

**השפעת טיפולי מיקוריזה על התפתחות שורשים, צימוח וגטטיבי
וכמות ואיכות הפרחים במגוון רחב של פרחי קטיף.**

חוקרים שותפים:

קולטאי חננית	המחלקה לפרחים, מנהל המחקר החקלאי
יורם קפולניק	המחלקה לגד"ש ומשאבי שדה, מנהל המחקר החקלאי
מיכה רביב	המחלקה לפרחים, מנהל המחקר החקלאי
עירית דורי	תחום פרחים, מופ דרום
איתן שלמה	אגף הפרחים, שה"מ
גדעון לוריא	אגף הפרחים, שה"מ

תקציר הדו"ח

הפטריה המיקוריטית (מיקוריזה) מהווה גורם משמעותי בשיפור התפתחות צמחים רבים. ההצעה הנוכחית התבססה על הצלחת השימוש במיקוריזה בגידולים חקלאיים, בעיקר בירקות. לפני עבודה זו לא הוכנסה המיקוריזה לשימוש בענף הפרחים. לאור זאת, בצענו סריקה רחבת היקף לשיפור/עידוד גדילת צמחי נוי על ידי טיפולי מיקוריזה. מספר זנים עשבוניים חד שנתיים ורב שנתיים וגיאופיטים נבחנו לגבי יכולתם ליצור סימביוזה עם פטריית המיקוריזה. במהלך המחקר איתרנו את מיני צמחי הנוי היכולים לעבור אינטראקציה עם הפטרייה, ונבחנו היקלטותם וההשפעה על גידולם בתנאי הניסוי. בתום השנה הראשונה איתרנו מספר מיני צמחי נוי אשר נוכחות המיקוריזה הועילה לגידולם ולמדדי פריחתם. בשנה השנייה של המחקר התמקדנו בגידולים שנבחרו כמגיבים חיובית לפטרייה, ומצאנו כי יישום במשתלה ו/או בקרקע של פטריית המיקוריזה הביא לעליה במדדי יבול כגון מספר פרחים למטר מרובע ואורך גבעול פריחה. השנה הוכח כי יישום המיקוריזה מביא לעלייה בחלק ממדדי הגידול גם בתנאים של דישון מסחרי, הנהוג בצמחי הנוי. תוצאות אלו מאפשרות בנייה של פרוטוקול גידול בנוכחות מיקוריזה לצמחי נוי. בנוסף, נמצא כי המיקוריזה הביאה למגמת הפחתה של מחלות קרקע שנגרמו מפוזריום וריזוקטוניה. פרוטוקול יישום המיקוריזה מצוי במהלך יישום במשקי מודל. המחקר פותח את הפתח ליישום טכנולוגיה חדשה, בה יהיה שימוש במיקוריזה בגידול צמחי הנוי. דבר זה יכול להביא לשיפור מערכת היצור בענף הפרחים, ולשיפור בקליטת גידולים חדשים עקב השינויים בדרישות השוק.

מבוא ותיאור הבעיה

לראשית הצימוח בגידולי צמחי נוי רבים השפעה רבה על יבול ואיכות הפרח הנקטף. בשלבים אלו- דישון כימי מוגבר אינו מועיל ואף עלול להזיק. בשנים אחרונות הוכח שהסימביוזה האנדו-מיקוריטית מהווה גורם משמעותי לשיפור התפתחות צמחים רבים, וכן נמצא כי בגידולים חקלאיים רבים יש צורך בהוספת המיקוריזה לשם עידוד גדילת הצמח.

חוסר במיקוריזה בגידולים חקלאיים עלול להיגרם עקב חיטוי קרקע ומצעים מנותקים בטרם זריעה או שתילה. טיפולים אלה מקטינים את אוכלוסיות הפטריות הטפיליות, אך בו-זמנית קוטלים את הפטריות המיקוריטיות דבר הגורם לעיכובים בתקופת ראשית הגידול. בהעדר מיקוריזה בשורש אובחן פיגור בהתפתחותם של גידולים רבים, גם אם זכו בהשקיה ובדישון אופטימליים. בנוסף, לאחר הפסקת השימוש במתיל ברומיד לחיטוי קרקע נצפית הצטברות מחוללי מחלות קרקע, שצפויה להחמיר עם השנים.

על כן, חשיבותה העיקרית של המיקוריזה בחקלאות הינה: 1. הגברת כושר הקליטה של מינרלים מהקרקע בשלבי גידול מוקדמים. 2. מענה לתופעת עיכובי ראשית הגידול. 3. הגברת עמידות הצמח בפני פתוגנים משניים בקרקע. 4. שיפור יעילות ניצול המים בקרקע.

עד עתה לא הוכנסה המיקוריזה לשימוש בענף הפרחים. לאור זאת, הצענו סריקה רחבת היקף לשיפור/עידוד גדילת צמחי נוי על ידי ביסוס מיקוריזה בשורשי הצמחים, תוך בחינת השפעתה על שלבי הצימוח הראשונים, החשובים להצלחת היבול וכן השפעתה על גידול וגטטיבי ופריחה, במטרה לשלב את יישום המיקוריזה כטכנולוגית גידול חדשה בענף צמחי הנוי והתבלין.

הסימביוזה מקויימת על ידי קבוצה של פטריות קרקע המאלחת בטבע 80% ממיני הצמחים העילאיים. בסימביוזה זו משתתפים 80-90 מיני פטריה הנמנים עם משפחת *Endogonaceae* שאותרו ביותר מאלף סוגי צמחים מ-200 משפחות. ניתן למצוא את פטריות המיקוריזה במגוון קרקעות ואיזורים אקלימיים.

יחידות התפוצה של הפטריה בקרקע כוללות נבגים, תפטיר ושורשים מודבקים של צמחים. לאחר נביטת הנבג, נחשון הנביטה המתפתח ממנו גדל לקור החודר אל השורש, ומתפתח איבר דמוי שיח הקרוי ארבוסקולס (arbuscules) (נסקר ב-Harrison et al., 2005). ניסויים שנעשו בתנאי שדה ובתנאים מבוקרים הראו שהדבקה בפטרייה מיקוריטית משפרת את התפתחות הצמחים ומעודדת את גידולם. תרומתה העיקרית של הפטרייה להתפתחות מתבטאת בקליטת יסודות חיוניים לצמח. יסודות שונים נקלטים ע"י התפטיר החיצוני שבקרקע ומשם מועברים לתפטיר שבתוך השורש וממנו, דרך הארבוסקולס, לרקמת הפונדקאי (Mosse, 1973).

הקורים המצויים מחוץ לשורש מהווים מערכת קליטה יעילה, המגדילה את נפח הקרקע המנוצל. לקורים שטח פנים גדול ליחידת משקל, וכך הם מגדילים בהרבה את נפח הקרקע המנוצל ע"י הצמח (Cooper, 1986). בנוסף, נמצא כי לצמחים מיקוריטיים יתרון בקרקעות דלות בזרחן. בדיקות של נוכחות זרחן בקרקע הצביעו על כך שצמחים מיקוריטיים ניצלו יותר זרחן מהקרקע מאשר צמחים שאינם מיקוריטיים (Hayman and Mosse, 1972). בנוסף לזרחן, נקלטים גם יסודות אחרים כגון: Fe^{++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Zn^{++} , Na^+ , B^{+++} , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} . ע"י תפטיר הפטרייה (Mosse, 1973; Gerdemann, 1975; Tinker, 1983). עוד נמצא כי צמחים מיקוריטיים עמידים יותר לתנאי יובש, וגם לאחר חשיפה חוזרת ליובש נמצא גידולם טוב יותר מזה של צמחים לא מיקוריטיים (Hardie and Leyton, 1981).

השפעת המיקוריזה בחקלאות הוכחה בעבר במיני גידולים שונים. בארץ הוכח כי השפעת המיקוריזה אינה מסתכמת באספקת מינרלים ובתוכם זרחן לצמח. בגידול הפלפל נמצא כי לנוכחות המיקוריזה תרומה משמעותית בקביעת רמת יבול הצמחים. בנוסף, הקדמת גל ניבה נצפתה בחלקות המטופלות במיקוריזה, וכן חסכון בכמות המים הנדרשת להשקייה, עד לשיעור של 30%. בצמחי עירית תוספת של מידבק פטריית המיקוריזה בחלקות מסחריות הביא להכנסה של 300 ₪ ליחידת השקעה של 40 ₪ (כולל עלות המידבק וישומו, יורם קפולניק, תוצאות לא מפורסמות).

תפקיד נוסף וחשוב של פטריית המיקוריזה הוא יכולתה לעכב התפתחות מחלות שורש וקרקע בצמחים הנגרמות ע"י פטריות מסוגים שונים וע"י נמטודות. בארץ הוכח חלקה של המיקוריזה בהורדת נזקים הנגרמים לעירית על ידי הפטריה *Pyrenochaeta terrestris* הגורמת למחלת ה-Pink root בשומיים (Gamliel et al., 2004), ובעולם דווח על הקטנת נגיעות פוזריום וורטיציליום על ידי נוכחות מיקוריזה (Hwang et al., 1992).

במחקר נבחנה השפעתה של המיקוריזה על גידולים שונים. תרומתה עשויה להיות גדולה בייחוד בשלבי היקלטות ראשונים של הצמח- בייחורים, שתילים, פקעות ובצלים. מחד- בשלבים אלו לא ניתן לדשן היטב את הצמחים עקב רגישות השורשים הצעירים הנוצרים. מאידך- ראשית הצמיחה, בגידולים רבים, משפיעה רבות על יבול ואיכות הצמח.

תוספת מיקוריזה בשלבי צמיחה אלו ואחרים יכולה להביא לשיפור ניכר בכושר גדילת הצמחים ולהעלאת כמות ואיכות הפרח או הצמח הנקטף.

