

מו"פ צפון דוח שנתי תמיינות

מספר מחקר: 9 120 2020

**שם התכנית: התמודדות עם מחלת הצהבן במטען נשירים בדגדש על שקד, אגס ונקטרינה/אפרסק.**  
**חוקר ראשי: רקפת שרון - המעבדה לאקו-אנטומולוגיה- מו"פ צפון.**

**חוקרים שותפים:** ענת זיסוביץ - מדricht גידול שה"מ, אופיר בהר- חוקר פיטופלטמה במנהל המחקר החקלאי,  
מאור תומר- המעבדה לאקו-אנטומולוגיה- מו"פ צפון.

**סטטוס התכנית (נמשכת/סופית):** נמשכת

**מועד התחלה וסיום התכנית:** 2020-2022

**תקציב (עד 150 מיליון לדוח חצי שנתי ושנתי; עד 300 מיליון לדוח מסכם וסוף)**

#### **רקע קצר, תיאור הבעיה ומטרות המחקר:**

**תיאור הבעיה -** מחלת הצהבן (yellows disease) גורמת לנזקים קשים בחקלאות מגידולי שדה ועד מטעים וכו'. נפגעים גידולים חקלאיים רבים הכוללים צמחי תרבות, ירקות, פירות, צמחי נוי, עצים, צמחי בר וגפן הין בעולם (Orenstein et al., 2003; Christensen et al., 2005; Boudon-Padieu, 2003; Weintraub et al., 2007, 2003) בשןים האחראות למצאה המחלת במטען נקטרינה/אפרסק, במטעי שקד ובמטען אגס. צורת הנזק שנראית במטען נקטרינה והאפרסק, מאופיינת בעיצים מצחיבים או מאדים טרם זמן המלווה בנשירת עליים מוקדמת ובמטען אגס התסמים הם של הצהבן והאדמת העליים נשירת עליים מוקדמת, עצים קטנים יותר. התופעה זהותה לראשונה במטען נקטרינה/אפרסק בדורם/מרכז הגולן ובכל עמק החולה. מספר מגדלים ברמת הגולן, אשר ערכו בסוף עונת 2017 את כל העיצים שהראו תסמינים, דיווחו על הופעה של עצים חדשים בעלי תסמיני מחלת זיהום במטעים בעונה העוקבת (2018). בנוסף, בשנת 2019 המחלת החלה להופיע גם במטען ההר בגליל העליון.

דיווחים מהספרות המקצועית, בהם תוארו תסמיני מחלת דומים באפרסק, העלו את החשד שמדובר בחידק פיטופלטמה (Pollini et al., 2001). הפיטופלטמה שנמצאת בשיווק עם תסמיני המחלת משתנית לקבוצת פיטופלטמות הנוטות לאכלס עצי תפוח, אגס וגלוניים. בשונה מרבית הפיטופלטמות הגורמות למחלת בצמחים ומוועברות על ידי ציקדות, קבוצה זו של פיטופלטמה מועברת בעיקר על ידי פסילות. נכון להיום, פיטופלטמה מהטיפוסים שתוארו לעיל דווחו בצפון ודרום אמריקה ובאירופה בגידולים אגס, תפוח, אפרסק, שזיף, דובדבן ומשמש.

**גורם המחלת -** חידקן פיטופלטמה הימן חידקים גראם חיוביים חסרי דופן עם יותר מ- 60 מינימ, המאכלסים את רקמת השיפה בצמח וגורמים למחלות נוספות מ- 500 גידולים. בכל שלושת הגידולים נמצא בדגימות מעיצים שהראו תסמינים פיטופלטמה משפחחת ה-Apple proliferation, קבוצה Xz16S, מהטיפוס Candidatus *Phytoplasma pyri* - פיטופלטמה פיר (توزאות הקדמיות, אופיר בהר). טיפוס זה משוחר למחלות (PD) Pear decline (PYLR) באגס ו- (PYLR) peach yellow leaf roll באפרסק. בעוד שבנקטרינה ואפרסק הקשר בין התסמינים לנוכחות החידקן חזק, בשקד ובאגס לא נראה אוטואציגה מושלמת בין הופעת תסמינים ונוכחות גורם המחלת, ונדרש עדין לבסס בצורה טוביה יותר את הקשר בין נוכחות

הפייטופלסמה לתסמים המופיעים בצמח. האינטראקציה ארוכת שנים של פייטופלסמה עם הצמח והחרק הובילה לצמצום הגנים החידקי תוך כדי איבוד תכונות הכרחיות לגדילה עצמאית, ולפיתוח תלות מוחלטת במסולאים ביולוגיים מסוימים של הפונדקאי. איבוד התכונות והتلות המוחלטת בפונדקאי מקשים על גידול של חידקי פייטופלסמה בתרבית מלאכותית וכןן להיום טרם נמצאו תנאי גידול מתאימים במעבדה שיאפשרו זאת. כתוצאה לכך לא ניתן להשלים את מבחן קור ולבסוף מעלה ספק שפייטופלסמה היא אכן הגורם למחלת. בנוסף, אי יכולת גידול את החידק בתרבית מקשה מאוד על חקר הבiology שלו ובהתאם פיתוח אמצעים להתרומות עימיו. תסמי המחלות בצמח נובעים מהתפשטות הפייטופלסמה בצלירות השיפה של הצמח הפונדקאי המשפיעים על הובלת הסוכרים ומשינויים במאזן ההורמוני של הצמח המתבטאים בשינויים מורפולוגיים. שינוי ביחס אוקסין/ ציטוקinin בצמח מובילים לעקרות בפרחים, קלורוזה בעליים, קייפול בעליים, ריבוי צימוח משני יכול ליצור "מטאטא מכשפה" והתקצרות המרחק בין הפרקים בניצר (Lee et al., 2004; Christensen et al., 2005; Firrao et al., 2007; Hogenhout et al., 2008) (Maixner, 2006). הפגיעה בשיפה מבטאת בנבילה כללית, הצהבה או האדמה לא עונתית של בעליים ואף למוות הצמח המודבק, נזקים במבנה השיפה ע"י מיקום חדש של פלטוות הכבירה, מוות תא, סתיימה והתרומות של צינורות הכבירה המביא לירידה בפוטו-וינצזה המתבטאת בכלורוזה וירידה בכלורופיל (Bertaccini, 2007).

