

התפשטות והתרבות של מחלות בקטריאליות על-פני עלי צמחים

מאת יואב בשן, עדנה שרון, יעקב אוקון
המחלקה למחלות צמחים ומיקרוביולוגיה,
הפקולטה לחקלאות, רחובות

תצפיות ומסקנות

בבחינת האוכלוסייה המיקרוביאלית של צמחי היקש מודבקים במים סטריליים – לא הוכחנו מיקרואורגניזמים רבים. לעתים נדר רוח נראו חיידקים או שמרים. כאשר נבחנו פנים העלה או אתרי הפיתויות – הם נמצאו נקיים לחלוטין מכל מיקרואורגניזם שהוא. אולי בגלל התנאים הבלתי מתאימים להתפתחות אוכלוסיות חיידקי עלים (תנאי חממה, ללא מים חפשיים על-פני העלים). לאחר הרבקה בתרחיף חיידקים בריכוז 10^6 חיידקים/מ"ל אפשר היה להבחין בחיידקים ספורים, המפוזרים באקראי בכל אתר ואתר על-פני העלים. כעבור 24 שעות לאחר ההרבקה לא נמצאו חיידקים על-פני השטח החיצוני של העלים כשני מיני הצמחים; אולם מושכות זעירות של הפתוגנים אותרו באתרים ספציפיים בצמח הפתודקאי שלהם. כעגבנייה – כפתחי הפיתויות, בבסיסי השערה ובחלל הפיתויות (תמונה 1), ובפלפל – מעט מאוד חיידקים בפיתויות, יותר – בחללים הבין-תאיים מתחת לרקמת האפידרמיס (תמונות 2, 3). מקומות אלו נקבעו, לפי התצפיות, כאתרי החרייה האפשריים של הפתוגן לרקמה הצמחית. כעבור 48 שעות לאחר ההרבקה הוכחן פיזור אקראי של חיידקים כמעט בכל אתר על-פני העלים המודבקים; אולם על אף הכול, היה ריכוז החיידקים מועט יחסית, באתרים ספציפיים, כגון הפיתויות ובסיסי השערה בעגבניה (תמונה 4) או שקעים ואיזור עורקי העלה בפלפל (תמונה 5). הובחנה התרבות נמרצת המונית של הפתוגנים, כאשר נשכרת שערות עלה העגבניה (תמונה 6) או נחלשת או נסדקת – נמצאות מושכות זעירות של הפתוגנים באתריים הפגיעים, והפתח שנוצר ברקמת העלה כתוצאה מהפגיעה בשערה מהווה אתר המאפשר חרייה לתוך הרקמה. תופעות אלו הובחנו, בדרך-כלל כעבור כ-72 שעות מההרבקה.

בתום כ-100 שעות מההרבקה החלו להופיע הנקרוזות הראשונות בגודל מיקרוסקופי, ותמיד בבסיסי השערה (בעגבניה) ובאיזור העורקים (בפלפל). הנקרוזה עצמה הובחנה כאילו חל ריקון מסוים בתאים והאפידרמיס התמוטט כלפי פנים (תמונות 7, 8). קו הגבול המפריד בין רקמה מתה (נקרוטית) לבין רקמה חיה – היה חד מאוד. אפשר היה להבחין במספר רב של חיידקי ניקוד בקטר, הי ממוקמים עד התא החי האחרון של הצמח (תמונה 9), ואילו גבול התפשטות חיידקי הגרב הבקטרי נמצא תמיד תאים אחדים מעבר לאיזור הנקרוטי. אף באחת המחלות לא נמצאו חיידקים בתוך הנק-

