

## בחינת השימוש בכנות שונות להפחתת נזקים הניגרמים על ידי

### פיטופלסמות בגפן יין.

תרצה זהבי - שה"מ.

רקפת שרון – מו"פ צפון והמכון לחקר הגולן.

פיליס ויינטראוב – חות גילת, מינהל המחקר החקלאי.

#### א. הצגת הבעיה:

מחלות צהבון בגפן (yellow diseases) ניגרמות על ידי חיידקים חסרי דופן – פיטופלסמות השייכים

ל *Mollicutes* (1). בגפן מוכרים מספר טיפוסים שונים של חיידקים אלה וכולם גורמים לאותם סימני מחלה: שינוי גוון והתקפלות לאחור של העלים, חוסר התעצות של השריגים והתנוונות של האשכולות לקראת הבציר (זנים לבנים) או מיד אחרי החנטה (זנים אדומים). הזן שרדונה ידוע בכל העולם כזן הרגיש ביותר למחלות מקבוצה זו. במרכז הגולן נעקרו כל הכרמים שהיו נטועים בזן זה בגלל נגיעות ביותר מ-70% מהגפנים וירידת היבול ל-25-30 אחוז מהיבול בכרם בריא אולם המחלה מופיעה ברמה משמעותית פחות או יותר גם בזנים אחרים.

בשנים 1994 עד 1999 נערכו סקרים בחלקות כרם נגיעות בצהבון בגולן. תוצאות הסקרים רמזו שלכנה עליה מורכבות הגפנים יש השפעה על שעור הנגיעות בצהבון. כן מצאנו הבדל גדול בכמות החרקים סביב אותן כנות. בעוד כמות החרקים הכללית היתה גבוהה יותר באזור של 3-216 הבדל זה נבע בעיקר מכמות החרקים הטורפים ואילו אוכלוסית חרקים ממחלקת ה *Hemiptera*, המחלקה אליה שייכים כל הוקטורים המוכרים לפיטופלסמות, נמצאה גבוהה יותר סביב כנת ריכטר 110, הכנה ששעור הנגיעות בגפנים המורכבות עליה גבוה יותר מאשר בגפנים המורכבות על קסטל 3-216. ההבדלים בשעורי הנגיעות במחלות פיטופלסמה בגפנים המורכבות על כנות שונות יכולה לנבוע משני כיוונים. האפשרות האחת היא עמידות פיזיולוגית, כשכנות שונות מגיבות בצורה שונה לנוכחות הפיטופלסמה ועל ידי כך מקנות לצמח עמידות. אפשרות שניה היא שאוכלוסית החרקים משתנה בהתאם לכנה, אם בגלל צורת פיזור שונה של השורשים או בגלל מאפיינים פיזיולוגיים שונים, וגורמת לפיכך לשוני באוכלוסית החרקים בסביבה ולכן לשעורי הדבקה שונים. סביר שמנגנון כזה יהי מורכב יותר מהראשון שכן אוכלוסיות החרקים ישתנו הן בהתאם לסוגי קרקעות שונים והן בהתאם לטמפרטורות הסביבה.

מטרת המחקר היא למצוא כנה או כנות שהרכבה עליהן תביא להפחתת ההתבטאות (והנזקים) של מחלות צהבון הניגרמות על ידי פיטופלסמות בגפנים.

(1) לבדוק את הנגיעות על הכנות השונות (בכרמים ובבית רשת).

(2) לבחון את ההשפעה של שתיים מהכנות (אחת רגישה ואחת עמידה יחסית) על אוכלוסית החרקים סביבן.

#### ב. מהלך ושיטות העבודה.

##### ב.1. בדיקה של השפעת הכנה בהדבקות מכוונות בבית רשת.

בשנת הניסוי הראשונה השרשנו כנות ממינים אמריקאים שונים (טבלא 1) בעציצים בבית רשת. בקיץ השתילים אולחו ע"י הרכבה של חומר צמחי נגוע שנילקח מכרמים בגולן ובגליל. בחורף שאח"כ

נחתך החומר הנגוע והורכבו על הכנות זמורות מהזן שרדונה. מאחר ולא כל ההרכבות ניקלטו חזרנו בקיץ ובחורף העוקב על הרכבה של חומר נגוע ושרדונה. בגפנים בבית הרשת לא מופיעים סימני הנגיעות האופייניים (חוסר התעצות, נקודות שחורות על השריגים) ולכן לא ניתן להסתמך על תסמינים לבחינת שיעור הנגיעות. בשנת הניסוי השניה הופק DNA מעורקים של הגפנים בהם הסתיים התהליך כולו (הרכבה של צמח נגוע ושל שרדונה), 22 גפנים סה"כ. בדיקה ב PCR הראתה נוכחות של חלקיקי פיטופלסמה בתשע מהגפנים.