מטרות המחקר

1. סקירת מגוון צמחי נוי לאיתור אותם אלו היוצרים סימביוזה עם המיקוריזה
2. בדיקת תרומת המיקוריזה לקליטת והתפתחות הצמח:
 - א. שיפור קליטת שתילים/בצלים ועידוד גדילה וגטיביבת
 - ב. עידוד פריחה

ג. הפחתת מחלות שורש

3. יישום ראשוני של שימוש במיקוריזה בתנאי גידול בשדה (אצל המגדלים): בהיקף מצומצם יותר ולאחר מכן בהיקף חצי מסחרי

עיקרי הניסויים

בשנה הראשונה של המחקר ערכנו סקירת מגוון צמחי נוי לאיתור אותם אלו היוצרים סימביוזה עם המיקוריזה, תוך כדי בדיקה של תרומת המיקוריזה לקליטת והתפתחות הצמח. המדדים שנבחנו עוסקים בשיפור קליטת שתילים/בצלים ועידוד גדילה וגטיבית, ובמדדי הפריחה. הניסויים נערכו במו"פ דרום, תחנת הבשור. נערכו תצפיות, במידת האפשר בשתי חזרות. נסרקו 11 זנים שונים של צמחי נוי. הצמחים שנשתלו או נזרעו באתר הניסוי היו מכמה סוגים: צמחי בצל (היפריקום, דוביום, אמריליס), שתילים (כגון: סולידאגו, ליזיאנתוס), וזרעים (תורמוס). המיקוריזה יושמה בקרקע בשני אופנים. אופן אחד: תוך ערבוב של שכבת הטוף העליונה ב-20% נפח של 'תכשיר מיקוריזה'. 'תכשיר המיקוריזה' הכיל שורשי סורגוס מודבקים במיקוריזה המעורבים בורמיקוליט. יישום זה ניתן לצמחים בעלי עומד שתילה גבוה. לצמחים בעלי עומד שתילה נמוך יותר, כגון לימוניום וסולידאגו, יושמה המיקוריזה כתכשיר בתוך גומת השתילה. טיפולי הדישון יושמו החל מהשבוע השלישי לשתילה וכללו דשן 7:1:7 (N:P:K). עבור כל מין נלקחו מספר מדדי פריחה, הכוללים מספר פרחים, משקלם, אורך תפרחת ואורך גבעול, באופן רלוונטי עבור כל מין צמח.

התוצאות הציעו כי יישום תבדדי המיקוריזה בתערובת, במצע גידול מנותק, מעלה את איכות היבול, לעומת צמחי הביקורת שלא הודבקו במיקוריזה, במספר מיני צמחי נוי, ובעיקר ליזיאנתוס ואסקלפיאס. זאת, ברמות זרחן היכולות לשמש גם בדישון מסחרי. בליזיאנתוס חלה עליה במשקל הגבעול ובאורכו (יחד עם זאת חלה ירידה במספר הפרחים), באסקלפיאס חלה עליה במספר הפרחים. בשאר מיני הצמחים לא חלה עליה משמעותית במדדי הצימוח והגידול. טרכליום הגיב יפה למיקוריזה בתנאי משתלה. נוכחות המיקוריזה אותרה בשורשי חלק מן הצמחים, אולם הוצע כי בהמשך יש למצוא דרך לייעל את תהליך ההדבקה והאכלוס, אחת האפשרויות היא איכלוס בשלב המשתלה ובטרם העתקה לחממה.

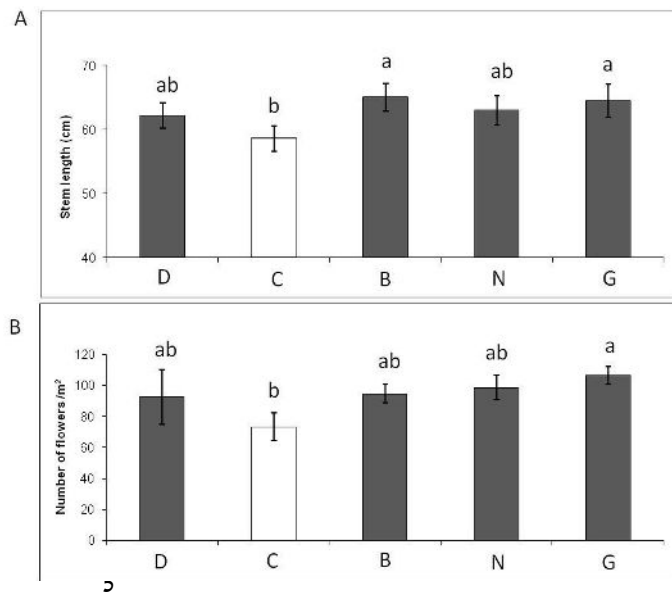
במערך הניסויים שהתבצע במו"פ דרום בשנה השנייה בחנו ביתר פירוט את תגובת הליזיאנתוס והאסקלפיאס שהגיבו באופן חיובי בתצפית וכן בחנו שיטות יישום שונות של הפטרייה, זאת בכדי לפתח פרוטוקול יישום שיהיה יעיל ונוח לשימוש בפרקטיקה החקלאית. בתמונה 1 מערך הניסויים, בזנים השונים.

אסקלפיאס ביקורת	אסקלפיאס מיקוריזה	28	26	24	22
		אסקלפיאס ביקורת	אסקלפיאס מיקוריזה	אסקלפיאס ביקורת	אסקלפיאס מיקוריזה
אמריליס ביקורת	אמריליס מיקוריזה	38	37	36	35
		אסקלפיאס ביקורת	אסקלפיאס מיקוריזה	אסקלפיאס ביקורת	אסקלפיאס מיקוריזה
טרכליום ביקורת	טרכליום מיקוריזה	27	25	23	21
		לידיאנתוס קרקע	לידיאנתוס DIP	לידיאנתוס משולב	לידיאנתוס ביקורת
טרכליום מיקוריזה	טרכליום ביקורת	20	15	10	5
		לידיאנתוס DIP	לידיאנתוס משולב	לידיאנתוס ביקורת	לידיאנתוס משתלה
טרכליום ביקורת	טרכליום מיקוריזה	19	14	9	4
		לידיאנתוס משולב	לידיאנתוס ביקורת	לידיאנתוס משתלה	לידיאנתוס קרקע
טרכליום מיקוריזה	טרכליום ביקורת	18	13	8	3
		לידיאנתוס ביקורת	לידיאנתוס משתלה	לידיאנתוס קרקע	לידיאנתוס DIP
טרכליום מיקוריזה	טרכליום ביקורת	17	12	7	2
		לידיאנתוס משתלה	לידיאנתוס קרקע	לידיאנתוס DIP	לידיאנתוס משולב
33	29	16	11	6	1

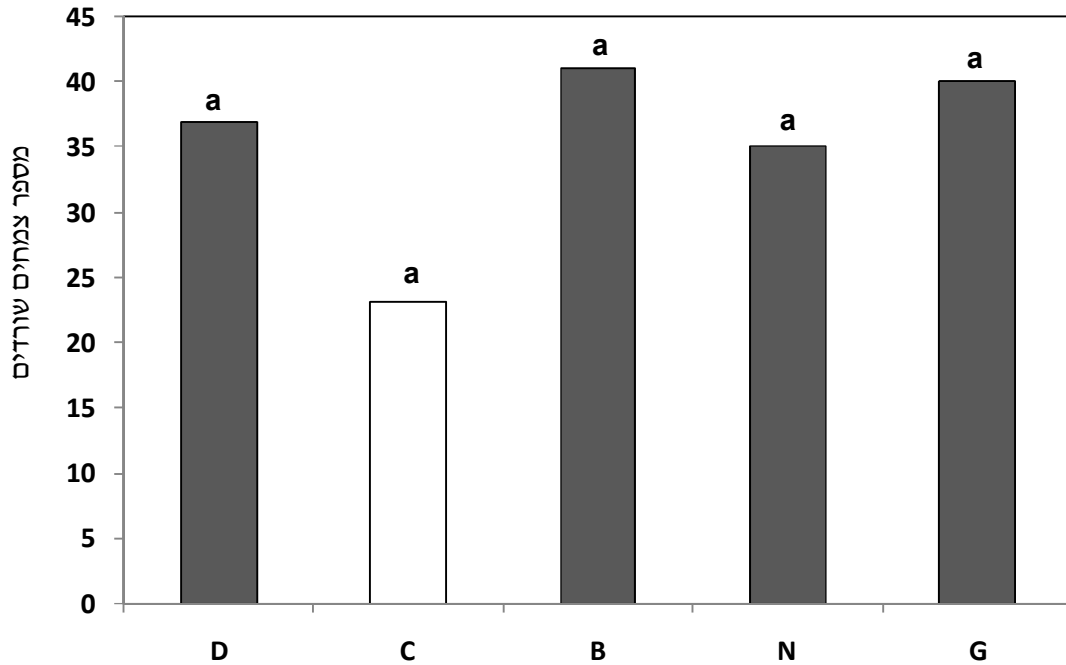
תמונה 1: מערך הניסוי בשנה השנייה במוי"פ דרום. לכל טיפול נערכו 4 חזרות: משתלה (nursery)- טיפול מיקוריזה במשתלה, בעת הזריעה; DIP - טיפול על ידי הטבלה של ציצית השורשים באבקת מיקוריזה; קרקע (ground)- יישום של המיקוריזה בקרקע, בעת השתילה; משולב (combined)- טיפול משולב הכולל טיפול משתלה וטיפול קרקע.

התוצאות הראו מגמה של שיפור במספר מדדי פריחה עבור ליזיאנתוס, בהם מספר פרחים ליחידת שטח וכן אורך גבעול. שיפור זה ניכר בייחוד עבור טיפולי מיקוריזה מסוימים, לעומת הביקורת (תמונה 2). תוצאות המחקר פורסמו בעיתונות המבוקרת הבינלאומית (ראו נא נספח 2).

תמונה 2: השפעת יישום מיקוריזה בכמה אופנים (G- יישום בבור השתילה, N- יישום במשתלה, B- יישום משולב של בור שתילה ומשתלה, D- יישום על ידי טבילה, C- ביקורת, ללא מיקוריזה), על מדדי יבול: אורך גבעול ומספר פרחים ליחידת שטח. התוצאות עברו אנליזה סטטיסטית (one way Anova) בעזרת תוכנת JUMP.

