

1998-2000

תקופת המבחן:

409-0037-00

מספר מבחן:

**שם**  
זיהוי הגורם להתפתחות רקבון רך בפקעות ק אלה בזמן האחסון ובחינת שיטות הדבורה  
מתאיימות.

**המבחן:**  
IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF SOFT ROT IN CALLA CORMS AND  
EVALUATION OF CONTROL METHODS

**חוקר הראשי:** דר' סמיר דרוביץ' מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

**חוקר:** מר גدعון לוריין, דר' סוניה פילוסוף-הדים, מר עוזי לובובסקי  
**מאמרים:**

### תקציר

הצגת הבעיה: עפ"י הדיווחים בספרות נחשב החידק *Erwinia carotovora* sub. sp.*carotovora* כגורם דומיננטי לפקעות רכים במגוון רחב של גידולים חקלאיים, כאשר חלקו הגדודים הנתקפים ע"י פטוגן זה הם איברי תשומות וריבוי. בארצות בעלות אקלים ממוגג, כמו ישראל, ההפסדים הנגרמים ע"י חידק זה יכולים להיות ניכרים, ואף להוות את הגורם המגביל בחלק מהגידולים. בין הגידולים הנתקפים נמנים בצלים ופקעות של מספר גידולי פרחים לקטיף ולחומר ריבוי.

מטרות המבחן 1) בידוד זיהוי הפטוגנים האחראי להתפתחות הרקבון רך הפקעות ק אלה במשך אחסון. 2) לימוד התנאים המשפיעים על ההתפתחות הרקבון במסך האחסון. 3) בחינה ופיתוח של שיטות הדבורה יעילות.

מחך ושיטות העבודה: בשלבים הראשונים של המבחן (שנה ראשונה) נעשה מאמצז לבירור סוגית זיהוי הגורם האחראי למחלת. לצורך זה נעשו בידודים של חידקים מחלקים שונים של פקעות ק אלה וركבות שתתקבלו מגדים שונים. שיטת הבידוד נעשתה עפ"י פרוטוקול המקביל לבידוד חידקים מרכמות צמחיות רקובות. המושבות שגדלו נבחרו באקרואיות מהצלחות השונות וחלקם נשלחו לזיהוי שוב לאגן להגנת הצומת. זיהוי זה מבוסס על מציאו חיצות שומניות מהחידק והרצתו בגז כרוםטוגרפיה לקליטת פרופיל שללה חומצות השונות. בנוסף לשיטת הזיהוי הסטנדרטית, המבוססת על בדיקות כימיות בדיקות ביולוגיות המבוססות על מבחנים ביולוגיים הנוטנים מידע על זיהות החידק לפי יכולת ההדבקה של פרוטות תפופה אדמה. תבדידי החידקים שטאספו שימושו כמקור להדבקת פרוטות תפופה אדמה לקביעת יכולתם לגרום לרקבון רך. ניסויי הדבורה הראשונים נעשו בסוף שנה ראשונה במטרה לאתר כיוני מחקר לשנה השנייה בתחום זה. בשנה השנייה, הניסויים השונים התמקדו בבחינת שיטות וגישות הדבורה שונות של רקבון רך בפקעות ק אלה. תחילת בחנו שני חומרי חיטוי כימיים (סטריפטומיצין ואנטיסטטריטין 200) ושני חידקים antagonיסטיים ק אלה. ניסוי בחנו שני חומרי חיטוי כימיים (STERIPEPTOMYCIN ו-ANTISTREPTOTIN 200) ושני חידקים antagonיסטיים (*Bacillus* ו- *Pseudomonas*). ניסוי נוסף נעשה במטרה לבחון אפשרות חיטוי הפקעות באמצעות שילוב של מים חמימים ופורמלין. נישה נוספת הייתה בחינת השפעת מי כלור, המיצרים ע"י מכשור מיוחד שמחולל כלור פעיל ממי ברז ורגילים, על ההתפתחות רקבון רך בסיסי גבעולים במשך הזמן וכן בחינת הסבראה שהורדת האינוקולום הקיים במשך הזמן מביא בעקבותיו הפחתה בשיעור הרקבונות המתפתחים בפקעות לאחר האסיף. לצורך זה הותקן המכשור בבית רשות במלחקה לאחסון ווחבו אליו מזינים שמוקמו מעל חמיה ק אלה שגדלו בעכיצים. לבסוף בדקנו את פוטנציאל חיטוי הפקעות ע"י איזודים בשמנים אורתיריים שהוכחו יעילים בעיכוב ההתפתחות החידק ארכויניה בניסויים סטריטין.

בשנה השלישית התמקדו על בסיסו הממצאים הקודמים של שיטות הדבירה וכן אפיון הפרטורים השונים המשפעים על יעילות הדבירה. נבחנה השפעת השמן האטריאי קרברול על התפתחות רקבון בפקעות ק אלה ומדי שאוחסנו באווירה מבוקרת ומתואמת. בנוספ', בחנו את יעילות חומרי חיטוי שונים על עיכוב התפתחות רקבונות בפקעות ק אלה שאוחסנו בטמפרטורות שונות.

תוצאות עיקריות: החידק *E. carotovora* זוהה בזודאות כגורם האחראי להתפתחות רקבון רך בפקעות ק אלה. הזיהוי התבבס על שימוש במצב מזון ספציפיים לגידול חידק זה וגם ב מבחני פטוגניות על רכਮות תפוחי אדמה. בניסויי הדבירה/חיטוי הראשוניים נמצא שטבילה של 30 דקות בתמיסת כלור עיכבה באופן משמעותי התפתחות הרקבון בפקעות. בהמשך, נמצא בשנה השנייה שחיטוי פקעות ק אלה בטבילה במשך 30 דקות בתמיסת סטריפטומיצין ברכזו 200 ח'ימ או החומר אנטיטריס הוכת כיעיל במניעת התפתחות רקבון ארוביונית בפקעות מודבקות מלאכותית. השימוש בחידקים האנטוגוניסטים *Bacillus*- *Pseudomonas* ו- *Bacillus* הוכח כיעיל במניעת הרקבון, תוצאה שזרה על עצמה גם בשנה זו ומצבעה על כיוון מחקר מעניין לקראת השנה השלישית. בניסוי שבצענו, שימוש במים חמימים בשילוב עם פרומלין לחיטוי הפקעות לא מנע התפתחות הרקבון במשך הגידול ואף השפיע לרעה. בטיפול המשולב הייתה הגירה בשיעור הצמחים הרקובים בהשוואה לפקעות הלא מטופלות. אכן הפקעות בשמנים אטריים של אוזוב מצוי וקיים הביא להפתחה משמעותית בשיעור הצמחים שנרכבו.

הקרברול הוכת כיעיל בעיכוב החידק ארוביונית בצלחות פטרוי ועיג הפקעת. הטיפול לא פגע במדדי הצימוח והפריחה. השילוב של קרברול ואווירה מבוקרת הגיר בצורה משמעותית את יעילות קרברול. בנוספ', נמצא השפעה חיובית בשילוב קרברול עם אוויר מתואמת. בפקעות ק אלה הושגה הדבירה טובת של הרקבון בנסיבות חומרי החיטוי השונים רק במשך אחסון ב- 4 מ'ץ, אך רב החומרים גרמו לעיכוב בנכיתה.

