעים מהעלים הנגועים לחלקי הצמח האחרים. אגב, זו תופעה מוכרת בהדרים בזנים מסוימים בשנות OFF: כאשר אין מספיק פרי על העצים מראים העלים תופעות הצהבה שנגרמת כפי הנראה בגין הפרעות בפיזור העמילן מהעלים לאזורי מבלע אחרים בצמח (כך גם תופעת ה'זרע' ציפס' שהזכרנו, שגם היא מבטאת כנראה הפרעה מטבולית הפוגעת בהצטברות העמילן בפקעת תפוחי אדמה ומלווה בהצטברות סוכרים בפקעות הנגועות. והנה, בתהליכי הטיגון הופכים הסוכרים לקרמל, הגורם להשחמת פרוסות הטוגנים, ובעקבות כך ניתן לראות ציפס מנומר, במקום הצבע הזהוב בטוגנים מפקעות בריאות שצברו עמילן). ויש עוד תופעות דומות בין *Liberibacter* לבין *Spiroplasma citri* בעצים נגועים בעלעלת ובגרינינג: הפירות קטנים מכפי גילם ובעלי צורה מעוותת (הערבים נהגו לכנות את הפירות על עצים נגועים בעלעלת בשם 'אבו טיז', ומי שאינו דובר ערבית עדיף שלא יבקש תרגום), בשתי המחלות מופיעים בפירות הנגועים זרעים עקרים (אבורטיים), בהם העובר מנוון אך נשאר עטיפי הזרע, המשנה לעתים את צבעו והופך כהה בהשוואה לעטיפי הזרעים הבריאים. והנה, באופן מתמיה עטיפי הזרעים העקרים מכילים ריכוזים גבוהים הן של ספירופלסמה והן של *Liberibacter*.

ממצא זה דווח לראשונה מקליפורניה על ידי Calavan, שמצא כי קל יחסית לגדל מושבות של ספירופלסמה אם התרבות מתחילה בזרעים עקרים מפירות נגועים. מידע כמותי על הריכוזים הגבוהים של ספירופלסמה בזרעים העקרים קיבלנו לפני כ-30 שנה, כאשר פיתחנו יחד עם קבוצה מאנגליה והדסה ירושלים נוגדנים סגוליים ל-*Spiroplasma citri*, גורם העלעלת.

הסתבר, כי למרות שיצרנו נוגדן שהכיר היטב את תאי הספירופלסמה שגודלה בתרבית, לא הצלחנו לקבל תגובה טובה שלו עם עלי הדר נגועים, כולל עלים שהראו סימני נגיעות ברורים של עלעלת. תוצאה זו הייתה מאוד מאכזבת, שהרי מטרת ההכנה

ספירופלסמה, מפיץ מיד את המחלה לעצים שכנים. ועל כן, כל מקרי ההקבצה בעלעלת מקורם באירועים סמוכים מבחינת מועד ההדבקה. יתירה מכך, ההדבקה בעלעלת מוגבלת בעיקר לעצים צעירים הסמוכים זה לזה, היא פוחתת כבר לאחר כשנתיים ואין מקרים של נגיעות חדשה בפרדסים שניטעו כחמש שנים ואף פחות מכך.

ההפצה הטבעית של העלעלת אל מול זאת של הגרינינג

הווקטור המפיץ את הגרינינג הוא פסילה, חרק קטן מציקדה הניזון אף הוא מצינורות ההובלה של עצי הדר. בהדרים בעולם יש שני סוגי פסילות המסוגלות להעביר את המחלה. הסוג הראשון חי ונפוץ בארצות החמות דוגמת המזרח הרחוק ולאחרונה גם בברזיל, פלורידה, קובה ומקסיקו ונקרא *Diaphorina citri*, בעוד שהווקטור השני, הנקרא *Tiroza erytae*, חי באזורים הגבוהים והקרירים יותר של דרום אפריקה, קניה ואתיופיה. הפונדקאים הראשונים של הפסילה האסיאתית והפסילה האפריקנית הם הדרים, וחרקים אלה חיים בהצלחה רבה על עצי הדר ומשלימים עליהם את כל מחזור חייהם. על כן, בניגוד לעלעלת, המזביקה רק בשלב מסוים של חיי העצים, הפסילות מפיצות ומזביקות את עצי ההדר במחלת הגרינינג בכל גיל. יתירה מכך, כיוון שהפסילות מתרבות מאוד על עצי הדר, עצים רבים ללא הגנה יזכו לביקורים של פסילות טעונות רבות. בעקבות כך ההדבקה בגרינינג הרבה יותר מסיבית מבחינת העץ הבודד והרבה יותר מטרידה מבחינת הפרדסן מאשר אירועי ההדבקה הבודדים על ידי עלעלת.

