



Research article

מאמר מחקר

השפעת חיטוי סולרי על חברת החיידקים בבית השורשים של חציל (*Solanum melongena*) נגוע בנמטודות יוצרות-העפצים (*Meloidogyne incognita*)

א' שיטנברג^{1*}, ר' אלכסנדר שני¹, ח' דימרץ¹, ש' פיבונה²

1 היחידה לחקר הגנום המיקרוביאלי, מרכז מדע ים המלח והערבה, שלוחת ים המלח, מצדה
2 המחלקה להגנת הצומח, מ"פ ערבה תיכונה וצפונית, תמר, ספיר

* פרטי התקשרות: amir@adssc.org 8 9448741 +972

ת ק צ י ר

חיטוי סולרי של שדות חקלאיים יעיל מאוד כנגד נמטודות יוצרות-העפצים. עם זאת זו פרקטיקה שעלולה לפגוע בחברת המיקרואורגניזמים בקרקע, וביכולתה לעורר עמידות טבעית נגד טפילים. במחקר זה בדקנו אם חברת החיידקים בנישות השונות של בית השורשים בחצילים נגועים בנמטודות יוצרות-העפצים (*Meloidogyne incognita*) נפגעה עקב השימוש בחיטוי סולרי. כמו כן בדקנו אם יעילותו של החיטוי הסולרי כנגד נמטודות יוצרות-העפצים היא תוצאת הפגיעה בסימביונטים שלה או תוצאת הפגיעה בנמטודה עצמה. שימוש בשיטה המעבדתית PCR (Polymerase Chain Reaction) כמותי הניב שלושה ממצאים: (1) הוא הראה בבירור שהחיטוי הסולרי יעיל מאוד בקטילה ישירה של הנמטודה; (2) באפיון חברת החיידקים בנישות השונות לא נצפתה השפעה של החיטוי הסולרי על חברה זו, ועל כן לא נראה שהחיטוי הסולרי פועל לעיכוב הנמטודה באמצעות השפעה על הסימביונטים שלה; (3) נמצא שהחיטוי הסולרי שנערך בניסוי זה לא פגע ביציבות חברת החיידקים.

מילות מפתח:
נמטודה יוצרת-העפצים
חיטוי סולרי
הדברה ביולוגית
מיקרוביום
Metabarcoding

המיקרואורגניזמים שמצויים בקרקע ובשורשי המאכסן, ובכללם גם לפתוגנים פוטנציאליים של התולעים. בתוך השורש משרים זחלי הנמטודה את התפתחות תאי הזונה הנקראים "תאי ענק" (giant cells) מתאי קסילם פרנכימטיים. בעקבות זאת מתחילה חלוקה נמרצת של תאי הקורטקס של השורש, והיא המובילה למופע השורשים המעופצים, שהוא הפנוטיפ המזוהה עם נמטודת יוצרת-העפצים. כל עפץ מכיל נקבה בוגרת אחת לפחות, שניזונה מתאי הזונה ייחודיים אלו (Jones, 1981; Qin et al., 2004; Sijmons, 1994; Wyss et al., 1992). בכמה משלבי מחזור החיים מסתייעות הנמטודות בחיידקים מפרישי צלולאז, או שהן מעוכבות על ידי פטריות וחיידקים אנטגוניסטיים (Li et al., 2011; Masai et al., 1999; Masai et al., 2007; Mergaert and Swings, 1996; Rosso et al., 1999).

חיטוי סולרי של אדמה חקלאית הוא טכניקה שבה מכסים את האדמה ביריעת פלסטיק לתקופה של 4–6 שבועות טרם הזריעה, על מנת להעלות

1. מבוא
נמטודות יוצרות-העפצים (*Meloidogyne* spp.; phylum Nematoda) נמנות עם מזיקי החקלאות ההרסניים ביותר כיום. הנזק המצטבר שהן גורמות כמעט בכל הגידולים החקלאיים עולה על מאה מיליארד דולר בשנה (Moens et al., 2009). מינים שונים בסוג זה נבדלים זה מזה בטווח המאכסנים שלהם ובתפוצתם הגיאוגרפית. בקצה הטווח נמצאים המין *Meloidogyne incognita* ומינים קרובים אליו קרבה פילוגנטית. ניתן לאתר קבוצת מינים זאת בכל האזורים שבהם הטמפרטורה המינימלית היא מעל 4°C (Trudgill and Blok, 2001). צפוי שהנזק שהקבוצה גורמת יתעצם בד בבד עם ההתחממות הגלובלית (Bebber et al., 2014).

