

השתמרות ומעבר- זרעים של מחולל מחלת החלפת בכותנה

נאת יואב בישן, המחלקה למחלות צמחים
ומיקרוביולוגיה, הפקולטה לחקלאות, רחובות

קרקע מזון. מדידת כמות הפטריה בצמחים נעשתה על-ידי מדידת
אחד מרכיבי הפטריה (גלוקוקאמין). הנוכח בצמח.

תוצאות

נסיונות בידוד מחולל המחלה מפרחים, מפטוטרות ומהלקטים
זרעי הכותנה נמצאים תחת מעטה מוגן (ההלקט וסיביו) ברוב זמן
הגידול. לפיכך נעשו נסיונות לבודד את הפטריה מהחלקים הפנימיים
של איברי הצמח הקרובים לאתר הימצאות הזרעים.

המדגמים נלקחו מהלקטים גדולים (5-6 ס"מ) הנגועים ביותר
מ-10 כתמים להלקט. מהלקטים גדולים הנגועים באופן קל (2-3
כתמים להלקט). מהלקטים קטנים מ-2 ס"מ נגועים (כל ההלקטים
שנדגמו היו סגורים). מחנטים קטנים מסנטימטר אחד, מפרחים
לאחר החנטה, ומפטוטרות של הלקטים נגועים.

מפניהם של איברי צמח אלו אפשר היה לבודד את הפטריה
בקלות יחסית. אולם לאחר חיטוי חיצוני ופתיחה סטרילית של איברי
הצמח התוצאת הזרעים מתוכם - לא נמצאה נוכחות של הפטריה
באתר הזרעים או על פניהם, וזה אף על פי שהזרעים הודגרו ממושך
כות על מצע גידול מיטבי לפטריה.

ניסויים אלו נעשו 4 פעמים במהלך העונה, והתוצאות היו דומות.

הדבקת חלקי צמח פנימיים בהזרקה איטית

מכיון שהפטריה לא אותרה בתוך הצמח בשלבי הגידול השונים
- נערכו ניסויים במטרה לאלח מלאכותית חלקים פנימיים של
הצמח, כדי לבדוק אירועים החלים בצמח בעקבות "מחלה" פנימית.
ההדבקה נעשתה בשיטת ההזרקה האיטית (6-7 שעות) לתוך בסיס
ההלקט שפותחה בשביל מחלות בקטריאליות. איברי הצמח שהוזרקו
בתרחיפי נבגים שטופים בני מ"ל אחד (1000/מ"ל ר"100/מ"ל) היו:
הלקטים גדולים מ-5 ס"מ, הלקטים קטנים מסנטימטר אחד, פרחים
פורחים, ניצנים שטרם נפתחו, עלים וקרקודי צמיחה. בתום תקופת
הדגרה בת 10 ימים נעשו בידודים מכל חלקי הצמח הפנימיים לאחר
חיטוי חיצוני. התוצאות הן ממרצע של 3 ניסויים שנעשו ב-25 איברי
רים מזרקים לכל טיפול בכל ניסוי. להיקש שימשו איברי צמח
שהוזרקו בהם מים מעוקרים ומזוקקים.

סימפטומי חלפת נראים לא הופיעו אף באחד מאיברי הצמח
המזרקים, אולם הפטריה היתה נוכחת הן באיברים שנשרו והן באלו
שלא נשרו. התופעה הבולטת ביותר של ההזרקה היתה - נשירת

מבוא

מחלת החלפת בכותנה, שמחוללת הפטריה *Alternaria macrospora*, היא אחת מפנעי הכותנה החשובים. אף כי מחולל
המחלה ידוע מזה שנים רבות בעולם וכישראל (2,6) - מעט מאוד
מחקרים נעשו בנידון זה, רובם במזרח הרחוק ובאפריקה ומיעוטם
בארצות המערב.

הפטריה, התוקפת את נוף צמח הכותנה ואח הלקטי, מופיעה עוד
בפסיגים (1). אין מידע, כיצד הודבקו הפסיגים (לעמים במידה ניכרת
למדי) כאשר המידבק בשדות מועט יחסית. הוצע, שהפטריה שורדת
בשיירי צמחים (4,5), וכן אותרה בריכוזים קטנים במכסות זרעים
(3). אולם עדיין אין הוכחה, שזרעים מאולחים עלולים להעביר את
המחלה לנוף הצמח. אף לא ברור, כיצד הגיעה הפטריה לזרעים
ונשתמרה בהם, מכיון שבתצפיות שדה לא הוכחנה תקיפת הפטריה
בסיבי ההלקט, וכן עוברים זרעי הכותנה פילום בחומצה גפריתנית
חיטוי בכספן רטוב.

