

מיזם הפחתת נזקי וירוסים בכרמי יין

Reducing viral damages in wine grapes

תוכנית מחקר מס' 132-1502

מיזם ארצי במימון המדען הראשי של משרד החקלאות והמועצה לגפן יין

שמות השותפים למחקר

חוקר ראשי:

ד"ר מוניר מואסי, המחלקה לפתולוגיה של צמחים-היחידה לוירולוגיה, מינהל המחקר החקלאי,
(email: mawassi@volcani.agri.gov.il)

חוקרים שותפים:

שה"מ, משרד החקלאות.	ערן הרכבי
שה"מ, משרד החקלאות.	ד"ר תרצה זהבי
המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי.	פרופ' צביקה מנדל
המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי.	ד"ר אלכס פרוטסוב
מו"פ צפון, מיג"ל.	ד"ר רקפת שרון
מו"פ צפון, מיג"ל.	ד"ר גל ספיר
הנדסת מערכות חישה, מידע ומיכון	ד"ר יפית כהן
המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי.	ד"ר אלי הררי
המחלקה לפתולוגיה של צמחים, מינהל המחקר החקלאי	ד"ר אביב דומברובסקי
כרמל מזרחי	ד"ר גיל ניר
כרמל מזרחי	ד"ר שמואל עובדיה

אוגוסט 2013

אלול תשע"ג

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר

*

תוכן

3	תקציר
4	דוח מצומצם- סיכום ומסקנות
11	פירסומים מהמיזם
12	דוח מפורט
12	מבוא והצגת הבעיה
14	מטרות המחקר
15	עיקר הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו
15	1. הכנת חומר ריבוי חופשי מוירוסים ואמצעים להבטחת ניקיונו
16	הוראות לחומר ריבוי לגפן
27	2. זיהוי ואפיון מקורות המידבק (דיאגנוסטיקה)
36	3. אפידמיולוגיה ומניעה
57	פיתוח גישה לניטור קמחית הגפן בכרמים צעירים על מנת לזהות מוקדים ראשוניים שלה והפעלת אמצעים להכחדתה
69	4. פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה
83	מקורות ספרות
85	סיכום עם שאלות מנחות

תקציר

הצגת הבעיה: מחלות וירוסים בגפנים, בעיקר מחלת התקפלות עלים leafroll disease, גורמות לנזקים והפסדים כלכליים כבדים בענבי יין בעולם כולל בארץ. האטיולוגיה של מחלת קיפול העלים טרם נקבעה, אך ידוע כי הווירוס העיקרי אשר כנראה מעורב במחלה הוא Grapevine leafroll associated virus-3 (GLRaV-3). האמצעי השכיח ביותר להפצת והעברת הווירוס בגפנים הוא חומר הריבוי בכרמים קיימת צורת העברה והפצה נוספת והיא ע"י חרקים בעיקר כנימות קמחיות.

בשנים האחרונות, מחלת התקפלות העלים מתפשטת בכרמים בישראל בהיקפים רחבים בעיקר בגליל ובגולן ופוגעת קשה בכמות ובאיכות ענבי היין והיין המופק מהענבים. לאור זה בא המחקר שלנו במטרה להפחית, ואם ניתן למנוע, את נזקי מחלות הווירוסים בענבי יין.

מטרות המחקר: המיזם כולל ארבעה יעדים עיקריים, כל יעד הוא מרוכז ע"י מומחה בתחום ומבוצע ע"י צוות מחקר הכולל מומחים בתחום, עובדים, טכנאים, מהנדסי מחקר וסטודנטים. היעדים של המיזם: (1) אבטחת חומר ריבוי חופשי מווירוסים; (2) אפיון המחלה וגורם המידבק; (3) אפידמיולוגיה ומניעה הן של הווירוס והן של הווקטור המעביר קמחית הגפן; ו- (4) פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה.

תוצאות עיקריות: נעשו בדיקות אשר מטרתן סקירה של כרמים שונים באזורים שונים בארץ מזנים שונים של ענבי יין במטרה לאפיין את הווירוסים הנמצאים ובמיוחד את הגזעים הקיימים של GLRaV-3. נקבע רצף שלם של אחד הגזעים של הווירוס הקיימים בארץ. בכרמים בארץ אנחנו מזהים לפחות שתי אוכלוסיות של GLRaV-3, לפעמים שתי האוכלוסיות קיימות באותה הגפן הנגועה.

בחלק האפידמיולוגיה נעשו ניסויים לבחינת הקשר בין הדברת הקמחית (הדברה דרסטית והדברה באמצעים ידידותיים לסביבה) להתפשטות המחלה; בחינת ההשפעה של קרבה לכרמים ותיקים נגועים בוורוס ו/או מאוכלסים בקמחית על התפשטות המחלה בכרמים חדשים; פיתוח שיטה המבוססת על שימוש במלכודות פרומון על מנת לאתר ביעילות את נקודות הנגיעות הראשונות בכרמים צעירים בהם התבססה אוכלוסיית קמחית הגפן; ופיתוח ממישק יישום לאמצעי ההדברה העיקרי הקיים – אימידקלופריד.

בעונת 2011 הייתה עליה בממוצעי הלכידה בכל החלקות שברמת הכרם, פרט לחלקות כנף 2007 וכנף-2009, שם נרשמה לכידה נמוכה מאד. עם זאת, רק בשלושה כרמים נרשמה נגיעות של קמחיות על הגפנים בשתי החלקות מנטיעת 2007 ובכנף 2009, הקמחיות הופיעו במספרים קטנים. לא ניתן לחשב באופן אמין את הזיקה שבין צפיפות הזכרים במלכודות לבין אוכלוסיית הקמחית על הגפנים. לפי שעה נראה שלא ניתן בשלב זה לתאר קשר ישיר בין שני המשתנים. נצפתה עליה בפעילות הנמלים בכל אחד מהכרמים. לא נמצא קשר ברור בין לכידת הזכרים לבין פעילות הנמלים. מלכודת הפרומון עשויה לשמש אמצעי למעקב אחר פעילות הצרעה הטפילית *Anagyrus sp. near pseudococci*. מתוך כך ניתן ללמוד גם על פעילות הקמחית. פעילות הצרעה נרשמה בכל החלקות. השפעת הטיפול בקונפידור על פעילות הזכרים נראה שלכידה נמוכה יחסית בחלקות שטופלו בקונפידור באביב, גבוהה יותר בטיפול קונפידור בסתיו, והגבוהה ביותר בחלקות ללא טיפול. לא נצפה למעשה הבדל בין הטיפולים, והתמונה לא הייתה ברורה בכרמים בהם לכידת הזכרים הייתה נמוכה.

בדוח מובאים גם תוצאות של ניסויי שדה שנעשו במטרה למצוא דרכים אגרוטכניות להתמודדות עם המחלה בכרמים נגועים. במחקר עסקנו בעיקר בזנים קברנה סוביניון ומרלו. השיטות שנבדקו כללו שיטות השקיה, דילול וריסוס דישון עלוותי.

דוח מצומצם- סיכום ומסקנות

מחלות וירוסים בגפנים גורמות לנזקים והפסדים כלכליים כבדים לענף בעולם כולל בארץ עד כדי איום על המשכיות הגידול. מבין המחלות הויראליות הנפוצות והקשות נמנית מחלת התקפלות עלים (Grapevine leafroll disease) הגורמת לנזקים קשים בגידול בארץ. מחלת התקפלות עלים נחשבת לאחת המחלות הויראליות החשובות והנפוצות ביותר בגידול הגפן, כולל בארץ. המחלה פוגעת בכל הזנים והכנות אם כי בחלקם המחלה יכולה להיות לטנטית והגפנים לא מבטאות תסמיני מחלה. הגפנים הנגועות במחלת התקפלות עלים מאופיינות בקיפול קצוות העלים. בזנים אדומים ישנו סימפטום אופייני המתבטא בהאדמת עלים אך העורקים בהם נשארים ירוקים. בזנים לבנים, לעומת זאת, העלים מאופיינים בכלורוזה עדינה וקיפול קצוות העלים. בשנים האחרונות, מחלת התקפלות עלים מתפשטת בישראל בהיקפים רחבים. בגליל ובגולן מתפשטת מחלת התקפלות עלים ופוגעת קשה באיכות ענבי היין. שיעור הנגיעות של מחלה זו מתקרב ל- 100% והמחלה גורמת לנזק רב באיכות וכמות היבול. על אף היותה אחת המחלות הנפוצות והחשובות ביותר בעולם, הגורם הוודאי למחלת התקפלות עלים טרם נקבע. מאידך, וירוסים רבים, עד כה לפחות עשרה במספר, בודדו מגפנים סימפטומטיים. האמצעי היעיל והשכיח ביותר להפצת והעברת מחלת התקפלות עלים בגפנים היא חומר הריבוי והרכבות. בנוסף נמצא כי וירוסים אשר התגלו בגפנים נגועות במחלת התקפלות יכולים להיות מועברים ע"י כנימות קמחיות mealybugs. העברת המחלה ע"י קמחיות היא חצי מתמשכת (semi-persistent). עד כה, הגישה היחידה להתמודדות עם מחלת התקפלות עלים בגפנים ולהבטחת כרמים וחלקות בריאות ונקיות עם יבול ואיכות גבוהים היא להתחיל עם חומר ריבוי בדוק ובריא. פיתוח מערך גידול היכול להבטיח שימוש בחומר ריבוי נקי מוירוסים, טיפול בווקטורים ומניעת התפשטות הוירוסים בחלקות הגידול ונקיטת אמצעי סניטציה ומערך אגרוטכני יעיל עשויים ביחד להוות פתרון מוצלח במכלול האמצעים להקטנת נזקי מחלות וירוסים בכרמי יין.

במטרה להפחית, או באם ניתן למנוע, נזקים של מחלות וירוסים בענבי יין, הוקם מיזם מחקרי עם ארבעה מטרת עיקריות. כל אחת מהמטרות או היעדים מרוכז ע"י מומחה בתחום ומבוצע ע"י צוות מחקר הכולל מומחים בתחום, עובדים, טכנאים, מהנדסי מחקר וסטודנטים.

המטרות העיקריות:

- חומר ריבוי חופשי מוירוסים ואמצעים להבטחת ניקיונו.
- זיהוי ואפיון מקורות המידבק (דיאגנוסטיקה).
- אפידמיולוגיה ומניעה.
- פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה

סיכום הממצאים ומסקנות (למידע מורחב, ראה דוח מפורט מצורף בהמשך)

1. חומר ריבוי חופשי מוירוסים ואמצעים להבטחת ניקיונו:

ערן הרכבי

פרוטוקול גידול חומר ריבוי לגפן יצא בשנת 2001 ע"י משרד החקלאות. הפרוטוקול נכתב ע"י צוות מקצועי רחב וברוח אותה תקופה. לאור התפשטות המחלה בשנים האחרונות, נדרשנו באופן דחוף להכין פרוטוקול מעודכן המפרט את האמצעים שיש לנקוט על מנת להבטיח חומר ריבוי נקי מוירוסים. הפרוטוקול הוכן ועודכן במסגרת המיזם.

הוקם צוות רחב שמנה 12 איש, שכלל וירולוגים העוסקים במחלות וירוסים בגפן, מדרכי גידול גפן, בעלי חלקות אם, נציגי יקבים ואנשי השירותים להגנת הצומח. הצוות חולק לצוותי משנה של 3-4 אנשים שיעסקו בעדכון פרק או שניים בפרוטוקול בהתאם למקצועיותם. הצוות הרחב קיבל את העדכונים ונפגש שוב כדי לאשר כל אחד מהפרקים. בסיום שלב זה יצא פרוטוקול מעודכן לשימוש הענף. פרוטוקול גידול חומר ריבוי הינו המלצה בלבד. כדי להפוך אותו לתקנות הוצאו הוראות הגידול המרכזיות והחשובות ורוכזו בקובץ "הוראות גידול לחומר ריבוי לגפן". קובץ זה הועבר לשירותים להגנת הצומח המטרה היא שהוראות אלה יכנסו כתקנות מחייבות בעתיד (הקובץ מצורף בדוח המפורט).

2. זיהוי ואפיון מקורות המידבק (דיאגנוסטיקה):

קבוצת המחקר של מוניר מוואסי

עסקנו בפיתוח ובכיול פרוטוקולים של הפקות RNA מצמחי גפן ומבחני PCR אשר מבוססים על השימוש בפריימרים המסוגלים לגלות מגוון רחב של גזעים של וירוס ה-GLRaV-3. לפי התוצאות של הבדיקות שנעשו במסגרת המיזם יכולנו להסיק כי לשם קבלת תוצאות אמינות במבחני הדיאגנוסטיקה יש לבחור ברקמה הצמחית העשירה ברקמת השיפה והמכילה יותר חלקיקי וירוס כמו פטוטרות של עלים, שורשים ועורקים של עלים. אבחון הווירוס ע"י PCR ניתן לבצע בחורף וגם בקיץ.

במיזם (שנה שלישית) עסקנו בפיתוח פרוטוקול לגילוי הנגיפים GLRaV-3 ו-GVA בגפנים באמצעות Real-Time PCR. פיתוח הפרוטוקול היה כרוך בכיול השיטה תוך כדי השימוש במגוון פריימרים ספציפיים לוירוסים אלה ופריימרים ספציפיים לגנים אנדוגניים של הגפן המתבטאים בכמות שווה בחלקי צמח שונים.

הבדיקות שנערכו במסגרת המיזם הראו כי הווירוס GLRaV-3 הוא המעורב העיקרי בגרימת המחלה והגורם להופעת התסמינים של האדמה בעלים. הווירוס GLRaV-3 התגלה ב 15% מהדוגמאות אשר לא הראו האדמה בעלים, כנראה שגפנים אלה טרם פיתחו תסמינים של האדמה בעלים אולי בשל ריכוז נמוך של הווירוס או בשל הדבקה מאוחרת.

לאחר קביעת רצפים של הווירוס GLRaV-3 ניתן היה להסיק כי בארץ קיימות שתי אוכלוסיות של הווירוס GLRaV-3 בגפנים נגועות במחלה. לגזעים אלה קראנו GLRaV-3-V1 ו- GLRaV-3-V2 או בקיצור LR3-V1 ו- LR3-V2. לרוב הגפן הנגועה הכילה גזע אחד של הווירוס אם כי היו גם מקרים בהם נתגלו תערובות של שני הגזעים 1 ו- 2.

הגזע LR3-V1 הוא יותר נפוץ בכרמים בארץ מאשר הגזע השני. והוא נמצא בערך ב 70% בדגימות שנבדקו.

לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לזן הגפן. שני הגזעים ניתן היה למצוא בשני הזנים קברנה סובניון ומרלו.

לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לאזור הגידול של הגפן. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בכרמים בצפון ובמרכז בחלקות שנדגמו.

לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לכנה. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בגפנים המורכבות על מגוון הכנות שנבדקו.

לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס למקור החומר הצמחי. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בחומר הצמחי החדש והחומר הצמח הוותיק.

למרות שנמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין הנגיעות בוירוס GLRaV-3, לא נמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין סוג הגזע של הווירוס. גפנים אדומות הכילו את שני הגזעים.

נמצאו גפנים (בערך 10%) עם הדבקה משולבת בשני הגזעים של הווירוס.

במיזם בדקנו גם באם קמחיות הנמצאות בכרמים בארץ נושאות את הווירוס. לצורך זה נאספו קמחיות בדרגות בוגר וזחל מכרמים צעירים שאינם מראים תסמינים של מחלת קיפול העלים. התוצאות שהתקבלו הראו כי גם הבוגרות וגם הזחלים מאוכלסות בוירוס, למרות שהם נאספו מכרמים שאינם מראים תסמיני מחלה. לפי תוצאה זו ניתן להסיק כי הקמחיות יכולות להיות ויקטור להפצת הווירוס בכרמים צעירים.

במסגרת המיזם עסקנו באפיון הרצף השלם של הגזע GLRaV-3-V1 הקיים בארץ. התוצאות שהתקבלו הראו כי קיים שוני בין הגזע הישראלי לבין האחרים הנמצאים בארצות הברית, ציילי, ודרום אפריקה.

קבוצת המחקר של רקפת שרון

מסקנות יישומיות:

- יש להרחיק ככל הניתן את הכרמים הניטעים מחומר ריבוי נקי מכרמים נגועים המהווים מקור מדבק (לפחות 30 מטר בתלות בכיווני רוחות ורמת הנגיעות בקמחיות בכרם הסמוך).
 - נדרשת הדברה של הקמחית כוקטור משלב הנטיעה ולא מהשלב בו נראות הקמחיות (בשלב זה הזחלנים כבר התבססו; ניטור הקמחיות הבודדות כמעט בלתי אפשרי בשלבים הראשונים והקריטיים) או שלב הופעת סימפטומים (מופיעים כשנה לאחר ההדבקה).
 - ניטור באמצעות מלכודות פרומון לזכרים יכול להצביע על נוכחות כללית באזור אך אינו מדד למיקום הקמחיות או רמת האוכלוסייה של הקמחית בכרם.
 - הדברה יעילה של הקמחית מקטינה את קצב התפשטות המחלה. יעילות התכשירים תלויה בתזמון מתאים ויישום נכון כפי שהוכח בניסוי שבדק את יעילות האימידקלופריד.
 - שילוב בין הדברה בכלל הכרם לבין הדברה ממוקדת ברמת הגפן יכול לשפר את יכולת השליטה בקצב התפשטות המחלה.
 - צורת הטיפול בכרמים מחייבת התייחסות לרמת הנגיעות הקיימת בכרם:
 - בשיעור נגיעות נמוך - תוספת הגפנים הנגועות נמוכה וסידורה במרחב אקראי והיא נובעת בעיקר מחדירת זחלנים. ע"פ טיפולי ההדמיה - עקירת הגפנים הנגועות והדברה יעילה בכלל הכרם עשויות לרסן את ההתפשטות המחלה.
 - בשיעור נגיעות בינוני - התפשטות המחלה מוקדית, כתוצאה מתנועת ווקטורים בתוך החלקה, ואקראית כתוצאה מתעופת זחלנים מבחוץ ומבפנים. ע"פ ניסויי ההדברה וטיפול ההדמיה - עקירת גפנים נגועות, טיפול בגפנים סמוכות המצויות בסיכון וטיפול בכלל חלקת הכרם עשויים לרסן את ההתפשטות המחלה.
 - בשיעור נגיעות גבוה (החל מכרבע מהחלקה) - תוספת הגפנים הנגועות גבוהה ואקראית. כמות הגפנים לעקירה אינה ריאלית וטיפול הדברה ממוקד אינו כלי מתאים כיוון שקשה להעריך את מיקום ה"נגיעות החדשה" במרחב.
- מכאן: ההדברה של הקמחית ברמת הכרם צריכה להתחיל כבר משלב הנטיעה עוד לפני הופעת הקמחיות בשטח. משלב הופעת גפנים נגועות יש להוסיף גם הדברה ממוקדת בסביבת הגפן כדי לשמור את הכרם ברמת נגיעות נמוכה עד בינונית.**
- העמקת הידע בתחום האפידמיולוגיה של מחלת זו מהווה נדבך מרכזי בפיתוח פרוטוקול יישומי להתמודדות עם מחלת קיפול העלים בכרם. ממצאים אלו מסייעים בקבלת החלטות מושכלות בנטיעת כרמים צעירים ובשליטה על התפשטות מחלת קיפול העלים בכרם. על בסיס ממצאי חלק זה במיזם ניתן לפתח פרוטוקול לשמירת הכרמים בריאים או ברמת נגיעות נמוכה לאורך זמן.

קבוצת המחקר של צביקה מנדל

פיתוח גישה לניטור קמחית הגפן בכרמים צעירים על מנת לזהות מוקדים ראשוניים שלה והפעלת אמצעים

להכחדתה

סיכום הממצאים מוצגים כאן על פי סדר מסוים, בפועל פעילויות הנ"ל התבצעו למעשה במקביל ובמשולב.

חלק א.

רקע: חלק זה כוון לשכלל הניטור על מנת ליעל את ההדברה של קמחית הגפן בכרמים צעירים. הפעילות בחלק זה של המחקר כללה שימוש במלכודות פרומון. זאת על מנת להעריך את הקשר בין הלכידה לבין נגיעות בקמחית בכרם, ובכלל זה את השינויים בדפוס הלכידה ומהלך התפתחות האוכלוסייה על הגפנים בשנים הראשונות לאחר הנטיעה. לצורך כך עקבנו אחר שינויים אלו בכרמים משתי שנות נטיעה, 2009 החל משנה לאחר הנטיעה, ו 2007 החל משלוש שנים לאחר הנטיעה.

המסקנה: ככל הנראה לא ניתן להציג זיקה ישירה בין גובה הלכידות של הזכרים לבין הנגיעות בפועל על גזעי הגפנים בכרמים הצעירים. אמנם לכידת הזכרים אכן משקפת את השינויים שצפיפות נגיעות ביחידת הכרם שנדגמה. אבל אוכלוסיית הקמחית מצויה בשלב ההתפתחות זה של הכרם בעיקר על חלקי צמח שכנראה אינם נחשפים לדגימות, כמו מערכת השורש העליונה. כך לדוגמא גם השינוי הגדול בין ששלושת שנות המחקר שנרשם בכרם מענית בלכידת הזכרים לא מצא את ביטוי באיכלוס הגזעים. ניתן להסיק שינויי הלכידה בחלקה 'מסוימת' מצביעה בהחלט על המגמה של התעצמות האוכלוסייה. הצרעה הטפילית *Anagyrus nr pseudococci* והנמלים, המסוגלים, ככל הנראה, להגיב לנוכחות של מושבות נסתרות אלו. לפיכך לכידת הצרעות הטפיליות ותצפיות בנמלים, מעידים, בשל כך, על הימצאותן של הקמחיות. חשוב לציין שטווח לכידה הזכרים והצרעות הנ"ל באמצעות המלכודות אינו רב (חלק ג) ולכן משקף את המתרחש בחלקת הדגימה.

יש לציין שניטור אוכלוסיית הקמחית באביב עלול שלא לשקף במדויק את אוכלוסיית הקמחית בפועל של העובדה שאוכלוסיית הקמחית השורדת בחורף מורכבת מנקבות פוריות. ניטור הקמחית בכרם על הגזעים במקרה עשוי לתת תמונה מדויקת יותר.

חלק ב'

רקע: חלק זה כוון לבחון שיטה לגילוי מוקדי הנגיעות הראשוניים על מנת להדבירם באופן נקודתי באמצעות פריסת ארבע מלכודות פרומון על פני שטח ההולך ומצטמצם. השיטה נבחנה באמצעות הצבה של מוקדי קמחית מכוונים והפעלת מלכודות הפרומון לגילויים.

המסקנה: לא ברור האם הניטור לגילוי מוקדי נגיעות ראשוניים יתאים לגילוי המוקדים הקטנים האופייניים לכרמים הצעירים. הצלחנו לאפיין שטח שגודלו דונם או יותר, וזאת כאשר קיים מוקד גדול אחד.

חלק ג'

רקע: חלק זה כוון לבחון את טווח התעופה של זכרי קמחית הגפן ושל הצרעה הטפילית העיקרית *Anagyrus nr pseudococci* על מנת להעריך את צפיפות המלכודות הנדרשת. הניסויים בוצעו באמצעות שחרור הזכרים והצרעות בבית גידול המחקים את הכרם בהם קמחית הגפן לא מצויה.

המסקנה: נמצא שטווח הלכידה הממוצע של זכרי הקמחית ושל נקבות הצרעה במלכודת הטעונה ב- $50\mu\text{g}$ הוא כ- 28 מ'. מכאן שצפיפות המלכודות הרצויה היא אחת ל- 2.5 דונם. זו הצפיפות יישום המלכודות שיישמנו במערך הניסויים.

יש לקחת בחשבון לנדיפיות עם מינון גבוה יותר של פרומון ילכדו זכרים ממרחקים גדולים יותר. לכן סביר יהיה לעשות שימוש לצרכי ממשק בהן ובכך להפחית מאד את צפיפות מלכודות הניטור ליחידת שטח.

חלק ד'

רקע: חלק זה יועד לבחון את השפעת ההדברה של קמחית הגפן בכרמים צעירים באמצעות קונפידור ותכשירים אחרים. כאשר אחד היעדים היה ביסוס המידע על עיתוי השימוש המתאים ביותר של תכשירים סיסטמיים המיושמים דרך מערכת המים, כרקע וכבסיס לניטור והדברה.

המסקנה: על פי ההבדלים שבלכידת זכרים והצרעות בין טיפולי הקונפידור השונים, נראה שהתקבלה השפעה מסוימת של הטיפולים על אוכלוסיית הקמחית בשנים הראשונות לאחר הנטיעה. בחלק מהחלקות לא נרשמה השפעה ברורה. עם זאת, חשוב לציין שברוב החלקות הצעירות כלל לא נרשמו כנימות על הגזעים. אנו מסיקים שבכרם הצעיר השפעה הטיפול בקונפידור על התבססות הקמחית היא מועטה היות ורוב הפרטים מצויים ככל הנראה על מערכת השורשים של הגפן. השוואה של שלושת החלקות בשנים בהן נמצאו כנימות על הגזעים, הראתה שפרט למקום אחד ובשנה אחת, בשאר רק בחלקות הביקורת נמצאו כנימות על הגזעים. המחקר הנושא זה ממשיך גם בשנת 2013 ובסיומו נוכל להציג מסקנות חדות יותר.

חלק ה'

רקע: השינויים בלכידת הצרעה *Anagyrus nr pseudococci* במהלך הדגימות הציגו שתי תופעות, האחת שינויים עונתיים שאשר שיאי הלכידה של הצרעות הפוכים לאלו של זכרי קמחית הגפן, והשנייה, פחיתה רבה בלכידת הצרעות בהשוואה ללכידת הזכרים ככל שהכרם מבוגר יותר. כך לדוגמא בכרמים הצעירים בשנים הראשונות נלכדו לעיתים יותר צרעות מאשר זכרים, ואילו ברמים המבוגרים יותר כמו בכפר דניאל ונטע, לא נלכדו צרעות כלל.

המסקנה: לכידות הצרעה במלכודות פרומון הולכות ומתמעטות בהתאמה לגודל אוכלוסיית הקמחית. הפרומון משמש כגורם מכוון והלכידה בפועל מתרחשת רק כאשר הצרעות אינן מוצאות את מושבות הקמחית בפרק זמן מסוים (שאינו ידוע לפי שעה).

4. פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה :

קבוצות המחקר של תרצה זהבי, גל ספיר ועומר קראין

מסקנות מהניסויים שלנו במיזם :

- חומרת ההתבטאות של וירוס קיפול העלים אינה קבועה.
- יש קשר חיובי טוב בין דרגת התסמינים בעלווה לפחיתה באיכות הפרי (סוכר וצבע).
- רמת הפוטוסינטזה מושפעת מרמת התסמינים, דבר הניתן למדידה גם בעלים עם תסמינים שונים באותה הגפן.
- ככל שהתסמינים מופיעים מוקדם יותר בעונה – דרגת החומרה שלהם בבציר תהיה גבוהה יותר.

מכאן: כל דרך שתדחה את מועד התבטאות התסמינים תאפשר קבלת פרי איכותי יותר.

- הפחתת יבול על ידי דילול שריגים או אשכולות בגפנים נגועות לא תרמה משמעותית לאיכות הפרי שהתקבל.
- דישון עלותי ביסודות מקרו, מיקרו או שילוב שלהם לא הקטין את מידת התבטאות התסמינים ולא שיפר את איכות הפרי המתקבל.
- בדרך כלל גפנים המבטאות תסמיני וירוס נמצאות במצב מים טוב יותר (פחות צמא) מגפנים שלא מבטאות תסמינים, או מבטאות תסמינים קלים.
- השקיה מופחתת דוחה ומקטינה את התבטאות תסמיני הווירוס.
- עיקר ההשפעה היא של ההשקיה בין שלב החנטה לשלב חילוף הצבע.
- גפנים מוצמאות (עם תסמיני וירוס קלים יותר) שומרות על רמת פוטוסינטזה גבוהה יותר באותה רמה של פתיחת פיוניות בהשוואה לגפנים שאינן צמאות ובהן תסמיני הווירוס חזקים יותר.
- ייתכן והעקה הנגרמת בגלל המחסור במים עוזרת לגפן להתמודד עם הווירוס.

פירסומים מהמיזם

1. Sokolsky, T., Cohen, Y., Zahavi, T., Sapir, G. and Sharon, R. (2012). Potential efficiency of grapevine leafroll disease management strategies using imulation and real spatio-temporal disease infestation data. *Aust. J. Grape and Wine research* (accepted).
2. Sharon, R., Sokolski, T., Sapir, G., Cohen, Y., Harari, A., Harcavi, A. and Zahavi, T. (2011). Presence of the vine mealybug in young vineyards. *Alon Hanotea* 65: 25-28
3. Sokolsky, T., Cohen, Y., Zahavi T., Sapir, G., Sharon, R. (2013). Risk assessment of Grapevine leafroll disease for site- specific disease spread control. *Precision Agriculture 2013: Proceedings of the 9th European Conference on Precision Agriculture*. (accepted).
4. Sharon, R., Zahavi, T., Sokolski, T., Sofer-Arad, C. Sapir, G. Mawassi, M., and Cohen, Y. (2012). The combined effect of preliminary infested vines, spatial spread pattern and the VMB population level on the Grapevine leafroll disease infestation rate. *Proceeding of the 17th Congress of ICVG, Davis, California, USA*. 182-183
5. Cohen Y, Sharon R, Sokolsky T & Zahavi T (2011) Modified Hot-Spot analysis for spatio-temporal analysis: a case study of the leaf-roll virus expansion in vineyards: *Spatial data methods for environmental and ecological processes* (ed., Foggia, Italy).
6. Sokolski, T., Cohen, Y., Zahavi, T., Sapir, G., and Sharon, R. (2011). Can Leafroll infestation be predicted? *IOBC Integrated Protection and Production in Viticulture* pp
7. Zahavi T., Mawassi M., Naor A., Gal Y., Peres M. Roshansky I., Nelevitzky R., Sapir G. and Crane O Effects of Irrigation on Leafroll Symptom Development in Cabernet Sauvignon Vines. *Proceedings of the 17th Congress of ICVG, Davis, California, USA October 7–14, 2012*
8. Zahavi T., Sapir G. and Crane O Irrigation affects symptom expression and fruit quality in Cabernet Sauvignon vines. *Grapevines academic research in Israel - Round table 2013- 27.1.2013* , The French Associates Institute for Agriculture and Biotechnology of Drylands Midreshet Ben Gurion

הרצאות בכנסי מגדלים (בכל אחת מההרצאות רשומים על התקציר כל השותפים בפרק זה של המחקר – רקפת שרון, תרצה זהבי, יפית כהן, תמר סוקולסקי. בחלק מההרצאות רשומים גם השותפים אלי הררי וערן הרכבי :

1. תמר סוקולסקי (2011) וירוס קיפול עלים- לימוד תהליך החדירה לכרם. כנס כרם יין, מו"פ צפון.
2. תמר סוקולסקי (2012) מחלת קיפול העלים בכרם- צעדים ראשוניים במדעי הנבואה. כנס כרם יין, מו"פ צפון.
3. רקפת שרון (2012) השפעת שיטות הדברה שונות של קמחית הגפן על קצב התפשטות מחלת קיפול העלים בכרם. כנס כרם יין, מו"פ צפון.
4. תמר סוקולסקי (2012) בוירוס, הזמן והמקום כן משנים !? כנס כרם יין, מו"פ צפון.
5. רקפת שרון (2012) בלבול זכרים של קמחיות- למה, כמה, ואיך כנס כרם יין ארצי.
6. רקפת שרון (2013) סיכום שלוש שנות מיזם- אפידמיולוגיה ומניעה. כנס כרם יין ארצי.

דוח מפורט

מבוא והצגת הבעיה

מחלות וירוסים בגפנים גורמות לנזקים והפסדים כלכליים כבדים לענף בעולם כולל בארץ עד כדי איום על המשכיות הגידול (Jackson, 1994; Safran *et al.*, 1996). מבין המחלות הויראליות הנפוצות והקשות נמנית מחלת התקפלות עלים (Grapevine leafroll disease) (Martelli 1993) הגורמת לנזקים קשים בגידול בארץ. לפי הבדיקות שנעשו לאחרונה במעבדות מחקר ומעבדות שירות שונות נמצא כי המחלה הזאת קיימת בדגימות של מרבית הזנים של ענבי יין הגדלים בארץ. ראוי לציין כי בדומה לענבי יין, המחלה פוגעת בהיקף רחב גם בזנים רבים של ענבי מאכל.

מחלת התקפלות עלים נחשבת לאחת המחלות הויראליות החשובות והנפוצות ביותר בגידול הגפן, כולל בארץ. היא נמצאת בכל האזורים העיקריים בעולם בהם גדלים גפנים. המחלה פוגעת בכל הזנים והכנות אם כי בחלקם המחלה יכולה להיות לטנטית והגפנים לא מבטאות תסמיני מחלה. המחלה אופיינית לראשונה בארצות אירופה בתחילת המאה ה-19. אף על פי זאת, היכולת שלה לעבור ע"י הרכבות תוארה רק בשנת 1939. בשנת 1979 נמצא לראשונה כי גורם המחלה הינו ויראלי. בשנת 1983 נודע על היכולת של כנימות קמחיות להעביר אחד מהוירוסים שנמצאו מעורבים במחלה.

הגפנים הנגועות במחלת התקפלות עלים מאופיינות בקיפול קצוות העלים. בזנים אדומים ישנו סימפטום אופייני המתבטא בהאדמת עלים אך העורקים בהם נשארים ירוקים. בזנים לבנים, לעומת זאת, העלים מאופיינים בכלרוזה עדינה וקיפול קצוות העלים. כאמור, קיימים זנים וכנות של גפן שאינם מבטאים תסמיני מחלה, והם עלולים לשמש מקור להפצת המחלה לזנים נוספים. העלים הסימפטומטיים הם בד"כ חלשים יותר מעלים בריאים. בגפנים נגועות, הנזקים מתבטאים בעיקר בפגיעה בכמות ובאיכות הענבים והיין המופק מהענבים. המחלה עלולה לגרום להפסד יבול של עד 30-50%, איחור בהבשלה והבשלה בלתי אחידה. צבע קליפות הפרי בזנים אדומים לפעמים אינו נורמאלי כתוצאה מחוסר פגמנטים אנטוציאונינים. גפנים נגועות הן בד"כ רגישות לתנאי סביבה חריגים כגון קור עז בחורף, ולכן עולה שיעור ההתמוטטות בקרב הגפנים הנגועות. התוצאה היא שהמגדלים והיקבים סובלים בגלל המחלה הזו הפסדים כלכליים גדולים.

בשנים האחרונות, מחלת התקפלות עלים מתפשטת בישראל בהיקפים רחבים. בגליל ובגולן מתפשטת מחלת התקפלות עלים ופוגעת קשה באיכות ענבי היין. שיעור הנגיעות של מחלה זו מתקרב ל-100% והמחלה גורמת לנזק רב באיכות וכמות היבול. בחלקים אחרים בארץ, המחלה נמצאת אך טרם נעשה מחקר או סקר המתאר את היקף התפוצה. חשוב לציין כי לאחרונה הוחלט להפסיק נטיעת זנים של ענבי יין מחומר ריבוי אשר מקורו מצמחי האם הקיימים בארץ בשל גילוי מחלות וירוסים בהם.

על אף היותה אחת המחלות הנפוצות והחשובות ביותר בעולם, הגורם הויראלי למחלת התקפלות עלים טרם נקבע. מאידך, וירוסים רבים, עד כה לפחות עשרה במספר, בודדו מגפנים סימפטומטיים. וירוסים אלה, למרות שהם שונים סירולוגית, לכולם יש צורת חלקיקים חוטיים באורך הנע מ-1,400 עד 2,200 ננומטר, לכולם ניתן השם *Grapevine leafroll associated virus (GLRaV)* ומוספרו מ-1 עד 10 לפי הסדר בו הם התגלו וכולם נמנים תחת אותה משפחה *Closteroviridae*. מתוך עשרת הוירוסים האלה, GLRaV-3 ו-GLRaV-1 הם השכיחים ביותר בכרמים בעולם ובארץ.

רוב הוירוסים שכנראה מעורבים במחלת התקפלות עלים יכולים להיות מאובחנים באמצעים שונים הכוללים הרכבות על אינדיקטורים כגון קברנה פרנק או פינו נואר, ואמצעים מעבדתיים הכוללים אבחון סירולוגי, למשל ע"י ELISA, ואבחון מולקולארי, למשל ע"י PCR.

האמצעי היעיל והשכיח ביותר להפצת והעברת מחלת התקפלות עלים בגפנים היא חומר הריבוי והרכבות. אופן הריבוי הווגטטיבי של הגפן, ההרכבה על הכנות והחיפוש המתמיד אחר זנים חדשים הביאו במשך שנים לתפוצה רחבה בינלאומית של מחלות וויראליות בגפן בכלל ומחלת התקפלות עלים בפרט. כאמור, הזנים והכנות בהם המחלה היא סמויה, נחשבים לפקטור מרכזי בהתפשטות המחלה.

בנוסף נמצא כי וירוסים אשר התגלו בגפנים נגועות במחלת התקפלות יכולים להיות מועברים ע"י כנימות קמחיות mealybugs השייכים ל- Pseudococcidae או ל- Coccidae (Golino *et al.*, 2002; Petersen & Charles, 1997; Sforza *et al.*, 2003). מבין עשרת הוירוסים שהוזכרו, הוירוסים GLRaV-1, GLRaV-3,

3, GRLaV-5 ו-GRLaV-9 יכולים להיות מועברים ע"י הכנימות הקמחיות. חשוב לציין כי הכנימות הקמחיות מסוגלות להעביר בנוסף גם וירוסים אחרים המעורבים במחלות ויראליות אחרות בגפנים דוגמת *Grapevine virus A (GVA)* ו-*Grapevine virus B (GVB)* הקשורים למחלות הניקרון.

קיימים מינים שונים של כנימות קמחיות המוכרים כווקטורים של GRLaV-3 בעולם, מהם ארבעה מצויים בארץ: קמחית הגפן, קמחית ההדר, קמחית המורן והקמחית ארוכת הזנב. מתוך מינים אלה, קמחית ההדר *Planococcus citri* יכולה להופיע בכרמים אך אינה שכיחה בכרמים בארץ. בכרמים בארץ מצויה בעיקר קמחית הגפן *Planococcus ficus*.

הפונדקאי של כנימות קמחיות אינו מוגבל לגפנים בלבד. חרקים אלה יכולים להימצא על טווח רחב של צמחים הכולל עצים ושיחים רבים. הקמחית חורפת תחת קליפת הגזע או על השורשים, באביב מתפזרים הזחלנים בחלקים העל-קרקעיים. ברמות אוכלוסיה גבוהות הפרטים מאכלסים גם את הבלבוב הצעיר והאשכולות. הנקבות של הקמחיות הן חסרות כנפיים והתנועה העצמאית שלהן בשטח מוגבלת. לעומת זאת, הזכרים הם מכונפים אם כי המבנה של הפה אצלם אינו מאפשר להם חדירה והזנה מהרקמה הצמחית ולכן הם אינם מעבירים וירוסים. חשוב לציין כי בשל גודלם המזערי, זחלים ובוגרים של הכנימות הקמחיות יכולים להיות מופצים בשטח בעזרת רוחות או נשאים אחרים כמו נמלים.

העברת המחלה ע"י קמחיות היא חצי מתמשכת (semi-persistent) ואין תקופה לטנטית בהעברת המחלה. ההדבקה אפשרית לאחר שעה אחת של רכישה ויעילות ההדבקה עולה ומגיעה לשיא לאחר 24 שעות של רכישה (Tsai et al., 2008). קמחיות בוגרות מאבדות את הווירוס ואת יכולת ההדבקה ארבעה ימים לאחר הרכישה. לעומת זאת, זחלנים בדרגה ראשונה יעילים יותר מכנימות בוגרות בהעברת המחלה, אך מאבדים את יכולת ההעברה מהר יותר (24 שעות). אין העברה של הווירוס מנקבה לצאצאים.

עד כה, הגישה היחידה להתמודדות עם מחלת התקפלות עלים בגפנים ולהבטחת כרמים וחלקות בריאות ונקיות עם יבול ואיכות גבוהים היא להתחיל עם חומר ריבוי בדוק ובריא, אשר מקורו מצמחי-אם בדוקים ומאושרים כחופשיים מכל נגיעות של וירוסים ולהבטיח ממשק גידול וטיפול בגורמים העלולים להדביק או להפיץ וירוסים בתוך השטח. ראוי להדגיש כי נטיעת חלקות חדשות בחומר ריבוי נקי ממחלות וירוסים הוא דבר הכרחי, מאחר ולא ניתן לרפא גפנים נגועות.

עד היום לא דווח על עמידות או על גן לעמידות למחלת התקפלות עלים. גם במקרה וגן כזה היה מוכר, הכנסתו לזני גפן מסחריים, בשיטות טיפוח קונבנציונליות אינה פשוטה: רמת ההטרזיגוטיות בגפן גבוהה ומרבית התכונות החשובות מבחינה הורטיקולטורית הן פוליגניות. צמחים טרנסגניים עמידים בפני הדבקות וירוסים, למרות היותם כעת שרויים במחלוקת מבחינה ציבורית, עשויים להוות כלי חשוב למניעת נזקי מחלות וירוס בגפן ולהקטנת השימוש בחומרי הדברה. מאידך, פיתוח צמחים טרנסגניים הוא הליך ארוך ומתמשך ועשוי להיות פתרון רק בטווח הארוך. לאור נסיבות אלו, פיתוח מערך גידול היכול להבטיח שימוש בחומר ריבוי נקי מוירוסים, טיפול בווקטורים ומניעת התפשטות הווירוסים בחלקות הגידול ונקיטת אמצעי סניטציה ומערך אגרוטכני יעיל עשויים ביחד להוות פתרון מוצלח במכלול האמצעים להקטנת נזקי מחלות וירוסים בכרמי יין.

מטרות המחקר

במטרה להפחית, או באם ניתן למנוע, נזקים של מחלות וירוסים בענבי יין, הוקם מיזם מחקרי עם ארבעה יעדים עיקריים. כל אחד מהיעדים הוא מרוכז ע"י מומחה בתחום ומבוצע ע"י צוות מחקר הכולל מומחים בתחום, עובדים, טכנאים, מהנדסי מחקר וסטודנטים.

לכל אחד מהיעדים ישנן מטרות ספציפיות וכיווני מחקר מוגדרים.

להלן יעדי המיזם :

א. חומר ריבוי חופשי מוירוסים ואמצעים להבטחת ניקיונו.

מרכז : ערן הרכבי- שה"מ.

כיווני מחקר :

1. פתוח פרוטוקול וקביעת תקן לאבטחת חומר ריבוי נקי בחלקות אם ובמשתלות ואספקתו.

ב. זיהוי ואפיון מקורות המידבק (דיאגנוסטיקה).

מרכז : דר' מוניר מוואסי- מינהל המחקר החקלאי.

