

**משרד החקלאות - דו"ח לתוכניות מחקר  
לקרן המדען הראשי**

<b>קוד זיהוי</b>	<b>א. נושא המחקר (בעברית)</b>
858 - 0068 - 10	הדברה ביולוגית משופרת על ידי התנית פרזיט ואיידים לפרומון מין: עש האשכול כמקרה מבחן

<b>ג. כללי</b>	
מוסד מחקר של החוקר הראשי	
אוניברסיטת חיפה - אורנים	
<b>תאריכים</b>	<b>סוג הדו"ח</b>
<b>תאריך משלוח הדו"ח למקורות המימון</b>	<b>שנתית</b>
שנה חודש	תקופת המחקר
שנה חודש	עבורה מוגש הדו"ח
שנה חודש	התחלה
שנה חודש	סיום
שנה חודש	שנה חודש
6 / 2013	3 / 2011
5 / 2013	

<b>ב. צוות החוקרים</b>		
<b>שם פרטי</b>	<b>שם משפחה</b>	<b>חוקר ראשי</b>
תמר	קיסר	
<b>חוקרים משניים</b>		
אלי	הררי	1
		2
		3
		4
		5
		6
		7

<b>ד. מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח</b>		
<b>שם מקור המימון</b>	<b>קוד מקור מימון</b>	<b>סכום שאושר למחקר בשנת תיקצוב הדו"ח בשקלים</b>
קרן המדען הראשי - מחקרי התכנות	026482	150000

**ה. תקציר שים לב - על התקציר להיכתב בעברית לפי סעיף ה' שבהנחיות לכתובת דיווחים**

**1. הצגת הבעיה:**

"בלבול זכרים" ותגבור אויבים טבעיים הן שתי שיטות נפוצות להתמודדות עם מזיקים בחקלאות ללא שימוש בחומרי הדברה. אולם, יעילותן של שיטות אלה מוגבלת: שיטת "בלבול הזכרים" יעילה בעיקר בחלקות גדולות ובצפיפות נמוכה של אוכלוסיית המזיק. יעילות תגבור האויבים הטבעיים (טורפים ופרזיטואידים) מוגבלת במקרים רבים בשל נטייתם של האויבים הטבעיים להגר אל מחוץ לחלקה ולהיזון מטרף חליפי.

**2. מטרת המחקר:**

לבחון שילוב בין "בלבול זכרים" ותגבור אויבים טבעיים בעזרת התניה של האויבים הטבעיים לפרומון המין הסינתטי של מזיק המטרה, המשמש לבלבול זכרים, טרם שחרורם בחלקה המטופלת. ציפינו ששילוב שתי שיטות ההדברה הביולוגיות ייצור אפקט סינגטי שיוביל ליעילות מוגברת בהשוואה לשימוש בכל שיטה בנפרד.

**3. שיטות העבודה:**

צרעות טפיליות כוללניות ממין *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) שימשו כמקרה מבחן לאויבים טבעיים. הצרעות הורשו להטפיל ביצים של מזיק המטרה *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) בנוכחות פרומון המין הסינתטי של המזיק, לצורך התניה לפרומון. בניסוי שני נבדק האם תמצית רום, המהווה גירוי זר לעולמן הטבעי של הצרעות, יכולה לשמש כגירוי להתניה. האותות כימיים העשויים למשוך את הצרעות לפונדקאים נבחנו בניסויי אולפקטומטר.

**4. תוצאות עיקריות:**

בניסויי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול ולתמצית רום לא נרשמה עליה בשיעור ההטפלה בעת חשיפה נוספת לגירוי המותנה, בהשוואה לקבוצת ביקורת שלא עברה התניה. בניסויי האולפקטומטר לא נמצאה תגובה לנדיפים שמקורם בעש או בעלי גפן, הצמח הפונדקאי של המזיק.

**5. מסקנות והמלצות ליישום:**

תוצאות המחקר מעידות כי יתכן שלצרעות ממין *T. cacoeciae* אין יכולת ללמידה אסוציאטיבית של ריחות, ומעלות את האפשרות שהן מגיבות לאותות מגע בעת חיפוש פונדקאים. פרזיטואידים מציגים טווח רחב של יכולות למידה ורמות תגובה לאותות כימיים הקשורים לפונדקאים. קיומה של שונות גבוהה בין מינים שונים בסוג *Trichogramma* מרמזת כי הבחירה במין *T. cacoeciae* כמקרה מבחן הייתה, ככל הנראה, לא מוצלחת. אולם, השיטה המוצעת במחקר זה הינה כללית ויש להמשיך ולבחון את יעילותה במערכות טפיל-פונדקאי נוספות.

**1. אישורים**

הנני מאשר שקראתי את ההנחיות להגשת דיווחים לקרן המדען הראשי והדו"ח המצ"ב מוגש לפיהן

10/06/2013

תאריך  
(שנה) (חודש) (יום)



אמרוכלות  
(רשות המחקר)

מנהל המכון  
(פקולטה)

מנהל המחלקה

חוקר ראשי

**תוכן עניינים :**

עמ' 2	תקציר
עמ' 3	הצהרת החוקר הראשי
עמ' 3	רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר
עמ' 4	מבוא
עמ' 4	מטרות המחקר
עמ' 4	ניסויים ותוצאות
עמ' 9	דיון
עמ' 11	פרסומים מדעיים
עמ' 12	ביבליוגרפיה

הדברה ביולוגית משופרת על ידי התנית פרזיט ואידים לפרומון מין: עש האשכול כמקרה מבחן

**Improved biocontrol through conditioning of parasitoids to the sex pheromones of moth pests: *Lobesia botrana* as a test case**

מוגש לקרן מחקרי התכנות של המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

תמר קיסר                      החוג לביולוגיה וסביבה, אוניברסיטת חיפה – אורנים  
אלי הררי                      המחלקה לאנטומולוגיה, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני

Tamar Keasar, Biology and Environment, University of Haifa – Oranim, Tivon 36006. Email:  
[tkeasar@research.haifa.ac.il](mailto:tkeasar@research.haifa.ac.il)

Ally Harari, Entomology, ARO, Volcani Center, Bet Dagan 50250,  
[aharari@volcani.agri.gov.il](mailto:aharari@volcani.agri.gov.il)

**תקציר :**

**1. הצגת הבעיה :**

"בלבול זכרים" ותגבור אויבים טבעיים הן שתי שיטות נפוצות להתמודדות עם מזיקים בחקלאות ללא שימוש בחומרי הדברה. אולם, יעילותן של שיטות אלה מוגבלת: שיטת "בלבול הזכרים" יעילה בעיקר בחלקות גדולות ובצפיפות נמוכה של אוכלוסיית המזיק. יעילות תגבור האויבים הטבעיים (טורפים ופרזיטואידים) מוגבלת במקרים רבים בשל נטייתם של האויבים הטבעיים להגר אל מחוץ לחלקה ולהיזון מטרף חליפי.