מטרה עבודה זו היתה - להוכיח מעבר אפשרי של הפטריה
מהזרעים לעלוה, וכן לנסות ולקבוע מתי אולחו הזרעים במחולל
המחלה.

שיטות וחמרים

גידול הפטריה ובידודה נעשו על מצע סינתטי או כללי, בתוספת
אנטיביוטיקה. נביגה הושרתה על-ידי חשיפת התפטיר שגדל בחורשך
לכ-15 דקות אור שמש והחזרתו לחושך. הנבגים המגורדים ממצע
המזון הורחפו ב-0.1% תמיסת אנטיביוטיקה לצרכי הדבקה בריסוס או
נשטפו תחילה, סורכזו והורחפו בתמיסת האגר הנחלית לצרכי הדבקת
זרעים או תצפיות מיקרוסקופ הסריקה האלקטרונית. הדבקת פרחים
נעשתה בריסוס עד נגירה, בקילוח עדין ביותר, תוך הגנה על שאר
חלקי הצמח מאילוח - בלוח פלסטיק שנקרע בו חור בגודל
פטוטרת ההלקט או הפרח. כל איברי הצמח המרוססים סומנו בסרטי
סימון. חיטוי חיצוני נעשה בזרעים - על-ידי שרייה ב-1% תמיסת
היפוכלורית הנתרן ר-3 שטיפות עוקבות במים מעוקרים, ובהלקטים
- על-ידי טבילתם בכוהל למשך שעות אחדות ושריפתם. ספירת
יחידות הפצה של הפטריה נעשתה על-ידי ריסוק איברי צמחי נגוע
במטחנה מעוקרת, מיהול הרסק בתמיסה פיסילוגנית חריעתו על



מדיאגרמה 1 נובע, כי למחולל מחלת החלפת בכותנה אין הכושר לחזור דרך דופן ההלקט ולהגיע לזרעים. זיהום הזרעים בנבגי הפטריות חל ברגע שההלקט נפתח בשני הזנים כאחד. השלב שבו חלה הדבקת ההלקטים אינו חשוב לאילוח זרעים. כאשר נדבק הצמח – יאולחו הזרעים מאוחר יותר, גם אם ההלקט עצמו אינו מאולח. אולם לאילוח פרחים בתנאי שדה יש השפעה ניכרת על הנשירה. בדומה לתופעה שהודגמה בהזרקה לתוך פרחים, אף כי בעצמה פחותה.

השפעת אילוח זרעים בריכוזי מידבק שונים – על התפתחות חלפת בפסיגים

בניסויים הקדמיים של אילוח זרעים מלאכותי הובחן, כי קיימת אפשרות מעבר של הפטריה מקליפת הזרע לפסיג. אולם בשל תנאי הלחות המרובה, הנדרשים לתהליך זה, תקפו פטריות לא פתוגניות את קליפת הזרע וגרמו שיבושים בנביטה. לפיכך אולחו זרעים מחוטאים, הן מזן רגיש והן מזן עמיד. בנבגי הפטריה בריכוזים 10, 100, 500, 1000 ו-10000 נבגים/מ"ל, ונזרעו בוורמיקוליט מעוקר באוטוקלב. לאחר הזריעה הועברו העציצים לתנאי ערפל חלקיים (בשעות הלילה) בחדר ערפל. מכל הפסיגים נעשו בידודים ממדגמים שנלקחו מגבעוליהם.

