

דוח מסכם לשנת 2005.

הדברה ביולוגית של קרנפית התמר (*Oryctes sp.*) התוקפת תמרים ומדשאות בערבה.

אלי הררי, נור צ'חנובסקי – המחלקה לאנטומולוגיה מרכז וולקני

דפנה כרמלי – סמר

מעין קיטרון – תחנת יאיר

רקע: קרנפיות התמר (*Oryctes sp.*) (משפחת הזבליתיים) הן חיפושיות מזיקות הפוגעות קשה בעצי תמר ומדשאות בערבה. דרני החיפושית מכרסמים בשורשים ונוברים בגזע וכך גורמים לתמותת חוטרים, להפחתה ביבול בעצים בוגרים ואף למותם. מין הזבלית עדיין אינו ברור (יתכן יותר ממין אחד). כיום מודבר המזיק ע"י דיאזינון שהשפעתו על הסביבה רעה. בעולם נמצא שהנגיף *Oryctes nudivirus* מסוגל לקטול מינים שונים של החיפושית הקרנפית. הנגיף מועבר בין הבוגרים ע"י מגע (הזדווגות, אכילה וכו'). הזכרים במיני קרנפיות מפרישים פרומון התקהלות המקבץ יחד זכרים ונקבות דבר המאפשר העברה מואצת של הווירוס בתוך האוכלוסייה המקומית.

מטרות:

1. בדיקת אפשרויות ללכידת החיפושיות הבוגרות לצורך ניטור גודל האוכלוסייה והפחתת האוכלוסייה בשיטת לכוד והרוג (Mass trapping).

2. בחינת האפשרות של הדברה ביולוגית של החיפושיות על ידי הנגיף *Oryctes nudivirus* ויצירת מגיפה אפיזואוטית.

מהלך המחקר: 1. (א) איפיון סוג האור המושך את החיפושיות, בקיבוץ סמר; (ב) הגדרת המרכיבים הנחוצים ללכידת הבוגרים למלכודות; 2. בחינת וירולנטיות של זן הנגיף ומעבר הנגיף בין הפרטים באוכלוסייה.

שיטות וחומרים:

1. לכוד והרוג.

(א) איפיון סוג האור המושך את החיפושיות.

לאורך החודשים יוני-יולי נאספו בוגרים של *Oryctes spp.* מתחת לפנסי תאורה מסוגים שונים בחצר קיבוץ סמר. מספר החיפושיות שנאספו ליד סוג תאורה מסוים נרשם. סוגי התאורה לידם נאספו חיפושיות כללו: כספית, PL, פלואורסצנט ומנורת ליבון רגילה. התאורה נמצאת בגבהים שונים ולכן סווגה ע"פ תאורה גבוהה, בינונית או נמוכה. (ב) הגדרת המרכיבים הנחוצים ללכידת הבוגרים למלכודות.

ניסוי לכידה במלכודות אור נערך במטע בשבוע 27/6/05 עד 2/7/05.

12 מלכודות משפך שנבנו בקיבוץ סמר (יורם) נתלו בחלקת עצים צעירים בני כ- 7-8 שנים. במלכודות הותקנה תאורת LED בעוצמה של 1.2V שפעלה על בטרייה של 12V.

ב-6 מלכודות נתלו פרומוני-התקהלות סינטטיים של המין *O. elegance*. מתוכן ב-3 מלכודות הודלק אור במנורת LED מחשכה עד 1:00 בלילה.

ב-6 מלכודות נתלו פרומוני-התקהלות סינטטיים של המין *O. rhinoceros*. מתוכן ב-3 מלכודות הודלק אור במנורת LED מחשכה עד 1:00 בלילה.

ב-29/6/05 הוסף לכל המלכודות חומר צמחי שנלקח מחלקם הפנימי של חוטרי תמר.

2. בחינת וירולנטיות של נגיפים פוטנציאליים ופיתוח שיטות מולקולריות לזיהוי הנגיף.

א. זיהוי זן נגיף אלים

יכולת הקטילה של מספר זנים נבחנה על ידי הזרקת מינונים שונים של הנגיף לבוגרי חיפושיות. זמן הקטילה של החיפושיות נבדק בהשוואה להזרקת מים פיזיולוגיים כביקורת.

ניסוי מייצג, בו נבדקה רגישות הבוגרים לזן 505PV, מובא להלן:

5 קבוצות של חיפושיות קרנפיות הוזרקו במינונים שונים של *Oryctes nudivirus* זן 505PV

4 חיפושיות הוזרקו במינון של 25ul (500 יחידות אינפקטיביות, infectious units)

8 חיפושיות הוזרקו במינון של 2.5ul (50 יחידות אינפקטיביות, infectious units)

8 חיפושיות ביקורת הוזרקו בנפח דומה של מים סטריליים.