מסקנות והמלצות: התוצאות מצביעות שלחיטוי חיזוני של פקעות ק אלה יש חשיבות גדולה מאד במניעת התפתחות רקבון הארוביונית בתקופת אחסון הפקעות ובמשך הגידול. ככל שרמת המידבק נמוכה יותר הסיכוי להתחזקות הרקבון קטן יותר. שימוש בחומרי חיטוי מקובלים עשוי לתת תשובה חלקית לבעה. המחקר מצבע על כיווני מחקר מבטחים ביותר בכל הקשור לשימוש בחידקים אנטוגוניסטים להדבירה ביולוגית של ארוביונית. לחיטוי הפקעות באידי שמנים אטריים יש פוטנציאל ויש להמשיך לברר אפשרות יישומי המעשי.

דו"ח סופי  
לתוכנית מס' 409-0037-00

א. נושא המחבר

זהוי הגורם להתפתחות ריקבון רך בפקעות קאלה בזמן האחסון  
ובוחינת שיטות הדבירה מתאימות

**Identification of the causal agent of the soft rot in calla corms and evaluation of control methods**

סמיר דרובַי<sup>1</sup>, סוניה פילוסוף-הדאָס<sup>1</sup>, ופא בוכרי<sup>1</sup>, אידה רוזנברגר, לאה כהן<sup>1</sup>,  
אלכסנדרה קובשבנַיקוב<sup>1</sup>, לוריא גدعון<sup>2</sup>,

**Samir Droby<sup>1</sup>, Sonia Philosoph-Hadas<sup>1</sup>, Wafa Buchari<sup>1</sup>, Ida Rosenberger<sup>1</sup>, Lea Cohen<sup>1</sup>, Alexandra Kovshevnikov, Gidon Luria<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> המחלקה לחקר תוצרת חקלאית לאחר הקטיף, מינהל המחקר החקלאי,  
מרכז וולקני, בית דגן; <sup>2</sup>שה"מ, משרד החקלאות

<sup>1</sup>Dept. of Postharvest Science of Fresh Produce, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan; <sup>2</sup>Extension Service, Ministry of Agriculture

E-mail: samird@netvision.net.il

מוגש לקרן מדע ראשי – מוא"פ איכوت תוצרת חקלאי ולמועצת הפרחים – קרן צח"ר

ויל' 2001

מכון וולקני

## א. תקציר (דו"ח סופי)

1. **הציגת הבעה (חשיבות ומטרות):** עפ"י הדיווחים בספרות נחשב החידק *Eruwinia carotovora sub. sp.carotovora* כגורם דומיננטי לרקבונות רכים במגוון רחב של גידולים חקלאיים, כאשר חלקו הצמח העיקרי המתפקיד ע"י פtagon זה המוביל תושמות וריבוי. בארץות בעלות אקלים ממוזג, כמו ישראל, ההפסדים הנגרמים ע"י חידק זה יכולם להיות ניכרים, ואף להוות את הגורם המגביל בחלק מהגידולים. בין הגידולים הנתקפים נמנים בצלים ופקעות של מספר גידולי פרחים לקטיף ולחומר ריבוי. מטרות המחקר (1) בידוד ויזיהו הפטוגנים האחראים להתרפות הרקבון הרך הפקעות ק אלה במשך אחסון. (2) לימוד התנאים המשפיעים על התרפות הרקבון במשך האחסון. (3) בחינה ופיתוח של שיטה/ות הדבורה ייעולות.

2. **מהלך ושיטות העבודה:** בשלבים הראשונים של המחקר (שנה ראשונה) נעשה מאמץ לבירור סוגיות זיהוי הגורם האחראי למחללה. לצורך זה נעשו בידודים של חידקים מחלקים שונים של פקעות ק אלה רקבונות שהתקבלו מגדרים שונים. הבידוד נעשה עפ"י פרוטוקול המקובל לבידוד חידקים מרתקמות צמחיות רקבונות. המשובות שגדלו נבחרו באקרניות מהצלחות השונות וחלקם נשלח לח'זיה' לאגף להגנת הצומח. זיהוי זה מבוסס על מיצוי חומצות שומניות מהחידק והרצתו בגז קרומטוגרף לקבלת פרופיל החומצות השונות. בנוסף לשיטת הזיהוי הסטנדרטית, המבוססת על בדיקות כימיות קיימות בדיקות המבוססות על מבחנים ביולוגיים הנוגנים מידע על זהות החידק לפי יכולת ההדבקה וגירמת רקבון רך בפרוסות תפוח אדמה. ניסוי הדבורה הראשונים נעשו בסוף שנה ראשונה במטרה לאנרגר ציוני מחקר לשנה השנייה בתחום זה. בשנה השנייה, הניסויים השונים ה证实ו בבחינת שיטות וגישות הדבורה שונות של רקבון רך בפקעות ק אלה. תחילתה בchner שני חומרי חיטוי כימיים (סטריפומיצין ונטיסטטריס 2000) ושני חידקים אנטוגוניסטים (*Pseudomonas* - *Bacillus*). ניסוי נוסף נעשה במטרה לבדוק אפשרות חיטוי הפקעות באמצעות שילוב של מים חמימים ופורמלין. גישה נוספת הייתה בבחינת השפעת מי כלור, המזיארים ע"י מכשיר מיוחד שמחולל כלור פעיל מי בה רגילים, על התרפות רקבון רך בבסיסי גבעולים במשך הגדל וכאן בבחינת הסברת שהותה האינוקולום הק"ם במשך הגדל מביא בעקבותיו הפחתה בשיעור הרקבונות המתרפות בפקעות לאחר האסיף. לצורך זה הותקן המכשיר בבית רשות במחללה לאחסון וחוברו אליו מצלם שמקם מעלה צמחי ק אלה שגדלו בעציים. לבסוף בדקנו את פוטנציאל חיטוי הפקעות ע"י אידויים בשמנים אטריים שהוכחו בעליים בעיכוב התרפות החידק ארוזיניה בנייסויים *vitro* זו.

בשנה הששית התקדמנו על בסיס הממצאים הקודמים של שיטות הדבורה וכן אפיון הפרמטרים השונים המשפיעים על יעילות הדבורה. נבחנה השפעת השמן האטררי קרבקרול על התרפות רקבון בפקעות ק אלה שאוחסנו באוירה מבוקרת ומתואמת. בנוסף, בණוסף, בchner את יעילות חומר חיטוי שונים על עיכוב התרפות רקבונות בפקעות ק אלה שאוחסנו בטמפרטורות שונות.

3. **תוצאות עיקריות:** החידק *E. carotovora* זוהה בודאות כגורם האחראי להתרפות רקבון רך בפקעות ק אלה. הזיהוי התבסס על שימוש במצוי מזון ספציפיים לגידול חידק זה וגם ב מבחני פתוגניות על רקמות תפוחי אדמה. בניסויי הדבורה/חיטוי הראשונים נמצא שתבילה של 30 דקות בתמיסת כלור עיכבה באופן משמעותי התרפות רקבון בפקעות. בהמשך, נמצא בשנה השנייה שחיטוי פקעות ק אלה בתבילה למשך 30 דקות בתמיסת סטריפומיצין בריכוז 200 ח"מ או החומר אנטיסטטריס הוכח כיעיל במניעת התרפות רקבון ארוזיניה בפקעות מודבקות מלאכותית. חידקים האנטוגוניסטים *Pseudomonas* - *Bacillus* הוכחו כיעילים במניעת הרקבון. בניסוי שבצענו, שימוש במים חמימים בשילוב עם פורמלין לחיטוי הפקעות לא מנע התרפות רקבון במשך הגדל ואף השפיע לרעה. בטיפול המשולב הייתה הגירה בשיעור הצמחים הרקובים בהשוואה לפקעות הלא מטופלות. אידי הפקעות בשמנים אטריים של איזוב מצוי וקימל הביא להפחיתה משמעותית בשיעור הצמחים שנרכבו.

