

דו"ח לתוכנית מחקר מספר 20-02-0115 (19-1966-132) – חלק א'

שנת המחקר שלישית מתוך שלוש שנים

חקר הביולוגיה והאפידמיולוגיה של מחלות הנגרמות על ידי החיידק קסיללה בישראל

The biology and epidemiology of diseases caused by *Xylella fastidiosa* in Israel

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ופיתוח הכפר

ע"י

אופיר בהר, המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מכון וולקני, ראשון לציון
דני שטיינברג, המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מכון וולקני, ראשון לציון
ליאור בלנק, המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מכון וולקני, ראשון לציון
עמי הברמן, השירותים להגנת הצומח, משרד החקלאות, ראשון לציון
עינת צחורי-פיין, המחלקה לאנטומולוגיה, מכון וולקני, נווה יער
רקפת שרון, מו"פ צפון, קרית שמונה
דורון הולנד, המחלקה לחקר עצי פרי, מכון וולקני, נווה יער

Ofir Bahar, ARO, Volcani Institute, Rishon LeZion. E-mail: ofirb@volcani.agri.gov.il

Dani Shtienberg, ARO, Volcani Institute, Rishon LeZion. E-mail: danish@volcani.agri.gov.il

Lior Blank, ARO Volcani Institute, Rishon LeZion. E-mail: liorb@volcani.agri.gov.il

Ami Haberman, PPIS, Rishon LeZion, E-mail: anih@moag.gov.il

Einat Zchori-Fine, ARO, Volcani Institute, Neve Yaar. E-mail: einat@volcani.agri.gov.il

Rakefet Sharom, MOP Zafon, Qiryat Shmona. E-mail: rakefetsh@gmail.com

Doron Holland, ARO, Volcani Institute, Neve Yaar. E-mail: yhhollan@volcani.agri.gov.il

תקציר

הצגת הבעיה. החיידק קסיללה זוהה לראשונה בישראל בקיץ 2016, במטעי שקד באזור עמק החולה, בעצים עליהם התפתחו תסמיני מחלה האופייניים למחלת ה- Almond leaf scorch (ALS). בסקר שנעשה לאחר מכן על ידי השירותים להגנת הצומח זוהה החיידק קסיללה בכ- 10 מטעים שונים בצפון הארץ. **מטרות המחקר.** חקר הביולוגיה והאפידמיולוגיה של מחלות הנגרמות על ידי החיידק קסיללה בישראל, ככלי לפיתוח ממשק להתמודדות עם המחלה. **שיטות העבודה.** דגימות תבדידים לאיפיון גנטי של אוכלוסיית התבדידים בישראל; הדבקה מלאכותית של מיני צמחים שונים בתנאי הסגר לזיהוי טווח הפונדקאים המקומי, מעקב אחר התפתחות המחלה בזמן ובמרחב בחלקות פגועות, איסוף ציקדות לזיהוי הווקטור, בחינת דרכי העברה מכאניות, בחינה גישות לבקרת המחלה כולל סריקת זנים. **תוצאות עיקריות.** מקור החיידק בישראל הוא ככל הנראה דרום קליפורניה. השונות הגנטית באוכלוסייה המקומית של גורם המחלה נמוכה, דבר המעיד על אירוע חדירה יחיד שהתרחש לאחרונה. התבדידים המקומיים תוקפים שקדים וגפן ולא גידולים אחרים שנבדקו. בשנתיים האחרונות נראתה התווספות של עצים סימפטומטיים חדשים בשקד. הודגמה יכולת העברה של קסיללה מעץ נגוע לעץ בריא על ידי ציקדה מוצצת עצה מהמין *Mesoptylus impictifrons* הנפוצה בצפון ישראל. לא נראה כי מתרחשת העברה מכאנית של המחלה. בסריקת זני שקד זוהו זן בעל עמידות יחסית למחלה. גורם המחלה נמצא בגפן וגורם למחלת Pierce's disease בכרמים בגליל העליון. **מסקנות.** נראה כי המחלה ממשיכה להתפשט בישראל הן בשקד והן לגידול גפן. הימצאותם של ווקטורים מוכחים למחלה תומכת בהשערה זו. איתור זנים עמידים יוכל לסייע בעתיד בהתמודדות עם המחלה.

בהשתתפות

מכון וולקני: נועה זכריה, מירי ונונו, אורית דרור, רן שולחני, מנחם בורנשטיין, הלנה קרסנוב; **השירותים להגנת הצומח:** ליאת גדרון-הינמן, נדב עזרא, מירב הדר-מאור; **מו"פ צפון:** מאור תומר, אלמוג אברהם, זאב פרקש; **שדה נחמיה:** ירון פינטו; **ברעם:** ניר גלזמן; **חברת לוכסמבורג:** דור רחמני

חברי וועדת ההיגוי של המיזם:

משה ברוקנטל (מרכז אדמיניסטרטיבי), אורית שמואלי, ראובן בירגר, אמיר מעגן, עמי הברמן, אופיר בהר ודני שטיינברג.

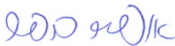
חברי הוועדה המקצועית של המיזם:

אופיר בהר (מרכזי מדעי), דני שטיינברג, משה ברוקנטל, אורית שמואלי, ראובן בירגר, כרמית סופר, ראומה למבז, עמי הברמן, אסא לין, ירון פינטו, ליאור בלנק, דורון הולנד, עינת צחורי-פיין, ליאת גידרון, רקפת שרון.

הצהרת החוקר הראשי:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים.

תאריך: 28 במרץ, 2022

חתימת החוקר הראשי: 

תוכן העניינים

עמוד

4	מבוא
4	מטרות המחקר בשנת המיזם הראשונה
5	עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר
16	דיון
20	ספרות מצוטטת
21	פרסומים מדעיים
21	פטנטים
21	הרצאות וימי עיון
21	תוספת למיזמים

מבוא

מחלות הנגרמות על ידי החיידק קסיללה פסטידיוסה (*Xylella fastidiosa*) ידועות זה שנים רבות במגוון רחב של גידולים¹. עד לאחרונה, תפוצתה של המחלה הייתה מוגבלת בעיקר ליבשת אמריקה. אי לכך, ועקב פוטנציאל הנזק ההרסני של המחלה, החיידק קסיללה מוגדר כנגע הסגר במדינות רבות בעולם, ובכלל זה בישראל. בשנת 2013, דווחה המחלה לראשונה ביבשת אירופה בשיוך עם תסמיני מחלה חדשים בגידול זיתים בדרום איטליה². היקף הנזקים בזיתים הוא אדיר והמגיפה זכתה לפרסום רב הן בספרות המקצועית והן בתקשורת הפופולרית. בשנים לאחר מכן נוספו דיווחים על הימצאות החיידק קסיללה בהיקפים נרחבים מאוד במטעי שקד בספרד (האיים הבלאריים וביבשת) ובהיקפים נרחבים פחות בגידולי דובדבן, גפן וזית.

החיידק קסיללה זוהה לראשונה בישראל בקיץ 2016, במטעי שקד באזור עמק החולה, בעצים עליהם התפתחו תסמיני מחלה האופייניים למחלת ה- Almond leaf scorch (ALS). בסקר שנעשה לאחר מכן על ידי השירותים להגנת הצומח זוהה החיידק קסיללה בכ- 10 מטעים שונים בצפון הארץ. הנגיעות הקשה ביותר התגלתה במטעים בעמק החולה. עד כה, לא זוהתה המחלה במטעי שקד הנמצאים מדרום לצומת מגידו. נקודה קריטית בכל הנוגע למחלות הנגרמות ע"י החיידק קסיללה, היא התלות של הפתוגן בווקטור חרקי להעברה מצמח לצמח. הווקטור/ווקטורים של המחלה בארץ עדין אינם ידועים.

מטרות המחקר כפי שהופיעו בתכנית המחקר המקורית:

1. חקר הביולוגיה של גורם המחלה:

- 1.1. פיתוח ו/או התאמה של שיטות דיאגנוסטיקה ליישום בשדה;
- 1.2. אפיון גנטי של אוכלוסיית הפתוגן בישראל;
- 1.3. קביעת טווח הפונדקאים הרגישים בישראל;
- 1.4. קביעת ריכוז החיידק באברי העץ בשלבים פיסיולוגיים שונים (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית)
- 1.5. מעקב ובחינת פיזור החיידק בעצים בעלי נגיעות סקטוראליות (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית)

2. חקר האפידמיולוגיה של המחלה:

- 2.1. קביעת דגם הפיזור המרחבי של העצים הסימפטומטיים במטעי השקד הנגועים;
- 2.2. איתור ווקטורים פוטנציאליים;
- 2.3. לימוד דרכי ההפצה של המחלה:
 - 2.3.1. דינמיקה בזמן ובמרחב של הווקטורים;
 - 2.3.2. הפצה על ידי אמצעים מכאניים;
- 2.4. בחינת נוכחות גורם המחלה בפליטי תרבות (שקד) וגידולים נוספים (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית)

3. בחינת גישות לבקרת המחלה:

- 3.1. סניטציה של עצים נגועים;
- 3.2. שימוש במשרני עמידות וחומרים חדשים להבראת עצים נגועים (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית)
- 3.3. שימוש בקוטלי עשבים;
- 3.4. סריקת אוסף גנטי של עצי שקד;

עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

1. חקר הביולוגיה של גורם המחלה:

1.1. פיתוח ו/או התאמה של שיטות דיאגנוסטיקה ליישום בשדה.

האפשרות לפתח שיטת דיאגנוסטיקה המבוססת על זיהוי פעילותם של אנזימים המופרשים על ידי קסיללה לסביבתם נבחנה ראשית בתרבית נקיה של החיידק, ונמצא כי פעילות של האנזים ליפאז ניתנת לזיהוי באופן ברור. בהמשך, נערך ניסיון לזהות פעילות אנזימתית של האנזים ליפאז, תוך שימוש בנוזלי עצה מעצים נגועים בקסיללה. למרות שזוהתה פעילות אנזימתית בנוזלי העצה של צמחים נגועים, היא לא הייתה שונה באופן מובהק מזו שנראתה בצמחים שאינם נגועים, דבר שיקשה את המשך פיתוח השיטה על בסיס פעילות אנזימתית זו. לאור זאת, הוחלט לא להמשיך את מאמצי פיתוח השיטה.