נערך מעקב במיקרוסקופ אלקטרוני אחר התפתחות מחלות בקטריאליות על-פני העלים. הובחן, כי רק אוכלוסיות זעירות של חיידקים חדרות באופן מעשי לעלים, וגם הללו – דרך אתרים מוגדרים היטב לכל מחלה. הוצבר, שבמשך 5 ימים שבהם לא נצפית מחלה בעין בלתי מזוינת – מתפתחות אוכי-לוסיות חיידקים גדולות, הפרעלות לפירוק הרקמה. פירוק הרקמה מה והמתנה באים לידי ביטוי בצורת סימפטומים נראים – רק כעבור 5–7 ימים לאחר ההרבקה. אוכלוסיית החיידקים מתה יחד עם הרקמה. צמחים עמידים מונעים את ההתרבות הראשונית, ולפיכך – את המשך התפתחות המחלה מאוחר יותר.

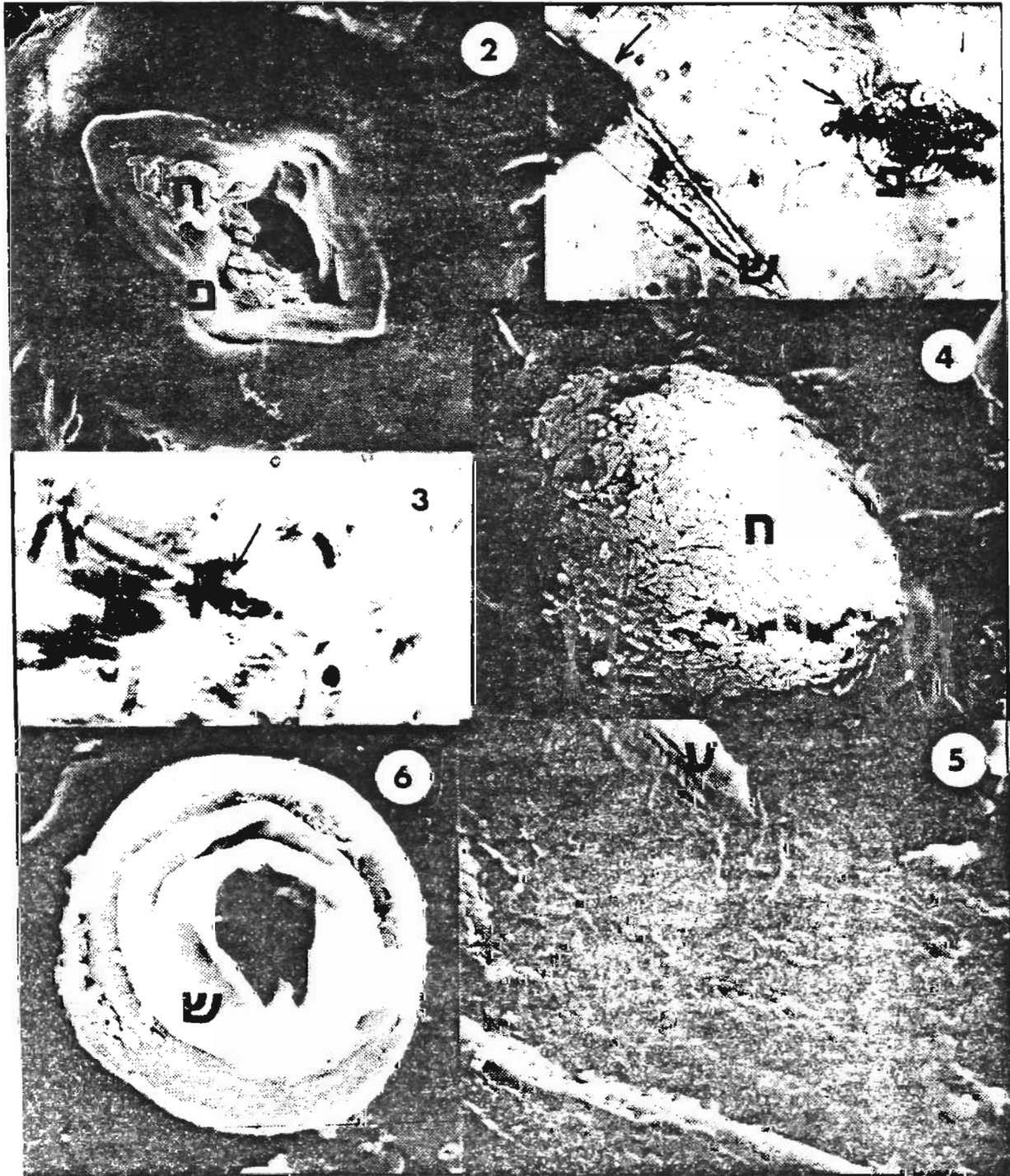
מבוא

במחלות עלים בקטריאליות רבות עובר פרק-זמן בין ההרבקה לבין הופעת הסימפטומים הנראים לעין. פרק-זמן זה הוא בין 4 ל-15 ימים. באותו פרק-זמן חלה התרבות חיידקים, מתפתחות הדבקות משניות ונגרם פיקור רקמות. כל אלה – ללא כל סימן חיצוני נראה לעין: הצמחים נראים כריאים לחלוטין. בתום פרק-זמן זה מופיעים לפתע סימפטומי המחלה האפייניים. התפתחות חיידקים פתוגניים על-פני עלים, במחלות שונות – יכולת להיות באפנים שונים וכי-אתרי תקיפה רבים ושונים. בחלות בפתוגן ובתכונות המדפולוגיות הפיסיולוגיות של הפונקאי.

מטרה עבודת אלו היו – לבחון את ההתרחבות וההתפשטות של מחוללי הניקוד הגרב הבקטרי על-פני עלי עגבניה ופלפל, ולראות אם יש זהות או שונות בין התופעות הכרוכות במחלות בקטריאליות שונות.