כיווני מחקר :

1. אפיון גורמי המחלה באזורי הארץ השונים.
2. קביעת מהות הזיקה שבין התסמינים בגפן לבין רמת הנגיעות, כולל הקשר בין רוכב וזן - עמידות בפני המחלה -אזור הגדול - רמת יבול, ובדיקת חסינות חומר ריבוי שעבר תהליכי ניקוי לעומת חומר ריבוי נקי מברור.
3. עדכון ושיפור של מעקב דיאגנוסטי ברמת המעבדה.

ג. אפידמיולוגיה ומניעה.

מרכז : דר' רקפת שרון- מו"פ צפון

פרופ' צביקה מנדל, מינהל המחקר החקלאי

כיווני מחקר :

1. ביסוס הידע בדבר טיפוס האוכלוסיות נשאי המחלה ופיתוח שיטות ואמצעים למניעה או להאטה של התבססות אוכלוסיות אלה בנטיעות חדשות.
2. פיתוח אמצעי ניטור והדברה יעילים וידידותיים לסביבה להדברת מוקדי נגיעות של קמחית הגפן.
3. בחינת השפעת הדברת קמחית הגפן על האטת התפשטות מחוללי המחלה בשטחים נקיים וקיימים.

ד. פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה.

מרכז : דר' גל ספיר- מו"פ צפון

דר' תרצה זהבי- שה"מ

כיווני מחקר :

1. מציאת קשר אפשרי בין ממשק גידול (השקיה, דישון, דילול, ריסוסים, זמירה חורפית וקיצית, טיפול בכלים, קצב צימוח הגפן ועוד) ועוצמת הנזק.
2. בדיקת ממשק של עקירת גפנים נגועות בכרמים צעירים.
3. פיתוח פרוטוקול לשינטוע כרמים בשטחים נגועים וסניטציה של אזורי הגידול.

עיקר הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו

1. הכנת חומר ריבוי חופשי מוירוסים ואמצעים להבטחת ניקיונו

ערן הרכבי

המטרה של חלק זה במיזם היא פיתוח פרוטוקול וקביעת תקן לאבטחת אספקת חומר ריבוי נקי בחלקות אם ובמשתלות.

פרוטוקול גידול חומר ריבוי לגפן יצא בשנת 2001 ע"י משרד החקלאות. הפרוטוקול נכתב ע"י צוות מקצועי רחב וברוח אותה תקופה.

תופעת האדמת העלים בכרמים בזנים האדומים מיוחסת למחלות וירוסים בעיקר למחלת קיפול העלים Leafroll disease. לפי הממצאים של המיזם הזה, נמצאה קורלציה בין הופעת תסמיני המחלה לבין נוכחותו של הוירוס מספר 3 הנקרא 3-Grapevine leafroll associated virus (GLRaV-3). לאחרונה נמצא כי רוב חלקות האם המספקות חומר ריבוי היו נגועות בוירוס זה, דבר המסביר את התגברות המחלה והוירוס בכרמים הצעירים שניטעו בשנים האחרונות.

כדי למנוע תופעה זו בעתיד, שלב ראשון הוא שימוש בחומר ריבוי נקי מוירוסים. כפי שנדרש היה לאורך כל השנים ולכן הוצא פרוטוקול לחומר ריבוי בגפן.

נדרשנו באופן דחוף לעבור על פרוטוקול זה לעדכנו ולשפרו עם האמצעים והידע הקיים כרגע.

ובעתיד לחזור ולעדכנו לעיתים תכופות כדי להבטיח את ניקיונו של חומר הריבוי לגפן.

שלב א' - עדכון הפרוטוקול

הוקם צוות רחב שמנה 12 איש, שכלל וירולוגים העוסקים במחלות וירוסים בגפן, מדרכי גידול גפן, בעלי חלקות אם, נציגי יקבים ואנשי השירותים להגנת הצומח.

הצוות חולק לצוותי משנה של 3-4 אנשים שיעסקו בעדכון פרק או שניים בפרוטוקול בהתאם למקצועיותם.

הצוות הרחב קיבל את העדכונים ונפגש שוב כדי לאשר כל אחד מהפרקים.

בסיום שלב זה יצא פרוטוקול מעודכן לשימוש הענף.

שלב ב' - יישום הפרוטוקול

פרוטוקול גידול חומר ריבוי הינו המלצה בלבד. כדי להפוך אותו לתקנות הוצאו הוראות הגידול המרכזיות והחשובות ורוכזו בקובץ "הוראות גידול לחומר ריבוי לגפן". קובץ זה הועבר לשירותים להגנת הצומח והוא צריך להיות מוגש בקרוב לוועדה המקצועית של השירותים להגנת הצומח על מנת להכניסם כתקנות מחייבות בעתיד (הקובץ מצורף).

לא הוקם גוף בקרה במועצת גפן היין שיבקר את יישום הפרוטוקול.

הוראות לחומר ריבוי לגפן

פרק 1: רישוי חומר ריבוי לגפן

1. מטרת ההוראה
לתאר תהליך רישוי של חומר ריבוי בישראל ואת התנאים שעל חומר הריבוי לעמוד בהם.
2. הגדרות
 - 2.1. בית יסוד – מבנה המכיל גפנים מאובחנות ומסומנות כנקיות ממחלות הווירוס הידועות ואושרו ע"י השירותים להגנת הצומח. בית היסוד מיועד לביצוע שתי פעולות מרכזיות: גידול צמחי יסוד וריבוי ראשוני של צמחי היסוד.
חלקת אם – חלקה שניטעה מחומר שגדל בבית יסוד ועבר את כל תהליכי הבדיקה המחויבים מכך.
חלקת ריבוי זמנית – חלקה מסחרית רגילה שנבדקה כמפורט בפרוטוקול זה ואושרה זמנית לשמש כמקור לחומר ריבוי.
חומר בהסגר – חומר ריבוי שיובא ממקור מאושר במטרה להכניסו לבית יסוד.
3. תוכן ההוראה
 - 3.1. ככלל: ייצור השתילים במדינת ישראל מעוגן ב"חוק הזרעים תשט"ז" – עליך לעיין בחוק זה טרם התחלת הליך הזמנת חומר ריבוי (מסמך ישם 1).
 - 3.2. המבקש לרשות חומר ריבוי גפן מחו"ל או לאשר חומר ריבוי בארץ יפנה לשירותים להגנת הצומח ולביקורת משרד החקלאות (להלן השירותים) ויציין בבקשתו את הפרטים הבאים:
 - 3.2.1. הארץ בה גדל חומר הריבוי ומקום החלקה.
 - 3.2.2. שם הזן ועל מה הוא הורכב, אם הורכב.
 - 3.2.3. גיל הגפן.
 - 3.2.4. כל פרט נוסף הנוגע לגפנים או לחלקה אשר בה הם גדלים.
 - 3.3. על המבקש רישוי להמציא עבור השירותים להגנת הצומח סוגים שונים של בדיקות ותוצאותיהן אשר בוצעו בזן/כנה שבכוונתו לייבא (Testing History for Plants Sources) כמפורט בסעיף 3.3.2.
 - 3.3.1. במידה וייחתם חוזה התקשרות בין המגדל לספק החומר, מומלץ לעיין היטב בתנאי החוזה ואף להתייעץ עם הגורמים הרלוונטיים טרם חתימתו. מומלץ לחתום על החוזה רק לאחר קבלת חוות דעת חיובית מהשירותים להגנת הצומח לגבי הסטאטוס הפיטוסניטרי של חומר הריבוי ולאחר בדיקה יסודית של תנאי החוזה והאפשרויות הכספיות לרכישת הזן.
 - 3.3.2. את הבקשה לרישיון היבוא, יש להגיש על גבי נספח 1.
 - 3.3.3. באחריות המגדל לפנות למחלקה לרישיונות ליבוא חומר צמחי בשירותים להגנת הצומח ולהצטייד בטופס רישיון ליבוא צמחים (נספח 2). הטופס מגדיר את הדרישות הפיטוסניטריות של מדינת ישראל שעל חומר הריבוי לעמוד בהן. טופס זה יועבר לספק חומר הריבוי אשר מחויב לעמוד בדרישות הללו.
 - 3.3.4. על המגדל לתאם עם ספק חומר הריבוי ועם השירותים להגנת הצומח את כל פרטי המשלוח ובמיוחד את תאריך הגעת החומר ארצה.
 - 3.3.5. באחריות המגדל לוודא כי המשלוח המיועד לארץ ילווה בתעודת בריאות על מנת שיוכל לשחררו.
 - 3.4. חומר הריבוי המיובא יוכנס להסגר בתאום עם השירותים להגנת הצומח לשם ביצוע בדיקות פיטוסניטריות נוספות.
 - 3.5. אחת לשנה יוציאו השירותים להגנת הצומח דו"ח אינטרודוקציה אשר נושא דיווח אילו זנים ישתחררו מהסגר באותה שנה (נספח 3).
 - 3.6. חלקת ריבוי זמנית, תיבחר על סמך המלצות משרד החקלאות. החלקה תיבדק במשך שנתיים ע"י השירותים להגנת הצומח ולביקורת לפני קבלת האישור לשימוש בחומר לריבוי. חלקות שיימצאו בבדיקות נקיות יקבלו אישור של השירותים להגנת הצומח לשמש כספק חומר ריבוי. במקרה של חלקות גדולות בהן יש עניין לרשות רק חלק מהחלקה גבולות השטח המורשה יסומנו בצורה ברורה ע"י אנשי השירותים להגנת הצומח ויצוינו בכתב האישור של החלקה

- 3.6.1 בתחילת העונה (בין חודש פברואר לאפריל) תועבר בקשה בכתב על ידי ממ"ר ענף גפן בשה"מ לשירותים להגנת הצומח לגבי הצורך בסימון זנים לחומר ריבוי. הבקשה תציין את שמות הזנים, מיקומם, כתובות הספקים, והיקפים המשקפים את צורכי הענף לשנה הקרובה.
- 3.6.2 השירותים להגנת הצומח יבדקו את חלקות האם הזמניות והקבועות בהתאם לדרישות החוק (מסמך ישים 1), ויעבירו עד סוף ספטמבר את רשימת החלקות המאושרות כל שנה לשתלנים (מסמך ישים 3).
- 3.6.3 על פי חוק הזרעים תשנ"ט – תקנות בדבר גידול שתילי גפן ומכירתם (מסמך ישים 1), מחויבים שתלני הגפן להשתמש אך ורק בזנים ובכנות המאושרים על ידי השירותים להגנת הצומח.
- 3.7 בכל מקרה, חומר הריבוי יישא סמני סימון וזיהוי ברורים ובלתי מחיקים - נספח 4 (לפירוט ראה מסמך ישים 2).
- 3.7.1 הסימון והזיהוי ישמרו לאורך כל הגידול. בבית היסוד הסימון יהיה על כל גפן בעוד שבחלקת האם הסימון יהיה בתחילת השורה ובסופה.
- 3.7.2 סימון וזיהוי חומר הריבוי יישמר זהה למקור. אין לשנות את זיהוי חומר הריבוי.

פרק 2: הקמת בית יסוד

4. מטרת ההוראה
לתאר הדרישות להקמתו ושמירתו של בית היסוד.
5. הגדרות
- 5.1 חומר ריבוי – כל חלק של גפן מסומנת לריבוי, המשמש ליצירת השתיל.
- 5.2 בית יסוד - מבנה המכיל גפנים מאובחנות ומסומנות שאושרו ע"י הגנת הצומח. בית היסוד מיועד לביצוע שתי פעולות מרכזיות: גידול צמחי יסוד, ריבוי ראשוני של צמחי היסוד.
- 5.3 מצע אינרטי – מצע שאינו מכיל חומר אורגני וגורמי מחלות (כגון: טוף, פרלייט, ורמיקוליט, קלקר ואחרים).
6. תוכן ההוראה
- 6.1 דרישות מבנה:
- 6.1.1 בלתי חדיר לחרקים מכרסמים ובע"ח בכלל, קירותיו יהיו מחומר קשיח או מרשת 50 מש, רצפה מחומר קשיח.
- 6.1.2 פתחי כניסה כפולים (כניסה לחדר המאפשר סגירת דלת אחת ופתיחת השנייה) וניתנים לנעילה. חדר הכניסה יצויד בכיור עם ברז מרפק, סבון או דטרגנט, מגבות נייר, מתקן לחיטוי רגליים המכיל חומר חיטוי מאושר על ידי השירותים להגנת הצומח. המתקן יוצב באופן שימנע כניסה ללא מעבר בחומר החיטוי, חלוקים עם שרולים ארוכים לעבודה בבית היסוד.
- 6.1.3 סביב בית היסוד תהיה רצועה ברוחב של לא פחות ממטר אחד נקייה מכל צמחיה ושאינן בה אפשרות היקוות מים. בית היסוד יוקם במרחק של 50 מטר לפחות מכל גפן.
- 6.2 כללי התנהגות:
- 6.2.1 בית היסוד יהיה נעול והכניסה לבית היסוד תהיה באישור המגדל בלבד ועבור ביצוע עבודה.
- 6.2.2 הכניסה לבית היסוד מותנת ברישום ביומן אירועים שיוצב בכניסה.
- 6.2.3 הנכנס לבית היסוד ילבש חלוק ויטבול את נעליו במיתקן החיטוי.
- 6.2.4 אין לגעת בחומר הריבוי, אלא אם העובד רחץ תחילה את ידיו בדטרגנט.
- 6.2.5 כלים לעבודה בבית היסוד ישמשו את בית היסוד בלבד. יש לחטא את כלי העבודה בתחילת כל יום עבודה בחומר חיטוי מאושר.
- 6.2.6 כללי ההתנהגות בבית היסוד יוצגו באופן בולט לעין ובכניסה אליו.

- 6.3 סימון ותיעוד:**
- 6.3.1 כל חומר ריבוי הנכנס לבית היסוד יהיה מסומן ומזוהה באופן ברור ובולט לעין.
- 6.3.2 בכל בית יסוד תמצא מפה התואמת את סימן ההיכר ומכילה את הפרטים הבאים: שם הזן והקלון או שם הכנה והקלון, פרטי המקור, שנת היבוא ורמת הניקיון.
- 6.3.3 בכל בית יסוד ינהל המגדל ספר טיפולים – ספר בקרה ותיעוד בו ירשום באופן מדויק את כלל הטיפולים שבוצעו בבית היסוד. הרישום יעשה מייד לאחר מתן הטיפול ויהיה נגיש לעיונם של אנשי השירות להגנת הצומח.
- 6.3.4 באחריות המגדל לשמור את הבקרה והתיעוד למשמרת לפחות למשך 7 שנים.
- 6.4 תכולת בית היסוד:**
- 6.4.1 בית היסוד יכול מתקן השרשה לריבוי, מופרד בקיר או בוילון בלתי חדיר לחרקים ומים או משרשה נפרדת ברמת בית היסוד. לפרוט נוסף ראה מסמך ישים 1.
- 6.4.2 לפרוט תכולת בית היסוד ראה נספח 1.
- 6.5 גידול בבית היסוד:**
- 6.5.1 מצע הגידול יהיה מצע אינרטי או מחוטא בדרך שאושרה על ידי השירותים להגנת הצומח.
- 6.5.2 כל גפן בבית היסוד תהיה בכלי גידול נפרד. כלי הגידול יהיו נפרדים זה מזה בדרך שתמנע מגע בין צמח לצמח.
- 6.5.3 צמחי האם בבית היסוד יגדלו במספר שאינו קטן משני שתילים לכל קלון של זן או כנה.
- 6.5.4 הורדת הייחורים להמשך הריבוי תעשה בכל גפן בנפרד, תוך שמירה קפדנית על זיהוי גפן האם.
- 6.6 ביעור צמחים:**
- 6.6.1 לא יבוצע ביעור צמחים בבית היסוד אלא לאחר קבלת אישור מאת השירותים להגנת הצומח.
- 6.7 אישור בית היסוד:**
- 6.7.1 באחריות המגדל לוודא כי אנשי השירות להגנת הצומח יבצעו את הבדיקות הנדרשות על מנת לקבל את אישור הגידול של חומרי הריבוי בבית היסוד. לפרטים נוספים עיין במסמך ישים 1.

נספח 1 – פירוט תכולת בית היסוד.

1. כיסוי רשת 50 מאש אטימה באופן מוחלט.
2. למבנה חדר כניסה עם דלת כפולה, אוטומטית עם קפיץ מחזיר. בתוך תא הכניסה מתקן לטבילת רגליים וכיור עם ברז מרפק וצינור יציאה מצויד בסיפון.
3. רצפה קשיחה ואטומה 1.5% ניקוז ותעלה להוצאת מים.
4. השתילים ישתלו במכלי פלסטיק ויעמדו על הרצפה עם חיבורי ניקוז.
5. מחסן לאחסון ציוד שקשור בבית היסוד, שולחן וכסא לרישום ומעקב על הפעילות הנעשית בבית היסוד.

פרק 3: קליטת חומר הריבוי בבית היסוד ותנאי אחזקתו

7. מטרת ההוראה
לתאר את אופן קליטת חומר הריבוי בבית יסוד השרשתו וריבוי, את התנאים בהם יוחזק חומר הריבוי בבית היסוד,

8. תוכן ההוראה

- 8.1 הנחיות להכנסת חומר לבית היסוד:**
- 8.1.1 טרם הכנת חומר הריבוי לבית היסוד על המגדל לבצע את הפעולות הבאות:
- 8.1.1.1 לוודא כי בית היסוד עומד בכל דרישות התקן המופיעות בהוראה 1.

- 8.1.1.2.** הימצאותו של אישור מעודכן מהשירותים להגנת הצומח המאשר את הכנסתו של חומר הריבוי לבית היסוד. באחריות השירותים להגנת הצומח לבצע את הבדיקות המתאימות אשר יתירו את הכנסתו של חומר הריבוי לבית היסוד.
- 8.1.1.3.** באחריות המגדל לוודא הלימה בין ההזמנה שביצע לבין חומר הריבוי שקיבל.
- 8.1.1.4.** השרשתו של חומר הריבוי בבית היסוד תעשה בהקדם האפשרי מרגע קבלתו. במידה ואין הדבר אפשרי ניתן לאחסן חומר ריבוי מעוצה בבית קירור בטמפרטורה שבין 2-4 מעלות צלסיוס בלחות יחסית בין 95%-100% כאשר הוא ארוז בריעת פוליאתיילן עד להשרשה.
- 8.1.1.5.** באחריות המגדל לוודא לאורך כל תהליכי העבודה עם חומר הריבוי:
1. החומר מסומן כנדרש וניתן לזיהוי בקלות. 2. החומר מופרד מכל חומר ריבוי אחר.
- 8.2.** הטיפול בחומר הריבוי המקורי יעשה בשלושה שלבי עבודה מרכזיים עד להעברתו לחלקת האם. כל שלבי הטיפול יבוצעו בבית היסוד:
- 8.3.** שלב ראשון – השרשה ראשונית של חומר הריבוי:
- 8.3.1.** שלב זה יחל עם הגעתו של חומר הריבוי ויסתיים כעבור כשנה.
- 8.3.2.** כללי עבודה:
- 8.3.2.1.** כל העבודות יבוצעו בתוך בית היסוד.
- 8.3.2.2.** פעולת חיתוך הייחורים תבוצע לכל קלון / זן בנפרד כאשר כל קלון / זן מגיע בשקית מהקירור בנפרד. אין לבצע חיתוך בקלונים / בזנים אחרים בטרם הסתיים החיתוך בקלון / בזן מסוים.
- 8.3.2.3.** עם סיום תהליך העבודה בקלון / בזן מסוים וטרם תחילת החיתוך בקלון / בזן אחר, באחריות המגדל לוודא את חיטוי של שולחן העבודה, ניקיונה של הרצפה מכל שאריות צמחים, וחיטויים של כלי העבודה.
- 8.3.2.4.** חובה ששלב עבודה זה יבוצע על ידי המגדל או מי מטעמו אשר הוסמך והודרך היטב לביצוע העבודה.
- 8.3.3.** תהליך העבודה:
- 8.3.3.1.** חומר הריבוי המקורי (הייחורים) יחתך לייחורים באורך של 10-20 ס"מ, כך שכל ייחור יכיל לפחות 2 עיניים.
- 8.3.3.2.** את הייחורים, יש לטבול בתמיסת קוטלי פטריות וקוטלי חרקים המאושרים על ידי השירותים להגנת הצומח בהתאם להוראות המופיעות על גבי תווית היצרן.
- 8.3.3.3.** הייחורים יועברו לשתילה במיכלים או להכמנה בארגזים. כל קלון יוכמן בארגז נפרד ובתנאי בית היסוד.
- 8.3.3.4.** לשם השרשת הייחורים, כל ייחור יישתל במיכל נפרד ובמצע אינרטי חדש. כל קלון או זן ירוכז בנפרד מיתר הזנים.
- 8.3.3.5.** סימון חומר הריבוי. באחריות המגדל להקפיד הקפדה יתרה בכל הנוגע לסימון חומר הריבוי. כל תווית המופיעה על גבי חומר הריבוי תודבק למיכל הרלוונטי לה. במידה וישנם מספר ייחורים מאותו קלון, יש לצלם את התווית המקורית ולהדביק את העותקים על גבי כל מיכל ומיכל. לחילופין ניתן ליצור תווית המכילה את שם הזן בעברית ובאנגלית, את מספר הקלון ואת תאריך ההשרשה.
- 8.3.3.6.** בתום תהליך השתילה הראשונית על המגדל לעדכן את מפת השתילה עליה יופיע ציור סכמטי של מיקום הזנים והכנות. למפה תצורף רשימת זנים וכנות שתכיל את המידע הבא: שם הכנה או הזן בעברית ואנגלית, פרטי גפן המקור, שנת היבוא, רמת הניקיון של כל זן וכנה (נספח 1).

- 8.4** שלב שני – שמירת חומר הריבוי בבית יסוד.
- 8.4.1** באחריות המגדל להפריד 2-4 שתילים מיתר השתילים שהושרשו שימשו כשתילי עתודה של הקלון והזן לאורך השנים. הם ימוקמו במבנה נפרד או אזור נפרד.
- 8.4.2** על המגדל לוודא כי שתילים אלו מוחזקים בבית היסוד בתנאים פיטוסיטריים בהתאם לדרישות השירותים להגנת הצומח.
- 8.4.3** תהליך אחזקת שתילי העתודה בבית היסוד יפורטו להלן:
- 8.4.3.1** יש לשתול את השתילים במיכלים בעלי נפח של 50-60 ליטר.
- 8.4.3.2** יש לעצב את השתילים על גזע בגובה של לפחות 40 סמ' ויבוצע שילוב אנכי של השריגים על גבי מערכת הדליה שתוקם.
- 8.4.3.3** יש לזמור מידי חורף את השתיל לכדי 3-4 סעיפים.
- 8.4.3.4** יש לשמור על מרחק בין השתילים של כ-1.5 מטר זה מזה, ועל מרחק בין השורות של לפחות 1.8 מטר במטרה למנוע כל מגע ביניהם.
- 8.4.3.5** בתום תהליך השתילה בבית היסוד, על המגדל לעדכן את מפת השתילה.
- 8.4.4** הדברת פגעים
- 8.4.4.1** צמחי בית היסוד ישמרו נקיים בהקפדה מכל מזיק ומחלה.
- 8.4.4.2** ינתנו טיפולי מניעה כנגד קימחון וכישותית לאורך העונה.
- 8.4.4.3** ינתנו טיפולים כנגד כנימה קמחית מספר פעמים בעונה.
- 8.4.4.4** כנגד מזיקים נוספים כגון ציקדות כנימות עלה אקריות ועוד ינתנו טיפולים על פי ניטור.
- 8.4.4.5** יש לבצע ניטור פגעים בבית היסוד ולבצע רישום ממצאים בטבלה.
- 8.4.5** חידוש והחלפת גפנים בבית היסוד
- 8.4.5.1** יש לבצע פעולות סניטציה שיכללו הוצאת גפנים פגועות או מנוונות עם המיכל.
- 8.4.5.2** יש לחדש גפנים אלו ע"י הכנסת מיכל ומצע חדשים והשרשת ייחור מהגפן התאומה. יש לתאם ולדווח זאת לשירותים להגנת הצומח.
- 8.5** שלב שלישי – תהליך השרשה של חומר הריבוי מבית היסוד לשם יצור שתילים לחלקות האם:
- 8.5.1** ייחורי חומר הריבוי המקורי ישמשו כצמחי אם, ורק מהם יילקחו ייחורים ליצור שתילי חלקת האם.
- 8.5.2** שתילי חלקת האם יהיו על שורשיהם, ולא יורכבו על כנות.
- 8.5.3** ניתן לבצע את ההשרשה במכלים או ישירות על ידי ייחורים בשדה. ההשרשה יכולה להיעשות בחומר מעוצה ובחומר ירוק
- 8.5.4** בכל שלבי ההשרשה והנטיעה בחלקת האם, יקפיד המגדל על סימון השתילים בתווית עם ציון שם הזן, הקלון ומועד ההשרשה.
- 8.5.5** תהליך ריבוי השתילים להקמת חלקות האם יעשה אך ורק בבית היסוד.
- 8.5.6** במידה ויעשה ריבוי במשרשה חיצונית, יש לנהוג בה כבית יסוד לכל דבר. העברת יחורים למשרשה והחזרתם לאחר ההשרשה תעשה בכלי אטום.
- 8.5.7** העברת חומר הריבוי מבית היסוד לחלקת האם תעשה לאחר דיווח בכתב לשירותים להגנת הצומח.

פרק 4: הקמה ואחזקת חלקות אם לחומר ריבוי

9. מטרת ההוראה

לתאר את ההנחיות בבחירת שטח להקמת חלקת אם לחומר ריבוי. את ההכנות להקמה. לתאר את תהליך הכנת השתילים והנטיעה. לתאר את ההנחיות לאחזקת חלקת האם.

- 10. תוכן ההוראה**
- 10.1. בחירת שטח להקמת חלקת אם:**
- 10.1.1. עדיף שטח שבו לא גודלו גפנים בעבר, או להמתין לפחות 5 שנים מגידול גפנים בעבר
- 10.1.2. השטח יהיה מרוחק 3 ק"מ מכל כרם מסחרי אחר.
- 10.1.3. השטח עבר בדיקות לנוכחות נמטודות ונמצא נקי מהנמטודות המצוינות
- 10.1.4. השטח עבר בדיקות לסקר קרקע ונמצא מתאים.
- 10.1.5. השטח אושר ע"י השירותים להגנת הצומח לאחר קבלת תוצאות כל הבדיקות הנ"ל.
- 10.2. הכנה לנטיעה:**
- 10.2.1. שנה לפני הנטיעה יש לבצע בשטח כרב נח, כלומר לשמור את השטח שנה ללא צמחיה.
- 10.2.2. לגדר את השטח כנגד בע"ח.
- 10.2.3. בכניסה לחלקה להקים בור לחיטוי גלגלי רכבים ומתקן לשטיפת בלחץ גבוה של גלגלים ורכב.
- 10.2.4. לשקול הקמת בית רשת 50 מש כנגד חרקים מעל לחלקת האם.
- 10.3. הכנת שתילים לחלקות האם:**
- הוראות ליצור השתילים מופיע בפרק 3 סעיף 8.5.
- 10.4. דגשים בנטיעת חלקות אם:**
- 10.4.1. סימון השטח והכנת מפה יבוצעו לפני הנטיעה.
- 10.4.2. כל קלון של זן יצא בנפרד מבית היסוד ויובא לשטח הנטיעה בנפרד. בגמר נטיעתו יובא הזן הבא.
- 10.4.3. בגמר הנטיעה, יטופל השטח ב-250 סמ"ק לדונם קונפידור או דומיו.
- 10.5. גידול חלקות אם תחת רשת נגד חרקים:**
- 10.5.1. מומלץ לבחון גידול חלקות אם תחת רשת נגד חרקים.
- 10.5.2. הרשת צריכה להיות 50 מש.
- 10.5.3. גובה בית הרשת צריך להיות לפחות 1.5 מטר מעל עלוות הגפנים.
- 10.5.4. יש להקים כניסות כפולות למבנה.
- 10.5.5. יש להקיף את בתי הרשת בגדר למניעת פגיעה ברשת ע"י בע"ח.
- 10.5.6. תכנון מבנה בית הרשת יעשה ע"י מהנדס המתמחה בבתי צמיחה.
- 10.6. הגנת הצומח – זנים:**
- 10.6.1. במהלך החורף יבדקו זמורות לחיוניות הפקעים ותיבדק נוכחות אקרית הפקע, וזאת בכדי לאפשר למגדל לקבוע מדיניות הדברה כנגד אקרית הפקע לאחר לבלוב
- 10.6.2. כללי: עיתוי ותדירות הטיפולים כנגד מחלות ומזיקים יעשו בכרם בהתאם להמלצות המצויות בחוברת "הדברת פגעים בגפן". בנוסף, יערך אחת לשבוע פיקוח על ידי המגדל או אדם המוסמך לכך מטעמו
- 10.6.3. עם ליבלוב הכרם יינתן טיפול מניעה כנגד כנימה קמחית, בתכשיר קונפידור או דמיו במינון של 300 סמ"ק לדונם. המשך הטיפול כנגד הכנימה הקמחית יהיה על פי ניטור.
- 10.6.4. מלבלוב ועד פריחה, הפיקוח יתמקד במחלות ובמזיקים הבאים: קימחון, כישותית, זרוע מתה, כנימות עלה ומעקב אחר הופעת עש במלכודות הפרומון.
- 10.6.5. מפריחה ועד בוחל, הפיקוח יתמקד במחלות ובמזיקים הבאים: קימחון, כנימה קמחית, ציקדות, עש האשכול.

10.6.6. מבוחל ועד גמר הבציר הפיקוח יתמקד במחלות ובמזיקים הבאים: עש האשכול, כנימה קמחית, ריקבונות, זבוב וחיפושית תסיסה, זבוב הפירות, כשותית בנוף. הערה: הטיפולים כנגד מחלות ומזיקים ייעשו בחומרים המורשים לשימוש בכרם

10.7. הגנת הצומח – כנות:

- 10.7.1. חלקת אם לכנות איננה סובלת ממחלות גפן כגון קימחון או כישותית ולפיכך, יש לטפל במחלות בהתאם להופעתם.
- 10.7.2. מזיקים יטופלו על פי ניטור. מזיקים אפשריים: ציקדות, כנימות עלה, פרודניה, רפרף הגפן.
- 10.7.3. יש לשמור על חלקה נקייה מעשבים.

פרק 5: בדיקות פיטוסנטריות בבית היסוד ובחלקות האם

11. מטרת ההוראה

להגדיר את סוגי הבדיקות הפיטוסנטריות, היקפן ואופן ביצוען בבית היסוד ובחלקות אם המשמשות ללקיחת חומר ריבוי.

12. הגדרות

א. חומר ריבוי:

בית יסוד – מבנה המכיל גפנים מאובחנות ומסומנות כנקיות ע"י השרותים להגנת הצומח. בית היסוד מיועד לביצוע שתי פעולות: גידול צמחי יסוד וריבוי ראשוני של צמחי היסוד. חלקת אם – חלקה שניטעה מחומר שגדל בבית יסוד ועבר את כל תהליכי הבדיקה המחויבים מכך. חלקת ריבוי זמנית – חלקה מסחרית רגילה שנבדקה כמפורט בפרוטוקול זה ואושרה זמנית לשמש כמקור לחומר ריבוי.

חומר מקור לבית יסוד – חומר ריבוי ממקור מאושר המיועד להכנסה לבית יסוד.

ב. סוגי בדיקות:

בדיקה חזותית – מעבר בכל שורות החלקה ע"י אדם שהוסמך לכך לאיתור תופעות חריגות בחלקה. הבדיקה תיערך באביב ובסתיו. בדיקת ניקרונית – קילוף הגזע באזור ההרכבה לחיפוש סימני ניקרון (באביב) אינדקסינג – הרכבה של הצמח הנבחן על צמחי בוחן (אינדקטורים) לזירוז קבלת תסמיני מחלה. בדיקה מעבדתית – אלייזה או בדיקה מולקולארית המקובלת ע"י השירותים להגנת הצומח. בדיקה מולקולארית – המקובלת ע"י השירותים להגנת הצומח.

13. תוכן ההוראה

בדיקות פיטוסנטריות.

1. רשימת הבדיקות והפרוטוקולים המעבדתיים תיקבע ע"י וירולוגים המוסמכים לכך ותעודכן בהתאם לצורך. הרשימה תפורט בנספח לפרוטוקול זה. בכל שנה ייערך מבחן השוואה (ring test) לכל המעבדות המורשות לעומת תוצאות במעבדה לא תלויה.
2. תדירות הבדיקות בחלקות השונות מוגדרת בטבלה מס. 1:

בדיקה	חומר מקור לבית יסוד	בית יסוד	חלקות אם	חלקות זמניות
חזותית	√	√	√	√
ניקרון		1: 20	1: 20	1: 20
אינדקסינג ²	√ ²			
מעבדתית ¹			1: 10	
מולקולארית	√	1: 10 ³	1: 100 ⁴	1: 10 ⁵

¹ רשימת הבדיקות תיקבע ע"י וירולוגים המוסמכים לכך ותעודכן מדי שנה.

² חומר מיובא עבר אינדקסינג.

³ כל החומר מבית היסוד ייבדק לקראת שימוש בו להגדלת חלקת האם.

⁴ 10% מהחומר שנבדק באלייזה

⁵ מציאה של צמח אחד נגוע פוסלת את החלקה כולה.

טבלא 2: אחוז הגפנים שייבדקו כל שנה לנוכחות הוירוסים השונים¹:

וירוס										
Fleck	GFLV	GRSPaV	GVB	GVA	GLRaV-5	GLRaV-4	GLRaV-3	GLRaV-2	GLRaV-1	
2	2	2	5	5	2	2	10	2	3	חלקות אם
כל מקל ייבדק לנוכחות כל הוירוסים המוזכרים בטבלא זו										חומר מקור לבית יסוד
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	בית יסוד
לקראת הוצאת חומר לחלקת אם ייבדקו כל שתילי המקור										
2	5	5	10	10	2	2	10	5	5	חלקות זמניות

¹ בדיקות ELISA יגובו בבדיקות מולקולאריות ב 10% מהגפנים הנבדקות

נספח 1: פרוט בדיקות מעבדתיות:
א. פרוט הפריימרים לזיהוי הוירוסים השונים:

Product Size	Annealing Temp	Primer Sequence	Virus
320 bp	55	LR1hsp70-417F: GAGCGACTTGCGACTTATCGA	GLRaV-1
	55	LR1hsp70-737R: GTAAACGGGTGTTCTTCAATTCT	
332 bp	55	LR2-L2: GCCCTCCGCGCAACTAATGACAG	GLRaV-2
	55	LR2-U2: ATAATTCGGCGTACATCCCCACTT	
546 bp	57	LR3LC1: CGCTAGGGCTGTGGAAGTATT	GLRaV-3
	57	LR3LC2: GTTGTCCCCGGGTACCAGATAT	
319 bp	56	LR4hsp-C: CATAACAAGCGAGTGCAATTACA	GLRaV-4
	56	LR4hsp-V: ACATTCTCCACCTTGTGCTTTT	
273 bp	56	LR5hsp-C: TCTCCAGAAGACGGACCAATGTAA	GLRaV-5
	56	LR5hsp-V: AACACTCTGCTTTTCTGCTGGCA	
430 bp	54	GVA-C1: AAGCCTGACCTAGTCATCTTGG	GVA
	54	GVA-V1: GACAAATGGCACACTACG	
457 bp	54	GVB-C1: ATCAGCAAACACGCTTGAACCG	GVB
	54	GVB-V1: GTGCTAAGAACGTCTTCACAGC	
464 bp	57	GVD-CP471C: CTGCTCTCCAACCGACGACT	GVD
	57	GVD-CP7V: CTTAGGACGCTCTTCGGGTACA	
330 bp	55	RSP-48: AGCTGGGATTATAAGGGAGGT	GRSPaV
	55	RSP-49: CCAGCCGTTCCACCACTAAT	

ניתוח תוצאות הבדיקה

בבדיקה יש לכלול:

1. לפחות דוגמה חיובית אחת.
2. דוגמה שלילית מגפנים ידועות.
3. תוצרי הפקה באמצעות הערכה המסחרית ללא רקמה צמחית לבדיקת הריאגנטים.

נספח 2 – צמחי אינדיקטור

אינדיקטור	מחלה	שנים להופעת סימנים (הרכבה מעוצה)	ימים להופעת סימנים (הרכבה ירוקה)
Vitis rupestris St. George	Nepovirus (fanleaf, mozaic) Fleck, Rupestris stem pitting	2	75 יום
		2	1 שנה
		2	
Cabernet franc or Point noir	Leafroll		
Kober 5BB	Kober stem grooving		
LN33	Corky bark Entions LN33 stem grooving		

סוגי הרכבות:
בהרכבה מעוצה ניתן להרכיב את האינדיקטור על הגפן הנבדקת או על הגפן הנבדקת על האינדיקטור. במקרה השני, יש לוודא שההרכבה נקלטה (צימוח של שלושה ס"מ לפחות). בהרכבה מעוצה, מכל גפן נבדקת יש לגדל לפחות שלושה צמחים עם כל אינדיקטור.

נספח 3 – טבלת מעקב לבדיקת האינדיקסינג בבית היסוד.

שנת האינדיקסינג והאינדיקטורים									הקלון
STGL	K5BB	CAB.F	LN33	CHAR	CHEA	CHEQ	NC	NR	

נספח 4 – טבלת מעקב לביצוע בדיקות מעבדתיות בבית היסוד ובחלקת האם.

וירוס										מיקום הקלון (שורה, גפן כיוון)	הקלון
Fleck	GFLV	RSPaV	GVB	GVA	GLRa V-5	GLRa V-4	GLRa V-3	GLRa V-2	GLRaV-1		

פרק 6 : הורדה, אחסנה ואריזת חומר הריבוי

14. מטרת ההוראה
מטרת הוראה זו, לתאר בפני המגדל את תהליך הורדת חומר הריבוי, להגדיר את אופן ביצוע אחסון של חומר הריבוי בבית האריזה. הכנה ואריזת חומר הריבוי למשלוח ללקוח.

15. תוכן ההוראה

15.1. הכנות הנדרשות להכנת חומר הריבוי למשלוח:

- 15.1.1. מומלץ למגדל טרם מכירת חומר ריבוי לזנים לבצע בדיקה לחיוניות הפקעים .
- 15.1.2. בדיקת מעבדה של חיוניות הפקע ונוכחות אקריות פקע. יילקחו באקראי 25 זמורות לפחות מחלקה עד 5 דונם מאותו הזן.. במידה ותוצאות הבדיקה תהינה

- נמוכות מ- 95% פקעים חיוניים אזי על המגדל לבצע בדיקה של חיוניות הפקעים על ידי חימום הייחורים לאילוף התעורות.
- 15.1.3.** באחריות המגדל לתעד את תוצאות בדיקתו על גבי טבלת מעקב ובקרה אחר חיוניות הרכב. המגדל יקבע את אחוז החיוניות וימסור אותו לקונה. מומלץ שהקונה יתייעץ עם הגורמים המוסמכים.
- 15.2. איסוף החומר והובלתו לסככת המיון:**
- 15.2.1.** המגדל יחתוך את הכנות והרכב בשדה רק לאחר התעצותם המלאה ונשירת העלים
- 15.2.2.** על המגדל להוריד את הסתעפויות הזמורות בשדה.
- 15.2.3.** על המגדל להוביל את הזמורות לבית אריזה, ללא שהות מיותרת בשדה. יש לשמור על חומר הריבוי במצב חיוני ולח.
- 15.3. דרישות לבית אריזה:**
- 15.3.1.** על המגדל לפרוק את חומר הריבוי בבית אריזה העומד בדרישות הבאות:
- 15.3.1.1.** רצפת בטון מוחלק, נוחה לשטיפה עם אפשרות לניקוז מים.
- 15.3.1.2.** השולחנות וכל משטחי העבודה בבית האריזה יהיו מחומר יציב וקשיח, וניתן לניקוי ושטיפה בקלות.
- 15.3.1.3.** השטח מסביב לבית האריזה יהיה נקי.
- 15.3.2.** בסוף כל יום עבודה יעשה ניקיון ושטיפה של בית האריזה ושולחנות המיון.
- 15.4. מיון חומר הריבוי – תקן חומר ריבוי:**
- 15.4.1.** פריקת החומר תעשה בתוך בית האריזה ועל גבי משטח נקי או שולחנות עבודה המנותקים ממגע עם הקרקע.
- 15.4.2.** חומר הריבוי יישטף בזרם מים חזק כדי להוריד את מכסימום אוכלוסיית הנבגים לפני פעולת החיטוי.
- 15.4.3.** במידה והחומר לא מסופק מיידי, יש לאחסנו במקום מוצל ולצנן אותו אחת לכמה שעות כך שתמיד ישמר לח ולא יתייבש.
- 15.4.4.** במהלך המיון יש לוודא כי חומר ריבוי יבש או שבור לא ייארז כלל.
- 15.4.5.** מיון הזמורות יעשה באמצעות קליבר (מד רוחב/קוטר), כאשר על המגדל למדוד את הקוטר הרחב ביותר.
- 15.4.5.1.** קוטר הנע בין 7-12.5 מ"מ - מוגדר כחומר ריבוי "סטנדרט".
- 15.4.5.2.** קוטר הנע בין 4.5-6.5 מ"מ - מוגדר כחומר ריבוי "דק".
- 15.4.5.3.** קוטר מעל 12.5 מ"מ או מתחת ל- 4.5 מ"מ - מותר למכירה רק במקרה בו הלקוח דרש זאת במפורש.
- 15.4.5.4.** סטייה של 5% בעובי, לשני הכיוונים תהווה סטייה נורמלית של המדידה.
- 15.4.6.** מיון חומר הריבוי יעשה באופן דומה לזנים ולכנות, כמתואר לעיל.
- 15.5. אריזת חומר הריבוי:**
- 15.5.1.** מומלץ לחתוך את הזמורות באורך אחיד של מינימום 1.10 מטר, החל מ- 2-3 סמ' מתחת לפקע, אולם ניתן גם לארוז אותן בגודלן הטבעי.
- 15.5.2.** אריזת כנות – כל סוג כנה ייארז בנפרד בחבילות של 100-200 מטר באורך כולל כל אחת.
- 15.5.3.** אריזת רכב – יש לארוז כל סוג חומר ("סטנדרט" או "דק") בנפרד בחבילות של 100 מטר כל אחת. במידה והרוכבים נארזים על פי גודלם הטבעי, על המגדל למדוד את אורך הרוכבים כדי להכין חבילה באורך המתאים.