ב. מבחני PCR לזיהוי קצב התפתחות המחלה ושיעור ההדבקה באוכלוסיית המטע.

איסוף סדרה של תמציות מהחלקים הנגועים בוירוס וסינטז זוגות פרימרים אופיניים לנגיף כדי שישמשו למבחני PCR.

ג. מעבר הוירוס בין הפרטים באוכלוסייה.

הניסוי כלל 4 טיפולים:

1- זכרים שהוזרק להם וירוס להמולימפה

2- זכרים שהוזרק להם וירוס למערכת העיכול

3- זכרים שאכלו מזון שרוסס בוירוס (גזר)

4- ביקורת, זכרים שלא טופלו בוירוס

לכל קופסא הוכנסו 3 זכרים מכל טיפול אל תוך אדמה מקומית ו-4 חתיכות גזר כמזון ראשוני. אחת לשלושה ימים הוחלף המזון בירק טרי ושאריות המזון הורחקו.

לאחר יומיים הוכנסו 2 נקבות לכל קופסא והמזון הוחלף למזון טרי לכל הטיפולים.

אחת ליומיים, עד למותם של כל החיפושיות, נבדקו הקופסאות לנוכחות חיפושיות. החיפושיות שמתו הוכנסו לאלכוהול במבחנה מתוייגת.

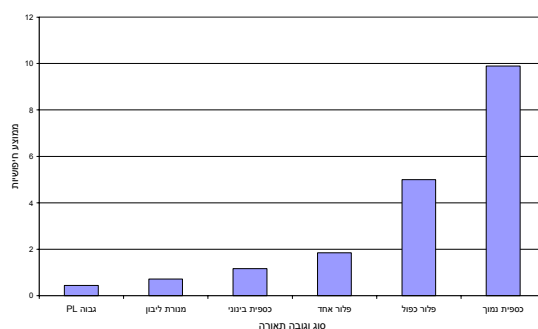
מערכת העיכול של הזכרים והנקבות, וביצים שלמות שנמצאו במערכת המין של הנקבה נבדקו ב-PCR לנוכחות הוירוס.

תוצאות

1. לכוד והרוג.

(א) איפיון האור המושך את החיפושיות.

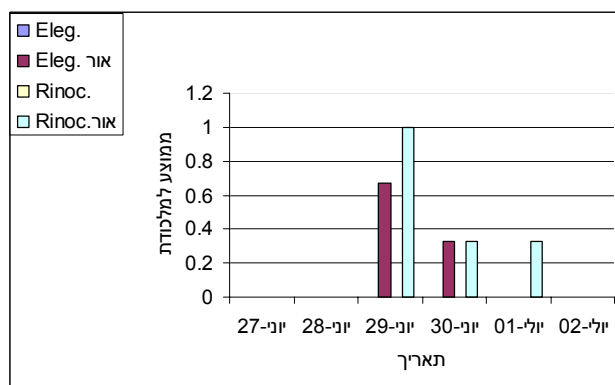
ראשוני הבוגרים הופיעו בקיבוץ ב-20/4 ורק לאחר כשבועיים במטע. עיקר הבוגרים נצפו מסוף מאי, כשהשיא היה בחודשים יוני – יולי. בתחילת אוגוסט נעלמו החיפושיות. לאורך החודשים יוני-יולי נאספו בוגרים של *Oryctes* spp. כנראה - *Oryctes agamemnon* ליד פנסי תאורה מסוגים שונים ובגבהים שונים. התאורה אליה נמשכו מירב החיפושיות (עד 22 בוגרים ללילה) היא מנורת כספית בגובה כ-2.5 מ'. לאחריה מנורת פלואורסצנט כפולה בגובה כ-3 מ'. כל השאר (סוגי תאורה שונים שהיו חזקים אך גבוהים, או חלשים בגבהים שונים) משכו 1-2 בוגרים בממוצע ללילה. במבחן Anova נמצא הבדל מובהק בכמות החיפושיות שנאספו מתחת לתאורת כספית נמוכה לבין כמות הבוגרים שנאספה מתחת לתאורת פלואורסצנט כפולה, ובין תאורת פלואורסצנט כפולה לפלואורסצנט בודד. תאורת הכספית הנמוכה כמו גם תאורת הפלואורסצנט משכו בכמות ניכרת יותר מסוגי התאורה האחרים (פלואורסצנט אחד, כספית בגובה בינוני, מנורת ליבון ותאורת PL גבוהה).



איור 1. מספר החיפושיות שנלכדו בממוצע ללילה מתחת לתאורת רחוב.

(ב) הגדרת המרכיבים הנחוצים ללכידת הבוגרים למלכודות.

