

דוח מסכם תוכנית מחקר 131-1679-14
(תוך פירוט הממצאים העיקריים של שנת המחקר השלישית)
1. נושא המחקר: חיפושית האמברוזיה של האבוקדו והפטריה הסימביוטית שלה
כבסיס לפיתוח ממשק הדברה ידידותי לסביבה

Study on the Avocado shot-hole borer, *Euwallacea* aff. *forficatus* and its symbiotic fungus
as a basis for development of environmentally friendly management

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ולהנהלת ענף האבוקדו

תוכן עניינים

עמ'	
1	1. שם ההצעה
1	2. טבלת השותפים למחקר ושטח פעולה
2	3. תקציר מדעי של הדוח
3	4. מעריכים מומלצים
3	5. מבוא ותיאור הבעיה, המטרות, וחשיבות המחקר
5	6. התוצאות
5	6.1. עיקרי התוצאות של השנה הראשונה.
8	6.2. עיקרי התוצאות של השנה השנייה.
10	6.3. מבוא לפעילות בשנה השלישית.
10	6.4. מטרות המחקר בשנה השלישית
11	6.5. שיטות עיקריות שננקטו בשנה השלישית
13	6.6. תוצאות של השנה השלישית
16	7. דיון ומסקנות
18	8. הבעת תודה
18	9. מאמרים המצוטטים בדו"ח
19	10. סיכום עם שאלות מנחות ופרסומים בעקבות המחקר
22	11. נספח
22	נושא 1. פגע האמברוזיה : החיפושית ושלושת מיני הפטריות
24	נושא 2. בחינת הנשיאה של הפטריות הסימביוטיות ע"י דרגות ההתפתחות של החיפושית ומשמעותה
31	נושא 3. פיזור גילים של חיפושית האמברוזיה במהלך העונה
32	נושא 4. מהלך האכלוס של ענפי האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה
34	נושא 5. מהלך התקיפה ובחירת ענפי האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה
36	נושא 6. מעקב אחר תהליך האכלוס והרבייה של חיפושית האמברוזיה בענפי אבוקדו
39	נושא 7. תיאור האכלוס של ענף אבוקדו והסימנים המאפיינים
42	נושא 8. השוואת עוצמת העיכוב של שלושה פונגיצידיים על שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות שנושאת חיפושית האמברוזיה של האבוקדו

2. השותפים למחקר

2.1. טבלת השותפים הפורמאליים למחקר המגישים את הדו"ח

צבי מנדל, סטנלי פרימן, מיכל שרון, אלכס פרוטסוב, מרים אליהו, zmendel@volcani.agri.gov.il	המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, משרד החקלאות בית דגן.
Zvi Mendel, Stanley Freeman, Michal Sharon, Alex Protasov, Miriam Eliyahu,	Department of Entomology, Agricultural Research Organization, Volcani Center, Bet Dagan, 50250
מיכאל נוי	האגף למטעים, שה"מ, משרד החקלאות
Horticulture division, Extension Service, Ministry of Agriculture	Michael Noy

2.2. שותפים נוספים לביצוע המחקר

יונתן מעוז	תאגיד האבוקדו, גרנות
מלי בכש, מרסל מימון, נטע לוי-אוקון, מירב אלעזר, מוראד גאנם	המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, משרד החקלאות בית דגן.

3. תקציר (300 מילים)

תקציר

הצגת הבעיה: הנזק החמור הנגרם ע"י פגע האמברוזיה בישראל לאבוקדו ולמיני עצים אחרים. הפגע נגרם על ידי חיפושית האמברוזיה *Euwallacea nr. fornicatus* הנושאת שלושה מיני פטריות *Fusarium euwallaceae* שזוהתה זה מכבר, ושני מינים נוספים *Graphium sp.* ו- *Acremonium sp.* שהתגלו בשלהי השנה השנייה של המחקר.

מטרות המחקר העיקריות שנה ראשונה: (1) אפיון הפגיעה הנגרמת ע"י פגע האמברוזיה, (2) סקירה וניתוח המידע הקיים, (3) פיתוח מערכת לגידול החיפושית (4) אפיון הפטריה *F. euwallaceae* וביצוע מבחני קור, (5) בחינת הפעילות העונתית של החיפושית ולימוד אפשרות ניטורה והתפשטותה בארץ, (6) הערכת היעילות של תכשירי הדברה כנגד החיפושית והפטריה. שנה שנייה: (7) להעמיק את הידע אודות הביולוגיה והפעילות העונתית של הפגע, (8) לימוד התפשטות *F. euwallaceae* בתוך עצת האבוקדו ואופן הפגיעה בעץ, (9) בחינת טווח מיני הפונדקאים הנתקפים, (10) המשך לימוד תפוצת הפגע בישראל, ו- (11) אפשרות הדברה באמצעות הפטרייה האנטומופיתוגנית *Beauveria bassiana*. שנה שלישית: (12) מבנה הגלים של החיפושית בהתאמה לעונה, (13) זיהוי מעורבות פטריות סימביוטיות נוספות, (14) אפיון מהלך האכלוס והנזק לעץ האבוקדו, (14) אופן הנשיאה והעברה של שלושת הפטריות הסימביוטיות, (15) בחינת שיטות להדברת הפגע בגזם אבוקדו מאוכלס.

מהלך ושיטות העבודה העיקריות: פעולות שונות במטעים, כולל דגימות ומעקב אחר התפתחות האוכלוסיות והנזק. גידול החיפושית והפטירות במעבדה, ביצוע בחינות מורפולוגיות ומולקולריות ולזיהוי והערכות איכותיות והכמותיות של הפטריות בחיפושית ובצמח הפונדקאי.

תוצאות עיקריות: א) הבנת פעילות החיפושית ואופי הפגיעה הנגרמת, ב) שכיחותה במרחב ואפיון מיני העצים הפונדקאים (כ- 50 מיני עצים) על פי רגישותם, ג) מעורבות של שלושת הפטריות הסימביוטיות והופעתן והתפשטותן בעצים הנפגעים, ובאוכלוסיית החיפושיות בהתאמה לדרגת ההתפתחות, ד) בחינת אפשרויות ההדברה והתכשירים המתאימים, ה) גיבוש המלצות מימשק. דיון ומסקנות: נחשפה מערכת מורכבת, המחוללת נזקים למיני עצים שונים, הבנת התנהגותה מאפשרת גיבוש ממשק לריסון הפגע. יחסי הגומלין עם עצים שונים מאופיינת עוצמות נבדלות של אלימות בהתאמה לפונדקאי. לכל אחד מיני הפטריות שזוהו תפקיד שונה בהתפתחות החיפושית ובאינטראקציה עם העץ הפונדקאי.

4. מעריכים מומלצים לבדיקת הדוח המדעי

ד"ר דוד עזרא, ד"ר דני בלומברג, ד"ר דוד נסטל

הצהרת החוקר הראש:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים: בשל העובדה שהניסויים לא בשלו לידי גיבוש המלצות מעשיות)

חתימת החוקר הראשי

יולי 2015

תמוז תשע"ד

5. מבוא (תיאור הבעיה וסקירת הידע הקיים בנושא)

5.1 רקע

בשמונה השנים האחרונות מתפשטת בישראל חיפושית האמברוזיה של האבוקדו *Euwallacea* *sp. nr fornicatus* הנושאת את שלוש פטריות הסימביוטיות, הפטרייה *Fusarium euwallaceae* שהתגלתה כבר בראשית המחקר ושני מינים נוספים *Graphium sp.* ו- *Acremonium sp.* שהתגלו בשלהי השנה השנייה של המחקר. יחדיו, ארבעת האורגניזמים מהווים פגע חמור (ולהלן

פגע האמברוזיה) המתבטא בעוצמות נזק חמורות ובקושי להתמודד איתו באמצעי הדברה שגרתיים. מאז שנת 2009, הפגיעה במטעי האבוקדו הולכת ומתפשטת, כאשר רוב מטעי האבוקדו במישור החוף מדרום לצפון ובצפון עמק החולה כבר נגועים. כבר ארבע שנים החלו להצטבר עדויות על פגיעה קשה, ניוון ותמותה של עצי אלון, עצי דולב ועצי נוי אחרים, ושיחי קיקיון. המוצא של הפגע הוא באזור הטרופי של מזרח אסיה, ככל הנראה וייטנאם. פרט לישראל התבסס הפגע גם בקליפורניה, ככל הנראה, בלוח זמנים דומה. המידע בעולם על חיפושיות אמברוזיה הפוגעות בעצים חיים הוא מוגבל ביותר, אין מידע של ממש בעניין מימשק ההדברה והמניעה. הסכנה הרבה ביותר של הפגע, טמונה בפגיעה הקשה בענף האבוקדו. פגיעה זו מתבטאת בהפסדי יבול כתוצאה מהחלשת העצים ומעקירת חלקות מסחריות. לפיכך, רבים מעצי האבוקדו רוססו בתכשירים חריפים (זרחנים אורגניים וקרובמטים). כל זאת על רקע העובדה שעד כה פרי האבוקדו הצטיין כחופשי מתכשירי הדברה ולמרות המודעות הרבה של המגדלים לסכנה של הפרת המאזן הביולוגי, במערכת שבה שורה ארוכה של מזיקים בכוח מרוסנים ע"י אויבים טבעיים. סכנה בכוח אחרת נעוצה באפשרות שהפגע יתבסס ויפגע גם ביערות האלון של ישראל. בגינות הנוי בארץ נמצאו עצי אלון רגישים ביותר, אף יותר מאשר זני האבוקדו הרגישים. לפיכך, אין להקל ראש גם בנזק הישיר הנגרם לעצי הנוי וגם בהיותם מקור הפצה חשוב של הפגע.

חיפושית האמברוזיה שייכת לשבט Xyleborini שבתת-משפחת חיפושיות הקליפה (Scolytinae) (משפחת החדקוניות). המינים בקבוצה זו נוברים מחילות בעומק העצה, ובתוכן הם מאלחים את פטריות סימביוטיות שהן נושאות. מיני הפטריות מספקת את הכלים האנזימטיים על מנת להתמודד עם מערכת ההגנה של העץ (במינים הפוגעים בעצים חיים) ועל מנת למצות חומרי מזון מתוך עצת הפונדקאי עבור זחלי החיפושיות (Biedermann et al. 2012), במקרים שנחקרו נמצא שלעיתים הבוגרים והזחלים ניזונים על מין שונה של פטרייה סימביוטית (De Fine Licht and Biedermann 2012). החיפושית מעבירה את הפטרייה אל פונדקאים חדשים ומספקת את המצע המתאים להתפתחותה. המפגש בין עצים אטרקטיביים לחיפושית והמתאימים לשגשוג הפטרייה, הוא זה שמחולל את הנזק. הפטרייה נישאת באיבר המכונה מיקנגיום, אשר ממוקם בבסיס כל אחת מהלסתות של נקבת החיפושית. הפטרייה נזרעת ע"י החיפושית במהלך נבירת המחילות על ידה בעומק העצה, וזו גדלה על דופן המחילות (Harrington 2005). מידע רב בנושא זה בהקשר לחיפושית האמברוזיה של האבוקדו התפרסם, לא מכבר, על ידי מגישי ההצעה (Mendel et al. 2012a;b) הכולל תיאור של הפטרייה כמין חדש למדע, *Fusarium euwallaceae* (Freeman et al. 2013). כמו כן פרסמו מגישי ההצעה מידע יחד עם שותפים אמריקאים, בעיקר, על הקשר שבין פטריות אמברוזיה מהסוג *Fusarium* למינים שונים בסוג *Euwallacea* (Kasson et al. 2013) קשר זה בין שני הסוגים נבחן במסגרת מחקר אחר לו שותפים מגישי הדוח (O'Donnell et al. 2014).

ממצאי מחקר זה מצביעים על כך שהופעת המין *Euwallacea nr. Forficatus* היא חדשה יחסית, כ- 0.6 מיליון שנה נים ומקורה בווייטנאם, אילו מין הפוזריום אותו היא נושאת הופיע לפני 3.4 מיליון שנה ומקורו טאיוואן.

בשלוש השנים האחרונות פועלנו בשלושה כיווני מחקר עיקריים. הכיוון הראשון כלל בחינה אמצעי הדברה ומניעה, בכלל זה נבדקו תכשירי הדברה: כ- 20 קוטלי חרקים ומספר דומה של קוטלי פטריות, ותכשירים ידידותיים לסביבה כמו הפטרייה האנטומופאגית *Beauveria bassiana* התכשירים נבחנו במעבדה, ובמטע, ולעיתים על עצי הנוי. בכיוון השני עסק זיהוי הביולוגיה ויחסי הגומלין בין האורגניזמים המעורבים, החיפושית, הפטריות הסימביוטיות והעצים הפונדקאים. הכיוון השלישי בחן את אופן הפגיעה של הפגע בפונדקאי, אפיון הפונדקאים על פי רגישותם והתאמתם להתפתחות הפגע, וההתפשטות הפגע במרחב. המטרה העיקרית היתה ליצור את המידע והתובענות על מנת לגבש ממשקי מניעה והדברה של פגע האמברוזיה. רוב מטרות המחקר הפרטניות נחקרו כל שלושת שנות המחקר. המידע הרב שהצטבר מידי שנה הביא להבנה טובה יותר של המערכת הנחקרת ולשינויים מסוימים והדגשים בפעילות המחקרית.

5.2 מטרות המחקר

מטרות המחקר היו להכיר את פגע האמברוזיה ומרכיביו בהיבטים הביולוגיים האקולוגיים והממשקים, ולהציע ולבחון גישות הדברה ומניעה על מנת לצמצם את הנזקים. המטרות המפורטות, בהתאמה לשנת המחקר, מוצגות בהמשך

5.3 חשיבות המחקר

חשיבות המחקר הוא ביצירת מידע ואמצעים, וגיבוש המלצות ממשק על מנת להתמודד עם פגע האמברוזיה בעיקר במטעי האבוקדו.

6. תוצאות המחקר

6.1 עיקרי תוצאות בשנת המחקר הראשונה

מטרות המחקר בשנה הראשונה המטרות כללו בעיקר את: (1) אפיון עקרוני של הפגיעה הנגרמת ע"י פגע האמברוזיה במטעי האבוקדו, (2) סקירת המידע הקיים אודות החיפושיות והפטירות המלוות אותן תוך, (3) פיתוח מערכת גידול של החיפושית המתאימה לתנאים במעבדה על מנת ללמוד היבטים שונים בביולוגיה שלה ואת יחסי הגומלין בינה לבין הפטריה הסימביוטית שזוהתה, (4) ביצוע מבחני קוך לקביעת הפתוגניות של הפטריה, (5) ביצוע הצעדים הנדרשים על מנת לאפיין את מין הפטריה שהיא מין חדש למדע, (6) בחינת הפעילות העונתית של החיפושית ובדיקת האפשרות להשתמש במלכודות ללכידת הבוגרים, (7), בחינה של תפוצת הפגע בישראל ואפיון הצמחים הפונדקאים, (8) בחינת ההבדלים בעוצמת ההתקפה והפגיעה בין זני האבוקדו, (9) פיתוח מערכת של מבחנים להערכת יעילות תכשירי הדברה כנגד החיפושית והפטריה במעבדה ובשדה.

תוצאות ומסקנות עיקריות בחינה גנטית של פרטים של *Euwallacea fornicatus* ממקומות שונים התבצעה על רקע העובדה שישנם מקומות בהם נגרמים נזקים קשים ע"י מה שנראה היה לכאורה מין זה והימצאותו במקומות שכלל לא נרשמו נזקים. נזקים קשים נגרמים במטעי אבוקדו ועצי נוי ויער בישראל ובקליפורניה, ואילו במקומות אחרים אותו מין החיפושית לכאורה, כמו בסרילנקה, גורמת לנזק למטעי התה, אך לא לאבוקדו. בפלורידה שם מצויה החיפושית בעצי אבוקדו מתנוונים אך אינה גורמת נזק. ההסבר לכאורה לסתירה זו התקבל בבחינה גנטית ראשונית העלתה שתחת המין *Euwallacea fornicatus* מסתתרים מספר מינים אחים הנושאים מיני פטריות סימביוטיות שונות (Kasson et al. 2013) אז עדיין בהגשה). חיפושית האמברוזיה של האבוקדו היא מין חדש הנקרא בשמו הזמני *Euwallacea aff. fornicatus*. בחינה מולקולרית העידה שהפטריה היא מין לא מוכר, אך בעל קירבה ל- *Fusarium ambrosium* שנמצאה במטעי התה בסרי לנקה. במהלך השנה האחרונה, השוואות מולקולאריות ומורפולוגיות של הפטריה עם המין *Fusarium ambrosium*, היוו את הבסיס לתיאור מין חדש למדע *Fusarium euwallaceae* sp. nov. S. Freeman et al. הזהות המוחלטת של מאות תבדידים של הפטריה מאזורים שונים ומעצים ממינים שונים בישראל, מעידה שפגע האמברוזיה הוא תוצאה של חדירה אחת ממקור אחד של החיפושית. מבחן קוך ואילוחים של העצים בפטריה ללא החיפושית, ואילוחים שהתבצעו באמצעות אכלוס עצים פונדקאים בחיפושיות, הצביעו בברור על מעורבות הפטריה בתסמיני הפגיעה האופייניים המתפתחים על פני שטח הרקמה הפגועה.

כמו מינים אחרים בקבוצה, חיפושית האמברוזיה של האבוקדו היא פוליגאמית. הזכרים הם הפלואידיים והם מהווים כ- 25% מאוכלוסיית הבוגרים. הם למעשה חסרי כנפיים ונותרים בתוך מערכת המחילות שם הם מזדווגים. הנקבות מעופפות אל עץ הפונדקאי אליו הן נמשכות וחודרות דרך קליפה חיה לאזור העצה. החדירה עשויה להתרחש בכל חלקי הגזע ובענפים מגדלים שונים

אך מעוצים. ההטלה מתחילה בשבוע השני לחדירה. הנקבה מטילה בממוצע ביצה אחת ליום וההטלה נמשכת כ- 10 ימים, אך בתנאים אופטימאליים היא מתארכת לחודש. משך תקופת הדגירה של הביצה הוא כ- 7 ימים. כמו במיני חיפושיות קליפה אחרים, יש שלוש דרגות זחל שהתפתחותם נמשכת 18-30 ימים בהתאמה לטמפרטורה. התפתחות הגולם נמשכת 7-9 ימים. הנקבה נמצאת קרוב לצאצאיה במהלך התפתחותם. על פי תצפיות במעבדה משך ההתפתחות ב- 25°C הוא כ- 6-7 שבועות על מצע הפטריה.