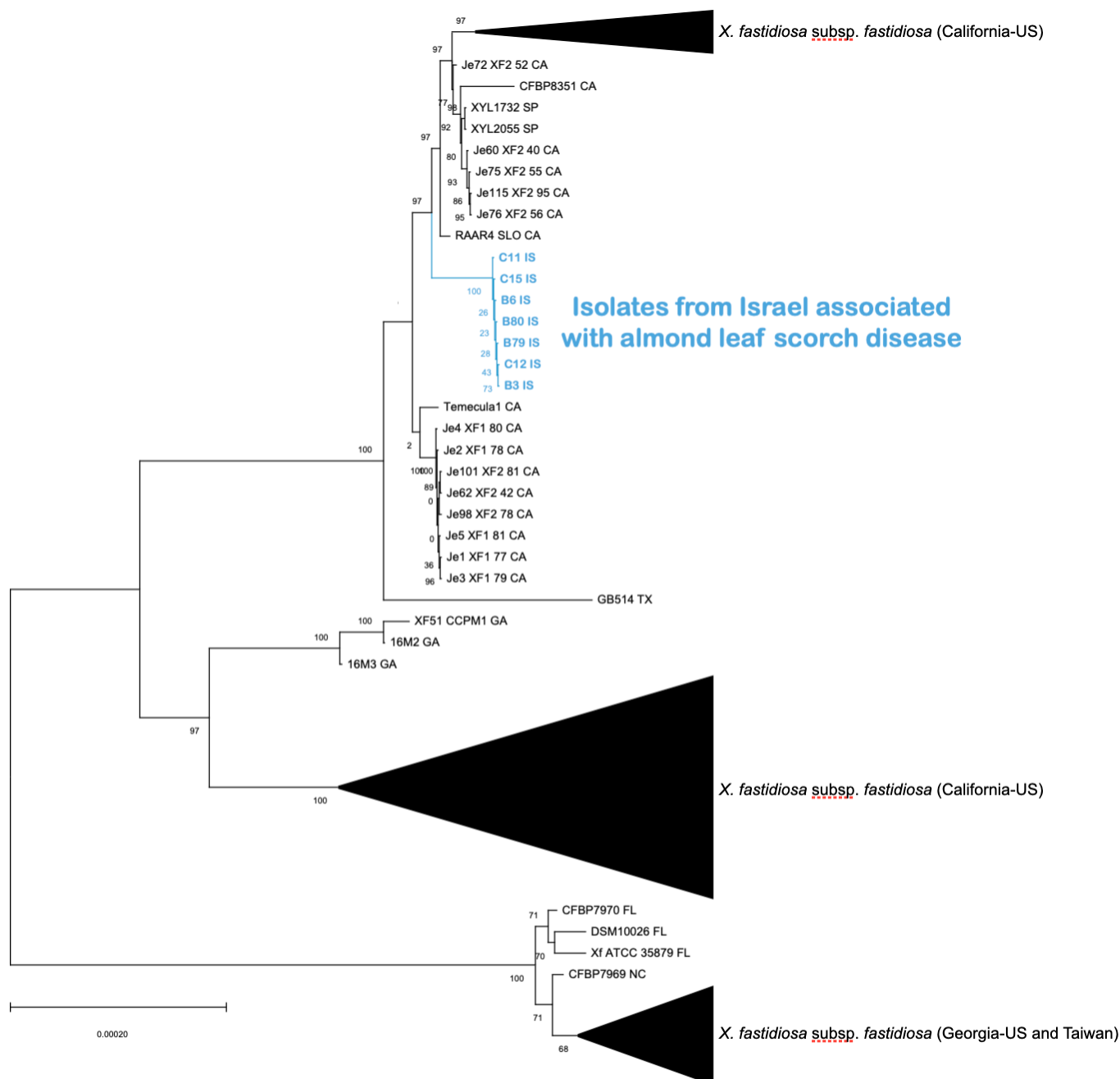
כמו כן, נבדקה האפשרות להתאים את השימוש במכשיר של חברת אגדיה (Amplifire) לבדיקת עצים בתנאי שדה. סה"כ נבדקו בתנאי שדה 8 עצים סימפטומטיים (מרקמות מעוצות ולא מעוצות) אשר נוכחות החיידק זוהתה בהם ב-100% מהמקרים. בשמונת עצי הביקורת לא נמצא גורם המחלה, על אף שבבדיקות quantitative real-time PCR (qPCR) בחלק מעצים אלו התקבלה תוצאה חיובית גבולית. בבדיקות נוספות שנעשו עם צמחים ממתקן ההסגר הראו שהמכשיר מאפשר זיהוי אמין גם של קסיללה בגפן, אשר נבדקה בתקופת התרדמה מענפונים ללא עלים. הבדיקה איננה מצריכה מכשור מיוחד פרט לפיפיטור וטיפים ואורכת פחות מ-30 דק'.

1.2. אפיין גנטי של אוכלוסיית הפתוגן בישראל.

בכדי לאפיין את אוכלוסיית החיידק קסיללה בישראל, נדגמו עצים סימפטומטיים מכלל המטעים בהם נמצאה נגיעות במחלה, ובסה"כ נבחנו ובודדו 35 דוגמאות שונות. השונות הגנטית נבדקה ראשית על ידי הגברה וריצוף של שבעה גנים בכל אחת מהדוגמאות על פי שיטת $Multi\ locus\ sequence\ typing\ (MLST)^3$. כמו כן, ביצענו ריצוף גנומי של שישה תבדידי קסיללה ממטעים שונים, בשיתוף עם פרופ' Rodrigo Almeida מאוניברסיטת ברקלי, קליפורניה. בכל 35 דוגמאות השקד התקבל אותו טיפוס גנטי (ST1) sequence type 1. בריצוף ואנליזה גנומית של שישה תבדידי קסיללה ממטעים שונים מצאנו כי קיימת שונות קטנה יחסית בשונות הנוקלאוטידים (π) ובמספר ה-SNPs בין התבדידים המקומיים ($SNPs = 1, \pi = 3.10 \times 10^{-07}$) לבין אוכלוסיות ותיקות יותר כמו זו הקיימת בטאיוואן ($SNPs = 147, \pi = 1.03 \times 10^{-05}$), או בגפן בקליפורניה ($SNPs = 495, \pi = 3.54 \times 10^{-05}$). כמו כן, קצב יצירת המוטציות (θ Watterson) באוכלוסייה המקומית נמוך (3.38×10^{-07}) בהשוואה לאוכלוסייה הקיימת בארה"ב (5.57×10^{-05}). התבדידים הקיימים בישראל נמצאו קרובים ביותר מבחינה פילוגנטית לאוכלוסייה הקיימת בגפני יין בקליפורניה.

1.3. קביעת טווח הפונדקאים הרגישים בישראל.

על מנת לקבוע אילו גידולים עלולים להידבק בתבדיד קסיללה שנמצא בישראל, ביצענו אילוח מכוון של שתילים ממספר גידולים חשובים בישראל. הגידולים שנבדקו היו זית (ברנע, סורי), גפן מאכל (ביג פרל, אוטום רויאל) וגפן יין (פרנץ קולומבר, קרניין, סירה), שזיף (אוגדן), אפרסק (שוגר מאי), נקטרינה, גודגדן (בורלא), הדורים (אור, סטאר רובי), ושקד (א"פ, מתן) כביקורת חיובית. האילוח בוצע בשיטת הדקירה⁴, ובשלושה מועדים החל מהאביב ובהפרש של שלושה שבועות מאילוח לאילוח. תסמיני המחלה הוערכו וויזואלית לאחר האילוח על ידי מעקב רציף אחר הופעת תסמיני מחלה



איור 1. עץ פילוגנטי של תבדידי קסיללה מקומיים ותבדידים אחרים מאותו תת מין מאזורים שונים בעולם. התבדידים מוקמו על עץ פילוגנטי ביחס לכ- 200 תבדידי קסיללה הגורמים למחלת PD, רובם מקליפורניה. העץ מתבסס על ליבת הגנום (core genome) הכוללת 1826 גנים. התבדידים המקומיים אשר מקורם בעצי שקד נגועים ב-ALS ממטעים שונים מסומנים בתכלת.

אופייניים. בנוסף להערכת ויזואלית של תסמיני מחלה, בדקנו את נוכחות החיידק באזור האילוח ומעליו באמצעות qPCR. תסמיני מחלה אופייניים הופיעו בגפן ובשקד כחודש וחצי וחודשיים, בהתאמה, לאחר האילוח ובכל הזנים שנבדקו (טבלה 1). תסמינים בזני השקד (א"פ ומתן) דמו מאוד לאלו הנראים בעצים נגועים במטעי השקד בעמק החולה ועצי שקד מספרד וכללו הצהבה והסתלסלות של העלים. התסמינים שהופיעו בגפן אופייניים למחלת Pierce's disease (PD), כפי שדווחו בספרות מארה"ב. ביותר מ- 90% משתילי הגפן שהושארו למעקב לעונה נוספת נראו תסמיני מחלה בקיץ העוקב, ובשקד, ביותר מ- 50% מהשתילים נראו תסמיני מחלה (טבלה 1). כלל הגידולים האחרים שאולחו ונבדקו לא הראו תסמיני מחלה כלל. גידולים אלו אולחו בשנית בשנה העוקבת, אך שוב לא נראו כל תסמיני

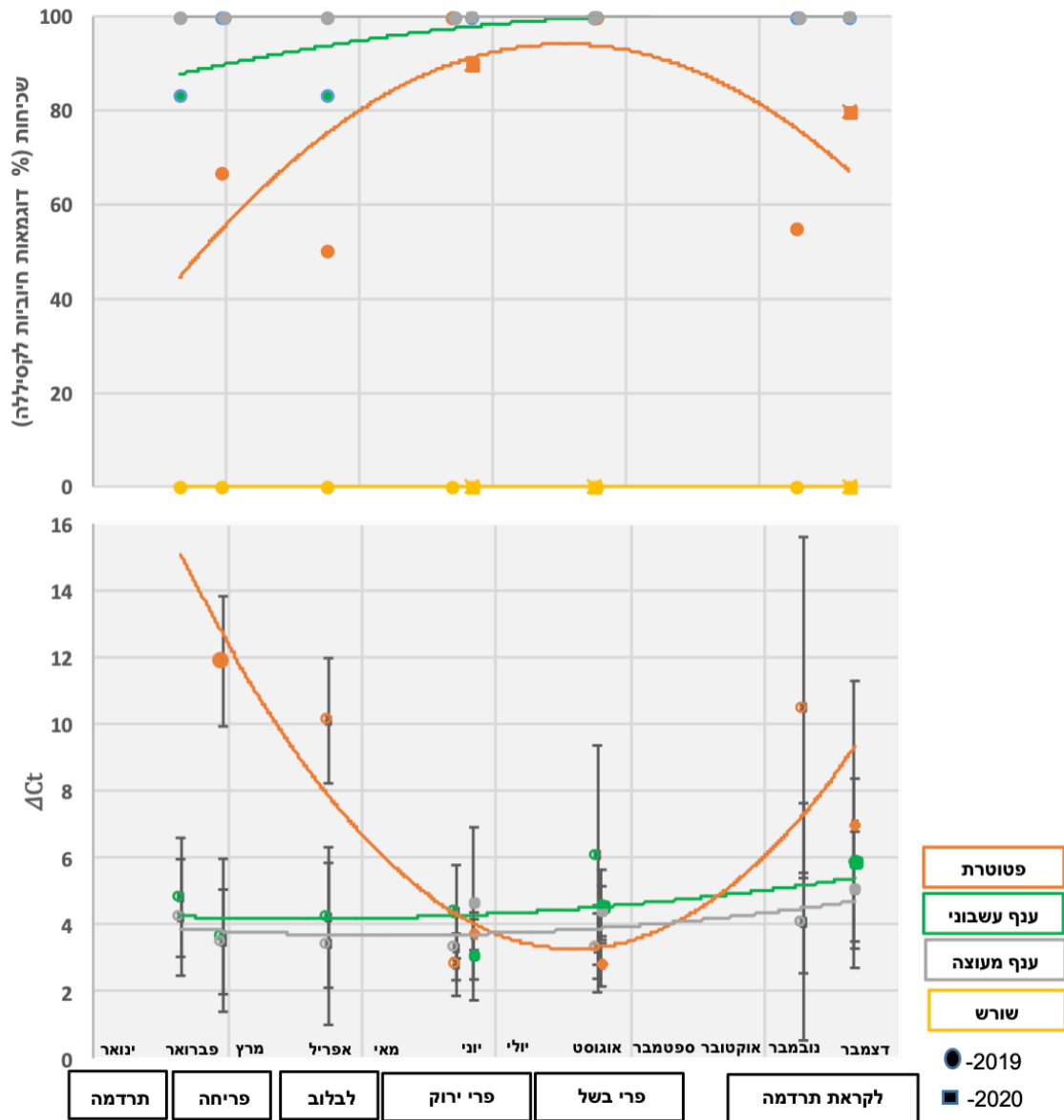
מחלה (טבלה 1). בבדיקת qPCR בשקד ובגפן נראתה נדידה של החיידק מאזור ההדבקה לכיוון מעלה (20 ס"מ מעל נקודת האילוח) כמעט בכל הצמחים המאולחים. בגידולים האחרים לעומת זאת, לא נראתה נדידה מעלה בכלל הדוגמאות שנבדקו פרט לשני שתילי שזיף, אולם החיידק כן זוהה באזור האילוח.

