

דו"ח מסכם בנושא "לימוד השונות הגנטית של קימחון הגפן בישראל ככלי להבנת מנגנון

החריפה של הפטריה ומקור המידבק הראשוני"

מוגש למשרד המדע התרבות והספורט (מופ"ים אזוריים)

ע"י: תרצה זהבי – המכון לחקר הגולן

משה ראובני – המכון לחקר הגולן

רוני כהן – מינהל המחקר החקלאי, נווה יער

נורית קציר – מינהל המחקר החקלאי, נווה יער

מבוא

מחלת הקימחון היא המחלה נפוצה ביותר בכרמים אשר גורמת נזק ישיר לאשכולות ובנוסף נזק עקיף בגלל הגברת ההתפתחות של גורמי ריקבון שונים. ברוב הכרמים זהו הפגע אליו מופנה המספר הגדול ביותר של ריסוסים (3-8 בעונה). לא ניתן להזכיר את המחלה אחרי התבססותה בכרם (זהבי, 2001) ולפיכך מדיניות ההדברה המקובלת היום ברוב הכרמים בארץ מבוססת על ריסוסים מונעים שעיתויים ניקבע על סמך הפנולוגיה של הגפן וניסיון העבר. מקובל היום לטפל בריסוסי מניעה מתחילת הבלבול ועד שלב החנטה (בכרמים בהם מתבצע פיקוח) או אף עד שלב הבוחל בו הגרגרים הופכים לעמידים להדבקות בפטריה.

לפטריה הגורמת לקימחון מחזור חיים אל מיני בו נוצרים על פני התפטיר קונידופורים ונבגים אל מיניים המתפזרים בקלות ברוח ויוצרים מושבות קימחון חדשות. צורת ריבוי זו היא צורת ההתפשטות של המחלה במהלך עונת הגידול. לפטריה גם מחזור מיני, בו בעקבות התמזגות של תפטירים מקבוצות התאם משלימות, כנראה בשלהי הקיץ, נוצר גוף פרי מיני - קלייסטוטציום, המכיל נושאי נבגים מיניים (אסקוסים) שבהם נבגים. גופי פרי כאלה ניצפו באירופה לראשונה רק כארבעים שנה אחרי הופעת המחלה ביבשת. גם בישראל דווח לאחרונה על עליה בתדירות הופעתם של גופי הפרי המיניים (עובדיה, 2000). קיומם של גופי הפרי המיניים לא מעיד בהכרח על תרומתם להישמרות הפטריה בין העונות ולהתפתחות המחלה בשטח שכן כאמור לעיל, גופי פרי מיניים הופיעו באירופה רק כ- 40 שנים אחרי הופעת המחלה, כך שנראה שהפטריה יכולה לשרוד ולעבור את החורף גם ללא השלב המיני. מקור המידבק הראשוני ישפיע על פיזור הפטריה והמחלה בכרם ולכך יש חשיבות לפיתוח שיטת ניטור יעילה של מידת הנזק בשטח. מסיבות אלה יש חשיבות רבה לדעת את מקורו של המידבק הראשוני באזורים השונים בארץ ומה תרומתו להתפתחות המחלה בארץ.

הביולוגיה המולקולרית איפשרה לפתח כלים לאבחנה בין תבדידים שונים של פטריות (McDonald, 1997). במספר מקרים נעשה ניסיון להשתמש בכלים המולקולריים להבנת הביולוגיה של פטריות שונות והאפידמיולוגיה של המחלה הרלוונטית (Gobbin, 2001, 2003). בעבודה בצרפת (Delye, 1997) השתמשו החוקרים בסמנים אקראיים, תוצרי ראקציה RAPD להבחין בין תבדידי קימחון הגפן שנאספו באוכלוסיות מארצות שונות ועם מאפיינים אפידמיולוגיים שונים.

מטרת המחקר הנוכחי היא לבחון את השונות הגנטית בין תבדידי קימחון הגפן בישראל כדי להקיש מכך על חשיבותו של השלב המיני בהתפתחות פטרית קימחון הגפן בישראל. זאת על ידי שימוש בכלים מולקולריים והשוואה של הפרופיל הגנטי של תבדידי קימחון מאזורים שונים בארץ. במקביל נערך מעקב אחר הופעת גופי פרי מיניים במספר כרמים.

המחקר התבצע בשני מישורים:

- א. השוואת הפרופיל הגנטי של תבדידים שנאספו מאזורים שונים בארץ.
- ב. מעקב אחרי התפתחות גופי פרי מיניים בכרמים

## **א. שיטות וחומרים**

### **א.1. גידול תבדידים במעבדה.**

קימחון הגפן (כמו גם שאר הקמחונות), הוא פרויט מוחלט שאי אפשר לגדלו על מצע מזון. לפיכך, יש צורך לשמור את התבדידים על חלקי גפן ירוקים. לשם כך יש למצוא דרך לשמור מספר גדול של גפנים או עלי גפן למשך זמן המספיק לקבלת תפטיר ובכלים נפרדים לכל תבדיד.

במהלך המחקר בחנו שימוש במצעים שונים לשמירה על הטרייות של עלים מנותקים. המצע הבסיסי היה אגר מים עם וללא תוספת חומרי צמיחה (ציטוקינינים). כן נבחן מצע עם ריכוז נמוך של MS. מה זה MS לפחות בפעם הראשונה תני שם מלא.

על סמך התוצאות החלטנו לעבוד עם אגר מים 1% (w/v) בתוספת בנזימידזול (0.025 גרי לליטר מצע).



**תמונה מס' 1:** עלה מנותק מאולח עם פטריית הקמחון (*Uncinula necator*) על מצע אגר מים 1% (w/v) בתוספת בנזימידזול (0.025 גרי לליטר מצע).

