

זיהוי וטיפול במחלת עוות התפרחות במנגו

Diagnosis and control of the mango malformation disease

סטנלי פרימן, איידה צויבל, יהודה ניצני ומרסל מימון, מחי למחלות צמחים, מנהל המחקר
החקלאי, בית דגן
יצחק אדטו ואלקנה בן-ישר, מיגל הגליל, עמי קינן, חוות ניסיונות, צמח
אורי לביא, צבי נוימן, טלי פז, דוד סעדה, איריס ביטון, ואלי תומר, מחי למטעים, מנהל המחקר
החקלאי, בית דגן

יוני, 2006

סיון תשס"ו

תקציר

- 1. הצגת הבעיה:** מחלת עוות התפרחות והצימוח במנגו הנגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium mangiferae* התבססה בנגב המערבי, בחבל הבשור, באזור המרכז, ולאחרונה גם במטעים בצפון הארץ - אזור הגידול המרכזי של מנגו בישראל.
- מטרות המחקר הינן:** לימוד האפידמיולוגיה של המחלה, פיתוח כלי מולקולרי לדיאגנוזה של הפטרייה ובחינת שיטות הדברה להקלת הנזקים הנגרמים על ידי הפטרייה.
- 2. מהלך ושיטות עבודה:** **א.** אפידמיולוגיה: נוכחות הפטרייה נבחנה על ידי זריעות בידוד על מצע סלקטיבי לפוזריום במיהולים שונים.
- ב.** דיאגנוזה מולקולרית: בידוד רצפי דנ"א ייחודיים לפטרייה, יצירת תחלים ייחודיים לרצפים ופיתוח תנאי ריאקציה PCR אשר יאפשרו אבחנה ייחודית ובעלת רגישות גבוהה לנוכחות הפטרייה.
- ג.** טיפולי שדה: סריקה של חומרי הדברה רבים במעבדה הביאה לאיתור הפוטנציאל של החומר פרוכלורז כקוטל של הפתוגן. בעקבות ממצא זה נבחנת ההשפעה של פרוכלורז בניסויי שדה בעין החורש, במשמר השרון ובמכון וולקני, בשיטות יישום שונות ובריכוזים ומועדים שונים.
- 3. תוצאות עיקריות:** **א.** אפידמיולוגיה: במטעים נגועים נבגי הפטרייה נמצאים בכמויות גדולות בתפרחות, בחנטים ועל גבי פירות, אך לא בתוך זרעים.
- ב.** דיאגנוזה מולקולרית: פותחו שלושה זוגות תחלים ייחודיים על בסיס דגם הפסים של AFLP וזוג אחד של תחלים על בסיס רצף ה-ITS של דנ"א ריבוזומלי במטרה להגדיל את רגישות המבחן. התחלים נבחנו בהצלחה בתנאי *in-vitro* ובחננים עכשיו בתנאי *in-vivo*.
- ג.** טיפולי שדה: הגמעה של פרוכלורז דרך מערכת ההשקיה הפחיתה באופן מובהק את אחוז התפרחות הנגועות בהשוואה לביקורת. בדיקה כימית הצביעה על שונות גבוהה בנוכחות פרוכלורז בדוגמאות השונות. בטיפול הריסוס בריכוז של 1% יש חשש להפחתה ביבול ולפגיעה בהווצרות התפרחות. להזרקה של החומר לעץ – לא היתה כל השפעה.
- 4. מסקנות והמלצות:** השאלות האפידמיולוגיות של דרך מעבר הפטרייה בין מטע למטע, בין עצים שונים באותו מטע ובין עונת פריחה אחת לאחרת, עדין לא פתורות ויש להמשיך את המחקר בכיוון זה. כלי האבחון המולקולרי צריך להבחן בתנאי *in-vivo*. בטיפול השדה יש לבחון השפעה של ריכוזים ותדירויות גבוהים יותר של הפרוכלורז. לא ניתן להמשיך במחקר ללא תקציב מוגדר.
- הערה:** לאור חומרת המחלה ועל אף ראשוניות התוצאות התחילו חקלאים במספר מטעי האזור סובב כנרת בטיפולים במטע המסחרי על בסיס תוצאות הראשוניות של מחקר זה.

מבוא

מחלת עוות התפרחות והצימוח במנגו הנגרמת ע"י הפטרייה *Fusarium mangiferae* נפוצה כיום ברוב מדינות העולם המגדלות מנגו. בארץ, המחלה התבססה בנגב המערבי וחבל הבשור, באזור המרכז (רחובות עד חדרה), ולאחרונה ברוב המטעים בצפון. קיים חשש להתבססותה באזור סובב כנרת, שהוא אזור עיקרי לגידול. סימני הנגיעות מתבטאים כידוע בדחיסות רבה מאד של התפרחת המזכירה בצורתה ראש כרוב. תפרחת נגועה אינו נושא פרי. המחלה מהווה איום על קיום ענף המנגו.

מטרות המחקר

1. בחינת היבטים אפידמיולוגיים של גורם המחלה.
2. הקטנת נזקי המחלה במטע.
3. פיתוח כלי דיאגנוסטי ספציפי ויעיל לאבחון הפתוגן.

תוצאות**1. נגיעות טבעית בפרחים ובחנטים של המנגו:**

בבדיקת נגיעות טבעית בפרחים וחנטים במטעים מסחריים, נמצאה נגיעות ב- 100% מהפרחים והחנטים שמקורם מעצים נגועים ו- 0% נגיעות באלה שמקורם מעצים בריאים. הנגיעות נמצאה הן על פני החנטים והפרחים (אלה שלא חוטאו) והן בתוכם (אלה שחוטאו חיצונית). לצורך אימות התוצאות נבדקו המושבות שנוצרו בבדיקת PCR ועל פי הבדיקות נמצא כי כל המושבות שנבדקו הן *F. mangiferae*.