טבלה 1. שכיחות תסמיני מחלה בגידולים שונים שאולחו על ידי קסיללה במתקן ההסגר.

Latin name	Crop	Cultivar	Number of symptomatic trees (year 1)	Number of symptomatic trees (year 2)
<i>Prunus dulcis</i>	Almond	UEF	4/6	3/6
<i>Prunus dulcis</i>	Almond	Matan	5/6	4/6
<i>Olea europaea</i>	Olive	Suri	0/7	0/7
<i>Olea europaea</i>	Olive	Barnea	0/7	0/7
<i>Vitis vinifera</i>	Grapevine	Shiraz	9/9	5/5
<i>Vitis vinifera</i>	Grapevine	Carignan	10/10	5/5
<i>Vitis vinifera</i>	Grapevine	French Colombard	9/10	N/D
<i>Vitis vinifera</i>	Table grape	Autumn Royal	7/8	4/5
<i>Vitis vinifera</i>	Table grape	Big Pearl	8/9	N/D
<i>Prunus</i> subg. <i>Prunus</i>	Plum	Ogden	0/8	0/8
<i>Prunus persica</i>	Peach	Sugar May	0/7	0/7
<i>Prunus persica</i>	Nectarine	N/A	0/6	0/6
<i>Prunus avium</i>	Cherry	Burla	0/5	0/5
<i>Citrus × aurantium</i>	Clementine	Orri	0/6	0/6
<i>Citrus x paradisi</i>	Grapefruit	Star Ruby	0/6	0/6

1.4. קביעת ריכוז החיידק באברי העץ בשלבים פיסילוגים שונים (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית).

בחינת פיזור החיידק בעץ בשלבים פיסילוגים שונים נערכה במשך שנתיים רצופות כאשר בכל שנה נבחנו 10 עצים מהם נדגמו שורשים, ענפונים מעוצים, ענפונים ירוקים, עלים, קליפת פרי, פרי, פקע פריחה, פקע לבלוב, בהתאם לרקמות הזמינות בכל מועד. מכל דוגמא, הופק דנ"א ונוכחות וריכוז החיידק נבדקו באמצעות qPCR. כביקורת, נדגמו באותו האופן שלושה עצים שאינם נגועים בקסיללה. הממצאים חשפו כי מיקום וריכוז החיידק בעץ משתנה בשלבים פיסילוגים שונים. בכל השלבים שנבדקו, ריכוז החיידק היציב והגבוה ביותר היה בענפונים מעוצים (שאינם ירוקים) בהן נוכחות החיידק נמצאה בכל הדוגמאות שנבדקו בכל השלבים הפיסילוגים (איור 2). בעלים לעומת זאת, שכיחות החיידק בתקופת הלבול נמוכה מאוד, אך ריכוזו עולה ברקמה זו ומגיע לשיא בחודשי הקיץ (איור 2). לקראת התרדמה ריכוז החיידק בעלים היה במגמת ירידה. החיידק קסיללה לא נמצא בפרחים, בקליפת הפרי, בפרי, או בשורשים באף אחד מהמועדים שנבדקו.



איור 2. נוכחות וגודל יחסי של אוכלוסיית החיידק קסיללה באברים שונים של עץ שקד לאורך השנה. מעשרה עצי שקד נגועים בקסיללה נדגמו פטוטרות עלים, ענפים חד שנתיים ירוקים וענפים רב שנתיים מעוצים, בתקופות שונות לאורך השנים 2019-2020. מהדוגמאות הופק DNA ונבדקו ב- Δ real-time PCR Ct חושב כהפרש בין ה-Ct שהתקבל מההגברה בתחלים XF (ספציפיים לקסיללה) והתחלים Actin-AL (ספציפיים לגן אקטין בשקד) אשר שימש כגן מנרמל. נקודות המסומנות בעיגול נדגמו בשנת 2019, דוגמאות המסומנות בריבוע נדגמו בשנת 2020. גרף עליון - שכיחות: כל נקודה מייצגת את אחוז הדוגמאות החיוביות (מתוך עשרה עצים שנדגמו) לקסיללה בכל איבר. דוגמא נקבעה כחיובית כאשר $Ct < 34$. גרף תחתון: כל נקודה מייצגת ממוצע בין עשר דוגמאות הנלקחו מעשרה עצים שונים, לכל דוגמא התבצעו שתי חזרות טכניות. ערך ה- ΔCt חושב לדוגמאות להן התקבל $Ct < 34$ בשימוש בתחלים XF. ערכים נמוכים מעידים על אוכלוסייה גדולה יותר. קווי השגיאה מסמנים את סטיית התקן.

1.5. מעקב ובחינת פיזור החיידק בעצים בעלי נגיעות סקטוראליות (לא נכלל ביעדי התכנית המקורית).

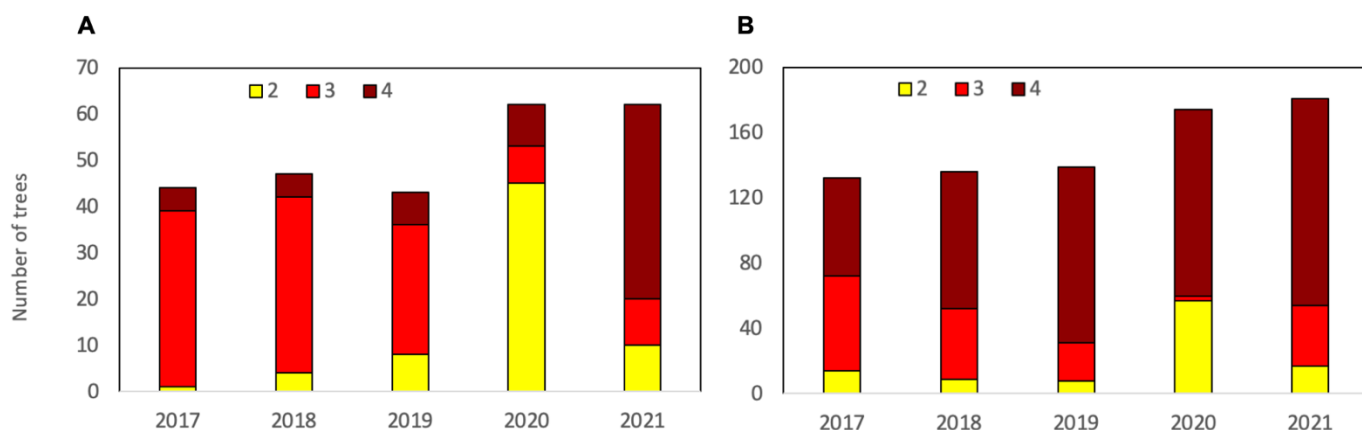
בשנת המחקר השלישית נצפה מספר משמעותי באופן יחסי של עצים בעלי נגיעות סקטוראליות (תסמיני מחלה מופיעים רק בענף שלד אחד של העץ). בכדי ללמוד על התקדמות המחלה בעצים אלו, ענפי השלד סומנו ונדגמו ענפים ועלים, ונסורת מקידוח שנעשה בבסיס ענף השלד, סמוך לפיצול מהגזע המרכזי. בבדיקות אלו מצאנו כי על אף שרק ענף שלד אחד הראה תסמיני מחלה, בשלושה מתוך ששת העצים שנבדקו, נוכחות החיידק נמצא בבסיס ענף השלד עליו הופיעו

סימפטומים סמוך לחיבור עם הגזע המרכזי. כמו כן, באותו מספר עצים ניתן היה לזהות את גורם המחלה בענף שלד נוסף בעץ על ידי בדיקת הנסורת מקידוח בענף, אך לא בעלווה.

2. חקר האפידמיולוגיה של המחלה:

2.1. קביעת דגם הפיזור המרחבי של העצים הסימפטומטיים במטעי השקד הנגועים.

בשנים 2019-2021 ניטרנו את כלל עצי השקד בשתי חלקות שקד במטעים שונים בצפון הארץ- בקיבוץ שדה נחמיה ובקיבוץ ברעם (סמוך לקיבוץ לנאות מרדכי). משימה זו ממשיכה ניטור שהתחיל ב- 2017 בחלקות אלו, בכדי לאסוף אינפורמציה חשובה על התפתחות המחלה במטעים נגועים בזמן ובמרחב. העצים באותן שתי חלקות השקד בצפון הארץ נוטרו ודורגו על פי תסמינים בחופת העץ. חומרת התסמינים הוערכה על פי סולם בן 5 דרגות, כלהלן: 0 = ללא תסמינים של קסיללה; 1 = עד 25% מהעלים עם תסמינים של קסיללה; 2 = עד 50% מהעלים עם תסמינים של קסיללה; 3 = יותר מ 50% מהעלים עם תסמינים של קסיללה; 4 = עץ מת/עקור. בשדה נחמיה מספר העצים הסימפטומטיים והעקורים לאורך שלוש שנות הניטור הראשונות נשאר קבוע (איור 3). בשנת הניטור הרביעית הייתה עליה במספר העצים שסווגו בדרגה 2 (נוספו 37 עצים בדרגה זו לעומת 2019), ובמספר העצים שסווגו כמתים/עקורים (עליה של 2 עצים). במקביל מצאנו ירידה במספר העצים שסווגו בדרגה 3 (ירידה של 20 עצים). בשנת 2021 הייתה ירידה במספר העצים בדרגה 2 (35 עצים פחות מאשר בשנת 2020, 32 סווגו לקטגוריה 0), עליה של 2 עצים בדרגה 3 ועליה ניכרת של 33 עצים עקורים או מתים (מתוכם, עץ אחד לא היה סימפטומטי באף אחת משנות הדיגום) (איור 3). כ- 45% מהעצים שנעקרו ב- 2021 מקורם בעצים שהיו בשנת 2020 ללא סימפטומים וכ- 25% מהעצים שנעקרו ב- 2021 סווגו כ- 2 בשנת 2020.



איור 3. השינוי במספר העצים- הסימפטומטיים: דרגה 2 (צהוב), דרגה 3 (אדום) ודרגה 4/עקורים למתים (חום) בשדה נחמיה (A) וברעם (B).

במטע ברעם הייתה עליה של 7 עצים במספר העצים הסימפטומטיים/עקורים בין שנת 2017 ל 2019. בשנת 2020 הייתה עליה ניכרת של 37 עצים בדרגה 2, ותוספת של 2 עצים עקורים. מספר העצים בדרגה 3 ירד ב- 20. בשנת 2021 הייתה ירידה של 40 עצים בדרגה 2 (כמעט כולם הפכו ל 0) ובמקביל עליה במספר העצים בדרגה 3 (10 סווגו 0 ו- 14 סווגו 1 בשנת 2020). מספר העצים העקורים והמתים גדל ב- 13 (10 מהם לא היו סימפטומטיים באף אחת משנות הדיגום). בסך הכל, מאז 2017 נצפתה עליה של 18 עצים חדשים בשדה נחמיה (1.7% מסה"כ העצים במטע) ועליה של 49 עצים כאלו בברעם (2.5% מסה"כ העצים במטע). על מנת לקבוע האם ישנם מוקדים של המחלה במרחב,

בצענו מבחן Ripley's K לבחינת אוטוקורלציה וכתמיות. בעוד שבחלקת שדה נחמיה לא נמצאה כתמיות (פרט לשנת 2021), בברעם מצאנו שיטתית כתמיות בכל שנות המחקר. בשלב הבא, ניסינו להעריך האם ישנה כיוונויות להתפשטות המחלה במרחב ע"י מבחן רגרסיה לוגיסטית. בשנים 2017-2019 מצאנו שבשתי החלקות לא קיימת כיוונויות בהתפשטות המחלה בשום כיוון, אך בשנת 2020-2021 במטע ברעם נראתה התפשטות המחלה לאורך שורות, ואילו בשדה נחמיה התפשטות זהה לכל הכיוונים.

2.2. איתור ווקטורים פוטנציאליים.

