משרד החקלאות - דו"ח מסכם סופי (שלוש שנים) לתוכניות מחקר
לקרן המדען הראשי .

קוד זיהוי	א. נושא המחקר (בעברית)
643-0063-13	ממשק כולל להדברת מחלות וירוס בחסה.

ב. צוות החוקרים

	שם משפחה	שם פרטי
חוקר ראשי	משה	אלבז
חוקרים משניים		
1	סופר	מירון
2	צרור	לאה
3	לביוש	שרה
4	דומברובסקי	אביב
5	גמליאל	אברהם
6	צפריר	גדי
7		

ג. כללי

מוסד מחקר של החוקר הראשי

מו"פ דרום – החברה הכלכלית לפיתוח אשכול

סוג הדו"ח	תאריכים					
	תקופת המחקר עבורה מוגש הדו"ח				תאריך משלוח הדו"ח למקורות המימון	
	התחלה		סיום			
	שנה	חודש	שנה	חודש	שנה	חודש
מסכם	13 /	01	13 /	12	14 /	06

ד. מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח

שם מקור המימון	קוד מקור מימון	סכום שאושר למחקר בשנת תיקצוב הדו"ח
		בשקלים
קרן מדען ראשי		150,000

ה. תקציר שים לב - על התקציר להיכתב בעברית לפי סעיף ה' שבהנחיות לכתיבת דיווחים

הצגת הבעיה: גידול חסה בארץ מבוסס על אגרוטכניקה אינטנסיבית ומחזור גידול קצר. מגבלות בשטחי עיבוד אינן מאפשרות תחלופה בין שטחים וכתוצאה מכך הצמחים חשופים לפגיעה ע"י מחוללי מחלות שונים. **מחלת העורקים המעובים** מופיעה בעיקר בעונת החורף וגורמת להבהרה והגדלה בולטת של "העורקים" בעלים, עיוות העלים, וניוון הצמחים. מטרת המחקר: פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת וירוס העורקים המעובים של החסה. שיטות העבודה: עבודת המחקר שילבה, ניסויים מבוקרים, וניסויי שדה. במהלך הניסויים עשינו שימוש בשיטות ניתוח וזיהוי איכותיות וכמותיות של הווקטור והנגיף המעורבים במחלה ושיטות דיגום לזיהוי תסמיני המחלה והערכת היבול. תוצאות עיקריות: **בשנה הראשונה** נלמדה שכיחות ועוצמת המחלה בחלקות רבות בחבל הבשור תוך שימוש במגוון שיטות זיהוי ונמצא כי המינים הדומיננטיים האחראים למחלה הם הנגיף *Mirafiori Lettuce Big Vein Virus* והפטרייה הירודה *Olpidium virulentus* מכלל המינים המעורבים/חשודים המדווחים בספרות. **בשנה השנייה** למדנו בניסויי שדה כי מחטאי הקרקע כלורופיקרין ומתאם סודיום במינונים שונים פעלו ביעילות להפחתת רמת הווקטור בקרקע, וכפועל יוצא הופחת אכלוס הצמחים בנגיף, והופחתו תסמיני המחלה. בעקבות הטיפול בתכשירי החיטוי הנ"ל הייתה עלייה במשקל הקולס הממוצע ובמספר הקולסים הראויים לשיווק. מבחן זנים מסחריים חשף שני זנים רומיים מתוך הזנים שנבחנו לרגישות למחלה, בהם קצב הופעת התסמינים היה נמוך בצורה משמעותית בהשוואה לשאר הזנים. **בשנה השלישית** למדנו בניסוי מבוקר את יעילותם של קוטלי פטריות שונים בהפחתת רמת הפטרייה בקרקע, וכפועל יוצא הפחתת אכלוס הצמחים בנגיף, הפחתת תסמיני המחלה והעלאת כמות ואיכות היבול. בניסוי זה כל חומר יושם עם וללא חיפוי הנוף באגריל. בעקבות החיפוי חלה עליה בטמפרטורה בסביבת הגידול, קצב הגידול הואץ ובעקבותיהם, התקבלה הפחתה

בתסמיני המחלה בכל הטיפולים. **מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות**: א. יש לכייל את השימוש בקוטלי הפטריות שנמצאו יעילים עם וללא חיפוי ליישום בשדה. ב. יש לסרוק זנים נוספים לרגישות למחלה. ג. עלינו ללמוד את הדינאמיקה של המחלה בגידול רציף במשך כל השנה במטרה לתזמן את הכלים השונים באופן הנותן מענה בהפחתת המחלה וגם כדאי כלכלית למגדל.

ו. אישורים

הנני מאשר שקראתי את ההנחיות להגשת דיווחים לקרן המדען הראשי והדו"ח המצ"ב מוגש לפיהן

חוקר ראשי	מנהל המחלקה	מנהל המכון (פקולטה)	אמרכלות (רשות המחקר)	רשות המחקר	תאריך (שנה) (חודש) (יום)
	ליאורקטרי מנהל מו"פ דרום חתימה:				2.6.14

דוח שנה שלישית (מסכם) מתוך שלוש לתכנית מדען מספר 643-0063-13

ממשק כולל להדברת מחלות וירוס בחסה

Comprehensive management program for the control of virus disease in Lettuce

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

משה אלבז, מירון סופר	מו"פ דרום, חוות הבשור.
לאה צרור, שרה לביוש	מחלות צמחים, מינהל המחקר החקלאי, גילת.
אביב דומברובסקי	מחלות צמחים, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן.
אברהם גמליאל	המכון להנדסה חקלאית, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן.
גדי צפריר	ממ"ר גידולי עלים וכרוביים, שה"מ.

Moshe Elbaz, Myron Sofer; Negev R&D Network, Habsor farm, 85400. E-mail: elbazmoshe@mopdarom.org.il

Leah Tsror, Sara Lebiush, ARO, Plant Pathology, Gilat Research Center, M.P. Negev 85280. E-mail: tsror@volcani.agri.gov.il ; sara@volcani.agri.gov.il

Aviv Dombrovsky, ARO, Plant Pathology, Volcani Center, Bet Dagan, 50250 Israel. E-mail:aviv@volcani.agri.gov.il

Abraham Gamliel, ARO, Agricultural Engineering, Volcani Center, Bet Dagan, 50250 Israel. E-mail: agamliel@volcani.agri.gov.il

Gadi Tsafrir, The Agricultural Extension Service.

תקציר

הצגת הבעיה: גידול חסה בארץ מבוסס על אגרוטכניקה אינטנסיבית ומחזור גידול קצר. מגבלות בשטחי עיבוד אינן מאפשרות תחלופה בין שטחים וכתוצאה מכך הצמחים חשופים לפגיעה ע"י מחוללי מחלות שונים. **מחלת העורקים המעובים** מופיעה בעיקר בעונת החורף וגורמת להבהרה והגדלה בולטת של "העורקים" בעלים, עיוות העלים, ונינוס הצמחים. מטרת המחקר: פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת וירוס העורקים המעובים של החסה. שיטות העבודה: עבודת המחקר שילבה ניסויים מבוקרים, וניסויי שדה. במהלך הניסויים עשינו שימוש בשיטות ניתוח וזיהוי איכותיות וכמותיות של הווקטור והנגיף המעורבים במחלה ושיטות דיגום לזיהוי תסמיני המחלה והערכת היבול. תוצאות עיקריות: **בשנה הראשונה** נלמדה שכיחות ועוצמת המחלה בחלקות רבות בחבל הבשור תוך שימוש במגוון שיטות זיהוי ונמצא כי המינים הדומיננטיים האחראים למחלה הם הנגיף *Mirafiori Lettuce Big Vein Virus* והפטרייה הירודה *Olpidium virulentus* מכלל המינים המעורבים/חשודים המדווחים בספרות. **בשנה השנייה** למדנו בניסויי שדה כי מחטאי הקרקע כלורופיקרין ומתאם סודיום במינונים שונים פעלו ביעילות להפחתת רמת הווקטור בקרקע, וכפועל יוצא הופחת אכלוס הצמחים בנגיף, והופחתו תסמיני המחלה. בעקבות הטיפול בתכשירי החיטוי הנ"ל הייתה עלייה במשקל הקולס הממוצע ובמספר הקולסים הראויים לשיווק. מבחן זנים מסחריים חשף שני זנים רומיים מתוך הזנים שנבחנו לרגישות למחלה, בהם

קצב הופעת התסמינים היה נמוך בצורה משמעותית בהשוואה לשאר הזנים. **בשנה השלישית** למדנו בניסוי מבוקר את יעילותם של קוטלי פטריות שונים בהפחתת רמת הפטרייה בקרקע, וכפועל יוצא הפחתת אכלוס הצמחים בנגיף, הפחתת תסמיני המחלה והעלאת כמות ואיכות היבול. בניסוי זה כל חומר יושם עם וללא חיפוי הנוף באגריל. בעקבות החיפוי חלה עליה בטמפרטורה בסביבת הגידול, קצב הגידול הואץ ובעקבותיהם, התקבלה הפחתה בתסמיני המחלה בכל הטיפולים. מסקנות והמלצות לגבי יישום התוצאות: א. יש לכייל את השימוש בקוטלי הפטריות שנמצאו יעילים עם וללא חיפוי ליישום בשדה. ב. יש לסרוק זנים נוספים לרגישות למחלה. ג. עלינו ללמוד את הדינאמיקה של המחלה בגידול רציף במשך כל השנה במטרה לתזמן את הכלים השונים באופן הנותן מענה בהפחתת המחלה וגם כדאי כלכלית למגדל.

הצהרת החוקר הראשי:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. **הניסויים אינם מהווים המלצות לחקלאים**.

חתימת החוקר _____ תאריך 2.6.14

רשימת פרסומים בתקופת הדוח:

הרצאות/פוסטרים:

1. פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת העורקים המעובים של החסה ,פוסטרים במסגרת יום פתוח, מו"פ דרום 2012, 2013.

2. .מחלת "העורקים המעובים בחסה": השוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה , הרצאה במסגרת מפגש מגדלי עלים ותבלינים, עין הבשור, דצמבר 2012.

3.מחלת "העורקים המעובים בחסה": השוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה, הכנס השנתי של החברה למחלות צמחים, מנהל המחקר החקלאי, פברואר 2013.

4. מחלת "העורקים המעובים בחסה": מבחן זנים והשוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה, מפגש מגדלים עלים באזור חבל הבשור, וועדה חקלאית אשכול, יוני 2013.

מאמרים בעברית:

5. Sofer, M., Elbaz,M., Harel, D., Tsohar, D., Tsror, L., Leviush, S., Erlich, O., Dombrovsky, A., Gamliel, A., Tsafrir, G., Farchi, A., Arad, O.(2012) Comprehensive management program for the control of virus disease in Lettuce. *Yevul-Si, Maariv* 69:56.

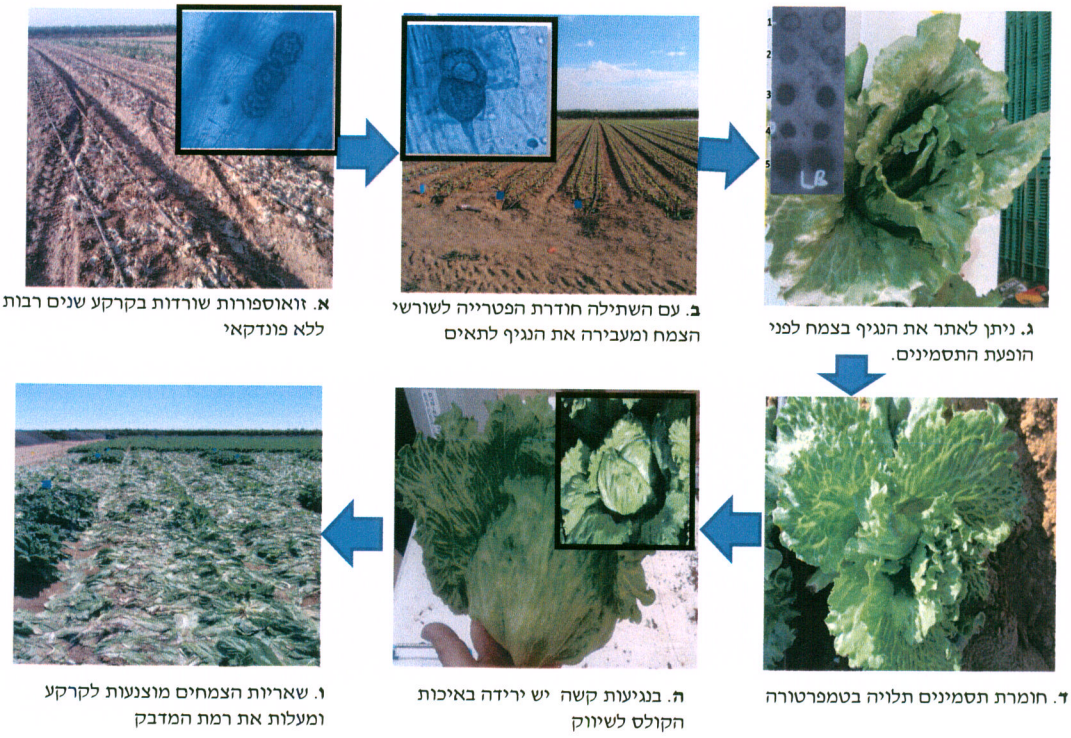
6. Elbaz, M., Lofthous, M., Sofer, M., Tsohar, D., Ganot, L.,Linars, H., Avitan, A., Tsror, L., Leviush, S., Dombrovsky, A.,Lachman,O., Farchi, A., Arad, O.(2013) Comprehensive management program for the control of the Lettuce Big Vein Disease. *Yevul-Si, Maariv* 89: 83-89.

