

שם התכנית:

בדיקת האינטראקציות בין *M. phaseolina* ל-*H. maydis* כגורמי מחלה בתירס ובכותנה

שם החוקרים: אופיר דגני, שלומית דור, רוני כהן, און רבינוביץ ושאל גרף

רקע ותיאור הבעיה:

מחלות המועברות בקרקע עשויות להיגרם כתוצאה מכמה פתוגנים המשפיעים זה על זה ועל הצמח. אכן, במקרים רבים מבודדים משורשי צמחים חולים ושאינם חולים מספר פטריות החשודות כגורמי מחלה. הפטרייה *Harpophora maydis* גורמת למחלת נבילה קשה (Late wilt) בזני תירס רגישים ומאופיינת בהתייבשות הצמח הבוגר כתוצאה מחסימת רקמות ההובלה על ידי הפטרייה [1, 2]. בדומה לכך, פטריית הקרקע *Macrophomina phaseolina* מפתחת תפטיר וגופי ריבוי בצינורות ההובלה של מגוון פונדקאים, ואלו מביאים להתייבשות הצמח ונבילתו [3]. צמחי כותנה מהזן פימה רגישים במיוחד למחלה זו. המצאות שני הפתוגנים יחד בצמחי כותנה חולים, באזור יבנה ב- 2017, העלתה את האפשרות לקשר ביניהם. אישוש להשערה זו התקבל מניסוי מעבדה: סדרת ניסויים בחדר גידול, המלווים באיתור מולקולארי מבוסס Real-Time PCR, אשרו את המצאות הפטרייה *H. maydis* בתוך שורשי כותנה (מזן פימה) שגדלו בקרקע נגועה. בצמחים אלו, אילוח הקרקע בפתוגן גרם לפגיעה בביומסת השורש ובהתפתחות הפנולוגית [4]. עבודות עדכניות מדווחות שהפטרייה *M. phaseolina* פועלת יחד עם *H. maydis* ועם פתוגנים אחרים, כמו *Fusarium verticillioide*, בקומפלקס שנקרא - Post Flowering Stalk Rot Complex אשר גורם נזקים קשים בתירס [5].

מועד התחלה ומועד סיום המחקר לתקופת הדו"ח: 1/1/2018-31/12/2018

מהלך המחקר ושיטות העבודה:

בסדרת ניסויים המלווה באיתור מבוסס Real-Time PCR, בתירס וכותנה, בנבטים בתנאים מבוקרים, ובעצצים לאורך עונת גידול מלאה, נבחן טיבם של יחסי הגומלין בין שני הפתוגנים.

בחינת האינטראקציה בין *H. maydis* ו *M. phaseolina* בנבטי תירס וכותנה. הכותנה היא הגידול העיקרי הנפגע מ-*M. phaseolina* והינו אחד הפונדקאים הידועים המעטים ל-*H. maydis*. לפיכך נבחנה האינטראקציה בין שני הפתוגנים בנבטים בעצצים בשני פונדקאים צמחיים, תירס מזן פרלוד וכותנה מזן פימה בתנאים מבוקרים. הניסוי בוצע בחדר גידול, 16 שעות אור, טמ' ממוצעת 25 מ"צ לחות כ- 30%. נבחנו 4 טיפולים: כבול מאולח ב-*H. maydis*, כבול מאולח ב-*M. phaseolina*, כבול מאולח בשני הפתוגנים, ביקורת - קרקע ללא אילוח. הניסוי בוצע בעצצי 2 ליטר, ב- 5 חזרות לטיפול. אילוח משלים בעצצי הטיפולים בוצע באמצעות הדבקת הקרקע בזרעי חיטה/ דוחן מאולחים בפתוגנים עם הזריעה (3.16), 20 גרם זרעים לעציץ. בכל עציץ נזרעו 5 זרעי תירס או כותנה. לאורך הניסוי ובסופו נבדקו אחוזי הצצה בכל טיפול, מצב צמח כללי, הופעת

תסמינים, שלב פנולוגי, בחינה מולקולארית של רקמת השורש באמצעות הפקת DNA ואנליזת qPCR להמצאות הפתוגנים בצמח.