שיטות וחמרים

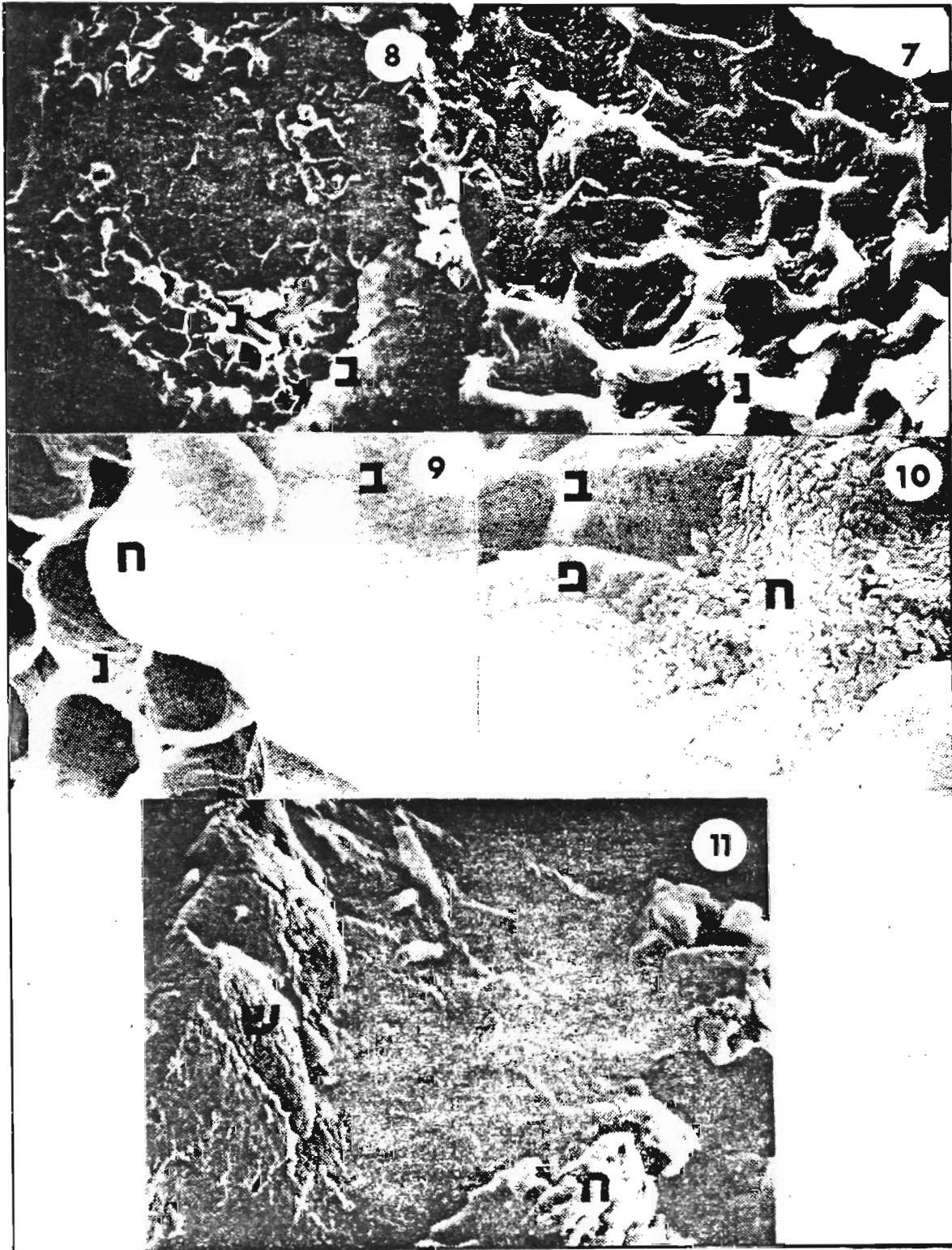
נעשתה הרבקה חרי-פעמית של החיידקים הפתוגניים המתאימים בצמחי עגבניה מזן עמיד ומזן רגיש ובצמחי פלפל מזן רגיש. בתום ההרבקה הועברו הצמחים לתנאי ערפל חלקיים. מדי יום נדגמו, באקראי, 10 מקטעים מעלי הצמח הצעירים. מקטעים אלה עברו צביעה או קיבוע לשם הסתכלויות מיקרוסקופיות. בשיטות שתוארו בעבודות אחרות (2, 4).



(המשך בעמוד הבא)

התפשטות והתרבות של מחלות בקטריאליות על-פני עלי צמחים

(המשך מעמוד קודם)





צורה שונה לחלוטין של מהלך הדבקה הובחנה בזן העגבניה העמיד, שהדבק ונדגם בדומה לזן הרגיש: החל בעת ההדבקה הלכו החידקים ונעלמו. כעבור 100 שעות לאחר ההדבקה עוד אפשר היה להבחין בחידקים בודדים על-פני העלים, וכעבור 140 שעות לאחר ההדבקה כמעט שלא נמצאו חידקים כלשהם על-פני העלים (5).