תוכן עניינים

כותרת	עמוד
1. מבוא	4
2. מטרת המחקר	5
2.1. מטרות ספציפיות	5
3 . פרוט עקרי הניסויים והממצאים.	6
3.1. אפיון הפתוגנים המעורבים והתנאים להתפשטות המחלה.	6
3.2. בדיקת חומרים נדיפים לסניטציה ולחיטוי קרקע לפני הגידול "החורפי".	8
3.3. רגישות זנים מסחריים ל"מחלת העורקים המעובים".	15
3.4. השפעת חיפוי הגידול וקוטלי פטריות על מחלת העורקים המעובים.	17
4 . דיון כללי.	22
5. פרסומים מדעיים.	23
6. מקורות ספרותיים.	24
7. סיכום הדוח.	26

1. מבוא:

חסה תרבותית (*Lactuca sativa*) שייכת למשפחת המורכבים (Compositae) ומהווה מרכיב חשוב בסלט הירקות הישראלי (צריכה ממוצעת של כ-12 ק"ג\נפש\שנה). גידול חסה בארץ מבוסס על אגרוטכניקה אינטנסיבית ומחזור גידול קצר יחסית (30-60 ימים משתילה לקטיף). מגבלות בזמינות שטחי עיבוד לעיתים אינן מאפשרות תחלופה בין שטחים וכתוצאה מכך מבוצע גידול של 3-6 מחזורי גידול בשנה באותה חלקה (Tsafrir, 2012). שיטת גידול זו עלולה לחשוף את הצמחים לפגיעה ע"י מחוללי מחלות שונים. על מנת להקטין נזק אפשרי כתוצאה מנוכחות פתוגנים שוכני קרקע החקלאים מבצעים חיטויי קרקע במשך השנה. בעבר נעשה שימוש במתיל ברומיד, וכיום מבוצע עיקר החיטוי באמצעות תכשירי מתאם סודיום שיעילותם פחותה. אולם, במקרים בהם מאופיינת הקרקע כבלתי מתאימה לחיטוי בתכשיר, עקב תופעת הפירוק המואץ המינונים הדרושים להדברת פתוגן המטרה גבוהים מהמומלץ ולעיתים אינם כלכליים. בשנים האחרונות אובחנו בשדות חסה בדרום הארץ במושבי אזור הבשור חלקות רבות בהן ישנו פחיתה משמעותית ביבול בשל גורמי מחלה שוכני קרקע. אחת המחלות הנפוצות והקשות ביותר בעונה הקרה להתמודדות באזור זה הינה מחלת "העורקים המעובים של החסה" (Lettuce Big Vein Disease). **מחלת העורקים המעובים** מופיעה בעיקר בעונת החורף בטמפרטורות נמוכות מ-20 מ"צ. המחלה מצויה באזורי גידול חסה רבים בעולם בעיקר בעונות הקרירות של השנה. תסמיני המחלה כוללים: הבהרה והגדלה בולטת של "העורקים" בעלים, עיוות העלים, כלורוזה ונינוס הצמחים (איור 1ד). איכות השיווק של צמחים נגועים ירודה ביותר, ובנגיעות קשה, בחסה עגולה, אף לא נוצר קולס שניתן לשווקו (Zink and Grogen 1954; Campbell and Fry 1966, Ryder 1979; Patterson et al. 1986; Latham et al. 2004; Maccarone, 2013). בשטחים נגועים הערך הכספי של הנזק מגיע עד 6,000 ₪\דונם בשנה. מחלה זו נגרמת על ידי קומפלקס של שני נגיפים: נגיף ראשון *Lettuce big vein associated virus* (LBVaV) המשתייך לסוג *Varicosavirus* (Mayo, 2000) ונגיף שני המשתייך לסוג *Ophiovirus* *Mirafiori lettuce big vein virus* (MLBVV), MLBVV פרסומים עדכניים הוכיחו כי LBVaV הוא הגורם העיקרי להשראת תסמיני מחלה קשים בחסה ללא קשר לנוכחות או העדר MLBVV (Lot et al. 2002; Navaro et al. 2005) הווקטור העיקרי של נגיפי המחלה הינן פטריות שוכנות קרקע המשתייכות לסדרה *Chytridiales*. פטריות ירודות מהסוג *Olpidium* (*Olpidium brassicae* ו *Olpidium virulentus*) השורדות בקרקע באמצעות ספורות עבות דופן (איור 1א-Resting spores) ומתרבות באמצעות זואוספורות התלויות במים חופשיים לצורך תנועתן (איור1ב-Rochon et al., 2004) חודרות לשורשי הצמחים הנשתלים בחלקה ובהמשך מחזור החיים עוברים לצמח הנגיפים הגורמים לתסמיני המחלה שחומרתם תלויה בטמפרטורה (איור 1ג,1ד).



א. זואוספורות שורדות בקרקע שנים רבות ללא פונדקאי

ב. עם השתילה חודרת הפטרייה לשורשי הצמח ומעבירה את הנגיף לתאים

ג. ניתן לאתר את הנגיף בצמח לפני הופעת התסמינים.

ד. חומרת תסמינים תלויה בטמפרטורה

ה. בנגיעות קשה יש ירידה באיכות הקולס לשיווק

ו. שאריות הצמחים מוצנעות לקרקע ומעלות את רמת המדבק

איור 1 : שלבים בהתפתחות מחלת העורקים המעובים של החסה

2. מטרת המחקר הכללית:

פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת וירוס העורקים המעובים של החסה.

2.1 מטרות ספציפיות:

1. אפיון הפתוגנים המעורבים.
2. אפיון התנאים להתפתחות המחלה והתפשטותה באזור הבשור.
3. בחינת יעילותם של טיפולי סניטציה בגמר הגידול.
4. בחינת יעילותם של קוטלי פטריות המשמשים "לחיטוי קרקע".
5. זיהוי הבדלים בסבילותם של זנים מסחריים למחלה.
6. איתור קוטלי פטריות יעילים בקטילת הפתוגן ליישום לפני הגידול ובמהלכו.
7. איתור אמצעים אגרוטכניים המסייעים בהפחתת תסמיני המחלה.
8. שילוב המטרות בניסויי שדה.

3. פירוט עיקרי הניסויים והממצאים

3.1 אפיון הפתוגנים המעורבים והתנאים להתפשטות המחלה באזור הבשור

3.1.1 רקע:

מחקרים שנעשו בשנים האחרונות מתארים לפחות שני מינים של פטריות (*Olpidium virulentus*, *Olpidium brassicae*) בעלי פוטנציאל העברה של לפחות אחד מהנגיפים הגורמים למחלה. הזיהוי של מיני הפטרייה והנגיפים נעשה בד"כ באמצעות כלים מורפולוגים, מולקולארים, וסרולוגיים. (Navarro et al. 2004, Herrera-Vasquez et al.2009, Maccarone et al. 2010) יש להשוות שיטות אלו לכייל אותן ולבחור את המתאימות להפקה של חומצות גרעין ואנאליזה של מאות דוגמאות שיבוצעו מרקמת השורש, העלה והקרקע.

3.1.2. שיטות:

השיטות שנבדקו לזיהוי הפטרייה: א. צביעה ספציפית וזיהוי הפטרייה בשורשי הצמח באמצעות מיקרוסקופ, ב. אנליזות PCR ו- Multiplex PCR במהלכן נבדקה יעילותם של תחלים ספציפיים בהגברת מקטעי DNA של מיני אולפידיום שונים. השיטות שנבדקו לזיהוי הנגיפים המעורבים במחלה: א. זיהוי סרולוגי באמצעות נוגדן ספציפי ל- *Miraflori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), ב. זיהוי מולקולארי באמצעות ראקציית הגברה RT-PCR, ג. זיהוי LBVaV באמצעות גלאי מולקולארי מסומן ב- DIG, ד. ריצוף מקטעים גנומיים של הנגיפים והשוואת לרצפים במאגרי מידע בינלאומיים (לפרוט ראה/י דוח שנה א).

3.1.3 תוצאות:

בכדי לקבוע את שכיחות מיני הפטרייה והנגיפים בקרקע ובצמחים בחבל הבשור נערכו סקרים בין התאריכים: דצמבר 2010 עד דצמבר 2012. מכל חלקה נדגמו בין 3 ל-12 צמחים. בדיגום הראשון שנערך בחורף 2010 בחלקות חסה נגועות בנגיף (שדה ניצן ועין הבשור) אובחן המין *O. virulentus* בלבד, הן בשורשי הצמחים והן בקרקע. בקיץ-סתיו 2011 נדגמו צמחי חסה וקרקע מחלקות מסחריות בשדה ניצן ועין הבשור. בדגימות הקרקע אובחנו *O. virulentus* ו *O. brassicae*. המין השלישי *O. bornovanus* לא נמצא. בצמחי החסה אופיינו הפטריות *O. virulentus* ברמות נמוכות (כ- 3.0%), ו-*O. brassicae* ברמות גבוהות (20-30%). המין *O. bornovanus* לא נמצא. בצמחי כרוב אובחן רק *O. brassicae*. בשיעור של 100% נגיעות. בחורף 2011-2012 בצמחי חסה שנדגמו מחלקה בשדה ניצן אובחן: *O. virulentus* בשיעור נגיעות של 100%. שני המינים הנוספים, *O. brassicae* ו*O. bornovanus* אובחנו בשיעור נמוך של 28%. בנוסף, נדגמו ונבדקו צמחי בר שגדלו בחלקות. כף אווז *Chenopodium murale* עשב חד שנתי נפוץ מאוד, מחלקת חסה, וגומא הפקעים *Cyperus rotundus* עשב רב שנתי, מחלקת כרוב. בשני המקרים נמצאה נגיעות ב- *O. brassicae*.

O. virulentus, *O. brassicae*. שנכחו בקרקע ובצמחים בקיץ ובחורף ו-*O. bornovanus* אובחן רק בחורף ובשכיחות נמוכה. בצמחים שנדגמו במהלך 2011-2012 נמצאה נוכחות של נגיפים המעורבים במחלה רק בעונת החורף. כמו כן נמצאה שכיחות גבוהה של הנגיף MLBVV (-90 100%) לעומת הנגיף LBVaV שנמצא בשכיחות נמוכה (0-10%). מתוצאות ריצוף מקטעים בגנום של הגזעים הישראלים של הנגיפים MLBVV ו LBVAV והשוואתם לרצפי הנגיפים המצויים בבנק הגנים GenBank אנו רואים אחוזי זהות בתחום של 93-97% בין הנגיפים שזוהו בארץ והנגיפים הנ"ל שרוצפו במדינות שונות בעולם.

הקשר בין שכיחות הנגיפים ומיני הפטריות באזור הבשור: בדיגום צמחים בחורף 2011-2012 נמצא כי *O. virulentus* אובחן בשיעור נגיעות של 100% שני המינים *O. brassicae* ו *O. bornovanus* הובחנו בשיעור נגיעות נמוך של 28%. באותו דיגום נמצאה נגיעות של 100% של הווירוס *Miraflori lettuce big-vein virus* שיהיה גם הנגיף היחיד שנמצא בצמחים (טבלה 1).

