

**הדברה כימית בתיחוח ובריסוס כנגד הגורם למחלת הנבילה המאוחרת בתירס**

שם החוקרים: אופיר דגני, שלומית דור, און רבינוביץ, אסף חן ושאל גרף

**רקע ותיאור הבעיה:**

תיאור המחלה. מחלת הנבילה המאוחרת (late wilt) בתירס נפוצה מזה כ- 40 שנה בגליל העליון ובעיקר בעמק החולה. בשנים האחרונות החריפה המחלה והתפשטה לעמק יזרעאל, לבית שאן (2008), לדרום רמת הגולן (2011), ולבית שמש ויבנה שבדרום הארץ (2013). המחלה תוארה לראשונה במצריים ב- 1960 [1] והוגדרה כמחלת התירס החמורה ביותר באזורנו [2-4]. בהמשך דווחה המחלה גם בארצות נוספות והתפשטות המחלה נקשרה להתחממות כדור הארץ [5]. היא מוערכת כגורם סיכון משמעותי לייצור התירס בארה"ב [6, 7]. בשדות מסוימים ובצמחי זנים רגישים עלולה המחלה לפגוע ב- 100% מהצמחים [8]. המחלה מאופיינת בנבילה מהירה יחסית של התירס המתרחשת לרוב בגיל 60-80 יום, מלפני שלב הפריחה (tasseling) ועד זמן קצר לפני הבגרות (מכאן השם נבילה מאוחרת). סימני התייבשות ראשוניים מופיעים 50 יום לאחר הזריעה, מתקדמים מחלקו התחתון של הצמח כלפי מעלה וכוללים הצהבה והתייבשות של העלים, שינוי צבע לצהוב-חום של צרורות ההובלה, ולאחריהם הופעה של פסים אדומים-חומים על הפרקים התחתונים, התייבשות הגבעול התחתון (בעיקר בפרקים), ופגיעה בקלחים. אם נוצרים זרעים הם מכווצים ובעלי התפתחות מועטה. הזרעים המודבקים עשויים להפיץ את המחלה [10, 11]. בנוסף גורמת הפטרייה לפגיעה באחוז הנביטה ולהפחתה משמעותית בהתפתחות השורשים של צמחים שגדלו במצע מאולח [12].

**דרכי התמודדות.** בעבר נעשו ניסיונות להדביר את הפתוגן בשיטות אגרוטכניות (דישון מאוזן והצפה) [13, 14], כימיות [15-17], ביולוגיות [18-22], פיזיקאליות (חיטוי סולארי) [23] ובאמצעות תרכובות מצמחים [24]. למרות הפוטנציאל של חלק משיטות אלו, כיום, האמצעי היחיד המיושם בארץ להתמודדות כנגד המחלה הוא שימוש בזני תירס עמידים. יחד עם זאת, במצריים ובספרד נמצאו קווים אלימים של הפתוגן המאיימים גם על קווים אלו [25, 26]. בקיץ 2010 החלו להופיע בעמק החולה סימני מחלה גם בזני תירס שעד אז נחשבו לעמידים (דגני ועמיתיו 2010, נתונים שלא פורסמו). פונדקאים נוספים ל- *H. maydis* דוגמת תורמוס, כותנה [27, 28], אבטיח וזיפן ירוק [29], מציגים תסמיני מחלה קלים בלבד. פונדקאים אלו מאפשרים את הישרדות הפתוגן בשדה לאורך זמן גם במידה ונשמר מחזור גידולים.

**תוצאות המחקר עד כה.** בעבר התאמנו שיטה מבוססת PCR [30] תוך שימוש במקטע DNA ספציפי ל- *H. maydis* [10] ובצענו אימות מורפולוגי ומולקולארי לפתוגן שבודד מצמחים נגועים מעמק החולה. המבחן המולקולארי שיושם בנבטים בצמחים בחממה איתר את מקטע ה-DNA הייחודי לפתוגן ברקמות של זן תירס רגיש למחלה, Jubilee, וזן תירס בעל רגישות מופחתת, Royalty [16]. אף כי הנבטים המאולחים לא הראו סימני התייבשות, נמצא כי אורך השורשים והביימוסה הרטובה שלהם נפגעו משמעותית, בדומה למדווח בספרות [31]. בניסוי שדה (נאות מרדכי, קיץ 2008), לבחינת ההבדלים בפתוגנוזה בין שני זני תירס אלו [10] (נספח 1, איור 2) נמצא כי הפתוגן מתבסס גם בצמחי תירס בעלי רגישות מופחתת למחלה, אם כי בעיבוד של כשבועיים בהשוואה להתפתחותו בזנים רגישים. יתר על כן הזרעים של זני תירס עמידים עלולים לסייע בהצפת המחלה [10]. סריקה בצלחות תרבית הצביעה על מספר תכשירים בעלי השפעה מעכבת על התפתחות הפתוגן העשויים לסייע בהתמודדות עם המחלה [16]. אחד מתכשירים אלו, Azoxystrobin (AS), עמיסטר, מכתשים, ביישום משולש בהגמעה (שלוחה לשורה) ובמינון 112.5 ג' ח.פ. לדונם, עיכב באופן משמעותי את התפתחות המחלה בשדה ניסוי נגוע (נאות מרדכי, 2010) והביא לעליה של 100% ביבול, בהשוואה לביקורת לא מטופלת [32]. כל ניסיון לצמצם את מספר היישומים של תכשיר ההדברה, להפחית בכמות התכשיר, ליישמו בשלוחה לכל 2 שורות או לרססו על בסיסי הגבעולים (במקום להגמיעו) הוביל לפגיעה באפקטיביות של הטיפול [32]. יישום זה נחשב עד היום לבלתי כלכלי ולא יושם בארץ בקנה מידה מסחרי.

לאחרונה פיתחנו שיטה לאיתור ומעקב אחר הפתוגן המבוססת על Real Time PCR (qPCR) [8]. שיטה זו אפשרה לנו איתור עקבי ורגיש של הפתוגן גם ברקמות בהן הוא נמצא בשלבי התבססות ראשוניים, או שכמות ה-DNA שלו בהן הייתה נמוכה מאוד, דוגמת זרעים מאולחים או נבטים. השיטה שימשה אותנו בניסויי עיטוי זרעים בתכשיר AS, בנבטים (עד גיל 40, מצב פנולוגי של עלה רביעי). עיטוי בפונגיצידי זה גרם לירידת כמות ה-DNA של *H. maydis* אל מתחת לסף הגילוי, ולמניעת הפגיעה של הפתוגן בביימוסת הצמח. בשדה גרם עיטוי זרעים זה להפחתת כמות ה-DNA של הפתוגן בצמחים ולמניעת התסמינים בקווי תירס בעל רגישות מופחתת, אך לא מנע את הידבקות הצמחים במחלה, ועל רקע של אילוח כבד בקרקע לא סיפק הגנה לצמחים הרגישים כנגד המחלה [8]. יתכן ושיטת עיטוי הזרעים לא מאפשרת שמירת ריכוז מספק של הפונגיצידי בתוך הצמח להגנתו בשלבי הגידול הראשוניים בשדה, אך נראה כי היא מספקת לצמח שכבת הגנה העשויה לסייע לו. בקיץ 2017 בצענו ניסוי שדה בהדברה כימית משולבת (עיטוי והגמעה) ב- AS ובתכשירים נוספים [2]. כאן נבחן טיפול, שהינו ישים מבחינה כלכלית, הכולל הגמעה משולשת של התכשיר Difenoconazole + Azoxystrobin (AS+DC), במינון 250 ג' ח.פ. לדונם) או תערובות פונגיצידיים אחרות,

בטיפול משולב עם עיטוי זרעים, בשלוחה לשתי שורות צמודות (מרווח שורות של 50 ס"מ במקום 96 ס"מ). בנוסף נעשה שימוש באיתור מולקולארי מבוסס Real-Time PCR שפותח לאחרונה. עיטוי זרעים בתערובת AS+DC עיכב את התפשטות הפתוגן ברקמות התירס עד גיל 50 (בסמוך למועד הופעת התסמינים הראשונים וההפריה בגיל 55-57 יום), אך לא מנע את התפתחות המחלה מאוחר יותר (בגיל 70). טיפול ההגמעה ב- AS+DC היה המוצלח ביותר ובטיפול לשתי שורות צמודות הוריד את כמות ה-DNA של הפתוגן בשורש ובגבעול של צמחי הניסוי לרמות אפסיות. טיפול זה הפחית את הופעת התסמינים ב- 41% והעלה את כמות היבולים הכללית ב- 36%, לרמה המקובלת בשדות בריאים. יתר על כן, כמות היבולים מסוג אי' (משקל קלח מעל 250 גר') בטיפול זה עלתה מ- 58% ל- 75% [2]. לראשונה, 60 שנה מאז גילויה של מחלת התירס החמורה ביותר באזורנו, הושג פתרון כלכלי שניתן ליישמו בקנה מידה רחב בשדות למיגון זני תירס רגישים. יחד עם זאת ההגמעה בשלוחה לשתי שורות צמודות מתאפשרת רק במקומות בהם יש קומביין תבואות המותאם לעבודה על שתי שורות צמודות והיא יקרה בהשוואה להשקיה בקונוע הנהוגה בעמק החולה.

