

פיתוח שיטות סרולוגיות לזיהוי מהיר של מחלות הדריס

מ. בריוסף המעבדה לוירולוגיה, מינהל המחקר החקלאי

להגנת הצומח) בהיקף נרחב, כ-400-1,000 בדיקות יומיות. באמצעות מבחן ה-ELISA איתרנו במקוה ישראל מוקד חדש ובו 422 עצי שמוטי בני 50, מורכבים על כנת חושש, הנגועים במחלת הטריסטזה (2). העצים הנגועים נמצאו בשתי חלקות, מפורזים בקבצים המעידים כי היתה שם התפשטות טבעית באמצעות וקטור. הנחה זו אומתה בניסויי העברה מעבדתיים, בהם נמצא כי כנימת הדילועיים מעבירה ביעילות תבדידים שנאספו בחלקות הנגועות. העצים הנגועים במקוה ישראל לא נראו שונים מעצים הבריאים מבחינת גודל העץ, מצב העלה, עומס הפרי וצורת האיתוי במעבר כנה ורוכב. כיון שאין להניח כי נגיעות בהיקף האמור התפתחה תוך זמן קצר, הועלה החשש כי עצים אלה נגועים בגזע בעל אלימות נמוכה לצורך הנ"ל. יתכן כי גם במקומות נוספים בארץ קימת נגיעות סמויה של טריסטזה. בסקרים ראשוניים שערכנו, בשיתוף פקחי המועצה לשיווק פרי הדר, בכ-3,000 נקודות דגימה המפוזרות על 200,000 דונם במרכז הארץ (5) עצים בכל נקודת דגימה, נמצאו 4 מוקדי נגיעות חדשים. בהנחה של כ-5% נגיעות בחלקה ניתן לחשב כי בשטח הנדגם מצויות 12-20 חלקות נוספות (0.4% - 0.6%) שלא אותרו בסקר.

בסקר אחר, בו נבדקו חלקות המדגם המשמשות להערכת יכולת הפרדסים בארץ (חלקות המדגם של הלשכה המרכזית לסטטיסטיקה והמועצה לשיווק פרי הדר), נמצאה נגיעות בחלקה אחת מכלל 176 החלקות שבדקנו (0.6%). בסקר זה נבדקו כ-50 עצים בכל חלקה ומדגם זה יגלה בסיכוי של 90% שיעור נגיעות של 5%. ההתאמה בהערכת הנגיעות בשתי השיטות מעידה כי אומנם הטריסטזה נפוצה במספר מוקדים באזור המרכז אך בשלב זה שיעור העצים הנגועים נמוך. (בריוסף, אורן, זקס וכהן 1979-טרם פורסם).

רגישות השיטה מאפשרת לזהות את הנגיף בשאריות העוקץ הצמודות לפירות שמוטי וולנסיה

נזקי מחלות וירוס וספירופלסמה (גורם העלעלת) מוכרים לפרדסנים, אך בשלב זה אין דרכי הדברה כימית נגד מחוללי מחלות אלו. ההצלחות הטיפוליות הידועות עד כה הושגו ע"י:

- (1) אלימינציה של מוקדי הדבקה.
- (2) ניקוי מקורות הריבוי (ע"י טיפול טרמי או גידול אמירי).
- (3) בירור וטיפול כנות וצירופי כנה ורוכב עמידים.

להשגת מטרות אלו חשובה דיאגנוזה מהירה ואמינה, הניתנת לישום בהיקף רחב, במיוחד כאשר יש לנו ענין למנוע התבססות מחלות חדשות בארץ וכן בבדיקות שוטפות של חומר ריבוי וגטטיבי, שלגביו קימת סכנה של אילוח מחודש.

בעבודה משותפת עם ד"ר ס. גרנסי וד. גונסלוס מפלורידה, נמצא כי שיטה סרולוגית חדשה, ELISA, מתאימה לזיהוי מהיר של וירוס הטריסטזה של הדר (3,1). השיטה מבוססת על בידוד נוגדנים סגוליים וקשירתם הכימית לאנזים פוספטזה אלקלית, באמצעותו משנה המצע את צבעו במידה ובתמיסת המיצוי מתגלה וירוס או מעורר נוגדנים אחר, נגדו הוכן הנסיוב הסגולי. ה-ELISA נמצאה יעילה בזיהוי גזעים שונים של הטריסטזה בארץ ובפלורידה (3) כולל גזעים מקבוצת ה-Seedling swolley וגזעים רגילים ואף לגזע AT, הקשה לזיהוי במבחן אינדיקטורי של צמחי לימה.

בבחינת רקמות שונות, מבחינת התאמתן למיצוי הנגיף, התברר כי ערכי ה-ELISA המתקבלים במיצוי עוקץ הפרי גבוהים מאלה של עלים, קליפות ענפים או חלקי פרי. תוצאות אלה תואמות את ממצאי הבדיקות המיקרוסקופיות (3).

