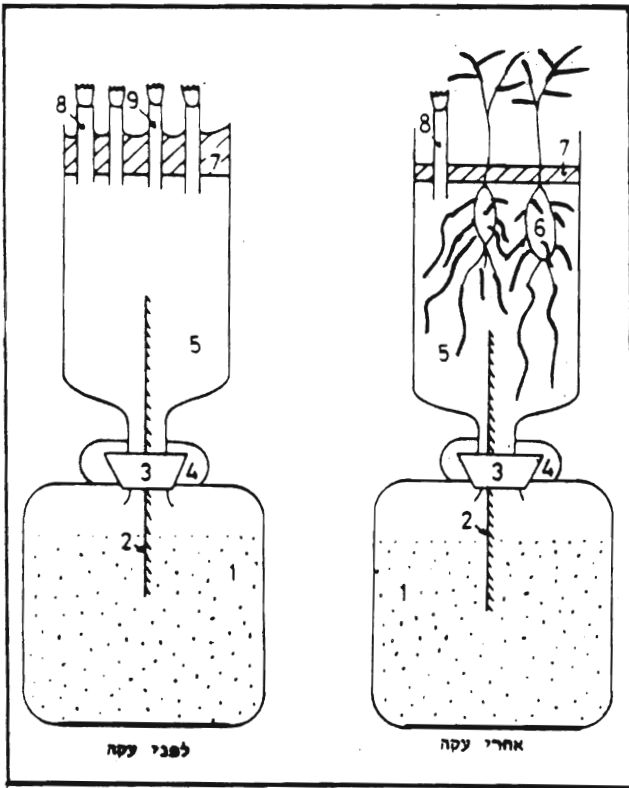


# בירור גורמי תופעת החללים השקועים באשרושי הגזר

## שיטות וחמרים

### גידול צמחים וחיידקים

כל הניסויים נערכו בצמחי גזר תרבותי מהזנים טיפ-טופ וטיטו ממקור הלנדר. תבדידי חיידקים (18 טיפוסים אירוביים, 12 טיפוסים אנאירוביים ו-10 טיפוסים אנאירוביים כעלי ספורות בודדו מהכתמים



**שרטוט 1.** מערכות גידול סטריליות לצמחי גזר. 1 - צננת המכילה מצע מזון מושלם לצמחים; 2 - פתיל; 3 - פסק גומי; 4 - סרט הדבקה; 5 - "עציץ", בקטק המכיל אדמת חול רחובות; 6 - שרשים; 7 - חול שעווה; 8 - ציטר זכוכית שדרכו ניתנה העקה; 9 - ציטרות זכוכית שדרכם נורעו הצמחים באופן סטרילי.

ישראל). הצמחים גדלו בעציצים מחוטאים בהתחלה והכילו אדמת חול רחובות או אדמת לאס מסעד. אחת החדשים דושנו הצמחים שגדלו בחורף בחממת זכוכית וכקב בבית-רשת. זרעי גזר מחוטאים באתנול 70% או ב"אקונומיקה" 1% (בהפעלת תחליץ) נדעו באופן סטרילי דרך צינורות זכוכית מעוקרים במערכות גידול סטריליות לחלוטין. שעוקרו בקרינת גמא בכור האטומי (שרטוט 1). הצמחים גדלו במשך כל 6 חדשי הניסוי בתא צמיחה בטמפרטורה  $20 \pm 2$  מ"צ. חיידקים הודבקו על גבי גזרים - על-ידי פציעתם תחילה. טבילתם, או הזרקת חיידקים לתוכם (כל תבדיד בנפרד).

מאת עידית פינקלשטיין-סורוקר, יואב בשן, יעקב אוקון, המחלקה למחלות צמחים ומיקרוביולוגיה, הפקולטה לחקלאות, רחובות.