הבדל זה גדול ומשמעותי מבחינה אפידמיולוגית. עם בעיית העלעלת בדרך כלל ניתן לחיות. נכון, בשנים מסוימות ובחלקות מסוימות נמצאה לעתים נגיעות של 30% ויותר, אבל בדרך כלל שיעורי הנגיעות נמוכים כדי אחוזים בודדים, ולאחר שמסלקים את העצים הנגועים ונוטעים עצים חדשים הפרדס לא ינוגע שנית. לעומת זאת, במקרה של גרינינג כניסת הווקטור הנושא עמו את גורם המחלה נחשבת לעתים, ובצדק, כמכת מוות לענף ומחייבת טיפולי הדברה יקרים כדי לצמצם את הנזקים הקשים של המחלה הטורדנית הזו. הבדל גדול נוסף בין שתי המחלות הוא הגורמים להן - סוגי מיקרואורגניזמים שונים, וזאת למרות הדמיון הגדול בסימפטומים שהם מעוררים בצמחי ההדר הנגועים. העלעלת נגרמת על ידי *Spiroplasma citri*, יצור תאי קטן דמוי חידק חסר דופן, בעוד שגורמי הגרינינג הם חידקים בעלי דופן. יצורים חסרי דופן הם לרוב חסרי צורה קבועה ומשתנים בהתאם לתנאי הסביבה בה הם נמצאים, בעוד שלספירופלסמות כאמור צורה סלילית אופיינית המאפשרת להן תנועה במוהל השיפה. ואולם, נראה כי תנועתן של הספירופלסמות מוגבלת יחסית, אין הן עוברות ביעילות בין הענפים המבוגרים ועל כן בהדבקות מאוחרות, כאשר ענפי העץ גדלים מעט, נראה לעתים רק ענף אחד נגוע, בעוד ששאר הענפים ממשיכים להניב פרי נורמלי.

אם נסכם את ההבדלים בין שתי המחלות, הרי שהעלעלת נגרמת מספירופלסמות, אותן ניתן לגדל על קרקע מזון ייחודית, הן חיות



ואכן, חיפוש מחודש שערך ד"ר זלצר ברקמה הצעירה של צמחי הדר נגועים בעלעלת נמצאו חלקיקי ספירופלסמה. והנה, כמעט ארבעה עשורים מאוחר יותר התברר כי המצב דומה גם כשמדובר בגרינינג. מיקרוסקופיה אלקטרונית, שנערכה לאחרונה בלייק אלפרד, פלורידה, על ידי Folimonova ו-Achor, הראתה כי העלים הצעירים, עוד לפני שהם מראים את הסימפטומים של הגרינינג, דווקא הם מכילים ריכוזי *Liberibacter* גבוהים, בעוד שהעלים המבוגרים יותר, אף שהם מראים סימפטומים ברורים של המחלה, ריכוזי החידקים בהם נמוכים מאוד ולעתים קשה להבחין בהם אפילו בשיטות זיהוי רגישות (12). במקביל, וללא קשר לנסיגות אלה, התברר כי יעילות העברת הגרינינג מצמח חולה לצמח בריא גבוהה במיוחד כאשר כמקור המדבק בהרכבות משמשים עלים צעירים, ובהרכבת עלים מבוגרים יותר, המראים כבר סימפטומים ברורים של המחלה, שיעורי ההדבקה היו נמוכים בהרבה. לממצאים אלה השלכות מעשיות שונות שטרם פורסמו (בר-יוסף, רוברטסון, דוסון, 2011, מאמר בהכנה).

