

תוכנית לשתוף פעולה ישראל-סין – דו"ח מסכם

CHINA-ISRAEL NOAH's ARK COOPERATIVE RESEARCH

כותרת: הערכת פרוטוקולי יישום של תכשיר להדברה ביולוגי חדש המבוסס על נמטודה טורפת, כנגד נמטודות טפילות על צמחים

Title: Evaluation of various application protocols for a new biocontrol agent, based on a predatory nematode, against plant-parasitic nematodes

שותפים למחקר בישראל: **חוקרת ראשית** - סיגל בראון מיארה, המחלקה לאנטומולוגיה והיחידות לנמטולוגיה וכימיה, המכון להגנת הצומח, מכון וולקני, בית דגן. חוקר בתקן sigalhor@volcani.agri.gov.il

אורלי אורן, אייל גלנץ, המחלקה לאנטומולוגיה והיחידות לנמטולוגיה וכימיה, המכון להגנת הצומח, מכון וולקני, בית דגן. מהנדסי-מחקר דירוג מומחים. באוגוסט 2021 הצטרפה אורלי לשבתון של בעלה בארה"ב והוחלפה ע"י מר אייל גלנץ.

פטריסיה בוקי, מהנדסת מחקר בתקן, המחלקה לאנטומולוגיה והיחידות לנמטולוגיה וכימיה, המכון להגנת הצומח, מכון וולקני, בית דגן pbucki@volcani.agri.gov.il

הצהרת השותפים למחקר: עקב המגבלות האובייקטיביות בשנתיים האחרונות שנבעו ממגפת וירוס הקורונה (Covid-19), לא התאפשר לצד הישראלי לעמוד בהתחייבויות שיתופי הפעולה עם השותף הסיני (ניסויי-שדה בסין), ומירב המאמצים הושקעו במספר ניסויי-שדה בישראל, וביחידה לנמטולוגיה נבחנו פרמטרים נוספים כגון בחינת כושר הטריפה של נמטודות צמחוניות שונות, השפעות טמפ. הקרקע על השרדותן וכושר טריפתן של הנמטודות הטורפות, והכל בהתאם למגבלות הסגר שהוטלו ע"י הממשלה במהלך השנים בהן התנהלו המחקרים

תקציר מדעי

הצגת הבעיה: נמטודות טפילות על צמחים גורמות לנזק כלכלי בכל העולם, שמערך באבדן יבול בשיעור כ-15%, ומתורגם לכדי כ-100 ביליון דולר בכל שנה. הנמטודה יוצרת העפצים מהסוג *Meloidogyne*, מהווה את הפתוגן שבגיננו נגרם הנזק הכלכלי המשמעותי ביותר בכל העולם. שוק הנמטוצידים בעולם יגיע בשנים הקרובות לכדי 1.64 ביליון דולר, עם עליית CAGR של כ-3.30%. הצרכנים הגדולים ביותר של שוק זה מצויים בצפון אמריקה ובאירופה ומעט יותר באסיה. הספרות הנמטולוגית המקצועית מצביעה על נזקים כלכליים משמעותיים הנגרמים לגידולים חקלאיים בסין ע"י נמטודות טפילות על צמחים. בין השאר נגרמים נזקים בגידולי אורז, הדורים, ובתבואות. המגמה העולמית ההולכת ומתעצמת להפחתת חמרי ההדברה הכימית, מקבלת ביטוי בחיפוש חמרים ושיטות להחלפת חמרי ההדברה הכימית.

קבוצת המחקר ביחידה לנמטולוגיה במנהל המחקר החקלאי מפתחת תכשיר ביולוגי ייחודי, המבוסס על נמטודה טורפת שבודדה באחד ממושב הדרום בישראל, להתמודדות עם נמטודות צמחוניות, ובעיקר עם הנמטודה יוצרת העפצים. **ככל הידוע לנו, אין בשוק הנמטוצידים הביולוגיים תכשיר מסחרי המבוסס על נמטודה טורפת**, עובדה המקלה גם על רישום התכשיר באירופה, ארה"ב וכנראה בסין. בניסוי מעבדה ושדה הראתה הקבוצה שלנמטודה יעילות טריפה גבוהה של שלבי החיים המצויים בקרקע או על פני השורש (זחלים, וביצים) של הנמטודה יוצרת העפצים. כמו כן הקבוצה השכילה לפתח פרוטוקול גידול של הנמטודה הטורפת במצע נוזלי, הישג שאפשר גידול הנמטודה בביוריאקטור בנפחים גדולים של עשרות ליטרים והכנת פורמולציה שעליה יבוסס התכשיר המסחרי.

מטרות המו"פ כפי שהוצגו בתוכנית המקורית. 1. לבחון שיטות יישום שונות, עיתוי יישום ופרמטרים נוספים (סוגי קרקע שונים, גידולים חקלאיים שונים) במטרה ליצב פרוטוקולי יישום לתכשיר המסחרי העתידי בשדה. 2. להרחיב את בחינת כושר הטריפה של הנמטודה הטורפת כנגד סוגי נמטודות צמחוניות שונות (מלבד הנמטודה יוצרת העפצים).

שיטות העבודה בקצרה. א. ניסויי שדה. 1. גידול וריבוי הנמטודה הטורפת במצע נוזלי לפי פרוטוקול שפותח בקבוצתינו. 2. גידול וריבוי הנמטודה הטורפת בביוריאקטורים בנפחים של 10, 30 או-500 ליטרים והכנת התכשיר (כפורמולציה) הקדם-מסחרי. חלקים אילו בוצעו ע"י השותף הגרמני (e-nema בגרמניה) והתכשיר הוטס ארצה בהובלה בקירור. 3. קבלת אישורים להבאת התכשיר ע"י רשויות הגנת הצומח במשרד החקלאות (התו הירוק). 4. איתור שטחים מסחריים אצל חקלאים, המאולחים בנמטודה יוצרת העפצים. 5. העמדת שישה ניסויי שדה בחודשי האביב, קיץ, סתיו ותחילת החורף, שלושה ניסויים בכל שנה, ארבעה במושב מבטחים בצפון הנגב וניסוי אחד בסתיו ותחילת החורף במושב מנוחה באזור השפלה הפנימית הגובל בנגב הצפוני. 6. בחינת עיתויי יישום של התכשיר הקדם-מסחרי וניסוי אחד – בהשוואה להגמעת נמטודות שגדלו במצע נוזלי בבית דגן. 7. בחינת יישום התכשיר במערכת ההשקייה ע"י טפטוף, בהשוואה להגמעה ידנית. 8. בחינת פרמטרי גידול (עומד צמחים), דרגות נגיעות השורשים בעפצי הנמטודה יוצרת העפצים וספירת ביצי הנמטודה הצמחית, כמדדים לכושר הנמטוצידי והשפעה על הגידול החקלאי כתוצאה מחשיפת הגידול לתכשיר הביולוגי.

ב. בחינת כושר טריפה ונמטוצידיות על סוגי נמטודות צמחוניות אחרות. 1. מיצוי שורשי פלפל נגועים (*Pratylenchus capsici*) ומיצוי קרקעות מאולחות בנמטודה *Heterodera schachtii*. 2. פיזור 60 נמטודות צמחוניות על גבי צלחות פטרי (עם שכבת אגר) והמתנה של 24 שעות. 3. חשיפת הנמטודות הצמחוניות לנמטודה הטורפת, בשני מינונים, למשך 24 או 48 שעות (*P. capsici*) או 5 ימים (*H. schachtii*). 4. שטיפת הצלחות, ספירת הנמטודות, והארכת הטריפה ע"י השוואת הנמטודות הצמחוניות החיות בטיפול החשיפה לנמטודה הטורפת בהשוואה למספר הנמטודות שנשטפו מצלחות פטרי שלא נחשפו לנמטודה הטורפת (היקש). 5. הארכת הנמטוצידיות של תכשיר הנמטודה הטורפת בוצע בבית הרשת הממוקם ביחידה לנמטולוגיה. עציצים (IL) שמולאו בקרקע מאולחת בנמטודה הצמחוניית *P. capsici*, נחשפו לתכשיר הנמטודה הטורפת במועדים שונים לפני, בעת ולאחר שתילת הפלפל. חדשיים לאחר השתילה, שרשי הצמחים נשטפו והנמטודות מוצו ונספרו. הארכת הנמטוצידיות התבצעה בהשוואה לצמחי ההיקש שלא נחשפו לנמטודה הטורפת.

ניסוי טריפה דומה נערך בשנה ב' בצלחות פטרי, ובו נחשפו הנמטודות האקטופרזיטיות מהמין *Xiphinema index* לנמטודה הטורפת

ג. בחינת השרדות הנמטודות הטורפות בתכשיר לאורך זמן (30 יום) מעת הגעתו למחלקה במכון

התכשיר המיושם בשדה או הנבחן בניסויי המעבדה, מיוצר בחברת e-nema בגרמניה עפ"י ידע ופיתוח מוקדם של גידול הנמטודות במצע נוזלי, שבוצע בקבוצתנו במכון וולקני. התכשיר מיובא ארצה בקירור ומאוחסן במקרר בטמפ. של 4 מעלות. עם הגעתו, מתבצע מעקב שבועי אחר השרדותן של שלבי החיים השונים של אוכלוסיית הנמטודות הטורפות בתכשיר לתקופה של לפחות 30 יום.

ד. השרדות הנמטודות הטורפות בקרקע בפרקי זמן שונים ובטמפ. קרקע שונות.

הבדיקה נערכה בכוסיות פלסטיק בנפח 50 מ"ל. הנמטודות הטורפות הוכנסו לקרקעות (50 גר' בכל כוסית) והכוסיות נחשפו לטמפ. של 15, 20 ו-25 מעלות, ע"י אחסונם באינקובטורים שכוונו מראש לטמפ. השונות. כעבור 48 שעות, 6 ימים ו 21 ימים, הוצאו חמש כוסיות בכל בדיקה, הקרקע הונחה על משפך ברמן והנמטודות שמוצו נספרו.

ה. בחינת השפעת הטמפרטורה על שיעורי הטריפה בקרקע ובצלחות פטרי

טריפה בצלחות פטרי: בצלחות פטרי קטנות (5 ס"מ קוטר), הונחו 500 זחלים מדרגה 2 (J2) של הנמטודה הצמחית יוצרת העפצים *Meloidogyne javanica* בכל צלחת. למחרת, 500 נמטודות טורפות (*Allodiplogaster sudhausi*) אשר גודלו במצע נוזלי במעבדת המחלקה הוספו לצלחות. הצלחות העברו לאינקובטורים בטמפ. שונות (15, 20 ו-25 מעלות). כעבור 6 ימים, הצלחות נשטפו ב 2.3 מ"ל מים והנמטודות נספרו בעזרת בינוקולר. כל טיפול בוצע בחמש חזרות והניסוי בוצע 3 פעמים.