**2. מטרת המחקר :**

לבחון שילוב בין "בלבול זכרים" ותגבור אויבים טבעיים בעזרת התניה של האויבים הטבעיים לפרומון המין הסינתטי של מזיק המטרה, המשמש לבלבול זכרים, טרם שחרורם בחלקה המטופלת. ציפינו ששילוב שתי שיטות ההדברה הביולוגיות ייצור אפקט סינרגטי שיוביל ליעילות מוגברת בהשוואה לשימוש בכל שיטה בנפרד.

**3. שיטות העבודה :**

צרעות טפיליות כוללניות ממין (*Trichogramma cacoeciae*) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) שימשו כמקרה מבחן לאויבים טבעיים. הצרעות הורשו להטפיל ביצים של מזיק המטרה *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) בנוכחות פרומון המין הסינתטי של המזיק, לצורך התניה לפרומון. בניסוי שני נבדק האם תמצית רום, המהווה גירוי זר לעולמן הטבעי של הצרעות, יכולה לשמש כגירוי להתניה. האותות כימיים העשויים למשוך את הצרעות לפונדקאים נבחנו בניסויי אולפקטומטר.

#### 4. תוצאות עיקריות :

בניסויי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול ולתמצית רום לא נרשמה עליה בשיעור ההטפלה בעת חשיפה נוספת לגירוי המותנה, בהשוואה לקבוצת ביקורת שלא עברה התניה. בניסויי האולפקטומטר לא נמצאה תגובה לנדיפים שמקורם בעש או בעלי גפן, הצמח הפונדקאי של המזיק.

#### 5. מסקנות והמלצות ליישום :

תוצאות המחקר מעידות כי יתכן שלצרעות ממין *T. cacaoeciae* אין יכולת ללמידה אסוציאטיבית של ריחות, ומעלות את האפשרות שהן מגיבות לאותות מגע בעת חיפוש פונדקאים. פרזיטואידים מציגים טווח רחב של יכולות למידה ורמות תגובה לאותות כימיים הקשורים לפונדקאים. קיומה של שונות גבוהה בין מינים שונים בסוג *Trichogramma* מרמזת כי הבחירה במין *T. cacaoeciae* כמקרה מבחן הייתה, ככל הנראה, לא מוצלחת. אולם, השיטה המוצעת במחקר זה הינה כללית ויש להמשיך ולבחון את יעילותה במערכות טפיל-פונדקאי נוספות.

#### הצהרת החוקר הראשי :

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים : לא

חתימת החוקר \_\_\_\_\_ תאריך : 6.6.13

#### רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר :

1. קינן י, הררי א, קיסר ת, 2012. האם התניה לפרומון המין של הפונדקאי משפרת את יעילות ההטפלה של פרזיטואיד ? כנס העמותה הישראלית לזואולוגיה, באר שבע.
2. Keynan Y, 2013. Improved biological pest control by conditioning of parasitoids to sex pheromones: *Lobesia botrana* as a case study. M. Sc. thesis, University of Haifa.
3. Keynan Y, Harari A, Keasar T, 2013. Can parasitoid recognition of hosts be improved by conditioning to host mate-recognition cues? Accepted for presentation, European Society for Evolutionary Biology Conference, Lisbon, Portugal.

## מבוא:

תגבור אויבים טבעיים היא גישה רווחת להדברה ידידותית לסביבה של עשים מזיקים. יעילות הגישה מוגבלת במקרים רבים על ידי נטייתם של האויבים הטבעיים להגר אל מחוץ לחלקה שבה פוזרו, ולהיזון מטרוף חליפי. מגבלה זו חריפה במיוחד כשמדובר בטורפים וטפילים כוללניים. גישה מקבילה היא "בלבול זכרים" – שיטה בה מציפים את החלקה בפרומון מין סינתטי של המזיק, ובכך מקשים על זכרים למצוא בנות זוג ולהפרות אותן. גישה זו נמצאה יעילה בעיקר בחלקות ששטחן גדול, מכיוון שלשטחים קטנים גבול גדול יחסית עם חלקות סמוכות המגדיל את סבירות המעבר של נקבות מופרות מחלקות הסמוכות לשטח המטופל. כמו כן בלבול זכרים יעיל לרוב כשאוכלוסיית המזיק נמוכה, מפני שבאוכלוסיות גדולות גדל הסיכוי שזכרים ונקבות ייפגשו באקראי (Vickers & Rothschild, 1991, Gordon et al., 2005).

עש האשכול, *Lobesia botrana*, הוא מזיק מפתח בכרם בארץ, במזרח התיכון, באירופה ולאחרונה גם בארה"ב. זחלי העש ניזונים מהענבים ופוגעים בהם ישירות. בנוסף נגרם נזק עקיף לאשכולות בגלל התפתחות פטריות ברקמות הפגועות. המזיק מקיים 3-4 דורות לשנה בתנאי הארץ, ומהווה עילה למספר רב של ריסוסים. פרומון המין הסינתטי של המזיק הוכנס לשימוש בארץ למטרות בלבול זכרים בשנת 2000, אך השיטה לא אומצה על ידי רוב המגדלים. הסיבות לכך כוללות יעילות בלתי מספקת של השיטה כאשר צפיפויות העש גבוהות, עלות גבוהה והצורך לרסס כנגד מזיקים אחרים (Gordon et al., 2005, Harari et al., 2007). מספר מינים של טפיל הביצים הכוללני *Trichogramma* (*T. evanescens* ו- *T. cacoeciae*) (Vourlioti & Milonas, El-Wakeil et al., 2009, 2006) משמשים להדברה ביולוגית מתגברת של העש בחו"ל, אך טרם הוכנסו לשימוש בארץ. פרזיטואידים רבים, כולל מיני טריכוגרמה, מסוגלים ללמוד לקשר בין נוכחות הפונדקאים שלהם (גירוי לא מותנה) לבין אותות כימיים ואף ויזואליים המאפיינים אותם (גירוי מותנה) (Kearse et al., 2000, Hoedjes et al., 2011). הלמידה, המתבצעת בתהליך התניה קלאסית, גורמת לפרזיטואידים לחיפוש אחרי הפונדקאי ולהטלה בו כאשר הם חשים בגירוי הלא-מותנה.

