

מיזם הפחתת נזקי מחלת עיוות תפרחות במנגו

Reduction of mango malformation disease

סטנלי פרימן, מח' למחלות צמחים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן
יצחק אדטו ואלקנה בן-ישר, מיגל הגליל, עמי קינן, חוות ניסיונות, צמח
אורי לביא, דוד סעדה, איריס ביטון, מח' למטעים, מנהל המחקר החקלאי, בית דגן

דצמבר, 2006

טבת תשס"ז

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 לפזריום 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. טיפול 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 במשמר השרון ובמכון וולקני, בשיטות יישום שונות ובריכוזים ומועדים שונים.
3. תוצאות עיקריות: א. אפידמיולוגיה: במטעים נגועים נבגי הפטרייה נמצאים בכמויות גדולות בתפרחות, כחנטים ועל גבי פירות, אך לא בתוך זרעים.
- ב. דיאגנוזה מולקולרית: פותחו שלושה זוגות תחלים ייחודיים על בסיס דגם הפסים של AFLP חוג 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*.
- ג. טיפול 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.
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 טובב 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 הנם *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. נמצא כי אין אכלוס בזרעים ובקליפות הזרע הן על גביהם (אלה שלא חוטאו) והן בתוכם (אלה שחוטאו חיצונית). לא נמצא אכלוס הפתוגן ברקמות הפנימיות של הפירות. כימות מספר הנבגים נעשה ע"י שטיפת הפירות, סירכוז נוזל השטיפה וזריעה במצע סלקטיבי (טבלה 1).

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

גיל (חודשים)	משקל ממוצע (גרם)	כמות הנבגה (נבגים/גרם)	נגועים
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 ממוצע 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 הסטרובילורנינים 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 אפידימיולוגיים 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 חיצוניות. 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 סופה

הניסוי נערך במטע נגוע מאד מהזן קיט, בקיבוץ סופה בנגב. להחדרת החומר, נרכש מחברה אוסטרילית 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 הזרקו 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.

ג. 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 הזרק 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.

ד. 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 3. בתום הניסוי, נקבע אחוז התפרחות הנגועות בכל טיפול בהשוואה לביקורת (טבלאות 4 – 7).

טבלה 3: 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 4: תוצאות הטיפול בעונת 2005, במטע מכון וולקני

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%)	מובהקות (t-test)
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 4).

טבלה 5: תוצאות הטיפול בעונת 2005, במטע משמר השרון

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%)	פירות (ממוצע/עץ) מובהקות (t-test)
ריסוס	39	9466	2214	23.4	$P>0.05$ 9.8 a
הגמעה	41	8024	2601	32.4	$P>0.05$ 22.4 b
ביקורת	39	7698	2091	27.2	----- 27.4 b

מסקנה: בעונה 2005 במטע משמר השרון לא נמצא הבדל מובהק באחוז התפרחות המעוותות בין הטיפולים הריסוס לבין עצי הביקורת אך טיפול הריסוס הפחית את היבול (טבלה 5).

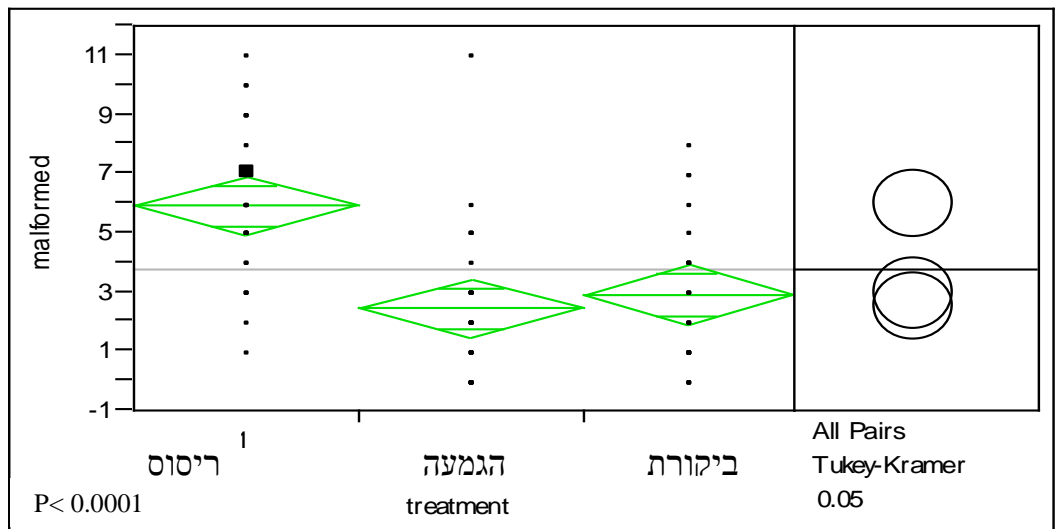
טבלה 6. תוצאות ספירת תפרחות עד 25 אפריל 2006 במטע משמר השרון

