

יעילות קומפוסטציה לקטילת מידבק ויראלי בצמחי פלפל נגועים

ב- Pepper Mild Mottle virus (PMMV)

מוגש ע"י חזי אנטיגנוס¹, מלי פרלסמן¹, עודד לכמן¹, מיכאל רביב² וארקדי קרסנובסקי²

¹היחידה לוירולוגיה מכון וולקני בית דגן, ²המחלקה לצמחי נוי, מרכז מחקר נווה יער
מינהל המחקר החקלאי

23-12-09

תאור הבעיה

שטחי הגידול של פלפל בערבה מגיעים להיקף של 17000 דונם ועל גידול זה מבוססת פרנסתם של מרבית חקלאי האזור. שטחי גידול נרחבים אלו מייצרים מידי שנה כ- 20000 מ"ק של ביומאסה הכוללת את שאריות הצמחים אותן יש לפנות מבתי הגידול. הצטברות של חומר צמחי בהיקפים כאלו עשויה להוות מפגע פיטוסניטרי ולגרום לנזקים אקולוגיים נוספים. מאחר ששריפת הצמחים נאסרה בחוק מסיבות של איכות הסביבה והטמנה אינה באה בחשבון בשל הנפחים העצומים והעלות הכרוכה בכך, חלופת הקומפוסטציה נראית כדרך המבטיחה ביותר. בנוסף לכך, הערבה "מייבאת" כמויות קומפוסט גדולות מהצפון לשם טיוב הקרקעות בחומר אורגני וייצור קומפוסט מקומי עשוי לחסוך הוצאות הובלה ניכרות. יצור קומפוסט מאפשר ניצול יעיל של חומר הגלם הצמחי תוך מחזורו. עליית מחירי הדשנים בשוק העולמי מגבירה את המוטיבציה לשימוש בקומפוסטים כתחליף לדשן יקר. גורם נוסף המעודד שימוש בקומפוסטים הוא יכולת רבים מהם, לרבות קומפוסטים שיוצרו משאריות צמחי פלפל, לסייע במניעת מספר מחלות קרקע (Yogev et al., 2009). על מנת לאפשר שימוש חוזר בחומר צמחי יש להבטיח שהקומפוסט המיוצר ממנו לא ישמש כנשא של פתוגנים העשויים להתפשט בעת פיזורו. PMMV הוא וירוס התוקף פלפל ונמצא בעולם כולו (Wetter et al., 1984). הוירוס מתפשט ביעילות ע"י מעבר בזרעים ובמגע מכני של כלי עבודה וידי הפועלים. הוירוס יכול לשרוד בקרקע למשך תקופה ארוכה הן כוירוס הספוח לחלקיקי הקרקע והן בשאריות צמחים. שתילת צמחים בקרקעות מאולחות תגרום להדבקת השתילים דרך מערכת השורשים, מצב העשוי להוביל למגפה וגרימת נזק כלכלי ניכר (Broadbent, 1965; Broadbent et al., 1965; Mandahar, 1990). שימוש בקומפוסט המיוצר מצמחים נגועים בוירוס יכול להיות גורם מחולל מגפה במידה שתהליך הקומפוסטציה לא יגרום לדעיכת המידבק הויראלי אל מתחת לסף הנדרש להדבקה.

מטרת העבודה

בחינת יכולתו של תהליך הקומפוסטציה לקטול מידבק ויראלי של PMMV שמקורו בצמחי פלפל נגועים בוירוס, המשמשים כחומר גלם להכנת הקומפוסט.

שיטות וחומרים

חומר הגלם:

להכנת הקומפוסט שימשו צמחי פלפל שנעקרו מחלקה במושב עין יהב שמרבית הצמחים בה היו נגועים בגזע P₁₂₃ של -PMMV. נוף הצמחים על שורשיהם רוסק מיד לאחר העקירה בעזרת מרסקת גזם תמרים.

דוגמה של מספר קילוגרמים של חומר המוצא לא עברה את תהליך הקומפוסטציה והיא הוחזקה לכל אורך הניסוי במיכל פלסטי בחדר קור בטמפרטורה של 4⁰ כשהיא משמשת ביקורת זמן '0' שאליה

השוויות רמת האינפטיביות של הקומפוסט בכל אחד ממועדי הדגימה. השוואה זו שימשה כמדד לדעיכת המידבק הויראלי בקומפוסט כתוצאה מתהליך הקומפוסטציה.