גורם במחלה	מספר דוגמאות	שכיחות %
Big vein symptoms	**16/18**	**88.9**
Mirafiori lettuce big vein virus	**18/18**	**100**
Lettuce big vein associated virus	0/18	0
O. virulentus	**18/18**	**100**
O. brassicae	5/18	27.8
O. bornovanus	5/18	27.8

טבלה 1: הקשר בין שכיחות תסמיני המחלה, הנגיף *Mirafiori lettuce big vein virus* שזוהה בעלים והפטרייה *O. virulentus* שאכלסה את השורשים כפי שמודגם באמצעות אחד מדיגומי הצמחים שבוצעו.

3.1.4. דיון

לזיהוי מיני הפטרייה השונים נבחרו ראקציות ה- PCR ו- Multiplex PCR אשר מאפשרות הגברה של מקטעי DNA של כל מין באמצעות תחלים ספציפיים. למרות שהבדיקה האופטית מאפשרת תוצאה חזותית יש קושי לאפיין מורפולוגית את המין אליו שייכות הזואוספורות המאכלסות את תאי השורש. לכן גם **כדי לאפשר בדיקה של מספר רב של דוגמאות ובאמינות יחסית גבוהה נבחרה ראקציות ה- PCR ו- Multiplex PCR**. פטריית ה *Olpidium* אובחנה בחורף ובעונות המעבר בצמחי חסה **ובצמחי בר** כגון: כף אווז *Chenopodium murale*, וגומא הפקעים *Cyperus rotundus* שנאספו מחלקות חסה וכרוב בהתאמה. **הנוכחות של פטריות מהמין *O. virulentus* ו- *O. brassicae* בשורשים של צמחי חסה וצמחי בר בעונה חמה לפני הופעת סימנים קשים של המחלה מצדיקה את הבדיקה של טיפולי המתה של שורשי הצמח** באמצעות תכשירי מתאם סודיום במינון מופחת לפני הגידול החורפי "הרגיש" על מנת להפחית את רמת המדבק של הפטרייה בשורשי הצמחים.

זיהוי הנגיפים המעורבים במחלה: לשיטות המולקולאריות כגון שימוש בגלאי מסומן ב- DIG או שיטות הגברה כגון RT-PCR יתרון בולט ביכולת רגישותם הגבוהה והם שימשו אותנו בתחילת המחקר לזיהוי ואפיון של הנגיפים המעורבים במחלה. אך יחד עם זאת שיטות אלו הנן יקרות יותר (דבר המקבל משקל רב כאשר סורקים מספר רב של דוגמאות) . לכן בחלק היישומי של המחקר עשינו שימוש בשיטה סרולוגיות מסוג ELISA אשר אפשרה לנו סריקה של מספר רב של דוגמאות, ברמת אמינות גבוהה ביותר ובעלות פחותה בהרבה בהשוואה לשיטות המולקולאריות (במהלך מחקר זה נבדקו מאות דוגמאות). **לכן כאשר הדבר מתאפשר (מותנה בקיום נוגדן ספציפי כנגד הנגיף הנבדק) יש יתרון בולט לשימוש בנוגדנים לזיהוי הנגיף בעיקר בשיטה של ELISA**. בדיקה של צמחים סימפטומטים למחלת העורקים המעובים בחסה הראתה כי תסמיני המחלה מופיעים עם נוכחותו של הנגיף MLBVV לבדו או בשילוב עם הוירוס LBVaV. בנוסף בדיקה של צמחים א-סימפטומטים (ללא סימני המחלה) אפשרה במספר מקרים את זיהויו של הוירוס LBVaV, כך שלמעשה אין כל צורך בבדיקות לזיהויו היות והוא לבדו איננו מעורב בהשריית תסמיני המחלה, כך שעיקר הזיהוי בהמשך העבודה **צריך להתמקד בנגיף MLBVV.**

בבדיקת הקשר בין מיני הפטרייה ושכיחות הנגיפים המעורבים במחלה, נראה כי בהתאמה למתואר בספרות, המין *O. virulentus* הוא הווקטור העיקרי של הנגיפים המעורבים במחלת העורקים המעובים (Maccarone, 2013). הוא מעביר בעיקר את MLBVV באזור הבשור (לפי הדיגומים שנעשו). בהמשך המחקר נמשיך לדגום את הצמחים לאבחון שני גורמי מחלה עיקריים אלו בכדי לבסס טענה זו.

3.2. בדיקת תכשירים נדיפים לחיטוי קרקע וסניטציה לפני הגידול "החורפי" :

3.2.1 רקע.

הניסויים בוצעו בשנים 2011-2013 להשגת שתי מטרות עיקריות: א). בדיקת יעילותם של תכשירים אלה כטיפולי סניטציה במהלכם מבוצעת המתה של השורשים בסוף הגידול הסתווי הקודם לגידול החורפי "הרגיש" בהפחתת רמת המדבק והנזק הנגרם כתוצאה ממחלת העורקים המעובים. ב). להשוות את יעילותם של תכשירים לחיטוי קרקע בהדברת הווקטור (פטריות ירודות מהסוג *Olpidium*) ועקב כך הפחתת הנגיעות בנגיף, הפחתת תסמיני המחלה והשפעתם על כמות ואיכות היבול.

3.2.2. שיטות וחומרים

הניסויים בוצעו בחלקות מסחריות בשת"פ עם שני חקלאים (האחד במושב שדה ניצן והשני במושב עין הבשור). בחלקות שנבחרו לניסויים, המגדלים כמעט ואינם שותלים חסה עגולה בשל הפחיתה ביבול כתוצאה ממחלת העורקים המעובים. בנוסף, נגיעות הקרקע בפטרייה נבדקה לפני הצבת הניסוי (10-20 בדיקות קרקע אקראיות בחלקה) ואכן נמצאה נגיעות בצורה הומוגנית ב *O. virulentus*. בנוסף, נלקחו דגימות קרקע לאנאליזת פירוק מואץ של מתאם סודיום מאחר ויעילותו של החומר והמינון לשימוש בניסוי תלויים בתוצאות הבדיקה. מבנה הניסוי נקבע כך שבכל חלקת ניסוי יהיו שני בלוקים באקראי, בהם חלקות מפוצלות (2011-2012). כל חלקה

חולקה לארבע חזרות (שאינן מפוזרות באקראי ומחופות ביריעת פלסטיק אחת בזמן החיטוי). בכל חזרה מורכבת משש ערוגות שתילה ברוחב של 1.56 מטר (שדה ניצן) או 1.93 מטר (עין הבשור) ובאורך עשרה מטר. בכל חזרה היו שני תת טיפולים: שלוש ערוגות בהן בוצעה סניטציה באמצעות המתה של שורשי הצמחים בסוף הגידול הקודם לגידול הנבדק לעומת שלוש ערוגות נותרות ללא טיפול המתה. פעולת הסניטציה מבוצעת כך שבסוף הגידול ובמהלך הקטיף נמשכת ההשקיה בחלקה על מנת לשמר את חיוניותם של השורשים ובסיום הקטיף מוזרם לחלקה מתאם סודיום במינון מופחת של 20 ליטר לדונם עם 20 קו"ב מים לדונם. בחלקת הניסוי בשדה ניצן בוצעו שתי המתות לפני הגידול החורפי ובעין הבשור בוצעה המתה בודדת. לפני הגידול החורפי (דצמבר-פברואר) בכל חזרה כל ששת הערוגות חוטאו בתכשיר חיטוי קרקע נדיף (טבלה 2). חיפוי הקרקע נעשה בטיפולי החיטוי באמצעות פלסטיק אטום של חברת "פוליטיב" ובעובי 35 מיקרון. לאחר החיטוי בוצעה שטיפה של השטח כולו והצנרת באמצעות 20 קו"ב לדונם. ניסוי זה לימד על ההשפעה של חיטויי הקרקע עם וללא טיפולי הסניטציה שבוצעו לפניו על קצב התפתחות המחלה. טיפול הביקורת סיפק מידע לגבי התועלת של הסניטציה לבדה על רמת המדבק. בעונת מחקר 2012-2013 בוצע ניסוי שדה נוסף במתכונת של בלוקים באקראי עם ארבע חזרות לכל טיפול, בו נבחנו מינונים נוספים של חומרי חיטוי שנתנו תוצאות חיוביות בעונה הראשונה או בעלי פוטנציאל. במהלך כל שלושת הניסויים נבדקו במרכז הערוגה האמצעית של כל טיפול (5-4 מ') המדדים הבאים: תסמיני מחלה (במקטע רציף המכיל 30 צמחים בכל חזרה), נוכחות הנגיף, בדיקות תכולת כלורופיל - SPAD (בעשרה צמחים שנדגמו באקראי מכל חזרה), נוכחות הווקטור (בתת מדגם מכל חזרה מתוך הצמחים שנבדקו לנוכחות הפתוגן), ויבול נשקל במקטע של 1.5-0.5 מטר ערוגה (מכל חזרה 24-8 קולסים כתלות בזן (רומי או אייסברג) אולם באותו היקף בתוך כל ניסוי) וכתלות ברוחב הערוגה (1.56 או 1.93). כל בדיקה נעשתה באותו יום בכל הטיפולים. החלקות חוטאו תמיד בסוף נובמבר ונשתלו בסוף דצמבר. הזנים בניסויי החיטוי הם "עלים צהובה" (רומי) וזן "שלי" (חסה עגולה), זנים של חברת "הזרע" ושניהם רגישים מאוד למחלה.

טיפול קרקע	מינון לדונם	הערות
ביקורת חיובית		ללא כל טיפול
מתאם סודיום(אדיגן סופר)	45 ליטר	בוצעה בדיקה לפרוק מואץ
מתאם סודיום(אדיגן סופר)	100 ליטר	בוצעה בדיקה לפרוק מואץ
דימתיל דיסולפיד(פלדין)	60 ליטר	
כלורופיקרין(טריפיקרין)	20 ק"ג	
כלורופיקרין(טריפיקרין)	40 ק"ג	
מתיל ברומיד	35 ק"ג	שיטת הגז החם

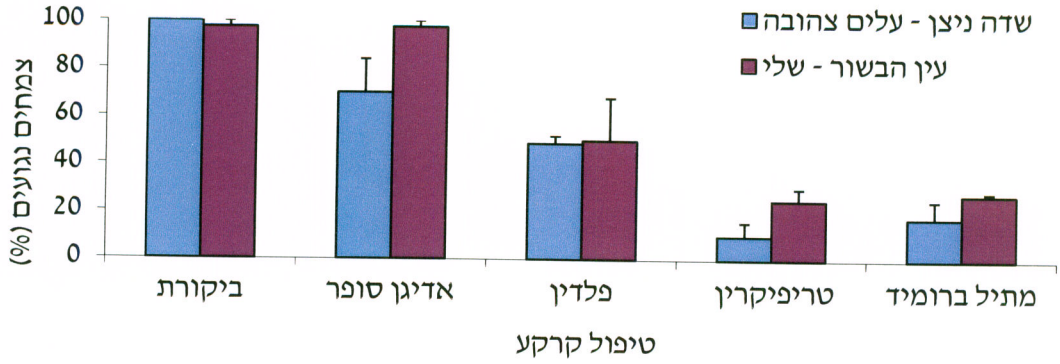
טבלה 2: טיפולי הקרקע והמינונים שבוצעו בשלושה ניסויים בשנים 2011-2013. כל החומרים מלבד מתיל ברומיד יושמו עם 40 קו"ב מים לדונם וביישום יחסי לכמות המים. שלוחות הטפטוף הונחו במרחק 40 ס"מ זו מזו מלבד במתיל ברומיד שם המרחק היה 70 ס"מ בין השלוחות.

