

דוח מסכם תוכנית מחקר תוכנית מס' 131-1355-08

בידוד וזיהוי חומרים המעורבים במשיכה ובחירה של שורש הצמח הפונדקאי ע"י זחלי קפנודיס האבל וקפנודיס השקדים

Isolation and identification of root substances involved in the attraction and recognition of the roots by *Capnodis tenebrionis* and *C. carbonaria*

מוגש לקרן מדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

ויקטוריה סורוקר, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
ענת זאדה, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
צבי מנדל, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
פביאן עשאל ז"ל, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
סעדיה רנה, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
דניאלה דרגושיץ', המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
שלומית לבסקי, המחלקה לאנטומולוגיה, המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי  
שאול בן יהודה, הגנת הצומח, שה"מ, מחוז העמקים

Victoria Soroker, & Saadia Reneh<sup>1</sup> Email: sorokerv@volcani.agri.gov.il

Anat Zada & Daniela Dragushich<sup>1</sup> Email: anatzada@volcani.agri.gov.il

Zvi Mendel<sup>1</sup> Email: [zmendel@volcani.agri.gov.il](mailto:zmendel@volcani.agri.gov.il)

Shlomit Levski<sup>1</sup> Email: slevski@volcani.agri.gov.il

<sup>1</sup>ARO, Institute of plant protection, Department of Entomology, P.O.B 6

Shaul Ben Yehuda, Plant Protection, Email: shaul\_by@kfar-hachosh.org.il, Extension Services. Ministry of Agriculture.

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים.

חתימת החוקר

הצגת הבעיה: חיפושיות הקפנודיס (*Capnodis carbonaria* ו- *Capnodis tenebrionis*) הם המזיקים הקשים של ענף הגלעיניים. שני המינים הם סטנופאגיים ומתפתחים על מיני הסוג *Prunus*. ממשיק ההדברה של שני המינים מתבסס על שימוש נרחב בתכשירי הדברה חריפים. עלות הדברתן היא גבוהה ואין עדין אמצעים ידיוותיים לסביבה ויעילים כנגדן. אכלוס העצים ע"י הקפנודיס מתבצע תוך חדירה של הנאונטים (זחלים - לאחר הבקיעה) לשורש הפונדקאי מתחת לפני הקרקע. הנאונטים מבחינים בין שורשי הפונדקאי לצמחים שאינם פונדקאים. בכוונתנו בשלב ראשון לזהות את החומרים המעורבים במשיכה של הנאונטים אל השורש של מיני הגלעיניים ובשלב שני לבחון את האפשרות לנצל חומרים אלה בפיתוח אמצעי לשיבוש התנהגותם, ובכך, למנוע מהם לאכלס את השורש ללא צורך בשימוש בתכשירי הדברה. מטרת המחקר העיקריות לשנה זאת היו: א. לימוד דפוסי ההתנהגות של בחירת השורשים על ידי הנאונטים, ב. זיהוי החומרים המעורבים במשיכה של הנאונטים אל השורש.

מהלך ושיטות עבודה: בשנה הראשונה פיתחנו מבחן ביולוגי באמצעותו בחנו את תגובתם של הנאונטים של קפנודיס האבל, לנדיפים שזוהו בנדיפי עלים, ענפים ושורשי הפונדקאי כנה הגלעיניים 677 (*P. persica*) *X P. amygdalus*. השונו את תגובת הזחלים למרכיבים בודדים בריכוזים שונים, לתערובות מלאכותיות של מרכיבים והשונו את תגובתם לתערובות מלאכותיות לעומת תערובת נדיפים טבעית. בשנה האחרונה המשכנו בניסוי מעבדה בקפנודיס האבל. השתמשנו בניאונטים שנתקבלו מביצים שהוטלו על ידי פרטים שנלכדו בשדה. לא הצלחנו לאסוף בטבע אוכלוסיה מספקת של *C. carbonaria* אך לשם השוואת התנהגות בין נאונטים של מיני קפנודיס אחרים ערכנו ניסויים ראשוניים על נאונטים של קפנודיס הצפפה *C. miliaris*. במיקרה של נאונטים של קפנודיס הצפפה בחנו את התנהגותם באותם התנאים בנוכחות קטעי ענפי פונדקאי ענף צפפה או ערבה כנגד קטעי ענף מצמח שאיננו פונדקאי (לימון). כמו כן, בדקנו את תגובת הנאונטים למים ולנדיפי ענפי הצפפה.

תוצאות עיקריות: ממצאי המחקר מצביעים שהנאונטים של שני המינים נמשכים למים ולנדיפי ענפי הפונדקאי. נאונטים קפנודיס האבל אף נמשכים למרכיבים אחדים של נדיפי הענף והשורש שזוהו שמקורם בצמח הפונדקאי. מרכיבי אחדים של נדיפי הענפים ושורשים נמצאו כמושכי זחלים אך טרם נמצא תערובת המחקר במלואה את קושר המשיכה של תערובת נדיפים טבעית.

מסקנות והמלצות: סביר להניח שבטבע, בבחירת הפונדקאי, הנאונטים נעזרים בשילוב של נדיפי הצמח והלחות. כפי הנראה בזיהוי הפונדקאי מתבססים הנאונטים על תערובת של מספר רב של מרכיבים ביחסים ספציפיים. חשוב להמשיך בלימוד מרכיבי התערובת הייחודיים.