## מטרות המחקר:

לבדוק את אפשרות ליעל את ההדברה של עש האשכול על ידי שיפור ההדברה הביולוגית המתגברת. זאת על ידי התניה של פרזיטואידים בגידול המונוי לפרומון המין של המזיק טרם הפיזור בשטח. הפרזיטואידים יפוזרו בחלקות שיכילו גם את נדיפיות הפרומון לצורך הדברה על ידי בלבול \ לכידה ביתר של זכרים. הצרעות צפויות לשהות זמן רב יותר באזורי פיזור הפרומון, ולהטפיל שיעור גבוה יותר של הפונדקאים. מטרת המחקר לעיל היא לבחון את התכונות הרעיון על ידי לימוד התגובה של הפרזיטואיד להתניה על ידי פרומון המין של המזיק.

## ניסויים ותוצאות:

### 1. בחירת אויב טבעי לניסויים.

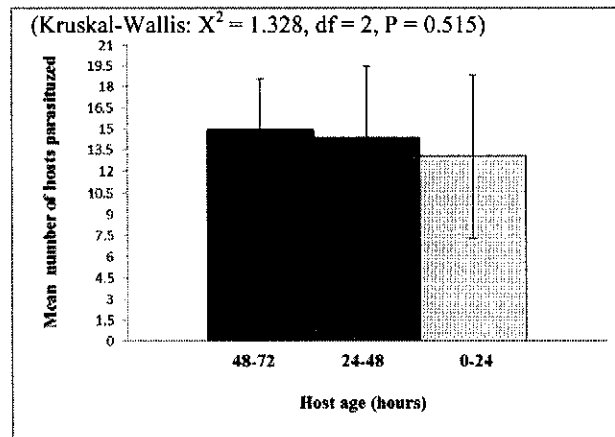
טפיל הביצים הגנרליסטי *Trichogramma cacoeciae* נאסף ע"י צוות חוות עדן מתטולות של עש הסולניים *Tuta absoluta* בצפון הארץ. מצאנו שצרעה פרזיטואידית זו מטפילה בהצלחה גם את ביצי עש האשכול. לאחר התאמה של פרוטוקולים שפותחו בחוות עדן לגידול הצרעות, עברנו לגידול המונוי של *T. cacoeciae* במעבדה שבאוניברסיטת חיפה – אורנים.

הפרזיטואיד גודל על ביצי עש הקמח *Ephestia kuhniella* ועל ביצי עש הפקעות *Phthorimaea*

*operculella* בטמפרטורה  $25 \pm 2^{\circ}$ , לחות יחסית  $60\% \pm 5$  ומשטר תאורה L16: D8. ביצי העש עברו עיקור ב UV, ונחשפו להטפלה על ידי הפרזיטואיד. עש האשכול גודל במעבדה שבמכון וולקני, והועבר כגולם למעבדה באורנים, שם הפרטים מגיחים מהגולם ומזדווגים והביצים נלקחות לניסויים. בניסויי המעבדה, צרעה יחידה נחשפת למספר מבוקר של ביצי לובזיה למשך זמן שנקבע מראש. פונדקאים מוטפלים מזוהים על פי שינוי צבעם לשחור כעבור ארבעה ימים מההטפלה. מצאנו שהפרזיטואיד הוא פרתנוגנטי, כלומר האוכלוסיה מורכבת מנקבות בלבד. ממצא זה מאשש דיווחים קודמים מאוכלוסיות *T. cacaoeciae* באירופה (Vavre et al., 2004). בבדיקה ראשונית (בעזרתה של ד"ר עינת צחורי-פיין, מנהל המחקר התקלאי בנוה יער) לא נמצאו בצרעות סימביונטים חיידקיים המשפיעים על יחס הזוויגים. לפיכך ייתכן שהמנגנון לפרתנוגנזה הוא כרומוזומלי, בדומה למדווה בספרות לגבי האוכלוסיה האירופאית. כמו כן מצאנו שהפרזיטואיד הוא גרגרי, ומטיל 1-2 ביצים בכל ביצה של עש האשכול. אורך הדור של הצרעות בתנאי המעבדה הוא כ 11 יום.

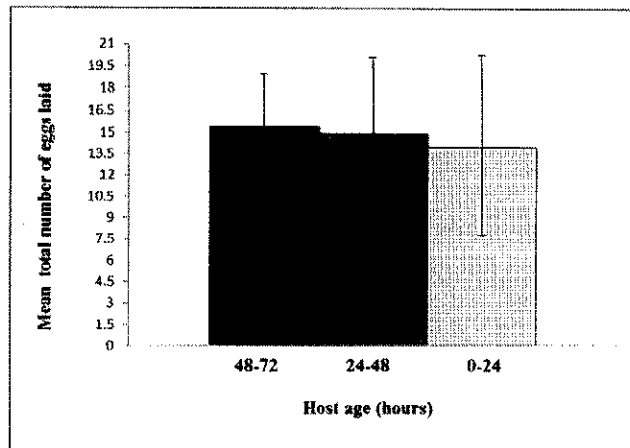
## 2. קביעת גיל הפונדקאי האופטימאלי לניסויים

לקביעת העדפות גיל הפונדקאים של הפרזיטואידים, נחשפה צרעה בודדת ל 20 פונדקאים בני 0-24, 24-48 או 48-72 שעות למשך 24 שעות. 20 צרעות נבחנו עבור כל קבוצת גיל של פונדקאים. מספר הפונדקאים שהוטפלו, כמו גם מספר הביצים שהטילו הצרעות, לא הושפע באופן מובהק מגיל הפונדקאים (איורים 1,2).