בכוסיות עם קרקע. בכוסיות בנפח 50 מ"ל מלאות ב-50 גר' קרקע, הוספו כ-700 זחלים J2 של הנמטודה הצמחית *M. javanica* ולמחרת הוספו כ-700 נמטודות טורפות. הכוסיות העברו לאינקובטורים בטמפ. שונות (15, 20 ו-25 מעלות). כעבור 7 ימים, הנמטודות מוצו באמצעות משפך ברמן ונספרו. בכל טיפול היו 3 חזרות והניסוי התבצע 3 פעמים

תוצאות עיקריות לתקופת הדוח הנידון. א. ניסויי שדה: 1. בניסוי שבוצע בחדשי האביב במושב מבטחים, בו בוצעה השוואה בין יישום הנמטודה הטורפת שגודלה במצע נוזלי לבין יישום התכשיר הקדם-מסחרי (פורמולציה), נמצא יתרון משמעותי ליישום התכשיר. ניסוי מקביל בעציצים שנערך בבית הרשת בבית דגן, חיזק מגמה זו, וגם בו יישום התכשיר הוריד משמעותית את דרגות נגיעות השורשים בעפצים שמקורם בנמטודה הצמחונית. בשני הניסויים, לטיפולים בהם התכשיר יושם שלוש פעמים, יתרון מובהק על טיפולי שני מועדי יישום. 2. בניסוי שנערך בתחילת הקיץ במבטחים, בו נבחנו מועדי יישום שונים ויישום משולש (שלושה מועדי יישום) בהשוואה ליישום כפול (שני מועדים בלבד), נמצא יתרון מובהק ליישום המשולש. ההבדל בדרגות נגיעות השורשים בין הטיפולים השונים לבין ההיקש פחתו משמעותית לקראת סוף הגידול. 3. בניסוי שנערך במבטחים לקראת סוף הקיץ וחודשי הסתיו, בו בוצע בפעם הראשונה נסיון ליישם את התכשיר הקדם-מסחרי במערכת ההשקיה דרך הטפטפות, נמצא יתרון ליישום זה על פני יישום בהגמעה ידנית. יתרון זה התבטא הן במדד עומד צמחי הגידול (מלפפון) והן בהפחתת דרגות נגיעות השורשים. 4. בניסוי מקביל שנערך בחודשי הסתיו במושב מנוחה, נמצא יתרון מובהק ומשמעותי ליישום התכשיר דרך מערכת הטפטפות בהשוואה ליישומו בהגמעה. 5. בניסויי שורשי הצמחים הנגועים בנמטודה הצמחית יוצרת העפצים שנערכו בשנה ב' במבטחים, לא נמצאו הבדלים משמעותיים בדרגות הנגיעות בין הטיפולים השונים ובהשוואה להיקש. נצפו דרגות נגיעות גבוהות

במיוחד בשורשי הצמחים הנגועים בנמטודה הצמחית יוצרת העפצים, מכיוון שהחלקה שנבחרה לא עברה חיטוי קרקע מקדים מספר שנים, ואוכלוסיית הנמטודות הצמחיות גדלה למימדים שלא ניתן היה להתמודד איתם אך ורק בתכשיר ביולוגי.

ב. בחינת כושר טריפה ונמטוצידיות על סוגי נמטודות צמחוניות אחרות. 1. כושר הטריפה של הנמטודה הטורפת הוכח גם בנמטודות פרטילנכוס והטרודרה (כ-90% וכ-60%, בהתאמה). 2. צפיפות רבה של נמטודות טורפות בצלחות הבדיקה (בחינת טריפת הטרודרה) גוררת תופעת קניבליזם בין הנמטודות הטורפות, תופעה המשבשת את הליך הבדיקה. 3. בבחינת היעילות הנמטוצידית של התכשיר הקדם-מסחרי של הנמטודה הטורפת להפחית את הנזק הנגרם ע"י הנמטודה הצמחוניית *P. capsici*, נמצא כי רב עיתויי הישומים של התכשיר הורידו משמעותית את מספר הנמטודות הצמחוניות שמוצו משורשי הפלפל הנגועים בהשוואה למספרם בהיקש הבלתי מטופל. 4. לא נמצאה קורלציה בין ההורדה המשמעותית והמובהקת של הנמטודה הצמחית בשורשים לבין מספר הטיפולים ועיתוי הטיפולים, בין אם הם יושמו בהפרש זמן, יחסית, קרוב (10 ימים) לבין באם הם יושמו ברווחי זמן של 20 יום האחד מהשני. 5. לא נמצאו עדות לטריפת הנמטודה הצמחית האקטופרזיטית, *Xphinema index*, ע"י הנמטודה הטורפת.

ג. בחינת השרדות שלבי החיים השונים של הנמטודה הטורפת לאורך 30 יום מהגעת התכשיר למחלקה.

חודש לאחר הגעת הנמטודות, המספר הכללי של הנמטודות, עם כל שלבי החיים, יורד בכ- 50%. הירידה במספר הנמטודות לאחר כשבועיים, והעליה שבאה בעקבותיה, מוסברת בתמותת הנמטודות מהמחזור הראשוני, ולאחריה, עליה כתוצאה מיצירת ביצים והטלתן ע"י הנקבות שהתפתחו במהלך המחזור הראשון.

ד. בחינת השרדות הנמטודות הטורפות בקרקע בפרקי זמן שונים ובטמפ. קרקע שונות. ההשרדות הגבוהה ביותר של הנמטודה הטורפת נצפטה ב 15 וב 20 מעלות, בעיקר ב 15 מעלות שם נרשמה השרדות טובה אחרי 48 שעות ולאחר 6 ימים. ההשרדות פחתה משמעותית לאחר 21 ימים, אבל עדין היתה טובה יותר בטמפ. של 15 מעלות מההשרדות בטמפ. השונות בתום תקופה זו.

ה. בחינת השפעת הטמפרטורה על שיעורי הטריפה בקרקע ובצלחות פטרי. יעילות הטריפה הגבוהה ביותר הושגה בטמפ. של 25 מעלות הן בצלחות הפטרי והן בקרקע. ככל שהטמפ. ירדה, יעילות הטריפה פחתה.

מבוא

מהות הבעיה: נמטודות טפילות על צמחים גורמות לנזק כלכלי בכל העולם, שמערך באבדן יבול בשיעור כ-10%, ומתורגם לכדי כ-125 ביליון דולר בכל שנה (Chitwood 2003, Jones et al., 2013). הנמטודה יוצרת העפצים מהסוג *Meloidogyne*, מהווה את הפתוגן שבגיניו נגרם הנזק הכלכלי המשמעותי ביותר בכל העולם (Jones et al., 2013). שוק הנמטוצידים בעולם יגיע בשנים הקרובות לכדי 1.64 ביליון דולאר, עם עליית CAGR של כ-3.30% (Gaberthuel, M. et al., 2022). הצרכנים הגדולים ביותר של שוק זה מצויים בצפון אמריקה ובאירופה ומעט יותר באסיה. הספרות הנמטולוגית המקצועית מצביעה על נזקים כלכליים משמעותיים הנגרמים לגידולים חקלאיים בסין ע"י נמטודות טפילות על צמחים. בין השאר נגרמים נזקים בגידולי אורז, הדורים, ובתבואות.

המגמה העולמית ההולכת ומתעצמת להפחתת חמרי ההדברה הכימית, מקבלת ביטוי בחיפוש חמרים ושיטות להחלפת חמרי ההדברה הכימית. שוק ההדברה הביולוגית בעולם אמור לגדול בשיעור של 14.7% בחמשת השנים הקרובות (<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/biological-control-market>)

קבוצת המחקר ביחידה לנמטולוגיה במנהל המחקר החקלאי מפתחת תכשיר ביולוגי ייחודי, המבוסס על נמטודה טורפת שבודדה באחד ממושבי הדרום בישראל (Bar Eyal *et al.*, 2008) להתמודדות עם נמטודות צמחוניות, ובעיקר עם הנמטודה יוצרת העפצים. בניסויי מעבדה ושדה הראתה הקבוצה שלנמטודה יעילות טריפה גבוהה של שלבי החיים המצויים בקרקע או על פני השורש (זחלים, וביצים) של הנמטודה יוצרת העפצים. כמו כן הקבוצה השכילה לפתח פרוטוקול גידול של הנמטודה הטורפת במצע נוזלי, הישג שאפשר גידול הנמטודה בביוריאקטור בנפחים גדולים של עשרות ליטרים והכנת פורמולציה שעליה יבוסס התכשיר המסחרי (Spiegel *et al.*, 2022). למרות שבעולם בוצעו מחקרים בסקלה מעבדתית על פוטנציאל ההדברה הביולוגית של נמטודות טורפות (Bilgrami, 2008), **ככל הידוע לנו, אין בשוק הנמטוצידים הביולוגיים תכשיר מסחרי המבוסס על נמטודה טורפת**, עובדה המקלה גם על רישום התכשיר באירופה, ארה"ב וכנראה בסין.

פירוט המשימות העקריות שהוגדרו בתוכנית המקורית שאושרה:

1. בחינת פרוטוקולי יישום של התכשיר המסחרי המיועד, בניסויי שדה בסין, בגידולים שונים. במקביל בישראל – ניסויי שדה לבחינת פרוטוקולי יישום כנגד מספר מיני נמטודות צמחוניות הגורמות נזק כלכלי משמעותי.
2. בחינת כושר הטריפה והיכולת הנמטוצידית של הנמטודה הטורפת כנגד סוגי נמטודות טפילות על צמחים. הנסויים אמורים להיערך בישראל.

פירוט עיקרי הניסויים ותוצאות המחקר

שנה א'

א. **ניסויי שדה בישראל**: כאמור, המגבלות בגין מגפת הקורונה לא אפשרו עריכת ניסויי שדה בשיתוף קבוצת המחקר בסין, ולכן השתדלנו לבצע ניסויי שדה בישראל, תוך התחשבות בהוראות הסגר שנכפו עלינו.