טיפול	מס' עצים	סך תפרחות	סך מעוותות	עיוות (%) פירות (ממוצע/עץ) מובהקות (t-test)
ריסוס	40	1190	595	1.5 a $P>0.031$
הגמעה	42	3565	1364	9.7 b $P>0.001$
ביקורת	40	3834	2130	7.8 b

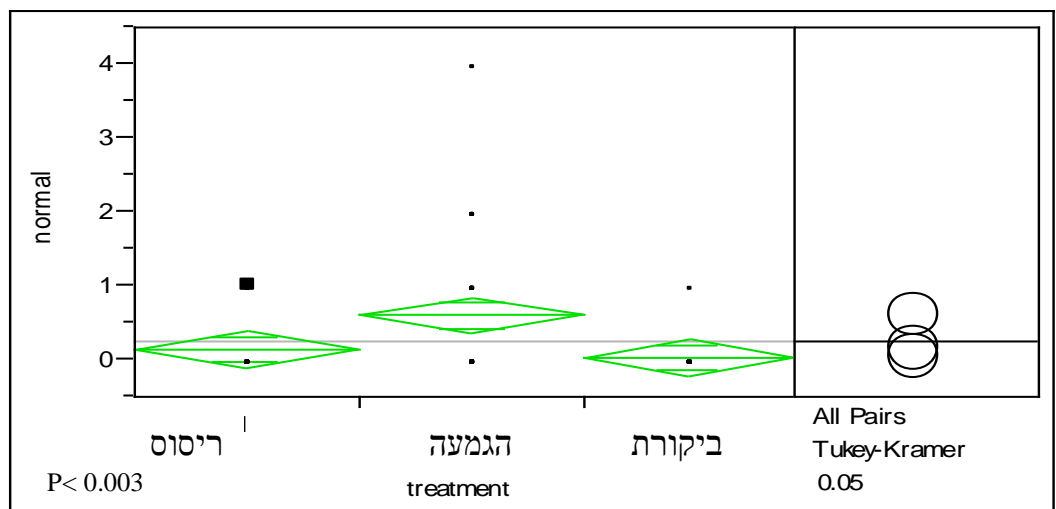
מסקנה: נמצא הבדל מובהק באחוז התפרחות המעוותות בין הטיפולים לבין הביקורת (טבלה 6). כן נמצא שטיפול הריסוס מפחית בצורה מובהקת את מספר כלל התפרחות בעץ והפחית את היבול.

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 בצירויים 1 ו-2. נמצא שבטיפול הריסוס יש יותר תפרחות מעוותות בהשוואה לטיפול ההגמעה והביקורת (צירוי 2) ואילו מתוך הצימוח המעוות, היה צימוח של ענפים בריאים בעיקר בטיפול ההגמעה (צירוי 2).

צירוי 1: תפרחות מעוותות "חיות" בספטמבר 2005



צירוי 2: 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 7). בכל דוגמאות הביקורת נמצאו ערכים נמוכים מערך הסף, (הרמה הניתנת לגילוי בבדיקה זו). הבדיקה הכימית בוצעה במעבדות מיגל, קרית- שמונה.

טבלה 7: תוצאות בדיקה כימית לנוכחות פרוכלורז בעלים

מספר סידורי	טיפול	כמות פרוכלורז ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	הגמעה	74.11
2	הגמעה	20.14
3	הגמעה	40.51
4	הגמעה	28.69
5	הגמעה	132.38
6	הגמעה	<14.5
7	הגמעה	<14.5
8	ביקורת	<14.5
9	ביקורת	<14.5
10	ביקורת	<14.5

מסקנה: נמצא שונות רבה בנוכחות הפרוכלורז 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