יתרת החומר (כ-2.6 מ"ק) הועברה לנווה יער. חשוב להדגיש כי ריסוק החומר הצמחי לא היה טוב, וחלקי צמחי גדולים (ענפים באורך של כ-20 ס"מ) נמצאו בו לרב. חומר זה עורבב עם זבל בקר (זבל חצרות) בנפח של כ-2.3 מ"ק. התערובת הורטבה עם 218 ליטר מים והוכנסה למתקן הקומפוסטציה. מידות המתקן: 2.5 מ' אורך, 1.6 מ' רוחב. התא מוקף משלשה כיוונים בלבני איטונג (לקבלת בידוד טרמי). התא סגור מצידו הקדמי בעזרת רפפות עץ הניתנות לפתיחה לצורך הפיכת הקומפוסט. התא מוגן מפני גשם ושמש ע"י קירוי. בקרקעית התא נמצאת רשת צינורות מחוררים המאפשרים החדרת אויר לתוכו. מטרת האוורור: שמירת טמפרטורה רצויה ומניעת תנאים אנאירוביים. הצינורות מחוברים למפוח שספיקתו 400 מ"ק לשעה. בתחילת התהליך הופעל המפוח לדקה מדי שעה. לאחר עליית הטמפרטורה, טמפרטורת הסף להפעלת המפוחים נקבעה ל-65 מ"צ. בנוסף לאוורור בוצעו במהלך הקומפוסטציה 3 הפיכות בעזרת מהפך קדמי בתאריכים 23.3, 3.5 ו-29.6. מטרת ההפיכה היא החדרת חומר עליון – יבש וקר יותר, ללב הערימה, כך שייחשף לתנאי קומפוסטציה טובים יותר ולטמפרטורות גבוהות יותר, ואכן, לאחר כל הפיכה נצפתה עליה מסוימת בטמפרטורה, שדעכה, כמובן, בהמשך. לאורך השלב התרמופילי של התהליך הוספו לקומפוסט מים במטרת לשמור תכולת רטיבות של כ-55%. בהמשך התאפשרה הורדת תכולת הרטיבות באופן ספונטאני. מלבד גשש הטרמוסטט הממוקם בעומק של 40 ס"מ, הוצב בסמוך גם גשש המחובר לאוגר נתונים, הרושם נתוני טמפרטורה אחת ל-5 דקות. בנוסף הוצבו שני מדי טמפרטורה נוספים במיקומים שונים בערימה. נעשה חישוב ממוצע יומי של כל הגששים.

דגימות חומר נלקחו עם התחלת הקומפוסטציה, לאחר שבועיים ובהמשך מדי ביצוע הפיכה. בחלק מהמקרים נופו הדגימות למקטעי גודל – מעל ומתחת 2 ס"מ. הדבר נעשה על מנת לדמות את המצב המקובל באתרי קומפוסט, בהם מבוצע סינון דומה. באתרים אלו החומר הגס (שאינו בשל ואינו רצוי לחקלאים) ממוחזר למחזורי הקומפוסטציה הבאים. הקומפוסט הוכרז כבשל לאחר ירידת הטמפרטורה הממוצעת אל מתחת ל-35 מ"צ, ב-20.8.09. במועד זה נלקחו דגימות הן לבחינת הוירוס, והן לבדיקות כימיות, להערכת ערכו האגרונומי של הקומפוסט המוכן.

שיטת הדגום: בזמן אפס נלקחו 4 דגימות. בכל אחד ממועדי ההפיכה, וכן עם הכרזת הקומפוסט כבשל נלקחו דגימות מ-10 נקודות שונות בערימת הקומפוסט, בעומקים שונים על מנת לייצג רמות שונות של חשיפה לטמפרטורות גבוהות. העומקים שנבחרו היו: 5-10 ס"מ ו-40-50 ס"מ. הדגימות אוחדו וסוננו לשני מקטעי גודל: קטן וגדול מ-19 מ"מ.

תאריכי הדגום

תהליך הקומפוסטציה החל בתאריך 25-02-09

דגימה מס' 1 : בתאריך 10-03-09 (13 יום לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה)

דגימה מס' 2 : בתאריך 23-03-09 (26 יום לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה)

דגימה מס' 3 : בתאריך 03-05-09 (67 יום לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה)

דגימה מס' 4 : בתאריך 29-06-09 (124 יום לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה)

דגימה מס' 5 : בתאריך 20-08-09 (176 יום לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה)

הפקת הוירוס :

הפקת הוירוס מהקומפוסט נעשתה כדלקמן :

1. מיצוי הוירוס נעשה מ-200 גר' קומפוסט שנדגם במועדים השונים לאורך תהליך היצור. החומר רוסק בכלנדר בנוכחות 150 מ"ל של בופר פוספט 0.1M pH 7.

2. הרסק סונן דרך גזה ועבר סרכוז נמוך (8000 rpm) להרחקת החומר הגס. איסוף תסנין.

3. ערבוב עם נפח שווה של chloroform/butanol (1:1) למשך 10 דקות ב-4⁰ ואח"כ סרכוז נמוך ב-8000 rpm. איסוף תסנין.

4. הרצה באולטרה צנטריפוגה למשך 90 דקות. הרחקת התסנין והרחפת המשקע בבופר פוספט 0.01M pH 7.

המשקע הסופי שהתקבל בתהליך ההפקה הורחף בנפח סופי של 3 מ"ל בבופר פוספט 0.01M pH 7.

כך שריכוזו של הוירוס בתכשיר היתה גבוהה פי שבעים בערך מריכוזו בקומפוסט הנבדק.

