דו"ח לתכנית מחקר מספר 304-0375-09

התאמת ממשק דישון לנץ החלב-דוביום לשיפור מופע העלים והפחתת נזקי רקבון רך

Reducing Ervinia and leaf damages in *Ornithogalum dubium* by mineral nutrition

מוגש לקרן המדען במשרד החקלאות

ע"י

נירית ברנשטיין	המכון לקרקע ומים, מרכז וולקני
איריס ידידיה	המחלקה לפרחים, המכון למדעי הצמח, מרכז וולקני
מרון סופר	חוות הבשור, מו"פ דרום
עירית דורי	חוות הבשור, מו"פ דרום
משה ברונר	חוות הבשור, מו"פ דרום
יאיר נישרי	שה"מ
שרה גוטמן	שה"מ
לוריא גדעון	שה"מ

Nirit Bernstein, Soil, Water and Environmental Sciences, Agricultural Research Organization, The Volcani Center, POB 6, Bet-Dagan 50250. Email: nirit@volcani.agri.gov.il
Iris Yedidia, The Institute of Plant Sciences, Ornamental Horticulture Dep. Agricultural Research Organization, The Volcani Center, POB 6, Bet-Dagan 50250. Email: Irisy@agri.gov.il
Meron Sofer, R&D South, Email: Sofer@barak.net.il
Irit Dori, R&D South, Email: Mosbru@barak.net.il
Moshe Bruner, R&D South, Email: Dori@barak.net.il
Yair Nishri, Extension Service, Ministry of Agriculture, P.O.B. 6 Bet, Dagan. Email: Nishri@moag.agri.go.il
Sara Gutman, Extension Service, Ministry of Agriculture, P.O.B. 6 Bet, Dagan. Email: Gutman@moag.agri.go.il
Gidon Luria, Extension Service, Ministry of Agriculture, P.O.B. 6 Bet, Dagan. Email: Giluria@moag.agri.go.il

אב תש"ע **אוגוסט 2010**

הממצאים בדו "ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר _____

תקציר

הצגת הבעיה. שתי תופעות פוגעות באיכות הגידול נץ החלב, דוביום (Ornithogalum dubium) וגורמות לפחיתה ביבולים - נזקים פיסיולוגיים לקצות עלים, ונגיעות בחיידק Pectobacterium carotovorum (לשעבר ארויניה קרוטובורה, להלן- ארויניה). הגורמים לנזקי העלים אינם ידועים אך משויכים להזנה. חיידקי הארויניה ידועים ברגישותם לערכי pH נמוכים והוכח במערכות גידול אחרות כי ניתן לנצל רגישות זו במערכות חקלאיות להפחתת תחלואה ע"י הזנה חנקנית עתירת אמון, המשרה ירידת pH בריזוספרה. בנוסף, מניעת עודפי מים מקובלת גם היא כאגרוטכניקה מניעתית ומשמשת גם כיום בשדות החקלאיים.

מטרות המחקר. 1. התאמת משטר הזנה חנקנית (יחס אמון/ניטרט וכמות חנקן) לכמות ואיכות יבול מיטבית, והפחתת נזקי עלווה. 2. בדיקת השפעת אחוז האמון בדשן ותדירות ההשקיה על הנגיעות בריקבון רך.

שיטות העבודה. בניסוי במצעים מנותקים בחוות הבשור נבחנו 7 טיפולים. 3 רמות חנקן: 40, 0, ו- 100 ח"מ חנקן בריכוז של 30% אמון, וברמת החנקן של 70 ח"מ נבדקו 3 אחוזי אמון: 10, 20 ו- 30% אמון, ובנוסף ברמת החנקן של 70 ח"מ ו- 20% אמון נבחנו 3 תדירויות השקיה. נערך מעקב אחר יבול ואיכותו, צימוח, נגיעות בארויניה, ונזקי קצות עלים. הצמחים נדגמו לבדיקת צבירת ח"י ומזינים, ומדדים פיסיולוגיים של הרקמה הצמחית (ריכוז פיגמנטים צמחיים, דליפת ממברנות ותכולת מים יחסית ברקמה).

תוצאות עיקריות. טיפולי הדישון ותדירות ההשקיה לא השפיעו על גודל הנוף וכמות היבול. כמות היבול שהתקבלה ברמות דישון של 40, 70 ו- 100 ח"מ ובאחוז אמון בטווח של 10-30% הייתה דומה ולכן הכמות המיושמת בשדה עשויה להיות גבוהה מהנדרש. עליה באחוז האמון המיושם בדשן מ% 10 ל 30% הקטינה את מידת הנגיעות בארויניה, אולם העלתה מעט את מידת הנזקים לקצות העלים.

מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות. 1. רמת דישון של 40-70 ח"מ חנקן בתמיסת ההדשיה מספקת לקבלת כמות יבול מיטבית בתנאי הגידול שנבחנו בניסוי. 2. ביישום של 30% אמון בהשוואה ל- 10% ניכרים מעט יותר נזקי קצות עלים אולם פחות נגיעות בארויניה. מידת הנגיעות בארויניה בשנה זו הייתה נמוכה יחסית ולכן מומלץ לבחון שנית טיפולים נבחרים לצורך אימות התוצאות בתנאי נגיעות גבוהה יותר.

תוכן העניינים

	עמוד
מבוא	3
פרוט עיקרי הניסויים	
- תאור הניסוי (חמרים ושיטות)	**3**
- תוצאות ודיון	5
ביבליוגרפיה	16
סיכום עם שאלות מנחות	17

מבוא

נץ החלב, דוביום (*Ornithogalum dubium*) הפך בשנים האחרונות למרכיב חשוב בסל פרחי הייצוא מישראל וכבש נישה ייחודית בתעשיית הגאופיטים העולמית. שטחי הגידול משתרעים מהבשור ועד הגליל והגידול ברובו בעציצים או בקרקע חולית. מגדלי ישראל מייצאים כ-80% מכלל פרחי נץ החלב דוביום המשווקים באירופה, ובנוסף לפרח קטוף, התפתח הגידול גם לתחום העציצים הפורחים, וחומר ריבוי המשווק כבצלים להפרחה ועיצוץ בחו״ל.

שתי תופעות פוגעות באיכות הגידול וגורמות לפחיתה ביבולים - נזקים פיסיולוגיים לקצות עלים, ונגיעות בחיידק *Pectobacterium carotovorum* (לשעבר ארויניה קרוטובורה, להלן- ארויניה). נזקי ארויניה עלולים להגיע ל-30% מהיבול בפרח קטוף, ובעציצים אף יותר. בשנים האחרונות אנחנו עדים לתופעות של צריבות בקצות העלים בחלק מהזנים. קצות העלים מתייבשים במהלך הגידול לקראת הפריחה ובזמן היוצרות השיבולת, ובנוסף ניכרת פגיעה בחפים צעירים של השיבולת. הנזק אשר פוגע באיכות היבול בגידול לפרח קטוף, חמור במיוחד בגידול במצע מנותק, בעציצים פורחים. תלונות על צריבות עלים מתקבלות מקניינים בחו״ל, כמו גם ממשתלות שרכשו את הבצלים בארץ למטרות עיצוץ. הפגיעות בעלווה גורמות לנזקים כלכליים חמורים למגדלי העציצים הפורחים והפרחים. הגורמים לנזקי העלים אינם ידועים אך משויכים להזנה. התמודדות עם ארויניה מבוססת בעיקר על אגרוטכניקה מניעתית הכוללת מאמצים ליצור חומר ריבוי נקי במשתלות (כולל ריבוי מתרביות רקמה); ובמערכות הגידול מניעה באמצעים אגרוטכניים, ביניהם חיטויי הקרקע או מצעי הגידול, הקפדה על השקיה בטפטוף, הרחקה של חומר צמחי נגוע, סניטציה במהלך הקטיף, ייבוש וחשיפה של המצע לשמש בתום עונת הגידול. הדברה כימית איננה יעילה כנגד ארויניה (2) ונעשה שימוש בארץ בריסוסים בחומרים אנטי בקטריאלים, בהצלחה חלקית בלבד. למרות ההקפדה על אגרוטכניקת המניעה, % הנגיעות ומידת הנזק גדולים ואחוזי הפחת עקב הנזק מארויניה מגיעים עד ל- 30% מכלל היבול. במציאות הנוכחית של קשיים במניעת תחלואה וקשיים בהדברת המחלה, פונים החקלאים בארץ כמו גם בעולם, לניצול אמצעים אגרוטכניים ולהתמודדות עם המצב (7).