ניסויי שדה במושב מבטחים: נערכו שלושה ניסויי שדה במהלך חודשי האביב והקיץ בתממה מסחרית אצל חקלאי במושב מבטחים בנגב הצפוני.

ניסוי I – נערך במהלך חודשי מרץ-מאי 2020 ובו נבחנו שבעה טיפולים שונים בהשוואה להיקש. כל טיפול בוצע בחמש חזרות, מלבד ההיקש – 7 חזרות. גידול – מלפפון. נמטודה צמחית – *Meloidogyne javanica* הטיפולים שבוצעו:

1. הגמעת נמטודות טורפות שגדלו במצע נוזלי במעבדה לנמטולוגיה (וולקני), 10 ימים לפני השתילה

(10-), וביום השתילה (0).

2. הגמעת נמטודות טורפות שגדלו במצע נוזלי במעבדה לנמטולוגיה (וולקני), 10 ימים לפני השתילה

(10-), ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

3. הגמעת נמטודות טורפות שגדלו במצע נוזלי במעבדה לנמטולוגיה (וולקני), ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

4. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, 10 ימים לפני השתילה, (10-), וביום השתילה (0).

5. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, 10 ימים לפני השתילה, (10-), ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

6. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

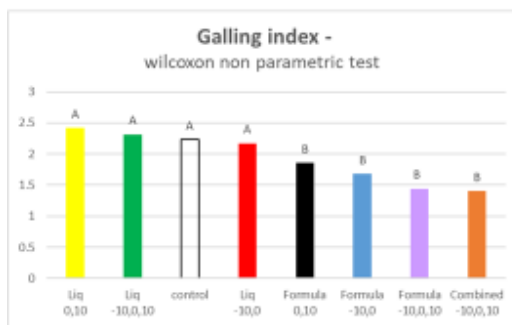
7. הרכב טיפול מס. 5 בתוספת בוגרות מגידול נוזלי בישראל (הפורמולציה אינה כוללת נקבות אשר סוננו טרם הכנת הפורמולציה והמשלוח לישראל).

כעבור שישה שבועות הוצעו הצמחים והארכה דרגת נגיעות הצמחים בנמטודה הצמחית (galling index),

בסקאלה המקובלת של 0 – 5 (0 – שורש נקי ללא עפצים; 5 – שורש המחופה כולו בעפצים).



3-5.20 field exp. summary (Mivtahim, n. Negev)



3.0	1.1	2.3	0.6	0.6	1.1
3.7	2.6	1.9	1.1	2.3	1.5
2.7	2.1	2.6	1.3	1.4	
4.6	1.7	3.9	0.8	1.1	1.4
4.1	3.8	2.9	0.8	1.0	2.5
4.3	2.8	1.9	0.3	1.8	1.7
1.9	2.9	1.0	0.4	1.2	1.0

- Treatments from liquid culture didn't differ from control
- Treatment with formula reduced galling index significantly
- Combined treatment included formula and adults from liquid didn't differ from others

תוצאות :

1. דרגות הנגיעות הממוצעות מכל טיפולי המצע הנוזלי לא היו שונות משמעותית מדרגות הנגיעות בהיקש.

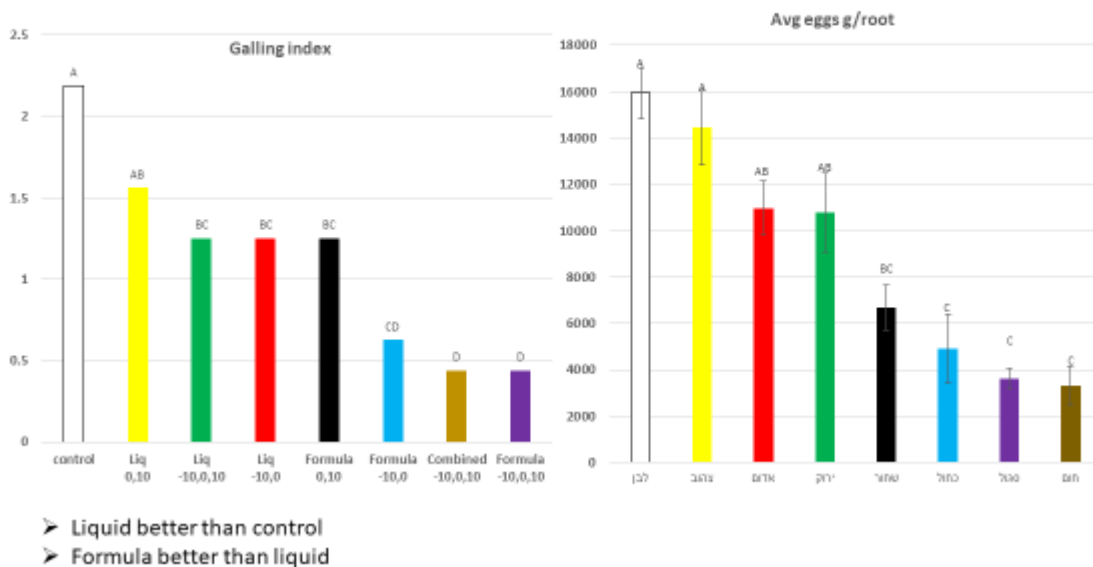
2. ממוצעי דרגות הנגיעות מכל טיפולי הפורמולציה היו נמוכים משמעותית מדרגות הנגיעות של ההיקש.

3. תוספת נקבות מהגידול הנוזלי לטיפול הפורמולציה (טיפול מס. 7), לא הביאה לירידה משמעותית

4. לטיפולים בהם התכשיר יושם שלוש פעמים, יתרון מובהק על טיפולי שני מועדי יישום.

ניסוי עציצים (1 ליטר) מקביל וזהה במתכונתו לניסוי השדה, נערך בבית הצמיחה ביחידה לנמטולוגיה (וולקני). גידול – עגבניה. נמטודה צמחית – *M. javanica*. עשרה חזרות לכל טיפול.

Matching pot experiment, ARO screen house



תוצאות: גם בניסוי זה, בבחינת דרגות הנגיעות ומספר ביצי הנמטודה הצמחית לגר' שורש, נמצא יתרון מובהק לטיפולי הפורמולציה על פני טיפול ההיקש ובהשוואה לטיפולי ההגמעה של הנמטודה הטורפת מגידול נוזלי (שלכשעצמו היה טוב יותר בהשוואה להיקש). כמו כן, לטיפולים בהם התכשיר יושם שלוש פעמים, יתרון מובהק על טיפולי שני מועדי יישום.

ניסוי II – נערך במהלך חודשי אפריל-יוני 2020 ובו נבחנו שלושה טיפולים שונים בהשוואה להיקש. כל טיפול בוצע בחמש חזרות. גידול – מלפפון. נמטודה צמחית – *Meloidogyne javanica*

הטיפולים שבוצעו:

טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, 10 ימים לפני השתילה, (10-), וביום השתילה (0).

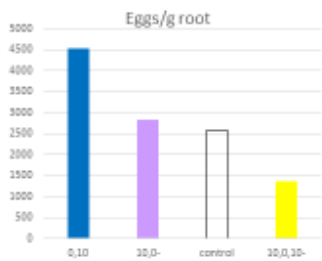
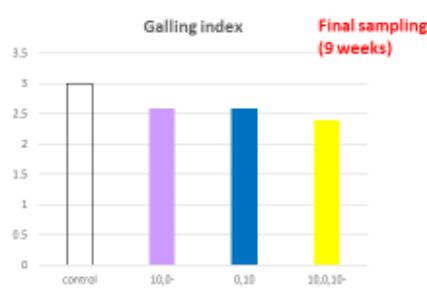
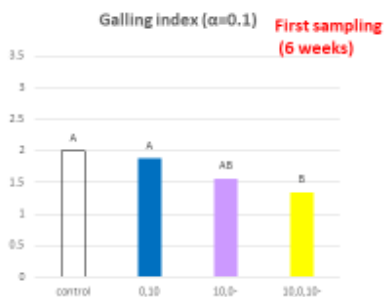
1. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, 10 ימים לפני השתילה, (10-), ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

2. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

בניסוי זה בוצעו שני דגימות, כעבור שישה וכעבור תשעה שבועות. הוצעו הצמחים והארכה דרגת נגיעות הצמחים בנמטודה הצמחית (galling index) בסקאלה המקובלת של 0 – 5 – שורש נקי ללא עפצים ; 5 – שורש המחופה כולו בעפצים). בדגימה הראשונה (6 שבועות) הופקו ביצי הנמטודה הצמחית מהשורשים ונספרו.



4-6.20 field exp. summary (Mivtahim)



white	control
purple	-10,0
Blue	0,10
Yellow	-10,0,10

12.4.20	10-	20000/plant
22.4.20	T0	8750/plant
3.5.20	10+	~9000/plant
18.5.20	25	20000/plant

- Low amount of older formula on day 0 and +10
- Advantage to 3 applications
- After 9 weeks differences decreased

תוצאות

1. יתרון משמעותי לטיפול הפורמולציה בקדם-שתילה וביום השתילה, וכן בטיפול המשולב, שהיה הבולט ביותר, בהשוואה להיקש.
2. בדגימה השנייה, ההבדלים בין הטיפולים היו פחות משמעותיים בהשוואה להיקש.

ניסוי III – נערך במהלך חודשי אוקטובר-נובמבר 2020 ובו נבחנו שני טיפולים בהשוואה להיקש. כל טיפול בוצע בשמונה חזרות. גידול – מלפפון. נמטודה צמחית – *Meloidogyne javanica*

הטיפולים שבוצעו :

1. הגמעת נמטודות טורפות, ידנית, עם תמיסת התכשיר הקדם-מסחר, 10 ימים לפני השתילה (-) 10, ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

2. טיפול בפורמולציה קדם-מסחרית שהובאה מחברת e-nema, שותפנו למו"פ בגרמניה, באמצעות מערכת ההשקיה, דרך מערכת הטפטוף, 10 ימים לפני השתילה, (-10), ביום השתילה (0), ו 10 ימים לאחר השתילה (10).