בשנים האחרונות נפוץ מאד ברב גידולי השדה כמו גם בגידול תירס מתוק ומספוא שימוש במרסס מכוון מוגן המאפשר גם לרסס חומרים קוטלי פטריות על בסיסי הגבעולים ולהצניעם בהשקיה בקונוע. הפונגיצידיים שרוססו יכולים להיקלט מהקרקע על ידי מערכת השורשים ולנוע בצמח. הנושא נבחן בשיתוף פעולה עם ד"ר און רבינוביץ (שירות ההדרכה והמקצוע - שה"מ, משרד החקלאות), בקיץ 2015 (גד"ש שמ"ש, תוצאות שלא פורסמו) בחלקה הידועה כנגועה במחלה. החלקות המטופלות רוססו פעמיים, בהפרש של 20 ימים, בתכשיר AS במינון 200 סמ"ק לדונם. הקטע השני לא טופל. בתירס מתוק (זן רויאלטי) הריסוס בפונגיציד AS עיכב את התייבשות הצמחים 72 יום מהזריעה (22 יום מהפריה, לפני הבשלת חלב) אך 8 ימים לאחר מכן השפעת החומר פחתה.

עבודה זו שמה לה למטרה לבחון דרכי יישום חדשות של תכשירים כימיים שהוכחו כיעילים בשדה: שיפור ההתמודדות עם מחלת הנבילה המאוחרת בתירס על ידי בחינת יישום בתיחוח, ובריסוס של התכשיר AS שהוכח כיעיל בשדה. בנוסף יושם כאן לראשונה שיטה לגילוי מוקדם ושיפור ההתמודדות עם מחלת הנבילה המאוחרת בתירס על ידי חישה מרחוק באמצעות איתור תרמי. ניסויי התיחוח והריסוס שבוצע בשדה נגוע בקיבוץ נאות מרדכי, השווה לניסויי שדה נוסף, בקיבוץ עמיר, שבחן את שיטת היישום של חומרים בהגמעה (בטפטפות) שהוכחה קודם לכן כיעילה [2], ונבחנה כאן במתכונת משופרת.

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

#### ניסויי שדה בתיחוח וריסוס – נאות מרדכי 2018

##### מהלך המחקר ושיטות העבודה:

הניסויי נזרע בחלקה בעלת היסטוריה של נגיעות במחלת הנבילה המאוחרת בנאות מרדכי [32]. החלקה הושקתה בקונוע. הניסוי בוצע על זן התירס ג'ובילי, זן מכלוא מתוק רגיש למחלת הנבילה המאוחרת מתוצרת חברת Syngenta. זרעי זן זה לא עברו עיטוי בחומר הדברה. הניסוי בוצע במתכונת של בלוקים באקראי ב- 10 חזרות. במטרה לעכב את מחלת הנבילה המאוחרת בתירס יישמנו בתיחוח ובריסוס, לפני הזריעה ומהלך הגידול, את התכשיר AS:

- ביקורת לא מטופלת.
- 500 סמ"ק תיחוח
- 1000 סמ"ק תיחוח
- 1500 סמ"ק תיחוח
- 2000 תיחוח
- 500 סמ"ק ריסוס בלבד (13, 29, 41 יום מהזריעה).
- 500 סמ"ק תיחוח + 750 ריסוס בשלושה מועדים כני"ל (סה"כ 250 לכל ריסוס)
- 750 סמ"ק תיחוח + 750 ריסוס בשלושה מועדים כני"ל (סה"כ 250 לכל ריסוס)
- 1250 תיחוח + 750 סמ"ק ריסוס בשלושה מועדים כני"ל (סה"כ 250 לכל ריסוס)

סה"כ: 9 טיפולים \* 10 חזרות = 90 חלקות טיפול

יישום AS בריסוס: התכשיר AS רוסס במרסס מכוון על בסיסי הגבעולים והוצנע בהשקיה בקונוע, ב- 3 יישומים (13, 29 ו- 45 מהזריעה), בריכוזים המפורטים מעלה. יישום AS בתיחוח: התכשיר AS יישום בערבוב קרקע מכאני לפני הזריעה, בתיחוח לעומק של כ- 10-15 ס"מ. הביקורת היו חלקות ללא יישום חומר ההדברה.

לאורך הניסוי נבדקו: אחוזי נביטה לאחר 17 ימים, מצב צמח כללי, הופעת תסמינים, שלב פנולוגי ואיתור מבוסס על qPCR של DNA הפטרייה ברקמות הצמח - הופעת DNA לאחר 29 יום (ברקמת השורש), 58 ו- 73 יום (ברקמת הנצר) מהזריעה. כל דיגום כלל 10 חזרות מכל טיפול שנאספו מצמחים המייצגים את

החלקה (נדגמו באופן שרירותי). לאורך הניסוי בוצע, צילום שדה הניסוי במצלמה רגילה ובמצלמה תרמית, הערכת התייבשות ואומדן יבולים בטיפולים השונים.

**פיתוח שיטה מבוססת אתור תרמי של תסמיני המחלה בשדה.** כאן בוססה שיטה שהוצגה קודם לכן [25] המאפשרת לעקוב אחר טמפרטורת העלווה של צמחי תירס. זו משקפת את מוליכות רקמות ההובלה והתפתחות המחלה עוד לפני הופעת התסמינים הגלויים. בניסוי שנערך בשדה נאות מרדכי, בחנו את השינוי בטמפרטורת נוף הצמחים מקבוצות הניסוי ומהביקורות הלא מאולחות. אנו סרקנו את הצמחים במצלמה תרמית, מהאוויר, לאיתור שינויים בטמפרטורת העלווה, לאחר 34, 41, 52, 59, 65, 71 מהזריעה, באמצע היום (00:00-14:00)

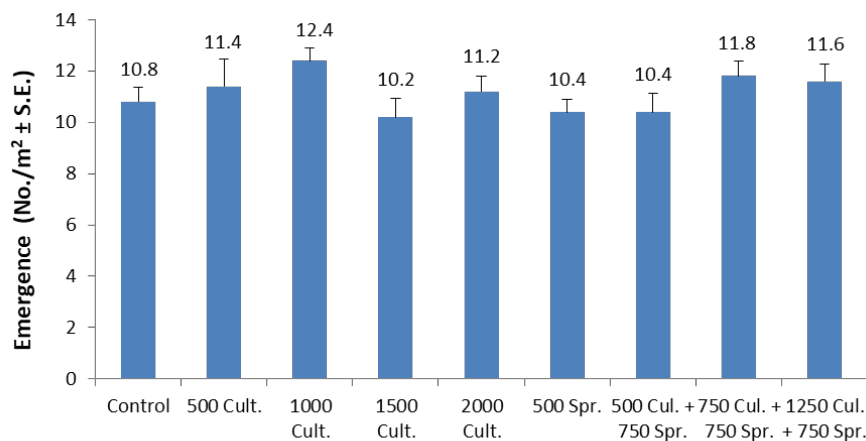
**טבלה 1.** תכשיר ההדברה שישמש בניסוי השדה כנגד הפתוגן *Harpophora maydis* \*

Fungicide	Manufacturer, Supplier	Active Ingredient (common name)	Group Name	Chemical Group	Target Site of Action	Active Ingredient Concentration (g/l)
Amistar®	Makhteshim (Ber sheva, Israel)	Azoxystrobin	QoI (Strobilurin) fungicides (quinone outside inhibitors)	Methoxy-acrylates	C3 complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene) (inhibition of mitochondrial respiration)	250

\* This information is based on the fungicides data sheet published by the manufacturer and on the Fungicide resistance action committee (FRAC) Code List.