חיידקי הארויניה ידועים ברגישותם לערכי pH נמוכים (8). ניתן לנצל רגישות זו במערכות חקלאיות להפחתת תחלואה. במערכות חקלאיות אחרות דווח כי הזנה חנקנית עתירת אמון, המשרה ירידת pH בריזוספרה, יעילה לצמצום התחלואה (7) . בגידול קאלה בארץ מיושם בהצלחה ממשק המבוסס על דישון אמוניאקלי ורמת חנקן נמוכה (10). פיתוח ממשק דישון המעודד החמצת הקרקע הוא בעל פוטנציאל להפחתת הנגיעות גם בדוביום בגידול במצעים מנותקים, לייצוא עציצים ולריבוי, ויתכן שגם בגידול בקרקע חולית לפרח קטוף. גם ריכוזי סידן ומגנזיום גבוהים בצמח נקשרו להפחתה בנגיעות, כנראה ע״י דיכוי גנים בחיידק המעורבים בתהליך הפתוגנזה (1, 6); ומניעת עודפי מים מקובלת גם היא כאגרוטכניקה מניעתית (9). מטרת הפרוייקט בשנת המחקר הנוכחית היתה לבחון השפעת 3 גורמים: א. יחסי אמון/חנקה, ב. כמות החנקן המסופקת בדשן ו ג. תדירות ההשקיה, על נגיעות בארויניה ונזקי קצוות עלים. **נבחנו 3 רמות חנקן: 40, 70, ו- 100 ח״מ חנקן בריכוז של 30% אמון, וברמת החנקן של 70 ח״מ נבדקו 3 אחוזי אמון: 10, 20 ו-30% אמון, ובנוסף ברמת החנקן של 70 ח״מ ו- 20% אמון נבחנו 3 תדירויות השקיה.**

פירוט עיקרי הניסויים

תאור הניסוי (חומרים ושיטות)

מקום הניסוי: בחממה בחוות הבשור. *תאריך שתילה*: 18/10/09. מועדי הקטיף: 10/1/2010 – 4/4/2110.
זן: M-6 (אסא). בצלים בגודל 3-4. עומד שתילה: 40 בצלים למטר רץ. בתעלות גידול בפרלייט 2 (1.2) במארזים ברוחב 40 ס"מ וגובה 30 ס"מ. *מבנה הניסוי*: בלוקים באקראי, 5 חזרות. כל חזרה באורך 8 מטר. *הדשיה:* שתי שלוחות טפטוף לערוגה. הדשייה מתמיסות סופיות. ההשקיה בוצעה בתדירות של פעם ביומיים, פעם ביום, או פעמיים ביום, על בסיס 3 מ^3/דונם/יום. הרכב הדשנים בטיפולים השונים מצורף בנספח מפר 1. *האגרוטכניקה*: כמקובל בחלקות המסחריות.

<u>טבלא 1</u>: *פרוט הטיפולים*

טיפול	חנקן (ח"מ)	אמון (%)	תדירות השקיה
A	40	20	פעם ביום
B	70	20	פעם ביום
C	100	20	פעם ביום
D	70	10	פעם ביום
E	70	30	פעם ביום
F	70	20	פעם ביומיים
G	70	20	פעמיים ביום

<u>הבדיקות שהתבצעו</u>

א. <u>מעקב אחר ריכוזי יסודות הזנה</u> (מיקרו ומקרואלמנטים) ומלחים (נתרן וכלור) בתמיסת ההשקיה ובנזק במהלך עונת הגידול. האנליזות התבצעו כפי שמתואר ב (3). תוצאות האנליזות שימשו לבקרת הטיפולים במהלך הניסוי, והדגימו כי ריכוזי המטרה למקרו ומיקרואלמנטים הושגו ונשמרו במהלך הניסוי (תוצאת לא מוצגות).

ב. <u>קטיף יבול ואיפיונו</u> לקבוצות איכות, כפי שמקובל בשיווק המסחרי.

ג. <u>דיגומי צמחים לבדיקת ביומסה טרייה ויבשה, ותכולת מינרלים</u> (מיקרו ומקרואלמנטים, ומלחים). השיטות האנליטיות התבצעו כפי שמתואר ב (3).

ד. <u>אפיון פיסיולוגי של הרקמה הצמחית</u>: הפרמטרים שנבדקו כללו את ריכוז הפיגמנטים כלורופיל a, כלורופיל b, וקרטנואידים (ע"פ 4); ודליפת ממברנות, תכולת מים יחסית ופוטנציאל אוסמוטי ברקמת העלווה (ע"פ 5).

ה. <u>נוכחות חיידקי פקטובקטריום במי נקז</u>: מי נקז נדגמו בחמש נקודות זמן מתחילת ינואר ועד אמצע אפריל לנוכחות חיידקי פקטובקטריום. הדגימות נלקחו מכל אחד משבעת הטיפולים בשתי חזרות של 100 מ"ל. המים נדגמו בכוסות סטריליות, הועברו למבחנות 50 מ"ל וסורכזו ב- 3000 סל"ד. לאחר הריכוז הורחפו ב- 1 מ"ל ונזרעו לצלחות המכילות מצע CVP המאפשר ספירה כמותית של חיידקים פקטינוליטיים. כמות החיידקים חושבה ל- 100 מ"ל מי נקז. בהתאם לכיול שבוצע באמצעות זריעות מהולים בשני תאריכי הספירה האחרונים, נזרעו חיידקים גם ממיהול 10X.

ו. <u>נוכחות חיידקי פקטובקטריום ברקמה הצמחית</u>: נלקחו דוגמאות עלים ובצלים מכל אחד מהטיפולים. לכל דגימה נלקחו 0.2 ג' רקמת עלה או בצל מחמישה צמחים שונים הרקמות נאספו לפול של 1 ג', הניסוי בוצע בחמש חזרות. הרקמה נכתשה ב- 10 מ"ל מי ברז סטריליים והודגרה למשך שעתיים באינקובאטור ב- 28 מ"צ. מתוך התרחיף נזרעו 100 מיקרוליטר לצלחות CVP ונערכה ספירת מושבות פקטינוליטיות במצע. חישוב החיידקים התבצע ל- 1 ג' רקמה צמחית.

ז. <u>אישור נוכחות פקטובקריום באמצעות PCR</u>: מושבות חיידקים המשוערים כפקטובקטריום נלקחו לאחר זריעה מעלים ובודדו בצלחות CVP נפרדות. מכל אחד מהטיפולים בודדו מספר מושבות ובוצע PCR למושבה בודדת נקייה באמצעות פריימירים ייחודיים לאזור ה- ITS. הדגם שהתקבל הושווה לחיידקי פקטובקטריום מתפו"א ומנע חלב הקיימים באוסף המעבדה.

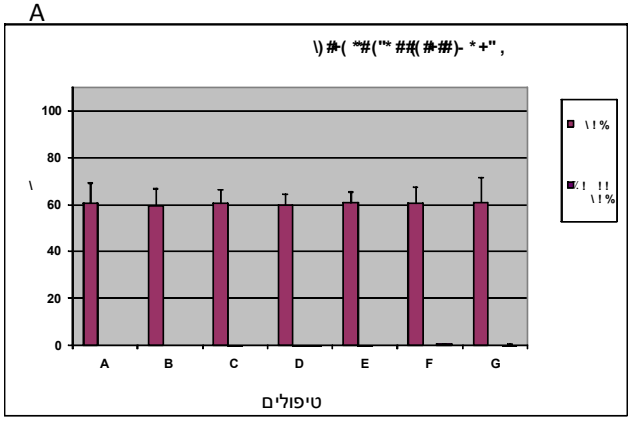
<u>תוצאות ודיון</u>

<u>1. יבול והתפתחות הצמחים</u>

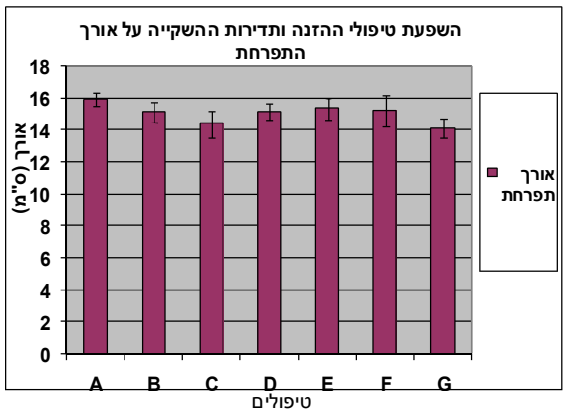
טיפולי הדישון ותדירות ההשקיה לא השפיעו על מספר הפרחים שנוצרו על הצמח, על מספר הפרחים באורך המתאים לשיווק מסחרי (איור 1A), ועל אורך התפרחת (מדד לאיכות לפרח הקטוף) (איור 1 B). אולם אנליזת התפלגות הפרחים לקבוצות אורך העלתה כי עליה ברמת החנקן המסופק לצמח, מעודדת התפתחות עמודי פריחה ארוכים (איור 2 A). ברמת חנקן של 70 ו- 100 ח"מ (טיפול B ו-C) מספר ומשקל הפרחים הארוכים מ- 60 ס"מ היה גבוה באופן מובהק ($p=0.0042$ ו- 0.0012 בהתאמה) מאשר בשאר הטיפולים. מכיוון שלא משווקים פרחים באורך העולה על 60 ס"מ, לעליה זו באורך אין יתרון מסחרי, והחקלאי מקצר פרחים אלו לאורך הרצוי.

