

# לימוד האפידמיולוגיה של מחלות הצהבון בגפן ובגזר

מוגש על ידי ע. תנאי, פ. וינטראוב, ב. רקח, מ. קליין, ת. זהבי, צ. דר,  
ה. יונס, ה. מנור, א. שלווין, י. קנר, א. ביאלה

## תקציר:

מחלות הצהבון בגזר ובגפן נגרמות על ידי פיטופלסמה וגובות מחיר יקר מידי שנה. בגזר הפגיעה מגיעה לעתים עד כדי אבדן מוחלט של היבולים. בגפן - נפגעים גפני יין מהזנים המשובחים ביותר (שרדונה וקברנה) וכבר היה צורך בעקירת שטחים, צעירים יחסית. מטרת המחקר הן לזהות את הווקטורים ומועדי ההדבקה בשדה, כדי שניתן יהיה להפעיל מערכת מניעה יעילה. זיהוי הווקטורים נעשה על ידי לכידת ציקדות במלכודות דבק ובמשאבות, מיון והגדרה על ידי טיפולים מיוחדים לזיהוי מיקרוסקופי. זיהוי ואפיון גורמי המחלה בציקדות ובצמחים נעשה בבדיקת PCR עם תחלים אוניברסליים וספציפיים, וזאת על מדגמים שנלקחו במועדים שונים. ניסויי הדברה ומניעה: בגזר - ריסוסים תכופים וכיסוי ברשת למניעת נחיתת חרקים מעופפים; בכרם - ריסוסים בקוטלי ציקדות ומחסומי רשת. ממצאי המחקר העיקריים הם: ההדבקה בגזר מתרחשת - קרוב לוודאי - בסתיו ובאביב המוקדם. עוברים 30-40 יום ממועד ההדבקה ועד להופעת התסמינים. הטיפולים הכימיים מועילים רק בחלקם. הכיסוי ברשתות יעיל. מועד ההדבקה בכרם עדיין לא ידוע, והטיפולים הכימיים אינם יעילים. זוהו בוודאות 7 מתוך מעל ל-10 מיני ציקדות, שנמצאו נשאות של פיטופלסמה בכרם ובגזר. הצלחנו בגידול המוני של 2 מתוכן.

## מסקנות והמלצות:

אנו ממליצים לחזור שנה נוספת לחקור באותם הסעיפים; לגדל גידול המוני את יתר מיני הציקדות ולבצע ניסויי העברה על מנת להגדיר את הווקטורים האמיתיים מבין הנשאים.

## מבוא ותיאור הבעיה:

התנוונות גפנים וירידה משמעותית ברמת היבול ובאיכותו נגרמים על ידי מחלות וירוס ומחלות צהבון, ואלו מגבילים את גידול הגפן והתפתחות הענף בארץ. המחקר בנושא מחלות וירוס בארץ התקדם מאוד, ואילו בנושא מחלות הצהבון נעשתה עד כה עבודה ראשונית בלבד. בשנות ה-70 נצפו בזני מאכל בעמק הירדן גפנים שהראו סימני צהבון, כרמים אלו נעקרו והתופעה נעלמה. בסוף שנות ה-80 נראו סימני התנוונות והצהבות חשודות בגפנים מזן שרדונה במספר כרמים ברמת הגולן. סימני המחלה דמו לאלו המתוארים בספרות אשר נגרמים על ידי פיטופלסמה. גפנים חשודות כנגועות בצהבון נמצאו מאוחר יותר גם בזני יין אחרים כמו קברנה, סוביניון, סמיון ועוד.

כמו כן, התפשטה המחלה גם לאזורי גדול אחרים והגיעה עד בקעת ערד. התעצמות והתפשטות מחלת הצהבון בגולן הביאה לנזק ניכר: אי התאמת הענבים לתעשיית היין, עקירת כרמים ועצירת נטיעה של הזן שרדונה, שהוא אחד מזני האיכות הידועים ביותר בעולם. מסיבות אלו נגרמו נזקים כלכליים כבדים. סכנת ההתעצמות של המחלה בזנים נוספים תגרור אחריה הפסקה כללית של נטיעות וניוון הכרמים הקיימים.

