

מו"פ צפון דוח שנתי תמיכות

מספר מחקר: 9 120 2020

שם התכנית: התמודדות עם מחלת הצהבון במטעי נשירים בדגש על שקד, אגס ונקטרינה/אפרסק.

חוקר ראשי: רקפת שרון - המעבדה לאקו-אנטומולוגיה- מו"פ צפון.

חוקרים שותפים: ענת זיסוביץ - מדריכת גידול שה"מ, אופיר בהר - חוקר פיטופלסמה במנהל המחקר החקלאי,

מאור תומר - המעבדה לאקו-אנטומולוגיה- מו"פ צפון.

סטטוס התכנית (נמשכת/סופית): נמשכת

מועד התחלה וסיום התכנית: 2020-2022

תקציר (עד 150 מילים לדוח חצי שנתי ושנתי; עד 300 מילים לדוח מסכם וסופי)

רקע קצר, תיאור הבעיה ומטרות המחקר:

תיאור הבעיה - מחלת הצהבון (yellowing disease) גורמת לנזקים קשים בחקלאות מגידולי שדה ועד מטעים ונוי. נפגעים גידולים חקלאיים רבים הכוללים צמחי תרבות, ירקות, פירות, צמחי נוי, עצים, צמחי בר וגפן היין בעולם (Boudon-Padieu, 2003; Christensen et al., 2005) ובישראל (Orenstein et al., 2007; Weintraub et al., 2003). בשנים האחרונות נמצאה המחלה במטעי נקטרינות ואפרסק, במטעי שקד ובמטעי אגס. צורת הנזק שנראתה במטעי הנקטרינה והאפרסקים, מאופיינת בעצים מצהיבים או מאדימים טרם זמנם המלווה בנשירת עלים מוקדמת ובמטעי אגס התסמינים הם של הצהבה והאדמת העלים נשירת עלים מוקדמת, עצים קטנים יותר. התופעה זוהתה לראשונה במטעי נקטרינה/אפרסק בדרום/מרכז הגולן ובכל עמק החולה. מספר מגדלים ברמת הגולן, אשר עקרו בסוף עונת 2017 את כלל העצים שהראו תסמינים, דיווחו על הופעה של עצים חדשים בעלי תסמיני מחלה זהים במטעים בעונה העוקבת (2018). בנוסף, בשנת 2019 המחלה החלה להופיע גם במטעי ההר בגליל העליון.

דיווחים מהספרות המקצועית, בהם תוארו תסמיני מחלה דומים באפרסק, העלו את החשד שמדובר בחיידק פיטופלסמה (Pollini et al., 2001). הפיטופלסמה שנמצאת בשיוך עם תסמיני המחלה משתייכת לקבוצת פיטופלסמות הנוטות לאכלס עצי תפוח, אגס וגלעיניים. בשונה ממרבית הפיטופלסמות הגורמות למחלה בצמחים ומועברות על ידי ציקדות, קבוצה זו של פיטופלסמה מועברת בעיקר על ידי פסילות. נכון להיום, פיטופלסמה מהטיפוסים שתוארו לעיל דווחו בצפון ודרום אמריקה ובאירופה בגידולים אגס, תפוח, אפרסק, שזיף, דובדבן ומשמש.

גורם המחלה - חיידקי פיטופלסמה הינם חיידקים גראם חיוביים חסרי דופן עם יותר מ- 60 מינים, המאכלסים את רקמת השיפה בצמח וגורמים למחלות ביותר מ- 500 גידולים. בכל שלושת הגידולים נמצאה בדגימות מעצים שהראו תסמינים פיטופלסמה ממשפחת ההצטת Apple proliferation, קבוצה 16SrX, מהטיפוס *Candidatus Phytoplasma pyri* - פיטופלסמה פירי (תוצאות הקדמיות, אופיר בהר). טיפוס זה משויך למחלות (PD) Pear decline באגס ו- (PYLR) peach yellow leaf roll באפרסק. בעוד שבנקטרינה ואפרסק הקשר בין התסמינים לנוכחות החיידק חזק, בשקד ובאגס לא נראתה אסוציאציה מושלמת בין הופעת תסמינים ונוכחות גורם המחלה, ונדרש עדיין לבסס בצורה טובה יותר את הקשר בין נוכחות

הפיטופלסמה לתסמינים המופיעים בצמח. האינטראקציה ארוכת השנים של פיטופלסמה עם הצמח והחרק הובילה לצמצום הגנום החיידקי תוך כדי איבוד תכונות הכרחיות לגדילה עצמאית, ולפיתוח תלות מוחלטת במסלולים ביוסינתטיים מסויימים של הפונדקאי. איבוד התכונות והתלות המוחלטת בפונדקאי מקשים על גידול של חיידקי פיטופלסמה בתרבית מלאכותית ונכון להיום טרם נמצאו תנאי גידול מתאימים במעבדה שיאפשרו זאת. כתוצאה מכך לא ניתן להשלים את מבחן קור ולקבוע מעל לכל ספק שפיטופלסמה היא אכן הגורם למחלה. בנוסף, אי היכולת לגדל את החיידק בתרבית מקשה מאוד על חקר הביולוגיה שלו ובהתאם פיתוח אמצעים להתמודדות עימו. תסמיני המחלה בצמח נובעים מהתפשטות הפיטופלסמה בצינורות השיפה של הצמח הפונדקאי המשפיעים על הובלת הסוכרים ומשינויים במאזן ההורמונאלי של הצמח המתבטאים בשינויים מורפולוגיים. שינויים ביחס אוקסין/ ציטוקינין בצמח מובילים לעקרות בפרחים, כלורזה בעלים, קיפול עלים, ריבוי צימוח משני היכול ליצור "מטאטא מכשפה" והתקצרות המרחק בין הפרקים בנצר (Lee et al., 2004; Christensen et al., 2005; Firrao et al., 2007). הפגיעה בשיפה מתבטאת בנבילה כללית, הצהבה או האדמה לא עונתית של עלים ואף למוות הצמח המודבק, נזקים במבנה השיפה ע"י מיקום מחדש של פלטות הכברה, מוות תאי, סתימה והתמוטטות של צינורות הכברה (Maixner, 2006; Hogenhout et al., 2008), יכולת הטמעה מופחתת והצטברות פחמימות בעלי מקור המביא לירידה בפוטוסינתזה המתבטאת בכלורזה וירידה בכלורופיל (Bertaccini, 2007).