לטיפולי הדישון וההשקיה הייתה השפעה מועטת בלבד על התפתחות הצמחים. גודל הבצל, כפי שנמדד בבדיקות הרסניות בסוף עונת הגידול, לא הושפע באופן מובהק מהטיפולים (איור 3 A, B), כמו גם % החומר היבש בנוף (איור 4 A), והמשקל הטרי (איור 4 B) והיבש (איור 4 C). אולם מעקב אחר מספר העלים ואורך העלה הארוך ביותר על הצמח בתקופת הראשונית של הגידול- לפני תחילת הקטיף- הראה כי בעוד קצב הופעת עלים היה אחיד בטיפולים השונים (איור 5), אורך העלה הושפע מרמת החנקן שיושמה בדשן. בטיפולי החנקן הגבוה, 70 ו- 100 ח"מ חנקן, אורך העלה היה גדול יותר באופן מובהק בהשוואה לרמת החנקן של 40 ח"מ. תוצאות אלו מראות כי רמת החנקן של 40 ח"מ חנקן, הייתה מספקת לייצור כמות ואיכות יבול דומה לזו שהתקבלה ביישום 70 ו- 100 ח"מ חנקן.

A

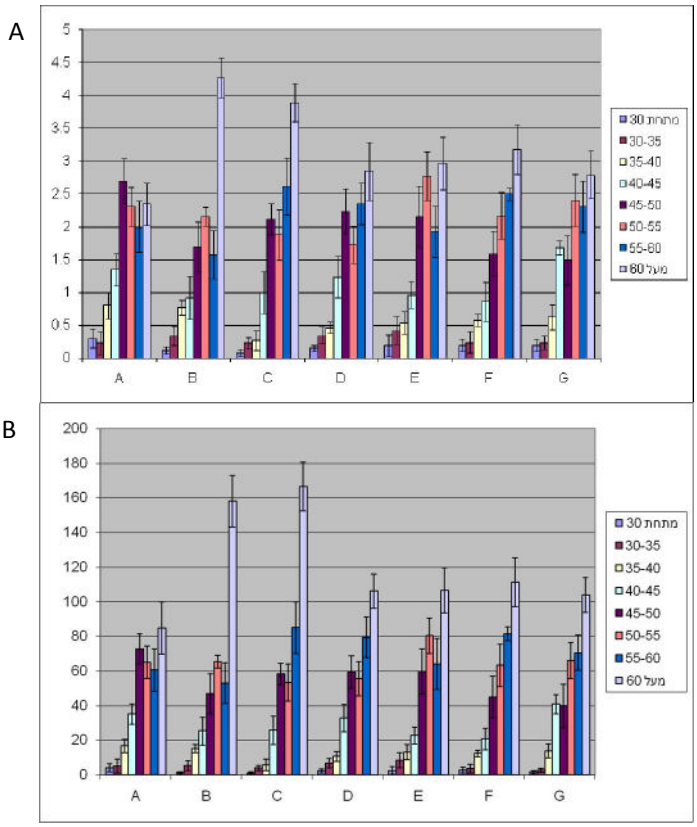


B

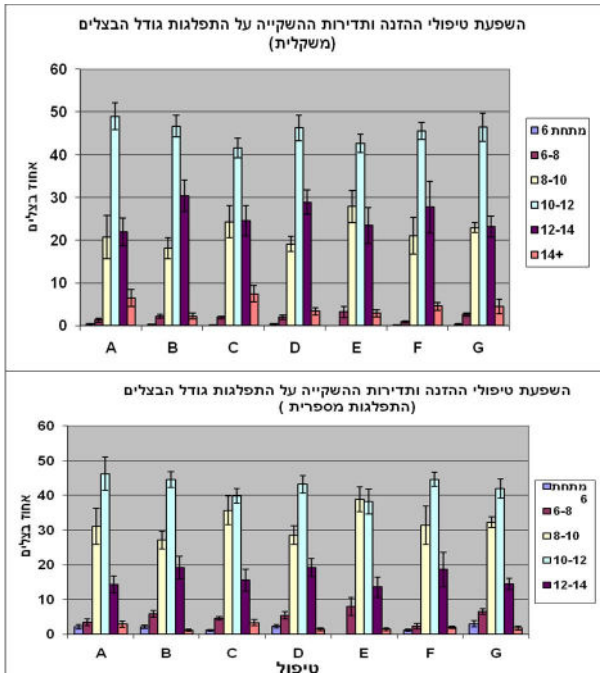


C

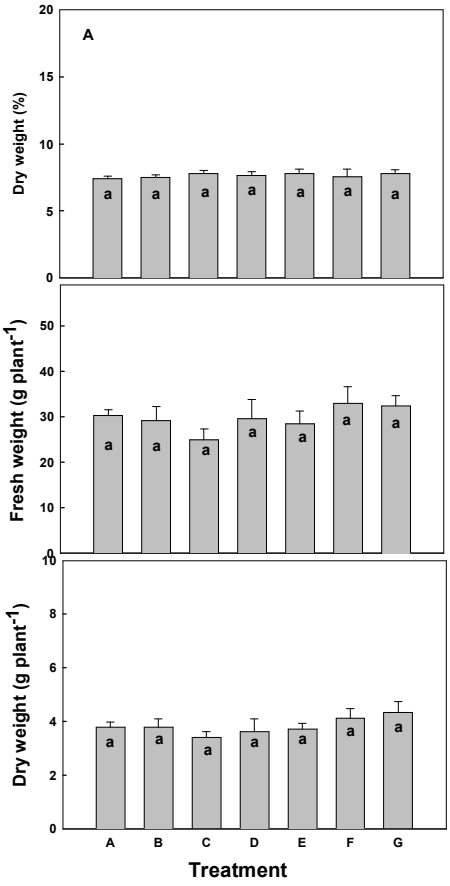
<u>איור 1</u>: השפעת טיפולי ההזנה ותדירות ההשקיה על התפלגות הפרחים שנוצרו ליבול מסחרי ולא מסחרי (קצר מ- 25 ס"מ) (A). ואורך התפרחת המהווה מדד איכות לפרח הקטוף (B). התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות. ע"פ במבחן Tukey honestly significant difference ב $\alpha=0.05$ לא נמצא הבדל מובהק בין ממוצעי הטיפולים עבור אף אחד משני הפרמטרים המוצגים.