זחלי נמטודות יוצרות-העפצים בוקעים בתוך האדמה, ומהביצים מגיחים זחלים שלב 2 אינפקטיבי (second stage juvenile – J2) שחודרים לשורש הקרוב. בדרך זו הנמטודות נחשפות לחברת

2. שיטות וחומרים

2.1 דיגום

דגימות נאספו מחממת מחקר של הציל (*Solanum melongena*) בתחנת המחקר יאיר בעין חצבה בחודש פברואר 2017. החממה, שנעשה בה שימוש בתערוכת שמונחת על פני הקרקע המקומית, משמשת לחקר הדברה של נמטודות יוצרות-העפצים, ולכן היא נגועה בנמטודות *M. incognita*. מחצית מחממת המחקר עברה חיטוי סולרי טרם הזריעה, לתקופה של שבועיים. זהו משך זמן קצר מהרגיל, שהוא 4–6 שבועות. אף על פי כן באזור המטופל התפתחו צמחים בריאים, ואילו באזור הנגוע גדלו צמחים לא מפותחים עם מחסור בפיגמנט (איור 1). הדגימות נאספו בחודש פברואר, באמצע עונת הגידול, משישה צמחים מהחלקה שעברה טיפול סולרי ומעשרה צמחים מהחלקה הלא מטופלת. בכל אחד מהצמחים נדגמו שלוש נישות: אדמה מבית השורשים, פיסת שורש לא נגועה ועפץ. הדגימות, למעט האדמה, עברו חיטוי חיצוני עדין באמצעות השריה למשך 15 שניות בתמיסת סודיום כלוריד 5%.



איור 1: חממת חצילים נגועה בנמטודות יוצרות-העפצים (*M. incognita*) במו"פ החקלאי ערבה תיכונה וצפונית, תמר. בחממה מימין - ערוגות שלא עברו חיטוי סולרי עם חצילים בעלי נגיעות גבוהה. בחממה משמאל - ערוגות שעברו חיטוי סולרי קצר (כשבועיים) עם חצילים בעלי נגיעות נמוכה

2.2 הפקת דנ"א, הכנת ספריית וריצוף

דנ"א מכל סוגי הדגימות – אדמה, עפץ ושורש בריא – הופק באמצעות ערכת MoBio PowerSoil htp DNA extraction, על גבי צלחות בנות 96 באריות. לכל בארית הוכנסה דגימת אדמה במשקל 0.25 גרם או דגימת שורש או עפץ קצוץ בנפח 1 מ"ל, שהוא מחצית מנפח הבארית. ההפקה נעשתה בהקפדה על תנאים סטריליים בתוך תא על-סגול (UV). אחרי ההפקה הוגבר הסמן המולקולרי, אזור V3-V4 של גן המטרה עם KAPA HIFI Ready mixed לפי הוראות היצרן. בכל דגימה בוצעו שלוש חזרות לפי הפרוטוקול של חברת אילומינה (Illumina inc., 2016). ריאקציית ה-PCR נערכה על פי התוכנית הזאת: לאחר דנטורציה של 2 דקות ב-98°C בוצעו 35 מחזורים, שבכל אחד מהם נערכה דנטורציה של 10 שניות ב-98°C, הצמדת פריימרים (annealing) למשך 20 שניות ב-55°C, ופולימריזציה במשך 7 שניות ב-72°C. פולימריזציה סופית באותה טמפרטורה

את הטמפרטורה באדמה ולקטול טווח רחב של טפילים (Gamliel and Katan, 2012; Lodha, 1995). חיטוי סולרי של האדמה כנגד נמטודות יוצרות-העפצים, בד בבד עם שימוש באמצעים אחרים, נמצא יעיל מאוד (Bonanomi et al., 2007; Gamliel and Stapleton, 1997; Gamliel et al., 2000; Hadar and Papadopoulou, 2012; Katan, 2000, 2010; Noble and Coventry, 2005; Pane et al., 2016; Yao et al., 2011). עם זאת יש חשש שהחיטוי הסולרי יפגע ביציבות המערכת האקולוגית בקרקע ויאפשר התבססות מזיקים ביתר קלות, שכן בעבר נמדדה ירידה בביומסה החיידקית בקרקע כתוצאה מחיטוי סולרי (Yokoe et al., 2015), ואף נצפו שינויים בחברת החיידקים בעקבות הטיפול (Kanaan et al., 2017).

חיידקים המצויים בריזוספירה יכולים לתפקד כאנטגוניסטים שמעכבים את המזיק באופן ישיר, כגורמי מחלה, כטורפים, כיצרני אנטיביוטיקה או כמגיבילי תנועה (Mahr and Ridgway, 1993; Stirling, 2011). נוסף על כך, מחקרים מהשנים האחרונות הראו שגידול ביבול מתאפשר גם על ידי יחסי גומלין אחרים בין הטפיל לבין מיקרואורגניזמים בקרקע, כגון תחרות על משאבים, עירור של מערכות ההגנה של הצמח עצמו ולעיתים אפילו אינטראקציה בין מיקרואורגניזמים שונים (Adam et al., 2014; Siddiqui and Shaikat, 2002, 2004). לשימור המערכת האקולוגית התקינה יש אפוא חשיבות בהתמודדות עם טפילים (dos Santos et al., 2017).