אמצעי הדברה לפיטופלסמה - כיום אין פיתרון יעיל למחלות אשר נגרמות ע"י פיטופלסמות. שימוש בהדברה ישירה נעשה בעזרת אנטיביוטיקה (Bertaccini, 2007; Bradel et al., 2000). אך, שימוש באנטיביוטיקה נאסר ברוב ארצות העולם מחשש לפיתוח עמידות לאנטיביוטיקה ופגיעה בבריאות הציבור (Oropeza et al., 2011) והפרי שמתקבל פסול ברוב המקרים לשיווק תוצרת חקלאית. דווח על טיפול ב-BABA (BABA) B Aminobutyric acid (C'urkovic' Perica, 2008), אך טיפול בשורשים של וינקה ב-BABA נמצא כלא יעיל (Musetti et al., 1999). שיטה של חימום ומתן מים חמים (C'urkovic' Perica, 2008) נמצאה כיעילה בתרביות רקמה של שורשים עם מתן חום בשני סוגים של שקדים לבנוניים. כיוון הדברה נוסף הוא ניקוי מריסטמתי של חומר ריבוי בתרבית רקמה המכיל אנטיביוטיקה או אוקסין בשילוב או בנפרד מטיפול בחום או בקור (Bertaccini, 2007; Gribaudo et al., 2007; Krizan et al., 2008). אולם שיטות אלה לא ימנעו הדבקה מחודשת של הצמחים עם נטיעתם בשטח הפתוח.

כיווני מחקר שנבדקו אך טרם הגיעו לשימוש מסחרי הם ריסוס בחומרים משרי עמידות (Lherminier et al., 2003; Bressan and Purcell, 2005; Romanazzi et al., 2009) בהשראת עמידות (Zahavi et al., 2009).

מכיוון שאין עדיין פיתרון מתאים ברמת הצמח עיקר המאמץ מופנה לזיהוי החרק המעביר (וקטור) ופיתוח אמצעי הדברה המכוונים להדברתו.

הווקטור (מעביר המחלה) - ככלל, חיידקי פיטופלסמה מועברים מצמח לצמח על ידי ווקטורים חרקיים, על פי רב ציקדות ו/או פסילות. הווקטור החרקי רוכש את הפיטופלסמה תוך כדי הזנה מנוזלי השיפה של עץ נגוע, ולאחר תקופה לטנטיות מסויימת, בה החיידק מתרבה בגוף החרק ונודד לבלוטות הרוק, החרק הופך

אינפקטיבי ובעת הזנה מעץ בריא הוא מסוגל להעביר את גורם המחלה לרקמת השיפה ולגרום להדבקה של העץ.

הווקטורים של פיטופלסמה פירי היודעים עד היום הינן פסילות. בארה"ב ובאירופה נמצאה הפסילה *Cacopsylla pyricola* כווקטור, באירופה נמצאו שתי פסילות נוספות כווקטורים - *C. Cacopsylla pyri*, *C. bidens*. בספרד *C. pyri* נמצאה כווקטור לאפרסקים (Etropolska et al. 2015). אחד הווקטורים הפוטנציאליים - פסילת האגס *C. bidens* (Sulc) - מוכרת בארץ כמזיק מפתח בגידול האגס (ליאורה שאלתיאל וחיים ראובני). נוכחות פיטופלסמה בפסילת האגס בישראל ויכולתה לשמש כווקטור טרם נבדקה. נוסף על כך, היות ועד תחילת עבודה זו, לא בוצע כל מחקר על ווקטורים של פיטופלסמה בגידולים אלו בישראל, יתכן וישנם ווקטורים פוטנציאליים נוספים למחלה מעבר לפסילת האגס המוכרת, שטרם זוהו. התקשורת בפסילות מורכבת כאשר בתוך המין מתקיימת תיקשורת קולית וכימית בין הזויגים ובין החרק לצמח מתקיימת תקשורת כימית באמצעות נדיפים המופרשים על ידי הצמח. מתקיימת גם תקשורת כימית בין הזויגים המתווכת על ידי נדיפי הצמח ומשמשת לתקשורת עקיפה בתוך המין (Gross et al., 2019; Liao & Yang, 2015; Horton & Landolt, 2007; Soroker et al., 2004; Mori, 2011).

לניטור האוכלוסייה של הפסילות מקובל להשתמש בשיטת ההכאה ובמלכודות דבק. שיטת ההכאה מביאה מגוון גדול יותר הכולל גם את שלבי הנימפות (Civolani & Pasqualini 2003). אך בשיטה זו נאספים רק הפרטים שהיו במועד האיסוף. כדי לקבל לכידות לאורך זמן מקובל להשתמש במלכודות דבק. נמצא כי הפסילות נלכדות יותר על מלכודות דבק בצבע צהוב לעומת מלכודות דבק שקופות, אך מחקרים מראים כי הלכידות מוצלחות יותר במלכודות בצבע אדום (Gross, personal communication; Krysan & Horton 1991). בשנים האחרונות פותחו פתיונות משולבים עם מלכודות בצבע אדום לפסילות מזיקות כאמצעי הדברה בשיטה של משוך והרוג (Gross, personal communication).