המידע שנאסף מהמקורות השונים (ראה דוח שנה ראשונה 2019) הביא להתמקדות בשלוש משפחות של ציקדות ותת משפחה נוספת, כולן ניזונות מהעצה ולכן כוללות מינים שיכולים להוות וקטורים פוטנציאליים לחיידק הקסיללה: Cicadellinae (Cicadidae, Cercopidae, Aphrophoridae). כמו כן הוכנס לטבלה מין אחד הניזון מהשיפה *Euscelis lineolatus* מתת המשפחה Deltoccephalinae (Cicadellidae). ציקדות מהמשפחה Cicadidae לא נבדקו במחקר הנוכחי, מכיוון שבניסויים שנערכו באירופה ובארה"ב עם מינים שונים, שחלקם נמצאים בארץ, לא נמצאה יכולת העברה משמעותית של קסיללה ולכן הם אינם נחשבים כווקטורים פוטנציאליים של המחלה⁵.

בשנת המחקר הראשונה (2019) נמצאו 456 פרטים השייכים לקבוצת הציקדות. מרבית הפרטים נאספו בסתיו (271), בסוף החורף נאספו רק 15 פרטים, באביב נאספו 85 פרטים וכך גם בקיץ (85 פרטים). מחלקות השקד נאספו 249 פרטים, מתוכם 149 נשאבו מעצי השקד ו- 163 מהעשבייה בתוך המטע וסביבו. מגדות הנחלים הסמוכים למטעים נאספו 63 פרטים, משדה אספסת הסמוך למטע מלכיה נאספו 115 פרטים, ומעצי מחט בקיבוצים סמוכים למטעים נאספו 29 פרטים. מרבית הפרטים היו מהמשפחה Cicadellidae בה נמצאו פרטים משלוש תת משפחות שכולן שייכות למוצצי השיפה, רובם שייכים לתת המשפחה Typhlocybinae בה נכללות גם קבוצת המזיקים המכונה "ציקדות ירוקות" (227 פרטים), ופרטים בודדים מתת המשפחות Megophthalminae ו-Deltoccephalinae. כמו כן נמצאו פרטים מהמשפחה Delphacidae ומהמשפחה Caliscelidae שגם הן מכילות מינים מוצצי שיפה בלבד. בבדיקה מולקולרית לא נמצאו פרטים הנושאים את החיידק קסיללה.

בשנת המחקר השניה (2020) שונתה צורת הדגימה והמיקוד עבר לחיפוש נימפות של ציקדות רוק, שניתנות לזיהוי בקלות יחסית הודות לצבריי הרוק שהן מייצרות, ובסביבתן חיפוש של בוגרים. מרבית הפרטים הבוגרים שנאספו באביב (29) הוגדרו כשייכים למשפחת ה Aphrophoridae (טבלה 2). הם נמצאו על עשביה במטע שקד (ברעם), מתחת למחטניים בנוף הגליל, בבית רשת ומחוצה לו בחוות המטעים ובגינה באמירים. הפרטים נמצאו על עשבי בר ממינים שונים (כוכבית מצויה, חרחבינה, ברקן, חסת המצפן, חלבולב, מרור הגינות, נענע, ודגניים). לפרטים ממשפחה זו מופע מגוון והגדרת המין יכולה להיעשות רק על ידי בדיקת הגינטליה הזכרית. הזכרים שנמצאו במשפחה זו הוגדרו כשייכים למינים *Mesoptylus impictifrons* ו *Neophilaenus campestris* (טבלה 2). בנקבות ניתן להבחין בין שני סוגים אלו על פי מבנה הזיפים ברגלים ולכן מאחר ונמצאו זכרים רק משני המינים האלו, ניתן היה להשלים את ההגדרה של הנקבות לרמת המין. בנוסף, 17 פרטים הוגדרו כשייכים למשפחת Cercopidae ומרביתם נאספו על דגניים בקיבוץ גדות, פרט לאחד שנמצא בדשא בשכניה. כולם הוגדרו כשייכים למין *Cercopis intermedia* (טבלה 2). בקיץ לא נמצאו ציקדות ממשפחות אלו כלל. בסתיו נמצאו וקטורים פוטנציאליים בוגרים ממשפחת ה Aphrophoridae בדרך

נוף אלון הגליל בסביבת עצים מחטניים. פרטים אלו הוגדרו באמצעות בדיקת הגינטליה הזכרית כ *M. impictifrons* ו *Neophilaenus campestris*. בבדיקת PCR לנימפות ולציקדות שנאספו לא נמצאה נוכחות קסיללה.

טבלה 2. הגדרה מורפולוגית של מדגם מיני הבוגרים של ציקדות רוק שנאספו באתרי הדיגום השונים בצפון הארץ ב-2020.

עונה	משפחה	מין	מספר הפרטים הבוגרים לפי מיקום האיסוף					
			אמירים	גדות	חוות המטעים	אלון הגליל	שכניה	שקד ברעם
אביב	Cercopidae	<i>Cercopis intermedia</i>	0	16	0	0	1	0
	Aphrophoridae	<i>Mesoptylus impictifrons</i>	7	0	12	5	0	5
סתיו		<i>Mesoptylus impictifrons</i>	0	0	0	3	0	0
		<i>Neophilaenus campestris</i>	0	0	0	6	0	0
		סה"כ	7	16	12	14	1	5

מאחר ונמצאו מינים שיכולים להיות וקטורים לקסיללה, בשנה השלישית (2021) התמקד מאמץ המחקר בניסויי העברה ורכישה של הפתוגן. הניסויים נעשו עם המין *M. impictifrons* שנמצא כנפוץ ביותר. מתוך כ- 20 הפרטים שנאספו באביב 2021 ושנשמרו בכלוב סגור על צמח רוזמרין כדי לעקוב אחר מחזור החיים, ישנם פרטים שעדיין חיים נכון לינואר 2022. באמצע ינואר 2022 נמצאו נימפות בכלוב, ומכאן שמחזור החיים של *M. impictifrons* כפי שהוא מתבטא בלכידות בשטח ובמעקב במעבדה הינו כשנה.

תוצאות מבחני ההדבקה מעלים כי ציקדות מהמין *M. impictifrons* יכולות לשמש כווקטורים למחלה. במבחן יעילות הרכישה נמצא כי הן רוכשות את הקסיללה מצמחים הנגועים. למועד הזנת הרכישה השפעה על אחוז הציקדות הרוכשות: כאשר הציקדות הוצבו על ענפים נגועים בחודשים מרץ-אפריל רק ציקדה אחת מתוך 84 רכשה את הקסיללה ואילו כאשר הן הוצבו בחודשים יוני-יולי, בהם רמת האילוח של החיידק בעץ גבוהה, 92%-86% מהציקדות רכשו את החיידק מהצמחים הנגועים (טבלה 3). פרטים שנכלאו על ענפים נקיים ללא שלב הרכישה מענף נגוע נמצאו שליליים וכך גם הציקדות שלא באו במגע עם ענפי שקד כלל (ציקדות מהשטח) (טבלה 3). במבחן ההעברה נמצא כי לפרטים שרכשו את הקסיללה יש יכולת להעביר את הפתוגן לענפי שקד נקיים. מתוך מדגם של שישה ענפים עליהם הוצבו הציקדות לאחר הרכישה מענף נגוע, בארבעה זוהרם המחלה לאחר כ 4 חודשים. בארבעת ענפי הביקורת, עליהם הוצבו ציקדות שלא עברו את תהליך הרכישה ובארבעה ענפים שעליהם לא הוצבו ציקדות, לא נמצאה קסיללה. מכאן, שהמין *M. impictifrons* יכול להעביר את הקסיללה לשקדים והינו וקטור של המחלה.

טבלה 3. נגיעות טבעית ויעילות הרכישה של ציקדות מהמין *M. impictifrons*

מועד	פעולה	מס' ציקדות שנבדקו	מס' ציקדות חיוביות	%חיוביות
אביב 2020	נאספו מהשטח	53	0	0
סתיו 2021	נאספו מהשטח	11	0	0
ניסוי העברה מרץ-מאי	אחרי ענף נגוע	84	1	1
ניסוי העברה יוני-יולי	אחרי ענף נגוע	29	25	86
	אחרי ענף נגוע ואחרי ענף נקי שלא נדבק	13	12	92
	אחרי ענף נגוע ואחרי ענף נקי שנדבק	8	4	50
	הצבה רק על ענף נקי (ביקורת)	24	0	0

2.3. לימוד דרכי ההפצה של המחלה:

2.3.1. דינמיקה בזמן ובמרחב של הווקטורים.

היות ווקטור למחלה אותר רק בסוף השנה השלישית, לא נבחנה הדינמיקה שלו בזמן ובמרחב. עם זאת, הממצאים שהושגו עד כה מעידים כי המין *M. impictifrons* מעמיד בתנאי הארץ דור אחד בשנה. מחזור החיים מתחיל באביב עם התפתחות הנימפות על עשביה ממינים שונים ויצירת צברי קצף אופייניים. לאחר מכן הבוגרים עפים למקור ופונדקאי שאינם ידועים כעת, וככל הנראה מגיעים למטעי שקד באופן אקראי בלבד. ההנחה היא שבתום הקיץ (או סתיו-חורף) הבוגרים חוזרים להטיל את ביציהן במקום בו תתפתח עשביה ושם יגיחו הנימפות באביב הבא.

2.3.2. הפצה על ידי אמצעים מכאניים.

בשנת המיזם השנייה בצענו ניסוי לבחינת האפשרות שגורם המחלה מופץ באמצעות כלים מכאניים מעצים נגועים לעצים הבריאים הסמוכים. הניסוי בוצע בתנאי הסגר במכון וולקני בראשון לציון בשתילים של שקד וגפן. בניסוי בחנו שתי דרכי העברה אפשריות כחיקוי לכלים המכאניים בהם נעשה שימוש במעשה החקלאי: מזמרות כחיקוי לכלי הגיזום המכאניים ושופין (לפציעה שטחית של קליפת הענפים) כחיקוי למנערת המכאנית. בתחילת חודש אוגוסט 2020 דגמנו ענפים סימפטומטיים ממטע השקד בשדה נחמיה. הענפים הועברו למתקן הקרנטינה בראשון לציון ולאחר שנבדקו ונמצא שהם אכן נגועים בקסיללה (באמצעות בדיקת qPCR) השתמשנו בהם כמקור מידבק. בשלב ראשון חיטאנו את כלי העבודה. לאחר מכן, הענפים הנגועים נגזמו באמצעות מזמרה, או נפצעו על ידי שופין. לבסוף, גזמנו (עם המזמרה) או פצענו (באמצעות השופין) שתילי שקד או גפן בריאים שגדלו במבנה הקרנטינה. הגיזום והפציעה בוצעו בענפים עשבוניים או בענפים מעוצים. כהיקש בצענו את אותן הפעולות אבל השתמשו בחומר בריא כ"מקור". הניסוי הועמד בתאריך 11 באוגוסט 2020 ומספר החזרות בכל טיפול רשום בטבלה מספר 1.

בהערכה הויזואלית שבצענו ב – 19 באוקטובר 2020 התברר שלא כל הענפים המטופלים לבלבו. 15 מתוך 39 (38%) הענפים שטופלו בעצי השקד לבלבו ו – 12 מתוך 35 השריגים של הגפן (34%) לבלבו. באף אחד מהענפים/שריגים שלבלבו לא נראו תסמיני מחלה אופייניים של קסיללה. ב – 14 בדצמבר 2020 נלקחו דגימות של עלים מהענפים/שריגים שלבלבו לבדיקת איכלוסם בחיידקי קסיללה בדגימת qPCR. כולם היו ללא תסמינים והבדיקות הראו שבאף אחד מהם לא היו חיידקי קסיללה. הביקורת החיובית (בדיקת PCR של גפן שאולחה באופן מלאכותי בחיידקי קסיללה) הייתה חיובית בבדיקת ה- qPCR. בבדיקות שבוצעו בשנה העוקבת, 2021, התוצאות היו זהות: באף אחד משתילי השקד ומשיחי הגפן לא נראו תסמיני מחלה אופייניים ובדיקות ה- qPCR היו שליליות. המשמעות היא שהסיבה לכתמיות בנגיעות במטעים נובעת מגורמים אחרים. למשל, הפצה של הווקטור למרחקים קצרים – מעץ נגוע לעצים הסמוכים אליו.