2. אכלוס טבעי בזרעים, קליפות הזרעים וקביעת כמות הנבגים על גבי פירות מנגו מהמטע:

נבדק אכלוס טבעי של *F. mangiferae* בזרעים וקליפות זרעים של 50 פירות מנגו מעצים נגועים ו- 50 פירות מעצים בריאים. הניסוי נערך בשלוש חזרות. בניסוי הראשון התקבלו תוצאות שעוררו חשד כי הדוגמאות הזדהמו. בשתי החזרות האחרות נמצא כי אין אכלוס בזרעים ובקליפות הזרע הן על גביהם (אלה שלא חוטאו) והן בתוכם (אלה שחוטאו חיצונית). אכלוס מסוים נמצא בכיסויי הזרעים של פירות בני חודשיים שלא חוטאו. ייתכן כי נתון זה מקורו בזיהום. בשתי חזרות נוספות לא נמצא אכלוס הפתוגן ברקמות הפנימיות של הפירות. כימות מספר הנבגים נעשה ע"י שטיפת הפירות, סירכוז נוזל השטיפה וזריעה במצע סלקטיבי.

טבלה 1: מספר הנבגים של *F. mangiferae* על גבי פירות מנגו מעצים נגועים ובריאים

גיל (חודשים)	משקל ממוצע (גרם)	כמות הנבגה (נבגים \ גרם)	
2	320	61.5±2.8	נגועים
3	460	27.4±4.5	נגועים
2	340	0	בריאים
3	490	0	בריאים

על קליפות פירות בני חודשיים נמצאה כמות גדולה יותר של נבגים לגרם פרי מאשר בפירות בני שלושה חודשים. בפירות ממטע לא נגוע לא נמצאו נבגים.

3. סריקה של חומרי הדברה בעלי פוטנציאל של עיכוב גידול *F. mangiferae* בצלחות פטרי

נמשכה סריקה של חומרי הדברה פוטנציאליים חדשים להדברת גורם המחלה בהשוואה לפרוכלורז. חומר זה נמצא כיעיל ביותר לעיכוב גידול תפטיר הפתוגן ($ED_{50} = 0.01 \text{ ppm}$). נבחנו חומרים חדשים מקבוצות הסטרובילורינים וחומרים אחרים אך הם לא נמצאו יעילים לעיכוב גידול הפטרייה בניסוי *in vitro*, בצלחות פטרי.

4. ניסויים להקטנת נזקי הפתוגן במטע

א. מטע מכון וולקני

ניסוי שדה ראשון נערך במטרה לבחון היבטים אפידמיולוגיים ואפשרות הקטנת נזקי המחלה במטע הנגוע במכון וולקני בין פברואר לאפריל 2004. נעשה כיסוי פקעים אמירים של תפרחות בשקיות נייר וריסוס פקעים בפרוכלורז. הכיסוי נועד לבחון האם הפטרייה קיימת בעץ או שיש התקפה חדשה מדי שנה. בנוסף, רצינו לבחון האם ניתן למנוע הדבקות חיצונית. ריסוסים במיראז' נוזלי 45 – ח.פ. פרוכלורז בריכוז 0.5% נועדו לבחון את ממצאי המעבדה בניסוי שדה. הניסוי כלל 9 עצי ביקורת, 9 עצים מרוססים ו-12 עצים בהם כוסו הפקעים. נמצאה הפחתה משמעותית במספר התפרחות הנגועות כתוצאה מטיפול הריסוס בפרוכלורז בהשוואה לביקורת (טבלה 2).

טבלה 2: השפעת טיפולי הריסוס בפרוכלורז על מספר התפרחות הנגועות

טיפול	מס' תפרחות בניסוי	מס' תפרחות נגועות	% נגיעות
ביקורת	292	51	17.5
כיסוי בשקיות	433	95	21.9
ריסוס בפרוכלורז	437	30	6.8

ב. מטע קיבוץ עין החורש

הניסוי נערך במטע נגוע מאד, בן 20 שנה מהזן לילי, בקיבוץ עין החורש. הטיפולים כללו ביקורת (ללא טיפול), גיזום 3 פרקים או 3 שנות גידול, וטיפול אינפוזיה של פרוכלורז (ספורטק – ריכוז 200ppm או 0.2%). החומר יושם דרך חור שנקדח בגזע מתחת להרכבה והתאמת מזרק הקשור

למערכת אינפוזיה. לכל עץ הוזרמו שלושה ליטר ספורטק בקיץ (26.8.02), בסתיו (28.10.02) ובחורף (12.3.03). כל טיפול הכיל כ- 30 עצים. ההערכה היתה לפי אינדקס מחלה (מס' תפרחות נגועות/עץ). לפני מתן הטיפולים, הורחקו תפרחות נגועות מכל העצים. דגימות עלים ופקעים נאספו מעצים מטופלים באוקטובר 2002, ונעשתה אנליזה כימית לפרוכלורז (אמינולב, רחובות). לא נמצא פרוכלורז בעלים ופקעים. בעת הופעת התפרחות הנגועות במאי 2003 נעשתה הערכת נגיעות לבחינת יעילות הטיפולים וביולי נעשה אמדן ליבול (טבלה 3).

