

דוח תוכנית מחקר 131-1834-15
(שנה ראשונה 2015)

1. נושא המחקר: קידום אמצעי ממשק הדברה ידידותיים לסביבה כנגד פגע האמברוזיה של האבוקדו

Study on the avocado ambrosia problem with emphasis on the development of environmentally friendly management tools

עמ'	תוכן עניינים
1	1. שם ההצעה
1	2. טבלת השותפים למחקר והצהרת החוקר הראשי
2	3. תקציר מדעי של הדוח
2	4. חשיבות המחקר
2	5. מבוא ותיאור הבעיה
3	6. מטרות המחקר
4	7. תוצאות עיקריות ומסקנות
4	7.1 אכלוס מבוקר של הפטריות הסימביוטיות לענפי אבוקדו, תגובת העץ והישרדות הפטריות
7	7.2 בחינת יחסי הגומלין בין שלוש הפטריות הסימביוטיות שמלוות את חיפושית האמברוזיה
9	7.3 התפתחות הזחלים על כל אחד משלוש המיני פטריות הסימביוטיות בנפרד
10	7.4 אקריות המלוות את פגע האמברוזיה
11	8. הבעת תודה
11	9. סיכום עם שאלות מנחות
12	10. ספרות מצוטטת
13	11. נספח איורים לדו"ח

2. שותפים למחקר

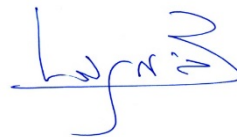
Zvi Mendel, Stanley Freeman, Eric Palevsky, Michal Sharon, Alex Protasov, Miriam Eliyahu, Dana Ment, Shira Gal, Department of Entomology, Agricultural Research Organization, Volcani Center, Bet Dagan, 50250	צבי מנדל, סטנלי פרימן, אריק פלבסקי, מיכל שרון, אלכס פרוטסוב, דנה מנט, שירה גל zmendel@volcani.agri.gov.il המכון להגנת הצומח, מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, משרד החקלאות בית דגן.
Avocado Organization, Israeli Plants Board	יונתן מעוז, גרנות, מילופרי
Michael Noy, Horticulture division, Extension Service, Ministry of Agriculture	מיכאל נוי, האגף למטעים, שה"מ, משרד החקלאות

הצהרת החוקר הראשי:

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים. הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים: בשל העובדה שהניסויים לא בשלו לידי גיבוש המלצות מעשיות)

חתימת החוקר הראשי

דצמבר 2015



כסלו תשע"ה

3. תקציר

הצגת הבעיה: הנזק החמור הנגרם ע"י פגע האמברוזיה בישראל למטעי אבוקדו ולמיני עצים אחרים מציב אתגר ממשקי קשה למגדלים.

מטרות המחקר בשנה הראשונה (א) לבחון את תגובת העצים לאילוח מבוקר של שלושת הפטריות בהאס ובאטינגר, (ב) לבחון את השפעת הטמפרטורות, לימוד השפעת הטמפרטורה על קצב התפתחות של מיני הפטריות. (ג) לבחון יכולתם של הזחלים להתפתח על כל אחת מפטריות, (ד) לבחון את מיני אקריות המלוות את חיפושית האמברוזיה.

מהלך ושיטות העבודה העיקריות: אילוח ענפי אבוקדו באמצעות הזרקה של הפטריות ומעקב אחר תגובת הענף והישרדות הפטריות. בחינת השפעת הטמפרטורה במעבדה על התפתחות הפטריות ובחינת אינטראקציה בניהן במעבדה בתנאים מבוקרים. זיהוי של האקריות המלוות במתקנים מיקרוסקופיים.

תוצאות עיקריות: הבדלי התגובה בין האס ואטינגר אינם גדולים. התגובה לטיפול הפוזריום והגרפיום נותרה גבוהה. בהשוואה למיני הפטריות האחרים. התגלו מיני אקריות רלוונטיים.

דיון ומסקנות: פטריית הפוזריום שורדת בענף בעוד שהאחרות נעלות עם הזמן. הזחלים זקוקים לפוזריום יחד עם הגרפיום להתפתחות מלאה ואולי גם לאקרמוניום.

4. חשיבות המחקר

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

5. מבוא

חיפושית האמברוזיה *Euwallacea nr fornicatus* שייכת לשבט Xyleborini (Scolytinae). נוברת מחילות בעומק עצת הירך, ומאלחת את דופן המחילה בשלוש פטריות סימביוטיות חיפושית האמברוזיה *Euwallaceae nr. fornicatus* נושאת שלוש פטריות סימביוטיות: *Fusarium euwallaceae*, ולהלן פוזריום *Graphium euwallaceae* ולהלן גרפיום ו *Acremonium pembeum* ולהלן אקרמוניום. כל שלושת הפטריות מצויות במעי הזחלים, ובכמות גדולה למדי בדפנות הגלריות בהן הם מתפתחים (Freeman et al. 2015). הפטריות גדלות על דופן המחילות ומתפשטת לאיטה בעצה וגורמת למעשה לשיבוש זרימת המים בעצה. בשל כך התנוונות ענפי האבוקדו עבי קוטר מותקפים היא איטית, אך הפגיעה ביבול ניכרת תוך זמן קצר. מידע על הביולוגיה של מיני הסוג *Euwallacea* והנזק שהם גורמים הוא מוגבל ביותר. טרם נמצאו אמצעים יעילים לעצור את פעילות הפגע או צמצום הפגיעה. בעשור האחרון נבחנו נדיפים למשיכה של החיפושיות של חיפושית האמברוזיה של התה *Euwallacea nr fornicatus* והן של *Xyloborus glabratus* (Hanula et al. 2008, James 2007, Kendra et al. 2011, 2012, Kuhns et al. 2013, Cooperband et al. 2015) והם יבחנו במסגרת תוכנית המחקר בשנת 2016.