בכל תקופת הלכידה נלכדו מעט מאוד חיפושיות וגם זאת רק לאחר הוספת קטע מליבת החוטר. חיפושיות נלכדו רק במלכודות בהן היתה תאורה ללא קשר לפרומון המין שנמצא בכל אחת מהן.



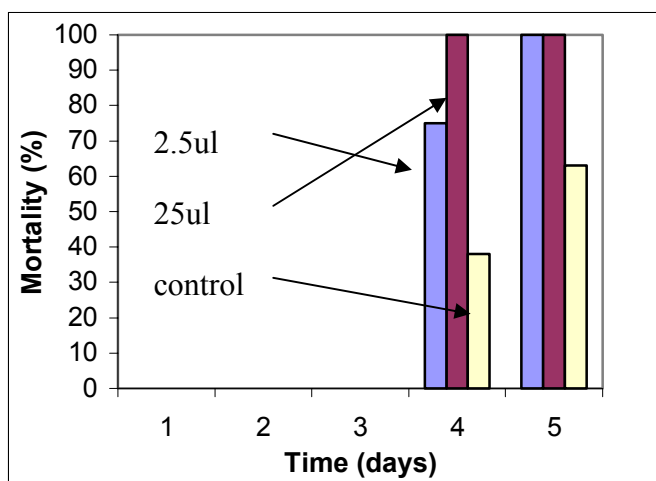
איור 2. לכידה החיפושיות במלכודות אור ופרומון (Eleg) : פרומון התקהלות של הזכר *O. elegance*, אור Eleg; פרומון התקהלות של הזכר *O. rhinoceros*, Rinoc. יחד עם אור. Rinoc. : פרומון התקהלות של הזכר *O. rhinoceros*,

אור. Rinoc: פרומון התקהלות של הזכר *O. rhinoceros* יחד עם אור. ב- 29.6 הוסף למלכודת קירומון (חומר הריח מליבת החוטר).

2. בחינת וירולנטיות של נגיפים פוטנציאליים ופיתוח שיטות מולקולריות לזיהוי הנגיף.

א. זיהוי זן וירוס אלים

זן הוירוס 505PV הראה קטילה בשיעור של 80-100% כבר לאחר 4 ימים. נראה כי החיפושיות רגישות מאוד לוירוס (ציור 3).



ציור 3. שיעור התמותה של בוגרי חיפושיות שהוזרק להם זן הוירוס 505PV.

ב. מבחני PCR

לאחר הסינטז של זוגות הפרימרים הספציפיים לגן האנזים הנגיפי ribonucleotide reductase נערכו מבחני PCR בחיפושיות נגועות במעבדה ונמצא כי החיפושיות המודבקות בנגיף ומתו הכילו את הנגיף בעוד שהנגיף לא נמצא בחיפושיות הביקורת.

ג. מעבר הוירוס בים הפרטים באוכלוסיה

טיפול 1, וירוס בהזרקה להמולימפה: מתוך 10 זכרים שהשתפו בניסוי נמצא וירוס ב- 8 זכרים בעוד ב- 2 זכרים לא נמצא וירוס לאחר PCR. 7 נקבות הזדווגו עם הזכרים הנ"ל ולשלוש נמצא וירוס במערכת העיכול. מהן ל - 2 נקבות היו ביצים שהכילו גם הן את הוירוס. הזכרים הנגועים בוירוס שרדו במוצע 17.6 ± 10.5 ימים בעוד הזכרים הבריאים שרדו 21.5 ± 8.6 ימים. הנקבות, נושאות וירוס שרדו 18.0 ± 9.6 ימים בעוד הנקבות הבריאות שרדו 34.0 ± 4.0 ימים.

טיפול 2, וירוס בהזרקה למערכת העיכול: אחד עשר זכרים השתפו בטיפול זה. לא נמצא וירוס במערכת העיכול של אף אחד מהם. שבע נקבות הזדווגו עם הזכרים וולא נמצא וירוס באף אחת מהן.

טיפול 3, וירוס במזון: עשרה זכרים השתפו בניסוי, מהם לא נמצא ולו זכר אחד שהיה נגוע בוירוס. מאידך, מכלל 7 הנקבות שהזדווגו עם זכרים שאכלו מזון מאולח בוירוס – נמצא וירוס בנקבה אחת. לא נמצאו ביצים בנקבות אלו.

טיפול 4, ביקורת: עשרה זכרים ו - 7 נקבות השתפו בקבוצת הביקורת. לא נמצא וירוס באף פרט.

זינו

1. לכוד והרוג.

(א) איפיון האור המושך את החיפושיות.

מאוסוף בוגרים הנמשכים לאור – נראה שסוג התאורה אינו משפיע על כמות הלכידה ובתנאי שתהיה חזקה ובהירה. במטע חשוך לחלוטין, נלכדו מעט חיפושיות בתאורת LED חלשה לעומת העדר מוחלט של לכידות במלכודת ללא תאורה.