טבלה 3: כמות תפרחות נגועות ואמדן יבול לכל עץ

טיפול	כמות תפרחות נגועות לעץ (2003)				אמדן יבול (פרי/עץ)
	10.4	22.05	23.07	סה"כ	
הקש	9.8	13.2	1.3	24.3 a	50.6 a
גיזום חריף	9.1	14.0	2.0	25.1 a	50.8 a
אינפוזיה	10.8	14.7	1.8	27.3 a	52.5 a

לא נמצא הבדל מובהק בנגיעות בין הטיפולים השונים לבין הביקורת (אות שונה מציין רמת מובהקות $P=0.05$). כמו כן, לא נמצא הבדל מובהק בהערכת היבול בין הטיפולים השונים לבין הביקורת. יש לציין שרמת הנגיעות בביקורת היתה נמוכה ועל כן לא ניתן לקבוע את יעילות טיפול הגיזום והאינפוזיה.

ג. מטע קיבוץ סופה

הניסוי נערך במטע נגוע מאד מהזן קיט, בקיבוץ סופה בנגב. להחדרת החומר, נרכש מחברה אוסטרלית מכשיר מיוחד (Sidewinder tree injector) להזרקת חומרי הדברה לעצים (www.treeinjectors.com). הטיפולים כללו ביקורת (ללא טיפול), טיפולי הזרקה בשתי פורמולציות חדשות (F1 ו-F2) של פרוכלורז בריכוז 20% המיושם דרך 4 או 8 חורים (בכל טיפול הוזרקו כ- 10 מ"ל לחור). כל טיפול הכיל 4 עצים, וההזרקות בוצעו באוגוסט ובאוקטובר 2003. לא נמצאה נוכחות של פרוכלורז בעצים המטופלים, לא במבחן ביולוגי ולא באנליזה כימית. בהערכת נגיעות באפריל עד יולי, 2004, לא נמצא השפעה לטיפול ההזרקה ולא נמצא הבדל במספר התפרחות הנגועות בטיפול לעומת הביקורת. ניתוח של מהלך הניסוי מצביע על יעילות נמוכה של ההליך הטכני של ההזרקה.

ד. ניסוי הזרקה באמצעות צינור לטקס במטע מכון וולקני

הניסוי נערך בעצים נגועים מהזן קיט במטע וולקני. לקצוות ענפים בגיל כשנתיים, הורכב צינור לטקס מנופח שהכיל 50-100 מ"ל חומר מרוכז מהפורמולציה F1. כעבור יומיים שלושה, כל החומר הוזרק לענף תחת לחץ. כשבוע לאחר מכן, נראו סימנים של פיטוטוקסיות בעלים ומכאן המסקנה שהפרוכלורז נע בענף למרחקים של כ-1 מ' עד קצוות הענפים. נלקחו דוגמאות עלים וחלקי ענפים לבדיקות ביולוגיות וכימיות. בשתי השיטות נמצאו ריכוזים משמעותיים של פרוכלורז לכן הוחלט לעבור לשיטת טיפול בהגמעה של החומר בכדי להכניסו לכל חלקי העץ.

ה. טיפולי ריסוס והגמעה במטע במשמר השרון ובמכון וולקני

הניסוי נערך במטעי מכון וולקני וקיבוץ משמר השרון. הטיפולים נעשו בחזרות ובבלוקים באקראי. הטיפולים השונים נעשו בתכשיר המסחרי "MIRAGE 45 ECNA" מתוצרת "מכתשים-אגן" אשר מכיל את החומר הפעיל פרוכלורז בריכוז של 45%. הריסוס נעשה באמצעות מרסס נגרר בקיבולת של 100 ליטר מתוצרת "דגניה" תוך שימוש ברובה ריסוס. לצורך ההגמעה הוקמה מערכת השקיה ייעודית תוך שימוש במשאבה מדשנת של חברת "תפן". פירוט הטיפולים השונים מופיע בטבלה 4. בתום הניסוי, נקבע אחוז התפרחות הנגועות בכל טיפול בהשוואה לביקורת.

טבלה 4: הרכב הטיפולים בפרוכלורז במטע מכון וולקני ומשמר השרון

אתר	תקופה	טיפול	ריכוז פרוכלורז	תדירות	עונה
וולקני	3.05 – 11.04	ריסוס	0.5%	פעם בשבוע	תפרחות 2005
	3.05 – 11.04	הגמעה	80 ppm	פעמים בחודש	תפרחות 2005
משמר	5.05 – 11.04	ריסוס	0.5%	פעם בשבועים	תפרחות 2005
השרון	4.05 – 12.04	הגמעה	80 ppm	פעם בשבועים	תפרחות 2005
משמר	4.06 – 6.05	ריסוס	1%	פעם בשבועים	תפרחות 2006
השרון	10.05 – 6.05	הגמעה	80 ppm	פעם בשבועים	תפרחות 2006
	4.06 – 11.05	הגמעה	100 ppm	פעם בשבועים	תפרחות 2006

נערכה ספירה של תפרחות מעוותות ובריאות וכן בדיקת היבול ואנליזות ביולוגיות וכימיות. במכון וולקני ב- 2005 ובמשמר השרון ב- 2005 ו- 2006.

טבלה 5: תוצאות הטיפול בעונת 2005, במטע מכון וולקני

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%)	מובהקות
ריסוס	26	6411	136	2.1	$P > 0.001$
הגמעה	22	4111	154	3.7	$P > 0.029$
ביקורת	30	6659	375	5.6	-----

מסקנה: בעונה 2005 במטע מכון וולקני נמצא הבדל מובהק באחוז התפרחות המעוותות בין הטיפולים לבין עצי הביקורת (טבלה 5).