חיפושית האמברוזיה *Euwallacea nr fornicatus* והפטרייה הסימביוטית *Fusarium euwallaceae* (ולהלן פגע האמברוזיה) התגלו בישראל לפני כשבע שנים. תקיפת ענפי אבוקדו המלווה בהפרשה טיפוסית של פריסטול (סוכר 7C השכיח במין זה, Liu et al. 2002). על פי מידע שהצטבר בישראל ובקליפורניה (Mendel et al. 2012, Eskelan et al. 2013) החיפושית תוקפת למעלה מ-200 מינים עצים ולפחות במחציתם מתבססת הפטרייה (ללא נזק של ממש) כ-10%

מהמינים, ממשפחות שונות, מתאימים להתרבות החיפושיות. רביית החיפושית בפונדקאי גורמת בעקבותיה ההתייבשות של חלקי עץ פגועים ניכרת במקום בו מגיחות החיפושיות מעצים קמלים שנתקפו על ידן. מבין מיני עצים שנצפו לעיתים קרובות בישראל הנתקפים ללא המשך של התפתחות ורבייה, מצויים אפרסמון, כוריזיה הדורה, זית, מורינגה ומיני ברכיטון. מבין העצים שמוחקים והחיפושית מתרבה בהם נמצא אלון ארך עוקצים (*Quercus pedunculifolia*) ואלון אנגלי (*Quercus robur*), (Freeman et al. 2012; Mendel et al. 2012). לחיפושית האמברוזיה מעט אויבים טבעיים, שרובם לא נחשבים כיעילים. מיני אקריות פונגיבוריות (fungivorous) מהמשפחות Tarsonemidae (סדרת Prostigmata) ו-Histiostomatidae (Astigmata) נישאות ע"י חיפושיות קליפה וניזונות על פטריות (Hofstetter and Moser, 2014). מינים אלו שטרם הוגדרו נמצאו בישראל כבר בסתיו 2013 במחילות יחד עם חיפושיות האמברוזיה. לאקריות ממשפחת ה-Tarsonemidae יש כיסים מיוחדים לאחסון והעברת פטריות והאקריות מועברות ע"י החיפושית בדרגה בוגרת (Palevsky et al., 2001). לעומת זאת באקריות מסדרת Astigmata מועברות האקריות בדרגת heteromorphic deutonymph מועברות ע"י החיפושית בדרגה בוגרת (Palevsky et al., 2001). להנבגים של פטריות מועברים על גבי גוף האקרית ודרך המעי (Ofek et al., 2014). המידע שהצטבר מניסויי ההדברה ולימוד הביולוגיה של חיפושית האמברוזיה מצביע על כך שהדברת הפגע אפשרית במידה ותמצא מערכת העברה יעילה של אמצעי הקטילה אל תוך, או סביבת, הגלריות של החיפושית בעצה. פטריות אנטומופיתוגניות קוטלות ביעילות חיפושיות קליפה ואמברוזיה. עם זאת נדרש נשא אשר יעביר את נבגי הפטרייה אל תוך המחילות.

6. מטרת המחקר לשנת 2015

א. (מטרה 1 בהצעת המחקר) בחלק מלימוד דפוסי האכלוס של החיפושית האמברוזיה בכל הקשור להצלחת האילוח ולתגובה של עץ האבוקדו למיני הפטריות האמברוזיה המזוהים נבחנה תגובת העצים לאילוח מבוקר של כל שלושת הפטריות תוך הבחנה בין הזנים האס ואטינגר, רגיש ועמיד, בהתאמה.

ב. (מטרה 2 בהצעת המחקר) במסגרת העמקת את הידע אודות יחסי הגומלין בין החיפושית והפטריות הסימביוטיות בחנו את השפעת הטמפרטורה על קצב התפתחות של שלושת מיני הפטריות המלוות בחנו את השפעת הטמפרטורה על קצב התפתחות של שלושת מיני הפטריות.

ג. (מטרה 2 בהצעת המחקר) לבחון יכולתם של הזחלים להתפתח על כל אחת מפטריות המלוות בנפרד.

ד. (מטרה 4 בהצעת המחקר) לבחון את מיני אקריות המלוות את חיפושית האמברוזיה תוך דגש על האקריות הפונגיבוריות.

מטרה א. התבצעה במסגרת מטרה 1 בהצעת המחקר, מטרת ב' וג' התבצעו במסגרת מטרה 2 בהצעת המחקר, וד' במסגרת מטרה 4 בהצעת המחקר.

7. תוצאות עיקריות ומסקנות

7.1 אכלוס מבוקר של הפטריות הסימביוטיות לענפי אבוקדו, תגובת העץ והישרדות הפטריות

7.1.1 מבוא

הפגיעה בעצים הרגישים לפגע קשורה באופן ברור בהימצאות הפטריות והתפתחותן בעצה. עד לאחרונה שמנו את הדגש על הפוזריום היות ומין זה היה הראשון שהתגלה והוא מהווה את עיקר תכולת המקנגיה (כיסוי הנשיאה של הפטריות בראש

נקבת החיפושית). לפיכך עלתה השאלה, מי מבין הפטריות היא זו המחוללת את הנזק. תקיפת עצי אבוקדו ע"י החיפושיות מאופיינת בתקיפות המסתיימות בנבירה של מערכת גלריות והתפתחות צאצאים, לצד תקיפות רבות עקרות שאינם מתפתחות לידי תהליך רבייה, בעיקר בענפים וקטעי גזע עבים. מצב הדומה למתרחש לפחות ב- 16 מבין 49 מיני עצים הנתקפים ע"י החיפושית. אנו יוצאים מנקודת הנחה שבמהלך התקיפות העקרות מחדירה החיפושית את כל שלושת מיני הפטריות לעצה. במחקר קודם הושגו עדויות רבות לכך שברבים מיני העצים המתוקפים שלא התאימו לרביית החיפושית בודדה הפוזריום. תמונת מצב זו הובילה לשאלה, האם גם שני מיני הפטריות האחרים מתבססים יחד עם הפוזריום, ועד כמה כל שלושת מיני הפטריות מתמידים לשרוד בעצה ללא נוכחות החיפושית.

7.1.2 המטרות

- 1) לבחון את הפגיעה הנגרמת כתוצאה מהחדרה מלאכותית לתוך עצת אבוקדו בענפי הזן האס, שהוא זן רגיש ובזן אטינגר הנחשב עמיד יחסית לפגע האמברוזיה.
- 2) לבחון את הישרדות הפטריות בעצה לאורך זמן לאחר החדרתן.
- 3) לבחון האם הזרקת הפטריות תחולל בעקבותיה התקפות של החיפושיות במטע שתתבטאנה בנקודות חדירה והתפתחות כיבים.