עקה סביבתית, ששניים מרכיביה הם תנאי הצפה במים כשי- לוב טמפרטורה של 28 מ"צ ומעלה למשך 6 שעות לפחות - גורמת פגיעה פיסיוולוגית באשרושי הגזר. פגיעה זו גורמת דליפת מלחים, סוכרים, חומצה-אמינו, חלבונים ושומנים מתוך האשרושים לסביבתם. תצפית במיקרוסקופ אלקטרוני אשרה קיום פצע זעיר ללא חיידקים. חלל שקוע גדול יותר הכיל כמות רבה של חיידקים. כנראה, החמרים שדלפו הם גורם העשירה למיקרואורגניזמים שבקרקע, המתרבים באזור הדליפה ומסייעים לפירוק מקומי של רקמת האשרוש. ככל שמשך ההדגרה לאחר התחלת העקה הסביבתית ארוך יותר - התופעה חמורה יותר. נבחנה מעורבות חלקית של חיידקים, ולא נמצא חיידק אחד ספציפי המשתתף ביצירת התופעה. פירוק הרקמה נעשה, כנראה, בעזרת אנזימים מפרקי פקטין וחלבון. בזמן הפירוק פועל מנגנון ההגנה הצמחי היוצר כתם שחור מפנולים מחומצנים, וכתם זה נראה לעין ומכער את אשרוש הגזר. החלל השקוע בעל הצבע הכהה הוא הסימפטום המוכר בשם "החללים השקועים באשרושי הגזר".

### מבוא

זה יותר מחמש עשרה שנים סובל גידול הגזר מתופעת החללים השקועים באשרושים, המכונה בארץ גם בשמות "כתמי בית שאן" ו"כתמי אשרוש" (2). תופעה זו גורמת את כיעור הגזר ופסילתו לשיחוק מקומי ומונעת את יצואו, אף משדות נגועים ברמה נמוכה. טרם נמצא הסבר מוסכם לתופעה. היא יוחסה לאקלים, לניקח לקר, לחוסר אורזר זמני, למחסור בסידן, לחיידקים אנאירוביים, ליוני אמן בקרקע ולמבנה הקרקע. לא ידוע, אילו מהגורמים הללו אכן משפיע על התופעה בתנאי ישראל.

עד כה לא ניתן היה להפחית את נזקי התופעה. הקושי העיקרי הוא חוסר האפשרות והיידע להשרות את התופעה כתנאים מבוקרים. כמו כן, לא נמצאו הגורמים (או הגורם) המשתתפים ביצירת הנגע. בעקבות מחקר שנעשה בישראל הוצע גידול גזר על גרודיות, כדי להגביר את האורזר כפתרון להפחתה חלקית של התופעה (3). אולם ים נמצא פתרון אגרוטכני לבניית הגרודיות המוצעות, ולפיכך לים מגדלי הגזר שאימצו שיטה זו.

מטרת מחקר זה היתה - לאתר חלק מהגורמים העיקריים המשי- פיעים על הוצרות החללים השקועים באשרוש, כדי לבנות מערכת ניסויית שתשרה באופן קבוע את התופעה.

\* כיום במחלקה לגנטיקה של צמחים, מכון ריצמן למדע, רחובות.



השפעת עקת פיסיולוגיות שונות על יצירת החללים השקועים. לצמחי גזר בגיל 4 חודשים שגדלו בעציצים ניתנו עקת שונות: יצירת תנאים אנאירוביים על-ידי שכבת שעווה שכיסתה לחלוטין את פני הקרקע שבעציץ; הצפה; טמפרטורות 30 או 40 מ"צ; טמפרטורת רות אלו בשילוב עם הצפה, 3 תנודות של יובש (עד מצב כמישה) ולחות. מניסוי זה (המורגם בתמונה 2) נראה ששילוב 2 עקת, חום (30 מ"צ) והצפה, גרם הופעת החללים השקועים באשרושי הגזר. עקה אחת בלבד, חום או הצפה — לא השפיעה להתהוות התופעה. טיפולים של יציקת שעווה או חימום ל-40 מ"צ — המיתו את הצמחים.