**אמצעי הדבאה לפיטופלסמה** - כיום אין פיתרון יעיל למחלות אשר נגרמות ע"י פייטופלסמות. שימוש בהדבאה ישירה נעשה באמצעות אנטיביוטיקה (Bertaccini, 2007; Bradel et al., 2000) או, שימוש באנטיביוטיקה נאסר ברוב ארצות העולם מחשש לפיתוח עמידות לאנטיביוטיקה ופגיעה בבריאות הציבור (Oropeza et al., 2011) והפר שמתקיים פסול ברוב המקרים לשיזוק תוצרת קלאית. דוח על טיפול ב-BABA (C'urkovic' Perica, 2008) (BABA) B Aminobutyric acid נמצא כלא ייעיל (Musetti et al., 1999). שיטה של חימום ומתן מים חמימים (C'urkovic' Perica, 2008) נמצאה כיעילה בתרביות רקמה של שורשים עם מתן חום בשני סוגים של שקדים לבנוניים. כיוון הדברה נוספת הוא ניקוי מריסטמטי של חומר ריבוי בתרביות רקמה המכיל אנטיביוטיקה או אוקסין בשילוב או בנפרד מטיפול בחום או בקור (Bertaccini, 2007; Gribaudo et al., 2007; Krizan et al., 2008).. אולם שיטות אלה לא ימנעו הדבאה מחודשת של הצמחים עם נתיעתם בשטח הפתוח.

כיוון מחקר שנבדקו אך טרם הגיעו לשימוש מסחרי הם ריסוס בחומרים משרי עמידות (Lherminier et al., 2003; Bressan and Purcell, 2005; Romanazzi et al., 2009) ואיתור אנדו-פייטים המעורבים בהשראת עמידות (Zahavi et al., 2009).

מכיוון שאין עדין פיתרון מתאים ברמת הצמח עיקר המאמץ מופנה ליזויו החrisk המעביר (ו-קטור) ופיתוח אמצעי הדבאה המכונים להדבנתו.

**הו-קטור (עביר המחלה)** - ככלל, חידקי פייטופלסמה מועברים מצמח לצמח על ידי ווקטורים חרקים, על פי רב ציקדות ו/או פסילות. הו-קטור החrisk רוכש את הפייטופלסמה תוך כדי הזנה מנוזלי השיפה של עז וגוע, ולאחר תקופה לטנטיות מסוימת, בה החידק מתרבה בגוף החrisk ונודד לבളות הרוק, החrisk הופך

איןפקטיבי ובעת הזנה מעץ בריא הוא מסוגל להעביר את גורם המחלה לרקמת השיפה ולגרום להדבקה של העץ.

הוקטורים של פיטופלסמה פירוי הידועים עד היום הין פסילות. באראה"ב ובאיropa נמצאה הפסילה *Cacopsylla pyricola* כוקטור, באירופה נמצאה פסילה נוספת כוקטור- *Cacopsylla pyri*, Etropsolska et al. 2015. אחד הוקטורים הפוטנציאליים - פסילת *pyri* נמצאה גם כוקטור לאפרסקים (Mechanisms of Cacopsylla pyricola infestation of *Solidago* and *C. bidens* (Sulc) in Israel, Liao & Yang, 2015; Horton & Landolt, 2007; Soroker et al., 2004; Mori, 2011). נוכחות פיטופלסמה בפסילת האגס בישראל יכולתה לשמש כוקטור טרם נבדקה. בנוסף על כך, היהות ועד תחילת העבודה זו, לא בוצע כל מחקר על ווקטורים של פיטופלסמה בגידולים אלו בישראל, יתרון וינטם וקטוריים פוטנציאליים נוספים נמצאים למחלה מעבר לפסילת האגס המוכרת, שטרם זוהו. התקשרות בפסילות מורכבת כאשר בתוך המין מתקיימת תקשורת קולית וכימית בין הזואיגים ובין החרק לצמח מתקיימת תקשורת כימית באמצעות נדייפים המופרשים על ידי הצמח. מתקיימת גם תקשורת כימית בין הזואיגים המתווכת על ידי נדייפי הצמח ומשמשת לתקשרות עקיפה בתחום המין (Gross et al., 2019; Gross, personal communication; Liao & Yang, 2015; Horton & Landolt, 2007; Soroker et al., 2004; Mori, 2011).

לניטור האוכלוסייה של הפסילות מקובל להשתמש בשיטת הה캐ה ובמלכודות דבק. שיטת הה캐ה מביאה

מגון גדול יותר היכול גם את שלבי הנימפות (Civolani & Pasqualini 2003). אך בשיטה זו נאספים רק הפרטדים שהיו במועד האיסוף. כדי לקבל לכידות לאורך זמן מקובל להשתמש במלכודות דבק. נמצא כי הפסילות נלכדות יותר על מלכודות דבק בצע צחוב לעומת מלכודות דבק שחופות, אך מחקרים מראים כי הלכידות מוצלחות יותר במלכודות בצע אדם (Gross, personal communication; Krysan & Horton, 2006).

(Gross, personal communication; Krysan & Horton, 2006). בשנים האחרונות פותחו פתרונות משולבים עם מלכודות בצע אדם לפסילות מזיקות כאמצעי הדבירה בשיטה של משוך והרוג (Gross, personal communication; Krysan & Horton, 2006).

כאשר החרק מקיים מחזור חיים מלא על גידול המטרה הנגוע, הדבירה של הווקטור מפחיתה משמעותית את הנזק וריסוק בעיתוי הנכוון מפחית משמעותית את האוכלוסייה ואת המחלה (Weintraub and Beanland, 2006).