זיהוי הוירוס :

נוכחות PMMV בתכשירים שהופקו מהקומפוסט כמתואר לעיל הוכחה ע"י בדיקה במיקרוסקופ אלקטרוני חודר, ע"י הדבקה לצמחי בוחן ו/או בדיקת ELISA עם אנטיסרום ספציפי ל-PMMV.

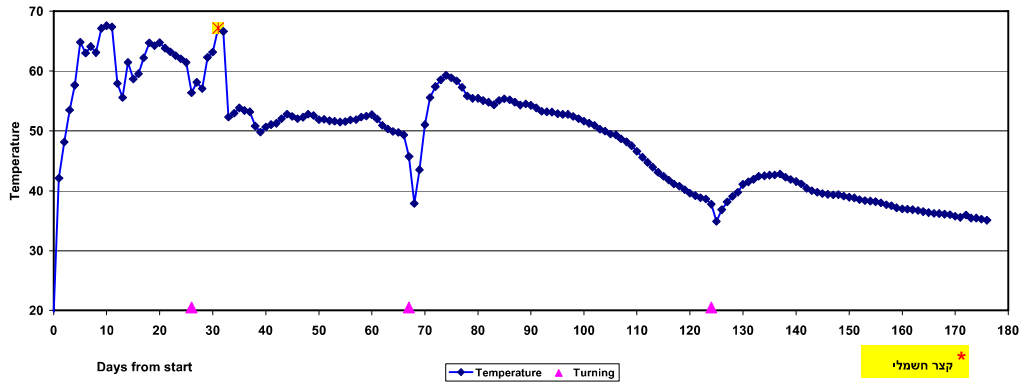
צמחי הבוחן אשר שימשו לניטור הוירוס בקומפוסט היו *Nicotiana glutinosa* המגיבה להדבקה ב-PMMV ביצירת נקפים נקרוטיים (LL) ו-*Nicotiana benthamiana* שרגישותה ל-PMMV גבוהה והיא מאפשרת יצירת אינפקציה סיסטמית של ריכוזי וירוס שאינם ניתנים לגילוי בהדבקה על צמחי גלוטינוזה.

בחינת כשר ההדבקה של הקומפוסט לאחר השלמת תהליך הקומפוסטציה

מאה צמחי פלפל מהזן 7158 שאינם עמידים ל-PMMV P₁₂₃ (גזע הוירוס הנפוץ בישראל) נשתלו בעציצים שמולאו בקומפוסט הנבדק, כשהוא מעורב בפרלייט ביחס של 1:1. שתילי הפלפל נשלפו ממגש חישתיל ובנוסף לכך ציצת השורשים שלהם נגזרה בעזרת מספריים, על מנת להגדיל את רגישותם להדבקה דרך מערכת השורשים. השתילה נערכה בתאריך 25-10-09. ארבעים וחמישה ימים לאחר מכן נלקחה דגימת עלה מכ"א מהצמחים אשר השתתפו בניסוי והיא נבדקה ב-ELISA לנוכחות PMMV.

תוצאות

טמפרטורת הסף הושגה ב- 2.3.2009 (איור 1). ב 23.3 בוצעה הפיכה ראשונה. בסוף השבוע שלאחר הפיכה זו חל קצור חשמלי ולא הייתה עבודת מפות. כתוצאה, הטמפרטורה הממוצעת עלתה מאד. כצפוי במקרים אלו, לאחר חידוש פעולת המפוח ירדה הטמפרטורה באופן חד. בהמשך נצפתה התנהגות נורמאלית של טמפרטורת הקומפוסט.



איור 1: מהלך הטמפרטורה הממוצעת לאורך תקופת הקומפוסטציה.

תכולת הרטיבות של הקומפוסט נשמרה לאורך 50 הימים הראשונים של התהליך בתחום של 50-60%. בהמשך, היא נשמרה בתחום 40-50% עד היום ה- 118 לתהליך. לאחר מכן הוספו כמויות מים מזעריות ותכולת הרטיבות ירדה בהדרגה לסביבות 30%. סה"כ הוספו 1258 ליטר מים, או כ- 300 ליטר לכל מ"ק קומפוסט – כמות מקובלת בתהליכי קומפוסטציה מסוג זה.

בניפוי נבדק משקלם של מקטעי הגודל השונים. לעומת מצב התחלתי שבו כ- 40% מהתערובת הכילה מקטע גס, נמצא כי עם הגעת הקומפוסט לבשלות ירד חלקו היחסי של המקטע הגס לכ- 10% מכלל הדגימה. נראה כי תהליך הקומפוסטציה היה יעיל למדי בפירוק צמחי הפלפל. חשוב לציין כי רק למקטע הדק יש ערך מסחרי, ויצרני קומפוסט נוהגים לסנן החוצה את המקטע הגס ולהחזירו למחזור קומפוסטציה נוסף.

