

ניתוח ומידול מרחבי של התפשטות מחלת קיפול העלים בכרמים בעזרת מערכות מידע גיאוגרפיות (ממ"ג) והשפעת הכנימות הקימחיות

שותפים:

ד"ר דן מלקינסון
ד"ר רקפת שרון
ד"ר תרצה זהבי
ד"ר יוחאי כרמל

מבוא

מחלת קיפול העלים (leafroll) בגפן, הנגרמת על ידי הוירוס (Grapevine Leafroll GLRaV associated Virus), גורמת לנזקים כבדים הן בכרמים של ענבי מאכל והן בכרמים של ענבי יין. במהלך השנים האחרונות מידת הנזקים בכרמים עלתה במידה ניכרת ובכרמים של ענבי מאכל המחלה עשויה לגרום לירידה של עד 20% ביבול, ועד ל 50% פגיעה באיכות הפרי. בכרמים ליין המחלה גורמת לירידות ביבול של עד כ 15%, ופגיעה באיכות הפרי של כ 30%. הנזק הכלכלי המצטבר נאמד בכ 12 מלש"ח בענבי המאכל וכ 8 מלש"ח בענבי היין בשנה. במקומות אחרים בעולם רמת המחלה היתה כה גבוהה בכרמים מסוימים שבסופו של דבר לא היתה הצדקה כלכלית להמשך טיפול בכרם. המחלה עלולה להופיע בכרם משני מקורות שונים, באמצעות הכנסה של שתילים שנגועים במחלה, או כתוצאה של העברת הוירוס על ידי חרקים, שכלל הידוע העיקרי שביניהם הינו הכנימה הקמחית – *Planococcus ficus* (Sforza et al. 2003). בוגרי הכנימה הקמחית הינם די-מורפים. הנקבה שגודלה מגיע לכ 4 מ"מ נטולת יכולת תעופה, ואילו הזכר, שהינו קטן יותר, בעל יכולת תעופה אך ללא גפי פה. מחזור החיים הינו בן 3-4 שבועות בקיץ וארוך יותר במשך החורף. הנקבה עשויה להטיל כ 500 ביצים בהטלה. משך החיים של הזכר כ 3 ימים בלבד והוא מפרה את הנקבה ונעלם. הכנימות עשויות להמצא על כל חלקי הצמח והן ניזונות ממוהל השיפה, ומפרישות טל-דבש. מכאן שהנזק שהכנימות גורמות הינו כפול. הפרשת הטל דבש על הפרי גורמת לנזק אסטתי ("דבק") ובנוסף, על ההפרשות מתפתחות פטריות פיחת, ה נזקים אלו מקשים על שיווק הפרי. שנית, הכנימה משמשת כוקטור לנגיף GLRaV שגורם נזקים נוספים לצמח.

הכנימות מקיימות יחסים סימביוטים עם נמלים. הנמלים ניזונות מטל הדבש, העשיר בחומצות אמינו וסוכרים, שהכנימות מפרישות. הנמלים "בתמורה" מספקות הגנה לכנימה הן מפני אויבים והן מפני פגעי מזג אוויר על ידי בניית חומה סביב הכנימות. בנוסף הנמלים מניידות את הכנימות. בכרמים שטופלו נגד נוכחות נמלים צפיפות הכנימות היתה כ 10% בלבד מצפיפויות השיא של הכנימה בכרם שלא טופל (Daane et al. 2002).

פיזור הכנימה בין גפנים בכרם יכול להיות ע"י תנועת הזחלנים, בעזרת נמלים או באמצעות רוחות חזקות המעיפות את הזחלנים למרחק של עד 3 מטרים. ניידות זו מוגבלת ולכן הפיזור צפוי להיות כתמי. בכרם ובין כרמים קיימת העברה של הכנימות גם ע"י כלים חקלאיים תנועה זו יכולה לגרום לפיזור אקראי יותר.