**טבלא 1 : שיעור הנגיעות שנמצא בגפנים.**

ניבדקים/חיוביים	כנה	ניבדקים/חיוביים	כנה
1/2	14-101	1/3	ריכטר 110
0/1	Castel 216-3	2/5	רוגרי
0/2	Rupestris de Lot	1/3	SO4
2/2	Riparia Gloire	0/2	3309C
2/2	Solonis		

**2.2. ניסויי שדה.**

הוצבו ניסויי שדה במספר כרמים בגולן ובגליל לבחון את הופעת המחלה כתוצאה מהדבקות טבעיות. הניסויים ניטעו בבלוקים באקראי, ארבע עד שש חזרות של 10 גפנים כל אחת. ארבעה הכרמים הראשונים בטבלא 3 הגיעו לגיל ניבה וניבדקו (ויזואלית) לנגיעות. בכרמים של מבוא חמה ומירון ובכרם השירז בגשור עוד לא נראתה נגיעות בצהובן. בניסוי

**טבלא 2 : חלקות שניטעו עם ניסויי כנות.**

זן	משק	כנות
קברנה	יונתן	216/3, ריכטר, רוגרי
שירז	גשור	216/3, ריכטר, פולסן
שרדונה	מג"ל	216/3, ריכטר, פולסן
קברנה	גשור	216/3, ריכטר, רוגרי, פולסן, 14-101, 3309, SO4
מרלו	מח"מ	216/3, ריכטר, רוגרי, פולסן, 14-101, 3309, SO4
שרדונה	מירון	216/3, ריכטר, רוגרי, פולסן, סלט-קריק, 49-161, SO4

בקברנה סוביניון בגשור נמצאה בשנת 2004 גפן אחת נגועה (על הכנה 14-101). נגיעות משמעותית יותר נמצאה במרום גולן (שרדונה) וביונתן (קברנה סוביניון) והן מוצגות בטבלאות שלוש וארבע.

**טבלא 3 : נגיעות (אחוז הגפנים) בזן שרדונה במרום גולן (צפון הגולן).**

שנה	פולסן	ריכטר 110	קסטל 216/3
2003	5	10	14
2004	16	14	22.5

**טבלא 4 : נגיעות בניסוי כנות בזן קברנה סוביניון בכרם יונתן (מרכז הגולן).**

שנה	רוגרי	ריכטר 110	קסטל 216/3
2003	8.5	7.5	8
2004	6.25	4.25	6.75

בשני ניסויי השדה, בשתי שנות הבדיקה לא נמצאה השפעה ממתנת של הכנה על שיעור הנגיעות.

### **3.3. מעקב אחר נגיעות בחלקות גדולות.**

המעקב נערך בחלקות עם הזן קברנה סוביניון שבהן תת חלקות הנטועות על הכנות ריכטר 110 או קסטל 216/3. התחלנו את המעקב בשלושה כרמים: גשור בדרום הגולן, יונתן במרכז הגולן ואורטל בצפון אולם עקב נגיעות מאד גבוהה ביונתן התמקדנו בהמשך בגשור ואורטל בלבד. שעור הנגיעות בכל כרם ניבדק על סמך סימפטומים כל שנה ערב הבציר. גפן סומנה כנגועה אם היו לה לפחות שניים מהתסמינים הקשורים לנגיעות במחלות צהבון: אי התעצות של השריגים, נקודות שחורות על השריגים, גון אדום-כתום בעלים, התנוונות של אשכולות.

התוצאות מוצגות בטבלא 5. בכרם של קבוץ גשור היה הבדל עיקבי ומובהק ברמת הנגיעות בשלוש שנות הבדיקה (יותר נגיעות על כנת ריכטר) ואילו בכרם באורטל רמת הנגיעות היתה נמוכה וכך לא היה הבדל מובהק בנגיעות בין הכנות. עם זאת, גם שם בשתיים מהשנים, היתה מגמה לנגיעות גבוהה יותר בגפנים המורכבות על כנת ריכטר.

בשנת 2003 ניבדקה הנגיעות גם בחלקה מסחרית של הזן שרדונה בכרם של מושב אודם שבה גפנים המורכבות על שלוש כנות. גם בחלקה זו נמצא שהנגיעות היתה נמוכה במובהק בגפנים המורכבות על 216/3 לעומת הנגיעות בגפנים המורכבות על כנת ריכטר או פולסן (37, 32 ו 22 אחוז מהגפנים בהתאמה בכנות ריכטר, פולסן ו 216/3).