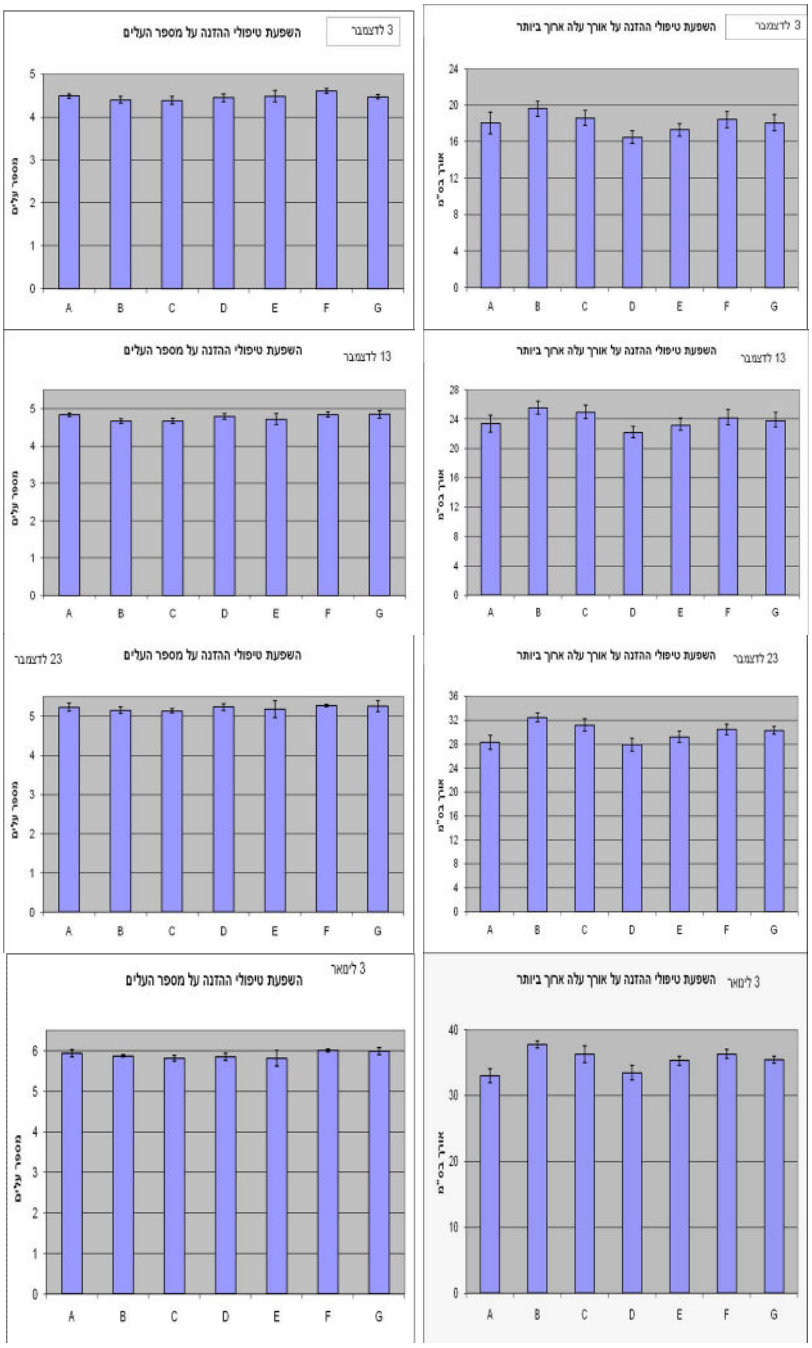
<u>איור 2</u>: השפעת הטיפולים על התפלגות הפרחים הנוצרים לקבוצות אורך. A. התפלגות מספרית. B. התפלגות משקלית. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות. על מנת לא להכביד על הגרף תוצאות הניתוח הסטטיסטי (ע"פ במבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05) מוצגות מילולית בחלק התוצאות ודיון.



<u>איור 3</u>: השפעת הטיפולים על גודל הבצל. A. התפלגות מספרית. B. התפלגות משקלית. קטגוריות הגודל מסמנות קוטר בצל ביחידות של ס"מ. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות, כפי שנמדד בדיקה הרסנית בסוף עונת הגידול. על מנת לא להכביד על הגרף תוצאות הניתוח הסטטיסטי (ע"פ במבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05) מוצגות מילולית בחלק התוצאות ודיון.



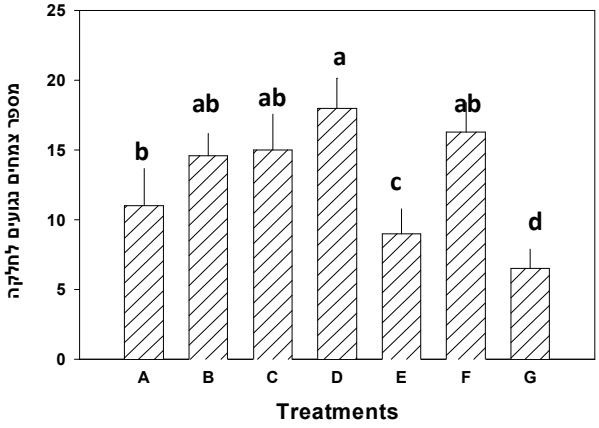
<u>איור 4</u>: השפעת הטיפולים על אחוז חומר יבש בנוף (A); משקל טרי (B), ומשקל יבש (C) של הנוף. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות, כפי שנמדד בדיקה הרסנית בסוף עונת הגידול. אותיות שוות ליד ממוצעי הטיפול מסמנות כי הם אינם נבדלים סטטיסטית ע"פ מבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05.



<u>איור 5</u>: השפעת הטיפולים על התפתחות הנוף בתחילת הגידול.

מספר העלים על הצמח, ואורך העלה הארוך ביותר נמדדו בתאריכים 3 לדצמבר, 13 לדצמבר, 23 לדצמבר, ו- 3 לינואר. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות. תוצאות המבחן הסטטיסטי (Tukey honestly significant difference ב α=0.05) מתוארות מילולית בקטע התוצאות והדיון.

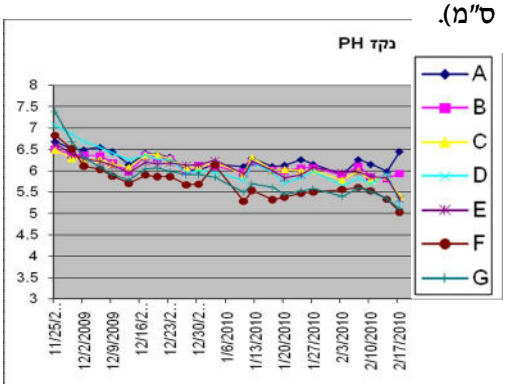
2. נגיעות בארוויניה ונזקי ריקבון רך



<u>איור 6א</u>: השפעת הטיפולים על נגיעות צמחים בארוויניה. נבדק בדיגום הרסני עם סיום הניסוי. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חלקות חזרה לכל טיפול. אותיות שונות מעל לממוצעי הטיפול מסמנות מובהקות סטטיסטית ע"פ במבחן Tukey honestly significant difference ב $\alpha=0.05$.

אחת ממטרות תכנית העבודה בשנת המחקר המוצעת הייתה לבחון באם רמות אמון שונות המיושמות בדשן תשפענה על מידת הנגיעות בארוויניה ע"י השפעתן על החמצת הרויזוספרה. אגרוטכניקה מעין זו ידועה בהשפעתה למניעת נזקים מאירוניה, ומיושמת בארץ ובעולם עבור גידול קלה (2, 9). בהתאם למצופה, התוצאות מדגימות כי מספר הצמחים הנגועים בארוויניה היה נמוך באופן מובהק בטיפול האמון הגבוה (E, 30% אמון) בהשוואה לטיפול האמון הנמוך (D, 10% אמון) (איור 6א). עליה בכמות החנקן המיושמת בדשן 40, 70, 100 ח"מ (בטיפולים A, B, ו- C- עם 20% אמון) משמעה עליה בכמות האמון המיושמת בשדה. גם בטיפולים אלו ניכרה מגמה, אמנם לא מובהקת, של ירידה בנגיעות עם העליה בכמות האמון. תופעות אלו רומזות על הפוטנציאל הטמון באופטימיזציה של הדישון החנקני להקטנת נזקי נגיעות בארוויניה בגידול נץ החלב- דוביום.

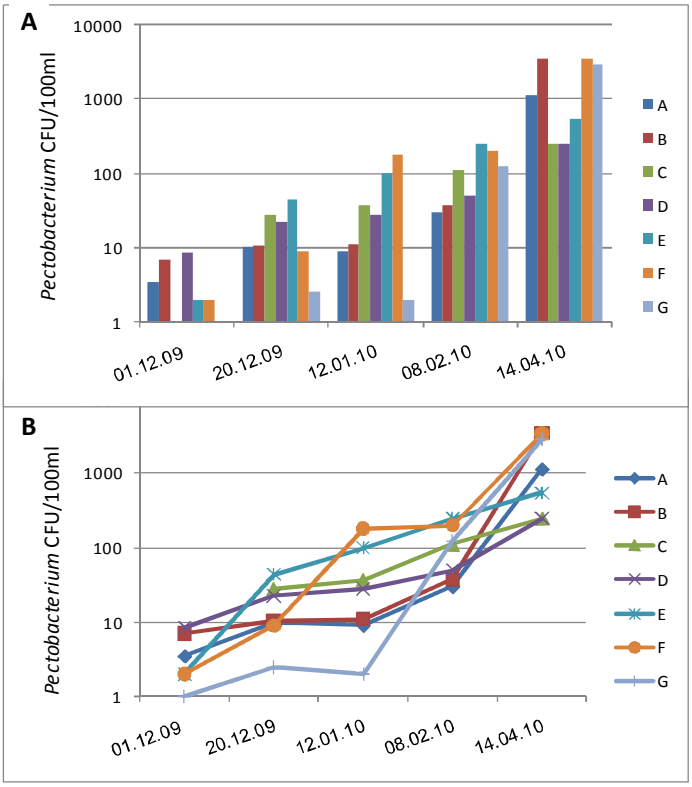
המנעות מעודפי מים, והקטנת תדירות ההשקיה ידועה גם היא ביעילותה להפחתת נזקי ריקבון רך בגידולים רבים. גם מגדלי הדוביום נזהרים ליישם משטר השקיה המתבסס על הימנעות מעודפי מים, וגידול בקרקעות קלות מנוקזות היטב. לכן במבט ראשון מפתיעה התוצאה על פיה הנגיעות הנמוכה ביותר בארוויניה התקבלה דווקא בתנאי תדירות ההשקיה הגבוהה ביותר (טיפול G, איור 6א). יתכן ותדירות ההשקיה הגבוהה חשפה את השורשים לאמון לתמיסת ההשקיה למשכי זמן ארוכים יותר במהלך היממה בהשוואה לתדירויות השקיה נמוכות יותר, ולכן עזרה להקטנת הנזקים, בעוד עודפי מים נמנעו ע"י שימוש במצע הפרלייט וגידול בתעלות גידול גבוהות (בגובה של 30 ס"מ).