לעומת זאת, כאשר הווקטור פוליפאגי ומקיים מחזור חיים גם על צמחי בר ולא רק על גידול המטרה, הדבירה ישירה פחות עיליה. הדבירה כימית במקרה זה פחתה מושפעה על שכיחות המחלה

שכן יתרון ווקטור האוכלוסייה המעביר נמצאת רוב הזמן מחוץ לגידול המטרה (Mori et al., 2008).

פער הידע בהם יתמקד המחקר הנוכחי הינו: העדר מידע מספק על היקף הנזק מהמחלה בנשיםים, קצב התפשטותה, אישורו הקשי בין התסמים לפיטופלסמה פירוי בגידולים הנבדקים, בחינת נוכחות מין/תתי-מין אחרים של פיטופלסמה, ומהם הווקטוריים הפוטנציאליים שנמצאים במטיע הנשים הנבדקים.

#### מטרות המחקר:

- א. קביעת היקף הבעה בגידולי שקד, אגס ונקרינה/אפרסק באזורי הצפון.
- ב. הבנת הקשר בין תסמים לגורם המחלה באגס וشكד ואישורו טיפול הפתופלסמה בכל אחד מהגידולים.
- ג. חיפוש וקטוריים פוטנציאליים.

#### מהלך המחקר ותוצאות:

א. קביעת היקף הבעיה בגידולי שקד, אגס ונקטרינה/אפרסק באזורי הצפון. **לקביעת היקף הבעיה בגידול שקד, אגס ונקטרינה/אפרסק באזורי הצפון** בשנת המחקר הראשונה אוטרו מטעים של נקטרינה, שקד ואגס בהם נראו תס敏ינים שיכולים להיות תוצאה של מחלת הצהבן. האיתור נעשה בעזרת מידע שנאסף ממדריכים פקחים וחקלאים. בעזרת מידע זה נערכ בשתי שנות המחקר הראשונות סקר לקביעת היקף הבעיה. לסקר נבחרו 3 חלקיות מכל גידול (סה"כ 9 חלקיות) בהם דוחו תסמייני המחללה והמייצגות שלושה אזורים גיאוגרפיים בצפון: דרום רמת הגולן, עמק החולה והרי הגליל; מקבץ חלקיות של שלושת הגידולים (נקטרינה, שקד ואגס) בכפר חרוב, חלקת אגס בנוב, חלקת אגס בנטור, חלחת נקטרינה בסוד המעללה, שתי חלקיות שקד בעמק החולה (מלכיה וכפר בלום) וחלחת נקטרינה בפתח. בכל החלקיות נערכ מיפוי של העצים עם התס敏ינים ובנייה מפת GIS לתיאור מקום העצים המראים תסמיינים למשך רב שניי בזמן ובמרחב אחר התפשטות המחללה (דוגמה בתמונה 1).



תמונה 1: מפת עצים נגעים (עיגול אדום) וחסודים (עיגול ירוק) בחלקוות נקטרינה בסוד המעללה ויפתח כבר בשנת המחקר הראשונה הتبירר כי בנקטרינה התס敏ינים של מחלת הצהבן ברורים יחסית אך באגס ובשקד נדרש בירור של התס敏ינים המאפיינים את המחללה וכן לא ניתן לבצע מעקב אחר התפשטות המחללה לפני אישור הקשר בין התס敏ינים לנוכחות הפיטופולסמה בעצים. בהתאם לכך הועבר עיקר המשקל מטירה א' לביצוע מטרה ב'.

ב. הבנת הקשר בין תס敏ינים לגורם המחללה באגס ושקד ואישור טיפוס הפיטופולסמה בכל אחד מהגידולים.

**לצורך קביעת הקשר בין התס敏ינים לנוכחות הפיטו<sup>ן</sup> בדקנו במטעים שנבחרו בשנת המחקר הראשונה שהתס敏ינים אכן מתאימים למופיעים המוכרים של המחללה ע"י דגימת עצים בהם נמצאו תסמיינים לזייהו טיפוס הפיטופולסמה גורם המחללה. נלקחו דגימות מעצים מיצגים בכל חלקה לבדיקת נוכחות הפיטופולסמה ב PCR. הבדיקה מבוססת על ריאקציה הגדבה של הדנ"א Nested-polymerase chain reaction (PCR) assay Virtual restriction fragment assay של גורם המחללה החשוב, פיטופולסמה, ולאחריה אנליזת PCR (PCR)**

length polymorphism (RFLP) ממקטע הדנ"א שהוגבר. בהתאם לאנליזה זו מסויימים חידקי הפיטופלסמה לקבוצות ותתי קבוצות גנטיות, שלרוב נמצאות בשיר עם פונדקאים צמחים וחרקים מסוימים.

כפי שנמצא בבדיקות המדגימות, בכל שלושת הגידולים נמצאה בדגימות מעצים שהראו תסמים *Candidatus Phytoplasma* מהטיפוס Apple proliferation, קבוצה X16Sr, מהטיפוס peach yellow leaf decline (PYLR) באפרסק. טיפוס זה משויך למחלות (PD) באגס - roll pear decline (PD) (PYLR) באפרסק.

בבדיקות PCR אושרה בשנה הראשונה הקשר בין התסמים לנוכחות הפטוגן בנקטרינה אך לא אושרה הקשר בין התסמים לנוכחות הפטוגן בשקד ובאגס. באגס נדרש אישור נוסף כיוון שבחלק מהמעצים שהראו תסמים נמצאה הפטוגן ללא נוכחות הפטוגן אחר, גם בחלק מהמעצים ללא תסמים נמצא הפטוגן. בשקד, בשנת המחקר הראשונה נלקחו דגימות מעצים עם תסמים, שנחמדו כתסמי פיטופלסמה, במועדים שונים לאורך העונה ולא נמצא בהם הפטוגן.