3.2.3. תוצאות 2011-2012

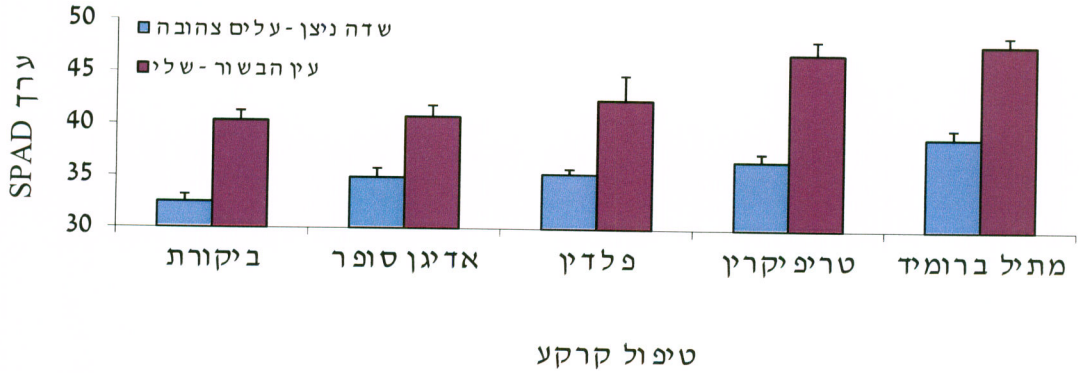
תוצאות המדדים בחלקות ללא המתה

בדיקות סרולוגיות בשיטה של ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) **לזיהוי ספציפי של חלבוני המעטפת של הנגיף** הראו כי 95-100% מהצמחים בחלקות הביקורת היו מאוכלסים בנגיף MLBVV. בחלקות בהן יושמו טריפיקרין ומתיל ברומיד נצפתה הפחתה של

70-80% בממוצע בשיעור הצמחים שמאוכלסים ע"י הנגיף בהשוואה לביקורת. שאר הטיפולים כתלות בחומר ובאתר נמצאה נגיעות של לפחות 50-90% בנגיף (איור 2). **בדיקות ה-SPAD לתכולת הכלורופיל** הראו בהתאמה למדדים האחרים כי ערכי ה- SPAD הגבוהים ביותר התקבלו עבור טיפולי הטריפיקרין הן בשדה ניצן והן בעין הבשור (איור 3)



<u>איור 2</u>: אחוז הצמחים הממוצע (±1S.E) הנגועים בנגיף MLBVV בטיפולי החיטוי השונים כחודש לפני הקטיף בשתי חלקות הניסוי בזנים "שלי" (רומית, 6.2.12) ו"עלים צהובה" (חסה עגולה 23.2.12).



<u>איור 3</u>: ערכי ה SPAD (MINOLTA®) כפי שנמדדו בצמחי הניסוי, 10 צמחים מכל חזרה. בכל צמח נבדק העלה הפרוס הצעיר ביותר, ארבע מדידות בכל עלה, וחושב הממוצע (שתי מדידות מכל צד של העורק הראשי)

הבדיקות לנוכחות הווקטור נעשו באמצעות שימוש בתחלים ספציפיים לכל מין של אולפידיום בריאקציות הגברה של PCR ו- Multiplex PCR.

8-10 צמחים מכל טיפול מכל אתר (44 צמחים משדה ניצן ו40 צמחים מעין הבשור) נבדקו לנוכחות שני הווקטורים הפוטנציאליים (*O. virulentus*, *O. brassicae*) בהעברת הנגיף אשר נמצאו בבדיקות קודמות בקרקע ובצמחי חסה (טבלה 3).

א. שדה ניצן

קטגוריית בדיקה	מספר צמחים שנבדקו	שיעור הנגיעות (%)
צמחים נגועים בפטריה ובנגיף	22	50
צמחים נגועים בפטריה ללא נגיעות בנגיף	13	29.5
צמחים נגועים בנגיף בלבד	4	9.1
צמחים נקיים	5	11.4
סה"כ	44	

ב. עין הבשור

קטגוריית בדיקה	מספר צמחים שנבדקו	שיעור הנגיעות (%)
צמחים נגועים בפטריה ובנגיף	25	62.5
צמחים נגועים בפטריה ללא נגיעות בנגיף	5	12.5
צמחים נגועים בנגיף בלבד	5	12.5
צמחים נקיים	5	12.5
סה"כ	40	

טבלה 3: צמחים שנדגמו מטיפולי הניסוי השונים ונבדקו לנוכחות הווקטור (*Olpidium spp.*) ולנוכחות הנגיף בשני אתרי הניסוי (2011-2012) כחודש לפני הקטיף בשדה ניצן (א-6.2.12) ועין הבשור (ב-23.2.12).

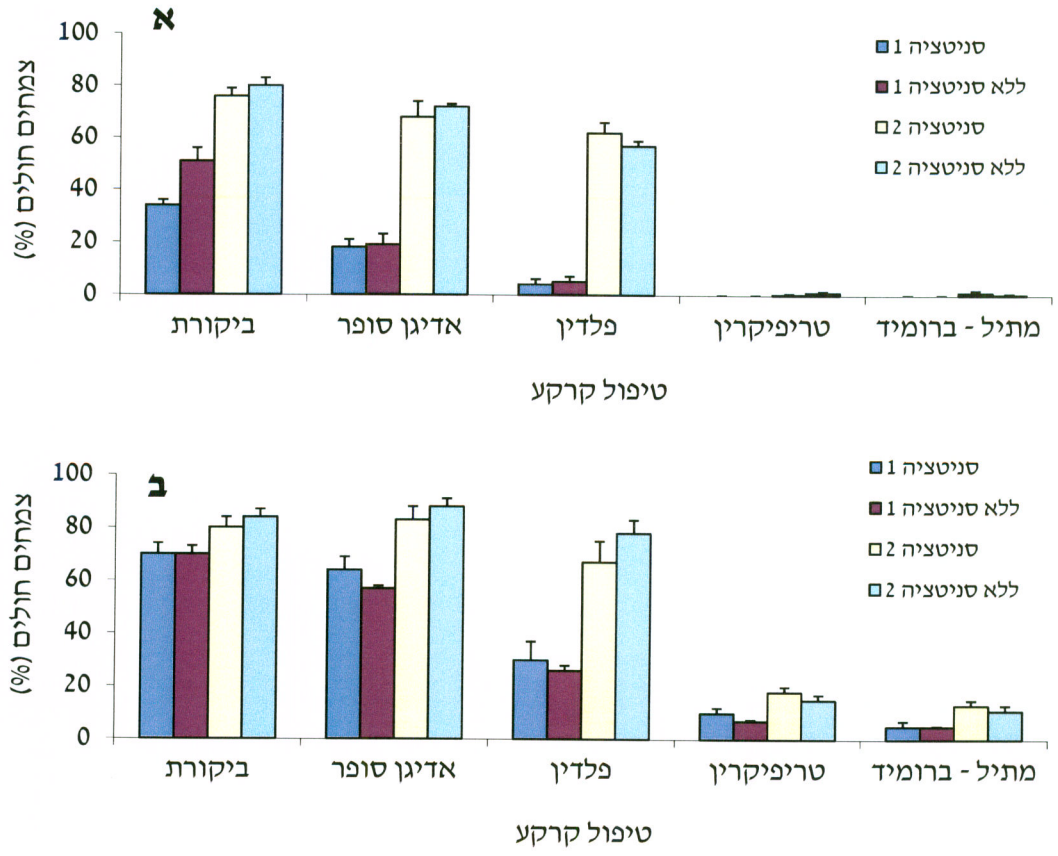
בצמחים שנמצאו חיוביים לנגיף MLBVV וגם לאחד ממיני האולפידיום נבדקה שכיחות המינים בשורשי הצמחים. המין *O. virulentus* נמצא ב- 92% מהצמחים שנדגמו במהלך הניסוי בשדה ניצן ונכח לבדו בכל הדוגמאות (100%) שנאספו בחלקת הניסוי בעין הבשור. (טבלה 4).

אתר	*O.brassicae*	*O.virulentus*	שני המינים	סה"כ נוכחות *O.virulentus*
שדה ניצן	~8.0%	~70%	~22%	92%
עין הבשור	0%	100%	0%	100%

טבלה 4: שכיחות הופעת כל אחד ממיני האולפידיום החשודים בהעברת MLBVV בצמחים שנמצאו נגועים בנגיף (סה"כ 46 צמחים).

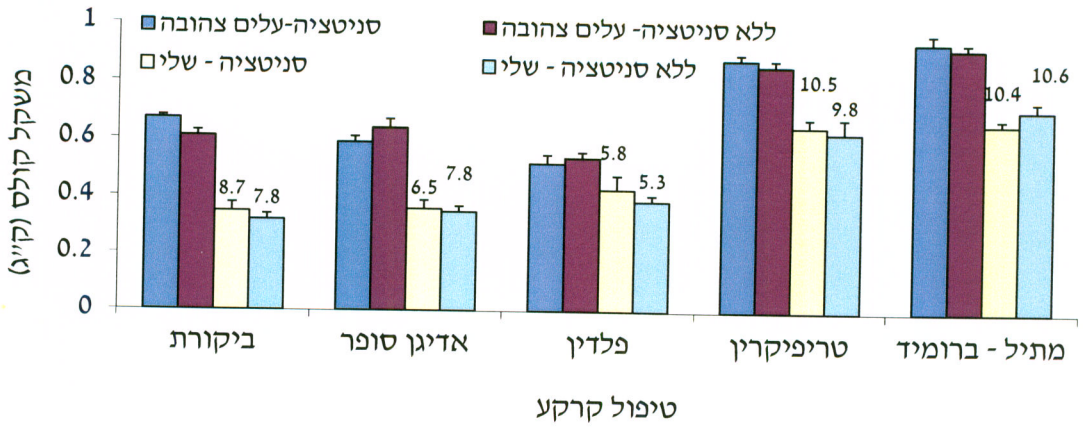
תסמיני המחלה בצמחי הניסוי נבדקו חזותית. שיעור הצמחים החולים בחלקות הביקורת בשדה ניצן היה כ- 50% בבדיקה הראשונה ועלה לשיעור של 80% נגיעות בסוף הניסוי. בחלקות בהן יושמו טריפיקרין ומתיל ברומיד לא נמצאו כלל צמחים בעלי תסמיני מחלה בבדיקה הראשונה ונמצאו אחוזים בודדים של צמחים עם תסמינים בזמן הקטיף (איור 4א). בחלקת הניסוי בעין הבשור נמצאו מגמות דומות בחסה עגולה עם מעל 80% צמחים בעלי תסמינים בסוף הניסוי בחלקות הביקורת בהשוואה לשכיחות נמוכה מ- 20% בחלקות בהן יושם טריפיקרין (איור 4ב). למרות ההפחתה בשכיחות תסמיני המחלה בחלקות בהן יושמו אדיגן סופר (45 ליטר לדונם)

ופלדין בבדיקה הראשונה, בבדיקה השנייה עלתה שכיחות הצמחים בעלי תסמינים ל 60-80% לפחות בשני אתרי הניסוי.



<u>איור 4</u>: אחוז צמחים חולים (בעלי תסמינים) הממוצע (±1S.E) שנמצא בכל אחד מטיפולי החיטוי בערוגות בהן בוצעה סניטציה ובערוגות ללא טיפולי סניטציה. כל אחת מהחזרות נבדקו פעמיים (מסומנות בגרף כ- 1 ו- 2) בהפרש של כ- חודש בשדה ניצן (**א**) ובעין הבשור (**ב**).

שקילת היבול בסוף הניסוי הראתה כי בחסה רומית וחסה עגולה בטיפולי החיטוי היעילים (טריפיקרין ומתיל ברומיד) משקל הקולס הממוצע עלה בכ-200-300 גרם לקולס בהשוואה לביקורת. בנוסף מספר הקולסים לשיווק מתוך סך הצמחים השתולים בחלקת הקטיף בחסה עגולה עלה מכ-8 קולסים בחלקות הביקורת בהשוואה לכ- 10-11 קולסים מתוך 12 צמחים בחלקות בהן יושם הטריפיקרין (איור 5)