הקרבקרול הוכח כיעיל בעיכוב החידק ארוזיניה בצלחות פטרוי וע"ג הפקעת. הטיפול לא פגע במידדי הצימוח והפריחה. השימוש של קרבקרול ואוירה מבוקרת הגבר בצורה משמעותית את יעילות הקרבקרול. בנוסף, נמצאה השפעה חיובית בשילוב קרבקרול עם אוירה מתואמת. בפקעות ק אלה הושגה הדבורה טוביה של רקבון בנסיבות חומר החיטוי השונים רק במשך אחסון ב- 4 מ"צ.

#### **4. מסקנות והמלצות:**

התוצאות מצביעות של חיטוי חיצוני של פקעות קала יש חשיבות גדולה מאד במניעת התפתחות רקבון הארובייתני בתקופת אחסון הפקעות ובמשך הגידול. ככל שרמת המידבק נמוכה יותר הסיכון להתקפות הרקבון קטן יותר. שימוש בחומר חיטוי מוגבלים עשוי לסתן תשובה חלקית לבעה. המלחק מצביע על כיוני מחקר מבטחים ביותר בכל הקשור לשימוש בחידקים אנטיגנוטים להדבורה ביולוגית של ארוינה. לחיטוי הפקעות באידי שמנים אחרים יש פוטנציאל ויש להמשך לבירור אפשרויות "ישומי המעש".

#### **ב. מבוא, רקע מדעי קצר ומטרות המלחק לתקופת הדז"ח:**

אחד הביעיות העיקריות בענף הגיאופיטים היא התפתחות רקבונות רכים בפקעות ובצללים מאוחסנים כתוצאה מנגיעה בחידקים פטוגניים שונים. עיה נוספת היא התקפות הרקבון לאחר הדירעה כתוצאה מהשימוש בחומר ריבוי מזווהם בפטוגנים, דבר שפוגם בנכיטה וגורם לתמותה מוקדמת של הצמחים. שימוש חוזר בחומר ריבוי מזווהם מאיץ את דיהם המלאי בפטוגנים ולהפסדים ניכרים בחומר הריבוי ובוביל פרחי קטיף.

על"י הדיווחים בספרות נחשב החידק *Erwinia carotovora* sub. sp. *carotovora* כגורם דומיננטי לרקבונות רכים במגוון רחב של גידולים חקלאיים, כאשר חלקו הצמח העיקריים הנתקפים ע"י פטוגן זה הם איברי תשומות וריבוי. בארץות בעלות אקלים ממוזג, כמו ישראל, הופסדים הנגרמים ע"י חידק זה יכולים להיות ניכרים, אף להוות את הגורם המגביל בחלק מהగידולים. בין הגידולים הנתקפים נמנים בצללים ופקעות של מספר גידולי פרחים לקטיף ולחומר ריבוי. תחום הפונדקאים של חידק זה כולל: קала, שען, אקוניות, ס"יפ, ביגניה, יקינטון, פרזיה, קלדיום, וכרכום. האילוח של איברי הריבוי בפטוגן נעשה, ברוב המקרים, דרך הרקבון בשלבי הגידול השונים גם בזמן האסיף והמיון. בארץ, לא נעשתה עד כה עבודה ללימוד בעית הרקבון הרך בפקעות קала כדי לפתח פתרונות ניאוטים.

הטיפול המקביל כיום נגד רקבון רך בפקעות קала ניתן באופן שיגרתי ללא מידע כל שהוא על זיהות גורם המחללה, רמת היזיון והగורמים המעורבים בהתפתחות המחללה. הטיפולים כוללים חיטוי חיצוני של איבר הריבוי בחומרם אנטיבakterיאליים (כמו פורמלין, קלוריון וחומרם אנטיביוטיים שונים) וכן טיפול בבקטריויצדים מוגבלים כמו קווץ, מיד לאחר האסיף ולפני האחסון. יש לציין, שככל מגדל אימץ לעצמו נוסחת טיפול המבוססת ברוב המקרים על שימושות וניסוי עצמאי.

**מטרות המלחק של התוכנית:** 1) בזידוז ויזיהו הפטוגן/ים האחראי להתפתחות הרקבון הרך הפקעות קала במשך אחסון; 2) לימוד התנאים המשפיעים על התקפות הרקבון במשך האחסון; 3) בבחינה ופיתוח שיטה/ות הדבורה ייעילות.

#### **ג. פירוט הביסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו:**

##### **ג.1. סיכום הביסויים בשנה א'**

בשנה הראשונה ה被执行ה התמקדמה בבזידוז ויזיהו הגורם האחראי להתפתחות רקבון רך בקالة. לצורך זה נעשו בזידדים של חידקים מפקעות קала וקובות שהתקבלו ממגדלים שונים. שיטת הבזידוד נעשתה על פרוטוקול המקביל לבזידוד חידקים מركומות צמחיות רקבות. בקצרה: הוצאו דוגמאות של רכמה מהחלק הפנימי של הרקבון, הוכנסו לתמיסת מי מלח (0.85%) מעוקרת וטולטלו בחזקה במשך שעה. לאחר מכן, נלקחו דוגמאות של 100ן מתmisת המלח ומדרכו על מצע מזון כללי המתאים לגידול חידקים שונים (LB). לאחר תקופת הדגירה של 3 – 4 ימים נעשתה זריעת בזידוד של מושבות בודדות לצורך קבלת תרבויות נקיות. המושבות נבחרו באקרואיות מהצלחות השונות ותולקם נשלח ליזיהו שוב לאגף להגנת הצומח. זיהוי זה מבוסס על מיצוי חומצות שומניות מהחידק והרצתו בגז

כرومטוגרפּי לקיבּלת פּרּוֹפּיל החומצּות השונות. היזיהו ברמת הסוג והמין נעשתה לפי מאגר נתונים ממוחשב וכולל פּרּוֹפּילים של חומצּות שומן שהתקבלו מחידקִים שונים שכבר זהה בעבר. תוצאות היזיהו שהתקבלו היו רוחקות מהצּפּוי בזה שם הצּבּינו על שמות חידקִים שאינם ארכויניה.

בנוסף לשיטת היזיהו הסטנדרטיות, המבוססת על בדיקות כימיות קיימות בדיקות המבוססות על מבחנים ביולוגיים הנוטנים מידע על זהות החידק לפי יכולת ההדבקה של פּרּוֹסּות תפוח אדמה. ב"כ רקמת פּקעות של תפוח אדמה נתפסת ברקבון רך שנגרם ע"י החידק *Erwinia carotovora*. תבידי החידק שנאספו שימושו כמקור להדבקת פּרּוֹסּות תפוח אדמה לקביעת גראם לרקבון רך. הרוב המכירע של התבדים שנבדקו גראו לרקבון רך האופני לركבונות ארכויניה. בנוסף, השתמשנו במצע מזון סיליקטיבי (CVP) שرك החידק מהסוג ארכויניה יכול לגודל לעלי ותאיו מקלבים גוון בצבע ורוד. בדיקה זו נעשתה לתבדים מקלה ולרובם הייתה חיובית.