**טבלא 5: שעור הנגיעות (אחוזים) בחלקות המורכבות על הכנות השונות.**

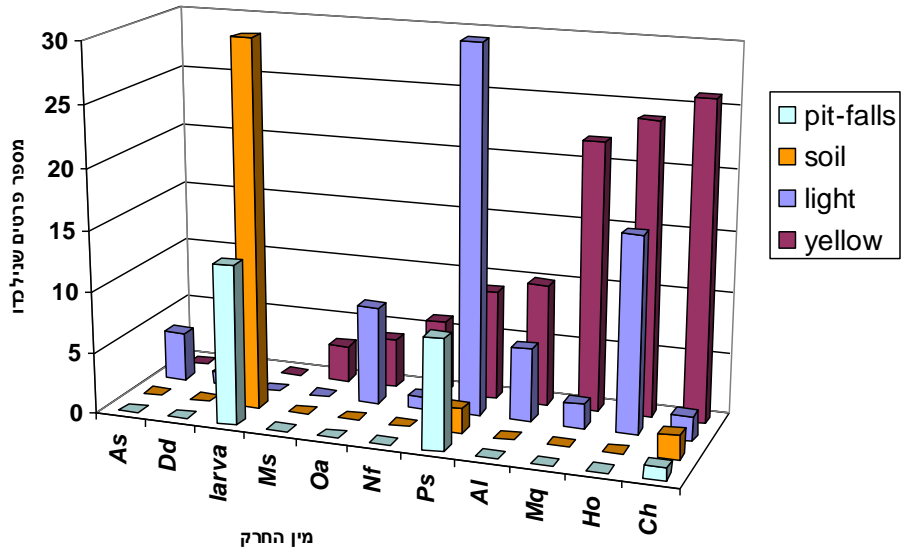
אורטל		גשור		כרם
ריכטר	216	ריכטר	216	כנה שנה
0.79	0.15	a 1.67	b 0.25 <sup>1</sup>	2002
0.34	0.23	a 3.75	b 0.23	2003
0.16	0.46	a 4.41	b 2.17	2004

<sup>1</sup> אחוז גפנים סימפטומטיות. ניסקרו 1,700 ו- 2500 גפנים בהתאמה בגשור ואורטל. הסקר בוצע בכל כרם סמוך למועד הבציר, תקופה בה סימני המחלה בולטים ביותר. אותיות שונות באותה שורה מעידות על הבדל מובהק (התייחסות אל כל שורת גפנים בכרם כאל חזרה).

### **4.4. איפיון אוכלוסית החרקים בחלקות מסחריות הנטועות עם הכנות השונות.**

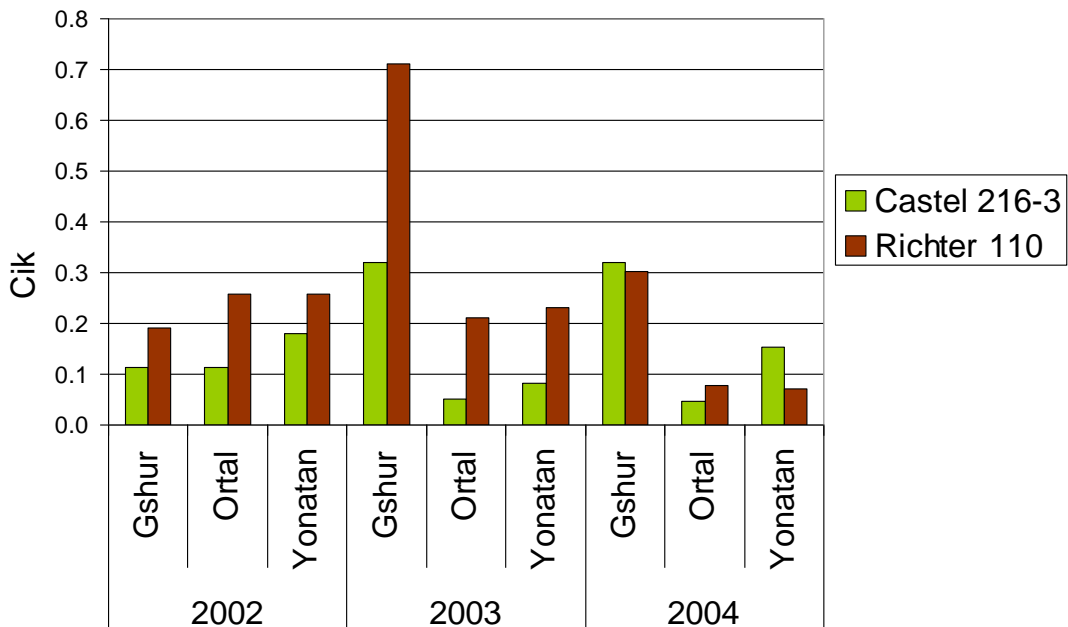
בשנת הניסוי הראשונה נבדקו שיטות שונות ללכידת חרקים; מלכודות דבק צהובות, מלכודות אור שהופעלו בשעות הערב ומלכודות נפילה המיועדות ללכידה של חרקים ההולכים על הקרקע. כן נילקחו דוגמאות קרקע מהשטחים הנבדקים והחרקים מוצו מהם עם משפכי ברלייזה והפעלת אור מעל הדוגמא. תוצאות הלכידות משנה זו מוצגות בציור 1. מצאנו שהשימוש במלכודות דבק צהובות מאפשר לנו ללכוד את כל מיני החרקים שנמצאים בשטח) ולכן בשתי השנים הבאות עבדנו רק עם מלכודות אלה.