**השפעת ההצפה בשילוב עם השתנות הטמפרטורה — על עצמת התופעה**

צמחי גזר נחשפו לעקה המשולבת בתחום הטמפרטורות 7—35 מ"צ. נראה בבירור, כי טמפרטורה של 25—30 מ"צ גרמת את התופעה בתנאי הצפה; אולם החללים השקועים מופיעים גם ללא הצפה כאשר הטמפרטורה עולה על 32 מ"צ. ההצפה בטמפרטורות נמוכות אינה משפיעה על עצמת הפגיעה; אך כאשר הטמפרטורות עולות על 25 מ"צ — היא מגבירה אותה. ראוי להדגיש כי בתנאי הארץ יש מקרי שילוב של טמפרטורה כזאת והצפה, ביחוד באביב, כשיש שרבים ולאחריהם יורד גשם, וכן בסתיו כאשר משקים גזר בשטח שהניקה בו אינו מעולה (מנתוני התחנה המטאורולוגית שבטירת-צבי, בעומק 10 ס"מ למטה מפני הקרקע).

השפעת משך העקה המשולבת על חומרת התופעה. הצמחים נחשפו לעקה המשולבת לפרקי-זמן של 6 עד 100 שעות. נמצא, שיש קשר ישיר ומצטבר בין משך העקה לבין עצמת התופעה. פרקי-זמן קצרים כ-6 שעות היו מספיקים להשראת התופעה, ואילו חשיפה לפרקי-זמן גדולים מ-60 שעות המיתה את הצמחים (תמונה 2). תופעה דומה נמצאה בניסויים דומים, שבהם נחשפו צמחי גזר מנותקים שהובאו מהשדה לעקה המשולבת, ואחרי-כן נשחלו בקרקע.

**השפעת משך הגידול לאחר מתן העקה — על התעצמות התופעה**

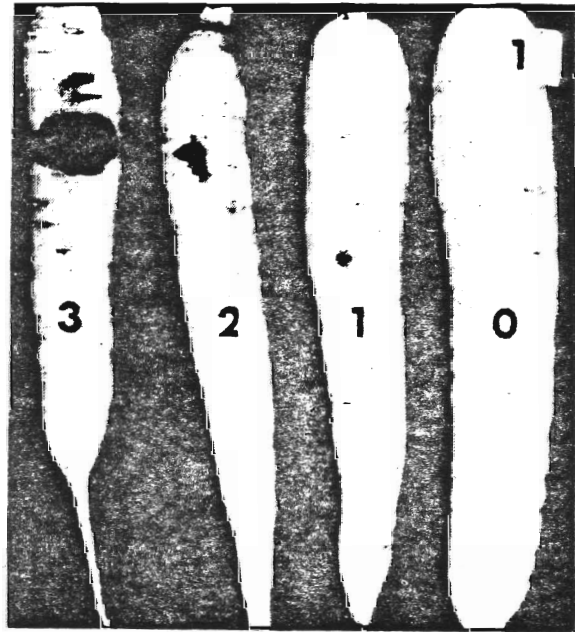
בניסויים הקדמיים הובחן, שהחללים השקועים אינם מופיעים מיד לאחר העקה המשולבת, והם מתגברים עם חלוף הזמן ממועד העקה. צמחי גזר שנחשפו לעקה גדלו במשך 7 שבועות. אחת לשבוע נמדדה עצמת התופעה על-ידי עקירת חלק מצמחי הניסוי. משרטוט 2 אפשר לראות, כי חומרת הפגיעה הסופית מתגברת ותלווה באורך פרקי-הזמן שעבר ממועד העקה. העובדה שגודל זמן הדרוש להתפתחות הפגיעה נחנת פתח להשערה, שמעורב גם גורם ביולוגי המגדיל עם הזמן את החללים השקועים, כך שמחללים קטנטנים שאינם בולטים לעין מתקבלים פצעים גדולים ומכוערים.

**השפעת סוג הקרקע, זן הגזר וביקטור בחידקים — על עצמתה ומידתה של תופעת החללים השקועים**

2 סוגי אדמה, לאס מקיבך סעד ואדמת חול רחובות נבחנו למידת השפעתם, על 5 זני גזר: טיפו-טופ, טיטו, פנסי, סלנדרו וקפטן. נבחנו למידת תגובתם, לתופעה בשילוב עם עקה ובלעדיה. לא נמצא הבדל בין הקרקעות השונות בעצמת התופעה ללא עקה

(המשך בעמוד הבא)

כל אשרוש נבדק בנפרד לפי מפתח 0 עד 3: 0 = לא נגוע; 1 = עד שלושה חללים שקועים בקוטר הקטן מ-2 מ"מ; 2 = יותר מ-3 שקועים קטנים מ-2 מ"מ או עד שלושה חללים שקועים בקוטר עד 1 ס"מ; 3 = יותר מ-3 נגעים בקוטר שעד ס"מ אחד, או קיים עליו חלל שקוע אחד בקוטר גדול מס"מ אחד (תמונה 1).