כמו כן התבצעו בשנה הראשונה ניסויי הדבירה ראשוניים ש�示רתם הייתה בחינת ציוני מחקר לשנה השנייה ושלישית של תוכנית זו. ניסוי ראשון נעשה לבחינת יעילותם של טיפולים שונים ושני חידקים היודיעים בעועלותם בהדבירה ביולוגית של גורמי מחלות. הניסוי נעשה בפקעות קала שנפצעו סמור לאזור הנזר והזבקו בארכויניה ע"י השရה בתרכח החידק למשך שנים ספורות. פּקעות פּצּוּאות שנובלו במים שיימשו כביקורת.

בניסוי זה הטיפולים היעילים ביותר בהפקחת שיעור הרקבון הרך בפקעות קала הם התרכח בתמיסת הכלור ושני החידקים האנטיגוניסטים. בטיפולים אלה שיעור הרקבון שהתפתח היה נמוך ב- 40 – 50% משיעור הרקבון שהתפתח בבדיקות.

בניסוי נוסף נסף נבחנה השפעת שמנים אטריים שונים על גידול החידק ארכויניה בתרכבת. נבחנה יעילותם של 4 סוגים של שמנים אטריים: A = אזוב מצוין; B = זוטה לבנה; C = עשב למון; D = קימל. החידק נזרע בצלחות פטרី המכילות מצע LB. לדופן הפנימית של מסה צלחת הפטרី הוצמדה בעזרת דבק דיסקייט סטרילית של ניר סינון (Whatman) בעלת כושר ספיגה של 100 מיקרוליטר. היישום של השמן האטררי בוצע ע"י הספגט שני נפחים (5 או 10 מיקרוליטר) מכל סוג שמן ע"ג הדיסקית. צלחות הפטרី נאטמו בעזרת סרט בידוד נצמד למנוע דיפ' השמן האטררי, והודגרו בטמפרטורה של 27 מ"ץ. רמת העיכוב נקבעה בהשוואה לגידול החידק בבדיקות שכילה דסקיות נייק ספוגות בכולה ששימוש כממיס של השמנים האטרריים. השמן האטררי הייל ביוורר היה שמן A שהופק מאזוב מצוין. שמן זה גרם לעיכוב משמעותית בגידול החידק על מצע המזון. שאר השמנים האטרריים גרמו לעיכוב חלקי.

## ג.2. סיכון הניסויים בשנה ב'

בשנה זו, הניסויים השונים התקיימו על בחינת שיטות וגישות הדבירה שונות של רקבון רך בפקעות קала. תחילת בחנו שני חומרי חיטוי כימיים (סטריפטומיצין ואנטיטיסטריס 200) ושני חידקים אנטיגוניסטים (*Bacillus* – *Pseudomonas*). ניסוי נוסף נעשה במטרה לבחון אפשרות חיטוי הפקעות באמצעות שילוב של מים חמימים ופורמלין. ההנחה הייתה השימוש בתמיסות חממות (52 מ"ץ) יכול לקטול את חידקי הארכויניה הנמצאים על פני ובתוך החלקים הפנימיים של הפקעת. גישה נוספת הייתה בחינת השפעת מי כלור, המיצרים ע"י מכשיר מיוחד שמחולל כלור פעיל ממי ברז גזיים, על התפתחות רקבון רך בעועלם גבעולים במשך הגידול וכן בחינת הסבירה שהורדת האינוקולום הקיים במשך הגידול מביא בעקבותיו הפקחת בשיעור הרקבונות המתפתחים בפקעות לאחר האסיף. לצורך זה הותקן המכשיר בבית רשות במחלקה לאחסון וחוברו אליו מטים שמוקמו מעל צמחי קала שגדלו בעציים. לבסוף בדקנו את פוטנציאל חיטוי הפקעות ע"י אידיום בשמנים אטרריים שהוכחו יעילים בעיכוב התפתחות החידק ארכויניה בניסויים *vitro*.

חיטוי פּקעות קала בטבילה במשך 30 דקות בתמיסת סטריפטומיצין בערך 200 ח"מ או החומר אנטיטיסטריס הוכח כיעיל במניעת התפתחות רקבון ארכויניה בפקעות מודבקות מלאכוטית. השימוש בחידקים האנטיגוניסטים *Bacillus* – *Pseudomonas* הוכח כיעיל במניעת הרקבון. בניסוי שבצענו, שימוש במים חמימים בשילוב עם פורמלין לחיטוי הפקעות לא מנע התפתחות הרקבון במשך הגידול ואף השפיע לרעה. בטיפול המשולב הינה הגברת בשיעור הצמחים הרקובים בהשוואה לפקעות הלא מטופלות. אידיום הפקעות

בשמנים אטריים של אזוב מצוי וקימל הביא להפחלה משמעותית בשיעור הצמחים שנרכבו.

התוצאות שהתקבלו מסדרת הניסויים שנעשו בשנה זו מצביעות שלחיטוי חיצוני של פקעות ק אלה יש חשיבות גדולה מאד במניעת התפתחות רקבון הארוונינה בתקופת אחסון הפקעות ובמשך הגידול. ככל שרמת המידבק נמוכה יותר הסיכוי להתקפות תפתחות הרקבון קטן יותר. שימוש בחומרה חיטוי מוקובלים עשוי לחתת תשובה חלקית לבעה.

#### ג.3. השפעת השמן האטרי קרבקרול בשילוב עם אווירה מבוקרת על התפתחות החידק *E. carotovora* בתרבית

תרחיף מימי של תא הchipak *E. carotovora* ( $\mu$ m 50), שמקורו בתרבית בת 24 שעות, נזרע על מצע מזון LB לצורה סטירלית. לדופן הפנימית של מכסה צלחת הפטרי הזמדה בעזרת דבק דסנית סטירלית של נייר סינון, עליה הוסיף הקרבקרול לאחר יום של התפתחות בטמפרטורה 25 מ'צ. צלחות הפטרי נאטמו בעזרת סרט בידוד נצמד כדי למנוע יידוף החומר, והוא זורא למשך 24 שעות בטמפרטורה החדר. בתום החשיפה לקרבקרול, הוסר סרט הבידוד והצלחות נחשפו בתא אטום לאוירר מבוקרת למשך 5 ימים - 20 מ'צ. צלחות הביקורת נחשפו במקביל לאוירר באמצעות תנאים. בתום תקופה זו נקבע מספר המושבות שהתקיימו בכל טיפול וחושב שיעור העיכוב. התוצאות המוצגות בטבלה 1 מראות בבירור שישילוב שתי השיטות הגבר בצורה משמעותית את יעילות הקרבקרול עד כדי עיכוב מלא.

**טבלה 1:** השפעת טיפול משולב בקרבקרול ואוירר מבוקרת על התפתחות החידק *E. carotovora* בתרבית. הקרבקרול יושם בנצח הגורם לעיכוב של 50% בגידול. הרכב האוירר המבוקרת (CA) אליו נחשף החידק כלל 22% חמוץ ו- 5% פחמן דו חמוץ.

הטיפול	% עיכוב
ביקורת	0
קרבקרול $\mu$ 0.5	60
CA	40
קרבקרול + CA	100

#### ג.4. השפעת טיפול משולב אוירר מתואמת או מבוקרת אויד בקרבקרול על התפתחות רקבונות ומדדי צימוח ופריחה

פקעות ק אלה אטיפיקת שהודבקו מלכויות באמצעות פציעה שמשו אותנו לבחינת השפעת שילוב אוירר מבוקרת אויד בקרבקרול על התפתחות רקבון רק במשך האחסון. הדבקה של הפקעות נעשתה ע"י פצעיתן וטבילה בתרבית של חידק הארוונינה שבודד מפקעות ק אלה ורקמות. טיפול האיד בקרבקרול נעשה ע"י חיפוי הפקעות למשך 24 שעות לניר סינון שהוסף ב- 0.1 מ"ל של קרבקרול במיהול 2:1 בצנצנת אטומה של 1 ליטר. טיפול הביקורת נחשף לצורה דומה לכוהל בלבד (המסם של קרבקרול). הניסוי כלל 6 טיפולים:

1. ביקורת ללא פציעה + הדבקה (ביקורת כהה).
2. ביקורת עם פציעה ללא הדבקה (ביקורת כהה).
3. פציעה + הדבקה (ביקורת כהה).

