

בחינה של האפשרות להפחית ריסוסים כימיים בכרם ע"י שימוש בזני אינטרודוקציה ובגפנים מטופלות באוזון

חוקרת ראשית : תרצה זהבי

שותפים : מרי דפני ילין ועומר קריין מו"פ צפון

מוגש לקרן המחקרים של שה"מ

מספר המחקר : 870-6823-20

תקציר - גפנים סובלות ממספר מחלות עלווה שהעיקריות שבהן הן קימחון הגפן (*Erysiphe necator*) וכשותית הגפן (*Plasmopara viticola*). שתי המחלות יכולות לפגוע הן בעלווה והן באשכולות צעירים. במחקר זה בחנו דרכים שונות להפחתת הנגיעות בכרמי גפן ליון בישראל - אינטרודוקציה של ארבעה זנים היברידיים עמידים למחלות, וטיפול במי אוזון במטרה להפחית את הנגיעות. **תוצאות** המחקר הראו כי בזנים ההיברידיים, בניסוי השטח (i) הזן ברונואר אינו נפגע כלל מקמחון, ונפגע מכשותית רק במידה מועטה. (ii) הזן פריור נפגע אך במידה מועטה מקימחון ומכשותית. (iii) הזן סובינר גריס נפגע פחות מקימחון בהשוואה לקברנה קרבון אך נמצא רגיש לכשותית באופן דומה לזן המסחרי רוסאן. (vi) הזן קברנה קרבון נדבק בקימחון יותר מכל הזנים האחרים שנבדקו בכל אחת מהחלקות, ונדבק גם בכשותית אך רק באחת מהחלקות. בניסוי המעבדה המשווה את רגישות הזנים לכשותית - חשוב לציין כי על אף שנראו כתמים בנקודות ההדבקה, היתה הנבגה מועטה בזנים ההיברידיים, ביחס לזן קברנה סוביניון המסחרי. עוד הראנו כי ריסוס באוזון מפחית נגיעות טבעית בכשותית, ודוחה את תהליך ההדבקה כפי שבא לידי ביטוי בהופעת המנבגים על גבי החלק התחתון של העלה. התוצאות הטובות ביותר התקבלו כאשר הריסוס באוזון נעשה יום או שלושה ימים לפני ההדבקה. **המלצות להמשך :** (i) באינטרודוקציה של הזנים ההיברידיים - אנו מציעים להמשיך ולבחון את רגישות הגפנים למחלות שנה נוספת. וכן לעקוב אחר הנגיעות על האשכולות בתחילת העונה ובסופה. (ii) בטיפול אוזון - יש לבצע אופטימיזציה למועד הטיפול, לריכוז האוזון ולתדירות הטיפולים גם בשלבים מוקדמים של התעוררות הגפן. בנוסף, יש לבחון את יעילות הטיפול גם כנגד נגיעות בקמחון.

מבוא ותאור הבעיה :

ריסוסים בתכשירים קוטלי פטריות אינם רצויים : הם משפיעים על הפאונה והמיקרופלורה בכרם, עלולים להזיק לאנשים המרססים והעובדים בכרם, לגרום לנוכחות של חומרים לא רצויים בפרי הנבצר והמעובד וכך לפגוע בבריאות הצרכנים. גפנים סובלות ממספר מחלות עלווה שהעיקריות שבהן הן קימחון (*Erysiphe necator*) וכשותית (*Plasmopara viticola*) הגפן, שתי מחלות שיכולות לפגוע הן בעלווה והן באשכולות צעירים. למניעת התפתחות המחלות מרססים היום בכל עונת גידול בין 3 ל-7 ריסוסים נגד קימחון ועד חמישה ריסוסים (ולעתים יותר) נגד כשותית הגפן. בגפן האירופית, מהמין