על סמך עבודות מאוסטרליה (Evans et al) ניסינו ליצר צמחונים מניצנים של גפן. ההנחה היא שצמחונים כאלה יחזיקו מעמד זמן רב וניתן יהיה להחזיק את תבדידי הקימחון השונים על צמחונים מבודדים.

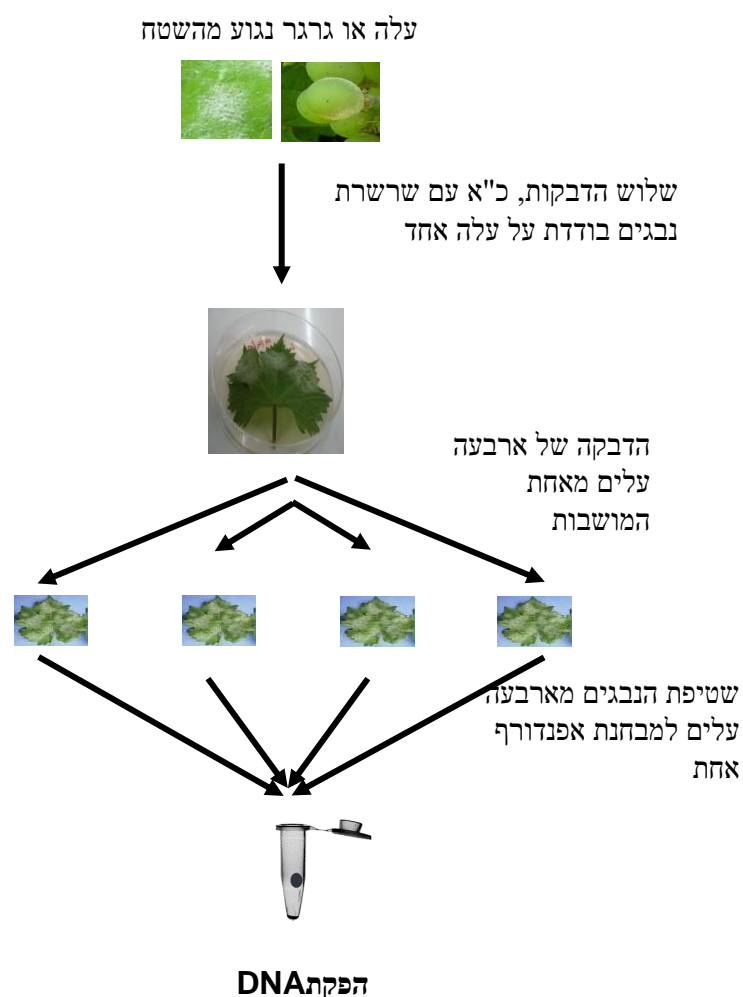
בחנו מספר הרכבי מצע עם רמות שונות של איורור אך הצמחונים לא התפתחו ומאחר וקיבלנו תוצאות טובות עם העלים המנותקים (שחלקם השתרשו) החלטנו לעבוד בשיטה זו

## א.2. איסוף נבגים והפקת DNA.

### א.1.2. איסוף נבגים להפקה.

נבחנה השיטה שפותחה בנוה יער על ידי קציר וחבריה לגבי קמחון הדלועיים: שטיפת העלה עם מים ולאחר מכן סינון התמיסה המימית עם נייר סינון ווטמן ואיסוף הנבגים היבשים למבחנה. נראה ששיטה זו מתאימה פחות לקמחון הגפן שהוא עדין ודליל יחסית לקמחון הדלועיים. השיטה שנבחרה היא שטיפת העלה המכוסה בקימחון במים עם ריכוז נמוך של חומר משטח (טריטון 100X) לתוך מבחנת אפנדורף וריכוז הנבגים ע"י סירכוז במהירות נמוכה בצנטריפוגה.

### תמונה מס' 2: תאור תהליך הגידול ואיסוף הנבגים להפקת DNA.



### א.2.2. הפקת DNA.

בשנת המחקר הראשונה נבחנו שתי שיטות שונות להפקת דנ"א: שיטה מהירה להפקת DNA שפותחה במקור לעבודה עם שמרים (Zahavi et al, 1999) ושיטת ה-mini prep (Fulton et al, 1995). שתי השיטות נמצאו כיעילות להפקת DNA מנבגי הקמחון, אך מכיוון שבשיטת ה-mini prep התקבל ריכוז גבוה יותר של DNA נבחרה שיטה זו. ב 2006 מצאנו ששימוש

בערכה להפקת DNA של שמרים MasterPure™ Yeast DNA Purification Kit (Epicentre, Madison, WI USA) מהיר ויעיל יותר להפקת DNA ובהמשך עבדנו עם ערכה זו.

יעילות ההפקה נבחנה על ידי ריאקציה PCR עם פריימרים אוניברסליים ITS4 ו-ITS5 (Internal Transcribed Spacer) הספציפיים לאזור הדנא הריבוזומלי של הפטרייה. תוצרי הריאקציה הורצו על גיל אגארוז 1.2% ונבדקה הימצאותו של בנד אחד בודד המצביע על כך שאין זיהום של פטרייה נוספת בדוגמא.

### 3. איסוף קימחון, בידוד ואפיון מולקולרי של התבדידים.

בשנה השניה והשלישית של המחקר אספנו קימחון מחמישה אזורי גידול עיקריים (רמת הגולן, גליל, מושבות השומרון, בקעת הירדן וחבל לכיש). איסוף התבדידים בכל כרם נעשה מגפנים המרוחקות לפחות 10 מטר זו מזו, מעלים או גרגרים מכוסים בתפטיר, במידת האפשר האיסוף בכל כרם נעשה ממש גפנים שונות, במידה והנגיעות בכרם היתה נמוכה מאד נאספו פחות דוגמאות מאותו כרם. במעבדה, מכל גרגר או עלה בודד קימחון משרשרת בודדת וגודל בתא גידול על עלי גפן מנותקים (דו"ח שנה שניה), בחלק מהמקרים הצלחנו לגדל במעבדה רק 2-3 תבדידים מכרם רשימת התבדידים מוצגת בטבלא 1.