איור 1: מספר פונדקאים משלוש קבוצות גיל שהוטפלו במשך 24 שעות.

(Kruskal-Wallis:  $X^2 = 0.390$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0.823$ )



איור 2 : מספר ביצי טריכוגרמה שהוטלו במשך 24 שעות ב 20 פונדקאים משלוש קבוצות גיל.

### 3. פיתוח פרוטוקול לניסויי ההתניה :

פרוטוקול ניסויי ההתניה שפותח כולל שלב התניה ושלב מבחן. כל ניסוי נערך במקביל עבור סט של 4 צרעות. זוג צרעות מכל סט נחשפות לעשרה פונדקאים באינקובטור רווי פרומון מין סינתטי של עש האשכול או תמצית רום לאפיה, בעוד שזוג הצרעות השני נחשף למספר זהה של פונדקאים למשך זמן זהה, אך בחדר נקי מנדיפים. בשלב המבחן, אחת הצרעות מכל זוג נחשפת ל 20 פונדקאים בנוכחות פרומון, והשנייה לפונדקאים ללא פרומון. לפיכך בכל סט מתקבל מערך הטיפולים הבא :

שם הטיפול	שלב ההתניה	שלב המבחן
א	כן	כן
ב	כן	לא
ג	לא	כן
ד	לא	לא

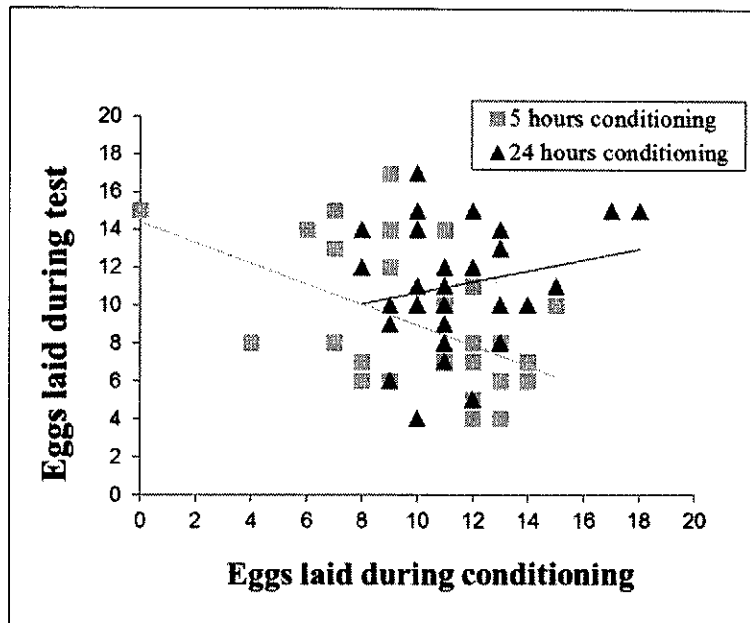
חשיפה לפונדקאים בנוכחות פרומון?

רשמנו את מספר הפונדקאים המוטפלים, ואת מספר הביצים המוטלות על ידי כל צרעה, בשלב ההתניה ובשלב המבחן.

### 4. קביעת משך התניה מתאים

הטלת ביצים רבות בשלב ההתניה עלולה לגרום למגבלת ביצים במערכת הרבייה של הצרעות בשלב המבחן, ולפגוע ביעילות ההדברה שלהן בשלב זה. כדי לבחון את האפשרות הזו בדקנו את מספר הפונדקאים המוטפלים, בשני שלבי הניסוי, עבור שני משכי התניה : 5 שעות ו 24 שעות. ציפינו שמגבלת ביצים תבוא לידי ביטוי בקורלציה שלילית בין מספר הביצים המוטפלות בשני שלבי הניסוי. קורלציה כזו אכן התקבלה עבור משך התניה של 5 שעות, אך לא עבור משך התניה של 24 שעות (איור 3). אנו משערים שהתניה בת 24 שעות אפשרה הבשלה של ביצים חדשות, ה"מפצות" על אלו שהוטלו. לפיכך התניה בת 24 שעות עדיפה על התניה בת 5 שעות, ובהמשך המחקר השתמשנו במשך התניה זה.

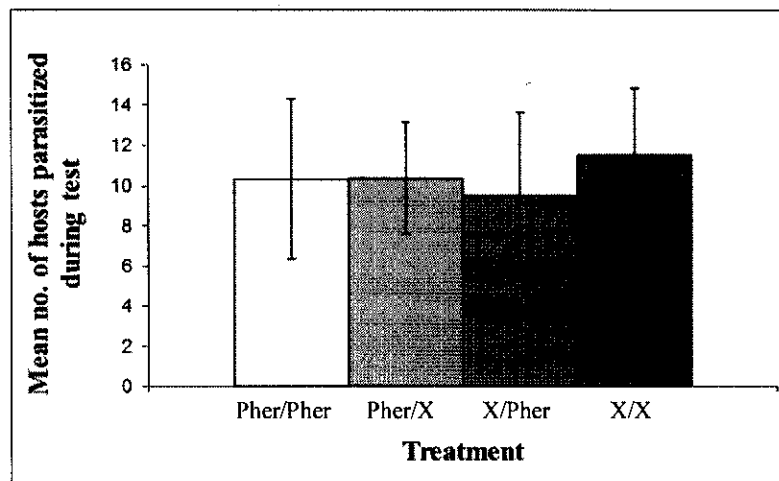




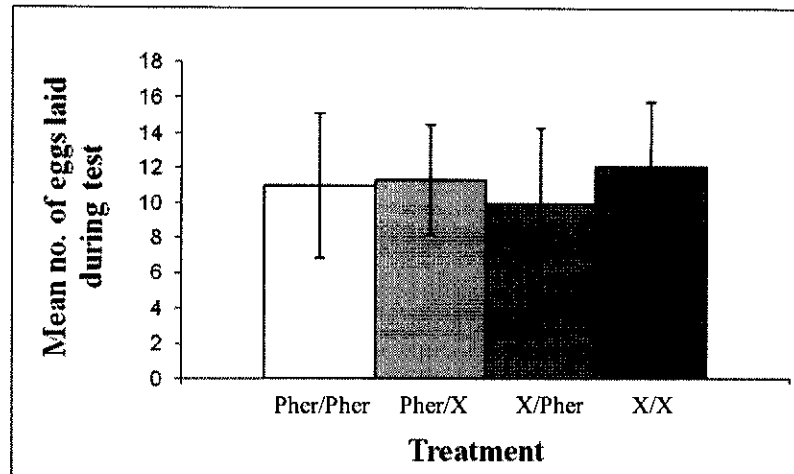
איור 3: הקשר בין מספר הביצים המוטלות בשלב ההתניה ובשלב המבחן, עבור שני משכי התניה.