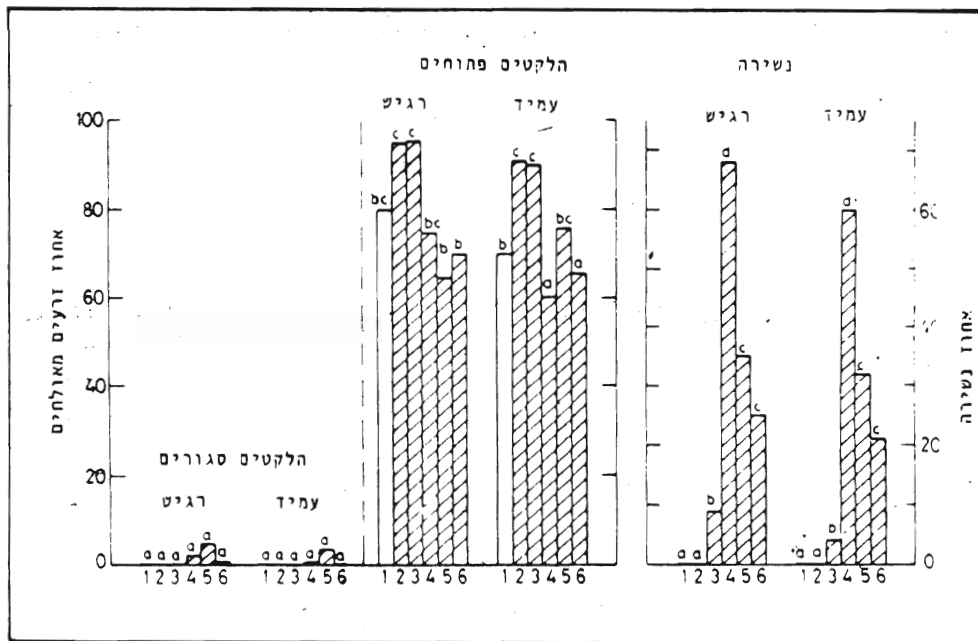
נמצא, כי אילוח נבגים ברמה נמוכה של 100 נבגים/מ"ל (ריכוז הדבקה) יצר מוקד קטן של נבטים נגועים. עצמת ההדבקה הלכה וגברה ככל שגדל ריכוז המידבק (דיאגרמה 2).

(המשך בעמוד הבא)

האיברים המזורקים, שהיתה ניכרת ביותר בניצנים והלכה ופחתה בעצמתה ככל שההלקט התבגר. תופעה זו התגברה ככל שרמת המידבק היתה גבוהה יותר. עלים וקדקודי צמיחה נפגעו מתופעת הנשירה במידה הפחותה ביותר.

תופעה נוספת שהתגלתה היא, שכאשר חל אילוח פנימי של ההלקטים – אולחו גם הזרעים. אחוז הזרעים הנגועים בחלפת כהלקטים שלא נשרו – פחות במידה ניכרת מאחוזם כהלקטים נושרים. מידת הנגיעות בזרעים אינה תלויה ברמת המידבק ולא בגיל ההלקט המודבק. עם זאת ראוי לציין, שבתצפיות נמשכות על הצמר חיס במהלך העונה הוברר, שהלקטים נגועים פנימית גדלו בצורה מנוונת, יחסית להלקטים שאינם מאולחים, ובסוף העונה – אחוז ניכר מהם (82%) לא נפתח כלל. תופעה דומה נצפתה בשדות כותנה מסחריים; אולם ראוי לציין, כי שיעור ההלקטים הפגועים בפנים היה מועט (2.5% ו-0.5% בשני מדגמים של 250 הלקטים כל אחד).

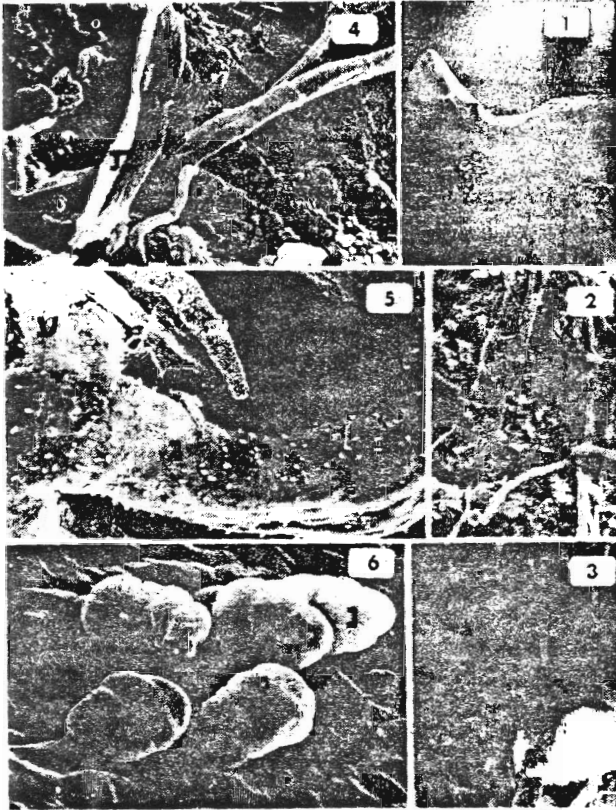
הדבקת פרחים בנבגי אלטרנריה ובדיקת מעבר אפשרי לזרעים פרחי כותנה והלקטים מהזן פימה בגילים שונים, הודבקו בריסוס עדין בשעות הלילה, בשעה ששרר טל כבד בשדה, במידבק נבגים בריכוז 12000 נבגים/מ"ל, 100 הדבקות לטיפול, תוך הגנה על שאר הצמח מתרחיף הנבגים, בעזרת לוח פלסטיק. גילי הפרחים וההלקטים נבדקים היו: פרחים פתוחים, פרחים שחנטו יום קודם לכן, פרחים שטרם נפתחו ופקעים, הלקטים קטנים מסנטימטר אחד והלקטים גדולים מ-3 ס"מ. 50 יום לאחר ההדבקה חוטאו ההלקטים חיצונית ונעשה בידוד אלטרנריה מהזרעים. מאוחר יותר נעשה ניסוי דומה בצמחי כותנה מהזן אקאלה, שגדלו ברליים.