תוצאות אנליזה כימית של המקטע הדק של הקומפוסט הבשל מובאות בטבלה 1

טבלה 1: מספר תכונות כימיות נבחרות של הקומפוסט הבשל

Tested property	
C/N	12.9
EC (dS m ⁻¹)	7.34
pH	7.4
Total OM (%)	31
Dissolved organic matter (mg L ⁻¹)	1598
Total N (%)	1.41
Total P (%)	0.83
Total K (%)	2.88
N-NO ₃ (mg L ⁻¹)/ N-NH ₄ (mg L ⁻¹)	51.9

מתוצאות הטבלה ניתן לקבוע כי הקומפוסט הגיע לדרגת הבשלה מלאה (יחס C/N נמוך, יחס חנקן/אמון גבוה) וכי מבחינה זו היא מוכן לשימוש ללא חשש. זבל החצרות בו השתמשנו היה ישן, עובדה המסבירה את השיעורים הנמוכים, יחסית, של החומר האורגני וחנוקן בקומפוסט המוגמר.

דגימה בתאריך I

הבדיקה כללה ארבע דגימות שנלקחו באקראי מאזורים שונים של ערימת הקומפוסט.

על בסיס הערכה בעזרת מיקרוסקופ אלקטרוני נמצא כי ריכוז הוירוס במיצוי מהחומר שעבר קומפוסטציה היה נמוך באופן משמעותי מזה שנמצא במיצוי מחומר הגלם שלא עבר את התהליך (תמונה A ו-B).

בדיקת האינפקטיביות של שני התכשירים ע"י הדבקה לצמחי *N. glutinosa* העלתה כי מספר הנקפים (L.L) הממוצע לצמח בתכשיר שהופק מדגימות הקומפוסט היה 2 לעומת 50-150 נקפים על צמחי הבוחן שהודבקו עם תכשיר הביקורת. תוצאה זו מצביעה על ירידה דרסטית באינפקטיביות של המידבק הויראלי שעבר תהליך קומפוסטציה.

דגימה בתאריך II

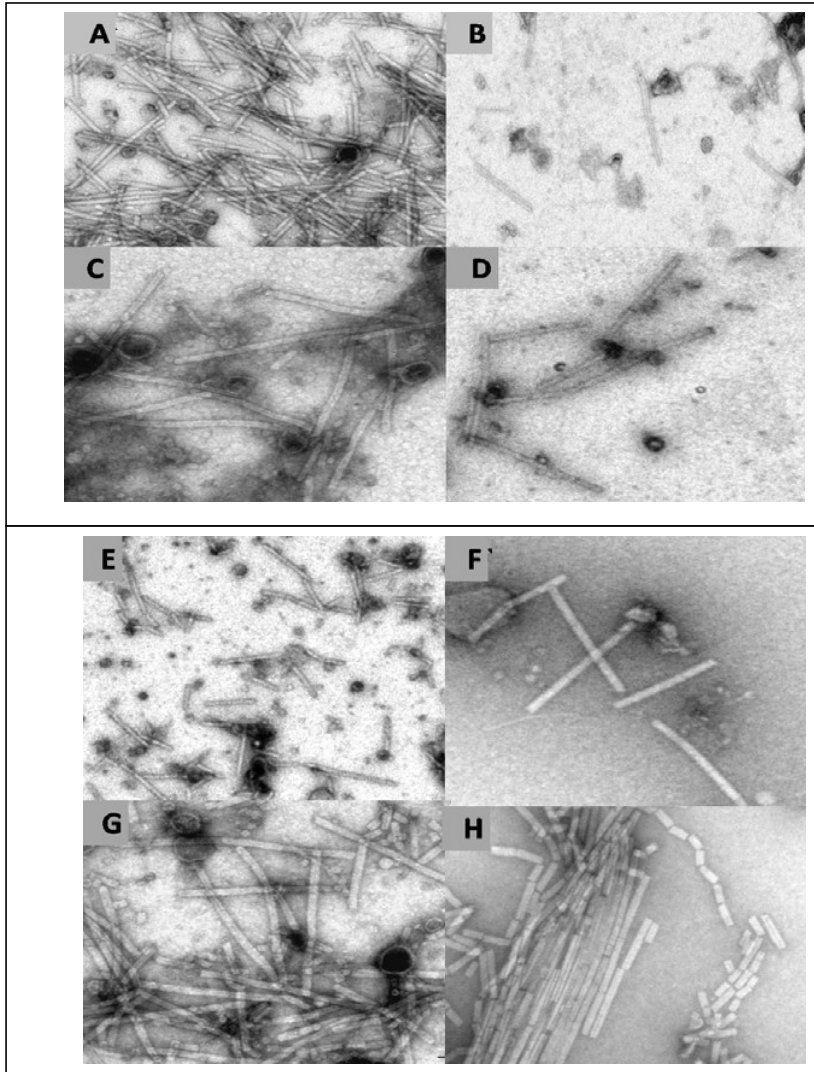
הבדיקה כללה שתי דגימות שנלקחו מערימת הקומפוסט.

ריכוז הוירוס בתכשירים שמוצו מהקומפוסט היה נמוך באופן ניכר לעומת הריכוז שהתקבל מחומר הגלם שלא עבר את תהליך הקומפוסטציה. מצב זה בא לביטוי במספר קטן יותר של חלקיקים לשדה שנצפו בטיפול זה בבדיקה המיקרוסקופית (תמונה D ו-C 3).