לאור הידע המועט שקיים לגבי התפשטות המחלה בארץ, ועקב ההחרפה בנזקים שניגרמים על ידי המחלה במהלך השנים האחרונות, אנו מציעים לבדוק את המאפיינים האפידימיולוגיים של המחלה, על מנת להבין את הדינמיקה שלה במרחב ובזמן, ואת פוטנציאל ההתפשטות שלה. המחקר המוצע כולל שני רכיבים. הראשון הוא דיגום שדה לבדיקת רמת הנגיעות ומידת ההתפשטות של המחלה. הרכיב השני הינו מודל אפידימיולוגי מרחבי שיחזה את דינמיקת ההתפשטות של המחלה על בסיס הנתונים שייאספו.

מטרות המחקר

לאור הנזקים שנגרמים למגדלי הגפן על ידי מחלת קיפול העלים בכוונתנו לפתח מודל מרחבי שמטרתו משולשת: (א) זיהוי התנאים והמקומות שבהם קיימת הסתברות גבוהה יותר שהמחלה תופיע. (ב) איפיון הדגמים המרחביים של הגפנים הנגועות בכל כרם, ושל הכרמים הנגועים, וניסיון לזהות מהדגמים המרחביים אילו תהליכים משפיעים על התפשטות המחלה. (ג)

שיטות

דיגום אוכלוסיות הקמחיות

לצורך ביצוע המחקר נבחרו ששה כרמים, בשלושה אזורים לאורך גרדיינט אקלימי ברמת הגולן. דרום רמת הגולן ברום של כ 380 מעל פני הים, מרכז רמת הגולן ברום של כ 620 מ', ואזור המחקר השלישי בצפון רמת הגולן ברום של כ 1000 מ'. בכל אחד מהאתרים נבחרו שני כרמים, אחד שמטופל באופן קונוונציונלי, והשני שמטופל בגישה אורגנית, ובכך הוגדר מערך של דיגום מזווג. כפי שתואר במבוא ייתכן כי קיים קשר בין נוכחות נמלים לבין התפשטות הכנימה המשמשת כווקטור. לכן, בכל אחד מהכרמים ניבחנו טיפולים שמטרתם מניעת טיפוס של נמלים על גזע הגפן. הן בכרם האורגני והן בכרם הקונבנציונלי נבדקה ההשפעה של פס דבק סביב בסיס גזע הגפן. טיפול מסוג זה התבצע בשני אופנים, או על ידי מריחת דבק באמצעות מברשת ישירות על הגזע, או על ידי כריכת פס דבק על גבי סרט דביק. בנוסף, בכרם הקונבנציונלי חלק מהגפנים טופלו כימית בחומר מקבוצת הנאוניקוטינואידים. בהתאם לכך, מערך הטיפולים שהתקבל הינו מערך דיגום פקטוריאלי של 3 אתרים * 2 גישות טיפול (קונוונציונלי, אורגני) * 2 (באורגני) או שלושה (בקונוונציונלי) טיפולי נמלים (טבלא 1).

טבלא 1: מערך הניסוי

מס. חלקות	טיפול משנה	חלקת משנה	חלקה ראשית
	טיפול נמלים	אופי החלקה	מיקום גאוגרפי
3	סרט דביק	אורגני	צפון מרכז דרום
3	ביקורת		
3	נאוניקוטינואיד	קונבנציונלי	
3	ביקורת עם סרט דביק		
3	ביקורת ללא טיפול נמלים		

בכל כרם הוגדרו שלוש תת-חלקות שהיוו חזרות לכל יחידת דיגום. בכל תת חלקה נבחרו 40 גפנים עליהן נערך מעקב על מנת לבחון את ההתפשטות העיתית והמרחבית של אוכלוסיית הקמחיות. בכל אחד משמונה חודשי הבדיקה נבחנה נוכחות הקמחיות על חמש מהגפנים שנבחרו.

במהלך דיגום של כל גפן הכנימות חולקו לשלוש קטגוריות: כנימות מטילות ("שקי ביצים"); זחלנים ופרטים בוגרים של הקמחיות ללא שק ביצים. צוינה רמת הנגיעות לפי סולם בן ארבע דרגות: 0 = ללא פרטים, 1 = 0 > פרטים > 10, 2 = 11 > פרטים > 50 ו 3 = פרטים < 50. באופן זה כל החלקות נדגמות במשך שמונה חודשים, במהלך עונת גידול העלווה של הגפנים. לאור שיטת איסוף הנתונים בוצעו ניתוחי Wilcoxon. תוצאות הניתוחים מתייחסות לדיגומים שהתבצעו מראשית עונת הגידול ועד סוף יוני 2005.