## 1.2 מבוא

### 1.2.1 הצגת הבעיה

קפנודיס האבל *Capnodis tenebrionis* וקפנודיס השקדים *C. carbonaria* (חיפושיות ממשפחת הברקניות Buprestidae) נמנים על מזיקי המפתח של מיני הגלעיניים. שני המינים גרמו בעשורים האחרונים לנזקים קשים למטעי גלעיניים ברחבי הארץ. בוגרי הקפנודיס ניזונים על הקורטקס של הענפונים והענפים בעוד הזחלים פוגעים במערכת השורשים. החיפושיות מטילות בקרקע. הן מאתרות שטח קרקע בסמוך לצוואר השורש עם רמת לחות נמוכה, הזחלים נעים בקרקע והנאונטים, מכוונים עצמם אל השורש

וחודרים לתוכו. הפרטים אינם יוצאים מתוך רקמות מערכת השורשים עד לגיחתם כבוגרים. יש עדויות כי הנאונטים מגלים את השורש גם ממרחק של 60 ס"מ ממקום בקיעתם. לפי Rivnay (1945) הם מסוגלים להבחין בין שורשים של צמחים ממינים שונים ולאכלס רק את צמח הפונדקאי, אולם לא היה ידוע כיצד זחלי הקפנודיס מאתרים ומזהים את שורשי הפונדקאי המתאים לאכלוס. בשנתיים שקדמו התרכזה עבודתנו בהתנהגות הנאונטים של קפנודיס האבל. הצלחנו להראות שנאונטים, אך לא זחלים בדרגות מתקדמות יותר, מבחינים בין צמחים פונדקאים ולא פונדקאים, ולא נמשכים לאחרונים. משיכתם של הנאונטים לנדיפים שנאספו מחלקי הכנה 677 מצביעים על כך שנדיפים משמשים את הנאונטים בבחירת הפונדקאי. חוסר ההבחנה בין פונדקאים בזחלים בדרגות התפתחות מתקדמות תואמות היטב את אורח חייהם שאינו כרוך בנטישה של הפונדקאי לטובת אחר במהלך התפתחותם עד לשלב הבוגר. מבין הנדיפים מעדיפים הנאונטים את נדיפי הענפים על נדיפי העלים. בנוסף נמצא שהנאונטים, חשים במפלי לחות ובמצע קרקע יבש, בוחרים לנוע אל מקור הלחות. סביר להניח שבבחירת הפונדקאי, הנאונטים נעזרים בשילוב של נדיפי הצמח ומפל הלחות. ממצאים אלו עשויים להוות הסבר מדוע ההטלה מתבצעת בקרקע שלחותה פחותה מ-10%. השוואת הרכב הנדיפים בין שורשים, ענפים ועלים מצביעים על דמיון מסוים בין שלושת אברי הצמח. הדמיון הגדול יותר, כצפוי, בין נדיפי השורשים לנדיפי הענפים יכול להסביר אולי את המשיכה הרבה של הזחלים לענפים במבחן הביולוגי. תפקידם של הנדיפים המשותפים לשורש וענף במשיכת הנאונטים יבורר בהמשך כן חשוב לבחון האם התנהגות זו של גילוי שורשי הפונדקאי והתגובה לנדיפים הינה ייחודית לקפנודיס האבל או שהיא קיימת גם בקפנודיס השקדים או בקפנודיס הצפצפה.

### **1.2.2 חשיבות המחקר**

לאותות כימיים נודעת חשיבות רבה ואולי אף מרכזית בברירת פונדקאים על ידי חרקים צמחוניים בכלל סטאנופאגיים בפרט (Schoonhoven et al., 1998). למרות שאותות כימיים בריזוספרה ידועים זה זמן מה (Stadler, 2002), רק מעט ידוע על משיכת החרקים בתוך הקרקע אל האותות ממערכות שורשים. ישנן עדויות עקיפות לשימוש באותות כימיים שמקורם בשורשי צמחים ע"י חרקים בוגרים וזחלים להכונה, זיהוי ואכלוס של מערכת השורשים (Guerin & Ryan, 1984; Ryan & Guerin, Strand & Dunn, 1990). זיהוי החומרים המעורבים במשיכה של זחלי הקפנודיס לשורש יהווה את הבסיס לפיתוח גישות חדשות להדברת מזיקים קשים אלו.

### **1.2.3 מטרת המחקר**

מטרות המחקר לשנה שלישית:

- (1) לבחון את המשיכה של הנאונטים של קפנודיס האבל כלפי מרכיבי הנדיפי ענף ושורש שזוהו.
- (2) ללמוד את ההתנהגות הנאונטים של קפנודיס האבל כלפי תערובות נדיפים.
- (3) בחינה יכולת ההבחנה של נאונטים של קפנודיס הצפצפה בין צמחים פונדקאים ואלו שאינם פונדקאים.

#### 1.3.1 מערכת לאספקת נאונטים

מערכת הריבוי לאספקת נאונטים של קפנודיס האבל התבססה בעיקר על בוגרים שנאספו במטעי גלעיניים בעיקר בעמק החולה ובבית דגן. בוגרים הוכנסו לכלובי רשת שבתוכם ענפי שזיף או מי־שמש שנלקחו מעצים שלא טופלו בתכשירי הדברה. הענפים שמשו מזון לחיפושיות. הענפים הושמו בכלי שהחתך של כל ענף טבול במים, כאשר נחסמה הגישה של החיפושיות למים. בתוך כל כלוב הוכנסו צלחות פטרי שבתחתיתן ניר סינון, שכוסה בשכבה של ס"מ אחד של חול מסוּן ששימשו כמצע הטלה. אחת ליומיים הוצאו צלחות הפטרי והוחלפו באחרות, וחודשה אספקת המזון ע"י החלפת הענפים שנאכלו בענפים טריים. מהצלחות שהוצאו מתוך הכלובים החול סוּן והביצים שבתוכם וכלל זה הביצים שהודבקו לפיסות נייר סינון שחוטאו. הביצים הודגרו בתא גידול בטמפ. של  $27^{\circ}\text{C}$  ולחות יחסית של 40-50% ומחזור אור של L10:D14. נאונטים בני 12-24 שעות לאחר הבקיעה שימשו לניסויים או הועברו לקרקע מזון להמשך התפתחות עד למועד הניסוי. מאחר ובמהלך שנות המחקר לא אותרו מספיק פרטים של קפנודיס השקדים *C. carbonaria* ערכנו לשם השוואה ניסויים בהתנהגות נאונטים של קפנודיס הצפצפה *C. miliaris*. במקרה זה הבוגרים נאספו בשטח במושב משגב דב והוחזקו בדומה לאלו של קפנודיס השקדים, ולהזנה סופקו להם ענפי צפצפה וערבה.

