דו"ח מסכם לעונת המחקר הראשונה מתוך שלוש שנים לתכנית מחקר מספר 21-17-0003

שם המחקר : הפחתת ניזקי אקריות הריזוגליפוס בבצל ע"י דיכוי פטריית הפוזריום באמצעים ידידותיים לסביבה

Suppression of the soil borne pathogen *Fusarium oxysporum* and mite *Rhizoglyphus robini* in Garlic and Onion using environmentally friendly measures

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י: שאלתיאל-הרפז ליאורה - מו"פ צפון, lioraamit@bezeqint.net, פלבסקי אריק, צרור לאה, רביב מיכה- מנהל המחקר החקלאי, מוצפי סגולה-מיגל, אלון תמר-שה"מ, גלעדי יפתח- חוות עדן

תקציר

הבעיה: בצל ושום נפגעים באופן חמור ע"י אקרית הקרקע *Rhizoglyphus robini* הנפוצה בישראל וניזונה על האיברים התת-קרקעיים של הצמח ומובילה למותו. כיום ההתמודדות היחידה עמה היא בעזרת תכשירים שרעילותם גבוהה, קיימת עמידות כנגדם ולאחרונה רובם נאסרו לשימוש. **הנחת העבודה** התבססה על ממצאים קודמים שאקריות הקרקע נמשכות לפטריות פתוגניות ואז מתרבות וגורמות לנזק כלכלי. **מטרות המחקר לתקופת הדוח** : **א**. לבדוק האם ניתן להפחית את המידבק של גורמי מחלה הגורמים לריקבון הבצל בשדות בעזרת השימוש בקומפוסט, ובחיידקים הפוגעים בפטריות. **ב**. לבחון האם ניתן להפחית את הנזקים הנגרמים לבצל בשדות מאקרית הקרקע בעזרת שימוש בקומפוסט ו/או חיידקים כתחליף לחומרי הדברה. **שיטות עבודה:** ניסוי שדה ומעבדה. **תוצאות**. **תוצאות:** בניסוי השדה למרות שיעור נביטה נמוך, ניכרה השפעת הטיפולים כאשר מספר הנבטים וגם היבול באסיף היה הכי נמוך בביקורת. מספר הנבטים הגבוה ביותר התקבל בטיפול הווידאט, והיבול הגבוה ביותר הגבוה ביותר התקבל בטיפול המשלב ווידאט וקרבנדזים. טיפול הקומפוסט בעונה הראשונה לא תרם לפחיתה בנגיעות בפוזריום או אקריות או לתוספת יבול. ניסויי המעבדה לבחינת השפעת החיידק *Paenibacillus* sp. FI2 מצביעים על פגיעה של החיידק והמטבוליטים שלו בתבדידי הפטריה הפתוגנית *F. oxysporum* . ובהשוואתו לתכשירים ביולוגיים מסחריים הוא הראה פעילות עדיפה בניסויי עציצים בניסויי העציצים שוב הודגמה החשיבות של הפוזריום ושילובו עם האקרית ביצירת הנזק לנבטים, כאשר באדמה המעוקרת שיעור הנביטה ומשקל היבול היו הגבוהים ביותר עם ובלי תוספת האקריות. **מסקנות** גם ניסויי השדה וגם ניסוי המעבדה הצבעו שוב על הקשר בין האקרית והפוזריום ביצירת הנזק לבצל. לא צפוי היה שהקומפוסט ישפיע בשנת המחקר הראשונה ולכן אנו נמשיך בניסויים הן בשדה והן במעבדה כמתוכנן.

1.מעריכים מומלצים לבדיקת הדו"ח המדעי:

פרופ' יגאל אלעד, פרופ' יצחק הדר, פרופ' אורי גרזון

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקרת **תאריך: 17/08/2016**

תוכן עניינים

נושא	עמוד
תקציר מדעי של המחקר	1
מבוא ותיאור הבעיה	2-3
מטרות המחקר	3
תיאור מקיף של הפעלת המחקר	3-6
תוצאות	6-8
דיון ומסקנות	8
תודות	8
ביבליוגרפיה	9
טופס סיכום עם שאלות מנחות	9-10

מבוא ותיאור הבעיה

בצל יבש (*Allium cepa*) ושום הגינה (*Allium Sativum*) שניהם גידולים חשובים המספקים את כל הצריכה המקומית בישראל. שני גידולים אלו נפגעים באופן חמור ע״י אקרית הקרקע (Astigmata: Acaridae) *Rhizoglyphus robini*. אקרית זו נפוצה בקרקעות ישראל ונחשבת למזיק חקלאות שתפוצתו כלל עולמית הגורמת לנזקים כבדים לצמחים ממשפחת השושניים (Liliaceae) (Diaz et al. 2000). הנזק נובע מתזונת אקרית הקרקע על האיברים התת קרקעיים של הצמח וכתוצאה מכך נפגעת התפתחותו של הצמח עד תמותה. בבצל, הפגיעה בנבטים קשה אף יותר מהפגיעה בצמחים הבוגרים. אקרית הקרקע פעילה כל השנה והיא ג׳נרליסטית, נמצאת בקרקע גם אחרי אסיף היבול ובכך מקשה על חקלאים להתמודד איתה. כיום, עיקר ההתמודדות עם אקרית הקרקע היא באמצעות חומרי הדברה מקבוצת הזרחנים האורגניים והקרבמטים, שנמצאו כיחידים היעילים בהדברתה, אך יש להם מספר חסרונות: א. רעילות גבוהה לבני אדם ולבעלי חיים; ב. התפתחות מהירה של עמידות כנגדם וג. לאחרונה, ע״פ תקנות משרד החקלאות, חלק מחומרים אלו נאסר לשימוש ולמעשה הצטמצמו מאוד האמצעים העומדים לרשות המגדלים להתמודדות עם מזיק זה. לפיכך מן הראוי למצוא חלופות לא רעילות לאדם ולסביבה שיאפשרו התמודדות עם נזקי האקרית בבצל ושום. בעבודה שנעשתה ע״י פלבסקי וחוב׳ (Ofek et al. 2014) נמצא שאקרית הקרקע איננה נמשכת לנבטי בצל בריאים אלא רק לכאלו שנתקפו ע״י פטריות מהמין *Fusarium oxysporum*. מעבודה זו ועבודות נוספות עולה בבירור שאקרית הקרקע התוקפת את הבצל הינה **המזיק המשני** ואילו המזיק הראשוני הינו פטריות פתוגניות (Lebiush-Mordechai et al. 2014) שהטיפול בהן עשוי למנוע את הצורך להתמודד עם אקרית הקרקע. במחקר זה אנו מעוניינים לבחון שני אמצעים ידידותיים לסביבה, להתמודדות עם המזיק הראשוני, *F. oxysporum*, כדי למנוע את הצורך בהדברה כימית של המזיק המשני אקרית הריזוגליפוס: 1. שימוש בקומפוסט צמחי בָּשֵל; 2. הדברה ביולוגית של *F. oxysporum* בעזרת תכשירים מיקרוביאליים מעכבי פטריות.