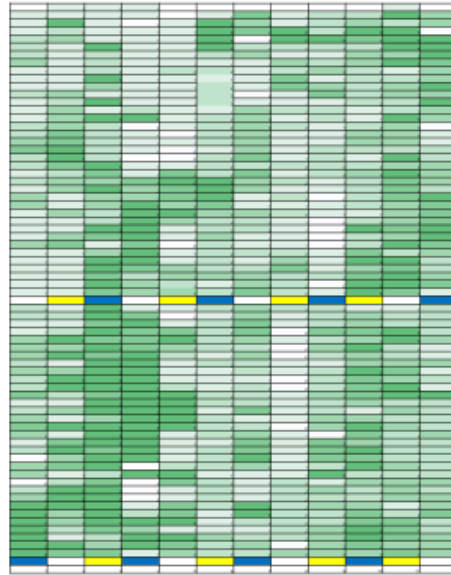
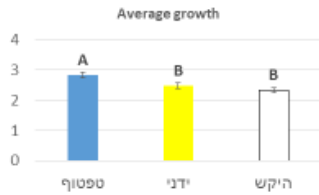
כשבועיים וכחודש לאחר השתילה, בוצעו הארכות ויזואלית של הגידול, בסקאלה 1-5 (1- צמחים בלתי מפותחים ; 5- צמחים מאד מפותחים). כמו כן, כחודש לאחר השתילה, הוצעו עשרה צמחים מכל חזרה ובוצעה הארכת דרגות נגיעות העפצים בשימוש בסקאלת נגיעות 0-5.

Growth evaluation in Mivtahim exp.
(exp. starting date: 2.10.20)

13.10 – planting
26.10 – growth evaluation
1 – bright green, small deteriorated plant
5 – dark green, big developed plant

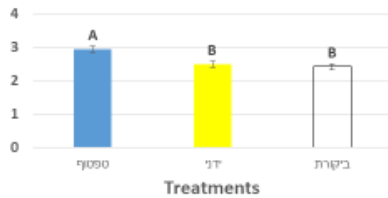
White – Control, non-treated
Yellow – drench
Blue – drip irrigation

Each line within the plot is divided to two treatments

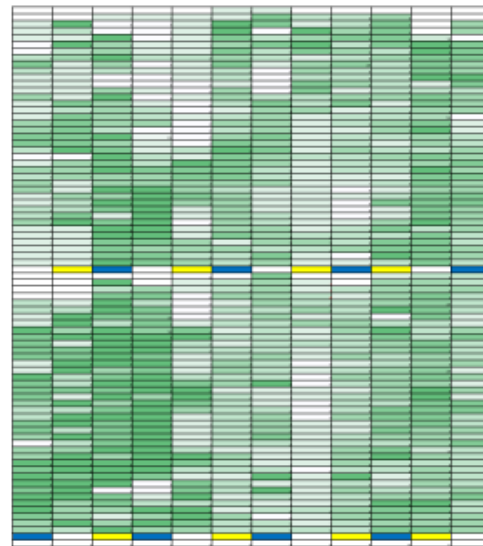


5.11.20 – second growth evaluation
(Mivtahim)

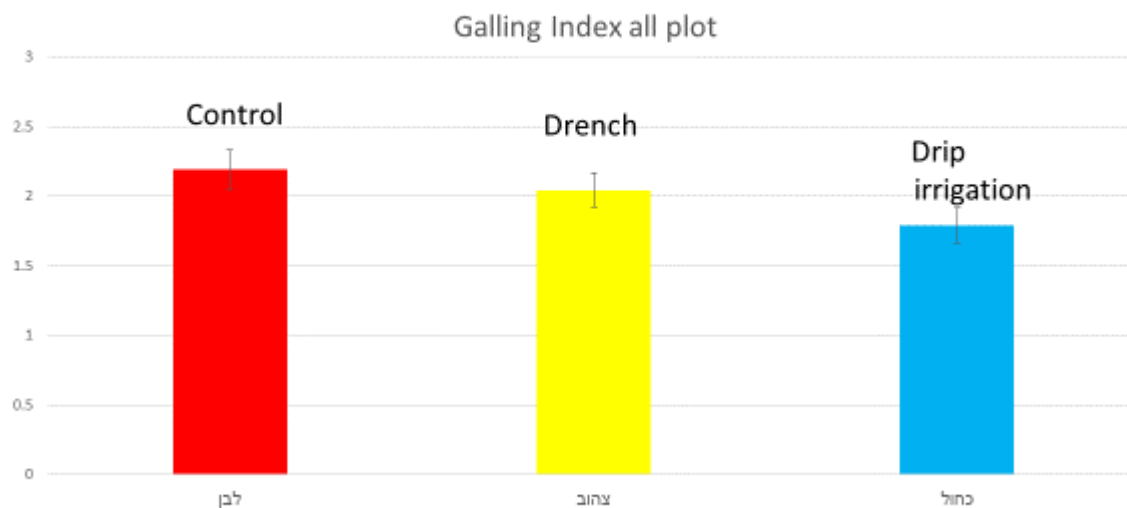
5.11 – Average growth



White – Control, non-treated
Yellow – drench
Blue – drip irrigation



12.11.20 – first sampling for galling index evaluation, one month after planting (Mivtahim)



תוצאות

1. הצמחים שטופלו בהשקייה בטפטוף היו בעלי עומד צמחי גבוהה יותר בהשוואה להיקש ולטפול ההגמעה הידני, בשני הארכות הצימוח כעבור שבועיים וכעבור חודש.
2. דרגת נגיעות העפצים הממוצעת של הצמחים המטופלים דרך מערכת ההשקייה בטפטוף היתה נמוכה יותר, משמעותית, מזו של הטיפול הידני וההיקש.

ניסוי שדה במושב מנוחה (צפון הנגב)

הניסוי בוצע בחודשים אוקטובר – נובמבר 2020 במתכונת דומה לניסוי המקביל במושב מבטחים. נערכו שני טיפולי יישום של הנמטודה הטורפת, האחת ביישום ידני והשניה ביישום דרך מערכת ההשקייה בטפטוף. בכל טיפול יושמו כ- 20,000 – 30,000 נמטודות טורפות ליחידת צמח. היקש- נשתלו 180 צמחים. בהגמעה – 120 צמחים ובטפול דרך מערכת ההשקייה – 180 צמחים. נמטודה צמחית – *M. javanica*. גידול – מלפפון.

18.10.2020 – טיפול יישום ראשון, קדם-שתילה

25.10. 2020 – שתילה

26.10. 2020 – טיפול יישום שני

5.11. 2020 – טיפול יישום שלישי

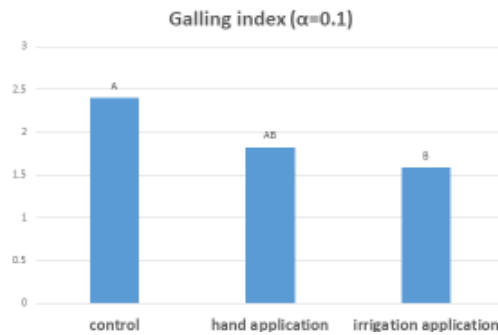
18.11.2020 – טיפול יישום רביעי

13.12.20 – דיגום ראשון. נלקחו 30 צמחים מההיקש ומיישום בהשקייה בטפטוף, ו- 20 צמחים מיישום ידני בהגמעה. נקבעו דרגות נגיעות השורשים בעפצי הנמטודה הצמחית בסקאלה 0 – 5.

Menucha (n. Negev)
field exp. First sampling



Meloidogyne javanica; 20-30k *Allo.sud./* plant
Control (180 pls.); Drench (120 pls.); Drip irrigation (180 pls)
18.10.2020 – first, pre-plant treatment
25.10. 2020 – planting
26.10. 2020 - 2nd treatment
5.11. 2020 – 3rd treatment
18.11.2020 – 4th treatment
13.12.20 – harvest. Thirty plants from control & D.i. and 20 plants – drench.



תוצאות

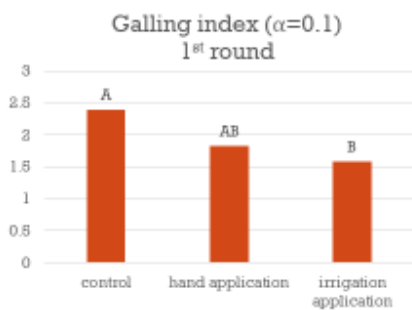
ממוצע דרגות הנגיעות בשורשי הצמחים בעפצי הנמטודה הצמחית היה נמוך משמעותית ביישום הנמטודה הטורפת בהשקיה בטפטוף בהשוואה להיקש ואף נמוך מעט בהשוואה ליישום הידני בהגמעה.

M.JAVANICA – CUCUMBER – MENUCHA
10.2020-1.2021

ללא טיפול	
הגמעה ידנית	
טפטוף	



טיפול לפני השילה	18.10.20
יישום	26.10.20
יישום	5.11.20
יישום	18.11.20
הזמנה ראשונית	23.12.20
הזמנה שנייה	17.1.21



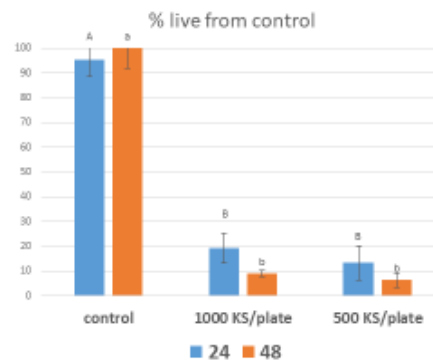
ב. בחינת כושר הטריפה של מיני נמטודות צמחוניות ע"י הנמטודה הטורפת ובחינה נמטוצידית ראשונית בתנאי מעבדה (עציצים, בית רשת)

1. הנמטודה הצמחית *Pratylenchus*

I. בחינת כושר הטריפה: הניסוי בוצע על גבי צלחות פטרי 5 ס"מ. הנמטודה הצמחית בודדה ע"י מיצוי שורשי פלפל נגועים. שישים נמטודות צמחוניות הונחו על גבי שכבת אגר-מים דקה בצלחת הפטרי. כעבור 24 שעות נחשפו הנמטודות הצמחיות ל-500 או ל-1000 נמטודות טורפות. טיפולי הטריפה בוצעו בשמונה חזרות מכל טיפול והשווה לשישה חזרות היקש ללא הנמטודה הטורפת. כעבור 24 או 48 שעות חשיפה, ב-25 מעלות, מוצו הנמטודות מהצלחות ונספרו ושיעור הנמטודות הצמחוניות החיות השווה לאילו שבהיקש.

Predation in plate of *Pratylenchus* by *Allodiplogaster sudhausi* (A.s.)

- Nematodes were collected from roots extraction after pots exp.
- ~Sixty juveniles were placed on each 5 cm water-agar plates for 24 hours
- Six plates used as control; on 8 plates 1000 A.s nematodes were applied and on 8 other plates 500 A.s. nematodes were applied.
- After 24h or 48h in 25°C nematodes were rinsed from the plates and counted.