7.1.3 שיטות

א. הזרקת הענפים בפטריות

ההזרקות בוצעו בשתי חלקות אבוקדו מהזן האס, אחד בקיבוץ נחשולים, ב- 11 – 12 בנובמבר 2014, ובקיבוץ אייל, ב- 25 בפברואר 2015. בשתי החלקות נבחרו להזרקה עצי האס ועצי אטינגר. בכל עץ סומנו 5-1 ענפים להזרקה, על פי רוב 2-3 ענפים לעץ. הענפים שנבחרו לכך היו חיוניים, וללא סימנים ברורים של התבססות או ניסיון התבססות של חיפושית האמברוזיה. הענפים היו בקוטר של 4-7 ס"מ, טווח המהווה קוטר גבולי להתבססות החיפושית. על כל ענף סומנו 10 נקודות על קו רציף במרחק של 6 ס"מ בין כל נקודה. בכל נקודה בוצע קידוח לעומק של כ- 10 מ"מ לתוך העצה באמצעות במקדח בקוטר 2 מ"מ. בכל עשרת הקידוחים בענף מסוים התבצע טיפול אחד מבין חמשת הטיפולים הבאים, הזרקת פוזריום (תבדיד 3-2), גרפיום (תבדיד G-1), ואקרמוניום (תבדיד ACR-1). התבצע גם שני טיפולי ביקורת, הזרקה של מין פוזריום נוסף *Fusarium mangiferae* (תבדיד Fus-34), המחולל את מחלת עיוות התפרחות במנגו, והזרקת מים. כל טיפול בכל קידוח כלל הזרקת 5 מיקרוליטר תרחיף נבגים של הפטרייה הנבדקת, או כמות זהה של מים בטיפול הרלוונטי באמצעות פיפטור. הכנת התרחיף התבצע כדלקמן. הפטריות גודלו ע"ג מספר צלחות PDA (זריעה בפיזור על כל הצלחת). לאחר 6 ימים הוספו 4 מ"ל מים סטריליים לצלחת והנבגים הורחפו. תרחיף הנבגים סונן דרך 4 שכבות גאזה סטרילית וסורכז במשך 15 דקות במהירות של 8,000rpm. הנבגים נשטפו פעמיים נוספות בדרך דומה, הורחפו בנפח קטן של מים (5-10 מ"ל) ונספרו בהמיציטומטר. תרחיף הנבגים נמהל לריכוז סופי של 5×10^5 נבגים למיקרוליטר.

ב. בחינת התבססות הפטריות

התבססות הפטריות נבדקה בשלושה מועדים במהלך שנת 2015, 29 ליוני, ה- 29 ליולי וב- 8 לספטמבר. בכל דגימה נלקחו שני ענפים מכל טיפול מכל אחד משני זני האבוקדו שבניסוי, מכל אחת משתי החלקות. כלומר סה"כ 40 ענפים. מכל ענף נבחרו באקראי שלושה חורי קידוח ושלוש נקודות בין שני חורי קידוח, במרחק של 3 ס"מ מכל חור. סה"כ נלקחו 6 קטעי עצה מכל ענף: קטעי העצה חוטאו 2 דקות באקונומיקה ונזרעו על מצע PDAC. מיני הפטריות זוהו ע"י המופע המורפולוגי האופייני להם וצבע ורוד פוזריום, צבע צהוב אקרמוניום וצבע ירקרק גרפיום.

ג. בחינת תגובת הענף להזרקה

תגובת הענפים להזרקה נבחנה בשני מועדים בכל חלקה. בנחשולים הבדיקה נערכה ב- 16 דצמבר 2014 וב 15 ביוני 2015, 33 ו- 215 ימים לאחר ההזרקה, בהתאמה. באיל, תגובת הענפים נבדקה ב- 10 במרץ ב-15 ביוני, וב- 31 באוגוסט 2015, כלומר, 13, 188 ו- 265 ימים לאחר ההזרקה, בהתאמה. במהלך נמדד הקוטר הממוצע של הפרשת הסוכרים האופיינית בכל כיבים של כל ענף, וחושב הקוטר הממוצע של התגובה שאפיין את הענף.

ד. חישוב נוכחות הפטריות בכל דגימה

נעקרון בכל יחידת דגימה, [פטריה מוזרקת- זן אבוקדו נבדק וחלקה בתאריך מסוים] אירוע הימצאות הפטרייה יכול להופיע בין 0-6 פעמים עבור דגימות ממקום הקידוח ו- 0-6 פעמים מנקודות הדגימה בין שתי נקודות קידוח. התוצאות מציגות את מספר האירועים שהתקבלו מסה"כ נקודות הקידוח, על פי השוואות הבאות, א) הבדל בין המצאות הפטרייה בנקודות קידוח לבין נקודות דגימה בין שתי נקודות קידוח, ב) הבדל בין המצאות הפטרייה בכל נקודות הדגימה של פטריה מסוימת בין שלושת תאריכי הדגימה, ג) הבדל בין המצאות הפטרייה בכל נקודות הדגימה של פטריה מסוימת בין שני זני האבוקדו, ו- ד) ההבדל בין המצאות הפטרייה בכל נקודות הדגימה של פטריה מסוימת בין שתי החלקות. שני היות ושני מיני הפוזריום הופיעו גם כזיהום בטיפול ביקורת מים, בטיפול הגרפיום והאקרמוניום. ניתחנו תחילה את שכיחות הופעת כל המיני הפטריות בכל הטיפולים באופן כללי. מהטיפולים של שני מיני הפוזריום והגרפיום נלקחו סה"כ 144 דגימות מכל טיפול, מאקרמוניום 120 דגימות ומהביקורת 96 דגימות.

7.1.4 תוצאות

א. תגובות הענפים לטיפול ההזרקה

תיאור תגובת הפרשת הסוכרים לטיפול ההזרקה השונים בהתאמה לחלקת הניסוי ולמועד הבדיקה מוצג באיורים 1 ו- 2. נראה שהבדלי התגובה בין הטיפולים השונים ובין הזנים האס ואטינגר אינם גדולים. המגמה המצטיירת היא שהתגובה לביקורת הזרקת מים היא קטנה יותר מאשר הטיפולים האחרים. במועד הדגימה הסמוך להזרקה תגובת האס נראית עוצמתית יותר מאשר באטינגר. בדגימה העוקבת 6 או 8 חודשים לאחר ההזרקה, התגובה הייתה חלשה יותר. עם זאת ניכר שהתגובה לטיפול ביקורת מים הייתה חלשה מאד עד אפסית, והתגובה לטיפול הפוזריום והגרפיום נותרה גבוהה יחסית. התגובה הכללית של בחלקת האבוקדו באיל הייתה חזקה מזו שהתקבלה בחלקה בנחשולים. דגימה נוספת תתבצע באביב 2016 בחלקת הניסוי באיל (החלקה בנחשולים עבורה גיזום לא מתוכנן, ולא ניתן להמשיך בה את התצפיות).