תמונה 1. אינדקס התופעה.

**עקת משולבת**

צמחי גזר בגיל 4—5 חודשים, שגדלו בעציצים, הוכנסו לאמבט מים בעל טמפרטורה קבועה, או לאינקובטור בטמפרטורה מתאימה. האמבט מולא באופן שהעציצים הוצפו במי-ברז. בתום תקופת העקה הועברו העציצים בחזרה לבתי הגידול, להדגרה. לאחריה הוצאו הגזרים מהעציצים, נשטפו היטב, ונקבעו עצמת התופעה ודרגת הנגיף. במערכות סטריליות ניתנה העקה במינדף סטרילי. תמיסת מזון מעוקרת הוספה לצנננת ומילאה אותה בשלימות. דרך צינוור הזכוכית הנותר הוצפה הקרקע שבה גדלו הגזרים, אך חול השעווה שנמצא מעל לאדמה המוצפת נשאר יבש. צינוור הזכוכית הוצא, וחול השעווה כיסה את האדמה שבעציץ באופן אחיד. המערכות הועברו ל-30 מ"צ למשך 36 שעות. 100 מ"ל תמיסת מזון הוצאו באופן סטרילי, והמערכות הוחזרו ל-20 מ"צ ל-4 שבועות נוספים (שרטוט 1).

**תוצאות ומסקנות**

הדבקת אשרושי גזר בתברדי חידקים שבודרו מהחללים השקועים

מתוצאות ניסוי הדבקה ב-40 תברדים שונים נראה, שהדבקה בלבד של אשרושי גזר מנותקים בתברדי חידקים — אינה גורמת את התופעה.

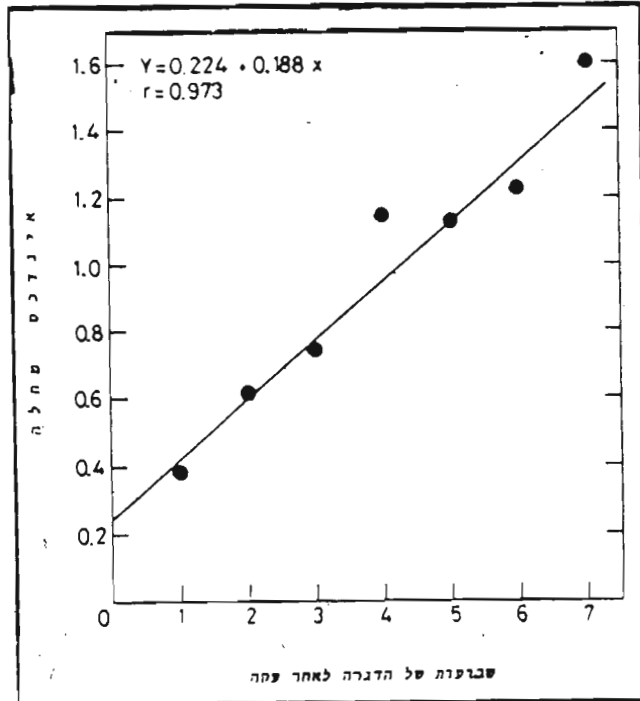
# בירור גורמי תופעת החללים השקועים באשרושי הגזר

(המשך מעמוד קודם)

דליפות מתאי אשרוש הגזר לאחר עקת משולבת בבדיקת עצמת דליפת חמרים מתוך אשרושי הגזר לא נמצאה דליפה ניכרת בתחום הטמפרטורות 7-30 מ"צ. אולם לאחר מתן העקה המשולבת - עלתה רמת הדליפות מתאי האשרוש כלפי חוץ כשיעור ניכר, בייחוד בטמפרטורות הגבוהות מ-25 מ"צ. כאנאליזה כימית של רכיבי הדלף נמצא כי 70% ממנו הם סוכריים, 7% חלבונים והופצות-אמינו ר-0.7% חומצות שומן. המינרלים אשלגן, נתרן, ניטרט, מגנזיום, סידן ופוספט דלפו כשיעורים של 0.1%-5.5% מכלל הדליפה.