טבלה 6: תוצאות הטיפול בעונת 2005, במטע משמר השרון

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%)	מובהקות (t-test)
ריסוס	39	9466	2214	23.4	$P>0.05$
הגמעה	41	8024	2601	32.4	$P>0.05$
ביקורת	39	7698	2091	27.2	-----

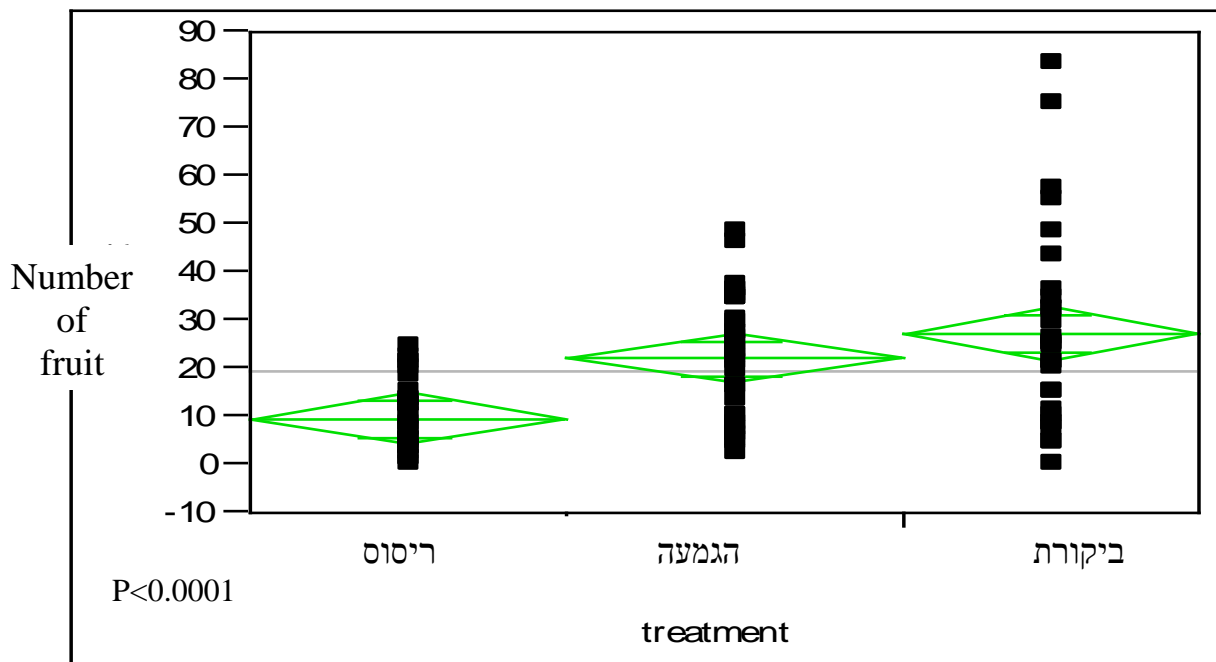
מסקנה: בעונה 2005 במטע משמר השרון לא נמצא הבדל מובהק באחוז התפרחות המעוותות בין הטיפול הריסוס לבין עצי הביקורת (טבלה 6).

טבלה 7. תוצאות ספירת תפרחות עד 25 אפריל 2006 במטע משמר השרון

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%)	מובהקות (t-test)
ריסוס	40	1190	595	50	$P>0.031$
הגמעה	42	3565	1364	38.3	$P>0.001$
ביקורת	40	3834	2130	55.6	-----

מסקנה: נמצא הבדל מובהק באחוז התפרחות המעוותות בין הטיפולים לבין הביקורת (טבלה 7). כן נמצא שטיפול הריסוס מפחית בצורה מובהקת את מספר כלל התפרחות בעץ.

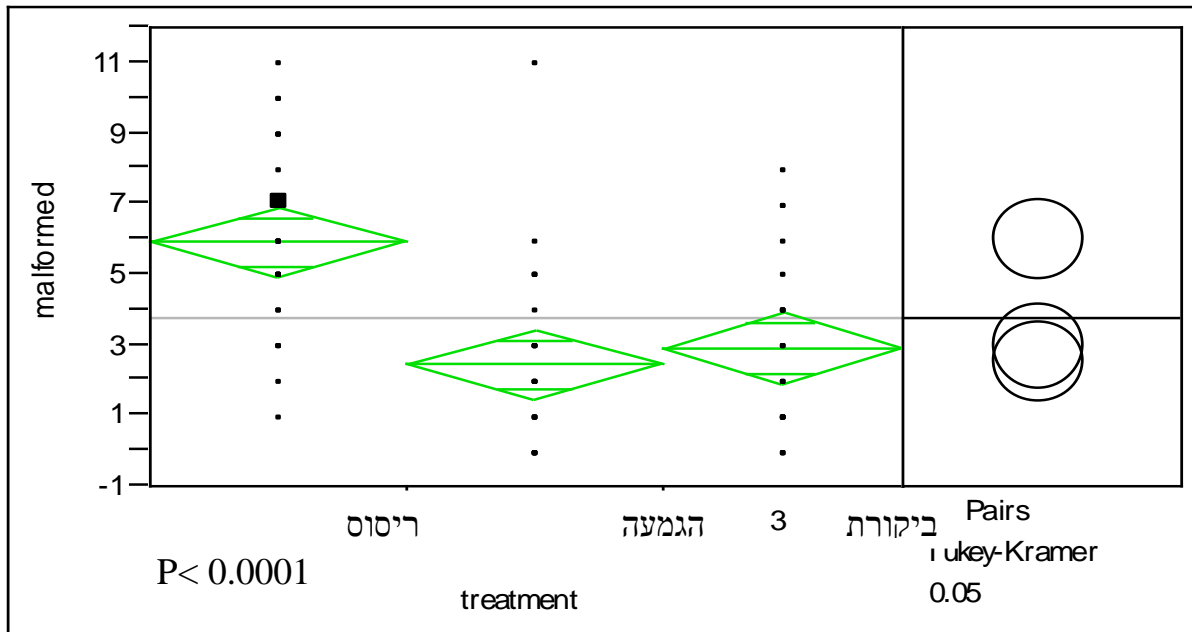
ספירת הפרי של עונת 2005 נעשתה לפני הקטיף (ציור 1). התוצאות מצביעות על הבדל מובהק ברמת היבול בין טיפול הריסוס לבין טיפולי ההגמעה והביקורת.

