

דו"ח המוגש למועצת הצמחים ענף הפירות, שולחן תפוח

מספר 131-1565-09 לשנת 2009

**זיהוי מרכיבי הפרומון של המין המקומי של סס הנמר *Zeuzera pyrina***

**The identification of the pheromone of the local speciose of the Leopard moth,**

***Zeuzera pyrina***

מוגש ע"י

ענת זאדה, ויקטוריה סורוקר- המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי

חיים ראובני- המרכז להדברה משולבת, מו"פ צפון

#### **מבוא והצגת הבעיה:**

סס הנמר הוא מזיק חשוב במטעים נשירים (בעיקר תפוח, אגס וזית). תפוצתו של העש היא בעיקר באזור אגן התיכון. אוכלוסיית המזיק עולה במטעים שבהם נעשה שימוש מופחת בתכשירים. מחקר זה נועד למצוא פתרון לבעיית הסס במטעים בהם מתבצעת הדברה משולבת באמצעות בלבול ע"י פרומונים.

המרכיבים העיקרי של הפרומון של סס הנמר *E2, Z13-octadecadienyl acetate* 95%, וכן *E3, Z13-octadecadienyl acetate* 5% זוהו בשנות השמונים (Tonini et al. 1986). מאז דווח בספרות על מרכיבים נוספים כמו *E2-octadecenyl acetate, E13-octadecenyl acetate, Z2,Z13-octadecadienyl acetate, Z13-octadecenyl acetate, octadecanyl acetate* בניסויים שנערכו בארץ עם סוגים שונים של מלכודות ונדיפיות שונות, המכילות אותו פרומון סינתטי של הסס, המשמשות באירופה לניטור וללכידה המונית של סס הנמר, לא התקבל דפוס לכידה ברור והלכידה היתה מזערית גם במטעים הנגועים קשות במזיק (ראובני חובריו 2003-2006). בעבודות קודמות שנעשו בארץ (נבון וחובריו 1997) נמצא, כי יעילות הלכידה של מלכודות הטעונות בפרומון הסינתטי נמוכה בהרבה מזו של מלכודות הטעונות בנקבות.

גם בקרב העוסקים בישום הפרומון באירופה רווחת הדיעה, שלעיתים החומר עובד ולעיתים לא ושהלכידות אינן מספקות, אף כשלוקחים בחשבון את הדרישות המיוחדות של המזיק, כגון סוג וגובה המלכודת. לכן סברנו שיתכן והפרומון שמפרישה נקבת המין המקומי של סס הנמר שונה במהותו או ביחסי המרכיבים מהפרומון הידוע בספרות.

בפועל, במשך השנים האחרונות נתקלנו בקשיים בגידול המזיק. כתוצאה מכך לא היו לנו מספיק חרקים על מנת לבצע ניסויי התנהגות ואלקטרופיזיולוגיה והדבר השפיע על יכולתנו להמשיך בכוון שחשבנו ללכת בו בעבר. לפיכך עיקר המאמצים בתכנית מקבילה של המדען הופנו לגידול המזיק על דיאטות שונות ולמיצוי בלוטות ואנליזה של המרכיבים הנדיפים בהן. בשל מגבלות הגידול, לא היו בידנו מספיק חרקים לאיסוף נדיפים במערכת איסוף המונית רגילה, שהיא שיטת האיסוף הקונבנציונלית. למערכת זו חסרונות גם בשל הנפח הגדול שלה וגם בצורך לעבוד עם תמיסות שעוברות ריכוז לפני האנליזות הכימיות, דבר המגביר את הסיכוי לאבד בתהליך את החומר המבוקש הנעלם. גם לאיסוף פרומון ע"י חיתוך בלוטות היו מגבלות הקשורות באי-ידיעה מספקת של הביולוגיה של המזיק, הווה אומר שלא ידענו בדיוק אם חיתוך הבלוטה נעשה בזמן שחרור הפרומון ומה שנעשה זו הערכת הזמן הזה הרבה לפי הכתוב בספרות ומעט לפי ניסוינו.

### מטרות המחקר

כאמור בתכנית קודמת של המדען נתקלנו בבעיות קשות לגדל את המזיק. לכן, מירב מאמצי התכנית הושקעו בקיום הגידול על גבי שלוש דיאטות שונות. מרכיב זיהוי הפרומון בתכנית התמצה בחיתוך בלוטות הפרומון לתוך ממס, הזרקת התמיסות המתקבלות ל-GCMS ואנליזה של התוצאות המתקבלות. במיצוי בלוטות זוהו שני המרכיבים הספרותיים. בחלק מדוגמאות המיצויים זוהה חומר נוסף בעל שרשרת עם 18 פחמנים ושני קשרים כפולים וקבוצת אצטט, שאינם תואמים למרכיבים בספרות, אך לא היה בידנו מספיק חומר על מנת לבודדו ולזהותו. מטרת המחקר בתכנית זו היתה לנסות להפיק פרומון מנקבות ע"י איסוף אוריה במערכת איסוף אוטומטית חדשה שברשותנו על מנת ולבדוק באופן חדשני זה מהו הרכבו של הפרומון והאם ישנם מרכיבים נוספים המשתנים עם הזמן ובכך ניתן לקשור אותם למערכת הפרומונלית של המזיק, שלעניות דעתנו טרם פוענחה באופן סופי.