#### טבלא 1: רשימת התבדידים שנאספו ומקורם (אזור, כרם, זן וחלק הגפן)

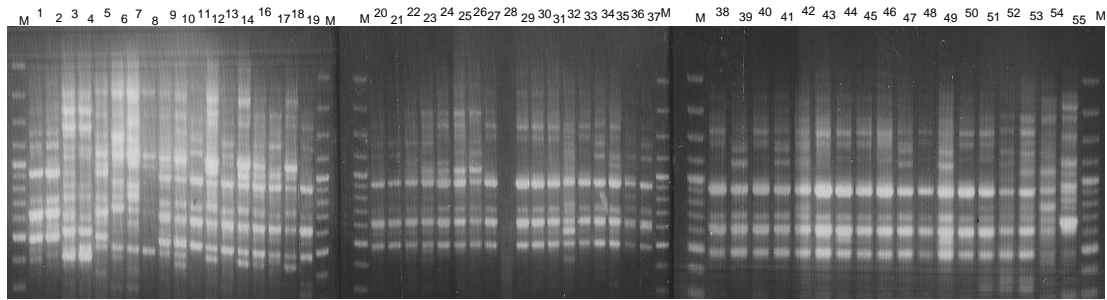
תבדיד	אזור	כרם	זן	כינוי	מקור
1	מושבות השומרון	בנימינה 1	קריניאן	B1 cr	שריג דגל
2	מושבות השומרון	בנימינה 1	קריניאן	B1 cr	שריג דגל
3	בקעת הירדן	משואה	פרלט	Ma par	עלה
4	בקעת הירדן	משואה	פרלט	Ma par	גרגר
5	מושבות השומרון	גבעת עדה	קריניאן	Ada cr	שריג דגל
6	מושבות השומרון	גבעת עדה	קריניאן	Ada cr	שריג דגל
7	מושבות השומרון	בנימינה 2	קריניאן	B2 cr	שריג דגל
8	מושבות השומרון	בנימינה 2	קריניאן	B2 cr	שריג דגל
9	לכיש	ניר חן	סופיריור	Nh su	גרגר
10	לכיש	ניר חן	סופיריור	Nh su	גרגר
11	לכיש	ניר חן 2	סופיריור	Nh su	גרגר
12	גליל	מצפה הימים (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Mi cs	גרגר
13	גליל	מצפה הימים (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Mi cs	גרגר
14	גליל	נחל עמוד (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Am cs	גרגר
15	גליל	נחל עמוד (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Am cs	גרגר
16	גליל	מצפה הימים (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Mi cs	גרגר
17	גליל	מצפה הימים (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Mi cs	גרגר
18	גליל	נחל עמוד (כפר שמאי)	ק. סוביניון	Am cs	גרגר
19	גולן	פיכמן	ק. סוביניון	Fcn cs	גרגר
20	גולן	פיכמן	ק. סוביניון	Fcn cs	גרגר
21	גליל	יראון	מרלו	Yrn me	גרגר
22	גליל	יראון	מרלו	Yrn me	גרגר
23	גליל	יראון	מרלו	Yrn me	גרגר
24	גולן	מבוא חמה	מרלו	Mvh me	גרגר
25	גולן	פיכמן	ק. סוביניון	Fcn cs	גרגר
26	גולן	פיכמן	ק. סוביניון	Fcn cs	גרגר
27	מושבות השומרון	דרך לבנה	ק. סוביניון	Lev cs	גרגר
28	מושבות השומרון	דרך לבנה	ק. סוביניון	Lev cs	גרגר
29	מושבות השומרון	דרך לבנה	ק. סוביניון	Lev cs	גרגר

גרגר	Odm ch	שרדונה	אודם	גולן	30
גרגר	Odm ch	שרדונה	אודם	גולן	31
גרגר	Odm ch	שרדונה	אודם	גולן	32
גרגר	Odm ch	שרדונה	אודם	גולן	33
גרגר	Fcn cs	ק. סובינין	פיכמן	גולן	34
גרגר	Ef cr	קריניאן	אפרתי	מושבות השומרון	35
גרגר	Ef cr	קריניאן	אפרתי	מושבות השומרון	36
גרגר	Ef cr	קריניאן	אפרתי	מושבות השומרון	37
גרגר	Ef cr	קריניאן	אפרתי	מושבות השומרון	38
גרגר	Ef cr	קריניאן	אפרתי	מושבות השומרון	39
גרגר	Miz cr	קריניאן	מזרחי	מושבות השומרון	40
גרגר	Miz cr	קריניאן	מזרחי	מושבות השומרון	41
גרגר	Miz cr	קריניאן	מזרחי	מושבות השומרון	42
גרגר	Bau fc	פרנץ	באומל	מושבות השומרון	43
גרגר	Bau fc	פרנץ	באומל	מושבות השומרון	44
גרגר	Udi rg	רד גלוב	אודי	מושבות השומרון	45
גרגר	Udi rg	רד גלוב	או	מושבות השומרון	46
גרגר	Udi rg	רד גלוב	או	מושבות השומרון	47
גרגר	Sar fc	פרנץ	שריג	מושבות השומרון	48
גרגר	Sar fc	פרנץ	שריג	מושבות השומרון	49
גרגר	Sar fc	פרנץ	שריג	מושבות השומרון	50
גרגר	Eld cs	ק. סובינין	אליעד	גולן	51
גרגר	Eld cs	ק. סובינין	אליעד	גולן	52
גרגר	Eld cs	ק. סובינין	אליעד	גולן	53
גרגר	Rnf cs	ק. סובינין	רמות נפתלי	גליל	54
גרגר	Rnf cs	ק. סובינין	רמות נפתלי	גליל	55
גרגר	Rnf cs	ק. סובינין	רמות נפתלי	גליל	56