ציור 1 : לכידת חרקים בשיטות השונות (עונת 2002), ממוצע של כל שטחי הדגימה.



סכום של תוצאות הלכידה, של כלל מיני הציקדות הנחשבות כוקטורים פוטנציאליים, מוצגות בציורים הבאים.

כמעט בכל השנים והכרמים נמצאה אוכלוסית חרקים גבוהה יותר בחלקות הנטועות על ריכטר לעומת אלה הנטועות על 216/3 (ציור 2). ההבדלים בגשור ובאורטל בשנת 2003 היו מובהקים. ציור 2 : מספר החרקים (למלכודת ליום) בשלוש חלקות הכרמים.



ברשימה להלן שמות החרקים שנלכדו בכרמים ועלולים להיות וקטורים של פיטופלסמות (מבחינת דרך ההזנה והידע לגביהם מהעולם). בציור המציג את נתוני הלכידה המפורטים בשתיים מהעונות ניתן לראות (ציור 3) שההבדל בכמות החרקים בין הכנות השונות חזר ברוב מיני החרקים שניספרו ובשלושת מועדי הבדיקה.

*M.s*= *Megophthalmus scabripennis*

*A.l*= *Anaceretagallia laevis*

*N.f*= *Neotaliturus fenestratus*

*H.o*= *Hyaletes obsoletus*

*M.q*= *Macrosteles quadripunctulatus (sexnotatus)*

*C.h*= *Circulifer haematoceps (tenellus)*

*D.d*= *Dryodurgades dlabolai*

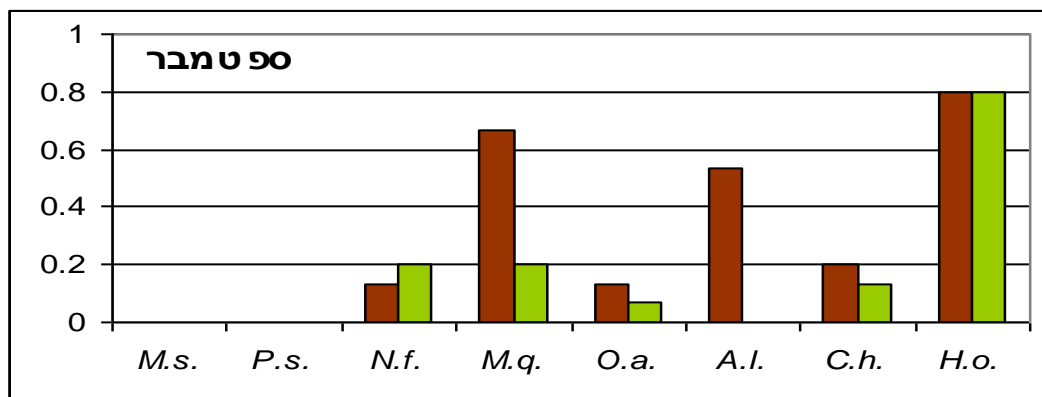
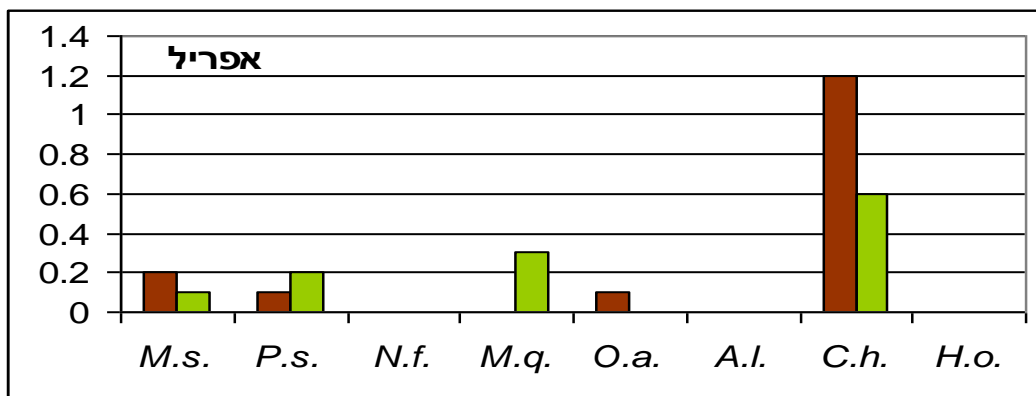
*P.s*= *Psammotettix sp.*