תופעות של צמיחה משונה ופגיעה ביבול הגזר, ובמיוחד באיכות השורשים הנאכלים, נצפו לראשונה בשדות עמק בית שאן לפני כ-4 שנים. תופעות אלה הלכו והתפתחו לממדים כה גדולים, שהביאו לעתים לויתור על איסוף היבול. בשנים האחרונות חלה התעצמות בנגיעות, אשר גברה משנה לשנה. התסמינים זהים לאלו של מחלת צהבון האסטר, ותמונות שנתקבלו בחתכים מיקרוסקופיים ובשיטות מולקולריות הוכיחו את נוכחות פיטופלסמה בתאים.

הידיעה כי עדיין אין דרך לעצור בעד התפשטות המחלה בטבע והחשש להישארותה בעוצמה רבה גם בעתיד, גורמת לרבים לשקול את היציאה מגידול הגזר. הגזר הוא מרכיב מזון חיוני וחשוב לאוכלוסייה בארץ. צמצום המזרע עלול לגרום לעליית מחירים רצינית ובכך להשפיע על מדד יוקר המחיה. בארה"ב מציינים שהגזר והחסה נהרסים לעתים לחלוטין על ידי צהבון האסטר. התנועה בשיעורי הנגיעות בשנים שונות נגרמת תכופות בשל השינוי בעוצמת הנדידה של אוכלוסיות הציקדות.

## מטרות המחקר:

1. זיהוי ואפיון גורמי המחלה בגפן וגזר.
2. זיהוי הוקטור.
3. לימוד האפידמיולוגיה של המחלה (מעקב בזמן ומרחב אחר הופעת המחלה והוקטור הפוטנציאלי).
4. הגבלת התפשטות המחלה ע"י הדברה משולבת ומניעה.

## תוצאות העבודה:

תאור מערכת הניסויים שהוצבו:

א. ניסויי "מניעה" והדברה בגזר - הניסויים נערכו בשלושה אתרים: צפון - שלוחות, מרכז - צופית, דרום - סעד.

זני גזר נזרעו במועדי זריעה שונים:

1. בשלושת האתרים נערכו ניסויים אלו: 1. ריסוס בתכשירים כימיים להדברת אוכלוסיית הציקדות בשדה הגזר. 2. כיסוי חלקות גזר ברשת 50 מש וחשיפתה במועדים שונים (בשרון השתמשנו בשני מיני רשתות, רשת רגילה ורשת ביונט)
2. נערכו לכידות חרקים (ציקדות) ע"י הצבת מלכודות צהובות וע"י לכידה במשאבת יניקה
3. ניסויי החיפוי ברשת, ההדברה ולכידת הוקטורים הפוטנציאליים מלוויים בבדיקות מולקולריות לאבחון נגיעות בפיטופלסמה בצמח ובחרק.

## ב. בחינת טיפולים למניעת הרבקה והתפשטות המחלה בגפן:

1. הצבת מחסומים מכניים. הניסוי נערך בכרם שרדונה של אודם. ב-1996 הוצבו רשתות 10 מטר רוחב ומטר גובהה, ובמרווחים של 10 מטר בשני כוונים. לפני הרשתות ובמרווחים שביניהם הוצבו מלכודות צהובות בצורת משולש במחזוריים של שבועיים. כמו כן הוצבו צמחי מלכודת. וינקות במחזוריים של חודש.
2. קביעת מועדי הדבקה. גפנים מהזן שרדונה, הגדלות בבית רשת באבני איתן, נחשפות בכרם נגוע לתקופות של חודש ימים החל מאפריל במשך 6 חודשים, ומוחזרות לגדול בבית הרשת. הגפנים במעקב להופעת סימנים ובסוף עונת "החשיפה" ייערכו בהן בדיקות מולקולריות.
3. בחינת עמידות של כנות שונות למחלה. צמחי שרדונה (ממקור רכב בריא ונגוע) הורכבו ע"ג כנות שונות ע"מ לבדוק את רגישותם - עמידותם למחלה. הצמחים נבדקים כל שנה לזיהוי סימני מחלה ובבדיקות מולקולריות במטרה לזהות נגיעות בפיטופלסמה.