לאור האמור לעיל, נדרש להבהיר שני היבטים הנוגעים לקשר בין השימוש בחיטוי סולרי כטיפול בנמטודות לבין חברת החיידקים בבית הגידול שלהן. האחד הוא מנגנון הפעולה של החיטוי הסולרי נגד הנמטודות: חשוב להבין אם המנגנון פוגע בעיקר בחיידקים, שחלקם מסייעים למחזור החיים של הנמטודה, או שהוא פועל ישירות בקטילתה. חיידקים מפרשי צלולאז מסוג *Cellvibrio* שנמצאו בדגימות האדמה (Rosso et al., 1999), או חיידקים מהסוג *Allorhizobium* (Weerasinghe et al., 2005), הם דוגמה בולטת להבחנה זו. ההיבט השני נוגע לחשיבותה של המערכת האקולוגית בבית השורשים בכל האמור לעמידות השדה בפני טפילים, ולעובדה שבעבר נצפתה פגיעה ניכרת בחברת המיקרואורגניזמים בקרקע עקב שימוש בחיטוי סולרי (Bonanomi et al., 2008). מסיבות אלה יש לברר אם השימוש בחיטוי סולרי משפיע על מבנה חברת החיידקים בבית השורשים, באופן שמערער את יציבותה ועלול לאפשר התבססות של מזיקים.

על מנת לברר אם השפעת החיטוי על הנמטודות ישירה או עקיפה, כלומר דרך השפעה על המיקרוביום באדמה, ועל מנת לבחון את יציבות חברת החיידקים באדמה לאחר חיטוי סולרי, חקרנו את הרכב חברת החיידקים באמצעות אנליזה של רצפי רנ"א ריזובומלי (SSU-rRNA), שמקורם בנישות שונות בבית השורשים, והשווינו בין ערוגות חצילים נגועות בנמטודות *M. incognita* שעברו חיטוי סולרי בן שבועיים ושהראו תסמינים עדינים בלבד של מחלת תולעי עפצים בסוף העונה, לבין ערוגות שלא עברו חיטוי סולרי, ושנתקפו במחלה באופן אגרסיבי.

3.1 כימות תולעי העפצים בקרקע

ליצור בדיקה של השפעת החיטוי הסולרי על כמות תולעי העפצים בדגימות הקרקע, ערכנו PCR כמותי על גבי דנ"א שהופק מדגימות אלו, עם פריימרים ספציפיים לתולעי עפצים (Szitenberg et al., 2017). השימוש בערכת PerfeCTa Syber green של Quantabio נעשה על פי הוראות היצרן, על גבי מכשיר PCR כמותי AB 7500 RT-PCR. ההגברה נעשתה על פי התוכנית הזו: דנטורציה של 30 שניות ב-95°C, בוצעו 40 מחזורים, שבכל אחד מהם נערכה דנטורציה של 5 שניות ב-95°C, הצמדת פריימרים (annealing) למשך 15 שניות ב-64°C, ופולימריזציה במשך 25 שניות ב-72°C. לבסוף נערכה פולימריזציה למשך 5 דקות באותה טמפרטורה. בסופו של תהליך זה הייתה כל דגימה מסומנת בברקוד ייחודי. הדגימות אוחדו ועברו ניקוי נוסף באמצעות החרוזים המגנטיים (Agencourt AMPure XP). הספרייה נשלחה לריצוף במכשיר מיי-סק (MiSeq paired end, Reagent Kit v2) ביחידה לציוד בין-מחלקתי, הפקולטה לרפואה, האוניברסיטה העברית, עין כרם.

