

דו"ח סופי למיזם 12-1603-132

קידום ממשק הדברה ומניעה של קומפלקס מחלות הצהבון בגזר

Management of the Carrot Yellow Disease

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ומועצת הצמחים
על ידי

עבדאללה גרה - המחלקה לפתולוגיה וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי
מוניר מוואסי - המחלקה לפתולוגיה וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי
ציון דר - שה"מ - משרד החקלאות
דני שטיינברג - המחלקה לפתולוגיה וחקר עשבים, מנהל המחקר החקלאי
מוראד גאנם - המחלקה לאנטומולוגיה, מנהל המחקר החקלאי
ציון דקו - מ.א. עמק המעיינות

Abdullah Gera, Department of Plant Pathology, ARO, Volcani Center,
P.O.B 6, Bet Dagan, 50250. E-mail: abedgera@volcani.agri.gov.il

Munir Mawassi, Department of Plant Pathology, ARO, Volcani Center,
P.O.B 6, Bet Dagan, 50250. E-mail: mawassi@volcani.agri.gov.il

Zion Dar, Extension service, Ministry of Agriculture, Bet Dagan, 50250. E-mail: ziondar@shaham.moag.gov.il

Dani Steinberg, Department of Plant Pathology, ARO, Volcani Center,
P.O.B 6, Bet Dagan, 50250. E-mail: danish@volcani.agri.gov.il

Murad Ganim, Department of Plant Pathology, ARO, Volcani Center, P.O.B
6, Bet Dagan, 50250. E-mail: ghanim@volcani.agri.gov.il

Zion Dakko, Department of Plant Pathology, ARO, Volcani Center, Bet
Dagan, 50250. E-mail: tzion@maianot.co.il

מרץ, 2015

אדר, תשע"ה

**תוכן מסמך זה צריך להיות חסוי בפני גורמים שאינם נוגעים בעניין מחשש
לזליגה לגורמי מקצוע בחו"ל**

מחלת הצהבון זוהתה בשטחי הגידול בישראל לפני כ- 15 שנים ויותר. למרות המאמצים שהושקעו במשך השנים המידע אודות הגורם/הגורמים למחלה והתנאים המעודדים את התפרצותה הוא חלקי ולוקה בחסר. **המטרה ארוכת הטווח** של המיזם הנוכחי היא להגדיר את נקודות המפתח בהן יש להתמקד כדי לפתח ממשק שיאפשר לגדל גזר איכותי שלא יפגע ממחלת הצהבון.

המטרות הספציפיות של המחקר שבצענו השנה הן: 1. המשך פיתוח והתאמת אמצעי זיהוי רגישים וספציפיים למחלה ובדיקת התפשטותו באיברי הצמח השונים; 2. בחינת העברת החיידק בזרעים אמתיים של גזר; 3. זיהוי תבדידי החיידק הקיימים בארץ; 4. מבחני העברה ולימוד אינטראקציה בין החיידק והווקטור; 5. זיהוי ומיקום החיידק ברקמות הפסילה באמצעות שיטת FISH; 6. בדיקת יעילות תכשירי הדברה נגד פסילת הגזר; 7. השפעת הכיסוי במועד חלון ההדבקה במשולב עם ריסוסים בתערובות של קוטלי חרקים על שיעור הנגיעות; 8. לבחון את הדינמיקה של התפתחות המזיק והמחלה ובמיוחד את חשיבות חלקות הגשר כמקור מידבק ראשוני לחלקות הנזרעות בתקופת המזרע העיקרית; 9. לכמת את השפעת המחלה על כמות היבול ואיכותו; 10. השפעת טיפולים כימיים על שיעור הנגיעות במחלת הצהבון ועל היבול ואיכותו.

תוצאות: הותאמה שיטת qPCR לזיהוי החיידק ברקמות שונות של גזר. והמערכת אותנו היום לגילוי החיידק בצמחים חשודים. בוצעה העברה של גורם המחלה לצמחי וינקה, עגבנייה ופלפל, באמצעות כשות, נעשה זיהוי ומיקום החיידק ברקמות צמחיות של גזר באמצעות שיטת FISH. רוצפו מעל 20 תבדידים שונים של החיידק מאזורים שונים בארץ וממאכסנים שונים. על פי הרצף, נמצא כי כל התבדידים הם מטיפוס D. נעשה זיהוי ומיקום החיידק בווקטור בעזרת FISH. נמצא שמספיק שלוש שעות הזנת הדבקה של פסילות על מנת להעביר את החיידק, ואותו זמן על מנת לרכוש אותו מצמח נגוע. התקופה הלנטית היא 9 שעות. בנוסף נמצא שפסילה אחת מספיקה על מנת להדביק את הצמח. בוגרים יותר יעילים ברכישת והעברת החיידק בהשוואה לנימפות. בשנת 2014 נלכדו מעט מאוד פסילות נגועות בכל העונה. בבדיקת הרגישות לתכשירי הדברה נמצאה שונות גבוהה ביעילות תכשירי ההדברה השונים להדברת הפסילה בתנאי מעבדה. נמצאו הבדלים בדפוס האיכלוס של הפסילות בחיידקים בין שטחי הגידול בדרום והצפון. חזרנו ומצאנו שעם הזמן יש עלייה אקספוננציאלית בשכיחות הצמחים עם תסמינים ושניתן להתחמק מהתופעה באמצעות אסיף מוקדם. בוגרים של פסילות שורדים את החורף. ההטלה של ביצים תלויה בטמפרטורה. המשקל של גזרים סימפטומטיים גבוה יותר מהמשקל של גזרים א-סימפטומטיים. המחלה אינה משפיעה על כמות היבול ליחידת שטח. ריסוס בתכשירים קוטלי מזיקים הפחית משמעותית את כמות הנימפות המתפתחות בחלקה אבל לא השפיע על שכיחות הצמחים עם איבוד שילטון קודקודי. למרות זאת, הריסוס העלה את היבול. ריסוס בקוטלי מזיקים הפחית משמעותית את גודל אוכלוסיית הנימפות והעלה את היבול בצורה משמעותית. המחלה משפיעה על איכות הגזרים וחי המדף של הגזר הנגוע.

המסקנות העיקריות של הניסויים השנה:

המין העיקרי שמעביר את גורם מחלת צהבון בגזר הוא המין *Bactericera trigonica*, פסילת הגזר שנפוצה באזור הים התיכון. נראה כי באזורנו הטיפוס הבולט של החיידק גורם הצהבון הוא הטיפוס D. טיפוס זה נמצא בספרד והאיים הקנריים אשר נמצאים בקרבה יחסית לישראל ובדמיון אקלים. כמו כן, טיפוס D נמצא באסוציאציה עם פסילת הגזר אשר נמצאה כפסילה שמעבירה את החיידק גם בישראל. ממצאי המחקר ב-2014 אוששו את ההיפותזה שהפסילות המתפתחות בחלקות הגידול הנזרעות במזרעים העיקריים (ספטמבר-דצמבר) מגיעה מחלקות גשר (זריעות יולי-אוגוסט) הנמצאות באותו תת-אזור. אוכלוסייה נבנית בחלקה עצמה בהתאם לגיל הפיזיולוגי של הצמחים. מכאן עולה שכדאי לרכז את המזרעים בתתי אזורים ולצמצם את פער הזמן מהמזרע הראשון לאחרון. הפגיעה באיכות היא כנראה, תוצאה של פגיעה המתרחשת במהלך כל תקופת הגדול של האשרושים ולא רק בחלק האחרון של הגידול, בו נראים ויזואלית תסמיני איבוד שילטון קודקודי. נראה שהדרך הטובה ביותר להתמודד עם הצהבון היא להתחמק מהמחלה. ניתן לעשות זאת על ידי קיבוץ מועדי המזרע בתתי-אזורים סמוכים, אסיף מוקדם ויישום של תכשירי הדברה קוטלי פסילות בחודשי החורף בחלקות המיועדות לאסיף בחודשים מאי-יולי. כדי למנוע את הנזקים הנגרמים באיחסון כדאי לשווק מידית את היבול שנאסף בחודשים המועדים לפגיעה (יוני ויולי) ולאחסן את היבול שנאסף בחודשים מוקדמים יותר. המסקנה העולה מניסוי הרשתות היא, שרשת תרמה להעלאת היבול הכללי. הגדלת מספר ימי הגנה מיום הזריעה הפחיתה באופן מובהק את הנגיעות בכל שלושת מועדי הזריעה. דחיית מועד האסיף בהגיע הגזר לגודלו מגבירה שיעור הנגיעות של הצמחים. טיפולי ריסוס יש בהם כדי לצמצם במידה ניכרת את בעיית הגרירה של דורות שהדביקו בטרם התחלת חלון ההדבקה העיקרי.

מערכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי:

1. בני רקח
2. שאול בורדמן
3. יגאל אלעד

.....

הצהרת החוקר הראשי: הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא



*** חתימת החוקר :**

תוכן עניינים

2	תקציר מדעי
4	מבוא ותיאור הבעיה
5	מטרות המיזם
5	לימוד האטיולוגיה של מחלת "צהבון הגזר" מוניר מואסי, לודמילה מסלינין ועבד גרה
8	טיפוסים של הליבריבקטר הקיימים בארץ אופיר בהר
9	אינטראקציה של פסילת הגזר עם גורם מחלת הצהבון ודינאמיקה של אוכלוסיית הוקטור בניסוי בחוות עדן מוראד גאנם, סבטלנה קונצידלוב וגלינה לבדב
13	חקר הגורמים המשפיעים על התפתחות מחלת צהבון הגזר בזמן ובמרחב דני שטיינברג, מוניר מואסי, ארז בן-נון ואלי שליון, יוסי קנר, עופר מנדלסון,
19	רשתות וריסוסים והשפעתם על רמת הנגיעות במחלת צהבון הגזר - משה בר-יוסף ועבד גרה
22	רשתות והשפעתם על רמת הנגיעות במחלת צהבון הגזר - חוות עדן ציון דר, טל לנדה, מוראד גאנם, מוניר מואסי ציון דקו, גד"ש שלוחות
24	השפעת מווסתי צמיחה על התפתחות צהבון הגזר יהושע קליין
26	ביבליוגרפיה
29	סיכום

2. דיווח מפורט:

מבוא ותיאור הבעיה:

מחלת הצהבון בגזר היא כיום המחלה הקשה ביותר הפוגעת בגידול וגורמת נזק כלכלי רב. בשנים האחרונות המחלה מופיעה בגלים וגורמת לפעמים להפסד יבול טוטאלי. התסמינים של מחלת הצהבון בגזר דומים לאלו הנגרמים ע"י פיטופלסמה וספירופלסמה. בקיץ 2009, לאחר שנמצאו צמחי גזר רבים עם תסמיני מחלה, שכללו הצהבה, איבוד שלטון קודקודי, עיוות, ברונזה ושורשים אדוונטיביים, בהם לא ניתן היה לאתר גורמים דמויי פיטופלסמה או ספירופלסמה, ומאחר שבשטחי הגזר הנגועים לא נצפו ציקדות אבל נצפתה נגיעות בפסילות, עלתה האפשרות כי גורם זהבון הגזר הוא חיידק. בבדיקות של פסילות שנאספו מחלקות גזר שסבלו ממחלת צהבון הגזר נמצאו רצפים האופייניים לחיידק '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' (Lso), שדווח קודם כגורם למחלת תפוחי אדמה קשה הנקראת מחלת ה-Zebra Chips. בהמשך העבודה, החיידק אובחן גם בצמחי גזר עם תסמיני מחלת הצהבון. הבדיקות המולקולאריות שנעשו הראו כי רצף חיידק ה-Lso בגזר נמצא זהה לחיידק Lso הגורם למחלת הזברה ציפס בתפוחי אדמה שזוהתה בניזלנד, טקסס, קליפורניה ומקסיקו. Lso, דומה במאפייניו לחיידק הליבריבקטר, המוכר מזה כארבעים שנה כמעורב במחלת ה-Greening בהדרים. חשיבות החיידק הזה עלתה לפני 7 שנים לאחר שמחלת הגרינינג התגלתה תחילה בפרדסי ברזיל ובהמשך גם בפרדסי פלורידה.

חיידקי הליבריבקטר מועברים על ידי כמה סוגי פסילות. החיידקים פוגעים, מלבד בתפוחי אדמה, בשורה של מיני סולניים חשובים, כולל עגבניות, פלפל ועוד. מדובר בחיידק הסגר שאיתורו ואפיונו בניזלנד גרם לבעיות פיטוסניטריות קשות ולהפסקת היצוא של תוצרת חקלאית של צמחים ממשפחת הסולניים לאוסטרליה בגלל החשש להפצת הליבריבקטר בארצות אליהם יועדה התוצרת הזו.

מהבדיקות שערכנו התברר כי הן הפסילות אשר נאספו משדה גזר נגוע והן צמחי גזר שהראו סימפטומים ברורים של צהבון הגזר נשאו חיידקי ליבריבקטר. מאידך, ברוב הצמחים הללו לא נמצאו קטעי גנום מתאימים של גורמי מחלה אחרים, מצב הקושר את מחלת צהבון לליבריבקטר. בשנים הארוכות נתגלה החיידק, Lso, במספר מדינות באירופה בגזר עם תסמינים. בבדיקות שנערכו בפינלנד, נתגלה החיידק Lso הן בצמחים עם תסמיני מחלה, והן בפסילות. בפינלנד ובדרום שוודיה ונורבגיה, נמצא שפסילת הגזר, *Trioza apicalis* מעורבת בהעברת המחלה. בספרד והאיים הקנרים, נמצא שהפסילה *Bactericera trigonica* מעורבת בהפצת המחלה. הבדיקות המולקולאריות שנעשו הראו כי רצף החיידק בגזר נמצא זהה לחיידק Lso הגורם למחלת הזברה ציפס בתפוחי אדמה.