4. ביקורת ללא פציעה + הדבקה (קרבקROL 2:1).
5. ביקורת עם פציעה ללא הדבקה קרבקרול 1:2).
6. פציעה + הדבקה (קרבקROL 2:1).

הטיפולים השונים קיבלו את טיפוליו האחסון הבאים:

- א) ללא אווירה מבוקרת/20 מ"צ; ב) אווירה מבוקרת- CA – 2% חמצן + 5%.
- ב) אווירה מתואת – MA – שקית PE אטומה / 1 מ"צ.

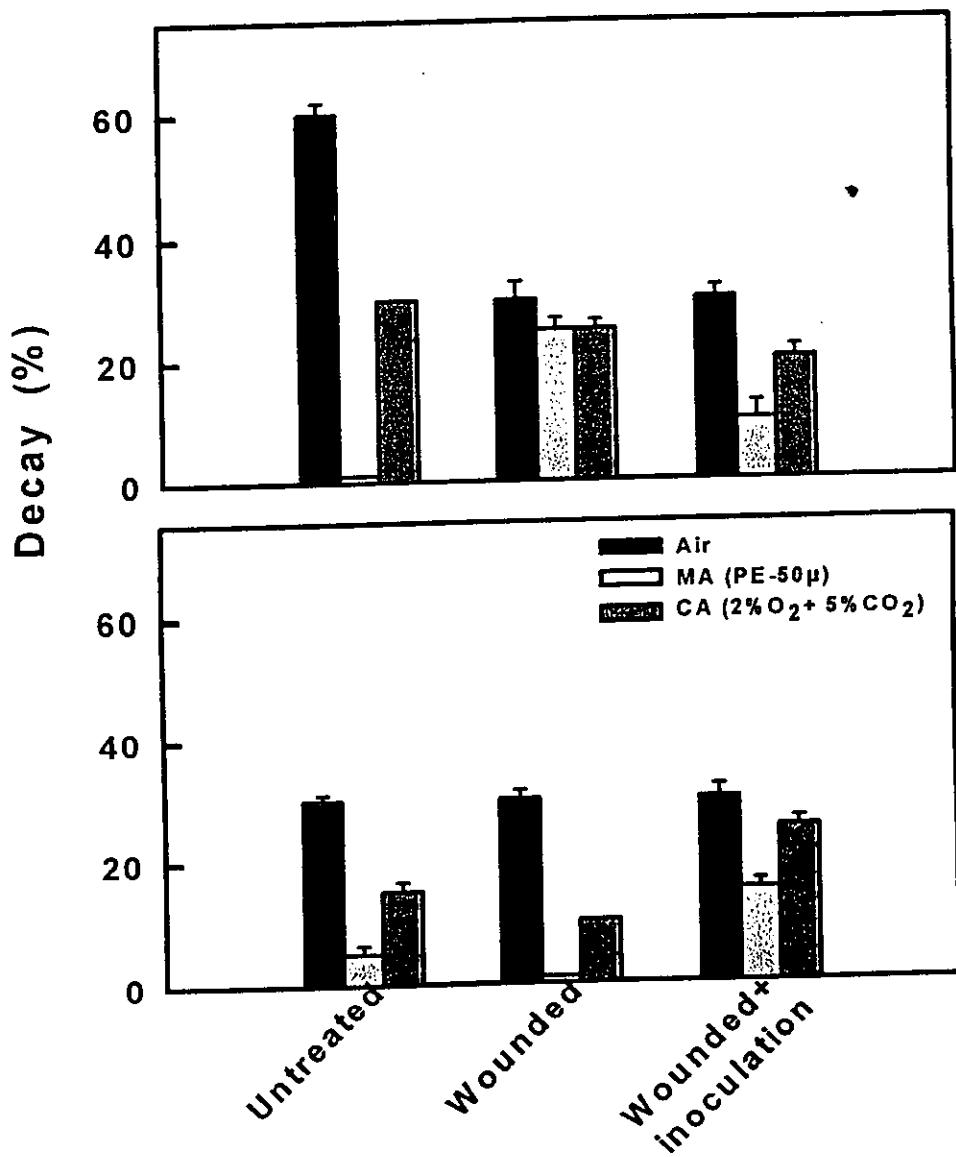
התוצאות המובאות באירור A מראות שה涅גיעות בפקעות שלא נחשפו לקרבקROL הייתה נמוכה בפקעות הפציעות והמודבקות (30%) לעומת הנקודות הלא מטופלות (60%). האחסון באווירה מתואמת הפחתת לגמרי את הנגיעות הגבואה שאובחנו בפקעות הלא מטופלות והפחיתת חלקיות ל- 10% את הנגיעות בפקעות המודבקות, אך לא השפיע על הנגיעות בפקעות הפציעות. לאחר אחסון באווירה מבוקרת התקבלה רמת涅גיעות דומה בכל הפקעות, אך שנראה שאחסון זה היה פחות עיל בהשוואה לאווירה מתואמת (איור 1 A). הנגיעות בפקעות שנחשפו לקרבקROL הייתה דומה בכל הטיפולים והגיעה לרמה של 30% באחסון באוירור (איור B 1). נראה לכן שקרבקROL היה עיל רק בהפחחת הנגיעות של הפקעות הלא מטופלות מ 60 ל- 30%. לעומת זאת השימוש של קרבקROL עם אווירה מבוקרת היה פחות עיל בהשוואה לשילוב עם אווירה מתואמת, אך היה עיל בהשוואה לטיפול עם אווירה מבוקרת בלבד, שכן הוא גרם להפחחת הנגיעות לרמה של 10% בפקעות הלא מטופלות ופציעות. בפקעות המודבקות שילוב של שתי השיטות לא היה עיל בהפחחת הנגיעות (איור B 1).