כאשר החרק מקיים מחזור חיים מלא על גידול המטרה הנגוע, הדברה של הווקטור מפחיתה משמעותית את הנזק וריסוס בעיתי הנכון מפחית משמעותית את האוכלוסייה ואת המחלה (Weintraub and Beanland, 2006). לעומת זאת, כאשר הווקטור פוליפאגי ומקיים מחזור חיים גם על צמחי בר ולא רק על גידול המטרה, הדברה ישירה פחות יעילה. הדברה כימית במקרה זה פחות משפיעה על שכיחות המחלה שכן יתכן ועיקר האוכלוסייה המעבירה נמצאת רוב הזמן מחוץ לגידול המטרה (Mori et al., 2008). פערי הידע בהם יתמקד המחקר הנוכחי הינם: העדר מידע מספיק על היקף הנזק מהמחלה בנשירים, קצב התפשטותה, אישור הקשר בין התסמינים לפיטופלסמה פירי בגידולים הנבדקים, בחינת נוכחות מיני/תתי-מין אחרים של פיטופלסמה, ומיהם הווקטורים הפוטנציאליים שנמצאים במטעי הנשירים הנבדקים.

מטרות המחקר:

- א. קביעת היקף הבעיה בגידולי שקד, אגס ונקטרינה/אפרסק באזור הצפון.
- ב. הבנת הקשר בין תסמינים לגורם המחלה באגס ושקד ואישרור טיפוס הפיטופלסמה בכל אחד מהגידולים.

ג. חיפוש וקטורים פוטנציאליים.

מטרות המחקר בשנת המחקר השניה (2021):

- א. דגימת עצי שקד ואגס בהם נמצאו תסמינים לאישור גורם המחלה.
- ב. המשך חיפוש וקטורים פוטנציאליים (פסילות וציקדות) במטעים ובסביבתם, קביעת מועד ההופעה במטע והתחלת ניסויי רכישה והדבקה מכוונים.

מהלך המחקר ושיטות העבודה:

בשנת המחקר הראשונה אותרו מטעים של נקטרינה, שקד ואגס בהם נראו תסמינים שיכולים להיות תוצאה של מחלת הצהבון. האיתור נעשה בעזרת מידע שנאסף ממדריכים פקחים וחקלאים. במטעים אלו בדקנו שהתסמינים אכן מתאימים למופעים המוכרים של המחלה. ממטעים אלו נבחרו 3 חלקות מכל גידול (סה"כ 9 חלקות) בהם דווחו תסמיני המחלה והמייצגים שלושה אזורים גיאוגרפיים בצפון: דרום רמת הגולן, עמק החולה והרי הגליל: מקבץ חלקות של שלושת הגידולים (נקטרינה, שקד ואגס) בכפר חרוב, חלקת אגס בנוב, חלקת אגס בנטור, חלקת נקטרינה ביסוד המעלה, שתי חלקות שקד בעמק החולה (מלכיה וכפר בלום) וחלקת נקטרינה ביפתח. בכל החלקות נערך מיפוי של העצים עם התסמינים ונבנתה מפת GIS לתיאור מקום העצים המראים תסמינים למעקב רב שנתי בזמן ובמרחב אחר התפשטות המחלה.

לצורך קביעת הקשר בין התסמינים לנוכחות הפתוגן נבדקו דגימות מהעצים בשלושת הגידולים באמצעות בדיקת PCR. הבדיקה מבוססת על ריאקציה הגברה של הדנ"א Nested-polymerase chain reaction (PCR) assay של גורם המחלה החשוד, פיטופלסמה, ולאחריה אנליזת Virtual restriction fragment length polymorphism (RFLP) ממקטע הדנ"א שהוגבר. בהתאם לאנליזה זו מסווגים חיידקי פיטופלסמה לקבוצות ותתי קבוצות גנטיות, שלרוב נמצאות בשיוך עם פונדקאים צמחיים וחרקים מסוימים. בבדיקות אלו אושרר הקשר בין התסמינים לנוכחות הפתוגן בנקטרינה אך לא אושרר הקשר בין התסמינים לנוכחות הפתוגן בשקד ובאגס. באגס נדרש אישור נוסף כיוון שבחלק מהעצים שהראו תסמינים נמצא הפתוגן ובחלק לא נמצאה נוכחות הפתוגן אך, גם בחלק מהעצים ללא תסמינים נמצא הפתוגן. בשקד, בשנת המחקר הראשונה נלקחו דגימות מעצים עם תסמינים, שנחשדו כתסמיני פיטופלסמה, במועדים שונים לאורך העונה ולא נמצא בהם הפתוגן.

בשנת המחקר השניה בחנו סימפטומים נוספים ולשם כך נלקחו דגימות מחלקות בעין זיון ויפתח של אגס מהזן עדן שהראה סימפטומים המתאימים לתאור המחלה. כמו כן, נלקחו דגימות מעצי שקד במטע ברעם של עצים שנמצאו חיוביים בשנים קודמות ועצים משתי חלקות בדרום הגולן שהראו סימפטומים לא אופייניים של התנוונות הגלעין בשלבי התפתחות מאוחרים.

לצורך המשך חיפוש וקטורים פוטנציאליים במטעים ובסביבתם, הוצבו בשנת המחקר השניה בחלקות הנקטרינה והאגס 6-9 מלכודות דבק (טבלה 1). מאחר ופסילת האגס נמצאה כנושאת את הפיטופלסמה בשנת המחקר הראשונה ופסילה זו לא אמורה להמציא במטעי נקטרינה, הוצבו בשטח הצמוד לחלקות הנקטרינה (יסוד המעלה וכפר חרוב) מלכודות נוספות לבחינת נוכחות וקטורים פוטנציאליים בשולי החלקות (טבלה 1). המלכודות נבדקו אחת לחודש לאורך כל השנה.