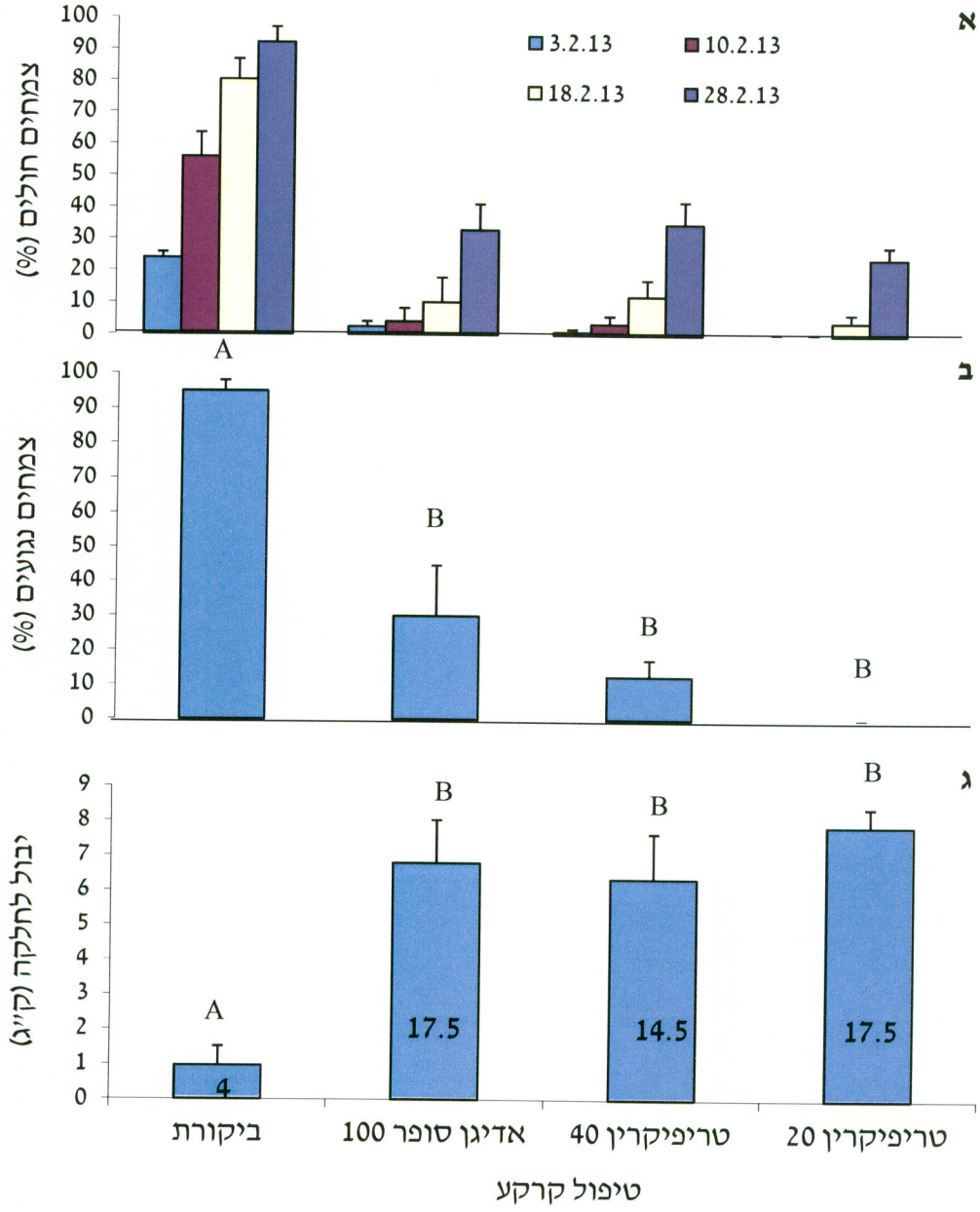
<u>איור 5</u>: משקל הקולס הממוצע (±1S.E) שהתקבל בניסוי בערוגות עם וללא טיפולי סניטציה עבור חסה רומית (עלים צהובה, קטיף-6.3.12) וחסה עגולה (שלי, קטיף-20.3.12). בזן "שלי" מצוין **מעל העמודות מספר הקולסים הראויים לשיווק** בחלקת השקילה (מתוך 12 קולסים בחלקת הדיגום). כל הטיפולים נשקלו באותו יום.

טיפולי הסניטציה: לאחר השוואת שכיחות הצמחים החולים בשני אתרי הניסוי כחודש לפני הקטיף בכל טיפולי החיטוי עם וללא סניטציה נמצא כי ההבדל הגדול ביותר התקבל עבור טיפול הביקורת בחלקה בשדה ניצן באחוז הצמחים בעלי התסמינים (17% -איור 4א) שם בוצעו טיפולי סניטציה בשני הגידולים הקודמים לגידול החורפי. בעקבות ממצא זה בוצעה השוואה של חלקות הביקורת בלבד בשלושה מדדים בסוף הניסוי: ההבדל בשכיחות הצמחים הנגועים בווקטור בטיפולי סניטציה בהשוואה לחלקות ללא סניטציה, שכיחות הופעתם של תסמיני המחלה בצמחים באותן חלקות בטיפול הביקורת והשוואה במשקל היבול. שכיחות הווקטור בדיגום שבוצע בביקורת בחלקות ללא הסניטציה עמד על 87.5% בהשוואה ל- 75% בחלקות הביקורת עם סניטציה. ההבדל בשכיחות תסמיני המחלה בסוף הניסוי, לפני הקטיף עמד על 4% עם הפחתה לטובת טיפולי הסניטציה (איור 4א). בהשוואת משקל הקולס הממוצע בין חלקות שעברו סניטציה לחלקות ללא סניטציה התקבל הבדל של כ- 80 גרם בממוצע לקולס לטובת טיפולי הסניטציה (איור 5, זן עלים צהובה טיפול הביקורת).

<u>3.2.4. תוצאות ניסוי שדה 2012-2013</u>

ניסויי שדה שבוצעו בשנה זו בשדה ניצן חידשו והראו כי טריפיקרין במינון של 20 ק"ג לדונם ואדיגן סופר במינון של 100 ליטר לדונם (בחלקה עם פירוק מואץ) היו יעילים בצורה משמעותית בהפחתת תסמיני המחלה בהשוואה לביקורת ללא כל טיפול (איור 6א- Repeated Measure ANOVA, $P<0.05$), בהפחתת שכיחות הצמחים הנגועים בנגיף MLBVV (איור 6ב – One Way ANOVA,$P>0.05$), והעלו בצורה משמעותית בהשוואה לביקורת את משקל היבול לחלקת השקילה (מורכב ממשקל הקולס הממוצע וממשקל הקולסים הראויים לשיווק) (איור 6ג- One Way ANOVA,$P>0.05$). גם הערכים שהתקבלו בבדיקות ה- SPAD לתכולת כלורופיל בכל

טיפולי החיטוי היו גבוהים בצורה משמעותית בהשוואה לערכים שהתקבלו עבור הביקורת (One Way ANOVA,$P>0.05$).



<u>איור 6:</u> תוצאות ניסוי לבחינת יעילותם של חומרים ל"חיטוי קרקע" בהפחתת הנזק הנגרם ממחלת העורקים המעובים (טריפיקרין במינון 20 ו 40 ק"ג לדונם, אדיגן סופר במינון 100 ליטר לדונם וביקורת ללא כל טיפול). באיור מתוארים קצב הופעת תסמיני המחלה בצמחים שנשתלו בכל אחד מטיפולי הניסוי (א), שכיחות הצמחים הנגועים בנגיף (MLBVV) הגורם לתסמינים קשים (ב), והיבול שהתקבל לחלקת השקילה ((ג)- בתוך העמודות מצוין מספר הקולסים הראויים לשיווק מתוך 24 צמחים)). הניסוי בוצע במתכונת של בלוקים באקראי, בזן "שלי". אותיות שונות מצביעות על הבדל מובהק (Tukey, $P<0.05$).

בבדיקות איכותיות (חיובי/שלילי) של הקרקע בחלקת הניסוי בשדה ניצן אובחן המין *O. Virulentus* לפני החיטוי בחלקות הביקורת (כמדגם מייצג בחלקה מאולחת בצורה הומוגנית). אחרי החיטוי בכל הטיפולים, ובסוף הניסוי בכל הטיפולים, נמצא כי בטיפול טריפיקרין במינונים של 20 ו 40 ק"ג לדונם הופחתה רמת המדבק בקרקע ב-75% בעומקים שנבדקו (0-20) (טבלה 5).

טיפול/עיתוי הבדיקה	לפני חיטוי- 26.11.12	אחרי חיטוי - 18.12.12	בסוף הגידול - 07.03.13
ביקורת	100%	100%	100%
אדיגן סופר 100	ל.נ	100%	100%
טריפיקרין 20	ל.נ	25%	100%
טריפיקרין 40	ל.נ	25%	100%

טבלה 5: השפעת טיפול החיטוי על נוכחות הווקטור *O. virulentus* בחלקת הניסוי בשדה ניצן.

מכל מרכז חלקה נלקחה דוגמה המורכבת משלושה תתי מדגם מעומק 0-20. ארבע חזרות לכל טיפול.

3.2.5. דיון

טיפולי סניטציה באדיגן סופר (מתאם סודיום).

טיפולי הסניטציה שבוצעו בסוף הקיץ ובסתיו בחלקות הניסוי באמצעות אדיגן סופר בשדה ניצן ובעין הבשור נמצאו כבעלי יעילות נמוכה יחסית. **לא ניכרה תרומתם להפחתת הנגיעות בפטרייה, בנגיף ובתרומה למשקל הקולס הממוצע בסוף הניסוי.**

יעילותם של תכשירים לחיטוי קרקע

בניסויים בשתי החלקות במשך שנתיים התקבלו תוצאות הדירות, בהן נראה כי **טריפיקרין היה יעיל בהפחתת הנגיעות בנגיף, ותסמיני המחלה והביא להעלאת תכולת הכלורופיל, משקל הקולס הממוצע ומספר הקולסים הראויים לשיווק**. בנוסף, מינונים גבוהים של אדיגן סופר (100 ליטר לדונם) הראו יעילות טובה. בדיקות הקרקע הראו כי קיים פירוק מואץ בחלקות הניסוי ולכן **יש להמשיך ולבדוק את יעילותו של החומר (מתאם סודיום) בחלקות הנגועות בווקטור ובנגיף ובהן אין פירוק מואץ**.

3.3. רגישות זנים מסחריים למחלת העורקים המעובים.

3.3.1 רקע:

מטרת מבחן הזנים הייתה לאתר הבדלים בסבילותם של זנים רומיים וזנים של חסה עגולה בכדי לאפשר בהמשך שילוב של הזנים המצטיינים עם קוטלי פטריות או שיטות אגרוטכניות שיביאו להשיג הפחתה משמעותית בנזק הנגרם ליבול.

3.3.2 חומרים ושיטות

מבחן הזנים בוצע בתשעה זנים מסחריים אשר כוללים שלושה זנים של חסה עגולה (אייסברג): דרורית, שלי ולימור. ושישה זנים של חסה רומית: גלי, נוגה, 15056, תומר, ליטל, עלים צהובה. כל הזנים של חברת "הזרע" (טבלה 6). הזנים נשתלו (26.12.12) בחלקת הניסוי בשדה ניצן במבנה של ארבעה בלוקים באקראי. בכל חזרה כל זן נשתל לאורך 3 מטר ערוגה ברוחב 1.56 מטר. במהלך הניסוי כל הצמחים (35-40~) בכל אחת מהחזרות נבדקו מספר פעמים להימצאותם של תסמיני מחלה כך שבכל בדיקה חושב מספר הצמחים החולים מסך כל הצמחים בחזרה. בנוסף, בהתבסס על בדיקות תסמיני המחלה נבדקו לנוכחות הנגיף והפטרייה בזן שנמצא הסביל ביותר

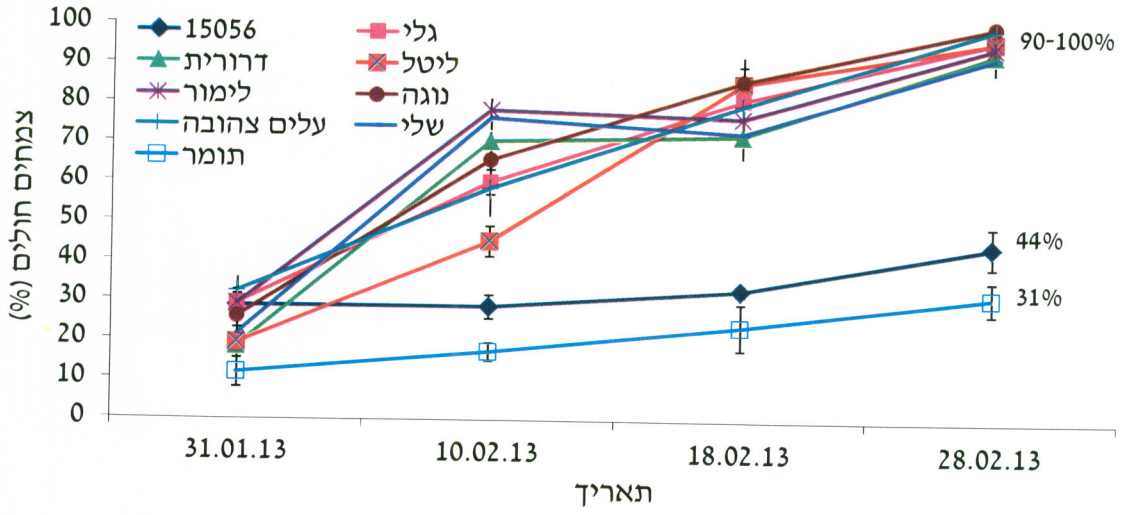
ובזן הרגיש ביותר. לזיהוי הווקטור והפתוגן נלקחו מהזן הסביל ארבעה צמחים ללא תסמיני מחלה וארבעה צמחים עם תסמיני מחלה. בסוף הניסוי בכל חזרה בזנים הרומיים נישקל 0.5 מטר ערוגה להערכת היבול הממוצע בזנים הרומיים ומטר ערוגה (שונות גדולה יותר בגידול) בזני החסה העגולה ונספרו מספר קולסים לשיווק.

