



טיפול מיקרוביאלי ליצירת ספרסיביות לרקבון הכתר בעגבנייה 2024

חוקרים שותפים: טל אוגד, מו"פ דרום, חוקר ירקות. יואל מסיקה, מו"פ דרום, חוקר הגנת הצומח. טלי אילני, מו"פ דרום, חוקרת קרקע ומים. חגי רענן, מנהל המחקר החקלאי – גילת, ניסויים מבוקרים וכימות מיקרוביולוגיה כללית בקרקע. עומר פרנקל, חוקר במנהל המחקר החקלאי וולקני ייעוץ, כימות וזיהוי פתוגן, מקור אילוח.



תקציר

מחלת רקבון הכתר בעגבנייה (*Fusarium Crown and Root Rot*) הנגרמת על ידי *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici* מהווה מחלה שכיחה בחבל הבשור שגורמת לנבילה והתמוטטות של שתילי עגבניות וצמחי עגבנייה בוגרים. המחלה שכיחה במהלך גידול בעונות חורף ואביב ועבודות שנעשו בעבר הראו ייתכנות של הדברה ביולוגית על ידי נוכחות של מיקרואורגניזמים אנטגוניסטים בקרקע (1). עבודה זאת בוחנת טיפולי קרקע של תכשירי מיקרואורגניזמים מועילים כנגד מחלת רקבון הכתר. צמחי עגבנייה גודלו באדמה מקומית בעציצים, האדמה עברה אילוח במחלת רקבון הכתר ובהמשך טיפול בתכשירים מיקרוביאליים מסחריים קיימים. נמצאה השפעה של חלק מהתכשירים כנגד מחלת רקבון הכתר.

רקע קצר ותיאור הבעיה

היקף גידול העגבניות בישראל שאינן לתעשייה היינו כ-29,000 דונם מתוכם כ-57% מגודלים בחבל הבשור בבתי צמיחה הכוללים בתי רשת וחממות. מגדלי העגבנייה משתמשים בבתי צמיחה במחזורי גידול עוקבים (מונוקולטורה) וכתוצאה נוצרות מחלות קרקע הכוללות בין היתר מחלת רקבון הכתר. מחלת רקבון הכתר (*Fusarium Crown and Root Rot*) בעגבנייה נגרמת על ידי הפטרייה *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici* (1). בחבל הבשור מחלת רקבון הכתר שכיחה במהלך החורף והאביב וגורמת לנזקים כלכליים למגדלי האזור כתוצאה מנבילת שתילים והתמוטטות צמחים בוגרים. ההתמודדות עם מחלת רקבון הכתר נעשית על ידי שימוש בכנות, זנים עמידים, עיבודי קרקע, מחזור זרעים וחיטוי קרקע שמייקרים את עלות הגידול. שימוש בטיפולי קרקע מיקרוביאליים יכול לאפשר כלי נוסף בהתמודדות עם המחלה (2,3) וצמצום נזקים כלכליים. טיפולים מיקרוביאליים לקרקע ניתן ליישם בצורה קלה ומהירה על ידי הזרמה שלהם במערכת הטפטוף ובנוסף יש כיום מספר הולך וגדל של תכשירים מסחריים בשוק. השימוש בתכשירים אלה יכול להתבצע בשילוב של סוגי קומפוסט שונים שגם להם ישנה השפעה על המיקרוביולוגיה של הקרקע. עבודות שנעשו בעבר הראו את הייתכנות של טיפולי קרקע מיקרוביאליים בהורדת רמת המחלה של רקבון הכתר (1,2,3). לכן נדרשת עבודה עם תכשירים הקיימים בשוק ישראל תחת תנאי גידול מקומיים כדי לפתח פרוטוקול טיפול כנגד המחלה בגידול מסחרי של עגבנייה בחבל הבשור.

מטרות המחקר

מטרה ראשית: מציאת שילוב של תכשירים מיקרוביאליים לטיפול קרקע כנגד מחלת רקבון הכתר בעגבנייה בחבל הבשור.