תוצאות

1. אחוזי הטריפה של הנמטודה הצמחוניות ע"י הנמטודה הטורפת היו גבוהים ביותר והתבטאו בירידות של 80-90% במספר הנמטודות החיות ששרדו בהשוואה להיקש.
2. הטריפה המשמעותית הגבוהה התבצעה במהלך 24 השעות הראשונות בשני מינוני הנמטודות הטורפות.
3. במינון הגבוהה של הנמטודה הטורפת (1000 נמטודות) שיעור הטריפה היה נמוך מעט מזה שבמינון הנמוך (500 נמטודות), עובדה המוסברת ע"י אפשרות לקניבליזם מוגבר של הנמטודות הטורפות בשל שיעור גבוהה וצפיפות רבה במינון הגבוה.

II. בחינת הכושר הנמטוצידי בתנאי מעבדה (בית רשת)

הניסוי בוצע בבית הרשת של היחידה לנמטולוגיה במינהל המחקר, עם קרקע מאולחת טבעית בנמטודה *Pratylenchus* שהובאה ממגדל פלפלים בערבה. גידול – פלפל. בוצעו שמונה טיפולי יישום שונים של הפורמולציה שהובאה מגרמניה, בהשוואה להיקש המאולח בנמטודה הצמחית ושאינו מטופל בנמטודה הטורפת. מטרת הניסוי המרכב היתה לבחון יישומי צמדי טיפול בעיתויים קרובים של 10 ימים בהשוואה לצמדים בעיתויי יישום רחוקים של 20 יום.

חודשיים לאחר השתילה, הוצאו הצמחים, שורשיהם נשטפו, והנמטודות מוצו מתוך השורשים ונספרו.

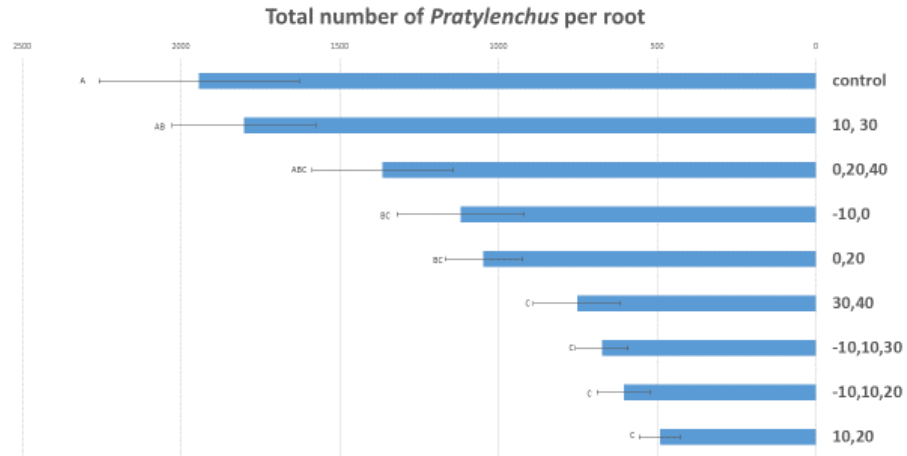
תוצאות

בשבעה מתוך תשעת טיפולי היישום שנבחנו, היתה ירידה מובהקת משמעותית במספר הנמטודות הצמחוניות שמוצו משורשי הצמחים.

1. בשניים, מתוך שלושת טיפולי היישום המשולבים (3 עיתויי יישום), נמצאה ירידה מובהקת מאד במספר הנמטודות הצמחוניות שמוצו משורשי הצמחים.
2. לא נמצאה עדות משמעותית לירידה במספר הנמטודות הצמחוניות שמוצו משורשי הצמחים באחת מאפשרויות צמדי עיתויי היישום השונים, קרי, עדיפות למרווחי יישום של 10 ימים על פני מרווחי יישום של 20 יום.

Screen house exp., *Pratylenchus*, pepper (harvest after two month)

Treatment				Mean per root	Std. error
control	A			1942.9167	315.49487
10, 30	A	B		1801.25	226.83794
0,20,40	A	B	C	1364.4444	222.74829
-10,0		B	C	1119	199.73149
0,20		B	C	1047.25	120.61328
30,40			C	752.5	136.31713
-10,10,30			C	674	82.854625
-10,10,20			C	605	83.788756
10,20			C	491	64.281499



2. הנמטודה הצמחית *Heterodera schachtii*

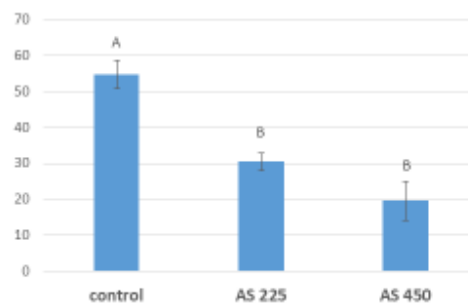
בחינת כושר הטריפה: הניסוי בוצע על גבי צלחות פטרי 5 ס"מ. הנמטודה הצמחית בודדה ע"י מיצוי קרקע מאולחת בנמטודה *H. schachtii*. שישים נמטודות צמחוניות הונחו על גבי שכבת אגר-מים דקה בצלחת הפטרי. כעבור 24 שעות נחשפו הנמטודות הצמחיות ל 225 או ל 450 נמטודות טורפות. טיפולי הטריפה בוצעו בעשרה חזרות מכל טיפול והושו והשוו לעשרה חזרות היקש ללא הנמטודה הטורפת. כעבור חמישה ימי חשיפה, ב-25 מעלות, מוצו הנמטודות מהצלחות ונספרו ושיעור הנמטודות הצמחוניות החיות השווה לאילו שבהיקש.

Predation in plate of *Heterodera schachtii* (H.s.) by *Allodiplogaster sudhausi* (A.s.)

- *H. schachtii* juveniles were extracted from soil by Baerman funnels
- Sixty juveniles were placed on each 5 cm water-agar plates for 24 hours
- Ten plates used as control; on 10 plates 450 A.s nematodes were applied and on 8 other plates, 225 A.s. nematodes were applied.
- After 5 days in 25°C nematodes were rinsed from the plates and counted.
- A.s. count was much lower then expected. Cannibalism occurred. Nematodes penetrated to agar.



Average count of *Heterodera schachtii* in plate after 5 days in the presence of *A. sudhausi*



תוצאות

1. חלה ירידה משמעותית במספר הנמטודות הצמחוניות לאחר חשיפתן לנמטודות הטורפות בשיעורים של 50-65%, בשני מינוני היישום של האחרונות, בהשוואה להיקש.
2. נצפתה ירידה גם במספר הנמטודות הטורפות, עובדה שעשויה להצביע על קניבליזם באוכלוסיית הנמטודות הטורפות
3. נצפתה תופעה של 'היעלמות' הנמטודות הצמחוניות בתוך שכבת האגר.

שנה ב'

א. ניסויי שדה

1. ניסוי ביישוב כרמירה שבאזור החוף הדרומי (על גבול הנגב הצפוני). הניסוי נערך בחלקה מאולחת בנמטודה היישובה *Heterodera schachtii*. גידול: כרוב. תקופה: נובמבר 2020 עד פברואר 2021.
היישום בוצע בטפטוף של 20,000 נמטודות לצמח. אורך הצנרת בסה"כ – 40 מטר. שתי שורות התפרסו על פני חלקת הניסוי. במילים אחרות: 80 מטר צינור הונחו לאורך השורות. בכל מטר צינור- 5 טפטפות. בסה"כ 400 טפטפות. לכל החלקה הוקצו 8000000 נמטודות.
מבנה הניסוי בחלקה: מימין בחלקה הוקצעו 16 מטרים שחולקו לשישה טיפולים, כל טיפול באורך 2.6 מטרים. בצד השמאלי – אורך השורה היה 24 מטרים המחולקים לשבעה טיפולים: ארבעה טיפולי היקש ושלושה טיפולים בתוספת הנמטודה הטורפת. אורכו של כל טיפול: 3.4 מטרים. המרווח בין הטפטפות היה 20 ס"מ והשתילה בוצעה ביזיגזג מסביב כל הטפטפות.

Field trial in Carmira Plant – cabbage; Nematode - *Heterodera schachtii* 11.20-2.2021

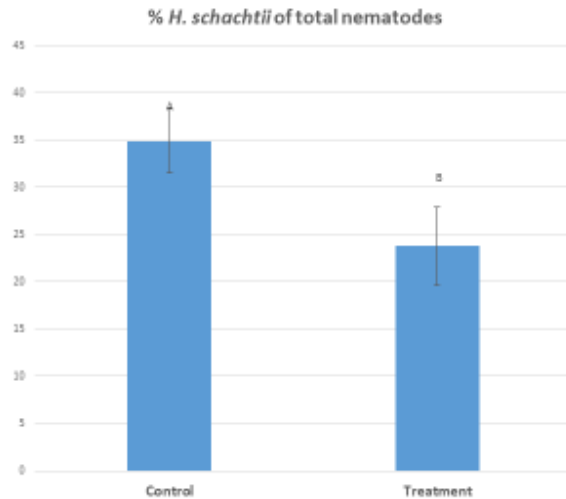
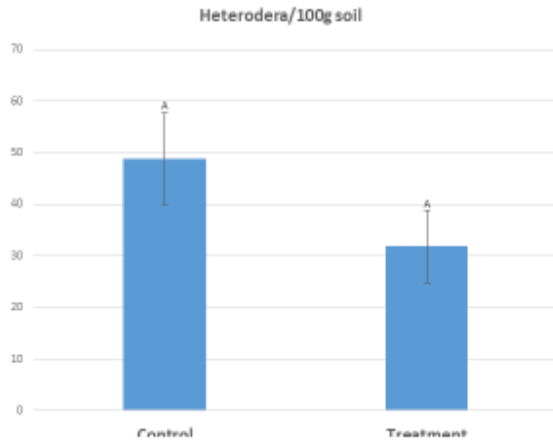
העמדת הניסוי בחלקה

	ישום לפני שתילה	5.11.20
	שתלת כרוב ויישום	18.11.20
	יישום +14	2.12.20
	הוצאה ראשונית	23.12.20
	הוצאת שורשים מחלקה 2	7.2.21

ב			
ביקורת 1			
טיפול 1			
ביקורת 2			
טיפול 2			
ביקורת 3			
טיפול 3			
ביקורת 4			
			טיפול 3
			ביקורת 3
			טיפול 2
			ביקורת 2
			טיפול 1
			ביקורת 1

Field trial in Carmira 2nd record 7.2
 Plant – cabbage; Nematode - *Heterodera schachtii*
 11.20-2.2021

- Roots + soil were collected from field, 5 plants for each repeat
- 100 g of soil were put in Baerman funnel for 24 h
- *Heterodera* j2, males and other free-living nematodes were counted.