#### 1.3.2 כימות מרכיבי אותות כימיים בתערובת נדיפים מחלקי הצמח

חמישה מיצויים של נדיפי ענפים ומיצי אחד נדיפי שורש 677 שנמצאו פעילים במשיכה של נאונטים ב-2007 שימשו להמשך המחקר. המיצויים הופרדו ב-GC-FID על קולונה קפילרית HP-5 (30m X 250  $\mu\text{m}$ ) X 0.25 $\mu\text{m}$ ) בתוכנית הפרדה מ- $50^{\circ}\text{C}$  עד  $230^{\circ}\text{C}$  בקצב של 15 מעלות לדקה. קצב זרימת ההליום 1.5 ml/min. מיקום החומרים, שזוהו ב-GCMS בדוגמאות הצמחיות, בתוך כרומטוגרמה שהתקבלה מה-FID נעשה ע"י השוואת Rt שלהם להזרקות של החומרים הסינתטיים. כימות כל אחד מהחומרים, שזוהו ושומרים היו לשמש אותנו להכנת התערובות למבחנים הביולוגיים, נעשה בעזרת עקומת כיול לחומר Benzaldehyde, שנמצא כאחד המרכיבים העיקריים בשורש, שהציגו תגובת משיכה של הנאונטים. מעקומת הכיול התקבלה משוואה ממעלה 1 בעזרתה חישבנו את הכמויות והריכוזים של החומרים במיצי ביחס לבנזאלדהיד.

#### 1.3.3 סריקת חומרים למשיכת זחלים במבחן ביולוגי

##### 1.3.3.1 מבחן התנהגות

לבחינת משיכת הנאונטים של קפנודיס האבל למרכיבי נדיפי ענף ושורש בחנו את התנהגות הזחלים בזירה מול שני הפיתיונות אחד עם החומר הנבדק בתוספת מים והשני עם הקסן בלבד, התנהגות הנאונטים נבחנה על פי שיטה שפותחה בשנתיים הקודמות. הנאונטים הוכנסו בזירה שהיא צלחת פטרי מזכוכית בקוטר של 14 ס"מ עם שכבת חול דקיקה אך אחידה המכסה את כל השטח. כפיתיון שימש פד דנטלי באורך של כ-2 ס"מ עליו טופטפו 10 מיקרוליטר מים ו-10 מיקרוליטר חומר נבדק מומס בהקסן (אם לא צויין אחרת). תגובה לחלק מהמרכיבים שזוהו נבדקה באמצעות סטנדרטים מסחריים בשלושה ריכוזים. הריכוזים שנבדקו

הם: 0.1, 1 ו-10 µg/µg. כל חומר נבדק בנפרד או בתערובת ביחסים קבועים. כביקורת שימש פד דנטלי דומה עליו טופטפו תחילה 10 מיקרוליטר הקסן ואחריו-10 מיקרוליטר מים. שני הפיתיונות הונחו על גבי החול משני צידי הצלחת במרחק של כ-10 ס"מ. כביקורת חיובית לתגובת הנאונטים נבדקו מיצויי נדיפי ענף. אלו נבדקו כנגד ממס בלבד או כנגד תערובת חומרים סינתטיים של מרכיבים שזוהו בענף. בכל חזרה במרכז הזירה הונחו 10 נאונטים. מספר הנאונטים המגיעים לכל פיתיון נרשם בפרקי זמן קבועים (5, 10, 30, 60 ו-120 דקות).

ניסויים לבחינת ההתנהגות של הנאונטים של קפנודיס הצפצה נעשו בתנאים זהים לאלו של קפנודיס האבל. בחנו את תגובתם לקטעי ענפי פונדקאי ענף צפצה או ערבה כנגד קטעי ענף מצמח שאיננו פונדקאי (לימון). כמו כן, בדקנו את תגובת הנאונטים למים ולנדיפי ענפי הצפצה שנאספו בהתאם לפרוטוקול שתואר בסעיף 1.3.2.

#### 1.3.3.2 מבחן יכולת חישה

לראשונה נבחנה תגובת מחושי נאונטים לנדיפי ענף ב-GC-EAD. האנליזה נעשתה על מיצויים באמצעות גז כרומטוגרף (Chrom-Card Trace-Focus GC) Thermo Finnigan (בשילוב עם IDAC-232, Syntech) electroantennogram detector system (The Netherlands) ה-GC צוייד בקולונה קפילרית a ZB-5 (0.25 µm film thickness × 0.25 mm ID × 30). הליום הוזרם כגז נשא בזרם של 2 מ"ל לדקה. האינג'קטור והגלאי FID הוחזקו בטפרטורות 230°C ו-275°C בהתאמה. טמפרטורת התנור תוכננה ל-60 מעלות במשך דקה ומכאן הועלתה בקצב 5 מעלות לדקה עד 230 °C ונשמרה שם במשך 10 דקות ומכאן הועלתה בקצב 10 מעלות לדקה עד 275°C.

רישום תגובת המחוש ב-EAD נעשה ממחוש המחובר לראש החרק. קפילרה עם אלקטורודת הייחוס מלאה ב-(0.1N) KCl הוחדרה לראש בעוד הקצה הדיסטלי של אחד המחושים הוחדר לקפילרה שנייה עם אלקטורודת הרישום. אויר לח במהירות זרימה של 0.8 ליטר לדקה שימש כגז נשא לנדיפים היוצאים מה-GC. האות המיוצר על ידי המחוש והגלאי FID עובד באמצעות מגבר-Syntech IDAC-232 high impedance. ועובד באמצעות תוכנה ייעודית Syntech GC-EAD2000 software version 1.00.

### 1.4 תוצאות עיקריות

#### **1.4.1 הרכב נדיפי הפונדקאי.**

טבלה 1 מסכמת את הכמות האבסולוטית והיחסית של מרכיבים שזוהו בנדיפי השורש והענפים של שזיף. כפי שמצאנו בשנה קודמת קיים הבדל ניכר בהרכב הנדיפים בין שורש לענף, שלושה מרכיבים הם משותפים: α-Pinene, Camphene ו-Ocimene-β. חשוב לציין ש-Camphene נמצא רק בשני מיצויים בעוד שני המרכיבים האחרים נמצאו בכל ארבעת המיצויים של הענף.