2.4. בחינת נוכחות גורם המחלה בפליטי תרבות (שקד) וגידולים נוספים (לא נכלל ביעדי התכנית

המקורית).

פליטי תרבות של שקד בעמק החולה אותרו וסומנו בעונת פריחתם. בקיץ נבדקו העצים שסומנו באופן ויזואלי לאיתור תסמיני ALS וכמו כן נדגמו לבדיקות מולקולריות במעבדה. סה"כ נדגמו כ- 100 צמחים מ- 25 אתרים שונים. בבדיקות ויזואליות של פליטי שקד לא נמצאו עצים המראים תסמיני ALS אופייניים. כמו כן, בבדיקות מולקולריות של אותם עצים לא נמצאה נוכחות קסיללה. עם זאת, בסריקות בכרמי גפן באזור עמק החולה וסביבתו, נמצאו בשנת

2021 שלוש גפנים נגועות בקסיללה. החיידק קסיללה בודד מאותן דוגמאות ואומת בבדיקות מולקולריות. בסקרי המשך שבוצעו על ידי השירותים להגנת הצומח נמצאו כרמים נוספים באזור הגליל העליון עם נגיעות בקסיללה.

3. בחינת גישות לבקרת המחלה:

3.1. סניטציה של עצים נגועים.

הניסויים הוצבו בשנת 2019 בשני המטעים כמתוכנן במטע בשדה נחמיה. בהערכת הנגיעות שבצענו בקיץ 2021, תסמיני קסיללה נראו ב - 5 מתוך 62 (8.1%) העצים שהיו מסביב לעצי טיפול שלא נעקרו (היקש). תסמיני קסיללה נראו גם על עץ אחד מתוך 63 העצים (1.6%) של טיפול הסניטציה. ההבדלים בשכיחות הנגיעות בין שני הטיפולים היו מובהקים ($P < 0.0001$) על פי מבחן χ^2 . חשוב לציין שבהערכה שבוצעה בקיץ 2020 היה עץ אחד שנמצא בסמוך לעץ שלא נעקר (טיפול היקש) בו נראו תסמיני קסיללה אופייניים על ענף אחד שהיה בצד הסמוך לעץ הנגוע. העלים שגדלו על שאר הענפים בעץ זה נראו בריאים. תסמיני אלה מעידים, אולי, על הפצה משנית חדשה של המחלה מהעץ הנגוע לעץ הבריא, הסמוך. בשנה העוקבת מרבית העלים בעץ זה הראו את תסמיני המחלה האופייניים.

3.2. שימוש במשרני עמידות וחומרים חדשים להבראת עצים נגועים (לא נכלל ביעדי התכנית

המקורית).

בניסוי שבצענו בחלקת שדה נחמיה. בחנו באם התכשיר שנקרא WDS המכיל את החיידק *Bacillus subtilis* בתוספת מיצוי צמחים מסוגל לרפא עצים נגועים (כטענת החברה). לצורך ביצוע הניסוי בחרנו עצים שהיו נגועים בדרגה בינונית וגבוהה בקסיללה. הנגיעות של העצים שנכללו בניסויים הוכחה מעבדתית. הטיפולים בניסוי היו כלהלן: 1. היקש; 2. WDS **בהזרקה ובהגמעה**. 8 סמ"ק תכשיר הוחדרו לגזע של כל אחד מעצי הניסוי בארבעה מקומות בקדחים שנקדחו בגזע בעומק 5 ס"מ, ועוד 40 סמ"ק הוחדרו לקרקע לעומק של 10 ס"מ. **עצים בריאים** – עצים שלא נראו עליהם כל תסמיני מחלה (נוספו כהשוואה). כל אחד מהטיפולים חזר 6 פעמים (חזרה = עץ) והניסוי הוצב בבולקים באקראי. הערכות הנגיעות בוצעו בקיץ 2021 לאחר שהתכשיר יושם פעמיים: בפעם הראשונה - בסוף עונת 2019 ובפעם השנייה - בתחילת עונת 2020. מניתוח התוצאות עלה ש- 75% מעצי ההיקש ו- 70% מהעצים המטופלים בתכשיר WDS היו בדרגת נגיעות קסיללה 2 או יותר. ההבדלים בשכיחות המחלה בין שני הטיפולים לא היו מובהקים ($P = 0.563$) על פי מבחן χ^2 . כהשוואה, כל העצים של טיפול 3 (שהיו ללא תסמינים בתחילת הניסוי) היו בריאים במועד הערכת הנגיעות.

באחת מתתי החלקות של מטע שדה נחמיה העמדנו ביחד עם חברת לוכסמבורג ניסוי לבחינת ההשפעה של שני תכשירים שיש לגביהם מידע שהם מעוררים את מערכת ההגנה הצמחית. הניסוי כלל 3 טיפולים, כדלהלן: 1. היקש; 2. הגמעה של התכשיר **קנון** (חומצה זרחיתית) במינון של 1.5 ליטר לדונם; 3. הגמעה של התכשיר **קנון + LBG**-AC11 (חומצה זרחיתית + חומצה אמינית) במינון של 1.5 ליטר לדונם. הניסוי הוצב בבולקים באקראי וכל טיפול חזר 6 פעמים. גודל חלקת ניסוי היא שורה הכוללת 23 עצים של הזן אום-אל-פאחם. הערכת הנגיעות בניסוי קנון לעירור מערכת החיסון כנגד קסיללה בוצעה לאחר שהתכשירים הנכללים בניסוי יושמו שש פעמים – שלוש הגמעות יושמו בעונת 2019 ושלוש הגמעות יושמו בעונת 2020. חשוב לציין שממועד תחילת הניסוי (ביוני 2019) ועד למועד ההערכה האחרון שבצענו (בספטמבר 2021) לא היה שינוי משמעותי בשכיחות העצים הסימפטומטיים בכל הטיפולים, ובכלל זה בטיפול ההיקש. מניתוח תוצאות ההערכה האחרונה עלה שבטיפול ההיקש 2.94% מהעצים היו נגועים בקסיללה

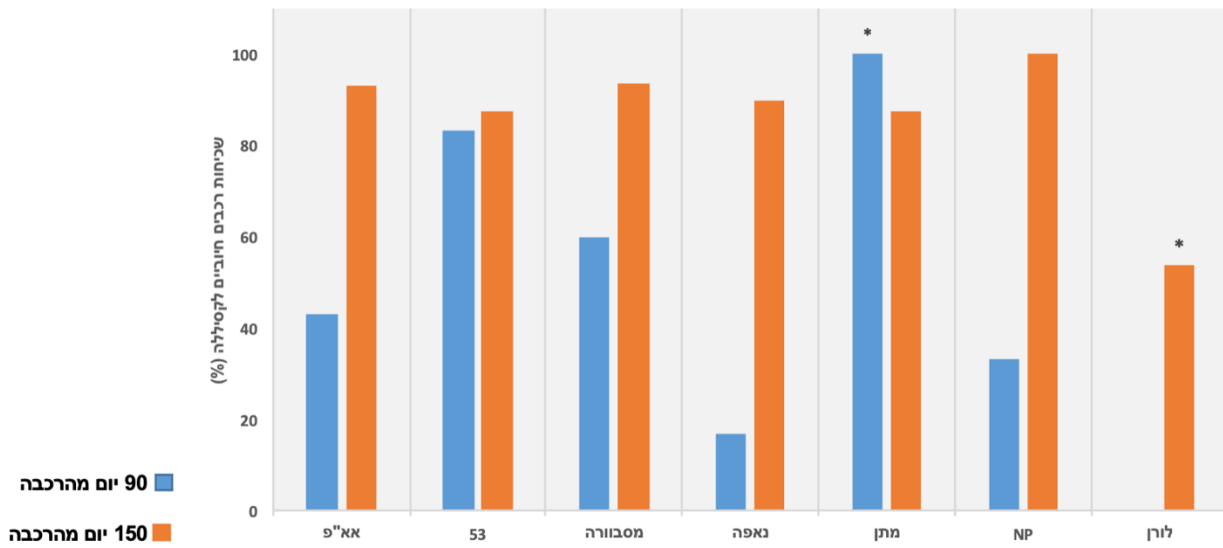
בדרגת נגיעות 2 או יותר. בטיפול בו יושם הקנון 1.88% מהעצים היו בדרגת נגיעות 2 או יותר, ובעצים בהם יושם הקנון + חומצה אמינית 5.19% מהעצים היו בדרגת נגיעות זו. ההבדלים בשכיחות המחלה בין שלושת הטיפולים לא היו מובהקים ($P = 0.189$) על פי מבחן χ^2 .

3.3. שימוש בקוטלי עשבים.

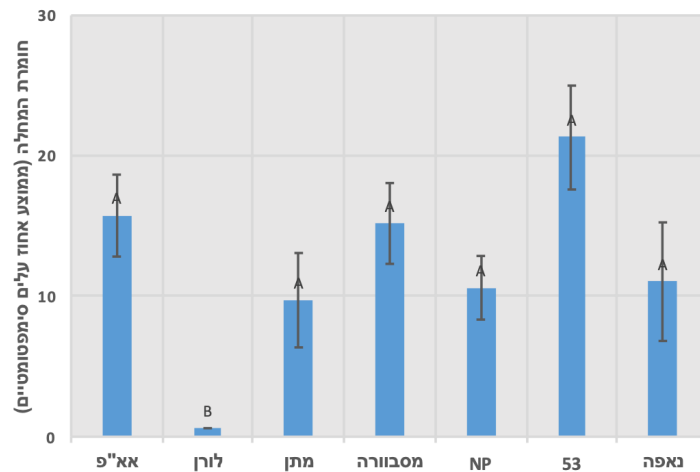
שימוש בקוטלי עשבים כגישה לבקרת המחלה אמור היה להתבסס על ידע לגבי מחזור החיים של הווקטור והצמחים עליהם הוא נמצא. לאור ואלו נמצאו רק בשנה האחרונה של המחקר יעד זה לא יושם. עם זאת, אנחנו רואים חשיבות רבה לבחון אותו בעתיד כפרקטיקה להפחתת שכיחות ווקטורים פוטנציאליים בסביבת המטע.

3.4. סריקת אוסף גנטי של עצי שקד.