**זיהוי והגירת חרקים (ציקדות) - מלכודות הדבק מכל האזורים (חלקות גזר וכרמים) הובאו לבית דגן, נסרקו והציקדות החשודות כוקטורים הוסרו מהן, מוינו למיניהן והועברו לכוהל לבדיקת PCR. הבדיקות נערכו עם תחלים אוניברסליים, לזיהוי כללי של נוכחות פיטופלסמה בציקדות. כל מין שהגיב חיובית לפיטופלסמה סומן, ועובר להגדרה, לאור תוצאות אלו מנסים לגדל גידול המוני של אותו המין.**

## לכידות במלכודות דבק צהובות בגפן ובגזר ובדיקת "נגיעותן" של הציקדות בפיטופלסמה -

במשקים: יונתן (700 מלכודות) והר אודם (כ-100 מלכודות). בגולן הונחו המלכודות הראשונות השנה ב-3 במרץ 1998 והאחרונות, הוסרו ונמסרו לבדיקה ב-13 בנובמבר 1998. נאספו כל מיני ציקדות החשודות כוקטורים (להוציא את הציקדות הירוקות שאינן מעבירות מיקופלסמה). בין הציקדות הנושאות פיטופלסמה:

1. אפורה בינונית; 2. גדולה ירוקה; 3. שחורה בינונית; 4. אפורה קטנה עם scutellum צהוב.

סכום לכידות אלו מצוי בטבלה מס' 1. הציקדות שהוכנסו למלכודות דבק בכמויות לא משמעותיות, לא הוכנסו לאיורים הנ"ל. יש לציין, שהציקדות *Orosius* ו-*Macrosteles* כמעט ולא נלכדו במלכודות דבק. מינים אלו נשאבו בכמויות גדולות על עשבים, בסמוך לאתרים בהן היו המלכודות.

ממצאי הלכידות שנעשו עד כה, מסוכמים באיור מס' 1. בחלק מהמינים זוהתה פיטופלסמה בעזרת שיטות מולקולריות. רוב המינים שנמצאו נושאי פיטופלסמה הוגדרו רק על פי מראן החיצוני.

1. הציקדה *Neoliturus spp* מתחילה להופיע בגולן בסמוך למועד לבלוב הגפן, ציקדה זו נלכדה מוקדם יחסית בשדה גזר בצופית ועל קורטם בבית דגן (הופיעה בכמויות קטנות מאד בסעד מאמצע אפריל). **ציקדה זו נמצאה נושאת פיטופלסמה** כבר בדוגמאות הראשונות שנלכדו. הציקדה הזו והציקדה האחרונה היו את עיקר הציקדות שנלכדו במלכודות דבק בצופית. *Neoliturus spp* נלכדה בשפע בעיקר בתחילת יוני (איור מס' 3).

2. הציקדה *Hyalesthes obsoletus* מופיעה בגולן מאוחר יחסית. בעמק בית שאן ובאזור השרון היא מקדימה לפחות בשבועיים לעומת הגולן, לא נלכדה בסעד. **ציקדה זו נמצאה נושאת פיטופלסמה** בדוגמות הראשונות שנלכדו בעמק בית שאן ובאזור השרון, ובאביב ובסתיו ברמת הגולן. *Hyalesthes obsoletus* ו-*Neoliturus spp* היו מיני הציקדות שנלכדו בכמויות הגדולות ביותר בגולן. סיכום הלכידות מתואר באיור מס' 2.

3. הציקדה *Orosius spp* כמעט שלא נלכדה במלכודות דבק צהובות ולא במלכודות מצבעים אחרים. היא נמצאה בכמויות גדולות על ירבוז שרוע בסמוך לשדות הגזר בשלוחות ובסעד, ובתוך הכרם במושב יונתן שבגולן. ציקדה זו ידועה כמעבירת הפילודי בשומשום בארץ. היא חשודה כווקטור למחלת צהבון הגפן באוסטרליה. מעניין לציין שציקדה זו והציקדה הראשונה מהוות את עיקר הלכידות במלכודות הדבק במשק סעד (איור מס' 4).

4. רוב הציקדות שנלכדו במלכודות דבק בשלוחות היו *Circulifer spp*.

5. הציקדה *Macrosteles* נלכדה במלכודות דבק בשיעור נמוך ביותר. ציקדה זו היא וקטור חשוב של צהבון האסטר בארה"ב. במדגם אחד שנלכד בגולן באוגוסט 1997 נמצא שהציקדה **נושאת פיטופלסמה**. ב-1998 זוהתה פיטופלסמה במדגמים שנלקחו מאזורים אחרים בארץ.

6. ציקדה נוספת, חומה עם כתמים, נלכדה בכמויות גדולות במלכודות דבק צהובות שהוצבו בשדה גזר בצופית. **ציקדה זו נושאת פיטופלסמה**, כבר מתחילת עונת הלכידות בשרון. ציקדה זו, שנלכדה במלכודות פה ושם, גם בגולן ובעמק בית שאן, הוגדרה כ-*Macropsis spp*.