ציור 1: יבול מטע במשמר השרון

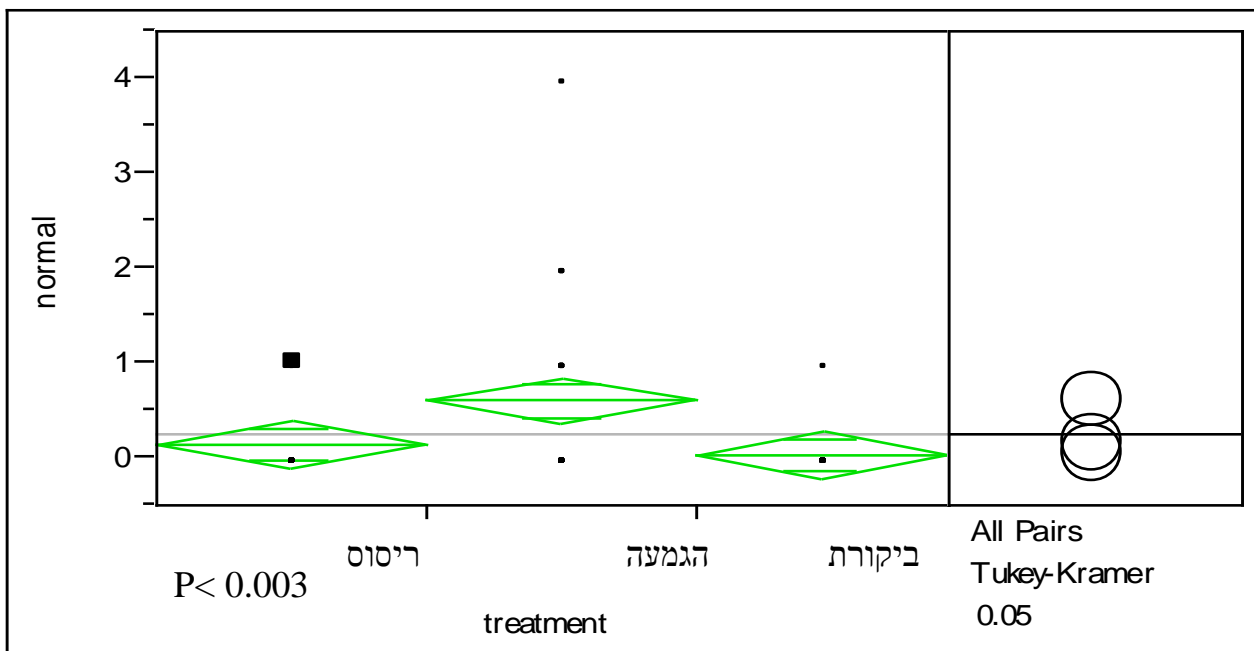
במהלך חודש ספטמבר 2005 נעשתה במשמר השרון, ספירה של תפרחות נגועות שלא התייבשו (כנראה עקב חומרים שהפתוגן מפריש) וכן של צימוח בריא שיוצא מתפרחות יבשות שמגלות חיוניות. התוצאות מתוארות בציורים 2 ו-3. נמצא שבטיפול הריסוס יש יותר תפרחות מעוותות

בהשוואה לטיפול ההגמעה והביקורת (ציור 2) ואילו מתוך הצימוח המעוות, היה צימוח של ענפים בריאים בעיקר בטיפול ההגמעה (ציור 3).

ציור 2: תפרחות מעוותות "חיות" בספטמבר 2005



ציור 3: צימוח בריא מתוך תפרחות מעוותות (ספטמבר 2005)



במהלך אפריל 2006 נעשו בדיקות כימיות לנוכחות של פרוכלורז בדוגמאות עלים שנלקחו מטיפול ההגמעה ומהביקורת במטע משמר השרון. הבדיקות הכימיות העלו שפרוכלורז נמצא מעל רמת הביקורת ב- 70% מהדוגמאות (טבלה 8). בכל דוגמאות הביקורת נמצאו ערכים נמוכים מערך הסף, (הרמה הניתנת לגילוי בבדיקה זו). הבדיקה הכימית בוצעה במעבדות מיגל, קרית- שמונה.

טבלה 8: תוצאות בדיקה כימית לנוכחות פרוכלורז בעלים

מספר סידורי טיפול כמות פרוכלורז ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

74.11	הגמעה	1
20.14	הגמעה	2
40.51	הגמעה	3
28.69	הגמעה	4
132.38	הגמעה	5
<14.5	הגמעה	6
<14.5	הגמעה	7
<14.5	ביקורת	8
<14.5	ביקורת	9
<14.5	ביקורת	10

מסקנה: נמצא שונות רבה בנוכחות הפרוכלוראז בדוגמאות המטופלות. הבדיקות הביולוגיות נעשו על 48 דוגמאות שמקורן בשישה עצים מטיפול ההגמעה ושישה עצים מקבוצת הביקורת. בכל הבדיקות הביולוגיות לא נמצאה עדות לנוכחות פרוכלורז.