### 5. תוצאות ניסויי ההתניה לפרומון

חשיפה מוקדמת לפרומון המין של עש האשכול לא הגדילה את מספר הביצים שהצרעות הטילו, או את מספר הפונדקאים שהטפילו, בשלב המבחן (איורים 4, 5).



איור 4: מספר הפונדקאים (ממוצע וסטיית תקן) שהוטפלו בשלב המבחן בניסוי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול. Pher/Pher: חשיפה לפרומון בשני שלבי הניסוי, Pher/X: חשיפה לפרומון בשלב ההתניה בלבד, X/Pher: חשיפה לפרומון בשלב המבחן בלבד, X/X: ללא חשיפה לפרומון.

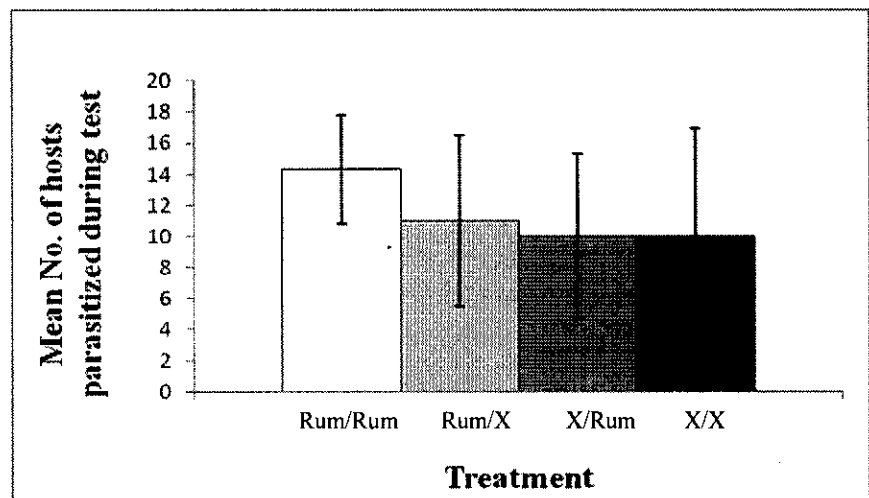


איור 5: מספר הביצים לצרעה (ממוצע וסטיית תקן) שהוטלו בשלב המבחן בניסוי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול. Pher/Pher: חשיפה לפרומון בשני שלבי הניסוי, Pher/X: חשיפה לפרומון בשלב ההתניה בלבד, X/Pher: חשיפה לפרומון בשלב המבחן בלבד, X/X: ללא חשיפה לפרומון.

תוצאות אלו העלו את האפשרות, שהצרעות מגיבות באופן מולד לפרומון המין של הפונדקאי שלהן, ולכן לא ניתן להגביר את התגובה באמצעות התניה. כדי לבחון את האפשרות, חזרנו על ניסוי ההתניה תוך שימוש בתמצית רום לאפיה כגירוי מותנה. שיערנו שזהו גירוי נייטרלי, הזר לסביבתן הטבעית של הפרזיטואידים, ולכן אינו צפוי לעורר תגובת הטלה מולדת.

#### 6. תוצאות ניסוי ההתניה לתמצית-רום

גם בניסוי זה לא נמצא הבדל במספר הפונדקאים שהוטפלו בין צרעות שנחשפו לגירוי המותנה (תמצית הרום) בשלב ההתניה לבין צרעות שלא נחשפו לגירוי המותנה (איור 6).