תוכנית המחקר בשנה הראשונה והשניה עסקה באפיון קומפלקס גורמי מחלת הצהבון בגזר, תיעוד דגם התפתחות המחלה בזמן ובמרחב ברמת האזור, לימוד התפוצה של גורמי המחלה ע"י הנשאים. הותאמה שיטת qPCR לזיהוי החיידק ברקמות שונות של גזר, בוצעה העברה של גורם

המחלה לצמחים ממשפחת הסולניים, באמצעות כשות, נעשה זיהוי ומיקום החיידק ברקמות צמחיות של גזר באמצעות שיטת FISH. נקבע בשיטה מולקולארית שהפסילה שמעבירה את החיידק היא פסילת הגזר *B. trigonica*, בוצעו מבחני העברה ולימוד אינטראקציה בין החיידק והווקטור, נלמדה הדינאמיקה של אוכלוסיות הפסילה בניסוי זמני ההגנה בחוות עדן ונבדקו פסילות לנשיאת החיידק ממלכודות שנאספו בניסויים שונים במיזם. נערך סקר מקיף ב-28 חלקות גידול מסחריות בשלשה אזורים בארץ ובוצעו שני ניסויי שדה (בסעד ובחוות עדן). דוגמים העריכו את גודל אוכלוסיית הפסילות ואת רמת הנגיעות בחלקות המסחריות ובחלקות ניסויי השדה. נאספו בוגרים של פסילות ונקבע אם הם היו מאוכלסים בליבריקבטר. פסילות אכלסו את כל חלקות הדגימה כבר באמצע חודש ינואר; גודל אוכלוסיית הפסילות מושפע מהגיל הפיזיולוגי של הצמחים; שכיחות הפסילות המאוכלסות בחיידקים עלתה עם הזמן; בכל מקרה, רק אחוז קטן מהפסילות מאוכלסות בחיידקים. בנגיעות נמוכה דגם הפיזור המרחבי של המחלה הוא במוקדים; בתוך מוקד, הצמחים הנגועים מפוזרים לאורך השורות; בנגיעות בינונית-גבוהה דגם הפיזור המרחבי של המחלה הוא אקראי; בשתי חלקות מסחריות בסעד שלא רוססו בתכשירי הדברה נערכו 8 ניסויים בהם נבחנו היעילות של 24 תכשירי הדברה שונים כנגד שלב הביצים ושלב הנימפות של הפסילה.

הנחת העבודה העיקרית העומדת בבסיס המיזם היא שניתן יהיה להתמודד עם הווקטורים של מחלת הצהבון בגזר ע"י לימוד שטתי של המהלך האפידמי של קומפלקס מחלות הצהבון ועל ידי פיתוח אמצעים להפחתת הינגעות הצמחים בגורמי המחלה השונים וזאת על ידי אימוץ טיפולי הדברה יעילים כנגד הציקדות והפסילות הנושאים ומפיצים אותם.

יעד המיזם: פיתוח ממשק גידול מיטבי לגזר איכותי חפשי ממחלת הצהבון. המיזם יכלול מחקר בתחומים שונים, אך המשותף לכולם הוא התמודדות עם הווקטורים ועם גורמי המחלה.

מטרות המיזם:

- פיתוח אמצעי זיהוי של גורם המחלה: החיידק ליברובקטר ולימוד האטיולוגיה של החיידק.
- חקר הגורמים המשפיעים על התפתחות מחלת הצהבון הגזר בזמן ובמרחב.
- קביעת מקורות המידבק הראשוני ואפיון דרכי ההעברה וההפצה של גורם המחלה באמצעות פסילות על פני ציר מועדי הזריעה של שדות הגזר באזורי הגידול השונים.
- קביעת רמת הרגישות והאפשרות לקיום עמידות נגד תכשירי הדברה הנמצאים בשימוש בשדות גזר, בקרב הציקדות והפסילות על ידי מבחני יעילות מעבדתיים.
- פיתוח ממשקי גידול לגזר, הדברה של הווקטור, ושיטות טיפול ומניעה של המחלה.

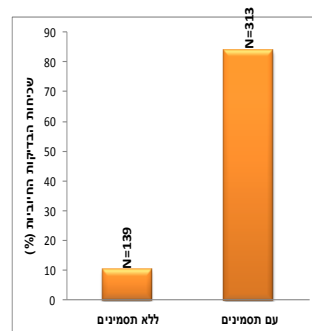
3.1 לימוד האטיולוגיה של מחלת צהבון הגזר: (מוניר מואסי, ל. מסלינין ועבד גרה)

מטרות המחקר

- לימוד האטיולוגיה של מחלת "צהבון הגזר" ומעורבות החיידק ליברובקטר במחלה.
 - פיתוח אמצעי זיהוי רגשיים וספציפיים למחלה.
 - בחינת העברת החיידק בזרעים אמתיים של גזר.
- בשנה הראשונה של המיזם נעשו מבחני PCR שונים במטרה לכייל שיטה רגישה לזיהוי החיידק בצמחי גזר. השיטות כללו שימוש ב-PCR ישיר ו-NESTED-PCR תוך כדי השימוש בזוגות שונים של פריימרים. בשיטת ה-NESTED-PCR הינו עדים לתוצאות בלתי אמינות בבדיקות

כנראה בשל זיהומים. לאור זה עברנו לשיטה המבוססת על PCR ישיר להגברת מקטע ארוך כ 1200 בסיסים מרצף ה- 16S RNA. השיטה הייתה יותר אמינה.

במהלך שלוש השנים של המיזם קיבלנו למעבדה צמחי גזר אשר נאספו ע"י שותפים במיזם משדות גזר מאזורים שונים בארץ. מספר הדוגמאות אשר נבדקו במעבדה שלנו במשך כול תקופת המחקר היו יותר מ 3000 דוגמאות. התוצאות של הבדיקות מסוכמות בדוחות של הקבוצות הרלוונטיות. בבדיקות אשר נעשו לשותפים במיזם נבדקו מאות צמחים סימפטומטיים ולא סימפטומטיים לשלושת הפתוגנים פיטופלסמה, ספירופלסמה וליבריבקטר. התוצאות שהתקבלו הראו כי הצמחים המראים תסמיני מחלה מרביתם היו נגועים בחיידק הליבריבקטר (Lso) ורק במקרים בודדים נמצאה נגיעות בספירופלסמה. הצמחים שאינם מראים תסמיני מחלה לא הכילו את חיידק הליבריבקטר, אם כי היו מעט צמחים ללא סימפטומים שבהם כן התגלה החיידק, במיוחד בצמחים אשר נאספו מהשדה במהלך חודשי אפריל (איור 1).



איור 1: תדירות הגילוי של החיידק *Ca. L. solanacearum* באמצעות PCR בצמחי גזר עם תסמינים ובצמחים ללא תסמינים. התוצאות הראו כי הצמחים המראים תסמיני מחלה מרביתם היו נגועים בחיידק הליבריבקטר (Lso)

פיזור החיידק בחלקי צמח שונים:

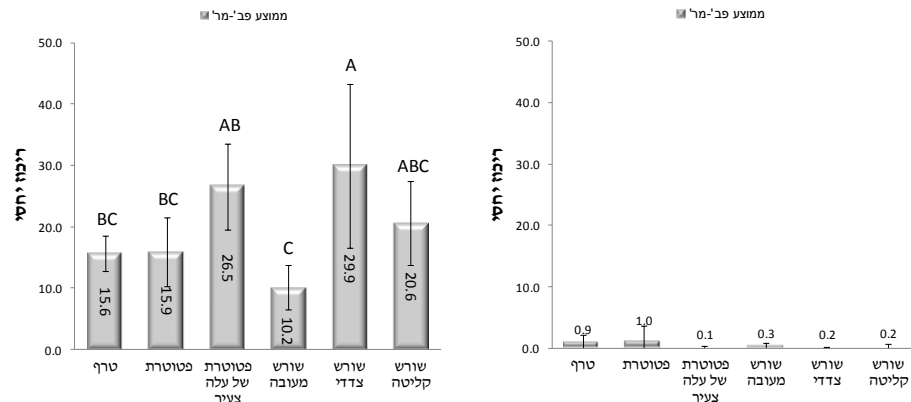
פיזור החיידק ברקמות הצמח צפוי שיהיה שונה בהתאם לרקמת השיפה. על מנת לבדוק את החלק של הצמח המאוכלס ביותר ואשר יהיה מתאים ביותר לבדיקות מעבדה, דגמנו צמחי גזר מחלקים שונים: שורשים, אשורש, פטוטרת עלים צעירים אשר צמחו כתוצאה מאיבוד שלטון קודקודי (עלים אדוונטיביים), פטוטרת עלים נורמאליים, עורק של עלה רגיל, טרף של עלה רגיל. התוצאות ה-PCR הראו כי שורשים ופטוטרת של עלים האדוונטיביים היו מאוכלסים בחיידק יותר משאר החלקים האחרים.

העברת החיידק באמצעות כשות:

במטרה לבדוק את הפוטנציאל של החיידק הנמצא בגזר להדביק פונדקאים אחרים נעשו ניסיונות להעביר את החיידק באמצעות כשות. הכשות הונחה על צמחי גזר נגועים בחיידק, הגדלים בדליים בחממה מבוקרת. לידם הונחו עציצים קטנים בהם גדלים צמחי עגבנייה, פלפל, תפוחי אדמה, ווינקה. לאחר שבוע ימים הבחנו כי הכשות גדלה והתפשטה על הצמחים האלה. כעבור 10-14 ימים נלקחו עלים מהצמחים האלה ונבדקו לנוכחות החיידק. התוצאות שהתקבלו הראו כי החיידק עבר מהכשות לצמחי הווינקה, העגבנייה והפלפל (אומת ע"י קביעת רצף תוצרי ה-PCR). בתפוחי אדמה, טרם הצלחנו לגלות העברה של החיידק.

זיהוי החיידק בשיטת qPCR

במסגרת המחקר פותחה מערכת של qPCR לגילוי החיידק בחלקים שונים בצמח וכיילה לצורכי יישום לדיאגנוסטיקה. שיטת ה-qPCR נחשבת לשיטה יותר רגישה כי תוצר ההגברה מסומן במולקולה פלורוסנטית וניתן לעקוב אחר תוצר ההגברה בזמן אמת תוך כדי הריאקציה. השיטה היא יקרה בהרבה משיטת ה-PCR הרגילה אך היא חשובה לצורכי מחקר ונחוצה לאימות הדבקה בפתוגנים בחומר צמחי המשמש חומר ריבוי. כרמל פורת, במסגרת עבודת המסטר שלה, הקימה וכיילה מערכת כזו במעבדה והמערכת יכולה היום לשמש אותנו לגילוי החיידק בצמחים חשודים. חשוב לציין כי היו צמחים אשר היו שליליים ב-PCR הרגיל אך חיוביים ב-REAL-TIME (ערכי CT 30 ויותר). בנוסף באמצעות ה-qPCR נבדקו חלקי צמח שונים ונמצא כי הפטוטרת של עלים צעירים ושורשים הכילו יותר חיידק מחלקים אחרים (איור 2).



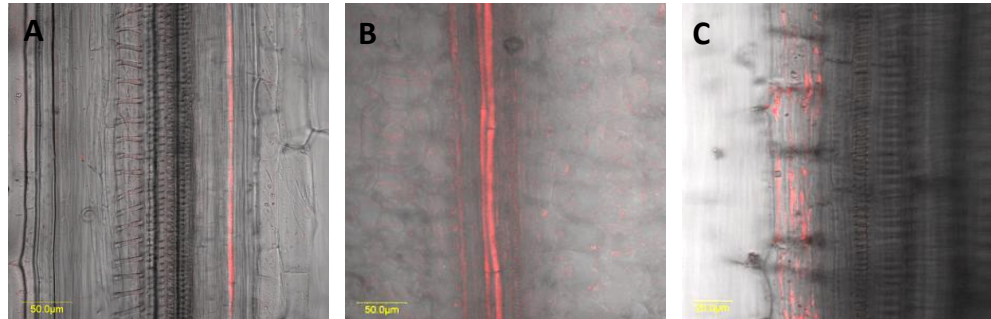
איור 2: ערכי הריכוז היחסי הממוצע של החיידק *Ca. L. solanacearum* בקבוצות איברי הצמח השונים של צמחים ללא תסמינים (צד ימין) ושל צמחים עם תסמינים. הערכים חושבו על סמך תוצאות ניסויי qPCR. שים לב כי בצמח ללא תסמינים קבוצות האיברים השונות, אינן נבדלות סטטיסטית.

פיתוח אמצעי סירולוגי לזיהוי החיידק:

במסגרת המחקר נעשו ניסיונות לבניית מערכת לזיהוי סירולוגי של החיידק. בודדנו מקטע של חלבון חוץ-ממברנאלי של החיידק. הגן של החלבון שובט לתוך פלסמיד המיועד לביטוי חלבונים (pET28a), וביטוי החלבון מהפלסמיד הריקומביננטי נעשה בחיידקי *E. coli*. החלבון בודד מהחיידקים ונשלח לחברה מסחרית (סיגמה). הנוגדן שהתקבל נבדק במבחני Western blot בצמחים סימפטומטיים. לא התקבל זיהוי חלבון חיידק ספציפי במיצוי החלבונים מצמחים נגועים.