תוצאות אנליזות ערכי pH במי הנקז במהלך הגידול, המציגות ערכי pH נמוכים במיוחד בטיפול G , רומזות גם הן כי הנגיעות הנמוכה בטיפול זה יתכן ונגרמה עקב משכי חשיפה ארוכים ל pH נמוך.

<u>איור 6ב</u>: ערכי pH במי הנקז. במהלך הניסוי.

<u>ספירות חיידקי פקטובקטריום במי נקז</u>: תוצאות הספירות של טיפולי הדישון השונים אינן מצביעות על טיפול עדיף מבחינת הנגיעות בחיידק למרות שניכרים הבדלים (גרף 1 A, B). במהלך העונה נצפתה עליה ברורה בנוכחות החיידקים הפקטינוליטיים במים, המצביעה על בניית אוכלוסיה בשטח. למרות שאין בשלב זה תוצאות חד משמעיות, נראה כי ניתן להשתמש בגישה זו כדי למצוא תנאי דישון שיפחיתו את אוכלוסיות חיידקי הריקבון הרך במי הנקז ולפיכך את פוטנציאל ההדבקה הכללי בחלקה. כדי להגיע לנוסחת דישון מתאימה יש לבחון את הנגיעות ובניית האוכלוסייה בתנאי דישון נוספים ואולי בהבדלים יותר חדים בין הטיפולים, במיוחד ברמת האמון. יש חשיבות רבה לבחינת ההשפעה של גורמים נוספים בקרקע כמו pH, קאלצים ועוד. חשוב גם לבצע את האנאליזות של מי הנקז לכל חזרה בנפרד ולא בפול כפי שהתבצע בניסוי זה מפאת המגבלה של זמן ומשאבים. חשוב לציין כי החמצה ע"י ישום ריכוז גבוה של אמון בדשן מתרחשת בריזוספרה, בסמוך לפני השורש, כתוצאה מהפרשת פרוטונים ע"י הצמח בעקבות קליטת האמון. לכן יתכן ונוכחות חיידקי הארויניה בנפח הנקז כולו איננה מייצגת את ה- pH על פני השורש אשר הוא ה pH האפקטיבי למניעת הידבקות.

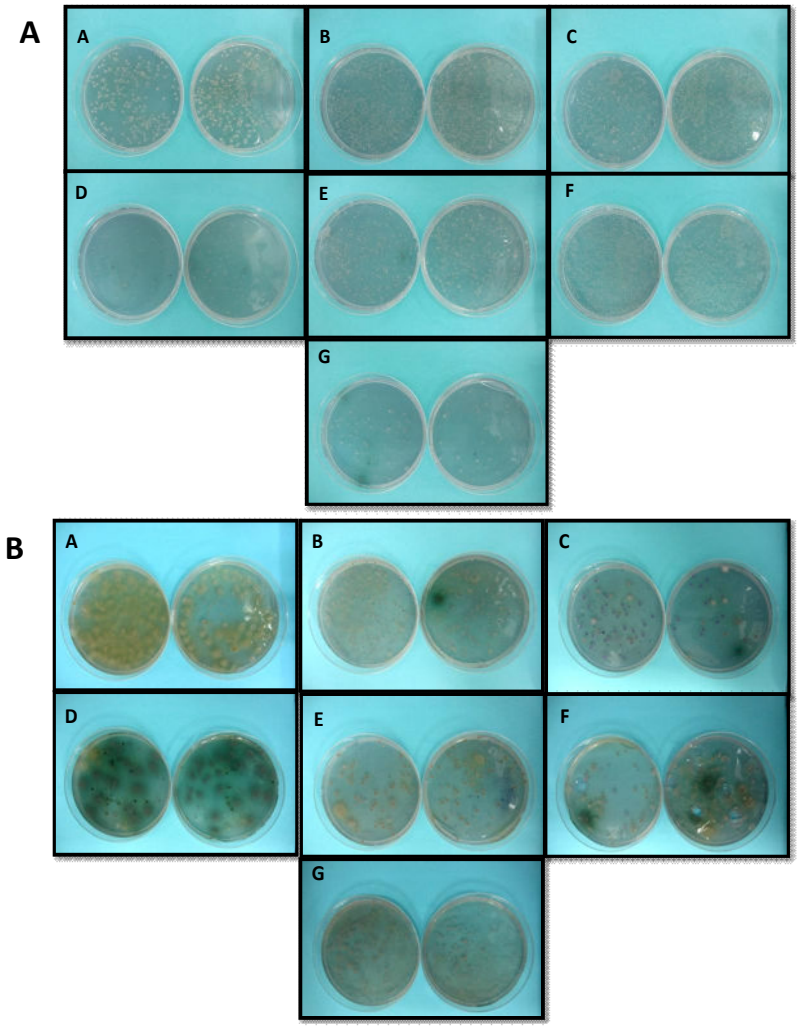


<u>איור 7</u>. נוכחות החיידק פקטובקטריום במי נקז של טיפולי דישון שונים בנץ חלב דוביום. התוצאות מוצגות בעמודות (A) או בקו רציף (B) המאפשר מעקב אחר הגידול באוכלוסיות החיידק, בהתאם לתאריכי הדיגום. התוצאות מציגות ספירות של מושבות פקטינוליות ל- 100 מ"ל מי נקז ומייצגות ממוצע של שתי חזרות.

למרות שלא הצלחנו לייחס את רמות האינוקולום במי הנקז לטיפול דישון מסוים, ניכר כי יש הבדלים בין הטיפולים הן בתהליך ההתבססות ובניית האוכלוסיה בחלקה והן ברמת האיכלוס הסופית של החיידקים במי הנקז (איור 7). ניתן לראות כי ריכוז אמון גבוה אפשר בנייה מוקדמת יחסית של אוכלוסיית הארויניה בשטח (טיפול E). מאידך, קצב בניית האוכלוסיה היה מתון יחסית לטיפולים אחרים וייצג רמת חיידקים

נמוכה יחסית בסוף העונה. ייתכן כי ניתן לזקוף את ההאטה בתהליך בניית האוכלוסיה לתנאי ה- pH שנשמרו נמוכים יחסית בטיפול זה. באופן בלתי צפוי, טיפול תדירות ההשקיה הכפולה (G), הצליח למנוע בנית אוכלוסיה של ארויניה עד אמצע תקופת הניסוי. בהמשך חלה עליה בנוכחות החיידק במי הנקז, אך עליה זו לא באה לידי ביטוי בנגיעות הצמחים.

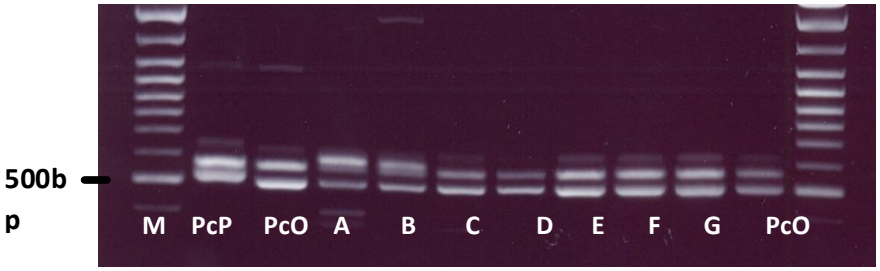
השינויים בהרכב אוכלוסיית החיידקים הכללית (לא רק פקטובקריום) בהשפעת טיפולי הדישון, ניכרים מהבדלים ויזואליים בצלחות הזריעה כפי שניתן לראות בטיפולים השונים בשני תאריכי דיגום, האחד באמצע הניסוי (פברואר) והשני בסופו (אמצע אפריל) (תמונה 1A , B) . ניתן לראות באופן ברור את ההתפתחות של אוכלוסיות חיידקים ייחודיות במהלך התקופה בטיפולים השונים. הרכב אוכלוסיית החיידקים הכללית בעל משמעות גם ליכולת של חיידק פתוגני כזה או אחר לתקוף ולהוביל להתפתחות מחלה. ברור כי הדישון השונה בעל משמעות רבה להרכב המיקרוביאלי של הקרקע.