טבלה 2 : אנליזה ספקטרופוטומטרית (קריאת הבליעה באורך גל של 260m) לקביעת ריכוז הוירוס בתכשירי המיצוי.

OD ₂₆₀		
דוגמת קומפוסט 1	דוגמת קומפוסט 2	ביקורת חומר גלם
0.5	0.6	1.8

מנתוני טבלה 2 עולה כי ריכוזו של הוירוס בתכשירים שמוצו מדוגמאות הקומפוסט היה נמוך פי 3-3.6 מריכוז הוירוס שנמצא בתכשיר הביקורת.



תמונה 1 : בדיקה במיקרוסקופ אלקטרוניים של תכשירי וירוס אשר מוצו מדגימות קומפוסט אשר נלקחו בפרקי זמן שונים לאורך הכנתו.

- A -** מיצוי וירוס מחומר הגלם (צמחי פלפל נגועים ב-PMMV) לפני שהחל תהליך הקומפוסטציה.
- B -** מיצוי וירוס מתאריך דגימה מס' 1 (כשבועיים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה).
- C -** מיצוי וירוס מחומר הגלם שלא עבר קומפוסטציה והוחזק לאורך הניסוי בטמפ' של $4^{\circ}C$.
- D -** מיצוי וירוס מתאריך דגימה מס' 2 (כחדש לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה).
- E -** מיצוי וירוס מחומר גלם שלא עבר קומפוסטציה והוחזק לאורך הניסוי בטמפ' של $4^{\circ}C$.
- F -** מיצוי וירוס מתאריך דגימה מס' 3 (כחדשיים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה).
- G -** מיצוי וירוס מחומר גלם שלא עבר קומפוסטציה והוחזק לאורך הניסוי בטמפ' של $4^{\circ}C$.
- H -** מיצוי וירוס מתאריך דגימה מס' 4 (כארבעה חדשים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה).

בחינת האינפקטיביות של תכשירי הוירוס אשר הופקו מהקומפוסט מראה כי מספר הנקפים שהשרו תכשירים אלו בהדבקה על צמח הבוחן *N. glutinosa* היה נמוך פי 4 ממספר הנקפים שהושרו ע"י תכשיר הביקורת.

III דגימה בתאריך III

ריסוק בלתי מספיק של החומר הצמחי לפני הכנסתו לתהליך הקומפוסטציה גורם ליצירת מקטע של חומר גס הכולל בעיקר חלקי גבעול ושרשים שלא קוצצו במידה מספקת. בנוסף לכך ערימת הקומפוסט מכילה גם מקטע של חומר 'דק' שעבר קיצוץ נאות. לצורך הבדיקה שנערכה בתאריך זה נבדקה דוגמה של חומר גס ושתי דוגמאות של מקטע 'דק'. תכשירים ויראליים הופקו מכ"א מהדוגמאות הנ"ל ומחומר הגלם שלא עבר קומפוסטציה. בדיקת התכשירים במיקרוסקופ אלקטרוני מצביעה על נוכחות חלקיקי וירוס במיצוי הביקורת אך גם בתכשירים שמוצו ממקטעי הקומפוסט (תמונה 1, E ו-F).

הדבקת התכשירים לצמחי *N. glutinosa* לצורך הערכת חיוניות המידבק מצביעה כי המידבק שמוצה ממקטעי הקומפוסט עדיין שומר על חיוניותו כפי שמראות התוצאות המוצגות בטבלה 3. כמות המידבק ורמת החיוניות שלו גבוהות באופן משמעותי בתכשיר הביקורת שלא עבר את תהליך הקומפוסטציה. מספר הנקפים שהתקבלו על צמחי בוחן שהודבקו בתכשירי המיצוי מחומר 'גס' היו גבוהים לעומת מספרם על צמחים שהודבקו בחומר ה'דק' דבר המצביע על רמת מידבק גבוהה ו/או חיוניות מידבק גבוהה.

טבלה 3 : הערכת החיוניות של מידבק ויראלי שהופק ממקטעי קומפוסט 'גס' ו'דק' בהשוואה לרמת החיוניות של ביקורת חומר גלם שלא עבר קומפוסטציה. מספר הנקפים (L.L) מבטא את כמות המידבק וחיוניותו.