זיהוי ומיקום החיידק ברקמות צמחיות באמצעות שיטת FISH:

זו גישה המבוססת על היברידיזציה של גלאי ספציפי לחיידק בתוך הרקמה הצמחית. הגלאי מסומן במולקולה פלורוסנטית וניתן לגלות את תוצאות ההיברידיזציה במיקרוסקופ פלורוסנטי. סונתזו שני גלאים כאלה המסומנים עם Cy-3 בקצוות ה-5' ששמנו אותנו לגילוי הליבריבוקטר בגזר נגוע. כפי שרואים באיור 3 ניתן לגלות את החיידק ברקמת השיפה של פטוטרת עלים צעירים. החיידק אינו מפוזר באופן אחיד בשיפה. נציין כי מבין 30-50 חתכים יכולנו לגלות צביעה טובה של החיידק ב-2-3 דוגמאות בלבד, ולכן ניתן להסיק כי השיטה מתאימה לחקר פיזור החיידק ברקמות הצמח הנגוע אך איננה מתאימה ליישום למטרות דיאגנוסטיקה.



איור 3: זיהוי החיידק *Ca. L. solanacearum* באמצעות שיטת FISH בצינורות השיפה של חתכי אורך מפטוטרת של צמחי גזר, שנאספו מחלקות מסחריות ונמצאו נגועים. התמונות צולמו בעזרת מיקרוסקופ קונפוקאלי. A, צמח נגוע מקיבוץ סעד; B, צמח נגוע ממושב דבורה; C, צמח נגוע מחוות עדן.

בחינת העברת החיידק בזרעים אמתיים של גזר:

לאחרונה הועלתה טענה כי חיידקי ליבריקטר התוקף הדרים מועברים בזרעים. בדקנו באם זרעי גזר יכולים גם הם לשמש כמקור להפצת חיידקי הליבריקטר. נבדקו זרעים של זני גזר שונים באמצעות PCR. בזרעים של זן מאיסטרו התקבל תוצר PCR אשר לאחר קביעת הרצף נמצא ספציפי לחיידק הליבריקטר Lso. הזרעים של שאר הזנים היו נקיים. תוצאה זו יכולה להעיד כי הזרעים של הזן מאיסטרו מאולחים בחיידק. בבדיקות ב- qPCR של סטוקים של זרעים שנרכשו ע"י משקים מסחריים בעשר השנים האחרונות, התברר שהחיידק זוהה במספר זנים כולל בזרעים שנרכשו בלתינצאה זו יש משמעות מדעית ואפידמיולוגית חשובה, כי היא יכולה להעיד כי החיידק נמצא בגזר בארצות אירופה.

על מנת לבדוק באם זרעים מאולחים בחיידק עלולים להנביט צמחים נגועים בחיידק, הנבטנו את הזרעים והצמחים שהתקבלו נבדקו באמצעות PCR לנוכחות החיידק ליבריקטר חודשיים לאחר הנביטה. התוצאות שהתקבלו, 90 יום לאחר זריעה, הראו כי הצמחים היו חופשיים מהחיידק. הצמחים ייבדקו בתדירות של חודש עד סוף עונת הגידול.

3.2 טיפוסים של הליבריקטר הקיימים בארץ: (אופיר בהר)

בשנים האחרונות נמצאה אסוציאציה גבוהה בין הופעת סמפטומים של מחלת הצהובן בגזר עם נוכחות החיידק הפתוגני ליבריקטר (*Ca. Liberibacter solanacearum*). חיידקי ליבריקטר ממין זה נמצאו גם באסוציאציה עם מחלות צהובן בגידולי סוככיים אחרים כגון פטרוזיליה וסלרי ועם מחלת ה- zebra chip בגידולים סולניים (תפ"א ועגבנייה). בתוך המין *solanacearum* הוגדו עד כה 5 טיפוסים (A-E haplotypes). טיפוסים A ו-B נמצאו עד כה באסוציאציה אך ורק עם צמחים סולניים ואילו טיפוסים C, D ו-E נמצאו באסוציאציה עם גידולים סוככיים. מעניין הוא שבתוך הטיפוסים שנמצאים באסוציאציה עם גידולים סוככיים נמצאה הפרדה גיאוגרפית ברורה כאשר טיפוס C נמצא בצפון אירופה (שבדיה, פינלנד, נורבגיה) ואילו הטיפוס D נמצא בדרום אירופה (ספרד והאיים הקנריים). הטיפוס E נמצא באסוציאציה עם צמחי סלרי וגזר בספרד.

מכיוון שנראה כי קיימת ספציפיות בין טיפוסים ובין פונדקאים ואזורים גיאוגרפים ראינו לנכון לעשות סקירה של דוגמאות גזר הנגועות במחלת הצהבון ופסילות שנושאות את גורם המחלה מאזורים שונים בארץ על מנת לקבוע אילו טיפוסים קיימים בארץ. סקירה זו נעשתה על ידי הפקות DNA מצמחי גזר נגועים ומפסילות נשאות (או שימוש בהפקות DNA שכבר נעשו בשנים קודמות במסגרת המיזם) ולאחר מכן ביצוע PCR לאחד הגנים (16S rDNA) שעל פיו מקובל לקבוע את הטיפוסים השונים וריצופו.

תוצאות:

עד כה רוצפו מעל 20 תבדידים שונים מאזורים שונים בארץ וממאכסנים שונים. על פי רצף ה-16SrDNA נמצא כי כל התבדידים הם מטיפוס D, אותו טיפוס אשר נמצא בצמחי גזר בספרד ובאיים הקנריים.

סיכום ומסקנות

נראה כי באזורנו הטיפוס הבולט הוא הטיפוס D. תוצאה זו היא סבירה בהתחשב בכך שהאזורים בהם נמצא טיפוס זה (ספרד והאיים הקנריים) נמצאים בקרבה יחסית לישראל לעומת האזורים בהם נמצאו טיפוסים אחרים (טיפוס C לדוגמה שנמצא בצפון אירופה) ובדמיון האקלים ביניהם לבין ישראל. כמו כן, חשוב לציין כי הטיפוס D אשר נמצא בספרד ובאיים הקנריים נמצא באסוציאציה עם הפסילה *Bactericera trigonica* אשר נמצאה כפסילה הנשאית של החיידק גם בישראל. בצפון אירופה הפסילה שמשמשת כווקטור היא *Trioza apicalis* אשר נמצאה כנשאית של טיפוס C. טרם הוברר האם טיפוסים שנמצאו בסוככיים מסוגלים להדביק גם צמחיים סולניים ולהיפך. כמובן ששאלה זו תלויה גם בנוכחות הווקטור המתאים ויש לה השלכות מרחיקות לכת באשר להיתכנות הופעת מחלות ליבריבקטר אחרות כגון zebra chip ואף גרינינג.

3.3 אינטראקציה של פסילת הגזר עם גורם מחלת הצהבון ודינאמיקה של

אוכלוסיית הווקטור: (מוראד גאנם, סבטלנה קונצידלוב, גלינה לבדב)

1. הגדרה מולקולארית של הווקטור

מקובל היה לחשוב שהווקטור של החיידק הוא המין *Trioza apicalis* בארץ וזאת הפסילה העיקרית שמעבירה את החיידק באירופה. המין הזה נפוץ בארצות קרות ולא דווח מהמזרח התיכון. לעומת זאת, מין נוסף, *Bactericera trigonica* דווח ממדינות אגן הים התיכון כולל ישראל. ריצוף של הגן הריבוזומאלי 5.8S הראה שהרצף קרוב ביותר לרצף מפסילת תפוחי אדמה *Bactericera cockerelli* ברמת דמיון של 87% ולכן הסקנו שהמין הנפוץ בשדות הגזר בארץ שמעביר את גורם מחלת הגזר הוא *B. trigonica*. באיור 1 מוצג הרצף שהתקבל מפסילות שנאספו בשדות גזר בארץ. נציין שרוצפו הרבה מאוד פרטים וכולם השתייכו לאותו מין.



תמונה 1. פסילת הגזר *B. trigonica* (צד ימין) וצמחי גזר עם פסילות בתרבית מעבדה.

2. ביסוס קווי מעבדה מפסילת הגזר נגועים וחופשיים מהחיידק

בתחילת העבודה נאספו פרטים של פסילת הגזר משדות עם צמחים צעירים על מנת לבסס אוכלוסיה ללא החיידק. לשם כך הוכנו צמחי גזר מזרעים שנזרעו במעבדה. הפרטים שנאספו מהשדה נבדקו לנוכחות של החיידק ונמצאו חופשיים. מחזור החיים של הפסילה בתנאי מעבדה אורך כשלושה שבועות והפסילה עוברת בדרגת ביצה, מספר דרגות זחל עד לבוגר. הגזר נמצא כצמח יעיל לאחזקת הגידול במעבדה אך הכנתו אורכת זמן רב ולכן נעשו מאמצים לאתר צמח פונדקאי חלופי לשימוש בתנאי מעבדה לאחזקת אוכלוסיית הפסילה, ונמצא שפטרזיליה יכול לשמש כצמח מצוין לאחזקת אוכלוסיות באיור 2 ניתן לראות את דרגות הזחל הביצה של פסילת האגס כפי שצולמה מתרבית המעבדה.



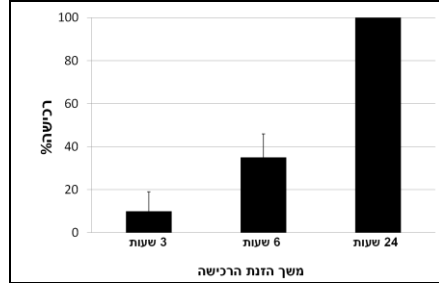
תמונה 2. זחלים (צד ימין) וביצה (צד שמאל) כפי שצולמו מתרבית מעבדה של פסילת הגזר

3. ביצוע מבחני העברה ולימוד אינטראקציה בין החיידק והווקטור

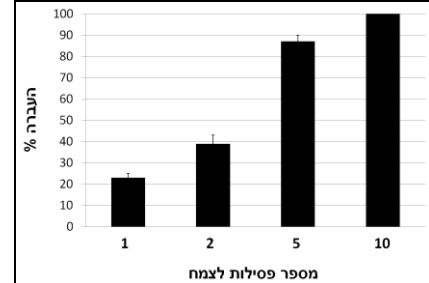
אחת המטרות העיקריות של עבודה זו הינה לימוד הפרמטרים של הרכישה וההעברה של הליבריאקטר על ידי פסילה. לשם כך ביססנו צמחי גזר נגועים על ידי הדבקתם בעזרת פסילות שנשא את החיידק בתוך כלובים. תרבית של פסילות נגועות בחיידק הוכנה במעבדה על ידי רכישה מצמח נגוע ולאחר מכן ביסוס אוכלוסיה זו על גזר נגוע בחיידק. נעשו מספר ניסויים:

א. רכישת החיידק. נמצא שבזמן רכישה מינימאלי של 3 שעות, אחוז קטן מהפסילות רוכשות את החיידק. עם העלייה בזמן הרכישה נצפתה עלייה באחוז הפסילות הנגועות עד ל- 100% לאחר 24 שעות רכישה (איור 3).

ב. מספר פסילות להעברת החיידק. נמצא כי בניסויי העברה עם פסילה אחת לצמח אחוז ההעברה הוא נמוך לכ- 20%, והוא עולה עם מספר הפסילות (איור 4).

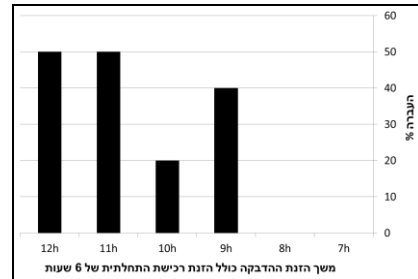


איור 4. העברת החיידק כתלות במספר הפסילות לצמח.

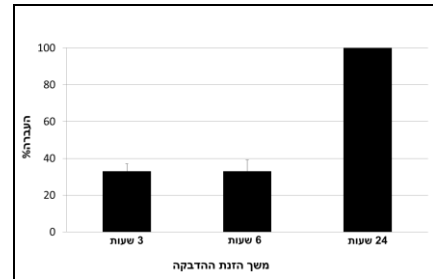


איור 3. רכישת הליבריאקטר על ידי פסילות לזמני רכישה שונים.

ג. הזמן המינימאלי להעברת החיידק. נמצא כי לאחר שלוש או שש שעות, אחוז ההעברה מגיע לכ- 30% עם 5 פסילות לצמח והוא עולה ל- 100% לאחר 24 שעות (איור 5).

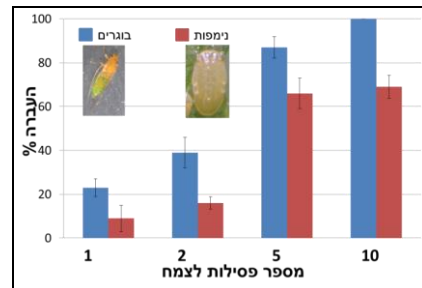


איור 6. משך התקופה הלטנטית להעברת ליבריאקטר על ידי פסילת הגזר.

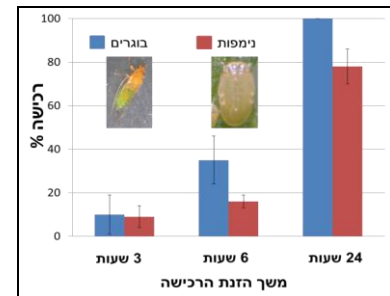


איור 5. העברת החיידק כתלות במשך הזנת ההדבקה.

ד. תקופה לטנטית בוקטור. באיור 6 ניתן לראות שהתקופה הלטנטית המינימאלית היא 9 ש'. **ה. יעילות רכישה ע"י בוגרים ונימפות.** נמצא שהחיידק נרכש לאחר 3 שעות מתחילת הזנת הרכישה, והרכישה עולה עם הזנת הרכישה ומגיע ל- 100% לאחר רכישה של 24 ש' (איור 7). **ו. מספר פסילות מינימאלי להעברת החיידק על ידי בוגרים ונימפות.** נמצא שבוגרת אחת או נימפה אחת יכולות להעביר את החיידק וככל שהמספר עולה, העברת החיידק עולה (איור 8).