תמונה 1. צלחות CVP לאחר זריעה במי נקז מהטיפולים השונים באמצע תקופת הניסוי (פברואר) (A) ובסופו (אפריל) (B). הצלחות מייצגות שתי חזרות של איסוף מי נקז מאותו טיפול דישון – הטיפולים A-G. האותיות תואמות את הטיפולים כפי שהוצגו בניסוי.

<u>ספירות חיידקים בריקמה צמחית</u>: תוצאות ספירת החיידקים מהרקמות הצמחיות נערכו בשלב מוקדם מידי בעונה ולכן חלק ניכר מהדוגמאות היו נקיות, למרות נוכחות של חיידקים במי הנקז. בשלב זה עדיין לא נצפתה נגיעות בשטח והספירות היו מתחת לסף הדטקציה.

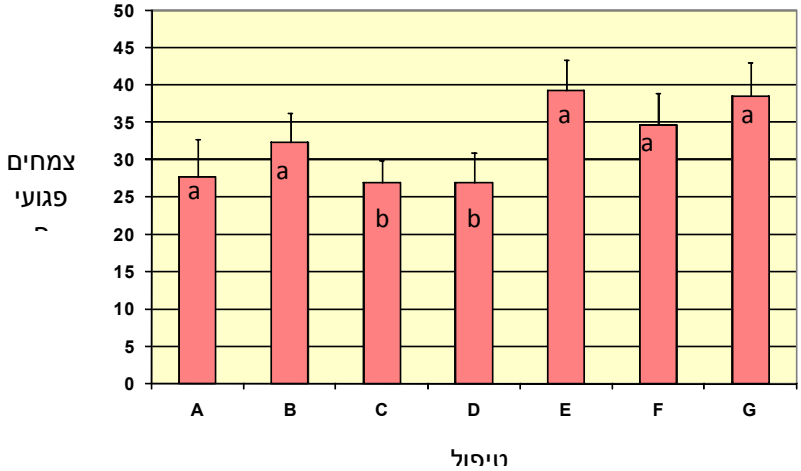
<u>אישור לנוכחות פקטובקטריום</u>: כדי לאשר את נוכחות חיידקי הפקטובקטריום בריקמה הצמחית, נלקחה מושבת חיידקים מכל אחת מהצלחות בהן נצפתה פעילות פקטינוליטית לאחר בידוד מרקמות הצמח. מהמושבה המבודדת גודלו חיידקים במשך לילה ולאחר מכן הופק מהם DNA כרומוסומלי. אנאליזת PCR של מקטע ה- ITS החיידקי הראתה כי אכן מדובר בחייידקי פקטובקטריום קרוטובורום P. carotovorum מזן דומה לזה שכבר בודד בעבר מנץ חלב. התבדיד מתפו"א מראה דגם ITS מעט שונה מזה שבודד מנץ החלב.



תמונה 2. מקטעי ITS שהתקבלו מחיידקים שבודדו מקטעי עלים של צמחים אשר דושנו ברמות דשן שונות (טיפולים A - G). PcP תבדיד Pectobcterium אשר בודד מתפו"א, PcO תבדיד Pectobacterium אשר בודד מנץ חלב.

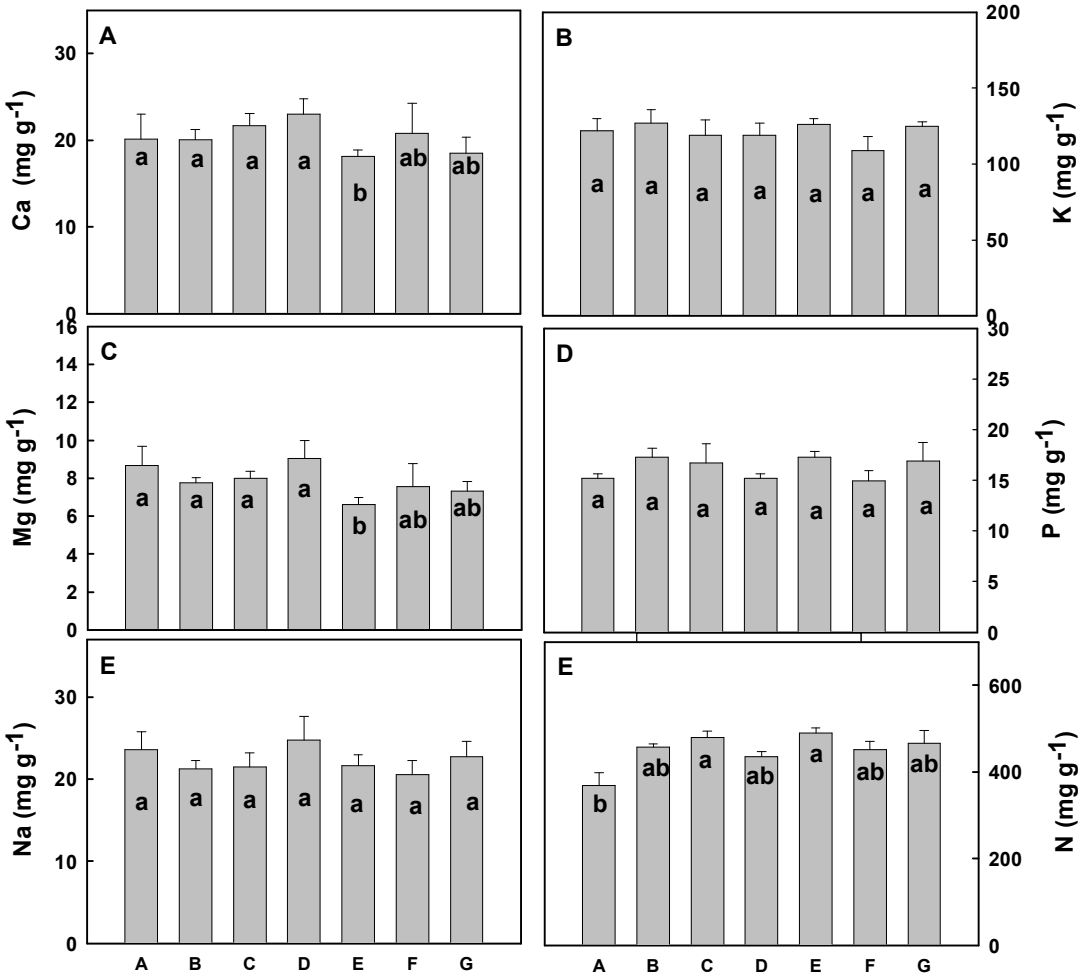
<u>3. נזקים לקצוות עלים</u>

צריבות בקצות העלים בגידול נץ החלב-דוביום פוגעות באיכות היבול בגידול לפרח קטוף, והנזק חמור במיוחד בגידול במצע מנותק לעציצים פורחים. הסיבה לנזק אינה ידועה אך משויכת להזנה. על מנת לבחון באם כמות החנקן המסופקת לדשן, או אחוז האמון בדשן משפיעים על התופעה נערך מעקב אחר נזקים לקצות עלים במהלך הגידול, ובמקביל נבחן ההרכב הכימי של העלים ע"מ לזהות באם קימת קורלציה בין מידת הנזק וריכוז יסוד הזנה כלשהוא ברקמה הצמחית.