מהתפטיר והנבגים שהתפתחו על העלים המנותקים במעבדה הופק DNA, הורצו ראקציות RAPD-PCR ונערכה השואה של פרופיל האמפליקונים המתקבל עם ארבעה תחלי RAPD של חברת Operon E7, P6, J5 ו P19 (67 אמפליקונים סה"כ). ציור 3 וטבלא 1 מראים את איסוף הנתונים כפי שהתקבלו עם התחל E7. לגבי כל אמפליקון (פס) בכל תבדיד צוין אם הוא נוכח (סימון=1) או לא (סימון=0). בחינת הקירבה בין התבדידים מתבססת על שעור הפסים המשותפים מתוך סה"כ הפסים שיש לכל זוג תבדידים (Nei & Li 79). הניתוח נערך עם תוכנת Jump, בפרוצדורת Complete Cluster.

### תמונה מס' 3: תוצרי ראקציה PCR-RAPD עם התחל E7.

(התוצרים הורצו בג'ל אגרוז בריכוז 1.2%)



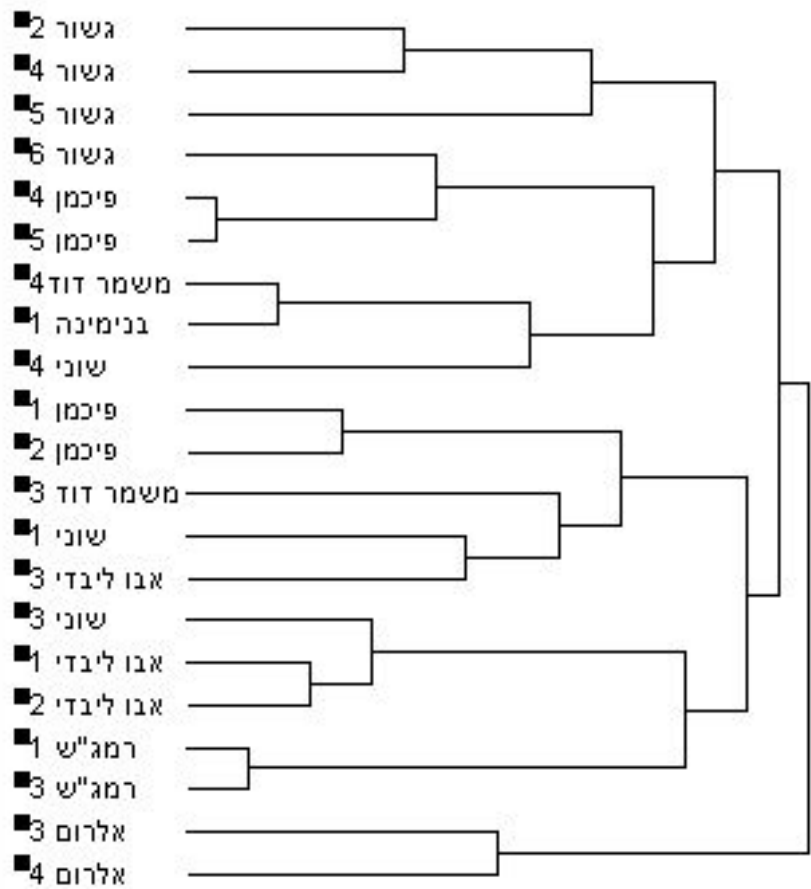
### טבלא 2: עיבוד התמונה בג'ל לצורך ניתוח קירבה.

(הנתונים המוצגים הם חלקיים להדגת שיטת העבודה) כל פס שנראה בג'ל קיבל כינוי על סמך התחל איתו הוא נוצר וגודלו. לגבי כל פס כזה, עבור כל אחד מהתבדידים, צוין אם הוא נוכח (1) או לא (0). כל תבדיד אופין ע"י אזור האיסוף, הכרם ממנו נאסף והזן.

isolate/band	E71300	E71285	E71270	E71275	E71200	E71150	E71100	E71050	E7950
B Cr 1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
B Cr 2	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Ma Par 1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Ma Par 2	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Ada Cr 1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
Ada Cr 2	1	0	1	0	0	1	0	1	0
B2 Cr 1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
B2 Cr 2	1	1	0	0	0	0	0	1	0
Nh Su 1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
Nh Su 2	1	1	0	0	0	0	0	1	0
Mi Cs 1	1	1	1	0	0	0	0	1	0
Mi Cs 2	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Am Cs 1	1	1	1	0	1	1	0	1	0
Am Cs 2	0	1	0	0	0	1	0	1	0
Mi Cs 3	0	1	0	0	0	1	0	1	0
Mi Cs 4	0	1	0	0	1	0	0	1	0
Am Cs 3	1	1	0	0	1	1	0	0	0