מבין שורה של תסמינים המאפיינים את פגע האמברוזיה באבוקדו, שלושה הם חשובים ביותר. התסמין הראשון, הבולט ביותר של פגיעה בעץ האבוקדו הוא התגובה הראשונית של פריצת סוכר – פרסיטול- Persitol, הנראה כקצף לבן שהתגבש. הפרסיטול מופיע 2-3 ימים לאחר החדירה הראשונית. עוצמת הפריצה היא ככל הנראה תוצאה של חיוניות הרקמה ובריאות העץ. בעצים חלשים, ובעיקר בענפים או בגזעים שנפגעו כבר ע"י הפגע, התפרצות הפרסיטול מועטת. חשיפת העצה מגלה את התפשטות ההחמה לאורך סיבי העצה. ההתפשטות ניכרת בפסים בצבע חום-כתום, לעיתים המכסים חלק משטח העצה ולעיתים כשהנגיעות רבה, כל שטח העצה נצבע. בזמן כתיבת הדוח המחשבה היתה שהחמה מאפיינת גם את התפשטות הפטריה. נמצא שבשילבים הראשונים החדירה והתבססות החיפושית והפטריה בתוך העצה אינה גורמת לפגיעה בסות. הבדלים בעמידות השדה בין זני האבוקדו הם ניכרים, אך עד כה לא אחד מהזנים נמצא עמיד או סביל ברמה החקלאית הנדרשת. נראה שזני האבוקדו החשובים ביותר, כמו האס, הם גם הרגישים ביותר.

כבר בשנה הראשונה הבחנו בשתי קבוצות עצים פונדקאים מותקפים, כאלה המתאימים לרבייה וכאלה שאינם מתאימים. המינים המתאימים לרביית החיפושית הם אלה שהפטריה המוחדרת לתוכם משגשגת ויוצרת את מצע המזון שיתאים להזנת החיפושית וצאצאיה. המינים שאינם מותאמים מאופיינים בתקיפה עקרה של החיפושית. שערנו שעצים אלה אינם מתאימים להתפתחות הפטריה והחיפושית "מגלה" עובדה זו במהלך הנבירה לעבר העצה, וללא ספק שהרשימה תתרחב. המעקב אחר התפשטות פגע האמברוזיה החל כבר בשנת 2011. נראה שהפגע התבסס במרכז מישור החוף שם הוא מצוי כבר החל משנת 2006, כלומר 4 שנים לפני שזוהה לראשונה ע"י מחברי הדוח. מאז הפגע הולך ומתפשט לאורך מישור החוף. בשנת 2012 התגלו שני מוקדים חדשים, האחד בגן הבוטני בירושלים והשני בגליל העליון.

מצאנו שהתפתחות זחלים של החיפושית אפשרית על מצע תפטיר של הפטריה עד לשלב ההתגלמות והתפתחות חיפושיות בוגרות ובמהלך התפתחות דומה באורכו לזה המתקיים בענפי אבוקדו. אם זאת נראה שההטלה על מצע כזה היא מועטה.

מבין 26 הפונגיצידיים שנבחנו במעבדה בשנת המחקר האחרונה, שישה חומרים המשתייכים לקרבמטים (דלסן) והשאר DMI's (אוקטב ח.פ. פרולורז, דלסן ח.פ. קרבנדזים, פוליקור ח.פ. טביוקונזול, אגרוסטר ח.פ. מטקונזול, פאנץ 40 ח.פ. פלוזילזול, ומירז' ח.פ. פרולורז) בריכוז של 10 ח"מ, עיכבו בין 90% עד 100% את התפתחות הפטריה על מצע PDA בצלחות פטרי. התכשירים שנמצאו יעילים נבחנו בסדרת ריכוזים נמוכים יותר חלקם נבחנו גם בניסויי שדה. מבין 20 קוטלי החרקים שנבחנו במעבדה, שני התכשירים שהצטיינו היו פרוקליים וקונפידור שהביאו לתמותה מלאה של הזחלים לאחר יומיים ושלושה ימים, בהתאמה.

נראה שאוכלוסיית החיפושית מקימה שלושה דורות בשנה במטע האבוקדו. הגיחה מתקיימת כל העונה החמה. ומתחילה כבר בחודש מרץ לאחר גלי החום הראשונים. עם זאת, נראה שהגיחה העיקרית באביב היא באפריל, גל נוסף בראשית יולי וגל גדול בספטמבר- אוקטובר. תשומת לב מיוחדת ניתן בשנת המחקר 2013 לפעילות העונתית בהנחה שמידע זה חיוני לביצוע פעולות ההדברה. תוצאות הניסויים בהם עשינו שימוש במלכודות משפך ופיתיון של שמן מנוקה הראו שאמצעי זה הוא מסורבל ואינו יעיל דיו. הפיתיון אינו גורם מושך חזק של החיפושיות, בשל כך אין חשיבות רבה לבדוק את עיצוב המלכודת או צבעה (במקרה של מלכודת דבק).

6.2 עיקרי תוצאות בשנת המחקר השנייה

מטרות המחקר בשנה השנייה המטרות היו כדלקמן: (1) ללמוד את התפשטות הפטרייה בעצה והקשרה להכתמת העצה, (2) לבחון את התפתחות הפטרייה הסימביוטית על עצים במערכת גידול בצלחות פטרי במעבדה, (3) לברר את השפעת עצת הפונדקאי על רביית החיפושית במערכת מלאכותית במעבדה, (4) להכיר את האינטראקציה של הפטרייה והחיפושית עם מיני פונדקאים שונים במטע,

(5) לבצע ניסויים ראשוניים להדברת חיפושית האמברוזיה באמצעות התכשיר בוטניגארד, (6) להציג את דפוס האכלוס של עץ האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה, (7) לברר את הדינמיקה של התקפת החיפושית ב עצי אבוקדו, (8) לקבוע מי הם העצים הפונדקאים הנוספים ולבחון את תפוצת הפגע בישראל, תוך דגש על הגליל המערבי.

תוצאות ומסקנות עיקריות הפטרייה זוהתה רק בקטעי ענפים בהם העצה הוכתמה. עם זאת, לא בכל מקטע בו העצה הוכתמה נמצאה הפטרייה. ניכר שההכתמה של העצה עשויה להתפשט הרחק מנקודת האיכלוס הטבעי. ניכרים הבדלים של התפתחות תפטיר הפטרייה הסימביוטית על מצע הכולל מיני פונדקאים שונים. התפתחות הפטרייה על פונדקאים שאינם מתאימים או נתקפים

היא חלשה. בחינה של התרבות החיפושית על דסקיות של עצת פונדקאים רגישים הראתה שהרבייה הרבה ביותר הייתה על עצת ברכיטון אדרי, ואחריו על עצת פרסימון. ההתרבות על עצים פונדקאים שבתוכם מתרבה החיפושית בישראל בטבע הייתה מועטה. מיני עצים שלא מותקפים ע"י החיפושית בטבע, אינם מתאימים להתרבותה במערכת הריבוי במעבדה. אילוח בפטרייה במטע הראה שבפרסימון הפטרייה ממוקמת אך ורק במקום החדירה לעומת עצת אבוקדו, בה חלה התפשטות מסוימת אבל מוגבלת. הנטייה של החיפושית לחדור אל אבוקדו או פרסימון קשורה בהמצאות הסות (*הקורטקס*) יותר מאשר במין הפונדקאי. ריסוסים בתכשירי הפטרייה *Beauveria bassiana*, (תכשיר המבוסס על תמיסה והן תכשיר אבקתי) לא מנעו בדרך כלל את אכלוס הענפים המטופלים. נמצאה גם זיקה ברורה בין קוטר המקטע (הענף) שנבדק לבין מדד התפתחות הגלריות בו. התפתחות טובה של גלריות שנרשמה בענפים בעלי קוטר של 3-10 ס"מ. לא ניכרו הבדלים משמעותיים בהתקפות של החיפושית על ענפי השלד בין חודשי השנה במהלך העונה החמה. עד כה נמצאו בישראל סה"כ 46 מיני עצים מותקפים ע"י החיפושית. עצים אלו משתייכים לסה"כ 24 משפחות בוטניות. אך רק מינים מעטים משמשים בהצלחה לרביית החיפושית, כשהחשובים שבהם הם אבוקדו, אדר מילני, אלון ארך עוקצים ודולב. תפוצת פגע האמברוזיה התרחבה בשנת 2013. הפגע המשיך להתפשט בעמק החולה דרומה. קו התפוצה הדרומי ביותר באזור זה הוא באיילת השחר. הפגע התגלתה לראשונה בגליל המערבי במטע האבוקדו מזן לביא בכפר מסריק בסופו של חודש יולי 2012, דגימות וסקרים באזור מעידים שעד כה התפשטות הפגע מרוסנת בהצלחה.

התפשטות ההכתמה של העצה היא ללא ספק תוצאה של האינטראקציה שבין העץ לפטרייה אך זו אינה קשורה בנוכחות הפטריה. הממצאים מעידים שקצב התפשטות הפטריה, ובכלל זה התרחקותה מאזור הגלריות הוא איטי ביותר. לעניין זה חשיבות רבה בכל הקשור לממשק ההדברה של הפגע. הדבר מעיד על כך שהנזק הוא כמותי ולא איכותי. נראה שדווקא שני פונדקאים שאינם מתאימים להתרבות החיפושיות בטבע "נתנו את התשואה" הרבה ביותר בכל הקשור לייצור החיפושיות במערכת המלאכותית. החיפושית ככל נראה מסתייגת מחדירה לקטעי ענפים בהם חסר הסות, כלומר אפשרות של רקמה שאינה חיונית, וזאת ללא קשר להתאמת הפונדקאי. בבחינת השינויים בעומק העצה נראה שהפרשת הגומי החזקה של פרסימון היא חלק ממנגנון ההגנה של העץ בפני פגע האמברוזיה. למרות הכישלון של ניסויי ההדברה הראשונים, אנו גורסים שיש לחזור ולבדוק את תכשירי הפטרייה *Beauveria bassiana*. נדרש לברר באופן יותר יסודי כיצד ניתן להשתמש בהם על מנת לחולל תמותה באוכלוסיית חיפושית האמברוזיה. דפוס מהלך האכלוס של עצי אבוקדו ע"י פגע האמברוזיה מראה, שנקודת התקיפה דרכה בוחרת החיפושית לחדור לעץ עשויה להימצא בכל אחד מחלקי הגזע והענפים של העץ. עם זאת הצלחת האכלוס

תלויה במיקום נקודת התקיפה ובמצב העץ. תקיפה של ענפים קטני קוטר (3-4 ס"מ) גם בעצים חיוניים מאד תצליח בד"כ. הכרת דפוס האכלוס של עץ האבוקדו מאפשר למעשה לצמצם את אוכלוסיית החיפושית המתבססת במטע באמצעות ביצוע פיטוסנטציה. זאת ע"י הסרת הענפים המעוצים הדקים שבהם מצוי מאגר החיפושיות הפעיל והתעלמות מכיבים גדולים הנוצרים על הגזע והענפים. תעופת החיפושית נמשכת כל העונה החמה. התעופה מושפעת במידה רבה מההתייבשות המהירה של הענפים הדקים ביותר. נראה שמגמת ההתפשטות של הפגע מתעצמת ומתרחבת ומספר העצים הנפגעים ע"י החיפושית עולה בהתמדה בחלקות המאוכלסות. באזורים בהם מצוי הפגע בעצים כמו אדר מילני ואלון ארך עוקצים, שהם "יצרני חיפושיות טובים", עצים אלו מעצימים את הבעיה גם בשטחי האבוקדו השכנים. אין ספק שפעילות אינטנסיבית של הדברת הפגע בגליל המערבי נושאת תוצאות חיוביות מאד. כלומר עצירת ההתפשטות, או לפחות האטה רבה שלה שהיא אכן אפשרית. פעילות זו מעידה על היעילות של מודל המניעה שיש ליישם גם במקומות אחרים.

6.3 מבוא לפעילות בשנה השלישית

כיווני המחקר בשנתו השלישית התגבשו על רקע הממצאים שהושגו בשנתיים הראשונות, תוך דגש על הנושאים שנדרש היה להשלימם וגיבוש המלצות הממשק, תוך הבנה שהשימוש בתכשירי הדברה לריסון הפגע הוא מוגבל ביותר, בשל הקושי להגיע אל אוכלוסיית החיפושית הפטריות הסימביוטיות המצויים בעומק העצה. האתגר שמעמיד הפגע חייב לדעתנו להרחיב את ידיעותינו בכל הקשור ליחסי הגומלין בין החיפושית למיני הפטריות שהיא נושאת בשלבי התפתחותה השונים.

בתצפיות ודגימות שבצענו בשתי שנות המחקר הקודמות נוכחנו שמהלך אכלוס עצי אבוקדו חדשים מתקיים לאורך כל העונה החמה, תוך התעצמות במהלך העונה. ההשערה היא שעם התקדמות הקייץ התייבשות ענפים מאוכלסים הולכת ומתעצמת והיא הגורם הדוחף את אוכלוסיית החיפושיות לנטוש את הענף בו הן התפתחו ולעבור ולאכלס ענפים חדשים. תעופה במהלך כל העונה היא פועל יוצא של בוגרים בשלים לגיחה מתוך העץ. אחת השאלות החשובות, גם בהיבט המימשקי, היא מהו הרכב הגילים של אוכלוסיית החיפושית בעונות השונות.

6.4 מטרות המחקר בשנה השלישית

- (1) להשוות את מבנה הגלים של אוכלוסיית החיפושית בהתאמה לעונה,
- (2) זיהוי ואפיון המעורבות של שתי הפטריות סימביוטיות נוספות, *Graphium* sp. ו-
Acremonium sp. שהתגלו בשלהי שנת המחקר השנייה,
- (3) אפיון מהלך האכלוס והנזק לעץ האבוקדו,
- (4) ברור הרכישה, הנשיאה והעברה של שלושת הפטריות הסימביוטיות במהלך מחזור החיים של החיפושית,
- (5) בחינת הרגישות של *Graphium* sp. ו- *Acremonium* sp. לשלושת קוטלי הפטריות האלימים ביותר כלפי *Fusarium euwallaceae*
- (6) בחינת שיטות להדברת הפגע בגזם אבוקדו מאוכלס. (נושא זה מפאת גודלו של הדו"ח אינו מובא ודווח ישירות למגדלים זה מכבר)

6.5 שיטות עיקריות שננקטו בשנה השלישית

בידוד, זיהוי ואופן הנשיאה של פטריות הסימביוטיות בחינת מיקום המיקגיה. בראשים של החיפושיות באמצעות חתכים במקרוטום לאחר צביעה. בחינת נוכחות הפוזריום במקגיה התבצעה ע"י הזנת החיפושית בפטריית פוזריום מסומנת ב- GFP באמצעות מיקרוסקופ קונפוקל. בידוד דרגות ההתפתחות לניסויים נעשתה מהענפים או קטעי גזע של אבוקדו, אדר מילני וקיקיון ומאוכלסים בחיפושית מתוך הענפים הוצאו כל דרגות ההתפתחות. הפרטים שנבחרו לבדיקה מושרים ל 10 שניות באתנול 70%, בתמיסה אקונומיקה 1% ל 10 שניות נוספות, ולאחר מכן שטיפה במים מזוקקים. באופן זה גם נלקחו קטעי עצה על מנת לבודד את הפטריות ממערכת הגלריות.

בחינת הרכב הגילים של החיפושית בעצי אבוקדו ענפי אבוקדו עם סימנים בולטים של פעילות חיפושית האמברוזיה, שהתבטאו בנוכחות הפרשות פרסיטול והתייבשויות חלקיו העליונים של הענף, נוסרו והובאו לבדיקה במעבדה. לבדיקה נלקחו אותם קטעים בהם התקיימה רבייה של החיפושית, על פי רוב בסמוך לבסיס הענף. לצורך זה בוצעו שלוש דגימות, האחת ברישפון, ביולי 2012, ושתיים באייל, אוקטובר 2013 ומרס 2015. סה"כ בכל דגימה הובאו למעבדה כ- 25 ענפים. הענפים בוקעו בזהירות ומתוך הגלריות הוצאו ונספרות כל דרגות ההתפתחות. יש לציין שבשיטה זו חלק מהפרטים 'נהרסים' במהלך הבקעת עצת הענף.

בחינת התבססות וההתרבות של חיפושית האמברוזיה בענפי אבוקדו בריאים הניסוי התבצע בשלושה מטעי אבוקדו בכל חלקה נבחרו חמישה עצים, ובכל עץ נבחרו עפים בריאים ללא סימני פגיעה קודמים ע"י חיפושית האמברוזיה. האכלוס התבצע באמצעות הצמדת מבחנת אפנדרוף שבתוכה הוכנסו שתי חיפושיות בוגרות. בכל עץ אוכלסו סה"כ 10 נקודות. לאחר שניים או שלושה חודשים נבדקו כל נקודות האכלוס לאחד משלושה מצבי אכלוס אפשריים: האם התבצעה חדירה לנקודה, האם נצפתה גלריה בתוך עצת הענף, והאם היו דרגות התפתחות צעירות המעידות על רבייה.

האם החיפושיות נוטות להעדיף ענפים שהותקפו כבר קודם ע"י החיפושית על פני ענפים בריאים המעקב התבצע באייל במטע אבוקדו מהזן האס והוא החל באביב 2013. במסגרת זו מוספרו בראשית מרס כמאה ענפים בעצים בחמש שורות שנקבעו כשורות הדגימה. בענפים אלו ובענפי המשנה שלהם סומנו כל הכיבים הישנים. כיבים חדשים שהתפתחו סומנו ונספרו בשלושה מועדים, כלומר ניתן היה לקבוע את התקופה בה הופיע כל כיב בהתאמה לענף מסוים. בהתאם לכך נקבעו באמצע ספטמבר 2013 שלוש קבוצות של ענפים מסומנים על פי מועד הופעת הכיבים, וקבוצה רביעית של ענפים שלא הותקפו. המעקב אחר תקיפת הענפים שסומנו התבצע בשלושה מועדים, סוף אוקטובר 2013, סוף אפריל 2014 וסוף יולי 2014.

קביעת לוח הזמנים בין התקפת סרק עד לגיחה של הדור החדש של חיפושיות. נבחרו עשרה ענפים בקוטר ממוצע של 7-10 ס"מ בעצי אבוקדו מהזן האס בחלקה במטע איל. בכל ענף סומנו 8 נקודות אכלוס. בכל נקודה הוצמדה מבחנת אפנדרוף שבתוכה הוכנסו שתי חיפושיות בוגרות. האכלוס התבצע בשבוע האחרון של חודש יולי 2013. נערכה סדרה של שמונה דגימות לבחינת התווספות כיבים ומצבים של הכיבים, בדיקה האחרונה התבצעה במאי 2015.

דפוס האכלוס בענף טיפוסי של אבוקדו באמצעות הצגת מודל מאפיין. הצגת המודל מבוססת על בחינה של מאות ענפים מאוכלסים בחיפושית האמברוזיה, בעיקר מהזן האס. לצורך זה הענף נכרת, חולק למקטעים, וכל מקטע נבדק לגבי מהותו, כלומר, רקמה חיונית או יבשה, מיקום האכלוס של גלריות רבייה, ואזורים של החמת העצה ביחס למיקום הגלריות.

השוואת עוצמת העיכוב באמצעות שלושת התכשירים על שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות הגידול הפטריות נבדק על שלושה חומרי הדברה שונים בריכוז 10PPM חומר פעיל. הביקורת כללה צלחות פטרי ללא חומר הדברה. הבדיקה של כל חומר הדברה והביקורת נעשתה על 4

צלחות (חזרות). התכשירים שנבחנו הם: פרוכלוראז, דלסן ו- פוליקור. הניסוי התבצע כדלקמן: במרכז הצלחת הונחה דיסקית בקוטר 0.5 ס"מ של תפטיר הפטרייה. גידולה בצלחות השונות נמדד לאורך כ- 3 שבועות בטמפרטורת חדר.