Vitis vinifera, אליו שייכים כל הזנים המגודלים בארץ, ליין ולמאכל, לא קיימת עמידות טבעית נגד מחלות אלה אך רגישות העלים פוחתת עם התבגרותם (Doster, 1985) ואילו חנטים נחשבים לרגישים עד כחודש אחר החנטה ואח"כ מתפתחת בהם עמידות אוטוגנית (Ficke et al., 2003). בחלק מהגפנים מהמינים האמריקאים והאסייתים יש עמידות ברמות שונות למחלות אלה (Staudt, 1997) ובעולם יש מספר תוכניות השבחה ליצור זנים היברידיים שמטרתן החדרה של תכונת העמידות לזנים אירופאים שהם הזנים הרצויים בשווקים מבחינת טעם.

שני כיווני פעולה חדשנים בארץ נבחנים כיום בצפון בתקווה להביא להפחתת שימוש בתכשירי הדברה כנגד קימחון וכשותית הגפן: (i) אינטרודוקציה של זנים היברידיים עמידים למחלות ו- (ii) פיתוח פרוטוקול לטיפול במי אוזון במטרה להפחית את רגישות הגפנים למחלות. ארבעה זנים היברידיים מתוכנית הטיפול של Freiburg, גרמניה הובאו לארץ על ידי ד"ר מרי דפני ילין, מו"פ צפון, וניטעו ב-2020-2021 בצורה ניסיונית במספר חלקות. נטיעה נרחבת יותר תתבצע רק אחרי בדיקה של ההתאמה של זנים אלה לשוק היין המקומי מבחינת גובה היבול המתקבל ובעיקר הטעם של היין או התירוש המופק מהם. מידת העמידות של הזנים לשתי מחלות הנוף תהווה שיקול משמעותי בהחלטות הנטיעה ויש חשיבות רבה לבחינה מסודרת של נושא זה. כיוון פעולה נוסף שניבדק עד כה חלקית ע"י יקב הרי גליל במטרה להפחית את התפתחות שתי המחלות הוא ריסוס של הכרם במים המכילים אוזון. העבודות שנעשו עד כה רמזו לתוצאות מענינות אך שיטת הבדיקה לא היתה הדירה וכדי לתקף את התוצאות ולצאת בהמלצות לחקלאים יש להעמיד ניסויים מסודרים שייתנו תשובות ברורות. הצלחת השיטה במערכת הכרם תהווה זרז להכנסתה גם לגידולים נוספים.

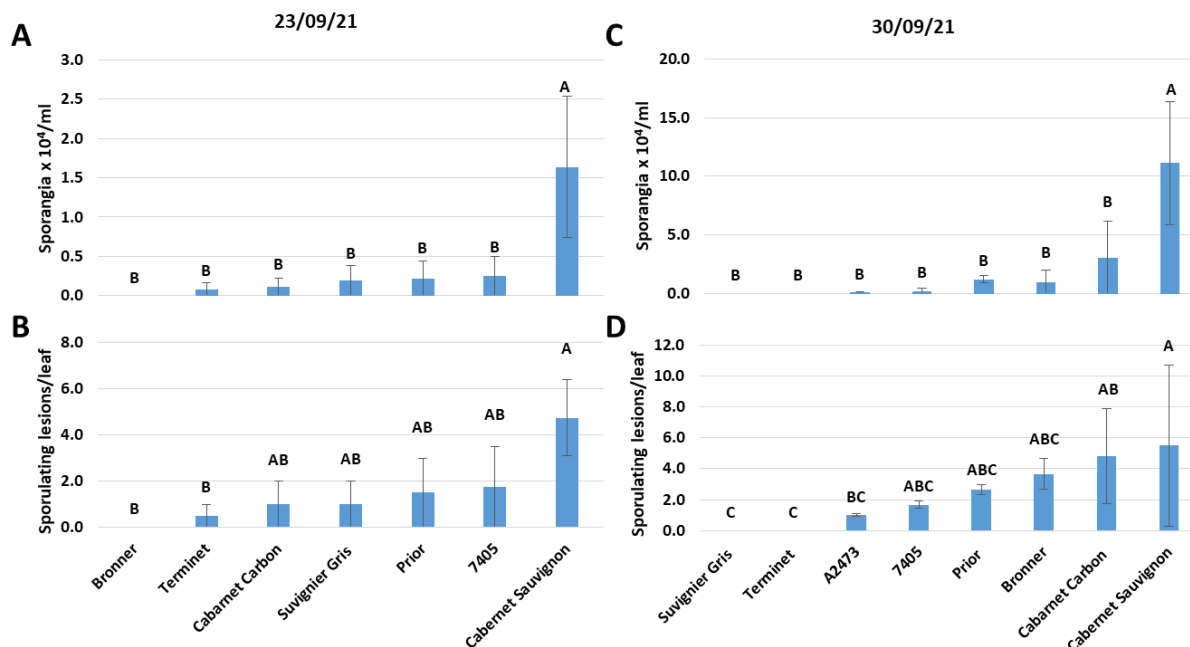
מטרות המחקר:

