

דוח לתוכנית מחקר מס' 26-11-147-17

זיהוי הגורמים לרגישות זני שקד לצרעת השקד כאמצעי לשיפור ממשק ההדברה

Detecting the causes for differences in the susceptibility of almond species to *Eurytoma amygdali*, as a means of improving the integrated pest management interface

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

מופק אבדאח: המחלקה למדעי הצמח, מרכז מחקר נווה-יער

חיים ראובני: המרכז להדברה משולבת, מו"פ צפון

דורון הולנד: המחלקה למטעים, מרכז מחקר נווה-יער

עירית בר יעקב: המחלקה למטעים, מרכז מחקר נווה-יער

זאב פרקש: המרכז להדברה משולבת, מו"פ צפון

Mwafaq Ibdah, Plant Science, Newe Yaar Research Center.

mwafaq@volcani.agri.gov.il

07-01-2018

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: כן/לא מחק את המיותר



חתימת החוקר

רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר:

תקציר

הצגת הבעיה - צרעת השקד *Eurytoma amygdali* היא מזיק ספציפי הגורם לנזק ישיר בפירות עצי השקד. השקדים הנגועים אינם מתפתחים באותה העונה ופקעי הפרי נפגעים לצמיתות. כך, נגרם נזק ליבול גם בעונות העוקבות. שקדים נגועים נשארים כמומיות על העצים ומהם מתפתחות הצרעות באותו מטע בעונה העוקבת. להדברת הצרעה נעשה שימוש בזרחנים אורגנים ותכשירים סיסטמיים רחבי טווח אחרים לקטילת הזחלים בתוך הפרי. במחקר הקדמי מצאנו הבדלים ברגישות זני השקד לצרעה ובכוונתנו להתמקד בבדיקת הגורמים לרגישות הזן.

השיבות ומטרות - צרעת השקד היא מזיק מפתח בגידול השקד וענף השקד נמצא בתנופת פיתוח ושואף להפחית את השימוש בתכשירים מסוכנים לאדם ולסביבה כחלק מהמגמה העולמית לשימוש באמצעים ידידותיים בחקלאות המודרנית. מטרת המחקר העיקרית היא לזהות את הגורמים להבדלים בעמידות זני השקד לצרעה כדי לפתח אמצעים בררניים לשיפור ההדברה וככלי לטיפול גנטי של הזן. מטרות המשנה להשגת המטרה העיקרית הן:

1. קביעת רמת הרגישות של זני השקד לצרעת השקד.
2. מיצוי וזיהוי נדיפים מזני שקד רגישים ועמידים.
3. קביעת ההשפעה של הנדיפים על התנהגות צרעת השקד באולפקטומטר.

מהלך ושיטות עבודה

1. בדיקת רגישות זני השקד לצרעה באוסף של מעל 60 זנים בחלקת המאגר הגנטי של עצי פרי נשירים בנווה יער על רקע חופשי מקוטלי חרקים.
2. בדיקת פרופיל הנדיפים המשוחרר בתקופת הפריחה והחנטה במדגם של שלושה זנים עמידים לעומת שלושה רגישים ובהשוואה לאפרסק ומכלואי שקד אפרסק שהוא מין הקרוב פילוגנטית לשקד ואינו רגיש כלל לצרעה.
3. קביעת ההשפעה של הנדיפים הצמחיים על התנהגות בוגרי צרעת השקד.

תוצאות עיקריות:

1. נמצאו הבדלים ברורים ברמת הרגישות של זני השקד לצרעת השקד.
2. יצורנו פרופילים מטבולומיים מפורטים לחומרים נדיפים מהחנטים של זנים וטיפוסים שונים של שקדים רגישים ועמידים תוך שימוש בשיטת ה-SPME-GC-MS.
3. לא קיבלנו תגובה במנהרת רוח של בוגרי הצרעה שנחשפו לנדיפים הצמחיים שזוהו בזנים הרגישים.

מסקנות והמלצות:

תוצאות של אנליזה לחומרים שהופקו מחנטים ובאופן כללי נמצאו מספר חומרים החשודים כמעורבים בדחייה לחומרים המעורבים במשיכה של הצרעה, להלן: המונוטרפן linalool והפנול

Benzeneacetaldehyde מספקים עמידות לזן השקד כנראה, על ידי דחיית צרעת השקד. התרכובות האורגניות methoxy-phenyl-oxime נמצאו בזנים רגישים וכנראה מעורבים במשיכת צרעת השקד. חומרים החשודים כמעורבים במשיכה נבדקו במנהרת רוח במערכת אולפקטומטר במטרה לבחון את מעורבותם במשיכת הצרעה. עד כה לא התקבלה תגובה של הבוגרים לנדיפים של חומרים אלו בתערובות שונות. ייתכן שקיימים גורמים נוספים המעורבים במשיכה. ככוונתנו לחדש את הבדיקה מחוץ למעבדה בתנאי שדה בעזרת מלכודות שיוצבו במטעים שאינם שקד כדי למנוע את גורם התחרות.