**תוצאות:**

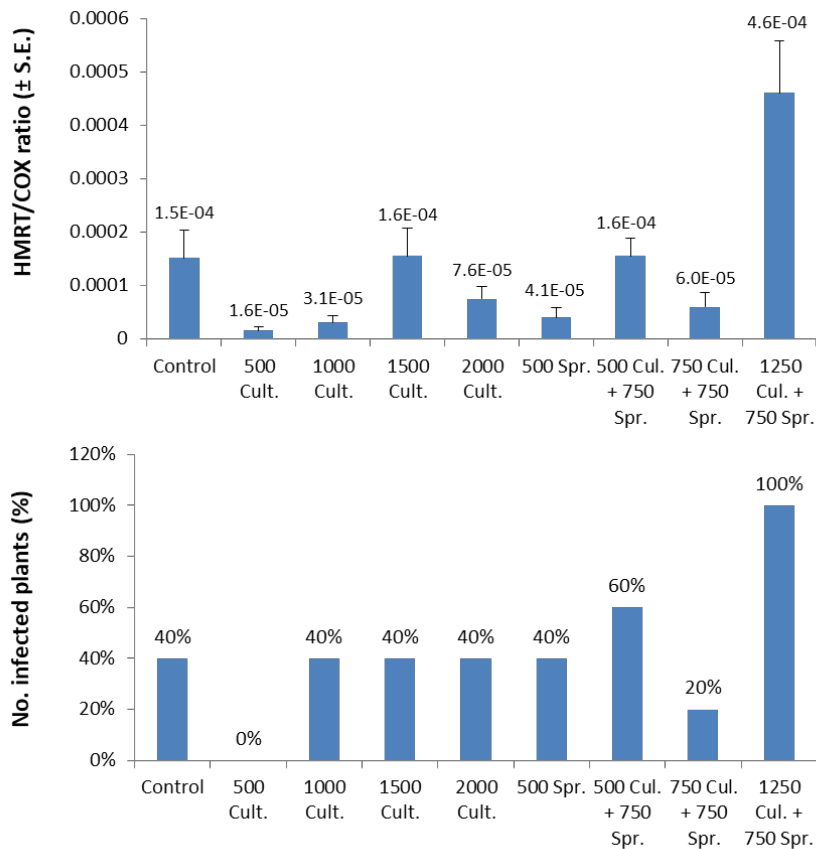
הניסוי בוצע בהצלחה על פי המתוכנן, כמתואר מעלה. יחד עם זאת המחלה התפרצה בשדה בצורה חלשה מאוד. טיפולי התייבשות והריסוס לא פגעו בשיעורי ההצצה (איור 1) ומכאן שאינם רעילים (פיטוטוקסים) לצמחים. תסמיני התייבשות מקומיים וקלים יחסית אותרו בחלקי הצמח התחתונים אך העלווה העליונה הייתה בריאה (איור 2). מסיבה זו גם לא נצפו הבדלים בין הטיפולים לביקורת, בצילום התרמי שנערך לשדה ב- 6 מועדים לאורך עונת הגידול (תוצאות לא מוצגות). עיבוד של תוצאות המבחן המולקולארי המבוסס על Real-Time PCR (qPCR) מראה על הופעה חלשה יחסית של DNA הפתוגן בצמחי הביקורת הלא מטופלים ועל הבדלים מעטים במדד זה בהשוואה לטיפולים הכימיים (באיור 3 מוצגות המדידות של יום 58 בגבעול). בטיפול הביקורת, ה-DNA של הפתוגן אותר ביום 29 בשורש, הכמות שלו עלתה פי 10 בקירוב בגבעול ביום 58 וירדה בשיעור דומה בגבעול ביום 73 לגידול. גם אחוז הצמחים הנגועים הראה מגמות דומות עם 20% צמחים נגועים ביום 29 בשורש, בטיפול הביקורת, עליה ל- 40% נגיעות ביום 58 בגבעול וירידה ל- 20 נגיעות ביום 73 בגבעול. בהתייחס לשני מדדים אלו (כמות DNA ואחוז נגיעות), ביום 73 לגידול, בגבעול, רמות הפתוגן בכל הטיפולים הכימיים (למעט טיפול התייבשות ב- 500 סמ"ק לדונם) היו גבוהות בהשוואה לביקורת הלא מטופלת. השפעה מועטה לטיפולים הכימיים (ריסוס ו/או תיחוח) נצפתה גם באומדן כמות היבולים ובהערכת איכותם (איורים 4 ו- 5 בהתאמה). הביקורת הלא מטופלת הניבה יבולים של 2.58 טון לדונם, שהינם גבוהים מאוד בהשוואה למקובל בשדות בריאים. הטיפולים הכימיים הניבו שיפור נוסף במדד כמות היבולים (6% בטיפול המוצלח ביותר במדד זה, איור 4). הטיפול המוצלח ביותר במדד זה היה 1250 סמ"ק תיחוח + 750 סמ"ק ריסוס בשלושה מועדים (כמפורט בשיטות ובחומרים). מדידת איכות היבולים (כמות היבולים מסוג א', עם משקל קלח לשל 250 גר'), הניבה תוצאות דומות עם עליה של 4% ביבולים מסוג א' בטיפול המוצלח ביותר (איור 5).



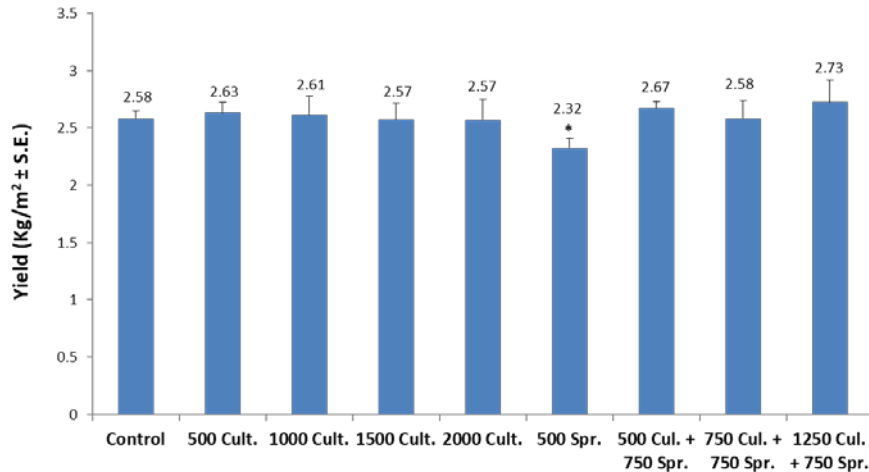
**איור 1 – שיעור הצצה בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בריסוס/תיחוח (נאות מרדכי 2018).** הצצה נבדקה לאחר 17 יום מהזריעה. Cult – תיחוח, Spr – ריסוס. ערכי הטיפוליים הכימיים המתוארים בציר ה-X, הם בסמ"ק. הביקורת היא צמחים ללא הדברה. ערכים מייצגים ממוצע של 5 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.



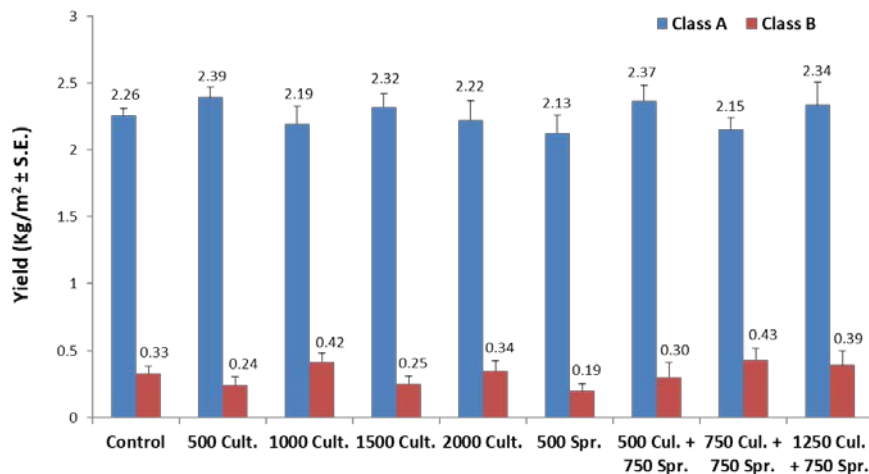
**איור 2 – צילום השדה הניסוי ליישום חומרי הדברה בריסוס/תיחוח (נאות מרדכי 2018).** תמונות צולמו לאחר 73 יום מהזריעה. משמאל – טיפול הביקורת ללא בחומרי הדברה, מימין – הטיפול בתיחוח ובריסוס בריכוזים הגבוהים ביותר.



**איור 3 – מבחן qPCR לאומדן כמות ה-DNA של הפתוגן בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בריסוס/תיחוח (נאות מרדכי 2018).** כמות ה-DNA נבדקה בגבעול לאחר 58 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 5 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.



**איור 4 – אומדן יבולים בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בריסוס/תיחוח (נאות מרדכי 2018).** היבול בחלק העליון של הצמח, בכל צמחי הטיפולים נאמד לאחר 74 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 5 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכבית מראה על הבדל משמעותי ( $P < 0.05$ ) בהשוואה לביקורת.



**איור 5 – אומדן איכות היבולים בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בריסוס/תיחוח (נאות מרדכי 2018).** Class A – משקל קלח מעל 250 גרם, Class B – משקל קלח נמוך מ-250 גרם. ערכים מייצגים ממוצע של 5 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.