- 15.6. סימון חומר הריבוי:** **15.6.**
- 15.6.1.** סימון חבילות חומר הריבוי יעשה על גבי תוויות פלסטיק בשפה העברית בצבע שאינו מחיק במים.
- 15.6.2.** הסימון יהיה ברור וקריא.
- 15.6.3.** הסימון יכיל את המידע הבא: שם הכנה או הזן, הקלון, פרטי המקום של חלקת האם ממנה הורד החומר תאריך הזמירה.
- 15.7. אחסון חומר הריבוי:** **15.7.**
- 15.7.1.1.** **אחסון לזמן קצר -** אחסון עד 10 ימים – ניתן לאחסן את חומר הריבוי בבית האריזה במקום קריר ומוצל ולהרטיבו בעזרת המטרה על מנת לשמרו במצב רטוב. החיטוי יעשה לפני השיווק בהתאם לבקשות הלקוח.
- 15.7.1.2.** **אחסון לזמן ארוך -** אחסון מעבר ל- 10 ימים – יעשה בבית קירור מבוקר, בטמפרטורה הנעה בין 2-4 מעלות צלסיוס ולחות יחסית של 90% - 100% ולאחר שהחומר נשטף היטב בלחץ מים. החומר יונח על גבי משטחים.
- 15.7.1.3.** אחסון החומר לתקופה העולה על 15 ימים מחייבת חיטוי חומר הריבוי כנגד פטריות בתכשיר שאושר ע"י השירותים להגנת הצומח לפני הכנסתו לאחסון.
- 15.7.1.4.** במידה והלחות היחסית בבית הקירור נמוכה מ- 90%, יש לעטוף את החבילות ביריעות ניילון ולסגור אותן.
- 15.8. מכירת חומר ריבוי:** **15.8.**
- 15.8.1.** המגדל לא ימכור חומר ריבוי, אלא לאחר שקיבל אישור על כך מאת השירות לביקורת זרעים ושתילים שהוצא לא יאוחר מ- 5 ימים טרם המכירה לגבי ייחורים מבית היסוד ו- 10 ימים לגבי חומר ריבוי מאושר.
- 15.8.2.** כל משלוח יהיה מלווה בתעודת משלוח בטופס שאושר על ידי השירותים להגנת הצומח והביקורת. המגדל ימלא בו את כל הפרטים כנדרש ויעביר העתק ממנו לשירות ביקורת זרעים ושתילים, לא יאוחר מ- 10 ימים מתאריך המשלוח של חומרי מבית יסוד ולא יאוחר מ- 30 ימים מתאריך המשלוח של חומר ריבוי מאושר.
- 15.9. המלצה להובלת חומר הריבוי ללקוח:** **15.9.**
- 15.9.1.** מומלץ שהובלת חומר הריבוי תעשה ברכב סגור על מנת למנוע נזקי רוח ויובש.
- 15.9.2.** מומלץ בעת העמסה להעמיס קודם כל את הכנות ורק לאחר מכן את הרוכבים על מנת שלא לפגוע בפקעים.
- 15.10. בקרות של הלקוח על התוצרת החקלאית:** **15.10.**
- 15.10.1.** יש לאפשר ללקוח לבצע בקרה אחר תהליכי העבודה של המגדל ולאפשר לו שקיפות.
- 15.10.1.1.** המגדל יציג בפני הלקוח את התעודות והאישורים מביקורת שנעשו על ידי השירותים להגנת הצומח והביקורת.
- 15.10.1.2.** המגדל יציג בפני הלקוח את ספר תיעוד הבקרות שביצע: טיפולי מניעת מחלות ומזיקים, השקיה, דישון, זמירה, ועוד.
- 15.11.** על הלקוח לוודא את הדברים הבאים:
- 15.11.1.** הזמורות ישרות, ללא פיצוצים בקליפה, ללא יובש, סדקים בקעים או כל עיוות פיזיולוגי אחר.
- 15.11.2.** המרחק בין הפקעים יהיה אופייני לזן או לכנה.
- 15.11.2.1.** הערה: "צפפת פרקים" או מרחקים בלתי סבירים בין הפקעים מעלים ספק לגבי מצבו התקין של החומר.

2. זיהוי ואפיון מקורות המידבק (דיאגנוסטיקה)

קבוצת המחקר של דר' מוניר מואסי- מינהל המחקר החקלאי.

מחלת התקפלות עלים איננה מחלה חדשה בגידול הגפן. בנוסף, הווירוס GLRaV-3 היה בין הווירוסים הראשוניים שהתגלו בגפנים נגועות. אף על פי זאת, התפרצות המחלה והנזקים הנגרמים לא היו קשים כפי שהם מתגלים בשנים האחרונות. אחד ההסברים לתופעת התפרצות המחלה היא הופעת גזעים יותר אלימים של הווירוס GLRaV-3. הסבר נוסף הוא מעורבות ביחד של מספר וירוסים שונים, תופעה המוכרת בשם סינרגיזם בין פתוגנים. במסגרת המיזם התכונה לבדוק את שתי האפשרויות ולאפיין את הגזעים הנפוצים של וירוס GLRaV-3 ווירוסים נוספים, באם ישנם, בגפנים נגועות בחלקות הניסוי.

קבוצת המחקר במעבדתו של דר' מואסי עסקה בעיקר במטרות:

- עדכון ושיפור של מעקב דיאגנוסטי ברמת המעבדה.
- אפיון גורמי המחלה באזורי הארץ השונים.

שיטת האבחון המשמשת לגילוי נגיעות וירוסים בגפנים היא אולי אבן יסוד החשובה ביותר במיזם. ככל ששיטת הגילוי היא רגישה ואמינה יותר, כך ההחלטות המתקבלות הן בהתאם יותר וודאיות. בעבר, גילוי וירוס התקפלות העלים GLRaV-3 בחומר הריבוי היה מתבצע בשיטות סירולוגיות כמו ELISA ובהתאם לתוצאות, היו מתקבלות החלטות באם חומר הריבוי הוא נגוע או נקי. שיטת ה-ELISA, על אף היותה שיטה רגישה, תלויה במידת הספציפיות של הנוגדנים הזמינים. בשנים האחרונות פותחו שיטות מולקולאריות המבוססות על הגברת מקטעי גנום של הווירוס באמצעות ריאקציות PCR. שיטות אלה יותר רגישות משיטת ה-ELISA לגילוי וירוסים בגפנים ומגלות ריכוזים מזעריים של הווירוס גם בחומר אשר לפי בדיקות ELISA נמצא נקי.

מאידך, שיטת ה-PCR גם היא גישה הניתנת לפיתוח ולהתאמה במטרה לגלות ריכוזים מאוד מזעריים של הווירוס. במסגרת המיזם עסקנו בפיתוח שיטות לגילוי וירוס ה-GLRaV-3 אשר יהיו רגישות ואמינות לגילוי ריכוזים מזעריים של הווירוס ואשר ישמשו למטרת הדיאגנוסטיקה. עסקנו בפיתוח ובכילול פרוטוקולים של הפקות RNA מצמחי גפן ומבחני PCR אשר מבוססים על השימוש בפריימרים המסוגלים לגלות מגוון רחב של גזעים של וירוס ה-GLRaV-3.

במהלך המיזם עסקנו בפיתוח פרוטוקול להפקת RNA כללי מגפנים נגועות במחלות וירוסים אשר אינו מסתמך על קיטים מסחריים ועל שימוש בפרנול אלא על בופרים כמו CTAB. הצלחנו לקבל הפקות של RNA ולקבל RNA כללי של הצמח ושל הווירוס בריכוזים גבוהים אשר היה יעיל לריאקציות ה-RT-PCR. בהמשך, פותח פרוטוקול נוסף ושיטה יותר מהירה ויותר קלה שבאמצעותה ניתן היה לקבל הפקות מועשרות ב-RNA של הווירוס. באמצעות שיטה זו, המבוססת על שילוב של תמיסות של קיטים משתי חברות שונות (Bioneer&Bioreba), ניתן לבצע הפקות RNA ובדיקות של עשרות גפנים בשבוע ימים. השיטה החדשה שימשה אותנו במהלך כול תקופת המיזם לצורך בדיקת הווירוס במספר רב של דוגמאות של גפנים אשר נאספו ממקומות שונים בארץ.

חומר צמחי:

חומר צמחי נאסף באזורים שונים של הארץ ע"י שותפים למחקר. החומר הצמחי הובא למעבדה שלנו למטרת איבחון הווירוסים.

מהלך העבודה:

מהדוגמאות שנאספו הופק מהם RNA כללי מרקמה עשירה בפלואם (פטוטרות ו/או עורקים של עלים; כאשר אין עלווה על הגפנים השתמשנו מרקמת השיפה של זמורות מעוצות). נעשה cDNA, ואחר כך PCR תוך כדי השימוש בפריימרים המגבירים מקטעים שונים מתוך הגנום של הווירוס, בעיקר מקטע מתוך הגן HSP70h, המצוי בוירוסים השייכים למשפחת ה-Closteroviridae אליה נמנים הווירוסים המעורבים במחלת קיפול העלים. בבדיקות שלנו עסקנו בגילוי הווירוסים:

Grapevine leafroll-associated virus 1 (GLRaV1)

Grapevine leafroll-associated virus 2 (GLRaV2)

Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV3)

Grapevine leafroll-associated virus 4 (GLRaV4)
Grapevine leafroll-associated virus 5 (GLRaV5)
Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (GRSPaV)
Grapevine virus A (GVA)
Grapevine virus B (GVB)

בחינת קורלציה בין תסמיני המחלה לסוג הווירוס:

במהלך המיזם נבדקו במעבדה שלנו מאות גפנים מאזורים שונים בארץ. החלק העיקרי של הדוגמאות היו של שני הזנים מרלו וקברנה סובניון. שני הזנים האלה, בנוכחות מחלה, הגפנים מראים תסמינים של האדמה בעלים כפי שנראה בתמונה 1.



תמונה 1: תסמיני מחלה, המתבטאים בהאדמה, בעלים של קברנה סובניון נגוע במחלת קיפול העלים.

על מנת לקבוע את גורם המחלה, נעשו בדיקות אשר מטרתם הייתה למצוא קורלציה בין הווירוסים הנמצאים בגפנים הסימפטומטיים לבין הווירוסים הפוטנציאליים המוכרים מהספרות, והמוזכרים למעלה, וזאת באמצעות בדיקות PCR, ותוך כדי השימוש בפריימרים ספציפיים לכול וירוס.

טבלה 1 מסכמת תוצאות של בדיקות כאלה. למרות שהטבלה מציגה תוצאות של חלק מהדוגמאות אשר נבדקו, ניתן לפי התוצאות להסיק כי הנגיף העיקרי הנפוץ בגפנים הסימפטומטיים של שני הזנים מרלו וקברנה סובניון הוא נגיף ה- LR-3 או GLRaV-3. הנגיף הזה נמצא בערך ב- 90% מהגפנים הסימפטומטיים. מאידך, שאר הווירוסים אשר נבדקו לא נמצאו בשכיחות גבוהה היכולה להצביע על קורלציה עם המחלה. לפי זה ניתן היה להסיק כי הווירוס GLRaV-3 הוא המעורב העיקרי בגרימת המחלה והגורם להופעת התסמינים של האדמה בעלים. לפי התוצאות המוצגות בטבלה 1, רואים גם כי הווירוס GLRaV-3 התגלה ב- 15% מהדוגמאות אשר לא הראו האדמה בעלים. הסבר אפשרי לתוצאה זו הוא שגפנים אלה נגועים בווירוס אך טרם פיתחו תסמינים של האדמה בעלים אולי בשל ריכוז נמוך של הווירוס או בשל הדבקה מאוחרת.

טבלה 1: סיכום תוצאות בדיקות PCR לאימות נוכחות וירוסים בחלק מהדוגמאות אשר נבדקו במהלך המיזם

דוגמא	מקום	תסמינים	מספר דוגמאות*	LR-3	LR-2	LR-1	LR-4	LR-5	RSP	GVA	GVB
מרלו	מבוא חורון	אדום	163	147	9	11	8	0	8	34	0
קברנה סובניון	אורטל	אדום	238	213	13	13	9	0	6	47	0
מרלו		ירוק	26	4	0	0	0	0	0	0	0
קברנה סובניון		ירוק	32	4	0	0	1	0	0	1	0

* מובא כאן סיכום בדיקות של חלק מהדוגמאות אשר נבדקו במהלך שלושת השנים של המיזם. חשוב לציין כי כול הדוגמאות נבדקו ל- LR3 אך רק חלקם נבדקו לשאר הווירוסים המצוינים.

אפיון הגזעים של נגיף GLRaV-3 נפוצים בארץ:

במסגרת המיזם נשאלה השאלה: האם וירוס ה-GLRaV-3 אשר היה מתגלה בדוגמאות הסימפטומטיים הוא זהה בגפנים נגועות של זנים שונים ובמקומות שונים בארץ או שקיימים גזעים של הווירוס כפי שהוא ידוע במקומות אחרים בעולם? על מנת לענות לשאלה זו, בודדנו את תוצרי ה-PCR של חלק רב מהדגימות שנבדקו. תוצרי ה-PCR שובטו לתוך פלסמיד ה-pGEM-Teasy (Promega). על מנת לזהות פלסמידים רקומבננטיים, נסרקו מאות קלונים. הקלונים נבדקו ע"י חיתוכים באנזימי הגבלה על מנת לגלות את אלה המכילים את תוצרי ה-PCR. לאחר כך, נשלחו הקלונים שהתגלו לחברת Hy-Labs LTD במטרה לקבוע את רצף הבסיסים של תוצרי ה-PCR המשובטים.

לאחר קבלת התוצאות של הרצף נעשו אנליזות והשוואות לרצפים במאגר הגנים NCBI. התוצאות של ההשוואות הראו כי ניתן לחלק את הגזעים של ה-GLRaV-3 הקיימים בארץ לשני גזעים (תמונה 2) אשר קראנו להם GLRaV-3-V1 ו-GLRaV-3-V2 או בקיצור LR3-V1 ו-LR3-V2. נציין כי היו גם מעט דוגמאות שכנראה הכילו רצף של גזע שלישי. לרוב הגפן הנגועה הכילה גזע אחד של הווירוס אם כי היו גם מקרים בהם נתגלו תערובות של שני הגזעים 1 ו-2.

תמונה 2: השוואת רצפים של מקטע מתוך הגן HSP70h של ה-GLRaV-3 של תבדידים מקומיים שונים של הווירוס. ההשוואה מראה כי ניתן לחלק את תבדידי הווירוס לשתי אוכלוסיות או שני גזעים.

על מנת לבדוק באם קיימת התפלגות רצפים לשני תבדידים גם במקומות נוספים בגנום ולא רק בחלק של גן ה-HSP70h, נעשו השוואות רצפים של מקטעים שונים בגנום אשר כללו מקטע מהגן של חלבון המעטפת (תמונה 3), המקטע הלא מקודד לחלבון בקצה הגנום 5' (5'UTR) (תמונה 4), והמקטע הלא מקודד בקצה הגנום 3' (3'UTR) (תמונה 5). לאחר בידוד המקטעים האלה באמצעות PCR ושיבוטם בפלסמידים וקביעת רצפים, התקבלו תוצאות המראות כי לפי הגן לחלבון המעטפת ולפי ה-3'UTR ישנה התפלגות של הרצפים לשתי קבוצות; לכן ניתן היה להסיק כי בארץ קיימות שתי אוכלוסיות של הווירוס GLRaV-3 בגפנים נגועות במחלה.

CP15_9Dec_2	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP15_21May_4	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP15_21May_6	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP26_30May_8	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCAGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP26_30May_1	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCAGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP26_30May_1	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCAGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP40_29May_1	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP40_9Dec_2	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
CP40_29May_3	AAACCGAAAGTTATTAACGAGCCGGGAAAAGTATCAGTAG	40
Consensus	aaaccgaaagttattaacgagcc gg aaagtatcagtag	
CP15_9Dec_2	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
CP15_21May_4	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
CP15_21May_6	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
CP26_30May_8	AGGTGGCAATGAAGATTAATGCTGCATTGATGGAGCTGTG	80
CP26_30May_1	AGGTGGCAATGAAGATTAATGCTGCATTGATGGAGCTGTG	80
CP26_30May_1	AGGTGGCAATGAAGATTAATGCTGCATTGATGGAGCTGTG	80
CP40_29May_1	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
CP40_9Dec_2	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
CP40_29May_3	AGGTAGCAATGAAGATTAATACCGCATTGGTAGAGCTGTG	80
Consensus	aggt gcaatgaagattaat c gcattg t gagctgtg	

תמונה 3: השוואת רצפים של מקטע מתוך הגן של חלבון המעטפת של ה-GLRaV-3 של תבדידים מקומיים שונים של הווירוס. ההשוואה מראה כי ניתן לחלק את תבדידי הווירוס לשתי אוכלוסיות או שני גזעים.

murug	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_15_6May	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_15_6May	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_15_6May	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_26_6May	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_26_6May	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_26_12_M	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
5UTR_40_11_M	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
7F7R_10Jul-1	TAAATGGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
3UTR40_10Jul	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
3UTR40_10Jul	ATAAAGGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
7F7R_10Jul-1	TAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
3UTR40_10Jul	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	39
3UTR40_10Jul	ATAAATGCTCTAGTAGGATTCCAAACACGGCATTTTTCAAAA	40
Consensus	ta gct tagtaggatt aac cggcatttttcaaaa	
murug	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_15_6May	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_15_6May	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_15_6May	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_26_6May	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_26_6May	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_26_12_M	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
5UTR_40_11_M	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
7F7R_10Jul-1	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
3UTR40_10Jul	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
3UTR40_10Jul	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
7F7R_10Jul-1	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
3UTR40_10Jul	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	79
3UTR40_10Jul	TTATTTTACCTGAATTTTCCGCCACGTGCCATAAAATTTT	80
Consensus	ttatTTTtacctgaatTTT caccaca gccataaaatTTT	

תמונה 4: השוואת רצפים של לא מקודד בקצה 5' של הגנום (5'UTR) של ה-GLRaV-3 של תבדידים מקומיים שונים של הווירוס. ההשוואה מראה כי לפי מקטע זה לא ניתן להבדיל בין תבדידי הווירוס השונים.

Murug_3UTR	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_15_28Ja	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_15_18Fe	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_15_29Ja	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_26_15Ja	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_26_5Mar	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_26_5_Ma	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_40_7Feb	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_40_13Ma	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
3UTR_40_14Ma	CGACGGGTGGGATGATTTATAGGCGTAACGTTAATCGGT	40
Consensus	cgacgggtgggatgatttataggcgtaacgttaatc t	
Murug_3UTR	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_15_28Ja	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_15_18Fe	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_15_29Ja	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_26_15Ja	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_26_5Mar	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_26_5_Ma	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_40_7Feb	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_40_13Ma	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
3UTR_40_14Ma	ATGTTTATTAGTTACTATTTATATGCTCTAATTAGCATAT	80
Consensus	t tttattagttactat t tgcctctaatt gcatat	
Murug_3UTR	GTAGAAAACGGGAAGGTTGGGAACCTAATTAATAGGTAAG	120
3UTR_15_28Ja	GTAGAAAACGGGAAGGTTAAACAACCACTAATCGGTAAAA	120
3UTR_15_18Fe	GTAGAAAACGGGAAGGTTAAACAACCACTAATCGGTAAAA	120
3UTR_15_29Ja	GTAGAAAACGGGAAGGTTAAACAACCACTAATCGGTAAAA	120
3UTR_26_15Ja	GTAGAAAACGGGAAGGTTGGGAACCTAATTAATAGGTAAG	120
3UTR_26_5Mar	GTAGAAAACGGGAAGGTTGGGAACCTAATTAATAGGTAAG	120
3UTR_26_5_Ma	GTAGAAAACGGGAAGGTTGGGAACCTAATTAATAGGTAAG	120
3UTR_40_7Feb	GTAGAAAACGGGAAGGTTAAACAACCACTAATCGGTAAAA	120
3UTR_40_13Ma	GTAGAAAACGGGAAGGTTGGGAACCTAATTAATAGGTAAG	120
3UTR_40_14Ma	GTAGAAAACGGGAAGGTTAAACAACCACTAATCGGTAAAA	120
Consensus	gt gaaaa g gaaggt t aac a taat ggtaaa	
Murug_3UTR	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_15_28Ja	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_15_18Fe	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_15_29Ja	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_26_15Ja	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_26_5Mar	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_26_5_Ma	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_40_7Feb	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_40_13Ma	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
3UTR_40_14Ma	ACTCTCAATAAAATTTCAAATAAA CAAAAGTAAGAAAAAT	160
Consensus	a cttcaataaattt aaataaa aaaagtaagaaaaat	

תמונה 5: השוואת רצפים של מקטע לא מקדד בקצה 3' של הגנום (3'UTR) של ה- GLRaV-3 של תבדידים מקומיים שונים של הווירוס. ההשוואה מראה כי ניתן לחלק את תבדידי הווירוס לשתי אוכלוסיות או שני גזעים.

לפי התוצאות הנ"ל ניתן היה להסיק כי בארץ קיימות שתי אוכלוסיות או שני גזעים של הווירוס GLRaV-3 בגפנים נגועות במחלה. לשני הגזעים האלה קראנו כאמור GLRaV-3-V1 ו- GLRaV-3-V2 או LR3-LR3-V2 ו- V1.

בהמשך המחקר, בוצעו בדיקות שונות אשר מטרתן לקבוע: האם קיימת קרבה של גזע הווירוס לזן הגפן? האם קיימת קרבה של גזע הווירוס לאזור הגידול של הגפן? האם קיימת קרבה של גזע הווירוס לכנה? האם קיימת קרבה של גזע הווירוס למקור החומר הצמחי? האם קיימת קרבה של גזע הווירוס לחומרת התסמינים?

על מנת לענות על שאלות מחקר אלה נעשה אפיון של גזע הווירוס אשר בודד מ-

- שני הזנים קברנה סובניון ומרלו;
- אזורים שונים ברכז הארץ והצפון (מרום גולן, גשור, אלרום, מזכרת בתיה, צובה, לכיש, צרעה);
- כנות שונות כמו פולסן, רכטר, 216/3;
- חומר צמחי חדש לעומת חומר צמח ותיק (משנות 90);

- נבדקו גפנים עם תסמינים (אדומות) לעומת גפנים ירוקות אך נגועות (לפי ממצאי ה-PCR).

הופק RNA כללי מהדגימות, נעשה cDNA עם תחל אקראי (Random primer) מסחרי. לאחר מכן, מקטעים שונים מהגנום הוגברו באמצעות PCR תוך כדי השימוש בפריימרים ספציפיים למקטע הנבחר. תוצרי ה-PCR נשלחו לקביעת רצפים ע"י חברת HyLabs ברחובות. תוצאות הרצפים נותחו במחשב באמצעות תוכנות רצפים כמו DNAMAN, BioEdit.

לאחר ניתוח התוצאות ניתן היה לסכומים והמסקנות האלה:

- הגזע LR3-V1 הוא יותר נפוץ בכרמים בארץ מאשר הגזע השני. והוא נמצא בערך ב 70% בדגימות שנבדקו
- לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לזן הגפן. שני הגזעים ניתן היה למצוא בשני הזנים קברנה סובניון ומרלו.
- לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לאזור הגידול של הגפן. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בכרמים בצפון ובמרכז בחלקות שנדגמו.
- לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לכנה. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בגפנים המורכבות על מגגון הכנות שנבדקו.
- לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס למקור החומר הצמחי. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בחומר הצמחי החדש והחומר הצמח הוותיק.
- למרות שנמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין הנגיעות בוורוס GLRaV-3, לא נמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין סוג הגזע של הווירוס. גפנים אדומות הכילו את שני הגזעים.
- נמצאו גפנים (בערך 10%) עם הדבקה משולבת בשני הגזעים של הווירוס.

אפיון פיזור נגיף ה-GLRaV-3 בחלקי צמח שונים:

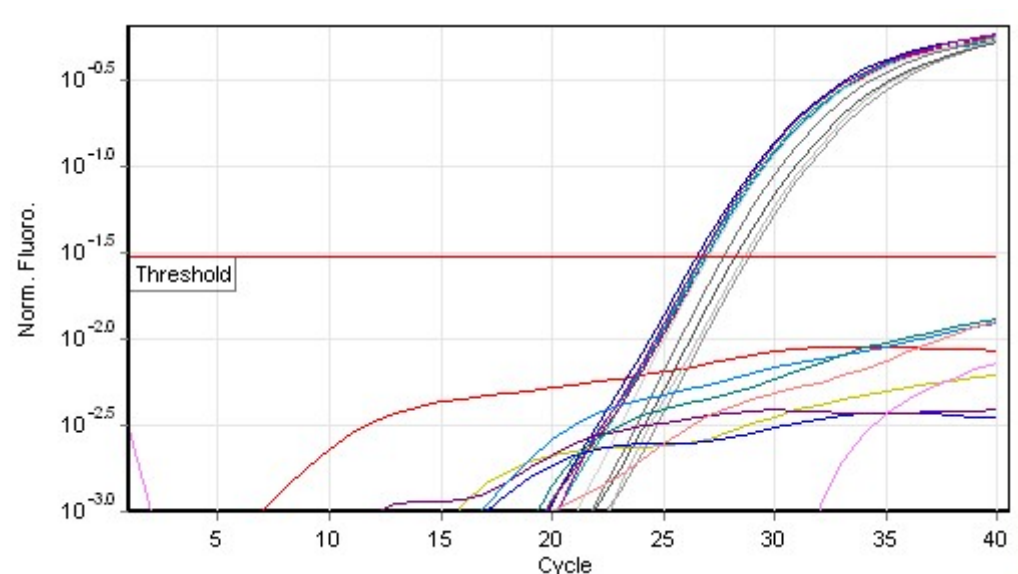
במסגרת המיזם רצינו לבחון את פיזור הווירוס GLRaV-3 בחלקי הצמח שונים ולבדוק באם ישנה העדפה לגילוי הווירוס בעונת החורף או בעונת הקיץ. לשם כך נלקחה רקמה צמחית ממקומות שונים בגפן נגועה אשר כללו שורשים, עלים צעירים, עלים בוגרים ירוקים בין עורקים, עלים בוגרים אדומים בין עורקים, פטוטרות עלים, קליפת ענפים חיצונית בצבע חום, עורקים ורקמה ירוקה מתחת לקליפת הענפים החומה. כמו כן נאסף חומר צמחי מגפנים נגועות בשתי עונות השנה החורף והקיץ. מהרקמות הללו הפקנו RNA. את ה-RNA אשר שימש להכנת cDNA. לאחר מכן נעשתה הגברה של מקטע של הווירוס באמצעות PCR. תוצרי ה-PCR בודדו ונשלחו למעבדת HyLabs ברחובות לצורך קביעת רצף ואימות ההדבקה בוורוס GLRaV-3. ע"פ תוצאות שקיבלנו נמצא כי הווירוס נמצא בכמות הגדולה ביותר בשורשים של הגפן, אך כמות גבוהה יחסית של הווירוס נמצאה גם בפטוטרות של העלים. מאידך, לא הצלחנו לגלות את הווירוס ברקמות של העלים בין העורקים. מתוצאות העבודה שקיבלנו מצאנו גם כי לעונות השנה אין השפעה משמעותית על ריכוז הווירוס (כאשר מדובר ברקמת השיפה של הענפים) כיוון שריכוז הווירוס הן בעונת החורף והן בעונת הקיץ היה בערך זהה. לתוצאות אלה ישנה חשיבות רבה לצורך הדיאגנוסטיקה של הווירוס בכרמים ובמיוחד לבדיקת גפנים שהן צמחי אם אשר ישמשו כמקור לחומר ריבוי. לצורך קבלת תוצאות אמיןות במבחני הדיאגנוסטיקה יש לבחור ברקמה הצמחית העשירה ברקמת השיפה והמכילה יותר חלקיקי וירוס כמו פטוטרות של עלים, שורשים ועורקים של עלים. אבחון הווירוס ע"י PCR ניתן לבצע בחורף וגם בקיץ.

פיתוח מערכת Real-time PCR לגילוי וירוסים בגפנים (GVA, GLRaV-3)

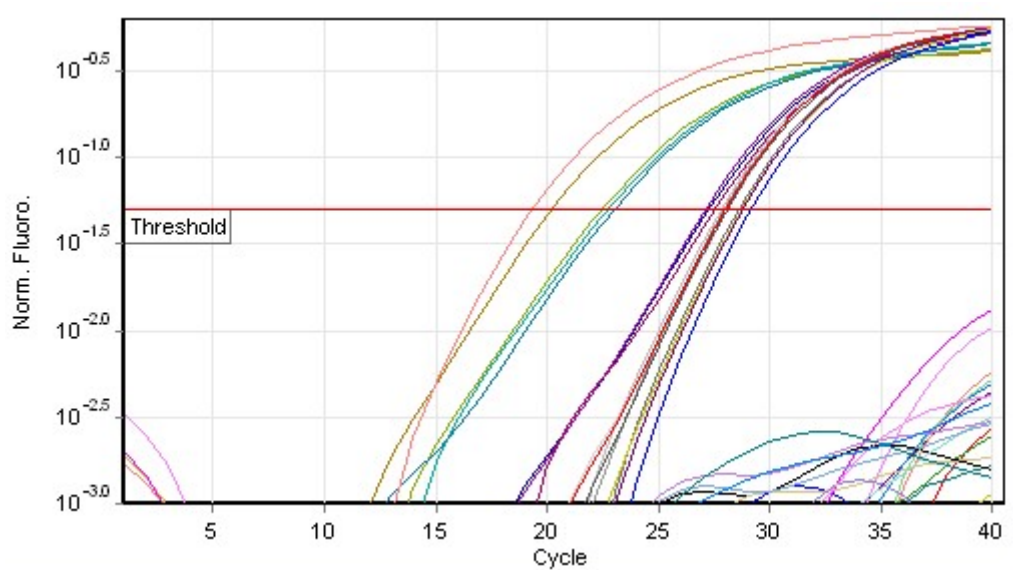
בשנים האחרונות אנו עדים לפיתוח שיטות דיאגנוסטיקה מתקדמות לגילוי פתוגנים שונים. השיטה של PCR נחשבת לשיטה רגישה אך אינה יכולה להעיד על ריכוז או כמות הפתוגן בפונדקאי הנגוע. אחת השיטות אשר תפסה שימוש נרחב בשנים האחרונות היא ה-PCR הכמותי או Real-Time PCR. להבדיל מה PCR הרגיל, ע"י השימוש ב PCR הכמותי ניתן לקבוע את כמות ה DNA המוגבר בכל שלב בזמן הריאקציה ולקבל תמונה מצב על ריכוז או כמות הפתוגן ברקמה הנבדקת. שיטת ה-PCR הכמותי מבוססת על סימון תוצר ה PCR במולקולה פלורוסנטית תוך כדי הריאקציה, והמכשיר, בו מבוצעת

הריאקציה, קובע בו זמנית את רמת הפלורוסנציה בכל שלב בריאקציה ה-PCR באמצעות תוכנת מחשב המחובר למכשיר ה-PCR. ניתן לקבל את התוצאות של ההגברה ע"י ערכים או ע"י גרפים המציינים את רמת הפלורוסנציה בריאקציות.

במסגרת המיזם (שנה שלישית) עסקנו בפיתוח פרוטוקול לגילוי הנגיפים GLRaV-3 ו-GVA בגפנים באמצעות Real-Time PCR. פיתוח הפרוטוקול היה כרוך בכיול השיטה תוך כדי השימוש במגוון פריימרים ספציפיים לוירוסים אלה ופריימרים ספציפיים לגנים אנדוגניים של הגפן המתבטאים בכמות שווה בחלקי צמח שונים (רצפים של פריימרים אלה נמצאים ברשות החוקר הראשי דר' מוואסי והם זמינים לפי בקשה). כיול הפרוטוקול איננו פשוט וארך זמן רב הנמדד בחודשים. אף על פי זאת, במסגרת השנה השלישית של המיזם יכולנו לפתח פרוטוקול אשר שימש אותנו לגילוי וירוסים אלה בפטוטרות של גפנים נגועות. תמונות 6 ו-7 מציגות תוצאות של שני ניסויים לגילוי הנגיפים GVA ו-GLRaV-3, בהתאמה, באמצעות Real-Time PCR.



תמונה 6 מראה ניסוי Real-time PCR לגילוי נגיף ה-GVA בגפן נגועה לעומת גפן בריאה



תמונה 7 מראה ניסוי Real-time PCR לגילוי נגיף ה-GLRaV-3 בגפן נגועה לעומת גפן בריאה

גילוי נגיף ה-GLRaV-3 בקמחיות:

קמחיות נחשבות לויקטור היעיל ביותר להפצת וירוסים בין גפנים. החלק העוסק בטיפול נגד הויקטור יובא בהמשך ע"י קבוצות אחרות שותפות במיזם.

על מנת לבדוק באם קמחיות הנמצאות בכרמים בארץ נושאות את הווירוס, נאספו קמחיות בדרגות בוגר וזחל מכרמים צעירים שאינם מראים תסמינים של מחלת קיפול העלים.

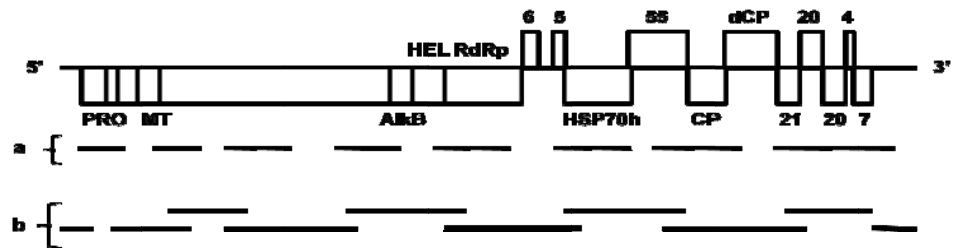
הפקנו RNA מהקמחיות ובדקנו את נוכחות הווירוס GLRaV-3 ע"י PCR.

התוצאות שהתקבלו הראו כי גם הבוגרות וגם הזחלים מאוכלסות בוירוס, למרות שהם נאספו מכרמים שאינם מראים תסמיני מחלה. לפי תוצאה זו ניתן להסיק כי הקמחיות יכולות להיות ויקטור להפצת הווירוס בכרמים צעירים.

אפיון הרצף השלם של הווירוס

התוצאות שפורטו למעלה הראו כי בארץ קיימות שתי אוכלוסיות או שני גזעים של הווירוס GLRaV-3 בגפנים נגועות במחלה. לשני הגזעים האלה קראנו GLRaV-3-V1 ו-GLRaV-3-V2 או LR3-V1 ו-LR3-V2.

במסגרת המיזם עסקנו באפיון הרצף השלם של הגזע GLRaV-3-V1 הקיים בארץ. לצורך מטרה זו הופק RNA כללי מגפן אחת נגועה בוירוס. ה RNA שימש תבנית לסינתזת cDNA עם תחל אקראי (Random primer) מסחרי. לאחר מכן, מקטעים שונים מהגנום הוגברו באמצעות PCR תוך כדי השימוש בפריימרים ספציפיים המגבירים מקטעים המכסים את מלוא הגנום של הווירוס (18kb) (ראה תמונה 8). תוצרי ה-PCR שובטו לתוך פלסמיד ה- pGEM-Teasy (Promega). לאחר בידוד קלונים רקומבננטיים, נשלחו הקלונים לקביעת רצפים ע"י חברת HyLabs ברחובות. תוצאות הרצפים נותחו במחשב באמצעות תוכנות רצפים כמו DNAMAN, BioEdit, Blast. לאחר קבלת הרצף של הקלונים נעשו השוואות רצפים עם גזעים של הווירוס הנמצאים בארצות הברית, ציילי, ודרום אפריקה. התוצאות שהתקבלו הראו כי קיים שוני בין הגזע הישראלי לבין האחרים הנמצאים בארצות הברית, ציילי, ודרום אפריקה (טבלה 2)



תמונה 8: ציור סכמטי המציג את ההרכב של גנום נגיף ה- *GLRaV-3* והמקטעים אשר הוגברו ב- *PCR* לצורך שיבוט וקביעת הרצף השלם של הווירוס.

טבלה 2 המראה אחוזי הדמיון של רצף בין הגזע הישראלי של וירוס *GLRaV-3* לבין גזעים אחרים מארצות הברית, דרום אפריקה וצ'ילה.

LR3-IS	NY-1 AF037268 (US)		GP18 EU259806 (SA)		CL-766 EU344893 (Chilean)	
	nts	aa	nts	aa	nts	aa
5' UTR	98	-	81	-	98	-
ORF1a	96	96	93	94	96	97
ORF1b-61kDa	99	97	99	97	95	98
ORF2 – 6kDa	99	98	89	78	98	96
ORF3 – 5kDa	97	100	94	98	100	100
ORF4 – 59kDa	93	96	92	96	93	97
ORF5 – 55kDa	96	96	94	95	96	96
ORF6 – 35kDa	98	99	92	95	99	99
ORF7 – 53kDa	98	98	91	90	99	99
ORF8 – 21kDa	99	100	93	97	99	98
ORF9 – 20kDa	98	99	91	88	98	98
ORF10-20kDa	82	80	84	82	83	81
ORF11 – 4kDa	78	69	74	63	80	69
ORF12 – 7kDa	91	94	89	91	95	98
3' UTR	97	-	97	-	100	-

3. אפידמיולוגיה ומניעה

מרכז: דר' רקפת שרון- מו"פ צפון

קבוצת המחקר: רקפת שרון, מו"פ צפון

תרצה זהבי, שה"מ

יפית כהן- מנהל המחקר החקלאי

תמר סוקולסקי

גל ספיר

עומר קריין

אלי הררי, מינהל המחקר החקלאי

הכנימה הקמחית נחשבת לווקטור יעיל להעברת וירוסים של גפנים לרבות GLRaV-3 הקשור למחלת התקפלות העלים (Golino et al., 2002).

הכנימה הקמחית של הגפן מקיימת מחזור חיים שלם על הגפן וניזונה מכל חלקיה. הקמחית חורפת בעיקר תחת קליפת הגזע, זרועות הגפן ולעיתים תחת הקרקע על השורשים. בתקופת החורף קיימת האטה בקצב ההתפתחות אך לא נרשמת תרדמה מוחלטת (diapause). ולמעשה בימי החורף החמים יכולה הכנימה להשלים דור ראשון תחת קליפת הגזע. עם העלייה בטמפרטורות ותחילת הצימוח הצעיר באביב, ישנה עלייה בקצב התפתחות האוכלוסייה ובמקביל תועדה תנועה מקבילה של אוכלוסיית הכנימה ושל משאבי הגפן מהשורשים אל הסעיפים ואחר כך אל העלים. ברמות אוכלוסייה גבוהות נרשמת תנועה לעבר האשכולות הסמוכים לזרועות בעת הבשלת הגרגר. העלייה הגבוהה באוכלוסיית הכנימה בקיץ מלווה גם בירידה מהירה, אותה ניתן לייחס למספר גורמים כגון: עליה טבעית באוכלוסיית האויבים הטבעיים, מוות הנובע מטמפרטורות גבוהות והזדקנות רקמות הגפן (Daane et al., 2012). תנועת הקמחית הבוגרת מצומצמת יחסית. קמחית בוגרת אשר החלה בתהליך ההזנה אינה מאופיינת בתנועה עצמאית מרובה אך בניגוד לכנימות ממוגנות, היא אינה מאבדת את רגליה ויכולה לנוע. תרומה משמעותית להפצת הכנימות קשורה לנמלים. הנמלים, הניזונים מהפרשות טל הדבש, מניידות את הקמחיות ומגנות עליהן מפני אויבים טבעיים (Daane et al., 2012). בניגוד לקמחית הבוגרת, דרגות הזחלנים מתאפיינות בתנועה מרובה. בנוסף לתנועה אקטיבית, הטענה הרווחת היא כי דרגות הזחלנים נעות באמצעות רוחות, ציוד חקלאי ותנועת כוח אדם בסביבת הכרם (Charles et al., 2006). עדויות אשר יכולות לתמוך בטענה זו הוא מחקרם של Hommay וחובריו (2012). קבוצת מחקר זו בחנה תעופה פאסיבית של זחלנים (דרגה 2) של הכנימה *Parthenolecanium corni* (Bouché) באמצעות מלכודות דבק. במחקרם נמצא כי ניתן לייחס את לכידות הזחלנים למשטר הרוחות ולצפיפות אוכלוסיית הכנימות בחלקות סמוכות.

בסקרים שנערכו לגבי נוכחות המחלה, (Cabaleiro et al., 2008; Bonfiglioli et al., 2002; Pietersen, 2004) ניתן לראות שלושה דגמים מרחביים עקרוניים: א. נגיעות אקראיות, ברמות שונות, בכל הכרם, ב. נגיעות המתפתחת מכיוון מוגדר - של כרם סמוך נגוע או מוקד בתוך הכרם ו- ג. מצבי שינטוע בהם ניתן לקשר את הנגיעות לנגיעות בחלקת כרם קודמת. מעקב רב שנתי אחרי כרמים משני הדגמים הראשונים מראה שהתפשטות של המחלה מתקיימת רק בנוכחות קמחיות (Cabaleiro & Segura, 2006) ושדגם ההתפשטות של המחלה מתאים למודל של וקטור המתפתח ממוקד (Habibi and Nutter, 1997). מכאן שהתפשטות מחלת קיפול העלים בכרם תלויה ברמת הנגיעות ההתחלתית של הגפנים בכרם, ברמת אוכלוסיית הקמחיות ובתדירות המעברים של זחלי הקמחיות מגפן נגוע לגפן בריאה.

לצורך קביעת מודל ההתפשטות בזמן ובמרחב של הווירוס בכרמים בארץ, והשפעת הקמחיות על צורת וקצב התפשטות הווירוס נדרש מיפוי במרחב לאורך זמן של שני הגורמים: גפנים נגועות בוירוס ונוכחות קמחיות על גפנים.

בחקלאות, הידע על ההתפשטות המרחבית של המזיקים והשינוי שלה בזמן חיוניים להגדרת אסטרטגיות הדברה יעילות, לשיפור שיטות הניטור, לחיזוי הפגיעה ביבול ולאימוץ יישום חומרי הדברה משתנה במרחב ובזמן על-פי עקרונות של חקלאות מדייקת. מזיקים רבים אינם מפוזרים בצורה אקראית במרחב אלא מופיעים במקבצים, ובכך גורמים למקבצים של פגיעה ביבול. במחקרם של (Cabaleiro and Segura, 1997) הבחינו כי מחלת קיפול העלים מקובצת לעבר אחד מגבולות הכרם. בהתחלה הם ייחסו זאת לכרם נגוע סמוך אך בהמשך הסתבר כי בחלק מן הכרמים שנחקרו נמצא דווקא דגם נגיעות אקראי או שניתן היה לקשור אותו לשינטוע. במחקר רב שנתי שערכו Pietersen וחובריו (2013) נמצאה השפעה של גפנים נגועות

על גפנים סמוכות. תוצאות של צוות המחקר שלנו הראו כי ככל שהמחלה מתפשטת עם השנים היא איננה פזורה באופן אקראי אלא מתרכזת סביב מוקד אחד או שניים.

בכרמים בארץ בהם שיעור הנגיעות במחלת התקפלות עלים הוא גבוה אין משמעות להדברת הקמחית כווקטור. לעומת זאת, בכרמים בהם המחלה אינה שכיחה ובהם הנטיעות הן ממקור נקי מוויורוסים יש חשיבות רבה להדברת הכנימה. הדברת הקמחית מהווה אתגר גדול בשל מיקומה גם תחת קליפת הגזע ובשורשים. הימצאותה של לפחות חלק מהאוכלוסייה במיקומים אלו מקשה גם על תהליך הניטור וגם על פעולת חומרי ההדברה כנגד המזיק. בנוסף לכך, מכוון שהכנימה מהווה ווקטור היא עלולה לגרום לנזק גם ברמת אוכלוסייה נמוכה מאד.