בשנת המחקר השנייה בחנו סימפטומים נוספים ולשם כך נלקחו דגימות מחלקות בעין זיון ופתח של אגס מהזמן עדן שהראה סימפטומים המתאימים לתאזר המחלת (תמונה 2). כמו כן, נלקחו דגימות מעצי שקד במתעך ברעם של עצים שנמצאו חיוביים בשנים קודמות ועצים משתי חלקיות בדרום הארץ שהראו סימפטומים לא אופינים של התנונות הגלעינן בשלבי התפתחות מאוחרים.

דגימות האגס המפורטות להלן נלקחו מהזמן עדן, חלקן מעצים המראים תסמי האדמה עליים וניזון כללי, חלקן מעצי ביקורת ללא תסמים מואותם מטעים.



תמונה 2: תסמים בעצי אגס מהזמן עדן שנמצאו חיוביים לפיטופלסמה- התנונות העץ ועלים בצבע אדום. בדגימות אגס שנלקחו ממטע יפותח נמצאה בבדיקה PCR כי שתי הדגימות מעצים ללא סימפטומים שנלקחו כבירות היו שליליות ואילו שתי הדגימות מעצים סימפטומטיים יצאו חיוביות. בדגימות שנלקחו ממטע עין זיון נמצא בבדיקה PCR כי מבין שש הדגימות מעצים ללא סימפטומים שנלקחו כבירות ארבע היו שליליות ושתיים יצאו חיוביות. מהדגימות שנלקחו מעצים סימפטומטיים תשע יצאו חיוביות ואחת יצאה שלילתית (90%).

לאור חוסר ההתאמה בין תסמייני פיטופלסמה אופייניים לנוכחות פיטופלסמה בשקד כפי שדיוחנו בשנה הקודמת, בשנה זו התרכזו הממצאים בבחינת שירוף פיטופלסמה עם תסמן אחר, התרוקנות פרי, שנראתה ביותר שאות השנה זו (תמונה 3).



תמונה 3: תסמיינים בעצי שקד שנמצאו כחוביים לפיטופלסמה- צבע צהוב אפרפר של העץ, פתיחת שומר לא תקינה וגלuin מנון.

משת עצי השקד הסימפטומטיים בברעם, 3 נמצאו חוביים לפיטופלסמה (50%) ומතוך 10 עצי הביקורת לא נמצאו עצים חוביים. מבין 12 העצים הסימפטומטיים שנדגמו ברמת מגשיים 7 נמצאו חוביים (58%) ומතוך 11 עצי הביקורת עץ אחד נמצא חובי. بالإضافة, מבין חמישה העצים הסימפטומטיים שנדגמו 4 נמצאו חוביים (80%) וכל 12 עצי הביקורת נמצאו שליליים. רוב העצים שנמצאו חוביים היו מהזן 53, שלושה מהזן אום אל פאחים, אחד מהזן נאפה ואחד מהזן גלעד.

#### **סיכום ודיון במטרות א' ו' ב'**

סקר תסמיינים במטען נקטרינה/אפרסק, שקד ואגס ומיפוי כביסיס ל刻苦 אחר התפשטות המחללה שנערכ בשנת המחקר הראשונה הדגיש את חשיבותה המחללה בשלושת הגידולים. בכל שלושת הגידולים נמצא אותו

טיפוס של פיטופלסמה (*Ca. pyri*) ולא נמצאו טיפוסים נוספים.

בנקטרינה ואפרסק נמצא בשנת המחקר הראשונה מתאם הדוק בין תסמייני המחללה לנוכחות הפיטופלסמה. לעומת זאת, בשקד, כפי שנראה במנצאים משנת המחקר הראשונה, השיר בין הסימפטומטיים אותן נהוג linked לפיטופלסמה לבין מציאת פיטופלסמה בבדיקות מולקולריות היה נמוך מאוד. זאת על אף שבבדקו עצים סימפטומטיים רבים, מאזורים שונים, מركומות שונות בעץ, ובשנים מועדים בשנה. ממצאים אלו יכולות להעיד כי יתכן ויישנו גורם אחר שאחראי, לפחות במידה מסוימת לתסמיינים אלו. בשנת המחקר הנוכחי

נבחנו תסמיינים אחרים שקשרו באופן ברור לנוכחות הפטוגן (ב 50-80% מהמעצים שנדגמו). תסמיינים אלו כוללים עצים חלשים המבטאים צהבן בעליים עם התנונות של גלען השקד בשלבי התפתחות מאוחרים. באגס, בזנים קוסטציה וספונה, שנבדקו בשנת המחקר הראשונה נמצא קשר הדוק הרבה יותר לעומת עצים שקד, ההתאמנה שנמצאה בין נוכחות פיטופלסמה לבין הסימפטומים שנבדקו (האדמה/הצהבה/עלים שkopים וחוסר צמיחה סתווי) הייתה גבוהה למדי (63% בשני המקרים). יחד עם זאת, ישנו עדין 37% חמחים סימפטומטיים בהם לא נמצא החידק, וגם אחוז לא מבוטל של עצים ללא סימפטומים שהו חיובים לפיטופלסמה. אלו יכולים להיות עצים בהם הנגיעות היא עדין לטנטית, כמו במקרה הנוכחי כבר מאלס את הצמחים, אך תסמיini המחלה טרם נראים או חוסר רגישות של זנים אלו לפיטופלסמה. בזן עדין שנבדק בשנת המחקר הנוכחית נמצא התאמה של 90-100% מהתסמיינים לנוכחות הפטוגן, שהתבטאה בתסמיini האדמה של העלים וניזון כליל של העץ.