מטרה משנית: הבנה טובה יותר של אופן הפעולה של טיפולי קרקע מיקרוביאליים כנגד מחלת רקבון הכתר והשפעתה על האוכלוסייה המיקרוביאלית בקרקע בגידול עגבנייה בחבל הבשור.

מהלך המחקר ושיטות עבודה

אופן הגידול:

הגידול נעשה במהלך עונת סתיו-חורף והסתיים באביב. הצמחים נשתלו ב 6/10/24 והגידול הסתיים לאחר 5.3 חודשי גידול ב 17/3/25. הזן שנבחן היה זן לובלו ללא הרכבה מסוג עגבניית מיניפלאם. הגידול נעשה במבנה גידול בגודל של 50 מ"ר, במצע מנותק של עציצים שהכילו 10 ליטר של אדמה מקומית. העציצים מוקמו בשורות בודדות בעומד של 2000 צמחים לדונם וקיבלו השקיה ודישון מידי מספר ימים על פי רטיבות הקרקע. רטיבות הקרקע נמדדה על ידי טנסיומטרים של מערכת "גרופיט". הדישון התבצע על ידי דשן מורכב במיהול קבוע עם ריכוז של 120 ח"מ חנקן ניטרטי במי הטפטפת. בסוף כל השקיה נמדדו מוליכות חשמלית וריכוז חנקן במי טפטפת ובמי המשאב שנעשו על ידי מד EC ומכשיר של חברת HORIBA בהתאמה. כמות ההשקיה כוונה כך שערכי הטנסיומטר נעו בטווח של 3 סנטיבר (centibar) מיד לאחר ההשקיה וערך של 12 סנטיבר מיד לקראת תחילת ההשקיה הבאה. העציצים הושקו בטווח של כל יום במהלך הקיץ לפעם ב 4 ימים במהלך החורף. הדישון כוון כך שטווח המוליכות החשמלית במי המשאב נע בערכים של 0.5-2 dS/m וטווח ריכוז החנקן הניטראטי נע בערכים של 50-150 ח"מ.

אופן האילוח: האילוח במחלת רקבון הכתר נעשה בתאריך 6/3/24 על ידי ערבוב של האדמה המקומית שבתוך העציצים עם 150 סמ"ק אדמה נגועה שמקורה משטח חקלאי עם היסטוריה של מחלת רקבון הכתר. לאחר האילוח בוצע גידול של מחזור ראשון עם צמחי עגבנייה מזן איקרום לא מורכב כדי לבסס את המחלה בקרקע. גידול המחזור הראשון נמשך ארבעה חודשים עד לתאריך 15/6/24. כיוון ששכיחות מחלת רקבון הכתר היא בעיקר בעונת סתיו חורף והיא מופיעה בעיקר במעבר מחורף לאביב השתילה של הצמחים שהשתתפו בניסוי מזן לובלו לא מורכב נעשתה במחזור גידול שני ב 6/10/24. במהלך התקופה של ה 15/6/24 ועד 6/10/24 העציצים נשמרו תחת השקיה ששומרת על לחות קרקע.

טיפול בתכשירים מיקרוביאליים: טבלה 1 מציגה את הטיפולים שבוצעו והיא מציגה את שם הטיפול, שם החומר ושם החברה, מינון ואופן היישום. יישום הטיפולים נעשה כשבוע לפני שתילה והאדמה נשמרה בתנאים לחים עד למועד השתילה. טיפול בחומצה סיאליצילית (SalA) נעשה בריסוס עלוותי מיד לאחר השתילה. כל טיפול כלל 4 חזרות וכל חזרה כללה עציץ אחד.

טבלה 1: שמות הטיפולים והתכשירים שהשתתפו בניסוי: העמודות בטבלה מתארות את שם הטיפול, שם התכשיר, שם החברה שמשווקת את התכשיר (חברה), מינון התכשיר לעציץ, מינון התכשיר לדונם, אופן היישום והאם הטיפול עבר אילוח במחלת רקבון הכתר. כל טיפול כלל 4 חזרות כשכל חזרה כללה עציץ עם צמח עגבנייה אחד. הטיפולים בוצעו על 10 ליטר של אדמה מקומית בעציצים עם נפח של 20 ליטר. העציצים עברו אילוח על ידי הוספה וערבוב של 150 סמ"ק של אדמה מאולחת שמקורה בשטח עם היסטוריה של מחלת רקבון הכתר. כדי לבסס את המחלה בקרקע בוצע מחזור גידול ראשון של צמחי עגבנייה מזן איקרום לא מורכב במהלך עונת האביב-קיץ. לאחר הגידול של המחזור הראשון העציצים נשמרו עם לחות אדמה עד לתחילת מחזור גידול שני עם זן לובלו. יישום התכשירים נעשה שבוע לפני שתילת המחזור השני.