ב. תדירות הופעת הפטריות בטיפול ההזרקה

שני מיני הפוזריום הופיעו בתדירות הגבוהה ביותר מסה"כ הדגימות. הפוזריום הסימביוטי נמצא ב- 31.9% מסה"כ הדגימות בטיפול הרלוונטי, הפטריה נמצאה ב- 0.7% מהמקרים של דגימות הגרפים וב- 7.6% מהדגימות האקרמוניום, וב- 4.9% מדגימות טיפול ביקורת הזרקת המים. ככל הנראה הופעה זו בטיפולים האחרים היא ככל הנראה תוצאה של זיהום. פוזריום עיוות התפרחות הופיע 27.8% מכלל הדגימות בטיפול הרלוונטי, ב- 6.9% ו- 4.2% מהדגימות של טיפול הגרפיום והביקורת בהתאמה, גם כאן ככל הנראה כזיהום. אקרמוניום נרשם רק 4.2% מהדגימות בטיפול הרלוונטי. הגרפיום לא בודד מאף לא אחת מהדגימות.

בהשוואה של תדירות ההופעה בדגימות הפטריות בין דגימות שנלקחו מקידוחי ההזרקה לבין הדגימות שנלקחו מהנקודות שבין שני קידוחים, נמצא, כצפוי יותר נוכחות של הפטריות בקידוחי ההזרקה. כך מבין סה"כ הדגימות שנמצאו חיוביות נוכחות הפטריות בנקודות שבין קידוחים היתה 36.9%, 16.7% ו- 24.6% עבור פוזריום הסימביוטי, האקרמוניום ופוזריום מגניפירה (טיפול ביקורת) בהתאמה (ראה גם איור 4).

השוואת התדירות הופעת הפטריות מצביעה על כך שבעוד הפוזריום הסימביוטי נותר כמעט ללא שינוי. השכיחות של שני מיני הפטריות האחרים, הולכת ופוחתת עם הזמן (איור 5). גרפיום כאמור לא נמצא כבר בדגימה הראשונה. תדירות ההופעה של שני מיני הפוזריום זני האבוקדו שנבדקו, האס לעומת אטינגר היתה כמעט זהה (איור 6). מעניין שמעט הדגימות החיוביות בטיפול האקרמוניום נמצאו כולם בזן אטינגר. הפוזריום הסימביוטי נמצא יותר בחלקת הניסוי באיל מאשר בחלקה בנחשולים, ההבדלים בנוכחות שני מיני הפטריות האחרים בין שתי החלקות הם קטנים (איור 7).

7.1.5 דיון מסקנות ראשונות

ראשית יש לציין שפרק זה של המחקר טרם הסתיים. תגובת עץ האבוקדו להחדרת הפטריות המלוות של חיפושית האמברוזיה ניכרת ראשית כל בעצם הפציעה שנגרמה ע"י הקידוח, ולכן הפרשת הסוכר (פרסיטול) היא תגובה צפויה בכל הטיפולים. עם זאת עוצמת התגובה מושפעת גם מעצם נוכחות הפטרייה, ונראה ששני מיני הפוזריום מחריפים את התגובה. כשמונה חודשים לאחר הזרקת הפטריות עדיין ניכרת השפעת הפוזריום על תגובת הכיב שנוצר, אם כי עוצמתה פחתה מאד עם הזמן. לא נצפה הבדל ניכר בתגובה של האס, הזן הרגיש לפגע האמברוזיה בהשוואה לאטינגר שהחיפושית כמעט ואינה מתרבה בתוכו. בבדיקת התגובה באביב 2016 נבחן האם עדיין נותרה פעילות של הפרשת הסוכרים ועד כמה היא קשורה להמצאות הפטריות בעצה.

דגימות העצה לבחינת הימצאות הפטריות בעצה בעקבות האילוח המלאכותי, הדגימה באופן ברור את הישרדות שני מיני הפוזריום בהשוואה לשני מיני הפטריות האחרים הנישאים ע"י החיפושית. נראה שהגרפיום נעלמה זמן קצר לאחר ההזרקה. ממצא זה מסביר שתי תופעות שעמדנו עליהן בסיכום הדו"ח הקודם ובמאמר שפורסם לאחרונה (Freeman et al. 2015). במסגרת זו גרסנו שהגרפיום למעשה משגשג כתוצאה מפעילות של החיפושית, יתכן שהתפתחות זו קשורה בגורמים מעודדים שמפרישים הזחלים. הגרפיום דומיננטית בדפנות הגלריות בזמן התפתחות הזחלים ומהווה כמעט את כל תוכן המעי שלהם. הממצאים המוצגים כאן מעידים שללא הזחלים היא אינה שורדת. מכאן אנו מעריכים שהגרפיום אינה שותפה לפגיעה בעץ ולתסמינים האופייניים לפגע האמברוזיה. האקרמוניום נרשמה בתדירות נמוכה מאד שהלכה ופחתה ככל שמועד הדגימה התרחק ממועד ההזרקה. יש לציין שטרם התברר תפקידה של פטריה זו, אף על פי שהיא משגשגת בעץ במקביל לפעילות הזחלים, וגם ככל הנראה לא מחוללת את הפגיעה בעץ. נראה שדווקא שני מיני הפוזריום מתפתחים או

שורדים היטב ברקמה הצמחית. הפוזריום הסימביוטי ככל הנראה מותאם להתפתחות בעצה גם ללא נוכחות החיפושית. יתכן שזו הסיבה לך שחיפושית הבוגרת נושאת בעיקר פוזריום בבואה לאכלס את העצה, וככל הנראה הפוזריום המאפשרת לחיפושית להתפתח בעצים חיים. תוצאות הדגימה מראות שכמעט לא היה שינוי בהישרדות הפוזריום במהלך שמונת החודשים לאחר ההזרקה. ממצא זה תואם את ממצאים שהתקבלו בתכנית המחקר הקודמת המדגימים את העובדה שהתקפות עקרות של החיפושית מלוות בהתבססות הפטריה בענפים, שבשלב מאוחר יותר נבחרים להתקפה מחדש, כאשר גל ההתקפה נוסף המסתיים ברבייה של החיפושית. גם טיפול הביקורת של הזרקה הפוזריום המחולל את עיוות התפרחות במנגו ניכר בהישרדות הפטריה. תוצאות דגימות העצה מצביעות על מגמה של הפחתה בשכיחות פטרייה זו עם הזמן. הדגימות שתבצענה באביב 2016 יאפשרו לקבוע את האם הפוזריום הסימביוטי ממשיך ושורד ואילו המין האחר אינו שורד לאורך זמן.

7.2 בחינת יחסי הגומלין בין שלוש הפטריות הסימביוטיות שמלוות את חיפושית האמברוזיה

7.2.1 מבוא

על מנת לעמוד על המעורבות של כל אחת מיני הפטריות הסימביוטיות בסינדרום הנזק הנגרם ע"י פגע האמברוזיה בקשנו לבחון את השפעת הטמפרטורה על התפתחותן.