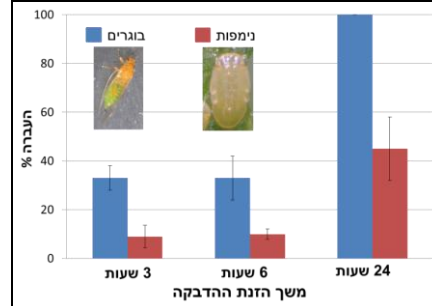


איור 8. יעילות העברת הליבריאקטר ע"י בוגרים ונימפות כתלות במספר החרקים.



איור 7. זמני רכישת הליבריאקטר על ידי בוגרי ונימפות פסילת הגזר.

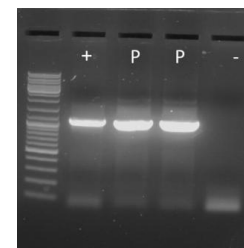
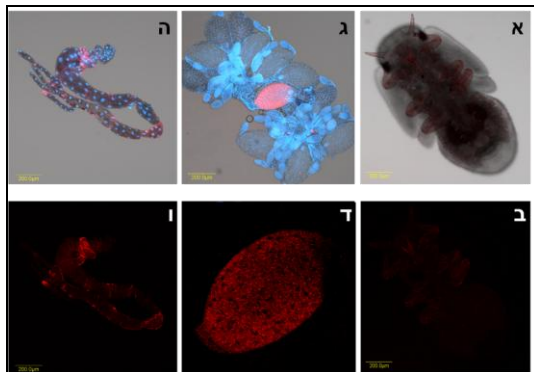
ז. זמן מינימאלי להעברת הליבריאקטר מהפסילה לצמחים. בניסויים אלה נמצא שתוך שלוש שעות החיידק מועבר מפסילה שרכשה מספיק אל צמחים. נמצא גם שבאופן כללי הבוגרים יעילים יותר בהעברת החיידק בהשוואה לנימפות (איור 9).



איור 9. זמן מינימאלי להעברת הליבריאקטר ע"י בוגרי ונימפות כתלות בזמן ההעברה.

4. ביסוס מבחן לגילוי החיידק בוקטור בעזרת FISH ו-PCR

לזיהוי החיידק בפסילה ניתן להשתמש בשיטות של PCR או ב- Fluorescence in situ (FISH) hybridization או ב- PCR גן ריבוזומאלי ספציפי לחיידק. ב- FISH משתמשים בגלאי ספציפי קשור למולקולה פלורוצנטית וב- PCR בתחלים ספציפיים. גלאי ספציפי באורך 20 בסיסים תוכנן לרצף משלים בגנום של החיידק ובוצעה היברידיזציה עם זחלים שלמים, מעי ושחלות שנותחו מבוגרי הפסילה. כפי שנראה באיור 10 צד שמאל, בעוד שבזחלים קשה לראות סיגנל, במעי ובשחלות ניתן לראות סימון ברור. הסימון בשחלות מעיד על העברה לצאצאים של הפסילה מה שדווח גם לגבי חיידקים דומים בפסילות אחרות.



איור 10. FISH (תמונה בצד שמאל) עם גלאי ספציפי לליבריאקטר על זחלים (א ו-ב), שחלות (ג ו-ד) ומעי (ה ו-ו). PCR (צד ימין) על פסילות בוגרות (+), צמחים (P) וביקורת שלילית (-).

6. בדיקת פסילות לנשיאת החיידק ממלכודות שנאספו בניסויים שונים במיזם

במהלך עונת 2013 ו- 2014 נבדקו פסילות ממלכודות שהובאו אלינו מהעמקים הצפוניים. מלכודות אלה משמשות לניטור וחיזוי הגעת הפסילות והעלייה באוכלוסיות. השנה נעשתה בדיקה לנגיעות פסילות שנלכדו במלכודות בחיידק. בשנת 2013 הנגיעות נצפתה כבר בתחילת פברואר, ולאחר מכן נצפתה עלייה בנגיעות בכל החלקות שמהן נאספו מלכודות. על סמך לכידות אלה ניתן לתכנן טיפולים לפי רמות האוכלוסיות והנגיעות הראשונה בחיידק. לעומת זאת בשנת 2104 רמת הנגיעות הייתה הרבה יותר נמוכה ונצפתה רק לקראת סוף העונה.

7. בדיקת יעילות תכשירי הדברה נגד פסילת הגזר

בשנת 2014 נאספה אוכלוסיית בוגרים של פסילת הגזר מחוות עדן, ביססנו אותה במעבדה ונבדקה לרגישותה לחומרי הדברה שונים, במטרה להרחיב את הבדיקה לאזורים שונים בארץ. ביססנו מבחן ביולוגי בתוך מבחנות פלקון שבתוכן הוכנס עלה גזר מטופל בחומר והתמותה

נבדקה לאחר 24 שעות. מטבלה 3 ניתן לראות שישנם חומרים שנותנים הדברה טובה בתנאי מעבדה (מודגשים בטבלה), בעוד שחומרים אחרים הראו יעילות נמוכה מה שמעיד על עמידות, או כאלה שלא הראו שום יעילות מה שמעיד על עמידות מוחלטת.

טבלה 3. רגישות אוכלוסיית פסילת הגזר שנאספה בחוות עדן לתכשירי הדברה בריכוז המומלץ (1X), חצי מהריכוז המומלץ (X0.5) וריכוז כפול מהמומלץ (X2)

סמ"ק/דונם x2	סמ"ק/דונם x1	סמ"ק/דונם x0.5	חומר פעיל	טיפול
2 ± 0.8	7 ± 3	10 ± 3		בקורת
57 ± 6	33 ± 7	12 ± 3	SPIROTETRAMAT	מובנטו-100
90 ± 6	67 ± 11	56 ± 6	THIACLOPRID DELTAMETHRIN	פרותיאוס-150
97 ± 4	93 ± 7	81 ± 3	ACRINATHRIN	רופאסט-70
79 ± 9	68 ± 8	33 ± 6	SPINETORAM	ספרטה-30
82 ± 9	65 ± 10	66 ± 8	SPINOSAD	טרייסר-30
78 ± 3	53 ± 7	49 ± 6	THIAMETHOXAM	אקטרה-60
99 ± 12	89 ± 11	74 ± 5	DINOTEFURAN	איפון-75
67 ± 7	78 ± 6	72 ± 5	IMIDACLOPRID	קונפידור-100
98 ± 2	82 ± 6	50 ± 3	FENOXYCARB	אינסיגר-100
10 ± 7	7 ± 3	3 ± 0.6	FLONICAMID	טיפיקי-30
82 ± 4	84 ± 8	± 2 79	DIAFENTHIURON	בוננזה-75
93 ± 2	96 ± 2	± 7 67	DIAFENTHIURON	פגסוס-100

3.4 פיתוח גישה מושכלת, ידידותית לסביבה, למניעת הנזקים הנגרמים על ידי

מחלת הצהבון : (דני שטיינברג, מוניה מואסי ומוראד גאנס, ארז בן-נון ואלי שליון, קיבוץ

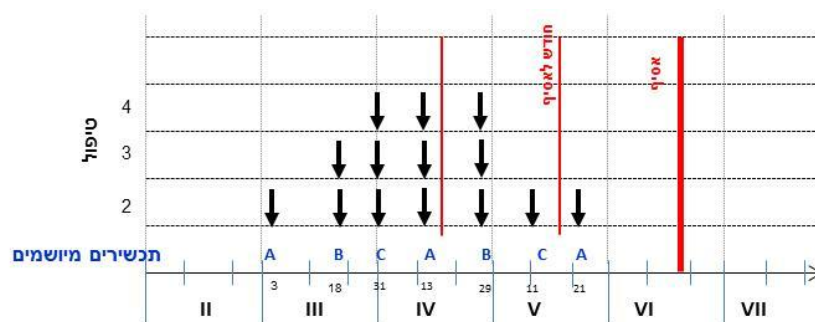
סעד; יוסי קנר, קיבוץ שלוחות)

1. היפותזות העבודה ומטרות

היפותזות העבודה בשנת המיזם השלישית היו: 1. מזרעי הגזר המוקדמים משמשים כגשר בין צמחי המקור לחלקות הנזרעות במועדי המזרע העיקריים; 2. המחלה מפחיתה את כמות היבול ליחידת שטח, פוגעת באיכות היבול ובכושר האיחסון שלו. התסמין המאפיין של המחלה הוא איבוד השילטון הקודקודי. כדי למנוע את הנזק שגורמת המחלה לכמות היבול ואת הפגיעה באיכות, יש להפחית את שכיחות הצמחים שנראים עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי במצב מבוסס. בהסתמך על היפותזות אלה הגדרנו את מטרות המחקר לשנת המיזם השלישית, כלהלן: 1. לבחון את הדינמיקה של התפתחות המזיק והמחלה ובמיוחד את חשיבות חלקות הגשר כמקור מידבק ראשוני לחלקות הנזרעות בתקופת המזרע העיקרית; 2. לכמת את השפעת

2. שיטות העבודה

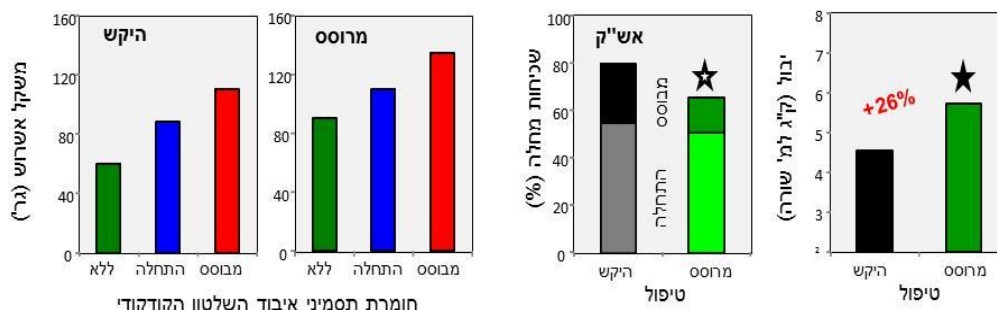
לשם קביעת השפעת תסמיני איבוד השילטון הקודקודי של איכות הגזרים נדגמו מארבעת הניסויים ומחמשת החלקות המסחריות גזרים שנראו עליהם תסמינים של איבוד השילטון הקודקודי בעוצמות שונות. מכל קבוצת נגיעות היו 5 גזרים (חזרות) בגודל ומשקל דומים. כל גזר נבחן בנפרד ונקבע המשקל הסגולי שלו (משקל/נפח), יחס הקטרים ליבה/אשרוש ותכולת הסוכר (בערכי TSS). בנוסף, אוחסנו גזרים עם וללא תסמינים של איבוד שילטון קודקודי בבית אריזה למשך חודש עד ארבעה חודשים ולאחר מכן הם הועברו לחיי מדף למשך שבועיים. במהלך תקופה זו נערך מעקב מידי יומיים שלושה לקביעת התפתחות של תסמיני עובש על הגזרים.



14

3.1 השפעת המחלה על כמות היבול בשדה

בניסויים שבצענו ובדגימות שנאספו מחלקות מסחריות מיינו את הצמחים לפי עוצמת תסמיני איבוד השילטון הקודקודי שנראו עליהם ושקלנו את הגזרים. ממצאים מייצגים מניסוי אחד מתוארים באיור מספר 2. התברר, שכל שעוצמת התסמינים של איבוד השילטון הקודקודי הייתה גבוהה יותר כך היו הגזרים גדולים יותר. זו הייתה תוצאה לא צפויה מפני שמקובל היה להניח שהמשקל של הגזרים הסימפטומטיים נמוך יותר. בשלושה מתוך ארבעת הניסויים הגזרים שנדגמו מהחלקות שרוססו בקוטלי מזיקים היו גדולים יותר מהגזרים שנדגמו מחלקות ההיקש, בכל קבוצה של חומרת מחלה. בניסויים שבצענו ובניסויים ותצפיות שבצענו אחרים נמצא שהריסוס בקוטלי מזיקים הפחית משמעותית את גודל אוכלוסיית הנימפות אבל הוא לא הפחית במידה משמעותית את שכיחות הגזרים שנראו עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי. **בכל** הניסויים והתצפיות בהם הייתה מחלה הריסוס העלה את היבול בצורה משמעותית. תוספות היבול נעו בין 10% (בתצפית שבצענו אלי שליון וארז בן-נון בסעד בשנת 2013) ל- 77% (בניסוי שבצע עמוס עובדיה בצומת שוקת בשנת 2009). תוצאות דומות התקבלו גם בניסויים שאנחנו ביצענו (דוגמא באיור 2). הסיבה לעליה ביבול אינה ברורה, אבל ההדירות של התופעה מלמדת שהריסוס גורם להשפעה על הצמחים שאינה קשורה בתסמינים של איבוד השילטון הקודקודי.