מס L.L				
המקטע	חומר דק	חומר דק	חומר גס	ביקורת
צמח 1	17	46	64	200
צמח 2	19	31	51	300

IV דגימה בתאריך IV

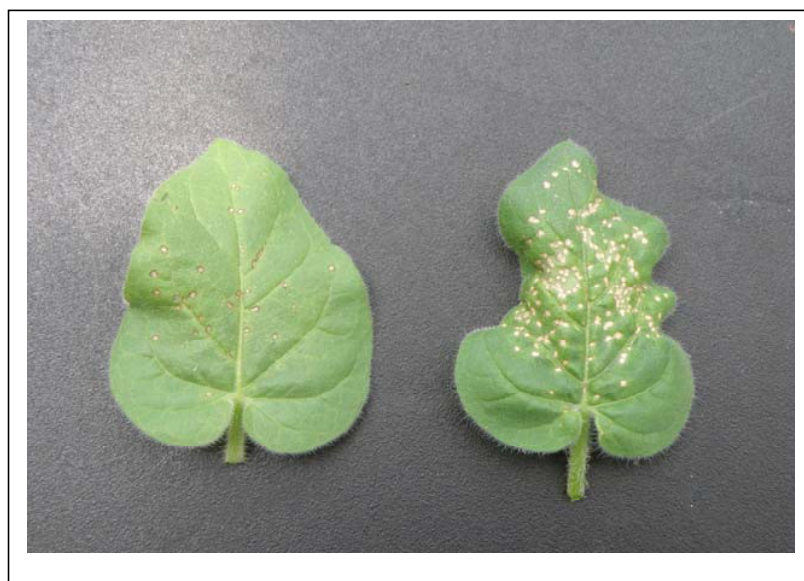
גם בתאריך זה נבדקו בנפרד המקטע ה'גס' וה'דק' של הקומפוסט. תמונה 1 מראה כי עדיין ניתן לגלות חלקיקים בתכשירים שהופקו ממקטעי הקומפוסט אך חלק ניכר מהחלקיקים שבורים (תמונה 1, G). בדיקת חיוניותם של התכשירים ע"י הדבקתם לצמח הבוחן *N. glutinosa* הראתה כי התכשיר שהופק ממקטע קומפוסט 'דק' איבד את חיוניותו (לא מוצג) בעוד שהמיצוי מהמקטע הגס גרם להדבקה (תמונה 2).

V דגימה בתאריך V

נבדקו שתי דגימות של מקטע קומפוסט 'גס' ושתי דגימות של מקטע קומפוסט 'דק'. בחינת התכשירים שמוצו ממקטעי הקומפוסט בעזרת מיקרוסקופ אלקטרוני מראה כי כל המיצויים מכילים חלקיקים בודדים בלבד (לא מוצג). כדי לבחון את כשר ההדבקה של התכשירים, הודבק כל אחד מתכשירי המיצוי לשלושה צמחי *N. glutinosa* ולשלושה צמחי *N. benthamiana* המגיבים להדבקה באינפקציה סיסטמית. נמצא כי כל התכשירים שמקורם בקומפוסט השרו במוצע L.L אחד לצמח בעוד שתכשיר הביקורת היה בעל כשר הדבקה גבוה שהביא להשראת עשרות L.L לצמח (תמונה 3).

כל התכשירים שהודבקו לצמחי *N. benthamiana* גרמו להדבקה סיסטמית של צמחי בוחן אלו.

ממצאים אלו מצביעים על כך כי למרות פרק הזמן המשמעותי שעבר מתחילת תהליך הקומפוסטציה עדיין ניתן לזהות במקטעי הקומפוסט חלקיקי וירוס בעלי כשר הדבקה.



תמונה 2 : בדיקת אינפקטיביות של PMMV בתכשיר שהופק מקומפוסט שהוכן מצמחי פלפל נגועים בוירוס. הבדיקה נערכה כארבעה חודשים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה. התכשירים הודבקו לצמחי *Nicotiana glutinosa* המגיבים להדבקה ביצירת נקפים נקרוטיים (LL).

ימין : עלה המגיב ביצירת LL רבים לאחר הדבקה בתכשיר ויראלי שמוצה מחומר גלם שלא עבר קומפוסטציה והחזק לאורך הניסוי בטמפ' של $4^{\circ}C$.

שמאל : עלה המגיב ביצירת LL מעטים לאחר הדבקה בתכשיר ויראלי שמוצה ממקטע גס של קומפוסט כארבעה חודשים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה.



תמונה 3 : בדיקת כשר ההדבקה של PMMV בתכשיר שהופק מקומפוסט שהוכן מצמחי פלפל נגועים בוירוס. הבדיקה התבצעה כשבעה חודשים לאחר תחילת תהליך הקומפוסטציה. התכשירים הודבקו לצמחי *Nicotiana glutinosa* המגיבים להדבקה ביצירת נקפים נקרוטיים (L.L).

ימין : צמח *N. glutinosa* המגיב ביצירת L.L רבים לאחר הדבקה בתכשיר שמוצה מחומר גלם שלא עבר קומפוסטציה והוחזק לאורך הניסוי בטמפ' של 4⁰ C.

שמאל : צמח *N. glutinosa* המגיב ביצירת L.L בודדים (מסומנים בחץ) לאחר הדבקה בתכשיר שמוצה מהקומפוסט כשבעה חדשים לאחר תחילת התהליך.

בחנית כושר ההדבקה של מידבק ויראלי המצוי בקומפוסט "בשל" שהוכן מצמחי פלפל נגועים ב- PMMV

הבדיקה נערכה במתכונת המתוארת בשיטות וחומרים. 45 יום לאחר השתילה נלקחו דגימות מעלים של 100 צמחי פלפל רגישים ל- PMMV שנשתלו לתוך הקומפוסט לאחר פציעת מערכת השורשים שלהם. בדיקת דגימות העלים ב-ELISA הראתה כי אף אחד מהצמחים לא נדבק ב- PMMV.