רמת נגיעות הגפן בנגיף, ומופע המחלה

בשלב הראשון של המחקר בדקנו האם קיימת קורלציה בין עוצמת מופע המחלה לבין רמת הנגיעות בנגיף. לשם כך נידגמו 100 גפנים באקראי, בשני כרמים שונים, אחד במרכז רמת הגולן בזן קברנה סוביניון, והשני בצפון בזן שרדונה. הגפנים סווגו לשלוש רמות נגיעות על פי מופע המחלה בכל גפן, כאשר 3 מהווה את מופע המחלה הקשה ביותר, ואחד ללא מופע כלל. הדיגום נערך בסתיו, מועד בו התבטאות המחלה בולטת ביותר. נידגמו זמורות עם עלים והן נשלחו לבדיקה למעבדת "בקטוכס" בנס ציונה. הדגימות נבדקו בשיטת ELISA לנגיעות בוירוס קיפול עלים מטיפוס 3 (GVLrV-3) שהוא הטיפוס הנפוץ בישראל. הנתונים נותחו באמצעות מבחני ANOVA לבדיקת מובהקויות.

תוצאות

דיגום אוכלוסיית הקמחיות

בכרמים המטופלים בגישה הקונוונציונלית לא נמצאו כלל זחלים או פרטים בוגרים לפני הטלה (טבלא 1). לאור זאת המשך הניתוח התוצאות, המתיחס להשפעה של מיקום הכרם, תאריך הדיגום, והטיפול באמצעות סרטים דביקים על אוכלוסית הזחלים והבוגרים של הקמחיות נעשה על הכרמים האורגאניים בלבד.

טבלא 1: רמת הנגיעות כתלות בגישת הטיפול בכרם

בוגרים		זחלים		שקי ביצים		רמת נגיעות
ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	טיפול
0.12	0.48	0.11	0.49	0.53	0.95	אורגאני
0	0	0	0	0.17	0.63	קונוונציונלי

מניתוח רמות הנגיעות של הגפנים בפרטים בשלבי הגלגול השונים עולה כי לא היה הבדל מובהק ברמת האוכלוסייה של בוגרים וזחלים בין האזורים השונים (טבלא 2). מאידך, מספר שקי הביצים שנספרו היה גבוה באופן מובהק בכרמים שנדגמו במרכז רמת הגולן. מאידך, טיפול הגפנים באמצעות סרט דביק לעומק יישום ישיר על הגזע למניעת טיפוס על ידי נמלים, הביא לשינויים מובהקים ברמת הפרטים של הקמחיות. בשלב הבוגר הזחלים לא נמצאו כלל פרטים בטיפול ההשמה הישירה, אך מספר שקי הביצים היה גדול באופן מובהק בטיפול זה (טבלא 3) תוצאה זה אפיינה את שלבי ההתפתחות השונים בשלושת אזורי הדגימה.

טבלא 2: רמת הנגיעות כתלות במיקום הכרם

בוגרים		זחלים		שקי ביצים		רמת נגיעות
ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	מיקום
0.1	0.08	0.13	0.08	0.43	0.16	צפון
0.23	0.07	0.19	0.07	*0.83	0.14	מרכז
0	0	0	0	0.23	0.16	דרום

* - מובהק ברמה של $\alpha = 0.05$

טבלא 4:

בוגרים	זחלים	שקי ביצים	רמת נגיעות
ממוצע	ממוצע	ממוצע	חודש
0.06	0.13	0.667	פס דבק
0	0	*0.77	יישום ישיר

* - מובהק ברמה של $\alpha = 0.05$

כאמור, דיגומי הכרמים מתבצעים באופן חזרתי, כך שכל כרם נדגם בתדירות של פעם בחודש. תוצאות הדיגום במהלך מאי ויוני מראים כי ישנה עליה עקבית במספר הפרטים של הבוגרים ושל הזחלים, וירידה במספר שקי הביצים שנספרו (טבלא 4). אולם, הרמה אינה שונה באופן מובהק בין החודשים.