טבלה 1: חלוקת מלכודות הדבק באזורים השונים לפי סוג הגידול, בתוך ומחוץ לחלקה.

אזור	גידול	בתוך החלקה	מחוץ לחלקה	סה"כ
------	-------	------------	------------	------

9		9	אגס	נוב
15	9	6	נקטרינה	יסוד המעלה
9		8	נקטרינה	יפתח
9		9	אגס	כפר חרוב
11	5	6	נקטרינה	
9		9	אגס	נטור
61	14	47		סה"כ

החל מאוקטובר, לאחר שנמצא כי הסימפטום האופייני לעצי שקד נגועים בפיטופלסמה הינו התנוונות של השקד בשלב התפתחות מאוחר, הוצבו בכל אחת משתי חלקות השקד בדרום הגולן 5 מלכודות דבק לבחינת נוכחות וקטורים פוטנציאליים. גם מלכודות אלו נבדקו אחת לחודש.

פסילות וציקדות (מורפמינים שאינם ציקדות "ירוקות") שנמצאו על המלכודות הועברו לאפנדורפים עם אלוהול, מיקום ומועד האיסוף נרשמו ומדגם מהמורפמינים הועבר להגדרה בשרותים להגנת הצומח. מדגם נוסף נבדק לנוכחות הפיטופלסמה ב PCR.

כדי לבדוק את יכולת ההעברה נאספו פסילות מחלקת הזן עדן בעין זיוון בו עצי אגס רבים נגועים בפיטופלסמה ובודדות ממטע אגס בכפר חרוב. הפסילות הוצבו באוקטובר בתוך שקיות רשת על ענפונים של שתילי אגס (7 שתילים, 11 שקיות), נקטרינה ((7 שתילים, 11 שקיות)) ושקד (8 שתילים, 11 שקיות). שני שתילים מכל מין שימשו כביקורת (ללא הצבת פסילות). לאחר 4-7 ימים הפסילות הורדו מהשתילים ונבדקו לנוכחות פיטופלסמה. השתילים נבדקו כחודש וחצי לאחר מכן לנוכחות פיטופלסמה ויבדקו שוב באביב 2022.

תוצאות שנת המחקר השניה:

דגימת עצי שקד ואגס בהם נמצאו תסמינים לאישור גורם המחלה.

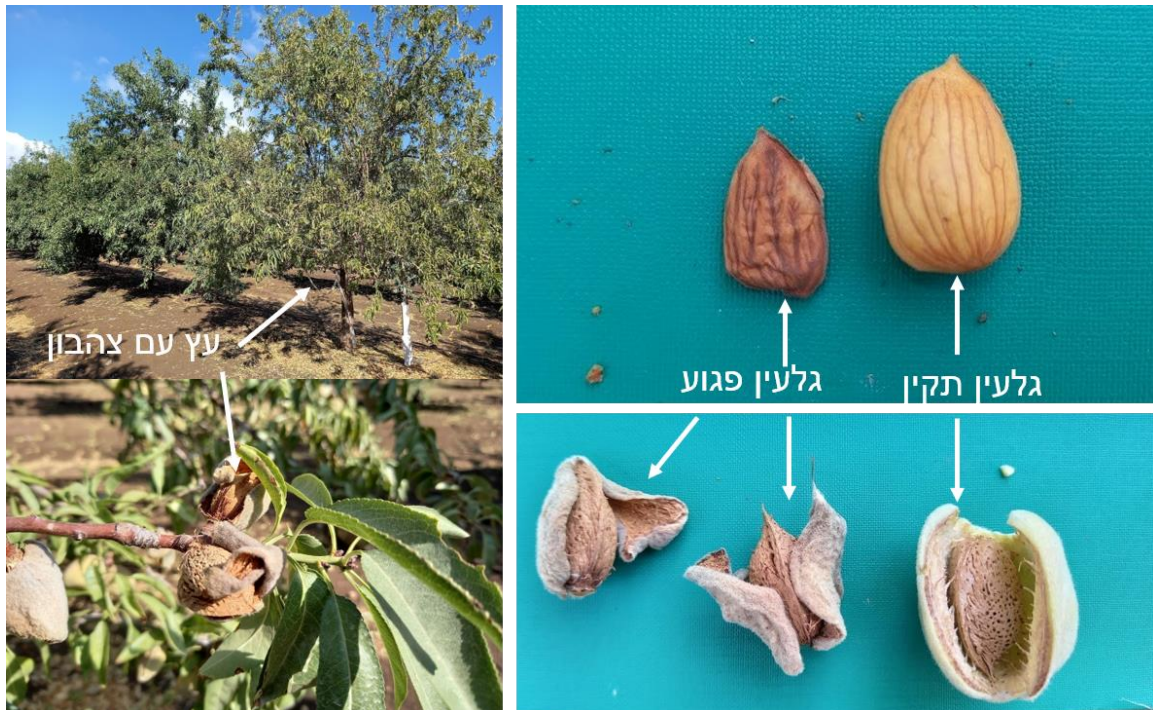
דגימות האגס המפורטות להלן נלקחו מהזן עדן, חלקן מעצים המראים תסמיני האדמת עלים וניזון כללי, וחלקן מעצי ביקורת ללא תסמינים מאותם מטעים.



תמונה 1: תסמינים בעצי אגס מהזן עדן שנמצאו כחייבים לפיטופלסמה- התנוונות העץ ועלים בצבע אדום.