בכרמי יין ומאכל ברחבי העולם נהוג ממשק הדברה כימית באמצעות ריסוס זרחנים אורגנים (Chlorpyrifos, Diazinon, Dichlorvos). חומרים אלו בעלי שאריתיות נמוכה ולכן מאפשרים יישום בסמוך למועד הבציר. בישראל, נאסר לאחרונה השימוש בשני הזרחנים Diazinon, Dichlorvos ונראה כי גם Chlorpyrifos צפוי להיאסר בעתיד הקרוב.

מיקום הכנימות, תחת קליפת הגפן ובשורשים, ומעטה השעווה מקשה על הדברת הקמחיות באמצעים אלו (Berlinger, 1977). כתוצאה מכך במהלך השנים האחרונות מתבססת ההדברה על חומרים סיסטמיים (ניאוניקוטיןואידים - Imidacloprid, Thaimethoxam). החדרת החומר באמצעות השקיה אל מערכת השורשים אמורה להתמודד עם הקשיים שצוינו למעלה. קיימים דיווחים כי שימוש בחומרים סיסטמיים הוביל לירידה ברגישות הקמחיות לחומר ההדברה ולעלייה במינון חומר ההדברה הדרוש לקטילת הכנימות (Mansour et al., 2010b). בנוסף, יעילות הדברה באמצעות הגמעה מושפעת מגורמים רבים כגון: סוג הקרקע, משטר השקיה ונפח שורשים ולכן סובלת מחוסר אחידות בתוך ובין חלקות הכרם (Byrne & Toscano, 2006; Mansour et al., 2010b).

לאחרונה נבחן חומר הדברה סיסטמי חדש המיושם בריסוס ("מובנטו" - Spirotetramat) ומבוסס על עיכוב ביוסינטזת ליפידים בחרק. נראה כי חומר זה עולה בקנה אחד עם עקרונות ההדברה המשולבת ואינו פוגע באוכלוסיית האויבים הטבעיים (Mansour et al., 2010a). זאת בניגוד למרבית אמצעי ההדברה הכימית שהוזכרו לעיל הפוגעים באוכלוסיית האויבים הטבעיים בכרם.

בשנים האחרונות נבחנה בכרמים בישראל שיטת בלבול זכרים כנגד קמחית הגפן. ממשק בלבול הזכרים הינו ממשק ספציפי וידידותי והחשש מפני פיתוח עמידות לממשק זה קטנה. פרומון המין של קמחית הגפן מיוצר על ידי הנקבה הנייחת בכדי למשוך את הזכר המעופף. יעילות בלבול זכרים בקמחית הגפן תלויה ברמה ההתחלתית של המזיק, בטווח הטמפרטורות בכרם ובפורמולציית הפרומון (Walton et al., 2006). בישראל נמצא כי יעילות בלבול הזכרים הולכת וגדלה בשנות יישום עוקבות ומתאימה ליישום בחלקות הגדולות מ- 5 דונם. Wolton וחבריו (2006) מצאו בחלקות כי "מבולבלות" ישנן יותר קמחיות מוטפלות ונראה כי הפרומון מסייע לפרזיטואיד במציאת קמחית הגפן, זאת על ידי משיכת הפרזיטואיד מחלקות סמוכות והגברת עוצמת החיפוש אחר המזיק.

מטרות המחקר

1. בחינת ההשפעה של קרבה לכרמים ותיקים נגועים בוויורוס ו/או מאוכלסים בקמחית על התפשטות המחלה בכרמים צעירים מנטיעות חומר ריבוי נקי.
2. בחינת הקשר בין הדברת הקמחית (הדברה כימית דרסטית והדברה באמצעים ידידותיים לסביבה) להתפשטות המחלה.
3. פיתוח ממישק יישום לאמצעי ההדברה העיקרי הקיים – אימידקלופריד.

תיאור המחקר

1. בחינת ההשפעה של קרבה לכרמים ותיקים נגועים בוויורוס ו/או מאוכלסים בקמחית על התפשטות המחלה בכרמים חדשים
הנחת המחקר היא כי הכרמים הצעירים (נטיעת 2009 ומעלה) ניטעו מחומר ריבוי נקי מוויורוס והכרמים חופשיים מכנימה קמחית. כל הכרמים טופלו באימידקלופריד (1-2 סמ"ק לגפן) שנה לאחר הנטיעה (מאי עד אמצע יוני 2010) פרט לכרם אחד שקיבל הגמעה בחורף לאחר הנטיעה (חורף 2009).

שיטות המחקר

נבחרו 6 חלקות מנטיעת קיץ 2009. עבור כל חלקה הוגדר המרחק והכיוון ביחס לכרמים ותיקים מאולחים בוויורוס. שתיים מהחלקות מוקפות בכרמים ותיקים (יפתח ואלרום), שתי חלקות סמוכות בצד אחד

לכרמים ותיקים (יונתן ושיפון), ושתי חלקות מבודדות אשר אינן סמוכות לכרמים ותיקים (מלכיה ורמג"ש).

בכל שנת מחקר בוצעו הפעולות הבאות:

- (1) ניטור זכרים- אוכלוסיית הזכרים נוטרה באמצעות מלכודות פרומון (מלכודת דלתא, תוצרת "אגרון"; פרומון, תוצרת "Chem Tica International S. A."). הפרומון הוחלף כל 6 שבועות, לוחית הדבק הוחלפה ונבדקה כל שבועיים. בתוך כל חלקת טיפול הוצבה מלכודות זכרים אחת.
- (2) כל אחת מהחלקות נבדקה לנוכחות קמחיות בשיא האוכלוסייה (אוגוסט). הניטור נעשה בשולי החלקה וב-5 השורות המרכזיות.
- (3) לבדיקת הגעת זחלנים הנישאים ברוח אל החלקה הוצבו בכל אחד מצידי הכרם (במרחקים של 15 מטר בין העמודים) 3-5 עמודים שעל כ"א מהם הוצבו 4 מלכודות דבק שקופות. המלכודות הוצבו בשני גבהים (150 ו-200 ס"מ) ובשני צידי העמוד (מכוונות כלפי הכרם וכלפי חוץ). לבדיקת מרחק הכניסה לכרם הוצבו בנוסף 2 שורות של עמודים לאורך שורות הכרם המרכזיות. 4-5 עמודים בשורה במרחקים של 24 מטרים בין העמודים. על כל עמוד הוצבו 2 מלכודות בשני גבהים (150 ו-200 ס"מ) ועל פנים שונות של העמוד (עם כיוון השורה ולכיוון השורות הסמוכות). המלכודות הוצבו בשלושה מועדים- תחילת העונה (מאי), אמצע העונה (יולי) סוף העונה (ספטמבר). המלכודות הוצבו למשך שבוע ונבדקו לנוכחות קמחיות (זחלנים ובוגרים). דגימה מהזחלנים והקמחיות שנמצאו על המלכודות נבדקה לנוכחות הווירוס ב-PCR.
- (4) ניתוח מרחבי של מיקום המלכודות השקופות בהן נמצאו קמחיות בהתאמה למשטר הרוחות ובסמיכות לסביבות הכרם השונות (סמיכות לכרמים ותיקים ונגועים, כרמים צעירים מחומר ריבוי נקי וסמיכות לסביבה שאינה יכולה לשמש כמקור מדבק).
- (5) כל אחת מהחלקות מופתה סימפטומטית לנגיעות במחלת קיפול העלים בסתיו. דגימה מהגפנים המראות סימני נגיעות בוורוס נבדקה ב-PCR לאישור הקשר בין הסימפטומים לנגיעות בוורוס. דגימה מהגפנים שאינם מראות סימני נגיעות בוורוס נבדקה גם כן ב-PCR לאימות זיהוי הסימפטומים.
- (6) נערך ניתוח מרחבי למיקום נגיעות בוורוס ובקמחיות בכרם הצעיר יחסית לכרמים ותיקים סמוכים.

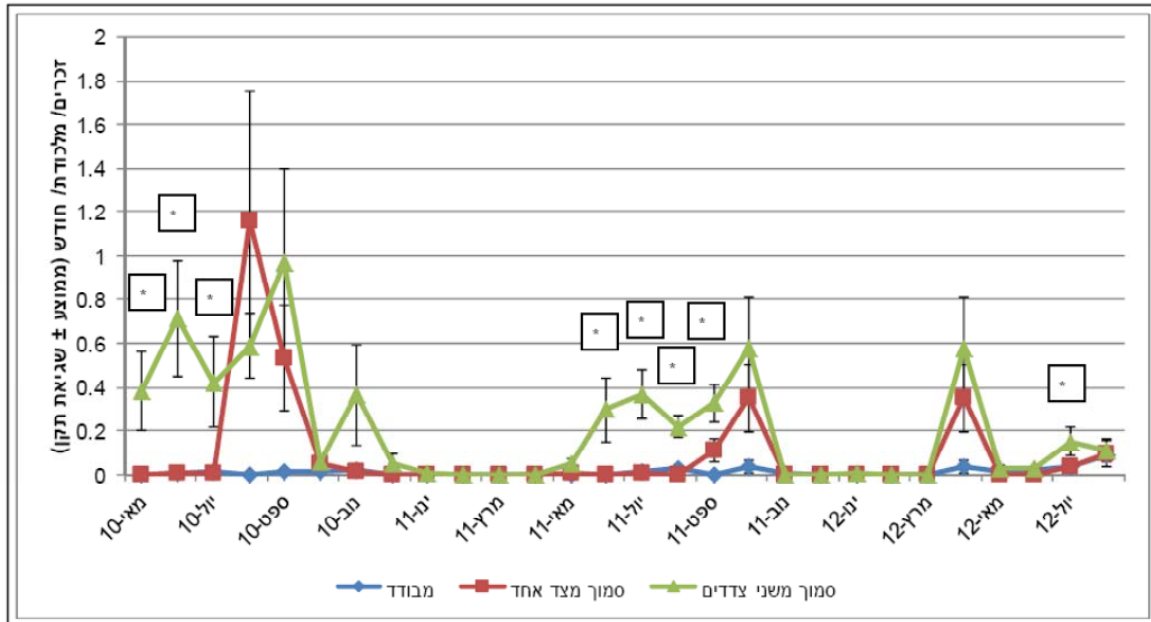
תוצאות שלוש שנות המחקר

1. השפעת כרמים שכנים על נוכחות קמחיות בכרמים צעירים מנטיעות חומר ריבוי נקי

א. ניטור זכרים

השוואה של נוכחות הזכרים בחודשים השונים (איור 1) מראה כי קיים הבדל בין כרמים המוקפים ממספר צדדים בכרמים ותיקים לכרמים בהם רק צד אחד סמוך לכרם ותיק וכרמים מבודדים. בשנת 2010 נרשמה נוכחות זכרים גבוהה בכרמים המוקפים ממספר צדדים בהשוואה לכרמים בהם רק צד אחד סמוך לכרם ותיק וכרמים מבודדים באופן מובהק לאורך החודשים מאי, יוני ויולי. בשנת 2011 נוטרה מגמה זהה, גם בשנה זו נבדלו באופן מובהק מספר הלכידות הרב בכרמים המוקפים ממספר צדדים בהשוואה ליתר הכרמים הנבדקים. אך ההבדלים נמצאו לאורך החודשים יוני- ספטמבר. בשנת 2012 ניטור הזכרים נבדל בין החלקות השונות רק בחודש יולי. מגמת הנגיעות בחודש זה הייתה בדומה לממצאי השנים הקודמות, אך אוכלוסיית הזכרים שתועדה הייתה נמוכה בהשוואה לשנים 2010 ו 2011. בכל הכרמים הצעירים לא נמצאו זכרים בינואר- פברואר 2011, נובמבר-מרץ 2012.

לסיכום- ממצאים אלו מחזקים את הטענה כי מלכודות הפרומון מהוות מדד לאוכלוסיית הזכרים בסביבת הכרם ולא דווקא בחלקת הניסוי הנבדקת (הכרם הצעיר),
בסביבה המוקפת כרמים בוגרים קיים סיכוי רב יותר ללכידת זכרים באמצעות פרומון.



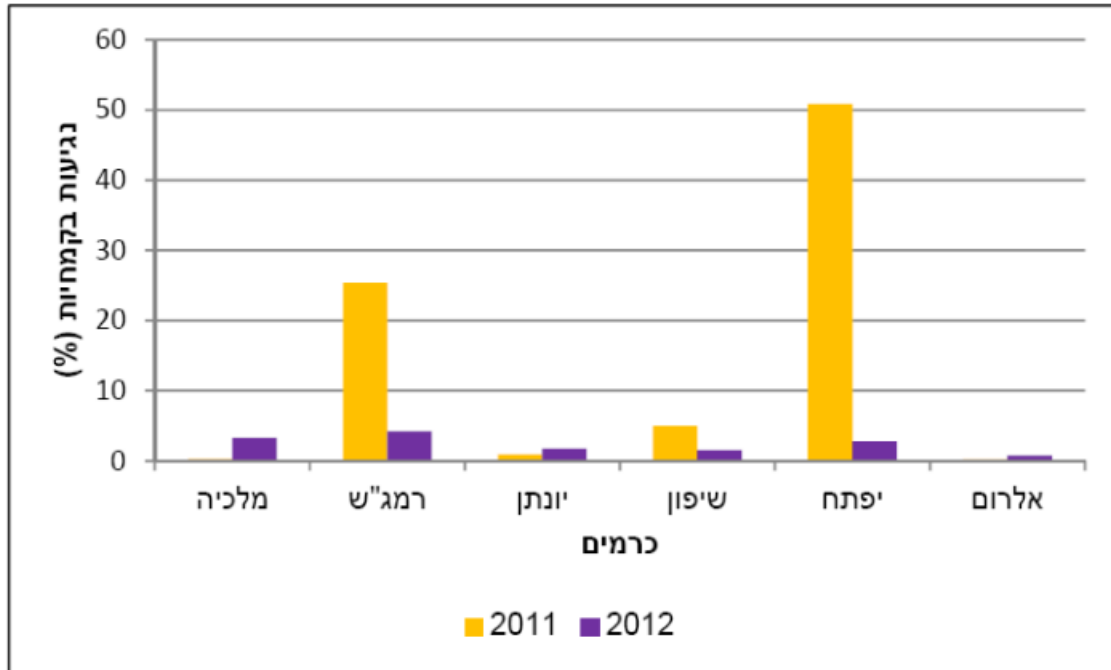
איור 1: מספר הזכרים (למלכודת/ליום, ממוצע ± שגיאת תקן) שנלכדו במהלך העונות בחלקות הצעירות המוקפות

ממספר צדדים בכרמים ותיקים (סמוך משני צדדים), סמוכות רק בצד אחד לכרמים ותיקים (סמוך מצד אחד) וללא כרמים ותיקים בסמיכות (מבודד). כוכביות מעידות על הבדל מובהק בחודש הנבדק.

ב. ניטור קמחיות

בכל ששת הכרמים הצעירים נמצאו קמחיות בשנים 2011-2012. נראה כי בשלושה כרמים (רמג'יש, שיפון, יפתח) רמת הנגיעות בקמחיות ירדה באופן משמעותי בעונת המחקר האחרונה (2012), בעוד שבשלושת הכרמים האחרים (מלכיה, יונתן ואלרום) נראתה עלייה קטנה באוכלוסיית הקמחיות בעונת המחקר השלישית (איור 2).

*



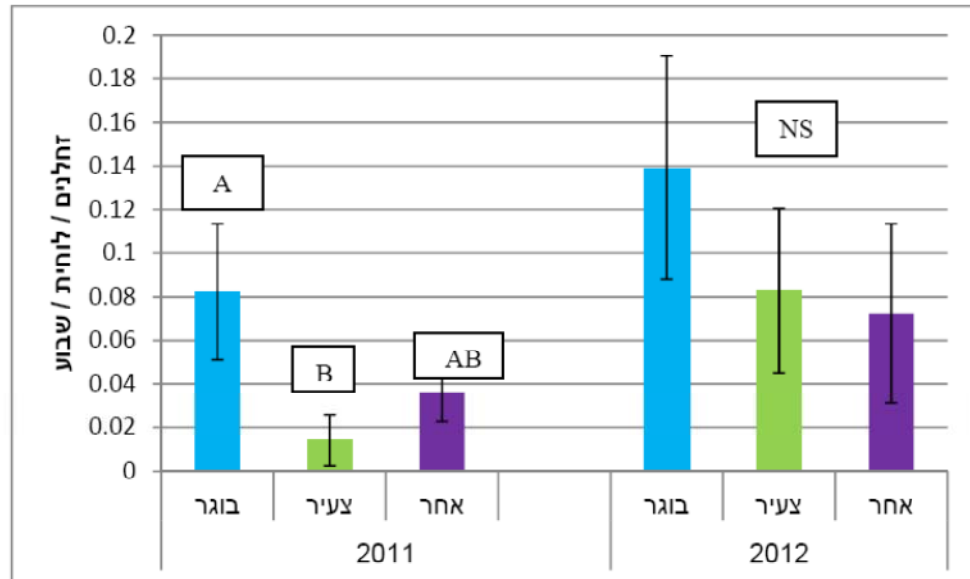
איור 2: אחוזי פנים נגיעות בקמחיות בחלקות צעירות (ממוצע \pm שגיאת תקן).

ג. השפעת סביבת הכרם על לכידת זחלנים פאסיבית

אותרה תעופת זחלנים בכלל הכרמים הצעירים. יחד עם זאת, האיום לחדירת הווירוס מסביבת הכרם מותנה בשני גורמים עיקריים: 1. חדירת זחלנים נשאים של הווירוס המגיעים מכרמים נגיעים. 2. יכולת ההישרדות והתבססות של זחלנים אלו בנטיעה הצעירה. בשל כך, יש משמעות למקור ולכמות הזחלנים המגיעים לכרם. ניתן לייחס את כמות לכידות הזחלנים לסביבות הכרם השונות (סמיכות לכרמים בוגרים, כרמים צעירים ואחר כדוגמת שדות בור ומטעים) על פי מפנה המלכודת (איור 4).

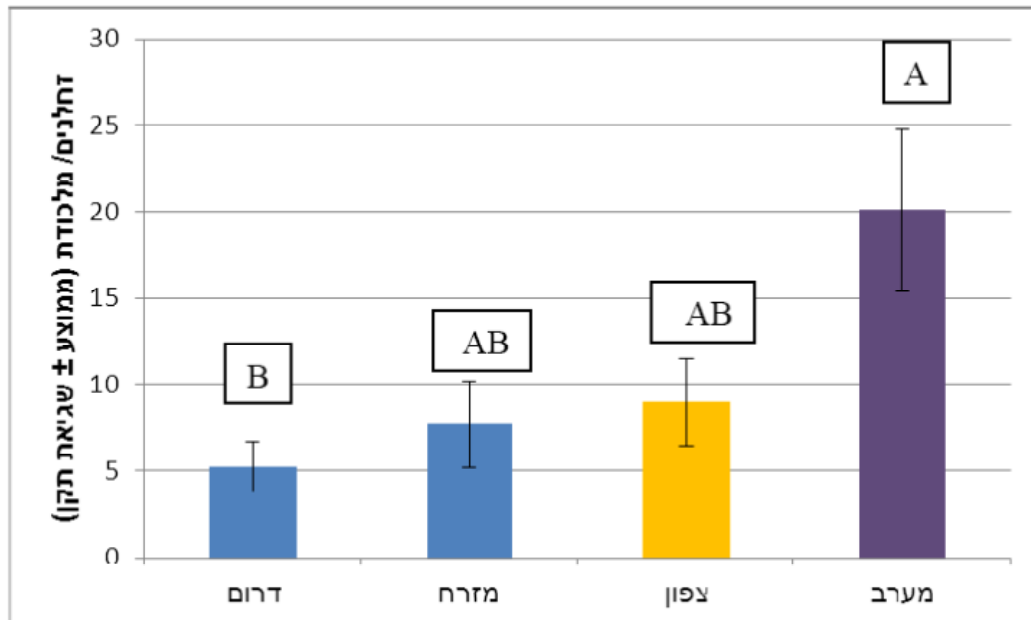
שנה ראשונה - בשנה זו פותחה השיטה ונבחנו הכלים לזיהוי זחלני קמחית הגפן. הזחלנים הוגדרו מורפולוגית וצולמו כאשר ההגדרה והצילום שימשו בשנות המחקר הבאות לזיהוי זחלני קמחית הגפן. *שנה שנייה* - בשנת מחקר זו ניתן לראות כי מירב הלכידות נמצאו במלכודות הסמוכות לכרמים בוגרים (15%), במלכודות אלו נמצאו באופן מובהק ($F=10.57, df=2, p = 0.04$) יותר זחלנים בהשוואה למלכודות הסמוכות לכרמים צעירים (4%). מספר הלכידות במלכודות הסמוכות לסביבה אחרת לא נבדל באופן מובהק משאר המלכודות (6.25%), מספר הלכידות היה נמוך ממספרן בסביבת כרם בוגר וגבוה מספרן בסביבת כרם צעיר.

שנה שלישית - לא נמצאו הבדלים מובהקים במספר הלכידות בין המפנים השונים. מגמת הלכידות העידה כי מספר הלכידות הרב ביותר נמצא במלכודות הסמוכות לכרמים בוגרים, בעוד שמספר הלכידות הנמוך ביותר נמצא במלכודות בסביבה אחרת.



איור 3: לכידת זחלים במלכודות דבק בכרמים צעירים בשתי עונות המחקר על פי סביבת המלכודת (ממוצע זחלים/לוחית/שבוע ± שגיאת תקן). סמיכות לכרם בוגר (בוגר); סמיכות לכרם צעיר (צעיר); לא בסמיכות לכרם (אחר). אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק בתוך אותה שנת המחקר.

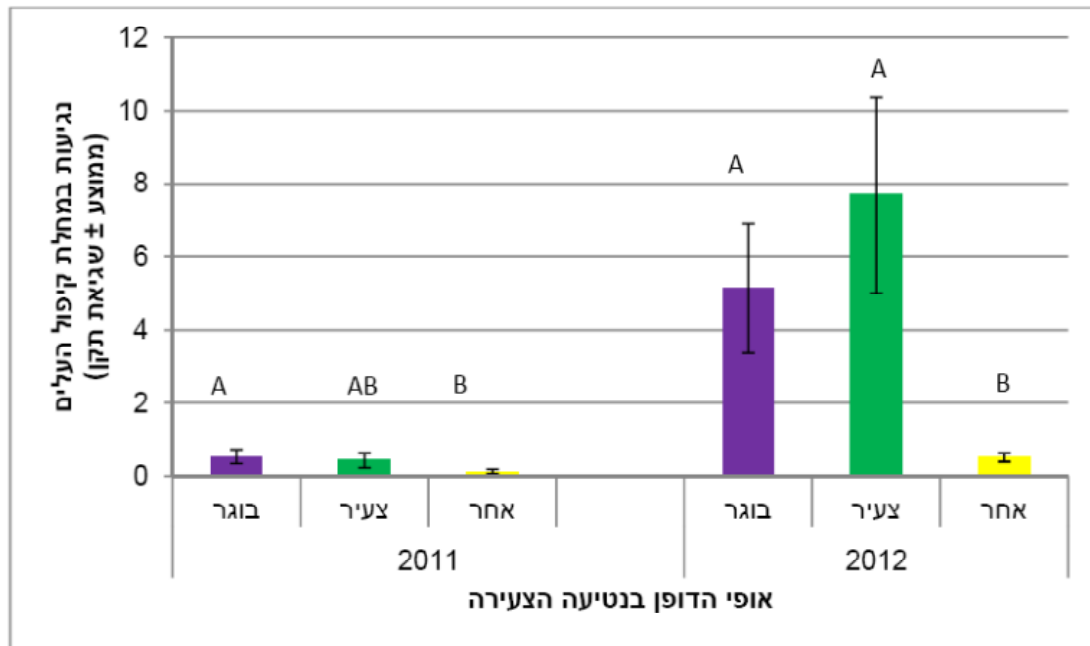
תעופת הזחלים הינה פאסיבית ולכן ישנה השפעה של משטרי הרוחות בסביבת הכרם, בשל כך, מספר הלכידות לאורך כל שנות המחקר נותח בהתייחס לארבעת רוחות השמיים (איור 4). מרבית לכידות הזחלים נמצאו במלכודות בעלות מפנה מערבי (20%), מספר פחות אך לא נבדל בצורה מובהקת של לכידות נמנה במלכודות בעלות מפנה צפוני ומזרחי (7.6%, 9%, בהתאמה). מספר הלכידות הנמוך ביותר, אשר נבדל באופן מובהק משלושת הכוונים ($F=4.23$, $df=3$, $p = 0.01$) נמצא במלכודות בעלות מפנה דרומי (5.2%).



איור 4: לכידות זחלים במלכודות דבק בכרמים צעירים בכל שנות המחקר על פי מפנה המלכודת (ממוצע זחלים/ מלכודות ± שגיאת תקן). אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק.

ד. השפעת כרמים שכנים על הופעת וירוס בכרמים צעירים

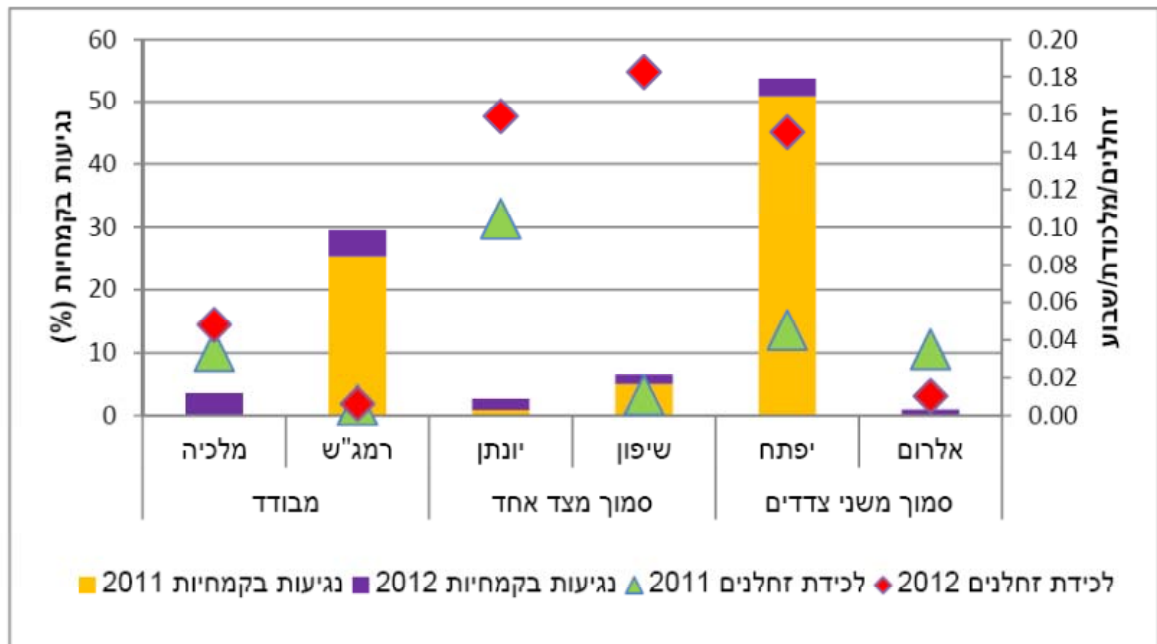
בכל הכרמים שנבדקו, פרט לכרם אחד נמצאה נגיעות בוורוס אך ברמות שונות. בכרמים בהם נמצאה נגיעות נעשה ניתוח מרחבי של שולי החלקה (בופר של מרחקים עולים משולי החלקה אל תוך הכרם) על פי סמיכות הדופן לסביבות שונות (כרם בוגר, כרם צעיר, אחר- דוג' מטע או שדה בור ; איור 5). שנה שנייה- ניתן לראות כי נמצא הבדל ברמת הנגיעות בדפנות הכרמים הצעירים בסמיכות לסביבות שונות. אחוז הנגיעות בדפנות צעירות הסמוכות לכרם בוגר הוא הגבוה ביותר (0.5%) והוא נבדל באופן מובהק ($F=5.05$, $df=2$, $p=0.007$) מאחוז הנגיעות בדפנות הסמוכות לחלקות שאינן כרמים ("אחר", 0.12%). אחוז הנגיעות בדפנות הסמוכות לכרמים צעירים (0.43%) נמצא כנמוך בהשוואה לסמיכות לכרמים בוגרים וגבוה מסמיכות ל"אחר". שנה שלישית- ניתן לראות הבדלים מובהקים ($F=13.1$, $df=2$, $p=0.00$) ברמת הנגיעות בדפנות הכרמים הצעירים הסמוכים לכרם בוגר או כרם צעיר (5.13%, 7.69% בהתאמה) בהשוואה לסמיכות לחלקות שאינן כרם ("אחר") ולא משמשות מקור מדבק.



איור 5: אחוזי נגיעות בוורוס בדפנות החלקות צעירות, בהתייחס לסמיכות הדופן לסביבות שונות (ממוצע ± שגיאת תקן). אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק בתוך אותה שנת מחקר.

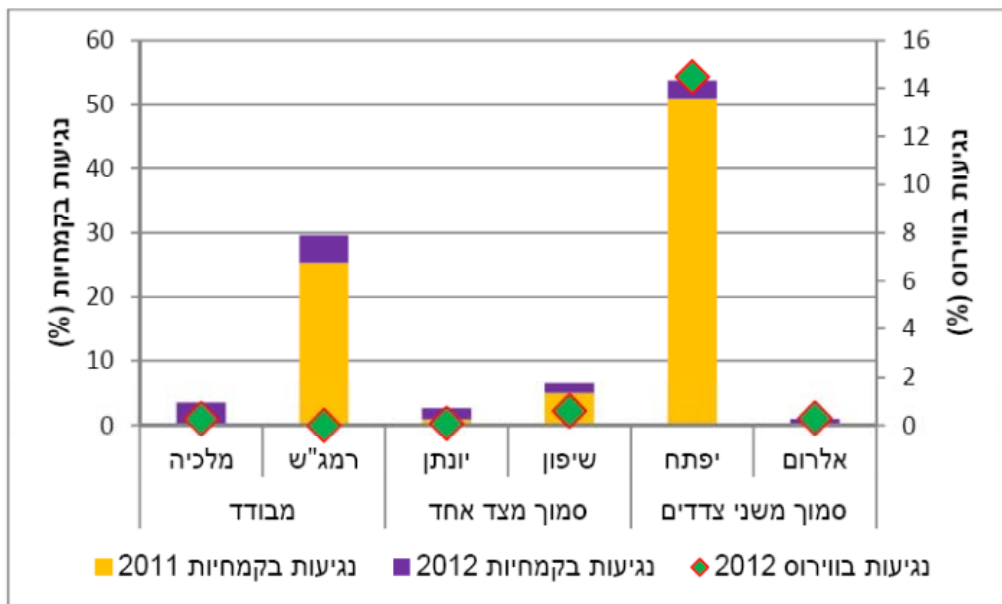
ה. סיכום הממצאים בכרמים חדשים

בכל ששת הכרמים הצעירים נמצאה תעופת זחלנים פאסיבית והתבססות קמחיות אך עם זאת לא נמצא קשר ישיר בין שני מדדים אלו. נמצאו כרמים בהם נלכדו מספר רב של זחלנים ואוכלוסיית הקמחיות נותרה נמוכה (שיפון, יונתן) וכרם בו מספר לכידות נמוך ואוכלוסיית קמחיות גבוהה (רמג"ש). (איור 6).



איור 6- אחוז הגפנים בהם נמצאה אוכלוסיית קמחיות בשנים 2011, 2012 בכרמים הצעירים. ממוצע לכידת זחלים/מלכודת/שבוע בשנים 2011, 2012 בכרמים הצעירים.

נמצא קשר ישיר בין התבססות אוכלוסיית הקמחיות לבין שיעור הגפנים בעלות תסמיני המחלה בכרמים הסמוכים מצד אחד או שניים למקורות מדבק. בכרמים אלו, נמצא מתאם גבוה ואחיד בין אוכלוסיית הקמחיות בשנת 2011 לשיעור התסמינים בשנת 2011 ובשנת 2012 ($R^2=0.99$). בכרמים מבודדים, סביבם אין מקור מדבק, על אף נוכחות הקמחיות הגבוהה אחוז הגפנים הנגועות במחלת קיפול העלים נמוך או אפסי (רמג"ש ומלכיה) (איור 7).



איור 7- אחוז הגפנים בהם נמצאה אוכלוסיית קמחיות בשנים 2011, 2012. שיעור הגפנים בעלות תסמיני המחלה בשנת 2012 בכרמים הצעירים.

2. בחינת הקשר בין הדברת הקמחית להתפשטות מחלת קיפול עלים.

הניסוי נערך במשך שלוש שנים (2010-2012) בכרמי קברנה סובייניון ותיקים בגולן, בגליל ובשפלה. בכרמים ותיקים ישנה אוכלוסיית קמחיות ונגיעות בוירוס המאפשרת ביצוע ניסוי הדברה ובחינת השלכותיו על התפשטות המחלה. בכל כרם אופיינה רמת נגיעות גפנים בוירוס לפני תחילת הניסוי ובתום כל שנת ניסוי.

ב- 2010 נבחרו כרמים שרמת הנגיעות בוורוס בהם הוגדרה כנמוכה עד בינונית. (כרם גשור, כרם מירון וכרם חולדה) ע"פ מידע מפקחים ומדריכים ועל בסיס דגימות גפנים שנבדקו ב-PCR). בשל אחוזי נגיעות גבוהים בסתיו 2010, נערך הניסוי בשנת המחקר השנייה והשלישית (2011-12) בשני כרמים אחרים ברמת הגולן (כרם הרוח וכרם עין זיוון). כרמים אלו חולקו לשלושה בלוקים (כרם הרוח, 1 כרם הרוח 2 ועין זיוון), כאשר רמת הנגיעות התחילית בוורוס בחלקות הטיפול היא כ- 17%-8. גודל הכרם הנבדק לפחות 50 דונם. גודל חלקת טיפול 3 דונם (בהתאם לסוג הטיפול). בכל הכרמים ניתן טיפול באונקוטינואיד בשטח שלא נכלל בחלקות הטיפול. נערכה השוואה בין חלקות הטיפול השונות של הקצב והדגם המרחבי של התפשטות הווירוס.

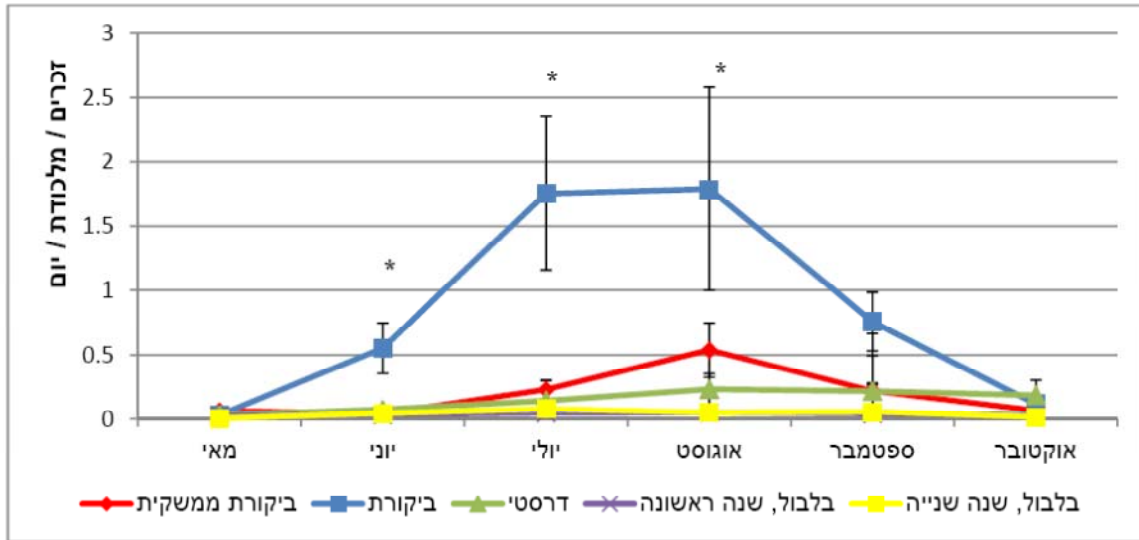
הטיפולים בוצעו בתחילת מאי:

- (1) טיפול ביקורת- בחלקות אלו לא ניתן כל טיפול כנגד הכנימה הקמחית.
 - (2) טיפול ביקורת ממשקית- בחלקות אלו בוצעה הגמעה באונקוטינואיד (חומר סיסטמי)- כנהוג בטיפול ממשקי של 2 סמ"ק לגפן?*
 - (3) טיפול דרסטי- חלקה בה הודברו הקמחיות ע"י ניאונקוטינואיד בשילוב אמצעים דרסטיים נוספים- קילוף הגזעים וריסוסים ישירים של זרחן אורגני (כלורופיריפוס, 0.15%).
 - (4) טיפול בלבול – בחלקות אלו יושם בלבול זכרים באמצעות נדיפיות פרומון נקבי- בכל חלקת הטיפול פוזרו נדיפיות המכילות את הפרומון הנקבי של קמחית הגפן. כ 70 נדיפיות בלבול לדונם. (תוצרת "סוטר", כל נדיפית מכילה תערובת רצמית של פרומון המין *lavandulyl senecioata* +/- במינון 150 מ"ג, קצב שחרור 0.8~ מ"ג / יום).
 - (5) בלבול+ קילוף- בחלקות אלו יושם בלבול זכרים באמצעות נדיפיות פרומון נקבי (כמפורט בסעיף הקודם) וקילוף הגזעים.
- (*) השוואה לביקורת לא מטופלת נעשתה ב 2010. בשנים הבאות, בגלל החשש להשאיר שטח לא מטופל נערכו השוואות לביקורת הממשקית (טיפול באימידקלופריד). בעונות המחקר השנייה והשלישית נוספו טיפולי ההדברה הבאים: דרסטי, בלבול ובלבול+ קילוף וטיפול הביקורת הממשקית (יישום נאונקוטינואיד) שימש כביקורת (ראה פירוט מלא ב Sharon et al. 2012).
- שיטות הדגימה:
- בחירת חלקות הטיפול- חלקות הטיפול ל 2011-12 נבחרו על בסיס ניתוח מרחבי של דפוס הנגיעות ב 2010 על מנת להציב את טיפולי ההדברה באתרים בהם רמת הנגיעות התחילית נמוכה. דפוס פיזור הנגיעות נקבע באמצעות ניתוח Gi^* ובכל החלקות נמצאו מוקדים. על-פי מיפוי ה- Gi^* נבחרו תתי-חלקות בעלות פיזור אחיד של נגיעות (מחוץ למוקדים) ואשר מאופיינות ברמת נגיעות של 16%-8 ניטור זכרים- ניטור באמצעות מלכודות זכרים בוצע כמפורט בניסוי הכרמים הצעירים.
- נוכחות קמחיות- בכל טיפול נבדקו (1) 20 גפנים באופן אקראי פעם בחודש, זאת בכדי לזהות את שלב שיא האוכלוסייה, המועד האופטימאלי לבחינת ההשפעה של טיפולי ההדברה על הקמחיות. הניטור בוצע באמצעות קילוף גזעים וחיפוש קמחיות במשך 5 דקות על כל גפן. רמת אכלוס הגפן בקמחיות הוגדרה בנפרד עבור כל שלב פנולוגי (בוגרות וזחלנים). הוגדרו ותועדו 4 רמות: 0 - ללא קמחיות, 1 - נמוכה = 1-10 פרטים, 2 - בינונית = 11-30, 3 - גבוהה = מעל 30 פרטים. הרמות הומרו לחציונים לצורך הניתוח הסטטיסטי. כמות שקי הביצים נספרה ישירות.
- בשיא התפתחות אוכלוסיית הקמחיות (סוף יולי-תחילת אוגוסט) נבדק מדגם של 50 גפנים בכל חלקת טיפול לנוכחות הקמחיות על הגפנים.
- (2) סמוך למועד הבציר נדגמו 100 אשכולות באופן אקראי בכל חלקת טיפול. נוכחות השלבים הפנולוגיים של אוכלוסיית הקמחיות תועדה.
- מיפוי נגיעות גפנים בוורוס GLRaV-3- בסתיו 2010, 2011 ו 2012 נאסף מידע על מיקום גפנים נגועות סימפטומטית בחלקות הניסוי. גפן אשר זוהתה ויזואלית כנגועה סומנה בשטח ותועד מיקומה המדויק. מידע זה שימש ליצירת מפת נגיעות באמצעות מ"ג.
- מדגם של לא פחות מ- 20 גפנים מכל חזרה נבדק ב- PCR לנוכחות וירוס קיפול העלים ונקבע כי קיים מתאם בין הזיהוי הסימפטומטי לנגיעות בוורוס.
- ניתוח במרחב ובזמן- הדגמים המרחביים של הנגיעות בוורוס והשינויים שלהם בזמן הושו באמצעות ניתוח גיאוסטטיסטי. בסיס המידע הרב – שנתי שימש לאיתור וכימות גפנים בסיכון הינגעות (ראה פרוטוקול מפורט Sokolsky et al. 2012 ב

תוצאות שלוש שנות המחקר

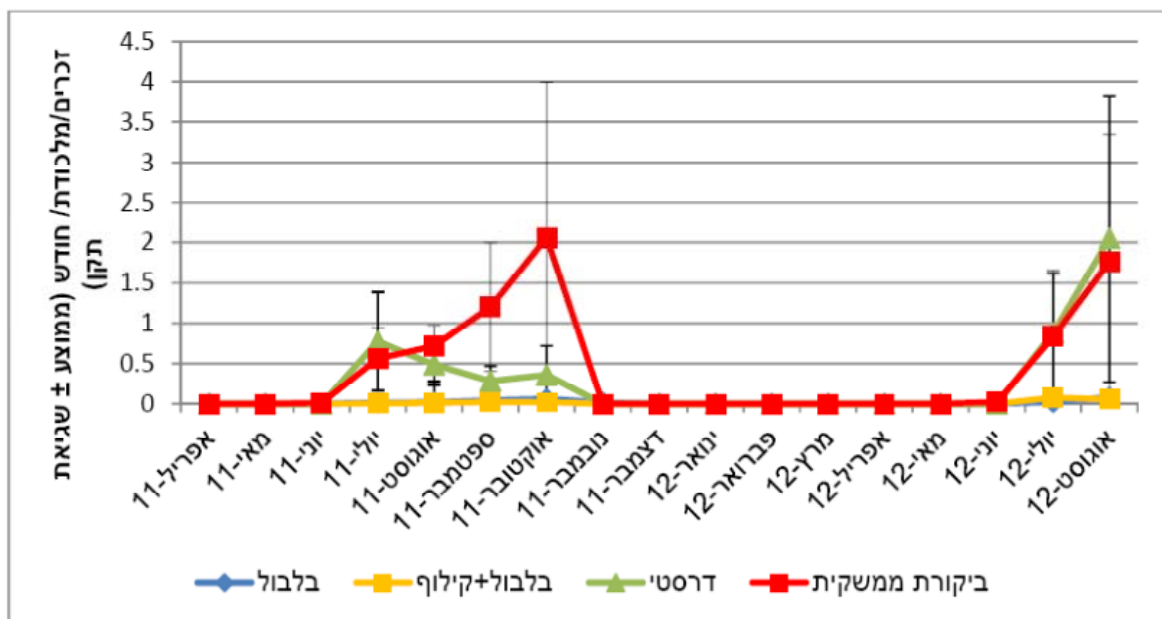
א. ניטור אוכלוסיית זכרים של קמחיות

מלכודות הזכרים מספקות מדד לגודל אוכלוסיית הזכרים בסביבת הכרם ובנוסף, מסייעות לבחון האם פיזור נדיפיות הבלבול יעיל ואחיד לכיסוי השטח (איור 8). בעונת 2010, לאורך כל עונת המחקר מספר הזכרים במלכודות שהוצבו בחלקות הבלבול היה נמוך משאר הטיפולים וקרוב לאפס פרטים למלכודת ליום. ניתן לראות בכל הטיפולים מגמה של עלייה באוכלוסיית הזכרים החל מחודש יוני וירידה בחודש אוגוסט. בחודשים אלו מספר הלכידות בחלקות הביקורת היו גבוהות יותר ונבדלו באופן מובהק משאר הטיפולים (יוני; $df=4$, $F=4.89$, $p=0.001$; יולי; $df=4$, $F=5.6$, $p<0.01$; אוגוסט; $df=4$, $F=3.04$, $p=0.02$).