6.6 תוצאות של השנה השלישית (פירוט של כל נושא, ובכלל זה האוירים המתאימים מוצג בפרק הנספחים של הדו"ח)

6.4.1 האורגניזמים המרכיבים את פגע האמברוזיה

פגע האמברוזיה כולל למעשה ארבעה אורגניזמים בולטים וברורים, חיפושית האמברוזיה *Euwallacea nr. fornicates* (Curculionoidea, Curculionidae, Scolytinae) ושלוש פטריות סימביוטיות (Ascomycota, Sordariomycetes). המין הפטרייה הראשון שהתגלה היה *Fusarium* (*euwallaceae* (Hypocreales, Nectriaceae), לאחריו המין *Graphium* sp. (*Hypocreales*, Hypocreales), זחלי החיפושית *Microascales* (ולבסוף המין *Acremonium* sp. (*Hypocreales*, Hypocreaceae)). זחלי החיפושית משלימים את התפתחותם על מצע מלאכותי של שני מיני הפטריות הראשונים, אך לא על האחרון. כל שלושת מיני הפטריות בודדו מענפי אבוקדו, קיקיון, אדר מילני ואורן ארך עוקצים. אנו מניחים לפיכך שכל השלושה מופיעים בגלריות של עצים פונדקאים בהם החיפושית מתפתחת בהצלחה. במערכת מעבדתית החיפושיות נוטות להתחיל בהטלה בסביבה בה מצויה פטריית הפוזריום, ופחות בסביבה בה מצויה הגרפיום.

6.4.2 בחינת הנשיאה של שלושת הפטריות הסימביוטיות ע"י דרגות ההתפתחות של החיפושית ומשמעותה

חתכים של קופסית הראש אפשרו לקבוע את מיקום המקנגיה. הנמצאות מעל הלסתות העליונות. המתאימה. בצד ימין פטריית פוזריום מסומנת (גם היא ציינה בברור מציינת את מקום המיקנגיה בקדמת הראש בסמוך ללסתות העליונות ואישרה את אחסון הפוזריום במיקנגיה. בראשי הבוגרות הצעירות נמצאו שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות, בשלב התפתחות זה כ- 40% מהראשים לא הכילו כלל פטריות. בבוגרים במצב ביניים הכילו אף הן את כל שלוש מיני

פטוריות אך רק- 10% מהראשים לא הכילו כלל פטוריות. בוגרות בשלות הכילו בעיקר פוזריום ומעט גרפיום. תבנית זו חזרה על עצמה בכל שלושת מיני הפונדקאים הצמחיים שנבחנו. בחינה של נוכחות הפטוריות בבטני החיפושיות העלתה תמונה שונה פרט לגרפיום, המצאות שני מיני הפטוריות האחרים היתה אפסית. כמות הגרפיות הממוצעת פחתה ככל שהתבגרה החיפושית. בחינה של נוכחות הפטוריות בזחלי החיפושיות הראתה שכמות הנבגים מכל מין של פטרייה הנבדל באופן קיצוני בין העצים הפונדקאים והאתרים. הפטרייה הדומיננטית היא הגרפיום, וברוב המקרים היא היוותה את רוב תוכן הפטוריות שנמצא במעי. בחינה של נוכחות הפטוריות גלמי החיפושיות הראה שברוב בגלמים לא נמצאו כלל פטוריות. עם זאת מחלק קטן מהגלמים בודדו פטוריות אם כי על פי רוב הכמות קטנה בהשוואה לדרגות ההתפתחות האחרות.

6.3.3 מבנה הגילים של אוכלוסיית החיפושית בהתאמה לעונה

אחת השאלות החשובות, גם בהיבט המימשי, היא מהו הרכב הגילים של אוכלוסיית החיפושית בעונות השונות, כבסיס להדברה של אוכלוסיית החיפושית באמצעים שונים. המטרה העיקרית של פרק זה של המחקר לבחון את מבנה הגילים של האוכלוסייה, באביב, בקיץ ובסתיו. בכל שלושת העונות נמצאו כל דרגות ההתפתחות, פרט לאביב (מרס). בחודש זה נמצאו בעיקר דרגות ההתפתחות המתקדמות בוגרים וגלמים שהיו כ- 74% מכלל האוכלוסייה. במהלך הקיץ והסתיו דרגות אלו היו כ- 45% בלבד מהאוכלוסיות שנדגמו.

6.3.4 סיכויי ההצלחה של התבססות והתרבות של חיפושית האמברוזיה בענפי אבוקדו בריאים

חדירה לענף הבריא נרשמה כמעט בכל המקרים, 86-100% מנקודות החדירה. גם חדירה לעומק העץ נרשמה ברוב המקרים 60-86% מנקודות החדירה. לעומת זאת המקרים בהם נרשמה הרבייה היו מעטים מאד, 2-5% מנקודות החדירה.

6.3.5 האם החיפושיות נוטות להעדיף ענפים שהותקפו כבר קודם על פני ענפים בריאים

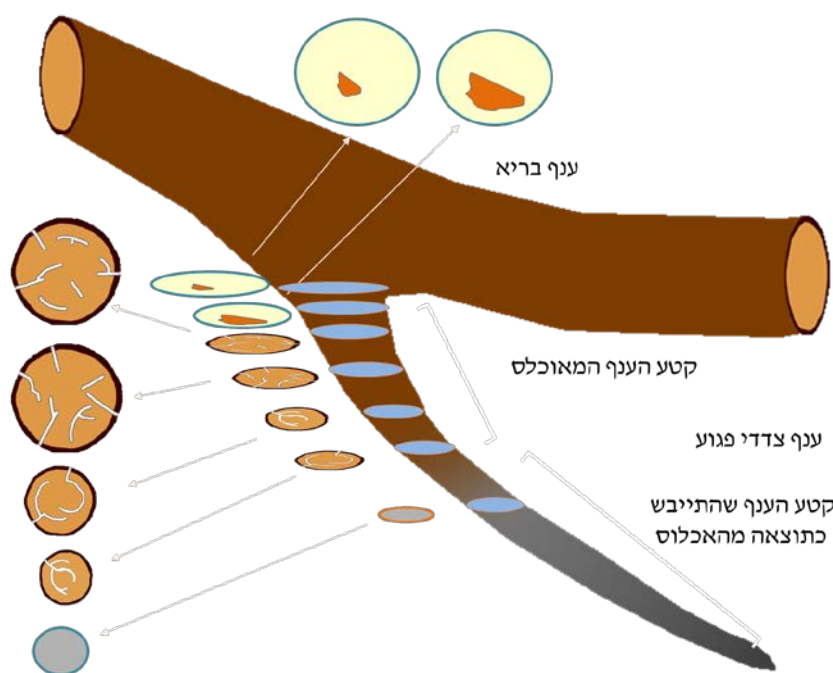
נמצא שתוספת הכיבים בענפים שהותקפו בעבר גדולה הרבה יותר מאשר בענפים בריאים. כך בסוף יולי 2014 סה"כ התוספת של כיבים הייתה 1.53 בממוצע לענף בהשוואה ל - 0.29 כיבים לענף בריא. שבענפים שאוכלסו בפעם הראשונה באביב 2013, תוספת הכיבים הייתה המועטה

ביותר, ואילו הענפים שאוכלסו בפעם הראשונה בשלהי קיץ 2013 תוספת הכיבים בהם הייתה הרבה ביותר.

6.3.6 לוח הזמנים בין התקפת סרק לבין הגיחה של הדור חיפושיות חדש.

שבועיים לאחר האכלוס נרשמה תגובת פרסיטול ברורה ברוב נקודות החדירה. כחודשים לאחר מכן טרם נמצאו דרגות התפתחות צעירות. כשבעה חודשים מהאכלוס הכפוי. נוספו עוד כיבים חדשים (6 בבדיקה שהתבצעה באמצע יולי 2014, כתשעה חודשים, לאחר האכלוס הכפוי, נוספו סה"כ 65 כיבים חדשים. יש לציין שתגובת הענף להיווצרות הכיבים בשנת ה- 2014 הייתה שונה בנקודות השונות, במיעוטם תגובת הפרסיטול הייתה חזקה אך ברובם התגובה הייתה חלשה. לאחר 15 חודשים נמצאו דרגות התפתחות בשלבים שונים של החיפושית, והקצוות הרחוקים של חלק מהענפים החלו מתייבשים. כ 20 חודשים לאחר האכלוס הראשוני, טרם נצפתה גיחה.

6.3.7 דפוס האכלוס בענף טיפוסי של אבוקדו באמצעות הצגת מודל מאפיין.



סכמה של אכלוס ענף ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו. הענף הפגוע מאוכלס בבסיסו, בחלק זה של הענף ניתן לראות את הגלריות ואת ההחמה הטיפוסית בסביבתן הקרובה. ההחמה מגיעה

על לבסיס הענף, אך אינה חודרת לענף הראשי ממנו מתפצל הענף המאוכלס. חלקו הרחוק של הענף התייבש ואינו מאוכלס ע"י החיפושית.

6.3.8 עוצמת העיכוב באמצעות שלושת התכשירים על שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות הנישאות ע"י החיפושית.

פטריות הפוזריום האקרמוניום עוכבו במידה רבה ע"י כל שלושת הפונגיצידים שנבדקו. נראה שהגרפיום רגישה מעט פחות ל Prochloraz ו- Carbendazim, וכמעט ואינה רגישה ל- Tebuconazole.

7. דיון ומסקנות

חיפושית האמברוזיה פועלת יחד עם שלושה מיני פטריות השייכות למשפחות שונות. הפטריות מופיעות בכל הפונדקאים המשמשים לרבייה של החיפושית (התפקיד המשוער של כל פטרייה ידון המסגרת הנושאים שבהמשך הנספח). התוצאות מצביעות על כך ששתיים מהפטריות, הפוזריום והגרפיום, משמשות להתפתחות הזחלים, ואילו האקרמוניום כמזון בלעדי אינה יכולה לשמש כמזון.

מחזור העברה המשוער של הפטריות הוא כדלקמן: החיפושית הבוגרת לקראת תעופה ואכלוס פונדקאי חדש נטענת בעיקר בפוזריום, שתי הפטריות האחרות כמעט ואין ניכרות השלב זה. אני גורסים שהפוזריום נדרשת לחלק מהתהליך של התבססות בפונדקאי החדש או באתר חדש על פני פונדקאי בו התפתחה החיפושית כאשר אכלוס של אותו הפונדקאי מחייב את חיוניותו על מנת להבטיח התפתחות תקינה של דור צאצאים הבא. הפוזריום משמש גם כמזון בשלב התבססות הראשונים בפונדקאי. הגרפיום נדרש כמזון להתפתחות הזחלים, והבשלת הבוגרים הצעירים. האקרמוניום אינה ככל הנראה מזון, אלא משמשת (בין השאר) כאנטגוניסט כנגד פטריות זרות שעלולות להשתלט על פני הגלריות ולדחוק את הפטריות הסימביוטיות. המעבר של הגרפיום והאקרמוניום מהחיפושית המייסדת את מערכת בגלריות החדשה לגלריות של הדור הבא בעץ אחר אינה מובנת, בכלל זה האפשרות של העברתן אל החיפושית הבוגרת עוד משלב הזחל.

מצאנו שלמעשה כל דרגות ההתפתחות מצויות במטע האבוקדו כל חודשי השנה. עניין זה מכביד למעשה על האפשרות לבצע פעולות מנע בודדות בכוונה לצמצם באופן משמעותי את האכלוס של ענפים ועצים נוספים. עניין זה גם מעיד על הקושי להדביר את האוכלוסייה המצויה בעומק עצת הענפים באמצעות תכשירים סיסטמיים, זאת בשל העובדה שזרימת המים באזור בו מצויות גלריות

רבות משובש. אנו מעריכים שהעובדה שלא נמצאו זחלים צעירים וביצים באביב 2015 היא תופעה האופיינית לחורף, כתוצאה של פעילות מועטה בטמפרטורות נמוכות. עם זאת יש לציין שהטמפרטורות בחורף 2014-15 היו נמוכות מיוחד ויתכן שהיתה להן השפעה על התמונה הקיצונית שהושגה.

סיכויי הצלחת החדירה בענפים בריאים הם קטנים מאד. התוצאות מסבירות את חוסר ההצלחה של החיפושית לאכלס ענפים בריאים ומאששת בכך את המסקנה שהתגובה החזקה של העץ היא זו המונעת את ההתבססות ומציגה את הכיבים המפותחים הניכרים בהפרשה רבה של פרסטיול. כך שהתקיפה אינה אקראית כאשר תקיפת ענפים שהותקפו בעבר וללא הצלחה של אכלוס, הייתה גדולה פי חמישה מתקיפה של ענפים בריאים (כלומר כאלו שלא הותקפו קודם). ניתן להניח שהבחירה בענפים אלו מעלה את הסיכויים של אכלוס מוצלח. אנו גם מניחים בחירת ענפים אלה ע"י החיפושית קשור להמצאות נדיפים שהם תוצאה של פעילות הפוזריום,

ענפים דקים רגישים יותר להתקפה. החיפושית מתחילה להתרבות בענף לאחר חולשה מסוימת שלו. האכלוס המכוון שביצענו הכשיר למעשה את הענף לאכלוס מוצלח. נראה שהענפים שנבחרו המשיכו להיתקף באופן טבעי ע"י החיפושיות, ככל הנראה כתוצאה ממשיכה לנדיפים הנוצרים באינטראקציה בין הפטריות לבין רקמת העץ (יש לציין שרק 14 חודשים לאחר האכלוס הראשוני נצפו דרגות התפתחות צעירות שונות בענפים, אך גם במאי 2015 כ- 20 חודשים לאחר האכלוס הראשוני, טרם התרחשה גיחה. זו צפויה על פי הערכתנו בסוף קיץ 2015. ענפים דקים יותר היו הופכים זמינים מוקדם יותר, וכמו כן ההתדרדרות במצבם הייתה מהירה יותר, ובעקבות כך גם הגיחה הייתה צפויה מוקדם יותר. האכלוס האופייני של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, מופיע על פי רוב בבסיסי הענפים. האכלוס בבסיס הענף מאפשר למקטע המאוכלס ליהנות משטף חומרי הזנה ומים שמקורם בענף הראשי. התפתחות הגלריות מביאה לכך שנוצר מחסום המשבש את זרימת מים לחלקי הענף מעבר לאזור הגלריות (בכיוון חלקיו הרחוקים של הענף). וכתוצאה מכך חלקיו הרחוקים של הענף מתייבשים.

המסקנה העיקרית היא שתהליך האכלוס מתחיל במקרים רבים בהתקפות סרק של החיפושית. מסקנה שניה שפרק הזמן שעובר משלב ההתקפה הראשונה על הענף ועד גיחת הצאצאים הראשונה אורך כשנתיים. תיאור זה מדגיש את החשיבות של טיפול הכיבים וגיזום ענפים דקים המראים את הסימנים האופייניים של הנגיעות.

8. מאמרים מצוטטים בדוח

Biedermann PH, Klepzig KD, Taborsky M, Six DL. 2012. Abundance and dynamics of filamentous fungi in the complex ambrosia gardens of the primitively eusocial beetle *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *FEMS Microbiol Ecol.* 83(3):711-723.

De Fine Licht, H. H. and Biedermann P. H. W. 2012. Patterns of functional enzyme activity in fungus farming ambrosia beetles. *Frontiers in Zoology*, 9:2-11.

Eskalen A., Stouthamer R., Lynch S. C., Rugman-Jones P. F., Twizeyimana M., Gonzalez A., Thibault T. 2013. Host range of *Fusarium dieback* and its ambrosia beetle (Coleoptera: Scolytinae) vector in southern California. *Plant Dis.* 97: 938–951.

Harrington, T.C. 2005. Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners. In *Insect-fungal associations*. New York: Oxford University Press;:257–295.

Kuhns, E. H., Tribuiani, Y., Martini, X., Meyer, W. L., Peña, J., Hulcr, J. and Stelinski, L. L. 2014. Volatiles from the symbiotic fungus *Raffaelea lauricola* are synergistic with Manuka lures for increased capture of the Redbay ambrosia beetle *Xyleborus glabratus*. *Agricultural and Forest Entomology*, 16: 87–94.

O'Donnell, K., et al. (2014), Discordant phylogenies suggest repeated host shifts in the *Fusarium*–*Euwallacea* ambrosia beetle mutualism. *Fungal Genet. Biol.*
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.014>

10. הבעת תודה

אנו מודים לכל הנוטעים הרבים שבחלקותיהם אנו מבצעים את ניסויי השדה, ולשתלנים על אספקת השתילים. תודתנו שלוחה לאודי גפני ואריה רוטמן מתאגיד האבוקדו, לאנשי מועצת הצמחים, ולמדריכים המקצועיים של גרנות על חלקם בקידום מחקר. אנו אסירי תודה למנס ויסוקי, דני בלומברג, ליאו וינר, ויואל דרישפון על מעורבותם המקצועית, ולאביגיל הלר ורונזה אמרה, לשמעון ביטון על המידע בעניין עצי נוי שנפגעים ע"י הפגע הנחקר. זכינו לעזרה רבה ממשה גורן במסגרת ניסויי השדה במרכז וולקני. להדר כהן, לאלי סימנסקי, משה בסר, אמנון בוימל, מרים זילברשטיין, לאה סלע ומשה תמים על המידע ושיתוף הפעולה. תודה מיוחדת לשותפינו הרבים בארה"ב, חוקרים ממוסדות מחקר שונים ואנשי מקצוע רבים, בעיקר לראובן חופשי, אקיף אסקלן ומרי –לו ארפייה מקליפורניה על העדכונים הרבים וחילופי המידע.

11. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה. (1) להכיר את חיפושית האמברוזיה והפטריות הסימביוטיות המלוות אותה. (2) ללמוד את הנזק והתפשטות הפוזריום בעצה, והקשרה להחמת העצה, (3) להבין את התפקיד הביולוגי והאקולוגי של שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות, זאת באמצעות בחינתן במערכות מעבדה ובשדה, (4) לברר את הגורמים שונים המשפיעים על רביית החיפושית במערכת מלאכותית במעבדה ובשדה, (5) להכיר את האינטראקציה של הפטרייה והחיפושית עם מיני עצים פונדקאים שונים, רגישותם ומשמעותם בהפצת הפגע, (6) בחינת תכשירי הדברה, קוטלי חרקים וקוטלי פטריות מקבוצות שונות, (7) להציג את דפוס האכלוס של עץ האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה, (8) לברר את דינמיקת ההתקפה של חיפושית האמברוזיה על עצים פונדקאים תוך דגש על האבוקדו, (9) ולבחון את תפוצת פגע האמברוזיה בישראל, ולהציע שיטות מימשק על מנת לצמצם את הנזק.	עיקרי הניסויים והתוצאות. במסגרת המחקר נערכו סדרות ניסויים רבות. הן כללו, ניסויי מעבדה לצורך לימור הביולוגיה של האורגניזמים הנחקרים, ורגישותם לתכשירי הדברה. במקביל נערכו ניסויי שדה על מנת להבין את מהות הנזק, מהלך התפתחות הנזק במטע האבוקדו, ובחינת שיטות מימשק. נערכו סקרים לבחינת התפשטות הפגע במרחב ובתוך העץ. הניסויים העידו על התפקיד הייחודי של כל אחת מהפטריות הסימביוטיות. התוצאות הצביעו על כך שהפטריות אינן מתפשטות בעץ בכוחות עצמן בלבד.
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח. המסקנות המדעיות: פגע האמברוזיה כולל את חיפושית האמברוזיה <i>Euwallacea nr. fornicatus</i> הנושאת שלושה מיני פטריות <i>Fusarium euwallaceae</i> שזוהתה זה מכבר, ושני מינים נוספים <i>Graphium sp</i>. ו- <i>Acremonium sp</i>. הפוזריום קשורה לתקיפה של העץ הפונדקאי וככל הנראה להכשרתו לאכלוס. הגרפיום מהווה את המזון העיקרי של הזחלים. התפקיד המשוער את האקרמוניום הוא הגנה על מערכת הגלריות מפני אורגניזמים זרים. ההשלכה החקלאית המרכזית של המחקר הן ההמלצות המימשק שהתגבשו על רקע התוצאות. בעוד שהדברה הכימית היא מוגבלת, וההדברה הביולוגית ככל הנראה אינה יעילה, המלצות המימשק שרכזנו עוסקות בעיקר בדרך בה יש לאבחן את מצב ושלב הנגיעות, והדרך בה יש לטפל במטע האבוקדו על מנת לצמצם את הנזק להיקפים מזעריים.	הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתורה לביצוע תוכנית המחקר. רוב המטרות שהוצבו במהלך המחקר הושגו במידה רבה. יש להמשיך לבחון את השימוש בתכשירים ביולוגיים על מנת לבחון את האפשרות לרסן באמצעותם את התפשטות הפגע בתוך מטעים נגועים, ולהעמיק את הידע אודות האינטראקציה בין החיפושית לפטריות שהיא נושאת, זאת על מנת לנסות ולגלות נקודות תורפה שיאפשרו ליעל את ההדברה.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים מדעיים כדלקמן: 1. מנדל, צ., פרוטסוב, א., אליהו, מ., ויסוקי, מ., מעוז, י., פרימן, ס., צויביל, א., שרון, מ., אוקון, נ., נוי, מ., ובן יהודה, ש. 2012. איום על ענף האבוקדו: פגע האמברוזיה - שילוב חיפושית ופטריה. עלון הנוטע 66(4): 30-35. 2. עצים בסכנה: חיפושית האמברוזיה פוגעת בעצי אלון ואבוקדו וגורמת נזק גדול. נשיונל ג'יאוגרפיק. מאי 2013. 3. מנדל, צ., פרוטסוב, א., פרימן, ס., מעוז, י., הלר, א., ... 2015. תסמיני הנזק הנגרמים לעצי נוי ולעצי יער ע"י פגע האמברוזיה. חוברת להפצה.	

4. **Mendel Z.**, A. Protasov , M. Sharon, A. Zveibil , S. Ben Yehuda , K. O'Donnell, R. Rabaglia ,M. Wysoki and **S. Freeman**. 2012a. An Asian ambrosia beetle *Euwallacea fornicatus* and its novel symbiotic fungus *Fusarium* sp. pose a serious threat to the Israeli avocado industry. *Phytoparasitica* 40: 235-238.
5. **Freeman, S.**, Protasov, A., Wysoki, M., Ben Yehuda, S., Noi, M., Rabaglia, R., O'Donnell, K., Sharon, M., Okon-Levy, N., Zveibil, A., Eliyhu M., and **Mendel, Z.** 2012. A pernicious agent affecting avocado in Israel: a novel symbiotic *Fusarium* sp. associated with the ambrosia beetle *Euwallacea fornicatus*. *Phytoparasitica* 40:258.
6. **Mendel, Z.**, A. Protasov, M., Wysoki, M. Eliyhu, Y. Maoz, M. Sharon, A. Zveibil, M. Noy, S. Ben Yehuda, and **S. Freeman**. 2012b. A major threat to the avocado industry in Israel, an ambrosia beetle that vectors a fusarial pathogen. *Alon Hanotea* 66: 30-35 (in Hebrew).
7. **Freeman S.**, A. Protasov, M. Sharon, K. Mohotti, M. Eliyahu, N. Okon-Levy, and **Z. Mendel**. 2012. Obligate feed requirement of *Fusarium* sp. nov., an avocado wilting agent, by the ambrosia beetle *Euwallacea* aff. *fornicata*. *Symbiosis* 57:245-251.
8. **Mendel, Z.** and **Freeman, S.** 2012. The current situation of 'Ambrosia Wilt' in avocado plantations in Israel caused by the Shot Hole Borer and its fungal symbiont *Fusarium*. Calif. Avocado Soc. 2011 Yearb. 94:127-136.
9. **Freeman, S.**, M. Sharon, M. Maymon, **Z. Mendel**, A. Protasov, T. Aoki, A. Eskalen, K. O'Donnell. 2013. *Fusarium euwallaceae* sp. nov.—a symbiotic fungus of *Euwallacea* sp., an invasive ambrosia beetle in Israel and California. *Mycologia*, 105(6):1595–1606.
10. Kasson, M.T., O'Donnell, K., Rooney, A.P., Sink, S., Ploetz, R.C., Ploetz, J.N., Konkol, J.L., Carrillo, D., **Freeman, S.**, **Mendel, Z.**, Smith, J.A., Black, A., Hulcr, J., Bateman, C., Black, A.W., Campbell, P.R., Geering, A.D.W., Dann, E.K., Eskalen, A., Mohotti, K., Short, D.P.G., Aoki, T., Fenstermacher, K.A., Davis, D.D. and Geiser, D.M. 2013. Phylogenetic diversity of fusaria cultivated by ambrosia beetles in the genus *Euwallacea* on avocado and other plant hosts. *Fungal Genetics and Biology* 56:147–157.
11. O'Donnell, K, Sink, S., Libeskind-Hadas, R., Hulcr, J., Kasson, M.T., Ploetz, R.C., Konkol, J.L., Ploetz, J.N., Carrillo, D., Campbell, A., Duncan, R.E., Liyanage, P.N.H., Eskalen, A., Na, F., Geiser, D.M., Bateman, C., **Freeman, S.**, **Mendel, Z.**, Sharon, M., Aoki, T., Cossé, A.A., and Rooney, A.P. 2015. Discordant phylogenies suggest repeated host shifts in the *Fusarium* – *Euwallacea* ambrosia beetle mutualism. *Fungal Genetics and Biology* (in press).
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.014>
12. M. Sharon, M. Maymon, A. Protasov, O. Margalit, K. Mohotti, K. O'Donnell, **Z. Mendel**, and **S. Freeman**. 2015. Dissemination of the fungi *Fusarium euwallaceae*, *Graphium* sp. and

Acremonium sp., in symbiosis with the ambrosia beetle *Euwallacea nr. fornicates*. *Phytoparasitica* 43:378.

13. Z. Mendel and S. Freeman. 2015. The 'Ambrosia Beetle' in Israel. *From the Grove* 5(2):22-23.

הידע נמסר בסדרה של מפגשים עם החקלאים ומדריכים ובכנוסים מדעים בישראל

(1) פברואר 2011 כנס מגדלים בגרנות, (2) יום עיון ארצי למגדלי אבוקדו דצמבר 2011, (3) 25 בינואר 2012 מפגש עם חוקרים במחלקה לפיטופתולוגיה במרכז וולקני. נובמבר 2012, (4) יום עיון אלונים הגן הבוטני בירושלים, (5) פורום מפקחי נוי 20 דצמבר 2012, (6) פורום יועצי גינון 13 בדצמבר 2012, (7) יום עיון מגדלי אבוקדו 27 דצמבר 2012, (8) כנס חורף מגדלי אבוקדו בגליל המערבי, 9 בדצמבר 2012, (9) אבחון פגעים בעצים בוגרים 10 בינואר 2013, (10) קורס הגנת הצומח במטעים 5 בפברואר 2013, (11) 3 מרץ 2013 כנס מגדלים עמק הירדן, (12) 7 ינואר 2014 - השתלמות מגדלי אבוקדו - גרנות. (13) 28 בינואר 2014 השתלמות מגדלי אבוקדו באיזור הגליל המערבי. פברואר 2015 כנס האגודה למחלות צמחים.

פרסום הדו"ח: אנו ממליצים לפרסם את הדו"ח:

ללא הגבלה

12. נספח

נושא 1. פגע האמברוזיה: החיפושית ושלושת מיני הפטריות

המטרות:

- (1) לאפיין את מיני הפטריות המלוות של חיפושית האמברוזיה
- (2) לבחון את התפתחות החיפושיות על כל אחד ממיני הפטריות בנפרד כמצע מזון במערכת מלאכותית.
- (3) לבחון את התנהגות ההטלה של החיפושית בהתאמה לפטרייה ומין הפונדקאי במערכת רבייה מלאכותית.

שיטות ואמצעים:

(1) ענפים וקטעי גזע מאוכלסים בחיפושיות האמברוזיה הובאו למעבדה. קטעי עצה הכוללים חלקי גלריות נחתכו מתוך הענף. קטעי העצה באורך של 5 מ"מ טולטלו ב- 1.4 מ"ל תמיסה פיזיולוגית, ולאחר הפרדת העצה מהנוזל התמיסה סורקה ל-5 דקות ב 13,000 rpm. 0.9 מ"ל הוצאו והשאר נמהל פי 1, 10, ו-100. כאשר 0.1 מ"ל מכל תמיסה מדוללת פוזרה על שתי צלחות פטרי עם PDA+Cl. תהליך זה כלל גם קטעי עצה לא נגועים כביקורת. על פי צפיפות המושבות לצלחת חושבה צפיפות הנבגים של כל אחד ממיני הפטרייה.

(2) על מנת לבחון את יכולת ההתפתחות של הזחלים על הפטריות השונות, זחלים שמקורם בטבע, בכל שלושת הדרגות, הושמו בצלחות פטרי עם מצע מתאים, עליו גדל אחד ממיני הפטריות ונבחנה השלמת התפתחות הפרטים. הופעת בוגרים בשלים נחשבה להתפתחות תקינה של החיפושית על הפטרייה הנבחנת.

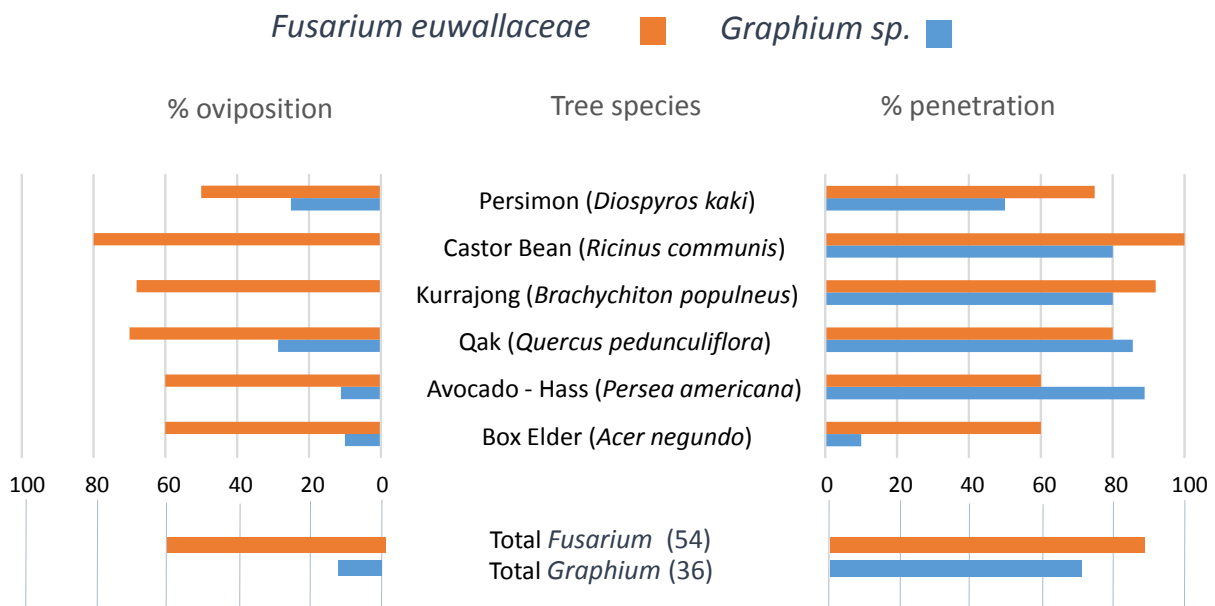
(3) נבחנה התנהגות ההטלה הכוללת חדירה לדסקית ליצירת גלריות והטלה, של נקבות בשלות שנלקחו מענפים מאוכלסים, בעיקר של קיקיון, אדר מילני או אבוקדו שהובאו למעבדה. ההטלה נבדקה במערכת מלאכותית המבוססת על מצע PDA (Potato dextrose agar) רגיל בתוספת אנטיביוטיקה נגד חיידקים (Chloramphenicol בריכוז 0.25 גרם לליטר) כמשתנים קבועים. המשתנים שאינם קבועים היו הפונדקאי והפטרייה; דסקיות של ענף הפונדקאי הנבדק בעובי של כ 1.5 מ"מ ובקוטר של כ- 40 מ"מ עוקרו והונחו בצלחות פטרי. מצע PDA+Cl כני"ל נמזג עד גובה הדסקית. דסקית נייר סינון בקוטר של כ- 3 מ"מ הונחה במרכז כל פרוסה ונבגים בכמות של 10^6 של תבדיל 2-3 של *Fusarium euwallaceae* מורחפים ב 10 מיקרוליטר מים הוספו בניר. נבדקו 5-9 צלחות פטרי מכל צירוף. לכל צלחת הוכנסו שתי נקבות חיפושית בשלות. הצלחות נבדקו כ- 10 ימים לאחר החשיפה לחיפושיות.

תוצאות:

פגע האמברוזיה כולל למעשה ארבעה אורגניזמים בולטים וברורים, חיפושית האמברוזיה *Euwallaceae* nr. *forficatus* (Curculionoidea, Curculionidae, Scolytinae) ושלוש פטריות

סימביונטיות (Ascomycota Sordariomycetes, *Fusarium* euwallaceae (Hypocreales Nectriaceae), לאחריו המין *Graphium* sp. (Hypocreales, Hypocreaceae) *Acremonium* sp. ולבסוף המין (Microascales).

זחלי החיפושית משלימים את התפתחותם על מצע מלאכותי של שני מיני הפטריות הראשונים, אך לא על האחרון. כל שלושת מיני הפטריות בודדו מענפי אבוקדו, קיקיון, אדר מילני ואורן ארך עוקצים. אנו מניחים לפיכך שכל השלושה מופיעים בגלריות של עצים פונדקאים בהם החיפושית מתפתחת בהצלחה. נצפתה נטייה ברורה של הבוגרות לחפור את הגלריה במערכת מלאכותית בה מצויה פטריית הפוזריום ופחות כאשר במערכת הייתה מצויה פטריית הגרפיום (איור 1.1).



איור 1.1 השפעת מין הפטרייה הסימביוטית על חדירה והטלה של חיפושית האמברוזיה בהתאמה למין הפונדקאי.

Fig. 1.1 Effect of the fungal symbiont species on disk penetration and oviposition as related tree host species.

דיון

חיפושית האמברוזיה פועלת יחד עם שלושה מיני פטריות השייכות למשפחות שונות. הפטריות מופיעות בכל הפונדקאים המשמשים לרבייה של החיפושית (התפקיד המשוער של כל פטרייה ידון במסגרת הנושאים שבהמשך הנספח). התוצאות מצביעות על כך ששתיים מהפטריות, הפוזריום והגרפיום, משמשות להתפתחות הזחלים, ואילו האקרמוניום אינה יכולה לשמש כמזון, ותפקידה במערכת הוא שונה, אולי כאנטגוניסט של מיני פטריות זרים שעלולים להתחרות עם הפטריות הסימביונטיות על

מרחב הגלריות. נראה שהחיפושיות שהושמו במערכת בה מצויה עצה מאולחת בפטרייה, מזהות את הפוזריום במקום בו הרבייה מתאימה ואילו את הגרפיום כמקום בו כבר מצויים הזחלים (נושא 3 בנספח), ויתכן שזו הסיבה לנטייה לשיעור התחלת ההטלה הנמוך בסביבת הגרפיום. יש לציין שזיכרון גלריות והתחלת רבייה נצפו במערכת המלאכותית גם בפונדקאים שאינם משמשים לרבייה בטבע.

נושא 2. בחינת הנשיאה של הפטריות הסימביוטיות ע"י דרגות ההתפתחות של החיפושית ומשמעותה

המטרות

- (1) בחינת הנשיאה של פוזריום במקנגייה המנדיבולריים של החיפושית (שהם כיסים בקדמת הראש בסמוך ללסתות העליונות של החיפושית הבוגרת).
- (2) בחינת ההרכב והשכיחות של הפטריות הסימביוטיות הנישאות במקנגייה המנדיבולריים.
- (3) בחינת נוכחות הפטריות במערכת העיכול של החיפושית הבוגרת, בזחלים ובגלמים.
- (4) בחינת המצאות הבדלים בהרכב הפטריות הנ"ל בין שלבי ההתפתחות השונים של החיפושית הבוגרת, ובין חיפושיות שהתפתחו בפונדקאים שונים, או כאלו שניזונו על מצע פטרייה במערכת מלאכותית.

שיטות ואמצעים :

(1) בחינת מיקום המיקנגייה. הראשים של החיפושיות הופרדו מהגוף ועברו פיקסציה ב- 4% פאראפורמלדהיד. אחר כך עברו כמה שלבים של דהידרציה עם ריכוזים הולכים ועולים של אתנול עד 100%, ולאחר מכן סינון והכנת בלוקים לחיתוך בעזרת החומר אגר 100. הבלוקים עם הראשים נחתכו והתקבלו חתכים בעובי 1-2 מיקרון. החתכים הודבקו לזכוכיות מיקרוסקופ בעזרת חימום קצר ולאחר מכן נצבעו בברומופנוול בלו (תמונה מצורפת עם הצבע הכחול) או Periodic acid-Schiff stain (תמונות מצורפות עם הצבע האדום). החתכים נצפו והתמונות נלקחו בעזרת מיקרוסקופ מחברת לייקה Leica. התהליך כולו בוצע במחלקה לאנטומולוגיה במעבדה של פרופ' מוראד גאנס.

(2) בחינת נוכחות הפוזריום במקנגייה במיקרוסקופ קונפוקל. פטריית פוזריום 2-3 מסומנת בחלבון פלואורסצנטי זוהר - GFP רובתה במשך 6 ימים על צלחת PDA עם כלורמפניקול והיגרומיצין. גידול התחיל בפזיזור אחיד של הנבגים בצלחות פטרי. לאחר 6 ימים, נבגי הפטרייה הופקו והורחפו במים סטריליים וריכוזם נקבע ל 10^6 נבגים/מל. עשרה מיקרוליטר מוספים על דיסקית של ברכיטון סטרילית, המונחת בתוך צלחת עם מצע PDA עם כלורמפניקול. לאחר 4 ימים מוסיפים את זחלי האמברוזיה, תוך עדיפות לדרגת הזחל הראשונה. אחר כשבועיים וחצי מתקבלות החיפושיות. לשם הסתכלות במיקרוסקופ קונפוקל, מתבצעת משיכה של המנדיבולות ובכך מתקבלת הפרדה של הראש מהגוף. הפרדה זו מאפשרת לצלם את הראש ומערכת העיכול. הפרפרט מונח על זכוכית נושאת עם תוספת מים, והנחת זכוכית מכסה לפני ביצוע הצילום. צילום הזחלים מתבצע ע"י הנחתם על זכוכית נושאת, וטיפול זהה לזה של הבוגרים. אין צורך במעיכה או בכל טיפול בגוף הזחל.