בניסויים שנערכו בשאיבה, הן בגפנים בגולן והן בגזר בעמק בית שאן, בשרון ובסעד, התברר שמעט מאוד *Macropsis* נלכדות בשאיבה על הגזר עצמו. מעיון בספרות מתברר שמקום ריבוי הוא בפטל קדוש. מלבד הציקדה *Orosius*, הנמצאת בכמויות גדולות על ירבוז שרוע וה-*Macropsis spp*, עדיין איננו יודעים מהיכן מגיעים כל מיני הציקדות האחרות אל מלכודות הדבק בגפן ובגזר נושא שיש לבדוק החל מתחילת העונה הבאה.

### **בדיקות מולקולריות בגזר**

בצופית נבדקו 3 תאריכי מזרע שונים: תחילת פברואר, תחילת מרץ, תחילת אפריל - חיפוי רשת, ותאריך נוסף - תחילת אפריל - ניסוי תכשירי הדברה כימיים. בשלוחות תאריך מזרע - סוף פברואר (חיפוי וניסוי תכשירים כימיים). בסעד תאריך מזרע - סוף ינואר, אמצע פברואר ותחילת מרץ (חיפוי וניסוי תכשירים כימיים). דגימות נערכות עם חשיפת הרשת: חשיפה ראשונה 55-60 יום מהזריעה חשיפה שנייה 70-90 יום מהזריעה חשיפה שלישית 100-110 יום מהזריעה חשיפה רביעית 130 יום מהזריעה

מכל הדגימות שהגיעו לבית דגן מוצה DNA שנשמר בהקפאה של  $-20^{\circ}\text{C}$  ונערכו בדיקות PCR עם תחלים אוניברסאליים.

להלן תוצאות בדיקות המדגמים:

צופית - בדיקות PCR של מדגמי גזר מכל החזרות המחופות היו שליליות (כאשר נלקחו המדגמים ביום החשיפה), פרט לדגימה אחת מהמזרע הראשון (12.2.98) שהייתה חיובית.

בדיקות PCR של מדגמי גזר מהחלקות החשופות:

1. אפריל - חלקות ביקורת - נגיעות בפיטופלסמה.
2. תחילת מאי - מזרע ראשון: חשיפה ראשונה - נגיעות בפיטופלסמה, חשיפה שנייה - שלילית. סוף מאי - חשיפה שנייה - נגיעות בפיטופלסמה, חשיפה שלישית - שלילית. מזרע שני: חשיפה ראשונה נגיעות בפיטופלסמה, חשיפה שנייה - שלילית.
3. סוף יוני. מזרע ראשון, נגיעות בפיטופלסמה בכל החשיפות. מזרע שני - נגיעות בפיטופלסמה בחשיפה שנייה. מזרע שלישי - נגיעות בפיטופלסמה בחשיפה שנייה.
4. סוף יולי - מזרע שני ושלישי - נגיעות בפיטופלסמה.

תוצאות הבדיקות הנ"ל מאבחנות הדבקה בפיטופלסמה בצמחים. הן אינן מעידות על מידת הנזק או על אחוזי נגיעות, לסיכום, משך ההגנה מהדבקה בפיטופלסמה על ידי רשתות התקבל בדגימת הצמחים בתאריך ההוצאה (איור 5).

**שלוחות** - אחוזי הנגיעות בפיטופלסמה היו נמוכים יותר בשנת 1998, אי לכך הייתה נגיעות מועטה גם בחלקות הביקורת החשופות. בחלקות המחופות נמצאה נגיעות מועטה בסוף מאי בחשיפה ראשונה (צמחים בודדים). ביוני נמצאה נגיעות מועטה בפיטופלסמה בחשיפה שנייה, וביולי נמצאה נגיעות בחלקות הביקורת. בבדיקה ויזואלית של הצמחים בזמן האסיף נמצאה נגיעות של כ-36% בביקורת.

**סעד -** הנגיעות במחלת הפיטופלסמה הייתה נמוכה השנה, בחודשים אפריל-מאי לא אובחנה נגיעות בפיטופלסמה בביקורת או בחלקות המחופות. בבדיקות שנערכו בחודש יוני. הייתה נגיעות מועטה בחלקות ביקורת לא מחופות. בבדיקות מדגמי יולי אובחנה נגיעות בפיטופלסמה.