תוצאות: בהוצאה הראשונה היו קשיים בבידוד הנמטודות מהקרקע ולכן לא נספרו. בהוצאה השניה בודדו בהצלחה הנמטודות כולן מהקרקע ומהשורשים ונעשתה הבחנה בין הנמטודה הצמחית לשאר הנטודות החופשיות בקרקע, והן כולן נספרו. למרות השונות הגדולה בתוצאות המדגמים השונים, נצפתה מגמת ירידה ניכרת בשיעור הנמטודה הצמחית בטפולי הנמטודה הטורפת בהשוואה להיקש.

2. ניסוי שדה במבטחים בחודשים יוני-יולי. גידול: מלפפון. נמטודה: הנמטודה יוצרת העפצים, *Meloidogyne javanica*

Mivtachim village: cucumbers, *M. javanica*

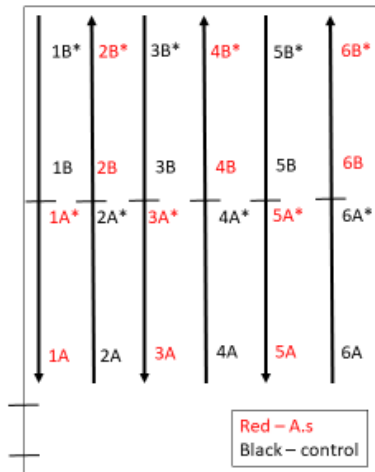
(aim: to test new ideas/methods/population dynamics)

- 'Standard' running: control vs. treatment
- New application method using motoric sprayer
- Collecting samples from drippers to count vital nematodes – see video photo →
- Collecting soil samples at different time to follow A.s. nematodes survival after applications
- New dose calculation: instead of 60,000/plant we use 180 million/dunam (ca. 0.25 acre)



מטרת הניסוי היתה לבחון רעיונות חדשים בתחום יישום הנמטודה הטורפת: העלאת שיעור הנמטודות הטורפות מ 60,000 נמטודות לצמח לכדי 180 מיליון נמטודות בדונם. כמו כן התחלנו ביישום הנמטודות דרך מערכת הטפטוף. הזרמת הנמטודות בוצעה באמצעות מרסס גב מוטורי. מעקב אחר מספר הנמטודות המופרשות מכל טפטפת בוצע ע"י הטמנת כוסיות פלסטיק מתחת למספר טפטפות לאורך השורה, איסוף הנוזל היוצא מהטפטפת, וספירת הנמטודות. טיפולים: יישום הנמטודה הטורפת בהשוואה לצמחי היקש שלא טופלו. תרשים הניסוי, פרטיו הטכניים ומועדי היישום מובאים בתרשים הבא:

Field exp. - Mivtachim



- The exp. area is 0.25 dunam (planted with cucumbers).
- Each row is divided to treating with A.s and control.
- The A.s. applications are calculated as 180 million nem/dunam.
- According to this calculation, 22,500,000 A.s. nematodes were applied.

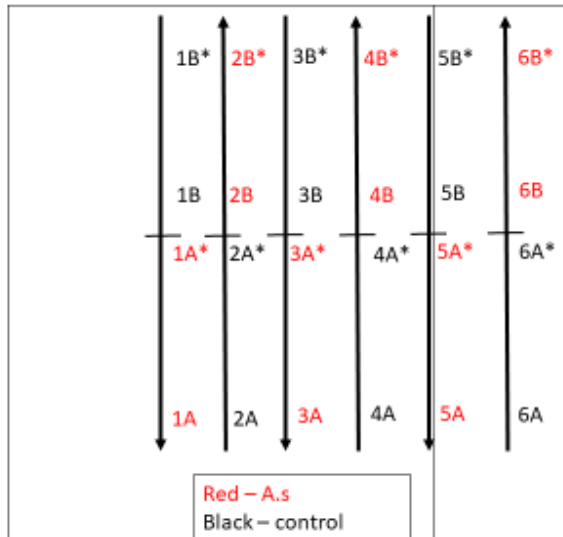
Time-table:

- 1st treatment – 28.6.21 (with the formulation of 6.6.21).
- Planting – 7.7.21
- 2nd treatment – 7.7.21 (with the formulation of 6.6.21).
- 3rd treatment – expected to be on 27.7.21 (with the formulation of 25.7.21).

מתכונת איסוף הנוזל (מים) המכילים את הנמטודות הטורפות המיושמות במערכת הטפטוף לצורך מעקב אחר כמות הנמטודות היוצאות מהטפטפות בעת הזרמתן במערכת



להלן תוצאות ספירת הנמטודות שנאספו מהטפטפות לאורך השורות:



	dauers	juveniles	eggs	D+
2B	56	25	224	81
2B*	311	125	53	436
3A	0	0	0	0
3A*	170	70	755	240
4B	315	105	520	420
4B*	230	440	120	670
5A	340	370	445	710
5A*	230	170	295	400
6B	565	395	105	960
6B*	123	33	0	156

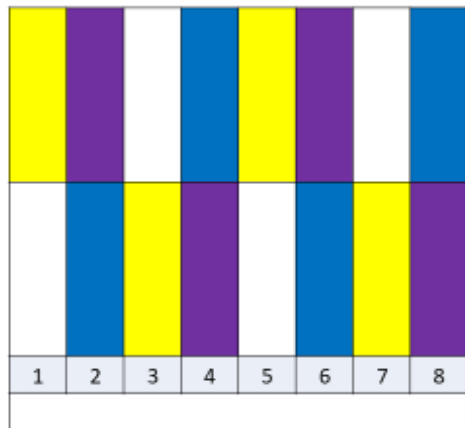
Blocked pipe

- Nematodes are vital - juveniles, dauers and eggs
- No consistency within beginning/end of row

תוצאות : לא נצפו הבדלים בין הטפולים בדרגת נגיעות השורשים (נתונים לא מוצגים). ההשערה, נכון לעיתוי הנוכחי, היתה שבעיית השקיה עודפת גרמה להצפות אשר גרמו לשיבושים במהלך הניסוי.

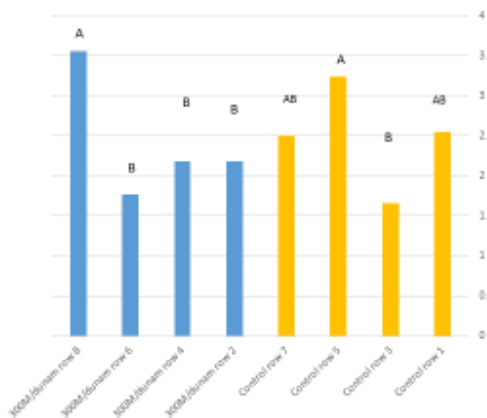
לכן הוחלט לחזור על הניסוי במתכונת דומה אלא שנוסף טיפול שבו הוגדלה כמות הנמטודות . תרשים החלקה ובחינה ראשונה של דרגות הנגיעות וניתוח התוצאות בכל שורה, מובא בתרשים הבא :

Mivtahim



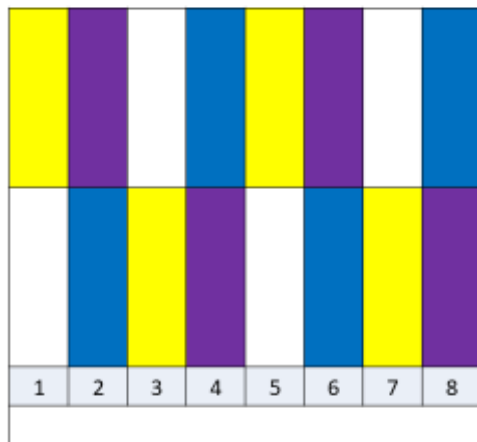
Blue – low dose of A.s (60M/D)
 Yellow – medium dose of A.s (180M/D)
 Purple - high dose of A.s (300M/D)
 White – control (untreated)

Galling index 26.10.21



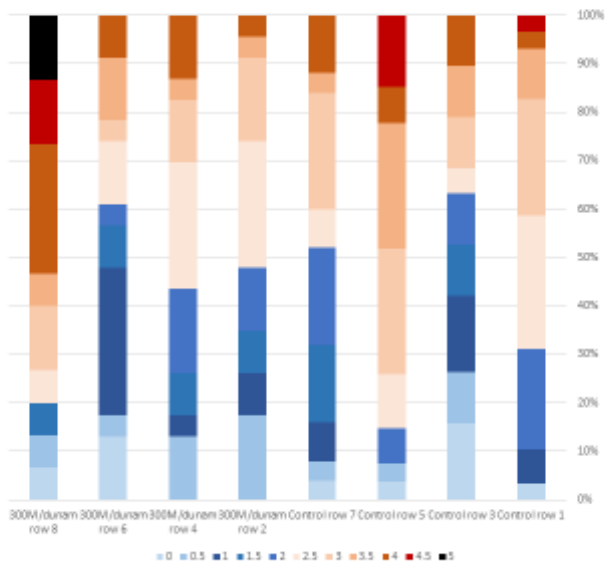
בחינה מעמיקה של מפת הנגיעות כפי שהיא פרושה על פני השטח מובאת להלן:

Mivtahim



Blue – low dose of A.s (60M/D)
 Yellow – medium dose of A.s (180M/D)
 Purple - high dose of A.s (300M/D)
 White – control (untreated)

Distribution by level of contamination



Mivtahim

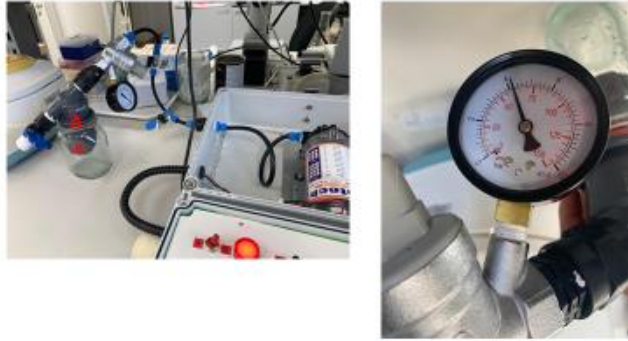


- Extremely high initial contamination level.
- With no background of soil disinfection or nematicide in the past seasons.