ביחידת המטעים אוסף של כ-150 טיפוסים שקד שונים כולל זני בר שמקורם בארץ ובחו"ל. הנחת המוצא שלנו היא שהשונות הרבה בטיפוסי השקד עשויה להתבטא גם ברגישות שונה לחיידק הקסיללה. שונות זו חשובה ביותר כיון שהיא עשויה לעזור לנו להבין מנגנוני הגנה טבעיים כנגד החיידק וכן לפתח זנים חדשים של שקד בעלי עמידות משופרת כנגד החיידק. בכדי לבחון את זני השקד נקטנו בשתי גישות, האחת כוללת אילוח מלאכותי של שתילים, כפי שתואר בבחינת טווח הפונדקאים, והשנייה הרכבה של הזנים הנבדקים על גבי ענפי שלד של עצים נגועים בחלקה בשדה נחמיה. סה"כ נבדקו 13 זנים מהאוסף בנווה יער. הגורמים המגבילים את הרחבת הסריקות הם מספר העצים הנגועים בחלקות בעמק החולה (רב העצים נעקרו בעקבות צו הגנת הצומח), והמקום הפנוי במתקן ההסגר במכון וולקני אשר מאוכלס גם בשתילים מניסוי טווח הפונדקאים. בשני הניסויים בוצעו הערכות וויזואליות של תסמיני המחלה בזנים הנבדקים ובחינות מולקולריות לנוכחות החיידק. בניסוי ההרכבות בשדה נחמיה שהחל ב-2020 מעל ל-90% מהרכבים של אא"פ הראו תסמיני מחלה והיו מאוכלסים על ידי החיידק (איור 4), אינדיקציה לכך ששיטת ההרכבה הובילה להעברה יעילה של גורם המחלה לרכבים הנבדקים. בניסוי זה נמצא כי הזן לורן עמיד באופן יחסי לכלל הזנים הנבדקים. כך לדוגמא, 90 יום ממועד ההרכבה, בעוד שבזנים אא"פ ו-53 היה אחוז הרכבים הסימפטומטיים 40 ו-80 בהתאמה, לא היה ולו רכב אחד אשר הראה תסמיני מחלה או שנמצא מאוכלס על ידי החיידק בזן לורן (איור 4). גם בנקודת הדיגום האחרונה (150 יום לאחר ההרכבה) ההבדל באחוז הרכבים הסימפטומטיים בין לורן לבין שאר הזנים האחרים היה מובהק. במועד הדיגום האחרון נערכה גם הערכה לחומרת המחלה (מספר עלים סימפטומטיים בכל רכב). גם כאן, חומרת המחלה שהתבטאה בזן לורן הייתה נמוכה באופן מובהק מהזנים האחרים (איור 5). לעומת זאת, כאשר בדקנו את פיזור החיידק לאורך הרכב בין הזן לורן לזן אא"פ, לא מצאנו הבדל במרחק הנדידה של החיידק מנקודת ההרכבה, אך ריכוז החיידק בכל הנקודות שנבדקו (10, 20, 30 ו-40 סמ' מנקודת ההרכבה) היה נמוך באופן מובהק בזן לורן לעומת בזן אא"פ. בכדי לבחון את העמידות של הזן לורן לאורך זמן, השארנו את הרכבים המורכבים על העצים הנגועים לשנה נוספת, יחד עם הרכבות אא"פ ובחנו את התפתחות התסמינים לאורך זמן. בשנה השנייה אף לא אחד מהרכבים של הזן לורן הראה תסמיני מחלה לאורך כל העונה, ובבדיקות מולקולריות פחות מ-10% מהרכבים יצאו חיוביים. זאת בהשוואה לאא"פ שבשנה השנייה שכיחות המחלה והבדיקות החיוביות ב-PCR היו 90%. באילוח שנעשה במתקן ההסגר, שכיחות המחלה בזן הביקורת הייתה נמוכה משמעותית לעומת שכיחותה בניסוי ההרכבות, עם זאת בזנים מסויימים שכיחות המחלה עמדה על כ-50%. בזן לורן שכיחות המחלה עמדה על פחות מ-5%.



איור 4. שכיחות הרוכבים החיוביים לקסיללה ב-qPCR. הרכבות צד של זני השקד הנבדקים התבצעו על גבי ענפי שלד של עצי שקד נגועים במטע שדה נחמיה. דוגמאות עלים נאספו מהעלים התחתונים ביותר מכל הרוכבים הנמצאים על אותו ענף שלד, DNA הופק ונבדק לנוכחות קסיללה ב-real-time PCR. שכיחות הרוכבים החיוביים חושב כאחוז הרוכבים שנתנו תוצאה חיובית לקסיללה מתוך סך הרוכבים שנקלטו בכל זן. דוגמא חיובית נקבעה כ- $Ct < 34$. דיגומים התבצעו בין החודשים מאי-אוגוסט 2020. התוצאות המוצגות הן מהדיגום הראשון (כחול) והאחרון (כתום). נקודה מעל עמודה מסמנת שונות מובהקת מזן הביקורת אא"פ בהשוואה לדיגום שנעשה באותו מועד, (Chi-square), $(P < 0.05)$.



איור 5. חומרת תסמיני ALS בזני שקד שונים בניסוי ההרכבות. הרכבות צד של זני השקד הנבדקים התבצעו על גבי ענפי שלד של עצי שקד נגועים במטע שדה נחמיה וחומרת המחלה הוערכה לפי סקאלה של חמש רמות באופן הבא: ללא תסמינים- רוכב בו לא נצפה אף עלה סימפטומטי, רמה נמוכה- רוכב בו קיימים עד 5% עלים סימפטומטיים, רמה בינונית- רוכב בו קיימים בין 5-25% עלים סימפטומטיים, רמה גבוהה- רוכב בו קיימים בין 25-50% עלים סימפטומטיים, רמה גבוהה מאוד- רוכב בו קיימים בין 50-75% עלים סימפטומטיים. הערכות בוצעו החל מחודש מאי 2020 אחת לשבועיים, האיור מתאר את הערכת הנגיעות במועד הדיגום האחרון (170 יום מהרכבה). בוצע מבחן Nonparametric comparison, Steel-Dwass method על פי ערכים השונים מאא"פ (באופן מובהק $(P < 0.05)$ מסומנים ב- *).

מחלת הקסיללה זוהתה בישראל לראשונה בשנת 2016 במטעי שקד בצפון הארץ. מגדלי ומדריכי שקד מעידים כי תסמיני המחלה נראו כבר 5 שנים ויותר לפני זיהוי המחלה. עובדה זאת, יחד עם ידע שנרכש לאורך השנים בנושא קסיללה, מחזק את ההערכה שגורם המחלה הגיע לישראל כמה שנים לפני שנת 2016.

ביולוגיה של גורם המחלה

ניסיונותינו לפתח שיטת דיאגנוסטיקה חדשה על בסיס פעילותם של אנזימים, המופרשים על ידי קסיללה כחלק ממנגנון האלימות של החיידק, הראו כי קיים קושי להתבסס על פעילות זו כגורם מבדל יחיד בין עץ מאולח לעץ בריא. למרות שזוהתה פעילות ליפאז במוהל עצה מענפים נגועים, פעילות כזו זוהתה גם בענפים שאינם נגועים, דבר המעיד על נוכחות ליפאזות בנוזלי העצה בצמחים. יתכן ובעתיד יהיה מקום לנסות לפתח שיטה אימונולוגית לזיהוי אותם אנזימים מופרשים במקום בדיקת פעילות היות ורצף החלבון של הליפאז החיידקי שונה מזה של ליפאזות צמחיות. המכשיר של חברת אגדיה שנבחן במעבדתנו בשנה א' ובשנה ב' הצליח לזהות את נוכחות החיידק בחומר צמחי בתקופת התרדמה (דצמבר) וגם לאחר ההתעוררות (יוני) ובתנאי שדה. הבדיקה נמצאה כפשוטה ביותר, קלה לביצוע ואורכת בסה"כ 30 דק' ולכן יכולה לשמש כפתרון יעיל לבדיקת עצים בשדה כאשר נדרשות תשובות מידיות. יחד עם זאת, נראה כי מידת הרגישות של המכשיר נופלת במעט מזו של בדיקת ה-qPCR בעיקר בבדיקה של עצים הנגועים בצורה אסימפטומטית.

כלל הדוגמאות שנבדקו בישראל בשיטת ה-MLST התאימו לטיפוס ST1. באירופה לעומת זאת, באיטליה, ספרד ומדינות אחרות, נמצאו על פי רב מספר טיפוסים גנטיים ואף מספר תתי מינים של קסיללה. נתונים אלו מעידים כי באירופה התרחשו מספר אינטרדוקציות של גורם המחלה, ככל הנראה על ידי יבוא של חומר צמחי נגוע, בעוד בישראל ככך הנראה החדירה התרחשה ממקור אחד. ריצוף גנומי של שישה תבדידים ממוטעים שונים בישראל הראה כי השונות בתוך האוכלוסייה בישראל היא נמוכה מאוד וכך גם קצב יצירת המוטציה. נתונים אלו מחזקים את ההיפותזה לפיה קסיללה חדרה לישראל ממקור אחד ויכולים להעיד על אוכלוסייה צעירה יחסית.

תוצאות מבחן הפונדקאים מתיישבות יפה עם האנליזה הגנטית, ומחזקות את ההבנה שהטיפול המקומי של החיידק תוקף גפן ושקד, אך לא גידולים אחרים. יכולת החיידק לנדוד מנקודת האילוח נמצאה כמדד אמין ליכולת החיידק להתבסס בצמח ולגרום לתסמיני מחלה ואכן נראת בצורה ברורה רק בגפן ושקד. מתוצאות אלו ניתן להבין שלעת עתה, גידולים אחרים הידועים כרגישים לקסיללה, כגון זית, הדרים, ונשירים שונים אינם בסכנה מיידיית. יחד עם זאת, חדירה של טיפוס קסיללה חדשים לישראל עלולה לגרום לשינוי תמונת המצב הנוכחית ולכן יש לעמוד על המשמר בכל הנוגע לבדיקות של גידולים רגישים אחרים ובקרת כניסה של חומר צמחי שמשמש פונדקאי לקסיללה.

הממצאים שהתקבלו מדגימת אבריו השונים של עץ השקד ובחינת ריכוז החיידק בהם לאורך שתי עונות רצופות חשפו מידע חדש לגבי הביולוגיה של גורם המחלה והינם בעל ערך יישומי רב שכן הם מלמדים אותנו מהו האיבר המתאים ביותר לדיגום לזיהוי המחלה בתקופות שונות. מהתוצאות שנאספו בשנתיים אלו נראה כי החיידק משתמר בענפונים רב שנתיים מעוצים, וכי הוא מתחיל לנדוד אל הצימוח הירוק והעלים ומגיע לרמה ניתנת לזיהוי בחודש מאי. כמו כן, נמצא כי לקראת הכניסה לתרדמה ריכוז החיידק בעלים פוחת, דבר המעיד על נדידה בחזרה אל הרקמה מעוצה או

תמותה של התאים בעלים המזדקנים. מתוך ממצאים אלו ניתן להבין כי הווקטור לא יכול לרכוש את החיידק מהעץ לאורך כל תקופת היותו של העץ ירוק, וכי בתחילת הבלבוב הסיכויים לרכישה נמוכים מאוד (כפי שגם נראה בניסוי עם הווקטור). בכל הדגימות שביצענו לא נמצא החיידק בפרי ובקליפתו ולא בשורשי העץ. יתכן וקיים חוסר התאם בין החיידק לבין התכונות של הכנה שלא מאפשר נדידה של החיידק אל הכנה וממנה לשורשים ולכן לא החיידק לא נמצא שם. הכנה היא תוצר הכלאה בין שקד לבין אפרסק, ואפרסק כפי שהראנו חסין למחלה. במבחני אילוח שביצענו במתקן ההסגר עם שתילי הכנה GF677 אומתה השערה זו ונראה שהתבדיל המקומי אינו מצליח להתבסס במכלוא זה.

הימצאותם של עצים עם נגיעות סקטוראלית מחזקת את ההנחה שהמחלה ממשיכה להתפשט בצפון הארץ וכי היא מועברת על ידי ווקטור חרקי. הממצאים מעידים כי כאשר מופיעים תסמינים בענף שלד אחד, קיים סיכוי סביר שענפי שלד נוספים כבר מאוכלסים בחיידק, ולכן, קיים ספק האם אפשר לבצע סניטציה יעילה על ידי הסרה של הענף הנגוע בלבד. עם זאת, יש לבדוק זאת בניסוי מסודר, ובהינתן שישנם מספיק עצים עם מופע תסמינים סקטוראלי שיאפשר ביצוע ניסוי שכזה.