בסיכום בדיקות ה-PCR ואבחון הסימנים, נראה כי רמת הנגיעות הכללית השנה נמוכה בסעד ובשלוחות וגבוהה מאד בצופית. תצפיות בכל שלושת האזורים מראות שהזמן העובר בין הדבקה להופעת סימני מחלה הוא 30-40 יום לפחות. כיסוי ברשת עד לכ-50 ימים מהאסיף נותן הגנה טובה לצמחים במרבית המקרים (בהתאם לעונת הזריעה ועצמת הנגיעות). בניסויי הדברה כימית של ציקדות והגנה על ידי כיסוי זרעים לא נתקבלו תוצאות בצופית, אך בשלוחות נראתה ירידה מסוימת ברמת הנגיעות בפיטופלסמה.

#### **טיפולים כימיים להרברת ציקדות בגזר:**

**סעד -** הגמעה בקונפידור.

נגיעות נמוכה במחלה - אין הבדלים בין היקש וטיפולים, ובין הטיפולים השונים.

**צופית -** הגמעה בקונפידור ועטוף זרעים.

נגיעות של 18% בממוצע (נמוכה מהנגיעות בחלקות הסמוכות, אין הבדל בין היקש וטיפולים.

**שלוחות -** ראה נספח א'.

#### **מציאת קורלאציה בין נגיעות בפיטופלסמה לבין סימפטומים שונים:**

נערכו בדיקות PCR על מנת למצוא קורלאציה בין סימנים שונים לבין נוכחות פיטופלסמה בצמח. נמצא שסימני הנצה מועטים בשוליים אינם קשורים למחלה, לעומת זאת, יש קשר הדוק בין סימני "מטאטא המכשפה" לבין נוכחות פיטופלסמה בצמח. אין קורלאציה בין הופעת הצהבות או האדמות למיניהן לבין נגיעות בפיטופלסמה.

#### **גפן**

1. **בחינת עמירות כנות שונות למחלת הצהבון -** גפנים מזן שרדונה הורכבו על 3 כנות שונות. שתילים אלו הורכבו הרכבת עין ממקור נגוע, ב-1997 חולקו הגפנים ל-6 קבוצות וגודלו בבית רשת באבני איתן. דגימות עליים נאספו ומהן מוצה DNA ונערכו בדיקות PCR עם תחלים אוניברסאליים על מנת לאבחן נגיעות בפיטופלסמה. סה"כ נערכו כ-120 בדיקות (חלקן בדיקות חוזרות). תוצאות הבדיקות מובאות בטבלה מס' 2.

#### **טבלה מס' 2 - בדיקות PCR לאבחון פיטופלסמה בשרדונה מורכב על 3 כנות**

כנה	נגוע לעומת בריא	% נגועים
3-216	3/26	11.5
Paulsen	6/31	19
Richter 110	4/28	14

#### **2. לימוד האפידמיולוגיה של המחלה:**

**ניסויים לבדיקת התפשטות מחלת הצהבון בכרם -** צמחי וינקה גודלו בבית זכוכית מוגן מחרקים. קבוצות של צמחים אלו נחשפו לתקופות של חודש ימים בכרמים ב-3 אזורים שונים:

צפון - אודם (רמת הגולן), מרכז - צרעה, ודרום - בקעת ערד, לאחר תקופת חשיפה זו הוחזרו הצמחים לבית רשת מוגן מחרקים להמשך גידול. נערך מעקב אחר הופעת סימנים ונערכו בדיקות מולקולריות ע"מ לאבחן הדבקה בכרם. תוצאות בדיקות אלו מסוכמות בטבלה מס' 3.

טבלה מס' 3 - בדיקת הדבקה - התפשטות בכרם - חשיפת צמחי מלכודת (וינקה) ובריקות PCR לקביעת הדבקה בפיטופלסמה

מקום	תאריך חשיפה	% צמחים נגועים
אודם	יוני	67
אודם	יולי - אוגוסט	36
אודם	ספטמבר - אוקטובר	50
צרעה	יוני	69
צרעה	יולי	30
בקעת ערד	יוני	80