דיון

עד מחקרים חלוציים מראשית המאה, ועד ימינו, מוסכם כי הפתחים הטבעיים של הצמח קרי פיתויות ושערות, וכן פצעים – הם אתרי תקיפה חשובים לחידקים פתוגניים. לאחר הזריחה לרקמה מתרבים החידקים במהירות בחללים הבין-תאיים, ובדרך-כלל גורמים נקרוזה מאוחר יותר. כמעט אחר התרבות החידקים נרקמה נמצאו הבדלים בין שתי המחלות הבקטריאליות לגבי אתרי התקיפה, אף על פי שמחולליהן הם חידקים מאותה משפחה ושהן תוקפות צמחים מאותה משפחה בוטנית – סולניים. מחולל הניקוד הנקטר מעדיף את פתחי הפיתויות וחללי שערות כאתר תקיפה, ואילו מחולל הגרב הבקטרי מעדיף את עורקי הצמח להתבססותו הראשונית. עם זאת, התקיפה הראשונית היא באוכלוסיות קטנות יחסית של חידקים, דבר המוכיח את הכלל, שגם במערכות צמחיות אלו, אפילו אוכלוסיות זעירות של חידקים פתוגניים באתר המתאים – מספיקות כדי לחר לל מחלה, ואכן, מחלה זו נצפתה אחרי-כן. המשך התפתחות המחלה לוח היה דומה, למעט הבדלים קטנים הנובעים כנראה נאמורפולוגיה שונה של הצמחים הנדבקים. כשרם של הפתוגנים להזרבות בתוך העלים ועליהם יכול להסביר את שרידותם הטובה בשאריות צמחים (1, 3). אמנם רוב האוכלוסיה שברקמה מושמד; אולם מכיון שהמספר ההתחלתי של החידקים היה גדול ביותר – הרר שאוכלר סייט החידקים שנוותרה מספיקה כדי לחולל מחלה מאוחר יותר. יתרה מכך: אוכלוסיות ענק של חידקי עלים יכולות לזהפעיל אנוי מים לפירוק יעיל יותר של הרקמה מבחור, בנוסף לפירוק הפנימי שחל. יחד עם זאת מונעת האוכלוסיה הפתוגנית שעל העלים התח-רות מצד מיקואורגניזמים אחרים, שנודמנו במקרה לא יזור הנגוע. מכאן, שהצמח מהווה לפתוגן מעין מצע סלקטיבי לתקופה ממושכת, מגן על קיומו, וכל זה במסגרת של אירועים המסתיימים בדרך-כלל לרעת הצמח.

הבעת תודה

תודתנו לנעמי בהט ולשהר דיאב, על עזרתם הטכנית. מתגור זה נתמך חלקית במענק מס' 823/026 של משרד החקלאות, וכן במענק (8-214:1 של תקרן למחקר חקלאי ישראל – ארה"ב (BARD).

ספרות

1. בשן י., אוקון י., הניס י. (1978): איך משתמר מחו לל הניקוד הבקטרי מעונה לעונה? "השדה" נ"ח: 862 – 865.
2. בשן י., אוקון י., הניס י., דינור ע. (1977): כיצד נדבקת עגי בניית במחלת הניקוד הבקטרי? "השדה" נ"ח: 437 – 444.
3. בשן י., דיאב ש., פינקלשטיין ע., אוקון י. (1982): כיצד משתמר מחולל הגרב הבקטרי בפלפל בתוך עונה הגידול ובין העונות? "השדה" ס"ב: 2092 – 2097.

(המשך בעמוד הבא)

1. תמונה 1. צילום במיקרוסקופ אור: מושבות זעירות של מחולל הניקוד הבקטרי בעגבניה (חיצים המראים על אזורים כחים) בפתחי הפיתויות וב-בסיסי השערות (הגדלה x1000).
2. תמונה 2. צילום במיקרוסקופ אלקטרוני סורק: מחולל הגרב הבקטרי בפלפל בפתח הפיתויות (x3000).
3. תמונה 3. מושבה זעירה של מחולל הגרב הבקטרי (ח) בחללים הבין-תאיים מתחת לרקמת האפידרמיס (x1000).
4. תמונה 4. מושבה זעירה של מחולל הניקוד הבקטרי הממוקמת בפיתויות העגבניה, 48 שעות לאחר ההדבקה (x3000).
5. תמונה 5. התרבות מחולל הגרב הבקטרי בשקעים ובאזור עורקי העלה של צמח הפלפל, 48 שעות לאחר ההדבקה (x2400).
6. תמונה 6. תאי מחולל הניקוד הבקטרי בשערות שבורות של עלה עגבניה (x1300).
7. תמונה 7. נקרוזה אפיונית במחלת הניקוד הבקטרי: התמוטטות האפידר-מיס כלפי מים (x2400).
8. תמונה 8. נקרוזה אפיונית במחלת הגרב הבקטרי בפלפל: התרוקנות של תאי האפידרמיס המתים (x180).
9. תמונה 9. קו הגבול בין רקמה נקרוטית לבין רקמה שטרם התמוטטה. תאי מחולל הניקוד הבקטרי נראים עד לקו הגבול.
10. תמונה 10. "זרמים" אפיוניים של חידקי הניקוד הבקטרי, 120 שעות לאחר ההדבקה (x2200).
11. תמונה 11. הרס בסיסי שערות העגבניה 140 שעות לאחר ההדבקה במחולל הניקוד הבקטרי (x3600).