#### **מסקנות והמלצות להמשך המחקר:**

היות ובניסוי השדה בנאות מרדכי ב-2018, תסמיני מחלת הנבילה המאוחרת לא התפרצו, הפוטנציאל הגלום בהדברת המחלה באמצעות תיחוח וריסוס, דורש בחינה מעמיקה בניסוי שדה נוסף. יחד עם זאת ניסוי שדה זה מעלה היבטים חשובים לבחינה בהמשך. נוכחות הפתוגן ברקמות כל הצמחים בשדה הודגמה באמצעות האיתור המולקולרי ומראה על 40%-100% נגיעות במרבית הטיפולים בסיום עונת הגידול (יום 73 מהזריעה). יחד עם זאת רמות ה-DNA של הפתוגן בביקורת הלא מטופלת היו נמוכות פי 1000 מרמות הפתוגן בביקורת (באותו מועד דיגום בגבעול) בשדה בקיבוץ עמיר באותו הקיץ (2018) שבו כן התפרצה המחלה (כפי שיתואר בהמשך). ממצא זה מרמז על רמות אילוח נמוכות בקרקע בשדה שבנאות מרדכי. עדיין נותרה השאלה, מה גרם בשדה, שבשנת 2010 היה נגוע בכבדות במחלת הנבילה המאוחרת [32], לירידה משמעותית בכמות הנגיעות בקרקע או לירידה באלימות הפתוגן, לרמה שבה כמות התסמינים בצמח רגיש למחלה מועטה מאוד? שיטת האיתור התרמי, כוילה ובוססה בניסוי זה והופקו לקחים להמשך. לקחים אלו יושמו בניסוי השדה שבוצע בקיבוץ עמיר באותו הקיץ, כמתואר מטה.

ניסוי שדה נוסף, בוצע בגד"ש קיבוץ עמיר, לבחינת תכשירי הדברה כימיים, שיושמו בעיטוי זרעים ובהגמעה, כנגד הפתוגן. ניסוי זה לא נכלל במסגרת הצעת המחקר המקורית, אך הוסף למחקר זה, עקב התפרצות מחלה מועטה בלבד שנצפתה בניסוי השדה המתואר מעלה והקושי הצפוי להגיע להתקדמות משמעותית במחקר בהתבסס על ניסוי זה בלבד.

**ניסוי שדה בעיטוי זרעים ובהגמעה – עמיר 2018**

מהלך המחקר ושיטות העבודה:

הניסוי בוצע בסיוע חברת נטפים, בגדי"ש עמיר, בחלקה בעלת היסטוריה של נגיעות במחלת הנבילה המאוחרת שנבחנה בשנה שעברה (2017) [2]. רוחב החלקה 8 ערוגות. 6 ערוגות לשישה טיפולי הגמעה שונים ושתי ערוגות שוליים אחת מכל צד - תירס מזן רויאלטי ללא טיפול אשר ישמשו כחיץ להשפעות כגון רוח, קצה שדה, מזיקים כגון חזירים (כנגד האחרונים בוצע גם גידור). כיוון העיבוד עם כיוון החלקה. אורך חלקת ניסוי/חזרה כ- 20-15 מטר ברוחב ערוגה. זריעה במתכונת שתי שורות צמודות במרווח של 50 ס"מ בין זוג שורות על ערוגה. ההנבטה בוצעה בטפטוף. הניסוי בוצע במתכונת של בלוקים באקראי ב- 10 חזרות. בכל טיפול נזרעו 2 שורות צמודות, באורך 20 מטר כל אחת וכ- 160 צמחים לשורה.

להכנת החלקה לקראת זריעת תירס, בוצעו דיסקים ואגז מחליק. החלקה נזרעה במזרעת מונוסם. לאחר הזריעה החלקה רוססה בקוטלי העשבים דואל גולד במינון – 130 סמ"ק לדונם בשילוב אטרנקס במינון - 100 סמ"ק לדונם. בהמשך הגידול בוצע ריסוס במרסס מוגן בחומר בסטה במינון 350 סמ"ק לדונם בין שורות הגידול להדברת עשבייה קיימת. בחלקה בוצעו גם ריסוסים להדברת נובר התירס האירופי ונובר התירס המנוקד, בתכשיר לאנט במינון 100 סמ"ק לדונם בשילוב קורגן במינון 20 סמ"ק לדונם ובתכשיר טאקומי במינון 20 סמ"ק לדונם. החלקה הושקתה בטפטוף ב- 600 מ"מ סה"כ בכל תקופת הגידול. עד שליפת הפריחה הזכרית הוספו לחלקה כ- 30 יחידות חנקן בדשן אוראן דרך מערכת ההשקיה.

הניסוי בוצע על זן התירס פרלוד 'Prelude', זן מכלוא מתוק רגיש למחלת הנבילה המאוחרת מתוצרת חברת SRS - snowy river seeds האוסטרלית, משווק על ידי "ירוק 2000", ישראל. כל זרעי הניסוי עברו עיטוי כימי עם AS+DC, בריכוז תכשיר לזרע של 0.006 סמ"ק, שהוכח כי אינו רעיל לצמח ואינו גורם לשאריות בקלה, בניסוי השדה בקיץ 2017. העיטוי נועד לספק הגנה משלימה ולבדו אינו מספיק למנוע את המחלה (תוצאות ניסויי שדה, גדי"ש שמ"ש 2016-2017) [2]. במטרה לעכב את מחלת הנבילה המאוחרת, ייושמו בהגמעה, דרך מערכת ההשקיה, תכשירי הדברה שונים (טבלה 2), במתכונת של שלוחת טפטפת לשתי שורות צמודות, בריכוז 225 סמ"ק לדונם:

הטיפולים יושמו בשלושה מועדים - 18, 31, 45 יום מהזריעה:

- ביקורת שלילית - לא מטופלת (זרעים לא מעוטים וללא הדברה בהגמעה).
  - ביקורת חיובית - יישום משולש של AS+DC – (חזרה על ניסוי 2017) [2].
  - יישום משולש של Difenconazole.
  - יישום משולש של AS – (בדומה לניסויי 10-2009 אך עם עיטוי זרעים ומינון שונה) [32].
  - יישום משולש של Pyraclostrobin + Boscalid (Signum, אדמה אגן).
  - אלטרנציה - יישום משולש לפי הסדר הבא:
    1. AS+DC - 15 יום מהזריעה.
    2. תערובת של Prothioconazole (Proline) ו- Tebuconazole (Folicur) - 30 יום מהזריעה.
    3. תערובת של Fluopyram + Trifloxystrobin (Luna® Sensation) - 45 יום מהזריעה.
- סה"כ בוצעו 6 טיפולים x 10 חזרות = 60 שורות.

לאורך הניסוי נבדקו: אחוז הצצה לאחר 15 ימים, הופעת DNA לאחר 31 יום (ברקמת השורש), 53 יום (ברקמת השורש והנצר) ו- 71 יום (ברקמת הנצר) מהזריעה. כל דיגום כלל 10 חזרות מכל טיפול שנאספו מצמחים המייצגים את החלקה ושנדגמו באופן שרירותי. כמו כן בוצע מעקב אחר תנועת חומרי ההדברה בקרקע במועד ההגמעה השני והשלישי. בסיום הניסוי בוצעו, צילום שדה הניסוי מהאוויר (צילום תרמי וצילום רגיל) ומהקרקע, הערכת התייבשות ואומדן יבולים בטיפולים השונים.

**טבלה 2. פונגצידים, שימשו בניסוי השדה כנגד הפתוגן *Harpophora maydis* \***

Fungicide	Manufacturer, Supplier	Active Ingredient (common name)	Group Name	Chemical Group	Target Site of Action	Active Ingredient Concentration (g/l)
Luna® Sensation	Bayer Group	Fluopyram	SDHI (Succinate-dehydrogenase inhibitors)	pyridinyl-ethyl-benzamides	C2 complex II: succinate-dehydrogenase (inhibition of mitochondrial respiration)	250

		Trifloxystrobin	QoI (Strobilurin) fungicides (quinone outside inhibitors)	oximino-acetamides	C3 complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene) (inhibition of mitochondrial respiration)	250
Ortiva top® +azoxystrobin) difenoconazole)	Makhteshim (Ber sheva, Israel)	Azoxystrobin	QoI (Strobilurin) fungicides (quinone outside inhibitors)	Methoxy-acrylates	C3 complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene) (inhibition of mitochondrial respiration)	250
		Difenoconazole **	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors)	triazoles	G1 C14- demethylase in sterol biosynthesis (erg11/cyp51)	125
Proline+Folicur	Buyer (Cyprus) (Lidor Israel)	Prothioconazole (Proline)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors)	triazolinthiones	G1 C14- demethylase in sterol biosynthesis (erg11/cyp51)	275
		Tebuconazole (Folicur)	DMI-fungicides (DeMethylation Inhibitors)	triazoles	G1 C14- demethylase in sterol biosynthesis (erg11/cyp51)	200
Signum W.G.®	BASF (Ludwigshafen, Germany), Agan (Ashdod, Israel)	26.7% Boscalid (CAS no. 188425-85-6)	SDHI (Succinate dehydrogenase inhibitors)	Pyridine-carboxamides	Complex II: succinate-dehydrogenase	267
		+ 6.7% Pyraclostrobin (CAS No. 175013-18-0)	QoI-fungicides (Quinone outside Inhibitors)	Methoxy-carbamates	Complex III: cytochrome bc1 (ubiquinol oxidase) at Qo site (cyt b gene)	67

\* This information is based on the fungicides data sheet published by the manufacturer and on the Fungicide resistance action committee (FRAC) Code List.