סיכום

המאמר סקר בקצרה מידע אודות הדמיון והשוני בין שתי מחלות הדרים - הראשונה ותיקה ומוכרת בארץ והשנייה רחוקה גיאוגרפית, אך בעלת פוטנציאל הרסני שקשה לאומדו. במאמר הבא נעסוק בדרכי הזיהוי המהיר של עצים חולים במחלה מסוכנת זו ובשיטות מניעה שיש לאמץ לפני ואחרי הופעת המחלה באזור זה.

ספרות

1. Bar-Joseph M. & Garnsey SM. (1981): Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): principles and application for diagnosis of plant viruses. In Maramorosch K. & Harris K.F., eds. Plant diseases and vectors: ecology and epidemiology, p. 35-59.
2. Clark MF., CL. Flegg M. Bar-Joseph, S. Rottem (1978): The detection of *Spiroplasma citri* by enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa). *Phytopathol. Z.* 92: 332-337.
3. Klein M., B. Raccah (1991): Separation of two leafhopper populations of the *Circulifer haematocaps* complex on different host plants in Israel. *Phytoparasitica* 19: 153-155.
4. Saglio P., M. L'Hospital, D. Lafleche, G. Dupont, JM. Bove, JG. Tully, EA. Freundt (1973): *Spiroplasma citri* gen. and sp. n.: A mycoplasma-like organism associated with *Stubborn* disease of citrus. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23: 191-204.
5. Dnais MJ., PG. Markham, BM. Meddins, AK. Plaskitt, R. Townsend, M. Bar-Joseph (1973): Axenic culture of a plant pathogenic *spiroplasma*. *Nature* 244: 523-524.
6. Fudl-Allah AE.-SA., EC. Calavan, ECK. Igwegbe (1971): Culture of a mycoplasma-like organism associated with *Stubborn* disease of citrus. *Phytopathology* 61: 1321.
7. Lee IM., G. Cartia, EC. Calavan, GH. Kaloosian (1973): Citrus *Stubborn* disease organism cultured from beet leafhopper. *Calif. Agr.* 27(11): 14-15.

של הנוגדן הייתה לשפר את יעילות הזיהוי של מחלת העלעלת. האפשרות הראשונה שהעלינו הייתה כי לספירופלסמה בצמחים מאפיינים אימונולוגיים שונים משל תאי הספירופלסמה בתרבות. לבדיקת האפשרות הזו בחנו את תגובת הנוגדן כנגד מיצויי ספירופלסמה שהפקנו מקליפות הזרע של הזרעים העקרים. התברר כי אלה נתנו תגובה מצוינת והספיק מיצוי מזרע עקר יחיד כדי לקבל תגובה חזקה עם הנוגדנים שהפקנו. מכך למדנו, כי מקור הבעיה היה בריכוזי הספירופלסמה הנמוכים בעלים הנגועים. מחישובים שערבנו מאוחר יותר התברר כי זרע עקר יחיד הכיל כנראה יותר תאי ספירופלסמה מאשר קילוגרם שלם של עלים נגועים.

אגב, תופעה זו אינה ייחודית לספירופלסמה. מוכרים עוד מצבי מחלה בהם אין קשר ישיר בין ריכוזי גורם המחלה ברקמה הנגועה לעוצמת הסימפטומים שגורמי המחלות מעוררים בצמח המדבק. עוד התברר, כי גם בציקדות ריכוזי הספירופלסמה היה גבוה מהמצופה. בבדיקות האימונולוגיות שערבנו לגבי ציקדות התברר כי במיצוי של תאי ספירופלסמה מציקדה יחידה ניתן היה לקבל אותות שלא נפלו מאלה שקיבלנו בזרעים העקרים. לימים התברר, כי גם במקרה של גורם הגרינינג הזרעים העקרים מכילים ריכוזים גבוהים של חידקי ליבריקטר ואכן, קביעת הרצף של *Liberibacter asiaticus*, שבוצעה לפני כשנתיים בפלורידה, התבססה על הפקת החומר התורשתי של גורם הגרינינג מפסילה אחת ויחידה.