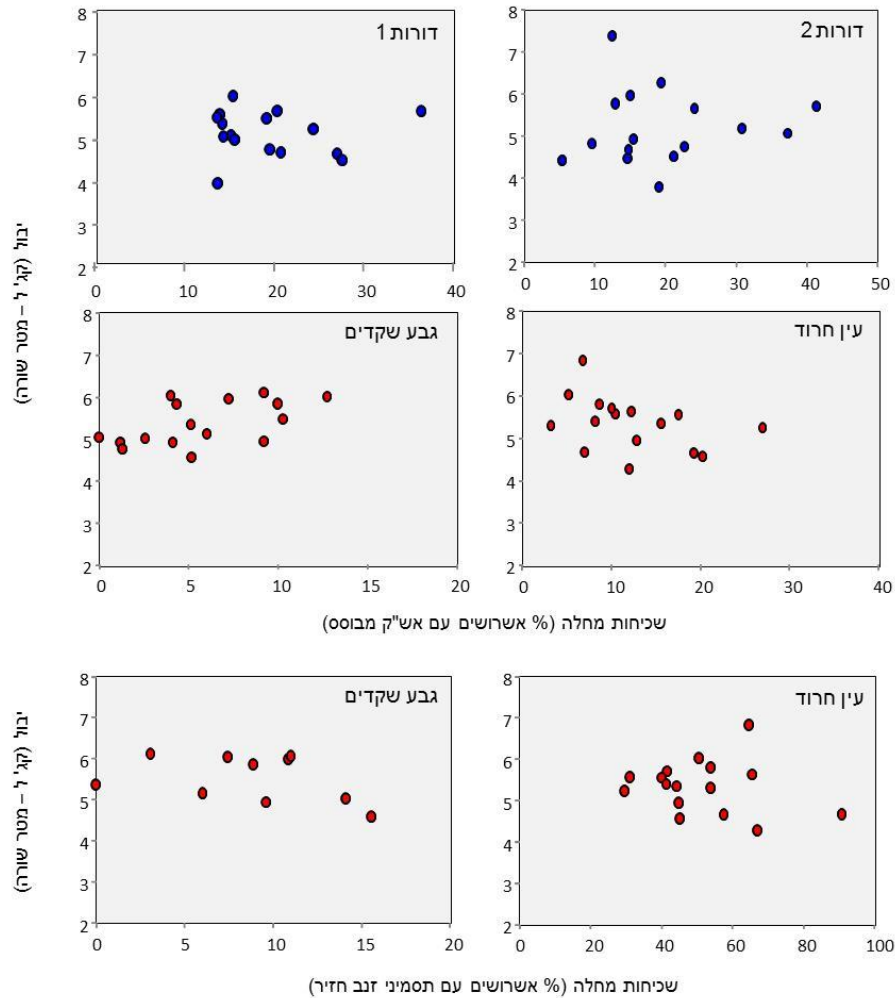
איור 2. השפעת הריסוס בקוטלי מזיקים על משקל אשורשים בודדים שנראו עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי בדרגות חומרה שונות, על שכיחות הצמחים שנראו עליהם תסמינים של איבוד השילטון הקודקודי ועל היבול בניסוי של חברת מכתשים בדורות. השפעת הריסוס של משקל האשורשים נבחנה בניתוח שונות דו-גורמי ונמצא שההשפעות העיקריות של הריסוס ושל חומרת המחלה היו מובהקות ($P > 0.003$). השפעת הגומלין בין שני הגורמים העיקריים לא הייתה מובהקת. ערכי עמודות שלידן סימן כוכב שונים זה מזה במובהק ($P < 0.05$).

הדרך לבחינת מידת ההשפעה של מחלה מסוימת על היבול הנאסף ליחידת שטח היא על ידי חישוב פונקציית הנזק. פונקציית הנזק היא פונקציה המתארת את הקשר הכמותי שבין שכיחות (או חומרת) המחלה לבין כמות היבול. מתאם שלילי בין שני המדדים מבטא החמרה בנזק עם העלייה בחומרת המחלה. בכל הבדיקות שבצענו, עבור כל מדדי המחלה, לא נמצא מתאם כל שהוא בין חומרת המחלה לכמות היבול הנאסף בשדה. דוגמאות לחלק מפונקציות הנזק שצוירו מוארות באיור מספר 3. ממצא זה לא היה צפוי מפני שמקובל היה להניח שמחלת הצהבון גורמת לפחיתה בכמות היבול. הממצאים הניסויים שלנו סותרים מקובלה זו. ממצא זה מתאים

לתוצאות שתוארו למעלה בהם מצאנו שהממד המקובל לאיפיון המחלה – תסמינים של איבוד השילטון הקודקודי – לא נמצא במתאם לכמות היבול ליחידת שטח. ממצא זה סותר לכאורה את העובדה שאשרושים של צמחים שיש עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי גדולים יותר מאשרושים של צמחים ללא תסמינים. אבל אין כאן סתירה אמיתית מפני שהאשרושים של צמחים בריאים שגדלו בסמוך לצמחים הסימפטומטיים היו קטנים יותר (תוצאות לא מוצגות).

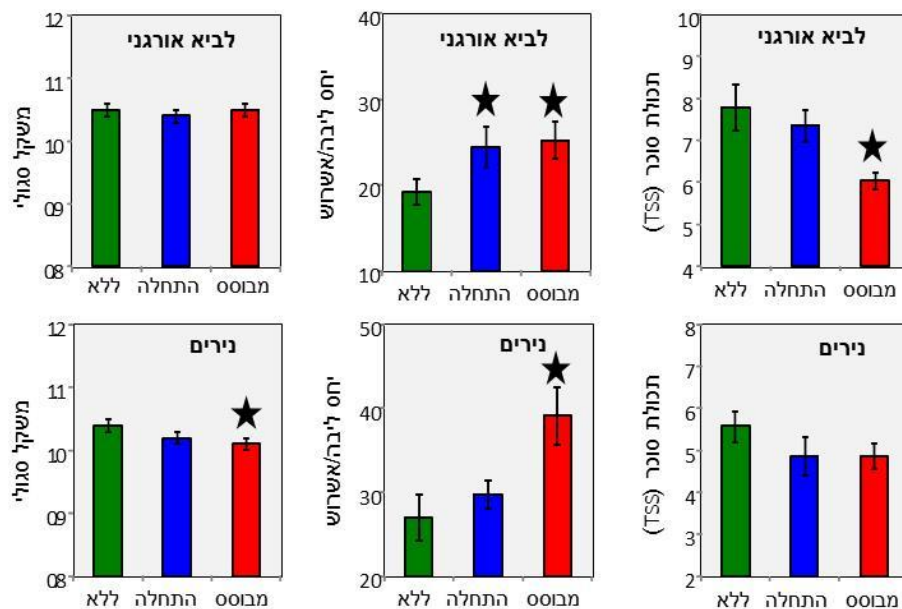
3.2 השפעה על איכות היבול

השפעת תסמיני איבוד שילטון קודקודי על איכות הגזרים נבחנה בגזרים שנדגמו מהניסויים ובגזרים שנדגמו מחלקת מסחריות. תוצאות משתי חלקות מייצגות מופיעות באיור מספר 4. המשקל הסגולי של גזרים סימפטומטיים לא נפגע בצורה משמעותית אבל יחס הקטרים ליבה/אשרוש היה גדול יותר; המשמעות היה שבאופן יחסי החלק העצי של הציבה היה גדול יותר בגזרים סימפטומטיים מאשר בגזרים א-סימפטומטיים. גם המתיקות של הגזרים הפגועים הייתה נמוכה יותר במרבית המקרים (איור מספר 4). נכון לעכשיו התמורה אותה מקבלים המגדלים עבור היבול שלהם לא נקבעת על פי מדדי איכות אלה. אבל מהבדיקות עולה שהאיכות של הגזרים הסימפטומטיים פחותה.



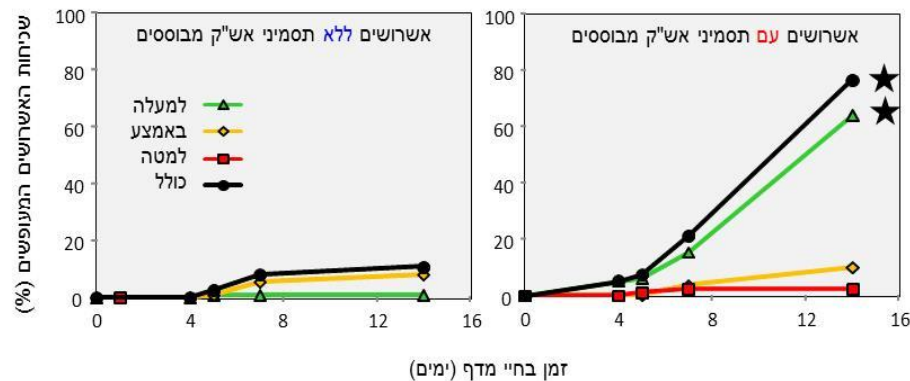
איור 3. פונקציות הנזק המתארות את הקשר שבין שכיחות הצמחים שנראו עליהם תסמינים במצב מבוסס (ארבעה איורים עליונים) או שכיחות הצמחים שלאשרושים שלהם היה "זנב חזיר" (שני האיורים התחתונים) ליבול שנאסף ממטר שורה, בארבעה ניסויי שדה שבוצעו בשנת 2014.

קיים קושי לקנב בצורה טובה צמחים שנראים עליהם תסמינים של איבוד השילטון הקודקודי, במיוחד כאלה עם תסמינים מבוססים. במקרים אלה נשארים בחלק העליון של האשרוש גבעול קצר שעליו נמצאים בסיסי העלים. במהלך האיסון של גזרים שלא קונבו כראוי יש סכנה שיתפתחו פטריות עובש על שאריות העלים. כדי לבחון נושא זה הוכנסו גזרים שקונבו כראוי וגזרים שהיו עליהם תסמינים של איבוד השילטון הקודקודי לאיחסון לתקופה שנמשכה בין חודש לארבעה חודשים ולאחר מכן נערך מעקב אחר הופעת איפוש בחיי מדף במשך שבועיים. ממצאי הבדיקה הראשונה (שבוצעה לאחד איחסון של חודש) מתוארים באיור מספר 5. לאחר שבוע בחיי מדף התחילו להתפתח תסמיני עיפוש בשאריות העלים שלא קונבו בצורה טובה ואחרי שבועיים נראו תסמינים על מרבית הגזרים. ממצאים דומים נמצאו בבדיקות שבצענו אחרי איחסון של חודשיים ושלושה חודשים אבל במקרים אלה העלייה בשכיחות הגזרים המעופשים הייתה מוקדמת יותר בחיי המדף. לאחר איחסון של ארבעה חודשים כ – 50% מהגזרים שיצאו מהאיחסון כבר היו מעופשים, עוד לפני העברתם לתנאים של חיי מדף (תוצאות לא מוצגות). המסקנה שעולה מכל היא שכדאי לשווק מיידית, ולא לאחסן, גזרים שנאספו מחלקות גידול שנראו בהם תסמינים ש איבוד שיטון קודקודי. כדאי להכניס לאיחסון רק גזרים שנאספו מחלקות שלא התפתחו בהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי.



חומרת תסמיני איבוד השילטון הקודקודי

איור מספר 4. השפעת הנגיעות בתסמיני איבוד שילטון קודקודי על מדדי איכות שונים של גזרים שנדגמו מחלקה מסחרית שגודלה בממשק אורגני בלביא (שלושת האזורים העליונים) ומחלקה מסחרית שגודלה בממשק קונבנציונאלי בנירים (שלושת האזורים התחתונים). ערכי עמודות שלידן סימן כוכב שונים מהערכים של צמחים ללא תסמינים במובהק ($P < 0.05$). הקווים האנכיים מייצגים את שגיאת התקן.



איור מספר 5. התפתחות תסמיני עיפוש בגזרים שהיו עם תסמיני איבוד שילטון קודקודי מבוססים וללא תסמינים בחיי מדף (21 מעלות צלזיוס) לאחר שהיה באיחסון במשך חודש (ב – 4 מעלות צלזיוס). ערכי סימנים באיור הימני שלידם יש כוכבים שונים במובהק ($P>0.05$) מהערכים המקבילים באיור השמאלי.

4. סיכום ומסקנות לגבי פיתוח ממשק להתמודדות עם המחלה

הממצאים שעלו מהמחקר שבצענו בשנת 2014 ובכלל זה הממצאים שלא הוצגו כאן אוששו את ההיפתחות שהפסילות המתפתחת בחלקות הגידול הנזרעות במזרעים העיקריים (ספטמבר-דצמבר) מגיעה מחלקות גשר (החלקות הנזרעות ביולי-אוגוסט) הנמצאות באותו תת-אזור. אבל האוכלוסייה נבנית לאחר מכן בחלקה עצמה בהתאם לגיל הפיזיולוגי של הצמחים. מכאן עולה שכדאי לרכז את המזרעים בתתי אזורים ולצמצם את פער הזמן הקיים בתת-אזור מהמזרע הראשון לאחרון. התברר שבוגרים של הפסילות שורדים את החורף באוכלוסיות גדולות אבל ההטלה של ביצים תלויה בטמפרטורה לכן לא ניתן להשתמש בניטור במלכודות צהובות ככלי לקבלת החלטות להדברה. נמצאו הבדלים בדפוס האיכלוס של הפסילות בחיידקים בין שטחי הגידול בדרום לאילו הנמצאים בעמקים הצפוניים. חזרנו ומצאנו שעם הזמן יש עלייה אקספוננציאלית בשכיחות הצמחים שהתפתחו עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי ושניתן להתחמק מהתופעה באמצעות אסיף שיתבצע עד אמצע חודש מאי. אסיפים המבוצעים אחרי ראשון ביולי מועדים לפגיעה וחומרת המחלה באסיפי אמצע מאי עד סוף יוני תלויה בטמפרטורות השוררות בסוף החורף. בשנים עם חורפים קרים תהיה חומרת המחלה באסיפים אלה נמוכה ובשנים עם חורפים חמים היא תהיה גבוהה יותר. התברר שהמשקל של גזרים סימטומטיים גבוה יותר מהמשקל של גזרים א-סימטומטיים אבל נמצא שהמחלה לא משפיעה על כמות היבול ליחידת שטח (בגלל תהליכי קומפנסציה). ריסוס בתכשירים קוטלי מזיקים הפחית משמעותית את כמות הנימפות המתפתחות בחלקה אבל לא השפיע על שכיחות הצמחים עם איבוד שילטון קודקודי. למרות זאת, הריסוס העלה את היבול. ההסבר לתופעות אלו אינו ברור עדיין. יתכן שהן נובעות מתהליכים המתרחשים בצמחים שנוגעו בחיידקים בשלבים המוקדמים של גידול האשורשים, עוד לפני שנראים עליהם תסמינים של איבוד שילטון קודקודי. מסקנה זו מחוזקת על ידי הממצאים הקשורים להשפעות המחלה על איכות הגזרים בצמחים הנגועים. הפגיעה באיכות היא תוצאה של פגיעה המתרחשת במהלך כל תקופת הגדול של האשורשים ולא רק בחלק

האחרון של הגידול, בו נראים ויזואלית תסמיני איבוד השילטון הקודקודי. יש להמשיך ולבדוק מסקנות אלה ולאוששן בניסויים מסודרים. בכל מקרה, נראה שהתסמינים את איבוד השילטון הקודקודי אינם מייצגים נכונה את ההשפעה של המחלה על הצמחים.