שם הטיפול	שם תכשיר 1	שם תכשיר 2	חברה	מינון מ"ל/מ"ג לעציץ	מינון מ"ל/מ"ג לדונם	מירוחל תמיסת יישום	מינון תמיסת יישום (מ"ל לעציץ)	אופן יישום
CON N	אדיגן		אגרוגדות	20	40000	15	300	הגמעה
CON P								
BACIL 1	בצילוס		מקרוניום	15	30000	20	300	הגמעה
BACT	בקטריליוס		אגרוגדות	0.025	50	6000	150	הגמעה
Compo	קומפוז'ר		אור פתח הארץ	150	300000			ערבוב לקרקע
CyanB	תכשיר Cyanobacteria		Nostoc Biotech Group	5	10000	60	300	הגמעה
EM	EM		EM	15	30000	20	300	הגמעה
MICO	מיקוריזה	מקואפ	ביובי	0.15	300	1000	150	הגמעה
Nutri	נוטריצ'אר		אור פתח הארץ	150	300000			ערבוב לקרקע
SalA	נגזרת של Salicylic acid		אגרוגדות			0.5%	5	ריסוס עלויות
TRI	טריכודרמה	ROOT PRO	אגרוגדות	0.1	200	1	0.1	ערבוב לקרקע

הערכת צמח:

הערכת צמח נעשתה על ידי מדדים של בריאות וגובה צמח. הערכת בריאות הצמח נעשתה על ידי הסתכלות בעין תוך מתן ציון אינדקס בטווח מ 1 עד 5 כאשר צמחים בריאים ביותר קיבלו ציון 5 והצמחים החולים ביותר קיבלו ציון 1. הערכת גובה צמח נעשתה על ידי מדידת הגובה בס"מ לקראת סיום הגידול.

הערכת יבול ומשקל פרי ממוצע: הצמחים נקטפו על בסיס שבועי והתבצעו שקילות להערכת יבול ומשקל פרי ממוצע. חישוב יבול התבצע על בסיס עומד של 2000 צמחים לדונם.

בדיקת מעבדה לנוכחות מחלה: צמחים נגועים נשלחו למעבדת גילת לזיהוי מחלה. תוצאות המעבדה כללו זיהוי של גורם המחלה על ידי בידוד וגידול על מצע סלקטיבי ועל ידי מראה התפטיר.

זיהוי מחלה על ידי הסתכלות בעין: מחלת רקבון הכתר זוהתה על ידי תסמינים אופייניים של רקבון באזור צוואר השורש. בוצע חיתוך רוחבי של גבעול הצמח וזוהו רקבון אופייני באזור של צוואר השורש בלבד. איור 1 מציג תמונה של זיהוי רקבון התחום לצוואר השורש ותסמיני מחלה על העלים והגבעול בזמן הגידול.