(ב) הגדרת המרכיבים הנחוצים ללכידת הבוגרים למלכודות.

נראה שיש פוטנציאל טוב ללכידה באמצעות מלכודות אור מהסוג בו השתמשנו. יש צורך למצוא קירומון מתאים שישמש כסינרגיסט ללכידת החיפושיות. הפרומונים בהם השתמשנו לא מועילים ללכידה ומצבעים, כנראה, כי המינים הקיימים בערבה אינם *O. elegance* או *O. rhinocoe*. ייתכן שהחיפושיות שייכות למין *O. agamemnon* שאין לו עדיין פרומון מסחרי.

נראה שלניסוי במטע יש צורך להתאים תאורה חזקה יותר מתאורת ה-LED שהיתה בשימוש בניסוי. תאורה זו צריכה להתבסס על הבטרייה הקיימת (V12) שניתנת לניוד או בטרייה חזקה יותר שתיעזר במקור חשמל חיצוני קבוע.

2. בחינת וירולנטיות של נגיפים פוטנציאליים ופיתוח שיטות מולקולריות לזיהוי הנגיף.

מתוצאות הניסוי עולה כי החיפושיות רגישות מאוד ל זן הוירוס 505PV והתמותה מגיעה ל-100% לאחר כ- 5 ימים. התפרצות מחלה נגיפית אפיוזאוטית מחייבת שהחיפושית נושאת המגפה תשרוד במטע מספר ימים גדול יותר. לכן, צריך לשוב ולחזור על ניסוי זה עם מינונים נמוכים יותר של הזן האלים שיקטלו את החיפושיות לאחר כ-20 ימים, כך שהחיפושיות שיפוזרו בשטח יספיקו להעביר את הנגיף למספר גדול של חיפושיות אחרות.

3. מעבר הוירוס בים הפרטים באוכלוסיה

מתוצאות הניסוי עולה כי זן הוירוס PV505 מתאים ליצירת מחלה נגיפית בחיפושית הקרנפית. הזכרים והנקבות נאספו מאוכלוסיית המטע והדשאים בדרום הערבה ומרכזה, וגילם כבוגר אינו ידוע. בהנחה שפיזור הגילים בין הפרטים שפיתחו את המחלה לבין הפרטים הבריאים הוא אחיד, הרי שהוירוס מקצר את חיי הבוגר, אך זמן התפתחות המחלה ארוך יחסית. הפרטים הנגועים בוירוס שרדו למעלה משבועיים, זמן שמאפשר פגישות עם זכרים ונקבות במטע ובדשא ומעבר הוירוס בין הפרטים. נמצא כי הוירוס עובר מהזכרים לנקבות, אם כי, לא ברור עדיין אם הוירוס עובר בהזדווגות או דרך מגע בגללים והאדמה המשותפת לשני הזוויגים. כמו כן נמצא שנקבות נגועות בוירוס מעבירות את הוירוס לביצים. לא נבדק עדיין אם מהביצים בוקעים זחלים ואם זחלים אלו נגועים בוירוס.

לא נמצא וירוס בזכרים שהוירוס הוזרק בהם לתוך מערכת העיכול ולא בנקבות שהיו עימם באותה קופסה, אך כן נמצא וירוס בביצים של אחת הנקבות, שכאמור לא נמצא בה וירוס. דבר זה יכול להצביע על רגישות גבוהה של העובר לוירוס בעוד שהנקבה והזכר העמידים יותר הצליחו להתגבר על הוירוס. תוצאות מעודדות התקבלו כאשר הזכרים אכלו מזון מאולח בוירוס. אומנם הוירוס לא התפתח באף אחד מהזכרים אבל כן הועבר והתפתח בנקבה אחת. דבר זה מעודד שכן הוא מרמז על האפשרות להדביק את הזכרים דרך מזון מאולח בוירוס במעבדה, והעברת הוירוס מזכרים אלו לנקבות, דבר שיוזיל את עלויות השיטה. עם זאת מכלל הטיפולים עולה שהרגישות של

החיפושיות בתוך האוכלוסייה לוירוס שונה בין הפרטים השונים, חלקם רגישים מאוד לוירוס וחלקם עמידים לו. אם אכן, מועבר הוירוס אל הביצים, על אף העדר הרגישות לוירוס אצל ההורים, והביצים או הזחלים אכן רגישים לוירוס, הדברת המזיק על ידי הוירוס צפויה להיות יעילה בהקטנת אוכלוסיית המזיק. לא כל הזכרים נמצאו נגועים בוירוס ורק מעט מהנקבות נמצאו נגועות. ייתכן כי הנקבות מעדיפות להזדווג עם זכרים בריאים ומכאן לא מועבר הוירוס לכל הנקבות. דבר זה עדיין לא נבדק.