היפותזות העבודה והבסיס עליהן מושתת המחקר:

א. גידולי בצל חופשיים מפטריות לא ימשכו אליהם את אקרית הקרקע ולא ייפגעו ממנה; **ב.** יישום קומפוסט, ברמת בשלות גבוהה, ידכא פטריות פתוגניות מהסוג פוזריום (כפי שהוכח בגידולים מלון, בזיל, עגבניות ומלפפון) המושכות אקריות הפוגעות בבצל **ו-ג.**יישום חיידקי קרקע מסוג בצילוס או אקטינומיצטים יפגע בפטריית הפוזריום המושכת אקריות לבצל.

יעד המחקר הכללי הינו הפחתת נזקי אקרית הקרקע בבצל תוך הפחתת השימוש בחומרי הדברה הרעילים לאדם ולסביבה המיועדים לפגוע באקריות.

מטרות המחקר

I. לבדוק האם ניתן להפחית את המידבק של גורמי מחלה הגורמים לריקבון הבצל בשדות בעזרת השימוש בקומפוסט, ו/או בחיידקים הפוגעים בפטריות.

II. לבחון האם ניתן להפחית את הנזקים הנגרמים לבצל בשדות מאקרית הקרקע בעזרת שימוש בקומפוסט ו/או חיידקים כתחליף לחומרי הדברה.

תיאור מקיף של הפעלת המחקר לתקופת הדו"ח (עונת המחקר הראשונה)

מיקום המחקר ושיטות העבודה: המחקר מתבצע במספר מוקדים בהתאם למטרותיו השונות: ניסוי השדה, נערך **בעמק יזרעאל** בשדה של קיבוץ בית אלפא. זיהוי וגידול מיני הפטריות הפוגעות בבצל בשיטות קלאסיות ובשיטות מולקולאריות נערך במעבדה הפיטופתולוגית **של דר' לאה צרור בגילת**. זיהוי האקריות וספירתן מניסוי השדה וגידולן לניסוי המעבדה בוצע במעבדה האקרולוגית של דר' אריק פלבסקי **בנווה יער**. הקומפוסט הוכן ע"י מפעל הקומפוסט של קיבוץ שדה אליהו, יצורו לווה והוא נבחן ע"י דר' מיכה רביב בעזרת **מעבדת שירות השדה של צמח** בניהולה של דר' נורית בן הגיא. גידול החיידקים ובחינת פעולתן על תבדידי הפטריות מתבצע במעבדה למיקרוביולוגיה יישומית פרופ' סגולה מוצפי **במיג"ל** וניסויי המעבדה בעציצים מבוצע במעבדה לאנטומולוגיה של דר' ליאורה שאלתיאל **בחוות המטעים**.

פירוט הניסויים -לבחינת ההיפותזות: א. גידולי בצל חופשיים מפטריות לא ימשכו אליהם את אקרית הקרקע ולא ייפגעו ממנה. **ו-ב**. יישום קומפוסט, ברמת בשלות גבוהה, ידכא פטריות פתוגניות מהסוג פוזריום המושכות אקריות הפוגעות בבצל, **הוצב ניסוי** בשדה מסחרי של קיבוץ בית אלפא משק בית אלפא בעמק יזרעאל (ממוקם על כביש 71 בין כפר נחום לבית השיטה), בן 5 דונם, שבו ישנה היסטוריה של נגיעות באקרית הקרקע. תוכנן ניסוי תלת גורמי שבו שני טיפולים שמטרתם לטפל בפטריית הפוזריום התוקפת את הבצל (קומפוסט וטיפול כימי) וטיפול כימי שמטרתו לטפל ישירות באקריות. **טיפול הקומפוסט** כלל הצנעה של קומפוסט יעודי בשל במינון של 8 מ"ק לדונם. **הטיפול הכימי נגד פוזריום** כלל את התכשיר בוסטין (Carbendazim) במינון של חצי ק"ג לדונם. **הטיפול הכימי נגד אקרית הקרקע** כלל את התכשיר ויידט 10 (Oxamyl) במינון של 3 ליטר לדונם. לפיכך הניסוי כלל 8 טיפולים כדלהלן: (קומפוסט, קומפוסט+וידאט, קומפוסט+קרבנדזים, קומפוסט+קרבנדזים+וידאט, קרבנדזים, קרבנדזים+וידאט, וידאט וביקורת ללא טיפול). כל חלקת טיפול היתה ברוחב 3 ערוגות ואורכה 10 מ' (סה"כ 60 מ"ר) הניסוי הוצב במבנה של בלוקים באקראי עם 8 חזרות לכל טיפול, כאשר כל בלוק כלל 3 ערוגות שאורכן 80 מ' (תרשים 1). בצל מהזן גבריאלה נזרע ב3.11.15. זרעים מאצוות הזריעה נשלחו למעבדה בגילת לבחון האם הם נגועים בפוזריום. הקומפוסט הוצנע כחודש לפני הזריעה והטיפולים הכימיים רוססו במרסס גב מיד אחרי הזריעה.

בשל מורכבות הניסויים, ההכנות אליהם דרשו מספר שלבים מקדימים המפורטים להלן:

הכנת הקומפוסט: ב5.1.15 הוחל בהכנת ערמת קומפוסט ייעודית לניסוי, במפעל הקומפוסט בקיבוץ שדה אליהו, שהורכבה מ: 50% (על בסיס נפחי) חומר ממוצא צמחי – גזם ביתי, ו50% זבל בקר טרי . אחרי שהשלב הטרמופילי הסתיים (טמפרטורת הקומפוסט הגיעה כצפוי ל70 מ״צ) חיכינו שהטמפרטורה תרד וכשטמפרטורת הערמה הגיעה ל- 45 מ״צ (ביולי 2015) לקחנו בדיקות קומפוסט למעבדת שירות השדה בצמח. תוצאות הבדיקות הצביעו על ריכוז סידן כללי גבוה (Ca% 2.46 ±10.99 ממוצע וסטיית תקן), ומשקל נפחי גבוה (19.00 ±683.25 גר/ליטר) נתונים המעלים חשד שאדמה חדרה לקומפוסט במהלך הערבוב. כמו כן ערכי המוליכות החשמלית היו מעט גבוהים (0.27 ± 6.05 dS/m) יתכן בשל צינון הערמות במי עמק המעינות שהינם מליחים. בנוסף בשלות הקומפוסט לא היתה מלאה. מצד שני ערכי יסודות ההזנה בקומפוסט ובעיקר החנקן (0.13 ± 2.62 % N) היו גבוהים וטובים עבור החקלאי. באופן כללי קומפוסט זה לא נחשב לקומפוסט אופטימאלי, בעיקר בשל הבשלות הנמוכה, ולכן החלטנו להמתין עוד חודשיים ולתת לו להגיע לבשלות מתאימה (כמו כן קיווינו שההשקיה לפני הזריעה וגשמים ראשונים יסיעו בהדחת המליחות) . לפיכך דחינו את תחילת הניסוי מספטמבר לנובמבר והקומפוסט הבשל הוצנע בשדה ב8/10/15 בחלקות הטיפול במינון של 8 מ״ק לדונם, כחודש לפני מועד הזריעה של הבצל כדי להבטיח את הסופרסיביות של הקרקע לפני הזריעה. בשל הדחיה במועד התחלת הניסוי, כדי לאפשר לקומפוסט להגיע לבשלות המתאימה זן הבצל הותאם למועד הזריעה החדש והוחלף מאורי לגבריאלה.