7.2.2 מטרות

א. בחינת קצב התפתחות, ב. בחינת ההתפתחות יחד של הפטריות בתרבות

7.2.3 שיטות

בחינת קצב ההתפתחות התבצעה כדלקמן, בשלב הראשון, כל אחת מהפטריות נזרעו בצלחות עם מצע PDA+ CH והונחו לגדילה בטמפ' חדר. כאשר הקוטר כיסה כמעט את כל הצלחת, אך לא את כולה, נלקחה דסקית בקוטר 0.5 ס"מ מהיקף הגידול והועברה למרכז של צלחת PDA חדשה. קצב ההתפתחות של כל פטריה נבדק באופן זהה בטמפרטורות הבאות 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, ו-40°C. בכל פטריה בכל טמפרטורה נבחנה בשלוש חזרות. הפטריות שנבדקו (הקוד מצייין את מספר התבדיד) היו: פוזריום FUS2-3 מאבוקדו מקיבוץ נען, אקרמוניום ARC13 וגרפיום G21, מקורם מבטן חיפושיות שבודדו מקקיון מאשתאול. השפעת הטמפרטורה על קצב הגדילה היחסי של הפטריות הסימביוטיות נמדד אחת ליום או יומיים בכל אחת מהטמפרטורות בניסוי. ביום בו נרשמה כיסוי מירבי של הצלחת, באחת הטמפרטורות, נמדד גם שטח פני הצלחת שכוסו בפטריה בצלחות שנמצאו בתאי גידול בשאר הטמפרטורות. כך השפעת הטמפרטורה על קצב התפתחות הפטריה נקבע בהתאמה לטמפרטורה בה ההתפתחות היתה המהירה ביותר. בניסוי נוסף שהתבצע באופן דומה עקבנו אחר התפתחות הפטריות בטמפרטורת החדר ונקבע הזמן הנדרש עבור כל פטריה לכסות את כל פני הצלחת.

בחינת ההתפתחות יחד של שלוש מיני הפטריות התבצע כדלקמן. הפטריות שנבדקו: פוזריום FUS2-3, גרפיום G1 ואקרמוניום ACR1. בשלוש מבחנות אפנדורף נאספו נבגים של כל אחת משלוש הפטריות, כל המבחנות הובאו למיהול אחיד של 10^7 נבגים/מ"ל. תחילה נלקחו מכל מבחנה 250 מיקרוליטר של התרחיף והועברו למבחנה אחת לערבוב של

הנבגים. התקבלה מבחנת מקור עם 750 מיקרוליטר חומר מעורבב של 3 הפטריות, זאת על מנת לזרוע את כולן יחד ולראות כיצד משפיעה לפרט כל אחת מהפטריות על האחרת. הוכנו חמישה ריכוזים שונים של החומר במיחול עשירי של 1:10, 1:100, 1:1000, 1:100,000, 1:10,000. נזרעו שלוש צלחות של מבחנת המקור שבה עורבבו שלוש הפטריות ושלש צלחות לכל אחד מהריכוזים השונים שהתקבלו (סה"כ 18 צלחות). הנבגים נזרעו בצלחות פטרי עם מצע, PDA כשבכל צלחת נזרעו 100 מיקרוליטר של החומר ופוזר בצורה אחידה על כל שטח הצלחת.

7.2.4 תוצאות

א. השפעת הטמפרטורה על קצב גדילת הפטריות

בניסוי בו נבדקה השפעת הטמפרטורה על קצב הגדילה של כל אחת מהפטריות הסימביוטיות, ונמצאו תוצאות התואמות את אופי הגדילה התואם את מערכת הרבייה במעבדה. פטריית הפוזריום כיסתה את כל שטח הצלחת תוך 5-7 ימים בטמפרטורה של 25°C , כלומר הגדילה המהירה ביותר שנצפתה. ההתפתחות המהירה ביותר של פטריית הגרפיום והאקרמוניום נצפתה ב- 30°C אך לכיסוי מלאו שטח הצלחת בתנאים אלה נדרשו 21 ימים.

ב. אינטראקציה בין שלוש מיני הפטריות

שבוע לאחר זריעת הפטריות ניתן לראות שהן גדלות כל אחת בנפרד, בבדיקה תחת המיקרוסקופ נראה שאין הפטריות גדלות אחת לתוך השנייה אלא אחת ליד השנייה, עם קו גבול של הגדילה ברור מאוד. מאחר ולכל פטרייה צבע ומופע שונה, ניתן להבדיל ביניהן וניתן לראות את הגדילה של כל אחת מהפטריות. אין עיכוב גידול של פטרייה זו או אחרת על ידי האחרות.

7.2.5 דיון

אופטימום ההתפתחות של פטריית הפוזריום נמוך מזה של שני מיני הפטריות האחרים. נראה שהדבר קשור בכך שהגרפיום והאקרמוניום מתפתחות כאשר חלק ניכר מהרקמה אינו חיוני ולכן הטמפרטורות הצפויות ברקמה הפגועה הן גבוהות יותר. חשוב גם לציין שהגרפיום מתפתחת מהר יותר ולפיכך העלייה בטמפרטורה משרתת את השתיים האחרונות בשלב התפתחות הזחלים.

7.3 התפתחות הזחלים על כל אחד משלוש המיני פטריות הסימביוטיות בנפרד

7.3.1 מבוא

מטרת פרק זה של המחקר את החשיבות של אחת מהפטריות המלוות את החיפושיות כמרכיב תזונתי. לפיכך נדרש לבחון את הצלחת ההתפתחות של הזחלים על כל אחד משלושת המינים.

7.3.2 מטרה

בחינה של התפתחות הזחלים במעבדה על כל פטרייה בנפרד.

7.3.3 שיטות

שלוש הפטריות פוזריות, גרפיום, ואקרמוניום נזרעו על מצע PDA רגיל, 3 צלחות מכל מין פטרייה, סה"כ 9 צלחות בניסוי. הזריעה נעשתה על ידי איסוף נבגים מתרבית מפטרייה שגדלה באופן שוטף במעבדה. תרחיף הנבגים ששוחרר מתוך המושבה נשאב באמצעות פיפטור ומועבר אל צלחת מצע נקייה. הצלחות הנחו בטמפרטורת חדר. לאחר שהפטרייה כיסתה את כל שטח הצלחת הושמו בתוכה הזחלים. הזחלים נלקחו מגזע של קיקיון שהובא מהטבע, הגזעים נשמרו בחדר גידול בטמפרטורה קבועה של כ-250. ביום האכלוס בקענו את הגזע בגרזן והזחלים בדרגת זחל ראשונה ושנייה "שהשתחררו" נאספו. כל צלחת אוכלסה ב-5-10 זחלים. כל פטרייה נבדקה ב-11 חזרות, סה"כ נבדקה ההתפתחות של 75 זחלים על כל פטרייה.