דיון ומסקנות

וירוסים הם פרזיטים מוחלטים של צמחים ולפיכך הם מסוגלים להתרבות אך ורק בתא החי. מגבלה זו מונעת מהם התרבות בשאריות צמחים וברוב המקרים חלקיקי הוירוס הנמצאים ברקמות מתות עוברים פירוק ואינם יכולים לחזור ולהדביק את הגידול החדש. יוצאי דופן בהקשר זה הם וירוסים הנישאים בגופי קיימא של פטריות כגון Melon necrotic spot (MNSV) היכולים להשתמר בקרקע כשהם נישאים על גופי הקיימא של פטריית הקרקע *Olpidium* (Campbell, 1996). קבוצת וירוסים נוספת בעלת כשר שרידה גבוה, הם וירוסים השייכים לסוג *Tobamovirus* (Lewandowski, 2000). אלה וירוסים השורדים בשאריות של נוף הצמח ושורשיו, בקרקע, ועל פני עצמים שונים בבית הגידול שבאו במגע עם מוהל תאים נגועים (Broadbent, 1965; Broadbent et al., 1965; Mandahar, 1990). תכונות אלו הופכות פתוגנים אלו למסוכנים בהיותם מסוגלים לעבור מעונת גידול אחת לשנייה ולפתח מגפה נרחבת בגידול החדש. אחד הוירוסים הידועים בקבוצה זו הוא Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) התוקף טווח פונדקאים נרחב במשפחת הדלועים. וירוסים אחרים מקבוצה זו תוקפים גידולים חשובים למשפחת הסולניים כמו PMMV התוקף פלפל (Wetter et al., 1984) ו- Tomato mosaic virus (ToMV) התוקף עגבניות (Broadbent, 1965; Broadbent et al., 1965). השימוש בקומפוסטציה נימצא יעיל לפיתרון בעיות פיטוסניטריות הנגרמות מנוכחות של פתוגנים בשאריות צמחים (Hoitink, 1986).

במהלך הניסוי שערכנו עקבנו לאורך תקופה של 176 יום אחר דעיכת מידבק ויראלי של PMMV בערימת הקומפוסט שהוכנה מצמחים נגועים בוירוס זה. התוצאות המוצגות לעיל מצביעות על דעיכה משמעותית של המידבק, הבאה לידי ביטוי בירידה של כמות החלקיקים שנמצאו בתכשירי וירוס שמוצו מהקומפוסט בדגימות השונות, בהשוואה לביקורת (תמונה 1, טבלה 2) וגם בירידה משמעותית בחיוניות המידבק כפי שהדבר בא לידי ביטוי בהפחתה דרסטית במספר ה-L.L שהתקבלו על צמח הבוחן *N. glutinosa* שהודבקו בתכשירי וירוס שהופקו מדגימות הקומפוסט (תמונות 2, 3). יחד עם זאת יש לציין כי תהליך הקומפוסטציה במתכונת שבה נערך לא גרם לקטילה מוחלטת של המידבק. גם 176 ימים לאחר תחילת התהליך (תמונה 3) ניתן היה עדיין לזהות במוצר שרידי מידבק חיוני. תוצאות אלו סותרות דיווחים קודמים הטוענים לקטילה מוחלטת של המידבק הויראלי במהלך הקומפוסטציה. ניסויים שנערכו בחבל אלמריה בספרד שבהם יוצר קומפוסט משאריות צמחי מלון ופלפל נגועים ב- MNSV וב- PMMV בהתאמה, הראו כי תהליך הקומפוסטציה מאפשר לקטול את המידבק של שני הוירוסים (Suarez-Estrella et al, 2002). PMMV נימצא בניסויים אלו עמיד יותר בהשוואה ל- MNSV ועפ"י הדיווח הוא הצליח לשרוד בתנאים אלו 8-9 שבועות. הישרדותם של שני וירוסים נוספים השייכים לסוג *Tobamovirus* נבחנה במהלך קומפוסטציה של צמחי מלפפון אשר היו נגועים ב- CGMMV (Avgelis and Manios, 1992) וקומפוסטציה של שאריות צמחי עגבניה שהיו נגועים ב- ToMV

(Avgelis and Manios, 1986). גם שתי העבודות האחרונות מצביעות על קטילה מוחלטת של המידבק הויראלי בתום תהליך הקומפוסטציה. הסתירה בין תוצאות בדיקתנו לבין עבודות קודמות נובעת ככל הנראה מהבדלים בגודל דגימת הקומפוסט אשר שימשה למיצוי הוירוס. בעוד שבניסוינו מוצה הוירוס מ-200 גר' של חומר, הרי שבבעבודות המצוינות לעיל היה משקל הדגימה נמוך פי 4-8, כך שריכוז החלקיקים בתכשיר הסופי במקרים אלו היה נמוך משמעותית, דבר שתורם לירידה ברגישות הבדיקה. בנוסף לכך יש לציין שהשיטה בה נבחנו בעבודתנו חיוניותם של תכשירי המיצוי כללה גם שימוש בצמח הבוחן *N. benthamiana* אשר רגישותו להדבקה גבוהה באופן משמעותי בהשוואה לרגישות צמח הבוחן *N. glutinosa* או צמחי פלפל (*Capsicum annum*) אשר שימשו לזיהוי חיוניות המידבק בעבודות שנעשו ע"י החוקרים הספרדים.