5. פיתוח כלי דיאגנוסטי מולקולרי שהינו ספציפי לאבחון הפתוגן

נקטו מספר גישות במקביל לצורך זיהוי ייחודי, אמין ויעיל של גורם המחלה:

5.1. בידוד פסי AFLP ייחודיים ל- *F. mangiferae* מ-DNA גנומי

שיטת ה-AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) היא אחת השיטות הנפוצות לאיפיון גנטי של יצורים שונים. שיטה זו אינה מצריכה ידע מוקדם על רצף ה-DNA של האורגניזם הנלמד, והינה מבוססת על קיום או העדר אתרי חיתוך באתר מסויים. DNA גנומי נחתך על ידי אנזימי חיתוך מסוימים ולמקטעים מוספים אדפטורים. לאחר מכן תחלים (primers) ייחודיים לאדפטורים אלה משמשים בראקציית PCR להגברת המקטעים. התוצרים עוברים אנליזה בגיל אקרילאמיד לאיתור פולימורפיזם בין הפרטים הנבדקים ולבידוד תוצרים ייחודיים. לצורך איתור פסי AFLP ייחודיים ל- *F. mangiferae* (הפטריה הפתוגנית הגורמת למחלת עיוות התפרחות), הושו דגמי פסים שמקורם מ-DNA גנומי של הפתוגן לאלה של זני מנגו לא נגועים בפתוגן וכן למיני פוזריום שונים שמקורם מתבדילים פתוגניים מקומיים כגון: *F. o. lycopersici* (FOL), *F. o. basilica* (FOB), *F. o. melonis* (FOM), *F. proliferatum*, והן מתבדילים מחו"ל כגון: *F. globosum*, *F. sacchari*, *F. fujikuroi*, *F. sterilihyphosum*, *concentricum*, *F. verticillioides*, ו-*Fusarium. sp.* (26427). דגמי הפסים השונים נוצרו תוך שימוש במספר קומבינציות של תחלים של AFLP. פסים ייחודיים שהתקבלו בודדו, נוקו מהגיל ורוצפו לצורך סינתזת תחלים ייחודיים לפתוגן (נספח 1). בודדו, רוצפו ונוקו כארבע מאות פסים ייחודיים וסונתזו כמה עשרות תחלים ייחודיים. התחלים משמשים להגברת המקטעים הייחודיים לפתוגן בראקציית PCR תוך שימת דגש על הגברה ספציפית של מקטע זה בפתוגן בלבד (נספח 2).

5.2. בידוד רצפי ITS של Ribosomal DNA, ייחודיים ל- *F. mangiferae*

ידוע כי רצפי ITS הינם רצפים המצויים במספר רב של עותקים בתאי פטריות, על כן אנו מעוניינים להשתמש בתחלים אלה לזיהוי הפטרייה הפתוגנית. רצפי ITS של תבדידים שונים של פטריות ממשפחת ה- *F. mangiferae* ושל מנגו הוגברו ורוצפו תוך שימוש בתחלים אוניברסאליים ל-ITS בפטריות. רצפים אלה הושוו במטרה לאפיין מקטעים שונים וייחודיים לפתוגן. על בסיס מקטעים ייחודיים אלה סונתזו תחלים ספציפיים ל-ITS של הפתוגן לצורך הגברה בריאקצית ה-PCR (נספח 2). כאשר דגימת הרקמה הנגועה מכילה כמות קטנה של ה-DNA הפתוגני ישנה סבירות שניתן יהיה לגלותה על בסיס מעקובות חוזרות אלה.

5.3. ריאקצית PCR

נעשתה הגברה של DNA שהופק מהזן קיט ומפטריות שונות בריאקצית PCR במטרה לבחון את ייחודיות (ספציפיות) הריאקציה. הרגישות של תחלים ייחודיים לפטרייה הפתוגנית *F. mangiferae* נבדקה בריאקצית PCR עם כמויות שונות של DNA מעלי מנגו והפטרייה בתערובת עם כמות קבועה של DNA ממנגו. כמות DNA פטרייה הנעה בין 0.05-50 ng וכמות DNA מנגו הנעה בין 25-50 ng עורבבו, במטרה לבדוק את רגישות המבחן ואת היכולת לזהות כמויות קטנות ככל האפשר של הפטרייה. נמצא שניתן לזהות את נוכחות הפטרייה בכמות DNA של 0.05 – 5 ng בתערובת עם DNA 25-50 ng של מנגו (נספח 3). בנוסף, נבדקה תערובת שהכילה כמות DNA מהפטרייה 100 ng - 0.01 ng ו-DNA וממנגו (100 ng). נמצא שניתן לזהות נוכחות הפטרייה בכמות DNA של 0.01 ng בתערובת עם DNA 100 ng של מנגו (נספח 4).