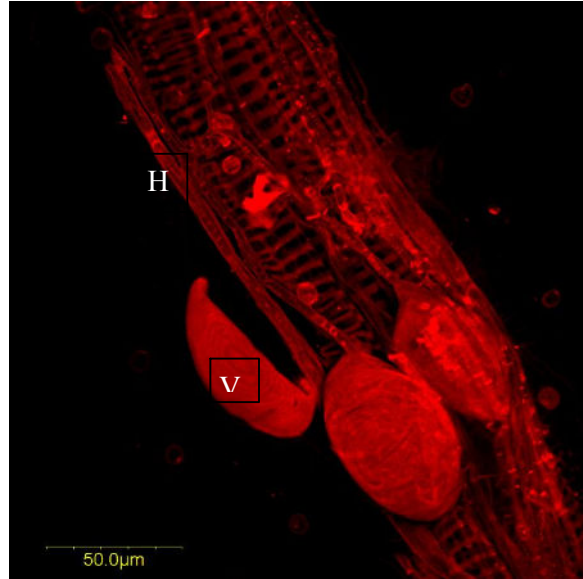


יתרה מכך, נמצא כי המיקוריזה הביאה לפחיתה במחלות קרקע בליזיאנתוס הנגרמות על ידי *Fusarium solani* ו-*Rhizoctonia solani* (תמונה 3). לתוצאה זו חשיבות רבה מכיוון שמחלות קרקע אלו גורמות לנזקים רבים בגידול זה. יחד עם זאת, הפיזור שאינו אחיד של גורמי המחלה בקרקע גרם לשונות רבה. במחקרים עתידיים נבחן שוב את השפעת יישום המיקוריזה על השפעת מחלות קרקע אלו, בכדי להסיק תוצאות ברורות יותר לגבי אפשרות הטיפול במיקוריזה כגורם להפחתת מחלות קרקע.



תמונה 3: מספר צמחים שורדים בחלקות הניסוי לאחר נגיעות ב- *Fusarium solani* ו- *Rhizoctonia solani*, והדבקה עם מיקוריזה. טיפולי המיקוריזה: (G) יישום בבור השתילה, (N) יישום במשתלה, (B) יישום משולב של בור שתילה ומשתלה, (D) יישום על ידי טבילה, (C) ביקורת, ללא מיקוריזה). התוצאות עברו אנאליזה סטטיסטית (one way Anova) בעזרת תוכנת JUMP.

במקביל, בצענו בדיקה רוטינית של נוכחות המיקוריזה בשורשי הצמחים. בתמונה 4 דוגמה לנוכחות המיקוריזה בשורשי ליזיאנתוס.



תמונה 4: מיקוריזה בשורשי ליזיאנתוס. ניתן להבחין בוסיקולות (V) ובתפטיר (H).

באסקלפיאס לא ניכרה השפעת מובהקת של טיפולי המיקוריזה על מדדי היבול (טבלה 1).

משקל	מספר פרקים	אורך	טיפול
26±4	27±1	61±6	ביקורת
29±6	27±0.9	64±6	מיקוריזה

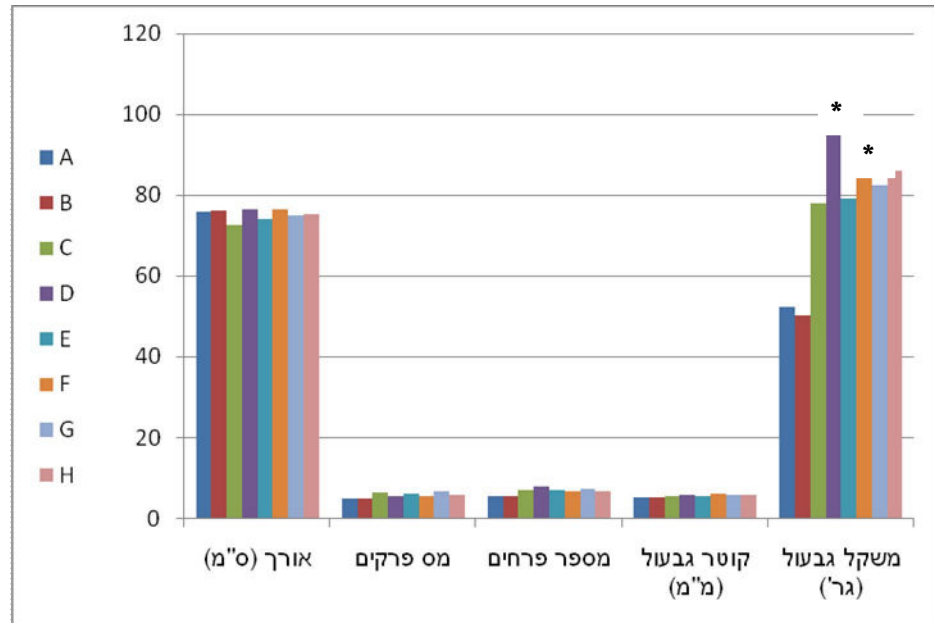
טבלה 1: השפעת טיפול במיקוריזה על מדדי יבול באסקלפיאס.

בשנה השלישית של המחקר בחרנו להמשיך עם ליזיאנתוס, ולבחון את השפעת המיקוריזה על שתילה מוקדמת, הפחתת השקיה, וכן דישון ברמות זרחן גבוהות (מסחריות) של גידול הליזיאנתוס. בתמונה 5 פירוט הטיפולים ומפת השטח במו"פ דרום.

זן: אקסקליבר לבן					
22/10/09 - התחלת טיפולי הזנה					
עמד למ"ר	השקייה	דישון	מועד שתילה	טיפול	
70	השקייה רגילה	זרחן רגיל	25/8/09	ביקורת	A
70	השקייה רגילה	זרחן רגיל	25/8/09	מיקוריזה	B
60	השקייה רגילה	זרחן נמוך	24/9/09	ביקורת	C
60	השקייה רגילה	זרחן רגיל	24/9/09	מיקוריזה	D
60	השקייה רגילה	זרחן רגיל	24/9/09	ביקורת	E
60	השקייה רגילה	זרחן נמוך	24/9/09	מיקוריזה	F
60	הפחתת השקייה	זרחן רגיל	24/9/09	ביקורת	G
60	הפחתת השקייה	זרחן רגיל	24/9/09	מיקוריזה בקרקע	H

יחד עם זאת- לא נצפה שינוי משמעותי במדדי הפריחה בשתילה מוקדמת ובהפחתת השקייה, בין אם יושמה המיקוריזה ובין אם לאו.

התוצאות תומכות בכך שגם בתנאי דישון מסחריים המיקוריזה מביאה לשיפור מדדי היבול, ועל כן- יש מקום ליישום המיקוריזה בגידול הליזיאנתוס המסחרי בארץ. יישום זה יכול להיעשות כבר בזמן ההנבטה, ולחסוך בכך לחקלאי בעלות המיקוריזה ובטיפולים נוספים בעת השתילה.



תמונה 6: השפעת יישום מיקוריזה על מדדי יבול: משקל גבעול, קוטר גבעול, מספר פרחים, מספר פרקים ואורך ענף פורח. התוצאות עברו אנליזה סטטיסטית (one way Anova) בעזרת תוכנת JUMP. תוצאות מובהקות בהשוואה בין טיפול במיקוריזה לביקורת מסומנות בכוכבית.

מסקנות והשלכות

1. בעבודה הנוכחית נמצא כי יישום תבדדי המיקוריזה בטיפול משולב מעלה את הצימוח ואיכות היבול, לעומת צמחי הביקורת שלא הודבקו במיקוריזה, בליזיאנתוס ואסקלפיאס. זאת, ברמות זרחן היכולות לשמש גם בדישון מסחרי.
2. בליזיאנתוס חלה עליה במספר מדדי יבול. מהניסויים עלה, תוך בחינת מדדי יבול, כי חלק מטיפולי המיקוריזה יעילים יותר מאחרים. טיפולי המשתלה אשר הביאו לעליה במדדי היבול הם בעלי עלות נמוכה יחסית לטיפולים אחרים, ואינם מצריכים עבודה נוספת מהחקלאי בעת השתילה.
3. עוד נמצא כי המיקוריזה הביאה למגמת הפחתה של מחלות קרקע שנגרמו מפוזריום וריזוקטוניה, נוכחות המיקוריזה אותרה בשורשי הצמחים.
4. תוצאות אלו מאפשרות בנייה של פרוטוקול גידול בנוכחות מיקוריזה לצמחי נוי. הפרוטוקול מיושם כעת במשקי מודל (ארז יונש בפארן, משתלות יודפת, משתלות דנציגר).

5. המחקר פותח את הפתח ליישום טכנולוגיה חדשה, בה יהיה שימוש במיקוריזה בגידול צמחי הנוי. דבר זה יכול להביא לשיפור מערכת היצור בענף הפרחים, ולשיפור בקליטת גידולים חדשים עקב השינויים בדרישות השוק.

6.

השלכות העבודה: המחקר מראה כי שימוש בטכנולוגית המיקוריזה מביאה לעליה במדדי יבול וצימוח של חלק מצמחי הנוי הנבדקים. מכך- סביר כי המיקוריזה בעלת פוטנציאל לשיפור איכות וכמות היבול. בנוסף, יישום המיקוריזה יכול להביא לחיסכון ביישום דשן והשקייה, עובדות המוזילות עלויות הגידול מחד, ומקטינות את הנוק הסביבתי מאידך. העבודה פותחת צוהר גם לצורך בדחיקת חומרי הדברה כימיים (בארץ ובעולם) שמכתיבים חיפוש אחר אלטרנטיבות יעילות - לטכנולוגית המיקוריזה פוטנציאל לענות על דרישות אלו באזורי גידול רבים באופן יעיל וזול.

רשימת ספרות מצוטטת

- Cooper, K.M. 1986. Physiology of VA mycorrhizal associations. In VA mycorrhiza (Powell CL and Bagyaraj DJ, Eds.) CRS Press, Inc., Boca Raton, FL pp. 155-86.
- Escudero V. and Mendoza R. 2005. Seasonal variation of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate grasslands along a wide hydrologic gradient *Mycorrhiza* 15: 291-299
- Gamliel, A; Gadkar, V; Zilberg, V; Beniches, M; Rabinowich, E; Manor, H; Winger, S; Kapulnik, Y. 2004. Effect of solarization intensity on the control of pink root of chives, and the response of the crop to AM fungal application. *SYMBIOSIS*. 37(1-3):233-247.
- Gerdemann, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhiza. The development and function of roots. (J.G. Torrey and Clarkson, Eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 575-591.
- Hardie, K. and Leyton, L. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate deficient soil. *New Phytol* 89: 599-608.
- Harrison MJ. 2005. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annu Rev Microbiol*. 59: 19-42.
- Hayman, D.S. and Mosse, B. 1972. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol*. 71: 41-47.
- Hwang SF., Chang K.F. and Chakravarty, P. 1992. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of Verticillium and Fusarium wilts of alfalfa. *Plant Disease* 7: 239-243
- Lugo MA, Cabello MN (2002) Native arbuscular mycorrhizal (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity. *Mycologia* 94:579-586
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of the vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopathol*. 11: 171-196.
- Shoaf W.T. and Lium W.B. 1976. Improved Extraction of Chlorophyll a and b from Algae Using Dimethyl Sulfoxide. *Limnology and Oceanography*, 21: 926-928.
- Tinker, P.B. 1983. Mycorrhizal fungi and ion uptake. Metals and micronutrients. Uptake and utilization by plants. Edited by Robb DA and Pierpoint WS. Academic Press, London pp 21-32.