בחינת נוכחות האקריות והפטריות הפתוגניות בשדה ומיפויין. כדי לוודא שהשדה שנבחר לניסוי אכן נגוע בפטריות ובאקריות ולמפות את מיקומן ערכנו דיגומים של הקרקע. **בדיקה ראשונה**- ב11.5.15, כאשר עדיין גדלה בשדה החימצה, גבולות השדה סומנו בשטח ונלקחו דגימות קרקע של 1 ליטר מכל אחת מחלקות הניסוי העתידיות (סה״כ 64 דגימות). מכל דגימה כ100 גר נשלחו למעבדה בגילת **לאיפיון הפתוגנים** הנמצאים בשדה ובניית מערכת עבודה שבה תהיה נוכחות של פטריות הקרקע. שאר הקרקע הושם במשפכי ברליזי למשך שבוע לאיסוף האקריות אשר הועברו למעבדה בנווה יער לצורך זיהוי וספירה. במעבדה בגילת נזרעו זרעי בצל בקרקע שהובאה מהשדה ובודדו הפתוגנים שתקפו את נבטי הבצל.. זיהוי הפתוגנים התבצע על פי מאפיינים טקסונומיים בשיטות מיקרוביולוגיות קלאסיות. **בדיקה נוספת לספירת** אקריות ולבידוד פטריות פתוגניות נערכה ב4.8.15 כשהפעם השתמשנו בשיטת מלכודות צינור עם שום שהודגר לוודא שהוא נקי מאקריות (Gerson et al 1985). לאחר הוצאת האקריות, שיני השום נשלחו למעבדה בגילת לצורך בידוד, איפיון וריבוי הפטריות הפתוגניות כמתואר למעלה. מיני הפוזריום שבודדו מהשום גודלו על מצע מזון והועברו למעבדה במיג״ל ולחוות המטעים לצורך ניסויי המעבדה לבחינת יעילותו הספציפית של החיידק נגדם (להלן).

דיגום נביטה בניסוי השדה. ב21.12.15 כחודש וחצי לאחר הזריעה ערכנו הערכה איכותית וספירה כמותית לבדיקת הנביטה של הבצל. בנוסף מכל חלקת ניסוי נאספו 18 נבטי בצל באקראי. 12 נבטים מכל חלקה הושמו לשבוע במשפכי ברליזי לאיסוף אקריות הקרקע וספירתן ו6 נבטים נשלחו למעבדה בגילת לצורך חזרה על בידוד, זיהוי וגידול תבדידי הפוזריום

הערכת יבול ובדיקת נגיעות הבצל באסיף- ב16.5.16 נערך האסיף של הבצל, 2 מ״ר אמצעיים מכל חלקת ניסוי נאספו, נספרו ונשקלו.

לבחינת היפותיזה ג: יישום חיידקי קרקע מסוג פניבצילוס או אקטינומיצטים יפגע בפטריית הפוזריום המושכות אקריות לבצל, נערכו שלושה ניסויי מעבדה.

הניסוי הראשון נועד לבחון את השונות ברגישותם של 3 תבדידי פוזריום אשר בודדו מהשדה, למטבוליטים אנטי פטרייתיים המופרשים ע"י החיידק *Paenibacillus* sp. FI2 . בניסוי זה, מצע החיידקים המכיל את המטבוליטים, אשר הופרשו ע"י החיידק בגידול מקדים במצע נוזלי, יושם בריכוזים שונים לבאריות בצלחות 24 באריות המכילות תרחיף נבגים (10^3 נבגים למ"ל), אשר הודגרו ב-25°C. לאחר 48 שעות נקבע מספר הנביטות בכל בארית, ונקבע ריכוז המטבוליטים אשר גרם לעיכוב מוחלט של נביטות פוזריום.

הניסוי השני נועד לקביעת עיכוב נביטת והתבססות אוכלוסיית הפוזריום בקרקע ע"י החיידקים בתנאי מעבדה. בניסוי זה קרקע מכבול החולה, עוקרה, והועברה לצלחות פטרי. תרחיף נבגים מאחד התבדידים של הפוזריום הוסף לקרקע בריכוז של 10^5 נבגים לגרם קרקע. לאחר 24 שעות הוסף גם תרחיף חיידקים בריכוז של 10^6 חיידקים לגרם קרקע בחלק מהצלחות, בכל טיפול 3 חזרות. הצלחות הודגרו ב- 28°C ונדגמו לאחר שבוע לבדיקת ריכוז הפטריות בקרקע. ריכוז הפטריות נקבע ע"י זריעת מיהולים מדגימות הקרקע מכל צלחת פטרי אל מצע נוזלי לפטריות (PDB) בצלחות 24 באריות. מספר המושבות שנבטו לאחר 48 שעות נקבע בכל בארית וחושב מספר יחידות הריבוי החיוניות של הפטרייה שנמצאו בטיפולי הקרקעות השונים לגרם קרקע רטובה.