לסיכום: תמונת הנגיעות ושיעור הנגיעות הגבוהה בנמטודה הצמחית, יוצרת העפצים, הינה ביטוי לתוצאה הברורה של חוסר בטפולי קרקע במהלך השנים האחרונות בחמרים המבצעים חיטוי מקדים. המדביר הביולוגי אינו מסוגל להתמודד עם רמות הדבקה גבוהות אלו! לכן הוחלט להמשיך ולבצע ניסויי שדה בשנה הקרובה אך ורק בשטחים אשר עברו חיטוי קרקע מוקדם, או לחלופין, שהוכח כי דרגת נגיעות השורשים נמוכה ואינה עוברת (בממוצע) את דרגת הנגיעות 1.5-2.0 (בסקלה 0 – 5.0).

הערה: קודם ליישום התכשיר דרך הטפטפות, התבצעה בחינת עמידות הנמטודות הטורפות ללחצים שונים המופעלים במהלך היישום על הנמטודות הנישאות במערכת.

A.s. - initiated from formula, survived at high pressure



Nematodes' solution from formula survived and remained vital, under 4 bar pressure, for 20 minutes

הבחינה העלתה כי אפילו בלחץ של 4 בר, למשך 20 דקות, הנמטודות שהעברו במערכת נשארו חיות ופעילות.

ב. התכשיר (פורמולציה) ומעקב אחר איכותו לאחר הגעתו ארצה

התכשיר (פורמולציה) הבנוי מחומר אינרטי הכולא את הנמטודות הטורפות, מיוצר בחברת e-nema הממוקמת ליד העיר קיל שבגרמניה. רבוי הנמטודות במצע נוזלי מתבצע בפרמנטורים בגדלים שונים, 10, 30 ו 500 ליטרים. נוזל הפורמולציה עם הנמטודות עובר סירכוז וייבוש, לפי פרוטוקול מסחרי שפותח ע"י החברה בגרמניה. לפני העברתו לישראל, המוצר מוכנס למיכלים המצוידים בקרחומים ובמערכת למעקב אחר תנודתיות הטמפ. במשלוח. הטמפרטורה נשמרת לכל אורך המשלוח (נסיעות, טיסה לארץ ובדיקות הרשויות בנתב"ג) בסביבות 5 מעלות. גידול הנמטודות בפרמנטורים אורך כ 10 ימים, והליך הפיכת הנוזל לתכשיר הסופי עם הנמטודות נמשך יומיים.

פרמנטורים בגדלים שונים לריבוי הנמטודות הטפילות. תמונה עליונה: פרמנטור קטן (30 ליטר) המשמש את הפרויקט כיום.

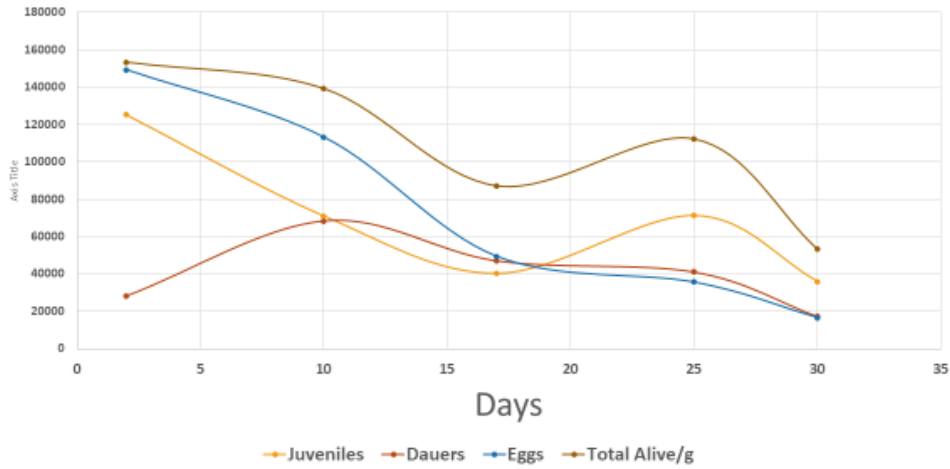
בתמונה התחתונה: פרמנטור גדול במיוחד (3000 ליטר) לשימוש מסחרי עתידי.
הפרמנטורים ממוקמים בחברת e-nema בגרמניה (ליד העיר קיל).



לאחר הגעת התכשיר למעבדה ואחסונו במקרר (4 מעלות), מתבצע מעקב שבועי אחר כמות שלבי החיים השונים של הנמטודות השורדות בתכשיר.

הבדיקה הינה רוטינית ומתבצעת עבור כל משלוח בנפרד. בחרתי להציג את אחד המעקבים של משלוח שהגיע במהלך חודש מאי 2021. יש לציין שרמת הנמטודות הכללית הולכת ומשתפרת, ונכון למועד כתיבת שורות אלה,

Formula (6.6.21) shelf life at 4°C

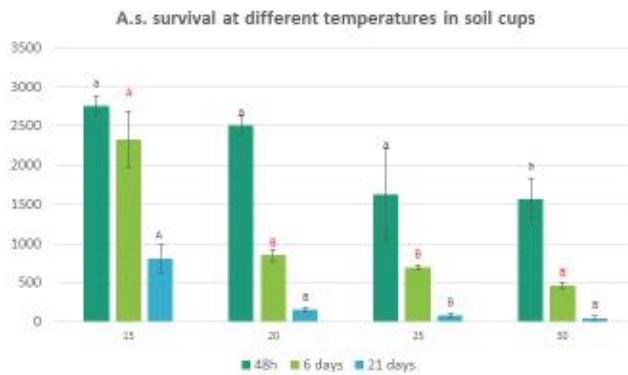


מתוך התרשים הנ"ל ניתן לראות שלאחר חודש המספר הכללי של הנמטודות, עם כל שלבי החיים, יורד בכ – 50%. הירידה במספר הנמטודות לאחר כשבועיים, והעליה שבאה בעקבותיה, מוסברת בתמותת הנמטודות מהמחזור הראשוני, ולאחריה, עליה כתוצאה מיצירת ביצים והטלתן ע"י הנקבות שהתפתחו במהלך המחזור הראשון.

ג. בחינת השרדות הנמטודות הטורפות בקרקע בפרקי זמן שונים ובטמפ. קרקע שונות

נמטודות טורפות, בעיקר בוגרות (כ- 3000) הוכנסו לקרקע שאוחסנה בכוסיות פלסטיק (כ- 50 גרם קרקע), והכוסיות אוחסנו באינקובטורים שכולו מראש ל 15, 20, 25 ו-30 מעלות. כעבור 48 שעות, 6 ימים ו-21 יום, הוצאו בכל מדידה, חמישה כוסיות, הנמטודות הופרדו מהקרקע באמצעות משפך ברמן ונספרו.

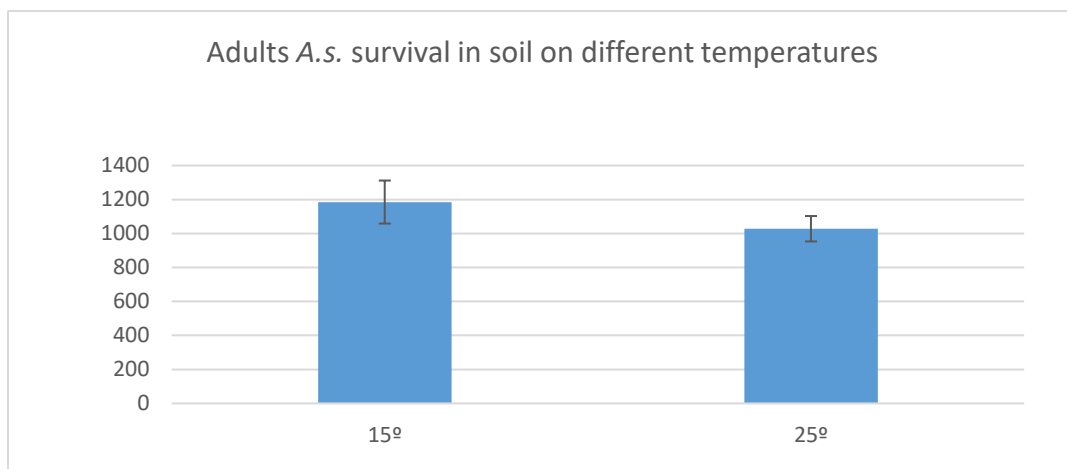
Survival in soil cups at different temperatures

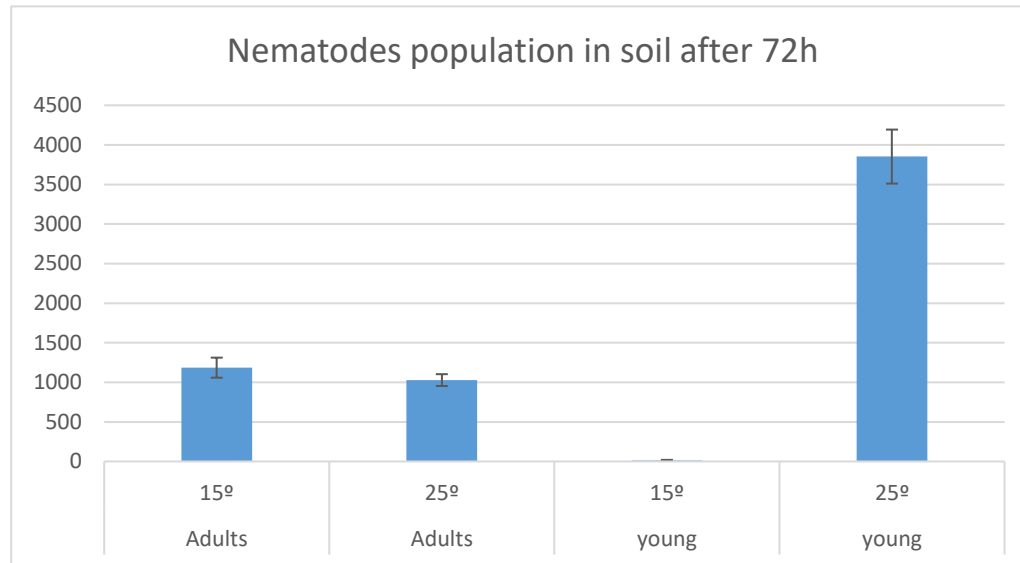


תוצאות:

ההשרדות הגבוהה ביותר של הנמטודה הטורפת נצפטה ב 15 וב 20 מעלות, בעיקר ב 15 מעלות שם נרשמה השרדות טובה אחרי 48 שעות ולאחר 6 ימים. ההשרדות פחתה משמעותית לאחר 21 ימים, אבל עדין היתה טובה יותר בטמפ. של 15 מעלות מההשרדות בטמפ. השונות בתום תקופה זו.