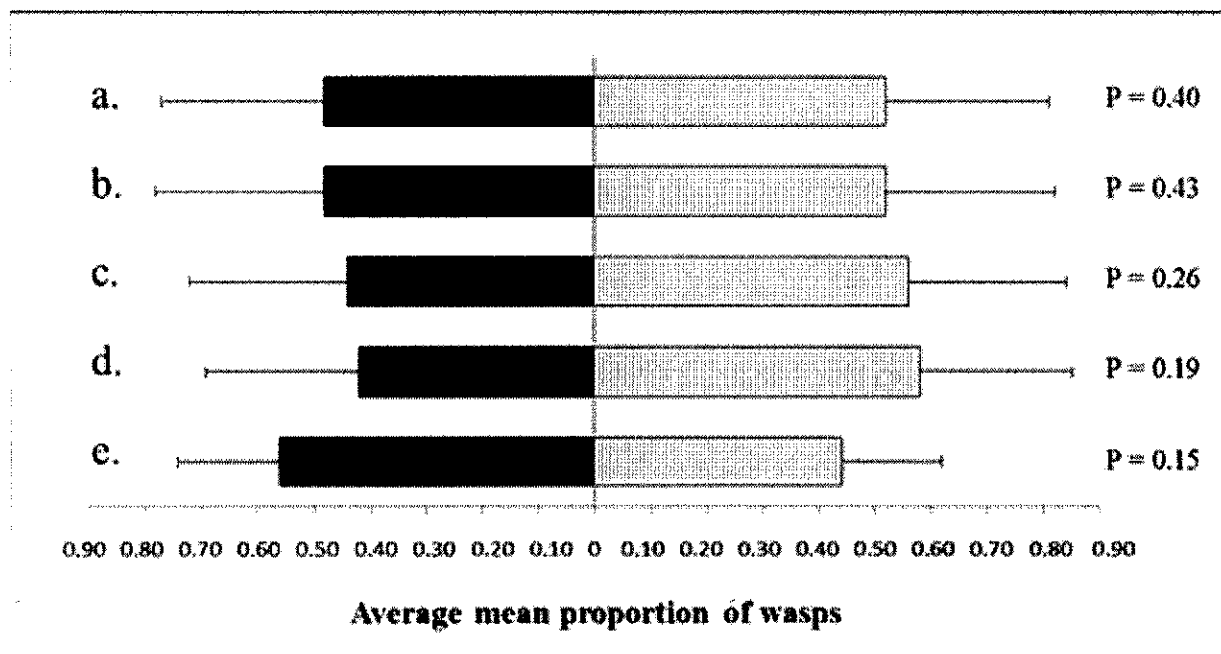


איור 6: מספר הפונדקאים (ממוצע וסטיית תקן) שהוטפלו בשלב המבחן בניסוי ההתניה לתמצית רום. Rum/Rum: חשיפה לרום בשני שלבי הניסוי, Rum/X: חשיפה לרום בשלב ההתניה בלבד, X/Rum: חשיפה לרום בשלב המבחן בלבד, X/X: ללא חשיפה לרום.

תוצאות אלו מעלות את ההשערה של *T. cacaoeciae* אין יכולת ללמידת ריחות.

### 7. ניסויי בחירה באולפקטומטר

השתמשנו באולפקטומטר דינאמי בעל שתי זרועות כדי לבחון משיכה של הצרעות לנדיפים שמקורם בעש האשכול (פונדקאי היעד, איור 7a, b), בצמח הפונדקאי שלו (גפן, איור 7c), בגפן מאולחת בעש האשכול (איור 7d) ובעש הפקעות (ששימש כפונדקאי בגידול ההמוני, איור 7e). הצרעות לא הראו משיכה מובהקת לאף אחד מהגירויים הללו. תוצאות אלו מעלות את ההשערה, שהצרעות מוצאות את הפונדקאים שלהן באמצעות אותות מגע, ולא דרך נדיפים, שמקורם בפונדקאי או בצמח.



איור 7: פרופורציה הצרעות הממוצעת ( $\pm$  סטיית תקן) בכל אחת מזרועות האולפקטומטר ב 30 הדקות האחרונות לניסויי הבחירה. a: בחירה בין פרומון המין הסינתטי של עש האשכול (שמאל) לבין אוויר נקי (ימין). b: בחירה בין קשקשים, הפרשות וביצים של עש האשכול לבין אוויר נקי. c: בחירה בין עלה גפן לבין אוויר נקי. d: בחירה בין עלה גפן מאולח בעש האשכול לבין אוויר נקי. e: בחירה בין קשקשים, הפרשות וביצים של עש הפקעות לבין אוויר נקי.

**דיון:**

**ניסויי העדפת גיל הפונדקאי:** ניסויים אלו נערכו כדי לברר מהו גיל הפונדקאי האופטימאלי לניסויי ההתניה, מכיוון שתיאוריות למידה מנבאות התניה חזקה יותר לפונדקאים מאיכות גבוהה מאשר לפונדקאים מאיכות נמוכה (Keasar et al., 2001). קיימת שונות גבוהה בגיל הפונדקאי המועדף על ידי מינים שונים ואף בין זנים של טריכוגרמה מאותו מין (Mackee, 2005). לכן בחנו את העדפות הגיל של הטריכוגרמות שבידינו בניסוי מקדים. הניסוי הראה שפונדקאים בכל טווח הגילים של 0-72 שעות מוטפלים במידה שווה על ידי *T. cacaoeciae*. תוצאות אלו תואמות ממצאים קודמים לגבי העדפות גיל

הפונדקאי ב *T. cacaoeciae* (Moreno et al., 2009). גם במין *Trichogramma evanescens* לא נמצאו הבדלים בהעדפה לפונדקאי (ביצי לבנין הכרוב) מגילים שונים (Fatouros et al., 2007).

**ניסוי משך ההתניה:** משך ההתניה האופטימאלי צפוי לאזן בין הצורך לאפשר לפרזיטואידים למידה מספקת דרך התניה ממושכת, לבין הסיכון שיכלו את מלאי הביצים במערכת הרבייה שלהם במהלך התניה ארוכה מידי. בניסוי שלנו, התניה בת 24 שעות נמצאה עדיפה על התניה בת 5 שעות. Volkoff and Daumal (1994) מצאו ש *T. cacaoeciae* הוא מין סינאוביגני, כלומר הנקבות מסוגלות להבשיל ביצים תוך כדי חייהן הבוגרים. נקבה בוגרת מגיחה עם כ 15 ביצים, ולאחר מכן מבשילה כ 4 ביצים ליום. כמו כן נמצא שהטלה משמשת כורז להבשלת ביצים נוספות. אנו משערים שמשך התניה של 24 שעות אפשר לנקבות להבשיל ביצים במקום אלו שהטילו, בעוד שהתניה בת 5 שעות היתה קצרה מכדי לאפשר זאת. לפיכך המשכנו להשתמש בהתניה בת 24 שעות גם בניסויים הבאים.

**ניסויי התניה לפרומון ולתמצית רום:** תוצאות ניסוי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול לא תמכו בהשערה המקורית: התנסות בהטלה תוך חשיפה לנדיפים שמקורם בפונדקאי (פרומון המין), לא הביאה למשיכה מוגברת של הצרעות לפונדקאים בחשיפה חוזרת לגירוי המותנה. תוצאות אלו העלו את האפשרות שנקבות *T. cacaoeciae* מגיבות לפרומון המין של העש באופן מולד, ולכן לא ניתן לשפר את התגובה באמצעות התניה. תגובות מולדות דומות מוכרות ממינים קרובים: *Trichogramma ostriniae* מראה תגובה מולדת לפרומון המין של העש *Ostrinia nubilalis* (Yong et al., 2007). ל *T. brassicae* תגובה מולדת לפרומון האנטי-אפרודיזיאק של נקבות לבנין הכרוב (Fatouros et al., 2007, Huigens et al., 2010). מחקר קודם ב *Trichogramma sibiricum* גם הדגים תגובה מולדת לפרומון מין, שאינה ניתנת לשיפור על ידי התניה: צרעות נאיביות נמשכות לפרומון המין של הפונדקאי *Rhopobota naevana* אך הטלה בנוכחות הפרומון אינה מעלה את המשיכה (Mcgregor & Handerson 1998).