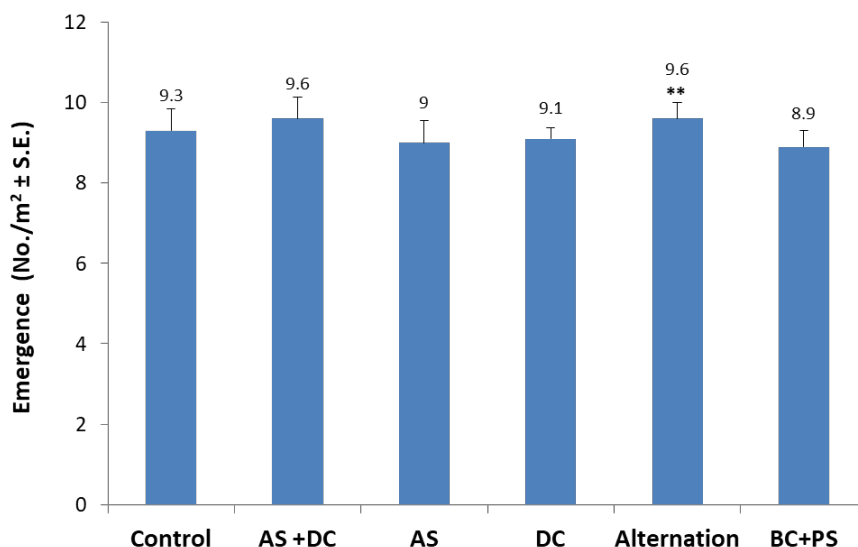
\*\* The Difenoconazole fungicide will also be applied alone using the commercial formula named Dividend.

**תוצאות:**

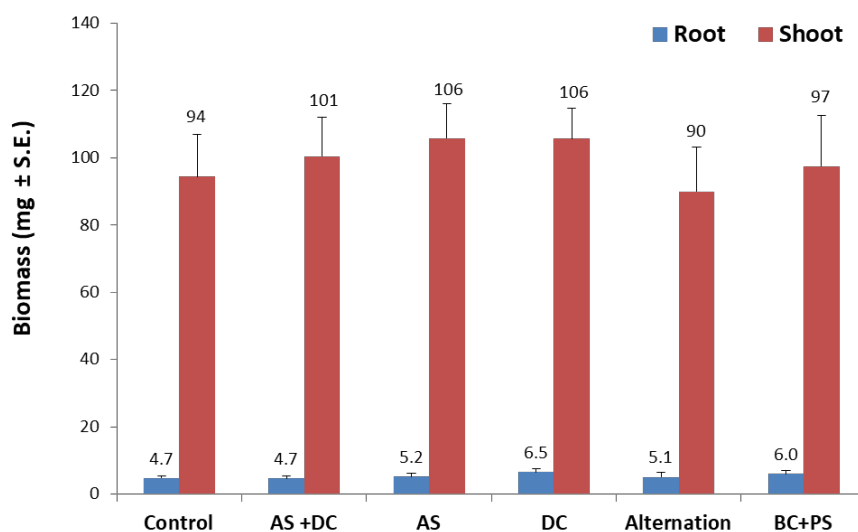
הניסוי בוצע בהצלחה כמתוכנן. לאורך הניסוי ובמיוחד בחלק הראשון של העונה נפגעו הצמחים מהתפרצות מחלת ריקבון שנגרמה על ידי *Fusarium verticillioides*. בסוף העונה נפגעו הקלחים ממכרסמים. שני גורמים אלו הובילו להפחת ניכרת בכמות היבולים ואיכותם כפי שיתואר בהמשך, אך ההבדלים בין טיפולי ההגמעה לביקורת היו ניכרים מאוד ומשמעותיים מבחינה סטטיסטית. בדיקת ההצצה (יום 15 לגידול, איור 6) ובדיקות הביומסה של השורש והנצר (יום 30 לגידול, איור 7), מראות שאין הבדל בין הביקורת לטיפול ההגמעה ומכאן שהאחרונים לא גרמו לרעילות (פיטוטוקסיות) לצמח. דגימת תמיסות הקרקע בטיפול ההגמעה ב- AS+DC מראה על יעילות בהגמעה שנייה עד למרחק 14 ס"מ מהטפטפת וירידה חדה במרחק של 28 ס"מ מהטפטפת (איור 8). ביום הדיגום השלישי היעילות שנמדדה בקרקע ירדה במידה ניכרת כבר במרחק 14 ס"מ מהטפטפת. ערכים אלו הושפעו ככל הנראה מטמפרטורת הקרקע כפי שתואר בניסוי השדה ב- 2017 [2]. תסמיני התייבשות ראשוניים הופיעו, בטיפול הביקורת, בסמוך למועד הפריחה הזכרית (50 יום מהזריעה) והחמירו בהדרגה עד סוף הניסוי (73 יום מהזריעה, איור 9). הבדל בתסמינים המעידי על הצלחת הטיפולים, בלט בסמוך למפרק הראשון ובסימני התייבשות על הקלחים (איור 10). הערכת התייבשות כמותית תומכת בהערכה האיכותית (איור 11). בתום העונה 59% מצמחי הביקורת היו חולים ויבשים לחלוטין, באחרים אותרו תסמינים ורק 13% מצמחי הביקורת היו נקיים מתסמיני מחלה. הטיפולים DC לבד ו- BC+PS לא היו יעילים והניבו תוצאות דומות לביקורת (53% ו- 55% מהצמחים התייבשו לחלוטין, ו- 10% ו- 15% מהצמחים היו בריאים, בהתאמה). מנגד הטיפולים שהכילו AS הניבו תוצאות טובות באופן מובהק בהשוואה לביקורת ( $P < 0.05$ ). במיוחד בלט לטובה הטיפול ב- AS+DC שבו נמדדה ירידה של פי 2 בכמות הצמחים שהיו חולים ויבשים לגמרי וצמצום ניכר בחומרת התסמינים (איורים 9-11). מדידת השינויים בכמות ה-DNA של הפתוגן *H. maydis* בתוך רקמות הצמח (מודגמת התוצאה בגבעול ביום 73 לגידול), תאומת את תמונת התסמינים. רמות גבוהות של DNA של *H. maydis* נמדדו בביקורת וטיפולים DC ו- BC+PS, ומנגד בשאר הטיפולים שהיו מוצלחים, התקבלו ערכים נמוכים פי 10 (איור 12). האומדן התרמי, שבוצע באמצעות צילום תרמי מרחפן, מציג אף הוא תמונה דומה (איור 13, הבדל מובהק מהביקורת בטיפול AS+DC,  $P < 0.05$ ). השיטה התרמית לאומדן תסמיני המחלה ולהערכת היעילות של טיפולים מונעים, נתגלתה כמוצלחת ואפקטיבית מאוד (כמודגם באיור 14). כמות היבולים, כאמור בפתיח, הייתה נמוכה עקב מפגעים שונים (מחלת פוסריום ומכרסמים) אך משקפת נאמנה את הצלחת הטיפולים (איור 15). הטיפול המשולב ב- AS+DC היה גם במדד זה המוצלח ביותר והניב עלייה של 116% ביבולים לעומת הביקורת ( $P < 5 \cdot 10^{-4}$ ). גם הטיפולים AS לבד וטיפול האלטרנציה השיגו תוצאות מובהקות של 92% ו- 60% שיפור ביבולים. איכות היבולים מסוג אי (משקל



קלח של מעל 250 גר' עלתה בהתאמה ב- 41% בטיפול AS+DC ( $P < 0.05$ , איור 16). בטיפולים AS לבד ובטיפול האלטרנציה נרשמה עלייה לא מובהקת בכמות הקלחים מסוג א' ותוספת היבול נבעה בעיקר מתוספת קלחים מסוג ב' (איור 16).