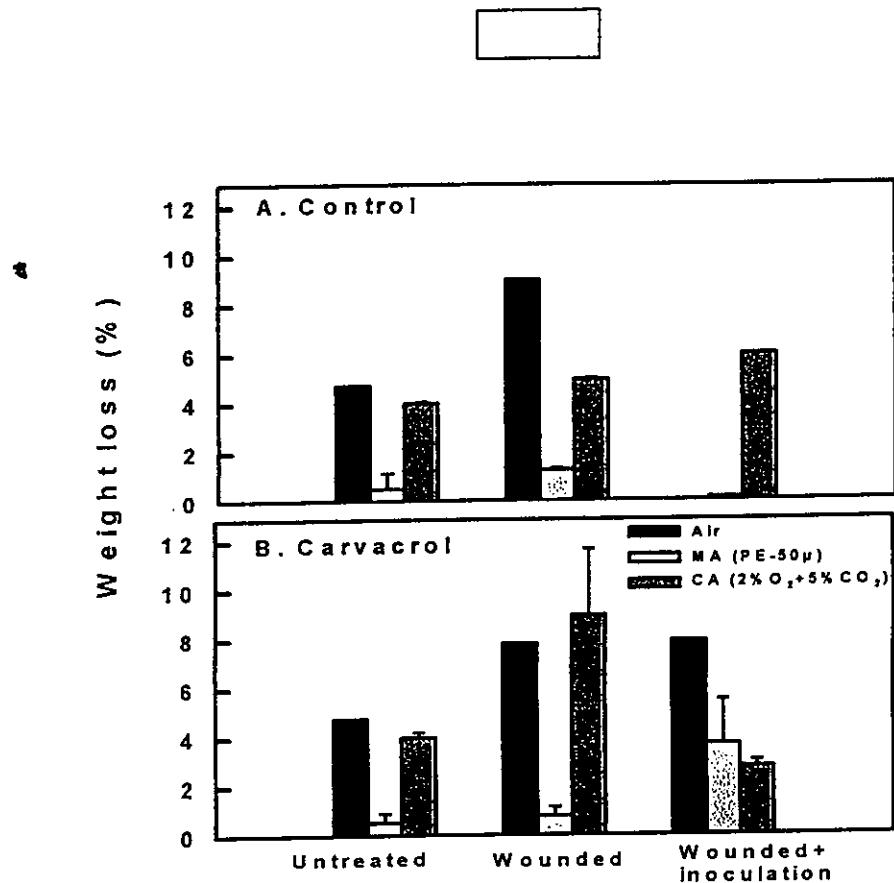
אחסון באווירה מתואמת הפחתת ציפוי את איבוד המשקל בצורה משמעותית בכל סוג הטיפולים, בעוד שאחסון באווירה מבוקרת לא השפיע על איבוד המשקל של פקעות לא מטופלות, הפחתת לחצי את איבוד המשקל של פקעות פצעות והגביר את איבוד המשקל של פקעות מודבקות (איור A 2). האיד בקרבקROL לא השפיע על איבוד המשקל של הפקעות הלא מטופלות או פצעות, אך הגביר את איבוד המשקל של פקעות מודבקות (איור B 2). השימוש של קרבקROL עם אווירה מתואמת היה עיל בהפחחת איבוד המשקל בפקעות הלא מטופלות ופקעות פצעות, בדומה להשפעת אווירה מתואמת בלבד, אך גרם לעלייה מסוימת באיבוד המשקל של פקעות מודבקות בהשוואה לטיפול של אווירה מתואמת בלבד (איור B 2). השימוש של קרבקROL עם אווירה מבוקרת לא השפיע על איבוד המשקל של פקעות לא מטופלות או פצעות בהשוואה לטיפופל של אווירה מבוקרת בלבד, אך הפחתת את איבוד המשקל בפקעות המודבקות (איור B 2).

השפעת הטיפולים על ממד הצימוח הייתה משמעותית ביותר. מההתוצאות המובאות באירור A 3 ניתן לראות שבעוד שהפציעה לא השפיעה על גובה הגבעול, הדבקה עיכבה כמעט לגמרי. אחסון באווירה מתואמת או מבוקרת הגביר יותר מפי 2 את צימוח הגבעול בכל סוג הפקעות (איור A 3). האיד בקרבקROL הגביר את צימוח הגבעול פי 2 בהשוואה לביקורות בכל סוג הפקעות (איור B 3). השימוש של שתי השיטות שמר באופן כללי על רמת צימוח גובהה בכל סוג הפקעות. נראה שלגביהם ממד הצימוח אין יתרון לשילוב של שתי שיטות האחסון, שכן כל שיטה בנפרד תורמת להאצת הצימוח בצורה מקסימלית. תמונה דומה התקבלה בבחינות השפעת הטיפולים על % הפריחה (איור 4).

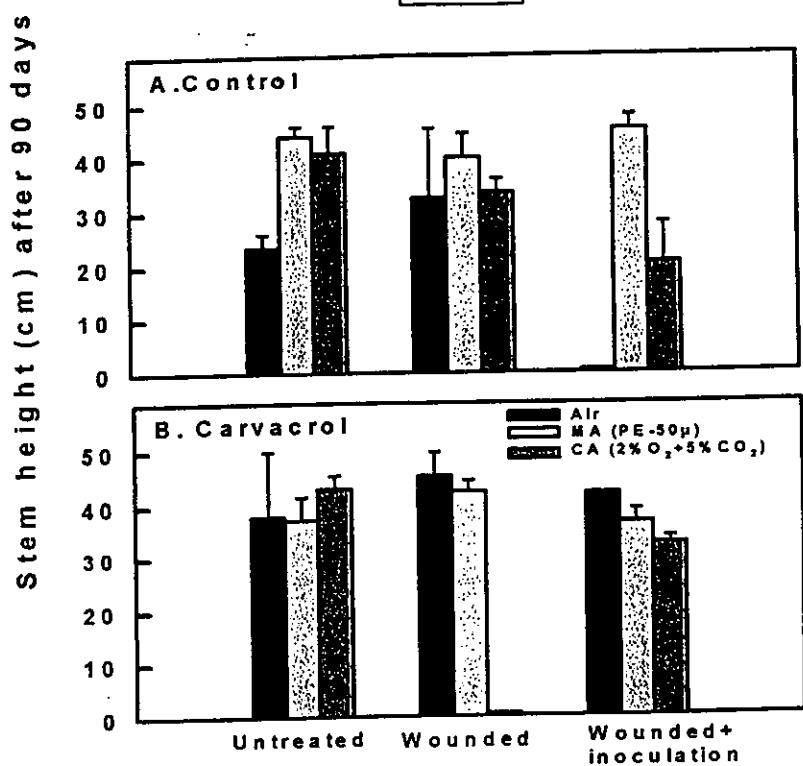
הדבקה עיכה לגמרי את הפריחה בשל עיכוב הצימוח, ורק האחסון באווירה מתואמת הגביר את הפריחה ל- 100% ול- 30% בפקעות לא מטופלות או מודבקות, בהתאם (איור A 4). השפעת האווירה המבוקרת הייתה פחותה, והתקבלה הגברת פריחה משמעותית של 20% רק בפקעות המודבקות. קרבקROL לבדו הגביר את הפריחה רק בפקעות מודבקות. השימוש של קרבקROL עם אווירה מתואמת היה עיל בהגברת הפריחה – 60% בהשוואה לביקורת רק בפקעות המודבקות. נראה לכן שילוב שתי שיטות האחסון מסויע בהגברות על הנגיעות דבר המתבטא בשיפור הפריחה.

**איור 1:** השפעת איזוד בקרבוקול של פקעות ק אלה שניתן בנפרד או במשולב עם אחסן באוירה מבוקרת או מתואמת על שיעור הנגיעות ברקבון רק בתום תקופת האחסון. הפקעות הודבקו מלאכותית בחידק ארכוינית.