ניסוי ההתניה לתמצית רום נועד לבחון, האם ניתן להתנות את הצרעות לגירוי ריח נייטרלי, שאינו מוכר להן מסביבתן הטבעית, מה שמקטין את הסיכוי למשיכה ללא למידה. תוצאות הניסוי מראות שהתניה כזו לא התרחשה, ולפיכך ייתכן שהצרעות אינן מסוגלים ללמוד אותות אולפקטוריים כלל. ממצאים דומים התקבלו במחקרם של Yong et al (2007), שלא מצאו תגובה מולדת או נלמדת בנקבות *T. ostriniae* כלפי פרומון המין של עש פונדקאי. עם זאת, מחקרים רבים אחרים מדגימים למידה אסוציאטיבית של אותות כימיים על ידי פרזיטואידים, כולל מינים שונים של טריכוגרמה. כך, למשל, נקבות של *T. evanescens* הגיבו במבחן אולפקטומטר לפרומון המין של הפונדקאי שלהן רק לאחר שהטילו בפונדקאי בנוכחות הפרומון (Scholler & Prozell, 2002). מין זה גם לומד לזהות את פרומון האנטי אפרודיזיאק של הפונדקאי לבנין הכרוב באמצעות הטלה בנוכחות הפרומון (Huigens et al. 2010). נקבות מהסוג נסוניה הותנו בהצלחה לריח נייטרלי, תמצית וניל או שוקולד (Hoedjes et al., 2012).

ממצאים אלו מדגישים את השונות התוך-ובין מינית הגבוהה ביכולות הלמידה של פרזיטואידים (Hoedjes et al., 2011). הם מעלים את ההשערה, שהאויב הטבעי שנבחר למחקר אינו מתאים למטרת התנייה, בגלל מגבלות על יכולת למידת ריח במין זה. מאידך, ניתן לשער שבמינים אחרים, בעלי כושר למידה מפותח יותר, ניתן יהיה להגיע להתנייה לפרומוני המין של מזיקים חקלאיים, ולכן אנו מציעים לבחון את הרעיון בפרזיטואידים נוספים.

במידה ומושגת התנייה מוצלחת של צרעות אחרות לפרומוני מין של מזיקים, אפשר ליישם את השיטה גם בהקשרים נוספים, למשל התנייה לפרומון מין של מזיק אחד כדי לעודד הדברה של מזיק אחר באותו בית גידול, או שילוב התניית פרזיטואידים בתכניות הדברה המבוססות על לכידה המונית של הזכרים.

**ניסויי בחירה באולפקטומטר**: ניסויים אלו מצביעים על היעדר תגובה של *T. cacaoeciae* לנדיפים שמקורם בפונדקאי המטרה (עש האשכול), פונדקאי הגידול (עש הפקעות) וצמח המטרה (גפן). תוצאות אלו תואמות לחלקם של מחקרים קודמים על אותות המושכים טריכוגרמה ממינים שונים. למשל, *T. ostriniae* ו-*T. brassicae* אינן מגיבות לנדיפי צמחי המטרה שלהן (Fatouros et al., 2005, Yong et al., 2007). מחקרים אחרים, לעומת זאת, הראו משיכה מולדת של טריכוגרמות לנדיפים שמקורם בפונדקאי, בפרומונים שלו ובהפרשותיו (Yong et al., 2007, Reddy et al., 2002) או לנדיפים צמחיים (Reddy et al., 2012, Usha Rani & Sandhyarani, 2012). כמו כן נמצאה תגובה של *T. brassicae* למגע עם צמחי מטרה מאולחים בפונדקאי (Fatouros et al., 2005). מגוון ממצאים זה מדגיש, שוב, את השונות הרבה באותות המשמשים פרזיטואידים לאיתור הפונדקאים שלהם, ומעלה את האפשרות ש-*T. cacaoeciae* מסתמכת על אותות מגע, שלא נבדקו בניסויי האולפקטומטר שערכנו.

לסיכום, תוצאות המחקר אינן תומכות בהשערות העבודה לגבי הפרזיטואיד שנחקר, מכיון שלא הצלחנו להתנות את *T. cacaoeciae* לפונדקאי המזיק *L. botrana*. לאור השונות הרבה ביכולות למידה ובאותות המשמשים לאיתור פונדקאים בפרזיטואידים, אין לשלול את הגישה עבור מינים אחרים, בעלי כושר למידה גבוה יותר. אנו מציעים להמשיך ולבחון את גישת השילוב בין הדברה ביולוגית מתגברת לבין בלבול זכרים במערכות טפיל-פונדקאי-צמח נוספות.

#### רשימת פרסומים מדעיים:

1. קינן י, הררי א, קיסר ת, 2012. האם התנייה לפרומון המין של הפונדקאי משפרת את יעילות ההטפלה של פרזיטואיד? כנס העמותה הישראלית לזואולוגיה, באר שבע.
2. Keynan Y, 2013. Improved biological pest control by conditioning of parasitoids to sex pheromones: *Lobesia botrana* as a case study. M. Sc. thesis, University of Haifa.
3. Keynan Y, Harari A, Keasar T, 2013. Can parasitoid recognition of hosts be improved by conditioning to host mate-recognition cues? Accepted for presentation, European Society for Evolutionary Biology Conference, Lisbon, Portugal.