מתוצאות ניסוי זה מתברר, שרקמות האשרוש מדליפות את רוב רכיבי התא. מכאן שהעקה גורמת לא רק פגיעה במעבר הברדני של ממברנות התאים, כי אם גם התמוטטות התא כולו. דליפת חוכן התאים לקרקע סביב הפצע עלולה לגרום העשרתו בחמרי-מזון לחידקים ולעודד התפתחות מיקרוביאלית בקרבת מקום הדליפה.

סקירת תופעת החללים השקועים במיקרוסקופ אלקטרוני סורק ניסיון לברר חידקים מתוך הרקמה הפגועה לאחר חיסוי חיצוני - לא עלה יפה, ונראה שכל החידקים מצויים על שטח פני האשרוש והם חיצוניים לדקמת הגזר. צילומי אשרוש בריא מראים רמת חידקים נמוכה ביותר, וסדקים כשכבה המגינה באשרוש הם בעיקר מיציאת שרשים צדדיים (תמונה 3). כאשר החלל השקוע זעיר 1-2 מ"מ (תמונה 4) - מספר החידקים הנזכר באתר נראה זעום ביחס לגודל



שרשוש 2. השפעת משך הגידול לאחר מתן העקה על התעצמות התופעה.

(כ-0.5 יחידות-אינדקס). ואילו לאחר עקת היתה עצמת התופעה 1.41 יחידות-אינדקס באדמת סעד ר-1.06 יחידות באדמת רחובות; אולם הברל זה בין הקרקעות השונות אינו מובהק. זאת ועוד: לא נמצאו הברלים בעצמת התופעה בין הזנים השונים לאחר עקה (כ-2.5 יחידות-אינדקס ר-100% גורים נגועים). עצמת התופעה והזריחותה ללא עקה - היו כניסוי האדמות השונות.

נוסף לכך הושקו עיצוי גזר בתערובת של כל החידקים שכחדו מאשרושים נגועים, יום לפני מתן העקה ויום לאחריה. נמצא, כי תוספת חידקים הגבירה את עצמת התופעה (1.28 יחידות-אינדקס, לעומת 0.56 יחידות בהיקש). אולם, מתן עקה בשילוב עם החידקים או בלעדיהם הגביר במידה ניכרת את חומרת התופעה (2.49 יחידות).

תוצאות ניסויים אלו מדגישות את התפקיד המרכזי של העקה המשולבת בהתהוות החללים השקועים. אולם, מעבר לחשיבותה - יש כנראה, השפעה גם למיקרואורגניזמים שבקרקע על הפגע.

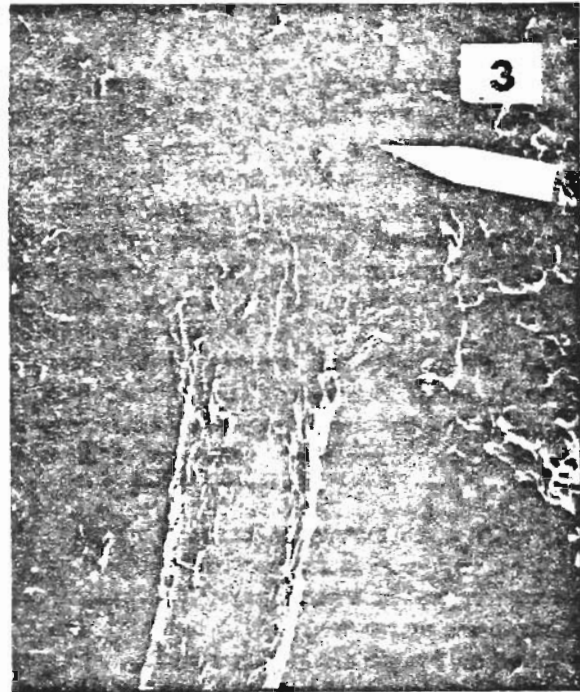
במערכות גידול מעוקרות בקרינת גמא לא נמצאו מיקרואורגניזמים כעת הזריעה. לאחר העקה המשולבת נמצא בתן גזע ברדד של חידקים גרם-שליליים כדי 1.36 יחידות. בהיקש היתה עצמת התופעה דומה אולם התפתחו אוכלוסיות שונות של חידקים. צורת ניסוי זו חשפה את תרומת מערכות צמחים סטריליות לזמן רב. אולם הדגישה שאין המדובר בחידק גרם-חיובי ספציפי (1, 4) אלא תולדה כנראה בחידי הקרקע שהתפתחו בריחסיפיה של צמח הגזר.