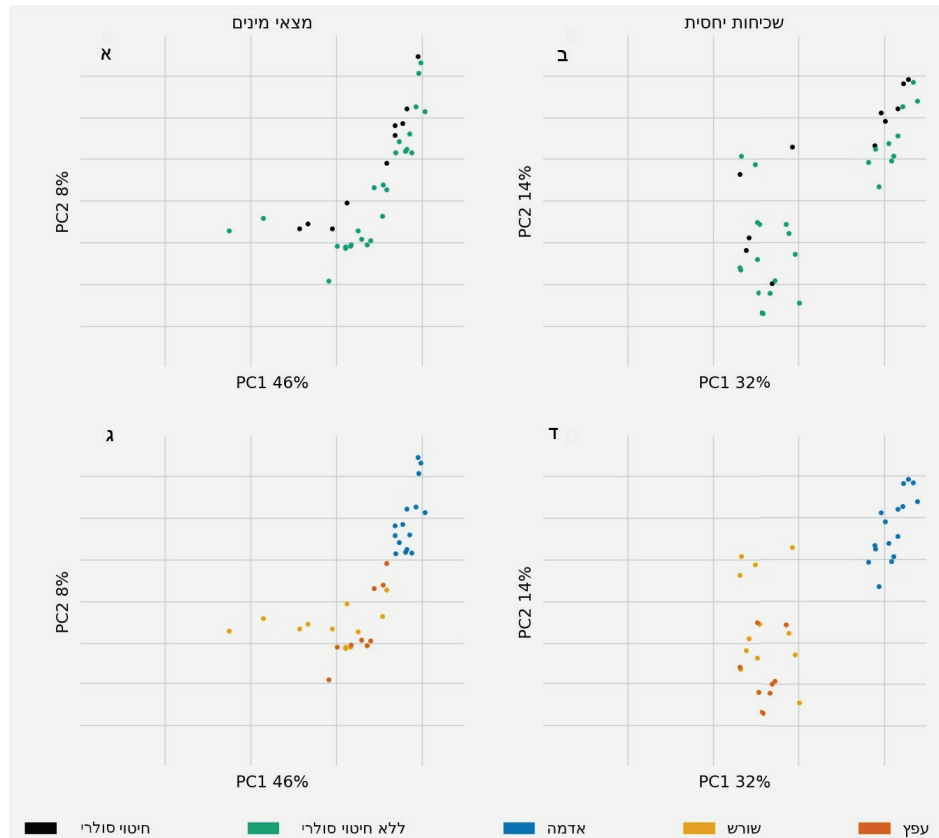
4. תוצאות

ביום הדיגום הראו הצמחים בחלקה המטופלת בחיטוי סולרי תסמינים מזעריים בלבד הקשורים לנגיעות בנמטודה (איור 1), ועפצים נמצאו רק בצמח אחד. לעומתם, הצמחים בחלקה הלא מטופלת היו לא מפותחים יחסית, ובכולם הייתה נגיעות שבאה לביטוי בקיומם של עפצים נראים לעין. בריאקציית הריצוף התקבלו לא פחות מ-20,000 רצפים עבור כל דגימה, בעוד על פי עקומות רוויה (rarefaction curves), המגוון הביולוגי יוצג היטב על ידי 10,000 רצפים בכל הדגימות, הן מבחינת מספר המינים והן מבחינת אינדקס שנון (Shannon Diversity index). הרכב חברת החיידקים בדגימות השונות אינו מיוחס לשימוש בחיטוי סולרי (ANOSIM p-value = 0.17), כמו גם באיור 2 ו-2ב, אבל נמצא שוני בהרכב חברת החיידקים בין הנישות שנדגמו (איור 2ג ו-2ד, ANOSIM p-value = 0.01). נוסף על כך, ההבדל בחברת החיידקים מקורו בהבדלים בשונות היחסית של הטקסונים בין הנישות (איור 2ד), אבל גם במצאי המינים בין הנישות (איור 2ג). החיידקים הנפוצים ביותר שנמצאו בשלוש הנישות (אדמה, עפץ ושורש) השתייכו למשפחות, Planctomycetaceae, Sphingomonadaceae, Erythrobacteraceae, Caulobacteraceae, Xanthomonadaceae, Pseudomonadaceae ו-Methylobacteriaceae, שכוללות מינים נפוצים של חיידקי ריזוספרה, בהם גם סימביונטים וטפילים של צמחים, ואף חיידקים מסוג *Celvibrio* ממחלקת *Gammaproteobacteria*. חיידקים רבים נוספים נמצאו רק בדגימות האדמה, מהמערכות *Acidobacteria*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes*, *Nitrospirae* ו-*Gemmatimonadetes*. השורשים הכילו חיידקים נוספים מהקבוצות *Rhizobiales* ו-*Micrococcales*, כולל חיידקים מהסוג *Allorhizobium* ואף חיידקים מעודדי גדילה מהקבוצה *Bacillales*. עפצים הכילו טפילי צמחים מהקבוצות *Rhodospirillales*, *Flavobacteriales* ו-*Burkholderiales* וכן *Verrucomicrobiales* וניזוני כטיין ממשפחת *Chitinophagaceae*.

נערכה במשך דקה. וידוא קבלת תוצרי PCR באורך הדרוש (500 בסיסים) נעשה באמצעות אלקטרופורזה על גבי ג'ל אגרוז 1.5%. שלוש החזרות של כל דגימה אוחדו ליצור ניקוי תוצרי ה-PCR באמצעות חרוזים מגנטיים (Agencourt AMPure XP) על פי הוראות היצרן. ריאקציית PCR נוספת ליצור הצמדת רצפי ברקוד ספציפיים לכל דגימה בוצעה לפי התוכנית הזאת: דנטורציה של 2 דקות ב-98°C, שמונה מחזורים, בכל אחד מהם דנטורציה של 10 שניות ב-98°C, הצמדת פריימרים (annealing) למשך 15 שניות ב-64°C, ופולימריזציה במשך 25 שניות ב-72°C. לבסוף נערכה פולימריזציה למשך 5 דקות באותה טמפרטורה. בסופו של תהליך זה הייתה כל דגימה מסומנת בברקוד ייחודי. הדגימות אוחדו ועברו ניקוי נוסף באמצעות החרוזים המגנטיים (Agencourt AMPure XP). הספרייה נשלחה לריצוף במכשיר מיי-סק (MiSeq paired end, Reagent Kit v2) ביחידה לציוד בין-מחלקתי, הפקולטה לרפואה, האוניברסיטה העברית, עין כרם.