B



A

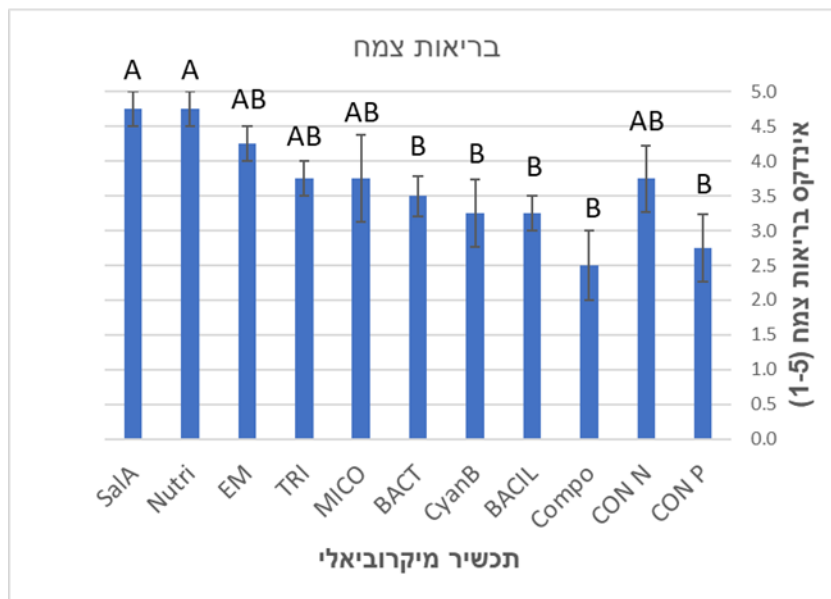
איור 1: תסמינים אופייניים של מחלת רקבון הכתר בעגבניות שהשתתפו בניסוי: צמחי עגבנייה גודלו בעציצים עם אדמה מקומית שעברה אילוח במחלת רקבון הכתר על ידי ערבוב עם אדמה שמקורה משדה חקלאי שיש בו היסטוריה של המחלה. A נראות התסמינים על צמח שלם. B חיתוך של גבעול הצמח שבו ניתן לראות החמה שתחומה רק לאזור שקרוב מאוד לשורשים. בהמשך הצמחים נשלחו לבדיקת מעבדה כדי לאשר נוכחות מחלת רקבון הכתר על ידי נוכחות פטריית *Fusarium oxysporum*.

בדיקת נוכחות פטריות וחיידקים כללים בקרקע: דגימות קרקע מטיפול הקרקע השונים בתכשירים מיקרוביאליים נבדקו לספירה כללית של חיידקים ופטריות בהתאם לפרוטוקול מהספרות (4). דגימות הקרקע נלקחו לאחר חודש מיישום התכשירים. דגימה של כ 9 גרם קרקע עורבבה עם 91 מ"ל מים סטריליים, עברה השהייה של 24 שעות וממנה נלקחו 3 דגימות נוזל לזריעות דילול על מצעים סלקטיביים לגידול חיידקים ופטריות. כמות המושבות שנספרו לאחר השהייה של 3 ימים מהזריעה בטמפרטורת חדר שימשו לחישוב של כמות החיידקים והפטריות הכללים בקרקע. כמצע סלקטיבי לפטריות שימשו צלחות מצע potato dextrose agar (PDA) בתוספת אנטיביוטיקה nystatin בריכוז 100 חלקי מיליון (ח"מ). כמצע סלקטיבי לגידול חיידקים שימוש צלחות עם מצע nutrient agar (NA) בתוספת אנטיביוטיקה chloramphenicol בריכוז 100 ח"מ. הצלחות נרכשו מחברת טיבאן ביוטק בע"מ.

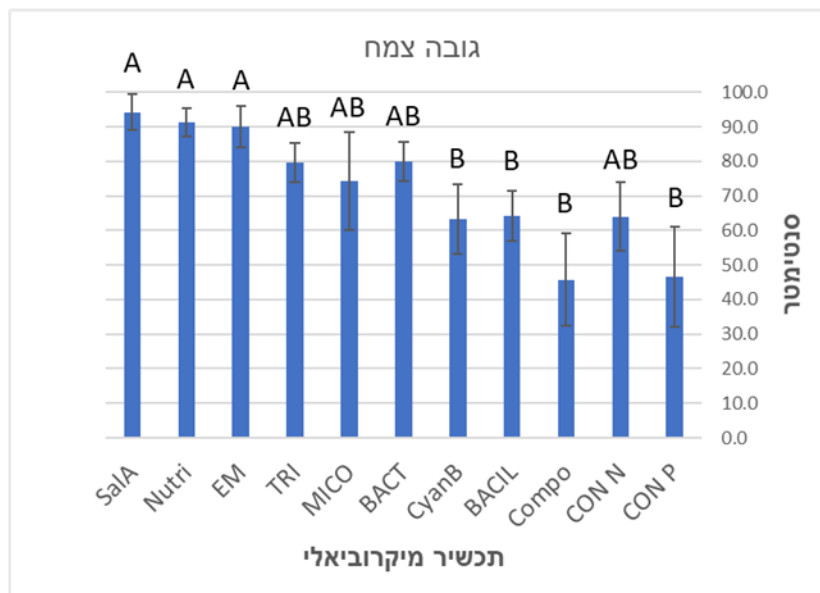
ניתוח סטטיסטי של התוצאות: הנתונים עברו מבחן ANOVA לבדיקת השונות בין הטיפולים. הניתוח הסטטיסטי לשונות נערך בחבילת תוכנה JMP 16.0 במבחני ANNOVA, אותיות שונות מייצגות הבדל סטטיסטי מובהק ברמת מובהקות של 0.05. תכנון מול ביצוע: הניסוי הנוכחי התבצע במהלך שנת 2024 שייך לשנה ב של המחקר אך נעשה במתכונת התכנון של שנה א בגלל תנאי מלחמה בשנת 2023.