#### **1.4.2 בחינת התנהגות נאונטים כלפי מרכיבים סינטטיים.**

##### א. תגובת נאונטים של קפנודיס האבל

מבין 23 מרכיבי נדיפי ענף ושורש שזוהו 11, נבדקו למשיכת נאונטים של קפנודיס האבל. מטבלה 2 עולה כי רק שניים או שלושה מושכים את הנאונטים באופן מובהק. למעט p-Cymene המושך בכל הריכוזים

שנבדקו,  $\alpha$ -Pinene משך באופן מובהק בריכוז הנמוך 2g  $\mu$  בלבד בעוד עליה בריכוז גרמה לדחייה,  $\beta$ -Pinene משך באופן גבולי. Benzaldehyde ו-trans-Caryophyllene לא עוררו תגובה בריכוזים נמוכים, ודחו בריכוז הגבוה. יתר המרכיבים שנבדקו לא עוררו תגובה כלל.

כאשר השונו את תגובת הנאונטים בריכוז 2 מיקרוגרם למיקרוליטר ל-4 מרכיבים בודדים לזו של תערובת של אותם החומרים ולתערובת הטבעית, נמצא כי כל מרכיב בנפרד גם אם הוא מושך אזי שיעור הנאונטים המגיבים נמוך יחסית והתגובה אטית. כאשר עוצמת התגובה לא עולה על 40-50%. בהשוואה ל-בעוד 70-80% שמשכו לתערובת הטבעית. המשכיח לתערובת של ארבעת המרכיבים הייתה דומה במידה רבה לזו של 2g  $\mu$  p-Cymene בלבד. ההבדל העיקרי היה במשך התגובה. הנאונטים הגיבו לתערובת מהר יותר ולמשך זמן ארוך יותר. יחד עם זאת כאשר ניתן לנאונטים בחירה בין התערובת הטבעית של נדיפי ענף לבין התערובת המלאכותית של 4 מרכיבים, הנאונטים העדיפו את התערובת הטבעית. ההסבר המתבקש הוא, שבתערובת הטבעית הייתה גם השפעה מגורם/ים נוסף/ים על הזחלים, שכן בנוכחותה שעור הבוחרים בה היה פי שניים ויותר מזו של התערובת המלאכותית. ניסונו לשפר את התערובת המלאכותית על ידי הוספת ה- $\alpha$ -Pinene שהוא מרכיב משותף לענף ושורש ומושך נאונטים בריכוזים נמוכים, אולם הוספתו לתערובת לא הועילה אלה להפך (תוצאות לא מוצגות).

**טבלה 1: השוואת הרכב כמותי של נדיפי ענף ושורש.**

**std- - identification confirmed using standard. NQ-not quantified; ND- not detected;**

Compound	Std.	Root		*Woody branch	
		%	ng/ $\mu$ l	%	ng/ $\mu$ l
$\alpha$ -Pinene	√	22.5	39	3.6	11.3
Camphene	√	27.4	48	1.0**	2.0
Benzaldehyde		27.9	48	NQ	trace
$\beta$ -Pinene	√	6.5	11	ND	ND
$\beta$ -Myrcene	√	1.5	3	ND	ND
$\alpha$ -Phellandrene	√	ND	ND	1.9	6.5
p-Cymene	√	ND	ND	1.4	4.0
Benzyl alcohol	√	trace	NQ	trace	NQ
$\beta$ -Ocimene	√	1.4	2	23.1	79.5
(±)-Linalool	√	$\alpha$ -Pinene	ND	1	3.5
E-4,8-dimethyl-1,3,7-Nonatriene		ND	ND	15.3	23.1
(±)-Camphor	√	8	14	ND	NQ
$\alpha$ -Longipinene		ND	ND	17.9	NQ
A-Bergamotene		ND	ND	5.9	NQ
$\beta$ -Caryophyllene	√	ND	ND	4.4	12.6
(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene		1.6	NQ	ND	ND
beta/gamma-Himachalene		ND	ND	4	NQ