3. ניתוח התוצאות

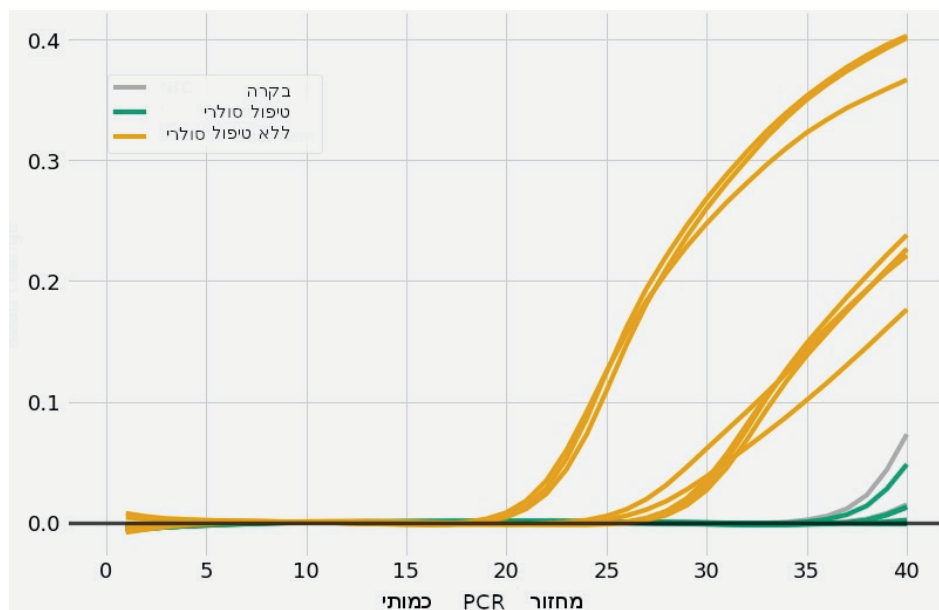
הרצפים שהתקבלו עובדו בתוכנת טרימומטיק (Trimmomatic 0.33) (Bolger et al., 2014) כדי להסיר רצפי אדפטורים (adaptors) וכדי לקטום קצוות בעלי איכות רצף נמוכה (פחות מ-25). הרצפים המעובדים קובצו לקבוצות בעלות שונות גנטית קטנה מ-70% על ידי שימוש באלגוריתם יוקלאסט (UCLUST) (Edgar, 2010), ומכל קבוצה נלקח רצף מייצג, הרצף שנמצא במרכז הקבוצה (centroid). קבוצות בעלות פחות משלושה רצפים הוחרגו מהמשך האנליזה. הרצפים המייצגים הוגדרו מבחינה טקסונומית על ידי האלגוריתם הבייזיאני (bayesian) של וואנג (Wang et al., 2007) בתוכנת מודר (Mothur 1.35) (Schloss et al., 2009) ובשימוש בבנק רצפי הרנ"א הריזובומלי (SILVA; SSU-rRNA NR) (SILVA). השכיחות היחסית של כל טקסון בתוך כל דגימה נקבעה על פי חלקה היחסי של הקבוצה המשתייכת לרצף המייצג מתוך סך הרצפים בדגימה. כך התקבל ההרכב הטקסונומי היחסי עבור כל אחת מהדגימות. על מנת לבדוק את השפעת הפקטורים הנבדקים על השונות בחברת החיידקים בין הדגימות (הנישה והשימוש בטיפול סולרי), בוצעה אנליזת principal coordinates ו-ANOSIM באמצעות מטריצת מרחקים בין דגימות (UNIFRAC), שמבוססת על הקרבה הפילוגנטית בין הטקסונים בכל אחת מהדגימות (Lozupone and Knight, 2005). לשם חישוב המטריצה שוחזרו היחסים הפילוגנטיים בין הרצפים המייצגים באמצעות התוכנה פאסט-טרי (FastTree 2) (Price et al., 2010), לאחר שההומולוגיה בין הבסיסים ברצפים המייצגים נקבעה באמצעות פי-נאסט (PyNast sequence aligner) (Caporaso et al., 2010) (1.2). המבחנים הסטטיסטיים בוצעו עבור מטריצת UNIFRAC המבוססת על שכיחויות יחסיות של הטקסונים ועבור מטריצת UNIFRAC נוספת, שמתעלמת מהשכיחות היחסית ומעניקה משקל שווה לטקסונים שכחים ונדירים באנליזה. האנליזות בוצעו באמצעות התוכנה QIIME 1 (Caporaso et al., 2010).



איור 2: השונית בחברות החיידקים בין הדגימות השונות על פי principle coordinates analysis: בין הטיפולים (א ו-ב); בין הנישות (ג ו-ד); בהתייחס לשכיחות היחסית של קבוצות החיידקים (ב ו-ד); מבלי להתייחס לשכיחות היחסית של קבוצות החיידקים (א ו-ג). חברת החיידקים משתנה בין הנישות שנבדקו, אך לא בין הטיפולים, באמצע עונת הגידול

(איור 3). הן בחלקות המטופלות ובחלקות הבקרה נראית הגברה זניחה בלבד בחמשת המחזורים האחרונים של הריאקציה. לעומת זאת בדגימות שנלקחו מחלקות שלא עברו טיפול סולרי, נראתה הגברה החל במחזור ה-18, והיא לא חרגה מעבר למחזור ה-27.