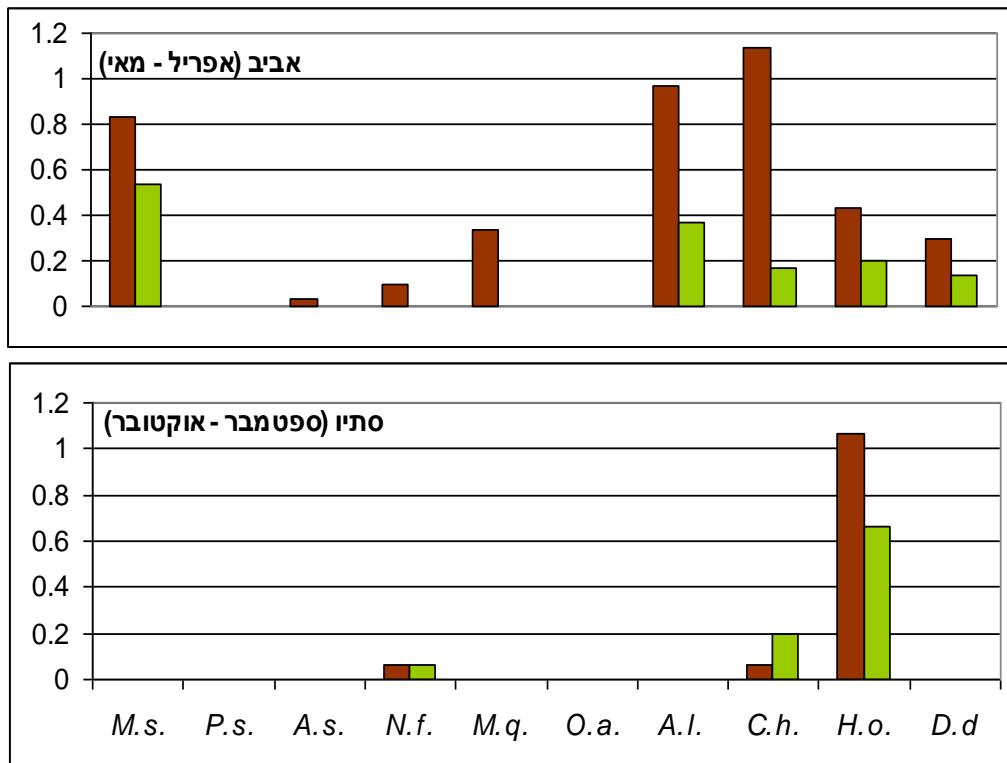
*A.s*= *Austroagallia sinuata*

*O.a*= *Orosius orientalis*

ציור 3 : מספר חרקים (למלכודת לשבוע) מכל מין שנלכד בחלקות הכנות.

א. בשנת 2002





**5.2. איפיון הצימוח של גפנים המורכבות על הכנות השונות.**

הממצאים מניסויי השדה שנערכו בחלקות קטנות לא תואמים את הנחת העבודה שהצגנו, לפיה הכנה משפיעה על שיעור הנגיעות במחלה. עם זאת, המשכנו לקבל הבדלים בשיעור הנגיעות בחלקות מסחריות גדולות, הן בחלקות התצפית של עבודה זו בזן קברנה סוביניון והן בחלקה של הזן שרדונה, הנחשב לרגיש ביותר למחלה שניטעה עם כנות שונות. דבר זה רומז שייתכן וההבדלים הניצפים בחלקות הגדולות נובעים מאוכלוסיות החרקים המאכלסת חלקות אלה והנחה זו מתחזקת על ידי ממצאנו לגבי אוכלוסיות החרקים בחלקות.