וירוסים מהסוג *Tobamovirus* מדביקים את מערכת השורשים דרך פצעים הנוצרים על פני השורש במהלך השתילה (Antignus et al., 2005). הצלחת ההדבקה מותנית בקיומו של מידבק שיגיע מבחינה כמותית לרמת סף מסוימת שמתחת לה לא תקיים ההדבקה. על בסיס זה ועל בסיס תוצאות ההדבקה השליליות שהתקבלו לאחר שתילת פלפל רגיש לעיצים המכילים קומפוסט משלב היצור הסופי, אנו מניחים כי המדבק הויראלי החיוני שנמצא בקומפוסט 176 יום לאחר תחילת התהליך היה מתחת לסף הנדרש לקיומה של הדבקה.

על בסיס עבודתנו וממצאי עבודות קודמות שנעשו בנושא זה ניתן לקבוע כי חומר גלם צמחי נגוע ב-PMMV יכול לעבור קומפוסטציה, ללא חשש מפני הפצת המחלה כתוצאה מפזורה הקומפוסט בחלקות הגידול. קביעה זו מותנית בהכנה נכונה של חומר הגלם. קיצוץ בלתי מספק יוצר בקומפוסט שיעור גבוה, יחסית, של מקטע גם שבו תהליך הקומפוסטציה פחות אפקטיבי (טבלה 3). כמו כן יש להקפיד על רגולציה מתאימה של הטמפרטורה בערימה כך שתגיע לרמה המכסימאלית האפשרית ללא פגיעה באיכות הקומפוסט. הבאת הקומפוסט באופן ספונטאני (לא מאולץ) למצב הבשלה, וזאת לאחר ששהה בטמפרטורה העולה על 60 מ"צ לטווח זמן של 4 שבועות סביר שתביא למצב בו הקומפוסט יהיה ניתן לשימוש ללא חשש שיהווה מקור מדבק ב-PMMV.

References

- Antignus, Y., Lachman, O., Pearlsman, M., Koren, A.. (2005). Containment of Cucumber fruit mottle mosaic tobamovirus (CFMMV) infection through roots by planting into a virus-free intermediating medium. *Phytoparasitica* 33: 85-87.
- Avgelis, A. D., and Manios, V. I. (1989). Elimination of tomato mosaic virus by composting tomato residues. *Netherland, Journal of Plant Pathology*, 95: 167-170.
- Avgelis, A. D., Manois, V. I. (1992). Elimination of cucumber green mottle mosaic Tobamovirus by composting infected cucumber residues. *Acta Horticulturae* 302: 311-314.
- Broadbent, L. (1965). The epidemiology of tomato mosaic VIII. Virus infection through tomato roots. *Annals of Applied Biology*. 55 : 57-66.
- Broadbent, L., Read, W.H. and Last, F.T. (1965). The epidemiology of tomato mosaic. X. Persistence of TMV-infected debris in soil and the effects of partial sterilization. *Annals of Applied Biology* 55: 471-485.
- Campbell, R. N. (1996). Fungal transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 34 : 87-108.
- Grushevoi, S.E. and Levykh, P. M. (1940). Possibility of obtaining seed-bed soil free of infection in compost heaps. *Vses, Nauchn, Issledovatel Inst. Tabach. Makhoroeh.Prom. No 141: 42-48.*

- Hoitink, H. A. j. and Fahy, P. C.(1986). Basis for the control of soil-borne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology* 24: 93-114.
- Lewandowski, D. J. (2000). Genus Tobamovirus. *in* : Virus Taxonomy, Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. van Regenmortel, M. H. V., Fauquet, C. M. Bishop, D. H. L., Carstens, E. B., Estes, M. K., Lemon, S. M. ,Maniloff, J., Mayo, M. A., McGeoch, D. J., Pringle, C. R. , Wickner, R. B. . [Eds]. Academic Press.
- Mandahar, C. L. (1990). Virus transmission. *in* : Plant viruses, Mandahar, C. L. (ED), Vol. II, pp 205-242, CRC Press USA.
- Wetter, C., Conti, M., Altschuh, D., Tabillion, R., and van Regenmortel. M. H. V. (1984). Pepper mild mottle virus a tobamovirus infecting pepper cultivars in Sicily. *Phytopathology* 74: 405-410.
- Yogev, A., Raviv, M., Kritzman, G., Hadar, Y., Cohen, R., Kirshner, B. and J. Katan (2009). Suppression of Bacterial Canker of Tomato by Composts. *Crop Protection*. 28: 97-103.