דיאגרמה 1. אחוז זרעים מאולחים בהלקטי כותנה סגורים ופתוחים לאחר הדבקה מלאכותית: 1 – היקש לא מודבק; 2 – הדבקת הלקטים גדולים; 3 – הדבקת הלקטים קטנים; 4 – הדבקת פרחים שחנטו יום קודם לכן; 5 – הדבקת פרחים פתוחים; 6 – הדבקת פקעים.

השתמרות ומעבר-בזרעים של מחולל מחלת החלפת בכונה

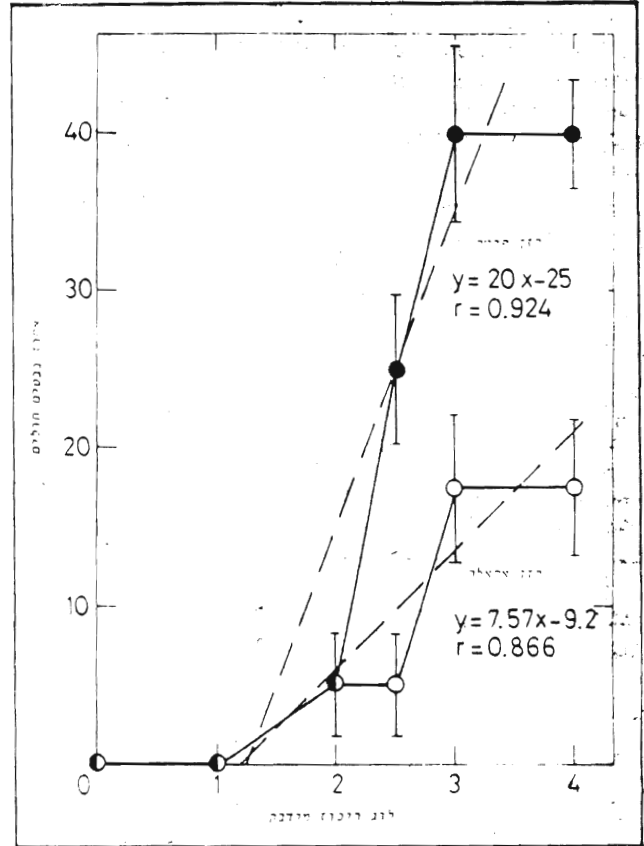
(חמשן מעמוד קודם)



תמונה 1. אתר הצילומים - מקום נביטת זרע הכותנה, x22.
 תמונה 2. תפטיר אלטרנריה על-פני הזרעים 24 שעות לאחר ההדבקה, x470.
 תמונה 3. התעצמות תפטיר אלטרנריה על-פני הזרעים 48 שעות לאחר ההדבקה.
 תמונה 4. חדירת תפטיר אלטרנריה לתוך בסיס הניצרון הנובט, x2400.
 תמונה 5. נביגה מאסיבית של אלטרנריה על-פני גבעול הפסיג.
 תמונה 6. נביגת אלטרנריה על-פני עלי הפסיג.
 קיצורים: ג - גבעול; ז - זרע; ת - תפטיר; נ - נבג; ע - עלה.

והן בון הרגיש, ולא נראו הבדלים בין פסיגי הזנים השונים. עם זאת, כספירת הנבגים על-פני עלי הפסיגים הובחן כי על-פני עלי הזן העמיד הנביגה הפטרית פחות.
 במדידת כמות התפטיר בתוך הצמח נמצא, כל היא היתה דומה בזרעים המאילחים שפיתחו נבטים נגועים, בשני הזנים.