לבחון בתנאי מעבדה בצורה מבוקרת, וכן בתנאי שטח את הרגישות לקימחון וכשותית של עלים שמקורם מזני גפן ליין שיובאו לארץ, או לחילופין מעלים שטופלו באוזון. זאת במגמה שכלים אלו יאפשרו הפחתה משמעותית של כמות הריסוסים הכימיים המיושמים היום בכרמים.

מהלך המחקר ותוצאות:

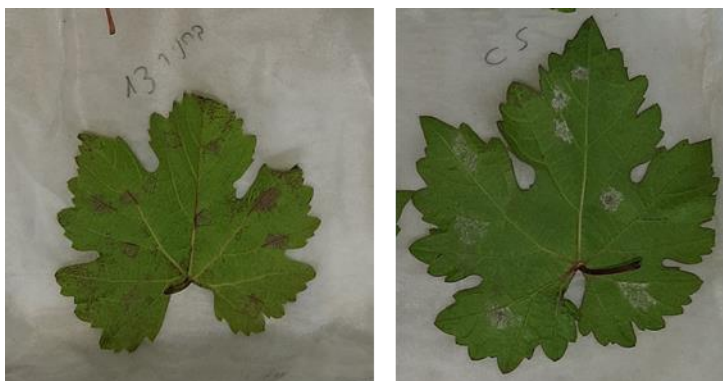
1) חלקות זנים היברידיים - ארבעה זנים מתוכנית הטיפול של Freiburg, גרמניה: Bronner ו- Souvignier gris (זנים לבנים), ו- Cabernet Carbon ו- Prior (זנים אדומים) נשתלו ב- 4 חלקות - (i) בספטמבר 2020 בחלקת מודל בקיבוץ שמיר בסמיכות לזן הרגיש טמפרניו, (ii) בקיץ 2021 בחוות פייכמן בסמיכות ל- 4 זנים רגישים למחלות (מהמין *V. vinifera*) לביקורת. (iii) בכרם דלתון בחלקות של אלקוש ו- (iv) ביקב תבור בחלקות ברמת סירין בסמיכות לזן רוסאן.

2) בחינת רגישות הזנים למחלות נוף קמחון וכשותית בתנאי מעבדה - עלים צעירים הודבקו במעבדה ב- 10 טיפות של תרחיף נבגים של כשותית (כל טיפה בת 10 מיקרוליטר בריכוז של 5.5 spore/μl). הניסוי נערך פעמיים. העלים הוכנסו לתא לח בחדר גידול למשך 7-10 ימים. בתום תקופת ההדגרה, נספרו הכתמים המנביגים לעלה, ונאספו כל המנביגים מכל עלה בנפח אחיד של נוזל (1.2 מ"ל) ונספרו על ידי המיציטומטר. בשני ניסיונות בלתי תלויים ראינו כי קברנה סוביניון רגיש יותר להדבקות באופן מובהק, ורמת ההנבגה גבוהה יותר (איור 1A ו-1C). בנקודות האילוח בזני האינטרודוקציה בלטו נקודות פיגמנטציה (איור 1B ו-1C), וההנבגה הייתה מועטה (איור מס' 2).