הניסוי השלישי נועד לבחון תכשירים ביולוגיים מסחריים שמקורם מחיידקים ופטריות, הראשון (Mycostop® הכולל **4%** תפטיר ונבגים של האקטינומציט ***Streptomyces griseoviridis*** **Strain K61** והשני Prestop® הכולל נבגים ותפטיר במינון 10^8 cfu/g של הפטריה ***Gliocladium catenulatum*** **Strain J1446** שניהם של חברת Verdera הפינית (שנציגתם בארץ היא חברת אדמה) ולהשוות את פעילותם לפעילות החיידק המקומי *Paenibacillus* sp. FI2. מאחר ובעת הצבת ניסוי השדה, עדיין לא הגיע מהשירותים להגנת הצומח אישור לביצוע ניסויי שדה עם התכשירים הביולוגיים המסחריים, בדקנו את פעילותם בניסוי עציצים במעבדה. לצורך כך נלקחו דגימות קרקע מעומק של 40 ס"מ משדה המחקר בבית אלפה (הנגוע בפוזריום וריזוגליפוס) וב14.1.16 הוצב בחוות המטעים ניסוי כדלקמן: 120 עציצים של 500 מ"ל מולאו בקרקע מהשדה וכדי להבטיח נגיעות אחידה בפוזריום אולחו כל אחד מהעציצים ב20 מ"ל תמיסת נבגי *Fusarium oxysporum* מ3 תבדידים שבודדו משדה המחקר (כ 50,000 נבגים לעציץ). יום אחרי האילוח בפוזריום נזרעו בכל עציץ 10 זרעי בצל מהזן גבריאלה, מאותה אצווה שנזרעה בשדה המחקר (ונבדקה לנקיון הזרעים מפוזריום) והוצבו 12 טיפולים המפורטים להלן (טבלה 1) ומתוארים בהמשך (10 עציצים לכל טיפול סה"כ 120 עציצים). כל העציצים הוצבו באקראיות מלאה על שולחן ארוך בבית רשת ש בשטח של 37 מ"ר מחופה ברשת 50 מש והושקו בהתזה.

טיפול המיקוסטופ ניתן בהגמעה של כל עציץ ב20 מ"ל תמיסה של 0.1% מהתכשיר מיד לאחר הזריעה ע"פ הנחיות החברה.**טיפול הפריסטופ** ניתן בהגמעה של כל עציץ ב20 מ"ל תמיסה של 0.5% מהתכשיר מיד לאחר הזריעה ע"פ הנחיות החברה. **טיפול החיידק *Paenibacillus sp.* FI2** הוכן תרחיף של החיידקים (O.D=1.28 למ"ל ב NaCl 0.9%) הזרעים הושרו בתרחיף במשך 30 דקות לפני הזריעה ובנוסף כל עציץ קיבל 20 סמ"ק תמיסת חיידקים מיד אחרי הזריעה. **טיפול הפונגיציד בויסן (ח.פ Carbendazim)-** ניתן פעמיים. בפעם הראשונה בהגמעה של כל עציץ ב20 מ"ל תמיסה של 0.1% מהתכשיר מיד לאחר הזריעה וכעבור שבועיים, כבר אחרי תחילת הנביטה ריסוס עד

נגירה על העלווה באותו ריכוז ע״פ הנחיות החברה. **עיקור הקרקע באוטוקלאב** כלל 30X2 דק׳ עיקור באוטוקלאב ב120 מ״צ עם 24 שעות הפרדה בין העיקורים. **תוספת אקריות** הקרקע *robini R.* כדי למנוע מצב בו לא תהיה נגיעות מספקת באקריות בניסוי העציצים, הוצב טיפול נוסף לכל אחד מהטיפולים שתוארו לעיל, בו הוספו לכל עציץ 200 פרטים של האקרית מגידול מעבדתי (על בוטנים טחונים) אחרי שניתנו הטיפולים בהגמעה.

הדיגום במהלך הניסוי כלל בדיקת שיעור הצלחת הנביטה אחת לשבוע, במשך כחודש ושקילת הצמחים משקל רטוב ומשקל יבש אחרי שטיפתם כ3 וחצי חודשים לאחר הזריעה ב.5.4.16

טבלה 1- פירוט הטיפולים לבדיקת השפעת התכשירים הביולוגיים נגד הפוזריום על נביטת והתפתחות הבצל בניסוי העציצים.

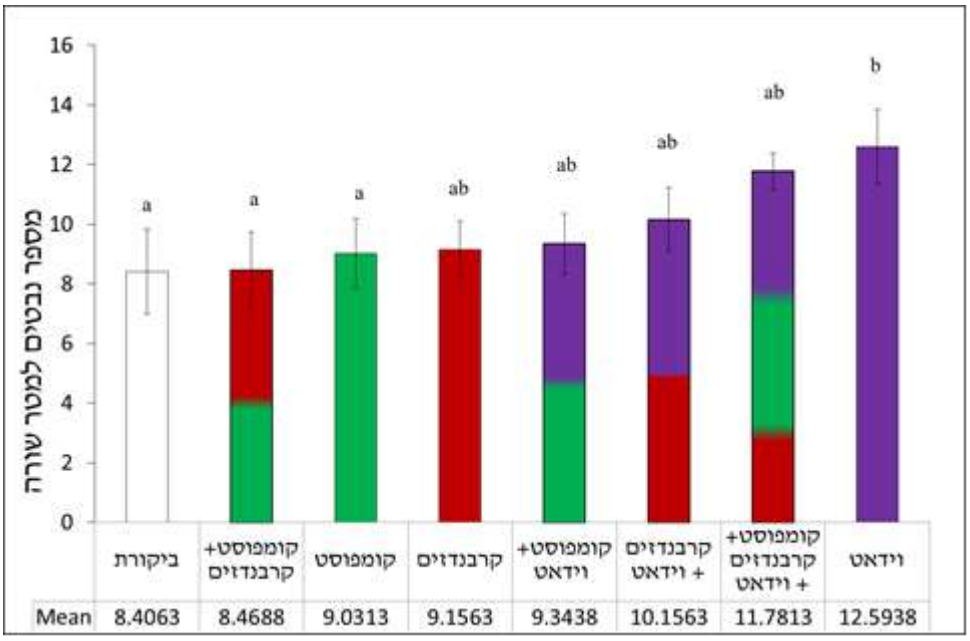
טיפול מס׳	שם הטיפול	חיטוי הקרקע באוטוקלאב	תוספת ריזוגליפוס	Mycostop®	Prestop®	*Paenibacillus* sp. FI2	Carbendazim
a	תכשיר ביולוגי מסחרי מיקוסטופ	-	-	x	-	-	-
b	תכשיר ביולוגי מסחרי פרהסטופ	-	-	-	x	-	-
c	חידק הקרקע שבודדה דר מוצעפי *Paenibacillus* FI2	-	-	-	-	x	-
d	ביקורת של פונגציד כימי	-	-	-	-	-	x
e	מיקוסטופ בתוספת ריזוגליפוס	-	x	x	-	-	-
f	פרהסטופ בתוספת ריזוגליפוס	-	x	-	x	-	-
g	*Paenibacillus* FI2 בתוספת ריזוגליפוס	-	x	-	-	x	-
h	פונגיציד כימי בתוספת ריזוגליפוס	-	x	-	-	-	x
u	ביקורת של קרקע מהשדה ללא טיפול	-	-	-	-	-	-
g	ביקורת של קרקע מהשדה ללא טיפול בתוספת ריזוגליפוס	-	x	-	-	-	-
k	ביקורת של קרקע מהשדה מעוקרת	x	-	-	-	-	-
l	ביקורת של קרקע מהשדה מעוקרת בתוספת ריזוגליפוס	x	x	-	-	-	-

ניתוח הנתונים: לבחינת הקשר בין המשתנים התלויים שנבדקו באותן חלקות ניסוי נערכו מבחני רגרסיה לינארית. להשוואת השפעת הטיפולים בשדה על נוכחות הפוזריום, הריזוגליפוס והיבול באסיף נערכו מבחני שונות תלת-גורמי (3-way Anova) ולאחר מכן נערכו מבחני פוסט הוק להשוואה בין הטיפולים. לניתוח תוצאות ניסויי העציצים נערך ניתוח שונות (Anova) ואחריו מבחן student t להשוואה בין הטיפולים. נתוני הנגיעות בפוזריום שחושבו באחוזים עברו טרנספורמציה Arcsin לצורך נירמולם לפני הניתוח הסטטיסטי. ניתוחים אלו נערכו בעזרת תוכנת JMP8 SAS Ins.