במקרה של ציקדות, התברר כי לא כל הציקדות שהגיבו עם נוגדני ה-*Spiroplasma citri* העבירו את המחלה לצמחי בוחן. אפשרות אחת הייתה כי הנוגדן הכיר גם סוגי ספירופלסמה שונים מאלה התוקפים הדרים ואכן, בעולם וכנראה גם בארץ יש כמה מיני ספירופלסמה בעלי צורה דומה, אך שונים מבחינה גנטית, ויש ספירופלסמות ייחודיות התוקפות צמחי תירס ואחרות המזיקות לדבורים. ואולם, במקרה זה התברר כי הספירופלסמה שנמצאה בציקדות מסוימות הייתה זהה ל-*Spiroplasma citri* הפוגעת בהדרים, אבל במיני ציקדות מסוימות יכולות לשמש פונדקאים לריבוי הספירופלסמה בגופן, אך מחסום מסוים מונע את מעבר הספירופלסמה מגופי הציקדות לתוככי בלוטות הרוק. מעבר זה הוא תנאי הכרחי ליכולתם של חרקים מוצצים מסוג זה להעביר את גורם המחלה לצמחים חדשים.

עוד דמיון מעניין בין גורם העלעלת לגורם הגרינינג הוא בסוג העלים, ולכך היסטוריה מעניינת: חברי המנוח, ד"ר אהרון זלצר ז"ל, החל ב-1968 לחפש נוכחות של מיקופלסמה בעלי הדר נגועים בעלעלת. היה זה כשנתיים בטרם דווח על כך מקליפורניה וצרפת. והנה, למרות שאהרון היה מיקרוסקופיסט מצוין, הוא לא מצא את גורמי המחלה הללו בעלים הנגועים. כשנה לאחר שהחיפושים הופסקו הגיע אלינו פרופ' Calavan מקליפורניה, שדיווח (7) כי בעלים המראים סימפטומים ריכוזי הספירופלסמה נמוכים וקשה להבחין בהם, ודווקא בעלים הצעירים, עוד לפני שהם מראים סימפטומים של נגיעות בעלעלת, ניתן, בהסתכלות במיקרוסקופ אלקטרוני, להבחין בחתכים דקים של רקמה נגועה בתאי הספירופלסמה.



אז מה בעצם נמצא בספרות?

1. המאמר מציג מידע המצביע על ריכוזי ספירופלסמה גבוהים בציקדות.
2. המאמר מביא מידע על ריכוז גבוה של ספירופלסמה במעטפות הזרע של הדורים.
3. המאמר עוסק בהעברת עלעלת על ידי ציקדות בארץ.
4. המאמר מדגיש את ההבדל בין גורם עלעלת למיקופלסמות (שמאוחר יותר כונו פיטופלסמות) אחרות בצמחים.
5. המאמר מראה לראשונה כי *Spiroplasma citri* שבודד מהדורים גרם למחלה בצמחים עשבוניים.
6. המאמר מתאר את גידול גורם העלעלת בתרבות.
7. המאמר מתאר גידול בתרבות של ספירופלסמה שבודדה מציקדה.
8. הדיווח הראשון מהארץ על מעורבות תאים דמויי מיקופלסמה בהדורים נגועים בעלעלת.
9. מאמר בו הושלמו הפוסטולטים של קור והוכח לראשונה כי אכן מחלת העלעלת נגרמת על ידי ספירופלסמה.
10. מאמר המראה כי גם גורם הגרינינג מגיע לריכוז גבוה בעטיפות זרעים נגועים.
11. מאמר המראה את הסכנה של התפתחות עמידות לאחר הדברה ממושכת של הווקטור.
12. מאמר המראה כי גם בצמחים נגועים בגרינינג ריכוזי הגורם גבוהים בעלים צעירים.
13. מאמר העוסק בריצוף הגנום של גורם הגרינינג האסיאתי מחומר גנטי שהופק מפסילה יחידה.
14. מידע כללי על המחלה, כולל כמה ציטוטים חשובים.