בדגימות אגס שנלקחו ממטע יפתח נמצא בבדיקת PCR כי שתי הדגימות מעצים ללא סימפטומים שנלקחו כביקורת היו שליליות ואילו שתי הדגימות מעצים סימפטומטיים יצאו חיוביות. בדגימות שנלקחו ממטע עין זיוון נמצא בבדיקת PCR כי מבין שש הדגימות מעצים ללא סימפטומים שנלקחו כביקורת ארבע היו שליליות ושתיים יצאו חיוביות. מהדגימות שנלקחו מעצים סימפטומטיים תשע יצאו חיוביות ואחת יצאה שלילית (90%).

לאור חוסר ההתאמה בין תסמיני פיטופלסמה אופייניים לנוכחות פיטופלסמה בשקד כפי שדיווחנו בשנה הקודמת, בשנה זו התרכזו המאמצים בבחינת שיוך פיטופלסמה עם תסמין אחר, התרוקנות פרי, שנראתה ביותר שאת בשנה זו.



תמונה 2: תסמינים בעצי שקד שנמצאו כחיוביים לפיטופלסמה- צבע צהוב אפרפר של העץ, פתיחת שומר לא תקינה וגלעין מנוון.

מששת עצי השקד הסימפטומטיים בברעם, 3 נמצאו חיוביים לפיטופלסמה (50%) ומתוך 10 עצי הביקורת לא נמצאו עצים חיוביים. מבין 12 העצים הסימפטומטיים שנדגמו ברמת מגשימים 7 נמצאו חיוביים (58%) ומתוך 11 עצי הביקורת עץ אחד נמצא חיובי. באלרום, מבין חמשת העצים הסימפטומטיים שנדגמו 4 נמצאו חיוביים (80%) וכל 12 עצי הביקורת נמצאו שליליים. רוב העצים שנמצאו חיוביים היו מהזן 53, שלושה מהזן אום אל פאחם, אחד מהזן נאפה ואחד מהזן גלעד.

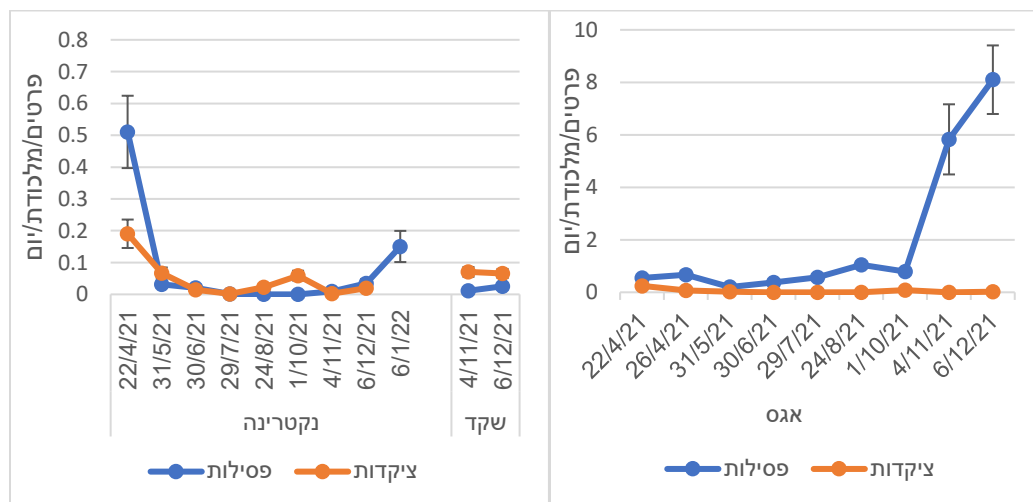
המשך חיפוש וקטורים פוטנציאליים (פסילות וציקדות) במטעים ובסביבתם. קביעת מועד ההופעה במטע והתחלת ניסויי רכישה והדבקה מכוונים.

הפרטים מחלקות המחקר שנאספו במלכודות לאורך העונה הופרדו לציקדות (מורפומינים שאינם ציקדות "ירקות") ופסילות שנלכדו בתוך החלקות ובשולי החלקות (טבלה 2 ואיורים 1-2). בלכידת הציקדות לא

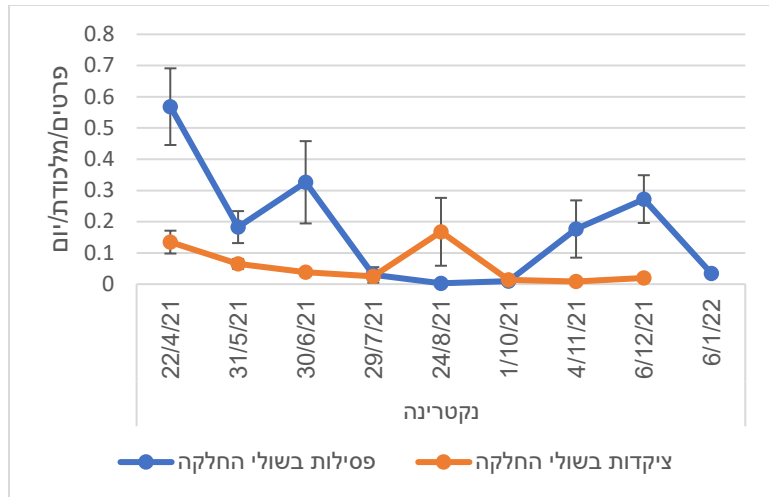
נראה הבדל בין הגידולים וכצפוי מרבית הפסילות נמצאו באגס (טבלה 2). באגס מספר הציקדות שנלכדו היתה נמוכה לאורך השנה ומספר הפסילות שנלכדו בחלקות היה קבוע (סביב 0.5-1 למלכודת/יום) ועלה בנובמבר-דצמבר ל 6-8 פסילות/מלכודת/יום בממוצע (איור 1). בשקד נמצאו פסילות וציקדות מעטות בחודשים שנבדקו (נובמבר-דצמבר) בחלקות. בנקטרינה נמצאו בתוך החלקות ציקדות ופסילות במספרים גבוהים יחסית בתחילת העונה (אפריל), מספר הפסילות היה נמוך לאורך העונה והחל לעלות בינואר ומספר הציקדות גם כן היה נמוך לאורך העונה עם עליה קטנה באוקטובר (איור 1). במלכודות בשולי החלקות (איור 2) נמצאו פסילות במספרים גבוהים יחסית בתחילת העונה (אפריל-יוני) שירדו בחודשי הקיץ (יולי-ספטמבר) ועלו שוב בסתיו, ומספר הציקדות עלה באוגוסט (איור 2).