פריימן ז., ויניגר ס., בן-דור ב., קפולניק י. וקולטאי ח. (2006) השפעת המיקוריזה על שיפור הגדילה בצמחי תבלין ובפטוניה. עולם הפרח, אפריל 2006, עמודים 48-51.

נספח 1: פרסום ראשוני של התוצאות בעיתון יבולי שיא, חוברת מחקרים מו"פ דרום יום פתוח 2008

(עמודים 66-68)

השפעת טיפולי מיקוריזה על התפתחות שורשים, צימוח וגטטיבי וכמות ואיכות הפרחים במגוון רחב של

פרחי קטיף

דר' קולטאי חננית^{1*}, פרופ' יורם קפולניק², דר' איתן שלמה³, דר' מיכאל רביב⁴, גדעון לוריא⁵ דורון

מאיר¹, נטלי רזניק¹ סמדר וינינגר², ליאנה גנות⁶ ועירית דורי⁶

¹המחלקה לפרחים, ²המחלקה לגד"ש ומשאבי שדה, מכון וולקני, בית דגן

³מדריך חקלאי, תחום פרחים

⁴המחלקה לפרחים, מכון וולקני, נווה יער

⁵אגף הפרחים, שה"מ

⁶מו"פ דרום-תחנת הבשור

*כתובת אלקטרונית: hkoltai@agri.gov.il

תקציר

הפטרייה המיקוריטית (מיקוריזה) מהווה גורם משמעותי בשיפור התפתחות צמחים רבים, ובהם גידולים חקלאיים. למרות תפוצתה הרחבה בקרקעות טבעיות, הפטרייה כמעט ואינה מצויה בקרקעות חקלאיות. על כן, אנו מפתחים את טכנולוגיית ייצור פטריית המיקוריזה וטכנולוגיית השימוש בה בחקלאות ישראל. עד עתה לא הוכנסה המיקוריזה לשימוש שגור בענף הפרחים. לאור זאת, אנו מבצעים במו"פ דרום, ניסויים רחבי היקף שמטרתם פיתוח יישומים של פטריית המיקוריזה בענף צמחי הנוי. בשנת המחקר הראשונה ערכנו סריקה רחבת היקף לשיפור/עידוד גדילת צמחי נוי על ידי טיפולי מיקוריזה. מספר זנים עשבוניים, חד שנתיים, רב שנתיים וגיאופיטים נבחנו לגבי יכולתם ליצור סימביוזה עם פטריית המיקוריזה. במהלך המחקר אתרנו את מיני צמחי הנוי המגיבים באופן חיובי עם הפטרייה, ונבחנו מידת צמיחתם ומדדי יבול בתנאי הניסוי. בתום עונת הקטיף ניתן היה להבחין במספר מיני צמחי נוי אשר נוכחות המיקוריזה הועילה לגידול ולמדדי פריחה. במינים אלו יבצעו ניסויי שטח בשנים הבאות של המחקר לבניה של פרוטוקול גידול חקלאי בנוכחות מיקוריזה בכל צמח. המחקר יפתח את הפתח ליישום טכנולוגיה חדשה, בה יהיה שימוש במיקוריזה בגידול צמחי הנוי. דבר זה יכול להביא לשיפור ניכר בכושר גדילת הצמחים ולהעלאת כמות ואיכות יבול צמחי הנוי, תוך הפחתה משמעותית של הצורך בדישון ובכמויות המים הנדרשות על ידי הצמח.

מבוא

בשנים האחרונות הוכח שהסימביוזה האנדו-מיקוריטית מהווה גורם משמעותי לשיפור התפתחות צמחים רבים, ובהם גידולים חקלאיים. ניסויים רבים הראו כי חשיבותה העיקרית של המיקוריזה בחקלאות נובעת מהגברת כושר הקליטה של מינרלים מהקרקע בשלבי גידול מוקדמים, ומהגברת עמידות הצמח בפני פתוגנים משניים בקרקע וכן שיפור יעילות ניצול המים בקרקע.

עד עתה לא הוכנסה המיקוריזה לשימוש בענף הפרחים (פרימן וחבריה, 2006). במטרה לשלב את יישום המיקוריזה כטכנולוגיית גידול חדשה בענף צמחי הנוי בצענו סריקה רחבת היקף לבחינה של יכולת

הפטרייה לשפר גדילת מספר מינים, תוך התמקדות בשלבי צימוח ראשוניים (קליטה), גידול וגטטיבי ופריחה.

הסימביוזה מקוימת על ידי קבוצה של פטריות קרקע המאלחת בטבע 80% ממיני הצמחים העילאיים. ניתן למצוא את פטריות המיקוריזה במגוון קרקעות ואזורים אקלימיים. יחידות התפוצה של הפטרייה בקרקע כוללות נבגים, תפטיר ושורשים מודבקים של צמחים. ניסויים שנעשו בתנאי שדה ובתנאים מבוקרים הראו שהדבקה בפטרייה מיקוריטית משפרת את התפתחות הצמחים ומעודדת את גידולם. תרומתה העיקרית של הפטרייה להתפתחות מתבטאת בקליטת יסודות חיוניים לצמח. יסודות שונים נקלטים ע"י התפטיר החיצוני שבקרקע ומשם מועברים לתפטיר שבתוך השורש וממנו לרקמת הפונדקאי (Mosse, 1973). הקורים המצויים מחוץ לשורש מהווים מערכת קליטה יעילה, המגדילה את נפח הקרקע המנוצל. לקורים שטח פנים גדול ליחידת משקל, כמו כן קוטר הסיב קטן ומאפשר חדירה לחללי קרקע שהשורשים אינם יכולים לחדור לתוכם. כך מגדילים הקורים במידה ניכרת את נפח הקרקע המנוצל ע"י הצמח (Cooper, 1986; נסקר על ידי Koltai et al., 2009).

למרות תפוצתה הרחבה של המיקוריזה באזורי בר, תפוצתה באדמות חקלאיות נמוכה יותר, וזאת עקב פעולות אגרוטכניות שונות כמו חיטויי קרקע, חריש עמוק, עודף דישון ועוד, המונעים את רצף ההתפתחות של הפטרייה בקרקע ובכך מורידות באופן ניכר את תפוצה לאורך שנים. על כן, רבים גורסים כי יש מקום להוסיף את הפטרייה לאדמות חקלאיות, כחלק מהפרקטיקה החקלאית.

השפעת המיקוריזה בחקלאות הוכחה בעבר במיני גידולים שונים. בארה"ב פורסמו פיתוחים של ה-משרד החקלאות האמריקאי משנת 2003 שמצהירים כי ניתן להשיא את יבולי הפלפל בכ-30% בעקבות אילוח השתילים בפטריית המיקוריזה. בארץ הוכח כי השפעת המיקוריזה אינה מסתכמת אך ורק באספקת מינרלים ובתוסף זרחן לצמח. כך למשל נמצא כי לנוכחות המיקוריזה תרומה משמעותית בקביעת רמת יבול צמחי פלפל שבהם נצפתה הקדמה בגלי הניבה בחלקות המטופלות במיקוריזה בהשוואה לחלקות צמחיהם לא מטופלים. יתרה מכך, לאחרונה נמצא כי השימוש במיקוריזה מאפשר **הפחתה של כ-30% מכמות ההשקיה בצמחי פלפל, עובדה הנבדקת עתה ע"י צוות חוקרים מורחב** (פרופ' יורם קפולניק, דר' שמעון פיבוניה, רחל לויטה, תוצאות שטרם פורסמו).

תפקיד נוסף וחשוב של פטריית המיקוריזה הוא יכולתה לעכב התפתחות מחלות שורש וקרקע בצמחים הנגרמות ע"י פטריות מסוגים שונים וע"י נמטודות. בארץ הוכח חלקה של המיקוריזה בהורדת נזקים הנגרמים לעירית על ידי הפטריה *Pyrenochaeta terrestris* הגורמת למחלת "השורש הורוד" (Pink root) בשומיים (Gamliel et al., 2004), ובעולם דווח על הקטנת נגיעות פוזריום וורטיציליום על ידי נוכחות מיקוריזה (Hwang et al., 1992).

במחקר המבוצע במו"פ דרום נבחנה השפעתה של המיקוריזה על גידולים שונים בתחום צמחי הנוי. תרומתה של הפטרייה עשויה להיות גדולה במיוחד בשלבי היקלטות ראשוניים של הצמח- בייחורים, שתילים, פקעות ובצלים. מחד- בשלבים אלו לא ניתן לדשן היטב את הצמחים עקב רגישות השורשים הצעירים הנוצרים לדשן. מאידך- בראשית הצמיחה של גידולים רבים קיים צורך בהימצאותם של יסודות הזנה בצמח המפתח שמשפיעים יבול ואיכות הצמח בשלבי גידול מאוחרים יותר. תוספת מיקוריזה בשלבי צמיחה אלו ואחרים יכולה להביא לשיפור ניכר בכושר גדילת הצמחים ולהעלאת כמות ואיכות צמחי הנוי והפרח הקטוף.

עיקרי הניסוי במו"פ דרום ותוצאותיו

בשלב הראשון של המחקר ערכנו סקירה רחבה של מגוון צמחי נוי, בעיקר פרחי קטיף, לאיתור המינים היוצרים סימביוזה עם פטריית המיקוריזה, תוך כדי בחינה של קליטתם והתפתחות בהשוואה לצמחים שלא טופלו במיקוריזה. מבין המדדים שנבחנו היו מידת השיפור של קליטת השתילים או הבצלים בקרקע ועידוד הגדילה הגוטטיבית, וכן מדדי פריחה שונים.