ג. **חיפוי וקטורים פוטנציאליים.**

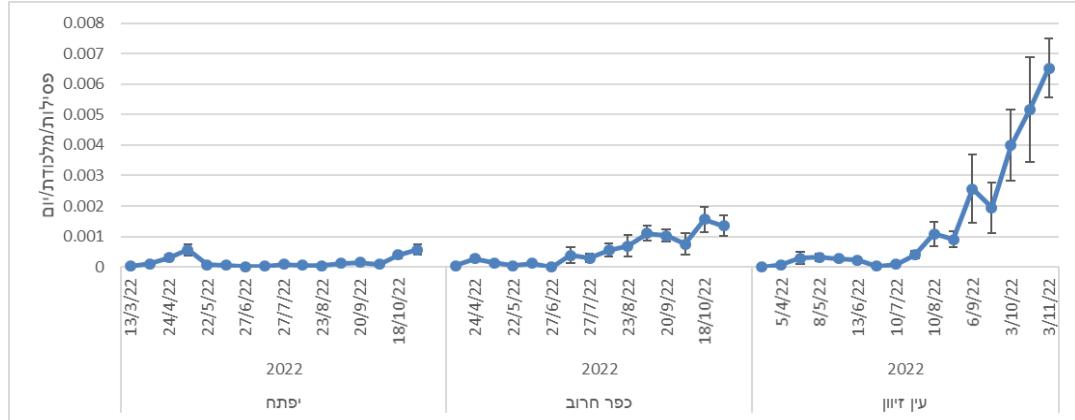
**לצורך חיפוי וקטורים פוטנציאליים** במטעים ובסביבתם, הוצבו בשנת המחקר הראשונה בכל חלקה 3 מלכודות דבק צהובות ו 3 מלכודות דבק אדומות שנבדקו אחת לחודש. מלכודות אלו תוגברו במהלך העונה במלכודות נוספות שהוצבו בקצת השורות עם כיוון הרוח. כמו כן נערכו שאיות והכאות מעצים במטע אחד לחודש. הפסילות שנאספו נבדקו לנוכחות פיטופלסמה. לא נמצא ייעילות שונה בין המלכודות במקומות השונים. בשנות המחקר השנייה והשלישית הוצבו בחלוקת הנקרינינה והאגס 9-6 מלכודות דבק. לאחר וסילת האגס חשודה כווקטור של המחללה ופסילה זו לא אמורה להימצא במטע נקרינינה, הוצבו בשטח הצמוד לחלוקת הנקרינינה ("יסוד המעליה וכפר חרוב") מלכודות נוספות לבחינת נוכחות וקטורים פוטנציאליים בשולי החלקות ובמרכזן. המלכודות נבדקו אחת לחודש למשך כל השנה.

החל מאוקטובר 2021, לאחר שנמצא כי הסימפטום האופייני לעצי שקד נגעים בפיטופלסמה הינו התנונות של השקד בשלב התפתחות מאוחר, הוצבו בכל אחת משתי חלקיות שקד בדרום הגולן 5 מלכודות דבק לבחינת נוכחות וקטורים פוטנציאליים. גם מלכודות אלו נבדקו אחת לחודש. פסילות וציקדות (מורפומינים שאינם ציקדות "ירוקות") שנמצאו על המלכודות העברו לאפנדורפים עם אלכוהול, מיקום ומועד האיסוף נרשמו ומדגם מהמורפומינים הועבר להגדירה בשירותים להגנת הצומח. מדגם נוסף נבדק לנוכחות הפטופלסמה ב PCR. "ציקדות י록ות" שנאספו במלכודות נבדקו מדגמית למשך 2022 ולא נמצא בהן נוכחות פיטופלסמה.

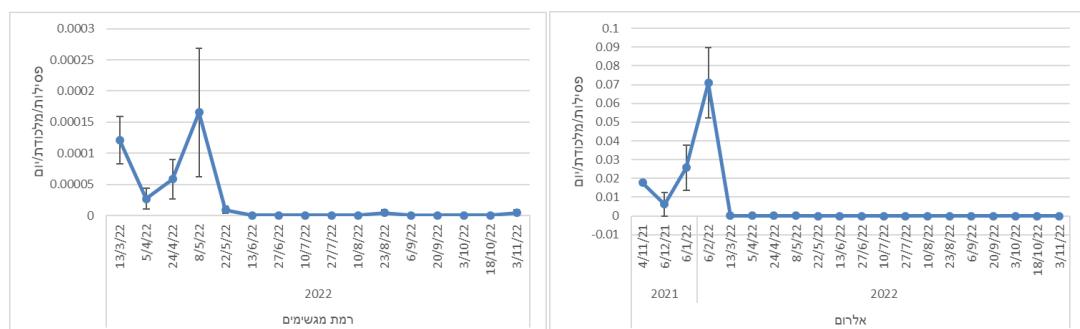
הנחת המחקר הינה שהוקטור של המחללה הינו פסילה כיוון שהקטורים של פיטופלסמה פירי הידועים עד היום הינם פסילות.

מצאנו כי פסילת האגס נמצאת במטע אגס למשך כל השנה והאוכלוסייה עולה לאחר מועד הקטיף ומגיע לשיאו בסתיו (אוקטובר 1). במטע שקד נמצאו פסילות בוגרות בחורף ובאביב (אוקטובר 2) ובמטע נקרינינה, אפרסק ודובדבן נמצאו פסילות בוגרות בחורף ובאביב ונמצא כי האוכלוסייה עולה שוב במהלך הסתיו (אוקטובר 3). באירועים מוצגים נתוני 2022.