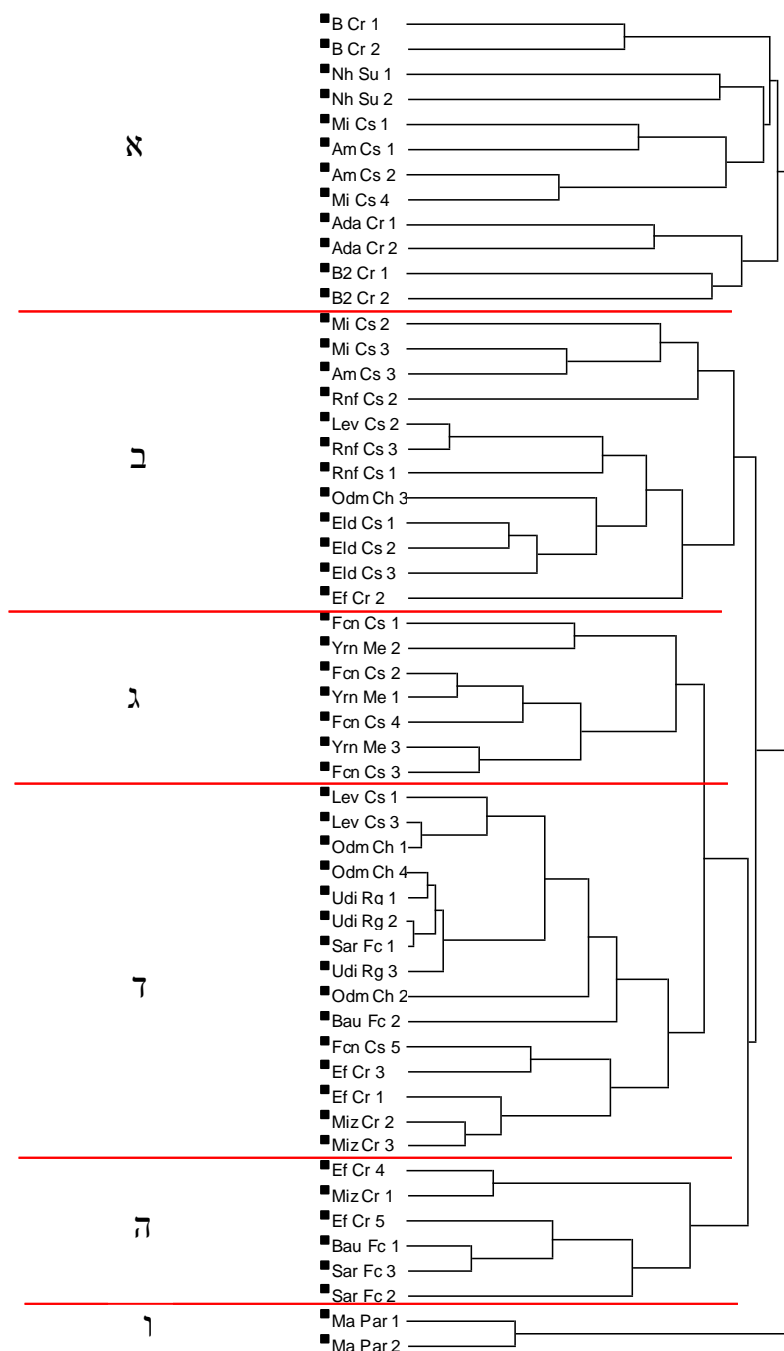
התוצאות של ההשוואה שנערכה בשתי שנות המחקר מוצגות בתמונות 4 (2006) ו-5 (2007).

תמונה מס' 4: ניתוח פילוגנטי של התבדידים שנאספו ב 2006.



תמונה 5: תבדידים שנאספו ב-2007.

(הסבר לכינויי התבדידים בטבלא 1)



כמו ב 2006 התוצאות של 2007 מראות שונות שאינה אקראית בין התבדידים. התבדידים הראשונים שנאספו בתחילת העונה באזור מושבות השומרון נאספו כולם משריגי דגל, שריגים שמלבלבים מפקעים נגועים בקמחון בזן קריניאן. כל התבדידים האלה, שנאספו משלושה כרמים שונים נמצאו כשייכים לקבוצה אחת (א). לקבוצה זו שייכים גם שני התבדידים שנאספו מאוחר יותר בעונה בכרם סופיריור באזור לכיש (Nh) וארבעה תבדידים מאזור כפר שמאי בגליל (Am ו Mi). שני התבדידים שנאספו



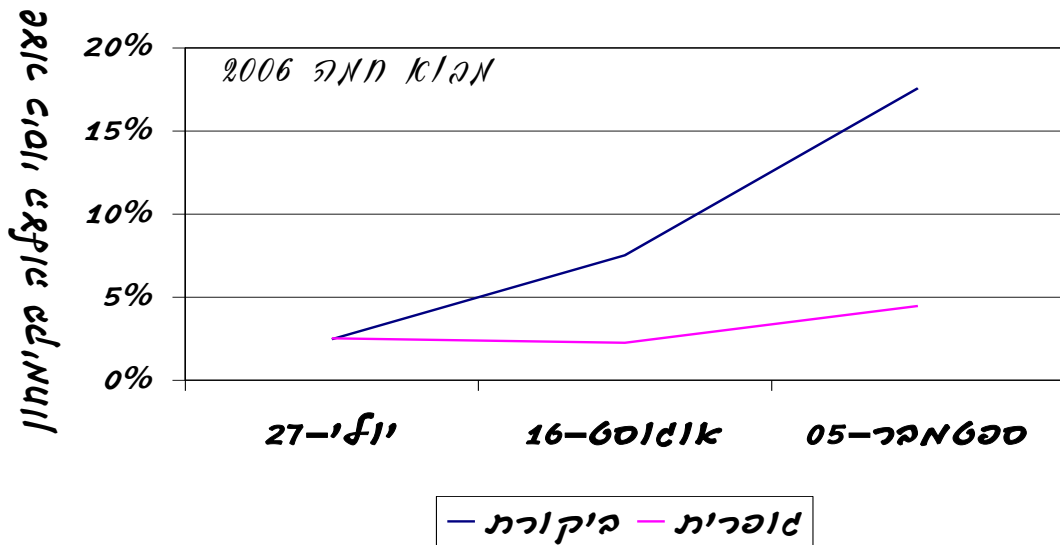
בבקעת הירדן מהזן פרלט (Ma) דומים יחסית זה לזה (32 אמפליקונים משותפים מתוך 38) ונמצאו מופרדים לחלוטין מכל התבדידים האחרים (קבוצה ו'). התבדידים שנאספו בארבעה מהכרמים (יראון, אליעד, רמות נפתלי ו"אודי") התקבצו (מכל כרם) לקבוצה אחת. בשני כרמים נוספים – אודם ופיכמן רק תבדיד אחד מתוך ארבעה או חמישה בהתאמה נמצא כשייך לקבוצה אחרת.