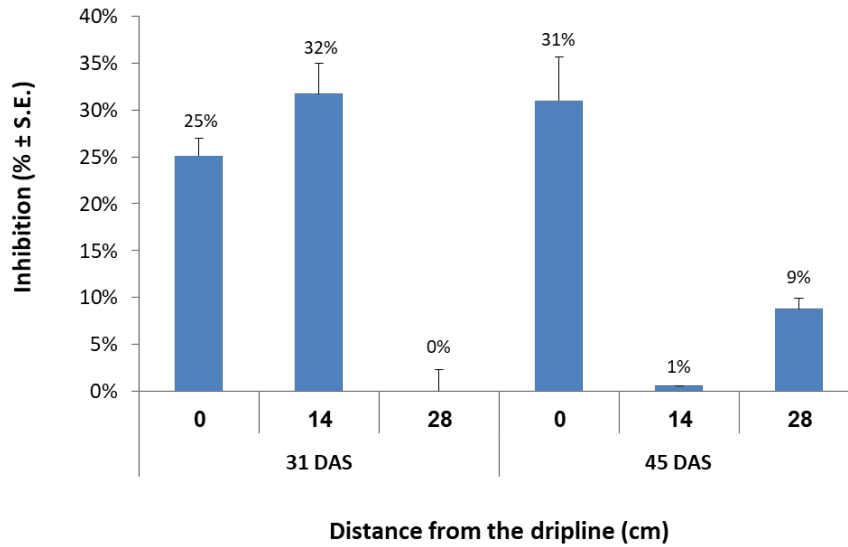


**איור 6 – שיעור הצצה בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** הצצה נבדקה לאחר 15 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכביות מייצגות הבדל משמעותי מבחינה סטטיסטית ( $P < 0.005$ ).

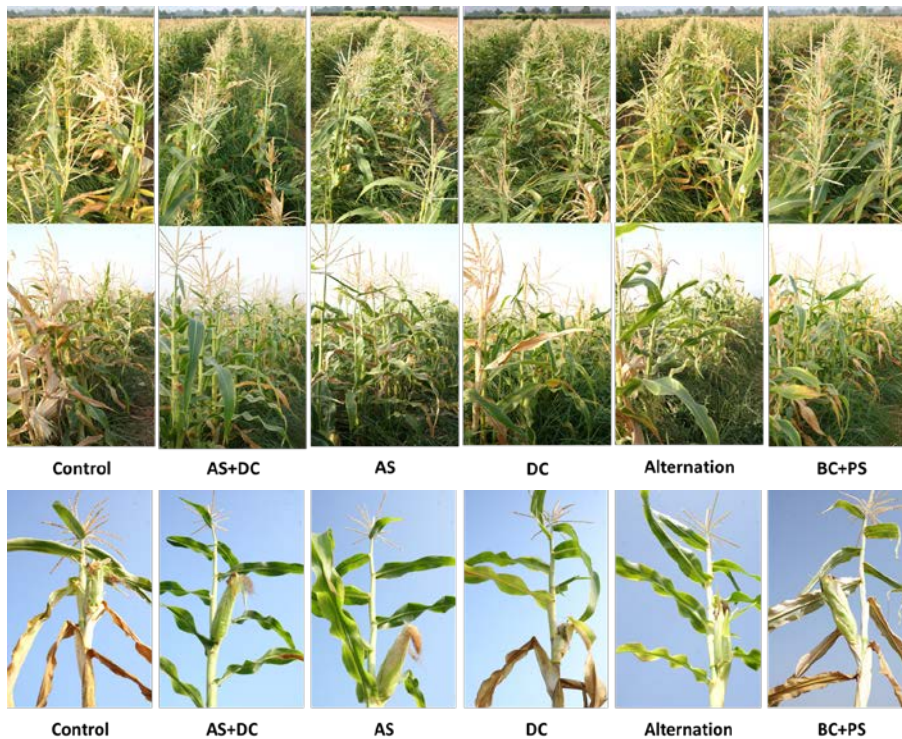


**איור 7 – שיעור ביומסת השורש והנצר בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** הביומסה נבדקה לאחר 30 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.

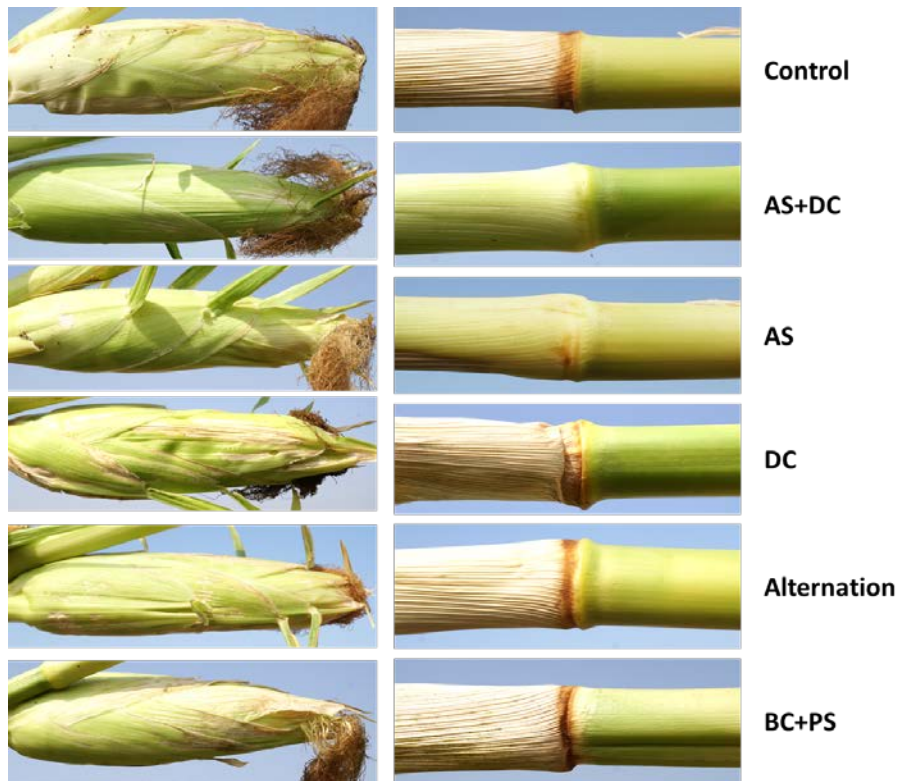




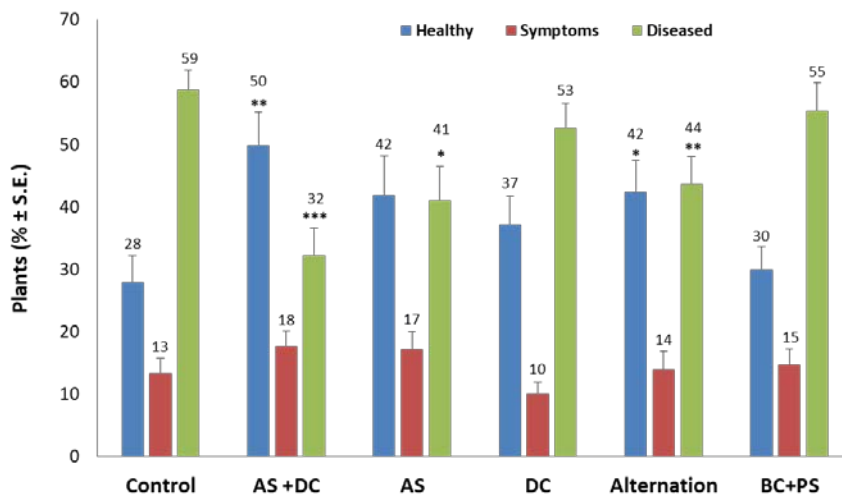
**איור 8 – ריכוז התכשיר DC+AS בקרקע בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** תמיסות הקרקע נבחנו 31 ו-45 יום לאחר הזריעה (במועדי ההגמעה השני והשלישי). איסוף התמיסות נעשה במרחק של 0, 14 ו-28 ס"מ מהטפטפת. התמיסות נחננו במבחן עיכוב בצלחות מצע (בוחרן ביולוגי) כפי שתואר קודם לכן [2]. ערכים מייצגים ממוצע של לפחות 3 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.



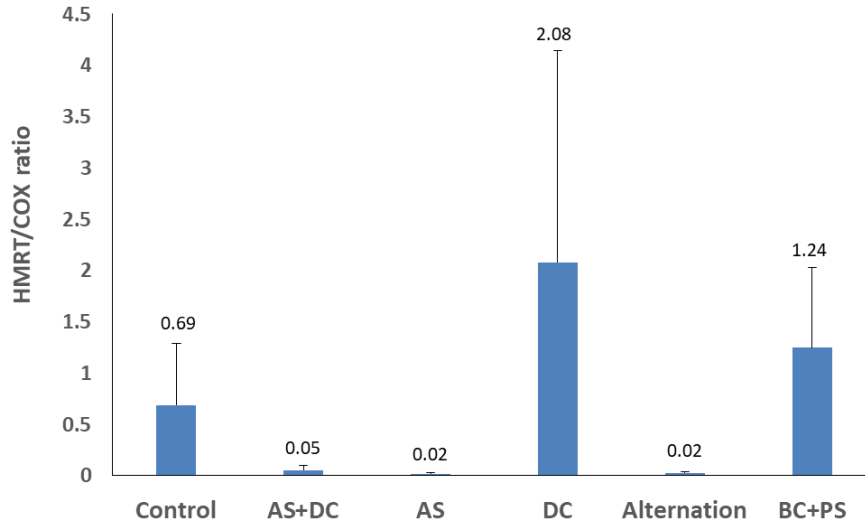
**איור 9 – צילום שדה הניסוי ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** תמונות צולמו לאחר 71 יום מהזריעה.