מבוא

צרעת השקד היא מזיק ספציפי הגורם לנזק ישיר בפירות עצי השקד. השקדים הנגועים אינם מתפתחים באותה העונה ופקעי הפרי נפגעים לצמיתות. השקדים הנגועים נשארים כמומיות על העצים ומהם מתפתחות הצרעות באותו מטע בעונה העוקבת. למטעי השקד חשיבות מבחינה חקלאית וכלכלית. הפרי מועדף בשל יתרונותיו הבריאותיים והאפשרויות ליצוא. צמחים מייצרים מגוון גדול של נדיפים אורגניים, חלקם מושכים מזיקים פוטנציאליים וחלקם דוחים מזיקים ובכך מהווים הגנה ישירה לצמח. הנדיפים הנפוצים ביותר הינם טרפנים, פנולים ותרכובות המכילות חנקן. יתכן שהבדלים בחומרים הנדיפים המשוחררים מזני השקד השונים הם הגורמים לתגובה שונה של צרעת השקד ולהעדפותיה לזן מסוים. נוסף על כך ידוע כי זני האפרסק הקרובים פילוגנטית לשקד וזני מכלוא של שקד אפרסק, אינם נתקפים כלל על ידי צרעת השקד. על מנת להבין את ההבדלים בעמידות זני השקד לצרעת השקד, התמקדנו במחקר ביצור פרופילים מטבולומיים מפורטים לחנטים על ידי GC-MS בתשעה זני שקד בעמידות שונות (רגיש, בינוני ועמיד) וכן, זן אפרסק ואפרסק מורכב על שקד.

מטרות המחקר:

מטרת העל של תוכנית זאת היא לזהות את הזנים ואת הגורמים להבדלים בעמידות זני השקד לצרעה כדי לפתח אמצעים בררניים לשיפור ההדברה וככלי לטיפול גנטי של הזן.

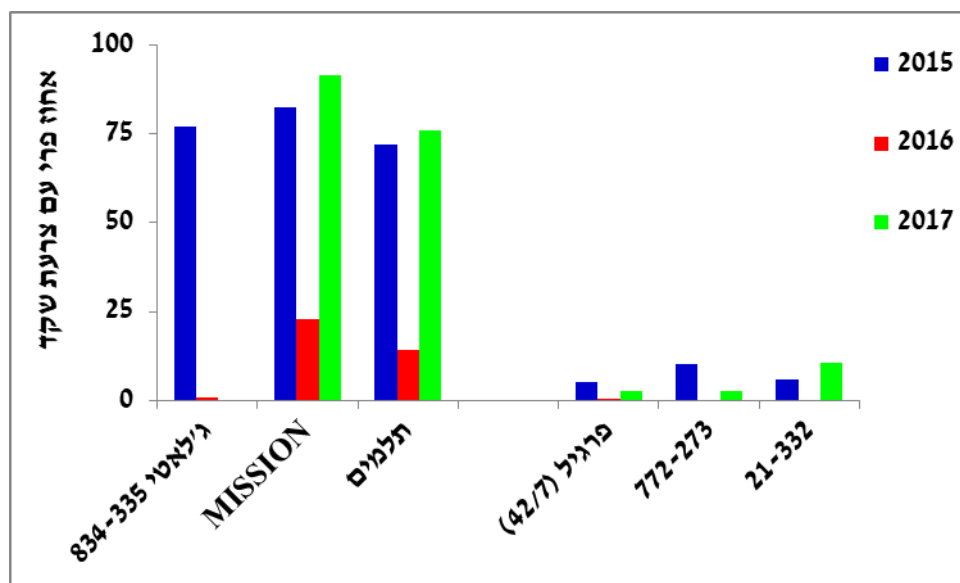
מטרות המשנה להשגת המטרה העיקרית הן:

1. קביעת רמת הרגישות של זני השקד לצרעת השקד.
2. מיצוי וזיהוי נדיפים מזני שקד רגישים ועמידים.
3. קביעת ההשפעה של הנדיפים על התנהגות צרעת השקד באולפקטומטר.