ב. מעקב אחרי הופעה של גופי פרי מיניים.

גופי פרי מיניים של פטרית הקמחון מתועדים לראשונה ב"עולם הישן" רק כ 40 שנה אחרי ההופעה של המחלה עצמה שהגיעה מאמריקה. מאחר ונוכחות של גופי פרי כאלה היא תנאי הכרחי לקיומו של שלב מיני של הפטריה, עקבנו במספר כרמים אחר התפתחותם בסוף העונה.

לניטור התפתחות גופי הפרי המיניים, בכל מועד דגימה נאספו עלים מהטיפולים השונים (שלושה או ארבעה עלים לחלקה X ארבע חזרות). עבור כל עלה צוינה רמת כיסוי העלווה וניספרו, תחת בינוקולר גופי הפרי בארבעה "שדות" על כל עלה.

המעקב בשנת 2005 נערך במספר כרמים בהם נמצאה נגיעות ברמות שונות. בשנתיים הבאות הדיגום היה מניסויי שדה שנערכו במטרה ליצור בצורה מכוונת רמות שונות של נגיעות על העלים. ב 2006 הוצבו שני ניסויים: בכרם מרלו של מבוא חמה הגפנים רוססו מסחרית עד שלב הבוחל ומשלב זה חלק מהגפנים רוססו בגופרית, למניעת התפתחות של קמחון על העלווה וחלקן שימשו כביקורת ובהן רמת הקימחון היתה גבוהה (תמונה 6). ניסוי נוסף נערך בחוות פיכמן בזן ק. סוביניון. חלק מהגפנים רוסס בגופרית מתחילת העונה ועד סמוך לשלב הבוחל. וחלקן לא רוססו ושימשו כביקורת בה התפתח קימחון (הנתונים לא מוצגים). בדיקת נוכחות של גופי פרי מיניים בכל אחד מהניסויים נעשתה במועד אחד. תמונה 6: שיעור הכיסוי של העלים בקימחון, ניסוי מבוא חמה 2006.



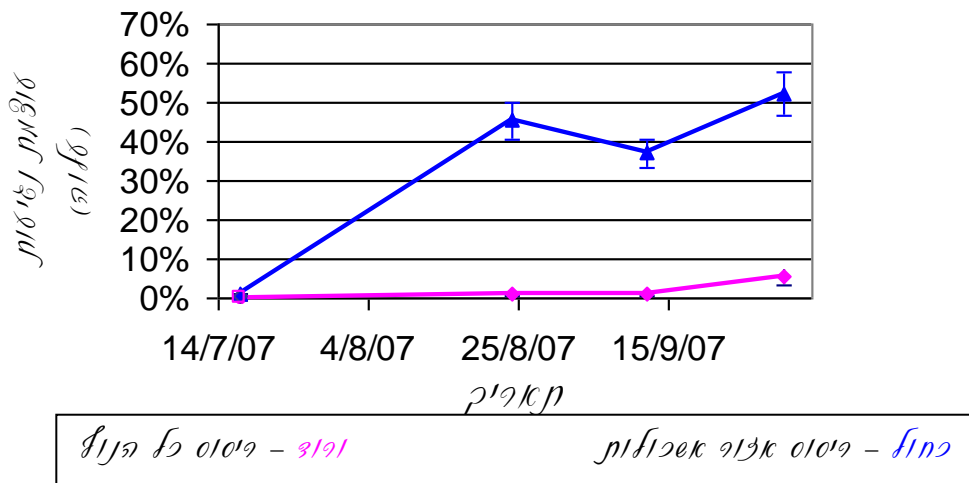
(בכל חלקת טיפול נידגמו 20 עלים מכל צד של השורה וצויין אחוז הכיסוי בקימחון)

טבלא 3: מספר גופי פרי מיניים על העלים בסוף נובמבר 2006

כרם	מבוא חמה		פיכמן	
	מרוסס	ביקורת	מרוסס	ביקורת
גופי פרי לסמ"ר	4.00	7.69	3.02	8.50
Ttest			0.0027	0.046

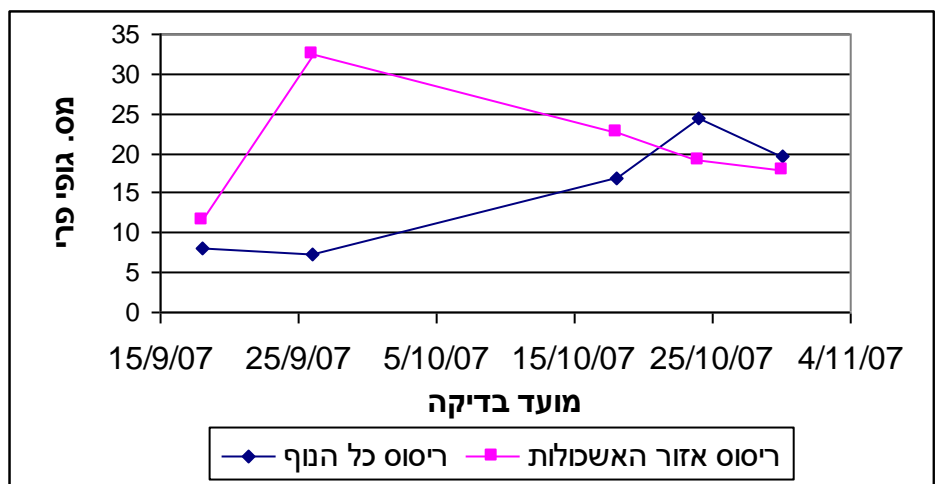
בניסוי ב 2007 שנערך בחוות פיכמן (בזן קברנה סוביניון) כלל שני טיפולים שבשניהם הגפנים רוססו מדי שבועיים מתחילת העונה. בטיפול אחד (המדמה את הטיפול המקובל) רוסס הנוף כולו ואילו בטיפול השני הריסוס כוון רק אל אזור האשכולות. בהתאם התקבלה בטיפול הראשון רמה גבוהה של קימחון על העלוה ובטיפול השני בו רוסס כל הנוף לא היתה כמעט נגיעות על העלים (תמונה 8).