הניסויים נערכו במו"פ דרום ובהם נסרקו 10 מינים שונים של צמחי נוי. הצמחים הנבחנים היו: צמחי בצל (דוביום, אמריליס), שתילים חד שנתיים (כגון: סולידגו, ליזיאנתוס), וזרעים (תורמוס). מידבק של פטריית המיקוריזה יושם בקרקע בשני אופנים. אופן אחד: תוך ערבוב של שכבת מצע הגידול (הטוף) העליונה בנפח של יתכשיר מיקוריזה ביחס של 1:4, יישום זה ניתן לצמחים בעלי עומד שתילה גבוה. לעומת זאת, צמחים בעלי עומד שתילה נמוך יותר, כגון לימוניום וסולידגו, טופלו במדבק המיקוריזה בתוך גומת השתילה לכל צמח וצמח. טיפולי הדישון יושמו החל מהשבוע השלישי לשתילה וכללו דשן 7:1:1 (N:P:K). השתילה נערכה בספטמבר, התאורה ניתנה לכל הצמחים כשבירת לילה בהארה מחזורית (5/15) למשך 6 שעות (00:21-00:03). לתאורה שימשו נורות להט 100 וואט. בתמונה 1 דוגמאות למראה החממה בעת פריחה, לפני לקיחת מדדי הפריחה עבור הצמחים השונים. עבור כל מין נלקחו מספר מדדי פריחה, הכוללים מספר פרחים, משקלם, אורך תפרחת ואורך גבעול, באופן רלוונטי עבור כל מין צמח.

להלן דוגמאות מתוצאות התצפית שהתקבלו במהלך השנה שעברה במגוון צמחי נוי. בתמונה 2 תוצאות מדדי הפריחה עבור עדעד (*Limonium sinuatum*) ואסקלפיאס טוברוזה (*Asclepias tuberosa*; butterfly milkweed). בצמחים אלו נצפתה עליה במספר ענפים פורחים ומספר פרחים, בהתאמה, בנוכחות המיקוריזה. בליזיאנתוס (*Lisianthus grandiflorum*) נצפתה עליה בנוכחות המיקוריזה, לעומת הביקורת, במספר הפרחים ומשקל ממוצע של ענף פריחה. ההשפעה החיובית של המיקוריזה ניכרה בעיקר בגל הקטיף השני (תמונה 3). בנוסף, ערכנו בדיקות עבור נוכחות מיקוריזה בשורשי הצמחים השונים. בתמונה 4 דוגמה לשורשים מודבקים במיקוריזה.

מסקנות

מתוצאות התצפית ניתן ללמוד כי השימוש בטכנולוגיית המיקוריזה מביא לעליה במדדי יבול וצימוח של חלק מצמחי הנוי הנבדקים. מכאן נובע כי יתכן שטיפול מקדים בפטרייה הוא בעל פוטנציאל לשיפור האיכות וכמות היבול החשובים מבחינה כלכלית. **במערך הניסויים המתבצע במו"פ דרום בשנה הנוכחית** נבדקים ביתר פירוט שנית המינים שהגיבו באופן חיובי בתצפית וכן נבחנות שיטות יישום שונות של הפטרייה. במקביל אנו מפתחים מערכי ייצור ושווק של פטריית המיקוריזה תוך פיתוח של מגוון מוצרים על בסיס המידבק הפטרייתי, שיהיו יעילים ונוחים לשימוש בפרקטיקה החקלאית.

לסיכום, המשך פיתוח של המדבק הפטרייתי, תוך התאמה נוספת לפרקטיקה החקלאית, ועידוד ייצורו ושיווקו המסחריים, יביאו בעתיד הקרוב לשימוש מורחב במיקוריזה כחלק מפרוטוקולי הגידול של מגוון צמחי נוי. זאת ועוד, השימוש בטכנולוגיית המיקוריזה יכול להביא להפחתה משמעותית של רמות הדשון הנחוצות להתפתחות תקינה, ובעיקר להפחתה משמעותית בכמויות המים הנדרשות על ידי הצמח. טכנולוגיה זו תאפשר חסכון של תשומות חקלאיות ומי השקיה, תוך הטבת תנאי הגידול של מגוון צמחי הנוי.

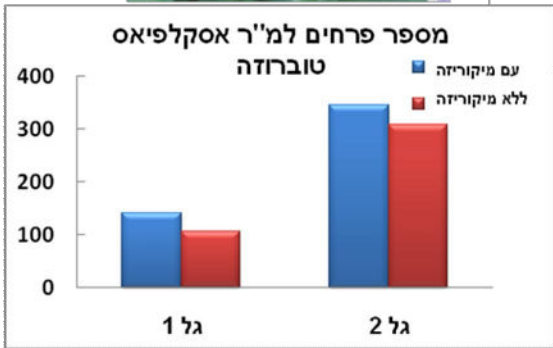
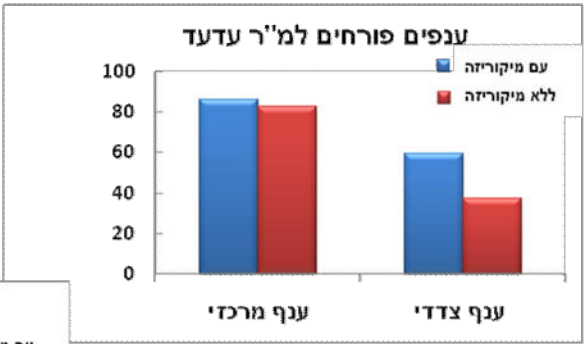
המחקר מומן באמצעות מענק מחקר של המדען הראשי של משרד החקלאות מספר 0749-256.

רשימת ספרות מצוטטת

- Cooper, K.M. 1986. Physiology of VA mycorrhizal associations. In VA mycorrhiza (Powell CL and Bagyaraj DJ, Eds.) CRS Press, Inc., Boca Raton, FL pp. 155-86.
- Gamliel, A; Gadkar, V; Zilberg, V; Beniches, M; Rabinowich, E; Manor, H; Winger, S; Kapulnik, Y. 2004. Effect of solarization intensity on the control of pink root of chives, and the response of the crop to AM fungal application. SYMBIOSIS. 37(1-3):233-247.
- Hwang SF., Chang K.F. and Chakravarty, P. 1992. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of Verticillium and Fusarium wilts of alfalfa. Plant Disease 7: 239-243
- Koltai H., Gadkar V. and Kapulnik Y. 2009. Biochemical and Practical Views of Arbuscular Mycorrhizal Fungus-Host Association in Horticultural Crops. In: Horticultural Reviews, (ed. J. Janick), John Wiley & Sons, Inc. in press.
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of the vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 171-196.
- פריימן ז., ויניגר ס., בן-דור ב., קפולניק י. וקולטאי ח. (2006) השפעת המיקוריזה על שיפור הגדילה בצמחי תבלין ובפטוניה. עולם הפרח, אפריל 2006, עמודים 48-51.



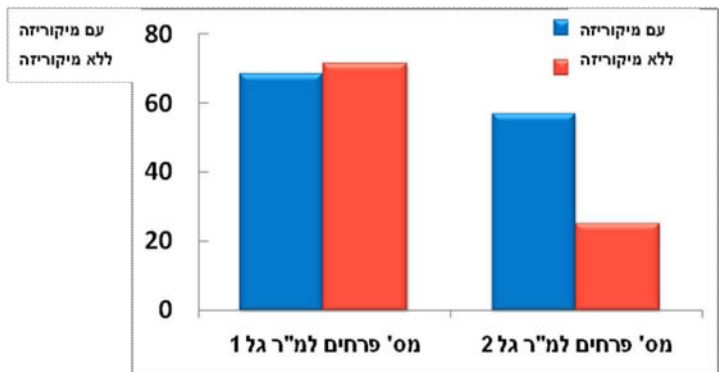
תמונה 1: דוגמאות למראה החממה במי"פ דרום, תחנת הבשור, בעת פריחה, לפני לקיחת מדדי הפריחה עבור הצמחים השונים.



תמונה 2: תוצאות השפעת מיקוריזה על מספר ענפים פורחים או מספר פרחים בעדעד ואסקלפיאס טוברזה, בהתאמה.



עם מיקוריזה ללא מיקוריזה



תמונה 3: מספר פרחים ומשקל ממוצע לענף בגלים ראשון ושני של קטיף ליציאנתוס.

נספח 2: פרסום של התוצאות בעיתונות הבינלאומית המבוקרת - Spanish Journal of Agricultural

Research (נמצא בדפוס, בבית העריכה)

Application of Mycorrhizae to Ornamental Horticultural Crops: Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) as a Test Case

Doron Meir¹, Shimon Pivonia², Rachel Levita², Irit Dori³, Liana Ganot³, Shimon Meir⁴, Shoshi Salim⁴, Nathalie Resnick¹, Smadar Wininger⁵, Eitan Shlomo⁶ and Hinanit Koltai^{1*}

¹ Dept. of Ornamental Horticulture, ARO, the Volcani Center, Bet Dagan 50250, Israel*

² Yair Station, North Arava Research and Development Farm, Hazeva, Israel

³ MOP DAROM Research and Development Farm, Habesor, The Western Negev, Israel

⁴ Dept. of Postharvest Science of Fresh Produce, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan 50250, Israel

⁵ Dept. of Agronomy and Natural Resources, ARO, the Volcani Center, Bet Dagan 50250, Israel

⁶ Dr. Eitan Shlomo Ltd., Agriculture Production, Research and Consulting, Rehovot 76351, Israel.

* Corresponding Author: Hinanit Koltai, email address: hkoltai@agri.gov.il, Tel: 972-3-9683039

Numbers of Figures: 6

Number of Tables: 0

Short Title: Mycorrhizal effect on lisianthus yield

Topic: Plant production

Abstract

Ornamental crops are high-cash crops, grown under greenhouse conditions in semi-arid regions in Israel where a reduction in the native population of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is expected due to routine soil disinfection. The application of AMF inoculum to the soil has been shown to be effective at improving plant growth and enhancing plant resilience to abiotic and biotic stresses. One of our aims is to introduce mycorrhizal application to ornamental crops, and a test case is presented here for two cultivars of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), one of the major ornamental crops grown in Israel. Several different methods of AMF application and their effects on growth, yield and vase life were examined in lisianthus grown in two different semi-arid locations in southern Israel. AMF enhanced lisianthus growth and yield, especially when introduced to the growth medium during seeding and to the pit hole during planting. Significantly enhanced growth and yield parameters included flowering stem length and number of flowering stems per square meter; positive but non-significant effects were recorded on stem weight, number of flowers per stem and vase life of cut flowers. Yield enhancement was recorded under both low and regular phosphorus conditions. Although not significant, higher resilience against two pathogenic fungi was also recorded following AMF inoculation. Hence, AMF is suggested to be a useful growth amendment for promotion of lisianthus commercial production, and may potentially be applied to additional ornamental crops.