עיקרי הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו לתקופת הדו"ח

למימוש מטרה 1- בדיקת רגישות זני השקד לצרעת השקד, נערך מעקב אחר רמת הנזק של צרעת השקד בזני השקד השונים (% מומיות) על רקע חופשי מקוטלי חרקים. נקטפו ונפתחו כל השקדים הנגועים כדי לבדוק את נוכחות זחל הצרעה בגלעין ולאמת את גורם הנזק. בבדיקה זאת התקבל בעונת 2017, גיבוי

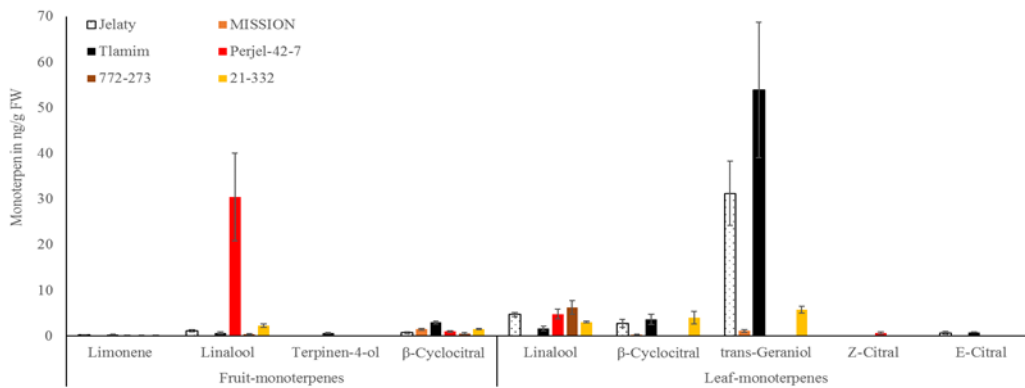
למידע ההקדמי מעונות קודמות המתייחס להבדלים ברמת הנגיעות ורמת הרגישות של זני השקד לצרעה (איור 1).



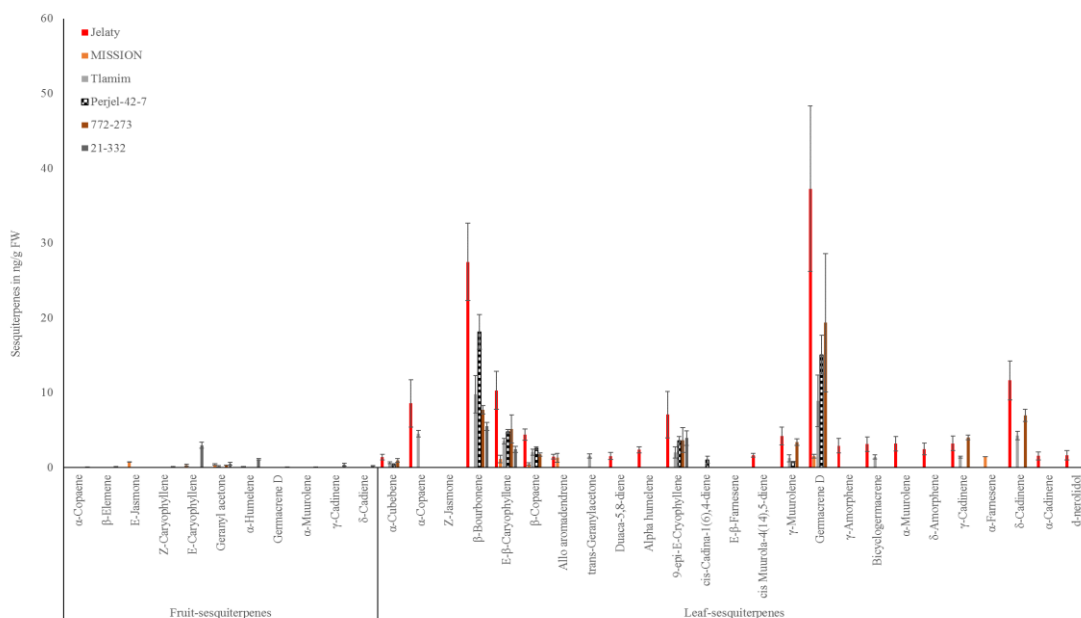
איור 1. רמת הרגישות של זני השקד על רקע רמות שונות של אוכלוסיית צרעת השקד, בחלקת אוסף זנים בנווה יער.