תמונה 2. גורים שעברו טיפולי עקות A - גורים שנחשפו לעקה משולבת וגדלו באדמת לאס של סעד; B - היקש; C - גורים שעברו עקת יובש ולחות וגדלו באדמת חול של רחובות; D - גורים שעברו עקת חום וגדלו באדמת חול



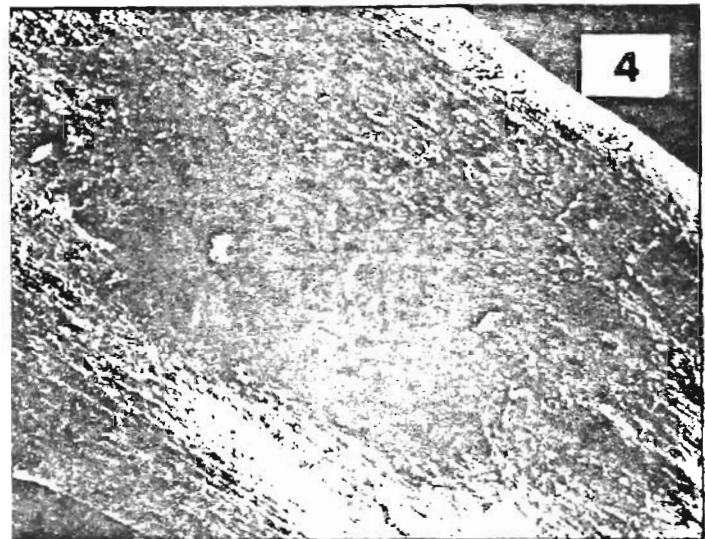
זה. כאשר התפתח החלל השקוע לממדיו הרגילים (כסנטימטר אחד) — שטח פניו היה מכוסה במסות רבות וצפופות של חידקים ( $8.5 \cdot 10^7$  חידקים בגרם רקמה) ממינים ומסוגים שונים (תמונה 7). תוצאות התצפיות מעידות על הימצאות חללים שקועים — ללא הגדלה רבה במספר החידקים. פצעים ועירים על-פני השטח, שאינם נראים לעין עוזמה — אינם מזוהמים במיקרואורגניזמים. ומתחתם יש חלל גדול שאף הוא נקי מחידקים; ואילו פצעים גדולים (המתארי- מים לאינדקס 2 ר-3) מזוהמים במגוון רחב ובמספר רב של חידקים.



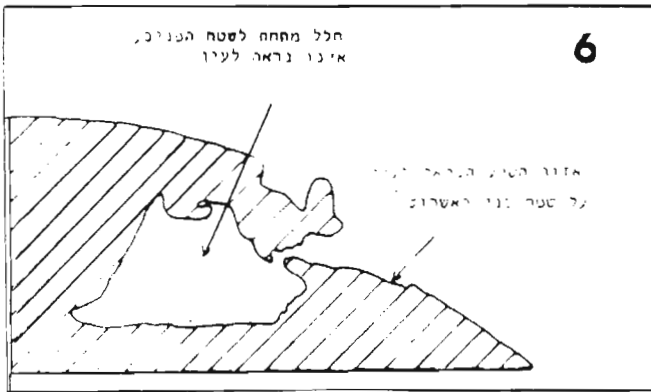
תמונה 3. סדק באשרוש (חץ) בעקבות יציאת שורש צדדי (x100).