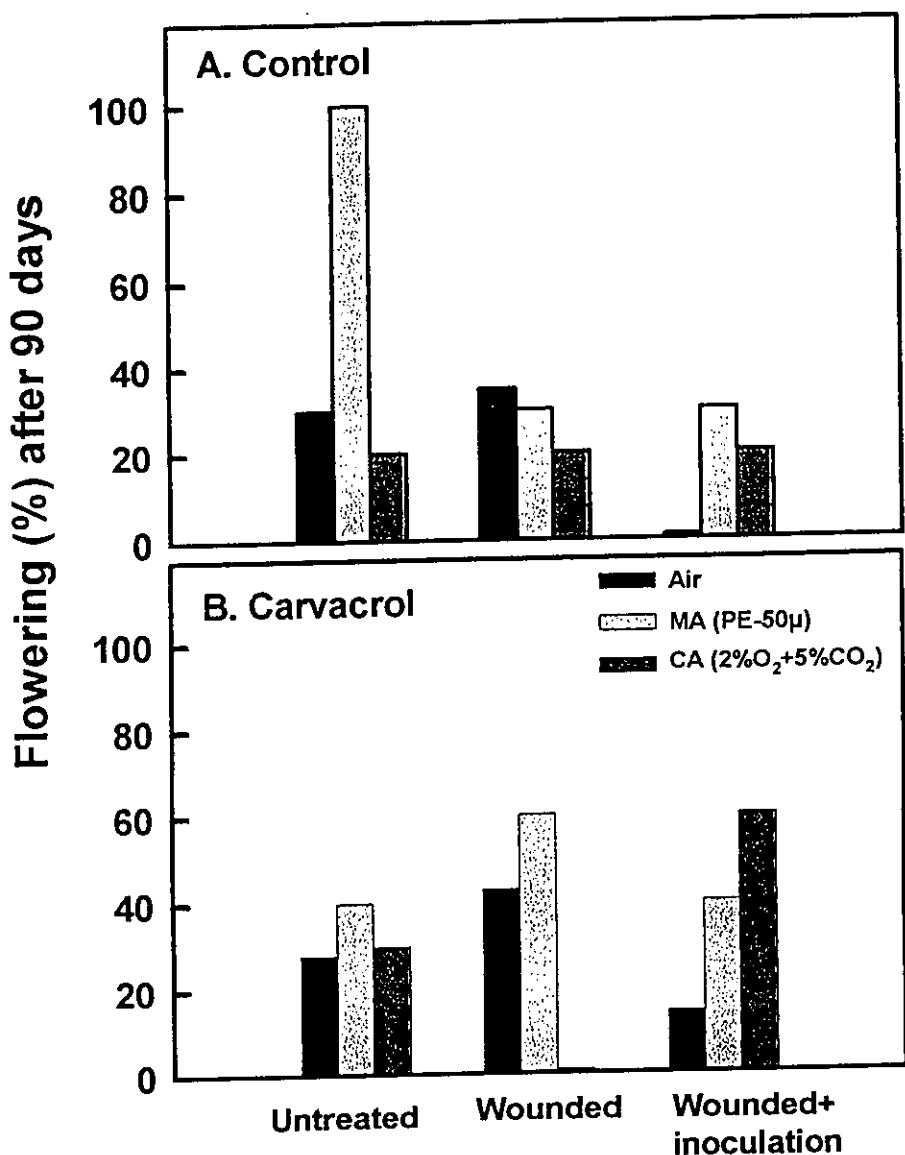




**איור 2:** השפעת איד בקרvacrol בpekעות ק אלה שניתן בנפרד או במשולב עם אחסון באוויר מבוקרת או מתואמת על שיעור איבוד המשקל בתום האחסון. הפקעות הודבקו מלאכותית בחידק ארכונית.



**איור 3:** השפעת איזוד בקרvacrol בפקעות ק אלה שניתן בנפרד או במשולב עם אחסן באויריה מבוקרת או מתואמת גובה הגבעולים. הפקעות הודבקו מלאכותית בחידק ארוחיניה. גובה הגבעולים נמדד 90 ים לאחר השטילה.



**איור 4:** השפעת טיפול איזוד בקרvacrol בפקעות ק אלה שניתן בנפרד או בשילוב עם אחסון באזורה מבוקרת או מתואמת על % הפריחה. הפקעות הודבקו מלאכותית בחידק ארכויניה. % הפריחה חושב עפ"י מספר הפקעות שפרחו 90 ים לאחר השטילה.

### ג.5. יישום קרבקרול על פקעות ק אלה באמצעות דוגן

לאחר שנמצא שアイוד בקרברול עיל בעיכוב התפתחות הרקבון במשך האחסון, נבחן אופן יישום החומר באמצעות דוגן, דבר שעשוי להיות יותר מעשי וקל לחקלאים וגם ימנע במידה איבוד משקל. יישום זה נבחן שם פקעות ק אלה ATIOPICA. הפקעות נtablן לאחר יצעת בתמיסות המכילות דוגן עם קרבקרול בשני ריכוזים: 0.2% או 0.5%. פקעות הביקורת נtablן בדוגן בלבד לאחר יצעה או הושארו ללא טיפול כלל. הפקעות הוכנסו לתוך ארגז פלסטי על גבי ניר סינון לח. הארגז נעטף בשקית והוזג ב- 20 מ"ץ לפחות בתנאים המשירים התפתחות רקבון.

התוצאות המוסכמתות בטבלה 2 מראות את יכולות יישום הקרבקרול בדוגן גם בתנאים משתרי רקבון, שכן אפילו הריכוז הנמוך יחסית של 0.2% עיכב את הנגיעה בהשוויה לביקורת.

**טבלה 2:** השפעת דינוג פקעות ק אלה בנסיבות קרבקרול על שיעור הנגיעה באירועינה בתום האחסון.

טיפול	% נגיעה
ביקורת יבשה	90
ביקורת מדונגת	90
דינוג + 0.2% קרבקרול	60
דינוג + 0.5% קרבקרול	60

### ג. 6 . השפעת טיפול חיטוי בכליוריון וטמפרטורות אחסון על נגיעות פקעות ק אלה ברקבוןרכן

מטרת ניסוי זה הייתה אימונות התוצאות שהתקבלו בניסויים בשנה השנייה שהראו שחייב הפקעות בתמיסת כלור היה עיל ביוטר במניעת התפתחות הרקבון. ניסוי זה בא לבחון את יכולות הכלוריון בעיכוב התפתחות רקבון טبعי במהלך האחסון בטמפרטורות שונות. הניסוי נעשה בפקעות ק אלה ATIOPICA שהובאו מחלקה שידועה שנגעה בחידק ארופיניה. הפקעות נtablן במשך 20 דקות בתמיסת הכלור ולאחר יבושם באוויר הוכנסו לאחסון בטימפ' השונות. שיעור הרקבון נבדק לאחר חודש אחסון.

התוצאות המוסכמתות בטבלה 3 מראות בבירור טיפול בכליור היה עיל ביוטר בעיכוב התפתחות רקבון כאשר הפקעות אוחסנו בטימפ' של 4 - 8 מ"ץ. הטיפול לא היה עיל כאשר הפקעות אוחסנו בטימפ' של 12, 17 ו- 25.

**טבלה 3:** השפעת הטיפול בכליוריון וטמפרטורות אחסון על נגיעות פקעות ק אלה ברקבוןרכן.

טמפרטורה אחסון (מ"ץ)	% נגיעות
0	4
0	8
25	12
36	17
35	25

## ד. מסקנות והשלכותיהן על המשך ביצוע הממחקר או סיום:

1. הח"ד *Erwinia carotovora* הוכח כגורם האחראי לركbung רך בפקעות ק אלה בישראל. הח"ד בודד מרבית פקעות ק אלה ורקבות שהתקבלו ממשקים שונים.
2. חיטוי פקעות ק אלה בטבילה במשך 30 דקות בתמיסת סטריפטומיצין בריכוך 200 ח"מ או החומר אנטיגונטיסטריס הוכח כיעיל במניעת התפתחות רקבון ארזונייה בפקעות מודבקות מלאכותית. השימוש בח"דים האנטיגונטיסטים *Pseudomonas* ו- *Bacillus* הוכח כיעיל במניעת הרקבון, תוצאה שחררה על עצמה גם בשנה זו ומצביעה על כיוון מחקר מעניין.
3. הקרבקרול הוכח כיעיל בעיכוב הח"ד ארזונייה בצלחות פטריות וע"ג הפקעת. הטיפול לא פגע במידה הציגו והפריחה. השילוב של קרבקרול ואויריה מבוקרת הגבר בצורה משמעותית את יעילות הקרבקרול. בנוסף, נמצאה השפעה חיובית בשילוב קרבקרול עם אויריה מתואמת.