8. Zelcer A., Bar-Joseph M., Loebenstein G. (1971): Mycoplasma-like bodies associated with little-leaf disease of citrus. Israel J. Agric. Res. 21 137-142.
9. Markham PG., R. Townsend, M. Bar-Joseph, M.J. Dnais, A. Plaskitt, B.M. Meddins (1974): Spiroplasmas are the causal agents of citrus little-leaf disease. Ann. Appl. Biol. 78: 49-57.
10. Hilf ME. (2011): Colonization of Citrus Seed Coats by 'Candidatus Liberibacter asiaticus': Implications for Seed Transmission of the Bacterium. Phytopathology in Press.
11. Tiwari S., Mann RS., Rogers ME., Stelinski LL. (2011): Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. Pest Manag Sci.
12. Folimonova SY., Achor DS. (2010): Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. Phytopathology; 100: 949-958.
13. Duan Y., Zhou L., Hall DG., Li W., Doddapaneni H., Lin H., Liu L., Vahling CM., Gabriel DW., Williams KP., Dickerman A., Sun Y., Gottwald T. (2009): Complete genome sequence of citrus huanglongbing bacterium, 'Candidatus Liberibacter asiaticus' obtained through metagenomics. Mol Plant Microbe Interact; 22: 1011-1020.
14. Huanglongbing Wikipedia, the free encyclopedia.

On the similarities and differences between two Yellowing diseases of citrus trees, *Stubborn* and *Greening* (*Huanglongbing*)

Moshe Bar-Joseph / GimlaoTec, Hazanchanim 8, Rehovot, 76211, Israel

Greening, also known as *Huanglongbing* (HLB), is considered among the most destructive diseases of citrus. For decades the disease was affecting mainly the Asian citrus areas of India and China, In 2004 and 2005 diseased trees were located in Brazil and Florida, respectively, and recently the disease became also a serious problem through central America. Greening epidemics have already a marked economic effect on these major concentrate producing areas. The Californian and the Mediterranean regions remain at this stage free of *greening*, however there is no guarantee that this will continue unless major regional efforts to prevent its spread and establishment in the area will be immediately implicated.

Greening is caused by three different *Candidatus Liberibacter* (CL) species. These are phloem limited and phylogenetically closely related bacteria that are naturally spread from diseased trees by two different Psyllid vectors, *Diaphorina citri*, known as the Asian vector that transmits CL asiaticus (CLAs) and CL americanus (CLam) an apparently less widely spreading disease agent. In South Africa and also in other cooler regions of Africa, such as the Kenyan and Ethiopian plateaus the CL africanus (CLaf) bacteria are spread by

a different psylla named *Trioza erytrae*.

It is interesting to note that symptoms of the *greening* disease (14) closely resemble those associated with the *stubborn* (little leaf) disease, a leafhopper vectored disease, caused by *Spiroplasma citri* (4, 9) a yellowing causing pathogen reported from California, Eastern Mediterranean and Morocco. However there are two main differences that turn the *greening* problem an order of magnitude more destructive than *Stubborn*. First the *stubborn* vector resides only temporarily on citrus, while the *greening* vectors live on citrus and establish several generations of hundreds of insects per generation. The most damaging outcome of this intimate association of the psylla vectors with citrus trees is that once the *greening* vector is established in an area it will spread the disease causing bacteria to citrus trees regardless of the age of the groves, whereas the incidences of *stubborn* infections are limited to the period of leafhopper migration from their natural habitats into recently planted citrus groves. In addition *greening* is far more aggressive and results in the rapid death of young groves, while *stubborn* infected trees remain dwarfed, but will not normally decline and we have even reported on situations of citrus trees that recovered of *stubborn* infections. Despite these major epidemiological differences there are several closely similar manifestations of these diseases in citrus. These include:

1. High titers of both *Spiroplasma citri* and of the CLas prokaryotic disease agent in the seed coats of *stubborn* (2) and *Greening* (10) infected fruits. It is interesting however that despite these high pathogen titers, there was no indication for seed transmission of the *stubborn* agent (Bar-Joseph, unpublished) and the possibility of seed transmission of the *greening* agent is also strongly questioned recently (10).
2. High titers of both the *stubborn* (8) and the *greening* (12) agents in young still asymptomatic tissue.
3. High titers of both the *stubborn* (1) and the *greening* (13) agents in their respective vectors.

The epidemiological consequences of these differences and/or the similarities between these two phloem limited prokaryotic diseases are discussed. ☒