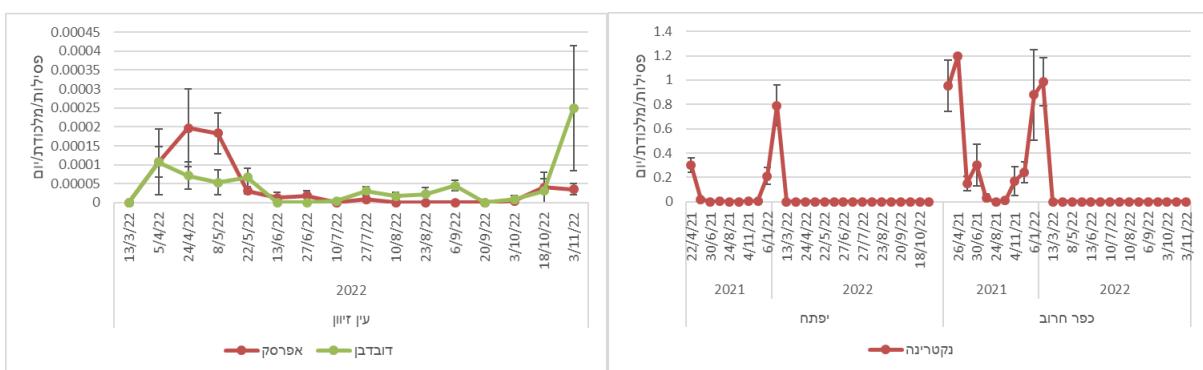
מתוך הפרטים שנלכו במלכודת נילקח מוגן בכל חדש מכל גידול ונבדק לנוכחות פיטופולסמה. בפסילות שנאספו מעתען אגס נמצאו פרטים עם פיטופולסמה לאורך כל השנה בשתי שנות המחקר ואילו במטיע הגלעינים נמצאו פסילות עם פיטופולסמה בעיר בסתו' ובחרוף (איור 4).



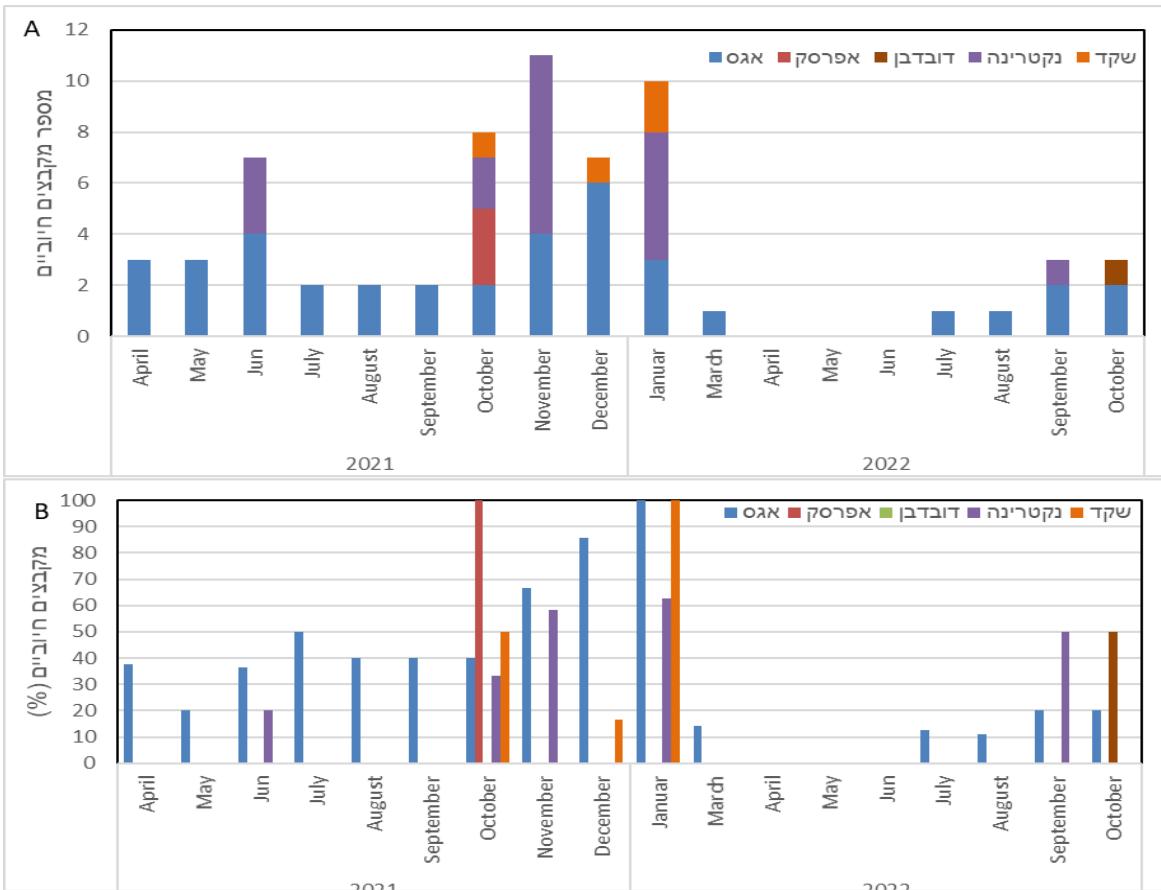
איור 1: מספר פסילות/מלחמות/יום ( ממוצע שנתי תקן) ב 2022 במטיע אס בגיל, בדרום הגולן ובצפון הגולן.



איור 2: מספר פסילות/מלכודת/יום (מוציאFFFFFFטשיגיאת תקן) מסתיו 2021 עד סתיו 2022 במטיע שקד בדروم הגולן.



א�יר 3: מס' פס'ילות/מלכודת/יום (מוציאעטשיגיאת תקן) בשנים 2021-2022 במתעני נקטרינה/אפרסק  
ודובדבן סמוכים למטע אגס



איור 4: פסילות עם פיטופלטמה בגידולים השונים לאורך השנים 2021-2022. (A) מספר מקרים חיוביים; (B) אחוז המקרים החיוביים מכלל המקרים שנבדקו.

לסיכון פיזור הווקטורים הפטנציאליים בחלוקת שונדקן לא נראה הבדל בין הגידולים במספר הציקדות (לא מוגדים הננתונים) וככפי מספר הפסילות שנמצאו באגס היה גדול הרבה יותר מאשר בשאר הגידולים. העליה במספר הפסילות באגס באוקטובר יכולה לנבוע מהפסקת הריסויים אך הסבר זה אינו מספיק מכך ובמრבית חלקות האגס נפסיק הריסויים עם הקטיף בחודשים יוני וולי. חיזוק לכך שינוי עליה באוכלוסיות הפסילות בסתיו שאינה תלוי רק במשטר הריסויים נמצא בעלייה אשר נפתחה בונוכחות הפסילות גם בשולחן החלות הנקטרינה.