למימוש מטרה 2 - מיצוי וזיהוי נדיפים מזני שקד רגישים ועמידים, נאספו נדיפים מהחנטים ומעלים של אותם הזנים שביטאו הבדלים ברמת הנגיעות במחקר ההקדמי ומזנים נוספים שביטאו נגיעות נמוכה. יצרנו פרופילים מטבולומיים מפורטים לחומרים נדיפים מהחנטים ומעלים של זנים וטיפוסים שונים של שקדים רגישים ועמידים תוך שימוש בשיטת ה-SPME-GC-MS. מתוך כל החומרים שהתקבלו נבחרו הנדיפים בעלי אחוז השכיחות הגדול ביותר יחסית (איורים 2-4).

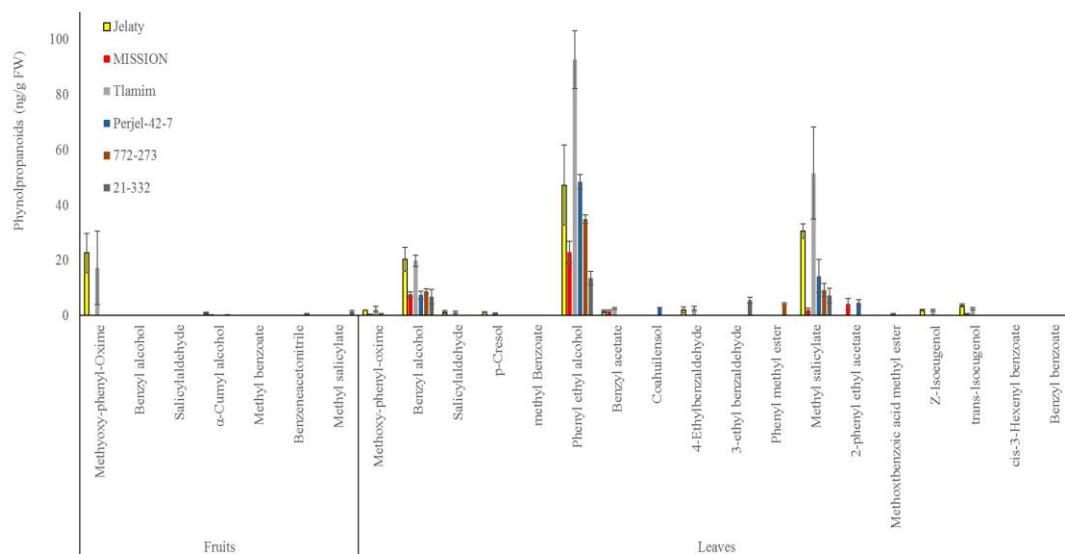
למימוש מטרה 3 - 3. קביעת ההשפעה של הנדיפים על התנהגות צרעת השקד באולפקטומטר, חשפנו במנהרת רוח בתנאי מעבדה, נקבות מזווגות של צרעת השקד, לתערובות של נדיפים שנמצאו בזנים הרגישים ונחשדו כגורמים מושכים: β -Cyclocitral, Eugenol, Isoeugenol, Tetradecane. החומרים נבדקו בנפרד ובשילוב של כולם בכמות של 200 מיקרוליטר לחומר ובריכוז שנמצא בצמח (0.01M) וריכוזים גבוהים פי-10. החומרים הומסו במתנול והוצבו במערכת של Y-tube בתוך מנהרת רוח בהשוואה למתנול בלבד. בכל הבדיקות שנערכו בריכוזים השונים לא התקבלה תגובה של נקבות הצרעה אל מקור החומר. נציין שבמערכת שבה עבדנו הצלחנו לקבל בעבר תגובה של זכרים אל נקבות בתולות וזאת היתה בעבורנו אינדיקציה שהמערכת מתאימה לבדיקת גורמי משיכה נדיפים. ייתכן שקיימים גורמי משיכה נוספים והתערובות שאותן בדקנו אינן מושלמות. בכוונתנו לבדוק בעתיד את המשיכה לחומרים אלו ישירות בשדה שאיננו במטע שקד בעזרת מלכודות ניטור.



איור 2: ריכוז המונוטרפנים מחנטים ומעלים מזני השקד השונים.



איור 3: ריכוז הסיסכורפנים מחנטים ומעלים מזני השקד השונים.



איור 4: ריכוז phenylpropanoids מחנטים ומעלים מזני השקד השונים.