7.3.4 תוצאות

התפתחות נצפתה רק על הפוזריות והגרפיום. למרות ההבדלים במספר הזחלים שהתגלמו והתבגרו על כל אחת משתי הפטריות, לא נמצאו הבדל מובהק ($P=0.20$) בהתפתחות הזחלים על בין שמי מיני הפטריות (איור 9).

7.3.5 דיון

נראה שההתפתחות של זחלי החיפושיות על כל פטרייה בנפרד אינה אופטימלית. הזחלים השלימו את התפתחותם על הפוזריות אם כי רק כ-20% הגיעו לבגרות, בכל הקשור להתפתחות בלעדית על גרפיום, התוצאה היתה פחותה ורק 12% התבגרו. יש לציין שהשלמת ההתפתחות על אקרמוניום בלבד, אינה אפשרית. נראה שלהתפתחות תיקנה נדרשות לפחות הפוזריות והגרפיום יחדיו, ואולי גם אקרמוניום.

7.4 אקריות המלוות את חיפושית האמברוזיה

7.4.1 מבוא

על בסיס שפע המידע שקיים במערכות של חיפושיות קליפה באירופה וארצות הברית (Hofstetter and Moser, 2014) ומעט מהידע שקיים על חיפושית האמברוזיה (Machingambi et al., 2014) אנו מניחים שקהילת מיני האקריות המלווים את חיפושית האמברוזיה בארץ יכלול אוכלי פטריות, טורפים ואומניבורים. אחד מכיווני המחקר העכשוויים בארה"ב במימשק הדברה של החיפושית שגורמת לפגע האמברוזיה בפלורידה הוא השימוש באקריות אוכלי פטריות כווקטורים של פטריות אנטומופתוגניות (Carrillo et al., 2015). שלב מקדים לכיוון מחקר זה הוא הכרה טקסונומית של מיני אוכלי הפטריות ובחינת מיני הפטריות שהן אוכלות.

7.4.2 מטרה

זיהוי מיני אקריות אוכלי פטריות המלוות את חיפושית האמברוזיה בארץ.

7.4.3 שיטות

ענפי אדר מילני מאוכלסים בחיפושית האמברוזיה שנוסרו ונקטעו ליחידות קטנות של כ-10 ס"מ הונחו במשפכי ברילזה על מנת לרכז את האקריות המגיות מתוכם יחד עם החיפושיות. האקריות נאספו במבחנות באתנול 70% והוכנו לצורך זיהוי מיקרוסקופי. לזיהוי במתקני מיקרוסקופ אור האקריות הובהרו באמצעות השרייה בחומצה לקטית, לאחר שטיפה במים הן הונחו בטיפת תמיסת Hoyers ושעליה זכוכית מכסה, המתקן הובש בתנור ב-40°C ונחתמו ב-Varathane®. מתקני מיקרוסקופ סורק הוכנו באמצעות טבילת האקריות בסדרה עולה של תמיסות אתנול 70%-100% יבוש האקריות נעשה במייבש CPD (critical point dryer) ולאחר מכן הן צופו בזהב.

7.4.4 תוצאות ודין

נמצאו שלושה מיני אקריות המלווים את חיפושית האמברוזיה (איור 10) כדלקמן: א) *Histiostoma* sp. (Astigmata:) (Histiostomatidae), ב) *Tarsonemus near smithi* (ו-ג) *Tarsonemus fusari* (Prostigmata: Tarsonemidae). שני מיני *Tarsonemus* מוכרים כמינים הנשאים ע"י חיפושיות קליפה (Pfammatter and Raffa, 2015). שני המינים האחרונים הם בעלי פוטנציאל ליצור את האינטראקציה הנדרשת בין הפטריות הנישאות ע"י חיפושית האמברוזיה, פטריות אנטומופתוגניות והחיפושיות עצמן.

8. הבעת תודה

אנו מודים לכל הנוטעים הרבים שבחלקותיהם אנו מבצעים את ניסויי השדה ומיוחד לרוני יזרעאלי, עופרי יונגמן, רוני בוקסבאום (בוקסי), 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 לליאו וינר, ויואל דרישפון על מעורבותם המקצועית,

9. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
א) ללמוד את תגובת העצים לאילוח מבוקר של כל שלושת הפטריות ואת כושר הישרדותן בעצה על מנת לקבוע את תפקידן בסינדרום הנזק תוך השוואה של שני זני אבוקדו, האס הנחשב רגיש ואטינגר הנחשב לעמיד לפגיעה. ב) כחלק מהבנת מעורבות הפטריות הסימביוטיות נדרש לבחון את השפעת הטמפרטורה על קצב התפתחותן והאינטראקציה ביניהן ג) לבחון יכולתם של הזחלים להתפתח על כל אחת מפטריות ד. לבחון את מיני האקריות המלוות את חיפושית האמברוזיה תוך דגש על המינים הפונגיבוריים.

עיקרי הניסויים והתוצאות.

ביצענו אילוח מבוקר ענפי אבוקדו באמצעות הזרקה של הפטריות ומעקב אחר תגובת הענף והישרדות הפטריות. ניכר שהבדלי התגובה בין האס ואטינגר בכל הטיפולים אינם גדולים. התגובות לטיפול הפוזריום הסימביוטי ומין פרוזריום אחר *F. mangiferae* ששימש כאחת הביקורת נותרו גבוהים בעיקר למין הראשון. פטריות הגרפיום והאקרמוניום אינן שורדות לאורך זמן בעצה. נמצא שהאופטימום שהתפתחות הפוזריום הוא נמוך מזה הדרוש לאקרמוניום והגרפיום. שהפטריות אינן אנטוגוניסטיות האחת לשנייה. מצאנו שהזחלים משלימים את התפתחותם על הפוזריום (הסימביוטי) והגרפיום אך לא על האקרמוניום כמזון יחיד. באמצעות דיגמות ושימוש במתקנים מיקרוסקופיים זיהוי מיני האקריות המלווים את פגע האמברוזיה.