איור 8 - מספר הזכרים (למלכודת / ליום, ממוצע \pm שגיאת תקן) שנלכדו במהלך עונת המחקר 2010 בחלקות הטיפול השונות. צבעים שונים מעידים על טיפול שונה.

בשנים 2011-2012, גם בחלקה הממשקית (טיפול בניאוניקוטינואיד) וגם בחלקת הטיפול הדרסטי נמצאו זכרים במלכודות החל מיוני ועד אוקטובר. בשתי החלקות בהן פוזרו נדיפיות בלבול לא נמצאו זכרים לאורך כל תקופת המחקר. מספר הזכרים הממוצע ליום שנלכדו במלכודות במהלך העונה בטיפול הביקורת הממשקית היה גבוה ממספרם בטיפולי הבלבול ובטיפול הדרסטי, אך לא נבדל מהם באופן מובהק (איור 9).



איור 9 : מספר הזכרים (למלכודת/ליום, ממוצע \pm שגיאת תקן) שנלכדו במהלך עונת המחקר 2011-2012 בחלקות הטיפול השונות.

ב. השפעת טיפולי ההדברה השונים על אוכלוסיית הקמחיות

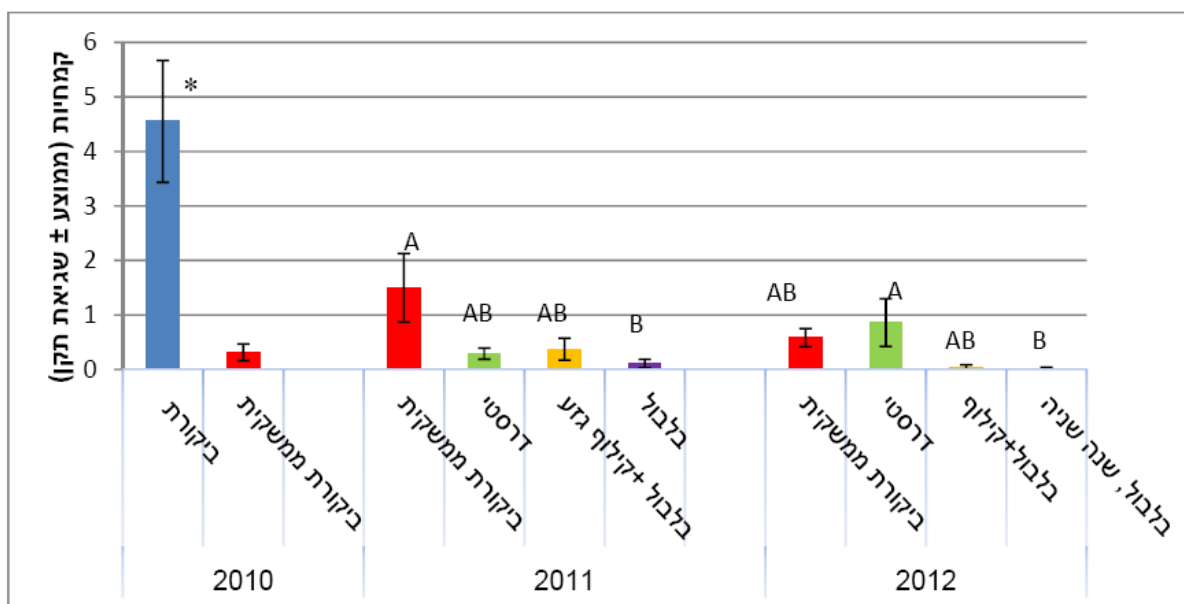
בשנת המחקר הראשונה, בכל דרגות הכנימה הקמחית נמצא הבדל מובהק ברמת האוכלוסייה בין הטיפולים הנבדקים (קמחיות): $F=14$, $df=1$, $p=0.00$; $F=12.12$, $df=1$, $p=0.00$, שקי הטלה: $F=15.08$, $df=1$, $p=0.00$. אוכלוסיית הקמחיות שנמצאה בטיפול הביקורת הייתה גבוהה בהשוואה לטיפול הביקורת הממשקי (הגמעה בניאוניקוטינאיד) (איור 10).

כתוצאה מתוצאות עונת המחקר 2009-2010, בהם נמצא שיעור נגיעות גבוה במחלת קיפול העלים החלטנו לעבור לחלקות אחרות ובסתיו 2010 הושם דגש על מספר קריטריונים לבחירת חלקות הניסוי לעונות העתידיות (2010-2012). הוחלט כי אחוז הנגיעות בחלקות הטיפול יהיה בטווח של 5-15%, זאת כדי לאפשר מעקב רב שנתי אחרי העלייה בשיעור הנגיעות. בנוסף, הושם דגש על בחירת שטחים עם פיזור אחיד של נגיעות. באמצעות ניתוח סטטיסטי מרחבי אותרו "מוקדים חמים" של נגיעות ואלו הוצאו מתוך חלקות הטיפול. טיפול ההדברה הנהוג בחלק ניכר מכרמי ישראל, הגמעה בניאוניקוטינאיד, שימש כביקורת (ביקורת ממשקית)

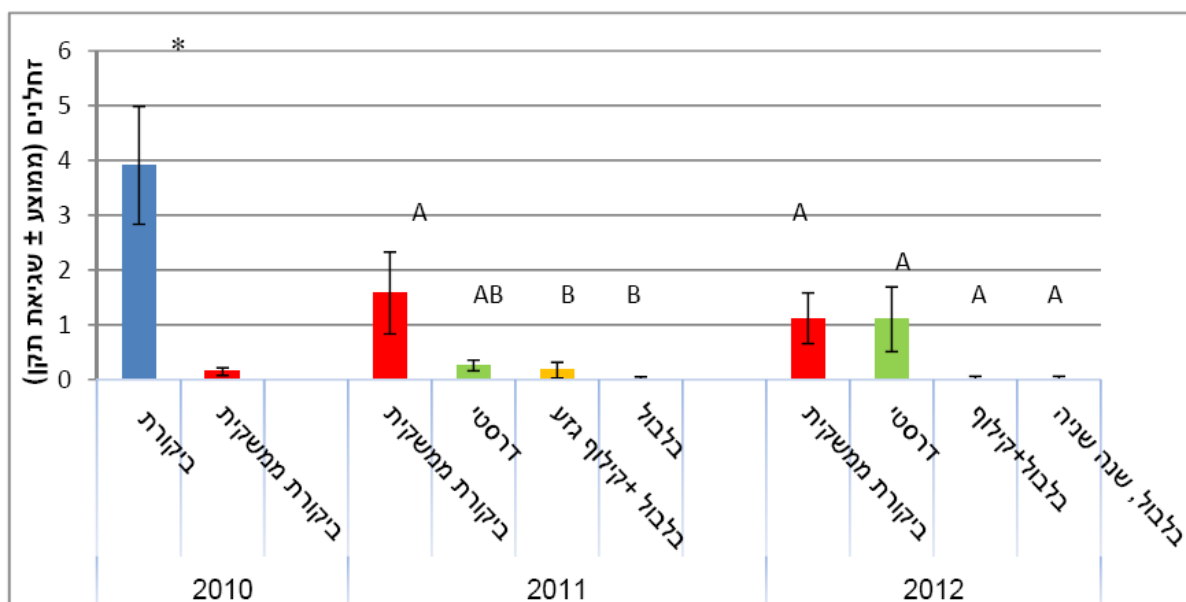
שנה שנייה (קונפידור כביקורת ממשקית) בכל דרגות הכנימה נמצאה מגמה ברורה של הבדלי נגיעות בין הטיפולים השונים. רמת האוכלוסייה בטיפול הקונפידור גבוהה באופן מובהק מטיפול הבלבול בו רמת האוכלוסייה הנמוכה ביותר (בדרגת הבוגרות והזחלנים, $p=0.015$; $p=0.014$ בהתאמה). רמת האוכלוסייה בטיפול הדרסטי וטיפול בלבול זכרים עם קילוף גזע נמצאת בין רמתה בטיפול הקונפידור לרמתה בטיפול בלבול זכרים. (איורים 10-12).

שנה שלישית- בכל דרגות הכנימה הקמחית נמצאה מגמה ברורה של נגיעות גבוהה יותר בטיפול הדרסטי וטיפול הביקורת הממשקית בהשוואה לטיפול הבלבול שנה שנייה וטיפול הבלבול וקילוף הגזע. רמת האוכלוסייה בדרגת הקמחיות הבוגרות בטיפול הדרסטי הייתה גבוהה באופן מובהק מאוכלוסיית הקמחית בטיפול הבלבול ($p=0.02$). רמת האוכלוסייה בטיפול הביקורת הממשקית ובטיפול הבלבול וקילוף הגזע נמצאת בין רמתה בטיפול הדרסטי לרמתה בטיפול הבלבול שנה שנייה.

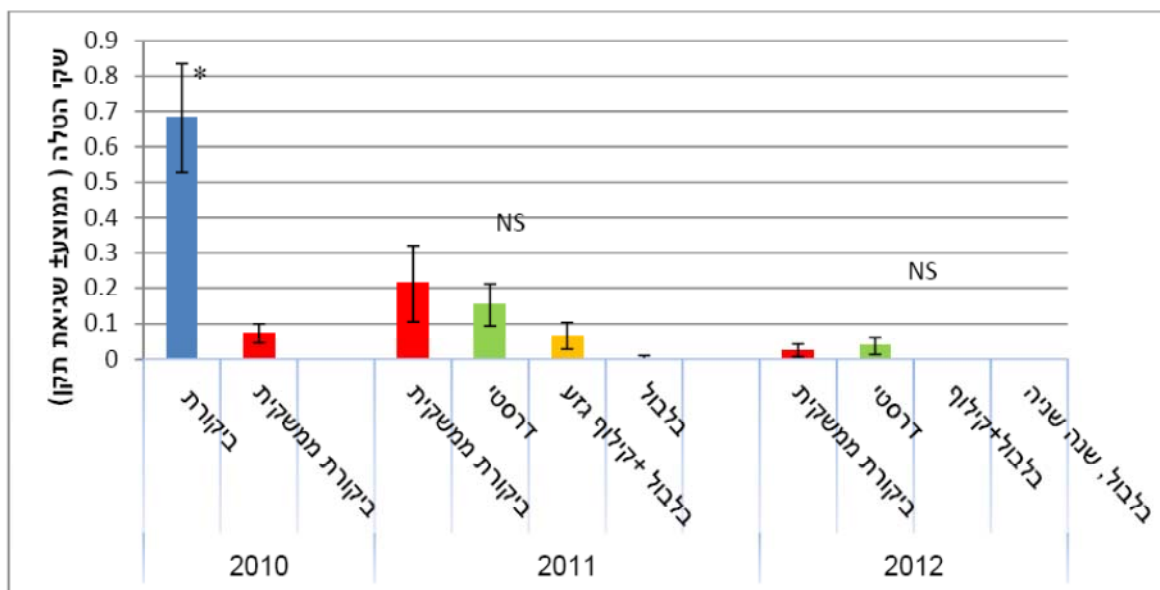
בהתייחס לשינוי ברמת אוכלוסיית הקמחית לאורך השנים (2011-2012) בטיפולים השונים, ניתן לזהות בטיפולי הבלבול ירידה כמעט מוחלטת באוכלוסיית הקמחיות. יש לציין כי בשנה השנייה והשלישית מרבית אוכלוסיית הקמחיות נמצאה בכרם עין זיוון בעוד שבכרם הרוח היו עדויות מצומצמות לאוכלוסיית הווקטור ועיקר ההשפעה נובעת מהבלוק של עין זיוון.



איור 10 : נגיעות בדרגת קמחיות בוגרות על הגפנים בטיפולים השונים (ממוצע ± שגיאת תקן). אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק בתוך אותה שנת מחקר.



איור 11 : נגיעות בדרגת זחלנים על הגפנים בטיפולים השונים (ממוצע ± שגיאת תקן). אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק בתוך אותה שנת מחקר.



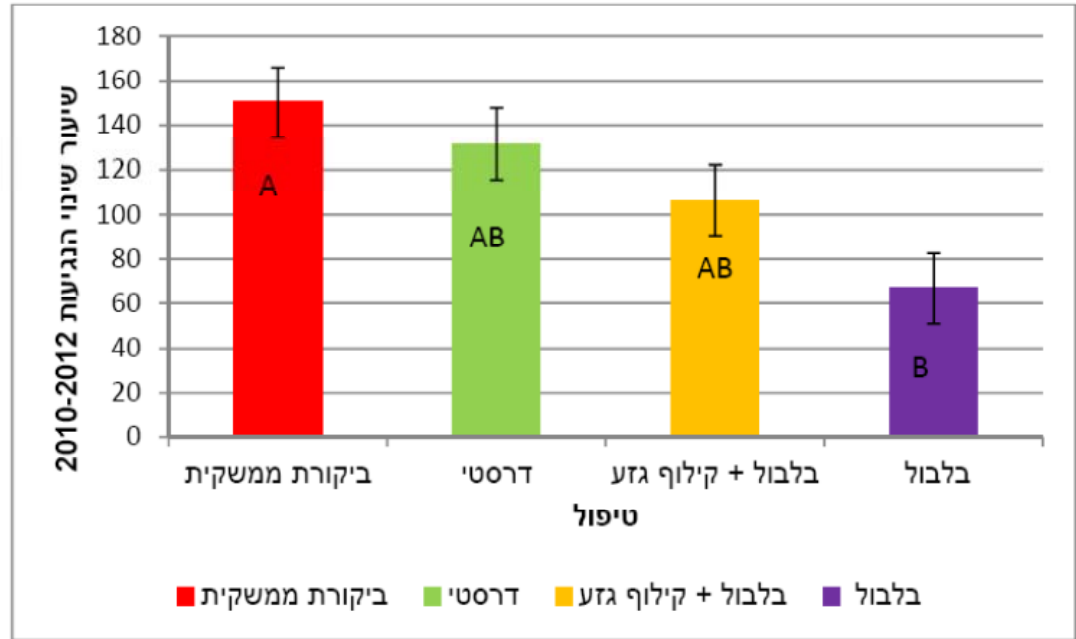
איור 12: נגיעות שקי הטלה על גפנים בטיפולים השונים (ממוצע ± שגיאת תקן).

סיכום - בניסוי הנוכחי נמצא כי כל טיפולי ההדברה שנבדקו מקטינים את אוכלוסיית הווקטור בהשוואה לביקורת לא מטופלת. בנוסף, נמצא כי יעילות ההדברה משתנה בין הטיפולים השונים וכי הטיפול באמצעות בלבול זכרים בשנת היישום השניה היה היעיל ביותר.

ג. אחוזי נגיעות בוירוס קיפול עלים בטיפולים השונים

מאחר ורמת הנגיעות התחילית הייתה שונה בכל חלקת טיפול, נעשה ניתוח סטטיסטי (covariance) המנרמל את רמת הנגיעות התחילית והשפעתה על שיעור שינוי הנגיעות. שיעור שינוי הנגיעות בין השנים 2010-2011 לא נבדל באופן מובהק בין טיפולי ההדברה השונים, אך עם זאת ניתן לראות מגמת התפשטות מצומצמת יותר בטיפול הבלבול בהשוואה ליתר הטיפולים. בהתייחס לשיעור שינוי הנגיעות בין השנים 2010-2012 (איור 13), ניתן למצוא כי בטיפול הבלבול בשנת היישום השנייה, שיעור ההתפשטות היה נמוך באופן מובהק בהשוואה לשלושת טיפולי ההדברה האחרים ($F=4.49, df=2, p=0.00$). התמקדות בתוספת הגפנים הנגועות מתוך כלל הגפנים בכל חלקת טיפול, לאורך שנתיים, מעידה כי על אף שיעור השינוי הגבוה בשקלול שלושת הבלוקים (67%-150 איור 6), תוספת הגפנים הממשית הייתה שונה בין כרמי הניסוי. בעוד שבכרם עין זיוון תוספת הגפנים הנגועות לאורך שנתיים נעה בין 17-66 גפנים, בכרם הרוח תוספת הגפנים נעה בין 1-14 לאורך שנתיים וניתן לתאר אותה כנמוכה וזניחה. ממצאים אלו תואמים את ההבדלים במגמת אוכלוסיית הקמחיות בין הבלוקים השונים ולכן ניתן לייחס את מירב השפעת טיפולי ההדברה על צמצום התפשטות המחלה לכרם עין זיוון.

לסיכום - ניתן להסיק כי טיפולי ההדברה שנבדקו מקטינים במידה שונה את אוכלוסיית הקמחיות בחלקות הטיפול השונות ומשפיעים על התפשטות מחלת קיפול העלים. בטיפולים בהם הדברת הכנימה הקמחית הייתה יעילה יותר, התפשטות המחלה הייתה קטנה יותר.

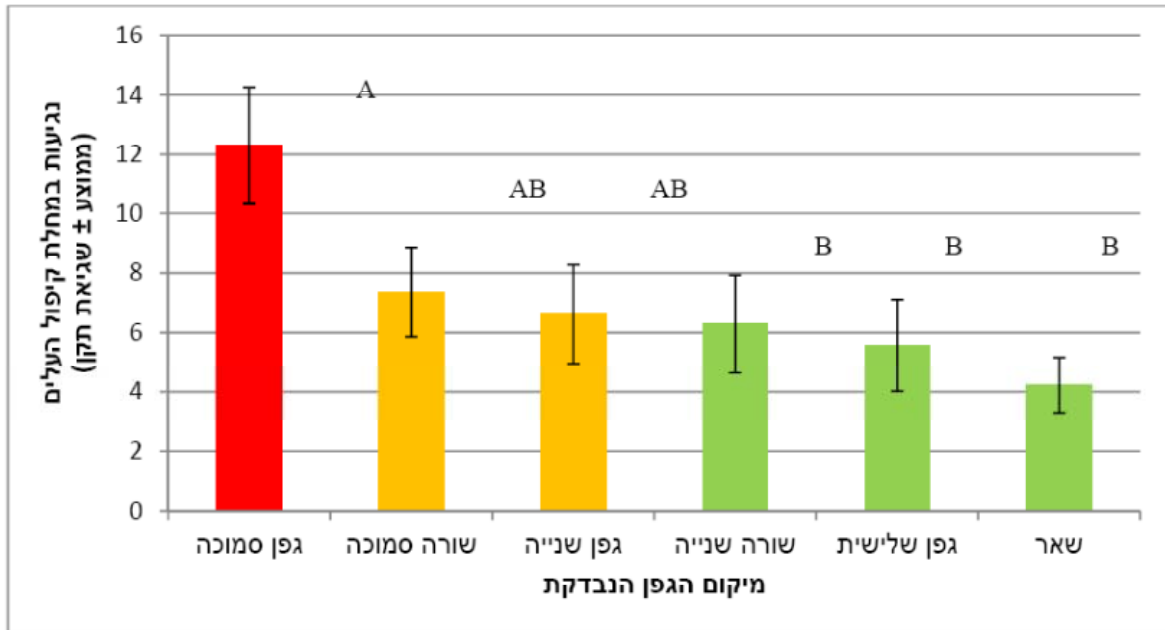


איור 13- שיעור השינוי (מומוצע \pm שגיאת תקן) בין השנים 2010-2012, בגפנים בעלות תסמינים בטיפולים השונים. צבעים שונים מעידים על טיפול שונה. אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק.

ד. ניתוח במרחב של התפשטות מחלת קיפול העלים

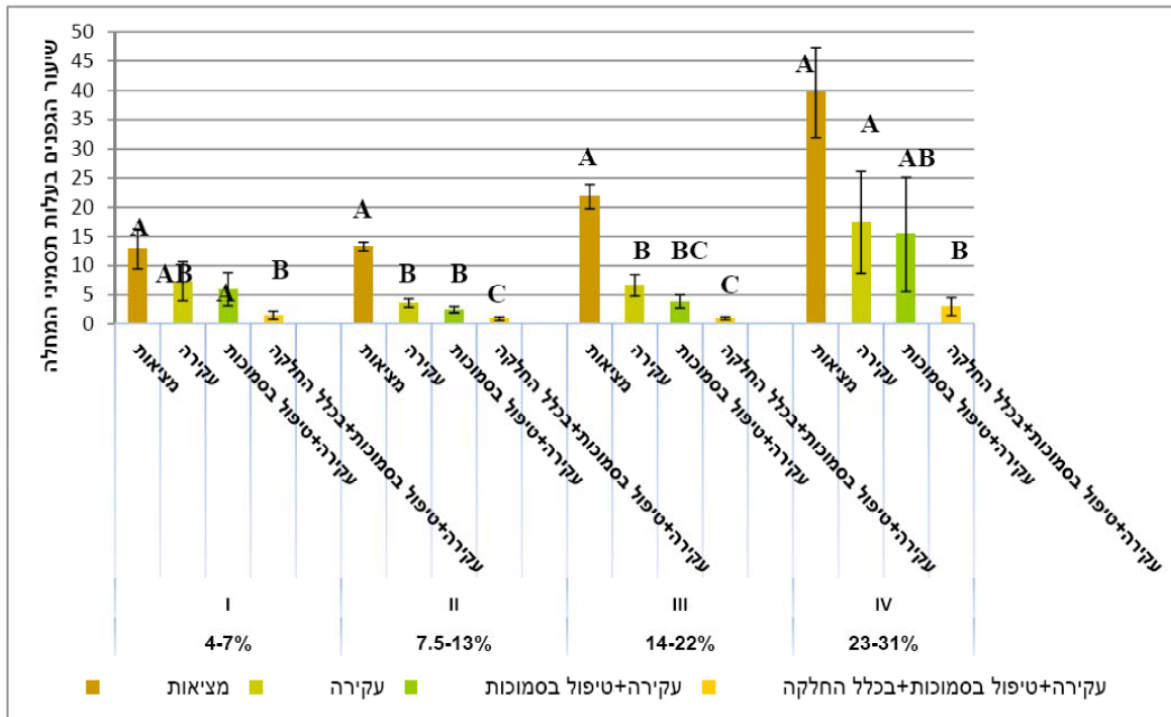
התפשטות מחלת קיפול העלים במרחב נלמדה בעבר על ידי מספר קבוצות מחקר. מרבית הספרות הקיימת התמקדה באפיון כללי של דגמי התפשטות והעלאת השערות לדגמים אלו. במחקר זה אותרו כמותית דגם ההתפשטות ברזולוציה גבוהה (ברמת השורה והגפן) ובוצעה הערכת סיכון להדבקות על בסיס מרחק מגפן נגועה (איור 12). ניתוח רב שנתי של התפשטות מחלת קיפול העלים בשלושה כרמים הראה כי סיכויי ההינגעות הגבוהים ביותר נמצאים ברדיוס של שלושה מטרים מגפן נגועה. גפנים הסמוכות לגפנים נגועות וממוקמות באותה שורה הינן בעלות סיכון ההינגעות הגבוה ביותר (12.3%), לאחריהן בסיכון ההינגעות מופחת נמצאות גפנים במרחק שתי גפנים באותה שורה וגפנים סמוכות בשורה מקבילה לגפן הנגועה (6.6%, 7.3%, בהתאמה). סיכויי ההינגעות הנמוכים ביותר נמצאו בגפנים הממוקמות במרחק שתי שורות מקבילות (6.3%), גפן שלישית באותה שורה (5.6%) ושאר הגפנים שאינן עונות להגדרות שתוארו לעיל (4.2%). גפנים אלו נבדלות באופן מובהק בסיכוייהן הנמוכים להינגעות מגפן סמוכה לגפן נגועה ($F=3.53$, $df=5$, $p=0.00$).

לסיכום- דגם ההתפשטות שאותר, מעיד כי מירב ההתפשטות הינה מוקדית ותואמת את תנועת הווקטור. מרבית ההדבקה ה"חדשה" מתרכזת בגפן הסמוכה עד לרדיוס של שלושה מטרים מגפנים נגועות. אך עם זאת במקביל ממשיכה הדבקה הנובעת מסביבת הכרם ומתנועה ארוכת טווח בתוך חלקת הכרם. ממצאים אלו יכולים לשמש בסיס לפיתוח פרוטוקול הממקד את מאמצי ההדברה בכרם.



איור 12: אחוז הגפנים הנגועות במחלת קיפול עלים בשנה העוקבת, על פי מיקומם מגפן נגועה. אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק.

דגם ההתפשטות המחלה משתנה בזמן כתלות בנגיעות התחילית לפיכך הוחלט לבחון את היעילות של הדברה ממוקדת ברמות נגיעות תחילית שונות. השתמשנו באחוזי יעילות ההדברה של טיפולי הבלבול והטיפול והדרסטי כפי שהתקבלו בניסוי ההדברה של שנת 2010 שכן זו השנה היחידה בה נכללה בניסוי ביקורת ללא אמצעי הדברה כלל ובשל כך ניתן היה לחשב את היעילות של הטיפולים האחרים. **נערכה הדמית מחשב** של מספר טיפולים הכוללים טיפול עקירה. בהשוואה בין טיפול העקירה בלבד לבין אחוז הנגיעות במציאות, ניתן לראות בארבע רמות נגיעות תחילית (I-IV) שעקירת הגפנים גרמה להפחתה בשיעור הגפנים הנגועות אך עם זאת הבדלים אלו נמצאו מובהקים רק בטוחי הנגיעות הבינוניים - II ו III ($df=3, F=29.8, p < 0.01$; $df=3, F=62.29, p < 0.01$). בהשוואה בין טיפולי ההדברה השונים הכוללים עקירה נמצא כי הטיפול הכולל טיפול בגפנים הסמוכות למקור המדבק (גפן נגועה) משולב בטיפול בכלל החלקה (בלבול זכרים בניסוי שלנו) היה היעיל ביותר (איור 13). ברמות הנגיעות הבינונית (III) והגבוהה (IV) מספר הגפנים המיועדות לעקירה אינו ראלי מבחינה חקלאית.



איור 13 - שיעור הנגיעות (ממוצע \pm שגיאת תקן) בשנה העוקבת לביצוע הדמיות טיפול הכוללות עקירה ונתוני אמת וללא תהליך הדמיה) בארבעה טוחי נגיעות תחילית. צבעים שונים מעידים על טיפול שונה. אותיות שונות מעידות על הבדל מובהק בין הטיפולים באותו טוח נגיעות.

סיכום ממצאי הפרק העוסק באפידמיולוגיה ומניעה של התפשטות הווירוס

1. הגורמים לחדירת המחלה אל הכרם:

א. תעופת זחלנים פאסיבית והתבססות קמחיות-

ישנה חדירה של זחלנים מהסביבה לכל הכרמים הצעירים. נראה כי על אף תעופת הזחלנים ונוכחות הקמחיות בכלל הכרמים הצעירים לא קיים קשר כמותי בין שני מדדים אלו. נמצאו כרמים בהם מספר לכידות רב של זחלנים ואוכלוסיית קמחיות נמוכה (מלכיה, יונתן) וכרם בו מספר לכידות נמוך ואוכלוסיית קמחיות גבוהה (רמג'יש). מממצאים אלו ניתן להסיק כי לא כל הזחלנים אכן שורדים ומתבססים בנטיעה החדשה וישנה חשיבות לממשק הדברת הקמחית גם בשנים הראשונות לנטיעתו. בנוסף ייתכן ומקור הנגיעות בקמחיות לא נובע רק מתעופה פאסיבית אלא גם מהגורם האנושי וממערב כלים אגרוטכניים בין הכרמים השונים.

ב. התבססות קמחיות ונגיעות במחלת קיפול העלים-

בכל הכרמים מתבססות קמחיות אך בכרמים שאינם סמוכים למקור מדבק אין חדירה של המחלה. נראה כי נוכחות אוכלוסיית קמחיות בכרמים צעירים מחומר ריבוי נקי אינה גורמת באופן ישיר לנגיעות במחלת קיפול העלים. נמצא כי בכרמים מבודדים על אף נוכחות הקמחיות הגבוהה שתועדה אחוז הגפנים הנגועות במחלת קיפול העלים נמוך או אפסי (רמג'יש ומלכיה) זאת לעומת כרמים המוקפים או סמוכים לכרמים נגועים בהם נמצאה לעיתים אוכלוסיית קמחיות נמוכה יותר ונגיעות מחלה גבוהה יותר. ההשערה הסבירה היא כי ככל שבסביבת הנטיעה החדשה יש יותר כרמים בוגרים ונגועים הסבירות לקמחיות נשאות עולה ועמה הסיכוי להדבקת גפנים במחלה.

דגם ההתפשטות של הווירוס מושפע מסביבת הכרם ובסמיכות לכרמים ותיקים נגועים רמת הנגיעות במחלה גבוהה בדופן הסמוכה לכרם הותיק הנגוע.

2. הגורמים המשפיעים על התפשטות המחלה בתוך הכרם:

א. השפעת טיפולי ההדברה על צמצום התפשטות מחלת קיפול העלים-

הכנימה הקמחית, הינה הגורם המרכזי בחדירת מחלת קיפול העלים אל הכרם. לאחר החדירה הראשונית, משמשת הכנימה כגורם מכריע בקצב ובדגם התפשטות המחלה בכרם, בין אם בתנועה עצמאית ובין אם בתנועה פאסיבית באמצעות נמלים ורוחות בתוך ומחוץ לחלקת הכרם. במחקר זה נמצאו עדויות כי שימוש באמצעי הדברה יעילים המפחיתים את אוכלוסיית הכנימה מאפשר את צמצום התפשטות המחלה.

ב. דגם ההתפשטות בתוך הכרם

דגם ההתפשטות בין גפנים בכרם תואם את התנהגות הקמחית והינו ברובו מוקדי יחד עם זאת, קיימת גם התפשטות אקראית של הנגיעות. התפשטות הנגיעות המוקדית מתבטאת ברמת הסיכון הגבוהה של גפן נקייה להידבק במחלה ברדיוס של 3 מטר מהגפן הנגועה (2 הגפנים הסמוכות באותה שורה והגפן הסמוכה בשורה הצמודה). מחקרים קודמים התייחסו בעיקר לגפנים סמוכות באותה השורה. החוקרים יחסו זאת לגפנים שהיו נגועות ולא הראו סימפטומים, לקמחיות שנתרו לאחר העקירה ועברו לגפנים הסמוכות ולשאריות מהגפנים הנגועות שלא סולקו (Pietersen 2004). במחקר שלנו נבדקה ההנחה שהוצעה במחקרים הקודמים והוגדר טווח הסיכון וכתוצאה מכך מתאפשר מעבר להדברה ממוקדת מדויקת יותר. התפשטות הנגיעות האקראית בתוך הכרם, נובעת מתנועה פסיבית של הקמחיות, מושפעת מרמת הנגיעות התחילית בכרם ויכולה לנבוע מסמיכות לדופן של כרם ותיק נגוע או מגפנים נגועות בתוך הכרם.

3. לימוד הדינמיקה של אימדקלופריד בכרמים לייעול הדברת הקמחית.

אימדקלופריד הוא חומר המשמש להדברת מוצצים שונים. מבחינת הדברת הכנימה הקמחית בגפן יתרונו העיקרי הוא בהיותו חומר סיסטמי המיושם עם מי ההשקיה ונע ומתפשט בכל חלקי הצמח. בצורת יישום זו אנו עוקפים למעשה את המגבלה של הגעה אל הקמחית היושבת על הגזע (ואף על מערכת השורשים) מתחת לקליפות הישנות של הגזע המפריעות ביישום תכשירי הדברה.

החומר הגיע לארץ ע"י חברת לידור, תחת השם המסחרי קונפידור ומספר שנים אח"כ הגיעו תכשירים נוספים (me-too) המכילים את אותו חומר פעיל ופועלים בצורה דומה. כל הניסויים המתוארים בעבודה זו נערכו עם תכשיר האימדקלופריד המקורי – קונפידור.

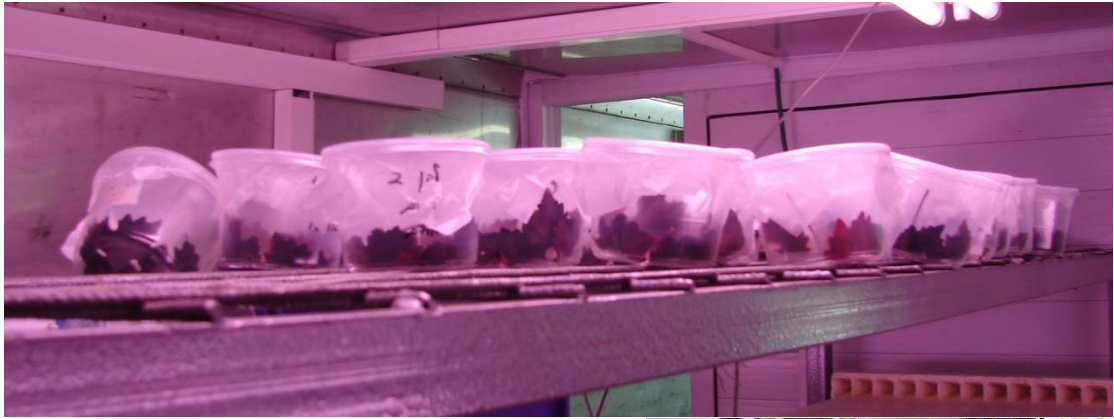
כאמור התכשיר מיועד ליישום עם ההשקיה. כרמי יין, בייחוד אלה המיועדים ליינות איכות, מושקים בצמצום ותחילת ההשקיה יכולה להיות גם באמצע יוני (ובמקרים קיצוניים בכלל לא). במצבים כאלה עלתה שאלה של עיתוי היישום המיטבי מבחינת מהירות הגעת החומר לחלקי הגפן השונים ומה משך הזמן מהיישום שהתכשיר נשאר בצמח ברמה אפקטיבית.

חומרים ושיטות.

הניסויים בשלוש שנות המיזם נערכו בחלקות של עשר גפנים בבלוקים באקראי 3-5 חזרות.

בדיקות כימיות: בדיקה של ריכוז החומר בעלים נעשתה ב LCMS בפרוטוקול המקובל בחברת בקטוכס על מדגם שכלל 10 עלים לחזרה, משני צידי הגפן. נוכחות החומר בשיפה נעשתה במעבדת הכימיה במיג"ל על מקטעים של 5-10 סמ"ר שנלקחו משתי גפנים בכל חזרה.

בדיקות ביולוגיות (bio-assay): א. עלים: הבדיקות נערכו במעבדה לאקוואנטמולוגיה של מו"פ צפון. נבדקה ההישרדות של קמחיות על עלים מגפנים שנלקחו מהטיפולים השונים. כל עלה הונח בקופסת פלסטיק, על העלה הונחו 3-5 קמחיות בדרגות 3-4. הקופסא נסגרה עם פראפילם והונחה בחדר מבוקר טמפרטורה. ספירת הכנימות ששרדו נערכה אחרי שבוע ושבועיים. ב. גזעים: ניבנו כלובי רשת על גזעי הגפן שלתוכם הוכנסו חמש קמחיות. בדיקות הישרדות הקמחיות נעשתה אחרי שבוע.



ניסויי שטח:

א. בדיקת משך פעילות החומר בגפן.

הניסוי הוצב בקברנה סוביניון בכרם שעל, באדמה טופית. יישום קונפידור (2 סמ"ק לגפן) מתחת לטפטפות נעשה בשלושה מועדים לאורך העונה (בהפרש של כחודש בין מועדי היישום). במועד אחד נאספו עלים וקיטעי קליפה לבדיקות כימיות ועלים לניסויי תגובה של הקמחיות.

ב. השפעת מועד ההתחלה של השקיה סדירה על הגעת החומר לעלים.

מטרת הניסוי הייתה לבחון את ההשפעה של השקיה סדירה על הגעת החומר לעלים. לצורך כך הוצבו שלושה ניסויי הדברה שבכל אחד שני טיפולים – ביקורת לא מטופלת לעומת יישום קונפידור (2 סמ"ק לגפן, ניתן ידנית מתחת לטפטפות בזמן השקיה של 5 קוב לדונם). שני ניסויים הוצבו בקרקע כבדה (עמק קדש) שבאחד החלה השקיה משקית כשבוע לפני יישום התכשיר ובשני (יפתח) היא החלה כחודש אחרי יישום החומר. הניסוי השלישי הוצב בקרקע טופית במושב שעל ברמת הגולן ובניסוי זה תחילת ההשקיה המשקית הייתה כשבוע אחרי יישום התכשיר. כל ניסוי הוצב בחמש חזרות של שש גפנים. בדיקה של הגעת החומר לעלים נעשתה שבוע, שבועיים חודש וחודשיים ממועד יישום התכשיר.

כרם	זן	קרקע	יישום קונפידור	תחילת השקיה משקית	סה"כ מים
שעל	קברנה	טופית	19/5	23/5	300
יפתח	קברנה	כבדה	15/5	16/6	150
מהדרין	תומפסון	כבדה	15/5	18/4	400

תוצאות:

א. משך ההשפעה של החומר בגפן.

א.1. שאריות קונפידור בעלים :

חזרה	מועד יישום	מועד דיגום	ימים מיישום	מ"ג/ק"ג
1	ספטמבר-27	אוקטובר-04	7	לא התגלה
2	ספטמבר-27	אוקטובר-04	7	לא התגלה
3	ספטמבר-27	אוקטובר-04	7	<0.01
1	אוגוסט-30	אוקטובר-04	35	0.233
2	אוגוסט-30	אוקטובר-04	35	0.087
3	אוגוסט-30	אוקטובר-04	35	0.126
1	יולי-14	אוקטובר-04	82	<0.01
2	יולי-14	אוקטובר-04	82	0.165
3	יולי-14	אוקטובר-04	82	<0.01
1	ביקורת	אוקטובר-04		לא התגלה
2	ביקורת	אוקטובר-04		לא התגלה
3	ביקורת	אוקטובר-04		לא התגלה

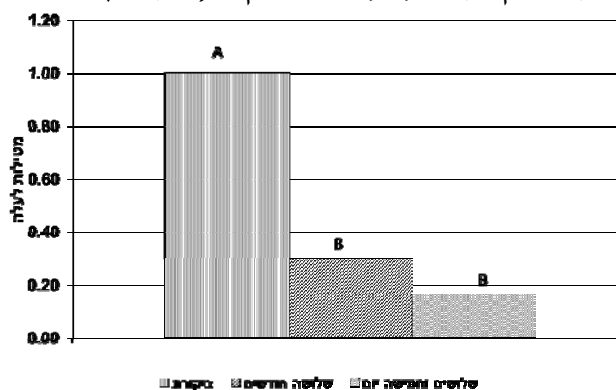
שבוע מיישום החומר עדיין לא נמצא בעלים בשתיים מהחזרות ורק בכמות קטנה בחזרה השלישית. כמות הקונפידור שנמצאה בעלים 82 ימים מיישום הייתה נמוכה מ 0.01 מ"ג/ק"ג בשתיים מהחזרות ובינונית בחזרה השלישית.

א.2. שאריות קונפידור בגזע :

דיגום		יישום
אוקטובר-05	אוקטובר-10	
391	1924	30/08/2010
59	703	27/09/2010
21	25	ביקורת
חזרה אחת		ממוצע שתי חזרות

גם כאן, שבוע מיישום כמות החומר שנמצאה בגזע זניחה ואילו חמישה ימים אח"כ כבר נראית עלייה בכמותו.

א.3. הישרדות קמחיות על עלים מנותקים (איור 14).

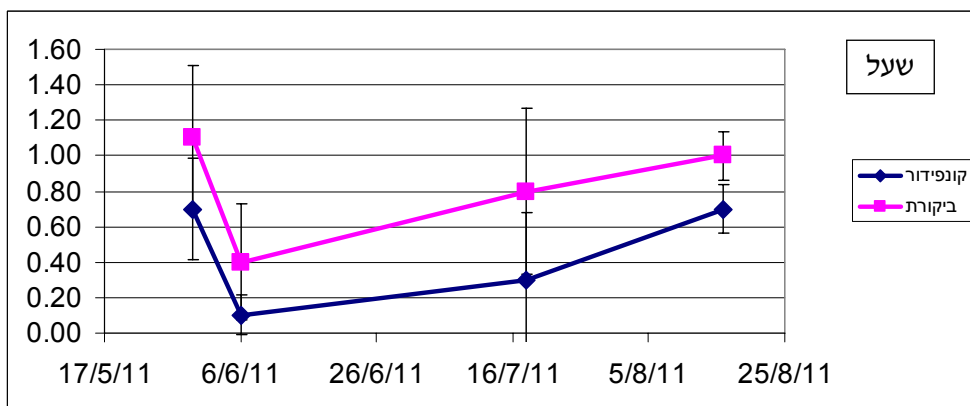
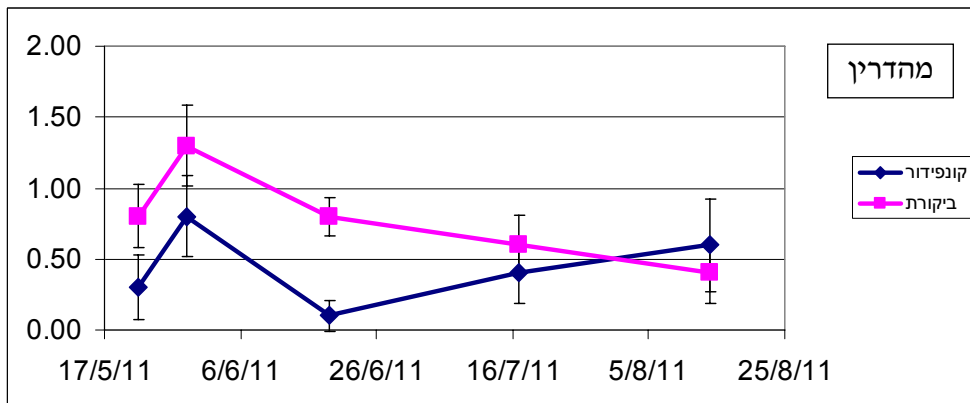
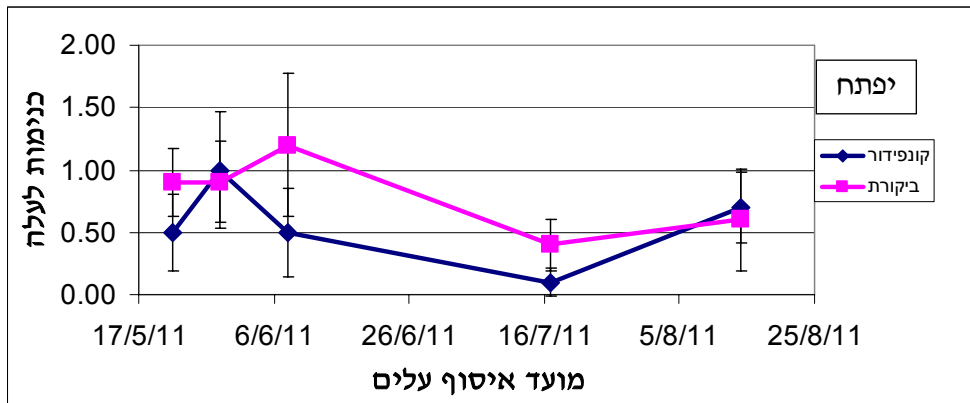


איור 14 : הקונפידור פגע במובהק בכושר הישרדות של כנימות, גם בעלים שנאספו שלושה חודשים אחרי יישום התכשיר.