דין

1. מחלת עוות התפרחות והצימוח במנגו הנגרמת ע"י הפטרייה *F. mangiferae* התבססה בנגב המערבי וחבל הבשור, באזור המרכז, ולאחרונה נתגלתה ברוב המטעים בצפון הארץ.
2. בבדיקה לנגיעות טבעית בפרחים וחנטים של עצי מנגו, נמצאה נגיעות ב-100% מהפרחים והחנטים שמקורם מעצים נגועים ו 0% נגיעות באלה שמקורם מעצים בריאים. ניתן להסיק כי מקור החנטים הנגועים מפרחים נגועים.
3. נבחן אכלוס טבעי של *F. mangiferae* בזרעים ובקליפות הזרעים. נמצא שאין אכלוס בתוך הזרעים ועל קליפתם ומכאן נראה שהפתוגן אינו מועבר בזרעים ובתוך פירות.
4. בפירות מעצים נגועים בני חודשיים ושלושה נמצאה כמות גדולה של נבגים על פני הקליפה ומכאן יש להניח אפשרות של העברת הפתוגן ממטע נגוע לבתי אריזה ולמקומות אחרים ע"ג הפירות ומכולות.
5. פרוכלורז נמצא להיות חומר הדברה יעיל ביותר לעיכוב גידול תפטיר הפתוגן בצלחות.
6. פרוכלורז הוחדר באינפוזיה לעצים נגועים במטע עין החורש. רמת נגיעות נמוכה בביקורת מנעה השגת תוצאות מהימנות אך לא נמצא הבדל מובהק בין הטיפול לביקורת.
7. בניסוי בסופה, אותרו בעיות טכניות בהזרקת החומר והחומר לא נע בעץ.
8. במטע וולקני החדרה של החומר בלחץ דרך צינור לטקס, איפשרה את איתור החומר בעלים בשיטה ביולוגית ובאנליזה כימית. נמצא שהפרוכלורז יכול לנוע בעץ (לפחות למרחק של 1-3 מטר).
9. בניסוי הקדמי של ריסוס במטע בוולקני, לא נמצא הבדל מובהק במספר התפרחות הנגועות בין הביקורת לטיפול כיסוי התפרחות בשקיות. מכאן ניתן להסיק שהפקעים נוגעו לפני הכיסוי

בשקיות או לחילופין, הפטרייה הייתה קימת בעץ קודם לכיסוי. בריסוס בפרוכלורז נמצאה הפחתה משמעותית במספר התפרחות הנגועות לעומת ביקורת.

10. בשני ניסויי שדה (וולקני ומשמר השרון), הגמעה של פרוכלורז דרך מערכת ההשקיה הפחיתה באופן מובהק את אחוז התפרחות הנגועות בהשוואה לביקורת. בדיקה כימית הצביעה על שונות גבוהה בנוכחות פרוכלורז בדוגמאות השונות. בטיפול הריסוס בריכוז של 1% נמצאה הפחתה ביבול ופגיעה בהווצרות התפרחות.

11. אופיינו תנאי PCR להגברה ספציפית של מקטעי DNA ייחודיים של הפטרייה. פותחו שלושה זוגות תחלים ייחודיים על בסיס דגם הפסים של AFLP וזוג אחד של תחלים על בסיס רצף ה-ITS של דנ"א ריבוזומלי במטרה להגדיל את רגישות המבחן. התחלים נבחנו בהצלחה בתנאי *in-vitro* ונבחנים עכשיו בתנאי *in-vivo*.

12. המשך המחקר מחייב קיום תקציב מתאים לנושא.

פרסומים מדעים מהמחקר

נמסר דווח בע"פ ב- 8.02.04 במסגרת יום עיון "מחקרים חדשים - מטעים 1" המאורגן ע"י המדען הראשי של משרד החקלאות.

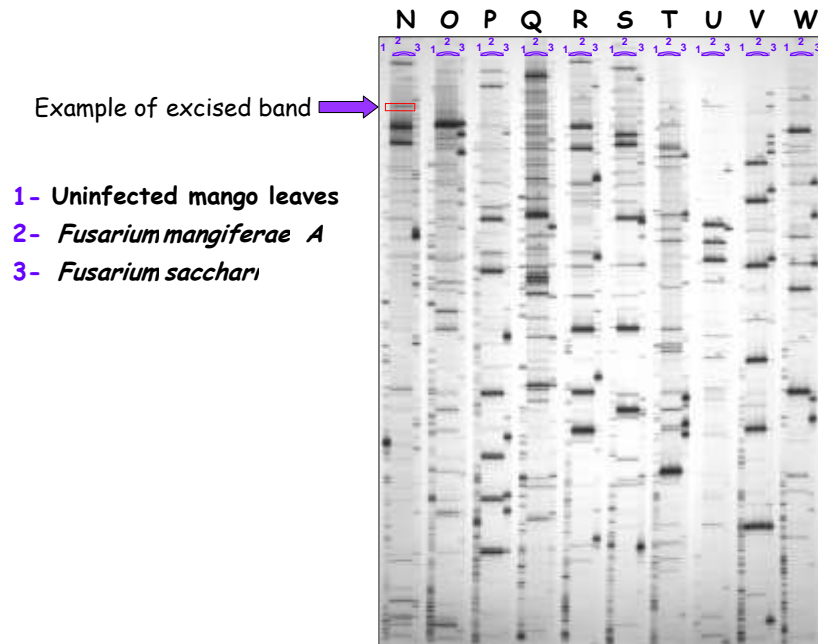
נמסר דווח בע"פ ב- 7.2.05 במסגרת יום עיון "מחקרים במטעים" המאורגן ע"י המדען הראשי של משרד החקלאות.