בניסוי חוזר שנערך ב- 4.3.2021, בוצע סינון הגידול הנוזלי שבוצע באמצע פברואר, ש.ז., ונאספו בעיקר הנמטודות הבוגרות. 2.5 מ"ל מהתסנין שהכיל נמטודות הוספו ל 450 מ"ל מים. בכל מנה נספרו כ 1000 נמטודות. אלו הוספו לכוסיות חמרה בדומה לניסוי הקודם והעברו לאינקובטורים בטמפ. 15 ו 25 מעלות. לאחר 72 שעות הדוגמאות הונחו על משפך ברמן למשך 24 שעות, והנמטודות שנאספו נספרו. הספירות בוצעו על מ"ל אחד מתוך 10 מ"ל נוזל שנאסף מהמשפך.





תוצאות: לאחר 72 שעות, לא נמצא הבדל משמעותי בשרידות הבוגרות בקרקע בטמפ. שנבדקו. ב-25 מעלות היתה הטלה ובקיעה המונית של ביצים, בעוד שב 15 מעלות הביצים שהוטלו לא בקעו.

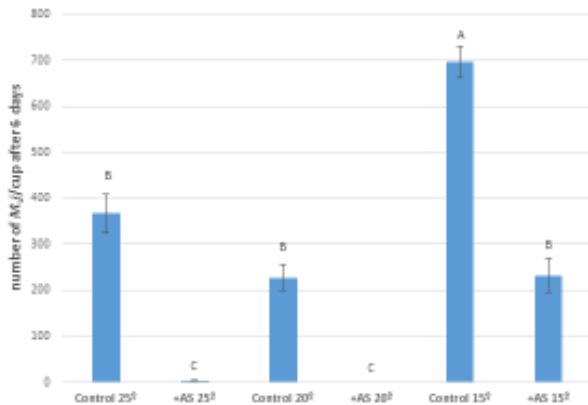
ד. בחינת השפעת הטמפרטורה על שיעורי הטריפה בקרקע ובצלחות פטרי

טריפה בצלחות פטרי: בצלחות פטרי קטנות (5 ס"מ קוטר), הונחו 500 זחלים מדרגה 2 (J2) של הנמטודה הצמחית יוצרת העפצים *Meloidogyne javanica* בכל צלחת. למחרת, 500 נמטודות טורפות (*Allodiplogaster sudhausi*) אשר גודלו במצע נוזלי במעבדת המחלקה הוספו לצלחות. הצלחות העברו לאינקובטורים בטמפ. שונות (15, 20 ו-25 מעלות). כעבור 6 ימים, הצלחות נשטפו ב 2.3 מ"ל מים והנמטודות נספרו בעזרת בינוקולר. כל טיפול בוצע בחמש חזרות והניסוי בוצע 3 פעמים.

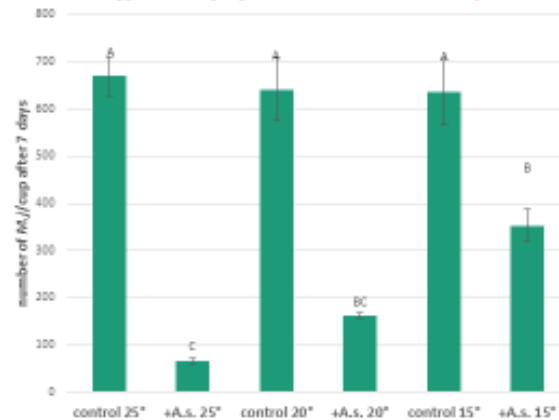
טריפה בכוסיות עם קרקע. בכוסיות בנפח 50 מ"ל מלאות ב-50 גר' קרקע, הוספו כ-700 זחלים J2 של הנמטודה הצמחית *M. javanica* ולמחרת הוספו כ-700 נמטודות טורפות. הכוסיות העברו לאינקובטורים בטמפ. שונות (15, 20 ו-25 מעלות). כעבור 7 ימים, הנמטודות מוצו באמצעות משפך ברמן ונספרו. בכל טיפול היו 3 חזרות והניסוי התבצע 3 פעמים.

The effect of temperature on predation efficiency on plates/in soil

The effect of temperature on predation efficiency of *M.Javanica* on agar plates



The effect of temperature on predation efficiency of *M.Javanica* in soil cups



תוצאות: יעילות הטריפה הגבוהה ביותר הושגה בטמפ. של 25 מעלות הן בצלחות הפטרי והן בקרקע. ככל שהטמפ. ירדה, יעילות הטריפה פחתה.

ה. בחינת שיעור הטריפה של הנמטודה הצמחית, האקטופרזיטית, *Xiphinema index* ע"י הנמטודה

הטורפת *A. sudhausi*

הנמטודה הצמחית, האקטופרזיטית, *X. index*, בודדה מסביבת בית השורשים של עץ התאנה. דגימת קרקע הונחה על משפך ברמן, והנמטודה נאספה מתחתית המשפך. כ- 20 נמטודות הונחו על צלחת פטרי עם שכבת מים-אגר דקה (5 ס"מ) למשך 24 שעות. עשר צלחות היוו מערכת היקש ולעשר צלחות נוספות הוספו כ-500 נמטודות טורפות, *A. sudhausi*. **תוצאות:** בתצפיות שבוצעו במהלך 96 שעות, לא נצפתה כל טריפה של הנמטודות הצמחיות ע"י הנמטודה הטורפת. חלק מהנמטודות הצמחיות נצפו 'מתחפרות' בתוך שכבת האגר. ניסוי זה בוצע בשלוש חזרות, ובכולן לא נצפתה כל טריפה של הנמטודה הצמחית ע"י הנמטודה הטורפת.

Predation in plate of *Xiphinema* by *Allodiplogaster sudhausi* (A.s.)

- *Xiphinema* juveniles and adults were extracted from fig soil by baerman funnels
- ~20 nematodes were applied on each 5 cm water agar plates for 24 hours
- 10 plates used as control, on 10 plates 500 A.s nematodes were applied.
- *Xiphinema* nematodes curled into the agar
- No predation observed



דיון ומסקנות

מניסויי השדה שנערכו בשנים 2020 ו-2021 ומבדיקות פרמטרים נוספים שנבחנו במעבדה, אנו מסיקים מספר מסקנות:

1. בחלקות אשר טופלו טיפול מוקדם לחיטוי הקרקע כנגד נמטודות, או לחלופין, שדרגת האילוח נמוכה, ניתן לקבל הפחתה בנגיעות הצמחים בעזרת התכשיר הביולוגי. ברם, בחלקות בהן דרגת האילוח גבוהה, התכשיר הביולוגי אינו מסוגל להתמודד עם הבעיה ללא טיפול מוקדם בחיטוי קרקע.
2. יישום הנמטודה הטורפת במינון של כ-20-30 אלף נמטודות לצמח, לפחות שלוש פעמים בתחילת הגידול, מניב הדברה סבירה עד טובה. ברם, נחוצים עוד ניסויים לבחינת רמות גבוהות יותר של נמטודות טורפות, ויתכן ביישומים תכופים יותר, להשגת הדברה מיטבית.
3. יישום הנמטודה הטורפת דרך מערכת ההשקיה בטפטוף אפשרי ומניב תוצאות טובות.
4. אחסון התכשיר בקרור הכרחי לשימור הנמטודות לתקופה ארוכה. למרות ששיעור הנמטודות בתכשיר פוחת בכ-50% במהלך החודש הראשון, הרי ששיפור בייצור התכשיר וכתוצאה מכך העלאת מספר הנמטודות לגרי תכשיר עשוי לפצות על אבדן הנמטודות במהלך הזמן.
5. טמפ. הקרקע המיטבית הדרושה לקבלת שיעורי טריפה גבוהים הינה בסביבות 20-25 מעלות. נתון זה חשוב בעיקר לצורך הכוונת העיתוי המתאים ליישום הנמטודות הטורפות בחממה במהלך היום: עיתוי היישום המומלץ יכוון לשעות הבוקר המוקדמות בקיץ (בחממה), שכן בשעות הצהריים טמפ. הקרקע עלולה להיות גבוהה מדי ובעלת השפעה פוגענית.
6. הנמטודה הטורפת מתמודדת היטב עם זחלי הנמטודות היישובות (*Meloidogyne & Heterodera*) כמו גם עם שלבי החיים של הנמטודה האקטו-אנדו פרוזיטית מהסוג *Pratylenchus*. ברם, הנמטודה הטורפת אינה

מסוגלת לטרוף את הנמטודה האקטופרזיטית מהסוג *Xiphinema*, יתכן משום שנמטודה זו ארוכה מאד יחסית לנמטודות צמחיות אחרות (1-1.3 מ"מ) (Whitehead, 1998).

רשימת ספרות

1. Bar-Eyal, M., *et al.* 2008. Laboratory studies on the biocontrol potential of the predatory nematode *Koerneria sudhausi* (Nematoda: Diplogastridae). *Nematology* 10, 633-637
2. Bilgrami, A. L. 2008. Biological control potentials of predatory nematodes. In: A. Ciancio and K. G. Mukerji (eds.), *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*, 3–28. © 2008 Springer.
3. Chitwood, D.J. 2003. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture – Agriculture Research Service. *Pest Management Science* 59, 748-753.
4. Gaberthuel, M. *et al.* 2022. What does it take to develop a nematicide today and for the future? In : *Integrated Nematode Management : State-of-the-art and visions for the future* (R. A. Sikora *et al*, eds.). CAB International. Chapter 61. Pp 439-445.
5. Jones J.T. *et al.* 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
6. Spiegel, Y. *et al.*, 2022. Critical terms during development and commercialization of microbial agents for the control of plant-parasitic nematodes. In: *Integrated Nematode Management : State-of-the-art and visions for the future* (R. A. Sikora *et al*, eds.). CAB International. Chapter 62. Pp 446-453.
7. Whitehead, A. 1998. *Plant Nematode Control*. CABI UK. Pages 448.