טבלא 4: רמת הנגיעות כתלות בחודש הדיגום

בוגרים		זחלים		שקי ביצים		רמת נגיעות
ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	ממוצע	סטיית תקן	חודש
0	0	0	0	0.6	1.13	מאי
0.18	0.56	0.16	0.58	0.51	0.91	יוני

רמת נגיעות הגפן בנגיף, ומופע המחלה

מבדיקת ה-ELISA שהתבצעה עולה כי קיימת התאמה מסוימת בין רמת מופע הנגיעות בגפן ובין רמת הנגיעות הויראלית כפי שנתקבלה מתוצאות הבדיקה (קריאת הבליעה בפלטת אלייזה אחרי הפחתת הקריאה של הביקורת השלילית בכל פלטה). בכרם קברנה לא נמצאו כמעט

גפנים בלא מופע כלל ולכן גם גפנים בהן המופע היה מועט ביותר נכללו בקטגוריה 1 (ללא מופע). בכרם שרדונה לא ניתן היה להבחין במופע בצורה ברורה בשלב בו נעשה הכיול ולכן המתאם הנו מכרם הקברנה בלבד. הניתוח מצביע על כך שהעדר מופע או מופע מועט אכן מעיד על העדר נגיעות או רמות ויראליות נמוכות, ברמות מופע מחלה של 2 ו 3 רמות הנגיעות היו גבוהות ולא ניתן להבחין בהבדל (טבלא 4).

טבלא 4 : מופע המחלה ורמת נגיעות

רמת נגיעות	ממוצע	סטיית תקן
1	0.14	*0.03
2	0.56	0.05
3	0.53	0.06

* - מובהק ברמה של $\alpha = 0.05$

4. תוכנית עבודה להמשך

4.1 דיגום הקמחיות

בשנת המחקר הבאה ימשך דיגום הקמחיות באותו מערך דיגום פקטוריאלי של 3 אתרים * 2 גישות טיפול (קונוונציונלי, אורגאני) * 2 טיפולי נמלים. הטיפול למניעת גישת נמלים לא פעל היטב בעונה זו במקומות בהם יושם הדבק על נייר הדבק ונראה יעיל יותר במקומות בהם יושם הדבק ישירות על הגזע. יערך מעקב לבדיקת השפעת הדבק המיושם ישירות על הגפן ובמידה ולא ימצאו סימנים לנזק לגפנים תיושם שיטה זו בשנה הבאה. הדיגום נערך אחת לחודש ומאפשר מעקב אחר השתנות אוכלוסיית הקמחיות במהלך העונה בכל אחד ממרכיבי מערך הדיגום. נראים הבדלים בגודל אוכלוסיית קמחיות בין כרם אורגני לכרם קונוונציונאלי אולם מציאת הביצים בכרמים הקונוונציונאליים במהלך חודש יוני יכולה להעיד על התחלת פעילות מאוחרת.

4.2 נשאות קמחיות ונגיעות גפנים בוירוס קיפול העלים

החלנו בעבודה הקדמית, במעבדה לוירולוגיה של גפנים במינהל המחקר (דר מוניר מואסי) לזיהוי קמחיות נגועות בוירוס ובשנה הבאה יבדקו קמחיות מהטיפולים השונים ומהאזורים השונים לקביעת אחוז נשאות הוירוס. בד בבד תיקבע רמת הנגיעות של הכרמים בוירוס ויבוצע מתאם בין קמחיות נשאות לנגיעות גפנים עליהן יושבות הקמחיות.

4.3 כיול לקביעת רמת נגיעות על פי סימפטומים

יערך מתאם נוסף בין גפנים המראות סימפטומים ברמות שונות לבין רמת הנגיעות כפי שהיא מתבטאת ב- ELISA ואולי בשיטות מולקולריות אחרות. כמו כן הכרמים תמופנה לסטטוס המחלה בסוף עונת הגדילה. דבר זה יהווה בסיס להשוואה לגבי התפשטות המחלה בעתיד.

4.4 ניתוח נתונים ומודל ראשוני.

במהלך השנה ינותחו הנתונים הנוספים שייאספו. כמו כן יוכל בבנית מודל ההתפשטות המרחבית של המחלה.