בידוד מחולל המחלה מצמחי ספיה נגועים ומהלקטים שנקברו על-ידי הפיכת השטח בתום הגידול.
 צמחי ספיה כותנה יכין הלקטים קבורים או מונחים על-פני השטח, משדית כותנה חרושים, נאספו בעמק בית-שאן, בצפון השרון ובאזור החיבית, בחודש פברואר 1983. חלק מאיברי הצמח עברו חיטוי חיצוני לפני ריסוקם, ונספרו יחידות ההפצה של הפטריה עליהם או בתוכם.



דאגרה 2. התפתחות פסיגי כותנה נגועים מזרעים מאולחים בריכוזים שונים. קו מרוסק מראה התאמה מתמטית ברמות 10-1000 נבגים ריכוז מידבק מקורי.

ראוי לציין, כי ברוב המקרים לא הופיעו סימפטומים אפייניים על-פני הפסיגים, והמחלה זוהתה על-סמך בידודי הפטריה מכל נבט תבט כנפרד.

מעבר הפטריה מקליפת הזרע לפסיגים הנובטים
 זרעי כותנה מהזנים פימה ואקאלה אולחו מלאכותית בתרחיף נבגים שהכיל 100 נבגים/מ"ל. הזרעים הנובטו בוורמיקוליט סטרילי מוספג בתמיסת מזון לצמחים בחושך. מדי יום נדגמו הזרעים הנובטים והוכנו מרגמים למיקרוסקופ אלקטרוני סורק.
 נמצא כי הזרעים אולחו בכמות נבגים קטנה יחסית, וקשה היה לאסוף נבגים בודדים על-פני קליפת הזרעים. כעבור 24 שעות נצפתה הופעת תפטיר במקומות אחרים על-פני קליפת הזרע (תמונה 1). תפטיר זה הלך והתעצם 48 שעות לאחר ההדבקה (תמונה 3). במקומות מסוימים - פתח הגחתי הניצרון - הובחנה חדירה של הפטריה לתוך הנצר הנובט (תמונה 4). לאחר יומיים נוספים הובחנו נביגה מאסיבית על-פני גבעול הפסיג (תמונה 5) ונביגה מועטת יותר על-פני הפסיגים עצמם. תופעה זו חלה הן בון העמיד



טבלה 1. הישרדות חלפת בתום העתה בצמחי ספית, בשאריות צמחים, ובזרעים של צמחים אלו.

זרעים נביטים, %	ממצע יחידות אלטרנריה בנים רקמה		מצב הצמח בזמן מציאתו
	מתטא	לא מחוטא	
			בהלקטים פתוחים
122	342	1200	צמח ספית
10.5	0	23	צמח קבור
38	18	42	צמח מתח על-פני השטח
			בהלקטים סגורים
0	0	1050	צמח ספית
0	0	63	צמח קבור
0	0	51	צמח מתח על-פני השטח
			בגבעולים
—	0	1420	צמח ספית
—	0	0	צמח קבור
—	0	10	צמח מתח על-פני השטח

מספרים המלווים באותיות שונות באותו טור נבדלים זה מזה באופן מובהק. $P = 0.05$.

מטבלה 1 נובע כי בצמחי ספית כותנה בשולי השדות אפשר למצוא אוכלוסיה ניכרת של הפטריה. אוכלוסיה זו נמצאת על-פני הצמח ומאלחת את הזרעים רק אם ההלקטים היו פתוחים, ובמידה מועטה יחסית. בשאריות צמחים הנמצאות על-פני השטח או קבורות באדמה לאחר חרישה היתה האוכלוסיה פחותה במידה ניכרת, ואפשר היה להניח כי עד לעונה העוקבת של גידול הכותנה תצטמצם אוכלוסיית הפטריה עוד, עם התפרקות שאריות צמחי הכותנה בקרקע. גם בזמן הדגימה (פברואר) קשה היה לאתר שאריות צמחים בשדות החרושים.