## ה. פרוט הפרסומיים המדעיים בכתב ובע"פ

חלקים שונים של עבודה זו דוחו בכינוסים השנתיים ימי עיון בפני מגדי ומדריכים חקלאיים הקשרורים בענף. בנוסף, ניתנו הרצאות על הנושא בכינוסים בינלאומיים בכריתים ובירושלים.

## ו. סיכום על שאלות מוחות:

1. מטרות הממחקר לתקופת הדוח תורו התיחסות לתוכנית העבודה:  
מטרות הממחקר (1) בידוד זיהוי הפטוגנים האחראי להתקפות הריקבון הרך בפקעות ק אלה במשך אחסון. (2) למדוד התנאים המשפיעים על התקפות הריקבון במשך האחסון. (3) בחינה ופיתוח של שיטה/ות הדבורה ייעילות.

## 2. עיקרי הניסויים והוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדוח:

בשלבים הראשונים של הממחקר (שנה ראשונה) נעשה מאמץ לבירור סוגית זיהוי הגורם האחראי למחלת. לצורך זה נעשו בידודים של ח"דים מחלקים שונים של פקעות ק אלה ורקבות שהתקבלו מגדים שונים. בנוסף לשיטת הדיזי הסתנדרטיבית, המבוססת על בדיקות כימיות קיימות בדיקות המבוססות על מבחנים ביולוגיים הנוגנים מייד על זיהות הח"ד לפני יכולת ההדבוקה של פרוסות תפוח אדמה. תבדידי הח"דים שנאפסו שימושו כמקור להדבוקת פרוסות תפוח אדמה לקביעת יכולתם לגרום לרקבון רך. ניסוי הדבורה ראשוני נעשו בסוף שנה ראשונה במטרה לאתר כיוני מחקר לשנה השנייה בתחום זה. בשנה השנייה, הניסויים השונים התמקדו בבחינת שיטות וגישות הדבורה שונות של רקבון רך בפקעות ק אלה. תחילה בחנו שני חומרי חיטוי כימיים (סטריפטומיצין ואנטיגונטיסטריס 200) ושני ח"דים אנטיגונטיסטים (*Pseudomonas* ו- *Bacillus*). ניסוי נוסף נעשה במטרה לבחון אפשרות חיטוי הפקעות באמצעות שילוב של מים חמימים ופורמלן. גישה נוספת הייתה בוחינת השפעת מי כלור, המיצרים ע"י מכשור מיוחד כלור פעיל מי ברח וגלם, על התקפות הריקבון רך בבסיסי גבעולים במשך הזמן וכן בחינת הסברה שהאורדט האינוקולום הקים במשך הזמן מביא בעקבותיו הפתחה בשיעור הריקבונות המתפתחים בפקעות לאחר האסיף. לצורך זה הותקן המכשור בבית רשות במחלקת לאחסון וחוברו אליו מתחים שמוקמו מעל צמחי ק אלה שגדלו בעציים. לבסוף בדקנו את פוטנציאל חיטוי הפקעות ע"י אידויים בשמנים אטריים שהוכחו ייעילים בעיכוב התקפות הח"ד ארזונייה בניסויים *vitro* ח'ן.

בשנה השלישית התמקדנו על ביסוס הממצאים הקודמים של שיטות הדבורה וכן אףין הפרמטרים השונים המשפיעים על יעילות הדבורה. בוחנה השפעת השמן האטריאי קרבקרול על התקפות הריקבון

בפקעות ק אלה , שאוחסנו באוירה מבוקרת ומתואמת. בנוסף, בנוספ, בחנו את ייעילות חומר חיטוי שונים על עיכוב התפתחות רקבונות בפקעות ק אלה שאוחסנו בטמפרטורות שונות.

הרידיק *E. carotovora* זוהה בוודאות כגורם האחראי להתפתחות רקבון רק בפקעות ק אלה. הדיזקי התבסס על שימוש במצבי מזון ספציפיים לגידול חידק זה וגם ב מבחני פטוגניות על רקבות תפוחי אדמה. בניסוי ה dredbra/חיטוי הראשוני נמצאה שטבילה של 30 דקות בתמיסת כלור עיכבה באופן משמעותי התפתחות הרקבון בפקעות. בהמשך, נמצא השנה השניה שהחיטוי פקעות ק אלה בטבילה למשך 30 דקות בתמיסת סטריפטומיצין בריכוז 200 ח"מ או החומר אנטיסטריס הוכח כייל במניעת התפתחות רקבון ארווניה בפקעות מודבקות מלאכותית. השימוש בחידקים האנטוגוניסטים עם פורמלין לחיטוי הפекעות לא מנע התפתחות הרקבון במשך הגידול ואף השפיע לרעה. הטיפול המשולב הייתה הגברת בשיעור הצמחים הרקובים בהשוואה לפекעות הלא מטופלות. אידי הפקעות בשמנים אטרריים של איזוב מצוי וקיים הביא להפחיתה משמעותית בשיעור הצמחים שנרכבו. הקרבקרול הוכח כייל בעיכוב החידק ארווניה בצלחות פטרוי וע"ג הפекעת. הטיפול לא פגע במידדי הצימוח והפריחה. השימוש של קרבקרול ואוירה מבוקרת הגביר בצורה משמעותית את ייעילות הקרבקרול. בנוסף, נמצא השפעה חיובית בשילוב קרבקרול עם אוירה מתואמת. בפקעות ק אלה הושגה הדבירה טוביה של הרקבון בנסיבות חומר חיטוי השינויים רק במשך אחסון ב- 4 מ"צ .

### 3. המסקנות המדעית וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו:

התוצאות מצביעות שלחיטוי חיזוני של פекעות ק אלה יש חשיבות גדולה מאד במניעת התפתחות רקבון הארווניה בתקופת אחסון הפекעות ובמשך הגידול. ככל שרמת המידבק נמוכה יותר הסיכוי להתפתחות הרקבון קטן יותר. שימוש בחומר חיטוי מקובלים עשוי לתת תשובה חלקית לבעה. המחקר מצבע על ציוני מחקר מבטיחים ביותר בכל הקשור לשימוש בחידקים אנטוגוניסטים להדבירה ביולוגית של ארווניה . לחיטוי הפקעות באידי שמנים אטררים יש פוטנציאל ויש להמשיך לברר אפשרויות "ישומי המשען".

### 4. הבעיות שנדרשו לפתורן /או השינויים שחלו במהלך העבודה:

"יש להמשיך לבחון את פוטנציאל היישום החקלאי של טיפול היטוי השינויים במיוחד הטיפול בקורברול והחידקים האנטוגוניסטים.

### 5. האם החול כבר בהפעלת הידע בנצח בתקופת הדו"ח – יש לפרט פירסומים – כמפורט בביבליוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות ומי עיין – יש לפרט מקומות ותאריך:

חלקים שונים של עבודה זו דוחו בכינוסים השנתיים ומי עיין בפני מגדל ומדריכים חקלאיים הקשרים בענף. בנוסף, ניתנו הרצאות על הנושא בכינוסים בינלאומיים בכיריתים במאי 1999 ובירושלים במרץ 2000 במסגרת כינוס Postharvest 2000.