Additional key words: Nursery, Symbiosis, Vase life

Abbreviations used: AMF - arbuscular mycorrhizal fungi; N:P:K - nitrogen:phosphorus:potassium ratio; i.u. - infective units

Introduction

Ornamental crops are grown in Israel and constitute one of its main fresh export products, mainly to Europe. As high-cash crops, enhancement of plant growth and development, in addition to yield promotion, may be highly valuable.

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) is an ornamental plant originating in southern parts of North America (Halevy and Kofranek, 1984). The plant grows slowly during the winter, in the form of a rosette which elongates in the spring and flowers in the summer (Roh *et al.*, 1989). Flowering has been shown to be affected by temperature and photoperiod (e.g., Harbaugh, 1995, 2000; Harbaugh and Scott, 1999), in a cultivar-dependent manner (Harbaugh, 2007), suggesting that lisianthus is a facultative long-day plant (Zaccai and Edri, 2002). Lisianthus has been the subject of intensive breeding efforts (Harbaugh, 2007), generating a number of new varieties annually with improved traits, such as flower color, size and form (Harbaugh, 2007). In Israel, lisianthus is one of the major ornamental crops exported to Europe. Hence, improvement in its growth and production may be of substantial benefit to Israeli growers. Lisianthus is especially propagated in arid and semi-arid regions, under greenhouse conditions. Greenhouses for lisianthus growth are usually plastic-covered, at least 4 m high, and covered with insect-proof netting.

Mycorrhizal symbiosis has been recognized to protect plants against environmental stresses, including drought and salinity (e.g., Porcel *et al.*, 2003; Bolandnazar *et al.*, 2007), and to serve as a biofertilizer and bioprotectant that can enhance crop productivity (Azcón-Aguilar and Barea, 1997).

The profound effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and development of a variety of crop plants has been studied and described in many research papers (e.g., Kapulnik *et al.*, 1994; Azcón-Aguilar and Barea, 1997); however to date, in comparison to fruits and vegetables, ornamental crops have received only minor attention in this regard. Examples are studies examining the effect of AMF on roses, demonstrating alteration in the plant's drought response and osmotic adjustment following mycorrhizal colonization (e.g., Augé *et al.*, 1986, 1987; Piniór *et al.*, 2005). Other studies have examined other ornamental species, such as *Petunia hybrida*, *Tagetes erecta* and *Chrysanthemum morifolium* with respect to the effect of mycorrhizal application on growth and yield (e.g., Linderman, 2003; Sohn *et al.*, 2003; Gaur and Adholeya, 2005).

AMF have been shown to benefit plants that may suffer from growth inhibition. This inhibition may be due to either chemical or physical soil manipulations at pre-planting stages of agronomical management, shortage in water supply, low quality of irrigation water, high day temperatures with high evapotranspiration rates, or soil salinity (Barea *et al.*, 1993). Some of these conditions can typically be found in the northern Negev desert in Israel, which is one of the main cultivation areas for ornamental horticulture, including lisianthus.

Therefore, application of mycorrhiza to ornamental crops grown in arid areas in Israel may be an attractive approach for improving plant growth and yield. Of the factors that may determine the success of proper mycorrhizal application, dosage and time of inoculation are important. A sufficient amount of AMF infection units (i.u.) should be supplied to guarantee that the rate of colonization will be sufficient to have agronomic significance. In addition, the developmental stage of the plant to be inoculated may be critical: the earlier the inoculation, the greater the benefits to the plant (Barea *et al.*, 1993).

Here, the effect of AMF on lisianthus growth and yield under greenhouse conditions in the Negev and Arava desert areas of Israel is presented. Several methods for AMF inoculum application were tested and the effects on growth, yield and vase life were recorded. These and additional applied studies are likely to lead to a precise and thorough utilization of AMF in arid and semi-arid regions.

Materials and Methods

To find an efficient and effective method for AMF application, several approaches were examined for their effect on lisianthus (*E. grandiflorum*). Experiments were conducted at two experimental sites: MOP DAROM in the western Negev desert and Yair Station in the Arava desert, with the lisianthus cultivars and Echo White and Excalibur 'pure white', respectively. Mycorrhizal inocula consisted of "whole inoculum", i.e., a mixture of spores of *Glomus intraradices* species and inoculated root fragments, mixed with vermiculite (Wininger *et al.*, 2003).

The different application methods tested were: ground application of bulk inoculum to the planting pit (10 ml into the planting hole, 1000 i.u., designated G); application during seeding in the nursery, as 10% (v/v) of the seeding mixture (100 i.u. per plant, designated N); a combination of both N and G treatments (designated B); application by dipping seedling roots in inoculum, 70 days post-seeding, upon planting (designated D) and control, in which

no inoculum was applied (designated C). All treatments were tested in MOP DAROM, whereas only treatment B was applied at Yair Station.

Lisianthus seedlings were grown at Hishtil Nursery for 70 days in Sussia, Israel (a cool climatic region) to prevent the need for seedling vernalization. They were then planted in local soils at the two experimental sites. MOP DAROM consisted of local sandy soil (EC 2.73 at 0-20 cm depth, EC 1.72 at 20-40 cm depth, initial ground P level 42.5-52.5 ppm [soluble P determined by Olsen-sodium bicarbonate extract]). Yair Station consisted of local sandy soil (EC 3, initial ground P level 40 ppm [soluble P determined by Olsen-sodium bicarbonate extract]). Plants were grown under controlled greenhouse conditions. Four replicates were used for each AMF treatment, placed in randomized blocks, and in each plot, 100 plants were sampled for measurements. At MOP DAROM, fertilization during the experiment consisted of low P growth conditions (7:1:7 N:P:K), whereas at Yair Station the regular (7:3:7 N:P:K) P fertilization levels were used.

Several parameters were examined for evaluation of mycorrhizal effect on lisianthus growth and postharvest quality. These consisted of flowering stem number, length and weight, flower weight, vase life and number of surviving plants following exposure to two fungal diseases (pathogenic fungi identified by the Services for Plant Protection, Israeli Ministry of Agriculture). The effect of mycorrhiza on the vase life of cut flowers was evaluated as previously described (Meir *et al.*, 2007) in a controlled standard observation room maintained at 20°C with 60 to 70% relative humidity (RH) and a 12-h photoperiod provided by cool-white fluorescent tubes and regular lamps at a light intensity of $14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Immediately after harvest, cut flowers were pulsed with a solution composed of 200 ppm 8-hydroxyquinoline citrate (8-HQC; TOG-4 Milchan Bros. Ltd., Israel), 0.22 mM 6-benzyl aminopurine (BA; TOG-L-101 Milchan Bros Ltd.), 0.225 mM silver thiosulfate (STS-75 Milchan Bros Ltd.) and 5% (w/v) sucrose. The pulsing was performed for 4 h in the observation room followed by an additional 20 h incubation at 6°C in the dark. After pulsing, the treated flowers were incubated for 24 h in boxes held in a cold storage room at 6°C and 80% RH to simulate air transport. Vase life was then evaluated by placing the flowers in a preservative solution composed of 50 ppm active chlorine complexed as sodium dichloroisocyanurate (TOG-6, Milchan Bros. Ltd.). Vase life of the flowers was considered over when three flowers had senesced. Means of replicates were subjected to statistical analysis by multiple-range test ($P \leq 0.05$), using the JMP statistical package (SAS, Cary, NC).

The presence of mycorrhizal colonization was examined in the roots for each of the treatments: all roots were collected, washed and stained with acid fuchsin, as described by Floss *et al.* (2008), and observed by confocal microscope (Olympus IX81, Tokyo, Japan) to detect the fluorescence signal.

Results and Discussion

Application of AMF to lisianthus enhanced its growth and vigor (**Figure 1**) under the examined conditions, especially during the second wave of growth and flowering. This positive effect was measured under both regular and low P growth conditions. Under low P, the ground (G) mycorrhizal application and the combined nursery and ground application (B) significantly increased yield parameters, especially in the second flowering wave. Significantly increased parameters included flowering stem length and number of commercial flowering stems per square meter (**Figure 2**); other quality parameters, such as number of flowers within an inflorescence and flower weight improved with AMF treatment B, albeit not significantly (**not shown**).

Under regular P levels, at Yair Station, AMF was applied only as treatment B. In the second flowering wave, a marked enhancement, especially of stem length, was recorded for AMF-treated versus control plants (**Figure 3**).

The MOP DAROM experimental plot was spontaneously infected with two pathogenic fungi: *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*; this infection led to plant collapse, recorded at the end of the experimental period. A marked increase in plant survival was recorded for all AMF treatments relative to the control. A similar protective effect of AMF has been recorded for other plant species (reviewed by Jeffries *et al.*, 2003). However, probably due to the non-uniform spread of the fungal diseases, results were with high standard error and hence, were not statistically significant (**Figure 4**).

Another parameter examined in our experiments was the effect of AMF treatments on the vase life of cut flowers. Following AMF treatments N and B, a trend of increasing vase life was observed compared to the control, but the differences were not statistically significant (**Figure 5**). However, this may be regarded as a positive result as the AMF treatment improved yield without decreasing vase-life quality.

Lastly, the presence of mycorrhiza was examined in lisianthus roots. Following 2 months of lisianthus growth in the MOP DAROM experimental plot (AMF treatment N), hyphae and vesicles of AMF were clearly visible along the root's vascular system (**Figure 6**).

To conclude, treatment with AMF enhanced several parameters of lisianthus yield and growth. The early mycorrhizal applications used in these experiments—at seeding in the nursery and/or during planting in the soil—are recommended. However, previous studies have suggested that the infectivity of mycorrhizal inoculants is influenced by the growing media and additives (Corkidi *et al.*, 2004). Hence, optimization for specific conditions may be needed, especially for nursery application. Importantly, positive effects on lisianthus yield were also evident under regular P conditions, further suggesting that AMF may be useful for commercial growth of lisianthus. Studies are now being conducted on a semi-commercial scale, and examination of AMF's ability to promote yield of this high-cash crop in growers' farms is ongoing. Conceivably, AMF application may be extended to a variety of other ornamental crop species, and integrated as part of their growth protocols for enhancement of growth and yield.

Acknowledgements

This research was financed by a Research Grant of the Chief Scientist of the Ministry of Agriculture (grant number: 256-0749). We thank Bruria Ben-Dor for technical help.