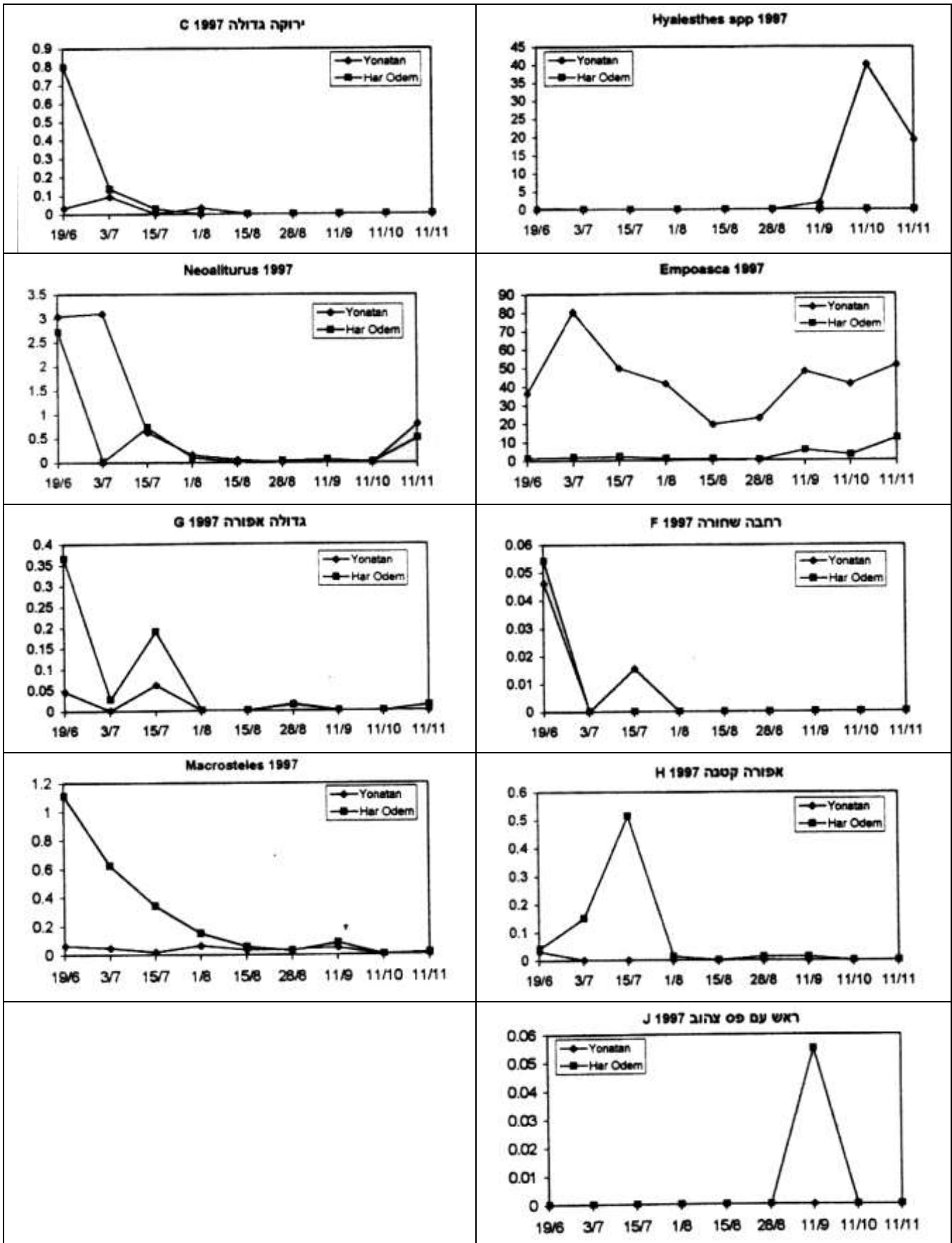
מנתונים אלו נראה שהייתה הדבקה בשטח במשך כל חודשי החשיפה בכל האזורים שנבדקו. נראה שכדאי יהיה להתרכז בשנה הבאה בניסויים באזור הצפון, ולתכנן הצבת צמחי מלכודת החל מתחילת הבלבוב ועד לסתיו.

תוכנית העבודה לשנה הבאה:

לאור הצלחת גידול הציקדות *Orosius* ו-*Hyalesthes*, ייבדק כושר ההעברה של ציקדות אלו. בנוסף, ננסה לגדל גם ציקדות נוספות החשודות כווקטורים.