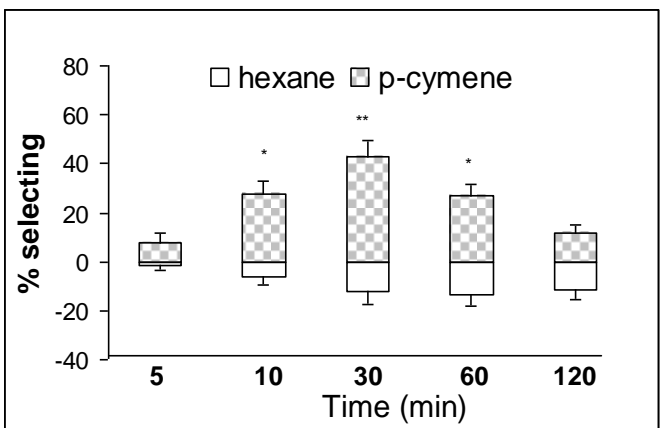
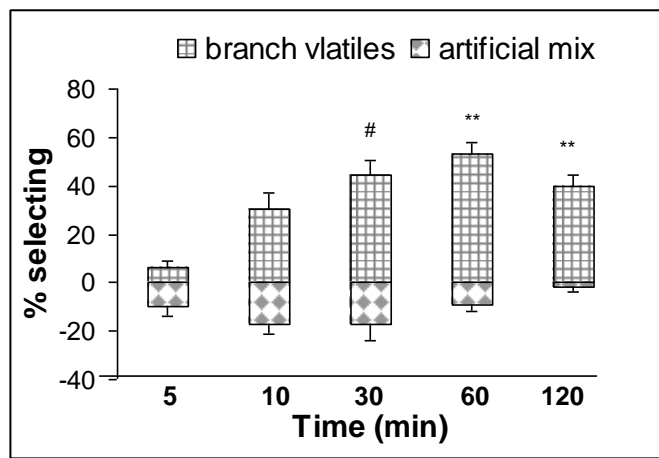
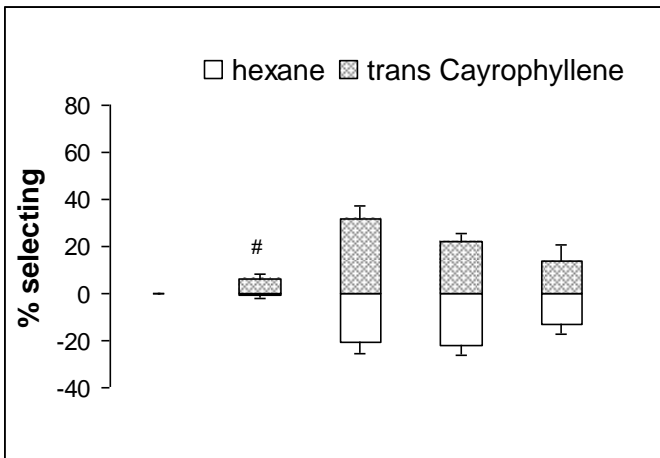
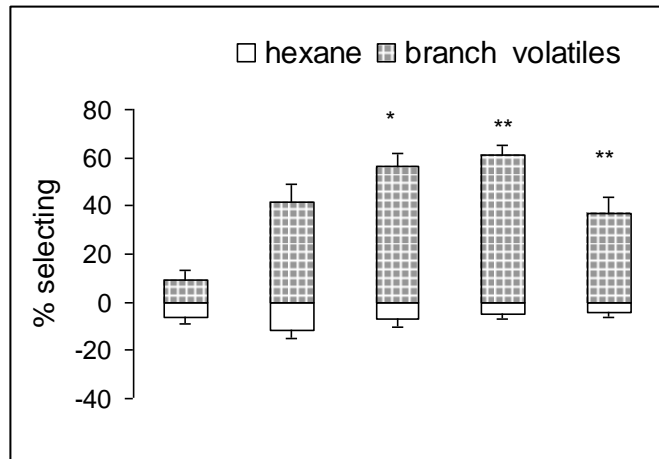
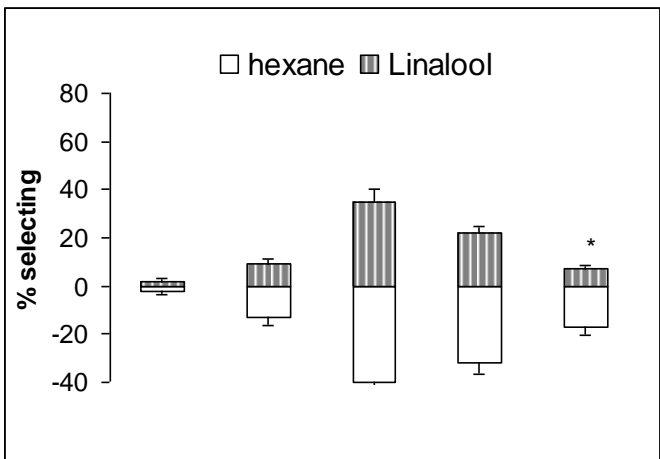
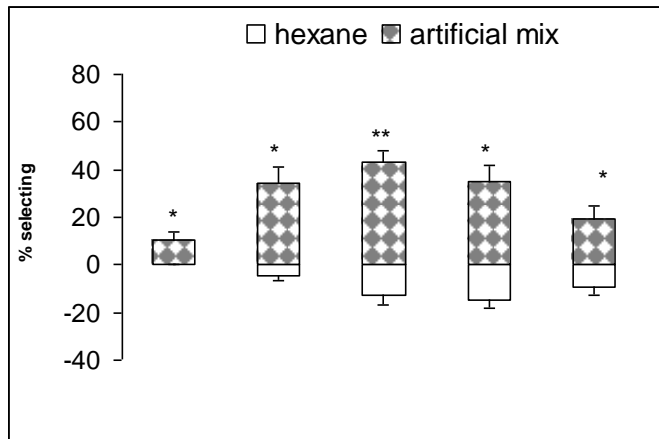
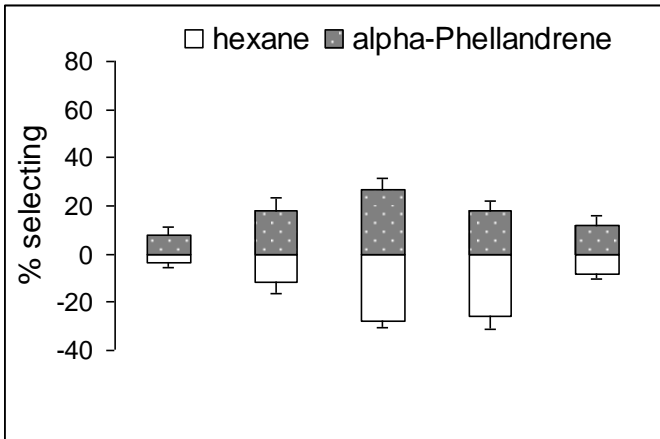
\* ערכים המוצגים הם ממוצע של 4 איסופי נדיפים \*\* - מרכיב שנמצא בשני מיצויים מתוך ארבע

**טבלה 2:** סיכום תגובת הנאונטים למרכיבי הענף והשורש בריכוזים השונים. תגובה נמדדה 30 דקות מתחילת הטיפול.

**A-** משיכה, **R-דחיה**, \* **NT-** לא נבדק

Compound	Root %	Branch%	2 µg	10 µg	100 µg
α –Pinene	22.5	3.6	<b>A*</b>	<b>ns</b>	<b>R**</b>
Camphene	27.4	0.5	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>NT</b>
Benzaldehyde	27.9	Trace	<b>Ns</b>	<b>R#</b>	<b>R**</b>
β –Pinene	6.5	0.0	<b>Ns</b>	<b>A#</b>	<b>R*</b>
β –Myrcene	1.5	0.0	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
α –Phellandrene	0	1.9	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
p-Cymene	0	1.4	<b>A**</b>	<b>A*</b>	<b>A*</b>
Benzyl alcohol	trace	trace	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
β –Ocimene <sup>§</sup>	1.4	23.1	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
(±)-Linalool	0	1.0	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>NT</b>
E-4,8-dimethyl-1,3,7-Nonatriene	0	17.2	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Persilphiperfol-7-ene	0	3.1	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Unknown	0	3.2	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
(±)-Camphor	8	0.0	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>NT</b>
α –Longipinene	0	17.9	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Silphiperfol-6-ene	0	1.0	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Longicyclene	0	11.3	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
α –Bergamotene	0	5.9	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
β-Caryophyllene	0	4.4	<b>Ns</b>	<b>ns</b>	<b>R*</b>
(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene	1.6	0.0	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Unknown	0	1.1	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
Unknown	0	2.1	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>
beta/gamma-Himachalene	0	4.0	<b>NT</b>	<b>NT</b>	<b>NT</b>

- ns-לא מובהק, # -  $p < 0.10$ , \* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.01$  Wilcoxon Singh Rank test  
 - <sup>§</sup>β –Ocimene - החומר בדוגמא הוא איזומר טרנס β ולא מסחרי החומר שנבדק הוא ציס β.