בחינת האינטראקציה בין *H. maydis* ו-*M. phaseolina* בתירס ובכותנה בעציצים לאורך עונת גידול מלאה. על מנת לבחון את השפעת הפתוגנים בשלבים מאוחרים של הגידול בהם מופיעים תסמיני המחלה בברור ובהם ניכרת השפעתה על היבול, נערך מבחן עציצים לאורך עונת גידול מלאה, בתנאי שדה (לא בתוך חממה), בחוות הניסיונות הממוקמות כ- 1 ק"מ מזרחית לצומת הגומא, באצבע הגליל. הניסוי נערך ממאי עד אוקטובר, בטמפ' ממוצעת בעונת הגידול של 26.1 מעלות צלזיוס ולחות ממוצעת של 60.5%. (נתוני תחנת מו"פ צפון, "חוה"). לצורך הניסוי הוכנו 100 עציצים של 10 ליטר כל אחד, עם אדמה מקומית כבדה - קרקע משדה גד"ש קיבוץ נאות מרדכי בעל היסטוריה של נגיעות. הקרקע עורבבה עם 30% פרלייט גס לצורך איזור. אילוח משלים בעציצי הטיפולים בוצע ב- 3.16 באמצעות הדבקת הקרקע בזרעי חיטה/ דוחן מאולחים עם הזריעה. כ- 40 גרם זרעים לעציץ, וכן במקרופומינה באמצעות נבגים אשר נשטפו מצלחות גידול והוזלפו לקרקע עם הזריעה (10 צלחות בנות 6 ימים לליטר מים). נבחנו 5 טיפולים: קרקע מאולחת ב-*H. maydis*, קרקע מאולחת ב-*M. phaseolina*, קרקע מאולחת בשני הפתוגנים, ביקורת קרקע משדה חולה ללא תוספות אילוח וביקורת קרקע מחוות גדש אשר אין לה היסטוריה של נגיעות בפתוגנים. צמחי הכותנה והתירס נזרעו בצפיפות של 5 זרעים לעציץ ודוללו לאחר הצצה לצמח אחד לעציץ. השקיה נעשתה בטפטפות - 2 טפטפות לעציץ. עד הצצה הושקו העציצים בהשקיית רוויה כ- 1 ליטר פעם ביומיים. לאחר הצצה הופחתה ההשקיה לחצי ליטר פעם ביומיים – במשטר מים שעל סף עקה. הניסוי בוצע ב- 10 חזרות לטיפול. לאורך הניסוי ובסופו נבדקו המדדים הבאים: אחוזי הצצה בכל טיפול, מצב צמח כללי, הופעת תסמינים, שלב פנולוגי, בחינה מולקולארית להמצאות הפתוגנים בצמח, משקל יבול ומדדי התייבשות.

תוצאות ומסקנות:

בנבטי תירס בני 40 יום, אילוח בשני הפתוגנים, שנבחן בהשוואה לאילוח בכל אחד מהפתוגנים לבד, העלה את כמות ה-DNA של *H. maydis* ברקמות השורש בתירס ואת כמות *M. phaseolina* בשורשי כותנה. בעציצים לאורך עונת גידול מלאה (82 ימים בתירס ו- 154 ימים בכותנה), התקבלה ברקמות הגבעולים תמונה דומה בתירס, אך תמונה הפוכה בכותנה – ירידה בכמות היחסית של *M. phaseolina* בצמח, בהשוואה לאילוח בפתוגן זה לבד. בתירס ובכותנה גרמה נוכחות שני הפתוגניים יחד לעליה במדדי הגידול (גובה, משקל שורש ומשקל נצר), בהשוואה לאילוח בכל אחד מהפתוגנים לבד, אך בתירס היא לא השפיעה על ההתייבשות וגרמה לירידה במשקל היבול. בכותנה טיפולי האילוח לא השפיעו על מספר הזרעים, שהיה דומה לביקורת. ממצאים אלו מעידים על מעורבות שני הפתוגניים בגרימת מחלות התייבשות בתירס ובכותנה. התוצאות מצריכות חזרה נוספת לאימות הממצאים ומעודדות הרחבת המחקר לבחינת יחסי הגומלין בין הפתוגנים בפונדקאים נוספים ובחינת המעורבות של פטריות נוספות דוגמת *Fusarium verticillioides* שנמצאה בצמחי תירס נגועים.

רשימת ספרות:

1. Degani O, Movshowitz D, Dor S, Meerson A, Goldblat Y, Rabinovitz O. Evaluating Azoxystrobin seed coating against maize late wilt disease using a sensitive qPCR-based method. *Plant Disease*. 2018.
2. Degani O, Cernica G. Diagnosis and Control of *Harpophora maydis*, the Cause of Late Wilt in Maize. *Advances in Microbiology* 2014; 4(2):94-105.
3. Cohen R, Elkabetz M, Edelstein M. Variation in the responses of melon and watermelon to *Macrophomina phaseolina*. *Crop Protection*. 2016;85(Supplement C):46-51.
4. Degani O, Dor S, Graph S, Dafny-Yelin M, Rabinovitz O, editors. Uncovering host range for the maize pathogen *Harpophora maydis* International Congress of Plant Pathology (ICPP) 2018: Plant Health in A Global Economy; 2018 August 01, 2018; Boston, USA.
5. Khokhar MK, Hooda KS, Sharma SS, Singh V. Post flowering stalk rot complex of maize- Present status and future prospects. *Maydica*. 2014;59(3):226-42.