מעניין לציין שבנקטרינה נמצאו בתוך החלקות פסילות במספרים גבוהים יחסית בסוף החורף והאביב גם ב-2021 וגם ב-2022. ממצא דומה נמצא גם בשקד ובדובדבן בהם נראהתה עלייה של אוכלוסית הפסילות בסוף הסתיו ובמהלך החורף והאביב ולא נמצא כמעט כמעט במהלך הקיץ ותחילת הסתיו.

בחלוקת האגס נמצאה פיטופלטמה בפסילות לאורך כל השנה ואילו בגידולים האחרים נמצאה פיטופלטמה בפסילות בעיקר בסתיו ובחורף. יתרון ואילו מועד הבדיקה של גידולים אלו.

בדיקות יכולת רכישה והעברה של הפטוגן על ידי פסילת האגס – כדי לבדוק את יכולת העברה, בבית רשות שהותאם קקרנטינה בחווות המטעים הוצבו באוקטובר 2021 11 שתילים של אגס, 11 של נקטרינה ו-11 של

שקלד. השטילים נבדקו ב PCR לוודא שאינם נגועים בפיטופלסמה. בבית הרשות מערכת השקיה ודישון ייעודית ומתחבע בו עישוב וטיפולים נגד מחלות כדי לשמר את השטילים במצב טוב לארוך כל השנה. פסילות נאספו באוקטובר ממטע עין זיון מחלוקת האגס מהזן עדן בו נמצאו אחוזים גבוהים של פסילות הנושאות את הפיטופלסמה. מדגם מהפסילות נבדק לנוכחות הפיטופלסמה לקביעת אחוזי נשאות. שאר הפסילות הוצבו על השטילים הנקיים מכל שלושת הגידולים.

ב-2022 חזרנו על הניסוי באוגוסט. פסילות נאספו ביוני-יולי ממטע עין זיון מחלוקת האגס מהזן עדן בו נמצאו אחוזים גבוהים של פסילות הנושאות את הפיטופלסמה. מדגם מהפסילות נבדק לנוכחות הפיטופלסמה לקביעת אחוזי נשאות. שאר הפסילות הוצבו על שטילים נקיים (5 שטילים מכל גידול). על כל שטיל הוצבו 10 פסילות בשקיית רשת למשך שבועיים. לאחר מכן הורדו הפסילות מהשטילים וניבדקوا ב PCR לנוכחות פיטופלסמה. השטילים נשמרו באגף אחר הקרןינה וניבדקו לאחר כחץ שנה ממועד ההדבקה ב PCR לנוכחות הפיטופלסמה.

הشتילים שאוכלסו בפסילות באוקטובר 2021 נבדקו לנוכחות פיטופלסמה בדצמבר 2021 ולא נמצאה בהם פיטופלסמה ואילו בבדיקה שנערכה ביוני 2022 (כ 8 חודשים לאחר ארוע ההדבקה) נמצאו 4 שטילי אגס נגועים בפיטופלסמה מתוך 10 שהודבקו. בשטילי השקלד והנקטרינה לא נמצאה פיטופלסמה. בבדיקה שנערכה בסוף נובמבר לשטילים שהודבקו באוגוסט 2022 (כ 3 חודשים לאחר ארוע ההדבקה נמצא שטיל אגס אחד נגוע (~20%). הבדיקה לשאר השטילים ימשכו גם בשנה הבאה מאוחר ומשך הזמן, כפי שראינו בשנה הקודמת יכול להיות לפחות 8 חודשים.

### מסקנות הממחקר

בכל שלושת הגידולים (נקטרינה/אפרסק, אגס ושקלד) נמצא אותו טיפוס של פיטופלסמה (*Candidatus Phytoplasma* *pyri*) ולא נמצאו טיפוסים נוספים. תסמייני המחללה שונים בין הגידולים ובין זנים שונים של אותו הגידול ובמהלך הממחקר הם אופיינו ואושר הקשר בין התסמיינים שנמצאו לנוכחות הפתוגן באחוזי התאמת גבוהים. בין עדן אחוז העצים הנגועים גבוה גם בנטיעות חדשות.

פסילות עם הפיטופלסמה נמצאו לאורך כל השנה במטעי אגס כאשר בין עדן אחוז הפסילות הנשאיות הינם כ 70% מכלל הפסילות שנבדקו. בחלוקת נ侃טרינה/אפרסק, שקלד ודובדבן שנמצאו בסמיכות למטעי אגס נמצאו פסילות עם פיטופלסמה בעיקר בסתיו ובחורף ותחילת האביב.

בניסוי הדבקה מצאנו כי פסילת האגס מרווה וקטור לפיטופלסמה פירி באגס והוא בודק את ריויתה וקטור גם לגידולים נוספים, ארכ, מאחר וכי נכתב לעמלה, נמצא פרטיהם הנושאים את הפיטופלסמה גם בגידולים האחרים הרי שיתכן וחלקות האגס ובעיקר חלקות מהזן עדן יכולות להוות מקור מדבק לגידולים סמוכים. ממצאים אלו מחיבים לבנית פרוטוקול התמודדות עם פסילת האגס גם בגידול גלענין בעיקר כאלו המציגים בסמיכות לחקלות אגס.

המידע פורסם במאמר Zisovich, A., Dror, O., Sharon, R., & Bahar, O. (2022). 'Candidatus Phytoplasma pyri'detection in symptomatic nectarine and peach trees in northern Israel' , בכתבי מגדלים של מז"פ צפון, בקורס פיקחים של ש"מ ובסיו"ר מגדלים.