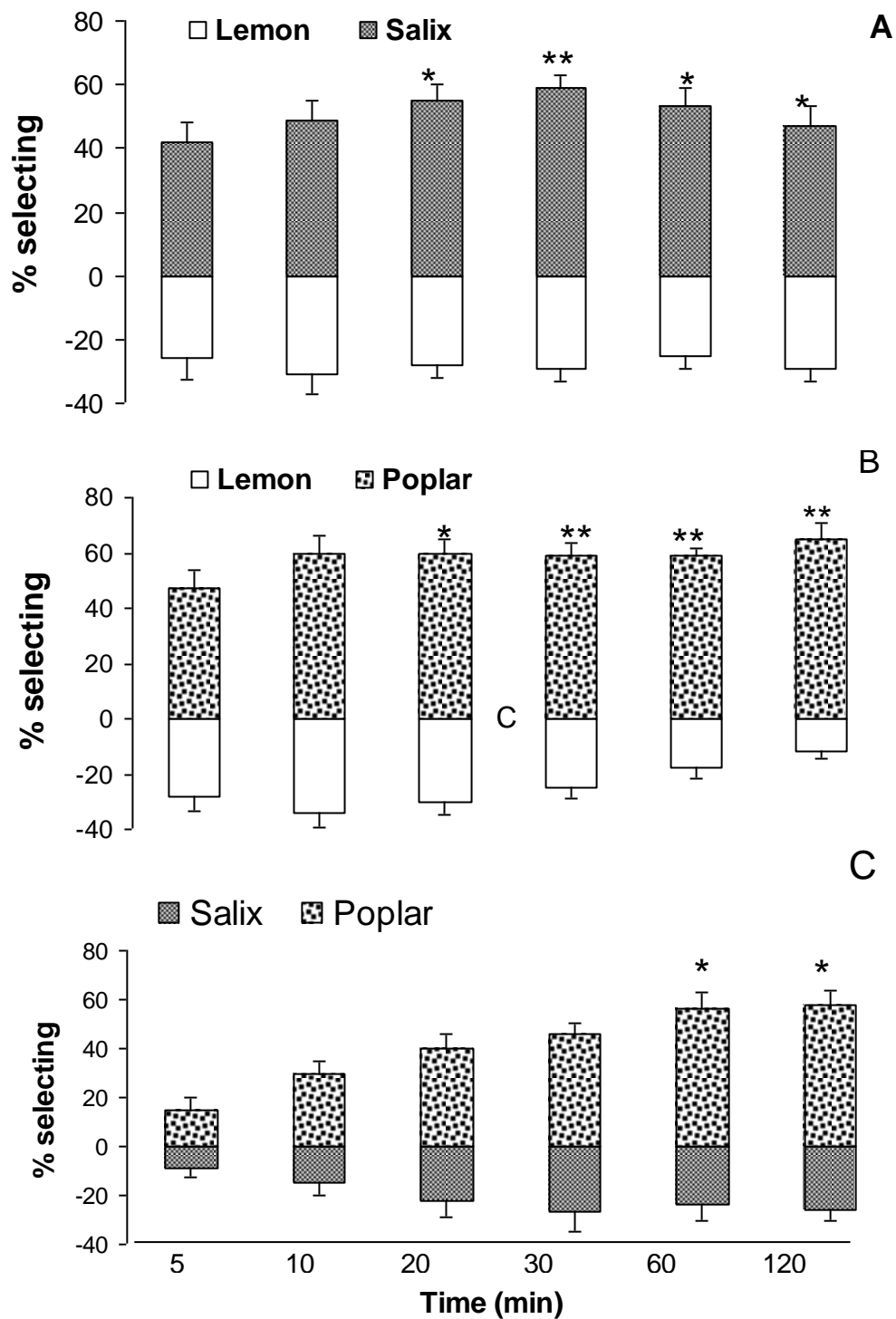


איור 1: בחירתם של נאונטים בפיתיונות. התוצאות הנם שיעור ממוצע של נאונטים שהגיעו לכל אחד מהפיתיונות מכלל הנאונטים ב-10 מבחני המשיכה של 10 נאונטים כל אחד עם שגיאת תקן. ה-MIX הוא תערובת של ארבעת החומרים בריכוז 0.2 מיקרוגרם למיקרוליטר. #  $p < 0.010$ . \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  Wilcoxon singh rank test.