קיצורים:

פ – פיתויות, ש – שערות עלה; ח – חידקים; נ – רקמה נקרוטית
מתה; ב – רקמה חולה הנראית כבריאה; ע – עורק.

רוזה עצמה: הנקרוזות היו תמיד נקיות לחלוטין מחידקים בודדים או ממושבות זעירות שלהם. בבדיקה אוכלוסיית החידקים שבתוך ה-עלים, באתרים קרובים לנקרוזה, הובחן כי הרקמה מוצפת בחידקים. מאוחר יותר התפרצו חידקים אלו החוצה וכלו לשגשג מקור להרב-קות משנית.

כעבור 120 שעות לאחר ההדבקה הובחנו באתרים רבים על-פני העלה (בשתי המחלות) "נחלים" ו"זרמים". המכילים מספרים גדולים של חידקים (תמונה 10) (6). לעתים היו העלים מכוסים במספר שכבות רב של חידקים, ולא ניתן היה לזהות את הפרטים המורפולוגיים של פני הצמח, בשל אוכלוסיית החידקים המאסיבית. בשל כך לא אותרו אפילו האזורים הנקרוטיים שהיו בתחילה נקיים מחידקים. כעבור 7 ימים לאחר ההדבקה אפשר היה להבחין בנקרוזות רבות במקומות שונים בעלים. בעגבניה, במיוחד, פורקו בסיסי השערות ונתלשו (תמונה 11). מקומות שלא קרסו או התפרקו היו מכוסים באוכלוסיה צפופה ואחידה יחסית של חידקים.

התפשטות והתרבות של מחלות בקטריאליות על-פני עלי צמחים

(המשך מעמוד קודם)

4. Bashan, Y., Kritzman, G., Sharon, E., Okon Y. and Henis, Y. (1981). J. Appl. Bact. 50: 315—317.
5. Bashan, Y., Sharon, E., Okon, Y., and Henis, Y. (1981). Physiol. Plant Pathol. 19: 139—144
6. Sharon, E., Bashan, Y., Okon, Y. and Henis, Y. (1982). Can. J. Bot. 60: 1041—1045.

SPREAD AND MULTIPLICATION OF BACTERIAL DISEASES ON THE LEAF SURFACE.

Y. Bashan, Edna Sharon and Y. Okon*.

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria* infection of pepper leaves and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* infection of tomato leaves were monitored by scanning electron and light microscopy. During incubation, *X. campestris* pv. *vesicatoria* became located in the intercellular spaces between the mesophyll cells. The primary infection sites were the vein areas. The pathogen reached high population levels on the

leaf surface but usually not in the stomata. Necrosis was first observed microscopically 120 h after inoculation near the leaf veins. Bacteria were detected in infected tissue but not in necrotic tissue.

The primary infection sites of *P. syringae* pv. *tomato* were the stomata and the bases of the leaf trichomes from which bacterial masses burst out at later stages of disease development. During incubation the bacteria disappeared from the surface of the leaves of the susceptible variety and became located in the intercellular spaces. Lesions increased in numbers and in size until the leaves were totally infected with bacteria. Bacteria disappeared from the leaves of the resistant tomato cultivar within 140 h of inoculation.

* Department of Plant Pathology and Microbiology, Faculty of Agriculture, P.O.Box 12, Rehovot, Israel.