זן	טיפוס	צורות שיווק מקובלות
גלי	רומית	1. קולס לשיווק, 2.לבבות, 3. עיבוד תעשייתי
נוגה	רומית	1. קולס לשיווק, 2. עיבוד תעשייתי
15056	רומית	1. קולס לשיווק,
תומר	רומית	1. לבבות, 2. עיבוד תעשייתי
ליטל	רומית	1. קולס לשיווק,
עלים צהובה	רומית	1. קולס לשיווק, 2. עיבוד תעשייתי
לימור	עגולה	1. קולס לשיווק, 2. עיבוד תעשייתי
שלי	עגולה	1. קולס לשיווק, 2. עיבוד תעשייתי
דרורית	עגולה	1. קולס לשיווק, 2. עיבוד תעשייתי

טבלה 6: פרטי הזנים המסחריים שנשתלו להשוואת סבילות למחלת העורקים המעובים.

3.3.3 תוצאות:

השוואת קצב הופעת תסמיני המחלה בזני החסה הראתה כי שכיחות הצמחים החולים הושפעה בצורה מובהקת מרגישות הזן, מזמן המדידה ומהאינטראקציה ביניהם (Repeated Measure ANOVA, $P<0.05$). שכיחות הצמחים החולים בזנים 15056 ו- תומר בזמן הייתה נמוכה בצורה מובהקת ($P<0.05$, Tukey) ובכ- 60% בממוצע בהשוואה לכל הזנים האחרים (איור 7). בבדיקת נוכחות הווקטור והנגיף בזן הסביל ביותר (תומר) נלקחו ארבעה צמחים בעלי תסמינים וארבעה צמחים ללא תסמינים והושוו לארבעה צמחים מזן רגיש (נגה). בבדיקה נמצא כי כל צמחים שלא הראו תסמיני מחלה היו נגועים במין *O. virulentus* ובנגיף MLBVV.



איור 7: קצב הופעת תסמיני מחלה ממוצע (±1S.E) בשלושה זנים של חסה עגולה ושישה זנים של חסה רומית כפי שנבדקו מתחילת הופעת תסמיני המחלה ועד סוף הניסוי.

בשקילת היבול בסוף הניסוי התקבל הבדל מובהק במספר הקולסים הראויים לשיווק בין זני החסה העגולה (One Way ANOVA, $P<0.05$). מספר הקולסים לשיווק בזנים לימור ודרורית היה גבוה יותר בצורה מובהקת בהשוואה לזן שלי (15.2 קולסים בדרורית בהשוואה ל-10.7 קולסים בשלי ((מתוך 16), (Tukey, $P>0.05$)) .

3.3.4 דיון רגישותם של זני חסה ל"מחלת העורקים המעובים".

תיעוד שכיחות התסמינים של הזנים למחלה הצביעה על **סבילות משמעותית בזנים תומר ו-15056 בהשוואה לשאר הזנים.** זן תומר משווק בעיקר כלבבות חסה והזן 15056 משווק בצורות שונות. יש להמשיך ולחפש זנים נוספים בעלי סבילות למחלה הנותנים מענה לכל צורות השיווק כפתרון לטווח הארוך. למרות שזני החסה העגולה נמצאו כולם עם תסמיני מחלה בשכיחות גבוהה ודומה **הזן דרורית נתן את השילוב המיטבי של משקל קולס ממוצע ומספר קולסים לשיווק.**

כיוון שהזנים שנבדקו חלקם מתאימים לחורף וחלקם לעונות אחרות והם נשתלו בקרקע נגועה בלבד ללא ביקורת נקייה לא ניתן להשליך באופן ישיר בין משקל הקולס הממוצע ובין השפעת המחלה ולכן לא מוצגים נתוני המשקלים.

3.4. השפעת חיפוי הגידול ויישום קוטלי פטריות על מחלת העורקים המעובים

3.4.1 רקע

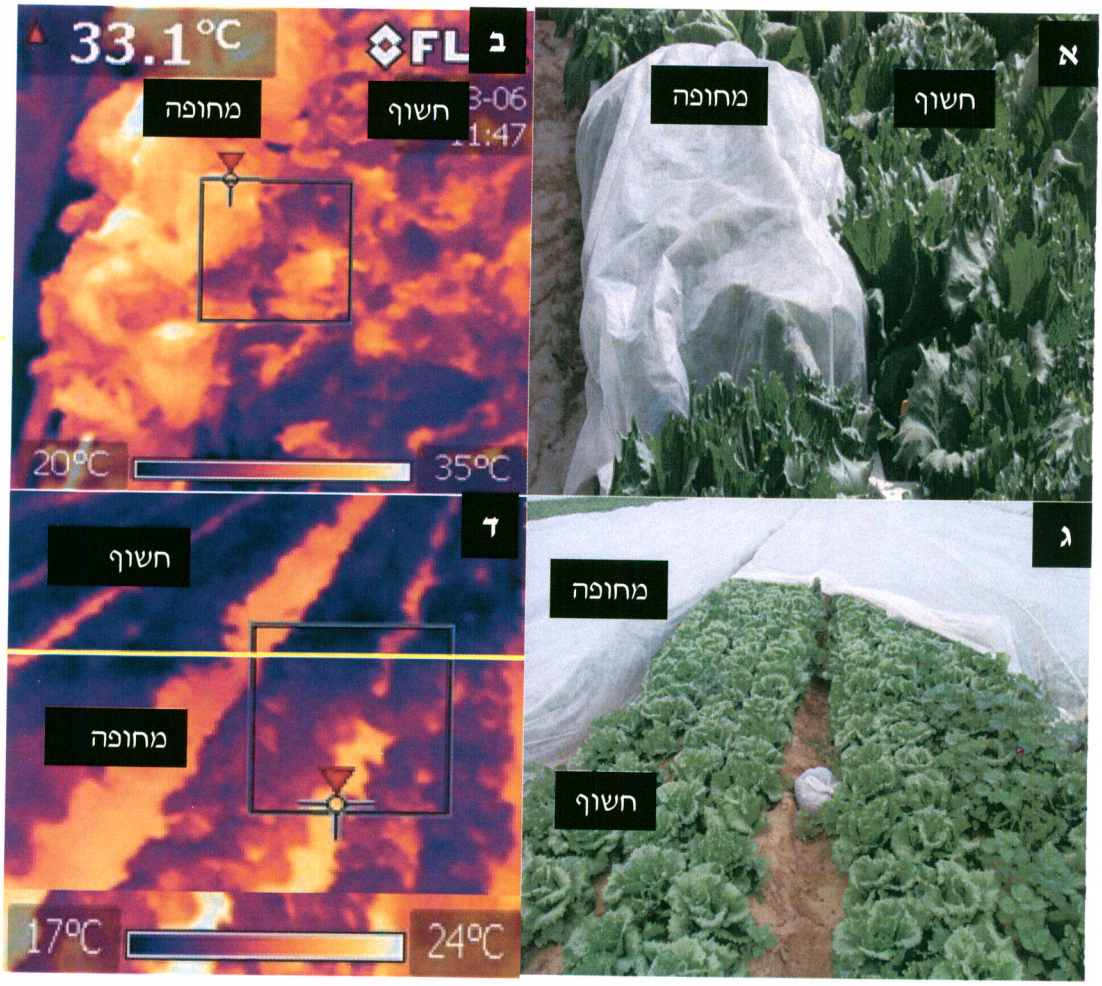
לאחר בדיקתם של חומרים לחיטוי קרקע ומבחני זנים הוחלט בשנה האחרונה להשוות את יעילותם של קוטלי פטריות בהתמודדות עם המחלה. לצורך הניסוי נבחרו חומרים שונים שהתקבלה אינדיקציה מוקדמת לגבי יעילותם האפשרית של בניסויי דליים וניסויי שדה. בנוסף כיוון שמדובר במחלה חורפית הוחלט בהסתמך על אינדיקציות ממגדלים לבדוק את יעילותו של חיפוי באגריל בניסוי מבוקר (במכלי קלקר לגידול) ובתצפית בשדה בהפחתת תסמיני המחלה. החיפוי צפוי להעלות את הטמפרטורה של הנוף והקרקע במספר מעלות ועקב כך להסית את טמפרטורת הגידול מעבר לזו האופטימאלית להופעתם של תסמיני מחלה. מספר מעלות עשוי לשנות בצורה משמעותית את קצב התפתחות המחלה (Westerlund et al. 1978)

3.4.2 חומרים ושיטות

ניסוי מבוקר במכלי גידול: לצורך ביצוע הניסוי הובאה קרקע בכמות מספקת מחלקת הניסוי בשדה ניצן נגועה בפטרייה מהמין *O. virulentus* שחשודה כווקטור המרכזי של הנגיף *Mirafiori lettuce big vein virus* (MLBVV) שגורם לתסמינים קשים של המחלה. בנוסף נלקחו ארבע דגימות קרקע ממכלים אלו לפני ואחרי חיטוי קרקע ובנוסף כביקורת נבדקה קרקע מקומית שאינה מכילה את הווקטור . מבנה הניסוי בגודל 100 מ"ר ללא גג תוכנן להכיל חמישה בלוקים של מכלי גידול עשויים פוליסטירן מוקצף (קל-קר) שכל אחד מהם בנפח של 69 ליטר ובמידות של 1.15*0.4*0.15 מ'. המכלים מוקמו על דליים בצורה שתאפשר ניקוז וגידול תקין. המכלים הוצבו במתכונת של חמישה בלוקים באקראי כך שלכל חומר הדברה בכל בלוק הייתה חזרה עם חיפוי באגריל וחזרה ללא חיפוי. מעל כל מיכל עברו שני צינורות השקיה במרחק 20 ס"מ זה מזה ולאורכם טפטוף כל 15 ס"מ/0.6 לשעה. בכל מיכל נשתלו 8 שתילים מהזן "שלי" מטיפוס "אייסברג" המוכר מניסויים קודמים כרגיש מאוד למחלה. דישון בוצע בדשן 6:2.5:4 וכמויות ההשקיה עודכנו באמצעות ניקוז אחד המכלים. **טיפולים וחומרים**: בהתבסס על ניסויי שדה, וניסויים בדליים שבוצעו בשנים הקודמות נבחרו שבעה חומרים שונים ושתי ביקורות. (**הערה**:

שמות החומרים אינם מצוינים בשל הסכם עם החברות) החומרים יושמו כך שהטיפול המרכזי כלל ערבוב של החומר עם הקרקע הנגועה (500-1000 סמ"ק לדונם) באמצעות מערבל בטון קטן בכדי לדמות תיחוח בשדה ולחלק מהם התלוו טיפולים במשתלה או הגמעות לאחר השתילה כתלות בתכונות החומר והמלצות החברה. בסה"כ בניסוי היו שתי ביקורות: **קרקע נגועה** (נמצאה בבדיקות קרקע מאוכלסת בווקטור 4/4 דגימות) **וקרקע לאחר חיטוי** ב-100 ליטר לדונם אדיגן סופר (בשל פירוק מואץ באותה חלקה) שנמצאה כלא נגועה או נגועה ברמה נמוכה ב- 3/4 בדיקות טרום השתילה. בנוסף, שבעה קוטלי פטריות מתוכם חמישה שמיושמים כחומר יחיד, ושתי תערובות אחת כימית ואחת ביולוגית. השתילה בוצעה בתאריך 9.1.14 עם ירידת הטמפרטורות בצורה משמעותית והתחלת החורף באזור הבשור. ואיסוף היבול בכל הטיפולים הסתיים בתאריך 18.3.14. במהלך הניסוי נבדקו תסמיני המחלה מרגע הופעתם ועד הקטיפים, SPAD כמדד עקיף לתכולת כלורופיל, ובסוף הניסוי נלקח מדגם אקראי של צמחים (מהביקורת ומהטיפולים בעלי השפעה משמעותית על תסמיני מחלה 1 או 2 צמחים מכל חזרה) שנבדקו לנגיף או לווקטור. כל הצמחים מכל הטיפולים בסוף הניסוי נשקלו בשלמותם, ונספרו ונשקלו הקולסים הראויים לשיווק.

תצפית בשדה לבדיקת יעילות החיפוי באגריל על היבול: לצורך התצפית נבחרה חלקת גידול בה חלק מהערוגות חופו באגריל וחלק בהן הצמחים גדלו ללא חיפוי. החלקה נשתלה בתחילת ינואר בזן "שלי" כאשר הבשיל הטיפול המחופה נבחרו באקראי בכל טיפול ארבעה מקטעים של 1 מטר ערוגה (רוחב 1.56 מ') של גידול רציף (בהם לא מתו או נרקבו צמחים) ובהם נספרו ונשקלו הקולסים הראויים לשיווק (נקבע משקל הסף לשיווק הקולס ל 300 גר').