1. El-Wakeil N, Farghali H, Ragab ZA, 2009. Efficacy of *Trichogramma evanescens* in controlling the grape berry moth *Lobesia botrana* in grape farms in Egypt. Archives Phytopathol Plant Protect 42: 705-714.
2. Fatouros NE, Bukovinszkine'Kiss G, Kalkers LA, Gamborena RS, Dick M, Hilker, M, 2005. Oviposition induced plant cues: do they arrest *Trichogramma* wasps during host location? Entomol Exp Appl 115:207–215.
3. Fatouros NE, Bukovinszkine'Kiss G, Dicke M, Hilker M. 2007. The response specificity of *Trichogramma* egg parasitoids towards infochemicals during host location. J Insect Behav. 20:53–65.
4. Gordon D, Zahavi T, Anshelevich L, Harel M, Ovadia S, Dunkelblum E, Harari AR, 2005. Mating disruption of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae): Effect of pheromone formulations and concentrations. J Econ Entomol 98: 135-142.
5. Harari AR, Zahavi T, Gordon D, Anshelevich L, Harel M, Ovadia S, Dunkelblum E, 2007. Pest management programmes in vineyards using male mating disruption. Pest Management Sci 63: 769-775.
6. Hoedjes KM, Kruidhof HM, Huigens ME, Dicke M, Vet LEM, Smid HM, 2011. Natural variation in learning rate and memory dynamics in parasitoid wasps: opportunities for converging ecology and neuroscience. Proc R Soc B 278: 889–897.
7. Hoedjes KM, Steidle JLM, Werren JH, Vet LEM, Smid HM, 2012. High-throughput olfactory conditioning and memory retention test show variation in *Nasonia* parasitic wasps. Genes, Brain and Behavior 11: 879–887.
8. Huigens ME, Woelke JB, Pashalidou FG, Bukovinszky T, Smid HM, Fatouros NE, 2010. Chemical espionage on species-specific butterfly anti-aphrodisiacs by hitchhiking *Trichogramma* wasps. Behav Ecol 21:470–478.
9. Keasar T, Ney-Nifle M, Mangel M, 2000. Evidence for learning of visual host-related cues in the parasitoid wasp *Trichogramma thalense*. Isr J Zool 46: 243-247.
10. Keasar T, Ney-Nifle M, Mangel M, Swezey S, 2001. Early oviposition experience affects patch residence time in a foraging parasitoid. Entomol Exp Appl 98: 123-132.
11. Makee H, 2005. Factors influencing the parasitism of codling moth eggs by *Trichogramma cacoeciae* March. and *T. principium* Sug. et Sor. (Hymen. Trichogrammatidae). J Pest Sci. 78: 31–39
12. McGregor R, Henderson D, 1998. The influence of oviposition experience on response to host pheromone in *Trichogramma sibiricum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J Insect Behav. 11:621–632.
13. Moreno F, Perez-Moreno I, Marco V, 2009. Effects of *Lobesia botrana* (lepidoptera: Tortricidae) egg age, density, and UV treatment on parasitism and development of

- Trichogramma cacoeciae* (hymenoptera: Trichogrammatidae). Environ Entomol 38: 1513-1520.
14. Reddy GVP, Holopainen JK, Guerrero A. 2002. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. J Chem Ecol. 28:131–143.
  15. Scholler M, Prozell S, 2002. Response of *Trichogramma evanescens* to the main sex pheromone component of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella*, (Z,E)-9,12-tetradecadecyl acetate (ZETA). Journal of Stored Products Research 38:177–184.
  16. Vickers RA, Rothschild GHL, 1991. Use of sex pheromone for control of codling moth, pp. 339-354. In L.P.S.
  17. Volkoff AN, Daumal J, 1994. Ovarian cycle in immature and adult stages of *Trichogramma cacoeciae* and *T. brassicae* (Hym: Trichogrammatidae). Entomophaga 39: 303-312.
  18. Vourlioti F, Milonas PG, 2006. Influence of female age of *Trichogramma cacoeciae* and host eggs on its parasitic effectiveness. Entomol Hellenica 16: 3-10.
  19. Yong T-H, Pitcher S, Gardner J, Hoffmann MP, 2007. Odor specificity testing in the assessment of efficacy and non-target risk for *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Biocontrol Science and Technology, 17: 135-153.

## סיכום עם שאלות מנחות

נא להתייחס לכל השאלות בקצרה ולעניין, ב-3 עד 4 שורות לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.

הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
לבחון שילוב בין "בלבול זכרים" ותגבור אויבים טבעיים בעזרת התניה של האויבים הטבעיים לפרומון המין הסינתטי של מזיק המטרה, המשמש לבלבול זכרים, טרם שחרורם בחלקה המטופלת. ציפינו ששילוב שתי שיטות ההדברה הביולוגיות ייצור אפקט סינרגטי שיוביל ליעילות מוגברת בהשוואה לשימוש בכל שיטה בנפרד.
עיקרי התוצאות.
בניסויי ההתניה לפרומון המין של עש האשכול ולתמצית רום לא נרשמה עליה בשיעור ההטפלה בעת חשיפה נוספת לגירוי המותנה, בהשוואה לקבוצת ביקורת שלא עברה התניה. בניסויי האולפקטומטר לא נמצאה תגובה לנדיפים שמקורם בעש או בעלי גפן, הצמח הפונדקאי של המזיק.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדו"ח?
נראה כי האויב הטבעי שנבחן בניסוי, טפיל הביצים הגרליסטי <i>T. cacoeiae</i> , אינו מתאים ליישום שיטת ההתניה לפרומון המין של עש האשכול, מכיון שאינו לומד אותות ריח. בפרזיטואידים קיימת שונות תוך- ובין-מינית גבוהה ביכולות למידה, ולכן כדאי לבחון את השיטה המוצעת במינים נוספים.
בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך יש לאתר אויבים טבעיים מקומיים נוספים של עש האשכול, ולבחון את יכולתם ללמוד את פרומון המין של הפונדקאי. לאחר השלמת בדיקות מעבדה מוצלחות, יש לבחון את האויבים הטבעיים גם בכרם, בנוכחות ובהעדר בלבול זכרים.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; Keynan Y, 2013. Improved biological pest control by conditioning of parasitoids to sex pheromones: <i>Lobesia botrana</i> as a case study. M. Sc. thesis, University of Haifa.
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)
< <input type="checkbox"/> ללא הגבלה (בפוריית ובאינטרנט)
< <input type="checkbox"/> חסוי – לא לפרסום: יש לצרף אישור ומידע ממוסד המחקר
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחית? כן* - <input type="checkbox"/> לא - <input type="checkbox"/>

\*יש לענות על שאלה זו רק בדו"ח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בדו"ח שנה שנייה במחקר שאושר לשלוש שנים