תוצאות

הערכת צמח: איור 2 מציג את הערכת בריאות (איור 2A) וגובה צמח (איור 2B) כתלות בטיפולים השונים. נמצאו הבדלים מובהקים בין טיפולים ובין הביקורת החיובית (CON P). במדד גובה הצמח נמצא הבדל מובהק בין הביקורת החיובית לבין הטיפולים Sala, Nutri, EM ובמדד בריאות הצמח נמצאו הבדלים מובהקים בין הביקורת החיובית ו Sala, Nutri. נמצא הבדל לא מובהק בין ביקורת שלילית (CON N) והביקורת החיובית (CON P). הטיפול בתכשיר Sala משמש כסוג של ביקורת כיוון שהוא אינו תכשיר מיקרוביאלי שמיושם בקרקע אלא למעשה הורמון שמשפעל את המערכת החיסונית של הצמח. תוצאות הניסוי מראות שישנה ייתכנות לשימוש מסחרי בתכשירים מיקרוביאליים לקרקע על ידי חקלאים בחבל הבשור.



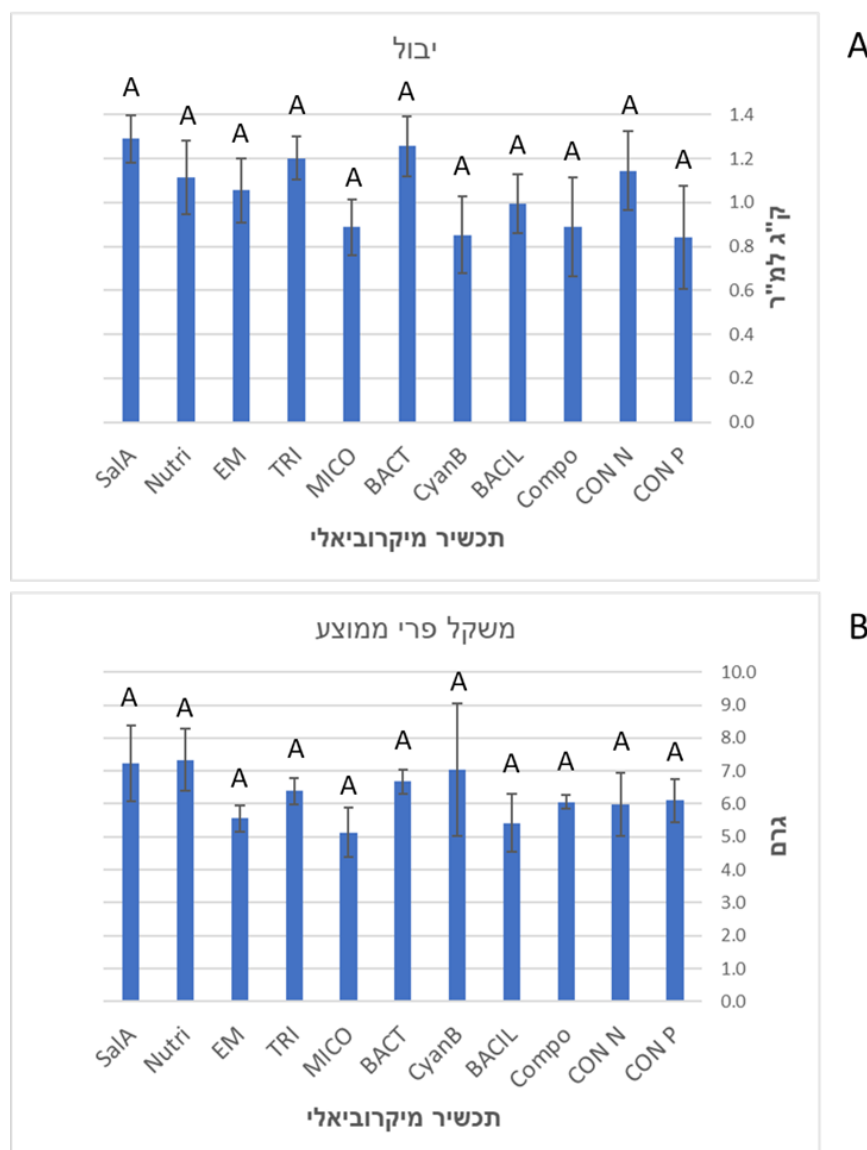
A



B

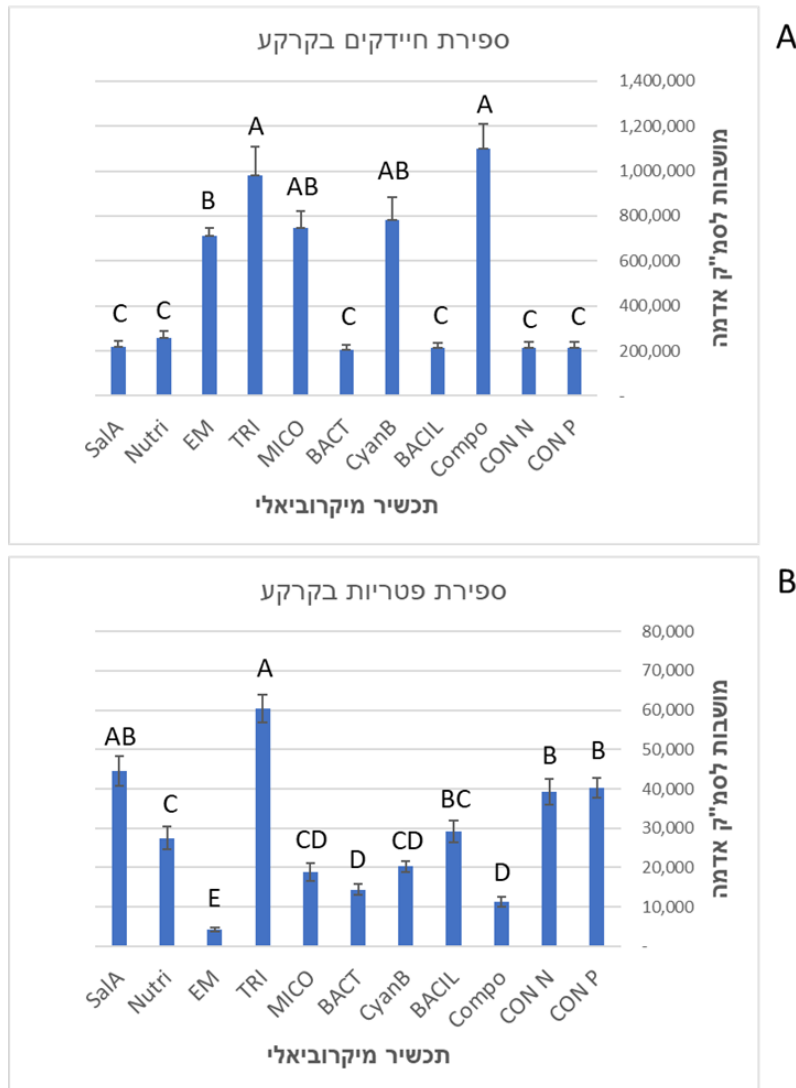
איור 2: הערכת מדדי צמח: מדדי צמח נעשו על ידי הערכת בריאות צמח (A) וגובה צמח (B). בראות צמח נעשתה על ידי הסתכלות בעין ומתן ציון אינדקס בטווח 1 עד 5. צמחים בריאים ביותר קיבלו ציון 5 וצמחים חולים ביותר קיבלו ציון 1. גובה צמח נמדד בסנטימטר לקראת סוף הגידול. הצמחים גודלו בעציצים עם אדמה מקומית, העציצים עברו אילוח וטיפול שונים על ידי תכשירים כמפורט בטבלה 1. התוצאות מציגות את הממוצע יחד עם שגיאת התקן ואותיות שונות מצביעות על מובהקות. ניתוח סטטיסטי נעשה על ידי מבחני ANOVA של תוכנת JMP pro 16. אותיות שונות מצביעות על מובהקות שונה ברמה של $P < 0.05$.