איור מס' 1 - נגיעות בכשותית בעלי גפן צעירים המודבקים בצורה מלאכותית בתנאי מעבדה. ההדבקות נעשו בשני תאריכים שונים בלתי תלויים. A ו-B - 23/9/21. C ו-D - 30/9/21. איורים A ו-C : מספר מנגיגים למ"ל. B ו-D : מספר כתמים מנגיגים לעלה.

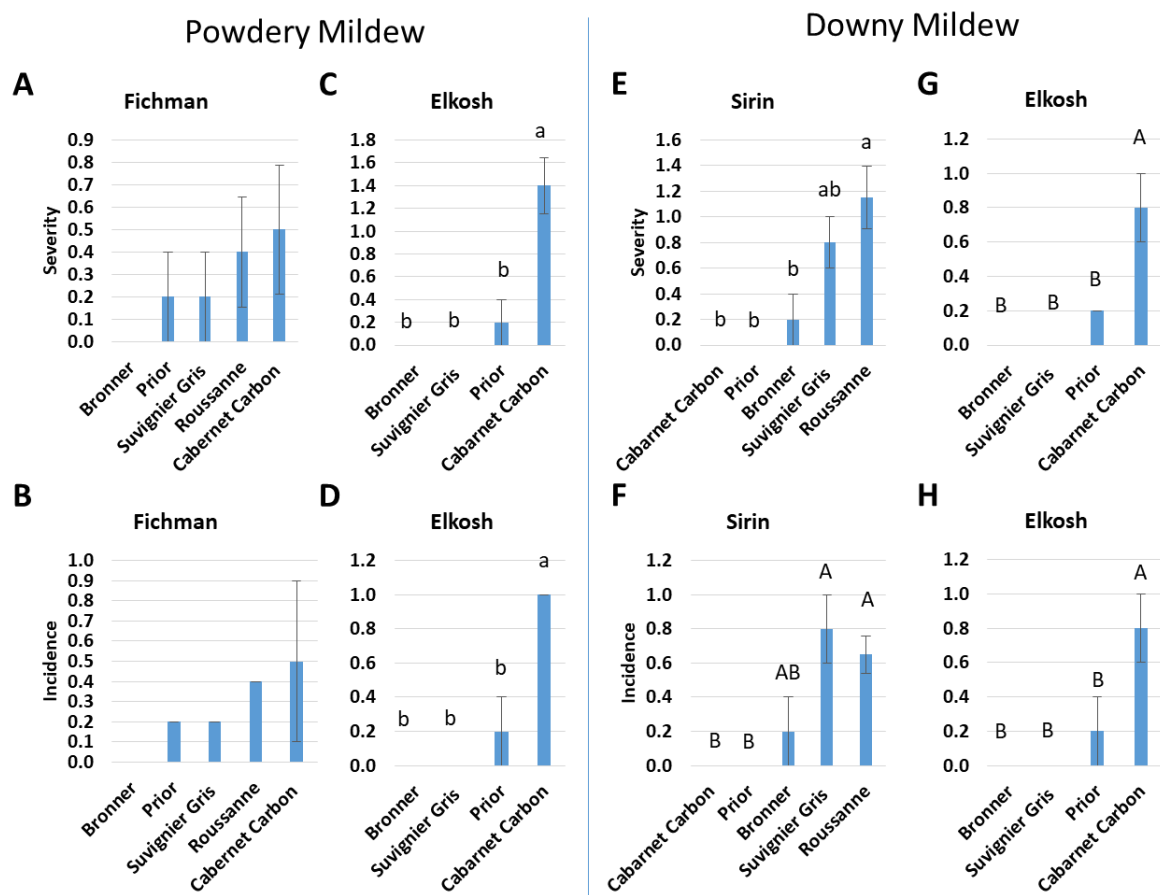
איור מס' 2 - מופע נגיעות בכשותית לאחר הדבקה מכוונת - מימין הנבגה של כשותית על גבי עלה מהזן קברנה סוביניון, ומשמאל הופעת כתמים בנקודות ההדבקה בזן ברונר.