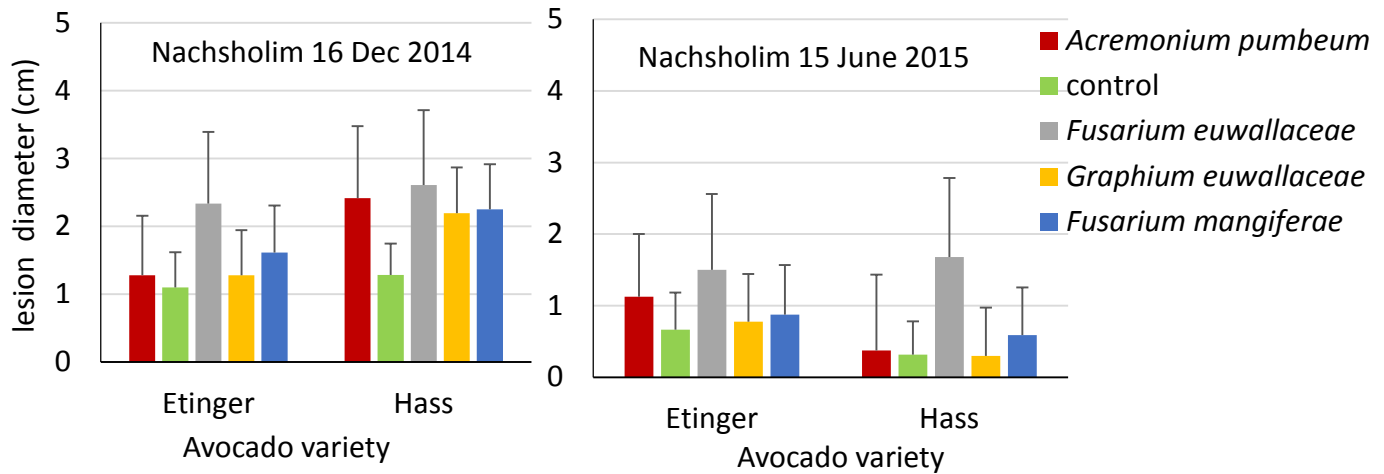
<p>המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.</p> <p>המטרות שהוצבו לשנה הראשונה של המחקר הושגו במידה רבה. הולך ומתברר תפקידה של הפטריה <i>Fusarium euwallaceae</i>. שהיא זו המחוללת את האינטראקציה עם הצמח הפונדקאי, גורמת את הנזק. כעוד ששני המינים האחרים אינם שורדים בעצה ללא נוכחות החיפושית. נראה ששלוש הפטריות המלוות את החיפושית מקיימות מערכת משותפת ללא אינטראקציה שלילית ביניהן. אם כי רק שתיים מתוכן עשויות לשמש מזון בלעדי, על פי מידת ההישרדות בניסויים שנערכו יתכן וכל השלוש דרושות להתפתחות תקינה של אוכלוסיית החיפושית, כלומר, הזחלים זקוקים לפוזריום יחד עם הגרפיום להתפתחות מלאה ואולי גם לאקרמוניום. נמצאו מיני אקריות פונגיבוריות המלוות את החיפושית, מינים אלו יוכלו להיבחן כמוליכי פטריות אנטומופתוגניות אל תוך מערכת הגלריות של החיפושית בעומק העצה ועשויות בשל כך לשפר את מימשק ההדברה של הפגע.</p>
<p>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.</p> <p>הבעיות הנתרות לפתרון במסגרת המחקר הן חלק משאלות שלא ניתן לענות עליהן במהלך השנה הראשונה. מערך הניסויים של השנה השנייה והשלישית אומרים לספק את התשובות החסרות. יש לציין שתקציב המחקר המבוקש שעל פיו נקבעו מטרות המחקר בהצעה המלאה קוצץ לידי מחצית.</p>
<p>הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח : פרסומים מדעיים כדלקמן:</p> <p>Freeman, S., Sharon, M., Dori-Bachash, M., Maymon, M., Belausov, E., Margalit, O., Maoz, Y., Protasov, A., Mendel, Z. (2015). Symbiotic association of three fungal species throughout the life cycle of the ambrosia beetle <i>Euwallacea</i> nr. <i>fornicatus</i>. Symbiosis. DOI:10.1007/s13199-015-0356-9. pp. 1-14.</p> <p>הידע נמסר בסדרה של מפגשים עם החקלאים ומדריכים ובכנסים מדעים בישראל</p>
<p>פרסום הדו"ח: אנו ממליצים לפרסם את הדו"ח: ללא הגבלה</p>

10. ספרות מצוטטת

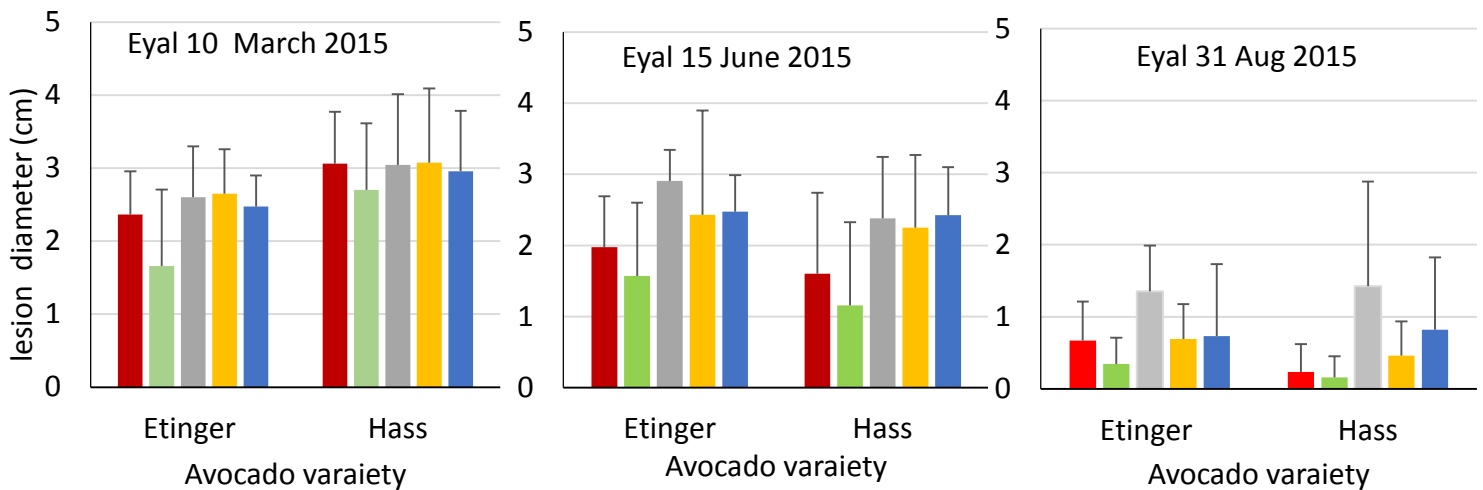
- Carrillo, D., Dunlap, C.A., Avery, P.B., Navarrete, J., Duncan, R.E., Jackson, M.A., Behle, R.W., Cave, R.D., Crane, J., A.P. Rooney, A.P., Pena, J.E., 2015. Entomopathogenic fungi as biological control agents for the vector of the laurel wilt disease, the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control* 81, 44-50.
- Cooperband, M., Cossé, A., Stouthamer, R., Carrillo, D. and Jones T. 2015. Attractants of ambrosia beetles in the *Euwallacea fornicatus* species complex. 40th Meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Pheromones and Other Semio-Chemicals in Integrated Production": The Good Sense of Scent. Mishekenot Sha'ananim, Jerusalem, Israel. November 8-13.
- Freeman, S., Sharon, M., Dori-Bachash, M., Maymon, M., Belausov, E., Margalit, O., Maoz, Y., Protasov, A., Mendel, Z. (2015). Symbiotic association of three fungal species throughout the life cycle of the ambrosia beetle *Euwallacea* nr. *fornicatus*. Symbiosis. DOI:10.1007/s13199-015-0356-9. pp. 1-14.
- Hanula, J. L., A. E., III, Mayfield, S. W., Fraedrich, R. J., Rabaglia. 2008. Biology and host associations of redbay ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), exotic vector of laurel wilt killing redbay trees in the southeastern United States. *J. Econ. Entomolo.* 101: 1276-1286.
- Hofstetter, R.W., Moser, J.C., 2014. The Role of Mites in Insect-Fungus Associations. *Annual Review of Entomology* 59, 537-557.
- James, S. P. 2007. Studies on certain plant volatiles attracting the shot hole borer, *Euwallacea fornicatus* (Eichhoff) (Scolytidae: Coleoptera) infesting tea. Division of Entomology. PhD. Thesis, Upasi Tea Research Institute, Valparai-642 127, Coimbatore Dist. Tamil Nadu, India.
- Kendra, P. E., Montgomery, W. S., Niogret, J., Peña J.E., Capinera, J.L., Brar, G., Epsky, N.D. and Heath, R.R. (2011) Attraction of the redbay ambrosia beetle, *Xyleborus glabratus*, to avocado, lychee, and essential oil lures. *Journal of Chemical Ecology*: 37: 932-942.