ב. השפעה של מועד התחלת ההשקיה.

הישרדות הכנימות נבחנה אחרי שבעה ימים. העלים בשטח נאספו 7 ו 14 יום, חודש וחודשיים מיישום התכשיר. בחינת ההשפעה של הטיפול נעשתה ע"י חישוב השטח תחת העקומה המתארת את הישרדות הכנימות. בכל כרם הושוותה הישרדות בגפני ביקורת לעומת גפנים מטופלות בקונפידור. התוצאות מוצגות באיור 15.

בכרם ביפתח נראו סימנים ראשוניים לפעולת התכשיר בעלים שנאספו ב 6/8, חודש אחרי יישומו (גם אז לא מובהק). באף אחד ממועדי הבדיקה לא היה הבדל מובהק בכמות הכנימות ששרדו על העלים. גם מבחן t לשטח תחת העקומות של שני הטיפולים לא הראה השפעה ($t=0.16$). בכרם המאכל של מהדרין נמצא הבדל מובהק כבר לאחר שבוע מיישום הקונפידור. בשבוע שאח"כ ההפרש בין הטיפולים נשמר אך לא היה מובהק סטטיסטית, חודש מהיישום שוב נמצא הבדל מובהק ואילו בבדיקות שנערכו חודשיים ושלושה מהיישום לא היה הפרש בין הטיפולים. בסה"כ נמצא הבדל מובהק בשטח תחת העקומות המתארות את הישרדות הכנימות ($t=0.007$). גם בשעל נראית השפעה כבר ממועד הבדיקה הראשון וזו נשמרה עד מועד הבדיקה האחרון. למרות שבאף אחד מהמועדים לא נמצא הבדל מובהק בין הטיפולים, מאחר וההבדל היה עקבי לכל אורך התקופה נמצא הבדל מובהק בשטח תחת העקומות ($t=0.005$).



איור 15 : הישרדות כנימות על עלים שנלקחו משלושת אתרי הניסוי (א. יפתח, ב. מהדרין, ג. שעל)

סיכום - שנת 2011 הייתה ייחודית בגשמים שירדו מאוחר יחסית באביב, במיוחד בגליל. בענבי יין משקים בסה"כ כמויות מים קטנות ותחילת ההשקיה בכרם בפתח הייתה רק באמצע יוני, זמן רב אחרי יישום התכשיר. ההשקיה בשעל התחילה מוקדם יותר, אם בגלל סוג הקרקע או בגלל כמויות נמוכות יותר של גשם שירדו באביב. למרות שהשפעה של הקונפידור בכל מועד לא הייתה מובהקת בסה"כ הייתה שם השפעה ברורה של התכשיר על הישרדות הכנימות במהלך העונה כולה. גם בכרם המאכל במהדרין (צמוד לכרם יפתח, קרקע כבדה) הייתה השפעה ברורה ומהירה של הקונפידור ככל הנראה בגלל כמות המים הגדולה יחסית שיושמה שם.

תוצאות הניסויים מראות את הבעייתיות ביישום התכשיר לפני התחלת ההשקיה הסדירה.

מסקנות יישומיות מחלק זה של המיזם

- יש להרחיק ככל הניתן את הכרמים הניטעים מחומר ריבוי נקי מכרמים נגועים המהווים מקור מדבק.
- הדברה של הקמחית כווקטור מנטיעה ולא מהשלב בו נראות הקמחיות (בשלב זה הזחלנים כבר התבססו; ניטור הקמחיות הבודדות כמעט בלתי אפשרי בשלים הראשונים והקריטיים) או שלב הופעת סימפטומים (מופיעים כשנה לאחר ההדבקה).
- ניטור באמצעות מלכודות פרומון לזכרים יכול להצביע על נוכחות כללית באזור אך אינו מדד למיקום הקמחיות או רמת האוכלוסייה של הקמחית בכרם.
- הדברה יעילה של הקמחית מקטינה את קצב התפשטות המחלה. יעילות התכשירים תלויה בתזמון מתאים ויישום נכון כפי שהוכח בניסוי שבדק את יעילות האימידקלופריד.
- שילוב בין הדברה בכלל הכרם לבין הדברה ממוקדת ברמת הגפן יכול לשפר את יכולת השליטה בקצב התפשטות המחלה.
- צורת הטיפול בכרמים מחייבת התייחסות לרמת הנגיעות הקיימת בכרם: בשיעור נגיעות נמוך - תוספת הגפנים הנגועות נמוכה וסידורה במרחב אקראי והיא נובעת בעיקר מחדירת זחלנים. ע"פ טיפולי ההדמיה - עקירת הגפנים הנגועות והדברה יעילה בכלל הכרם עשויות לרסן את ההתפשטות המחלה. בשיעור נגיעות בינוני - התפשטות המחלה מוקדית, כתוצאה מתנועת ווקטורים בתוך החלקה, ואקראית כתוצאה מתעופת זחלנים מבחוץ ומבפנים. ע"פ ניסויי ההדברה וטיפול ההדמיה - עקירת גפנים נגועות, טיפול בגפנים סמוכות המצויות בסיכון וטיפול בכלל חלקת הכרם עשויים לרסן את ההתפשטות המחלה. בשיעור נגיעות גבוה (החל מכרבע מהחלקה) - תוספת הגפנים הנגועות גבוהה ואקראית. כמות הגפנים לעקירה אינה ריאלית וטיפול הדברה ממוקד אינו כלי מתאים כיוון שקשה להעריך את מיקום ה"נגיעות החדשה" במרחב.

העמקת הידע בתחום האפידמיולוגיה של מחלת זו מהווה נדבך מרכזי בפיתוח פרוטוקול יישומי להתמודדות עם מחלת קיפול העלים בכרם. על בסיס ממצאי חלק זה במיזם ניתן לפתח פרוטוקול לשמירת הכרמים בריאים או ברמת נגיעות נמוכה לאורך זמן.

פיתוח גישה לניטור קמחית הגפן בכרמים צעירים על מנת לזהות מוקדים ראשוניים שלה והפעלת אמצעים להכחדתה

קבוצת מחקר :

צביקה מנדל, אלכס פרוטסוב, מרים אליהו,
המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי,

שמוליק עובדיה וגיל ניר
יקבי כרמל

מבוא

זחלי קמחית הגפן *Planococcus ficus* הם הנשאים העיקריים והמשמעותיים של הווירוס GLRaV-3 בכרמי היין בישראל. הווירוס גורם לפגיעה קשה באיכות הענבים ומפחית את היבולים. צמצום חד של אוכלוסיית הקמחית הוא אחד האמצעים למניעת התפשטות הווירוס. התפשטות קמחית הגפן במרחב נעשית ע"י זחלי הכנימות והבוגרים ההולכים מרחקים קצרים על גבי הצמח או צמחים שכנים, וחלקם מועבר ע"י נמלים, בעיקר בתוך השורות בין הגפנים. באוכלוסיות גדולות גם פעילות אגרוטכנית עלולה להביא להפצתן. הפצה על פני מרחקים ארוכים יותר היא ע"י זחלנים הנשאים ברוח, בד"כ למרחקים של כמה עשרות מטרים. באוכלוסיות צפופות יש לזחלנים נטייה לטפס לחלקי הצמח העליונים, על מנת להינשא ברוח.

עיקר הפעילות המחקרית התקיימה בשישה כרמים צעירים מנטיעות 2009 ו-2007. ההנחה היא שבכרמים מנטיעת 2009 נגיעות הווירוס היא אפסית, בשל הקפדה על איכות חומר הריבוי, וכנ"ל גם אכלוס הגפנים הצעירות בקמחית הגפן. בכרמים שניטעו ב-2007 המצב עשוי להיות שונה, בעיקר בשל העובדה שכרמים אלו מצויים בשכנות לכרמים ותיקים יותר הנגועים בשני הפגעים.

מטרות המחקר העיקריות בשנה זו היו :

1) פיתוח שיטה המבוססת על שימוש במלכודות פרומון. זאת על מנת א. להעריך את הנגיעות בקמחית בכרם; ב. בכדי לאתר באופן יעיל נקודות ראשונות בכרם בהן התבססה אוכלוסיית הקמחית. 2) בחינת אמצעי הדברה המתאימים לדיכוי או להשמדה של הקמחית באותן הנקודות. 3) בחינת האפשרות לגלות את מוקדי הנגיעות באמצעות יצירה מלאכותית של מוקדים, והפעלת שיטה לגילויים באמצעות מלכודות פרומון.

לפיכך, הגישה המוצעת הייתה מיועדת לצמצם למינימום את אוכלוסיית הקמחית בכרמים צעירים ובכך למנוע, לעצור, ואף להאט את התפשטות הווירוס (אם הוא כבר התבסס). הרעיון היה שניטור מדויק של נגיעות ראשוניות בגפנים, עשוי לאפשר את הדברת המוקדים הראשונים. הטיפוליים הנקודתיים כנגד הקמחית נדרשו גם על רקע של יישום תכשירים סיסטמיים באמצעות מערכת ההשקיה.

שאלה נוספת שעלתה במהלך המחקר הייתה בחינת אמינות מלכודת הפרומון בקביעת אכלוס הגפנים. שאלה זו קיבלה מישנה תוקף לאור העובדה שנמצאה פעילות של זכרים, גם כאשר בכרם לא נרשמה כל נגיעות על הגפנים עצמן. שאלה אחרת הייתה, עד כמה מהווה העשבייה בכרם ובסביבתו מאגר לקמחית הגפן. לעניין זה הושם דגש דווקא בכרמים צעירים בהם אוכלוסיית קמחית הגפן הייתה עדיין נמוכה מאד.

ניטור קמחיות בגפנים מתבצע באמצעות הערכת נגיעות באופן ויזואלי, תוך דגש על חיפוש אחר אכלוס ראשוני מתחת לרצועות הקליפה היבשות של הגזע והזרועות. פעילות נמלים נבדקה אף היא, היות וזו מהווה סימן להימצאות המושבות הראשונות של הכנימות. זאת בהסתייגות, מכיוון שנמלים בכרם צעיר עשויות להימצא גם בשל גורמים אחרים. בגלל חוסר אפשרות מעשית לבצע דגימות המפרידות בין אוכלוסיות נמלים שונות, יצאנו מנקודת הנחה (שאינה בהכרח מדויקת), שכל מיני הנמלים שנצפו במחקר מלוות את אוכלוסיותיה של הקמחית. השימוש במלכודות פרומון לניטור קמחית הגפן בכרמים צעירים אינו מגובש דיו. המלכודת "מזהה" את אוכלוסיות הקמחית בצפיפות הנמוכה בהרבה מזו של סף הזיהוי שניתן לקבוע באמצעות חיפוש ידני. מלכודת הטעונה בפרומון המין של הנקבה מהווה גורם משיכה חזק, בעיקר כשאוכלוסיית הקמחית דלילה והתחרות עם הנקבות היא אפסית, כפי שצפוי בכרמים צעירים. טווח הלכידה של המלכודת הוא גם פועל יוצא של ריכוז הפרומון בנדיפית הפיתיון, אך אין נתונים ברורים בעניין זה.

תוכנית העבודה

טבלה 1. שטחי הניסוי כל חלקה מחולקת למספר תת-חלקות על פי תוואי השטח

שם החלקה ושנת הנטיעה	האזור	גודל החלקה (דונם)	מרחק מכרמים אחרים	מספר חלקות המשנה	טווח גודל השטח (דונם) של חלקות המשנה	הזנים
בית זית 2009	הרי יהודה	49.7	חלקה מבודדת	7	3.6-10.3	קברנה
לטרוך 2009	שפלה פנימית	79	חלקה מבודדת באופן חלקי	8	9.0-11.7	קברנה
לטרוך 2007	"	36.2	"	9	2.3-6.5	פטיט סירה
מענית 2009	חוף כרמל	31.9	חלקה מבודדת	7	2.0-6.8	קרניאן
כנף 2009	מרכז גולן	74.1	צמודה לחלקות אחרות	9	3.0-13.6	קברנה
כנף 2007	"	142.4	"	9	7.0-19.0	מלבק, קב. פרנק, קב. סוביניון, חלקת הרכבות

בשנת 2011 התבצעה חלוקה חדשה של תת החלקות, תוך שמירת המגמה של המשך אי הטיפול בקונפידור Imidacloprid בחלקות הביקורת. הטיפול בקונפידור הוא הבסיס להפחתת אוכלוסיית קמחית הגפן בכרם. כל חלקות הטיפול הוגממו השנה בקונפידור, כפי שנעשה גם בשנה הקודמת. השנה צמצמנו את מגוון הטיפולים לשלושה בלבד: טיפול אביבי, טיפול סתווי וללא טיפול. בשני הטיפולים היה המינון של 1 סמ"ק לגפן בכרמים משנת נטיעה 2009, ו-1.5 סמ"ק בכרמים משנת נטיעה 2007.

טבלה 2. פריסת הטיפולים בכרמי הניסוי על פי מספר תת החלקות בכל טיפול.

הכרם	חלקות ביקורת	חלקות ביקורת שטופלו ב-2010 בקונפידור	חלקות שטופלו בקונפידור באביב	חלקות שטופלו בקונפידור בסתיו
מענית 2009	1	1	3	2
כנף 2009	1	1	4	2
כנף 2007	1	1	5	2
לטרוך 2009	1	1	4	2
לטרוך 2007	1	2	3	1
בית זית 2009	1	1	4	1

פריסת מלכודות הפרומון

על מנת להעריך את צפיפות ופעילות קמחית הגפן במרחב שטחי הניסוי, התבצעה פריסת מלכודות הניטור בשנה זו בדומה לפריסה ב-2010. השתמשנו רק במלכודות טעונות במינון של $50\mu\text{g}$. צפיפות המלכודות בכל תת חלקה הייתה אחת ל-2.5 דונם. המלכודות פוזרו באופן רגולרי כך שכל שטח החלקה יכוסה. סביב כל חלקה הצבנו 5 מלכודות על מנת להעריך את פעילות הזכרים בשוליה. מלכודות הפרומון נחשפו בין המחצית השנייה של אפריל למחצית השנייה של ספטמבר, 7-8 מחזורי דגימה. חשיפת נמשכה כשלושה שבועות. המלכודות שהוסרו הובאו למעבדה לספירת הזכרים שנלכדו.

דגימה ישירה של אוכלוסיית הקמחית ושל נמלים על הגפנים

דגימה אחת של אוכלוסיות הקמחית והנמלים התבצעה בחודש יולי או אוגוסט (בהתאמה לכרם). בכל תת-חלקה נדגמו הגפנים סביב כל מלכודת פרומון. כך, שמספר יחידות הדגימה היה זהה ברוב החלקות למספר המלכודות שהופעלו בהן. כל יחידת דגימה כללה 30 גפנים (הדגימה בוצעה על 5 שורות, שורת המלכודות

ושתי שורות בכל צד, שש גפנים בכל שורה). הקליפה הוסרה מהגזע והזרועות, ונספרו הקמחיות שנמצאו, תוך אבחנה בין זחלים, נקבות בוגרות או שקי הטלה. פעילות נמלים נקבעה על פי מדד שבין 0-3 (0 - אין פעילות, 3- פעילות רבה).

בחינת תכשירי הדברה כנגד קמחית הגפן

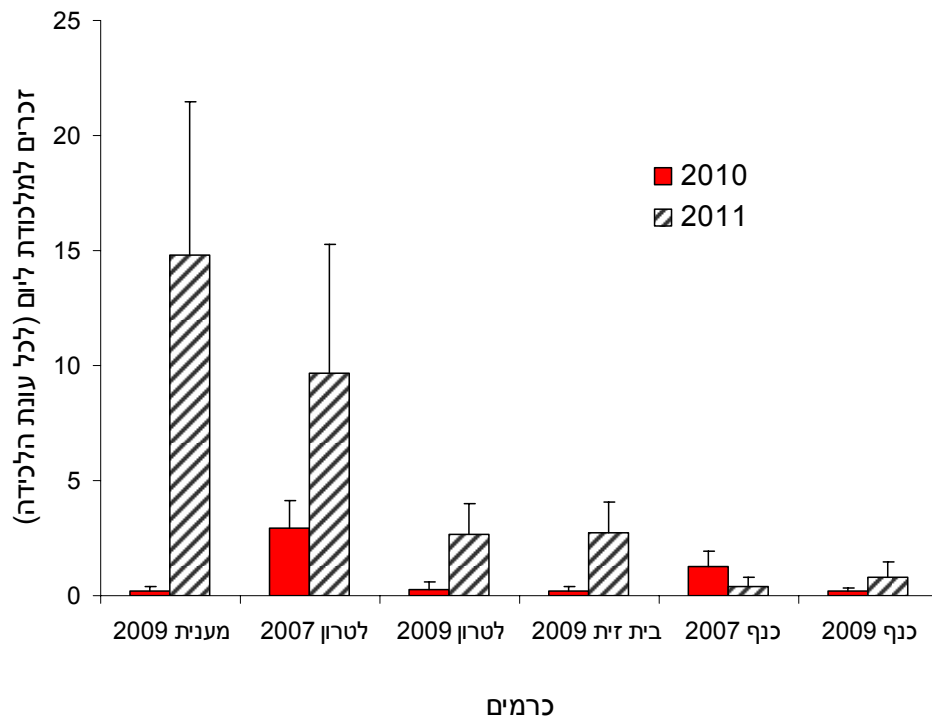
נבחנו מספר תכשירים במטרה למצוא את אלה שיתאימו להדברת מוקדי הקמחית.

תוצאות

הממצאים שמוצגים בדוח מאפיינים את מצבי הנגיעות בחלקות ואת הפעילות העונתית שעל פיה יתבצעו הניסויים במהלך עונת הגידול הבאה.

צפיפות והופעה עונתית של זכרי קמחית הגפן בהתאמה לממצאי מלכודות הפרומון

איור 1 מציג את הצפיפות השנתית של לכידת הזכרים בששת כרמי הניסוי. בעונת 2011 הייתה עליה בממוצי הלכידה בכל החלקות שברמת הכרם, פרט לחלקות כנף 2007 וכנף-2009, שם נרשמה לכידה נמוכה מאד. השינוי הרב ביותר התקבל בחלקות לטרון 2009, בית זית 2009, בית זית ומענית.

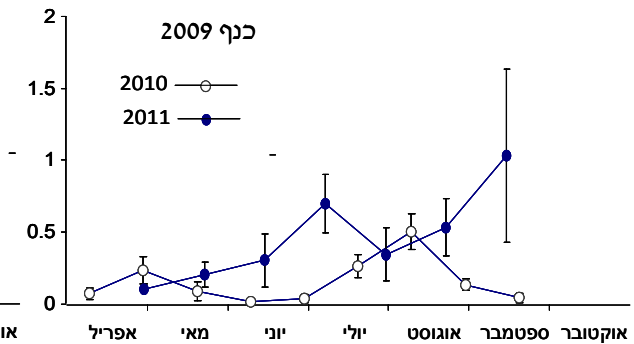
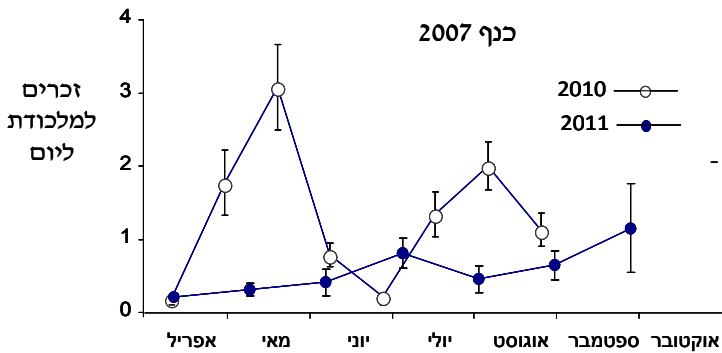
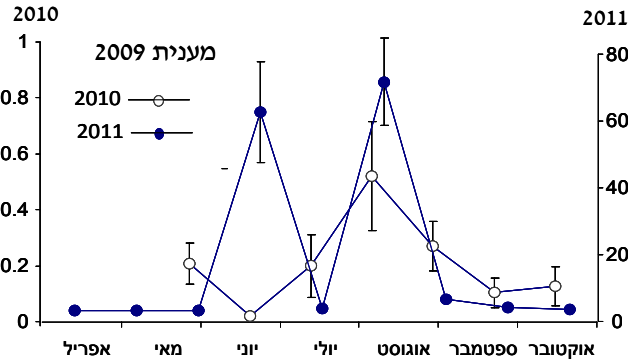
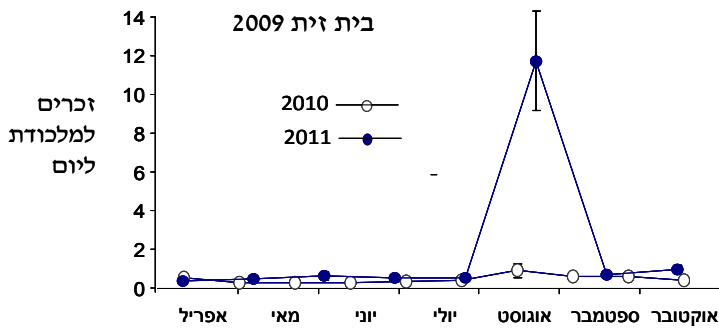
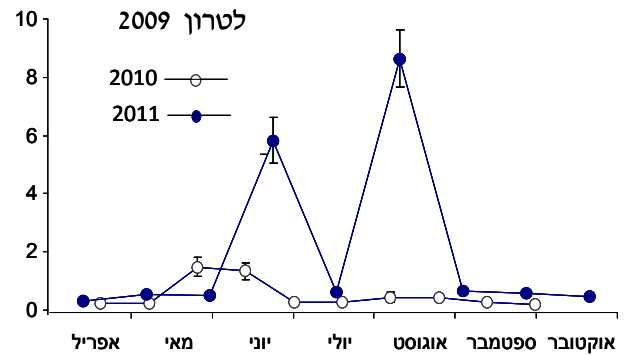
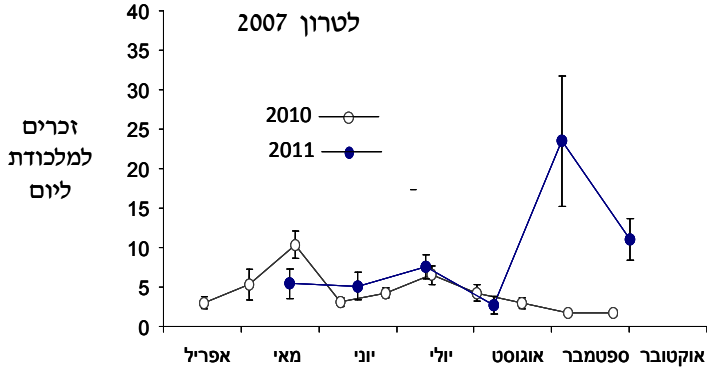


איוור 1. השוואה של לכידה שנתית ממוצעת של זכרים בששת כרמי הניסוי.

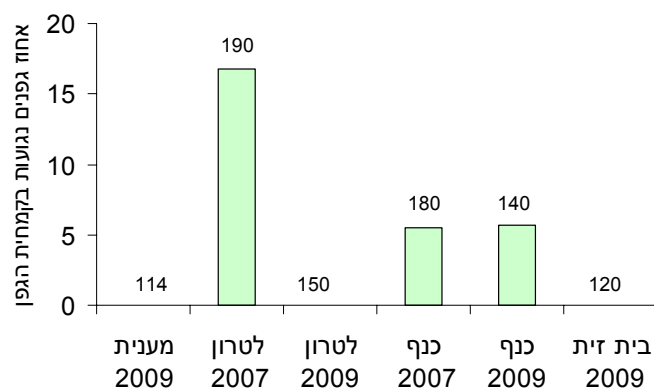
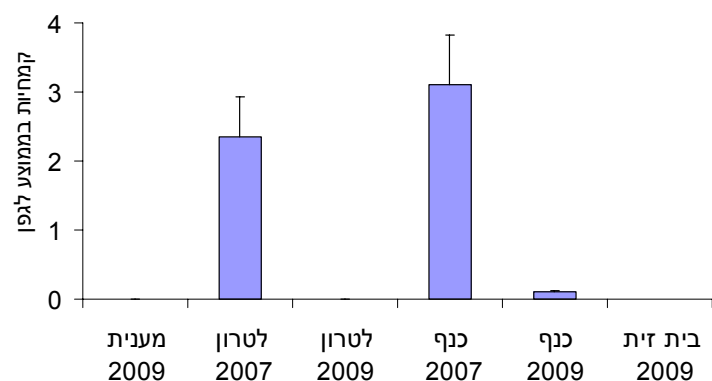
איוור 2 מציג את השינויים העונתיים בלכידת זכרים בששת חלקות הניסוי במשך שתי שנות המחקר. הנתונים מוצגים כצפיפות הלכידה הממוצעת של זכרים ליום לכידה. התוצאה היא ממוצע של הלכידה בכל כרם, בכל תת החלקות המרכיבות את הניסוי. הבדלי הלכידה בין השנים בכרמי לטרון, בית זית ומענית, ניכרים היטב ומעידים על העלייה בצפיפות הלכידה בשנת המחקר השנייה. המהלך האופייני של הלכידה, גם בשנת 2011, הניכר בשני גלי לכידה ברורים, משקף שני הדורות אופייניים של הקמחית במהלך הקיץ. מצב זה מאפיין את כל החלקות פרט לזו שבבית זית, בה נרשם גל ברור של זכרים בחודש אוגוסט, בעוד שבשאר החלקות הופיע גל ברור מקדים גם בחודש יוני או תחילת יולי. העלייה המשמעותית ביותר בפעילות הזכרים נרשמה בכרם מענית ובבית זית. במענית השינוי היה חד: מצפיפות לכידה של 0.5 זכרים ליום בממוצע בשיא הלכידה ב-2010, לכ- 60-70 זכרים ליום בשיא הלכידה ב-2011. ממצא זה הוא מעניין כשלעצמו על רקע העובדה שבכרמים אלו לא נצפו כלל קמחיות על הגפנים.

אכלוס הגפנים בקמחית הגפן והקשרו ללכידת זכרים במלכודות פרומון

למרות לכידות זכרים במלכודות שהתקבלה בכל הכרמים, רק בשלושה נרשמה נגיעות של קמחיות על הגפנים בשתי החלקות מנטיעת 2007 ובכנף 2009, הקמחיות הופיעו במספרים קטנים (איור 3A). מבין שלושת החלקות, בלטון 2007 הגיע שיעור הגפנים המאוכלסות לכדי כ- 17% מהגפנים שנדגמו, ואילו בשתיים מחלקות הכנף, כ- 5.5% מהגפנים היו מאוכלסות (איור 3B).



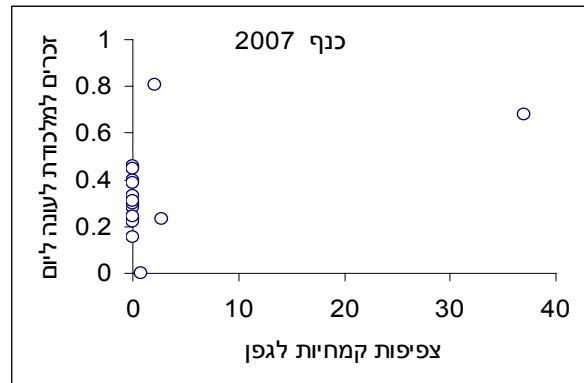
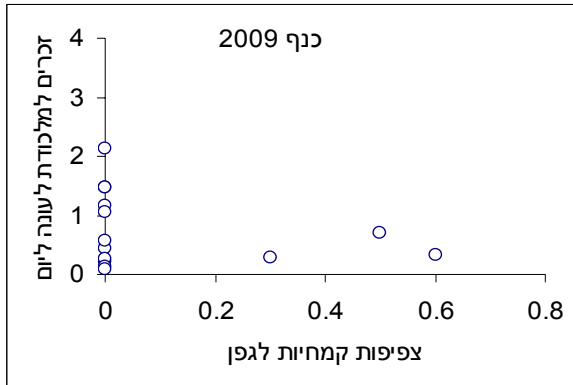
איור 2. השינויים בצפיפות לכידת הזכרים של קמחית הגפן בשתי שנות המחקר בששת כרמי הניסוי.



איור 3. השוואה של נגיעות הגזעים בקמחית הגפן בששת כרמי הניסוי על פי הצפיפות הממוצעת לגפן של A) ועל פי אחוז הגפנים שנמצאו מאוכלסות בקמחית B), במספרים לעל העמודות מציינים את מספר הגפנים במדגם).

בשל המספר הקטן של קבוצות הגפנים המאכלסות קמחיות, לא ניתן לחשב באופן אמין את הזיקה שבין צפיפות הזכרים במלכודות לבין אוכלוסיית הקמחית על הגפנים (איור 4). נראה שלא ניתן בשלב זה לתאר קשר ישיר בין שני המשתנים.

בכל הכרמים התפתחה, במידה זו או אחרת, אוכלוסייה של עשבים ואף צמחיה מלווה רב שנתית, כמו ינבוט הפקעים. צמחיה זו מאוכלסת אף היא במידה מסוימת ע"י קמחיות. הפעלת מלכודות דבק טעונות בפרומון המין של קמחית ההדר בכרם, בלטרון 2009 ולכידה של זכרי הקמחית מעידים על הימצאותה בבית הגידול, עם כי במספרים קטנים. קמחית הגפן נאספה מצמחי ינבוט בכרם מענית. גם במקרה זה, הייתה צפיפות האכלוס של קמחית הגפן על הינבוט קטנה, אך בהתחשב בשכיחות צמח זה בבית הגידול וסביבתו, ניתן להעריך שאוכלוסייה זו תורמת ללכידת הזכרים במלכודות הניטור שהפעלנו.



איור 4. זיקה בין צפיפות קמחיות על הגפנים לבין לכידת זכרים בשלושת חלקות הכרם בהן נצפה איכלוס של גפנים בקמחיות.

פעילות נמלים בכרם כמדד לפעילות הקמחית

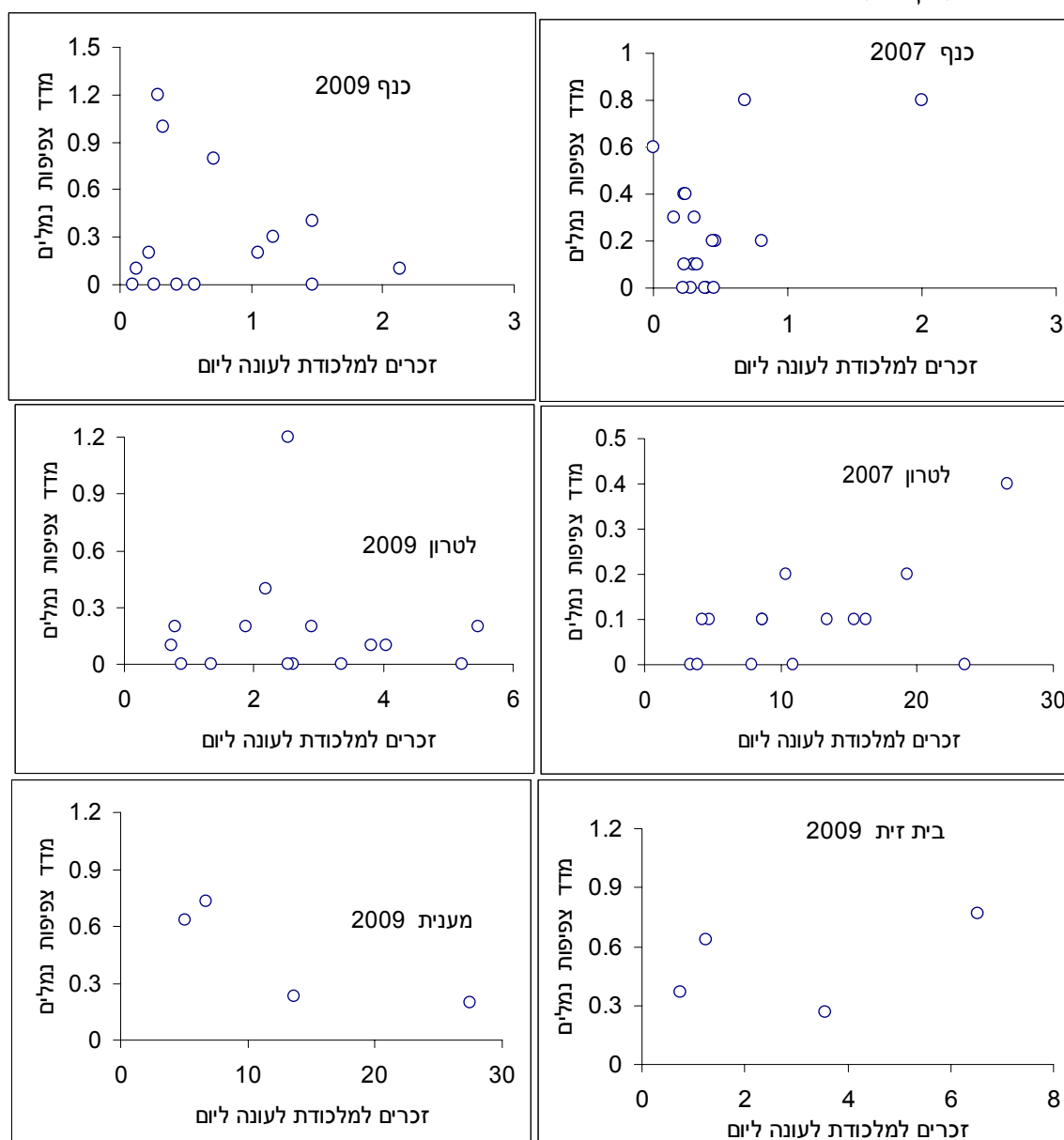
למרות הקשר הברור בין נמלים לקמחיות והליווי של מושבות קמחית הגפן ע"י נמלים, השאלה היא האם פעילות הנמלים עשויה להעיד על הימצאות הקמחית בכרמים צעירים, ולשמש אמת מידה להימצאותן ולצפיפותן שם. טבלה 3 משווה את הצפיפות הממוצעת של אוכלוסיות הנמלים בכרמי הניסוי במשך שתי שנות המחקר. נצפתה עליה בפעילות הנמלים בכל אחד מהכרמים. יש לציין שהעלייה החדה ביותר נרשמה במענית ובבית זית. עליה מתונה נרשמה בכנף 2009, כאשר בכנף 2007 לא נצפתה עליה משמעותית השנים בשתי שנות המחקר.

הזיקה בין לכידת זכרים לבין נוכחות נמלים מציגה תמונה מעט שונה מזו שהתקבלה בבחינת הזיקה שבין לכידת הזכרים לנגיעות בקמחית (איור 5). פעילות נמלים נרשמה בכל החלקות, אם כי לא נמצא קשר ברור בין לכידת הזכרים לבין פעילות הנמלים. זיקה חלקית התקבלה בלטרון 2007 ($R^2 = 0.3087$) וזיקה לכאורה הפוכה התקבלה במענית 2009 ($R^2 = 0.7028$).

טבלה 3. נתונים של צפיפות קמחית הגפן ופעילות נמלים בחלקות הניסוי (הממוצע \pm SE מחושב מכלל יחידות הדגימה (סביב כל אחת מהמלכודות בכל חלקה).

ממוצע אינדקס פעילות נמלים לגפן (תת חלקות שנדגמו \pm SE)	הכרם	
	2011	2010
0.51 \pm 0.10	0.03 \pm 0.03	בית זית 2009
0.18 \pm 0.08	0.03 \pm 0.05	לטרון 2009
0.14 \pm 0.03	0.06 \pm 0.07	לטרון 2007
0.45 \pm 0.12	0.04 \pm 0.02	מענית 2009
0.31 \pm 0.11	0.10 \pm 0.11	כנף 2009
0.25 \pm 0.06	0.20 \pm 0.12	כנף 2007

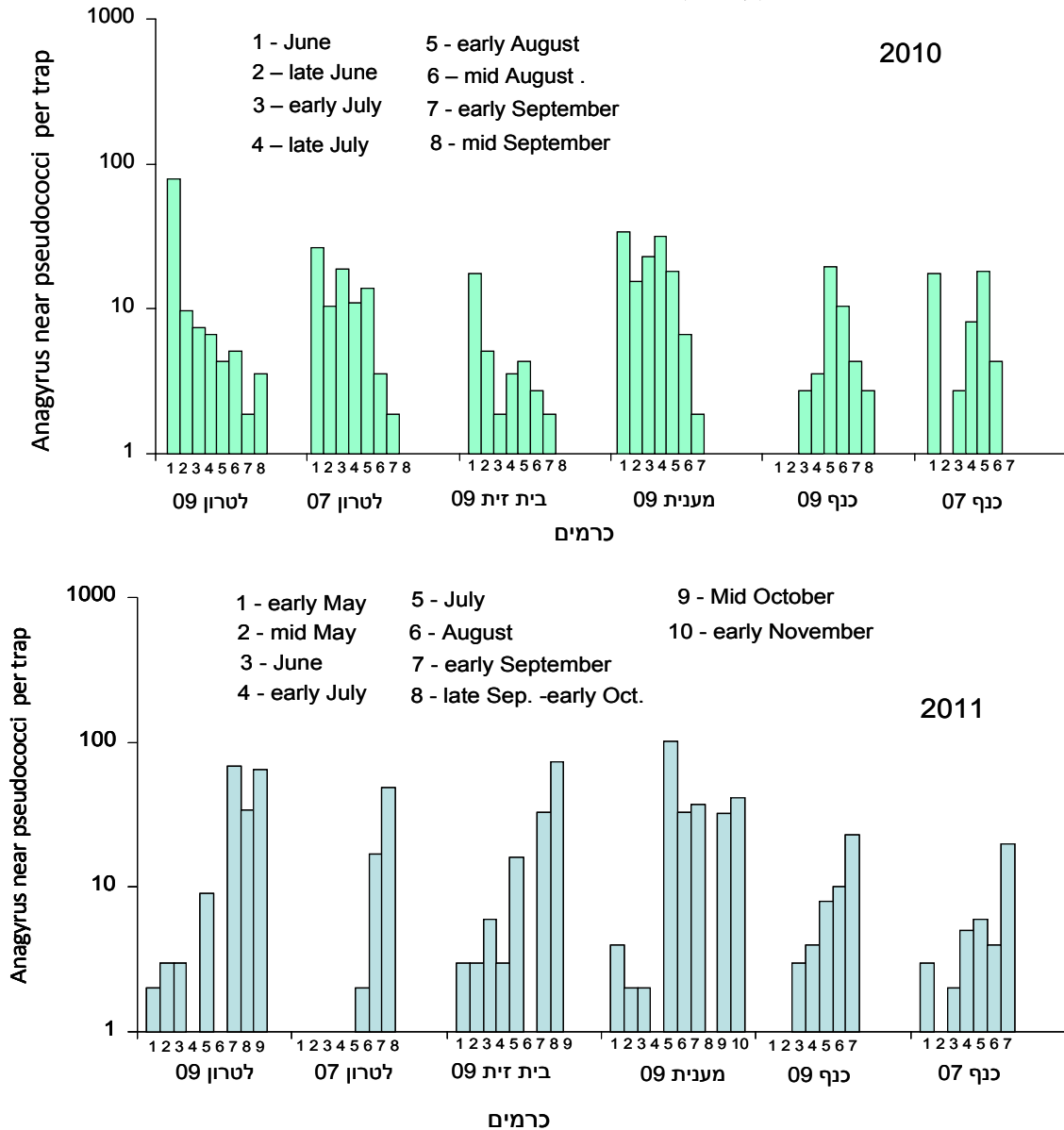
* כולל תת-חלקות חיצוניות



איור 5. זיקה בין לכידת זכרים לפעילות נמלים בששת כרמי הניסוי

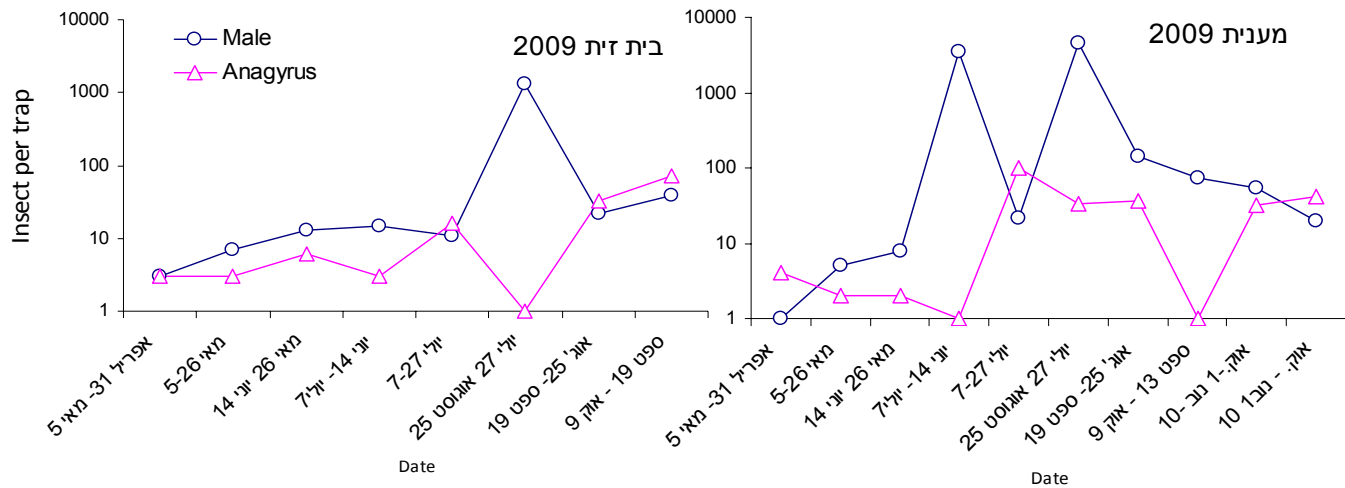
פעילות הצרעה *Anagyrus sp. near pseudococci* בכרמי הניסוי

פעילות הצרעה הטפילית *Anagyrus sp. near pseudococci* נבדקה אף היא במסגרת דגימת הזכרים. הצרעה נמשכת לפרומון המין של קמחית הגפן, ולפיכך מלכודת הפרומון עשויה לשמש אמצעי למעקב אחר פעילות הצרעה. מתוך כך ניתן ללמוד גם על פעילות הקמחית. המגמה שהסתמנה בלכידות בשנת 2010 הייתה שעיקר לכידת הטפילים הייתה בחודשים יוני ויולי (חשוב לציין שבשנה זו לא נדגם הטפיל בתחילת העונה). הלכידות הלכו ופחתו לקראת סוף העונה. בשנת 2011 עיקר הלכידה של הצרעה ברוב החלקות הייתה במחצית השנייה של הקיץ: סוף אוגוסט וספטמבר (איור 6).