החלטנו לפיכך בשנת הניסוי השנייה והשלישית לבחון מדדים בצימוח של הגפנים העשויים להשפיע על מידת המשכיכה של החרקים לחלקות הנטועות על הכנות השונות. התיחסנו לשני מדדים אותם נראה לנו שהחרקים יכולים לזהות: צבע העלוה (מיצוי כלורופיל מהעלים) ומצב המים בצמח כפי שנמדד ע"י בדיקה של פוטנציאל המים בעלים. מדדים צמחיים נוספים שבדקנו הם משקל הגזם ומספר הזמורות לגפן, שני מדדים המקובלים בכרמים ומעידים על עוצמת הצימוח של הגפנים. כמו כן בדקנו בניסוי מעבדה את מידת ההעדפה של אחד ממיני הציקדות (*Hyalesthes obsoletus*) לגפנים בעציצים הנטועות על הכנות השונות. התוצאות המוצגות להלן מראות שאכן יש הבדלים עקביים באופי הצימוח בין גפנים הנטועות על הכנות השונות וכן שלפחות לאחד ממיני החרקים יכולת לזהות את הגפנים הנטועות על הכנות השונות.

טבלא 6 : מאפייני צימוח של הכנות ובחינת ההעדפה של  $H_0$  לכנות השונות.

העדפה <sup>3</sup>	פוטנציאל מים <sup>2</sup>		<sup>1</sup> OD		כרם
	אורטל	גשור	אורטל	גשור	
עיצים					
א 3.42	7.3	ב 11.9	15.8	11.3	ריכטר 110
ב 1.10	8.2	א 12.4	14.5	10.8	216/3

<sup>1</sup> בדיקה של בליעה בספקטרופוטומטר של מיצוי באתנול של דיסקיות מעשרה עלים. ממוצע של חמש חזרות בכל כרם וכנה.

<sup>2</sup> פוטנציאל מים בגזע. ממוצע של חמישה עלים בכל יום במשך 3-4 ימים רצופים.

<sup>3</sup> ששה פרטים של *Hyalesthes obsoletus* הוכנסו לאולפקטומטר בעל שתי זרועות שלכל אחת מהן הוכנס קטע של שריג מגפן המורכבת על אחת משתי הכנות. נבדק מספר הפרטים שנע לעבר כל אחת מהכנות. הניסוי נערך בשני מועדים, 19 חזרות סה"כ.

### קשר בין מאפייני הגפנים, אוכלוסיית החרקים ומידת הנגיעות של הגפנים.

הנתונים שנאספו במשך שלוש שנות המחקר מאפשרים לנו להגדיר את הקשר בין מאפיינים שונים של הגפנים ואוכלוסיית החרקים מצד אחד, ומצד שני את הקשר בין אוכלוסיית הוקטורים ומידת הנגיעות בחלקות.

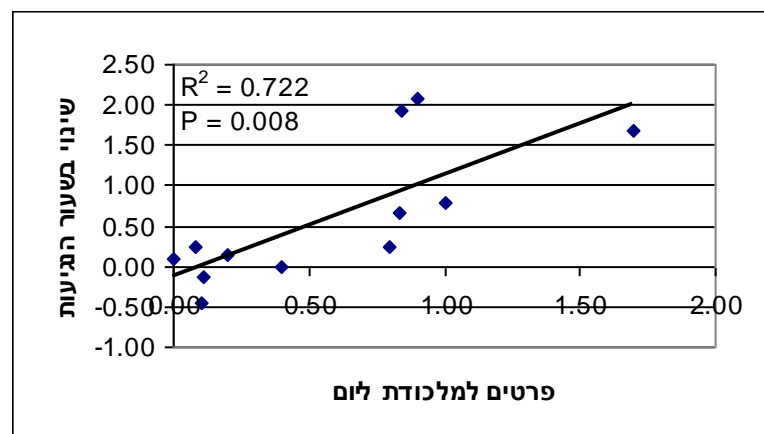
מאחר וכל אחד מהנתונים לגבי החלקות נאסף במערך שונה חיפוש המתאם נבדק בין הממוצעים של כל נתון עבור כל שנה וחלקה.

גובה אוכלוסיית הציקדות בכלל והמין *Hyalesthes obsoletus* בפרט השפיע על מידת הנגיעות של