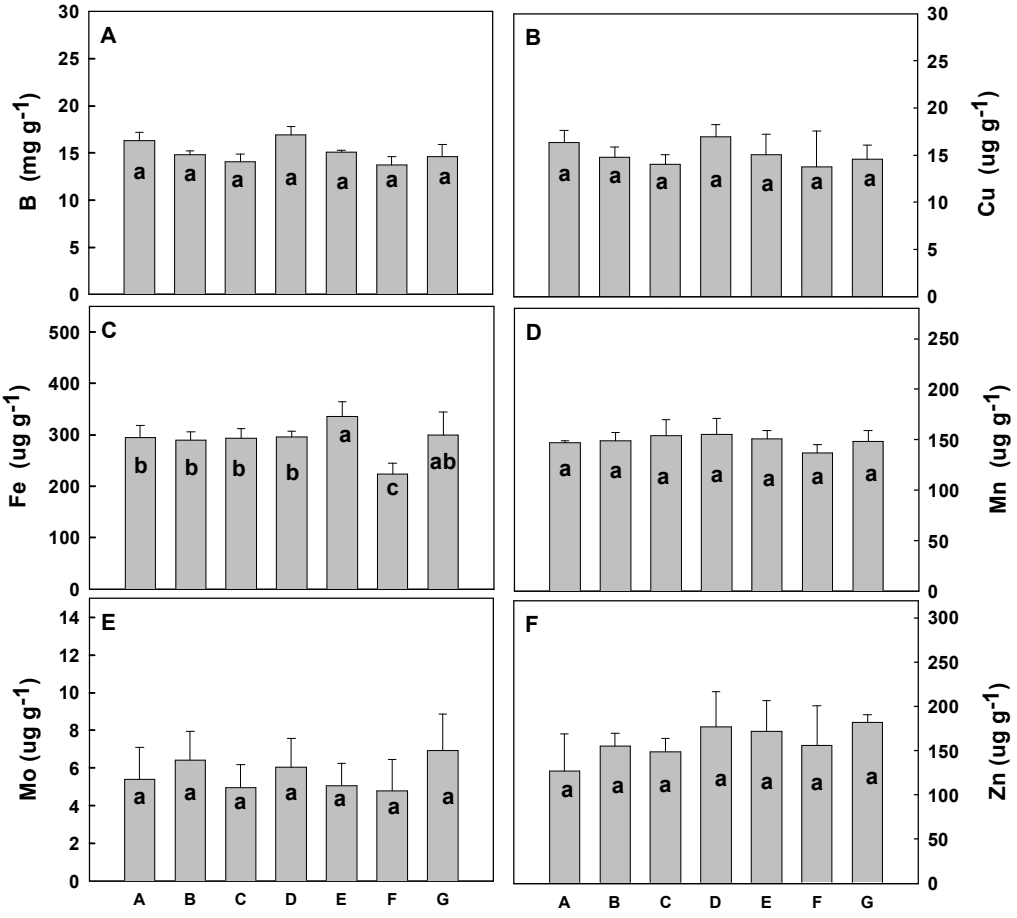
<u>איור 8</u>: אחוז הצמחים בעלי עלים פגועים בקצותיהם. התוצאות הן ממוצע וסטיית תקן של 4-5 חזרות. אותיות שונות ליד ממוצעי הטיפול מסמנות כי הם מובהקים סטטיסטית ע"פ במבחן Tukey honestly significant difference ב $\alpha=0.05$.

אחוז הצמחים בהם נמצאו עלים פגועים היה גבוה באופן מובהק בטיפול בו יושם אחוז אמון גבוה (30% טיפול E) בהשוואה לטיפול האמון הנמוך (10% טיפול D). אולם ההבדל לא היה גדול, 27% בהשוואה ל- 39% צמחים פגועים בטיפולים D ו- E, בהתאמה. רמה נמוכה דומה של % צמחים פגוע התקבלה גם בטיפול C אשר בו יושמה רמת החנקן הגבוהה יותר (100 ח״מ חנקן). ישום ריכוז אמון גבוה עשוי להשפיע על pH הריזוספרה ומכאן גם על קליטת מזינים לצמח וריכוזם ברקמה הצמחית. במיוחד, קליטת מיקרואלמנטים עשויה להיות משפעת כמו גם קליטת יונים חיוביים כדגמת סידן עלולה לפחות עקב קליטה מגברת של קטיון חיובי (אמון) או תחרות בין אמון לסידן לקליטה בטרנספורטרים בשורש.



<u>איור 9</u>: השפעת הטיפולים על ריכוז סידן (A), אשלגן (B), מגנזיום (C), זרחן (D), ונתרן (E) בעלווה. התוצאות הן ממוצע של 4-5 חזרות ± SE, מדיגום בתאריך 15.3.2010. הטיפולים מפורטים בטבלא 1. אותיות שונות מעל לעמודות הממוצעים מסמנות מובהקות במבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05.

<u>מאנליזת ריכוזי מזינים בחלקי הצמח השונים</u> נמצא כי ריכוז האשלגן והזרחן בעלים לא הושפעה מהטיפולים, אולם ניכרה השפעה מובהקת על ריכוז הסידן והמגנזיום (איור 9). ריכוז הסידן והמגנזיום בטיפול E (30% אמון) הייתה נמוכה מאשר בטיפולים D ו-B 10% ו- 20% אמון בהתאמה). מידת הירידה בריכוז יסודות אלו בטיפול E, למרות היותה מבהקת, הייתה קטנה, והריכוז שהתקבל היה מעל לסף הידוע למחסור והופעת נזקים ברקמה למגוון גידולים. תוצאות אנליזות דליפת מומסים מהממברנה הצמחית (איור 12) מראות גם הן כי ריכוז הסידן הנמוך שהתקבל בטיפול E כנראה ולא גרם נזק לרקמה מכיוון שמידת הדליפה הייתה דומה בכל הטיפולים. סידן משחק תפקיד בשמירת יציבות הממברנה הביולוגית. לכן, אילו ריכוז הסידן שהתקבל בטיפול E היה בטווח המחסור, צפוי כי הדבר היה מתבטא בעליה בדליפת מומסים מהרקמה. גם ריכוז הפיגמנטים הצמחיים (כלורופיל a , כלורופיל b, וקרוטנואידים\ איור 11), אשר היה זהה בטיפולים השונים, רומז לכך כי הרקמה הצמחית לא נמצאה בעקה.



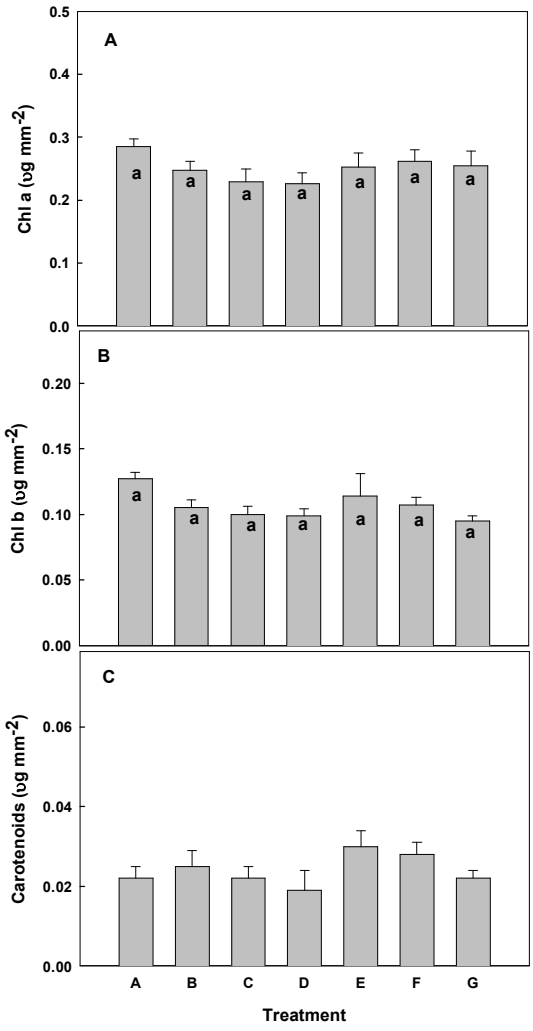
<u>איור 10</u>: השפעת הטיפולים על ריכוז בורון (A), נחושת (B), ברזל (C), מנגן (D), מוליבדן (E) ואבץ (F) בעלווה. התוצאות הן ממוצע של 4-5 חזרות ± SE, מדיגום בתאריך 15.3.2010. הטיפולים מפורטים בטבלא 1. אותיות שונות מעל לעמודות הממוצעים מסמנות מובהקות במבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05.

ריכוז סידן גבוה ידוע בהשפעתו להקטנת נגיעות ונזקי ארויניה במספר מערכות צמחיות (1, 6). בפרויקט הנוכחי, ירידה ברמת הסידן ברקמה בטיפול E (איור 5 E) חפפה דווקא רמת נגיעות פחותה בארויניה (איור 8). העובדה כי הירידה בסידן לא לוותה בנזק רקמתי (כפי שבא לידי ביטוי מאנליזת דליפת ממוסים מהממברנה) נראה כי שתי תופעות אלו בטיפול E היו בלתי תלויות.