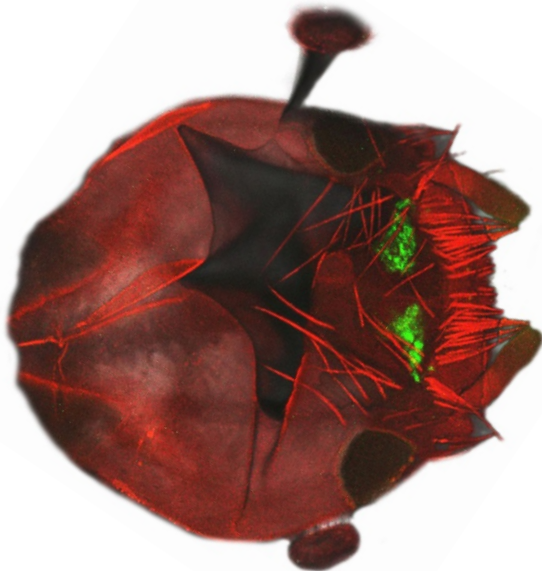
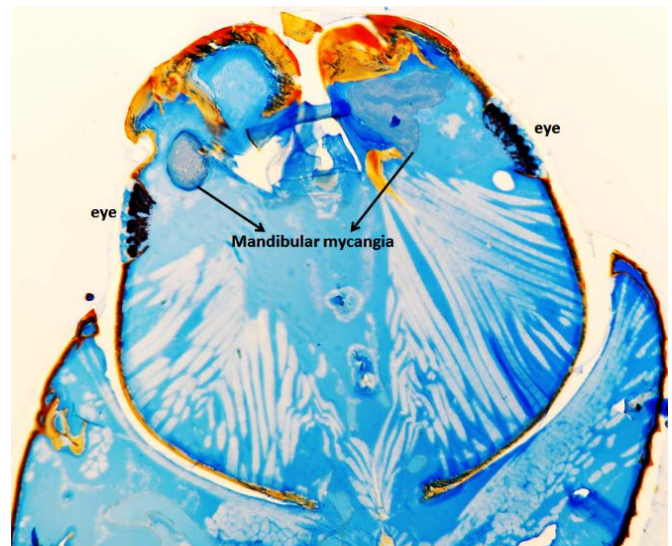
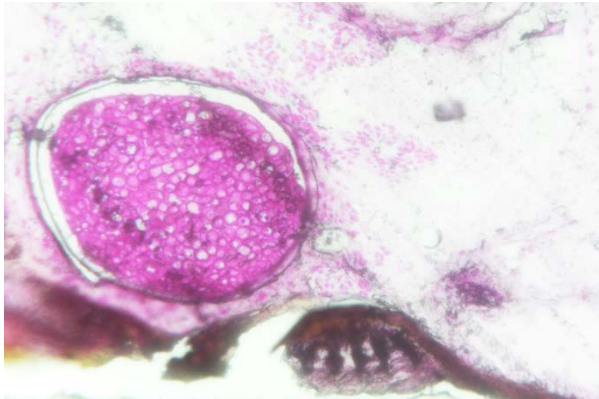
(3) בידוד דרגות ההתפתחות לניסויים. ענפים או קטעי גזע של אבוקדו, אדר מילני וקיקיון המאוכלסים בחיפושיות בוגרות שהתפתחו בהן הובאו למעבדה. בקענו את הענפים והוצאנו מתוכם את כל דרגות ההתפתחות שמוינו על פי הקבוצות הבאות, זחלים, גלמים, ובוגרות שאף הן מוינו על פי מצב

התפתחותן, צעירות כ- 24 שעות לאחר הגיחה שצבעם חום בהיר, בוגרות במצב ביניים שצבען חום כ- 48 – 72 שעות לאחר הגיחה, ובוגרות בשלות שצבען חום-שחור, 4 ימים ויותר לאחר התפתחותן לדרגת הבוגר. הזחלים והגלמים שימשו לניסויים המפורטים בנושא 3, הבוגרים שימשו במערכת ניסויים שבסעיף זה.

הפרטים שנבחרו לבדיקה מושרים ל 10 שניות באתנול 70%, בתמיסה אקונומיקה 1% ל 10 שניות נוספות כדי להיפטר ממיקרואורגניזמים חיצוניים מזהמים, ולאחר מכן עוברים שטיפה במים מזוקקים. הראשים הופרדו מהבטנים. במערכת ניסוי זו הראשים והבטנים, בנפרד, נכתשו בתוספת 100 מיקרוליטר מים סטריליים, לאחר מכן הוספו עוד 100 מיקרוליטר. נעשו מיהולים עשורניים עד פי 1000. המיהולים נזרעו בנפח של 100 מיקרוליטר מכל מיהול על צלחת PDA+CH. על פי מספר המושבות חושבה כמות הנבגים מכל מין פטרייה שנושא הפרט שנבחן.

תוצאות:

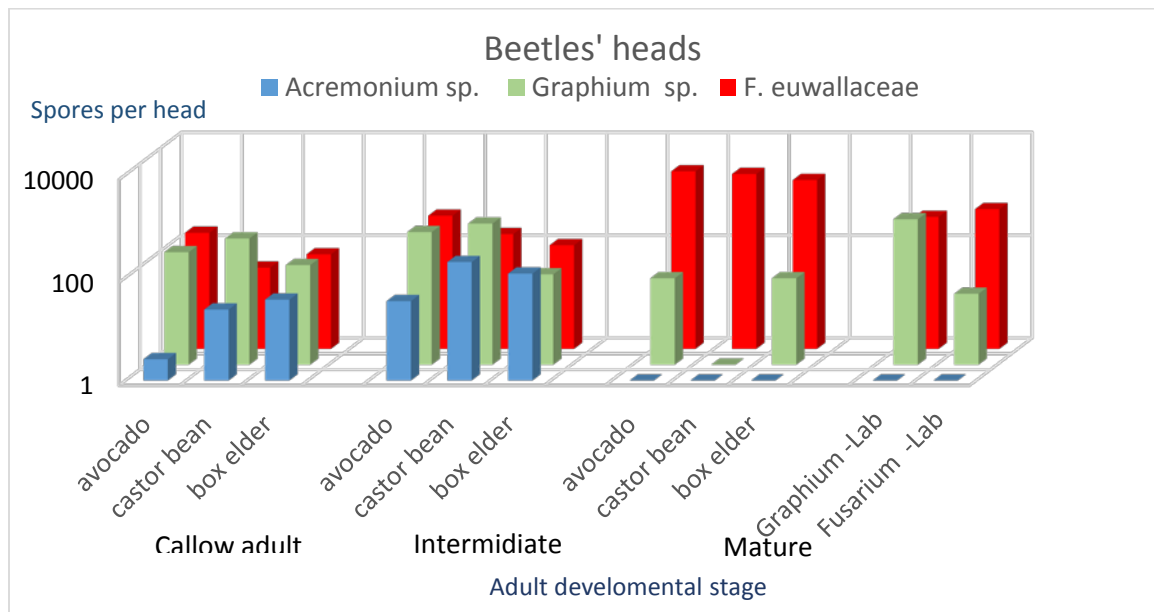
איור 2.1 מדגים את מיקום המיקנגיה באמצעות צילום חתכים צבועים של קופסית הראש. אורך של קופסית הראש, ובאמצעות פטריית הפוזריום המסומנת המאוכסנת בתוך המיקנגיה של החיפושית הבוגרת המוכנה לגיחה או זו המתחילה בבירה של גלריה חדשה. (פרק המחקר בעניין הפטריות המסומנות החל בשנת 2015 ופרטיו ימסרו בדוח הבא).



איור 2.1. בתמונה העליונה מימין נראה חתך של קופסית הראש והפרק הראשון של החזה. הצילום מדגים את מיקומן של המיקנגיה. החתך המוצלח נמצא בצידו השמאלי של הראש המדגים היטב את המצאות המיקנגיום מעל הלסת העליונה המתאימה. בצד ימין למעלה נראה חתך במיקנגיום עצמו. שתי התמונות העליונות צולמו במיקרוסקופ אור. בחלקו התחתון של האיור נמצא צילום של ראש חיפושית האמברוזיה לאחר שזו ניזונה במהלך התבגרותה בפטריית פוזריום מסומנת (GFP).

הפטרייה המסומנת מציינת את מקום המיקנגיה בקדמת הראש בסמוך ללסתות העליונות ומאששת את איכסון הפוזריום במיקנגיה. הצילום בוצע במיקרוסקופ קונפוקלי.

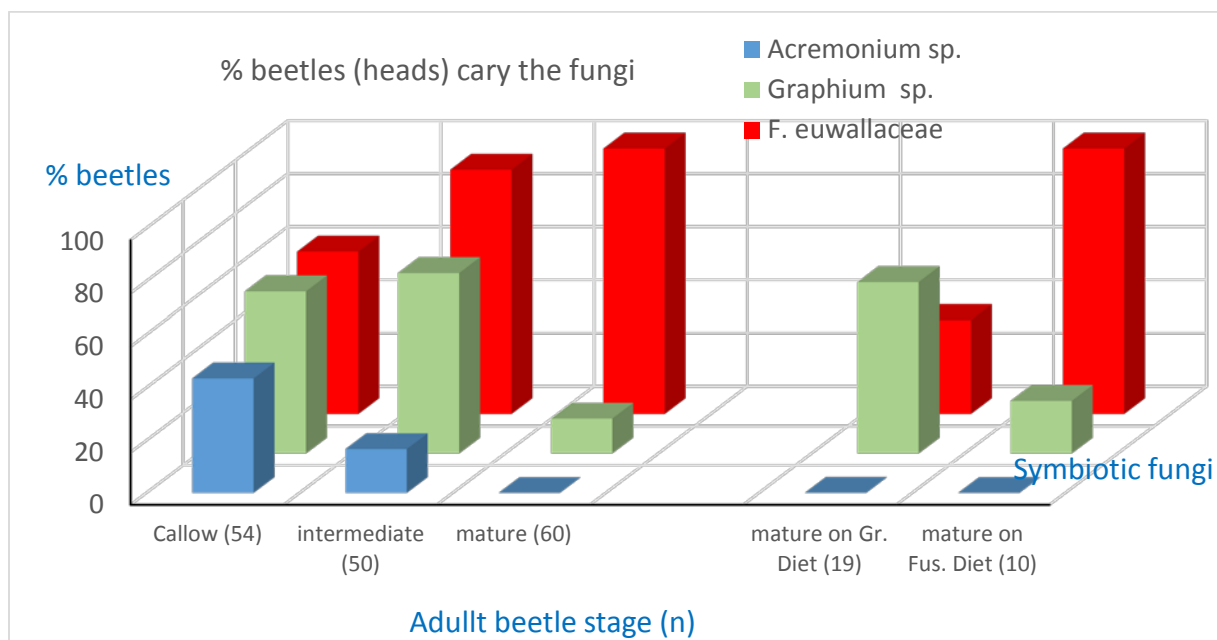
בחינה של נוכחות הפטריות הראשי החיפושיות מעלה את התמונה הבאה (איור 2.2). בבוגרות צעירות נמצאים שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות שהכילו בממוצע 97.6, 168.0 ו-25.1 נבגים של פוזריום, גרפיום ואקרמוניום, בהתאמה, כ-40% מהראשים לא הכילו כלל פטריות. הראשים של בוגרות במצב ביניים הכילו בממוצע 228.6, 332.9 ו-130.7 נבגים של פוזריום, גרפיום ואקרמוניום, בהתאמה, ורק כ-10% מהראשים לא הכילו כלל פטריות. בבוגרות בשלות משתנה המגמה, כאשר ראש החיפושית מכיל בממוצע 2435.1, 32.0 ו-0 נבגים של פוזריום, גרפיום ואקרמוניום, בהתאמה, כאשר הפוזריום מצוי בכל הפרטים שנבדקו. מגמה זו דומה בפרטים שנלקחו מעצי אבוקדו, אדר מלני וקיקיון. תמונה זו בבוגרות בשלות הייתה שונה כאשר אלו התפתחו במעבדה על מצע גרפיום, מצב שהתבטא בכמות גבוהה יותר של גרפיום, וכמות נמוכה יותר של פוזריום, לפחות בסדר גודל אחד בהשוואה לחיפושיות שהתבגרו בצמח הפונדקאי. כאשר הבוגרות התפתחו במעבדה על מצע של פוזריום תמונת הפטריות הראשם היה דומה מאד לאלה שנלקחו מהפרטים בטבע.



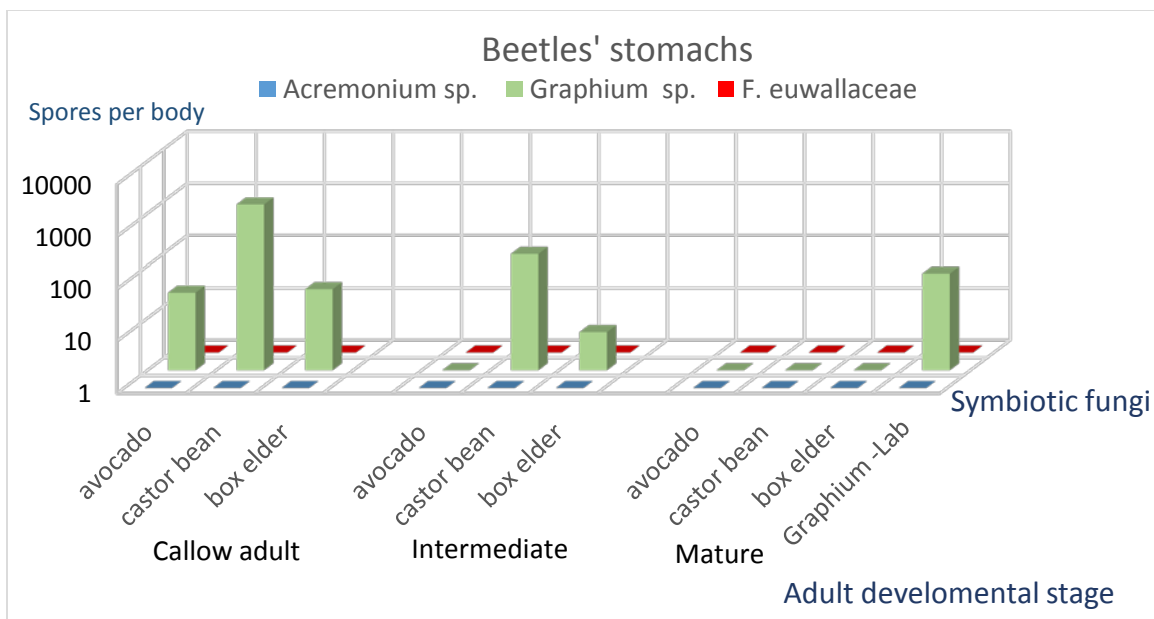
איור 2.2. כימות הנבגים שנמצאה בראשי נקבות חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, בהתאמה לגיל הבוגרת ולצמח הפונדקאי, והשוואה לראשים של נקבות בשלות שגדלו על מצע במעבדה של גרפיום ופוזריום בנפרד.

יש לציין ששיעור הפרטים הנושא את הפוזריום, הלך ועלה עם התבגרותם והגיע לקרוב ל-100%. תמונה הפוכה התקבלה בהקשר לשני מיני פטריות האחרים, שיעור השיא שלהם (>70% בגרפיום ו- >50% באקרמוניום) נרשם דווקא בשלבי ההתפתחות הראשונים של הבוגרות. כאשר החיפושיות התפתחו (משלב הגולם) על מצע גרפיום, בבשלותן, רק כ-35% מהן נשא את הפוזריום ואילו אלו שהתפתחו משלב הגולם על פוזריום שיעור אלו שנשאו פוזריום היה זהה לחיפושיות שמקורן בטבע (איור 2.3).

בחינה של נוכחות הפטריות בבטני החיפושיות העלתה תמונה שונה (איור 2.4). פרט לגרפיום, המצאות שני מיני הפטריות האחרים הייתה אפסית. השינוי בנוכחות הגרפיום בין שלושת שלבי ההתפתחות הייתה כדלקמן, 413.7, 43.2 ו-23.8 נבגים בבוגרת צעירה, בוגרת במצב ביניים ובוגרת בשלה, בהתאמה. גם אחוז הפרטים שנשאו את הגרפיום הלך ופחת עם התבגרות החיפושית, 39.5% בבוגרת צעירה וכ-6.7% בבוגרת בשלה.

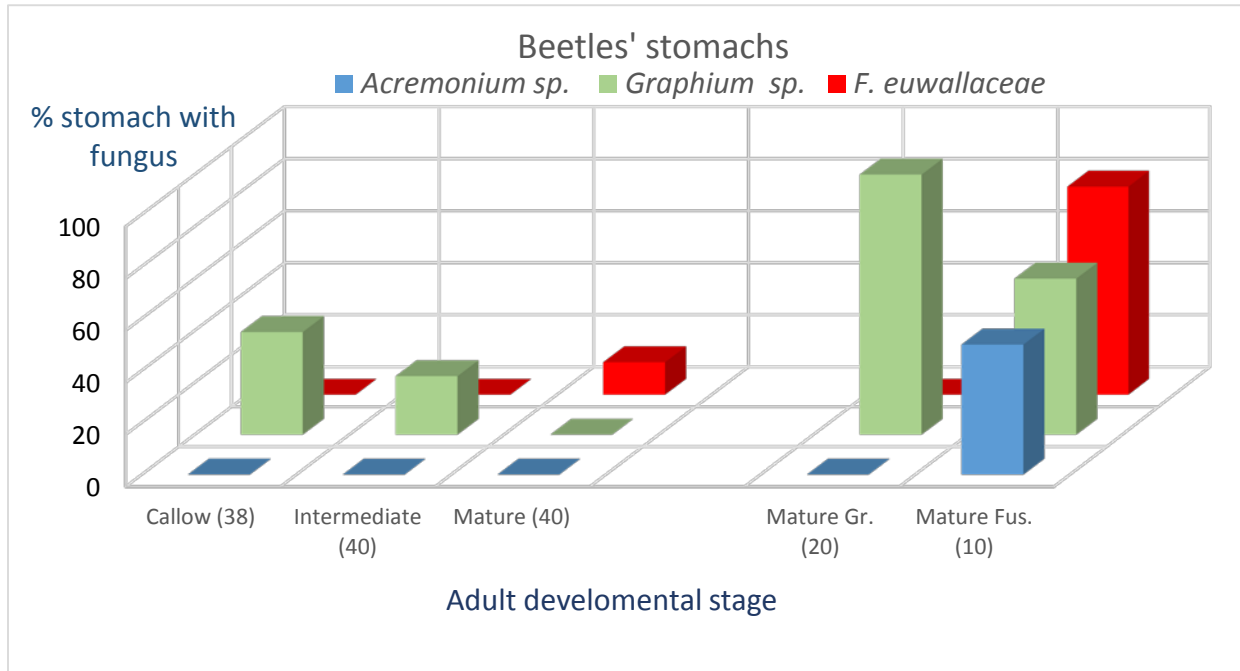


איור 2.3. שיעור (%) הנקבות חיפושית האמברוזיה של האבוקדו הנושאות את הפטריות הסימביוטיות, בהתאמה לגיל הבוגרת ולצמח הפונדקאי, והשוואה לראשים של נקבות בשלות שגדלו על מצע במעבדה של גרפיום ופוזיריום.