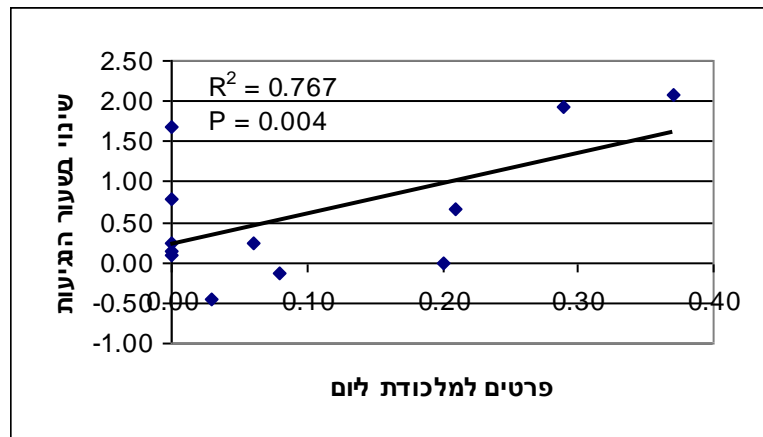
הגפנים. כפי שכבר הראנו בעבודות קודמות, וקטורים פוטנציאליים נילכדים בכרמים או בסביבתם באביב ובסתיו בעוד בחודשי הקיץ החמים לא נמצאים פרטים של ציקדות. לפיכך בחיפוש המתאמים התייחסנו בנפרד לאוכלוסייה הנלכדת באביב, אוכלוסייה שיכולה, לפחות תאורתית לגרום להופעת תסמינים כבר באותה עונה ולאוכלוסיית הסתיו שבמידה והיא גורמת להדבקה התסמינים יופיעו רק בשנה העוקבת (ציורים 3-5). הקשר הטוב ביותר שנמצא הוא בין אוכלוסיית הציקדות במאי לנגיעות שהתווספה באותה שנה ( $R^2=0.722$ , ציור 3), או, טוב יותר, עם האוכלוסייה של *H. o.* באותה עונה ( $R^2=0.767$ , ציור 4). קשר טוב ( $R^2=0.439$ ,  $P=0.019$ ) נמצא גם בין אוכלוסיית *H. o.* בסתיו לנגיעות בצהרון בשנה העוקבת (ציור 5).

מנתונים אלה נראה שגם אוכלוסייה קטנה ביותר של וקטורים פוטנציאליים (מעל 0.5 ציקדה ליום או יותר מ 0.1 פרטים של *H.o.*) גורמים לעליה משמעותית בשעור הנגיעות.

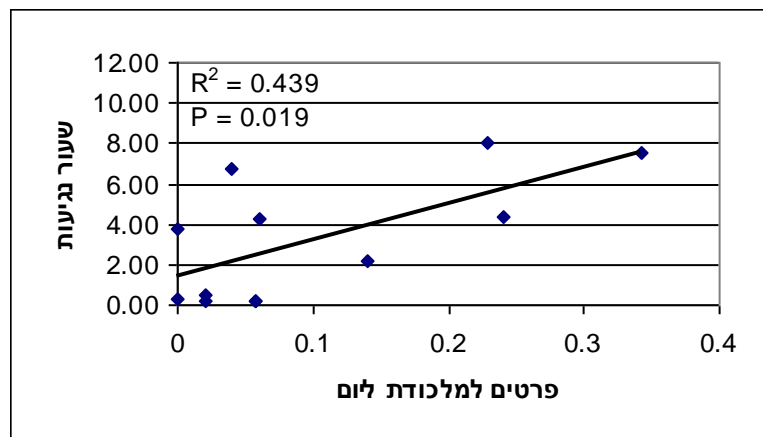
ציור 3 : מתאם בין אוכלוסיית ציקדות באביב לשינוי באחוז הנגיעות.



ציור 4 : מתאם בין אוכלוסיית *Hyalesthes obsoletus* באביב לשינוי באחוז הנגיעות



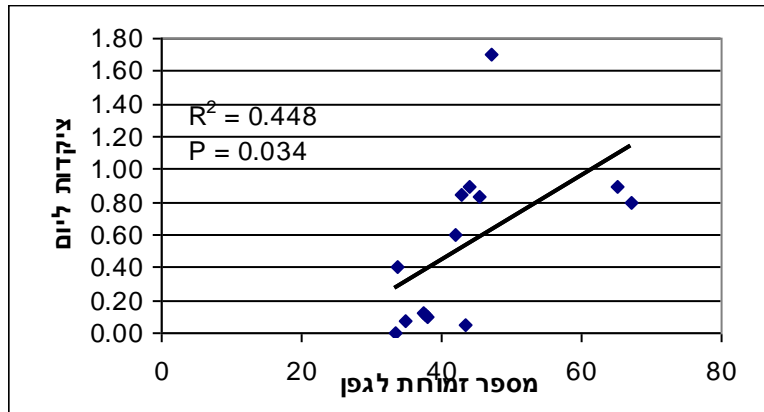
ציור 5 : מתאם בין אוכלוסיית *H.o.* בסתיו לשעור הנגיעות בעונה העוקבת



מבין המאפיינים הנראים של הגפן (משקל גזם, מספר זמורות, כמות כלורופיל או פוטנציאל המים בצמח) מצאנו שמספר הזמורות, מדד המעיד על עוצמת הצימוח של הגפן, נמצא במתאם טוב עם אוכלוסיית הציקדות באביב ( $P=0.034$ ,  $R^2=0.448$ , ציור 6) ובמתאם פחות מובהק עם אוכלוסיות הציקדות מהסוג *Ho* ( $P=0.096$ ,  $R^2=0.30$ ).