הערכת יבול ומשקל פרי ממוצע: איור 3 מציג את היבול (איור 3A) ומשקל פרי ממוצע (איור 3B) כתלות בטיפולים השונים. טווח היבול בין הטיפולים השונים נע בין 0.8 ל 1.3 טון לדונם וטווח משקל פרי ממוצע נע בין 5 ל 7 גרם לפרי. הטיפולים השונים הראו שונות ברמת היבול ומשקל פרי ממוצע אך לא נמצאו הבדלים מובהקים.



איור 3: הערכת פרי: מדדי פרי נעשו על ידי הערכת יבול (A) ומשקל פרי ממוצע (B). הפירות נקטפו בשלב הבשלה על בסיס קטיף שבועי והפירות נשקלו במעבדה להערכת יבול. הגידול נעשה בעציצים עם אדמה מקומית, העציצים עברו אילוח וטיפולים שונים על ידי תכשירים כמפורט בטבלה 1. התוצאות מציגות את הממוצע יחד עם שגיאת התקן ואותיות שונות מצביעות על מובהקות. ניתוח סטטיסטי נעשה על ידי מבחני ANOVA של תוכנת JMP pro 16. אותיות שונות מצביעות על מובהקות שונה ברמה של $P < 0.05$.

ספירה מיקרוביאלית של מושבות חיידקים ופטריות בקרקע: איור 4 מציג את הספירה הכללית של חיידקים (איור 4A) ושל פטריות (איור 4B). נמצא שתוספת מיקרוביאלית משנה את הספירה הכללית בקרקע ביחס לטיפול הביקורת. בין טיפולי הביקורת לא נמצאו הבדלים מובהקים.



איור 4: ספירה מיקרוביאלית בקרקע על ידי ספירה כללית של חיידקים (A) ושל פטריות (B). דגימות קרקע נלקחו מעציצים עם אדמה מקומית בהם בוצע גידול צמחי העגבנייה. העציצים עברו אילוח וטיפולים שונים על ידי תכשירים מיקרוביאלים כמפורט בטבלה 1. ספירה כללית של חיידקים ופטריות נעשתה על ידי זריעות דילול על מצעים סלקטיבים כמפורט בפרק "מהלך מחקר ושיטות העבודה". התוצאות מציגות את הממוצע יחד עם שגיאת התקן של 4 חזרות (4 עציצים) מכל טיפול מיקרוביאלי. אותיות שונות מצביעות על מובהקות. ניתוח סטטיסטי נעשה על ידי מבחני ANOVA של תוכנת JMP pro 16. אותיות שונות מצביעות על מובהקות שונה ברמה של $P < 0.05$.