תוצאות

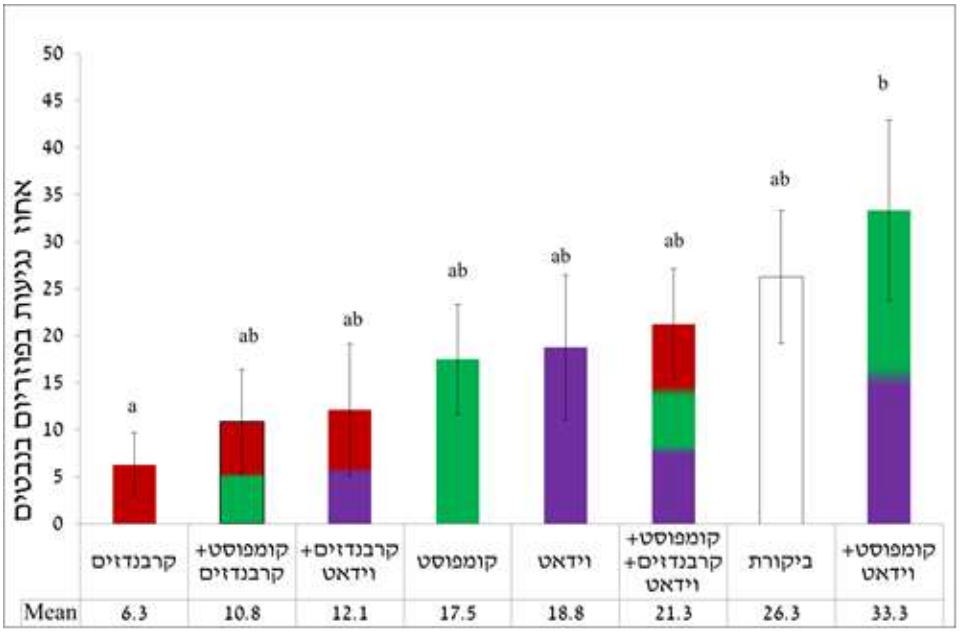
א. ניסוי השדה

בחינת נוכחות האקריות והפטריות הפתוגניות בשדה ומיפויין- בבדיקה הראשונה שנערכה ב11.5.15 (כאשר בשדה גדלה עדיין חימצה) לא נמצאו בכלל אקריות קרקע באף לא אחת מהדוגמאות. כמו כן לא היו כל סימני מחלה או התמוטטויות של צמחים שנזרעו בדוגמאות הקרקע שהובאו מהשדה. בכל זאת נערכו בידודים ונמצאה הפטריה *F. oxysporum* בכל הדגימות- אך לא מהטיפוס התוקף את הבצל. **בבדיקה השניה שנערכה** בעזרת מלכודות שום ב 4.8.15 אחרי קציר החימצה, <u>נמצאו אקריות קרקע מהמין *R. robini* **בכל חלקות הניסוי**</u> וניכר שהפיזור הוא אקראי (תרשים 1). טווח נוכחות האקריות היה מאוד רחב מ 1-2000 אקריות לכל חלקת טיפול ובממוצע 95.26 ±291.31 (ממוצע וסטיית תקן). בדיקה זו הוכיחה לנו שהשטח אכן נגוע באקרית הקרקע.



תרשים 2. מספר הנבטים למטר שורה כחודש וחצי לאחר הזריעה (ממוצע ושגיאת תקן) בשדה צבעי העמודות מציינים את הטיפולים (לבן- ביקורת, אדום-קרבנדזים, ירוק-קומפוסט, סגול וידאט) והצירופים השונים שלהם. עמודות עם אותיות שונות נבדלות זו מזו ברמת מובהקות $p<0.05$ ע״פ מבחן Student.

בבחינת השפעת הטיפולים על שיעור הנגיעות בפוזריום בנבטים, כצפוי נימצא שהטיפול בקוטל הפטריות קרבנדזים הפחית את שיעור הנגיעות בפוזריום פי 4 לעומת הביקורת, ובמידה רבה גם לעומת הטיפולים האחרים (תרשים 3).

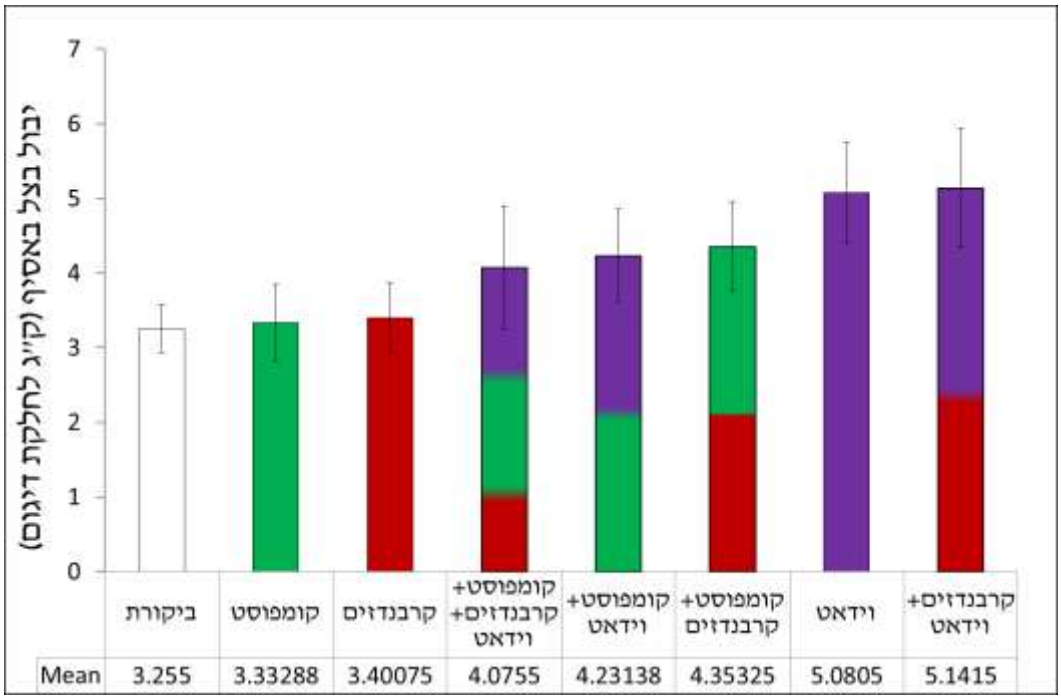


תרשים 3. שעור הנבטים הנגועים בפוזריום כחודש וחצי לאחר הזריעה בנבטים בטיפולים השונים בשדה (ממוצע ושגיאת תקן). עמודות עם אותיות שונות נבדלות זו מזו ברמת מובהקות $p<0.05$ ע״פ מבחן Student.