על פי תוצאות ה-PCR הכמותי, נראה שהחיטוי הסולרי פועל באופן ישיר כנגד הנמטודות, ולא דרך השפעה על אוכלוסיית החיידקים שתומכים בהן, שכן נמצא הבדל ברור בין דגימות הבקרה והדגימות שנלקחו מחלקות מטופלות לבין דגימות שנלקחו מחלקות לא מטופלות



איור 3: PCR כמותי לבדיקת הכמות היחסית של נמטודות יוצרת-העפצים בקרב דגימות קרקע שעברו סולריזציה ובקרב דגימות שלא עברו את התהליך

מקורות

- Adam, M., Heuer, H., Hallmann, J., 2014. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. *PloS One* 9 (2), e90402.
- Bebber, D. P., Holmes, T., Gurr, S. J., 2014. The global spread of crop pests and pathogens. *Global Ecology and Biogeography: A Journal of Macroecology* 23 (12), 1398–1407.
- Bolger, A. M., Lohse, M., Usadel, B., 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30 (15), 2114–2120.
- Bonanomi, G., Antignani, V., Pane, C., Scala, F., 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology: An International Journal of the Italian Phytopathological Society* 89 (3), 311–324.
- Bonanomi, G., Chiurazzi, M., Caporaso, S., Del Sorbo, G., Moschetti, G., Scala, F., 2008. Soil solarization with biodegradable materials and its impact on soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 40 (8), 1989–1998.
- Caporaso, J. G., Bittinger, K., Bushman, F. D., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Knight, R., 2010. PyNAST: A flexible tool for aligning sequences to a template alignment. *Bioinformatics* 26 (2), 266–267.
- Edgar, R. C., 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26 (19), 2460–2461.
- Fargette, M., Phillips, M. S., Blok, V. C., Waugh, R., Trudgill, D. L., 1996. An RFLP study of relationships between species, populations and resistance-breaking lines of tropical species of *Meloidogyne*. *Fundamental and Applied Nematology* 19 (2), 193–200.
- Gamliel, A., Austerweil, M., Kritzman, G., 2000. Non-chemical approach to soilborne pest management-organic amendments. *Crop Protection* 19 (8), 847–853.
- Gamliel, A., Katan, J., 2012. Soil and substrate disinfection in protected structures. In: Gullino, M. L., Katan, J., Garibaldi A. (Eds.), *Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops*. Am Phytopath Society, APS, St. Paul. Chapter 13, pp. 121–131.
- Gamliel, A., Stapleton, J. J., 1997. Improvement of soil solarization with volatile compounds generated from organic amendments. *Phytoparasitica: Israel Journal of Plant Protection Sciences* 25 (1), 31–38.

5. דיון

חקר חברת החיידקים שמלווה את נמטודת יוצרת-העפצים במחזור החיים שלה נמצא עדיין בחיתוליו. מאמצים רבים מושקעים בהבנת המערכת האקולוגית בקרקע ובשורש, ומטרתם לפתח פרוטוקולים שיביאו להטיית מבנה החברה הזו באופן שיגביר את עמידות הגידול החקלאי למזיקים בכלל ולנמטודה בפרט. בד בבד עם מאמצים אלה היום כבר רווחת ההכרה כי הגנה על הצומח החקלאי תבסס על שילוב של כמה שיטות, בהן שיטות ביולוגיות, פיזיות וכימיות, במינונים שונים, ועל כן יש לברר את התאימות בין השיטות השונות.

במחקר זה שאלנו מהו מנגנון הפעולה של שיטת החיטוי הסולרי כנגד תולעי עפצים, והאם הוא משפיע על מבנה חברת החיידקים בבית הגידול. מהתוצאות עלה בבירור שהחיטוי הסולרי פעל באופן יעיל וישיר להקטנת אוכלוסיית תולעי העפצים בקרקע, ולא בעקיפין באמצעות פגיעה בחיידקים שמאפשרים את תקינות מחזור החיים של תולעים אלה, כגון חיידקים מפרישי צלולאז מסוג *Cellvibrio* שנמצאו בדגימות האדמה (Rosso et al., 1999), או חיידקים מהסוג *Allorhizobium*, שמסייעים ביצירת השינויים המבניים בתאי השיפה (Weerasinghe et al, 2005). יתר על כן, גם על מבנה חברת החיידקים העשויים לעכב את התפתחות הנמטודות, כגון חיידקים מהמשפחה Chitinophagaceae, שמעכלים את קליפת הביצים העשויה כיטין, לא נראתה השפעה כתוצאה מחיטוי סולרי קצר יחסית – בן שבועיים – כגון זה שעשינו.