דיון

מטרה עיקרית של הניסוי היא בחינה של תכשירים מיקרוביאליים לטיפול קרקע כנגד מחלת רקבון הכתר בעגבנייה בחבל הבשור ומטרה משנית כללה הבנה טובה יותר של אופן הפעולה וההשפעה של אוכלוסייה מיקרוביאלית על מחלת רקבון הכתר וגידול עגבנייה. בניסוי השתמשנו באדמה מקומית של חבל הבשור שעברה אילוח מוצלח במחלת רקבון הכתר. נמצא שלטיפולים מיקרוביאליים שונים שזמינים היום בשוק כתכשירים מסחריים יש השפעה לטובה כנגד מחלת רקבון הכתר ולכן יש להם פוטנציאל ביישום לטובת שיפור גידול העגבניות אצל חקלאי האזור. אנחנו ממליצים להמשיך ולבחון את התכשירים המיקרוביאליים שנה נוספת כדי לבדוק את מידת החזרתיות של התוצאות. אנחנו מעריכים שמערכת הניסוי שכוללת אדמה מקומית בעצמים יכולה לדמות תנאי גידול מסחרי באדמה מקומית. בנוסף מצאנו שניתן לפתח על בסיס הניסיון שנצבר בניסוי הקיים בחינה של גידול מסחרי של עגבניות בחבל הבשור על ידי שימוש של אדמה מקומית במצע מנותק. השיטה הזאת יכולה להביא בשורה לחקלאים כיוון שיש כמות הולכת וגדלה של דונמים של עגבנייה מסחרית שמגודלת במצע מנותק בחבל הבשור וכיוון ששימוש באדמה מקומית יכול להעלות את הייתכנות הכלכלית של גידול במצע מנותק. ייתכנות כלכלית טובה יותר נובעת מכך שאדמה מקומית זולה ממצעי גידול אחרים ובנוסף להבדיל ממצעים שמקובלים היום על בסיס חומר אורגני את האדמה המקומית ניתן למחזר, שנים רבות על ידי ביצוע חיטוי אפקטיבי במצע המנותק. מסיבות אלה, אנחנו ממליצים לבחון בשנה השלישית של המחקר את יעילות התכשירים במערכת הקיימת של אדמה מקומית במצע מנותק למרות שבהצעת המחקר המקורית נכתב שנעבור לבחון אותם בתנאי גידול רגילים (לא במצע מנותק). אנחנו מעריכים שהמשך בחינה במערכת הקיימת תאפשר התמקדות טובה יותר ביכולת החזרתיות של התוצאות. בסקירת ספרות מצאנו שיש היתכנות טובה לטיפולים מיקרוביאליים בקרקע לשפר את בריאת הצמח על רקע מחלת רקבון הכתר בעגבנייה (1-3). הניסוי הנוכחי אכן מצא שתכשירים מסחריים מקומיים יכולים לשמש כהמלצה בגידול מסחרי ולכן נרצה להמשיך לבחון אותם. בניסוי הנוכחי קיבלנו תוצאות לגבי ההשפעה של התכשירים המיקרוביאליים על האוכלוסייה כללית של חיידקים ופטריות בבית השורשים של הצמח. התוצאות הללו יכולות לשמש כבסיס לפיתוח בקרת איכות של יישום תכשירים מיקרוביאליים בקרקע. בשנה השלישית של המחקר נרצה לחזור על התוצאות שהתקבלו ובנוסף להרחיב את הבדיקה על ידי שליחה של דגימות קרקע של טיפולים נבחרים לחברה שמספקת בשירות חיצוני אבחון של סוגי אוכלוסיות מיקרוביאליות. יתכן ונוכל למצוא סמן של נוכחות מיקרוביאלית בקרקע שמהווה בקרת איכות לפעילות מוצלחת של התכשיר.

ביבליוגרפיה

- 1) Ozbay A, 2004. Fusarium Crown and Root Rot of Tomato and Control Methods. Plant Pathology Journal 3 (1): 9-18.
- 2) Srivastava R, 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent Pseudomonas and Trichoderma harzianum formulation against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici for the management of tomato wilt. Biological Control Vol 53 pages 24–31.
- 3) Srivastava R, 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent Pseudomonas and Trichoderma harzianum formulation against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici for the management of tomato wilt. Biological Control Vol 53 pages 24–31.
- 4) Mwangi L. and Lelei D. Method for Isolation and Enumeration of Bacteria and Fungi. STANDARD OPERATING PROCEDURE. https://www.cifor-icraf.org/resources-documents/Method-for-Isolation-and-Enumeration-of-Bacteria-and-Fungi.pdf?utm_source=perplexity