3) בחינת רגישות הזנים למחלה בכרם :

הדבקות טבעיות נבחנו בגפנים שאינן מרוססות בשלוש חלקות. בחלקת פיכמן בחנו ב- 30/9/21 עלים ששהו בצל (בתוך קרטון ההגנה) ועלים חשופים לשמש. ספרנו את מספר הגפנים בהם הופיע קמחון והוערכה חומרת המחלה, כאשר כל גפן קיבלה ציון חומרה (Severity) יחסי על פי המפתח הבא : 0 - ללא נגיעות, 1 - נגיעות קלה, 2 - נגיעות בינונית, 3 - נגיעות קשה. נגיעות בקמחון הופיעה גם בחלקה באלקוש, ונגיעות בכשותית באלקוש ובתבור. בזן רוסאן בחלקת תבור נבדקו סה"כ 20 גפנים בארבעה מקבצים שניטעו בסמוך לכל אחד מהזנים ההיברידים.

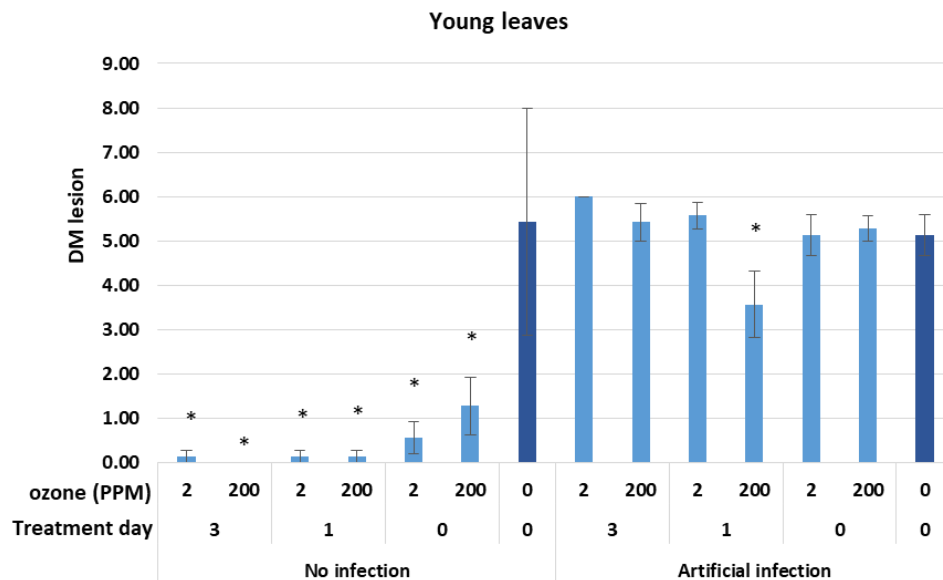
בעלים החשופים לשמש, באזור מס' 3, ניתן לראות כי העלים של הזן **ברונור** לא נדבקו בקמחון (3A-) (D) באף אחת מהחלקות ובכשותית נראתה הדבקה נמוכה רק בכרם של יקב תבור (3E-H). הזן **פריור** נדבק בשתי המחלות, אך בשכיחות וחומרה נמוכים לעומת הזנים הרגישים. הזן **קברנה קרבון** נדבק בכשותית ברמה גבוהה יחסית באלקוש (3G-H), אך לא ברמת סירין (3E-F). זן זה הראה רגישות גבוהה לקמחון בשתי החלקות. בפיכמן נבחנו כאמור גם עלים שהתפתחו ושהו בצל קרטון ההגנה. בזן קברנה קרבון, נראתה נגיעות גבוהה פי 2 בשכיחות המחלה בעלים המוצללים בהשוואה לעלים החשופים לשמש (תוצאות לא מוצגות). עליה זו בנגיעות נראתה רק בזן קברנה קרבון. הזן **סוביניר גריס** נדבק בכשותית ברמת סירין (3E-F) אך לא באלקוש (3G-H). בקימחון נראתה הדבקה מועטה רק בחוות פיכמן (3A-) (B).