תמונה 7: שעור הכיסוי של העלוה בקימחון (ק. סוביניון, חוות פיכמן, 2007)



תחילת המעקב היתה בתחילת שלב החלפת הצבע והמועד האחרון היה קרוב לבציר. נידגמו 30 עלים בכל אחת מחמש חזרות והוערך שעור כיסוי העלוה. העמודות מתארות את סטיית התקן בין החזרות.

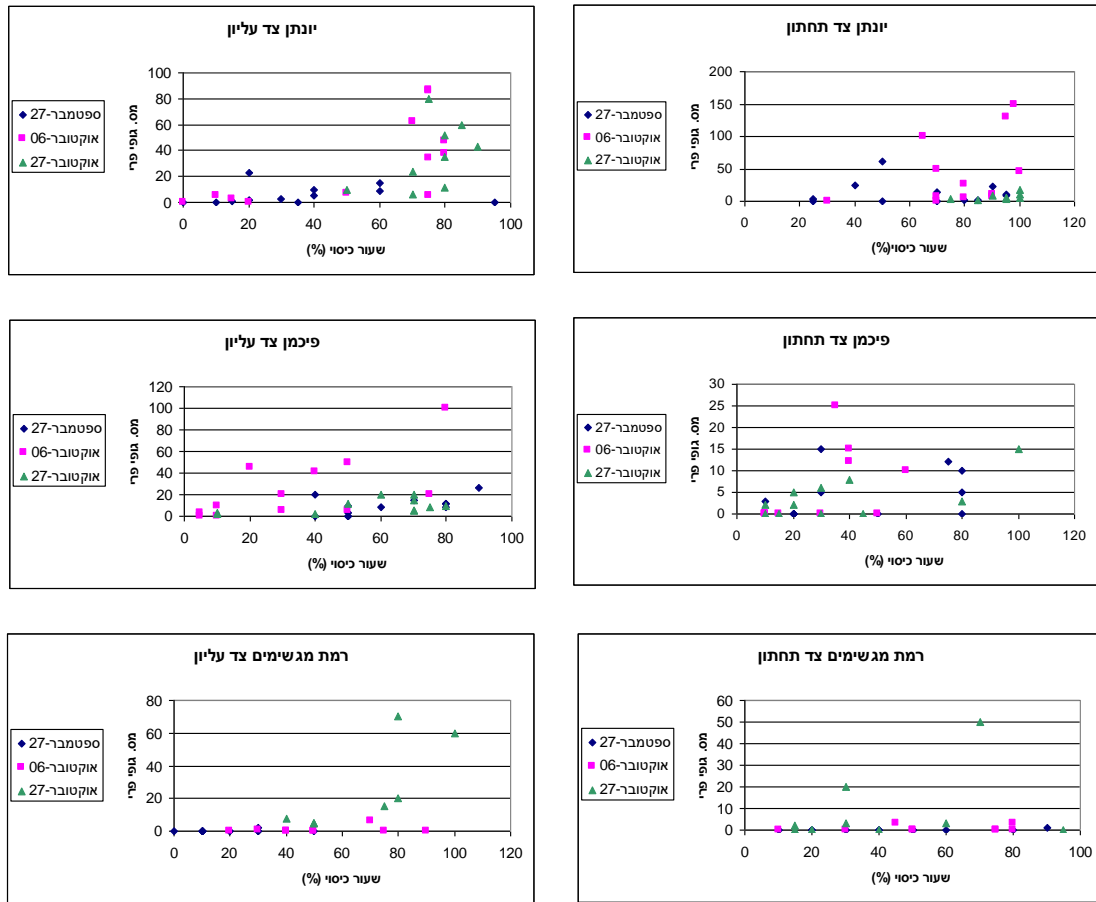
תמונה 8 : התפתחות גופי פרי מיניים בטיפולים השונים בשנת 2007.



בכל מועד נידגמו ארבעה עלים בכל אחת מחמש החזרות הוערך שעור הכיסוי בקימחון וניספרו גופי הפרי (בכל הגוונים) בארבעה שדות בכל עלה.

בשנת 2006 נמצא הבדל מובהק בכמות גופי הפרי המיניים בין עלים מגפנים עם נגיעות רבה בקימחון לגפנים עם נגיעות נמוכה יותר. בשנת 2007, למרות הבדלים חדים בנגיעות העלים בקמחון לא נראה הבדל ברור בכמות גופי הפרי (מובהק רק ב 26 לספטמבר). בכל השנים לא נמצא מתאם טוב בין שעור הכיסוי של העלים בקמחון ולבין כמות גופי הפרי המיניים (ציור 9 מנתוני 2005).

ציור 9 : השפעה של דרגת הנגיעות של העלה על כמות גופי הפרי המיניים (2005).



בכל כרם נאספו עלים בשלושה מועדים (3 עלים X 4 נקודות איסוף). הוערך שיעור כיסוי העלה בקימחון וניספרו גופי הפרי המיניים בארבעה שדות תחת בינוקולר. סיכום המחקר.

א. השונות באוכלוסיית הקמחון.