הדמיון בין חברות החיידקים בקרקעות שעברו טיפול סולרי ובלעדיו באמצע עונת הגידול, שונה מהממצאים של קאן (Khan) ועמיתים (2017). במחקרם נמצא הבדל בין חברות החיידקים בקרקעות השונות. אין ספק שיש קושי רב לקבוע מה הסיבה לתוצאות השונות של שני המחקרים האלה, בהתחשב בכך שפרמטרים רבים ושונים מבדילים ביניהם, כגון תכונות האדמה, משך הסולריזציה והימצאותן של נמטודות יוצרות-עפצים. עם זאת, נראה שעוד בתחילת הניסוי של קאן ועמיתים היו הבדלים בחברת החיידקים של החלקות השונות, ולכן לא ניתן לשלול בוודאות את ההנחה שגם אילו נקודת המוצא של חברת החיידקים באותו ניסוי הייתה זהה בין הטיפולים, גם אז השפעת הטיפול הסולרי לא הייתה בעלת משקל רב.

כך או אחרת, נראה שיישום מקוצר של חיטוי סולרי יעיל כנגד הנמטודה, ויתר על כן, הוא גם משמר את השכיחות היחסית של מיני החיידקים באדמה ובשורש, שביכולתם לתרום להתמודדות הגידולים עם טפילים. על כן לווריאציה זו של טיפול סולרי יש תאימות עם שיטות הדברה ביולוגית, המתבססות על יציבותה ועל עקיבותה של המערכת האקולוגית בקרקע לטווח ארוך.

תודות

הכותבים מודים לקרן יק"א, החברה היהודית להתיישבות, על מימון היחידה לחקר הגנום המיקרוביאלי במרכז מדע ים המלח והערבה ועל תמיכתה במחקר זה, ולמר מיכאל ברנדיין על תרומתו לכתובת פרוטוקול הכנת הספריות הגנטיות.

- Lodha, S., 1995. Soil solarization, summer irrigation and amendments for the control of *Fusarium oxysporum*, f. sp. *cumini* and *Macrophomina phaseolina* in arid soils. *Crop Protection* 14 (3), 215–219.
- Lozupone, C., Knight, R., 2005. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (12), 8228–8235.
- Mahr, D. L., Ridgway, N. M., 1993. Biological control of insects and mites: An introduction to beneficial natural enemies and their use in pest management. North Central Regional Publication (USA). Cooperative Extension Publications, University of Wisconsin – Extension. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9536388>
- Masai, E., Katayama, Y., Fukuda, M., 2007. Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71 (1), 1–15.
- Masai, E., Katayama, Y., Nishikawa, S., Fukuda, M., 1999. Characterization of *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6 genes involved in degradation of lignin-related compounds. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 23 (4–5), 364–373.
- Mergaert, J., Swings, J., 1996. Biodiversity of microorganisms that degrade bacterial and synthetic polyesters. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 17 (5–6), 463–469.
- Moens, M., Perry, R. N., Starr, J. L., 2009. *Meloidogyne* species: A diverse group of novel and important plant parasites. In: Perry, R. N., Moens, M., Starr, J. L. (Eds.), *Root-Knot Nematodes*, CABI, Wallingford. pp. 1–17.
- Naranjo, S., Ellsworth, P. C., Frisvold, G. B., 2015. Economic value of biological control in integrated pest management of managed plant systems. *Annual Review of Entomology* 7 (60), 621–645.
- Noble, R., Coventry, E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts, a review. *Biocontrol science and technology*, 15 (1), 3–20.
- Norgaard, R. B., 1988. The biological control of cassava mealybug in Africa. *American Journal of Agricultural Economics* 70 (2), 366–371.
- Pane, C., Spaccini, R., Piccolo, A., Scala, F., Bonanomi, G., 2011. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. Theory and applications in pest management. *Biological Control* 56 (2), 115–124.
- Gregory, C. J., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., et al., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* 7 (5), 335–336.
- Gross, S. M., Williamson, V. M., 2011. Tm1: A mutator/foldback transposable element family in root-knot nematodes. *PLoS One* 6 (9), e24534.
- Hadar, Y., Papadopoulou, K. K., 2012. Suppressive composts: Microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. *Annual Review of Phytopathology* 50, 133–153.
- Hallmann, J., Davies, K. G., Sikora, R., 2009. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: Perry, R. N., Moens, M., Starr, J. L. (Eds.), *Root-Knot Nematodes*. CABI, Wallingford. p. 380–411.
- Hill, G., Greathead, D., 2000. Economic evaluation in classical biological control. In: Perrings, C., Dalmazzone, S., Williamson, M. H. (Eds.), *The economics of biological invasions*. Edward Elgar Publishing, Cheltenham. pp. 208–224.
- Jones, M. G. K., 1981. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: Structure and function of giant cells and syncytia. *The Annals of Applied Biology* 97 (3), 353–372.
- Katan, J., 2000. Soil and substrate disinfestation as influenced by new technologies and constraints. *Acta Horticulturae* 532, 29–38.
- Katan, J., 2010. Cultural approaches for disease management: Present status and future prospects. *Journal of Plant Pathology: An International Journal of the Italian Phytopathological Society* 92 (4), 7–9.
- Khan, Z., Khan, A., Wasim, A., Sangeeta, P., 2017. Interaction of mycorrhizal fungi and *Azotobacter* with root-knot nematodes and root-chewing insects. In: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sustainable agriculture reviews*, Vol. 25. Springer, Cham. pp. 277–302.
- Lemaux, P. G., 2009. Genetically engineered plants and foods: A scientist's analysis of the issues, part I. *Annual Review of Plant Biology* 60, 511–559.
- Li, D., Rothballer, M., Schmid, M., Esperschütz, J., Hartmann, A., 2011. *Acidovorax radidis* sp. nov., a wheat-root-colonizing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61 (11), 2589–2594.