מכל האמור לעיל נראה שהדרך הטובה ביותר להתמודד עם הצהבון היא להתחמק מהמחלה. ניתן לעשות זאת על ידי קיבוץ מועדי המזרע בתתי-אזורים סמוכים, אסיף מוקדם ויישום של תכשירי הדברה קוטלי פסילות בחודשי החורף בחלקות המיועדות לאסיף בחודשים מאי, יוני ויולי. כדי למנוע את הנזקים הנגרמים באיחסון כדאי לשווק מידית את היבול שנאסף בחודשים המועדים לפגיעה (יוני ויולי) ולאחסן את היבול שנאסף בחודשים מוקדמים יותר.

3.5 רשתות וריסוסים והשפעתם על רמת הנגיעות במחלת צהבון הגזר: (משה בר-

יוסף, עבד גרה וצוות סעד)

תוצאות ניסוי שנה ראשונה:

בניסויים שערכו בשנה ראשונה, הסקנו שבחלקות שהיו מכוסים ברשת 50 מש התקבלה הגנה מוחלטת בתא שהיה סגור במהלך כל הגידול והתקבלה הגנה טובה מאוד בחלקות שנחשפו עד ל- 15 למרץ והגנה מצוינת בחלקות שנחשפו מ- 17 למאי ואילך. עוד התברר כי בתקופה מה- 16 למרץ עד 5 לאפריל בשנת הניסוי הייתה נדידה משמעותי של פסילות באוויר. חלון ההדבקה העיקרי במבחן הסימפטומטי היה מוגבל לחודש אפריל ושוליים של כחודש נוסף, ומכאן ניתן להסיק כי מועד ההדבקה העיקרי במזרע דצמבר-ינואר מקדים את מועד אסיף הגזר ב-3 חודשים מצב שיאפשר חסימת ההדבקה במועד הזה על ידי טיפולי הדברה נגד הפסילות.

תוצאות שנה שנייה:

הניסוי בשנת 2013 בא להשלים מידע שאספנו בשנת 2012 לגבי השאלות הבאות: האם קיים חלון הדבקה של צהבון הגזר ואם כן מה הוא מועדו של החלון בתנאי סעד? באופן מפתיע, והתנאים הגרועים של הניסוי, גם בשנה שנייה התקבלו תוצאות בעלות השלכות מעשיות ברורות. להלן סיכום עיקרי התוצאות:

1. כצפוי בחלקות הסגורות ברשת 50 מש לא נמצאה נגיעות בצהבון.
 2. בחלקות הפתוחות נמצאה נגיעות גבוהה של 72%.
 3. חלקות שנפתחו ב- 20 למאי לא נמצאו בהם צמחים נגועים.
 4. חלקות שנפתחו בין מחצית אפריל למחצית מאי שיעורי ההדבקה בהם היו 18% בלבד.
 5. חלקות שנפתחו ממחצית מרץ ועד למחצית מאי שיעורי ההדבקה היו גבוהים מאוד 90%.
 6. חלקות שהיו פתוחות מהזריעה וכוסו ב 15 למרץ ועד סוף הניסוי נמצאו נגועות במידה ניכרת באם הכיסוי לא לווה בריסוסים בקוטלי פסילות ואילו בחלקות שרוססו (קונפידנס ומובנטו) בשלב הכיסוי ואילך כדי לסלק פסילות שהספיקו לאלח את הצמחים שנכלאו מאוחר יותר תחת כיסוי הרשת שיעורי הנגיעות היו נמוכים מאוד.
- ניסויים אלה הראו כי יש הדבקה מסוימת גם לפני חלון ההדבקה העיקרי אבל טיפולי ריסוס יכולים למנוע התפתחות דות חדשים לאחר הכיסוי.

א. הוכחה ברורה לחלון הדבקה המשתנה בהתאם לתנאי האקלים כאשר בשנת 2013 בו האביב היה מוקדם במיוחד החלון התחיל כבשנה הקודמת אבל הסתיים כחודש מוקדם יותר.

ב. טיפולי ריסוס יש בהם כדי לצמצם במידה ניכרת את בעיית הגרירה של דורות שהדביקו בטרם התחלת חלון ההדבקה העיקרי.

ג. מידע שהתקבל ממחקר שנערך בפלורדיה לגבי פסילת ההדר נראה כי עיקר הבעיה היא לא ההדבקה הראשונית אלא דור הפסילות שהתמקם בחלקה במועד חלון ההדבקה לאחר שהטיל והקים דור חדש של בוגרים מדביקים בתקופת החלון או לאחריו. ולכן המאמץ צריך לכלול הדברה עקבית של אחת ל 10-14 יום של הפסילות הבודדות שנכנסו לחלקה בטרם התחלת ההדבקה וריסוסים אינטנסיביים יותר בתקופת חלון ההדבקה.

ומכאן ניתן להגביל את הטיפול המשקי (ריסוסים) ל- 4-5 טיפולים בלבד ממחצית מרץ ועד מחצית אפריל.

תוצאות הניסויים בשנת 2014:

הניסויים יועדו לבחון את השפעת הכיסוי במועד חלון ההדבקה במשולב עם ריסוסים בתערובות של קוטלי חרקים ששימשו אותנו בהצלחה בניסויי השנה השנייה (קונפידור 100 ומובנטו 40 במשולב). הניסויים כללו 2 טיפולים וביקורת ונערכו על שטחים גדולים של דונמים אחדים בבית שאן ובסעד. החלקות נזרעו ב- 20.12.13 ונבחנו הטיפולים הבאים :

1. ריסוסים אחת ל- 10-14 ימים לאורך עונת הגידול.
 2. ריסוסים וכיסוי באגריל במחצית מרץ, הסרה כעבור כחודש וחצי והמשך ריסוסים (אגריסוס).
 3. ביקורת ללא כל טיפול נגד פסילות.
- בניסוי בבית שאן התקבלו תוצאות מצוינות ובמיוחד לגבי הבדיקה הראשונה (טבלה 1). ואילו לגבי ההוצאה המאוחרת (יולי), הייתה עליה בנגיעות שניתן להערכתנו לפתור, בעתיד, ע"י שילוב של הגמעה בשבוע הראשון של מאי. טיפול שלא ימנע הדבקה של פסילות שינדדו מבחוץ, אבל יפחית בצורה משמעותית את השלמת מחזור החיים של פסילות חדשות במרוצת חודש, מתוככי החלקה הגורמות למחלה בתחילת יולי.

טבלה 1: סיכום תוצאות הניסוי שבוצעו בחלקות גזר בחוות עדן (זריעה ב- 20.12.13)

% צמחים נגועים בשני מועדי הוצאה		
טיפול	16 ליוני	7 ליולי
אגריסוס	2.1	5.7
ריסוס	5.74	15.8
ביקורת	35.3	41.6

בשקילת יבולי המדגמים מהטיפולים השונים בחוות עדן, התקבלו 56.2 , 61.3 ו- 57.6 ק"ג בחלקות שטופלו באגריסוס, ריסוס וביקורת, בהתאמה. מעניין לציין שצמחים שהראו נגיעות קשה

היו בעלי אשרושים גדולים מצמחים בריאים. זו תוצאה בלתי צפויה ונראה כי היא באה לידי ביטוי רק בהדבקות בהם הסימפטומים מופיעים מאוחר ואילו צמחים שהודבקו בחלקות אחרות חודש-חודשיים קודם, הנגיעות הייתה מלווה באשרושים קטנים.

הניסוי בסעד ב- 2014, היה כישלון מוחלט

מסקנות אופרטיביות- אזור בית שאן:

אנו חושבים כי בעתיד יש מקום לבחון, בהיקף משקי, שינוי של שיטת ההדברה של הפסילות בשטחי הגזר מטיפול ריסוסים בלבד, ולהוסיף עליהם ובמקומם טיפולי הגמעה במטרה למנוע התפתחות של דורות חדשים של בוגרים נגועים. כיוון שטיפול הגמעה בהעדר מערכת טפטוף בשטחי הגזר קשים, מוצע שההגמעה תבוצע על ידי ריסוס עלוותי מלווה בהשקיה עוקבת.

המלצות לבדיקה בתנאי המשקים בהיקף של עד לעשרה דונם:

מודל טיפול משקי 1: ריסוס ראשון 15 מרץ, שני 30 מרץ, שלישי 14 אפריל. הגמעה 5 אפריל, הגמעה 5 מאי.

מודל טיפול משקי 2: ריסוס שבוע לאחר נביטה, ריסוס 3 שבועות מהנביטה, הגמעה ראשונה 10 מרץ, ריסוס 10 אפריל, 20 אפריל, הגמעה שניה 5 מאי.

תובנות :

מידע אישי שטרם פורסם שהועבר מפרופ' דווסון בפלורידה לפיו מנגנון הרכישה והטעינה של חיידקי הליבריקטר על ידי פסילות בהדרים ייחודי והוא קורה לאחר שפסילה טעונה מדביקה את הצמח הבריא עליו היא מטילה את הביצים שמהם יבקעו הנימפות שיהפכו לפסילות בוגרות. החידוש הגדול של דווסון היה הממצא כי כ- 50% מהבוגרים שהתפתחו על צמח שהיה בריא והודבק במהלך ההטלה נושאים ומסוגלים להעביר ליבריקטר. ממצא זה מסביר את ההתפשטות המשנית הרבה שמצאנו בחלקות גזר שלא טופלו בקוטלי פסילות והיא מדגישה כי יש לרכז את מאמץ ההדברה במניעת התפתחות מחזור חיים שלם משלב הביצה עד לבוגר.

משילוב המידע שפורט לעיל הצעתנו היא לבחון בהיקף משקי שינוי של שיטת ההדברה של הפסילות בשטחי הגזר מטיפול הדברה בריסוסים לטיפול הגמעה במטרה למנוע התפתחות של דורות חדשים של בוגרים נגועים. בהעדר מערכת טפטוף בשטחי הגזר מוצע שההגמעה תבוצע על ידי ריסוס עלוותי מלווה בהשקיה עוקבת. כיוון שעיקר מטרת ההדברה היא מניעת המעבר מדרגות הנימפה לבוגרים כדאי יהיה לבחון רווח מסוים של האנטרוולים שבין הגמעות אף מעבר לטווח יעילות אחד ואפילו שני קוטלי הפסילות הססטמיים שמומלץ לישמם בצירוף.

אך כיוון שהנוסחאות טרם אומתו בניסויי שדה על המגדלים לבחון את יעילותם במציאות משקית של דונמים בודדים בטרם הפיכתם לנוסחאות טיפול סטנדרטיים. עוד יודגש שההמלצות החדשות מחייבות בדיקה משקית ואין אלה פרוטוקולים בדוקים בשלב הזה על כל הכרוך בכך מבחינת אחריות משפטית או אחרת (כולל נזקי סביבה או כל נזק אחר העלול ללוות פעולת הדברה כימית) לתוצאות שיתקבלו.

3.6 הגנת צמחי גזר על ידי שימוש ברשתות 50 מ"ש: (ציון דר, טל לנדה,

מוראד גאנם, מוניר מואסי ציון דקו, גד"ש שלוחות)

מטרת הניסויים בשלושת השנים הייתה ללמוד את השפעת משך זמן הגנה וחשיפה של צמחי גזר ע"י שימוש ברשתות 50 מ"ש על שיעור הנגיעות במחלת צהבון הגזר. כמו כן ניטור גודל אוכלוסיית הוקטורים בחלון זמן הגידול, וחיפוש קשרים בין המדדים השונים לשיעור הנגיעות. בשנה השלישית נבחנה השפעת פירטרואידים (רופאסט), וכן שמן JMS, ורופאסט על שיעור הנגיעות במחלת הצהבון ועל היבול ואיכותו פירטרואידים.

בשלוש שנים עוקבות 2011 עד 2014 נבדקו הגורמים הבאים המשפיעים על נגיעות גזר במחלת הצהבון: מועד הזריעה, מספר ימי הגנה, מספר ימי חשיפה, מועד האסיף. וכן נבדקו השפעת קוטלי פסילות (רופאסט), טיפולים בשמן JMS ובדקושיילד על הנגיעות במחלה. בשלושת השנים העוקבות, שיעור הנגיעות בצהבון היה הגבוה ביותר בשנה הראשונה 2012. בינונית בשנת 2013 ונמוכה ב-2014. הגדלת מספר ימי הגנה מיום הזריעה הפחיתה באופן מובהק את נגיעות הצמחים בשני מועדי הזריעה בשנת 2011-12 ובכל שלושת מועדי הזריעה בשנת 2012-13, ובעונת 2013-14 במזרע סוף דצמבר 2013, כאשר יעילות הפחתת הנגיעות גבוהה יותר במזרע פברואר 2012, ובמזרע דצמבר 2012. השימוש ברשת צל 20% לא היה יעיל בהפחתת כניסת פסילות וגרם לנגיעות גבוהה במחלה. קיימת עליה והחמרה ברמת הנגיעות עם דחיית האסיף בין שני מועדי הדגימה. פוטנציאל הנזק ליבול הבריא גבוה וטיפולים ברופאסט הפחיתו הנגיעות של אשורשים. לשמן JMS ולדקושיילד השפעה המאטה את הנגיעות במחלה.