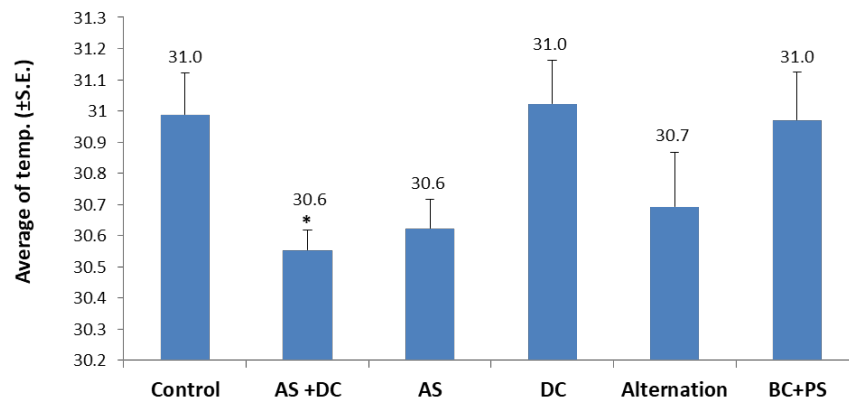
**איור 10 – תסמינים בגבעול התחתון ובקלחים בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).**  
תמונות צולמו לאחר 71 יום מהזריעה.



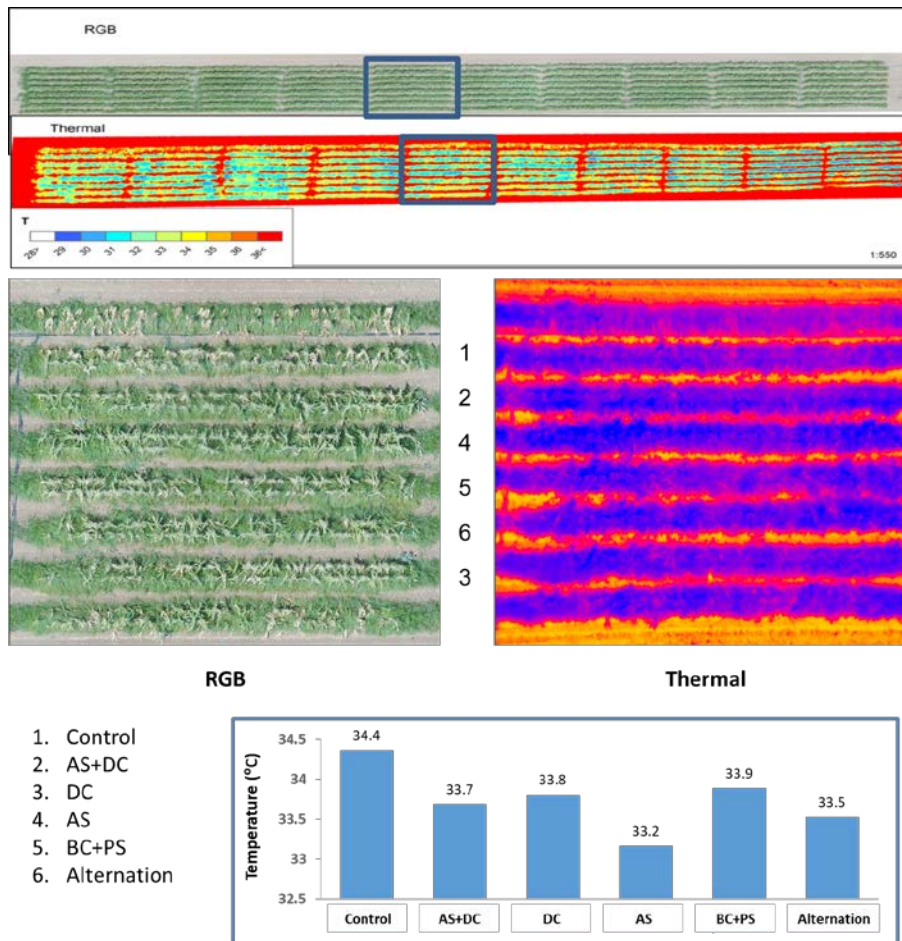
**איור 11 – אומדן תסמיני התייבשות בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכביות מייצגות הבדל משמעותי מבחינה סטטיסטית ( $p < 0.05$ ,  $**P < 5 \cdot 10^{-3}$ ,  $***P < 5 \cdot 10^{-4}$ ).



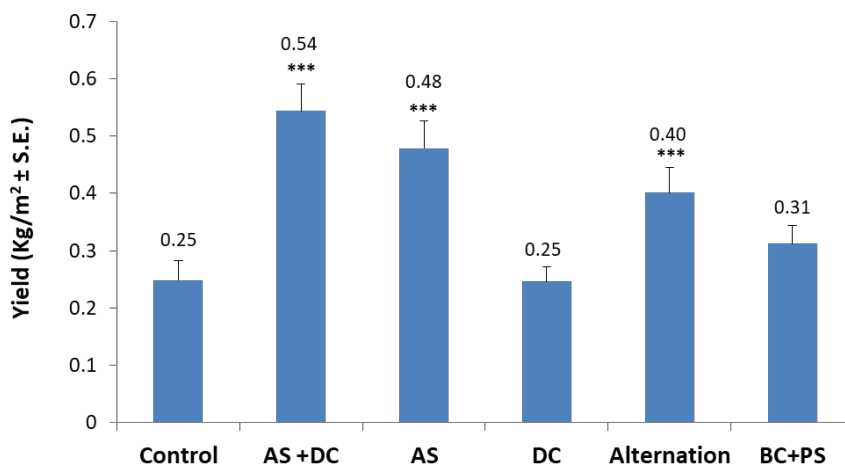
**איור 12 – מבחן qPCR לאומדן כמות ה-DNA של הפתוגן בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018). כמות ה-DNA נבדקה בגבעול לאחר 71 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן.**



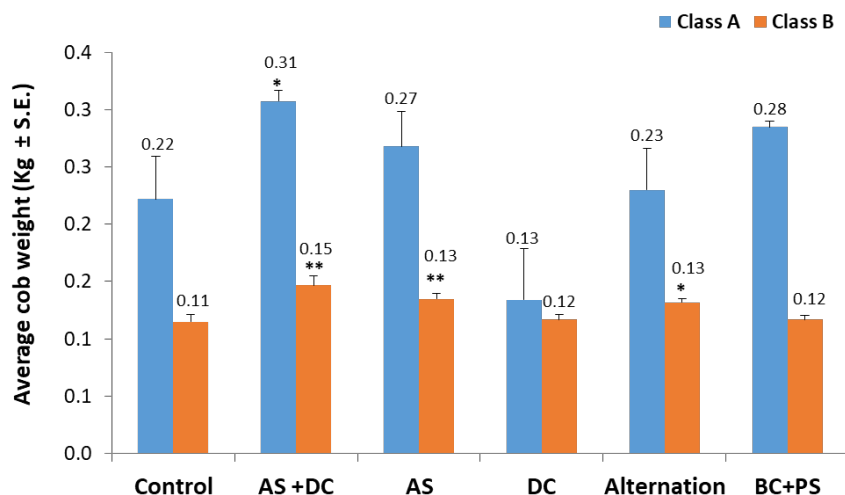
**איור 13 – אומדן תרמי בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018). ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכבית מייצגת הבדל משמעותי מבחינה סטטיסטית ( $P < 0.05$ ).**



**איור 14 – אומדן תרמי – הדגמת הניתוח בבלוק 5, ניסוי שדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** בלוק 5 מסומן בריבוע כחול באיור העליון. ערכים מייצגים ממוצע של חזרה אחת.



**איור 15 – אומדן יבולים בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018).** היבול בחלק העליון של הצמח, בכל צמחי הטיפול נאמד לאחר 76 יום מהזריעה. ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכבית מראה על הבדל משמעותי ( $P < 5 * 10^{-4}$ ) בהשוואה לביקורת.