בדיקת השפעת הטיפולים בשדה על מספר האקריות על נבטי הבצל- מספר האקריות בדגימות היה נמוך מאוד, כאשר טווח הנגיעות נע בין 0.1 ±0.14 אקריות לנבט (ממוצע ושגיאת תקן) בטיפול הנמוך ביותר ועד ל 0.86±1.88 אקריות לנבט בטיפול הגבוהה ביותר ולא נימצא הבדל מובהק במספר האקריות בין הטיפולים השונים ($F_{7,49}=2.19$ $p=0.051$). מאחר ולא נמצא כל קשר בין מספר האקריות הגבוהה שנלכדו במלכודות השום לפני הצבת הניסוי לבין מספר האקריות על נבטי

הבצל באותן חלקות ($F_{1,53}$=0.00061 p=0.8 R^2 =0.00087) אנו מניחים שהתנאים האקלימיים והסביבתיים שגרמו לבעיות בנביטת הבצל השפיעו גם על אוכלוסיית האקריות בתקופת הנביטה.

בדיקת השפעת הטיפולים על יבול הבצל באסיף. היבול הממוצע בביקורת היה הנמוך מכל הטיפולים, וכמעט פי 2 נמוך מהטיפול הגבוה ביותר של קרבנדזים+ וידאט, טיפול שאמור לפגוע הן בפוזרים והן באקריות (תרשים 4), אך ההבדלים הללו אינם מובהקים סטטיסטית $F_{7,49}$=1.26 (p=0.29). בנוסף לא נימצא כל קשר בין מספר האקריות הממוצע לנבט במועד הנביטה לביו היבול באסיף (R^2 =0.00065, $F_{1,62}$ =0.04 p=0.84) ובאסיף אף נמצא קשר חיובי נמוך אך מובהק בין מספר האקריות על הבצל הבוגר בכל טיפול לבין יבול הבצל (R^2 =0.09, $F_{1,62}$ =6.1 p=0.02).
תוצאות אלו תומכות שוב בהשערתינו שהאקריות לבדן אינן המזיק הראשי אלא רק השילוב שלהן עם פוזריום משפיע על הנזק לבצל והן כשלעצמן אינן פוגעות בו.

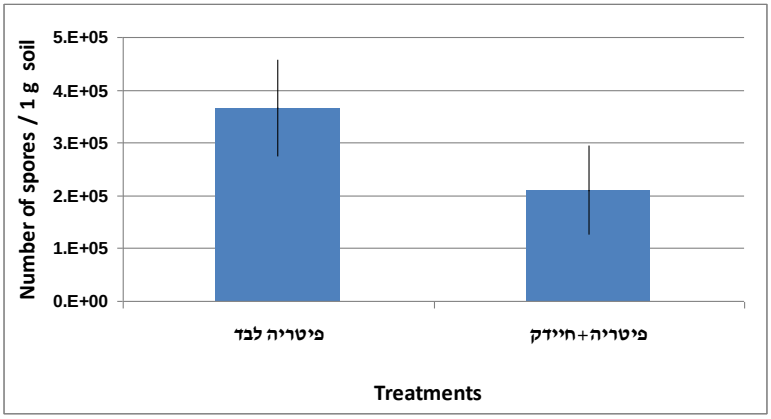


תרשים 4. יבול הבצל באסיף (ממוצע ושגיאת תקן). צבעי העמודות מציינים את הטיפולים

ב. ניסויי המעבדה

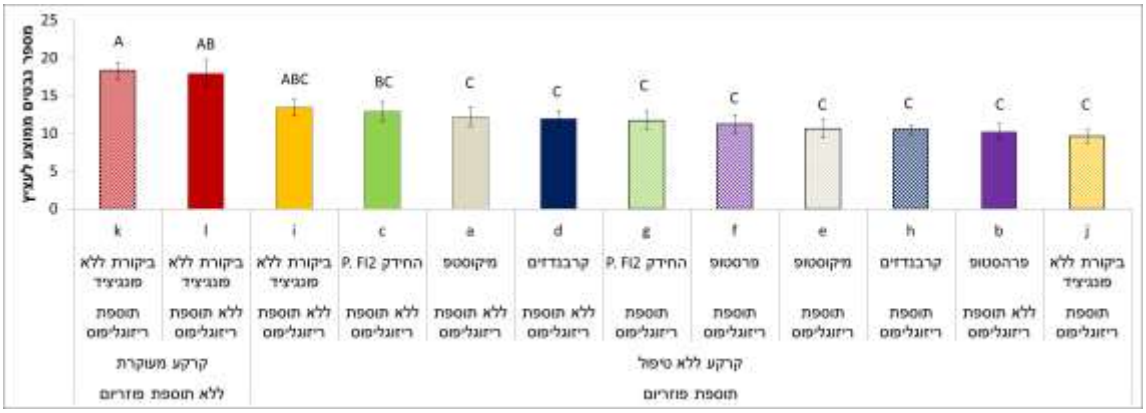
1. בבחינת השפעת המטבוליטים של החידק *Paenibacillus* sp. FI2 על 3 תבדידי פוזריום מהשדה (מתבדידי השום) ניראה כי שלשת התבדידים הנבדקים היו רגישים למטבוליטים של החידק אך רגישותם היתה שונה. בעוד ששניים מהם הראו עיכוב מוחלט של נביטה ביישום 30% מטבוליטים (ניפחי), התבדיד השלישי הראה עיכוב נביטה מוחלט רק בריכוז 50% ניפחי. תוצאה זו מלמדת על מיגוון התבדידים הקיים בקרקע ורמת שונות התגובה הצפויה שלהם להפרשות החיידק.