תוצאות

השפעת מועד הזריעה וימי הגנת הרשתות על שיעור הנגיעות בצהבון: הגדלת מספר ימי הגנה מיום הזריעה הפחיתה באופן מובהק את נגיעות הצמחים בשני מועדי הזריעה בשנת 2011-12 ובכל שלושת מועדי הזריעה בשנת 2012-13 ובעונת 2013-14. יעילות הפחתת הנגיעות גבוהה יותר במזרע פברואר עונת 2012, ובמזרע דצמבר עונת 2013. הגדלת מספר ימי הגנה מיום הזריעה הפחיתה באופן מובהק את הנגיעות בעונת 2012-13 בשלושת מועדי הזריעה כאשר יעילות ההגנה על יד רשת להפחתת הנגיעות רבה יותר במזרע דצמבר 2012, בשני מועדי הערכה קצב התפשטות המחלה מוגבר מאד ב-20 הימים האחרונים של יוני בצמחים שנזרעו בסוף דצמבר, ויעילות הגנת הרשת כפי שמתבטאת בשיפועי קו הרגרסיה, גבוהים יותר במזרע הראשון והשני ונמוך בשלישי.

השפעת מועד האסיף וימי הגנת הרשתות על שיעור הנגיעות בצהבון: דחיית האסיף הגבירה הנגיעות והיה צורך בהגנה של 120 ימים להבטחת נגיעות נמוכה, התוצאות מראות שדחיית מועד האסיף בתנאים של ימי הגנה משתנים מוגברת הנגיעות בדחיית האסיף עם קיצור מספר ימי ההגנה מזריעה. קיימת עליה ברמת הנגיעות בין מועד הדיגום המוקדם 17 ליוני לבין הדיגום המאוחר 12 ליולי 2012. נראה שקיים קשר ברור בין הנגיעות ובין מועד האסיף המתוכנן, וקיימת עליה והחמרה ברמת הנגיעות עם דחיית האסיף ב-25 ימים בין שני מועדי הדגימה. דחיית האסיף בשני מועדי הזריעה בטיפולים בהם היתה הגנה מוקדמת של 142 ימים במזרע הראשון

(עד 15 למאי 2012), ושל הגנה מוקדמת בת 98 ימים במזרע השני (עד 22 למאי 2012) הותירה את רמת הנגיעות ברמה נמוכה מאד. צמחים שהיו מוגנים כל תקופת גידולם תחת רשת 20% צל, בהשוואה לרשת 50 מש, הנגיעות בהם הוחמרה מאד וגדלה בדיגום האחרון לשיעור של 37.8 צמחים למ"ר. רשת 20% צל אינה יעילה למניעת כניסת וקטורים והדבקת הצמחים היא בשיעור גבוה מאד.

בדיקות מעבדה לנוכחות ליברובקטר בצמחים במהלך עונת הגידול אביב 2013.

דגימות צמחים בחלקות הבקורת ללא הגנה העלו שבתאריך 11 לאפריל 2013 נמצאה תוצאה חיובית לנוכחות ראשונה של ליברובקטר ממזרע ראשון. (שליש מן הצמחים הנבדקים חיוביים). בצמחים שהיו מוגנים 58 יום ו-90 ימים תוצאת הבדיקה הייתה שלילית. מתוך 13 בדיקות צמחים בעלי סמפטומים לאיבוד שלטון קדקדי 12 הראו נוכחות של ליברובקטר בבדיקת מעבדה.

השפעת הגנת צמחים ע"י רשת על היבול הכללי ויבול הגזרים הבריאים:

הגנת הצמחים ע"י רשת תרמה להעלאת היבול הכללי, ככל שמשך זמן ההגנה על ידי רשת היה ארוך יותר (עד 120 ימים מזריעה) התקבלה עליה ביבול הכללי וביבול הגזרים הבריאים. הדבר בולט בצמחים שלא היו כלל מוגנים (בקורת לצמחים שהיו מוגנים 120 ימים מזריעה), התקבל יבול של 13.3 ק"ג למ"ר לעומת 9.09 ק"ג בצמחי בקורת ללא הגנה תוספת יבול כללי של 47%, וביבול הגזרים הבריאים היבול היה 12.3 ק"ג למ"ר לעומת 7.3 ק"ג למ"ר. הארכת תקופת ההגנה בעוד 42 ימים, עד 162 ימים של הגנה לא הביאה לתרומה בהעלאת היבול הכללי ובמשקל הגזרים הבריאים בהשוואה ל-120 ימי הגנה.

השפעת קוטלי פסילות, פירטוראידים, על שיעור הנגיעות בצהבון ועל היבול ואיכותו:

בשנה השלישית 2014 התקיימה בחינת קוטלי פסילות והשפעתה על שיעור הנגיעות בצהבון וכן על היבול הכללי ואיכותו. הבדיקה כללה שתי קבוצות חומרים: פירטוראידים הגנה כימית על ידי: רופאסט, לפרקי זמן שונים מזריעה (0,50,80,110,140,180) ימים. כך נבדקו מספר ריסוסים שונה של רופאסט (2,5,8,11,14) לביטוי הגנה כימית מהזריעה שקול לגראדיאנט הגנה הפיזית של רשת 50 מש. קבוצה שניה של חומרים רכים בשמן JMS 1%, ודקושילד 2% שניהם רוססו לכל תקופת הגידול. ניתנו 20 טיפולי שמן JMS ו-שבעה טיפולי דקושילד. קיימת השפעת גומלין מובהקת למספר הריסוסים ברופאסט ולמועד הערכת המחלה על שיעור הנגיעות בצהבון. בשלושה מועדים בהם נמדדה הנגיעות בין תחילת יוני לתחילת יולי, התעצמה המחלה בתלות במספר הריסוסים.

לרופאסט השפעה בולטת מאד בהפחתת הנגיעות של מחלת הצהבון, כאשר ההשפעה ניכרת היטב במתן חמישה ריסוסים מהזריעה. נדרשו כ-180 ימי הגנה בריסוסי רופאסט לקבלת הנגיעות הנמוכה ביותר בהשוואה להגנת רשת. הגנת רשת למשך 110 ימים הבטיחה מניעת נגיעות בצהבון.

השפעת טיפולי שמן JMS 1%, ודקושילד 2% על הנגיעות: בתחילת יוני לא ניכרת השפעה לשיעור הנגיעות עם טיפולי השמן או דקושילד. דחיית האסיף לתחילת יולי הביאה להתגברות המחלה גם עם טיפולי דקושילד וכן עם שמן אך נשמרה נגיעות יותר נמוכה בהשוואה לטיפול

הבקורת עם שמן JMS 1%, ודקושילד 2% גם לשמן ולדקושילד השפעה חיובית בהפחתת שיעורי הנגיעות אך עם הארכת העונה מסתמן יתרון מובהק לטיפול רופאסט. אין לרופאסט השפעה מובהקת על היבול הכללי של הגזר בנגיעות של 2014. אך טיפולים ברופאסט למשך 116 יום מזריעה (8 טיפולים), הביאו לירידה מובהקת במשקל הגזרים הנגועים יחסית לבקורת.

3.7 השפעת מווסתי צמיחה על התפתחות צהבון הגזר: (יהושע קליין)

פקלובוטרוזול (פקלו) ובטרינאקסאפק-אתיל (מודוס) הם מווסתי צמיחה הפוגעים באזורים שונים במסלול הביוסנטטי של ג'ברלין. רוב השימוש בשני החומרים הוא נינוס צמחים למניעת רביצה בדגנים או גידול יתר בצמחי נוי. לאחרונה דווח על שימוש בפקלו ובמודוס להקניית עמידות לעקות אביוטיות וביוטיות. ייתכן שהעמידות נובעת משינויים ביוכימיים בצמח (יותר חומרים מוגני חימצון, בין היתר) או משינויים פיזיים (עיבוי עלים, במיוחד שכבות שעווה של הקוטיקולה). מטרתנו הייתה למזער את ההתפרצויות הצדדיות בעלים, או לגרום לשינויים פיזיים או פיזיולוגיים אחרים שימעיטו את הופעת מחלת הצהבון בגזר. לשם זה סיפקנו פקלו ומודוס בתור ריסוסים או הגמעות במועדים שונים בעונה, כדי לברר איזה החומר, מועד הטיפול, ושיטת האספקה הכי יעילה להפחתת המחלה.

שיטות וחומרים:

זרעי גזר (זן ניירובי) הושרו לשעתיים בטמפרטורת החדר במים, במודוס (50 מגר/ל) או בפקלו (12.5 מגר/ל), יובשו לשלשה ימים ונזרעו (50 זרעים/מ'; 5 חזרות) ב- 5.1.14 בחוות עדן. הטיפול בצמחים שנבטו היה בהתאם ליתר החלקה, שנזרעה ב- 29.12.13. העלים של צמחים מהזריעה המסחרית רוססו במרסס יד ב- 3.3.14, או ב- 16.3.14, או ב- 7.4.14 עם מודוס (200 או 400 מגר/מ') או עם פקלו (100 או 200 מגר/מ'). הטיפולים בוצעו בערוגות באורך 4 מ', בחמש חזרות/טיפול/מועד. טיפולי הגמעה בוצעו ב- 16.3.14 או ב- 7.4.14 עם מודוס (500 או 1000 מגר/מ') או עם פקלו (150 או 300 מגר/מ'). הטיפולים בוצעו בערוגות באורך 2 מ', בחמש חזרות/טיפול/מועד. הטיפולים בוצעו במרסס יד שכוון להזרים זרימה מכוונת לראשי האשרושים.

ב- 27.5.14 נאספו דוגמאות של 4 אשרושים משלשת החזרות האמצעיות (75 דוגמאות; 300 אשרושים). כל דוגמא צולמה (עלים ושורשים) לקביעת אורך בתכנית ImageJ. עלים ואשרושים נשקלו בנפרד. עובי שני עלים מכל דוגמא נמדד במד קליבר דיגיטלי. דוגמאות עלה נשקלו להשרייה ליומיים במתנול (בדיקת כלורופיל וקרוטונואידים) ובמתנול חומצי (אנתוציאנינים). אשרושים מהטיפולים של 16.3.14 גם נדגמו לאנתוציאנינים ולכח ניגוד חימצון (DPPH). כל הבדיקות נעשו בשיטות מקובלות בספקטרופוטומטר.

ב- 16.6.14 נדגמו כל החזרות של כל הטיפולים לספירת אשרושים נגועים במחלה במטר האמצעי של כל חלקה. התפרצויות צדדיות של עלווה או פיצולי אשרוש היוו סמנים למחלה.

התוצאה התבטאה כאחוז מכמות הצמחים הנגועים/מ' החלקות ביקורת של כל חזרה/מועד/טיפול.

תוצאות:

הנביטה מזרעים מטופלים היתה איטית מזה של הקש ובשיעור נמוך (כ-50%), ולכן אנחנו לא מתייחסים לתוצאות מחלק זה של הניסוי.

הריסוס הכי מאוחר (7.4.14, כחדשיים לפני הבדיקה באמצע יוני) גרם לירידה של התפרצויות צדדיות לעומת צמחים לא מטופלים. פקלו (במיוחד 100 מגר/מ') היה יותר יעיל ממידוס (40% ירידה במחלה). לעומת זאת, הגמעה לא הועילה במיגור ההתפרצויות.

לא היו הבדלים מובהקים בעובי העלה (24.3 מיקרומטר, בממוצע) בעקבות הטיפולים. גם לא היו שינויים עקביים בכמויות העלוותיות של כלורופיל, קראטונואידים (42.3 מיקרוגר/גר) או אנתוציאנים (0.16 מיקרוגר/גר). הטיפולים גם לא גרמו לשינויים עקביים בכמויות של הקרטונואידים או בכך ניגוד חימצון באשרושים. אורך האשרושים לא הושפע כלל על ידי הטיפולים, ואורך העלים לא הושפע בצורה עקבית. הריסוס ב-100 מגר/מ' של פקלו גרם לירידה במשקל העלים והאשרושים אך לא תמיד באופן מובהק. אפשר לשער שאם לפסילות יש פחות מקום על העלה לנחות, תהיה פחות אפשרות להפצת גורם המחלה. השערה זאת טעונה מחקר ובירור.

מסקנות והצעות למחקר העתיד:

היות וריסוס מאוחר בפקלו גרם לירידה משמעותית בהתפרצויות צדדיות, ולא פגע באופן בולט במשקל האשרוש עצמו, כדאי לבדוק ריסוסים עוד יותר מאוחרים, יחד עם חומרים יותר פעילים כגון אוניקונזול (מג'יק), שהשפעתו גדולה פי עשר מזה של פקלובוטרגול. לאחרונה פותחו אנאלוגים סינתטיים של סטריגולקטון שלא מעודד נביטת זרעי עלקת, אך כן ממזערים בצורה ניכרת התפרצויות צדדיות של ענפים וענפונים. שני חומרים מבטיחים נשלחו אלי מהמפתחים היפניים וכדאי לבדוק את השפעת החומרים בגזר.

ביבליוגרפיה:

Alfaro-Fernández A, Siverio F, Cebrián MC, Villaescusa FJ, Font MI (2012a) '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' associated with *Bactericera trigonica*-affected carrots in the Canary Islands. *Plant Disease* **96**(4), p 581-582.

Alfaro-Fernández A, Cebrián MC, Villaescusa FJ, Hermoso de Mendoza, A, Ferrándiz JC, Sanjuán S, Font, MI (2012b) First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot in mainland Spain. *Plant Disease* **96**(4), p 582.

Bertolini E., Felipe R.T.A., Sauer A.V., Lopes S.A., Arilla A., Vidal E., Mourso Filho F.A.A., Nunes W.M.C., Bov J.M., Lopez M.M., Cambra M. (2014a) Tissue-print and squash real-time PCR for direct detection of '*Candidatus Liberibacter*' species in citrus plants and psyllid vectors. *Plant Pathology*. DOI:10.1111/ppa.12197.