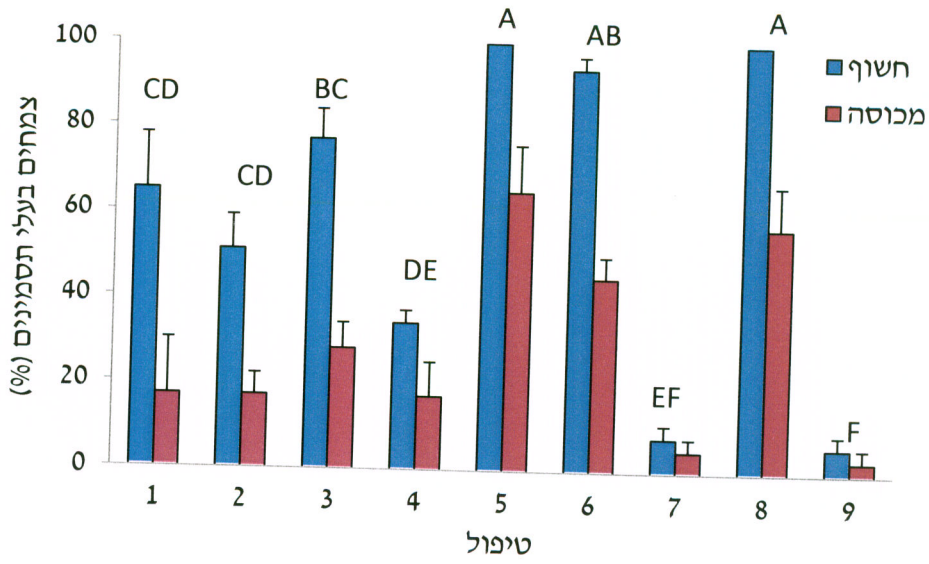


איור 8: גידול חסה מטיפוס אייסברג זן " שלי" עם וללא חיפוי באגריל בניסוי מבוקר במכלים (א,ב) ובשדה (ג,ד). צילומים במצלמה טרמית מיד לאחר הסרת החיפוי לצד צילום רגיל מדגימים את מראה בניסוי והעלייה בטמפרטורה של הצמחים וסביבתם בעקבות החיפוי. החלקות צולמו בשעות הצהריים. החיפוי הוסר כשבועיים לפני הקטיף.

3.4.3. תוצאות:

ניסוי מבוקר במכלי גידול:

תסמיני המחלה: בבדיקת ההשפעה של החומר, הכיסוי באגריל והאינטראקציה בניהם על שכיחות הצמחים שהראו תסמיני מחלה נמצא כי שלושתם היו מובהקים (Two way ANOVA, $P>0.05$). בהשוואת יעילות החומרים בהתמודדות הם מחלת העורקים המעובים נמצא כי שני טיפולים בלטו ביעילותם טיפול מספר 7 (כימי) שעם וללא כיסוי לא נבדל בצורה משמעותית מהביקורת הנקייה עם פחות מ 10% צמחים עם תסמינים בטיפול ללא חיפוי שבועיים לפני סוף הניסוי וטיפול 4 עם 35% מהצמחים עם תסמינים באותו תאריך בדיקה (04.03.14 -איור 9).



איור 9: שיעור תסמיני מחלה ממוצע (±1S.E) בכל טיפולי הניסוי בתאריך 04.03.14 (תאריך אחרון בו עדיין נכחו כל הטיפולים (מחופה ולא מחופה). טיפולים 1-3,7 חומרים כימיים בודדים, 4 ו 6 תערובות כימיות וביולוגיות בהתאמה, 8 ביקורת נגועה, 9 ביקורת נקייה (קרקע נגועה לאחר חיטוי). לצורך הפשטה צוינו הבדלי המובהקות עבור ניתוח החומרים עם וללא כיסוי יחד. אותיות שונות מציינות הבדל מובהק (Tukey, $P<0.05$)

נוכחות הווקטור והנגיף בצמחי הדיגום:

בהשוואת ארבעה טיפולים מתוך התשעה: שני הטיפולים שהפחיתו את תסמיני המחלה ותרמו למשקל הקולס הממוצע ושתי הביקורות הנגועה והנקייה נמצא כי קוטלי הפטריות 4 ו 7 הפחיתו את רמת המדבק של הפטרייה וכפועל יוצא את שיעור הצמחים הנגועים בנגיף בעשרות אחוזים אולם היו פחות יעילים בהשוואה לחיטוי הקרקע (טבלה 7).

טיפול	*O. virulentus* (%) 16.2.14	MLBVV (%) 16.2.14	MLBVV (%) 18.3.14
ביקורת נגועה 8	40	20	90
ביקורת נקיה 9	20	0	30
חומר 4	20	0	80
חומר 7	0	0	60

טבלה 7: שכיחות הצמחים שנמצאו נגועים בווקטור *O.virulentus* ובנגיף MLBVV בארבעה מטיפולי הניסוי בשני תאריכי בדיקה.

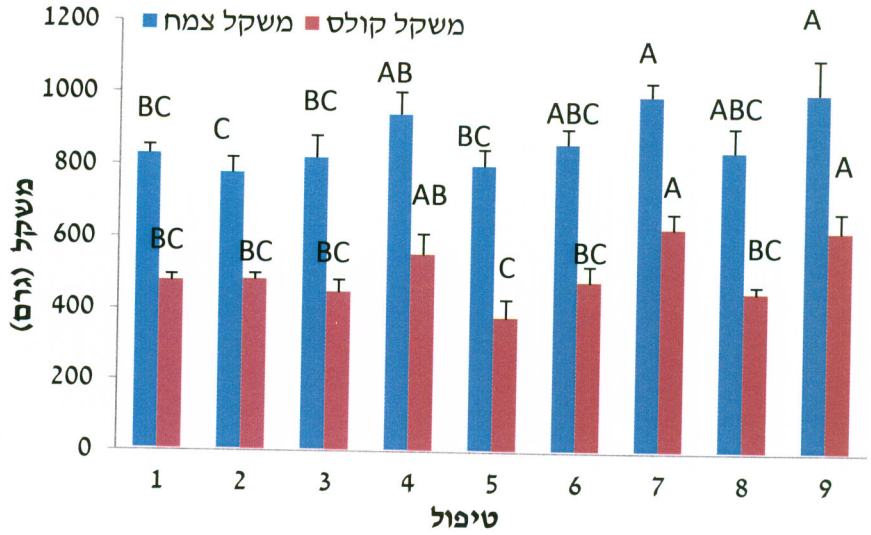
משקל הצמחים והקולסים לשיווק:

בהשוואת משקל הצמחים ומשקל הקולסים נמצא כי החיפוי באגריל שינה את משקל הקולס לשיווק בצורה שחלקו היחסי ממשקל הצמח עלה ברוב המכריע של הטיפולים מלבד חיטוי הקרקע שם היחס בין משקל הקולס והצמח היה דומה. באופן כללי החיפוי באגריל טשטש את הפער במשקלי הקולסים כך שההבדל המשקלי בין הטיפולים הטוב ביותר והגרוע ביותר היה 164 גרם (ירידה של 28%) ואילו בטיפול ללא כיסוי הפער היה 251 גרם (ירידה של 40%) (טבלה 8).

טיפול	חיפוי באגריל	משקל צמח	משקל קולס	יחס משקלי קולס חלקי צמח
1	+	673±27	488±40	0.73
	-	829±25	477±19	0.58
2	+	626±49	443±29	0.71
	-	778±43	482±18	0.62
3	+	722±30	506±29	0.70
	-	821±61	448±35	0.55
4	+	839±16	607±23	0.72
	-	942±62	555±58	0.59
5	+	681±35	476±24	0.70
	-	802±45	378±52	0.47
6	+	760±21	521±27	0.69
	-	863±42	480±45	0.56
7	+	862±44	584±68	0.68
	-	996±38	629±44	0.63
8	+	741±28	523±30	0.71
	-	844±67	451±21	0.53
9	+	864±46	515±69	0.60
	-	1005±96	623±54	0.62

<u>טבלה 8</u>: משקל ממוצע (±1S.E) של צמחי החסה, הקולסים לשיווק והיחס המשקלי בניהם בכל טיפולי הניסוי. הטיפולים תחת חיפוי הקדימו בהבשלה ונאספו בתאריך 10.3.14 והטיפולים ללא חיפוי נאספו בתאריך 18.3.14. בשני הקטיפים נקבע משקל הסף לשיווק הקולס ל-300 גר'. מספרים 1-7 טיפולי הניסוי 8 ביקורת נגועה ו 9 ביקורת נקייה (קרקע נגועה לאחר חיטוי).

ניתוח משקל הצמח הממוצע, משקלי הקולס ואחוז הקולסים לשיווק בטיפול החשוף הצביע על הבדל מובהק בין הטיפולים (One Way ANOVA, $P<0.05$) חומר מספר 7 לא נבדל באופן מובהק מהביקורת הנקייה עם קרוב ל 1000 גרם במשקל הצמח ואילו משקל הצמחים הממוצע בטיפול מספר 2 הגיע ל- 778 גרם בלבד והיה נמוך בצורה משמעותית הן מהביקור הנקייה והן מטיפול מספר 7 (t-test, $P<0.05$ - איור 10).



איור 10: משקלי הצמחים והקולסים הממוצעים (±1S.E) כפי שנמדדו בטיפול החשוף 18.3.14. אותיות שונות מצביעות על הבדל מובהק בתוך כל קטגוריית בדיקה (t-test, $P<0.05$).

השוואת מספר ומשקל הקולסים בתצפית בשדה:

בהשוואת מספר הקולסים הראויים לשיווק ומשקלם הממוצע בשקילה שבוצעה כאשר הטיפול תחת החיפוי היה מוכן לקטיף נמצא כי מספר הקולסים לשיווק היה גבוה בממוצע בטיפול המחופה עם (S.E) 15.2±0.47 קולסים מתוך 16 צמחים שתולים במטר ערוגה בהשוואה ל- (S.E) 8.25±1.3 בלבד בטיפול ללא חיפוי. גם במשקל הקולס הממוצע נמצא הבדל משמעותי עם 577±13 גרם לקולס בהשוואה ל - 343±20 גרם לקולס לטובת הטיפול המחופה (שני הטיפולים נשקלו באותו יום, משקל הסף לשיווק נקבע ל- 300 גר').

3.4.4.דיון

השנה נמצאו בניסוי מבוקר במכלים שני קוטלי פטריות שהפחיתו בצורה משמעותית את תסמיני המחלה, נגיעות בנגיף MLBVV והעלו בצורה משמעותית את משקל הקולס הממוצע. אחד מחומרים אלה נבדק שוב בסוף החורף בשדה באמצעות תיחוח לקרקע והראה גם שם תוצאות חיוביות איתן כדאי להמשיך במינונים שונים וצורות יישום שונות בשנה הבאה. גם החיפוי באגריל הפחית את תסמיני המחלה, האיץ כמצופה את קצב הגידול ולכן עזר בהתמודדות עם נזקי המחלה. יש לבדוק את תועלתו של החיפוי בזנים שונים ולתעד את השפעתו על עשבייה ומחלות שונות שנראו בשכיחות גבוהה יותר (בהערכה בלבד) בטיפול המחופה.

4. דיון כללי

"מחלת העורקים המעובים" נלמדה בעבודה זו במעבדה ובשדה תוך ביצוע ניסויי הדבקה, דיגומי צמחי חסה וצמחי בר סמוכים ולמגוון האורגניזמים המעורבים במחלה (כפי שהיה ידוע בתחילה: שני נגיפים ושני מיני *Olpidium*). חלקות רבות בחבל הבשור בעלות רמת מדבק גבוהה אפשרו

לבדוק בתנאים קיצוניים את יעילותם של תכשירים לחיטוי קרקע, סבילותם של זנים מסחריים, יישום קוטלי פטריות (בדליים ובשדה) ואמצעים אגרוטכניים.