### עיקרי הניסויים שבוצעו

במעבדה לכימיה שבמינהל קימת מערכת הזרקה אוטומטית יחודית MultiPurposeSampler Gerstel, עליה מורכב ראש הזרקה מסוג (ITEX- In-Tube Extraction) מתוצרת CTC . בעזרת מערכת זו ניתן לאסוף נדיפים לאורך פרקי זמן, לבצע pre-concentration ללא ממס ע"ג חומר סופח ולבסוף להזריקם ישירות למכשיר GCMS. למיטב ידיעתנו זו הפעם הראשונה שמשתמשים במערכת זו על מנת לאסוף פרומונים מחרקים. במהלך השנתיים בהן המכשיר מצוי אצלנו צברנו ניסיון בזהווי שחרור הפרומון במערכת זו בעשים אחרים.

נקבות במצב גולם מגידול על גבי קרקעות המזון השונות, שנאספו מהשדה והתפתחו במעבדה במו"פ צפון, הועברו למעבדה לכימיה שבמינהל המחקר. הגלמים הושארו בתנאים המתאימים להם עד הגחתם. לאחר ההגחה הועברו הנקבות לתוך צנצנות של 20 מ"ל, המתאימות למע' האוטומטית, כשבתוכן נייר מקופל כאקורדיון, על מנת לאפשר להן להאחז בו במשך זמן האיסוף. הצנצנת והנייר נשטפו קודם לכן עם ממש על מנת לנטרל כל זיהום אפשרי ופנים הצנצנת נאטף בנייר אלומיניום על מנת למנוע ספיחת חומרים על גבי הזכוכית. בפקק הגומי התקנו גם מחט רגילה של מזרק על מנת לאפשר כניסת אויר לכלי. הצנצנת הונחה בתוך מגש הדיגום המצוי על גבי מערכת הדוגם האוטומטי עליה הורכב ראש ההזרקה ITEX. ראש ההזרקה הזה מכיל צינורית ובה חומר סופח מסוג Tenax. המזרק שואב את הנדיפים שנספחים אל ה-Tenax על פי תכנית פעולות הנשלטת ע"י המפעיל באמצעות תוכנה. בגמר פרק הזמן של השאיבה המזרק עובר אל יחידת ההזרקה של ה-GCMS ומשחרר את כל הנדיפים שנספחו על החומר הסופח ע"י חימום והזרמת גז אינרטי (הליום) בתוך שניות בודדות. באופן הזה מושג pre-concentration של הדוגמא ללא צורך בממס. הנדיפים שבצנצנות בהן הונחו הנקבות הבודדות נאספו בפרקי זמן קצרים על מנת לזהות באיזו שעה מתבצע שחרור הפרומון. האיסוף נמשך בפרקי זמן של שעתיים.

### **תוצאות ומסקנות**

הנקבות שהגידול מהגידול היו קטנות מהרגיל ומעוותות, אך גם במצב זה ניסינו לבצע בהן איסוף פרומון במערכת האוטומטית. התוצאה היתה שלאחר מספר מועט של שעות עמידה (כ-7) במערכת האיסוף הנקבות מתו ונאלצנו להפסיק את האיסוף. מניתוח הכרומוטוגרמות שהתקבלו בשעות החיות, לא ראינו השתנות (עליה וירידה בריכוז) של חומרים כלשהם, כפי שקורה מנסיונו באוכלוסיה של עשים אחרים.

כאמור, מערכת לגידול המונוי היא חיונית לשם אספקת נקבות להפקת פרומון. קרקעות המזון שנבדקו נטו לפתח זיהום פטרייתי הפוגע בזחלים וכתוצאה מכך מספר הפרטים שהגיעו לשלב ההתפתחות הסופי היה נמוך. נראה ששיטת הגידול הראשונה שניסינו, על ידי אילוח שתילים בענפים נגועים בזחלים היתה מוצלחת יותר משיטת הגידול על קרקע מזון מלאכותית. הבוגרים שהתפתחו היו חיוניים אם כי, ביום הגיחה הופיעו כיחידים או במספר קטן של פרטים.

הבעייתיות בגידול העש היתה ונשארה צואר הבקבוק גם בגישה עדינה זו של אנליזת הפרומון.