טבלה 2: מספר הפרטים של הווקטורים הפוטנציאליים (ציקדות ופסילות) שנאספו במלכודות הדבק בתוך ובשולי חלקות המחקר בשלושת הגידולים (אגס נקטרינה כל העונה ושקד- בסתיו).

בשולי החלקה		בתוך החלקה			
פסילות	ציקדות	פסילות	ציקדות	גידול	אזור
		1769	120	אגס	נוב
304	191	97	102	נקטרינה	יסוד המעלה
		108	146	נקטרינה	יפתח
		9357	44	אגס	כפר חרוב
468	14	251	35	נקטרינה	
		4320	157	אגס	נטור
		8	26	שקד	רמת מגשימים-בית עלמין
		4	19	שקד	אלרום
772	205	15914	649		סה"כ



איור 1: מספר הציקדות והפסילות (ממוצע/מלכודת/יום ± שגיאת תקן) במלכודות שהוצבו בחלקות המחקר.



איור 2: מספר הציקדות והפסילות (ממוצע/מלכודת/יום $\pm$ שגיאת תקן) במלכודות שהוצבו בשולי חלקות הנקטרינה במחקר.

מדגם מהפסילות שנאספו מחלקות המחקר באגס (קוסטציה וספדונה) נבדקו במקבצים של 1-8 פרטים למקבץ. במקבצים אלו נמצאה נוכחות פיטופלסמה בכשליש מהמקבצים במהלך רוב העונה עם עליה בחודשים אוקטובר-דצמבר (טבלה 3). בנקטרינה נמצאה נוכחות פיטופלסמה בעיקר בשולי החלקות, בכחמישית מהמקבצים ביוני ובכחמחצית מהמקבצים שנדגמו מהלכידות באוקטובר ודצמבר (טבלה 3). בשקד נאספו פסילות רק החל מאוקטובר ונמצאה פיטופלסמה במקבצים שנבדקו עד כה רק בחודש אוקטובר (טבלה 3). הציקדות עדיין לא נבדקו לנוכחות הפיטופלסמה כיוון שהן מוגדרות בימים אלו ורק לאחר מכן תתבצע בדיקת נוכחות הפתוגן.

טבלה 3: מדגם מדגם של מקבצי פסילות שנבדק לנוכחות הפיטופלסמה ב PCR לאורך העונה באגס, בנקטרינה ובשקד.

גידול	חודש	שלילי	חיובי	חיובי%
אגס	אפריל	4	2	33
	מאי	12	3	20
	יוני	7	4	36
	יולי	2	2	50
	אוגוסט	2	1	33
	ספטמבר	2	1	33
	אוקטובר	0	2	100
	דצמבר	2	4	67
אגס סה"כ		31	19	38
נקטרינה	אפריל	18	0	0
	מאי	9	0	0
	יוני	12	3	20
	יולי	3	0	0
	ספטמבר	3	0	0
	אוקטובר	4	5	56

54	7	6	דצמבר	
21	15	55		נקטרינה סה"כ
50	1	1	אוקטובר	שקד
0	0	3	דצמבר	
20	1	4		שקד סה"כ

בבדיקה של יכולת העברת הפיטופלסמה על ידי פסילת האגס, נמצאה פיטופלסמה ב 70% ממקבצי הפסילות שנאספו בעיקר מהזן עדן בעין זיוון והוצבו על ענפונים של אגס, נקטרינה ושקד. בכל השתילים עדיין לא נמצאה נגיעות בפיטופלסמה.

דיון ומסקנות

דגימת עצי שקד ואגס בהם נמצאו תסמינים לאישור גורם המחלה.