איור מס' 3 - תוצאות נגיעות טבעית בקמחון (Powdery Mildew) ובכשותית (Downy Mildew) בסתיו. D-A: נגיעות טבעית בקמחון ו-H-E: נגיעות טבעית בכשותית. לכל חלקה נבחרה רמת החומרה של המחלות (Severity) ושכיחות הגפנים הנגועות (Incidence). אותיות שונות מסמלות הבדלים מובהקים בין הזנים. אותיות גדולות - $p < 0.05$, LSD; אותיות קטנות - $p < 0.01$, HSD.

4) בחינת דרכים להתמודדות עם מחלת הכשותית על ידי טיפולי אוזון - שתילים צעירים של גפנים מהזן דוריק (מוכר בארץ כפטיט סירה) רוססו באוזון בריכוז 2 ו-200 ppm אוזון במפעל בית-אל מכוונות בע"מ, בני-יהודה. הריסוס בוצע בשלושה מועדים: ביום ההדבקה, יום או שלושה ימים לפני ההדבקה בכשותית. לביקורת שימשו צמחים שלא טופלו כלל. ביום ההדבקה נלקחו הצמחים למעבדת מו"פ צפון

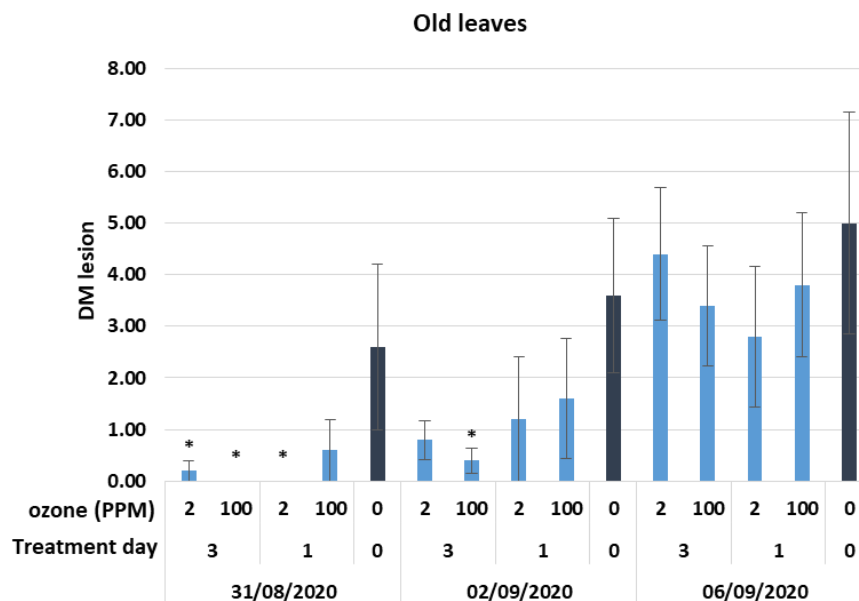
במיגל, ועלים צעירים מנותקים הודבקו ב- 6 טיפות לעלה, כל אחת בנפח 20 מיקרוליטר כשותית (ריכוז 3×10^4 מנבגים למ"ל) או לא הודבקו באופן מכוון כלל. באיור מס' 4 ניתן לראות כי הטיפול באוזון לא השפיע על התפתחות הכשותית בעקבות הדבקות מכוונות שבוצעו אחרי הטיפול. מאידך, נגיעות טבעית של העלים (בעלים שלא הודבקו במכוון) הופחתה באופן משמעותי בעקבות טיפול האוזון בהשוואה לעלים לא מטופלים (מודגשים בכחול כהה). ייתכן שחוסר ההצלחה בהדבקות המכוונות נבע מריכוז גבוה מדי של המדבק.



