

שם התוכנית: בחינת עמידות חיידקי חירכון לסטרנר

חוקרים: מרי דפני ילין, מרים זילברשטיין, אורלי מאיריס.

מבוא ותאור הבעיה: ההתמודדות עם מחלת החירכון (נגרמת על ידי החיידק *Erwinia amylovora*) בישראל התבססה שנים רבות על השימוש בתכשיר יחיד - סטרנר (oxolinic acid). במשך השנים התפתחו תבדידים שפיתחו עמידות מונוגנית (עמידות איכותית - הנגרמת כתוצאה ממוטציה אקראית בגן יחיד) לתכשיר סטרנר בריכוז 50 ppm. חיידקים המכילים עמידות זו מתרבים בעקבות שימוש תכוף בתכשיר, אך בשל כושר תחרות (fitness) נמוך יחסית והעדר שימוש נוסף בתכשיר, הם נעלמים בעונה העוקבת. בנוסף לעמידות האיכותית, ישנה התפתחות של עמידות פוליגנית (עמידות כמותית - הנגרמת כתוצאה ממוטציות במספר גנים). ד"ר שולה מנוליס ופרופ' דני שטינברג בדקו את אוכלוסיית חיידקי החירכון בין השנים 1998 ועד 2014, וראו שבמשך השנים עולה שיעור התבדידים הגדלים על ריכוזים נמוכים של סטרנר (5 ppm). זהו שינוי איטי ומתמשך, המתרחש במספר חלקות במקביל. בחלקות בהם נפוצים תבדידים שפיתחו עמידות כמותית - ניתן להמשיך ולהשתמש בתכשיר סטרנר, אך מידת יעילותו יורדת עם השנים. משנת 2010 הומלץ להעלות את ריכוז סטרנר מ 0.15 ל 0.2%, והחל מ 2014 הומלץ לשלב את תכשיר הסטרנר עם תכשירי נחושת, במטרה לעכב את תהליך התפתחות העמידות הכמותית כנגד התכשיר סטרנר.

מטרת המחקר: לבחון את רמת העמידות של תבדידי חירכון בשנתיים האחרונות - לאחר שילוב נחושת במערך ההדברה.

מועד התחלה וסיום המחקר: 2017-2018.

מהלך המחקר ושיטות עבודה: בשנת 2017 נאספו דגימות מ 16 מטעי אגס ו 10 מטעי תפוח נגועים. בשנת 2018 נאספו דוגמאות מ 11 מטעי אגס נגועים: ראש פינה, חוות מטעים, רמות נפתלי, אפיק, דישון, נאות גולן, כפר יובל, יראון, כפר חרוב, אפיק, ונאות גולן. הבידוד התבצע מרקמת הגבול בין רקמה נגועה לרקמה בריאה, על גבי מצע מזון סלקטיבי CCT (חברת Difco). המכיל 5 ppm ציקלו-הקאמיד ו 20 ppm Thallium Nitrate. עמידות לסטרנר נבחנה לכת תבדיד (מושבה מייצגת מרקמה נגועה שנלקחה ממקור שונה) על ריכוזים של 0, 5, 10, 25, 50, 100 ו 200 ppm. לאחר יומיים נספרו המושבות שגדלו בכל ריכוז.

פירוט התוצאות וההתקדמות המקצועית שהושגה: בשנת 2017, מבין תבדידי חירכון נמצא כי 23% תבדידים עמידים ל Oxolinic acid בריכוז של 50 ppm או יותר. ב 2018, לא נמצאו כלל תבדידים עמידים לסטרנר בריכוזים אלו. על ריכוזים נמוכים של סטרנר 5 ppm ומעלה, גדלו 46% ו 63.6% מכלל התבדידים בשנים 2017 ו 2018, בהתאמה (איור 1).

איור מס' 1 – מספר תבדידי *E. amilovora* שגדלו על ריכוזים שונים של Oxalinic acid במצע CCT ביחס לתבדידים שגדלו על מצע ללא Oxalinic acid. ב 2017 בחנו תבדידים של אגס ותפוח. בשנת 2018 בחנו רק תבדידים מאגס.

שנת איסוף	מין	0 ppm	5 ppm	10 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm
2017	אגס	16	7	6	4	0	3	2
	תפוח	10.0	5.0	5.0	3.0	2.0	3.0	3
סה"כ 2017		26.0	12.0	11.0	7.0	2.0	6.0	5
אחוז שגדלו על כל ריכוז			46.2	42.3	26.9	7.7	23.1	19.2
2018	אגס	11	7	5	0	0	0	0
אחוז שגדלו על כל ריכוז			63.6	45.5	0.0	0.0	0.0	0.0

סיכום ותוכניות להמשך: (i) הופעת העמידות ה**איכותית** הינה אקראית ולא ניתן לחזות מתי, היכן ובאילו שכיחויות תופיע. יחד עם זאת, ניתן להניח שבשנים בהן רמת הנגיעות בחירכון גבוהה ואוכלוסיית החיידקים מרובה, הסבירות להופעת העמידות האיכותית גבוהה יותר מאשר בשנים בהן רמת הנגיעות נמוכה (ואז האוכלוסייה קטנה). העמידות האיכותית מופיעה באופן אקראי, ונעלמת בהיעדר שימוש תכוף בתכשיר סטרנר. ב 2017 נמצאו 23% תבדידים בעלי עמידות זו, אך ב 2018 לא נמצאו כאלה כלל. בשנים הקרובות נמשיך לעקוב אחר רמת העמידות של החיידקים, ורק בעוד כמה שנים ניתן יהיה לדעת האם הסבירות להופעת עמידות איכותית יורדת, בזכות שינוי ממשק ההדברה. **(ii)** הופעת העמידות ה**כמותית** התגברה בהדרגה עם השנים בהם השתמשו בסטרנר כתכשיר יחיד. בדו"ח זה הראינו כי תוספת נחושת ב 2014 למערך ההדברה הפחיתה את התפתחות העמידות הכמותית.