איור 2.4. כימות הנבגים שנמצאה בבטני נקבות חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, בהתאמה לגיל הבוגרת ולצמח הפונדקאי.

סה"כ שיעור הפרטים שנאספו מהטבע והכילו פטריות בבטן היה נמוך, הערך הגבוה ביותר - 40%, התקבל בפריטים צעירים שהכילו גרפיום. לעומת זאת פריטים שהתפתחו משלב הגולם על מצע מלאכותי של גרפיום רובם הגדול הכיל את הפטרייה, אלו שהתפתחו במעבדה על פוזריום הכילו את שלושת מיני הפטריות, רובם הגדול הכיל פוזריום (איור 2.4).

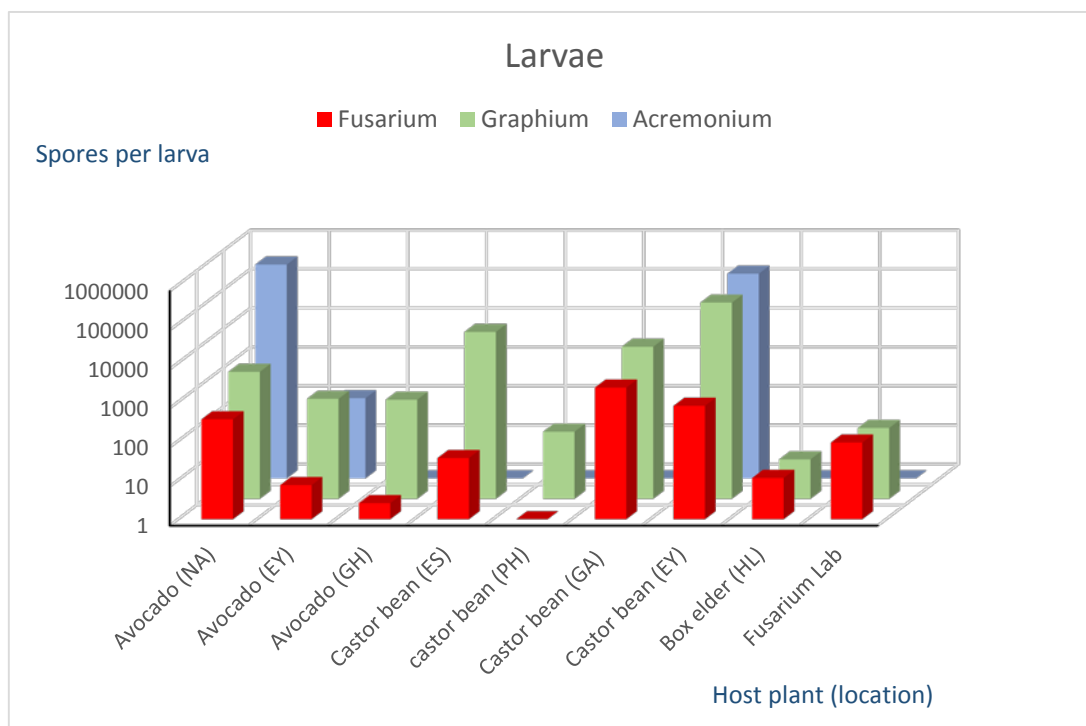


איור 2.5. שיעור הבוגרות של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, הנושאות את הפטריות הסימביוטיות בבטן, (כל שלושת מיני העצים הפונדקאים יחד) בהתאמה לגיל הבוגרת, והשוואה למצבן של חיפושיות בוגרות שהתפתחו משלב הגולם, בנפרד, על גרפיום ופוזריום.

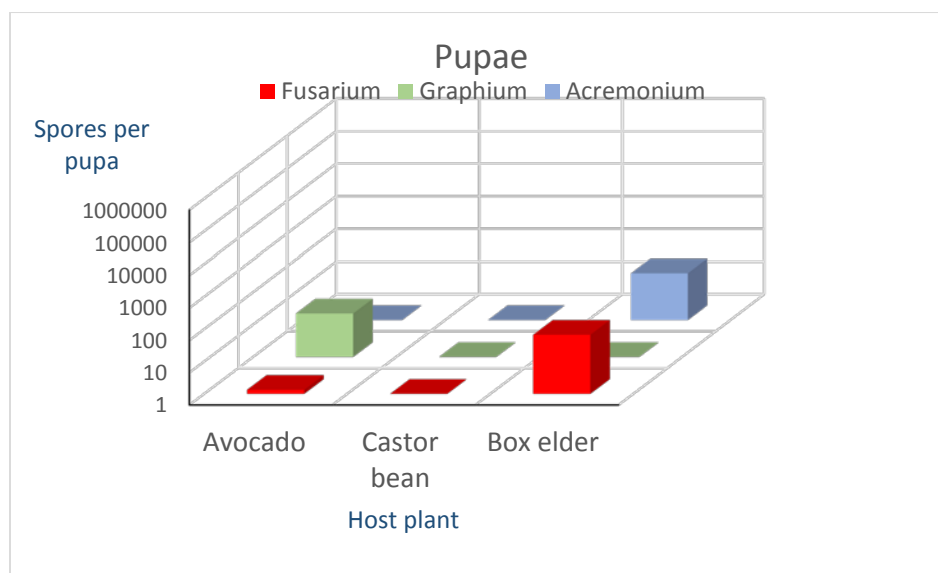
מבחינה של נוכחות הפטריות בזחלי החיפושיות (איור 2.6) נראה שכמות הנבגים מכל מין של פטרייה נבדל באופן קיצוני בין העצים הפונדקאים והאתרים. הפטרייה הדומיננטית היא הגרפיום, וברוב המקרים היא היוותה את רוב תוכן הפטריות שנמצא במעי. אך נמצאו שני מקרים בהם אקרמוניום ובכמויות הגבוהות בסדר גודל אחד או שניים מהפטריות האחרות. הפוזריום הייתה הדומיננטית רק בזחלים שגודלו באופן מלאכותי על מצע פוזריום.

בחינה של נוכחות הפטריות בגלמי החיפושיות הראתה שברוב הגלמים לא נמצאו כלל פטריות. עם זאת מחלק קטן מהגלמים בודדו פטריות, על פי רוב בכמות קטנה בהשוואה לדרגות ההתפתחות האחרות (איור 2.6).

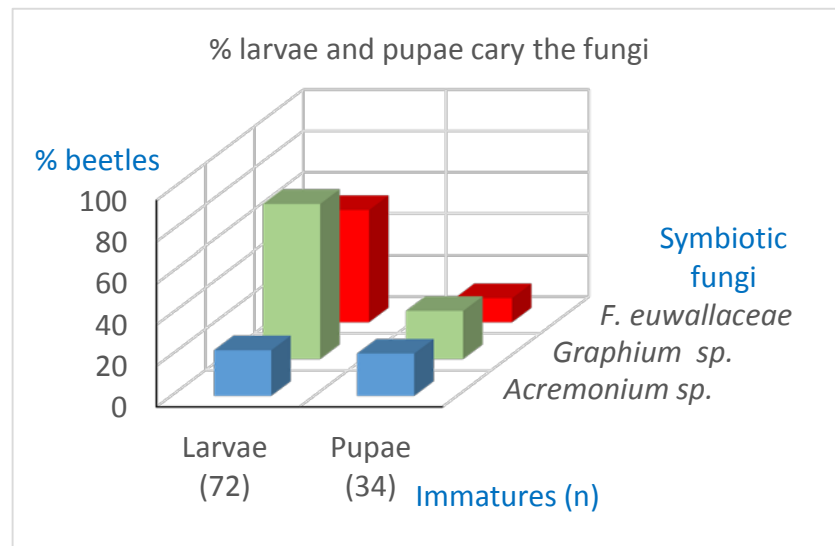
באיור 2.7 מוצגת השוואה בין השיעור הגבוה של הזחלים לעומת השיעור הנמוך של הגלמים שנשאו את הפטריות, כך לדוגמה הגרפיום נמצא על 72% מהזחלים ורק ב- 34% מהגלמים.



איור 2.6. כימות צפיפות הנבגים שנמצאה בזחלי חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, בהתאמה לעץ הפונדקאי והמקום בו נדגמה האוכלוסייה. NA - נחשולים, EY - איל, GH - געש, ES - אשתאול, PH - פרדס חנה, HL - חרב לאת



איור 2.6. כימות הנבגים שנמצאה בגלמי זחלי חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, בהתאמה לעץ הפונדקאי.



איור 2.7. שיעור הזחלים והגלמים של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, הנושאים את הפטריות הסימביוטיות (כל שלושת מיני העצים הפונדקאים יחד).

דיון

בחינה של נשיאת הפטריות ע"י החיפושיות מציגה את התמונה הבאה: הבוגרים הצעירים, לאחר הגיחה מדרגת הגולם, נושאים בראשם (ככל הנראה במיקנגיה היות ולא ניתן היה לוודא זאת באופן ישיר) את כל שלושת הפטריות הסימביוטיות בכמות ממוצעת של עשרות עד מאות נבגים. בגוף הבוגרות הצעירות ואלו בשלב ביניים (לאחר שהופרד מהם הראש) נושאות בעיקר את הגרפיום. אנו משערים שפטרייה זו משמשת להם מזון במהלך ההתבגרות. הבוגרות הבשלות, לקראת הגיחה או המשך הרחבת אזור הגלריות, נושאות במיקנגיום בעיקר את הפוזריום, בסדר גודל של אלפי נבגים. אם כי גם עשרות בודדות של נבגי גרפיום, וככל הנראה גם את נבגי האקרמוניום. יתכן שבשיטת המיהול בה נקטנו על מנת לאמוד את צפיפות הנבגים, לא ניתן לבדוד את הנבגים המעטים יחסית של גרפיום ואקרמוניום.

הזחלים נושאים בתוכם את שלושת מיני הפטריות, ככל הנראה בעיקר במערכת העיכול. בעוד שתמונת נוכחות הפטריות בראשי ובבטני החיפושיות הבוגרות הציגו תמונה כמעט זהה עבור פרטים שהתפתחו באבוקדו, אדר מילני או קיקיון. הרכב אוכלוסיית הפטריות בזחלים, כמותית ואיכותית, השתנה בהתאמה לאתר הדגימה. ברוב המקרים שנבחנו הגרפיום הייתה הפטרייה הדומיננטית. בזחלים, הפוזריום הופיע בכמות קטנה. בשניים מהמקרים האקרמוניום הופיע במעי בצפיפות גבוהה ביותר. ממצא זה מפתיע לאור העובדה שהזחלים אינם יכולים להתפתח על אקרמוניום לבדו. נראה שהגרפיום היא הפטרייה המשמשת להזנת הזחלים. יש לציין שבניסויי מעבדה בשנים קודמות גידלנו את הזחלים על מצע פוזריום והם השלימו את התפתחותם. אנו משערים שהרכב הפטריות במעי הזחלים משקף את נוכחותן בגלריות. לפי שעה אין בידינו ממצאים היכולים להצביע על הגורמים האחראיים לשכיחות של כל אחת מהפטריות הסימביוטיות.

המצאות הפטריות על הגלמים היא ככל הנראה מקרית. לאחר שטיפה ומיצוי הגלמים, ברובם לא נמצאה אף לא אחת משלושת הפטריות. גם כשנמצאו פטריות הן הופיעו ברוב המקרים בצפיפות מאד נמוכה. עם זאת, המצאות גרפיום בראשי חיפושיות שהתפתחו על פוזריום בלבד במצע במעבדה, כנ"ל לגבי פוזריום שהמצע במעבדה היה גרפיום בלבד, מרמזות לכך שיתכן שיש מעבר כל שהוא של מיני הפטריות הנ"ל גם במהלך דרגת הגולם.

על פי ממצאים אלו ניתן להציג את מחזור ההעברה המשוער של הפטריות, שהוא כדלקמן: החיפושית הבוגרת לקראת תעופה ואכלוס פונדקאי חדש נטענת בעיקר בפזריות, שתי הפטריות האחרות כמעט ואינן ניכרות בשלב זה. אנו גורסים שפטריית הפזריות נדרשת לחלק מהתהליך של התבססות בפונדקאי החדש, או בחדירה לאתר חדש על פני פונדקאי בו התפתחה החיפושית. נראה שגל אכלוס נוסף של אותו הפונדקאי מחייב את חיוניותו על מנת להבטיח התפתחות תקינה של דור צאצאים הבא. הפזריות משמש גם כמזון בשלבי התבססות הראשונים בפונדקאי לבוגרים, ויתכן אף לזחלים לאחר הבקיעה. הגרפיום נדרש כמזון עיקרי להתפתחות הזחלים, והבשלת הבוגרים הצעירים. האקרמוניום אינה ככל הנראה מזון, אלא משמשת (בין השאר) כאנטגוניסט כנגד פטריות זרות, וואו מיקרוארגניזמים אחרים שעלולים להשתלט על פני הגלריות ולשבש את התפתחות הפטריות הסימביוטיות. המעבר של הגרפיום והאקרמוניום מהחיפושית המייסדת את מערכת הגלריות החדשה לגלריות של הדור הבא בעץ אחר אינה מובנת עדיין, בכלל זה האפשרות של העברתן אל החיפושית הבוגרת עוד משלב הזחל.

נושא 3. פיזור גילים של חיפושית האמברוזיה במהלך העונה

מבוא

בתצפיות ודגימות שבצענו בשתי שנות המחקר הקודמות נוכחנו שמהלך אכלוס עצי אבוקדו מתקיים לאורך כל העונה החמה. התייבשות ענפים מאוכלסים היא הגורם הדוחף את אוכלוסיית החיפושיות לנטוש את הענף בו הן התפתחו ולעבור לענפים חדשים. ההשערה היא שעם התקדמות הקייץ תופעת התייבשות ענפים מאוכלסים הולכת ומתרחבת ומגיעה כצפוי לשיאה בסתיו. לפיכך ניתן לשער שכמות הפרטים המעופפים במטע, ובכלל, במהלך כל העונה, היא פועל יוצא של בוגרים בשלים לגיחה מתוך העץ, המתקיימת כמעט בכל נקודת זמן, אך במיוחד בסתיו. אחת השאלות החשובות, גם בהיבט המשקי, היא מהו הרכב הגילים של אוכלוסיית החיפושית בעונות השונות, כבסיס להדברה של אוכלוסיית החיפושית באמצעים שונים.

מטרה

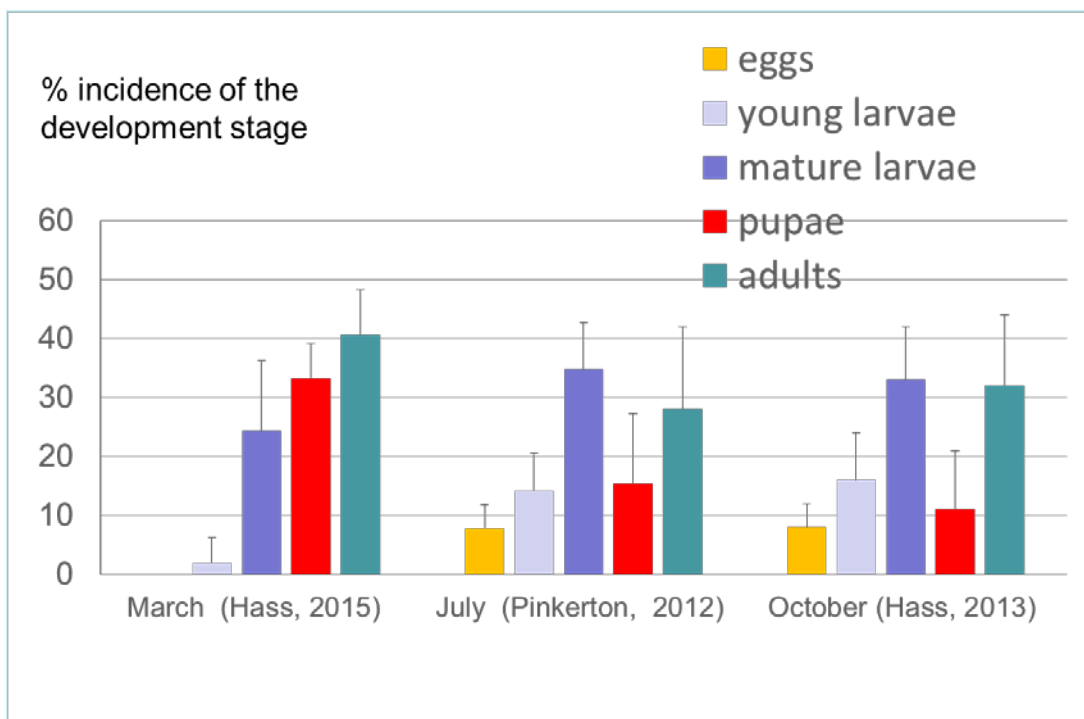
המטרה העיקרית של פרק זה של המחקר הייתה לבחון את מבנה הגילים של האוכלוסייה, באביב, בקייץ ובסתיו.

שיטות ואמצעים

ענפי אבוקדו עם סימנים בולטים של פעילות חיפושית האמברוזיה, שהתבטאו בנוכחות הפרשות פרסיטול והתייבשויות חלקי העליונים של הענף, נוסרו והובאו לבדיקה במעבדה. לבדיקה נלקחו אותם קטעים בהם התקיימה רבייה של החיפושית, על פי רוב בסמוך לבסיס הענף. לצורך זה בוצעו שלוש דגימות, האחת ברישפון, ביולי 2012, ושתיים באייל, אוקטובר 2013 ומרס 2015. סה"כ בכל דגימה הובאו למעבדה כ- 25 ענפים. הענפים בוקעו בזהירות ומתוך הגלריות הוצאו ונספרות כל דרגות ההתפתחות. יש לציין שבשיטה זו חלק מהפרטים 'נהרסים' במהלך הבקעת עצת הענף.

תוצאות

התוצאות מוצגות באיור 3.1. בכל שלושת העונות נמצאו כל דרגות ההתפתחות, פרט לאביב (מרס). בחודש זה נמצאו בעיקר דרגות ההתפתחות המתקדמות, בוגרים וגלמים היוו כ- 74% מכלל האוכלוסייה. במהלך הקייץ והסתיו דרגות אלו היוו כ- 45% בלבד מהאוכלוסיות שנדגמו.



איור 3.1. שכיחות חמש דרגות של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו (% מסה"כ הפרטים שנספרו).