2. בבדיקת השפעת תוספת החיידקים על ריכוז יחידות הריבוי של הפטריה (פוזריום A) בקרקע-, נמצא כי בתוספת חיידקים בריכוז 10^6 בשישית לגרם קרקע, יום לאחר הוספת ניבגי הפטריה לקרקע כבול מעוקרת, גרמה להפחתה באוכלוסיית הפטריה יחסית לקרקע בה הוספו ניבגי פטריה ללא תוספת החיידקים כפי שנבדקו לאחר שבוע של הדגרה משותפת (תרשים 5), דבר המצביע על יעילות החיידק בעיכוב הפטריה.

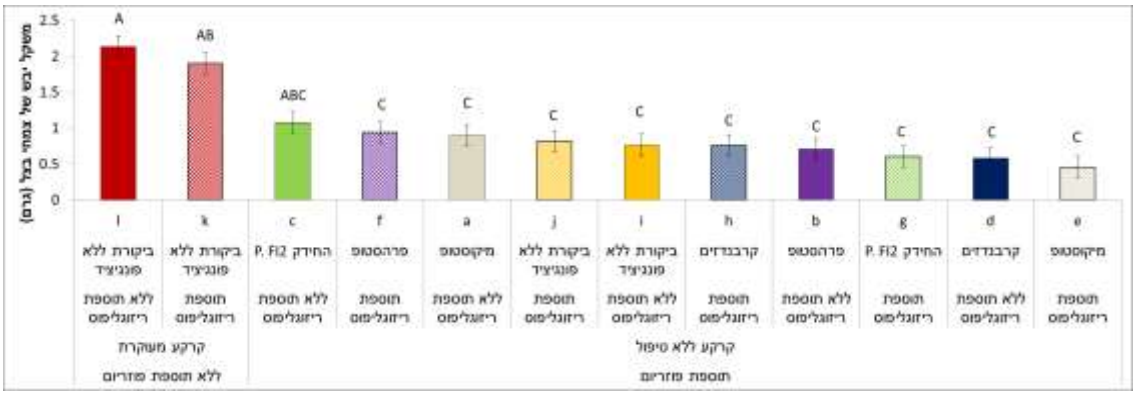


תרשים 5: השפעת תוספת חיידקים לקרקע כבול סטרילית שאולחה בפטריית פוזריום על מספר יחידות הריבוי בקרקע לאחר שבוע של הדגרה ב- 28 מ״צ. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן.

3. בניסוי העציצים בו נבחנה פעילותם של התכשירים ביולוגיים המסחריים כנגד הפוזריום בהשוואה לחיידק המקומי *Paenibacillus* sp. FI2, נמצאו הבדלים מובהקים בשיעור הנביטה החל מהשבוע הראשון ועד כחודש לאחר הזריעה כשהמערכת התייצבה ($F_{11,108}$=7.24 p<0.0001). מספר הנבטים הנמוך ביותר נימצא בטיפול הביקורת ומספר הנבטים הגבוה ביותר נימצא בקרקע שעוקרה באוטוקלב, גם כשהוספו לה אקריות- דבר התומך שוב בהשערתינו שהנזק נגרם לא ע״י אקריות בלבד אלא ע״י השילוב עם הפוזרים. מבין הטיפולים הביולוגיים הטיפול בחיידק המקומי **P FI2** היה הטוב ביותר, עם מספר נבטים הגבוה ב30% מהביקורת ואף טוב יותר מהטיפול הכימי נגד הפוזריום- הקרבנדזים, אם כי הבדלים אלו אינם מובהקים סטטיסטית (תרשים 6). כאשר נתנו לנבטים להמשיך לגדול ושקלנו אותם ב3 וחצי חודשים לאחר הזריעה מצאנו שוב שהחיידק המקומי היה הטפול המצטיין מבין הטיפולים הביולוגיים אך גם הפעם ההבדלים אינם מובהקים סטטיסטית (תרשים 7).



תרשים 6. מספר הנבטים לעציץ בטיפולים השונים כחודש וחצי לאחר הזריעה (ממוצע ושגיאת תקן). עמודות עם אותיות שונות נבדלות זו מזו ברמת מובהקות p<0.05 ע״פ מבחן Tukey HSD.



תרשים 7. משקל צמחי הבצל לעציץ בטיפולים השונים כשלושה וחצי חודשים לאחר הזריעה (ממוצע ושגיאת תקן). עמודות עם אותיות שונות נבדלות זו מזו ברמת מובהקות $p<0.05$ ע״פ מבחן Tukey HSD.

מסקנות ודיון

תוצאות ניסוי השדה הצביעו, שוב, על כך שהנזק לנבטי הבצל נגרם מהשילוב של פוזריום ואקרית הקרקע ולא ע״י אקרית הקרקע לבדה. בעונת המחקר הראשונה טיפולי הקומפוסט בשדה לא תרמו להפחתת הנגעות בפוזריום או באקריות ולא תרמו ליבול. מאחר והקומפוסט אמור לתרום לבניית חברה אקולוגית מורכבת בשדה, שתאפשר דיכוי של הפוזריום ובעיקבותיו צימצום נזקי האקריות קשה להניח שחברה כזו תיבנה במשך עונה אחת ולכן אנו סבורים שיש להמשיך כמתוכנן בניסוי ולחזור ולהצניע קומפוסט באותן חלקות בשדה ולבחון את השפעת הטיפול לאורך זמן.

ניסויי המעבדה לבחינת השפעת החיידק Paenibacillus sp. FI2 מצביעים על פגיעה של החיידק והמטבוליטים שלו בתבדידי הפטריה הפתוגנית *F. oxysporum* . ובהשוואתו לתכשירים ביולוגיים מסחריים הוא הראה פעילות עדיפה. בניסוי העציצים שוב הודגמה החשיבות של הפוזריום ושילובו עם האקרית ביצירת הנזק לנבטים, כאשר באדמה המעוקרת שיעור הנביטה ומשקל היבול היו הגבוהים ביותר עם ובלי תוספת האקריות. אנו נמשיך במחקר כמתוכנן גם בניסוי השדה וגם בניסויי מעבדה.

תודות

תודה לקרן המחקרים של מדען הראשי של משרד החקלאות על מימון המחקר
תודה למגדל יוני שבת מבית אלפא על שיתוף הפעולה המלא בביצוע המחקר.
תודות לריקה קדושים, לאה ליוביש, דור רחמני ושירה גל על העזרה הרבה בביצוע המחקר.
תודה למדריך נביל עומרי על הליווי המסור של הניסוי בשדה.
תודות לחברת אגן אדמה על תרומת הפריסטופ והמיקוסטופ והבווסטין ולחברת אגרו גדות על תרומת הויאדט לצורך ניסויי השדה והמעבדה.

ספרות מצוטטת

Diaz A., Okabe K., Eckenrode C.J., Villani M.G., Oconnor B.M. (2000). Biology, ecology, and management of the bulb mites of the genus Rhizoglyphus (Acari: Acaridae). Exp Appl Acarol 24:85-113.