סקר תסמינים במטעי נקטרינה/אפרסק, שקד ואגס ומיפוי כבסיס למעקב אחר התפשטות המחלה שנערך בשנת המחקר הראשונה הדגיש את חשיבות המחלה בשלושת הגידולים. בכל שלושת הגידולים נמצא אותו טיפוס של פיטופלסמה (Ca. Phytoplasma pyri) ולא נמצאו טיפוסים נוספים. בנקטרינה ואפרסק נמצא בשנת המחקר הראשונה מתאם הדוק בין תסמיני המחלה לנוכחות הפיטופלסמה. לעומת זאת, בשקד, כפי שנראה בממצאיו משנת המחקר הראשונה, השיוך בין הסימפטומים אותם נהוג לקשור לפיטופלסמה לבין מציאת פיטופלסמה בבדיקות מולקולריות היה נמוך מאוד. זאת על אף שנבדקו עצים סימפטומטיים רבים, מאזורים שונים, מרקמות שונות בעץ, ובשני מועדים בשנה. ממצאים אלו יכולים להעיד כי יתכן וישנו גורם אחר שאחראי, לפחות במידה מסוימת לתסמינים אלו. בשנת המחקר הנוכחית נבחנו תסמינים אחרים שקושרו באופן ברור יותר לנוכחות הפתוגן (ב 50-80% מהעצים שנדגמו). תסמינים אלו כוללים עצים חלשים המבטאים צהבון בעלים עם התנוונות של גלעין השקד בשלבי התפתחות מאוחרים. באגס, בזנים קוסטציה וספדונה, שנבדקו בשנת המחקר הראשונה נמצא קשר הדוק הרבה יותר לעומת שקד, ההתאמה שנמצאה בין נוכחות פיטופלסמה לבין הסימפטומים שנבדקו (האדמה/הצהבה/עלים שקופים וחוסר צימוח סתווי) הייתה גבוהה למדי (63% בשני המקרים). יחד עם זאת, ישנם עדין 37% צמחים סימפטומטיים בהם לא נמצא החיידק, וגם אחוז לא מבוטל של עצים ללא סימפטומים שהיו חיוביים לפיטופלסמה. אלו יכולים להיות עצים בהם הנגיעות היא עדין לטנטית, כלומר החיידק כבר מאכלס את הצמחים, אך תסמיני המחלה טרם נראים או חוסר רגישות של זנים אלו לפיטופלסמה. בזן עדן שנבדק בשנת המחקר הנוכחית נמצאה התאמה של 90-100% מהתסמינים לנוכחות הפתוגן, שהתבטאה בתסמיני האדמה של העלים וניוון כללי של העץ.

המשך חיפוש וקטורים פוטנציאליים (פסילות וציקדות) במטעים ובסביבתם, קביעת מועד ההופעה במטע והתחלת ניסויי רכישה והדבקה מכוונים.

בכמחצית מהפרטים של פסילת האגס שנאספו בשנת המחקר הקודמת נמצאה פיטופלסמה אך הבדיקה נערכה רק במועד אחד. בשנת המחקר הנוכחית נבדקה נוכחות הוקטורים הפוטנציאליים (פסילות וציקדות) לאורך הכל העונה.

לא נראה הבדל בין הגידולים במספר הציקדות וכצפוי מספר הפסילות שנמצאו באגס היה גדול הרבה יותר מאשר בשאר הגידולים. העליה במספר הפסילות באגס באוקטובר יכולה לנבוע מהפסקת הריסוסים אך הסבר זה אינו מספיק מאחר ובמרבית חלקות האגס נפסקים הריסוסים עם הקטיפ בחודשים יוני יולי. חיזוק לכך שישנה עליה באוכלוסית הפסילות בסתיו שאינה תלויה רק במשטר הריסוסים נמצא בעליה אשר נצפתה בנוכחות הפסילות גם בשולי חלקות הנקטרינה.

מעניין לציין שבנקטרינה נמצאו בתוך החלקות פסילות במספרים גבוהים יחסית בתחילת העונה (אפריל) ובאמצע החורף (בינואר). אנו נמשיך את המעקב הרציף אחר הלכידות כדי לבדוק האם עליה זו נמשכת ומסבירה את הלכידות שנראו ב 2021 באפריל. נוכחות הציקדות נראתה כמשמעותית בתחילת העונה, באמצע הקיץ ובאמצע הסתיו.

לזיהוי הוקטור הפוטנציאלי נבדק מדגם מהפסילות שנאספו מחלקות המחקר. בפסילות שנאספו באגס (קוסטציה וספדונה) נמצאה נוכחות פיטופלסמה בכשליש מהמקבצים במהלך רוב העונה ובכל המקבצים שנבדקו בחודש אוקטובר ובפסילות שנאספו בשולי חלקות הנקטרינה נמצאה נוכחות פיטופלסמה בחודש יוני (בכחמישית מהמקבצים) ובאחוזים גבוהים ביותר באוקטובר (כ 50%). גם בפסילות שנאספו מאגס מהזן עדן באוקטובר נמצאה נוכחות הפיטופלסמה ב 70% מהמקבצים. ממצאים אלו עולה כי נוכחות הפיטופלסמה בפסילות גבוהה בחודשי הסתיו ויתכן שזה מצביע על נוכחות גבוהה יותר של הפתוגן בעצים בסתיו. הגדרת הפסילות ממטעי האגס, השקד והנקטרינה נעשית בימים אלו מורפולוגית ומולקולרית לזיהוי מין הווקטור הפוטנציאלי. לאחר סיום ההגדרה נוכל לקשר את מין הפסילה למידע על מחזור החיים ולמועדי ההדבקה המתאימים להתנהגות המינים במטע.

בבדיקה הראשונית בדצמבר של השתילים שהודבקו על ידי פסילות בסתיו (כחודש וחצי לאחר ההדבקה) לבחינת יכולת העברת הפיטופלסמה לאגס, נקטרינה ושקד עדיין לא נמצאה נגיעות בפיטופלסמה. יתכן וזה נובע מכך שבמועד זה הצמח אין תנועת חלקיקים בשיפה כיוון שהצמח נכנס לתרדמה או שלא עבר מספיק זמן ממועד ההדבקה.

בשנת המחקר הבאה נמשיך את בדיקות יכולת העברה ונציב פסילות נגיעות על שתילים במועדי התפתחות שונים של הצמח.

מסקנות והמלצות להמשך המחקר:

עדיין אין

ביבליוגרפיה:

Bertaccini A. 2007. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience* 12, 673-689.