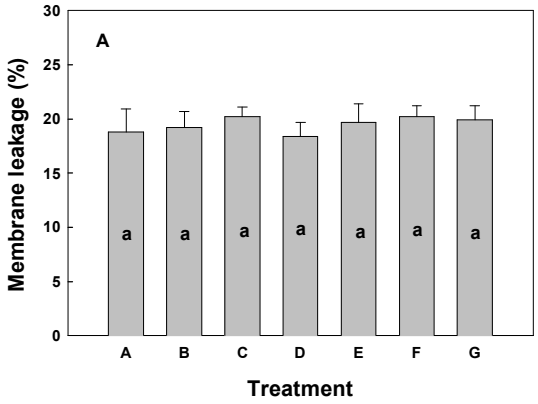
לגבי נזקי קצות עלים, טיפול E התאפיין ב % גבוה במיוחד של נזקים לקצות עלים (איור 8). למרות שבטיפול זה רמת הסידן היתה נמוכה מאשר בטיפולים אחרים נראה כי נזקי קצות העלים אשר תועדו בפרויקט אינם שייכים להזנה בסידן. זאת משתי סיבות: א. המידה הקטנה של ירידה בריכוז הסידן ברקמה, ב. העובדה כי% דומה של צמחים פגועים תועד גם בטיפול G ללא ירידה בריכוז סידן.

לא היה גם קשר ישיר בין כמות החנקן אשר יושמה בדשן ומידת נזקי קצות העלים. ריכוז החנקן הנמוך ביותר ברקמה הצמחית התקבל בטיפול A אשר קיבל את כמות החנקן הנמוכה ביותר (40 ח"מ חנקן).

נזקי קצות עלים משויכים תדיר למצב הזנתי של הרקמה במיקרו אלמנטים. ריכוזי המיקרואלמנטים בורון, נחושת, מנגן, אבץ ומוליבדן בעלווה היו דומים בכל הטיפולים (איור 10). בסקירה הכימית הראשונית שבוצעה השנה אנליזות המינרלים בוצעו לכל רקמת העלה. מכיוון שהנזקים מופיעים תחילה בקצות העלה יש מקום לבצע בהמשך, גם בדיקה מרחבית של התפלגות ריכוז ברזל לאורך העלה בקורלציה למידת הנזק על מנת לקבל מידע לגבי מעורבות אפשרית של ברזל בתהליך.



<u>איור 11</u> השפעת הטיפולים על ריכוז כלורופיל a (A), כלורופיל b (B), וקרוטנואידים (C) בעלווה. התוצאות הן ממוצע של 5 חזרות ± SE, מדיגום בתאריך 15.3.2010. הטיפולים מפורטים בטבלא 1. אותיות שונות מעל לעמודות הממוצעים מסמנות מובהקות במבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05.



<u>איור 12</u> השפעת הטיפולים על דליפת מומסים מהממברנה הביולוגית. התוצאות הן ממוצע של 5 חזרות ± SE, מדיגום בתאריך 15.3.2010. הטיפולים מפורטים בטבלא 1. אותיות שוות מעל לעמודות הממוצעים מסמנות שהממוצעים אינם נבדלים באופן מבהק ע"פ מבחן Tukey honestly significant difference ב α=0.05.

לסיכום. טיפולי הדישון ותדירות ההשקיה לא השפיעו על גודל הנוף וכמות היבול. כמות היבול שהתקבלה ברמות דישון של 40, 70 ו- 100 ח"מ ובאחוז אמון בטווח של 10-30% הייתה דומה ורומזת לכך כי הכמות המיושמת בשדה עשויה להיות גבוה מהנדרש. עליה באחוז האמון המיושם בדשן מ 10% ל 30% הקטינה את מידת הנגיעות בארויניה, אולם העלתה את מידת הנזקים לקצות העלים. מידת הנגיעות בארויניה בשנה זו הייתה יחסית נמוכה ולכן מומלץ לבחון שנית טיפולים נבחרים מהניסוי לצורך אימות התוצאות בתנאי נגיעות גבוהים יותר.

ביבליוגרפיה

1. Bain, R.A., Millard, P., Perombelon, M.C.M. 1996. The resistance of potato plants to *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in relation to their calcium and magnesium content. Potato Research. 39: 185-193.
2. Beckman, P., Lukens, T. 1997. Simple steps for pot calla success. GrowerTalks 60: 49, 54.
3. Bernstein, N., Ioffe, Bruner, M., Nishri, Y., Luria, G., Dori, I., Matan., E, Philosoph-Hadas, S., Umiel, N., Hagiladi, A. 2005. Effects of supplied nitrogen form and quantity on growth and postharvest quality of *Ranunculus asiaticus* flowers. HortSci. 40: 1879-1886.
4. Bernstein, N. Kravchik, M., Dudai, N. 2009. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*), in relation to alterations of morphological development. Ann Appl Biol 156:167-177.
5. Bernstein, N., Shoresh, M., Xu, Y., Huang, B. 2010. Involvement of the plant antioxidative response in the differential growth sensitivity to salinity of leaves vs. roots during cell development. Free Radicals Biology and Medicine. In Press.
6. Flego, D., Pirhonen, M., Saarilahti, H., Palva, T., Palva, T.E. 1997. Control of virulence gene expression by plant calcium in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. Molecular Microbiology 25: 831–838.
7. Labuschagne, L. 2007. Diversification strategy encounters Erwinia. Floraculture International. October. p 33-35.
8. Liao, C.H., Shollengerger, L.M. 2004. Enumeration, resuscitation and infectivity of the sublethally injured Erwinia cells induced by mild acid treatment. Phytopathology 94:76-81
9. Wright, P.J., Burge, G.K, 2000. Irrigation, sawdust mulch, and Enhance (R) biocide affects soft rot incidence, and flower and tuber production of calla. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 28: 225–231.
10. ויצמן ש. לוריא ג. 007א. המלצות לגידול קאלה אתיופיקה. כנס מגדלי קאלות. חוברת סיכום עונה ע, 1-5. שה״מ.

נספח מס. 1

טבלא 1: *הרכב הדשנים בטיפולים השונים (*גרם/ סמ"ק דשן ל- קו"ב מים)

טיפול	A	B, E, G,	C	D	E
חנקן (ח"מ)	40	70	100	70	70
% אמון	20	20	20	10	30
שם הדשן	גרם/סמ"ק לקו"ב מים				
אמון חנקתי	60	100	140	50	150
חומצה זרחתית	50	50	50	50	50
אשלגן חנקתי	200	270	270	270	230
אוראה		20	60	50	
אשלגן כלורי	50				30
קורטין רגיל	100	100	100	100	100

<u>סיכום עם שאלות מנחות</u>

נא להתייחס ל כל השאלות בקצרה ולעניין , ב -3 עד 4 שורות לכל שאלה

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

מטרות המחקר.

1. . התאמת משטר הזנה חנקנית (יחס אמון/ניטרט וכמות חנקן) לכמות ואיכות יבול מיטבית, והפחתת נזקי עלווה. 2. בדיקת השפעת אחוז האמון בדשן ותדירות ההשקיה על הנגיעות בריקבון רך.

עיקרי הניסויים והתוצאות.

בניסוי שנערך בחוות הבשור, בחממה נבחנו 7 ממשקי הדשיה שונים להשפעתם על הגידול, היבול ונגיעות בריקבון רך בנץ החלב-דוביום, זן "M-6". נבחנו 3 רמות חנקן : 40, 70, ו- 100 ח"מ חנקן בריכוז של 30% אמון, ברמת החנקן של 70 ח"מ נבדקו 3 אחוזי אמון: 10, 20 ו- 30% אמון, ובנוסף ברמת החנקן של 70 ח"מ ו- 20% אמון נבחנו 3 תדירויות השקיה (השקיה משקית, השקיה בתדירות כפולה, ובחצי תדירות). טיפולי הדישון ותדירות ההשקיה לא השפיעו על גודל הנוף וכמות היבול. כמות היבול שהתקבלה ברמות דישון של 40, 70 ו- 100 ח"מ ובאחוז אמון בטווח של 10-30% הייתה דומה ורומזת לכך כי הכמות המיושמת בשדה עשויה להיות גבוהה מהנדרש. עליה באחוז האמון המיושם בדשן מ 10% ל 30% הקטינה את מידת הנגיעות בארוניה, אולם העלתה את מידת הנזקים לקצות העלים.

מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.

1. רמת דישון של 70-40 ח"מ חנקן בתמיסת ההדשיה מספקת לקבלת כמות יבול מיטבית בתנאי הגידול שנבחנו בניסוי. 2. ביישום של 30% אמון בהשוואה ל- 10% ניכרים יותר נזקי קצות עלים אולם פחות נגיעות בארוניה. מידת הנגיעות בארוניה בשנה זו הייתה יחסית נמוכה ולכן מומלץ לבחון שנית טיפולים נבחרים לצורך אימות התוצאות בתנאי נגיעות גבוהים יותר.

הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח.

ביום פתוח בחוות לכיש הוצגה חלקת הניסוי לחקלאים.

פרסום הדו"ח.

אני ממליץ לפרסם את הדוח:

- **ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)**