בשלוש שנות המחקר בודדנו 7, 21 ו-55 תבדידים של קימחון, רובם משלושה אזורים – גליל, גולן ומושבות השומרון ורק חמישה מבקעת הירדן ומאזור לכיש. ניתוח דפוס האמפליקונים בכל אחת מהשנים מראה שקיימת שונות ניתנת להסבר בין התבדידים. תבדידים משריגי דגל (בשנת 2007 תבדידים 1-2, 9-12) נאספו בסוף אפריל במושבות השומרון. כל התבדידים האלה התקבצו לענף אחד בעץ הפילוגנטי. ממצאים אלה דומים לממצאים מארצות אחרות. בעבודה בצרפת תבדידים שנאספו משריגי דגל הוגדרו (מולקולרית) כשייכים לקבוצה אחת, נפרדת, השונה מתבדידים שנאספו מאוחר יותר בעונה. עם זאת בעבודה הצרפתית תבדידים שנאספו מאותו כרם (ארבעה בצרפת וארבעה בגרמניה) נמצאו זהים לחלוטין בעוד בין התבדידים הישראליים נמצאה שונות מסוימת (תמונה 5 קבוצה א'). לבד מתבדידים שנאספו משריגי דגל ברורים נמצאו במהלך העונה, על הפרי תבדידים השייכים לאותה קבוצה, שניים בכרם בניר חן (לכיש) בזן סופיריור וארבעה משני כרמים שונים מהזן ק. סוביניון בכפר שמאי שבגליל. באזור מושבות השומרון לא נמצאו תבדידים מקבוצה זו גם באיסופים מאוחרים יותר בעונה וגם לא בכרמים סמוכים לכרמים מהם נידגמו בתחילת העונה תבדידים משריגי הדגל.

התפלגות השונות בין תבדידים שנאספו במהלך העונה, בעיקר מגרגרי ענבים, אינה אחידה. באליעד (ק. סוביניון) ואצל אודי (אחד מכרמי מושבות השומרון מהזן רד גלוב) כל התבדידים שנאספו נמצאו קרובים מאוד זה לזה. לעומת זאת בכרם של אפרתי (קריניאן) נמצאו תבדידים השייכים לשלוש מהקבוצות שהוגדרו בדנדרוגרם (טבלא 4).

בהסתכלות אזורית, כמעט כל התבדידים שנאספו במושבות השומרון לא משריגי דגל (16 מתוך 18) שייכים לקבוצות ד' ו ה'. לקבוצה ד' שייכים גם שלושה מארבעת התבדידים מאודם שבגולן. לעומת זאת רוב התבדידים מהצפון (17 מתוך 25) נמצאו בקבוצות ב' ו ג'.

טבלא 4: התפלגות התבדידים שנאספו ב 2007 לפי עץ הקרבה (דנדרוגרם).

אזור	כרם	סך תבדידים / קבוצה:	א	ב	ג	ד	ה	ו
בקעה	משואה	2						2
גולן	פיכמן	5			4	1		
גולן	אודם	4		1		3		
גולן	אליעד	3		3				
גליל	מצפה הימים	4	2	2				
גליל	נחל עמוד	3	2	1				
גליל	יראון	3			3			
גליל	רמות נפתלי	3		3				
לכיש	ביר חן	3	2					
מושבות השומרון	בנימינה 1	2	2					
מושבות השומרון	עדה	2	2					
מושבות השומרון	בנימינה 2	2	2					
מושבות השומרון	לבנה	3		1		2		
מושבות השומרון	אפרתי	5		1		2	2	
מושבות השומרון	מזרחי	3				2	1	
מושבות השומרון	באומל	2				1	1	
מושבות השומרון	אודי	3				3		
מושבות השומרון	שריג	3				1	2	

## ב. גופי פרי מיניים.

גופי פרי של הפטריה נמצאו בכל הכרמים שנוטרו לשם כך במסגרת עבודה זו. בשנת 2006 נמצאו הבדלים סטטיסטיים מובהקים בכמות גופי הפרי המיניים בין עלים שנילקחו מגפנים עם נגיעות רבה בעלוה לעלים מגפנים נקיות יחסית. למרות ההבדל הסטטיסטי, מאחר וקצב ההתפתחות של מחלת הקמחון גבוה מאוד לא נראה שלהבדלים כאלה (פחות מסדר גודל) יכולה להיות השפעה על הנגיעות בשנים העוקבות שכן מספיק מספר קטן של גופי ריבוי בתחילת העונה כדי לגרום להתפתחות מחלה. בשנת 2007, בה עקבנו אחרי התפתחות גופי הפרי במהלך הסתיו נראה שהתפתחות גופי הפרי מוקדמת יותר בגפנים הנגועות קשה (הבדל מובהק בתאריך הדיגום השני) אולם ההבדל היטשטש מאוחר יותר בעונה.

במגמה לבחון את הקשר בין הנגיעות וגופי הפרי בסתיו להתפתחות הקמחון באותן גפנים בשנה העוקבת השארנו קטעים מסוימים בכרם ללא ריסוסי מניעה בתחילת העונה (2008). רמת הנגיעות בקמחון בשנה

זו היתה נמוכה מאד ובכרם הנבדק לא התפתח כלל קימחון. מכאן שכשהתנאים לא מתאימים להתפתחות המחלה אין משמעות לגופי הפרי שנשארים מהשנה החולפת.

שילוב הממצאים, המולקולריים עם נוכחות גופי הפרי, מוכיח שיש חשיבות לרבייה המינית של הפטריה, גם בתנאי הארץ כפי שכבר ניטען נסיבתית ע"י עובדיה (ע"ד 2005). עם זאת מידת השונות שהתקבלה באותו כרם ובין כרמים סמוכים (מושבות השומרון) מפתיעה ושונה מהממצאים בצרפת ואוסטרליה שם נמצאו בחלק מהמקרים תבדידים זהים, כלומר תבדידים שמקורם ללא ספק מרבייה א-מינית באותו כרם. לצורך הבנה מעמיקה יותר של האפידמיולוגיה של המחלה יש צורך בבדיקות מולקולריות נוספות אותן אנו מקוים לבצע במסגרת פרויקט המשך לעבודה הנוכחית.