איור 6. מגמת הלכידה של הצרעה הטפילית *Anagyrus sp. near pseudococci* במלכודות פרומון בכרמי הניסוי בשתי שנות המחקר.

ב- 2011 חל איחור בהתפתחות הטפילים ככל הנראה בשל האביב הקריר. חשוב לציין שלכידת הצרעה נרשמה בכל החלקות בשתי שנות המחקר. בשנת 2011, בחלקות בהן נרשמה עליה חדה בלכידת הזכרים, נרשמה גם לכידה אפסית של צרעות, ולהפך. צרעות רבות נלכדו כאשר לכידת הזכרים הייתה נמוכה (איור 8). מצב זה בלט במענית ובבית זית בכרמים בהם לא נרשמו קמחיות על הגפנים עצמן. בשנת 2011 הוספנו שתי חלקות כרם מבוגרות יותר, כרם דניאל באזור לטרון וכרם נטע בדרום השפלה. בכרמים אלה, לכידת הצרעות הייתה אפסית (טבלה 4).



איור 8. השוואת מגמת הלכידה של *Anagyrus sp. near pseudococci* לזכרי קמחית הגפן בכרמי מענית ובית זית.

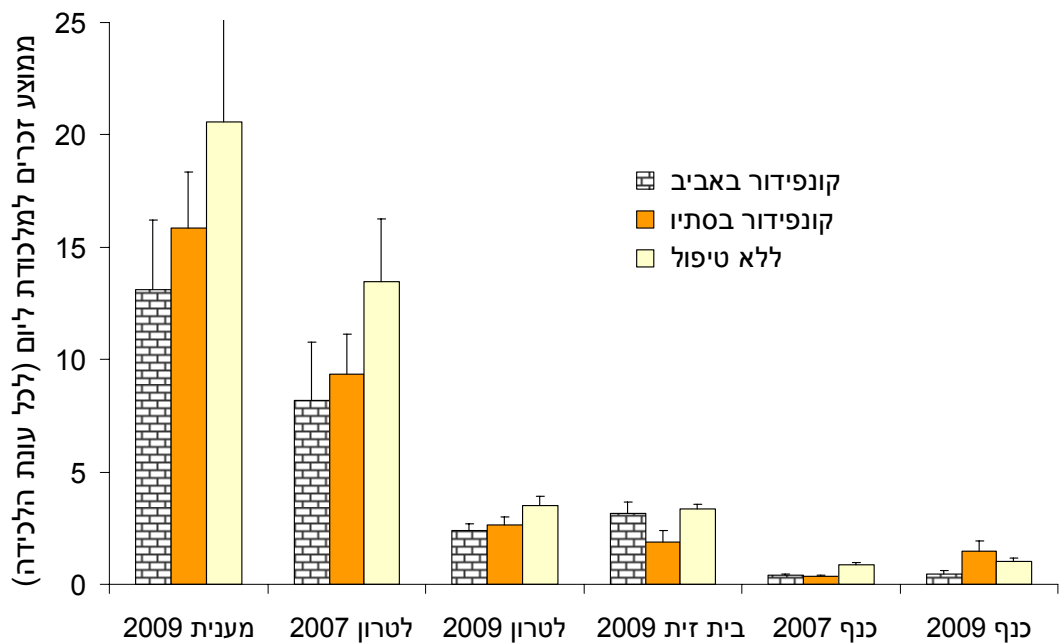
כללית, השוואת מספר הצרעות בממוצע למלכודת לדגימה, מצביעה על כך שמספרן עלה מ-2010 ל-2011 רק בשתיים מהחלקות, בבית זית ובמענית, שהתאפיינו בשנה קודמת בצפיפות אפסית של לכידת זכרים. בשאר החלקות השינוי לא היה ככל הנראה משמעותי (טבלה 4). בשתי שנות המחקר, הלכידה הגבוהה ביותר הייתה בכרם מענית. השוואה של היחס בין מספר הצרעות שנלכדו למספר זכרי קמחית הגפן שנלכדו, מראה שבכל החלקות היחס זכרים/צרעות גדל בין שנות המחקר בחמש מהחלקות פרט לכנף 2007. נראה שהתבגרות הכרם היא המפתח להבנת השינוי. דבר זה מצא את ביטויו בשני הכרמים המבוגרים שנדגמו השנה, כפר דניאל 2004 ו-נטע 1998, בהם היחס בין מספר הזכרים שנלכדו לצרעות היה גדול מאד (טבלה 4).

השפעת טיפולי הקונפידור על לכידת הזכרים

השפעת הטיפולים בקונפידור על פעילות הזכרים כפי שהיא ניכרת מלכידה של זכרים בתת החלקות של כל אחד מכרמי הניסוי מוצגת באיור 9. בשני כרמים בהם נרשמה לכידה גבוהה של זכרים, במענית 2009 ובלטרון 2007, ניכרת המגמה הבאה: לכידה נמוכה יחסית בחלקות שטופלו בקונפידור באביב הגבוהה יחסית בחלקות ללא טיפול. חשוב לציין שחלקות הביקורת, היו כאלה גם בעונת 2010, ואילו חלקות שהטיפול של קונפידור סתיו השנה, היו נותנות לטיפול קונפידור (שונים) בעונת 2010, ולכן הלכידת הזכרים בהן היתה נמוכה מזו של חלקות הביקורת. לא נצפה למעשה הבדל גדול בין הטיפולים בכרמים אחרים, שם סה"כ הלכידה של הזכרים היה מועט. עם זאת יש לציין את העובדה שבכל הטיפולים נלכדו זכרים.

טבלה 4. נתונים של לכידת הצרעה *Anagyrus sp. near pseudococci* והיחס בין כמות הצרעות לכמות הזכרים שנלכדו סה"כ (נתונים של סה"כ הצרעות שנלכדו, ראה איור 5).

2011		2010		הכרם
ממוצע יחס זכרי קמחית שנלכדו לצרעה	סה"כ צרעות שנלכדו למלכודת	ממוצע יחס זכרי קמחית שנלכדו לצרעה	סה"כ צרעות שנלכדו למלכודת	
10.88	5.91	0.97	1.73	בית זית 2009
11.33	4.92	0.79	4.36	לטרון 2009
69.51	3.42	13.03	5.53	לטרון 2007
33.90	16.33	9.23	11.33	מענית 2009
3.590	3.94	1.90	1.37	כנף 2009
7.87	0.87	10.45	1.30	כנף 2007
2119.0	0.2	-	-	כפר דניאל 2004
2118.0	0.1	-	-	נטע 2005



כרמים

איור 9. השוואה של לכידה שנתית ממוצעת של זכרים בששת כרמי הניסוי על פי תת חלקות בהתאמה לטיפול בקונפיזור.

השפעת טיפולי הקונפיזור על הימצאות קמחיות על הגפנים ופעילות נמלים
 נתונים אלו סוכמו עבור מידע שהתקבל משלושת הכרמים בהם נצפו קמחיות בדגימת הגזעים של הגפנים על פי הטיפול. ממוצעי הטיפול חושבו על פי לפחות שלוש יחידות דגימה (גפנים סביב מלכודת פרומון) בטיפול (טבלה 5). התוצאות שהתקבלו לא היו חד משמעיות.

בחלקות 2007, צפיפות הקמחית הייתה גבוהה יותר, באופן ברור, בחלקות הביקורת בהשוואה לחלקות הטיפול. בכנף 2009 התמונה הייתה הפוכה: צפיפות הקמחית הייתה נמוכה מאד. בכל הקשור לנוכחות נמלים, לא נצפו הבדלים ברורים בין הטיפולים בכל אחד מהכרמים.

טבלה 5. השוואה של צפיפות הקמחיות על הגזע, ונוכחות נמלים בין תת חלקות בשלושה כרמים בהתאמה לטיפול בקונפיזור.

הכרם	הטיפול	צפיפות קמחיות על הגזע	מדד נוכחות נמלים
כנף 2007	קונפיזור באביב	0.7+0.46	0.2+0.06
	קונפיזור בסתיו	0.2+0.20	0.25+0.12
	ביקורת	7.2+5.30	0.3+0.14
כנף 2009	קונפיזור באביב	0.16+0.08	0.37+0.16
	ביקורת	0	0.23+0.09
לטרון 2007	קונפיזור באביב	0	0.05+0.03
	ביקורת	3.76+3.3	0.11+0.04

תמצית של ניסויי ההדברה של קמחית הגפן בכרם תוך דגש על האפשרות של שילוב התכשיר מוונטו

רקע

מטרות הניסויים היו לבדוק את יעילות התכשיר מוונטו Spirotetramat לבדו ובשילוב עם קונפידור בהדברת כנימה קמחית בכרם יין בגישה של יישום מסחרי. הטיפולים והתצפיות נערכו בשלוש חלקות כרם יין, בכפר דניאל, בחלקת מרלו ובחלקת פרנץ' קולומברד, החלקות נטעו בשנת 2005, ובמושב גמזו, בחלקת קרינאן שנטעה בשנת 2004.

הממצאים

1) בחלקת המרלו אוכלוסיית הכנימה קמחית לא הייתה מאוד גבוהה ועלתה בגזעים במהלך התצפית. לעומת זאת פחתה הנגיעות של הקמחית באשכולות. התצפית החלה עם נגיעות של 3.0 קמחיות לגזע ובסופו הגיעה הנגיעות ל- 5.7 לגזע. התכשיר מוונטו נמצא יעיל בהדברת הכנימה הקמחית בגפן והפחית את הנגיעות במזיק בגזע בדומה לתכשיר קונפידור. תוספת קונפידור למוונטו הפחיתה במעט את הנגיעות בגזע. ייתכן וברמות נגיעות גבוהות יותר של הקמחית היו ההבדלים גדולים יותר. לא נצפו כל תופעות של פיטוטוקסיות באשכולות או בעלווה.

2) בחלקת פרנץ' קולומברד אוכלוסיית המזיק עלתה במהלך הניסוי. נגיעות חלקות הביקורת בכנימה הקמחית באשכולות החלה עם שכיחות של 10% אשכולות נגועים, והגיעה 64 ימים לאחר מכן ל- 42% אשכולות נגועים. רמת הנגיעות בגזע עלתה בחלקות הביקורת באופן משמעותי במהלך הניסוי. התכשיר מוונטו נמצא יעיל בהדברת הכנימה הקמחית בגפן והפחית את רמת הנגיעות של הכנימה הקמחית באשכולות. באופן דומה בשלוש שיטות הריסוס ובערכים קרובים ואלו שהושגו באצמעות קונפידור, אם כי נראה כי הדברת הקמחית בחלקות שטופלו בקונפידור הייתה מהירה יותר. 64 ימים לאחר הריסוס לא נמצאה כנימה קמחית באשכולות בחלקות המטופלות. התכשיר מובנטו נמצא יעיל בהפחתת רמת הנגיעות בגזעים. עם זאת, נמצא כי לריסוס המכוון לגזעים לאשכולות ולעלווה נמצא יתרון בהדברת הכנימה הקמחית בגזעים בהשוואה לריסוס שכוון לגזעים ולאשכולות או לעלווה בנפרד. השינויים המספריים לא נבדלו בדרך כלל סטטיסטית. הדברת הכנימה הקמחית בגפנים ניכרה גם בהפחתה משמעותית בפעילות אוכלוסיית הנמלים. גם במקרה זה לא נצפו כל תופעות של פיטוטוקסיות באשכולות או בעלווה.

3) בחלקת קרינאן נגיעות אשכולות בכנימה קמחית לאחר ריסוס ומוונטו היה המוצלח ביותר אם כי לא היו הבדלים משמעותיים בהשוואה לטיפול הדורסן. תוצאה דומה התקבלה בבחינת הנגיעות קמחית הגפן על הגזעים. הפיתה הרבה באמצעות מוונטו הושגה 49 ימים לאחר הטיפול.

דיון ומסקנות

הבחינה של צפיפות הלכידה השנתית של הזכרים מצביעה על מגמה ברורה של התעצמות אוכלוסיית הקמחית בארבעה מכרמי הניסוי. השינוי הגדול ביותר היה במעניית. נראה שבשני הכרמים בגולן, בכנף, השינוי לא היה ניכר ונותרה אוכלוסייה קטנה של קמחית על פי מדד זה. עם זאת, בחינה של נגיעות הגפנים בקמחית בכרמי הניסוי העלתה, שבשלוש מחלקות הכרמים כלל לא נצפו קמחיות על הגפנים. הדבר בלט במיוחד במעניית שם, למרות רמת הלכידה גבוהה במיוחד, לא נצפתה נגיעות על הגפנים.

בדוח זה אנו מבקשים לשים דגש השאלה האם לכידת הזכרים אכן משקפת את נגיעות הגפנים בקמחית, וזאת למרות חוסר הקשר הישיר בין המשתנים. חוסר קשר זה ניכר בעיקר כשמשווים את הזיקה שבין לכידת הזכרים לנגיעות הגפנים בקמחית.

לדעתנו דגימת הקמחית בכרמים צעירים, גם כשהיא מתבצעת ביסודיות באמצעות קילוף דקדקני של רצועות הקליפה היבשות, אינה חושפת את כל אוכלוסיית הקמחית המאכלסת את הגפן. יתכן שדווקא פעילות הנמלים היא זו שמעידה בעקיפין על הימצאות קמחיות על הגפן. אמנם הזיקה בין מדד פעילות הנמלים לבין לכידת הזכרים לא הייתה נמוכה מאד ובמקרה אחד אפילו הפוכה. בשניים מהכרמים, מעניית ובית זית, בהם לא נצפו קמחיות על הגפן והתקבלה לכידה גבוהה יחסית של זכרים, נרשמה גם פעילות רבה של נמלים. כשבוחנים את השינוי במדד פעילות הנמלים בין שתי שנות המחקר, ניתן לראות שאותם כרמים שבהם נרשמה עלייה רבה בפעילות הזכרים, נרשמה גם עלייה במדד פעילות הנמלים.

בחינת השינויים בלכידה העונתית של הזכרים בכרמי הניסוי (ללא התייחסות לטיפול קונפידור), מצביעה אף היא על השינוי בפעילות הזכרים, כלומר בפעילות הקמחיות. גלי הלכידה של הזכרים במלכודות הפרומון חוזרים על עצמם באופן די דומה בכל כרמי הניסוי, ללא קשר לצפיפות הלכידה. הדינאמיקה של לכידת הזכרים ועליה בצפיפותם היא מרשימה, במיוחד (כאמור לעיל) במעניית ובבית זית. אמנם במעניית נמצאו פרטים של קמחית הגפן גם על צמחי הינבוט בגדלים בכרם, אולם תנודת הלכידה

מצביעה בברור שמקורם של רוב הזכרים הוא בגפנים, ולא בצמחייה המלווה. בניית האוכלוסייה מוכחת גם על רקע הלכידה האפסית של הזכרים בשנת 2010 בכרמים אלו.

A. דרך אחרת לוודא את הימצאות הקמחית בכרם, היא לבחון את פעילות הצרעה הטפילית העיקרית שלה. *sp. near pseudococci*. הצרעה נמשכת לפרומון המין של קמחית הגפן, ולפיכך מלכודת הפרומון היא כלי נוח גם לאפיון צפיפות אוכלוסיית הצרעה בכרם. כאן חשוב להסתייג בכך שהצרעה מגיבה היטב לפרומון שמקורו הן מאוכלוסיית הקמחית עצמה, והן מהלכידה במלכודת הפרומון של הכנימה (יש לציין שרק נקבות הצרעה נמשכות לפרומון ונלכדות). השוואה של מהלך הלכידה של הצרעה לזה של זכרי הקמחית מצביעה על כך שבמועדים בהם ישנה לכידה גבוהה של זכרים, נרשמה לכידה נמוכה מאד של הצרעה. הסיבה לכך נובעת מכך שלכידה גבוהה של זכרים היא סימן לפעילות רבה של נקבות קמחית צעירות, שהן השלב בו משוחרר פרומון המין ע"י אוכלוסיית הקמחית. הדבר מצא את ביטויו בכך ששיעורי הלכידה של הצרעה בשני הכרמים הבוגרים השנה במחקר (בכפר דניאל ובמענית) היו אפסיים, זאת, למרות פעילות רבה של הקמחית בהם, עובדה שהתבטאה בלכידה גבוהה של זכרים. הפעילות העונתית הברורה של הצרעה בכל הכרמים, בעיקר באלו שבהם לא נמצאה לכאורה אוכלוסייה פעילה של קמחית על הגזעים, היא עדות לפעילות של הקמחית. יש לציין שהמלכודת אינה משקפת בהכרח את הצפיפות המוחלטת של הצרעה בכרם. זאת בשל העובדה שלכידת הצרעה במלכודת הפרומון מושפעת ישירות מצפיפות הקמחית עצמה. עם זאת, לכידה של מספרי צרעות כפי שהתקבלו בדגימות היא אפשרית רק בשל התפתחות הצרעה על אוכלוסיית הקמחית המאכלסת את הגפנים.

המסקנה מכך היא שאוכלוסיית הקמחית מצויה על הגפנים גם בחלקי צמח שכנראה אינם נחשפים לדגימות. הצרעות והנמלים מסוגלים, ככל הנראה, להגיב למושבות נסתרות אלו ומעידים בשל כך על הימצאותן של הקמחיות. נתוני הדגימה של אוכלוסיית הצרעה אינם יכולים להעיד על מידת תרומתן להפחתת אוכלוסיית הקמחית.

השוואת לכידת הזכרים בהתאמה לטיפול הקונפידור מצביעה על מגמה של הפחתה מסוימת של אוכלוסיית הקמחית בעיקר בטיפול האביבי. מאידך, היא מעידה גם על הבעתיות של טיפול זה. יתכן שחלק מאוכלוסיית הקמחית מצויה על הגפן באתרים בהם השפעת התכשיר היא קטנה. מצב זה של אוכלוסיות הנחשפות באופן מתמיד למינונים תת-קטלניים של התכשיר מעודד התפתחות של עמידות. תוצאות הניסויים לבחינת מונוטו מצביעות על כך שהתכשיר יעיל בהדברת קמחית הגפן, בעיקר ע"י הגנה על האשכולות, הוא אינו נפול ביכולתו להדביר את הקמחית על הגזעים בהשוואה לקונפידור ודורסן, שני התכשירים העיקריים להדברת הקמחית בכרמים עד כה. הממצאים שהתקבלו בחלקות כרם מבוגרות מרמזים לכך שדווקא החלקות צעירות עשוי התכשיר לתת פתרון להדברה הקמחית שלא הושגה במלואה בששת הכרמים מנטיעות 2007 ו-2009 באמצעות קונפידור כפי שדווח קודם.

4. פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה

ד"ר גל ספיר, עומר קראין, תירצה זהבי, מו"פ צפון

בחינת ההשפעה של הזנה עלונית על התבטאות הווירוס וביצועי הגפן.

מבוא:

חלק מהתסמינים של נגיעות בוורוס קיפול העלים דומים לסימנים של מחסורים מינרלים, לכן עלתה אפשרות שהווירוס מפריע להובלה של יסודות מסוימים. הנחת המחקר כאן היא שיישום עלונית של מינרלים יוכל לעקוף בעיות קליטה והובלה, לשפר את חיוניות הגפנים ולדחות את הופעת התסמינים בתקווה שדבר זה יפחית את ההשפעה של הווירוס על איכות ההבשלה.

שיטות וחומרים:

הניסוי נערך זו השנה השנייה באותן חלקות. נבחנו שלושה תכשירים:

- בוסטר הדרים, מכיל 8% חנקן, 16% זרחן, 39% אשלגן ויסודות קורט בתוספת משטח ייחודי מחדיר.
- דשן כל המכיל 20% מכל אחד מיסודות המקרו בתוספת יסודות קורט.
- קורטין המכיל יסודות קורט בלבד.

בשנת 2011 התכשירים ניתנו בריסוס כל שבועיים החל מצימוח של 20 ס"מ ועד אחרי בוחל (7 ריסוסים בסה"כ בכל זן). הריסוס במרסס מפות, ריסוס לנגירה. הניסוי הוצב בתבנית בלוקים באקראי בחמש חזרות. אורך כל חזרה 55 מטר (כ 35 גפנים).

נבחנו שני מדדים:

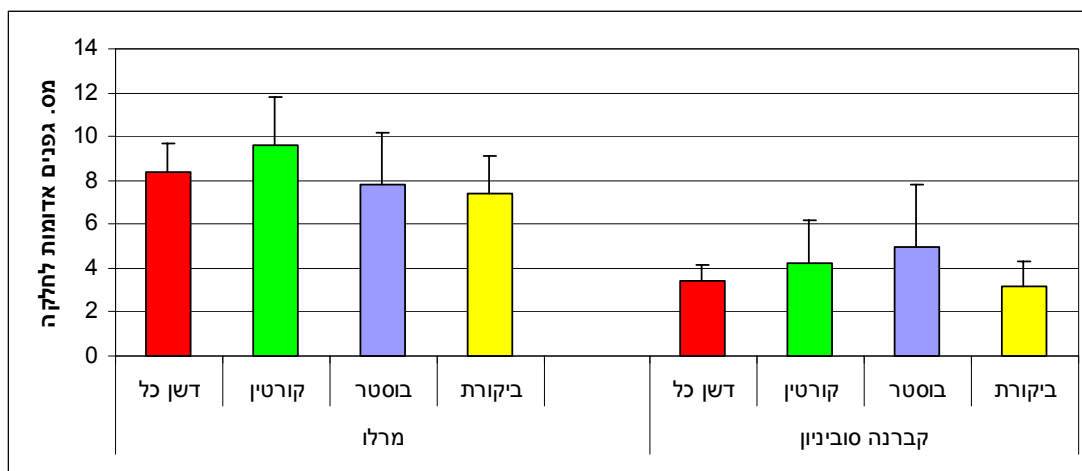
- א. מועד הופעת התסמינים וחומרתם. זה נעשה בשני מועדים (19/7 ו 15/10). במועד הראשון צוין מספר הגפנים עם תסמינים בכל חלקה ובמועד השני כל גפן גם דורגה על סמך עוצמת התסמינים בסקלה בת ארבע דרגות: 0- ללא תסמינים, 1- עד 10% מהעלים עם תסמינים קלים, 2- עד 40% מהעלים עם תסמינים, 3- יותר מ 40% מהעלים עם תסמינים.
- ב. מעקב הבשלה מתחילת ההבשלה ועד מועד הבציר. המעקב כלל איסוף של 100 גרגרים מכל חלקה אחת לשבועיים. הגרגרים ניסחו במעבדה ונבדקו רמת הסוכר החומצה וה pH.

תוצאות:

א. תסמיני מחלה.

מיפוי ראשון של גפנים סימפטומטיות נערך סמוך לתחילת הופעת התסמינים באמצע יולי. התוצאות מוצגות באיור 1.

איור 1: מספר גפנים עם תסמינים ב 19/7/2011



הופעת התסמינים לא הושפעה מהריסוסים וניתן לראות שכמות הגפנים הנגיעות בביקורת לא עולה על מספרן בגפנים המרוססות בחומרים השונים. מיפוי שני נערך ערב הבציר של החלקה. במועד זה הגפנים דורגו על סמך חומרת הנגיעות וחושב אחוז הגפנים בכל דרגה. התוצאות מוצגות בטבלא 1.

טבלא 1 : שעור הגפנים בכל אחת מדרגות הנגיעות (דרוג 15/10/11)
 (1) קברנה סוביניון.

טיפול/דרגה	0	1	2	3
ביקורת	0%	8%	30%	62%
20-20-20	1%	10%	34%	56%
בוסטר	0%	6%	36%	58%
קורטין	0%	2%	39%	59%

(2) מרלו

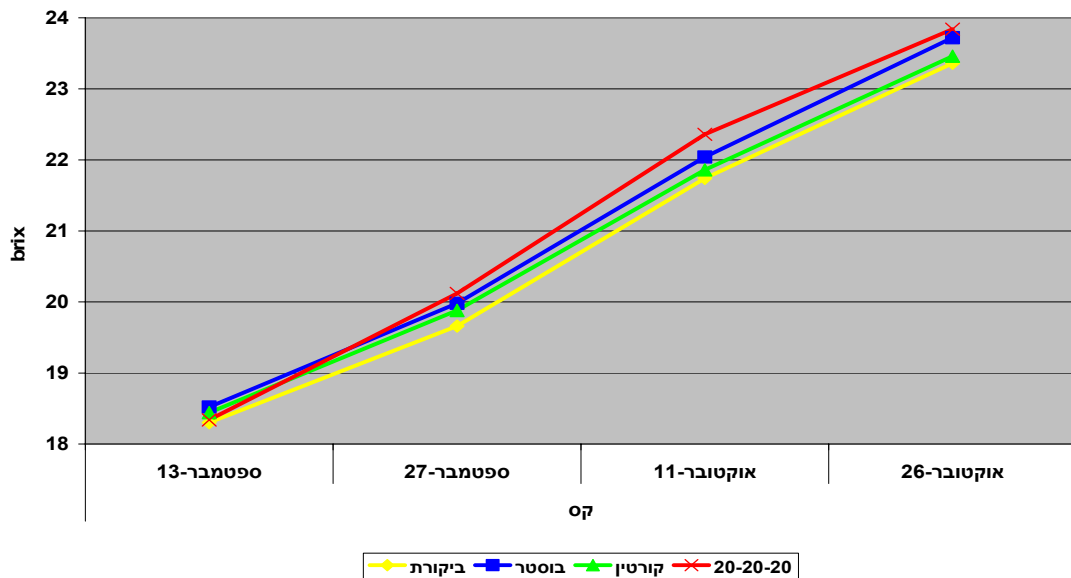
טיפול/דרגה	0	1	2	3
ביקורת	35%	21%	26%	18%
20-20-20	21%	13%	28%	37%
בוסטר	20%	20%	31%	29%
קורטין	28%	16%	28%	28%

לא נראתה שום השפעה של הריסוס בחומרי הזנה על חיוניות הגפנים או צבע העלווה. למעשה כל הגפנים בקברנה וכ 80% מהגפנים במרלו ביטאו סימני נגיעות ללא קשר לטיפול.

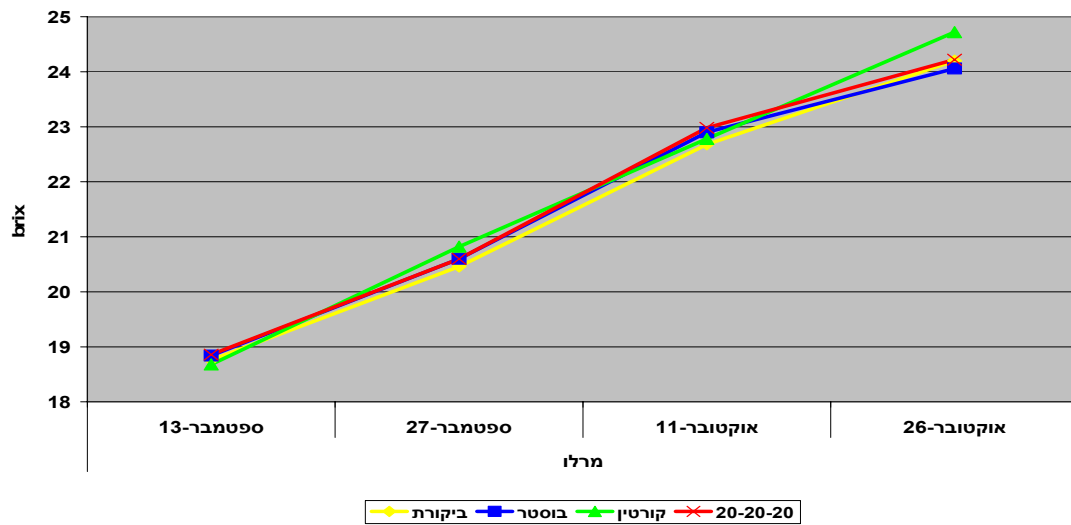
ג. התפתחות הפרי (מעקב הבשלה)

התחלנו במעקב כשרמת ההבשלה בחלקה המסחרית הייתה כ 18% סוכר והמשכנו עד מועד הבציר הנתונים באיור 2 ו 3 מראים שלא היה שום הבדל בצבירת הסוכר בחלקת המרלו ולמרות מגמה של שיפור בקברנה סוביניון בטיפולים שקיבלו הזנה במקרואלמנטים גם שם לא היה הבדל מובהק ברמת הסוכר או ה pH באף אחד ממועדי הבדיקה.

איור 2 : השפעת מתן הזנה במקרואלמנטים על צבירת הסוכר בקברנה סוביניון



איור 3 : השפעת מתן הזנה במקרואלמנטים על צבירת הסוכר במרלו



מסקנות.

ההשפעה של הזנה עלותית על התבטאות הווירוס ועל מדדי הבשלה נבחנה שנתיים רצופות באותן חלקות ולא נמצאה כל השפעה לטיפולים.

דילול שריגים ופרי ככלי לשיפור איכות הפרי בכרם נגוע בוירוס

מבוא.

נגיעות בוירוס קיפול העלים מתבטאת במקרים רבים בעיכוב צבירת הסוכר והצבע בפרי. הנחת העבודה בניסוי זה היא שדילול היבול יפחית את העומס מהגפן ויפנה את המשאבים המצומצמים להבשלת הפרי. הניסוי הוצב בזנים קברנה סוביניון ומרלו, בכרם של מבוא חמה במרכז הגולן (650 מ מעל פני הים).

שיטות.

הכרם נזמר בקפידה להשארה של 6-8 סעיפים לצד. הניסויים הוצבו בתבנית של בלוקים באקראי ונבחנו ארבעה טיפולים:

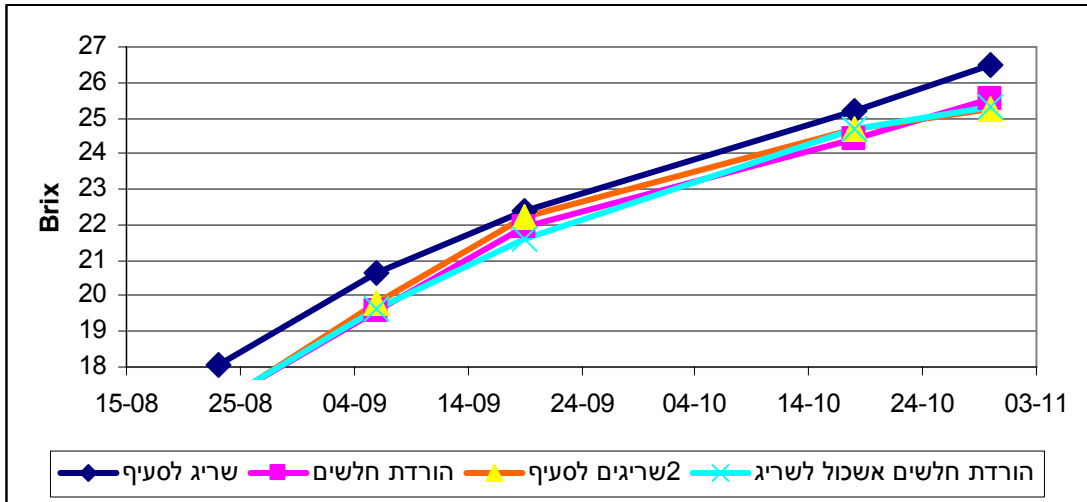
- 1) דילול שריגים מוקדם (צימוח של 20-30 ס"מ) – השארה של שני שריגים לסעיף.
- 2) דילול שריגים מוקדם – השארה של שריג לסעיף.
- 3) דילול שריגים חלשים אחרי חנטה
- 4) דילול שריגים חלשים והשארה של אשכול לשריג.

מתחילת ההבשלה נערך מעקב אחר נתוני התירוש ובבציר נבחנו מספר האשכולות וגובה היבול. בדיקה של צבע הענבים נעשתה רק במועד הבציר אחרי מיצוי באתנול חומצי.

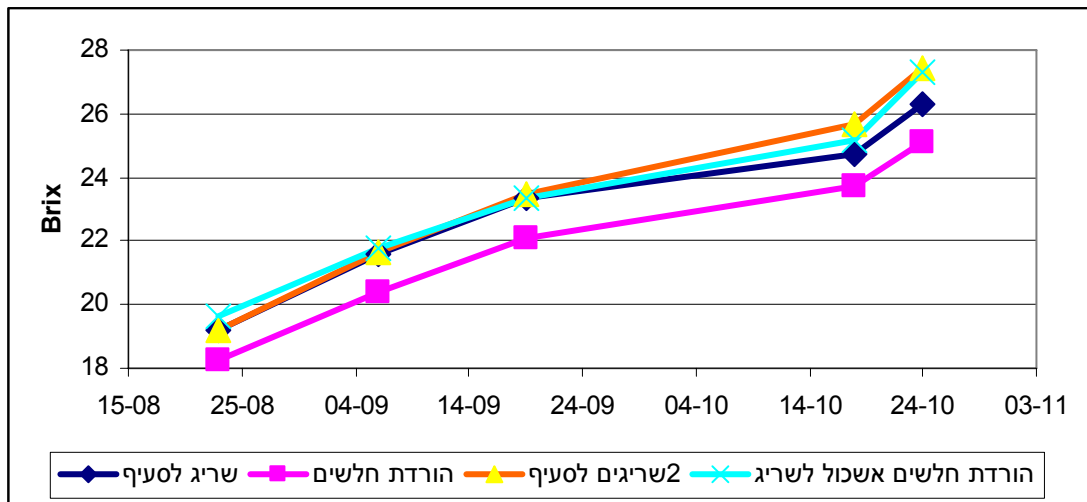
תוצאות.

נתוני ההבשלה מוצגים באיורים 4 ו 5. בקברנה לא נראתה כל השפעה של הדילולים על קצב ההבשלה ורמת הסוכר בבציר למרות שלכל אורך המדידות הייתה נטייה לסוכר גבוה יותר בגפנים בהן הושאר שריג לסעיף (לא מובהק סטטיסטית). נראית מגמה לרמת אנטוציאן גבוהה יותר בטיפולים בהם הורדו שריגים חלשים מאוחר בעונה לעומת שני הטיפולים שדוללו מוקדם בעונה למספר שריגים מוגדר (טבלה 3). במרלו נראתה לאורך כל תקופת המעקב נטייה לסוכר נמוך יחסית בגפנים בהם דוללו רק השריגים החלשים, ללא דילול נוסף של אשכולות.

איור 4 : מעקב ההבשלה בקברנה סוביניון



איור 5 : מעקב ההבשלה בזן מרלו



השפעת הדילולים על גובה היבול.

1. קברנה סוביניון

אנטוציאן (מ"ג/גרם)	משקל אשכול	יבול לגפן	אשכולות לגפן	טיפול
5.35	A 104	A 4.01	A 38.88	דילול חלשים
3.37	A 111	A 3.75	AB 33.68	שני שריגים לסעיף
4.79	A 105	AB 3.21	AB 29.90	דילול חלשים, אשכול לשריג
2.71	A 88	B 2.15	B 24.44	שריג לסעיף

2. מרלו

אנטוציאן (מ"ג/גרם)	משקל אשכול	יבול לגפן	אשכולות לגפן	טיפול
4.26	A 134	A 4.93	A 38.08	דילול חלשים
4.22	A 123	A 4.55	A 37.60	שני שריגים לסעיף
6.62	A 135	A 3.61	B 28.92	דילול חלשים, אשכול לשריג
5.19	A 133	A 3.54	B 26.54	שריג לסעיף

כצפוי, הדילולים הפחיתו את מספר האשכולות בצורה מובהקת כשבשני הזנים, בגפנים בהם סולקו רק שריגים חלשים ללא דילול נוסף של אשכולות התקבל היבול הגבוה ביותר ואילו בגפנים בהן הושאר שריג לסעיף היה היבול הנמוך ביותר. למרות הבדלים גדולים ברמת הצבע בין הטיפולים לא הייתה מובהקות סטטיסטית וזאת בגלל שונות בין החזרות.

מסקנות.

דילולי השריגים גרמו לירידה משמעותית ביבול, בעיקר בקברנה (הבדל של כחמישים אחוז בין הטיפולים הקיצוניים). בטיפול הדילול החזק (שריג לסעיף) הייתה אמנם מגמה לשיפור בצבירת הסוכר אך המגמה לא מובהקת. רמת הצבע בטיפול זה נטתה להיות נמוכה יחסית לטיפולים שדוללו מאוחר ופחות חריף. ההבדלים שהתקבלו בין היבולים במרלו היו קטנים יותר (עד 70%) וגם בזן זה לא נמצאו הבדלים ברורים במדדי ההבשלה.

בחינת ההשפעה של השקיה על התבטאות הווירוס.

מבוא

בעבודות קודמות מצאנו שהשקיה גבוהה במשך כל עונת הגידול גורמת להתבטאות חזקה יותר של וירוס קיפול העלים. מטרת הניסוי היא לבחון מהי תקופת הגידול בה להשקיה יש השפעה משמעותית על האדמת עלים הנובעת מהנגיעות בוורוס.

שיטות

(1) מבנה הניסוי:

הוצב ניסוי בזן קברנה סוביניון בחלקה במושב שעל נטיעת 1997. תקופת הגידול חולקה לשלוש תקופות מישנה: הראשונה – עד חנטה, השנייה מחנטה עד בוחל והשלישית מהבוחל לבציר. יצרנו סדרה של מצבים ע"י כך שבכל תקופה חלק מהחלקות הוחזקו במצב מים טוב (תא לחץ סביב 8- אטמוספרות) וחלקן במצב צמא (12-14- אטמוספרות). בצורה זו קיבלנו שמונה טיפולים (טבלא 1). הניסוי הוצב בתבנית של בלוקים באקראי בחמש חזרות של 12 גפנים לאורך השורה ועם שתי שורות גבול המקבלות את טיפול "הניסוי" לצד כל חלקה.

הטיפולים הניבחנים:

תקופה 1	תקופה 2	תקופה 3
צמא	צמא	צמא
צמא	צמא	מושקה
צמא	מושקה	צמא
מושקה	צמא	צמא
מושקה	מושקה	מושקה
מושקה	מושקה	צמא
מושקה	צמא	מושקה
צמא	מושקה	מושקה

(2) מדדים שנאספו

- (1) מצב המים נמדד אחת לשבוע בשני עלים בכל חלקה.
- (2) שטח העלווה (LA) נמדד בחנטה ובשלב הבוחל בטיפולים הקיצוניים.
- (3) מדידת פוטוסינתזה ומוליכות פיוניות נעשתה גם היא בחנטה ובשלב הבוחל בטיפולים הקיצוניים עם מכשיר פאם.
- (4) ספירת גפנים נגועות ודרוג הנגיעות כמתואר בניסוי ההזנה העלוותית.
- (5) מעקב הבשלה ובציר
- (6) מיצוי אנטוציאנים וכלורופיל מהעלים ערב בציר

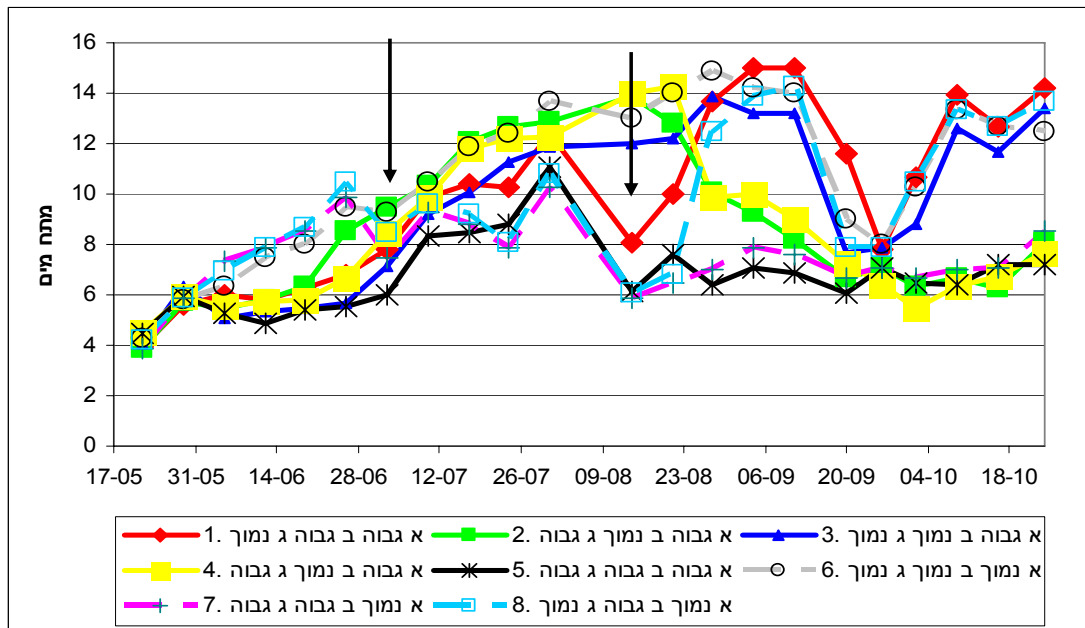
רוב המדדים נותחו בשתי צורות – ראשית בוצעה השוואה של כל הטיפולים זה לעומת זה, השוואה שנייה הייתה בחינה של השפעת ההשקיה בכל אחת משלוש התקופות: קיבוץ, עבור כל תקופה, של כל הטיפולים שקיבלו השקיה גבוהה לעומת אלה שקיבלו באותה תקופה השקיה נמוכה. בצורה זו ניתן למצוא את התקופות המשפיעות ביותר על כל מדד.