ערכי ה-ELISA הגבוהים ברקמות עוקץ הפרי מאפשרים בדיקה משולבת של 4-5 עצים מכל דגם. השיטה מהירה משיטות המבחן שהיו מקובלות בעבר ובשנה האחרונה היא מופעלת בתכנית ביעור הטריסטזה (בשיתוף המחלקה להדריס שה"מ והאגף

immunosorbent assay for detection of citrus tristeza virus. *Phytopathology* 69, in press.

4. Bar-Joseph M., Sacks M. and Garnsey S.M. (1978). Detection and estimation of citrus tristeza infection rates based on ELISA assays of packing house fruit samples. *Phytoparasitica* 6, 145-149.

5. Bar-Joseph M., Moscovitz M., and Sharafi J., (1979). Re-use of coated plates in enzyme-linked immunosorbent assays. *Phytopathology* 69, in press.

6. Bar-Joseph M., Sharafi J. and Moscovitz M. (1979). Re-using the non sandwiched conjugates of two plant viruses tested by ELISA PL. *Dis. Repr.* 63, 204-206.

7. Clark M.F., Flegg C.L., Bar-Joseph M., and Rottem S. (1978). The detection of *Spiroplasma citri* by ELISA. *Phytopath.* Z. 92, 332-337.

8. Nachmias A., Bar-Joseph M., Solel Z., and Barash I., (1979). Diagnosis of Mal-Secco (*Phoma tracheiphila*) in lemon by ELISA. *Phytopathology* 69, in press.

קטופים (4). ממדגמים של 5 פירות שמוטי, שנאספו ממכל קטיף (350 ק"ג) בשני פרדסים נגועים במקוה ישראל, ניתן היה לחשב נגיעות של 1% ו-11%, לעומת שיעור של 1% ו-16% בהתאם, שנמצא בסקר נפרד של עצים בחלקה זו.

מאידך, 360 מיכלי קטיף, שנאספו מפרדסים חופשיים מטריסטזה, נתנו ערכי ELISA הדומים לביקורת חופשית. מתוצאות אלה ניתן להסיק כי ה-ELISA עשויה לשמש לסקרים אפידמיולוגיים נרחבים כאשר המדגמים נאספים במרוכז בבתי אריזה. נושא זה יבדק שנית השנה בהיקף נרחב במספר בתי אריזה הסמוכים למוקדים ידועים של טריסטזה.

שכלולים שהנהגנו לאחרונה (6,5) מאפשרים את ישום ה-ELISA בסקרים נרחבים תוך חיסכון ניכר במרכיבי השיטה (תבניות, נסיוב ואנזים). בעבודה משותפת עם ד"ר מ. קלרק מאיסט מולינג אנגליה וד"ר ש. רותם מבית הספר לרפואה בירושלים, מתברר כי ניתן לזהות בשיטת ה-ELISA את גורם העלעלת בקליפות הזרע של פירות נגועים אך לא בחלקי צמח אחרים (עלים, ענפים ופרחים) (7).

בעתיד הקרוב יתרכז המחקר בהגברת רגישות ה-ELISA לזיהוי כמויות קטנות יותר של גורם העלעלת ובפיתוח נוגדנים סגוליים נגד מחלות הדורים נוספות, כמו פקלת, אבנת ונקרון העצה. טווח השגת המטרות הנ"ל קשה לחיזוי כיון שחסרה בשלב זה אינפורמציה בסיסית אודות אופי ומבנה גורמי המחלות הנ"ל.

כללית נראה כי ה-ELISA מהווה כלי דיאגנוסטי רב-שימושי, המאפשר זיהוי מהיר של מחוללי מחלות הדורים מקבוצות שונות, כולל וירוסים, ספירופלסמה ופטירות (8). השיטה תאפשר בעתיד קבלת אינפורמציה ופיקוח פיטוסניטרי יעיל בפרדסים.

ספרות

1. בר-יוסף מ., מוסקוביץ מ., גרנסי ס., גונזלוס ד., לובנשטיין ג., (1978). זיהוי מהיר של טריסטזה בעצי שמוטי בשיטה סרולוגית, השדה. כרך נ"ח 457-460, 1977.

2. בר-יוסף מ., אורן י., מוסקוביץ מ., אשל ג., סמפולינסקי א., שרפי י. מקרים חדשים של טריסטזה במקוה ישראל. עלון הנוטע, 1978.

3. Bar-Joseph M., Garnsey S.M., Gonsalves, D., Moscovitz M., Purcifull D.E., Clark M.F. and Lobenstein G. (1979). The use of enzyme linked

שתילי

ליטשי

מהזנים העיקריים מוכנים לנטיעה

בהזמנות נא לפנות אל:

מרכז המשק

מושב שיתופי

הבונים

טלפון: 04-942334