מאמרים:

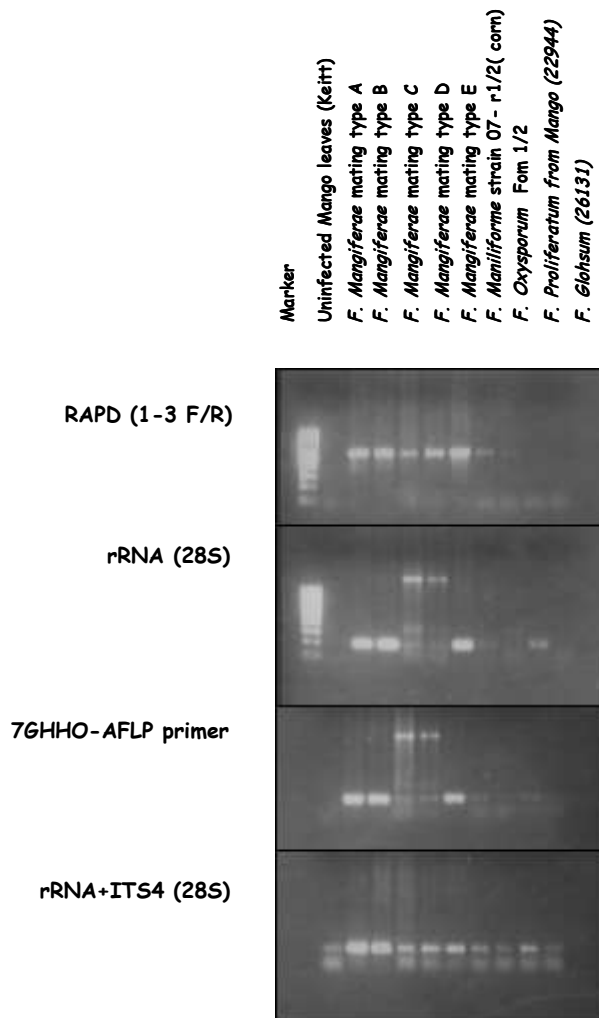
Freeman, S., Klein-Gueta, D., Korolev, N., and Szejnberg, A. (2004). Epidemiology and survival of *Fusarium subglutinans*, the causal agent of mango malformation disease. *Acta Hort.* 645:487-491.

דנית קליין-גואטה, אברהם שטיינברג, מרסל מימון, אפרת גמליאל-אטינסקי, יהודה ניצני, סטנלי פרימן (2004). מחקרים באפידמיולוגיה והישרדות של הפטרייה *Fusarium mangiferae* מחוללת מחלת עוות התפרחות והצימוח במנגו. אלון הנוטע 58 : 309-312.

נספח 1: גיל AFLP על תבנית DNA גנומי. האותיות N עד W מתארות קומבינציות שונות של תחלים ל-AFLP והמספרים 1 עד 3 מתארים את מקור ה-DNA הנבדק. דגם הפסים של הפטריה הפתוגנית (*F. mangiferae*) הורץ במספר עמודות על מנת לאפשר בידוד וניקוי של מקטע ה-DNA.

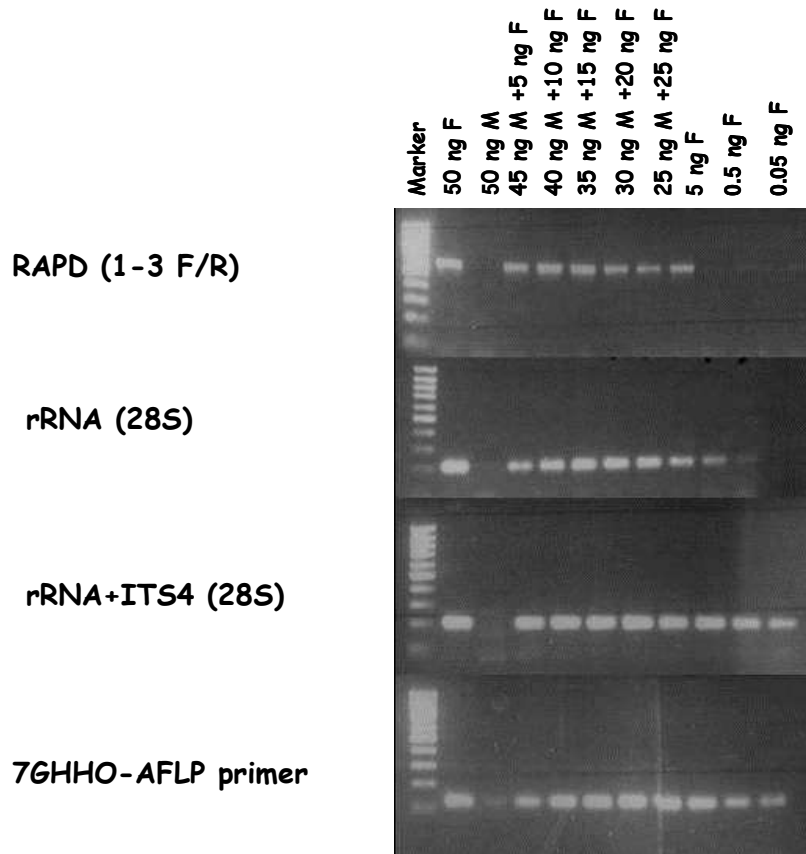


בדיקת תחלים ייחודיים לפטרייה *F. mangiferae* בריאקצית PCR על תבדידי פטרייה שונים ועלי מנגו לא נגועים מזן קיט.



נספח 3

בדיקת רגישות של תחלים ייחודיים לפטרייה הפתוגנית *F. mangiferae* בריאקצית PCR על תערובות DNA של עלי מנגו (M) והפטרייה הפתוגנית (F) ביחסים שונים. ההגברה נעשתה על תערובת DNA שהכילה 25 – 50 ng DNA ממנגו ו- 0.05 – 50 ng DNA מהפטרייה.



נספח 4

בדיקת רגישות של תחלים ייחודיים לפטרייה הפתוגנית *F. mangiferae* בריאקצית PCR. נבדקו כמויות שונות של DNA מעלי מנגו והפטרייה בתערובת עם כמות קבועה של DNA ממנגו. כמות DNA פטרייה 0.01 - 100 ng וכמות DNA מנגו (L) 100 ng.