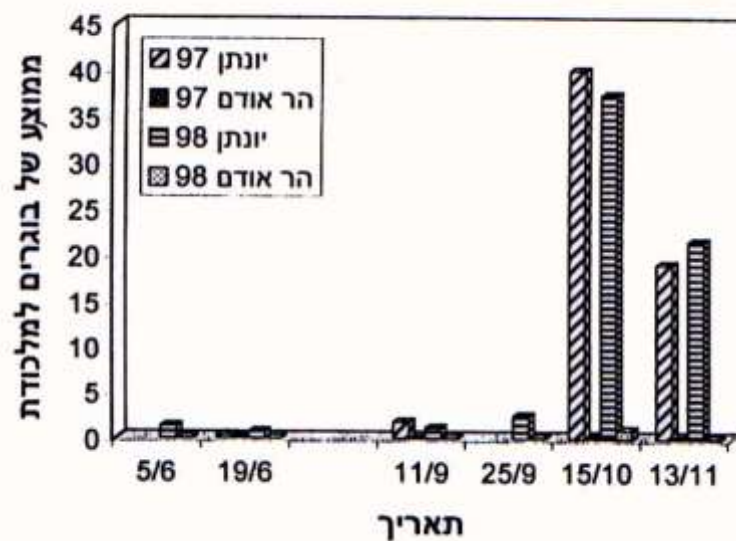
טבלה מס' 1 - מיקום וזמן לכידת ציקדות בכרמים ושדות הגזר

Plant/leafhopper	איזור	תאריך	אנליזת PCR לפיטופלסמה
<i>Neoliturus spp</i>	מרכז ישראל	יוני 1998	+
<i>Neoliturus spp</i>	מרכז הגולן	יוני 1998	+
<i>Neoliturus spp</i>	מרכז הגולן	אוקטובר 1998	+
<i>Macropsis spp</i>	מרכז ישראל	יוני 1998	+
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	מרכז ישראל	יוני 1998	+
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	בית שאן	ספטמבר 1998	+
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	צפון הגולן	ספטמבר 1998	+
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	מרכז הגולן	ספטמבר 1998	+
<i>Orosius spp</i>	צפון הגולן	אוגוסט 1998	+
<i>Orosius spp</i>	מרכז ישראל	אוקטובר 1998	+
<i>Orosius spp</i>	דרום ישראל	יוני 1998	+
<i>Macrosteles spp</i>	צפון הגולן	יולי 1998	+
<i>Macrosteles spp</i>	מרכז הגולן	אוקטובר 1998	+
<i>Circulifer spp</i>	בית שאן	יולי 1998	+
<i>Circulifer spp</i>	צפון הגולן	יולי 1998	+
<i>Circulifer spp</i>	דרום ישראל	יולי 1998	+
<i>Circulifer spp</i>	מרכז ישראל	יוני 1998	+
<i>Euscelidius spp</i>	מרכז ישראל	אוקטובר 1998	+

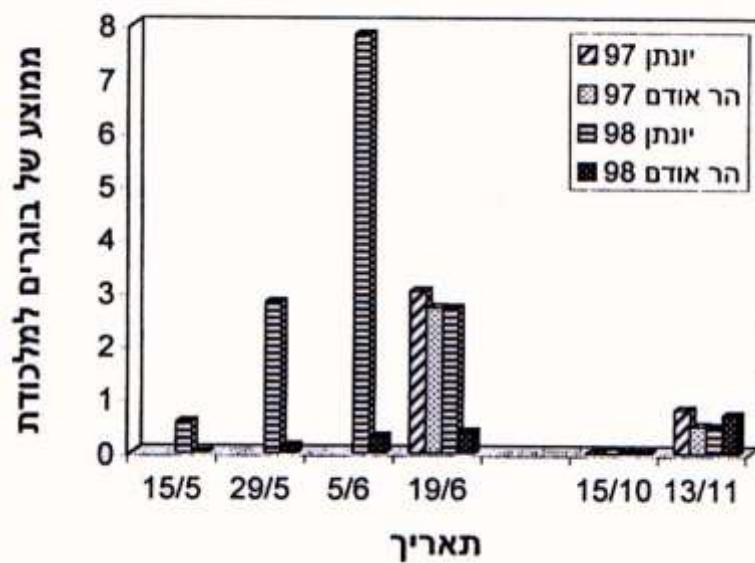


איור מס' 1.