Gerson, U., Yathom, S., Capua, S., & Thorens, D. (1985). Rhizoglyphus robini Claparede (Acari: Astigmata: Acaridae) as a soil mite. *Acarologia*.

Lebiush-Mordechai S., Erlich O., Maymon M., Freeman S., Ben-David T., Ofek T., Palevsky E., Tsror (Lahkin) L (2014). Bulb and root rot in lily (Lilium longiflorum) and onion (Allium cepa) in Israel J Pathol DOI: 10.1111/jph. 12214. Growth Regul 20:387–442.

Ofek T., Gal, S., Inbar, M., Lebiush-Mordechai, S., Tsror, L., & Palevsky, E. (2013). The role of onion-associated fungi in bulb mite infestation and damage to onion seedlings. Exper Appl. Acarol. 62: 437-448.

<u>סיכום עם שאלות מנחות</u>

מטרות המחקר לתקופת הדוח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
1. לבדוק האם ניתן להפחית את המידבק של גורמי מחלה הגורמים לריקבון הבצל בשדות בעזרת השימוש בקומפוסט, ו/או בחיידקים הפוגעים בפטריות. 2. לבחון האם ניתן להפחית את הנזקים הנגרמים לבצל בשדות מאקרית הקרקע בעזרת שימוש בקומפוסט ו/או חיידקים כתחליף לחומרי הדברה
עיקרי התוצאות. בניסוי השדה למרות שיעור נביטה נמוך, ניכרה השפעת הטיפולים כאשר מספר הנבטים וגם היבול באסיף היה הכי נמוך בביקורת. מספר הנבטים הגבוה ביותר התקבל בטיפול הווידאט, והיבול הגבוה ביותר התקבל בטיפול המשלב ווידאט וקרבנדזים. טיפול הקומפוסט בעונה הראשונה לא תרם לפחיתה בנגיעות בפוזריום או אקריות או לתוספת יבול. ניסויי המעבדה לבחינת השפעת החיידק *Paenibacillus* sp. FI2 מצביעים על פגיעה של החיידק והמטבוליטים שלו בתבדידי הפטריה הפתוגנית *F. oxysporum* . ובהשוואתו לתכשירים ביולוגיים מסחריים הוא הראה פעילות עדיפה. בניסויי העציצים שוב הודגמה החשיבות של הפוזריום ושילובו עם האקרית ביצירת הנזק לנבטים, כאשר באדמה המעוקרת שיעור הנביטה ומשקל היבול היו הגבוהים ביותר עם ובלי תוספת האקריות.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
גם ניסויי השדה וגם ניסוי המעבדה הצביעו שוב על הקשר בין האקרית והפוזריום ביצירת הנזק לבצל. החידק המקומי *Paenibacillus* sp. FI2 נימצא כפעיל כנגד התבדידי הפוזריום השונים שנימצאו בשדה, אך רמת הפעילות שונה בין התבדידים. בהשוואה לטיפולים הביולוגיים המחריים נירה כי יש לו יתרון מה. לא צפוי היה שהקומפוסט ישפיע בשנת המחקר הראשונה ולכן אנו נמשיך בניסויים הן בשדה והן במעבדה כמתוכנן. אנו נמשיך במחקר כמתוכנן ונבדוק כיצד הטיפולים ישפיעו על התפתחות הבצל והיבולים בשדה ולצורך הצבת ניסויים עם קומפוסט בשנת המחקר הקרובה נדאג לקומפוסט בשל יותר ועם רמת מליחות נמוכה יותר.
שינויים שחלו במהלך העבודה בין תיכנון המחקר לביצועו בפועל והסיבות לכך: **בניסוי השדה הטיפול המסחרי נגד פוזריום** אמור היה לכלול את התכשיר המסחרי Mycostop ® של חברת Verdera המכיל את החיידק *Streptomyces griseoviridis* במינון של $1*10^9$ CFU, הנמצא בשימוש מסחרי בארה"ב, אירופה, וניו זילנד שסופק לנו ע"י חברת אגן אדמה. בבוקר הצבת

הניסוי בשטח הסתבר לנו, שלמרות שחברת אגן אדמה הגישה בקשה לשירותים להגנת הצומח של משרד החקלאות לאישור ניסויי שדה בתכשיר לפני כשנתיים (כשהצעת המחקר ההקדמית הוגשה לראשונה) האישור לא הגיע בזמן להצבה ולכן נאלצנו ברגע האחרון לשנות את תוכנית הניסוי כדי לא לעבור על החוק. כדי לשמור על העיקרון של הניסוי בו תכננו לבדוק את השפעת הפגיעה בפוזריום על מידת הפגיעה בצמח ע"י הריזוגליפוס החלפנו את הטיפול הביולוגי נגד פוזריום בתכשיר כימי מורשה נגד פוזריום- בוויסטין (Carbendazim). כדי לעמוד במטרת המחקר של בחינת תכשיר חיידקי להתמודדות עם הפוזריום ובו זמנית לא לעבור על החוק, העברנו את בדיקת המיקוסטופ והפרי סטופ לניסויי המעבדה ואנו מקווים שעד הסתיו הבא האישור לניסויי שדה עם חומר זה יגיע לחברה.

הטיפול הכימי נגד אקרית הקרקע תוכנן בעת כתיבת הצעת המחקר להיות נמקור (Fenamiphos) אך מאחר והוא הוצע משימוש לפני תחילת הניסוי השתמשנו בתכשיר המורשה ויידט 10 (Oxamyl).

זן הבצל שתוכנן בהצעת המחקר היה הזן אורי שאמור היה להיזרע ע"פ התכנון בספטמבר. בשל הצורך להמתין להבשלת הקומפוסט נאלצנו לאחר את זריעת הבצל ולכן במקום להשתמש בזן אורי שמועד הזריעה שלו יותר מוקדם, המגדל זרע את הזן גבריאלה המתאים לזריעה בנובמבר.

הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח:

הרצאות וימי עיון:

ניסוי השדה הוצג בכנס III International Symposium on Organic Greenhouse Horticulture: International Society for Horticultural Science symposium שהתקיים באוקטובר 2015 ברחובות. כותרת ההרצאה היתה: Developing environmentally friendly control methods for the bulb mite and subsequent effects on beneficial soil mite fauna

והופיע בפרק

Shaltiel-Harpaz L, Masaphy S, Tsror (Lahkim) L, Palevsky E (2016) Bio-rational, environmentally safe methods for the control of soil pathogens and pests. In: Singh HB (ed) Agriculturally Important Microorganisms: Commercialization and Regulatory Requirements in Asia. CABI, In press

פרסום הדוח: אנו ממליצים לפרסם את הדו"ח ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)