דיון

עבודה זו דנה בזיהוי הגורמים להבדלים בעמידות זני השקד לצרעת השקד. לשם כך, בדקנו בעזרת מכשיר ה-GC-MS את מהות המרכיבים הנדיפים ובעלים עבור 6 זני שקד (בעלי עמידויות שונות לצרעת השקד). גילינו מגוון חומרים נדיפים בכל זן, מתוך אותם חומרים נדיפים נבחרו החומרים בעלי אחוז השכיחות הגבוה ביותר.

החומרים הנדיפים בצמחים נחשבים למטאבוליטים שניוניים במנגנון ההגנה הישירה אשר מאפשרת לצמח להתמודד עם התוקף ע"י דחייתו ו/או פגיעה בתפקודו או ע"י משיכת אויב טבעי למזיק. מתוצאות ה-GC-MS מצאנו שזני השקד הרגישים בעלי אחוזים יותר גבוהים בתרכובות של מונוטרפנים, ססטרפנים ו-phenylpropanoids מהזנים העמידים (איורים 2-4).

כך המונוטרפן linalool נמצא בריכוז הגבוה ביותר בחנטים של הזן העמיד פרג'יל (איור 2), ו-geraniol נמצא בריכוז הגבוה ביותר בעלים של הזנים הרגישים, ג'לאטי ותלמים (איור 2). בכללי מתוצאות ה-GC-MS מצאנו שהעלים מהזן השקד הרגישי ג'לאטי מיצר ריכוז יותר גבוה בתרכובות של הססטרפנים (איור 3). והססטרפנים השכיחים ביותר הם, germacrane D, δ -cadinene, α -copane, β -bourbonne, β -caryophellen ועוד אחרים (איור 3).

בכללי מתוצאות ה- GC-MS מצאנו שהעלים של הזנים הרגישים מסנתזים יותר phenylpropanoids מהזנים האחרים (איור 4). יתר על כן, מצאנו שהתרכובת האורגנית methoxy-phenyl-oxime נמצאת בחנטים בזנים הרגישים ואינה נמצאת כלל בזנים העמידים (איור 4). כמו כן, מצאנו שמרכיבים הפנולים השכיחים ביותר היו benzyl alcohol, phenylethyl alcohol, salicylate methyl בלטו בעלים בזני השקד הרגישים. מכאן אנו מסיקים שייטכן וחומרים אלו שנמצאו ביותר בזני השקד הרגישים מקנים רגישות לזני השקד על ידי כך שהם מושכים את צרעת השקד. יחד עם זאת, לא קיבלנו תגובה של נקבות הצרעה שנחשפו לחומרים אלו במנהרת רוח וייטכן שקיימים גורמים נוספים המעורבים במשיכה.

המשך המחקר

1. בכדי לברר את השפעת הנדיפים על התנהגות צרעת השקד נתכנן לבדוק את התגובה לחומרים המושכים בתנאי שדה לנדיפים שיוצבו על עצים בתוך מלכודות. כדי לנטרל אפשרות של תחרות עם עצי השקד נבצע את הניסוי במטע שאינו שקד.
2. כדי לבסס את המידע על הגורמים הנדיפים השונים נבצע נאסוף נדיפים מהפרחים של אותם הזנים שביטאו הבדלים ברמת הנגיעות לצרעת השקד.

יכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
זיהוי הגורמים לרגישות זני שקד לצרעת השקד כאמצעי לשיפור ממשק ההדברה המשולבת : <ol style="list-style-type: none"> 1. קביעת רמת הרגישות של זני השקד לצרעת השקד. 2. מיצוי זיהוי נדיפים מזני שקד רגישים ועמידים. 3. בדיקת ההשפעה של הנדיפים על נקבות הצרעה באולפקטומטר
עיקרי התוצאות
<ol style="list-style-type: none"> 1. נמצאו הבדלים ברמת הרגישות של הזנים השונים לצרעת השקד. 2. יצרנו פרופילים מטבולומיים מפורטים לחומרים נדיפים מהחנטים והעלים של זנים וטיפוסים שונים של שקדים רגישים ועמידים תוך שימוש בשיטת ה- SPME-GC-MS. 3. לא התקבלה תגובת משיכה של נקבות הצרעה שנחשפו לנדיפים באולפקטומטר.
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח הושגו במלואן.
בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר
ביצוע המחקר נמשך ללא תקלות ובכוונתנו לבצע ניסויים נוספים לבדיקת התגובה של בוגרי הצרעה לנדיפים.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; תוצאות המחקר פורסמו עד כה בכנס מדעי ובכנס של מגדלי השקד.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח (סמן אחת מהאופציות)
<input checked="" type="checkbox"/> חסוי - לא לפרסום