חקר האפידמיולוגיה של המחלה

בחינת פיזור המחלה במרחב התבססה על סקרי שטח שהתבצעו במטעי שקד במשך חמש שנים. מתוצאות הסקרים נראתה עליה מתונה במספר העצים הסימפטומטיים בשתי החלקות שנסקרו בין השנים 2017 ו-2019 ועליה משמעותית יותר בשנת 2020. מהאנליזות המרחביות התברר שבכל שנות המעקב הייתה התקבצות של העצים הסימפטומטיים בחלקה של ברעם ופיזור אקראי בשדה נחמיה. במקומות בהן קיים וקטור להעברת הפתוגן, זוהה דפוס פיזור מקובץ^{6,7} וקצב התקדמות המחלה מהיר (עקום סיגמואידלי). לדוגמא, בהדרים (מחלת Citrus Variegated Chlorosis) הייתה עליה בנגיעות מ 10% ל 80% מהעצים בתוך שנה בשתי חלקות ועליה מאחוזים בודדים ל 14% בחלקה נוספת⁷ ובזיתים (מחלת Olive quick decline) בשש משבע חלקות העליה באחוז העצים הסימפטומטיים גדל תוך שנה מ 30% ל 90%⁶. בשלב הבא, בדקנו באם קיימת כיוונית מוגדרת בהתפשטות המחלה. בשלוש שנות הניטור הראשונות מצאנו שלא קיימת התפשטות בכיוון שורות הגידול, אך תמונה זו השתנתה בשנת 2020 בה נמצא שהעליה בעצים הסימפטומטיים היתה בכיוון השורות בברעם ואחידה בשדה נחמיה. על אף שדגם התפשטות לאורך שורות הגידול יכול להצביע על העברת הפתוגן באמצעות כלי העיבוד החקלאי, יש לזכור כי מדובר בחלקה אחת בלבד, ובפתוגן שככל הידוע אינו מועבר על ידי אמצעים מכאניים. אינפורמציה זו אומתה גם בניסויים שבוצעו על ידינו ולכן אנו משערים כי המקבצים וההפצה לאורך שורות הן תוצאה של מעבר הווקטור מעץ נגוע לעצים סמוכים, בעיקר לאורך שורה, היות והנוף של עצים שכנים נמצא במגע פיזי.

ככל הידוע, הפצת קסיללה במטע מתבצעת באופן בלעדי על ידי וקטורים חרקיים מתת סדרת הציקדות (Auchenorrhyncha). בשנת המחקר הראשונה לא נמצאו מיני ציקדות ניזוני עצה. באיסופים שנערכו בשנת המחקר השניה אשר התמקדו במציאת צברי רוק בעשביה במהלך האביב, נמצאה כמות משמעותית של נימפות ובוגרים של ציקדות רוק. כל הנימפות נמצאו באביב והבוגרים נמצאו בסוף האביב ובסתיו. צורת הדגימה המועדפת הינה איסוף ידני של נימפות ואילו לבוגרים עדיפות לכיסוי נימפות בשקית רשת או לכידה באמצעות נפנוף רשת חרקים. ממצאים אלו מצביעים על כך כי ככל הנראה הווקטורים הפוטנציאליים מעמידים בארץ דור אחד בלבד (נימפות באביב ובוגרים

בקיץ-סתיו). כמו כן נראה כי השקד אינו פונדקאי מועדף ויש לווקטורים הפוטנציאליים הבוגרים פונדקאי מועדף אחר. ככל הנראה מחטניים לבוגרים מהמשפחה [Aphrophoridae](#) כיוון שפרטים נמצאו בסתיו מתחת למחטניים ודגניים לבוגרי המשפחה Cercopidae. יתכן שהנקבות מטילות על עשבוניים או שהנימפות הבוקעות לאחר ההטלה עוברות לצמחים עשבוניים שונים. נראה שהנימפות מהמשפחה [Aphrophoridae](#) יותר פוליפאגיות מהפרטים מהמשפחה Cercopidae שנמצאו בעיקר על דגניים. מבין הפרטים שנאספו, הוגדרו שלושה וקטורים פוטנציאליים כאשר המין השלישי ([Aphrophoridae](#)) *Neophilaenus campestris* ידוע כווקטור של המחלה, אם כי עם יעילות ההעברה שלו נמוכה מזו של המין שנמצא כווקטור העיקרי באיטליה *Philaenus spumarius*⁹, אשר לא תועד בארץ.

ניסוי ההעברה (רכישה והדבקה) של צמחי שקד בקסיללה נערך למין *M. impictifrons* בלבד מכיוון שנדרשו לכך מספר רב של פרטים. מאחר ומין זה לא נמצא באירופה ובארה"ב, אין עליו מידע וזו הפעם הראשונה בה הוכחה יכולתו לשמש כווקטור לקסיללה בכלל ולעצי שקד בפרט. אחוזי ההצלחה היו גבוהים מהמתוארים לווקטורים השונים של מחלה זו (כ- 67%), אך מאחר והניסוי נערך בהיקף קטן נדרשת חזרה על הניסוי לקביעת יעילות ההדבקה. מועד הרכישה וההדבקה בשטח עדיין לא ברורים מאחר וריכוז קסיללה בשקד מאפשר רכישה החל מתחילת הקיץ ולא מצאנו בוגרים בשקד בקיץ. יתכן וחלק מההדבקה באביב נעשית על ידי בוגרים שרכשו את החיידק בקיץ, עברו את החורף כבוגרים ושרדו. תשובה לכך אולי נקבל אם הבוגרים שגדלים אצלנו על הרוזמרין ישרדו עד הקיץ. יתכן וישנם צמחי בר המכילים את החיידק ומהם רוכשים אותו הבוגרים אם כי לא מצאנו בוגרים שנשארו את החיידק בבר. העובדה שלא הצלחנו למצוא את בוגרים מהמין *M. impictifrons* במטעי השקד מביאה אותנו להשערה שהווקטור מגיע לשקד באופן אקראי ואז רוכש ומעביר את המחלה. הרכישה וההדבקה כפי שמתואר בספרות¹⁰ וכפי שהראנו מהירה. השערה זו יכולה להסביר את הקצב הנמוך של התפשטות המחלה במטעי השקד. יעילות הרכישה וההעברה הנמוכים של *N. campestris*, כפי שתואר בספרות, יחד עם מספר הפרטים המועט שנמצא בישראל והגעה אקראית למטעי השקד, מספקים הסבר נוסף לקצב ההתפשטות האיטי של המחלה.

עוד בטרם אותר ווקטור פוטנציאלי לקסיללה בישראל בחנו האם החיידק קסיללה נמצא בפליטי תרבות של שקד באזור עמק החולה, היות וממצא כזה היה בהכרח מעיד על מעבר המחלה דרך ווקטור, ולא על ידי חומר ריבוי. לא עלה בידינו לאתר ממצא שכזה ולכן לא קיבלנו עדות ברורה לאופן החדירה של קסיללה לישראל. על פי הספרות, ועל פי תוצאות מבחן טווח הפונדקאים שביצענו, היה ברור שהטיפוס המקומי יכול להדביק גם גפנים ולגרום למחלת PD. לאור זאת, הסקרים שבוצעו התמקדו בכרמים בעמק החולה וסביבתו. הימצאות קסיללה בכרמים מחזקת את ההשערה שבישראל מתרחשת הפצה של המחלה באמצעות ווקטור חרקי. בין אם הווקטור החרקי הגיע במקור ממדינה שכנה, או בין אם המחלה הגיעה עם חומר צמחי והופצה על ידי ווקטור קיים, אין עדיין מספיק ממצאים לענות על כך. כך או כך, הימצאות PD בישראל מהווה איום מיידי ומשמעותי על ענף גפן היין בישראל, ובעיקר באזור הגליל העליון. טיפוס הפתוגן שנמצא בארץ אלים הרבה יותר על גפן מאשר על שקד, ולכן הוא גדל ומתפשט בצמח באופן מהיר יותר ומגיע לריכוז גבוה יותר בצמח. אי לכך, הפצתו במרחב, בהינתן ווקטור מתאים, צפויה להיות מהירה וחריפה יותר מזו הנראית בשקד.

ממצאי ניסוי ההעברה המכאנית מתאימים לידוע עד כה בספרות שחיידקי הקסיללה לא מופצים במרחב באמצעות כלי עבודה מכאניים. המשמעות היא שהסיבה לכתמיות בנגיעות, ולהפצה לאורך שורות, במטעים נובעת מגורמים אחרים. למשל, הפצה של הווקטור למרחקים קצרים – מעץ נגוע לעצים הסמוכים אליו.

בחינת גישות לבקרת המחלה

ממצאי ניסוי הסניטציה מאוששים את ההשערה שיש תרומה להרחקה רק של העצים הסימפטומטיים. מסקנה זו תקפה (כנראה) במקומות בהם מספר ההדבקות החדשות אינו גדול וקצב הפצת המחלה במרחב הוא איטי. במקרים אלה ניתן להניח שהווקטור אינו שכיח (יש רק מספר קטן של פרטים), או שיעילות ההדבקה שלהם נמוכה. ייתכן שאם אוכלוסיית הווקטור הייתה גדולה ויעילות ההדבקה הייתה גבוהה יותר (זה המצב בחבל פוליה באיטליה ובחבל אליקנטה בספרד) לא ניתן היה לראות תרומה של סניטציה של העצים הנגועים בלבד. בכל מקרה, מסקנות הניסוי תומכות בהחלטה של מנהל השירותים להגנת הצומח, פרופ' עבד גרא, שהחליט שלא לאמץ את ההנחיות של EFSA (עקירה של עצים בריאים ברדיוס של 100 מ' מסביב לעצים שזוהו כנגועים) והנחה לעקור את העצים הנגועים בלבד.

המסקנה שעלתה מניסוי הטיפול בתכשיר WDS היא שלא נראה שיפור במצב הפיטוסיטרי של העצים המטופלים. חשוב לציין שבהערכה שבצענו בקיץ 2019 (אחרי שיושם הטיפול הראשון) מצאנו שלמרות שהחומר לא מנע את התפתחות תסמיני המחלה על העלים, הוא הגביר את הצימוח הקייצי. עם כל החשיבות של השפעה זו נראה לנו שאין טעם להמשיך ולבחון את היעילות של התכשיר האמור כנגד קסיללה. בניסוי עם תכשיר הקנון, המסקנה היא שטיפול ההגמעה השונים לא שיפרו את המצב הבריאותי של העצים ולא השפיעו על הנגיעות בקסיללה. אבל, חשוב לציין שממועד תחילת הניסוי ועד למועד ההערכה האחרון שבצענו בקיץ 2021 לא היה שינוי משמעותי בשכיחות העצים הסימפטומטיים בכל הטיפולים, ובכלל זה בטיפול ההיקש. מאחר והטיפולים לא היו אמורים "לרפא" את העצים שכבר היו נגועים בדרגה 2 ומעלה אלא רק למנוע את ההחמרה במצבם, ובגלל שזה לא קרה גם בטיפול ההיקש, לא ניתן לדעת באם הטיפולים היו יעילים או לא.

אחד הפתרונות האלגנטיים והיעילים ביותר להתמודדות עם מחלות צמחים הוא שימוש בזנים עמידים. יחד עם זאת, ככל הידוע לנו, טרם דווח על זנים עמידים לקסיללה באף לא אחד מהגידולים הרגישים לכלל הטיפוסים הגנטיים של הפתוגן. ניסוי בית הרשת הדגים עד כמה בעיית לעבוד עם החיידק, היות וגם לאחר שלושה מחזורי אילוח בשנה ב', רק 20% משתילים אא"פ הראו תסמיני מחלה. תוצאות אלו אינן חריגות ומתקבלות גם אצל קולגות שלנו שעובדים עם החיידק בארה"ב ובאירופה. בניסוי ההרכבות לעומת זאת, נוכחנו לראות הצלחה גדולה, הן בפיתוח השיטה שהתגלתה כיעילה מאוד לבחינת הזנים, והן במציאת הזן לורן שהראה עמידות מרשימה לחיידק, על אף ריכוז המדבק הגבוה בעצים עליהם הורכב. מכאן אנו למדים שלזן לורן תכונות גנטיות המקנות עמידות למחלה וכי החיידק משתמר היטב בענפי השלד של השקד. בשנה השנייה לסריקת הקווים הופתענו לראות שבזן לורן לא היה כל ביטוי סימפטומטי למחלה, דבר שחיזק מאוד את תוצאות השנה הראשונה ואולי אף מעיד על יכולת הזן להתאושש מהדבקה. בעתיד נוכל לבחון אוכלוסייה מתפצלת של הזן מתן, שהוא צאצא של הזן לורן, במטרה למפות את תכונת העמידות בגנום. מיפוי שכזה יהיה בעל ערך רב גם להבנת מנגנון העמידות כנגד קסיללה וגם לטיפול והשבחה (קלאסיים או טרנסגניים) של גידולים עמידים לקסיללה.