דיון

נגיעות פסיגי הכותנה במחלת החלפת היא תופעה שנצפתה בשנים האחרונות. אפשר להניח, שפסיגים נגועים אלו הם מקור מידבק לצמחים הגדלים בשדה. מקורות אלו אפשיים הם: (א) השתמרות הפטריה בשאריות צמחים, שהיא תופעה ידועה (4, 5). אולם מכיון ששאריות צמחי הכותנה בישראל מוטמנים רובם-ככולם בקרקע ונקרבים — סביר לשער שמקור מידבק זה אינו הגורם העיקרי בהעברת המחלה. (ב) זרעים מאולחים במחולל המחלה אותו גם לאחר פילום וחיסוי (3), אולם לא ידוע אם זרעים נגועים מסוגי לים לפתח צמחים נגועים, ואף לא ברור היכן ומתי אולחו הזרעים, מכיון שלא נדגמו בשדה. (ג) קרקע, צמחים לא פונדקאים וצומח הכר טרם נבדקו. בשלב זה של המחקר נראה, שזרעים מאולחים יכולים לשמש מעביר יעיל של המחלה. במחקר זה הוברר, שהפטריה מסוגלת לעבור מקליפת הזרע לפסיגי גים הנובטים, הן בזן הידוע כרגיש למחלה והן בזן שהוא עמיד לה יחסית. הפסיגים המתפתחים חולים; המקום הנגוע ביותר בהם הוא

גבעול הפסיג, וממנו עלולים נבגים להתפזר באמצעות הרוח או השקיה ולהדביק צמחים שכנים. גם בריכוז זעום של נבגים על-פני הזרע מסוגלת הפטריה להדביק את הפסיג הנובט, וההבדל במידת העמידות בין הזנים אחרי-כן — כנראה אינו נובע מעמידות בפסיגים.

נמצא כי הפטריה אינה בעלת כושר חדירה אקטיבי לתוך ההלקט. אולם, כשנוצרת אפשרות חדירה, באמצעות פצע (מפגיעת חרק, ציפור או מפגיעה מכנית) — זרעי ההלקט מתאלחים בפטריה וההלקט עצמו מתנוון. יחד עם זה, המעבר העיקרי של הפטריה לזרעים הוא לאחר הפתיחה הטבעית של ההלקט, כאשר סיכוי נחשד פים לסכיבתם, וכשיש בסכיבה צמחים מאולחים ומנביגים קיימת אפשרות לאילוח ההלקט. מחקר בהדברת מחלת החלפת צריך אפוא להביא בחשבון הכוונת מועדי ההדברה וטיבה למועד רגיש זה של הגידול.

תופעה בולטת נוספת שנתגלתה — היא נשירת פרחים, ובעיקר פקעים, בעקבות ההדברה. אולם ככל שחולף הזמן מפקע ההלקט מבוגר — הולכת הנטייה לנשירה ופוחתת, והלקטים בוגרים כמעט שאינם נרשרים.

אף כי רווח שאלטרנריה משתיירת בשאריות צמחים, ושאריות אלו הן מקור המידבק לעונה החדשה (1) — נמצא בשדות כותנה, כי צמחי ספית כותנה שלא מתו או התפרקו ונשארו לצמוח בשדה הכילו יחידות ריבוי של הפטריה. הישרדות הפטריה בשאריות צמחים קצורים, בייחוד אלו הקבורים לחלוטין או למחצה בעקבות החרישה בסוף העונה — מועטה. כמו כן, גדידות צמחים שלמים בלתי פגועים של כותנה על-פני הקרקע בעונת החורף, בשדות חרר שים, חדשים אחדים לפני עונת הגידול החדשה — מצביעה כי הישרדות הפטריה בשאריות צמחים היא בעלת חשיבות משנית בהעברת הפטריה מעונה לעונה.

מתוצאות מחקר זה מסתבר, כי רבה הסכנה שהזרעים יהיו מוקד מחלה ראשוני בשדה, וכי אילוח זרעים במחולל המחלה בשדות נגועים הוא תופעה רגילה ונפוצה, שבשלב הנוכחי קשה למנעה.

הבעת תודה

תודתי נתונה לגיסי סינר מתיכון דה-שליט ברחובות ולרתי שחורי מתיכון אילון בחולון, על עזרתם בחלקים של עבודה זו.

ספרות

1. כשי א., רחם י., זקס י. (1982): מחלת החלפת ככותנה: אפיר דמיולוגיה והדברה. "השדה" ס"ג: 451 (תקציר).
2. חורין מ., רחם י. (1958): מחלת כתמים על עלי הכותנה. "השדה" ל"ח: 648 — 649.
3. חלפון-מאירי ע. (1982): הפטריה אלטרנריה מקרוספורה נישאת ומרעבת על-ידי זרעי הכותנה. "השדה" ס"ג: 451 (תקציר).
4. נבו ד. (1980): מחלות בצמחי כותנה. "השדה" ס': 1187 — 1189.
5. נבו ד., הדס ש. (1981): מחלות בצמחי כותנה. "השדה" ס"א: 869 — 874.
6. C.M.I. (1970): Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 246, Kew.