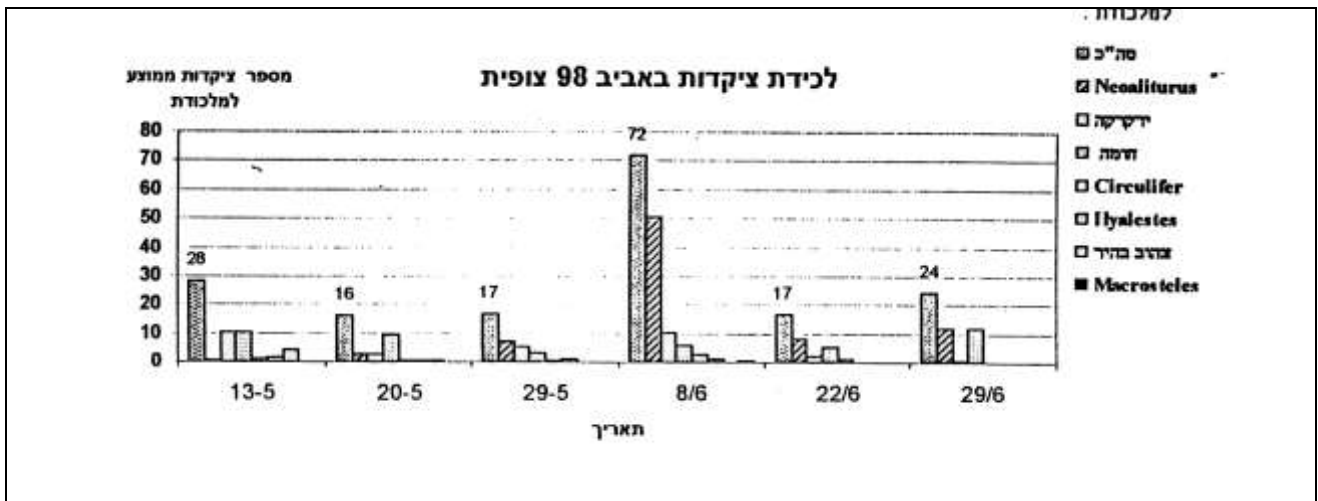
***Hyalesthes* spp. 1997-98**



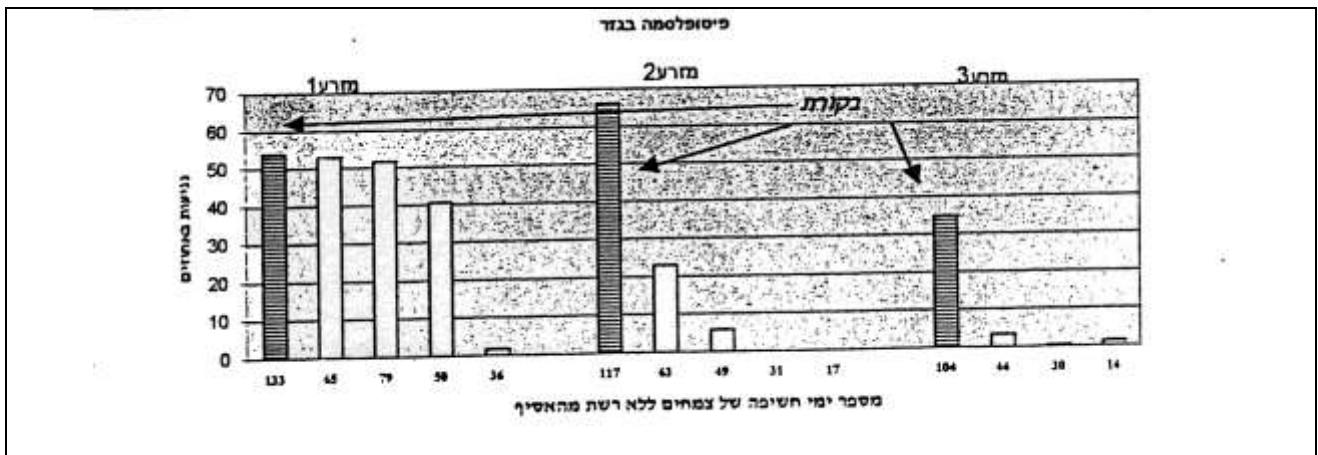
***Neoliturus* spp. 1997-98**



איור מס' 2 - לכידת ציקדות בגולן



איור מס' 3 - לכידת מיני ציקדות על ידי מלכודות דבק צהובות באביב 1998 בצופית. (הערכים הם ממוצע)



איור מס' 4 - השפעת משך זמן ההגנה של צמחים על ידי רשתות נגד חרקים 50 מש על שיעור הצמחים הנגועים במחלת הפיטופלסמה בגזר. צופית, אביב 1998. הניסוי בוצע בשלושה מועדי זריעה. מזרע 1 - 12.2.98, מזרע 2 - 13.3.98, מזרע 3 - 13.4.98