דיון

למעשה כל דרגות ההתפתחות מצויות במטע האבוקדו כל חודשי השנה. עניין זה מכביד למעשה על האפשרות לבצע פעולות מנע בודדות בכוונה לצמצם באופן משמעותי את האכלוס של ענפים ועצים נוספים. עניין זה גם מעיד על הקושי להדביר את האוכלוסייה המצויה בעומק עצת הענפים באמצעות תכשירים סיסטמיים. זאת בשל העובדה שזרימת המים בקטע הענף בו מצויות גלריות רבות משובש. אנו מעריכים שהעובדה שלא נמצאו זחלים צעירים וביצים באביב 2015 היא תופעה האופיינית לחורף, כתוצאה של פעילות מועטה בטמפרטורות נמוכות. עם זאת יש לציין שהטמפרטורות בחורף 2014-15 היו נמוכות מיוחד ויתכן שהייתה להן השפעה על התמונה הקיצונית שהתקבלה.

נושא 4. מהלך האכלוס של ענפי האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה

מבוא

בחינת דפוס האכלוס של עץ האבוקדו כפי שנבחן בשנת המחקר השנייה העלה שתי סוגיות מרכזיות. סוגיה אחת קשורה חוסר ההצלחה של החיפושית להתרבות בענפים עבים וגזעים, לעומת ענפים דקים. הסוגיה השנייה קשורה ליחס ההפוך שבין תגובת הרקמה למותקפת ליכולת החיפושית להתבסס בתוכה ולהתרבות. למעשה, גלריות פעילות והתפתחות צאצאים נצפים בענפים דקים בד"כ, כאלה שחלקם הולך ומתייבש ותגובת הפרשת הפרסיטול בהם היא מועטה. תגובה חזקה של הפרשת פרסיטול, מתקיימת דווקא בנקודות תקיפה לא התפתחו למושבה פעילה (כלומר, בגלריות מאוכלסות בדרגות

התפתחות). במסגרת נושא זה בצענו אכלוס כפוי של ענפים בריאים על מנת לבחון את הצלחת הרבייה של החיפושיות.

המטרה

לבחון את סיכויי ההצלחה של התבססות וההתרבות של חיפושית האמברוזיה בענפי אבוקדו בריאים.

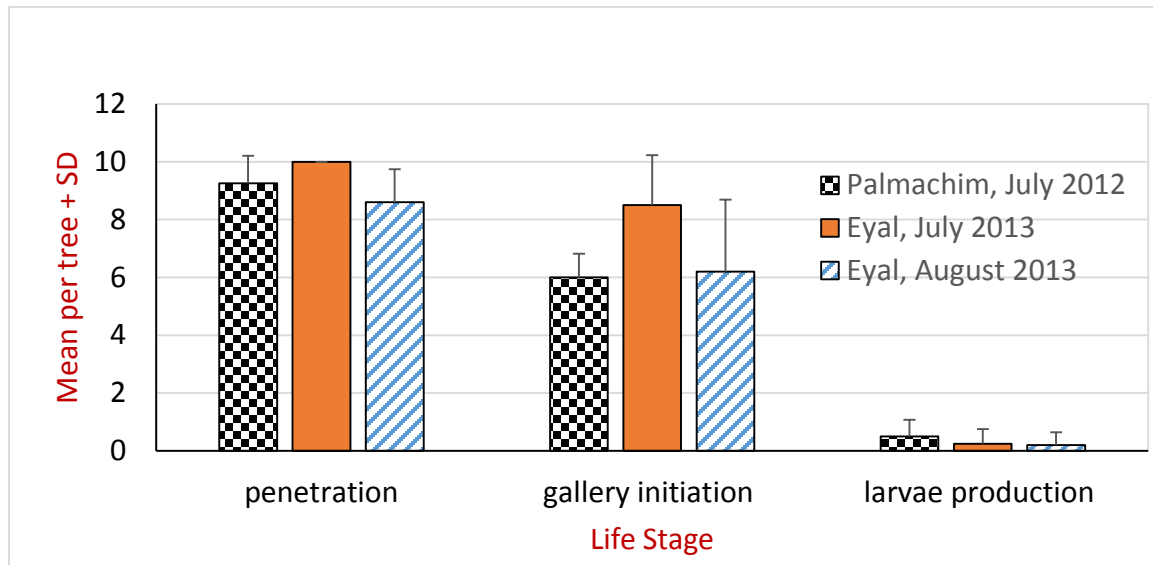
שיטות ואמצעים

הניסוי התבצע בשלושה מטעי אבוקדו (ולהלן טיפולים), בפלמחים ביולי 2012, באייל ביולי 2013 ובאייל באוגוסט 2013. בכל חלקה נבחרו חמישה עצים, ובכל עץ נבחרו עפים בריאים ללא סימני פגיעה קודמים ע"י חיפושית האמברוזיה. הענפים היו בקוטר ממוצע של 3-5 ס"מ שאוכלסו בחיפושיות. האכלוס התבצע באמצעות הצמדת מבחנת אפנדרוף שבתוכה הוכנסו שתי חיפושיות בוגרות. רוב החיפושיות ששימשו בניסוי הגיחו במעבדה מענפי אדר מילני או קיקיון שאוכלסו באופן טבעי ע"י חיפושית האמברוזיה. בכל עץ אוכלסו סה"כ 10 נקודות, כלומר בכל טיפול אוכלסו 50 נקודות תוך שימוש סה"כ במאה נקבות חיוניות של החיפושית.

לאחר שניים או שלושה חודשים נבדקו כל נקודות האכלוס לאחד משלושה מצבי אכלוס אפשריים: האם התבצעה חדירה לנקודה, האם נצפתה גלריה בתוך עצת הענף, והאם היו דרגות התפתחות צעירות המעידות על רבייה.

תוצאות

התוצאות מוצגות באיור 4.1. חדירה לענף נרשמה כמעט בכל המקרים, 86-100% מנקודות החדירה. גם חדירה לעומק העץ נרשמה ברוב המקרים 60-86% מנקודות החדירה. לעומת זאת המקרים בהם נרשמה הרבייה היו מעטים מאוד, 2-5% מנקודות החדירה.



איור 4.1. שלושה מצבי אכלוס אפשריים של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו בענפי אבוקדו בריאים: penetration = התבצעה חדירה לנקודה, gallery initiation = נצפתה גלריה בתוך עצת הענף, המצאות דרגות התפתחות צעירות המעידות על רבייה.

דיון

תוצאות אלו מעידות על כך שסיכויי הצלחת החדירה בענפים בריאים הם קטנים מאוד. אנו ערים לעובדה שיתכן שבחירת ענפים דקים יותר הייתה מעלה של שעורי הצלחת הרבייה. עם זאת, התוצאות מסבירות את חוסר ההצלחה של החיפושית לאכלס ענפים בריאים ומאששת בכך את המסקנה שהתגובה החזקה של העץ היא זו המונעת את ההתבססות ומציגה את הכיבים המפותחים הניכרים בהפרשה רבה של פרסיטול.

נושא 5. מהלך התקיפה ובחירת ענפי האבוקדו ע"י חיפושית האמברוזיה

מבוא

בשתי שנות המחקר האחרונות התברר שהחיפושית עלולה לתקוף מספר גדול של פונדקאים : בישראל כ- 50 מיני עצים (דו"ח לשנת המחקר השנייה) ובקליפורניה כ- 200 מינים (Eskalen et al. 2013), כאשר רוב הפונדקאים המותקפים אינם מתאימים להתפתחות החיפושית. הופעת כיבים מפותחים שאינם מאוכלסים ע"י החיפושית מעלה את השאלה מהי הדינמיקה של האכלוס במטע האבוקדו ומהו אופן בחירת הענפים ע"י החיפושית. האם מדובר בבחירה אקראית של נקודות החדירה, או שלחיפושיות יש העדפה לענפים מסוימים. זאת על רקע המסקנה הכללית שהחיפושית אינה מצליחה בהתקפה ראשונית להתבסס בענפים בריאים של אבוקדו. העובדה שגלריות פעילות המכילות דרגות התפתחות צעירות של החיפושיות, מופיעות בענפים חלשים ויבשים בחלקם, מעלה ביתר שאת את ההשערה שהצלחה רבייתית באבוקדו מושגת רק או בעיקר בענפים חלשים.

ממצאי השנים הקודמות מצביעים על כך שגם לאחר תקיפת סרק, לפחות אחת מהפטריות הסימביוטיות, הפוזריום, ממשיכה להתקיים ולהתפתח באזור פצע החדירה שבצצה. לכן ההיפותזה של ניסוי זה היא שהתקפות הסרק מחלישות את הענף כתוצאה מתבססות הפטרייה. בנוסף לכך אפשר להניח שהפעילות של הפוזריום מייצרת נדיפים המושכים את החיפושית, כפי שאכן הוכח במקרה של מין קרוב אחר של חיפושית אמברוזיה *Xyleborus glabratus* הנמשכת לנדיפים הנוצרים באינטראקציה של הפטרייה הסימביוטית שהיא נושאת *Raffaelea lauricola* (Kuhns et al. 2014).

המטרה

לברר האם החיפושיות נוטות להעדיף ענפים שהותקפו כבר קודם ע"י החיפושית, הן ענפים שההתקפה בהם נכשלה או כאלה שההתקפה עליהם הצליחה, על פני ענפים בריאים.

שיטות ואמצעים

המעקב התבצע באייל במטע אבוקדו מהזן האס (נטיעת 2006) והוא החל באביב 2013. במסגרת זו מוספרו בראשית מרס כמאה ענפים בעצים בחמש שורות שנקבעו כשורות הדגימה. בענפים אלו ובענפי המשנה שלהם סומנו כל הכיבים הישנים. כיבים חדשים שהתפתחו סומנו ונספרו בשלושה מועדים, כלומר ניתן היה לקבוע את התקופה בה הופיע כל כיב בהתאמה לענף מסוים. בהתאם לכך נקבעו באמצע ספטמבר 2013 שלוש קבוצות של ענפים מסומנים על פי מועד הופעת הכיבים, וקבוצה רביעית של ענפים שלא הותקפו, (שבהם לא התפתחו כיבי פרסיטול אופייניים) כדלקמן :

קבוצה א' - ענפים שהותקפו מתחילת מרס ועד תחילת מאי, סה"כ 33 ענפים מתאימים להמשך הניסוי.
קבוצה ב' - ענפים שהותקפו מתחילת מאי ועד תחילת אוגוסט, סה"כ 68 ענפים מתאימים להמשך הניסוי.

קבוצה ג' - ענפים שהותקפו מתחילת אוגוסט ועד אמצע ספטמבר, סה"כ 59 ענפים מתאימים להמשך הניסוי.

קבוצה ד' - ענפים בריאים (שלא שהותקפו). סה"כ 41 ענפים מתאימים להמשך הניסוי.

סה"כ נכללו בתצפית 160 ענפים בהם נמצאו כיבים שככל הנראה היו ללא גלריות המכילות דרגות התפתחות של החיפושית (על פי בחינה של עשרה כיבים באמצעות ביקוע הענף לצורך חשיפת גלריות) ו- 41 ענפים בריאים.

המעקב אחר תקיפת הענפים שסומנו התבצע בשלושה מועדים, סוף אוקטובר 2013, סוף אפריל 2014 וסוף יולי 2014.

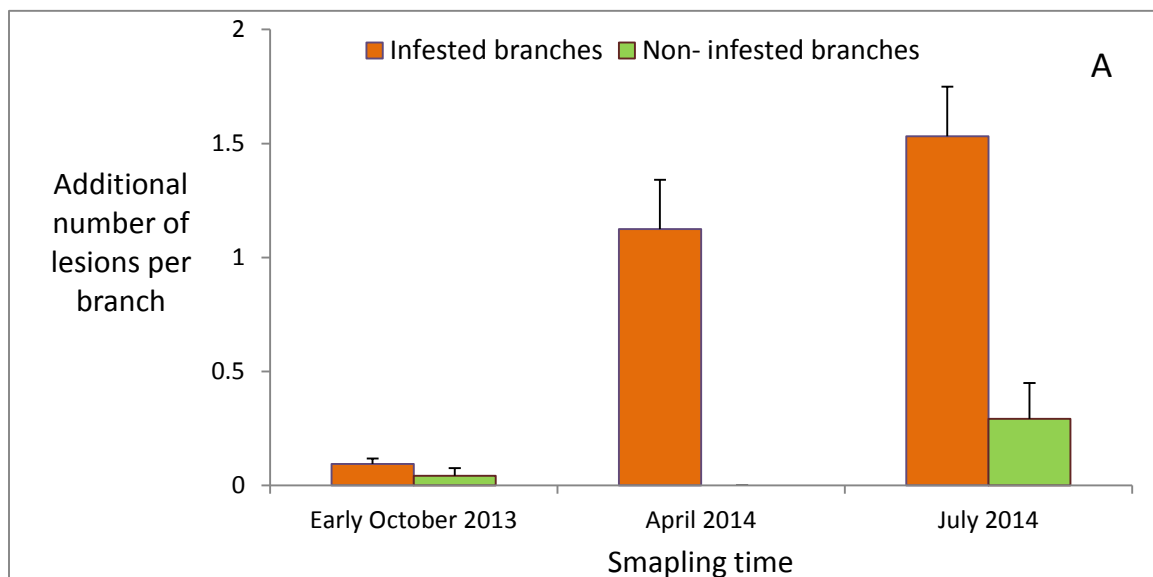
תוצאות

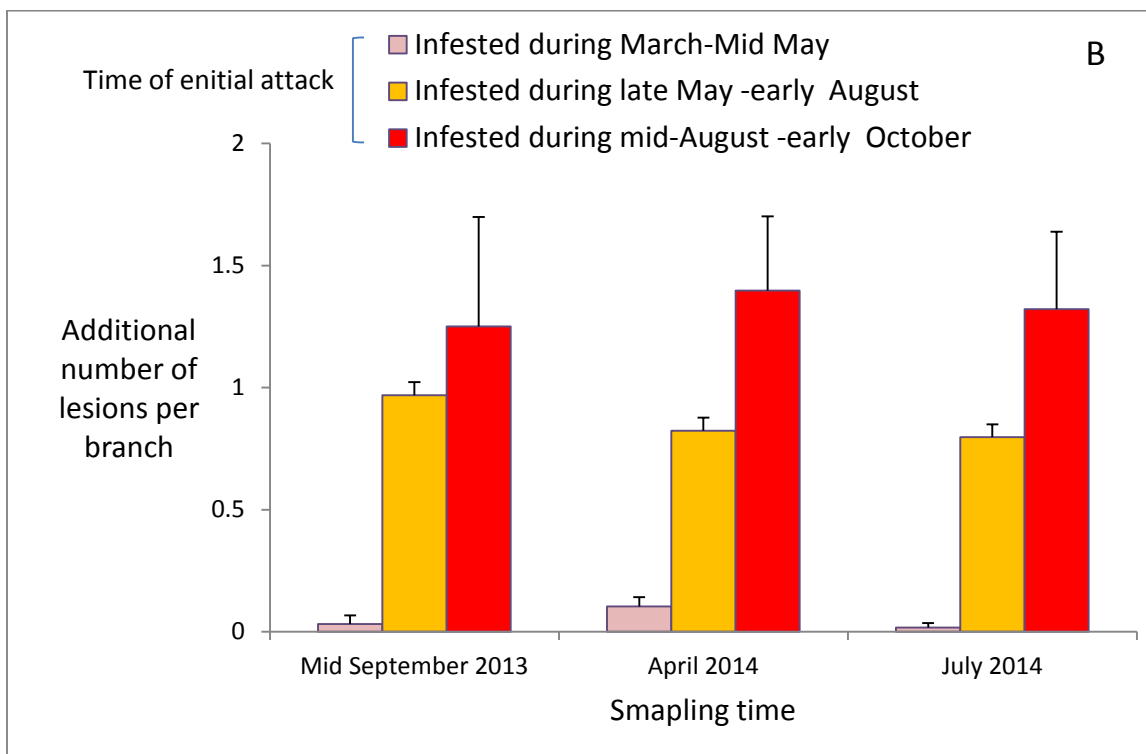
איור 5.1 A מראה שתוספת הכיבים בענפים שהותקפו בעבר גדולה הרבה יותר מאשר בענפים בריאים. כך בסוף יולי 2014 סה"כ התוספת של כיבים הייתה 1.53 בממוצע לענף בהשוואה ל- 0.29 כיבים לענף בריא. איור 5.1 B מציג את הקשר בין תוספת הכיבים בענפים שהיו כבר מותקפים לבין הזמן שהענף אוכלס בפעם הראשונה. התוצאות מצביעות על כך שבענפים שאוכלסו בפעם הראשונה באביב 2013, תוספת הכיבים הייתה המועטה ביותר, ואילו הענפים שאוכלסו בפעם הראשונה בשלהי קיץ 2013 תוספת הכיבים בהם הייתה הרבה ביותר.

דיון

נראה שהחיפושיות נוטות בבירור לתקוף ענפים שהותקפו זה מכבר ע"י החיפושיות (משתי הקבוצות) ממצא זה מצביע על כך שהתקיפה אינה אקראית כאשר תקיפת ענפים שהותקפו בעבר וללא הצלחה של אכלוס, הייתה גדולה פי חמישה מתקיפה של ענפים בריאים (כלומר כאלו שלא הותקפו קודם). ניתן להניח שהבחירה בענפים אלו מעלה את הסיכויים של אכלוס מוצלח. אנו גם מניחים שגילוי ענפים אלה קשור להמצאות נדיפים שהם תוצאה של פעילות הפוזריום, בדומה לתוצאות שהוצגו ע"י Kuhns et al. (2014).

נראה שתוספת הכיבים לאורך שנת התצפית היא גדולה ביותר כשהתקיפה הראשונה של הענף הייתה במחצית השנייה של הקיץ. אחד הגורמים שעשויים להסביר תוצאה זו הוא האפשרות שהתבססות הפוזריום טובה יותר בתקופה זו, אולי בשל מצבו הפיזיולוגי של העץ.





איור 5.1. A- השוואה של תוספת מצטברת של כיבים בענפים שכבר הותקפו 6-12 חודשים קודם לכך. B - השוואת תוספת כיבים בענפים שהותקפו קודם כנ"ל בהתאמה למועד התקיפה הראשונה.

נושא 6. מעקב אחר תהליך האכלוס והרבייה של חיפושית האמברוזיה בענפי אבוקדו

מבוא

התוצאות שהתקבלו בנושא 5, מצביעות על נטייה ברורה של החיפושיות לנסות ולאכלס ענפים שהותקפו בעבר, כלומר כאלה שהוחלשו כתוצאה מתקיפה מוקדמת. בקשנו לנצל מידע זה על מנת לבחון את התהליך באופן מבוקר ובאופן כזה לתאר את מהלך האכלוס כולו.

המטרה

לקבוע את לוח הזמנים בין התקפת סרק (חדירה ללא התבססות) לבין התקפה שבעקבותיה נותרות גלריות בהן מתרבה החיפושית עד לגיחה של הדור החדש.