- Boudon-Padieu, E. (2003). The situation of Grapevine Yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, spreading and control. *14th meeting of ICVG*, pp. 47-53.
- Bradel, B. G., Preil, W., & Jeske, H. (2000). Remission of the Free-branching Pattern of *Euphorbia pulcherrima* by Tetracycline Treatment. *Journal of Phytopathology*, 148(11-12), 587-590.
- Bressan, A., & Purcell, A. H. (2005). Effect of benzothiadiazole on transmission of X-disease phytoplasma by the vector *Colladonus montanus* to *Arabidopsis thaliana*, a new experimental host plant. *Plant disease*, 89(10), 1121-1124.
- Christensen, N. M., Axelsen, K. B., Nicolaisen, M., & Schulz, A. (2005). Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in plant science*, 10(11), 526-535.
- Civolani, S., & Pasqualini, E. (2003). *Cacopsylla pyri* L.(Hom., Psyllidae) and its predators relationship in Italy's Emilia-Romagna region. *Journal of Applied Entomology*, 127(4), 214-220.
- Ćurković Perica, M. (2008). Auxin-treatment induces recovery of phytoplasma-infected periwinkle. *Journal of applied microbiology*, 105(6), 1826-1834.
- Etropolska, A., Jarausch, W., Jarausch, B., & Trenchev, G. (2015). Detection of European fruit tree phytoplasmas and their insect vectors in important fruit-growing regions in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(6), 1248-1253.
- Firrao, G., Garcia-Chapa, M., & Marzachi, C. (2007). Phytoplasmas: genetics, diagnosis and relationships with the plant and insect host. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 12, 1353-1375.
- Gross, J., Gallinger, J., & Rid, M. (2019). Collection, identification, and statistical analysis of volatile organic compound patterns emitted by phytoplasma infected plants. In *Phytoplasmas* (pp. 333-343). Humana Press, New York, NY.
- Gribaudo, I., Ruffa, P., Cuzzo, D., Gambino, G., & Marzachi, C. (2007). Attempts to eliminate phytoplasmas from grapevine clones by tissue culture techniques. *Bulletin of Insectology*, 60(2), 315.
- Hogenhout, S. A., Oshima, K., AMMAR, E. D., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., & Namba, S. (2008). Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology*, 9(4), 403-423.
- Horton, D. R., & Landolt, P. J. (2007). Attraction of male pear psylla, *Cacopsylla pyricola*, to female-infested pear shoots. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 123(2), 177-183.
- Křižan, B., Moravcová, K., Ondružíková, E., Adam, M., Holleínová, V., & Pidra, M. (2006). Thermoherapy of grapevines and apricots by reason of viruses and phytoplasma elimination. In *XX International Symposium on Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops-Fruit Tree Diseases 781* (pp. 93-96).
- Krysan, J. L., & Horton, D. R. (1991). Seasonality of catch of pear psylla *Cacopsylla pyricola* (Homoptera: Psyllidae) on yellow traps. *Environmental Entomology*, 20(2), 626-634.
- Lee, I. M., Bottner, K. D., Munyaneza, J. E., Secor, G. A., & Gudmestad, N. C. (2004). Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SrVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant disease*, 88(4), 429-429.
- Lherminier, J., Benhamou, N., Larrue, J., Milat, M. L., Boudon-Padieu, E., Nicole, M., & Blein, J. P. (2003). Cytological characterization of elicitor-induced protection in tobacco plants infected by *Phytophthora parasitica* or phytoplasma. *Phytopathology*, 93(10), 1308-1319.
- Liao, Y. C., & Yang, M. M. (2015). Acoustic communication of three closely related psyllid species: a case study in clarifying allied species using substrate-borne signals

- (Hemiptera: Psyllidae: Cacopsylla). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(5), 902-911.
- Maixner M. 2006. Grapevine yellows - Current developments and unsolved questions. *15th Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa* p. 3-7.
- Mori, K. (2011). Pheromone synthesis. Part 247: New synthesis of the enantiomers of 13-methylheptacosane, the female sex pheromone of pear psylla, *Cacopsylla pyricola*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 22(9), 1006-1010.
- Mori, N., Pavan, F., Bondavallier R., Reggiani, N., Paltrinieri S. and Bertaccini A. (2008) Factors affecting the spread of "Bois Noir" disease in north Italy vineyards. *Vitis* 47, 65–72.
- Musetti, R., Scaramagli, S., Vighi, C., Pressacco, L., Torrigiani, P., & Favali, M. A. (1999). The involvement of polyamines in phytoplasma-infected periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) plants. *Plant Biosystem*, 133(1), 37-45.
- Orenstein, S., Zahavi, T. and Weintraub, P.G. 2003. Distribution of phytoplasmas in wine grapes in the Golan Heights, Israel and development of a new universal primer. *Vitis* 40, 219-223.
- Oropeza, C., Cordova, I., Chumba, A., Narváez, M., Sáenz, L., Ashburner, R., & Harrison, N. (2011). Phytoplasma distribution in coconut palms affected by lethal yellowing disease. *Annals of Applied Biology*, 159(1), 109-117.
- Pollini, C. P., Bissani, R., & Giunchedi, L. (2001). Occurrence of European Stone Fruit Yellows Phytoplasma (ESFYP) Infection in Peach Orchards in Northern-Central Italy. *Journal of Phytopathology*, 149(11-12), 725-730.
- Romanazzi, G., D'Ascenzo, D., & Murolo, S. (2009). Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir. *Journal of Plant Pathology*, 677-682.
- Soroker, V., Talebaev, S., Harari, A. R., & Wesley, S. D. (2004). The role of chemical cues in host and mate location in the pear psylla *Cacopsylla bidens* (Homoptera: Psyllidae). *Journal of Insect Behavior*, 17(5), 613-626.
- Weintraub P.G. and Beanland L. (2006). Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology* 51:91–11.
- Zahavi T., Sharon R., Mawassi M. and Naor V. (2009). Long term effects of Stolbur phytoplasma on grapevines in Israel. *16th ICVG meeting*, 147-148.