פירות מצוטטת

1. Sicard, A., Zeilinger, A. R., Vanhove, M., Schartel, T. E., Beal, D. J., Daugherty, M. P., & Almeida, R. P. P. (2018). *Xylella fastidiosa*: Insights into an emerging plant pathogen. *Annual Review of Phytopathology*, 56, 181–202. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045849>
2. Saponari, M., Giampetruzzi, A., Loconsole, G., Boscia, D., Saldarelli, P., & Amendola, A. (2019). *Xylella fastidiosa* in Olive in Apulia : Where We Stand. *Phytopathology*, 109(2), 175–186. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0319-FI>
3. Scally, M., Schuenzel, E. L., Stouthamer, R., & Nunney, L. (2005). Multilocus Sequence Type System for the Plant Pathogen *Xylella fastidiosa* and Relative Contributions of Recombination and Point Mutation to Clonal Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8491–8499.
4. Davis, M. J., Thomson, S., & Purcell, A. H. (1980). Etiological Role of the Xylem-Limited Bacterium Causing Pierce's Disease in Almond Leaf Scorch. *Phytopathology*, 70(6), 472. <https://doi.org/10.1094/phyto-70-472>
5. Cornara, D., Marra, M., Tedone, B., Cavalieri, V., Porcelli, F., Fereres, A., Purcell, A. & Saponari, M. (2020). No evidence for cicadas' implication in *Xylella fastidiosa* epidemiology. *Entomologia Generalis*, 20, 125-132.
6. Montes Borrego, M., D. Boscia, B. B. Landa, M. Saponari, & J. A. Navas Cortés, 2017. Spatial and temporal dynamics of olive quick decline syndrome in orchards in Puglia, southern Italy.
7. Groves, R. L., J. Chen, E. L. Civerolo, M. W. Freeman, & M. A. Viveros, 2005. Spatial analysis of almond leaf scorch disease in the San Joaquin Valley of California: factors affecting pathogen distribution and spread. *Plant Disease* 89: 581–589.
8. Laranjeira, F. F., T. R. Gottwald, L. Amorim, & R. D. Berger, 2000. Spatio-temporal dynamics of citrus variegated chlorosis: A preliminary analysis. *International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010)*.
9. Elbaino, T., Yaseen, T., Valentini, F., Ben Moussa, I.E., Mazzoni, V., & D'onghia, A.M. (2014). Identification of three potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(2), 328-332.
10. Cornara, D., Marra, M., Tedone, B., Cavalieri, V., Porcelli, F., Fereres, A., Purcell, A. & Saponari, M. (2020). No evidence for cicadas' implication in *Xylella fastidiosa* epidemiology. *Entomologia Generalis*, 20, 125-132.

פרסומים מדעיים

עדיין לא פורסמו מאמרים מדעיים שנבעו ממחקר זה

פטנטים

לא הוגשו פטנטים שנבעו ממחקר זה

הרצאות וימי עיון

- א. בהר. מחלות קסיללה ופיטופלסמה בעצי פרי. קורס הגנת הצומח של שה"מ (אפריל 2019), ראשון לציון, ישראל
- א. בהר. מחלות קסיללה ופיטופלסמה בעצי פרי. קורס מגדלים (אפריל 2019), שדה אליהו, ישראל
- א. בהר. מחלת קסיללה באירופה ובישראל. קורס סינדקו בנושא הגנת הצומח למגדלים מהרשות הפלסטינית (ספטמבר 2019), נתניה, ישראל
- א. בהר. מחלת קסיללה באירופה ובישראל. קורס בנושא זית לאגרונומים מהרשות הפלסטינית (נובמבר 2019), גילת, ישראל
- א. בהר. מחלת קסיללה בשקד בישראל. קורס הגנת הצומח בנשירים (דצמבר 2019), קצרין, ישראל
- א. בהר וחובריו. מחלת הקסיללה באירופה וישראל. יום מחקרים בזית (פברואר 2020), ראשון לציון, ישראל
- א. בהר וחובריו. קסיללה כמין פולש לישראל. יום עיון מינים פולשים של השירותים להגנת הצומח (זום), יולי, 2020.
- א. בהר וחובריו. דוח מצב מחלת קסיללה בישראל. יום דיווחים ענף השקד (זום), ינואר, 2020.
- א. בהר וחובריו. עדכון התקדמות במיזם קסיללה. יום עיון ענף השקד (זום), פברואר, 2020.
- א. בהר וחובריו. קסיללה בישראל ובאיטליה. יום מחקרים בענף הזית (זום), פברואר, 2022.

- O. Bahar et al. Xylella outbreak in Israel. University of Berkeley, California seminar series, March, 2021.
- O. Bahar et al. The current state of Xylella in Israel. Xylella fastidiosa: how research can support solutions. Ajaccio, France, October 2019.
- O. Bahar et al. A tail of two epidemics. University of California, Davis, November 2021
- O. Bahar et al. Xylella fastidiosa outbreak in Israel. University of California, Berkeley, November 2021.
- O. Bahar et al. A tail of two epidemics. University of California, Davis, January 2021.

תוספת למיזמים

כיצד שילוב התוצאות של קבוצות המחקר מקרב את המיזם לקראת מימוש יעדי

במיזם נכללות שמונה קבוצות מחקר. החוקרים השותפים מומחים בדיסציפלינות מדעיות שונות ובכלל זה אפידמיולוגיה ופיתוח מערכות תומכות החלטה (ד.ש.), בקטריולוגיה (א.ב.), ניתוח מרחבי (ל.ב. ו – ע.ה.), אנטומולוגיה (ע.צ.פ. ל.ג. ו – ר.ש.) ופיזיולוגיה וגנטיקה של עצי פרי (ד.ה.). החוקרים חולקו לשלושה צוותי משימה שלכל אחד מהם יש משימה ייחודית אבל המשימות של שלושת הצוותים חופפות והן מפרות זו את זו. צוות המחקר הראשון עוסק בחקר הביולוגיה של גורם המחלה. משימתו היא לפתח שיטה מתקדמת לדיאגנוסטיקה, לאפיין את אוכלוסיות הפתוגן בישראל ולקבוע את טווח הפונדקאים הרגישים בישראל. מרבית המחקרים שיבצע צוות זה בוצעו בשנת המיזם הראשונה וחלקן יבוצעו בשנת המיזם השנייה. צוות המחקר השני עוסק בחקר האפידמיולוגיה של המחלה. הממצאים איפשרו לאפיין את דגם הפיזור של העצים הנגועים במטעים; מידע הרלוונטי להעלאת היפותזות לגבי דרך ההפצה של המחלה במרחב.

מחקרים אלה החלו בשנת המיזם הראשונה והם ימשיכו במהלך כל המיזם. צוות המחקר השלישי משתמש במידע שעלה מהמחקרים של שני הצוותים האחרים ובחן אמצעים שיאפשרו לעכב את התפתחות התסמינים בעצים הנגועים ולמנוע את הפצת גורם המחלה מהמטעים הנגועים. חלק מהחוקרים השתתפו, במקביל, ביותר מצוות משימה אחד.

כל החוקרים השותפים נפגשו במהלך שנות המיזם אחת לארבע חודשים לדיווח ודיונים; הצוותים נפגשו בתכיפות גדולה יותר. במפגשים הראשונים דיווחו החוקרים על התוכניות שלהם לשנת המיזם (מרץ-אפריל) ועל שיתוף הפעולה והשילוב בניהם; במהלך השנה בוצע מפגש לדיווח על ממצאי ביניים (אוגוסט-ספטמבר) ובהם נדון הצורך לבצע שינויים והתאמות במחקרים. בסוף השנה (דצמבר-ינואר) התקיימו מפגשים לדיווח ולדיון על הממצאים. המחקרים של כל צוותי המחקר התבצעו באותם המטעים (שדה נחמיה וברעם) וכך ניתן היה להשליך ממחקר אחד לאחרים.

סיכום המחקרים שבוצעו בשנת המיזם הראשונה

קבוצת מחקר	מטרות המחקר	מסקנות ולקחים	סטיות ושינויים	עמידה במשימה
אופיר בהר	אפיון גנטי של אוכלוסיית הפתוגן בישראל	אנליזה גנומית של תבדידים מקומיים	לא היו	משימה הושלמה
	קביעת טווח הפונדקאים הרגשיים לתבדיד שנמצא בישראל	שקד וגפן רגשיים, שאר הגידולים הנבדקים לא	לא היו	משימה הושלמה
	פיתוח ו/או התאמה של שיטות דיאגנוסטיקה ליישום בתנאי שדה	נבדקה פעילות של אנזים נבחר במיצוי נוזלי עצה. לא ניתן לבסס שיטה על פעילות האנזים. הותאם שימוש במכשיר מסחרי	לא היו	משימה הושלמה
	קביעת ריכוז החיידק באברי העץ בשלבים פיסולוגים שונים	החיידק אינו נמצא בשורשים, אלא בענפונים ובעלים. ריכוז משתנה בשלבים פיסולוגים שונים	לא היו	משימה הושלמה
	מעקב ולימוד פיזור החיידק בעצים עם נגיעות סקטוראלית	החיידק מתפשט במהרה לאחר הופעת תסמינים ראשוניים	לא היו	משימה הושלמה
	איתור קסיללה בפליטי תרבות ובגידולים נוספים	גורם המחלה לא נמצא בפליטי תרבות של שקד, אך נמצא בכרמי יין בגליל העליון בשיוך עם תסמיני מחלה אופייניים	לא היו	משימה הושלמה
ליאור בלנק ועמי הברמן	אפיון דפוס הפיזור המרחבי של העצים הנגועים במטע וכימות	בשנתיים האחרונות נראתה עליה בשכיחות העצים הנגועים. פיזור	לא היו	משימה הושלמה

		העצים הסימפטומטיים לאורך שורה ובמקבצים	קצב התפשטות המחלה בחלקות שקדים נגועות	
משימה הושלמה	לא היו	נמצאו פרטים של ציקדות ניזונות עצה כולל מין המוכח כווקטור של קסיללה באירופה. מין שלא היה ידוע בספרות כווקטור של קסיללה הוכח שכזה	איתור וקטורים פוטנציאליים של קסיללה	רקפת שרון ועינת צחורי פיין
הצטבר מידע חלקי לגבי משימה זו	לא הושלם	היות ווקטורים אותרו רק בשנה האחרונה הדינמיקה שלהם לא נבדקה	לימוד הדינמיקה בזמן ובמרחב של ווקטורים של המחלה	
המשימה הושלמה	לא היו	נראתה השפעה מובהקת להסרת עצים סימפטומטיים	בחינת היעילות של סניטציה של עצים נגועים	דני שטיינברג, אופיר בהר
המשימה הושלמה	לא היו	בטיפול בחומר מרפא ובמשך עמידות לא הראו שיפור במצב העצים או הבראה.	בחינת גישות לריפוי ולהשריית עמידות בעצים נגועים	
משימה הושלמה	לא היו	לא נראתה העברה של המחלה באמצעים מכאניים	בחינת העברת המחלה באמצעים מכאניים	
משימה הושלמה	לא היו	נסרקו 13 קווי שקד, נמצא זן אחד עמיד למחלה	בחינת התגובה של טיפוסים גנטיים שונים של זני שקד למחלה.	דורון הולנד ואופיר בהר