- and opportunities for further research. In: Davies, K., Spiegel, Y., (Eds), Biological control of plant-parasitic nematodes. Springer, Dordrecht. pp. 1–38.
- Szitenberg, A., Salazar-Jaramillo, L., Blok, V. C., Laetsch, D. R., Joseph, S., Williamson, V. M., Blaxter, M. L., Lunt, D. H., 2017. Comparative genomics of apomictic root-knot nematodes: Hybridization, ploidy, and dynamic genome change. *Genome Biology and Evolution* 9 (10), 2844–2861.
- Talavera, M., Sayadi, S., Chiroso-Ríos, M., Salmerón, T., Flor-Peregrín, E., Verdejo-Lucas, S., 2012. Perception of the impact of root-knot nematode-induced diseases in horticultural protected crops of south-eastern Spain. *Nematology: International Journal of Fundamental and Applied Nematological Research* 14 (5), 517–527.
- Trudgill, D. L., Blok, V. C., Bala, G., Daudi, A., Davies, K. G., Gowen, S. R., Fargette, M., et al., 2000. The importance of tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne* Spp.) and factors affecting the utility of *Pasteuria penetrans* as a biocontrol agent. *Nematology: International Journal of Fundamental and Applied Nematological Research* 2 (8), 823–845.
- Trudgill, D. L., Blok, V. C., 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: Exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 39, 53–77.
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., Cole, J. R., 2007. Naive bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (16), 5261–67.
- Weerasinghe, R. R., Bird, D. M., Allen, N. S., 2005. Root-knot nematodes and bacterial Nod factors elicit common signal transduction events in *Lotus japonicus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102 (8), 3147–3152.
- Wyss, U., Munch, A., Grundler, F. M. W., 1992. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Nematologica* 38 (1), 98–111.
- Yanlai, Y., Xue, Z., Hong, C., Zhu, F., Chen, X., Wang, W., Cai, Z., Huang, N., Yang, X., 2016. Efficiency of different solarization-based ecological soil treatments on the control of *Fusarium* wilt and their impacts on the soil microbial community. *Applied Soil Ecology: A Section of Agriculture, Ecosystems & Environment* 108 (Supplement C), 341–351.
- Price, M. N., Dehal, P. S., Arkin, A. P., 2010. FastTree 2—approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One* 5 (3), e9490.
- Qin, L., Kudla, U., Roze, E. H., Goverse, A., Popeijus, H., Nieuwland, J., Overmars, H., Jones, J. T., Schots, A., Smant, G., Bakker, J., Helder, J., 2004. Plant degradation: A nematode expansin acting on plants. *Nature* 427 (6969), 30.
- Rosso, M. N., Favery, B., Piotte, C., Arthaud, L., De Boer, J. M., Hussey, R. S., Bakker, J., Baum, T. J., Abad, P., 1999. Isolation of a cDNA encoding a β -1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and expression analysis during plant parasitism. *Molecular Plant–Microbe Interactions* 12, 585–591.
- dos-Santos, V. M. C., Abrantes, I., Curtis, R. H. C., 2017. Priming plant defence responses can enhance the biological control of *Pochonia chlamydosporia* against root-knot nematodes. In: Manzanilla-López, R., Lopez-Llorca, L. (Eds.), Perspectives in sustainable nematode management through *Pochonia chlamydosporia* applications for root and rhizosphere health. Sustainability in Plant and Crop Protection. Springer, Cham. pp. 295–309.
- Schloss, P., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., van Horn, D. J., Weber, C. F., 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (23), 7537–7541.
- Siddiqui, I. A., Shaukat, S. S., 2002. Rhizobacteria-mediated Induction of Systemic Resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *Journal of Phytopathology* 150 (8–9), 469–73.
- Siddiqui, I. A., Shaukat, S. S., 2004. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. *Journal of Phytopathology* 152 (1), 48–54.
- Sijmons, P. C., Atkinson, H. J., Wyss, U., 1994. Parasitic strategies of root nematodes and associated host cell responses. *Annual Review of Phytopathology* 32 (1), 235–260.
- Stirling, G. R., 2011. Biological control of plant-parasitic nematodes, an ecological perspective: A review of progress