שיטות ואמצעים

על מנת לחקות את ההתקפה הראשונית על הענף, נבחרו עשרה ענפים בקוטר ממוצע של 10-7 ס"מ בעצי אבוקדו מהזן האס בחלקה במטע איל. בכל ענף סומנו 8 נקודות אכלוס במרחק של 10-6 ס"מ בניהן. בכל נקודה הוצמדה מבחנת אפנדרוף שבתוכה הוכנסו שתי חיפושיות בוגרות (בדומה למתואר בנושא 4). האכלוס התבצע בשבוע האחרון של חודש יולי 2013. שבועיים וארבעה שבועות לאחר האכלוס נבדקו הענפים (בדיקה ראשונה), ונרשמה תגובת הפרסיטול בנקודות החדירה. באמצע ספטמבר 2013, כחודשיים לאחר האכלוס, נבחנו הענפים (בדיקה שנייה) בכדי לקבוע האם הייתה התקפה טבעית, כלומר נוספו כיבים חדשים, וחשפנו 12 נקודות על שלושה ענפים שנבחרו באקראי ובחנו את מצב התפתחות הגלריה, בסוף אוקטובר 2013 התבצעה בדיקה (שלישית) בה ספרנו את הכיבים שהתווספו, ללא חשיפה של העצה שמתחת לכיבים. בראשית מאי 2014 נערכה בדיקה נוספת (רביעית) על מנת לקבוע אם נרשמה תוספת כיבים בזמן שחלף. במחצית השנייה של יולי 2014 נערכה בדיקה חמישית, זאת על מנת לספור את הכיבים שנוספו, במקביל, נחשפו 12 נקודות נוספות בשלושה ענפים (באחד מהענפים האלה חזרו ונחשפו כיבים שכבר נחשפו קודם בספטמבר 2013 ועוד שני כיבים נוספים שטרם נבדקו קודם באופן כזה). באמצע ספטמבר 2014, נספרו שוב כיבים חדשים שנוספו, ונחשפו (לעומק העצה) עוד 10 כיבים (בדיקה שישית). שתי בדיקות אחרונות (השביעית והשמינית), באותה התבנית התבצעו בסוף אוקטובר, 2014, ו במאי 2015.

תוצאות

- (1) שבועיים לאחר האכלוס (יולי 2013) (איור 6.1 A) ב 74 מתוך 80 הנקודות בהן התבצע אכלוס מאולץ נרשמה תגובת פרסיטול ברורה.
- (2) כחודש לאחר האכלוס התגברה תגובת הפרסיטול (איור 6.1 B ו C).
- (3) הבדיקה באמצע ספטמבר הראתה שבאף לא אחת מ- 12 הנקודות שנחשפו נרשמה התרבות של החיפושית, כלומר לא נמצאו דרגות התפתחות צעירות.
- (4) בסוף אוקטובר 2013, כלומר שלושה חודשים לאחר האכלוס הכפוי נרשמה לראשונה תוספת של 8 כיבים חדשים על ארבעה מהענפים.
- (5) בבדיקה שנערכה בראשית מאי 2014, כשבעה חודשים מהאכלוס הכפוי. נוספו עוד תשעה כיבים חדשים (סה"כ 17 כיבים חדשים עד כה) על סה"כ שישה מהענפים.
- (6) בבדיקה שהתבצעה באמצע יולי 2014, כתשעה חודשים, לאחר האכלוס הכפוי, נוספו עוד 48 כיבים חדשים (סה"כ 65 כיבים). יש לציין שתגובת הענף להיווצרות הכיבים בשנת ה- 2014 הייתה שונה בנקודות השונות, במיעוטם תגובת הפרסיטול הייתה חזקה אך ברובם התגובה הייתה חלשה (איור 6.1 D).
- (7) בבדיקה שנערכה באמצע ספטמבר 2014 כבר נמצאו דרגות התפתחות בשלבים שונים של החיפושית, הקצוות הרחוקים של חלק מהענפים החלו מתייבשים.
- (8) בחודש מאי 2015 טרם נצפו חורי הגיחה.

איור 6.1 מציג את השינויים שעבור הענפים במהלך התקופה.

דיון

תוצאות המעקב אחר השינויים שחלו בענפים שאוכלסו באופן מכוון מצביעות על מהלך ההתפתחות של חיפושיות האמברוזיה של האבוקדו והתנאים בהם היא מתרבה בענפי העץ. יש לציין שהענפים שנבחרו היו עבים יחסית, כאשר על פי המידע שהצטבר אצל צוות המחקר ענפים דקים הם רגישים יותר להתקפה. החיפושית מתחילה להתרבות בענף לאחר חולשה מסוימת שלו. כלומר, הצלחת הרבייה המיידית בענפים בריאים היא קטנה, וככל שהענף עבה יותר, כלומר חסון יותר, סיכויי ההצלחה הולכים ופוחתים. האכלוס המכוון שביצענו הכשיר למעשה את הענף לאכלוס מוצלח. נראה שהענפים שנבחרו המשיכו להיתקף באופן טבעי ע"י החיפושיות, ככל הנראה כתוצאה ממשיכה לנדיפים הנוצרים

באינטראקציה בין הפטריות (ככל הנראה הפוזריום) לבין רקמת העץ (נדון במסגרת הנושא הקודם). כאשר רק כשנה לאחר האכלוס הראשוני בפוזריום חלק מהענפים היה במצב מתאים שאפשר לגלי ההתקפה המאוחרים יותר להתחיל ולהתרבות בהם. יש לציין שרק 14 חודשים לאחר האכלוס הראשוני נצפו דרגות התפתחות צעירות שונות בענפים, אך גם במאי 2015 כ- 20 חודשים לאחר האכלוס הראשוני, טרם התרחשה גיחה. זו צפויה על פי הערכתנו בסוף קיץ 2015. יש לציין שעובי הענף, ככל הנראה, מאריך את התהליך, ענפים דקים יותר היו הופכים זמינים מוקדם יותר, וכמו כן ההתדרדרות במצבם הייתה מהירה יותר, ובעקבות כך גם הגיחה הייתה צפויה מוקדם יותר.

המסקנה העיקרית היא שתהליך האכלוס מתחיל במקרים רבים בהתקפות סרק של החיפושית, וכרוך בטעינה של פוזריום (בלבד, ככל הנראה וללא שני מיני פטריות הסימביוטיות האחרים, נושא זה נחקר בשלב כתיבת הדו"ח). מסקנה שניה שפרק הזמן שעובר משלב ההתקפה הראשונה על הענף ועד גיחת הצאצאים הראשונה אורך כשנתיים. תיאור זה מדגיש את החשיבות של טיפול הכיבים וגיוזם ענפים דקים המראים את הסימנים האופייניים של הנגיעות.



27 July 2013 - Colonization



29 August 2013 - Defense response, no development



6 August 2013 – Early response



21 July 2014 – Natural mass colonization – successful development

Emergence is expected during the summer and fall of 2015, and may be early summer of 2016 depending to the deterioration rate of the branch

איור 6.1 . A- אכלוס מלאכותי שהתבצע בסוף יולי 2013. בכל מבחנת אפנדוף שהוצמדה לענף נמצאו שתי חיפושיות. B- שבועיים מאוחר יותר כבר ניכרים סימני התגובה של הענף לחדירת החיפושיות. C- בסוף אוגוסט כבר ניכרת הפרשה רבה של פרסיטול המעידה על פעילות של הפטרייה בלבד, לא נמצאו בתקופה זו גלריות פעילות. D- שנה לאחר מכן ניתן להבחין בנקודות חדירה רבות של התקפה טבעית שתבטא מאוחר יותר גם בהצלחה רבייתית. הגיחה צפויה בסוף קיץ 2015 או ראשית קיץ 2016.

נושא 7. תיאור האכלוס של ענף אבוקדו והסימנים המאפיינים

מבוא

הפגיעה הישירה של פעילות חיפושית האמברוזיה במטע האבוקדו ניכרת בהתייבשות ענפים ובאיבוד הפרי המתפתח עליהם. התצפיות בענפים שונים הצביעו על כך שרק קטע מסוים של הענף למעשה מאוכלס, אך האכלוס מביא בעקבותיו את ההתייבשות של הענף כולו. סימן מאפיין נוסף ברור של האיכלוס, לבד מתגובת ההפרשה הסוכרית – הפרסיטול, הוא החמת העצה שמשנה את צבעה מצהוב בהיר לחום-כתום. בדו"ח הקודם דיווחנו על התפשטות החמת העצה, ועל העובדה שהתפשטות זו אינה מלווה בהכרח בהתפשטות הפטרייה. גם היקף ההחמה שונה במצבים שונים. נראה שלעיתים ההחמה מוגבלת לסביבת הגלריות ולעיתים העצה נצבעת בחום במרחק של עשרות ס"מ מנקודת החדירה.

המטרה

לתאר את דפוס האכלוס בענף טיפוסי של אבוקדו באמצעות הצגת מודל מאפיין.

שיטות ואמצעים

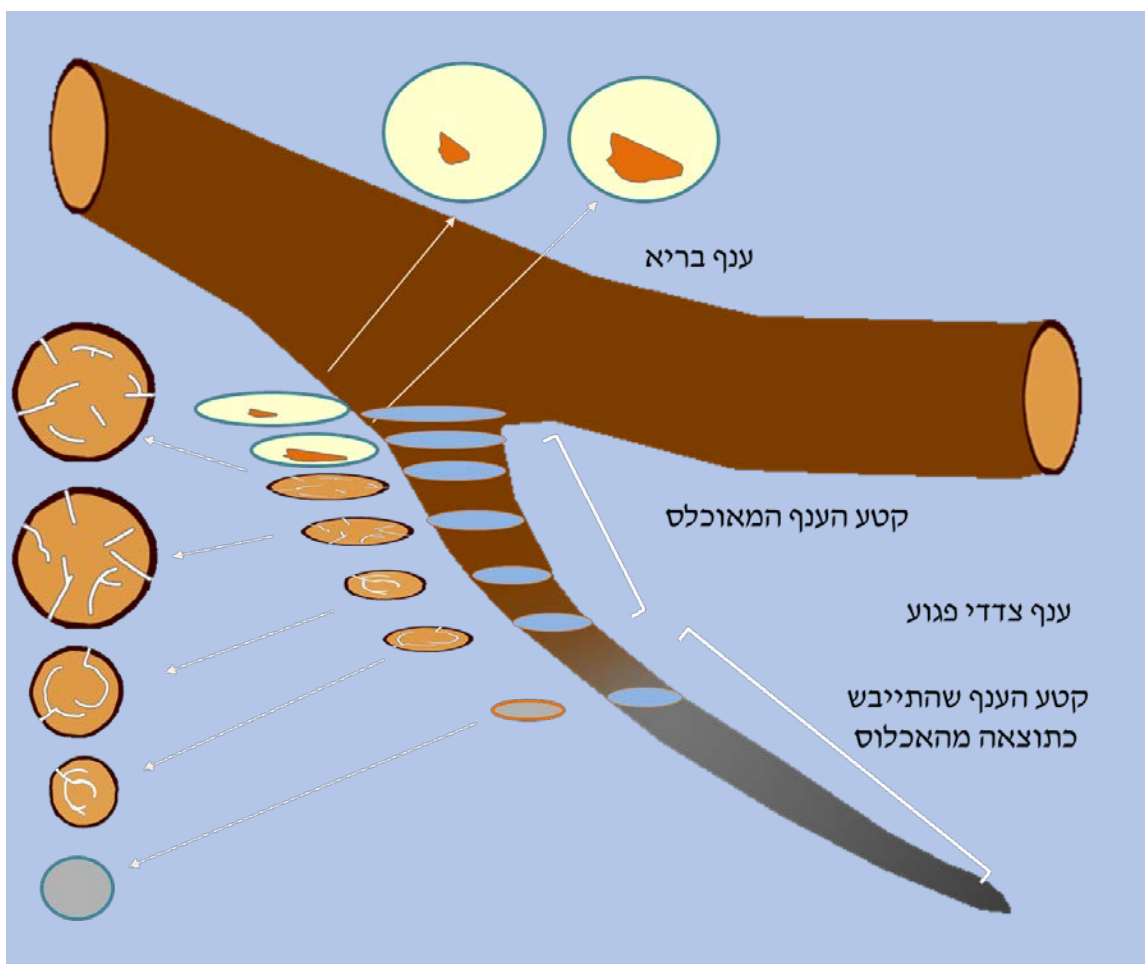
הצגת המודל מבוססת על בחינה של מאות ענפים מאוכלסים בחיפושית האמברוזיה, בעיקר מהזן האס. לצורך זה הענף נכרת, חולק למקטעים, וכל מקטע נבדק לגבי מהותו, כלומר, רקמה חיונית או יבשה, מיקום האכלוס של גלריות רבייה, ואזורים של החמת העצה ביחס למיקום הגלריות.

תוצאות

איור 8.1 מציג תמונה אופיינית של ענף המאוכלס באופן פעיל ע"י חיפושית האמברוזיה. איור 8.2 מציג סכמת אכלוס אופיינית של ענף אבוקדו המבוסס על ענפים רבים שנבדקו.



איור 8.1. ענף מאוכלס באופן טיפוסי בבסיסו ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו. חלקו הרחוק של הענף התייבש. הזרוע האחרת במחלק השמאלי העליון של התמונה היא ענף בריא.



איור 8.2. סכמה של אכלוס ענף ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו. הענף הפגוע מאוכלס בבסיסו, בחלק זה של הענף ניתן לראות את הגלריות ואת ההחמה הטיפוסית בסביבתן הקרובה. ההחמה מגיעה על לבסיס הענף, אך אינה חודרת לענף הראשי ממנו מתפצל הענף המאוכלס. חלקו הרחוק של הענף התייבש ואינו מאוכלס ע"י החיפושית.

איור 8.3 מציג את התפשטות ההחמה האופיינית במצב בו החיפושית חדרה לענף אך לא נרשמה התפתחות נוספת המתבטאת ברבייה. במקרה זה שטח העצה המוכתם סביב נקודת החדירה גדול מאד בהשוואה לנקודות בהם האכלוס הוביל לרבייה של החיפושית.



איור 8.3. התפשטות ההחמה משני צדדי נקודת החדירה של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו.

האכלוס האופייני של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו, מופיע על פי רוב בבסיסי הענפים. כאשר החיפושית נוטה לתקוף, או מצליחה יותר ליצור גלריות רבייה, כשמדובר בענפים דקים יחסית. האכלוס בבסיס הענף מאפשר למקטע המאוכלס ליהנות משטף חומרי הזנה ומים שמקורם בענף הראשי. התפתחות הגלריות מביאה לכך שנוצר מחסום המשבש את זרימת מים לחלקי הענף מעבר לאזור הגלריות (בכיוון חלקי הרחוקים של הענף). וכתוצאה מכך חלקי הרחוקים של הענף מתייבשים. תופעה זו ניכרת גם בענפים עבים יחסית (איור 8.4). אנו מעריכים שפגיעה בענפים עבים כרוכה בניסיונות התקפה חוזרים ונשנים או בחולשה מסוימת של הענף עצמו שאינו מסוגל להגיב לניסיונות האכלוס של החיפושית.



איור 8.4. אכלוס בבסיס ענף עבה מהזן האס. האכלוס הטיפוסי בבסיס הענף (לשם מושטת היד) גרם להתייבשות הענף כולו.

נושא 8 השוואת עוצמת העיכוב של שלושה פונגיצידיים על שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות שנושאת חיפושית האמברוזיה של האבוקדו

מבוא

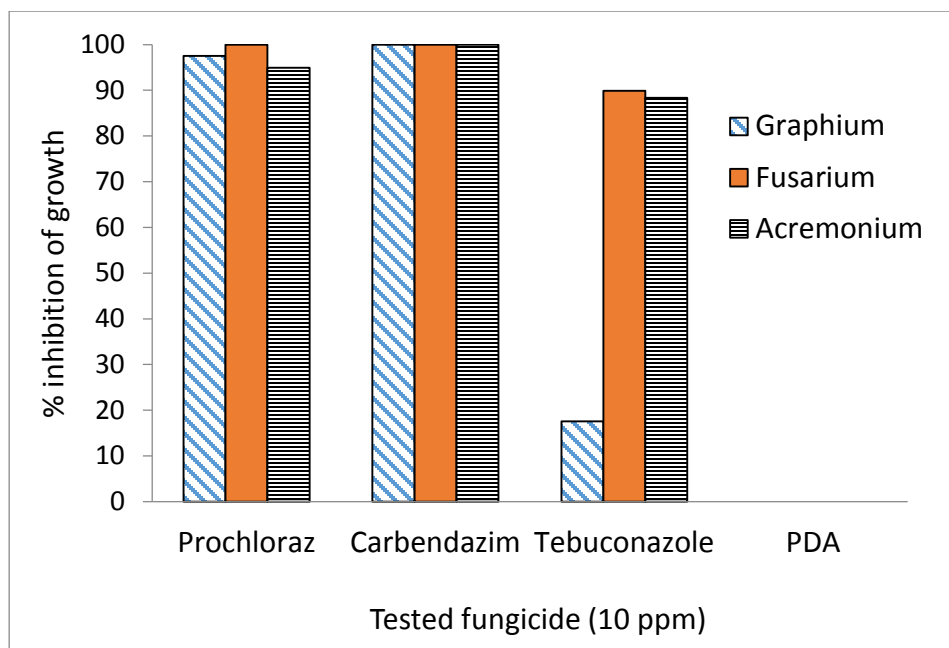
שלושה מקוטלי הפטריות שחוללו תמותה רבה בפטריית הפוזריום הסימביוטית של חיפושית האמברוזיה של האבוקדו נבדקו גם כנגד שני מיני פטריות הסימביוטיות האחרות שנושאת החיפושית. התכשירים שנבדקו, נמצאו כבר יעילים במעבדה לעיכוב גידול של הפוזריום בצלחות פטרי.

מטרה

מטרת המחקר הייתה להשוות את עוצמת העיכוב באמצעות שלושת התכשירים על שלושת מיני הפטריות הסימביוטיות הנישאות ע"י החיפושית.

שיטות ואמצעים

הגידול של גרפיום (G1) ואקרמוניום (GP1) ופוזריום נבדק על שלושה חומרי הדברה שונים בריכוז 10PPM חומר פעיל. הביקורת כללה צלחות פטרי ללא חומר הדברה. הבדיקה של כל חומר הדברה והביקורת נעשתה על 4 צלחות (חזרות). התכשירים שנבחנו הם: פרוכלוראז (מיראז) Prochloraz, דלסן Carbendazim ו-פוליקור Tebuconazole. הניסוי התבצע כדלקמן: במרכז הצלחת הונחה דיסקית בקוטר 0.5 ס"מ של תפטיר הפטרייה. גידולה בצלחות השונות נמדד לאורך כ- 3 שבועות בטמפרטורת חדר.



איור 10.1. מידת העיכוב של גדילת שלושת הפטריות הסימביוטיות שנושאת חיפושית האמברוזיה של האבוקדו באמצעות שלושה פונגיצידיים שנבדקו בנפרד.

תוצאות

פטריות הפוזריום האקרמוניום עוכבו במידה רבה ע"י כל שלושת הפונגיצידים שנבדקו. נראה שהגרפיום רגישה מעט פחות ל Prochloraz ו- Carbendazim, וכמעט ואינה רגישה ל- Tebuconazole.

דיון

תוצאות אלו מצביעות בפעם הראשונה על העובדה שהפטריות הסימביוטיות הנישאות ע"י חיפושית האמברוזיה של האבוקדו עשויות להיבדל ביניהן ברגישות לפונגיצידים שונים. מעניין לציין את ההבדל ברגישות של גרפיום ל Prochloraz ו- Tebuconazole למרות היותם משתייכים FRAC, כלומר לאותה קבוצה של פונגיצידים.