תוצאות:

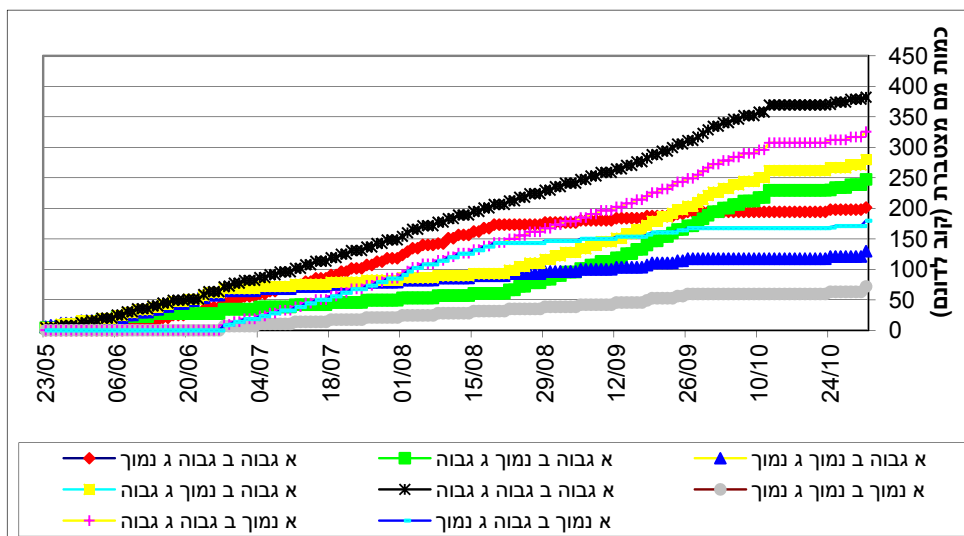
1. מצב המים כפי שנקבע על בסיס של תא לחץ היווה בסיס לקביעת כמות המים הניתנת לחלקות השונות (איור 6). התחלת ההשקיה בטיפולים הרטובים הייתה ב 23/5 עם מנה של 1 קוב ליום שניתן אחת לשלושה או ארבעה ימים. התחלת ההשקיה בטיפולים הצמאים הייתה על בסיס מדידות תא לחץ חודש מאוחר יותר ב 26/6 שהיה גם מועד ההחלפה הראשון של הטיפולים. מועד ההחלפה השני היה בסוף החלפת הצבע בשבוע השני של אוגוסט.

ניתן לראות בציור שבטיפול האדום (גבוה גבוה נמוך, סמן מעויין) לא הצלחנו בתחילת העונה לשמור על לחץ נמוך כמתוכנן והוא היה לאורך כל התקופה הראשונה והשנייה עם לחץ ביניים בין הטיפולים המושקים לצמאים. לעומתו, הטיפול הירוק (ריבוע מלא) שהיה אמור להיות צמא בתקופה הראשונה היה עם מתח מים נמוך יחסית (רווי). באיור 7 מוצגות כמויות המים לדונם שניתנו לכל אחד מהטיפולים במהלך העונה.

איור 6: מצב המים בגפנים בטיפולים השונים (החיצים מסמנים את מועדי ההחלפה של רמות ההשקיה).



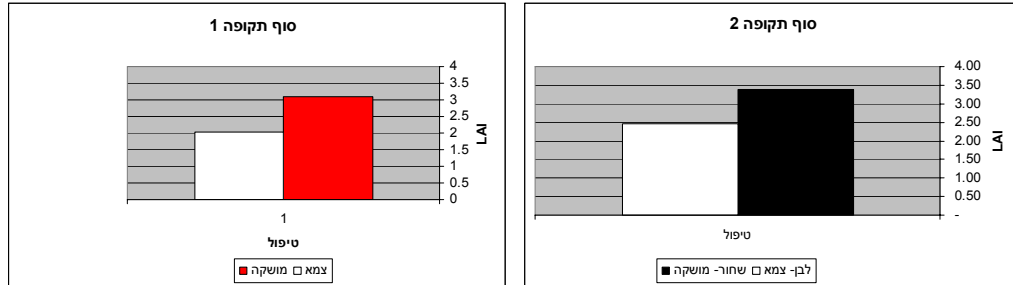
איור 7: פרישת ההשקיה וכמויות מים מצטברות לאורך העונה בטיפולים השונים



2) שטח העלווה.

נמדד לקראת מועדי ההחלפה של הטיפולים רק בטיפולים הקיצוניים: "מושקה כל העונה" ו"צמא כל העונה".

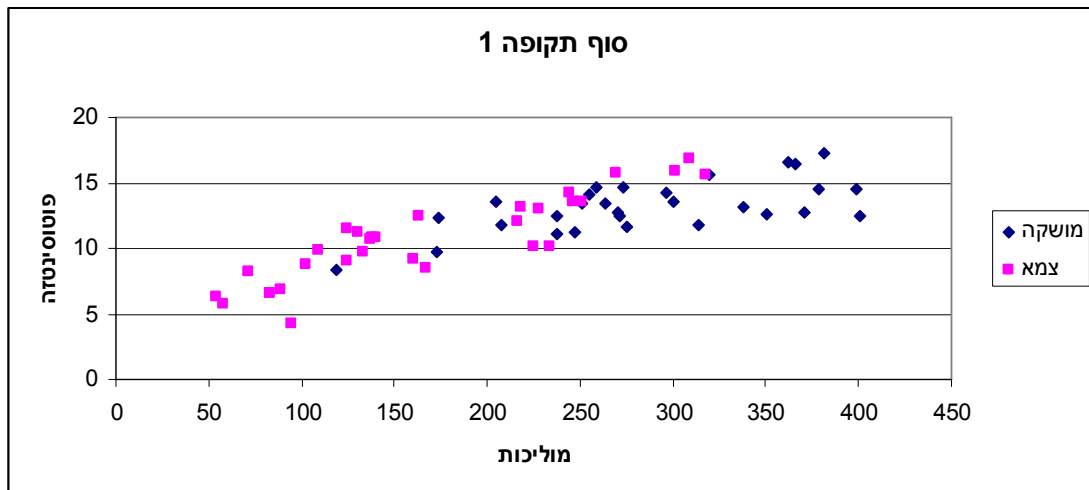
איור 8: שטח העלווה בטיפולים הקיצוניים בסוף התקופה הראשונה – משמאל, והשנייה – מימין.



הבדלים בצימוח נראו בעין והתקבלו במדידת אינדקס שטח עלווה כבר בחנטה. למרות שנראה המשך צימוח בטיפול המושקה גם בהמשך העונה הדבר לא לידי ביטוי בגידול ב LAI במדידה השנייה. ייתכן וזה נובע מקיטומים שבוצעו בטיפולים המושקים.

2) מדידת פוטוסינתזה ופלורסנציית כלורופיל כמדד לפעילות פוטוסינתטית.

איור 9: יחס בין מוליכות לפוטוסינתזה בסוף התקופה הראשונה.

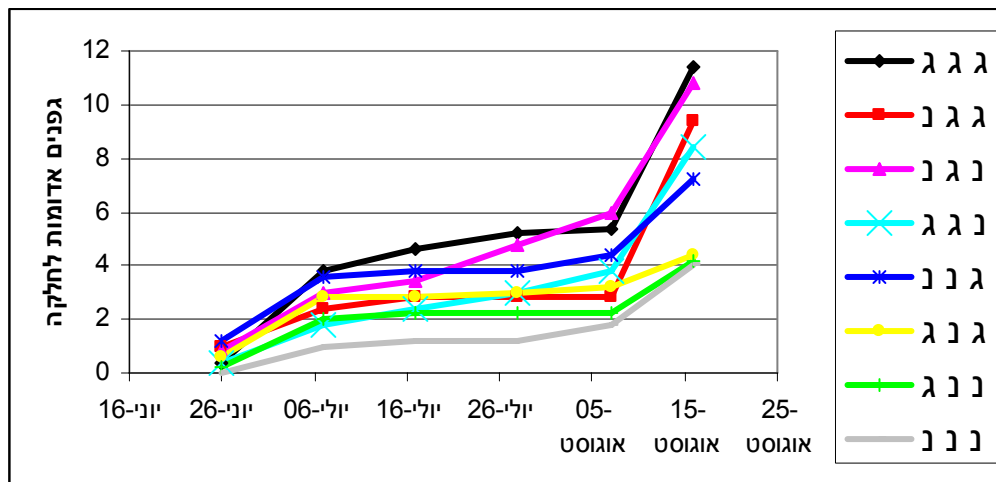


הקשר בין מוליכות הפיוניות לפוטוסינתזה בסוף תקופת ההשקיה הראשונה היה דומה בין הטיפולים הצמאים והמושקים אולם ברוב החלקות של הטיפולים המושקים הפוטוסינתזה הייתה ברוויה בעוד קצב הפוטוסינתזה ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) ברוב החלקות הצמאות היה נמוך יותר – 10.7 ו 13.2. $t < 0.001$, בממוצע.

3) דרוג נגיעות לפי טיפולים

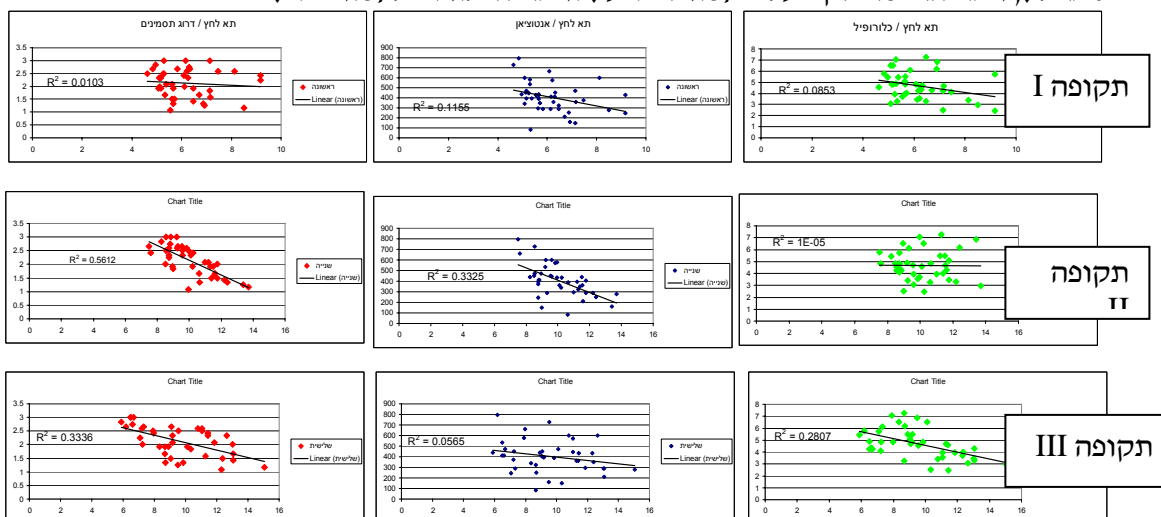
עם תחילת הופעה של תסמינים הוחל בספירת הגפנים המבטאות תסמינים בטיפולים השונים. הספירה נעשתה כל שבוע-שבועיים והנתונים מוצגים באיור 10. בהשוואה של כל הטיפולים, ההבדלים במספר הגפנים הסימפטומטיות לחלקה נמצאו מובהקים במועד הבדיקה האחרון. לא נמצאה השפעה של רמת ההשקיה בתקופה הראשונה ונמצאה השפעה מובהקת של ההשקיה בתקופה השנייה (מובהק בארבעת תאריכי הבדיקה האחרונים).

איור 10: מספר הגפנים עם תסמיני וירוס בעלים במועדים שונים (מתוך 12 גפנים בכל חלקה).



סמוך לבציר דורגו הגפנים על סמך עוצמת התסמינים שלהן ובמקביל נלקחו עלים לבדיקת תכולת אנטוציאן וכלורופיל. באיור 11 מוצג המתאם בין ערכי תא לחץ ממוצעים לכל אחת מהתקופות (ראשונה עליונה, אחרונה תחתונה) לבין שלושה מדדים: עוצמת התסמינים בסדרה השמאלית (צבע אדום), כמות האנטוציאן בעלים בשלושת הגרפים האמצעיים וכמות הכלורופיל בגרפים מימין (בירוק). התבטאות הצבע האדום, הן בבדיקה הויזואלית והן במיצוי, הושפעה בעיקר מתקופת ההשקיה השנייה ואילו רמת הכלורופיל הושפעה בעיקר מההשקיה במועד השלישי שהוא למעשה מצב המים בזמן שנעשתה בדיקת התסמינים ובמידה פחותה מההשקיה במועד הראשון.

איור 11: קשר בין מתח המים בעלים, ממוצע לכל אחת מהתקופות בנפרד לבין הופעת תסמינים (טור שמאלי), רמת האנטוציאן בעלים (טור אמצעי) ורמת הכלורופיל (טור ימני).

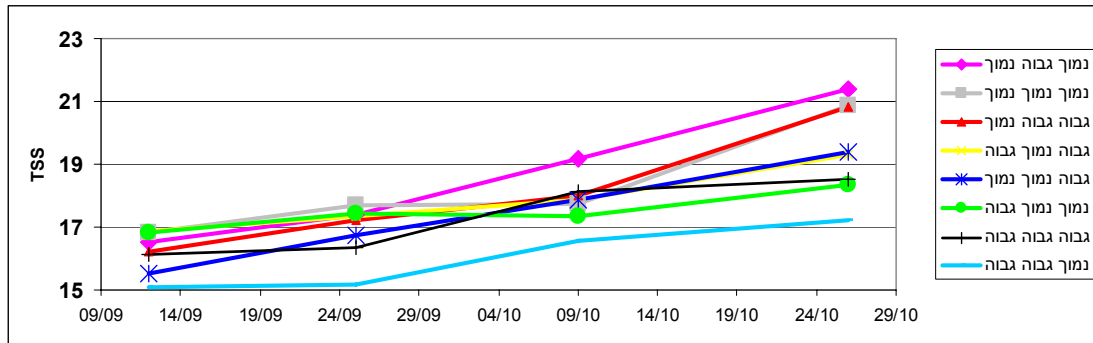


4) מעקב הבשלה ובציר.

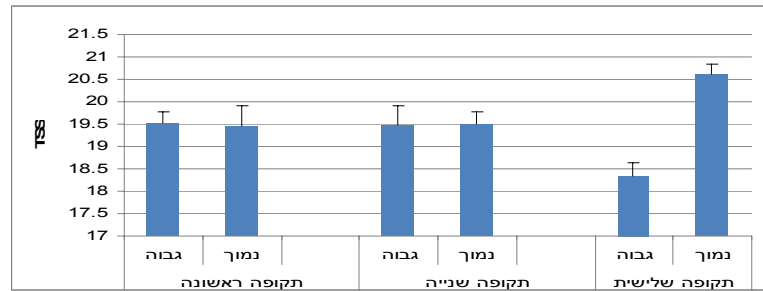
התקדמות הסוכר הייתה איטית יחסית לקצב ההצטברות בשנה שעברה. בשלושת מועדי הבדיקה האחרונים נמצאו הבדלים מובהקים בין חלק מהטיפולים. מהניתוח המקובץ נראה שההבדל נבע הן מההשקיה בתקופה השנייה שהשפיעה במובהק על הסוכר במועד הבדיקה הלפני אחרון והן מההשקיה בתקופה השלישית. רמת הסוכר הממוצעת בבציר בטיפולים שקיבלו השקיה נמוכה הייתה – 20.62 לעומת 18.35 בטיפולים המושקים יותר ($t < 0.0001$), איורים 12, 13. הבדלים מובהקים ב pH נראו רק

במועד הדיגום הראשון והם הושפעו בעיקר מההשקיה בתקופת הגידול השנייה כשבגפנים שהושקו פחות רמת ה pH הייתה גבוהה יותר.

איור 12 : השפעת הטיפולים על הצטברות הסוכר.



איור 13 : השפעת ההשקיה במועדים השונים על רמת הסוכר בבציר.



בגובה היבול לא נמצא הבדל מובהק בהשוואה של כל הטיפולים אולם היבול הושפע מההשקיה בתקופה השנייה שגרמה ליבול נמוך במובהק בגפנים שהושקו מעט (3.76 ק"ג לגפן לעומת 4.62 בגפנים שהושקו בנדיבות בתקופה השנייה, $p=0.012$).

מסקנות: גם תוצאות השנה מצביעות על קשר בין רמת ההשקיה להתבטאות תסמיני הווירוס בעלים. מנתוני השנה נראה שלתקופת ההשקיה הראשונה אין כמעט השפעה על מדדי הפרי (יש השפעה על שטח העלווה), שעיקר ההשפעה על התבטאות התסמינים וגובה היבול היא מרמת ההשקיה במועד השני, בין חנטה לבוחל. ואילו ההשפעה הבולטת ביותר על רמת הסוכר היא של תקופת ההשקיה השלישית. בכוונתנו להמשיך בניסוי שנה נוספת, לערוך יותר בדיקות פיזיולוגיות (קשר בין פוטוסינתזה, פיגמנטים והתבטאות תסמינים) ובדיקות לנוכחות ובמידת האפשר לטיטר הווירוס בטיפולים הקיצוניים.

מעקב אחר הופעת תסמיני הווירוס ורמת נגיעות על איכות הבשלת הענבים.

מבוא:

תסמיני וירוס קיפול העלים בגפן משתנים בין חלקה לחלקה ובין גפן לגפן בתוך אותה חלקה. מאחר ויתכן כי פגיעת הווירוס באיכות הפרי נובעת מפגיעה ביכולת העלים לצבירת מוטמעים והעברתם לפרי, נבדק הקשר בין רמת תסמיני הווירוס בעלי הגפן לבין איכות הפרי בזמן הבציר. בנוסף נבדק הקשר בין מועד הופעת התסמינים לבין חומרת תסמינים אלו בזמן הבציר מתוך הנחה כי קיים קשר ישיר בניהם.

שיטות:

נעשה מעקב ויזואלי בכרם אחר גפנים המראות תסמיני וירוס (עלים אדומים) מתחילת יולי ועד לתחילת ספטמבר זמן בו רוב הכרם סומן כנגוע. מעקב נעשה אחת לשבועיים כאשר גפנים בהן נראו תסמינים סומנו וצוין התאריך בו נראו התסמינים לראשונה. לאחר סיום המעקב הרציף נעשתה סקירה אחרונה לפני בציר כאשר גפנים דורגו על פי רמת התסמינים ל 4 רמות שונות: 0 – אין תסמינים

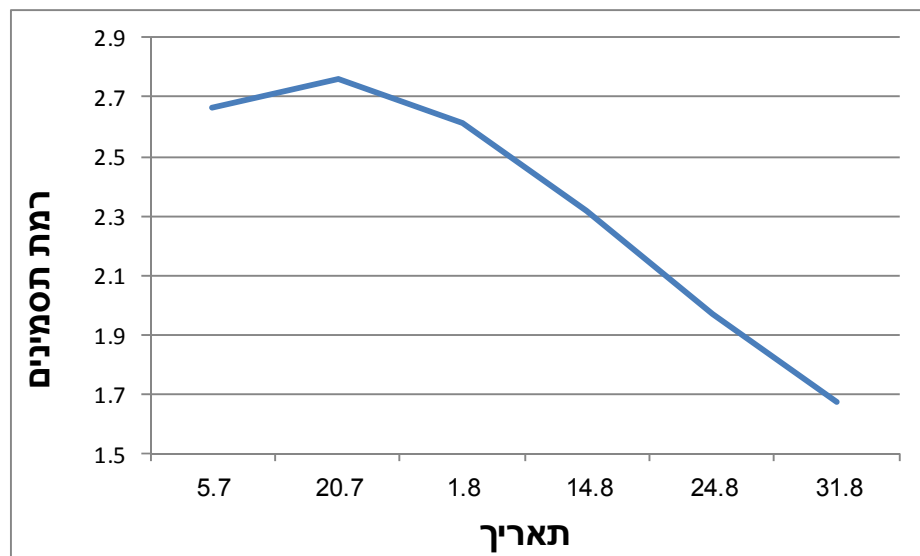
כלל. 1 – רמת תסמינים נמוכה, כלומר כמות קטנה של עלים אדומים בגפן. 2 – רמת תסמינים בינונית.
 3 – רמת תסמינים גבוהה, כלומר רוב העלים אדומים.

לאחר סקירה סופית נבחרו 5 גפנים מכל רמת נגיעות ונאספו 50 גרגרים מכל גפן לבחינת אחוז סוכר (בריקס) ו 50 גרגרים נוספים לבחינת צבע בפרי שמוצג כמ"ג מלבדין לגרם גרגרים. הניסוי נעשה בשלושה כרמים שונים בזן קברנה סוביניון המייצגים אזורי גידול שונים: כרם בגשור בדרום רמת הגולן. כרם ביפתח בגליל העליון וכרם נוסף בדלתון.

תוצאות:

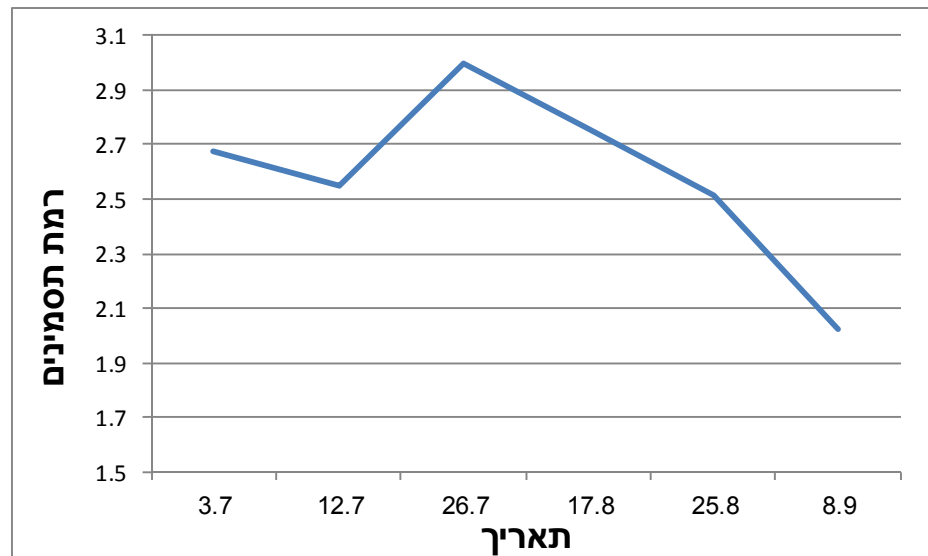
בכרם יפתח נמצא קשר בין מועד הופעת תסמיני הווירוס לבין רמת התסמינים בזמן הבציר כאשר גפנים בהן הופיעו התסמינים לראשונה הראו רמת תסמינים גבוהה יותר בזמן הבציר ביחס לגפנים בהן נראו תסמינים ראשונים במועד מאוחר יותר (איור 14).

איור 14: רמת תסמינים ממוצעת בגפנים בהתאם לתאריך בו נראו תסמינים לראשונה בכרם יפתח.



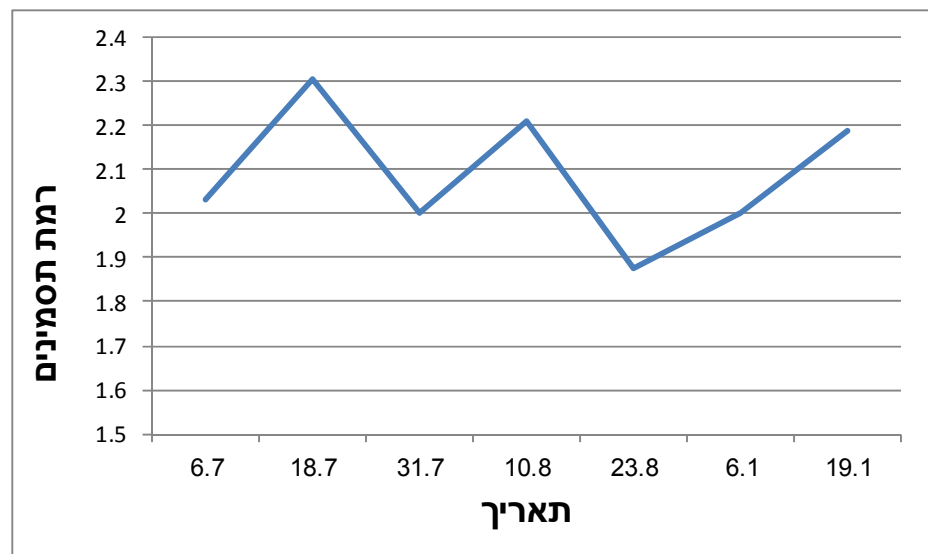
בכרם בדלתון נראתה מגמה דומה לזאת שנראתה ביפתח אם כי רמת התסמינים הממוצעת הגבוהה ביותר נמצאה בגפנים בהן נראו התסמינים לראשונה בסוף אוגוסט במעקב השלישי. יחד אם זאת גפנים בהן רמת התסמינים הממוצעת הייתה הנמוכה ביותר הן גפנים בהן נראו תסמינים לראשונה רק במעקב האחרון בתחילת ספטמבר (איור 15).

איור 15 : רמת תסמינים ממוצעת בגפנים בהתאם לתאריך בו נראו תסמינים לראשונה בכרם דלתון.



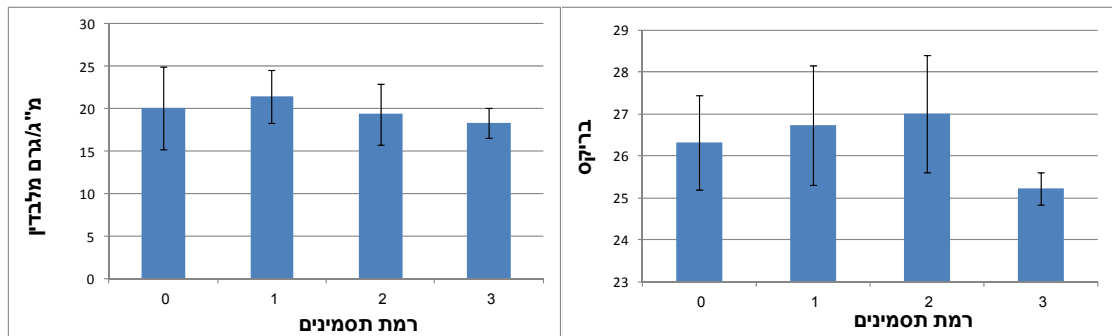
בכרם בגשור לא נמצא קשר בין מועד הופעת התסמינים לבין חומרתם בזמן הבציר כאשר בגפנים בהן רמת התסמינים הממוצעת הייתה גבוהה נראו התסמינים לראשונה במועדי הבדיקה השני, הרביעי, שישי ושביעי (איור 16).

איור 16. רמת תסמינים ממוצעת בגפנים בהתאם לתאריך בו נראו תסמינים לראשונה בכרם גשור.



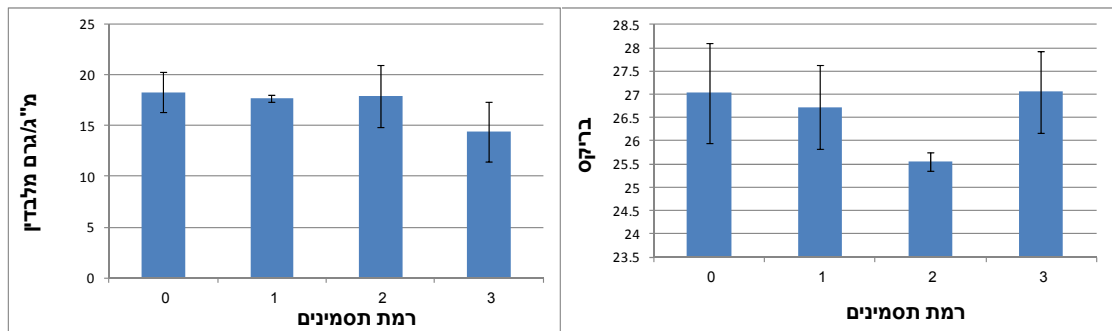
בחינת מדדי הבשלה הראתה כי ביפתח נמצא קשר בין רמת התסמינים לבין אחוז הסוכר בענבים בזמן הבציר כאשר רק בדרגת החומרה הגבוהה ביותר נראתה ירידה בבריקס בענבים. מאידך לא נראתה ירידה מובהקת ברמת הצבע בענבים ונראה כי פרמטר זה לא נפגע כתוצאה מרמת תסמינים גבוהה (איור 17)

איור 17: אחוז סוכר וצבע (מ"ג מלבדין לגרם ענבים) שנמדדו בכרם יפתח בגפנים שונות המראות רמת תסמינים שונה.



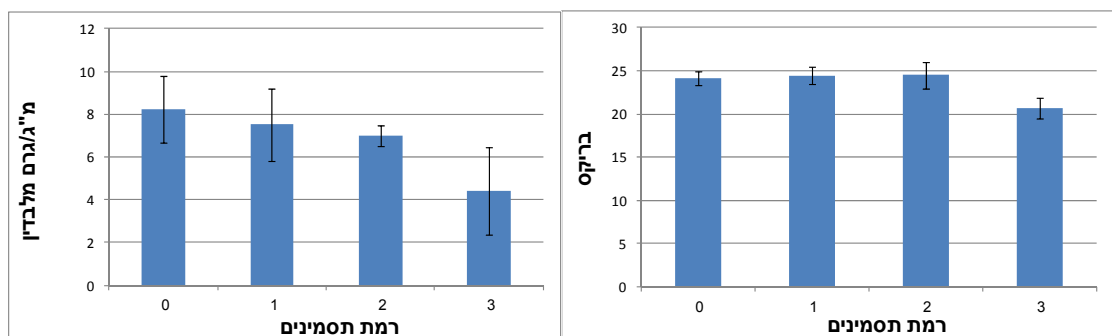
בכרם בדלתון נמצא כי בגפנים בהן רמת התסמינים הייתה בינונית (דרגה 2) חלה ירידה ברמת הבריקס בבציר אך בגפנים בהן רמת התסמינים נמצאה כחמורה ביותר לא נבדל הבריקס מגפנים בהן לא נראו תסמינים כלל. מאידך חלה ירידה בצבע בענבים בהן רמת התסמינים הייתה החמורה ביותר (איור 18).

איור 18: אחוז סוכר וצבע (מ"ג מלבדין לגרם ענבים) שנמדדו בכרם דלתון בגפנים שונות המראות רמת תסמינים שונה.



בכרם גשור נמצאה התאמה טובה בין חומרת התסמינים לבין איכות הענבים (בריקס וצבע), כאשר ברמת התסמינים הגבוהה ביותר חלה ירידה גם בבריקס וגם בצבע הענבים (איור 19).

איור 19: אחוז סוכר וצבע (מ"ג מלבדין לגרם ענבים) שנמדדו בכרם גשור בגפנים שונות המראות רמת תסמינים שונה.



מסקנות: מהתוצאות שהתקבלו נראה כי לא בהכרח קיים קשר בין מועד הופעת תסמיני הווירוס לבין חומרת התסמינים בזמן בציר. יחד אם זאת נראה כי לחומרת התסמינים השפעה על איכות הענבים כפי שהיא מתקבלת במדדי בריקס וצבע אך רק כאשר רמת התסמינים גבוהה ורוב העלים בגפן אדומות. מהתצפיות הנ"ל נראה כי לגפן סבילות מסוימת לתסמיני הווירוס ופגיעה במדדי ההבשלה נראית רק במקרים בהם חומרת התסמינים גבוהה וגם זאת לא תמיד (כרם דלתון בריקס ויפתח צבע). יש לציין כי לא קיים מדד אחיד לגבי רמת התסמינים בין הכרמים ורמה זו נקבעה בכל כרם בנפרד בהתאם לחומרת התסמינים בכרם (כלומר בהשוואה לגפן האדומה ביותר בכל כרם). בנוסף יש לציין כי לא נבדקה רמת הווירוס בגפנים ולכן הקשר בין חומרת התסמינים לרמת נגיעות הגפנים בוירוס אינו ברור. בהתאם בשנה הקרובה בכוונתנו למצוא מדד אחיד לפיו תקבע רמת התסמינים בכל הכרמים כאשר מדד זה יבוסס על רמת הצבע בעלים. בנוסף בכוונתנו למדוד את רמת הווירוס בגפנים ולנסות למצוא קשר בין רמת הנגיעות לבין רמת התסמינים ומדדי ההבשלה של הענבים. מהנתונים שהתקבלו עד כה נראה כי ברמת תסמינים נמוכה ובינונית אין פגיעה באיכות הפרי ומיון אמין וקל של דרגת החומרה בכרם עשוי לעזור לכורמים בהחלטת מועד הבציר ומיון הענבים בכרם לאיכויות שונות.

מקורות ספרות

1. Berlinger MJ (1977) The Mediterranean vine mealybug and its natural enemies in southern Israel. *Phytoparasitica* 5: 3-14.
2. Bonfiglioli R, Hoskins N and Edwards F. 2002. Grapevine leafroll virus type 3 spreading in New Zealand. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, Feb 2002: 58–61.
3. Byrne FJ & Toscano NC (2006) Uptake and persistence of imidacloprid in grapevines treated by chemigation. *Crop Protection* 25: 831-834
4. Cabaleiro, C., and A. Segura. 1997. Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Disease* 81:283-287.
5. Cabaleiro, C. and Segura A. 2006. Temporal Analysis of Grapevine leafroll associated virus 3 Epidemics. *Journal European Journal of Plant Pathology* 114: 441-446.
6. Cabaleiro C., Couceiro C., Pereira S Cid., M., Barrasa M. and Segura A. (2008) Spatial analysis of epidemics of Grapevine leafroll associated virus-3. *European Journal of Plant Pathology*. 121(2): 121-130
7. Charles JG, Cohen D, Walker JTS, Forgie SA, Bell VA & Breen KC (2006) A review of the ecology of Grapevine leafroll-associated virus type 3 (GLRaV- 3). *New Zealand Plant Protection* 59: 330-337.
8. Daane, K.M. Bentley, W.J. Millar, J.G. Walton, V.M. Cooper, M.L. Biscay P. and Yokota, G.Y. (2008). Integrated Management of Mealybugs in California Vineyards. *Proc. IS on Grape Production and Processing Eds.: P.G. Adsule et al. Acta Hort.* 785, ISHS, 235-252.
9. Golino, DA, Sim, ST, Gill, R, Rowani, A. 2002. California mealybug can spread grapevine leafroll disease. *California Agriculture* 56: 196-201
10. Habili N & Nutter FW (1997) Temporal and Spatial analysis of grapevine leafroll-associated virus 3 in Pinot Noir grapevines in Australia. *Plant Disease* 81: 625-628.
11. Hommay G, Wiss L, Maguet J, Beuve M & Herrbach E (2012) First results on wind dispersal of *Parthenolecanium corni* larva in newly planted vineyard: 17th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG) (ed. by B Ferguson) Foundation Plant Services, University of California, Davis, Davis, California, USA, pp. 202-203.
12. Jackson, R.S. (1994) Viticulture. In Arentzen, C.J. (ed.) *Encyclopedia of Agricultural Science*. Academic Press, vol. 4, pp 443-53
13. Mansour R, K. GL & Rezgui S (2010a) Assessment of the performance of some new insecticides for the control of the vine mealybug *Planococcus ficus* in a Tunisian vineyard. *Entomologia Hellenica* 19: 21-33.
14. Mansour R, Youssfi F, Lebdi K & Rezgui S (2010b) Imidacloprid applied through Drip irrigation as a new promising alternative to control mealybugs in Tunisian Vineyards. *Journal of Plant Protection Research* 50: 315-319.
15. Martelli, G.P. (1993) Rugose wood complex. In Martelli, G.P. (ed.) *Graft-Transmissible Diseases of Grapevine*. FAO, Rome, pp 45-53.
16. Petersen, C. L., & Charles, J. G. 1997. Transmission of Grapevine leafroll-associated closteroviruses by *Pseudococcus longispinus* and *P. calceolariae*. *Plant Pathology*, 46, 509–515.
17. Pietersen G (2004) Spread of Grapevine leafroll disease in South Africa-a difficult, but not insurmountable problem. *Wynboer* 179: 110-113.

18. Pietersen G, Spreeth N, Oosthuizen T, van Rensburg A, van Rensburg M, Lottering D, Rossouw N and Tooth D (2013). Control of Grapevine Leafroll Disease Spread at a Commercial Wine Estate in South Africa: A Case Study. *American Journal of Enology and Viticulture (AJEV)*. doi: 10.5344/ajev.2013.12089
19. Safran, B., Kimelman, R., and Bazak, H. (1996) The Development of viticulture in Israel. *Alon Hanotea*, 50:26-34
20. Sforza, R, Boudon-Padieu, E, Greif, C. 2003. "New mealybug species vectoring grapevine leafroll-associated viruses -1 and -3 (GLRaV-1 and -3)" *European Journal of Plant Pathology* 109: 975-981
21. Tsai, C. W. Chau, J. Fernandez, L. Bosco, D., Daane K. M, and Almeida R. P. P. 2008. Transmission of Grapevine leafroll-associated virus 3 by the Vine Mealybug (*Planococcus ficus*), 98: 1093-1098.
22. Walton VM, Daane KM, Bentley WJ, Millar JG, Larsen TE & Malakar-Kuenen R (2006) Pheromone-based mating disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in California vineyards. *Journal of Economic Entomology* 99: 1280-1290.

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
<p>המיזם כולל ארבעה יעדים עיקריים, כל יעד מרוכז ע"י מומחה בתחום ומבוצע ע"י צוות מחקר הכולל מומחים בתחום, עובדים, טכנאים, מהנדסי מחקר וסטודנטים. היעדים של המיזם: (1) אבטחת חומר ריבוי חופשי מוירוסים; (2) אפיון המחלה וגורם המידבק; (3) אפידמיולוגיה ומניעה הן של הווירוס והן של הווקטור המעביר קמחית הגפן; ו- (4) פיתוח פרוטוקול לממשק גידול אופטימאלי להפחתת נזקי המחלה.</p>
עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.
<p>הוכן פרוטוקול מעודכן המפרט את האמצעים שיש לנקוט על מנת להבטיח חומר ריבוי נקי מוירוסים. מכיל הוראות הגידול המרכזיות והחשובות אשר רוכזו בקובץ "הוראות גידול לחומר ריבוי לגפן". המטרה היא שהוראות אלה יכנסו כתקנות מחייבות בעתיד.</p> <p>עסקנו בפיתוח פרוטוקולים להפקות RNA של גפנים נגועות ופרוטוקולים לצורכי דיאגנוסטיקה ולצורכי אפיון הווירוסים הנמצאים בגפנים הנגועות. המשכנו בסקירה בכרמים שונים באזורים שונים בארץ מזנים שונים של ענבי יין במטרה לאפיין את הווירוסים הנמצאים ובמיוחד את הגזעים הקיימים של GLRaV-3.</p> <p>בחלק האפידמיולוגיה נעשו ניסויים לבחינת הקשר בין הדברת הקמחית (הדברה דרסטית והדברה באמצעים ידידותיים לסביבה) להתפשטות המחלה; בחינת ההשפעה של קרבה לכרמים ותיקים נגועים בוירוס ו/או מאוכלסים בקמחית על התפשטות המחלה בכרמים חדשים; פיתוח שיטה המבוססת על שימוש במלכודות פרומון על מנת לאתר ביעילות את נקודות הנגיעות הראשונות בכרמים צעירים בהם התבססה אוכלוסיית קמחית הגפן; ופיתוח ממשק יישום לאמצעי ההדברה העיקרי הקיים – אימידקלופריד.</p> <p>בוצעו ניסויי שדה במטרה למצוא דרכים אגרוטכניות להתמודדות עם המחלה בכרמים נגועים. במחקר עסקנו בעיקר בזנים קברנה סוביניון ומרלו. השיטות שנבדקו כללו שיטות השקיה, דילול וריסוס דישון עלוותי.</p>
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.
<p>נמצא כי הווירוס GLRaV-3 הוא המעורב העיקרי בגרימת המחלה והגורם להופעת התסמינים של האדמה בעלים. בארץ קיימות שתי אוכלוסיות של הווירוס GLRaV-3. הגזע LR3-V1 הוא יותר נפוץ בארץ. לא נמצאה קרבה של גזע הווירוס לאזור הגידול של הגפן. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בגפנים המורכבות על מגוון הכנות שנבדקו. שני הגזעים של הווירוס נמצאים בחומר הצמחי החדש והחומר הצמחי הוותיק. למרות שנמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין הנגיעות בוירוס GLRaV-3, לא נמצאה זיקה בין חומרת התסמינים לבין סוג הגזע של הווירוס. התוצאות שהתקבלו הראו כי קיים שוני בין הגזע הישראלי לבין האחרים הנמצאים בארצות הברית, צ'ילה, ודרום אפריקה. בדקנו גם באם קמחיות הנמצאות בכרמים בארץ נושאות את הווירוס. נמצא כי גם הבוגרות וגם הזחלים מאוכלסות בוירוס, למרות שהם נאספו מכרמים שאינם מראים תסמיני מחלה. לפי תוצאה זו ניתן להסיק כי הקמחיות יכולות להיות ויקטור להפצת הווירוס בכרמים צעירים. ההדברה של הקמחית ברמת הכרם צריכה להתחיל כבר משלב הנטיעה עוד לפני הופעת הקמחיות בשטח. משלב הופעת גפנים נגועות יש להסיף גם הדברה ממוקדת בסביבת הגפן כדי לשמור את הכרם ברמת נגיעות נמוכה עד בינונית.</p> <p>ככל הנראה לא ניתן להציג זיקה ישירה בין גובה הלכידות של הזכרים לבין הנגיעות בפועל על גזעי הגפנים בכרמים הצעירים. לא ברור האם הניטור לגילוי מוקדי נגיעות ראשוניים יתאים לגילוי המוקדים הקטנים האופייניים לכרמים הצעירים. נמצא שטווח הלכידה הממוצע של זכרי הקמחית ושל נקבות הצרעה במלכודת הטעונה ב- 50µg הוא כ- 28 מ'י. מכאן שצפיפות המלכודות הרצויה היא אחת ל- 2.5 דונם. אנו מסיקים שבכרם הצעיר השפעה הטיפול בקונפידור על התבססות הקמחית היא מועטה היות ורוב הפרטים מצויים ככל הנראה על מערכת השורשים של הגפן. לכידות הצרעה במלכודות פרומון הולכות ומתמעטות בהתאמה לגודל אוכלוסיית הקמחית.</p> <p>יש קשר חיובי טוב בין דרגת התסמינים בעלווה לפחיתה באיכות הפרי (סוכר וצבע). רמת הפוטוסינטזה מושפעת מרמת התסמינים, דבר הניתן למדידה גם בעלים עם תסמינים שונים באותה הגפן. ככל שהתסמינים מופיעים מוקדם יותר בעונה – דרגת החומרה שלהם בבציר תהיה גבוהה יותר. הפחתת יבול על ידי דילול שריגים או אשכולות בגפנים נגועות לא תרמה משמעותית לאיכות הפרי שהתקבל. דישון עלוותי ביסודות מקרו, מיקרו או שילוב שלהם לא הקטין את מידת התבטאות התסמינים ולא שיפר את איכות הפרי המתקבל. בדרך כלל גפנים המבטאות תסמיני וירוס נמצאות במצב מים טוב יותר (פחות צמא) מגפנים שלא מבטאות תסמינים, או מבטאות תסמינים קלים. השקיה מופחתת דוחה ומקטינה את התבטאות תסמיני הווירוס. עיקר ההשפעה היא של ההשקיה בין שלב החנטה לשלב חילוף הצבע. גפנים מוצמאות (עם תסמיני וירוס קלים יותר) שומרות על רמת פוטוסינטזה גבוהה יותר באותה רמה של פתיחת פיוניות בהשוואה לגפנים שאינן צמאות ובהן תסמיני הווירוס חזקים יותר. ייתכן והעקה הנגרמת בגלל המחסור במים עוזרת לגפן להתמודד עם הווירוס.</p>
הבעיות שונתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר.
<p>האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.</p> <p>מופיע בדוח המצומצם, לאחר תום המיזם יש בכוונתנו לפרסם על אפיון הגזעים של הווירוס בכרמים בארץ.</p> <p style="text-align: center;">פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)</p>
<input type="checkbox"/> רק בספריות
<input checked="" type="checkbox"/> ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) (X)
<input type="checkbox"/> חסוי