הממצאים החשובים של עבודת מחקר זו מוצגים בדוח והם:

1. **אפיון הפתוגנים המעורבים במחלת העורקים המעובים**: הפטריה *Olpidium virulentus* הוא הווקטור העיקרי של נגיפים שמעורבים במחלת העורקים המעובים ומעביר בעיקר את הנגיף *Mirafiori lettuce big vein virus* (MLBVV) באזור הבשור.
2. **החומרים לחיטוי קרקע כלורופיקרין במינון 20 ו 40 ק"ג לדונם ומתאם סודיום במינון 100 ליטר לדונם** בחלקה עם פירוק מואץ הפחיתו את הנגיעות בווקטור, וכפועל יוצא את הנגיעות בנגיף הגורם למחלה ובתסמיני המחלה, העלו את משקל הקולס הממוצע ומספר הקולסים הראויים לשיווק (בחסה עגולה). יש להמשיך ולבחון את מתאם הסודיום במינונים שונים בחלקות ללא פירוק מואץ.
3. **שני הזנים תומר ו 15056 הראו סבילות** שהתבטאה בשכיחות נמוכה יותר של תסמיני מחלה. יש לבחון את סבילותם של זנים נוספים ובמיוחד של זני חסה עגולה בהם המחלה מביאה לפחת גדול יותר ביבול.
4. **קיימים לפחות שני קוטלי פטריות שהפחיתו את רמת המדבק של הווקטור** וכפועל יוצא את הנגיעות בנגיף ואת תסמיני המחלה, העלו את משקל הצמחים ומשקל הקולסים לשיווק. יש ליישם את החומרים שנמצאו בעומקי תיחוח שונים, עם כמויות מים משתנות בחלקות עם רמת מדבק שונה ובמגוון מינונים בכדי לשלבם בשדה לבד או יחד עם טיפולים אחרים. בנוסף, יש לבחון חומרים פעילים נוספים הפועלים על אותה קבוצת אורגניזמים.
5. **חיפוי הגידול באגריל העלה את הטמפרטורה** בסביבת הגידול, העלה את קצב התפתחות הצמחים, הפחית את תסמיני המחלה בניסוי מכלים מבוקר ובתצפית בשדה, וטשטש את ההבדלים במשקל הקולסים בין הטיפולים בניסוי מבוקר. כדאי לבחון חיפויים נוספים כגון: פלסטיק שחור לבן (המחזיר קרינת שמש כלפי מעלה) או כל טיפול אחר המעלה את הטמפרטורה בסביבת הצמח בכדי להסיט את הטמפרטורות לטווח פחות אופטימאלי להתפתחות התסמינים בצמח.

5. רשימת פרסומים בתקופת הדוח:

הרצאות/פוסטרים:

1. פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת העורקים המעובים של החסה ,פוסטרים במסגרת יום פתוח, מו"פ דרום 2012, 2013.
2. .מחלת "העורקים המעובים בחסה": השוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה , הרצאה במסגרת מפגש מגדלי עלים ותבלינים, עין הבשור, דצמבר 2012.

3.מחלת "העורקים המעובים בחסה": השוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה, הכנס השנתי של החברה למחלות צמחים, מנהל המחקר החקלאי, פברואר 2013.
4. מחלת "העורקים המעובים בחסה": מבחן זנים והשוואת חומרים לחיטוי קרקע להתמודדות עם נזקי המחלה, מפגש מגדלים עלים באזור חבל הבשור, וועדה חקלאית אשכול, יוני 2013.

מאמרים בעברית:

5. Sofer, M., Elbaz,M., Harel, D., Tsohar, D., Tsror, L., Leviush, S., Erlich, O., Dombrovsky, A., Gamliel, A., Tsafrir, G., Farchi, A., Arad, O.(2012) Comprehensive management program for the control of virus disease in Lettuce. *Yevul-Si, Maariv* 69:56.

6. Elbaz, M., Lofthous, M., Sofer, M., Tsohar, D., Ganot, L.,Linars, H., Avitan, A., Tsror, L., Leviush, S., Dombrovsky, A.,Lachman,O., Farchi, A., Arad, O.(2013) Comprehensive management program for the control of the Lettuce Big Vein Disease. *Yevul-Si, Maariv* 89: 83-89.

*גורמים שהשתתפו במימון המחקר:
ברצוננו להודות לקרן המדען ולקק"ל על מימון המחקר.

6. מקורות:

1. Campbell, R.N., and Fry, P.R. 1966. The nature of associations between *Olpidium brassicae* and Lettuce big-vein and Tobacco necrosis viruses. Virology 29:222–33.

2. Herrera-Vásquez. J.A., Cebrian, M.C., Alfaro-Fernandez, A., Cordoba-Selles. M.C., and Jorda, C. 2009. Multiplex PCR assay for the simultaneous detection and differentiation of *Olpidium bornovanus*, *O. brassicae*, and *O. virulentus*. Mycological Research 113:602– 610.

3. Lot, H., Campbell, R. N., Souche, S., Milne, R.G., and Roggero, P. 2002. Transmission by *Olpidium brassicae* of *Mirafiori lettuce virus and lettuce big-vein virus* and their roles in lettuce big-vein etiology. Phytopathology 92:288-293.

4. Latham, L. J., Jones, R. A. C., and Mckirdy, S. J. 2004. Lettuce big-vein disease: Sources, patterns, and losses. Australian Journal of Agricultural Research. 55:125-130.

5. Maccarone, L. D., Barbetti, M. J., Sivasithamparam, K., and Jones, R. A. C. 2010. Molecular genetics characterization of *Olpidium virulentus* isolates associated with big-vein diseased lettuce plants. Plant Disease 94:563-569.

6. Mayo, M. A. 2000. Genus *Varicosavirus* In : MHV,Fauquet, C. M., Bishop D. H. L.Carstens, E. B. Estes, M. K.Lemon, S. M., Maniloff, J. , Mayo, M. A., MacGeoch, D. J., Pringle, C. R., Wickner, R. B. (eds).Virus Taxonomy, seventh.

7. Maccarone, L.D. (2013) Relationships between the pathogen *Olpidium virulentus* and viruses associated with lettuce big-vein disease. Plant Disease 97: 700-707.

8. Navaro JA, Botella F, Maruhenda A, Sastre P, Amelia S'anchez – Pina and Vicente Pallas 2004. Comparative Infection Progress Analysis of Lettuce big-vein virus and Mirafiori lettuce virus in lettuce crops by developed Molecular Diagnosis Techbiques. Phytopathology 94:470-477.

9. Patterson, C.L., Groga, R.G., Campbell, R.N. 1986. Economically important diseases of lettuce. Plant Disease 70:982-987.

10. Roggero, P., Ciuffo, M., Vaira, A.M , Accoto GP, MasengaV, Milne, RG. 2000.An ophiovirus isolated from lettuce with big vein symptoms. Archives of Virology_. 145: 2629-2642.

11. Rochon, D., Kakani, K., Robbins, M., Reade, R, 2004. Molecular aspects of plant virus transmission by *olpidium* and plasmodiophorid vectors. Annual Review of Phytopathology 42: 211-241.

12. Roggero, P., Lot, H., Souche, S., Lenzi, R., and Milne RG. 2003. Occurrence of Mirafiori lettuce virus in relation to development of big vein symptoms in lettuce crops. European Journal of Plant Pathology109: 261-267.

13. Ryder, E.J., 1979. Effects of big vein resistance and temperature on disease incidence and percentage of plants harvested of crisphead lettuce. Journal of the American Society of Horticultural Science 104:665-668.

14. Tsafrir G. (2012) Lettuce. The Agricultural Extension service of Israel.

15. Westerlund, F.V., R.N. Campbell, and R.G. Grogan. 1978. Effect of temperature on transmission, translocation, and persistence of the lettuce big-vein agent and big-vein symptom expression. Phytopathology 68:921-926.

16. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for polygenetic. Pages 315-322 in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M. A. Inns, D.H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds. Academic Press, New York.

17. Zink, F. W., Grogan, R. G. 1954. The inter-related effects of big vein and market price on the yield of head lettuce. Plant Disease Reporter 38:844-846.

7. סיכום הדוח:

מטרות המחקר: פיתוח ממשק להתמודדות עם מחלת וירוס העורקים המעובים של החסה. 1. אפיון הפתוגנים המעורבים. 2. אפיון התנאים להתפתחות המחלה והתפשטותה. 3. בחינת יעילותם של טיפולי סניטציה בגמר הגידול. 4. בחינת יעילותם של קוטלי פטריות המשמשים "לחיטוי קרקע". 5. זיהוי הבדלים בסבילותם של זנים מסחריים למחלה. 6. איתור קוטלי פטריות יעילים בקטילת הפתוגן ליישום לפני הגידול ובמהלכו. 7. איתור אמצעים אגרוטכניים המסייעים בהפחתת תסמיני המחלה. 8. שילוב המטרות בניסויי שדה.

עיקרי התוצאות: הפטריה *Olpidium virulentus* הוא הווקטור העיקרי בהעברת נגיף ה-*Mirafiori lettuce big vein virus* הגורם למחלת העורקים המעובים בחסה באזור הבשור. **התכשירים לחיטוי קרקע כלורופיקרין במינון 20 ו 40 ק"ג לדונם ומתאם סודיום במינון 100 ליטר לדונם** בחלקה עם פירוק מואץ הפחיתו את רמת המדבק וכפועל יוצא את הנגיעות בנגיף ותסמיני המחלה, העלו את משקל הקולס הממוצע ומספר הקולסים הראויים לשיווק. **נמצאו שני קוטלי פטריות שהפחיתו הנגיעות בווקטור, בנגיף והפחיתו את תסמיני המחלה**. כתוצאה מכך העלו את משקל הצמחים ומשקל הקולסים לשיווק. **חיפוי הגידול באגריל העלה את הטמפרטורה** בסביבת הגידול, העלה את קצב התפתחות הצמחים, הפחית את תסמיני המחלה, והעלה את משקל הקולסים לשיווק בשני ניסויים שונים. **שני הזנים תומר ו 15056 הראו סבילות** שהתבטאה בשכיחות נמוכה יותר של תסמיני מחלה. **מסקנות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו .האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח**: למרות השגת המטרות יש להמשיך ולבחון את מתאם הסודיום במינונים שונים בחלקות ללא פירוק מואץ. יש לבחון את סבילותם של זנים מסחריים וזני טיפוח נוספים. יש ליישם את קוטלי הפטריות שנמצאו בעומקי תיחוח שונים, עם כמויות מים משתנות ובמגוון מינונים בכדי ליישם אותם בשדה לבד או יחד עם טיפולים אחרים. יש לבחון חומרים נוספים הפועלים על אותה קבוצת אורגניזמים. כדאי לבחון חיפויים נוספים כגון: פלסטיק שחור לבן המחמם את "הנוף" בכדי להסיט את הטמפרטורות לטווח שאינו אופטימאלי להתפתחות התסמינים בצמח. כמו כן לבדוק את השפעת החיפויים על מחוללי מחלות אחרים שונים ועשבייה. **בעיות שנותרו לפתרון ו**/למידת דינאמיקת המחלה באופן רציף באמצעות גידול רציף במשך כל השנה (שלא התאפשר בשל חוסר בתקציב). **פרסומים בכתב**:

5. Sofer, M., Elbaz,M., Harel, D., Tsohar, D., Tsror, L., Leviush, S., Erlich, O., Dombrovsky, A., Gamliel, A., Tsafrir, G., Farchi, A., Arad, O.(2012) Comprehensive management program for the control of virus disease in Lettuce. *Yevul-Si, Maariv* 69:56.

6. Elbaz, M., Lofthous, M., Sofer, M., Tsohar, D., Ganot, L.,Linars, H., Avitan, A., Tsror, L., Leviush, S., Dombrovsky, A.,Lachman,O., Farchi, A., Arad, O.(2013) Comprehensive management program for the control of the Lettuce Big Vein Disease. *Yevul-Si, Maariv* 89: 83-89.

פרסום הדוח: ממליץ לפרסם את הדוח ללא הגבלה.

תודות:

1. לצוות העובדים של מו"פ דרום שהשקיע עבודה רבה בהעמדת ניסויים מורכבים בתוך כותלי המו"פ ומחוצה לו אצל מגדלים.
2. לאנשי השדה ומנהלי המחלקות החקלאיות של החברות: רימי, אגן, מכתשים, גדות אגרו, ולוכסנבורג שתרמו חומרים והשקיעו מזמנם להצלחת הניסויים.
3. למגדלים: אסף פרחי וקורין – ארד חקלאות שהשקיעו מניסיונם ותרמו משאבים רבים בלעדיהם לא היו מצליחים ניסויי השדה.
4. לעמוס ניר מה"זרע" ביעוץ ובתרומת הזרעים למבחן הזנים.
5. לאנשי המעבדות בכל קבוצות המחקר השותפות שעמלו והקפידו על בדיקות המעבדה השונות.