תמונה 5. מספר זעום של חידקים בחלל השקוע המתפתח (x1200)



תמונה 4. חלל שקוע ועיר, כמיקומטר אחד



תמונה 6. חתך רוחב באשרוש

#### דיון

עבודה זו מציעה שילוב של עקות פיסולוגיות עם גורמים מיקרו- ביולוגיים. המביא לידי התהוות הנגע בגזר. ממצא זה משתלב בדעה הרווחת בין מגדלי הגזר בארץ ובין חוקרים מחו"ל. כי באזורים שבהם יש מים עומדים בשדה, או באזורים שאינם מנוקזים היטב — החופעה שכיחה יותר (המשך בעמוד הבא)

החלל ולא נראית פטריות (תמונה 5) רמה החידקים הכללית היתה  $4 \times 10^6$  בגרם שכבת האים היעוצית כאשר נערך חתך רוחב בכתם באופן שאפשר לראות העומת החלק הישיש (תמונה 6) — נראה סדק פירן בין השיש החיצוני הקטן לבין השיש הפנימי בתוך האשוי רוש. הגדיל יותר, לא אוברנו הידרני כלל בתוך שדה תרואשרישי

# בירור גורמי תופעת החללים השקועים באשרושי הגזר

(המשך מעמוד קודם)

בעבודה הנוכחית נבדקה האפשרות שחידקים שונים מהווים פתוגנים לאשרוש היוצרים את התופעה. העבודה, שכל תבדירי החידקים שנמצאו וכל שיטות ההדבקה הישירות שנסו לא גרמו השראת התופעה — היא ראיה לכך, שלא מדובר בפתוגן הגורם את התהוות הכתם. צילומי המיקרוסקופ האלקטרוני וספירת החידקים, שליוו את התצפית, תומכים ברעיון שהפגיעה הראשונית אינה מהתקפת מיקרו-אורגניזמים על-אשרוש הגזר. עדות נסיבתית מסייעת הראו מערכות הגידול הסטריליות. בשל הזיהום הבקטריאלי שחל במערכות — לא נתקבלה חשובה חד-משמעית בדבר הכרחיות קיום הגורם הביולוגי בהשראת התופעה. אולם, מכיון שהזיהום היה בחדק ממין שונה לחלוטין מהחידקים שלגביהם נסען שהם גורמי התופעה (1, 4) ובכל זאת הופיעו החללים השקועים — אפשר להסיק מכך, שהגורם המיקרוביאלי אינו ספציפי. דבר שהוכח גם בהוספת תבדירי חידקים אחרים רבים ושונים למערכות גידול הגזר. יחד עם זאת ייתכן שחידקי הקלוסטרידיום, שהוצעו כמחוללי התופעה, משמשים פתוגני יום משניים בעקבות עקות עודף מים. אך הם אינם חיוניים לגרימת חללים שקועים בגזר (5).

עבודות שונות בנידון זה הכליטו את הקשר בין ההצפה במים להתנגעות הגזר. ההצפה עצמה עלולה לפגוע בצמחי הגזר מבחינה פיסיולוגית וכן לעודד אוכלוסיות של מיקרואורגניזמים שונים, העלולות לפגוע בגזר. גם החום עלול לפעול בצורה דומה. מכאן, ששילוב של שניהם עלול לגרום נזק ממש לצמחי הגזר. כפי שנמצא בעבודה זו, נזק זה מתבטא בדליפת חמרים לתוך הקרקע, ואלה עלולים לשמש מקור מזון לחידקים התוקפים. בפרט הסוכרים שהם עיקר הדלף.

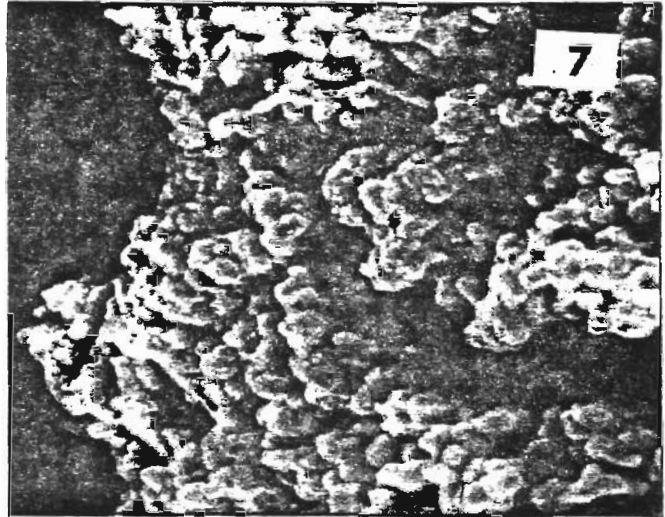
יחד עם זאת, תקיפת החידקים חלשה יחסית, מכיון שהם אינם פתוגניים, ומנגנון ההגנה הצמחי מצליח להתגבר על התקיפה לאחר פירוק רקמות חלקי. תוצרי פעילותו של מנגנון ההגנה — הפנולים המחומצנים הכהים — הם המקנים לפצעים את צבעם הכהה. נוכח כל ממצאי העבודה — מוצע מנגנון אפשרי לגרימת התופעה, המתואר בשרטוט 3 ומסוכם בתקציר המאמר.