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

5.1. בידוד פטי 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 בג'ל אקרילאמיד לאיתור פולימורפיזם בין הפרטים הנבדקים ולבידוד תוצרים ייחודיים. לצורך איתור פטי AFLP ייחודיים ל- *F. mangiferae* (הפטריה הפתוגנית הגורמת למחלת עיוות התפרחות), הושוו דגמי פטים שמקורם מ-DNA גנומי של הפתוגן לאלה של זני מנגו לא נגועים בפתוגן וכן למיני פזריום שונים שמקורם מתבדידים פתוגניים מקומיים כגון: *F. o. lycopersici* (FOL), *F. o. melonis* (FOM), *F. o. basilica* (FOB), *F. proliferatum*, והן מתבדידים מחו"ל כגון: *F. concentricum*, *F. verticillioides*, *F. globosum*, *F. sacchari*, *F. fujikuroi* *steriliphosum* (26427). דגמי הפטים השונים נוצרו תוך שימוש במספר קומבינציות של תחלים של AFLP. פטים ייחודיים שהתקבלו בודדו, נקו מהג'ל ורוצפו לצורך סינתזת תחלים ייחודיים לפתוגן. בודדו, רוצפו ונקו כארבע מאות פטים ייחודיים

וסונתו 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 סונתו תחלים ספציפיים ל-ITS של הפתוגן לצורך הגברה בריאקצית ה-PCR. כאשר דגימת הרקמה הנגועה מכילה כמות קטנה של ה-DNA הפתוגני ישנה סבירות שניתן יהיה לגלותה על בסיס מעקובות חוזרות אלה.

5.3. ריאקציית PCR

נעשתה הגברה של DNA שהופק מהזון קיט ומפטריות שונות בריאקציית PCR במטרה לבחון את ייחודיות (ספציפיות) הריאקציה. הרגישות של תחלים ייחודיים לפטרייה הפתוגנית *F. mangiferae* נבדקה בריאקציית 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. בנוסף, נבדקה תערובת שהכילה כמות DNA מהפטרייה 0.01 - 100 ng ו-DNA וממנגו (100 ng). נמצא שניתן לזהות נוכחות הפטרייה בכמות DNA של 0.01 ng בתערובת עם DNA 100 ng של מנגו.

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 וחסנים של עצי מנגו, נמצאה נגיעות ב-100% מהפרחים והחסנים שמקורם מעצים נגועים ו 0% נגיעות באלה שמקורם מעצים בריאים. ניתן להסיק כי מקור החסנים 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 ושלווה 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. 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 בהוצרות התפרחות.

11. אופיינו תנאי PCR להגברה ספציפית של מקטעי DNA ייחודיים של הפטרייה. פותחו שלושה זוגות תחלים יחודיים על בסיס דגם הפסים של AFLP וחוג 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.

סיכום לדו"ח מחקר מס': 1302-132מטרות המחקר:

א. לימוד האפידמיולוגיה של המחלה; ב. ניסויים להפחתת נזקי המחלה; ג. פיתוח כלי דיאגנוסטי מולקולרי לאבחון הפתוגן.

תוצאות עיקריות:

במטעים נגועים נבגי הפטרייה נמצאים בכמויות גדולות בתפרחות, בחנטים ועל גבי פירות, אך לא בתוך זרעים. הגמעה של פרוכלורז דרך מערכת ההשקיה הפחיתה באופן מובהק את אחוז התפרחות הנגועות בהשוואה לביקורת. בטיפול הריסוס בריכוז של 1% נצפתה הפחתה ביבול ופגיעה בהווצרות התפרחות. פותחו שלושה זוגות תחלים יחודיים על בסיס AFLP וזוג אחד על בסיס רצף ה-ITS. התחלים נבחנו בהצלחה בתנאי *in-vitro* ונבחנים עכשיו בתנאי *in-vivo*.

מסקנות מדעיות והשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו:

אין העברת הפטרייה בתוך פירות אך קיימת אפשרות העברה ממטע נגוע ע"ג פירות מעצים נגועים. 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. הגמעה בפרוכלורז הפחית באופן משמעותי את כמות התפרחות הנגועות בהשוואה לביקורת. יש לבחון השפעה של ריכוזים ותדירויות של יסום פרוכלורז לאתר תנאי הטיפול האופטימליים וללא נזקים. כלי האבחון המולקולרי צריך להבחן בתנאי *in-vivo*. נדרש תקציב נוסף להמשך המחקר.

הבעיות שנותרו לפתרון:

- א. הבנה מלאה של האפידמיולוגיה של המחלה.
- ב. כיוול התנאים המתאימים לטיפול פרוכלורז בשדה במטרה להקטין את נזקי המחלה.
- ג. בדיקת הכלי הדיאגנוסטי בתנאי *in-vivo*.

פירוטומים:

Freeman, S., Klein-Gueta, D., Korolev, N., and Sztejnberg, 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.