#### ביבליוגרפיה:

- Bertaccini A. 2007. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience* 12, 673-689.
- Boudon-Padieu, E. (2003). The situation of Grapevine Yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, spreading and control. *14th meeting of ICVG*, pp. 47-53.
- Bradel, B. G., Preil, W., & Jeske, H. (2000). Remission of the Free-branching Pattern of *Euphorbia pulcherrima* by Tetracycline Treatment. *Journal of Phytopathology*, 148(11-12), 587-590.
- Bressan, A., & Purcell, A. H. (2005). Effect of benzothiadiazole on transmission of X-disease phytoplasma by the vector *Colladonus montanus* to *Arabidopsis thaliana*, a new experimental host plant. *Plant disease*, 89(10), 1121-1124.
- Christensen, N. M., Axelsen, K. B., Nicolaisen, M., & Schulz, A. (2005). Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in plant science*, 10(11), 526-535.
- Civolani, S., & Pasqualini, E. (2003). *Cacopsylla pyri* L.(Hom., Psyllidae) and its predators relationship in Italy's Emilia-Romagna region. *Journal of Applied Entomology*, 127(4), 214-220.
- Ćurković Perica, M. (2008). Auxin-treatment induces recovery of phytoplasma-infected periwinkle. *Journal of applied microbiology*, 105(6), 1826-1834.
- Etropolska, A., Jarausch, W., Jarausch, B., & Trenchev, G. (2015). Detection of European fruit tree phytoplasmas and their insect vectors in important fruit-growing regions in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(6), 1248-1253.
- Firrao, G., Garcia-Chapa, M., & Marzachì, C. (2007). Phytoplasmas: genetics, diagnosis and relationships with the plant and insect host. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 12, 1353-1375.
- Gross, J., Gallinger, J., & Rid, M. (2019). Collection, identification, and statistical analysis of volatile organic compound patterns emitted by phytoplasma infected plants. In *Phytoplasmas* (pp. 333-343). Humana Press, New York, NY.
- Gribaudo, I., Ruffa, P., Cuozzo, D., Gambino, G., & Marzachì, C. (2007). Attempts to eliminate phytoplasmas from grapevine clones by tissue culture techniques. *Bulletin of Insectology*, 60(2), 315.
- Hogenhout, S. A., Oshima, K., AMMAR, E. D., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., & Namba, S. (2008). Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology*, 9(4), 403-423.
- Horton, D. R., & Landolt, P. J. (2007). Attraction of male pear psylla, *Cacopsylla pyricola*, to female-infested pear shoots. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 123(2), 177-183.
- Křížan, B., Moravcová, K., Ondružková, E., Adam, M., Holleinová, V., & Pidra, M. (2006). Thermotherapy of grapevines and apricots by reason of viruses and phytoplasma elimination. In *XX International Symposium on Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops-Fruit Tree Diseases 781* (pp. 93-96).

- Krysan, J. L., & Horton, D. R. (1991). Seasonality of catch of pear psylla *Cacopsylla pyricola* (Homoptera: Psyllidae) on yellow traps. *Environmental Entomology*, 20(2), 626-634.
- Lee, I. M., Bottner, K. D., Munyaneza, J. E., Secor, G. A., & Gudmestad, N. C. (2004). Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SrVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant disease*, 88(4), 429-429.
- Lherminier, J., Benhamou, N., Larrue, J., Milat, M. L., Boudon-Padieu, E., Nicole, M., & Blein, J. P. (2003). Cytological characterization of elicitin-induced protection in tobacco plants infected by *Phytophthora parasitica* or phytoplasma. *Phytopathology*, 93(10), 1308-1319.
- Liao, Y. C., & Yang, M. M. (2015). Acoustic communication of three closely related psyllid species: a case study in clarifying allied species using substrate-borne signals (Hemiptera: Psyllidae: *Cacopsylla*). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(5), 902-911.
- Maixner M. 2006. Grapevine yellows - Current developments and unsolved questions. *15th Meeting ICVG, Stellenbosch, South Africa* p. 3-7.
- Mori, K. (2011). Pheromone synthesis. Part 247: New synthesis of the enantiomers of 13-methylheptacosane, the female sex pheromone of pear psylla, *Cacopsylla pyricola*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 22(9), 1006-1010.
- Mori, N., Pavan, F., Bondavallier R., Reggiani, N., Paltrinieri S. and Bertaccini A. (2008) Factors affecting the spread of "Bois Noir" disease in north Italy vineyards. *Vitis* 47, 65-72.
- Musetti, R., Scaramagli, S., Vighi, C., Pressacco, L., Torrigiani, P., & Favali, M. A. (1999). The involvement of polyamines in phytoplasma-infected periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) plants. *Plant Biosystem*, 133(1), 37-45.
- Orenstein, S., Zahavi, T. and Weintraub, P.G. 2003. Distribution of phytoplasmas in wine grapes in the Golan Heights, Israel and development of a new universal primer. *Vitis* 40, 219-223.
- Oropeza, C., Cordova, I., Chumba, A., Narváez, M., Sáenz, L., Ashburner, R., & Harrison, N. (2011). Phytoplasma distribution in coconut palms affected by lethal yellowing disease. *Annals of Applied Biology*, 159(1), 109-117.
- Pollini, C. P., Bissani, R., & Giunchedi, L. (2001). Occurrence of European Stone Fruit Yellows Phytoplasma (ESFYP) Infection in Peach Orchards in Northern-Central Italy. *Journal of Phytopathology*, 149(11-12), 725-730.
- Romanazzi, G., D'Ascenzo, D., & Murolo, S. (2009). Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir. *Journal of Plant Pathology*, 677-682.
- Soroker, V., Talebaev, S., Harari, A. R., & Wesley, S. D. (2004). The role of chemical cues in host and mate location in the pear psylla *Cacopsylla bidens* (Homoptera: Psyllidae). *Journal of Insect Behavior*, 17(5), 613-626.
- Weintraub P.G. and Beanland L. (2006). Insect vectors of phytoplasmas. Annual Review of Entomology 51:91-11.
- Zahavi T., Sharon R., Mawassi M. and Naor V. (2009). Long term effects of Stolbur phytoplasma on grapevines in Israel. *16th ICVG meeting*, 147-148.