- Bertolini E., Teresani G.R., Loiseau M., Tanaka F.A.O., Barb' S., Martinez C., Gentit P., Lopez M.M., Cambra M. (2014b) Transmission of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot seeds. *Plant Pathology*. DOI:10.1111/ppa.12245.
- Bové JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88:7-37.
- EPPO (2012) First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' on carrots and celery in Spain, in association with *Bactericera trigonica*. *EPPO Reporting Service – Pests and Diseases*, **6**, 4–5.
- Gera, A., Maslenin, L., Wientraub, P.G., and Muwassi, M. 2011. Phytoplasma and spiroplasma diseases in open-field crops in Israel. *Bull. Insect.* 64: S53-S54.
- Hansen AK, Trumble JT, Stouthamer R, Paine TD. 2008. A new Huanglongbing Species, "Candidatus Liberibacter psyllaeus," found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Appl. Environ. Microbiol.* 74:5862-5865.
- Li X., Nie J., Arsenault H., Hammill D.L., Xu H., De Boer S.H. (2013) Tomato can be a latent carrier of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', the causal agent of potato zebra chip disease. *EPPO Bulletin*, **43**, 229–237.
- Liefting L, Perez-Egusquiza Z, Clover G, Anderson J, 2008. A new '*Candidatus Liberibacter*' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* **92**, 1474.
- Liefting LW, Weir BS, Pennycook SR, Clover GR. 2009. 'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59:2274-2276.
- Lin H, Doddapaneni H, Munyaneza JE, Civerolo EL, Sengoda VG, Buchman JL, Stenger DC, 2009. Molecular characterization and phylogenetic analysis of 16S rRNA from a new "*Candidatus Liberibacter*" strain associated with zebra chip disease of potato (*Solanum tuberosum* L.) and the potato psyllid (*Bactericera cockerelli* Sulc). *Journal of Plant Pathology* **91**, 215-219.
- Lin H., Islam M.S., Bai Y., Wen A., Lan S., Gudmestad N.C., Civerolo E.L. (2012) Genetic diversity of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' strains in the United States and Mexico revealed by simple sequence repeat markers. *European Journal of Plant Pathology*, **132**, 297–308.
- Loiseau M., Garnier S., Boirin V., Merieau M., Leguay A., Renaudin I., Renvois' J.-P., Gentit P. (2014) First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrots in France. *Plant Disease First Look*. DOI:10.1094/PDIS-08-13-0900-PDN.
- Munyaneza JE, Crosslin J, Upton JE. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with 'Zebra Chip', a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 100:656-663.
- Munyaneza JE, Buchman JL, Upton JE, Goolsby JA, Crosslin JM, Bester G, Miles GP, Sengoda VG, 2008. Impact of different potato psyllid populations on zebra chip disease incidence, severity, and potato yield. *Subtropical Plant Science* **60**, 27–37.
- Munyaneza JE, Crosslin JM, Upton JE, 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* **100**, 656-663.

Munyanzeza JE, Fisher TW, Sengoda VG, Garczynski SF, Nissinen A, Lemmetty A (2010a) First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Disease* **94**(5), p 639.

Munyanzeza JE, Fisher TW, Sengoda VG, Garczynski SF, Nissinen A, Lemmetty A (2010b) Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with the psyllid, *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe. *Journal of Economic Entomology* **103**(4), 1060-1070.

Munyanzeza JE, Lemmetty A, Nissinen A, Sengoda VG, Fisher TW (2011) Molecular detection of Aster yellows phytoplasma and ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in carrots affected by the psyllid, *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Finland. *Journal of Plant Pathology* **93**(3), 697-700.

Munyanzeza JE, Sengoda VG, Stegmark R, Arvidsson AK, Anderbrant O, Yuvaraj JK, Rämert, Nissinen A (2012a) First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with psyllid-affected carrots in Sweden. *Plant Disease* **96**(3), p 453.

Munyanzeza JE, Sengoda VG, Sundheim L, Meadow R (2012b) First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with psyllid-affected carrots in Norway. *Plant Disease* **96**(3), p 454.

Nelson WR, Fisher TJ, Munyanzeza JE, 2011. Haplotypes of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” suggest long-standing separation. *European Journal of Plant Pathology* **130**, 5-12.

Nelson WR, Sengoda VG, Alfaro-Fernandez AO, Font MI, Crosslin JM, Munyanzeza JE, 2013. A new haplotype of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” identified in the Mediterranean region. *European Journal of Plant Pathology* **135**, 633-639.

Nissinen A.I., Haapalainen M., Jauhiainen L., Lindman M., Pirhonen M. (2014) Different symptoms in carrots caused by male and female carrot psyllid feeding and infection by ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’. *Plant Pathology*, **63**, 812–820.

Nissinen A, Vanhala P, Holopainen JK, Tiilikkala K, 2007. Short feeding period of carrot psyllid (*Trioza apicalis*) females at early growth stages of carrot reduces yield and causes leaf discolouration. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **125**, 277-283.

Secor GA, Rivera VV, Abad JA, Lee I-M, Clover GRG, Liefting XL, Li W, De Boer SH. 2009. Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with Zebra Chip Disease of Potato Established by Graft and Psyllid Transmission, Electron Microscopy, and PCR. *Plant Dis.* **93**:574-583

Tahzima R., Maes M., Achbani E.H., Swisher K.D., Munyanzeza J.E., De Jonghe K. (2014) First report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ on carrot in Africa. *Plant Disease First Look*. DOI:10.1094/PDIS-05-14-0509-PDN.

Teresani G.R., Bertolini E., Alfaro-Fernandez A., Martinez C., Tanaka F.A.O., Kitajima E.W., Rosello M., Sanjuan S., Ferrandiz J.C., Lopez M.M., Cambra M., Font M.I. (2014) Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a real-time PCR method for its detection. *Phytopathology*, **104**, 804–811.

1. מטרות המחקר: 1. המשך פיתוח והתאמת אמצעי זיהוי רגישים וספציפיים למחלה ובדיקת התפשטות באיברי הצמח השונים; 2. בחינת העברת החיידק בזרעים אמתיים של גזר; 3. זיהוי תבדידי החיידק הקיימים בארץ; 4. מבחני העברה ולימוד אינטראקציה בין החיידק והווקטור; 5. זיהוי ומיקום החיידק ברקמות הפסילה באמצעות שיטת FISH; 6. בדיקת יעילות תכשירי הדברה נגד פסילת הגזר; 7. השפעת הכיסוי במועד חלון ההדברה במשולב עם ריסוסים בתערובות של קוטלי חרקים על שיעור הנגיעות; 8. לבחון את הדינמיקה של התפתחות המזיק והמחלה ובמיוחד את חשיבות חלקות הגשר כמקור מידבק ראשוני לחלקות הנזרעות בתקופת המזרע העיקרית; 9. לכמת את השפעת המחלה על כמות היבול ואיכותו; 10. השפעת טיפולים כימיים על שיעור הנגיעות במחלת הצהבון ועל היבול ואיכותו.

2. האם הושגו תוצאות המחקר לתקופת הדו"ח? כן.

3. עיקרי התוצאות: הותאמה שיטת qPCR לזיהוי החיידק ברקמות שונות של גזר. והמערכת אותנו היום לגילוי החיידק בצמחים חשודים. בוצעה העברה של גורם המחלה לצמחי וינקה, עגבנייה ופלפל, באמצעות כשות, נעשה זיהוי ומיקום החיידק ברקמות צמחיות של גזר באמצעות שיטת FISH. רוצפו מעל 20 תבדידים שונים של החיידק מאזורים שונים בארץ וממאכסנים שונים. על פי הרצף, נמצא כי כל התבדידים הם מטיפוס D. נעשה זיהוי ומיקום החיידק בווקטור בעזרת FISH. נמצא שמספיק שלוש שעות הזנת הדבקה של פסילות על מנת להעביר את החיידק, ואותו זמן על מנת לרכוש אותו מצמח נגוע. התקופה הלנטית היא 9 שעות. בנוסף נמצא שפסילה אחת מספיקה על מנת להדביק את הצמח. בוגרים יותר יעילים ברכישת והעברת החיידק בהשוואה לנימפות. בשנת 2014 נלכדו מעט מאוד פסילות נגועות בכל העונה. בבדיקת הרגישות לתכשירי הדברה נמצאה שונות גבוהה ביעילות תכשירי ההדברה השונים להדברת הפסילה בתנאי מעבדה. נמצאו הבדלים בדפוס האיכלוס של הפסילות בחיידקים בין שטחי הגידול בדרום והצפון. חזרנו ומצאנו שעם הזמן יש עלייה אקספוננציאלית בשכיחות הצמחים עם תסמינים ושניתן להתחמק מהתופעה באמצעות אסיף מוקדם. בוגרים של פסילות שורדים את החורף. ההטלה של ביצים תלויה בטמפרטורה. המשקל של גזרים סימפטומטיים גבוה יותר מהמשקל של גזרים א-סימפטומטיים. המחלה אינה משפיעה על כמות היבול ליחידת שטח. ריסוס בתכשירים קוטלי מזיקים הפחית משמעותית את כמות הנימפות המתפתחות בחלקה אבל לא השפיע על שכיחות הצמחים עם איבוד שילטון קודקודי. למרות זאת, הריסוס העלה את היבול. ריסוס בקוטלי מזיקים הפחית משמעותית את גודל אוכלוסיית הנימפות והעלה את היבול בצורה משמעותית. המחלה משפיעה על איכות הגזרים וחיי המדף של הגזר הנגוע.

4. המסקנות המדעיות: המין העיקרי שמעביר את גורם מחלת צהבון בגזר הוא המין *B. trigonica*, פסילת הגזר שנפוצה באזור הים התיכון. נראה כי באזורנו הטיפוס הבולט של החיידק גורם הצהבון הוא הטיפוס D. טיפוס זה נמצא בספרד והאיים הקנריים אשר נמצאים בקרבה יחסית לישראל ובדמיון אקלים. כמו כן, טיפוס D נמצא באסוציאציה עם פסילת הגזר אשר נמצאה כפסילה שמעבירה את החיידק גם בישראל. ממצאי המחקר ב- 2014 אוששו את ההיפותזה שהפסילות המתפתחות בחלקות הגידול הנזרעות במזרעים העיקריים (ספטמבר-דצמבר) מגיעה מחלקות גשר (זריעות יולי-אוגוסט) הנמצאות באותו תת-אזור. אוכלוסייה נבנית בחלקה עצמה בהתאם לגיל הפיזיולוגי של הצמחים. מכאן עולה שכדאי לרכז את המזרעים בתתי אזורים ולצמצם את פער הזמן מהמזרע הראשון לאחרון. הפגיעה באיכות היא כנראה, תוצאה של פגיעה המתרחשת במהלך כל תקופת הגדול של האשרושים ולא רק בחלק האחרון של הגידול, בו נראים ויזואלית תסמיני איבוד שילטון קודקודי. נראה שהדרך הטובה ביותר להתמודד עם הצהבון היא להתחמק מהמחלה. ניתן לעשות זאת על ידי קיבוץ מועדי המזרע בתתי-אזורים סמוכים, אסיף מוקדם ויישום של תכשירי הדברה קוטלי פסילות בחודשי החורף בחלקות המיועדות לאסיף בחודשים מאי-יולי. כדי למנוע את הנזקים הנגרמים באיחסון כדאי לשווק מידית את היבול שנאסף בחודשים המועדים לפגיעה (יוני ויולי) ולאחסן את היבול שנאסף בחודשים מוקדמים יותר. המסקנה העולה מניסוי הרשתות היא, שרשת תרמה להעלאת היבול הכללי. הגדלת מספר ימי הגנה מיום הזריעה הפחיתה באופן מובהק את הנגיעות בכל שלושת מועדי הזריעה. דחיית מועד האסיף בהגיע הגזר לגודלו מגבירה שיעור הנגיעות של הצמחים. טיפולי ריסוס יש בהם כדי לצמצם במידה ניכרת את בעיית הגרירה של דורות שהדביקו בטרם התחלת חלון ההדבקה העיקרי.

5. בעיות שונות לפתרון: שאלת ההעברה ע"י זרעים מעניינת וחשובה וצריך לבדוק את הנושא לעומק. יש להעמיק בדיקת הרגישות לתכשירי הדברה על אוכלוסיות פסילות מכל הארץ. הצעתנו היא לבחון בהיקף משקי שינוי של שיטת ההדברה של הפסילות בשטחי הגזר מטיפולי הדברה בריסוסים לטיפולי הגמעה במטרה למנוע התפתחות של דורות חדשים של בוגרים נגועים. בהעדר מערכת טפטוף בשטחי הגזר מוצע שההגמעה תבוצע על ידי ריסוס עלוותי מלווה בהשקיה עוקבת. יש להמשיך ולבדוק ולאוששן בניסויים מסודרים את השפעות המחלה על איכות הגזרים בצמחים הנגועים.

6. הפצת ידע: תוצאות העבודה הוצגו בימי עיון למגדלי גזר בצפון ובדרום, ובימי עיון לצוות המדען וכלל מגדלי הגזר בארץ. לאור החשש שהממצאים שלנו יגרמו להסגר כללי על יצוא של כמה גידולים חשובים ובכללם גזר, תפוחי אדמה, וכן סולניים אחרים דוגמת הפלפל מהארץ אנחנו נמנעים מלפרסם את התוצאות שלנו בעיתונות המדעיים.

7. פרסום הדוח: מבקשים לא לפרסם את הדוח. הממצאים חסויים ופרסומם עלול להזיק לייצוא גזר ותוצרת חקלאית של גידולים סולניים כמו תפוחי אדמה, פלפל ועגבנייה.