Literature Cited

- AUGÉ R.M., SCHEKEL K.A., WAMPLE R.L., 1986. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and non mycorrhizal rose plants in response to drought stress. *Plant Physiol* 82, 765-770.
- AUGÉ R.M., SCHEKEL K.A., WAMPLE R.L., 1987. Rose leaf elasticity changes in response to mycorrhizal colonization and drought acclimation. *Physiol Plant* 70, 175-182.
- AZCÓN-AGUILAR C., BAREA J.M., 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens—an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6, 457-464.
- BAREA J.M., AZCÓN R., AZCÓN-AGUILAR C., 1993. Mycorrhiza and crops. In: *Advances in plant pathology, vol. 9: Mycorrhiza: a synthesis.* (Tommerup I., ed). Academic Press, London, pp. 167-189.
- BOLANDNAZAR S., ALIASGARZAD N., NEISHABURY M.R., CHAPARZADEH N., 2007. Mycorrhizal colonization improves onion (*Allium cepa* L.) yield and water use efficiency under water deficit condition. *Sci Hort* 114, 11-15.
- CORKIDI L., ALLEN E.B., MERHAUT D., ALLEN M.F., DOWNER J., BOHN J., EVANS M., 2004. Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions. *J Environ Hort* 22, 149-154.

- FLOSS D.S., HAUSE B., LANGE P.R., KÜSTER H., STRACK D., WALTER M.H., 2008. Knock-down of the MEP pathway isogene 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase 2 inhibits formation of arbuscular mycorrhiza-induced apocarotenoids, and abolishes normal expression of mycorrhiza-specific plant marker genes. *Plant J* 56, 86-100.
- GAUR A., ADHOLEYA A., 2005. Diverse response of five ornamental plant species to mixed indigenous and single isolate arbuscular-mycorrhizal inocula in marginal soil amended with organic matter. *J Plant Nutr* 28, 707-723.
- HALEVY A.H., KOFRANEK A.M., 1984. Evaluation of Lisianthus as a new flower crop. *HortScience* 19, 845-847.
- HARBAUGH B.K., 1995. Flowering of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. cultivars influenced by photoperiod and temperature. *HortScience* 30, 1375-1377.
- HARBAUGH B.K., 2000. Evaluation of forty-seven cultivars of Lisianthus as cut flowers. *HortTechnology* 10, 812-815.
- HARBAUGH B.K., 2007. Lisianthus *Eustoma grandiflorum*. In: Flower breeding and genetics issues, challenges and opportunities for the 21st century (Anderson N.O., ed). Springer, Netherlands. pp. 644-663. doi: 10.1007/978-1-4020-4428-1_24.
- HARBAUGH B.K., SCOTT J.W., 1999. 'Florida Pink' and 'Florida Light Blue'—semi-dwarf heat tolerant cultivars of lisianthus. *HortScience* 34, 364-365.
- JEFFRIES P., GIANINAZZI S., PEROTTO S., TURNAU K., BAREA J., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fert Soils* 37, 1-16.
- KAPULNIK Y., HEUER B., PATTERSON N.A., SADAN D., BAR Z., NIR G., KISHINEVSKY B., 1994. Stunting syndrome in peanuts and agronomic approaches for its release. *Symbiosis* 16, 267-278.
- LINDERMAN R.G., 2003. Arbuscular mycorrhiza and growth responses of several ornamental plants grown in soilless peat-based medium amended with coconut dust (Coir). *HortTechnology* 13, 482-486.
- MEIR S., SALIM S., CHERNOV Z., PHILOSOPH-HADAS S., 2007. Quality improvement of cut flowers and potted plants with postharvest treatments based on various cytokinins and auxins. *Acta Hort (ISHS)* 755, 143-154.
- PINIOR A., GRUNEWALDT-STÖCKER G., VON ALTEN H., STRASSER R.J., 2005. Mycorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll a fluorescence, proline content and visual scoring. *Mycorrhiza* 15, 596-605.

- PORCEL R., BAREA J.M., RUIZ-LOZANO J.M., 2003. Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytol* 157, 135-143.
- ROH M.S., HALEVY A.H., HAROLD E.W., 1989. *Eustoma grandiflorum*. In: Handbook of flowering, vol. 6 (Halevy A.H., ed). CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 322-327.
- SOHN B.K., KIM K.Y., CHUNG S.J., KIM W.S., PARK S.M., KANG J.G., RIM Y.S., CHO J.S., KIM T.H., LEE J.H., 2003. Effect of the different timing of AMF inoculation on plant growth and flower quality of chrysanthemum. *Sci Hort* 98, 173-183.
- WININGER S., GADKAR V., GAMLIEL A., SKUTELSKY Y., RABINOWICH E., MANOR H., KAPULNIK Y., 2003. Response of chive (*Allium tuberosum*) to AM fungal application following soil solarization under field conditions. *Symbiosis* 35, 117-128.
- ZACCAI M., EDRI N., 2002. Floral transition in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). *Sci Hort* 95, 333-340.

Figures

Figure 1: (A) The experimental plot used in MOP DAROM, located in the western Negev desert. (B) Demonstration of AMF's effect on growth of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Excalibur) at Yair Station, during the second wave of growth, 24 weeks after planting. AMF: inoculated with mycorrhiza; C: non-inoculated control.

Figure 2: (A) Length of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Echo White) flowering stems at harvest and (B) number of lisianthus flowering stems per m², following different mycorrhizal treatments under low P conditions at MOP DAROM. The different application methods consisted of ground application of bulk inoculum to the planting pit (G); application during seeding in the nursery, as 10% of the seeding mixture (N); a combination of both N and G treatments (B); application by dipping seedling roots in inoculum (D), and control, in which no AMF inoculum was applied (C). Different letters above columns designate significantly different means ($P \leq 0.05$).

Figure 3: Stem length, stem weight and number of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Excalibur) flowers per stem following mycorrhizal treatment under regular P conditions at Yair Station. Application methods consisted of a combination of both nursery and ground treatments (AMF) and control, in which no AMF inoculum was applied. Different letters above columns designate significantly different means ($P \leq 0.05$) within each examined parameter.

Figure 4: Number of surviving lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Echo White) plants in MOP DAROM following spontaneous infestation with *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*. The different AMF application methods consisted of ground application of bulk inoculum to the planting pit (G); application during seeding in the nursery, as 10% of the seeding mixture (N); a combination of both N and G treatments (B); application by dipping seedling roots in inoculum (D), and control, in which no AMF inoculum was applied (C). No significant differences were found between treatments ($P \leq 0.05$).

Figure 5: Vase life of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Echo White) cut flowers harvested from plants grown at MOP DAROM. The different AMF application methods consisted of ground application during seeding in the nursery, as 10% of the seeding mixture (N); a combination of treatments N and G (ground application of bulk inoculum to the planting pit) (B) and control, in which no AMF inoculum was applied (C). Data represent means of five replicates (five stems each) per treatment \pm SE. No significant differences were found between treatments ($P \leq 0.05$).

Figure 6: Microscopic images of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*, cv. Echo White) roots following 2 months of growth in the MOP DAROM experimental plot (AMF application was performed in the nursery; treatment N); hyphae (H) and vesicles (V) are designated. Bars represent 100 μ m.