**איור 16 – אומדן איכות היבולים בניסוי השדה ליישום חומרי הדברה בהגמעה (עמיר 2018). Class A – משקל קלח מעל 250 גרם, Class B – משקל קלח נמוך מ-250 גרם. ערכים מייצגים ממוצע של 10 חזרות. קווי שגיאה מייצגים שגיאת תקן. כוכבית מראה על הבדל משמעותי ( $p < 0.05$ ,  $**P < 5 \cdot 10^{-3}$ ) בהשוואה לביקורת.**

### מסקנות והמלצות להמשך המחקר:

ניסוי השדה להדברת הגורם למחלת הנבילה המאוחרת בתירס בעיטוי זרעים ובהגמעה בטפטות, נחל הצלחה עם שיפור ניכר ומובהק סטטיסטית בכל המדדים, בטיפולים שהכילו AS לבד, בתערובת עם DC או באלטרנציה (שלוש הגמעות כשבכל אחת מהן מיושמים חומרי הדברה שונים). הטיפולים המוצלחים הניבו ירידה של כ-100% בכמות תסמיני ההתייבשות ועליה של כ-100% בכמות היבולים, בתוספת שיפור של 41% באיכות היבולים בטיפול המוצלח ביותר AS+DC. הניסוי מבסס היטב את דרך ההתמודדות המוצלחת כנגד מחלת הנבילה המאוחרת בתירס, באמצעות הדברה בטפטות בשלוחה לשתי שורות צמודות (מרווח שורה של 50 ס"מ במקום המרווח הרגיל של 96.5 ס"מ), ביישום משולש של AS+DC כל 15 יום מהזריעה, כפי שהוכח שנה קודם לכן (2017) באותו שדה [2]. טיפול כזה נחשב לכלכלי עקב הפחתת העלויות של פריסת קווי השקיה, בכ-50%. יחד עם זאת תכשיר בודד ובמיוחד התכשיר AS (כמדווה בספרות), נתון לסכנה של התפתחות עמידות כנגדו. מכאן היתרון לטיפול האלטרנציה שיעילותו הוכחה, כאן לראשונה, כנגד המחלה בארץ. טיפול כזה המבוסס על חומרים בעלי מגוון פעולה שונה, מפחית באופן משמעותי את הסיכון שבהופעת עמידות לחומר ההדברה בטווח הארוך. ניתן יהיה לבחון בהמשך שילוב חומרים חדשים בדרך הדברה זו, שינויים במועדי ההגמעה, בכמויות החומרים ועוד, לצורך אופטימיזציה של השיטה, אך כבר עכשיו יש בידנו אמצעי יעיל וישים מבחינה כלכלית כנגד המחלה.

### רשימת ספרות

1. Sabet KA, Samra AS, Hingorani MK, Mansour IM. Stalk and root rots of maize in the United Arab Republic. *FAO Plant Prot Bull.* 1961; 9:121-5.
2. Degani O, Dor S, Movshowitz D, Fraidman E, Rabinowitz O, Graph S. Effective chemical protection against the maize late wilt causal agent, *Harpophora maydis*, in the field. *PLoS one.* 2018; In press.
3. El-Assiuty EM, El-Shafey HA, Ismael A-S, Fahmy ZM. Pathogenic variation in *Cephalosporium maydis*. *Phytopathology.* 1988; 88(9):S25.
4. El-Shafey HA, El-Shorbagy FA, Khalil II, El-Assiuty EM. Additional sources of resistance to the late-wilt disease of maize caused by *Cephalosporium maydis*. *Agric Res Rev, Egypt.* 1988; 66:221-30.
5. Pecs S, Nemeth L. Appearance of *Cephalosporium maydis* Samra Sabet and Hingorani in Hungary. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent. 1998; 63:873-7.

6. Magarey R, Engle J, Randall-Schadel B. Is *Harpophora maydis* (causal agent of late wilt) a threat to US corn production? The NCSU/APHIS Plant Pest Forecast (NAPFFAST) System, 2007.
7. Magarey RD, Borchert DM, Engle JS, Colunga-Garcia M, Koch FH, Yemshanov D. Risk maps for targeting exotic plant pest detection programs in the United States. *EPPO Bulletin*. 2011; 41:46-56.
8. 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 Dis*. 2018. In press.
9. Galal AA, El-Rouby MM, Gad AM. Genetic analysis of resistance to late wilt (*Cephalosporium maydis*) in variety crosses of maize. *Zeitschrift fur Pflanzenzuchtung*. 1979; 83:176-83.
10. Drori R, Sharon A, Goldberg D, Rabinovitz O, Levy M, Degani O. Molecular diagnosis for *Harpophora maydis*, the cause of maize late wilt in Israel. *Phytopathologia Mediterranea*. 2013; 52(1):16-29.
11. El-Shafey HA, Abdel-Rahim MF, Abd-el-Azim OZ, Abd-el-Hamid MS. Carry-over of maize stalk-rot fungi in seed. *Egypt Agric Res Rev*. 1976; 54:29-42.
12. Payak MM, Lal S, Lilaramani J, Renfro BL. *Cephalosporium maydis* - A new threat to maize in India. *Indian Phytopathol*. 1970; 23:562-9.
13. Samra AS, Sabet KA, Abdel-Rahim MF. Effect of soil conditions and cultural practices on infection with stalk rots. Samra AS, Sabet KA, editors. Cairo, Egypt: U.A.R. Ministry of Agric. Government Printing Offices; 1966; 117-64 p.
14. Singh S, Siradhana B. Effect of macro and micronutrients on the development of late wilt of maize induced by *Cephalosporium maydis*. *Summa Phytopathologica*. 1990; 16(2):140-5.
15. Abd-el-Rahim MF, Sabet KA, El-Shafey HA, El-Assiuty EM. Chemical control of the late-wilt disease of maize caused by *Cephalosporium maydis*. *Agric Res Rev*. 1982; 60:31-49.
16. Degani O, Cernica G. Diagnosis and Control of *Harpophora maydis*, the Cause of Late Wilt in Maize. *Advances in Microbiology*. 2014; 04(02):94-105.
17. Degani O, Weinberg T, Graph S. Chemical control of maize late wilt in the field. *Phytoparasitica*. 2014; 559-70:(4)42.
18. Muhammad S, Amusa NA. *In vitro* inhibition of growth of some seedling blight inducing pathogens by compost-inhabiting microbes. *Afr J Biotechnol*. 2003; 2 (6):161-4.
19. El-Assiuty EM, El-Hamahmy AA, El-Sharkawy AY. *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and *Verticillium tricorpus* as biological agents against late-wilt of maize. *Egypt J Appl Sci*. 1991; 6:8245-829.
20. El-Mehaloway AA, Hassanein NM, Khater HM, Daram El-Din EA, Youssef YA. Influence of maize root colonization by rhizosphere actinomycetes and yeast fungi on plant growth and on the biological control of late wilt disease. *Inter J Agric Biol*. 2004; 6:599-605.
21. Singh SD, Siradhana BS. Date of sowing in relation to late wilt disease of maize. *Indian Phytopathol*. 1988; 41:489-91.
22. Elshahawy IE, El-Sayed AE-KB. Maximizing the efficacy of Trichoderma to control *Cephalosporium maydis*, causing maize late wilt disease, using freshwater microalgae extracts. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 2018; 28(1):48.
23. Fayzalla E, Sadik E, Elwakil M, Gomah A. Soil solarization for controlling *Cephalosporium maydis*, the cause of late wilt disease of maize in Egypt. *Egypt J Phytopathology*. 1994; 22:171-8.
24. Tej R, Rodríguez-Mallol C, Rodríguez-Arcos R, Karray-Bouraoui N, Molinero-Ruiz L. Inhibitory effect of *Lycium europaeum* extracts on phytopathogenic soil-borne fungi and the reduction of late wilt in maize. *European Journal of Plant Pathology* 2018; 2 (1): 249–265.



25. Ortiz-Bustos CM, Testi L, García-Carneros AB, Molinero-Ruiz L. Geographic distribution and aggressiveness of *Harpophora maydis* in the Iberian peninsula, and thermal detection of maize late wilt. *European Journal of Plant Pathology*. 2016; 144 (2) 383-97.
26. Zeller KA, Abou-Serie MI, El-Assuity EM, Fahmy ZM, Bekheet FM, Leslie JF. Relative competitiveness and virulence of four clonal lineages of *Cephalosporium maydis* from Egypt toward greenhouse-grown maize. *Plant Dis*. 2002; 86:373-8.
27. Sabet K, Samra A, Mansour I. Interaction between *Fusarium oxysporum f. vasinfectum* and *Cephalosporium maydis* on cotton and maize. *Annals of Applied Biology*. 1966; 58(1):93-101.
28. Sahab AF, Osman AR, Soleman NK, Mikhail MS. Studies on root-rot of lupin in Egypt and its control. *Egypt J Phytopathol*. 1985; 17:23-35.
29. 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; Boston, USA.
30. Saleh AA, Leslie JF. *Cephalosporium maydis* is a distinct species in the Gaeumannomyces-Harpophora species complex. *Mycologia*. 2004; 96(6):1294-305.
31. Samra AS, Sabet KA, Kamel M, Abdel-Rahim MF. Further Studies on the Effect of Field Conditions and Cultural Practices on Infection with Stalk-rot Complex of Maize. Min. Agr. Pl. Prot. Dept. Tech., 1972.
32. Degani O, Weinberg T, Graph S. Chemical control of maize late wilt in the field. *Phytoparasitica*. 2014; 42 (4); 559–570.