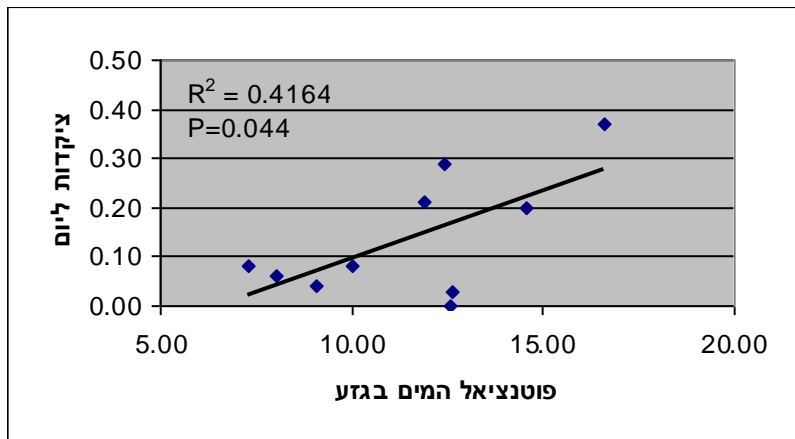


ציור 6 : הקשר בין מידת הצימוח של הגפן (מספר זמורות לגפן) ואוכלוסיית הציקדות.



כן נראה שאוכלוסיית הציקדות היתה גבוהה באזור בו הגפנים היו צמאות יותר, כפי שהדבר בא לידי ביטוי בבדיקת פוטנציאל המים בגזע (ציור 7,  $R^2=0.416$ ,  $P=0.044$ ).

ציור 7 : פוטנציאל המים בגזע ואוכלוסיית  $H_o$ .



## סכום ומסקנות ביניים

מהתוצאות שהושגו עד כה במסגרת תכנית מחקר זו לא ניתן להסיק בצורה חד משמעית שלכנה יש השפעה על מידת הנגיעות של גפנים במחלות צהבון. בשני ניסויי השדה בהם ניתן כבר לראות נגיעות, לא נראה ששעור הנגיעות על הכנה "העמידה" (קסטל 216/3) נמוך מזה שעל הכנות האחרות. עם זאת, גם לא ניתן לפסול את ההנחה שלכנה יש השפעה כיון שבחלקות הגדולות שנבדקו במסגרת המחקר, כמעט בכל המקרים, נמצאה פחות נגיעות על הכנה "העמידה".

כיוון אפשרי שהתחזק בעקבות עבודה זו הוא ההנחה שהנגיעות השונה נובעת ממשיכה שונה של החרקים-המעבירים לגפנים הנטועות על כנות שונות. בשנות המחקר הראשונות היה הבדל, מובהק ב 2003 בשניים מהכרמים, בגובה אוכלוסית החרקים בין החלקות המורכבות על הכנות השונות. בניסוי בתנאים מבוקרים גם מצאנו שגפנים המורכבות על כנת ריכטר משכו יותר פרטים מהמין *Hyalesthes obsoletus* (המין המוכר באירופה כוקטור של המחלה לגפנים). כפי שהראנו יש מתאמים משמעותיים בין מאפייני צימוח ספציפיים (פוטנציאל מים, מספר זמורות) וגובה אוכלוסיית הציקדות ויתכן, כמו שמצאנו בניסויים ראשוניים באולפקטומטר, שלגפנים המורכבות על הכנות השונות יש פרופיל ארומות שונה הגורם למשיכה שונה של הציקדות.

האוכלוסייה של וקטורים פוטנציאלים שנילכדה בכרמים מאד נמוכה, פחות מ 2 פרטים של וקטורים פוטנציאלים (שונים) ופחות מחצי *Ho* בממוצע ליום. ממצא זה מתאים לעובדה שחרקים אלה לא נצפים בדרך כלל על הגפנים. עם זאת גם בטווח זה של אוכלוסיות, שעור ההדבקות החדשות נמוך כשהאוכלוסיה נמוכה, פחות מחצי פרט ליום, ועולה עם העליה באוכלוסיה (ציור 5).

לדעתנו יש להמשיך במחקר בשני כיוונים:

- א. לימוד, בשטח ובתנאים מבוקרים של הגורמים המשפיעים על הציקדות להגיע לגפנים מסוימות יותר מאשר לאחרות.
- ב. מציאת צמחים שיימשכו את הציקדות יותר מהגפנים ושימוש בהם כצמחי מלכודת.