איור מס' 4 - השפעת טיפולי אוזון על נגיעות בשותית בעלים צעירים של הזן דוריק. הטיפולים ניתנו בריכוז של 2 ו- 200 ppm שניתנו א. ביום ההדבקה (0), ב. יום (1) או ג. שלושה (3) ימים לפני הדבקה, על מספר הכתמים הנגיעים לעלה. נבחן על נגיעות טבעית (No Infection) 7 ימים לאחר הדבקות מלאכותיות בכשותית (Artificial infection). התוצאות מוצגות בהשוואה לעלים שלא טופלו כלל - (מודגשים בכחול כהה). התוצאות מוצגות כממוצע כתמים נגיעים לטיפול $\pm$ SE. * מייצגת הבדלים מובהקים מביקורת לא מטופלת ($p < 0.01$).

ברכוז 200 ppm של אוזון, ראינו פיטוטוקיסות בעיקר לעלים הצעירים שהופיעה כשלושה ימים לאחר הריסוס על כן חזרנו על הניסוי בריכוזים של 2 או 100 ppm אוזון בלבד ובשל שיעור ההדבקה הגבוה שראינו בניסוי 1 הורדנו את ריכוז המדבק ל 1×10^4 מנבגים למ"ל. ההדבקה התבצעה בתאריך ה- 26/8/20 על עלים צעירים ועלים בוגרים. לביקורת שימשו עלים שלא הודבקו לכל אחד מהטיפולים.

בעלים הבוגרים, ניתן לראות באיור מס' 5, כי לריסוס אוזון בריכוז של 100 ppm, שניתן שלושה ימים לפני הדבקה הייתה ההשפעה הרבה ביותר על דחית הופעת כתמי הכשותית, כאשר 6 ו- 8 ימים לאחר ההדבקה (ב- 31/8 וב- 2/9 בהתאמה) לא נראתה כמעט התבטאות של כשותית בעלים המטופלים, בעוד שבעלים שלא טופלו הופיעו באופן מובהק יותר כתמים לעלה. מעניין כי 12 ימים לאחר ההדבקה (ב- 6/12/21), לא נראו כבר הבדלים בשכיחות ההדבקה. הבדלים דומים אם כי לא מובהקים נראו על גבי עלים צעירים הרגישים יותר למחלה. יש לציין כי בניסוי זה, בביקורת בה העלים לא הודבקו לא נראתה נגיעות טבעית בכשותית. כלומר מרבית הכתמים הנגיעים שנראו מקורם מתהליך ההדבקה המכוונת.



איור מס' 5 - מספר הכתמים הנגועים לעלה כתוצאה מהדבקות מכוונות של כשותית, בהשוואה לביקורות לא מטופלות כלל - בטיפולים שונים של אוזון. התוצאות מוצגות כממוצע כתמים נגועים לטיפול $\pm$ SE. * מייצגת הבדלים מובהקים מביקורת לא מטופלת ($p < 0.01$). ההדבקה התבצעה ב- 26/9/21.

דיון ומסקנות -

תוצאות המחקר הראו כי בזנים ההיברידיים, בניסוי השטח (i) הזן ברונור אינו נפגע כלל מקמחון, ונפגע מכשותית רק במידה מועטה. (ii) הזן פריור נפגע אך במידה מועטה מקימחון ומכשותית. (iii) הזן סובינר גריס נפגע פחות מקימחון בהשוואה לקברנה קרבון אך נמצא רגיש לכשותית באופן דומה לרוסאן. (vi) הזן קברנה קרבון נדבק בקימחון יותר מכל הזנים האחרים שנבדקו בכל אחת מהחלקות, ונדבק גם בכשותית אך רק באחת מהחלקות (טבלה מס' 1).