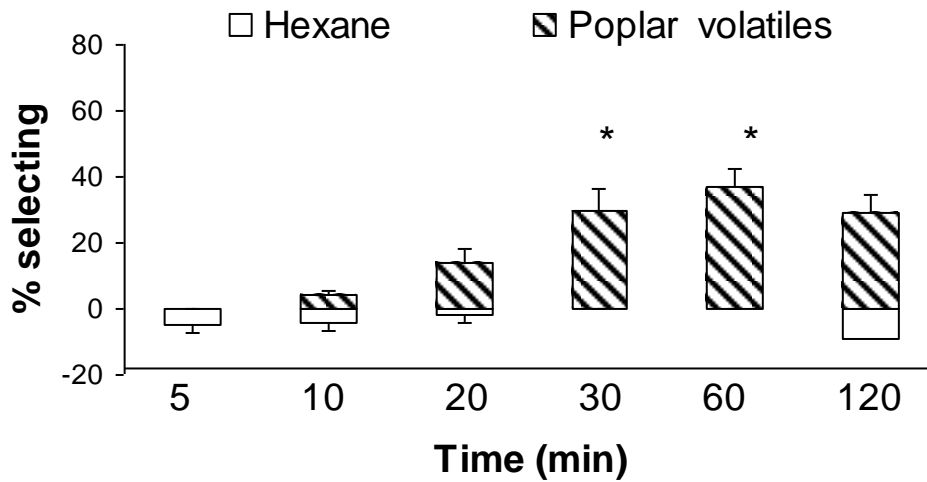


**א. תגובת הנאונטים של קפנודיס הצפצה**

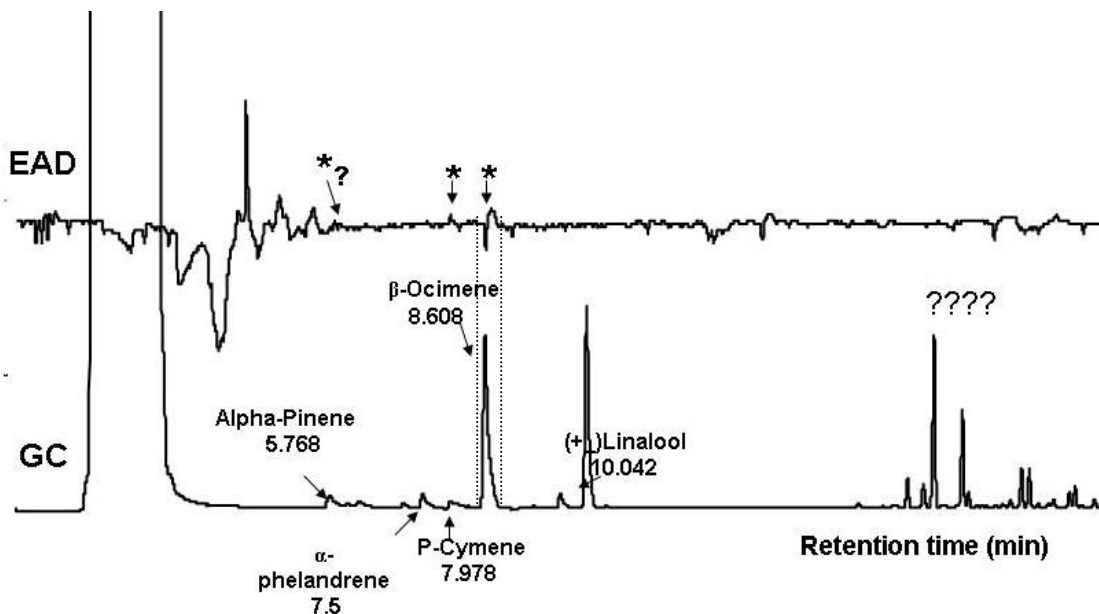
כפי שניתן לראות באיורים 3 (C-A) הנאונטים של קפנודיס הצפצה מגיבים באופן מובהק לקטעי ענף ובחרים בקטעי הפונדקאי צפצה או ערבה לעומת הלימון שאינו פונדקאי. יתר על כן, הם גם מבחינים בין שני הפונדקאים (צפצה וערבה) ומראים העדפה מסוימת לצפצה אך במקרה זה ההבדל המובהק בין השניים מושג רק לאחר 60 דקות. הנאונטים נמשכים יותר ובאופן מובהק לנדיפי ענף הצפצה (איור 4).



**איור 3:** שיעור הנאונטים של קפנודיס הצפצה שהגיעו לפיתיון ענף. A. ענף ערבה לעומת לימון, B- ענף צפצה לעומת לימון, C- ענף ערבה לעומת צפצה, התוצאות הנם ממוצע ושגיאת תקן של לפחות 10 חזרות. Wilcoxon Singh rank test , $p<0.01$ -\*\* ;  $p<0.05$ -\*.



**איור 4:** שיעור הנאונטים של קפנודיס הצפצה שבחרו בפיתיון עם 80 מיקרוליטר של נדיפי ענף צפצה לעומת הביקורת הממס (הקסן). התוצאות הנם ממוצע ושגיאת תקן של לפחות 10 חזרות.  $p<0.05$ -\* ; Wilcoxon Singh rank test , $p<0.01$ -\*\*.



**איור 5:** תגובת נאונט של קפנודיס האבל לנדיפי ענף ב-EAD-GC. \*\*- מסמנת תגובת מחוש בולטת שחזרה על עצמה בנאונטים נוספים.

ניסויים ראשוניים בתגובת מחושי נאונטים לנדיפי ענף כנת שזיף 677 ב-GCEAD (איור 5) ניתן לראות תגובת מחוש למרכיבים אחדים. תגובה בולטת במיוחד נרשמה לאחד המרכיב העיקריים בתערובת המתאים ל- $\beta$ -Ocimene ותגובה חלשה יותר למרכיבים זוטרים כגון - $\alpha$ -Pinene ו-p-Cymene. אך ישנם סימנים לתגובה למרכיבים נוספים החוזרים על עצמם שחלקם טרם זוהה. חשוב לציין כי מרכיבים - $\alpha$ -Pinene ו- $\beta$ -Ocimene משותפים לנדיפי ענף ושורש, בעוד -p-Cymene אופייני לענף.

#### 1.4 דיון ומסקנות

מעט מאד ידוע על דרכי ההתמצאות של חרקים בקרקע. תוצאות משלוש שנות מחקר בכלל ובשנה הזאת בפרט מלמדות שהתנהגות איתור הפונדקאי היא אקטיבית ואופיינית כנראה לנאונטים של הסוג קפנודיים בכלל. האחרונים מבחינים בין צמחים פונדקאיים לאחרים. לאיתור הפונדקאי הנאונטים נעזרים בשילוב של נדיפי הצמח והלחות. נדיפי הפונדקאי הם תערובת מורכבת של נדיפים הייחודית למין ולאבר הצמח. אך למרות שהרכב הכללי של נדיפי השורש שונה מאד מנדיפי הענף, שני חלקי הצמח מושכים מאד את הנאונטים בזירה ששימשה לבדיקתם. לצד השוני ישנם גם מרכיבים משותפים לנדיפי הענף והשורש. החומר המשותף העיקרי הוא  $\beta$ -Ocimene. והוא גם החומר שעורר תגובה חזקה במחוש הנאונטים. עולם בניסויי התנהגות החומר המסחרי לא עורר כל תגובה מצד הזחלים. התברר שהחומר בדוגמא הוא איזומר הטרנס  $\beta$  ו הוא איננו מסחרי בעוד החומר שנבדק בניסויי התנהגות הוא ציס  $\beta$ . חשוב יהיה לחזור על ניסויי התנהגות עם ריכוזים שונים של איזומר הטרנס  $\beta$ .