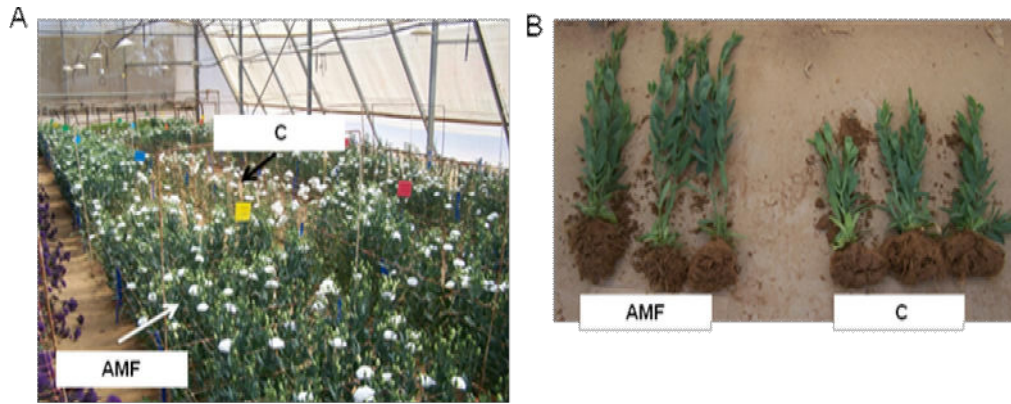


Figure 1

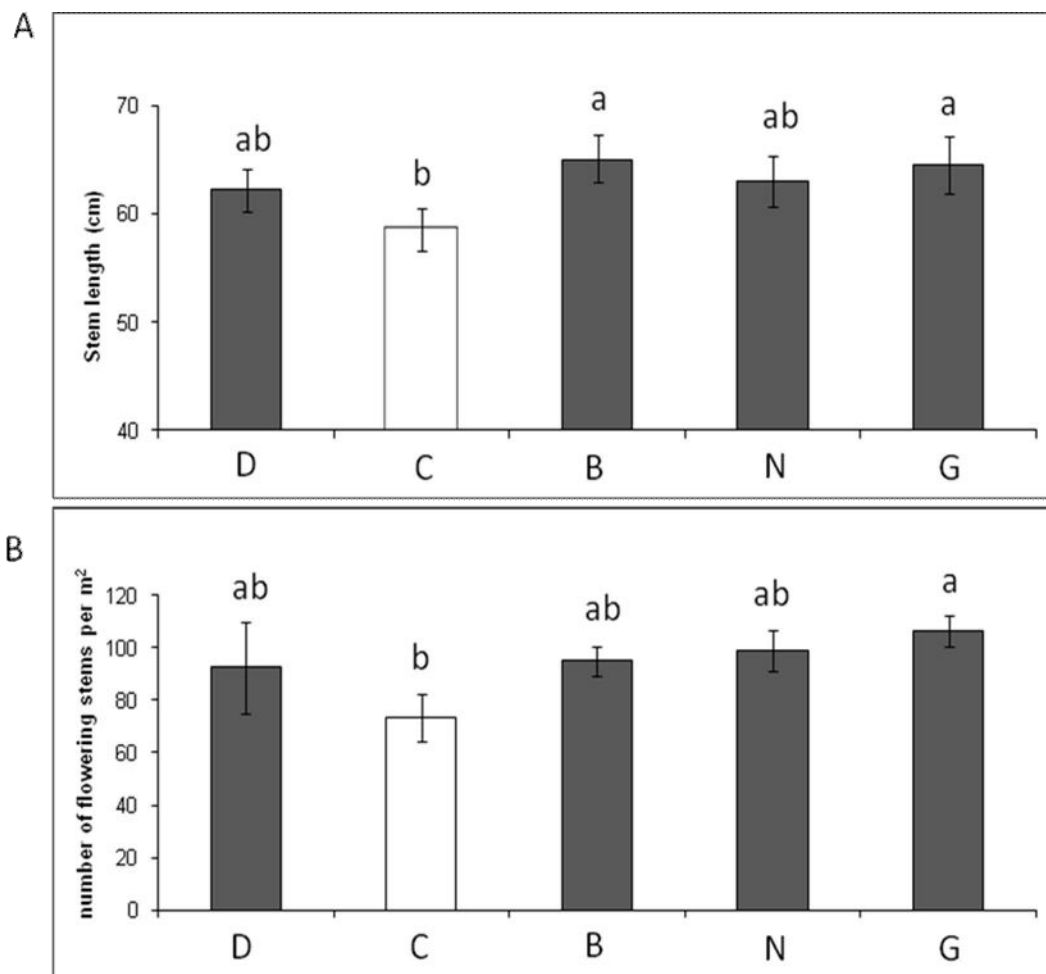


Figure 2

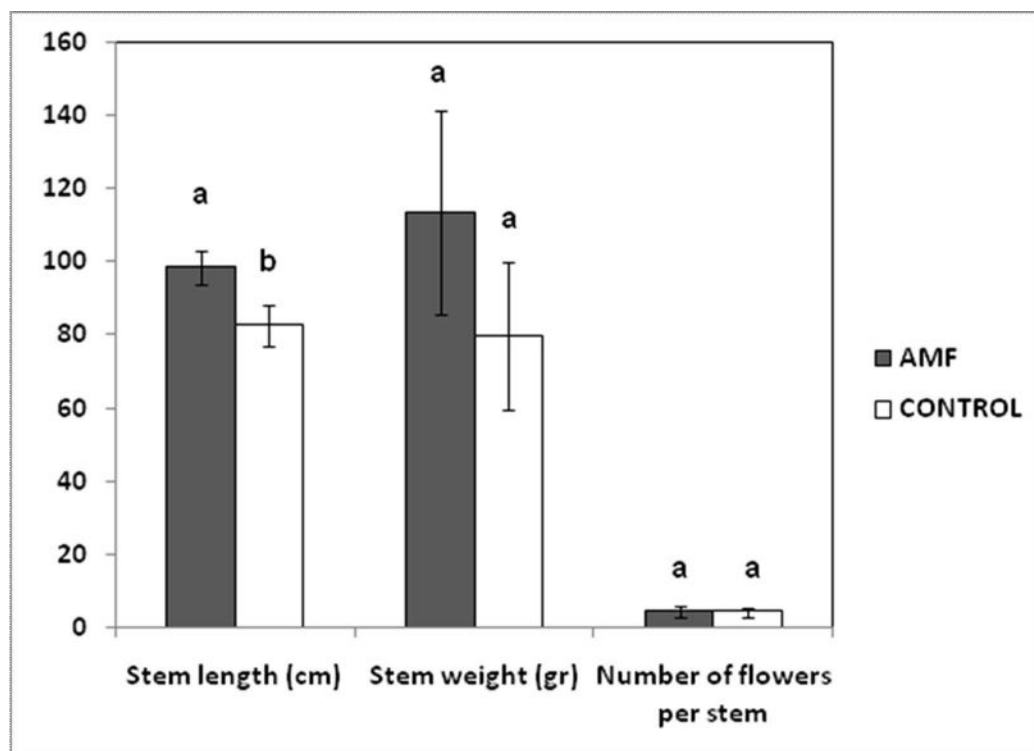


Figure 3

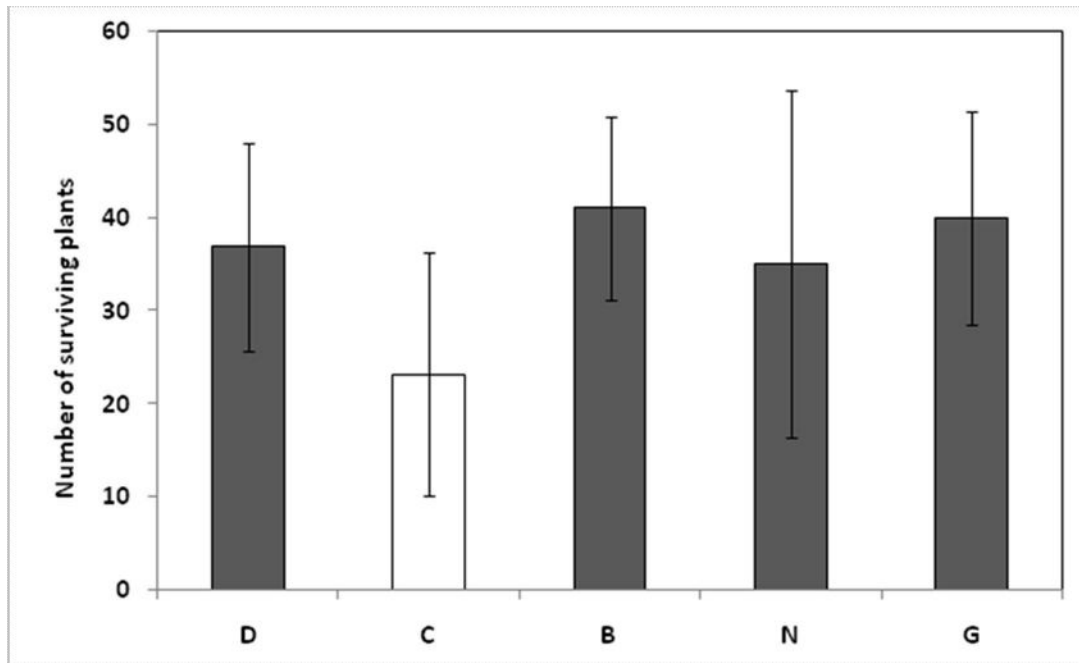


Figure 4

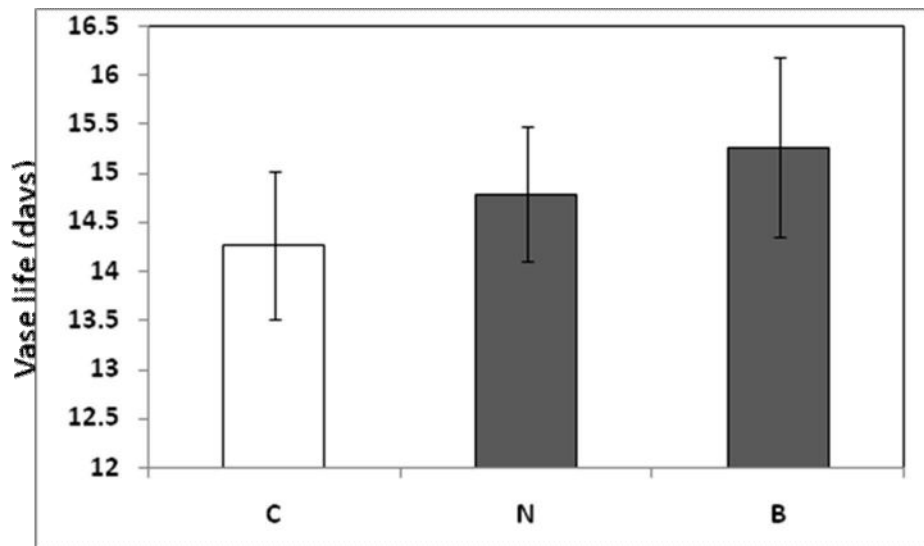


Figure 5

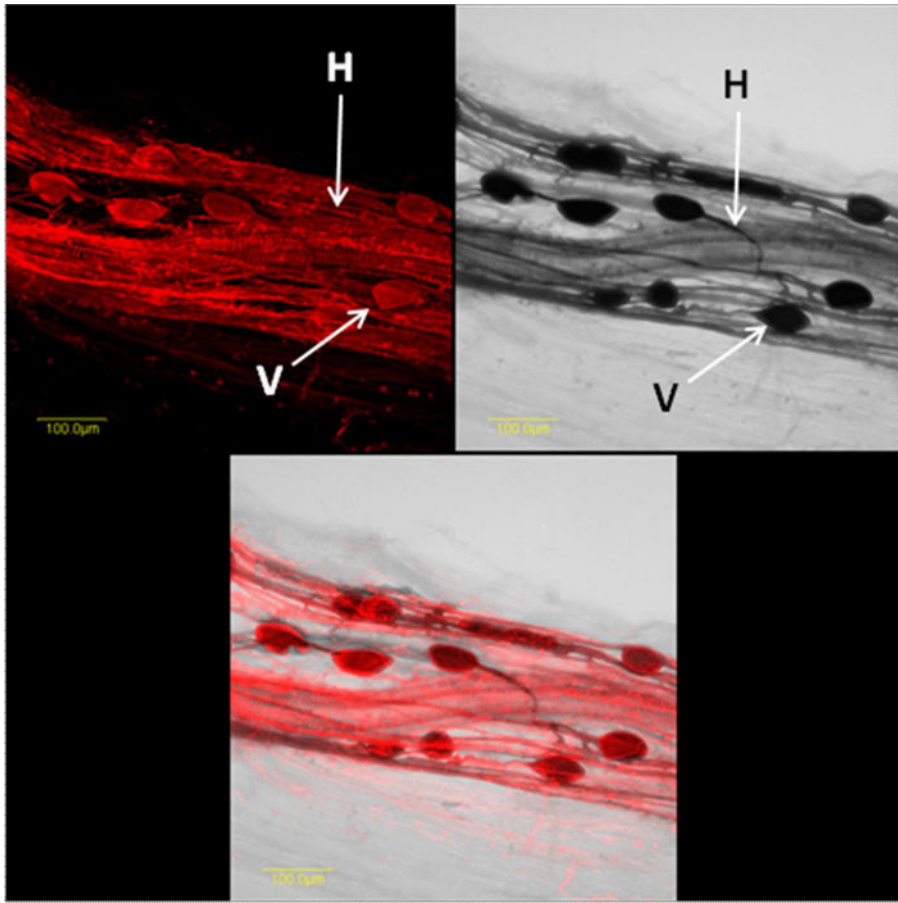


Figure 6