טבלה מס' 1 - ריכוז השוואתי של רמת העמידות של הזנים ההיברידיים למחלת קימחון וכשותית הגפן לאחר בחינה בסתיו 2021

זן	עמידות לקימחון	עמידות לכשותית
ברונור	גבוהה מאוד	גבוהה
פריור	גבוהה	גבוהה
סובינר גריס	גבוהה	נמוכה
קברנה קרבון	נמוכה	נמוכה

חשוב לציין כי על אף שנראו כתמים אופייניים לכשותית בשטח, בספירת נבגים בניסויי המעבדה, בתנאים אופטימליים להתפתחות המחלות - ההנבגה בזנים ההיברידיים היתה מועטה, ביחס לזן קברנה סוביניון המסחרי.

התוצאות תואמות למה שנראה בעבודות קודמות (Doster et al., 1985, Bove & Rossi 2020), בהם הזנים ההיברידיים אינם עמידים באופן מוחלט, ועדיין מומלץ לטפל, אם כי באופן מופחת, בכדי למנוע התבססות תבדידי כשותית/קימחון "שוברי עמידות" אשר יכולים להתפתח על הגפנים העמידות.

2) טיפול באוזון: הריסוס באוזון הפחית נגיעות טבעית בכשותית, ודחה את תהליך ההדבקה כפי שבא לידי ביטוי בהופעת המנבגים על גבי החלק התחתון של העלה. התוצאות הטובות ביותר התקבלו כאשר הריסוס באוזון נעשה יום או שלושה ימים לפני ההדבקה. תוצאות אלו נמצאות בהתאמה לעבודות קודמות כגון בפירסוס של Fujiwara and Fujii, 2002, אשר הראו כי טיפול במי אוזון הפחית באופן משמעותי את חומרת קימחון המלפפון (*Sphaerotheca fuliginea Pollacci*). בנוסף, Campayo et al, 2021 הראו כי יישום מי אוזון על עלי גפנים מעלה ביטוי של גנים המעורבים בהגנה ובתגובות נוגדות כימצון.

המלצות להמשך: (i) באינטרדוקציה של הזנים ההיברידיים - יש להמשיך ולבחון את התוצאות בשנה נוספת. וכן לעקוב אחר הנגיעות על האשכולות בתחילת העונה ובסופה. (ii) בטיפולי אוזון - יש לבצע אופטימיזציה למועד הטיפול, לריכוז האוזון ולתדירות הטיפולים גם בשלבים מוקדמים של התעוררות הגפן. בנוסף, יש לבחון את יעילות הטיפול גם על פטריית הקימחון. בכוונתנו לצאת גם לבחינת יעילות האוזון בטיפול בחלקות חקלאיות.

תודות ליווה כון ולשמעון פוקס מתעשיות בת אל, על יישום האוזון. ליהודית מוי, מישל סדוביץ' ונעמה אלול על העזרה בהדבקות בכשותית. למתן זעירא ולמישה קצנלסון על הטיפול בצמחים.

ספרות:

Bove, F., & Rossi, V. (2020). Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Scientific reports*, 10(1), 1-12.

Campayo, A., Savoi, S., Romieu, C., López-Jiménez, A. J., de la Hoz, K. S., Salinas, M. R., ... & Alonso, G. L. (2021). The application of ozonated water rearranges the *Vitis vinifera* L. leaf and berry transcriptomes eliciting defence and antioxidant responses. *Scientific Reports*, 11(1), 1-14.

Doster, M. A., & Schnathorst, W. C. (1985). Comparative susceptibility of various grapevine cultivars to the powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(2), 101-104.

Fujiwara, K., & Fujii, T. (2002). Effects of spraying ozonated water on the severity of powdery mildew infection on cucumber leaves. *Ozone: science & engineering*, 24(6), 463-469.