בנוסף, ברור על סמך EAD וניסויי התנהגות שהנאונטים מגיבים לנדיפים נוספים אך חשוב להמשיך את ניסויי ה-EAD על מנת לזהות מרכיבים אלה. טרם התברר אם הם המהותיים ביותר למשיכה. מעניין לציין שכאשר מפרידים את התערובת המושכת לגורמיה בין מרכיבים אנו מוצאים חומרים הדוחים את הנאונטים. מצב זה איננו ייחודי וחרג ודווח כבר בעבר (Jeyasankar et al., 2009) ניתן להסביר זאת בכך שזיהוי הפונדקאי ע"י הקפנודיים מתבצע על פי התערובת על שלל מרכיביה ביחסים ייחודיים ולא על פי מרכיבים בודדים בהתאם לתיאוריה של "ratio specific odor recognition" הנפוצה בחרקים צמחוניים (Bruce et al., 2005). יחד עם זאת חשוב להמשיך ולאתר את התערובת ההכרחית למשיכה.

#### **ספרות מצוטטת**

- Alagarmalai, J., Nestel, D., Dragushich, D., Nemny-Lavy, E., Anshelevich L., Zada, A., Soroker V. (2009) Identification of host attractants for the Ethiopian fruit fly, *Dacus ciliatus* Loew (Diptera: Tephritidae). *J. Chem Ecol.* 35: 542-551
- Bruce, T.J.A. Wadhams, L.J., and Woodcock, C.M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10: 270-274.
- Guerin, P.M. and Ryan, M. F. (1984). Relationship between root volatiles of some carrot cultivars and their resistance to the carrot fly larva, *Psila rosae*. *Entomol Exp. Appl.* 36:217-224.

- Johnson, S.N. Gregory, P.J., Murray, P.J., Zhang, X., and I. M. Young. (2004). Host plant recognition by the root feeding clover weevil, *Sitona lepidus* (Coleoptera: Curculionidae). Bull. Entomol. Research, 94: 433-439.
- Rivnay, E. 1945. Physiological and ecological studies on the species of *Capnodis*, in Palestine (Col., Buprestidae). Bull. Ent. Res. 36:103-119.
- Ryan, M. F., and Guerin, P.M. (1982). Behavioural responses of the carrot fly larva, *Psila rosae*, to carrot root volatiles. Physiological Entomology. 7: 315-324.
- Schoonhoven LM, Jermy T, Van loon J..A.A. (1998). Insect-plant biology, from physiology to evolution. Chapman and Hall. London. Pp 383.
- Stadler, E. (2002). Plant chemical cues important for egg deposition by herbivorous insects. *In*: Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition. Eds: Hilker M. and Meiner T. Blackwell Verlag GmbH. Berlin. Vienna Inc. pp.171-205.
- Strand, S.P. and Dunn, E. P. (1990) Host search behavior of neonate western corn-rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*). J. Insect Physiol. 36:201-205.

## סיכום עם שאלות מנחות

### סיכום עם שאלות מנחות

<b>מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</b>
1. בחינת ההתנהגות הנאונטים של קפנודיס האבל כלפי מרכיבי הנדיפים שזוהו.
2. בחינת ההתנהגות הנאונטים של קפנודיס האבל כלפי תערובות נדיפים.
3. בחינת התנהגות ברירת פונדקאי בנאונטים של קפנודיס הצפפה
<b>עיקרי הניסויים והתוצאות.</b>
1. באפיון תגובות הנאונטים של קפנודיס האבל לריכוזים שונים של המרכיבים הסינתטיים. מתברר שרק מרכיבים בודדים שזוהו מושכים נאונטים בעוד רובם דוחים ולא בריכוזים גבוהים. צרוף כמה מרכיבים אלה יחדיו העלה את המשיכה.
2. בניסויי בחירה עם נאונטים של קפנודיס הצפפה נמצאה, כי גם במקרה זה הנאונט לא רק שיודע לזהות את הפונדקאי, אלא גם נמשך לנדיפי ענף ומים.
3. לראשונה פותחה שיטת EAD לניסויים עם דרגות זחל בכלל וקפנודיס בפרט. באמצעות שיטה זאת זוהתה תגובה למרכיבים אחדים.
<b>מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?</b>
במהלך מחקר זה פותחו לראשונה שני מבחנים ביולוגיים: מבחן בחירה התנהגותי ומבחן EAD לזחלים. באמצעות מבחנים אלה חשף מחקר זה לראשונה את התנהגות איתור הפונדקאי בנאונטים של קפנודיס ומעורבות אותות כימיים מהפונדקאי בתהליך זה. עד כה לא זוהו כל המרכיבים ואלה שזוהו טרם נבדקו בכל הריכוזים.
המחקר חודש השנה-2009 וימשיך לקידום פיתוח תערובת יעילה למשיכת הנאונטים.
<b>בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר?</b>
טרם זוהו כל מרכיבי נדיפי הענף
התברר שהחומר Ocimene- $\beta$ בנדיפי הענף והשורש הוא איזומר הטרנס $\beta$ שאיננו מסחרי בעוד החומר שנבדק בניסויי התנהגות הוא ציס $\beta$ . חשוב יהיה לחזור על ניסויי התנהגות עם ריכוזים שונים של איזומר הטרנס $\beta$ .
טרם פותחה תערובת מלאכותית המשתווה למשיכה של התערובת הטבעית נושאים אלה מהווים מטרות למחקר המשך בו התחלנו בשנת 2009
<b>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח</b>
כנס שנתי של החברה הבין לאומית לאקולוגיה כימית: ISCE2009 '22 לאוגוסט 2009 ניושטל, שוויץ
כנס ה-28 של החברה אנטומולוגית בישראל, 14 לאוקטובר 2009, אוניברסיטת תל אביב, רמת אביב.
<b>פרסום הדוח: אני ממליצה בשלב זה</b>
חסוי – לא לפרסם