## הבעת תודה

תודתנו לעמיתנו בהט על עזרתה במיקרוסקופיה אלקטרונית, לחיים יעקובי מתחנת-הנסיונות בעמק בית-שאן ולשמואל מלר ממשרד החקלאות, על הספקת מידע. מחקר זה נתמך חלקית במענק מס' 823/044 של ארגון מגדלי ירקות.

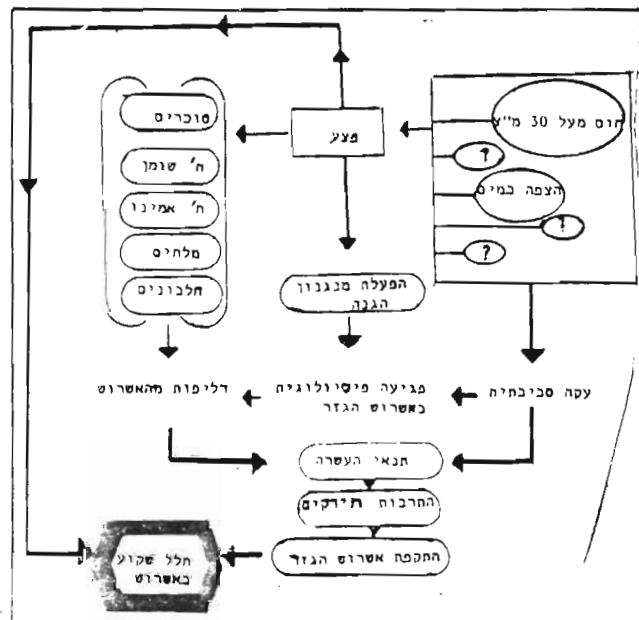
## ספרות

1. זוטרא ד., יעקבסון ר. (1982): כתמי אשרוש בגזר. א — הגורם הפתוגני. "השדה" ס"ב: 1196 — 1197.
2. יעקבסון ר., דן ח., יעקובי ח., סנדר צ. (1973): כתמים בלתי מזוהים על אשרושי גזר. "השדה" נ"ג: 1168 — 1171.
3. יעקבסון ר., זוטרא ד., יעקובי ח., קלמן י. (1982): כתמי אשרוש בגזר. ב — דרכים להפחתת הנגיעות. "השדה" ס"ב: 64 — 62.
4. Perry, D.A. and Harrison, J.G. (1977). Nature 269: 509.
5. Lund, B.N. (1982). In: Phytopathogenic Prokaryotes I, 264—283, Academic Press, N.Y.



תמונה 7. שטח הפנים של כתם שקוע (בעצמה 2—3), מכתסה מאסה צמחה של חידקים (x3000).

ככל שמשך ההצפה, משך הטמפרטורה הגבוהה זמן ההרגרה לאחר העקה התארכו — החמירה התופעה. מחקבל הרדשם, שלקרקע תפקיד ביצירת הנגע. זאת ועוד: לתבדירי חידקים שונים, שמקורם מהאשרושים הנגועים המוספים לקרקע — השפעה מעודדת ליצירת התופעה. מכאן, שהמערכת היוצרת חללים בגזר היא מערכת משולבת, פיסיולוגית ומיקרוביאלי.



שרטוט 3. מנגנון אפשרי ליצירת תופעת החללים השקועים באשרושי הגזר. ראה פירוט בתקציר שבראש המאמר.