- Kendra, P. E., Montgomery, W. S., Niogret, J., Deyrup, MA Guillén, L. and Epsky, N.D. 2012. *Xyleborus glabratus*, *X. affinis*, and *X. ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): Electroantennogram Responses to Host-Based Attractants and Temporal Patterns in Host-Seeking Flight. *Environmental Entomology* 41: 1597-1605.
- Kuhns, EH Tribuiani Y Martini X , Meyer WL , Peña J. Jiri Hulcr J and Stelinski LL 2013. 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.
- Machingambi, N.M., Roux, J., Dreyer, L.L., Roets, F., 2014. Bark and ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae), their phoretic mites (Acari) and associated Geosmithia species (Ascomycota: Hypocreales) from Virgilia trees in South Africa. *Fungal Biology* 118, 472-483.
- 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 nove 5 symbiotic fungus *Fusarium* sp. pose a serious threat to the Israeli avocado industry. *Phytoparasitica* 40: 235-238.
- Mendel, Z., A. Protasov , M. Wysoki, M. Elyihu, Y. Maoz, M. Sharon, A. Zveibil , M. Noy, S. Ben Yehuda S. Freeman. 2012b. A major treat on the Avocado industry in Israel, an ambrosia beetle that vectors a fusarial pathogen. *Alon Hanotea'* 66: 30-35 (in Hebrew).
- Ofek, T., Gal, S., Inbar, M., Lebiush-Mordechai, S., Tsrer, L., Palevsky, E., 2014. The role of onion associated fungi in bulb mite infestation and damage to onion seedlings. . *Experimental and Applied Acarology* 62, 437-448.
- Okada, G., Seifert, K.A., Takematsu, A., Yamaoka, Y., Miyazaki, S., and Tukaki, K. 1998. A molecular phylogenetic reappraisal of the *Graphium* complex based on 18S rDNA sequences. *Can. J. Bot.* 76: 1495–1506.
- Palevsky, E., Soroker, V., Weintraub, P., Mansour, F., Abo, M.F., Gerson, U., 2001. How species-specific is the phoretic relationship between the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae), and its insect hosts? *Experimental and Applied Acarology* 25, 217-224.
- Pfammatter, J.A., Raffa, K.F., 2015. Do Phoretic Mites Influence the Reproductive Success of *Ips grandicollis* (Coleoptera: Curculionidae)? *Environmental Entomology* 44, 1498-1511.

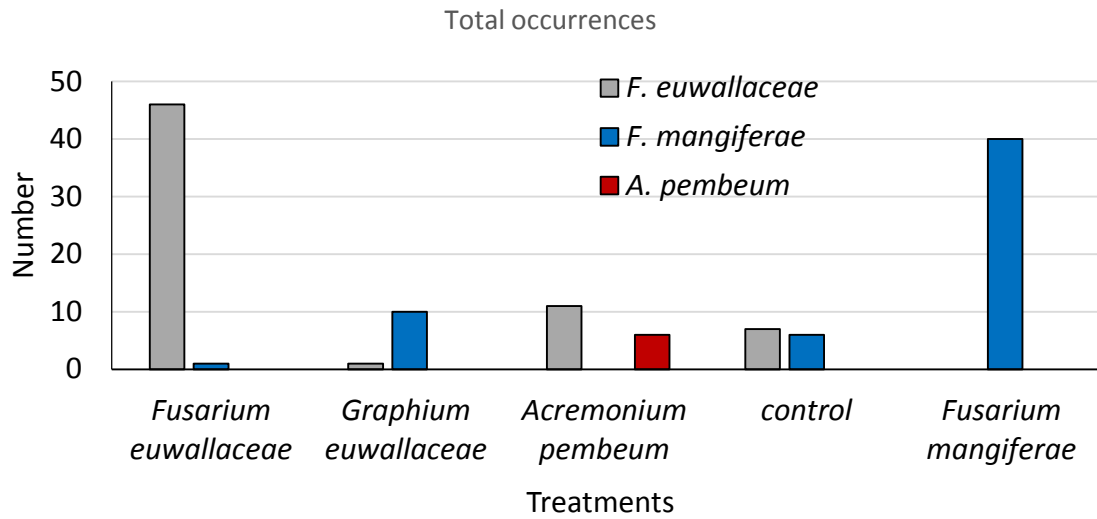
11. נספח איורים לדוח



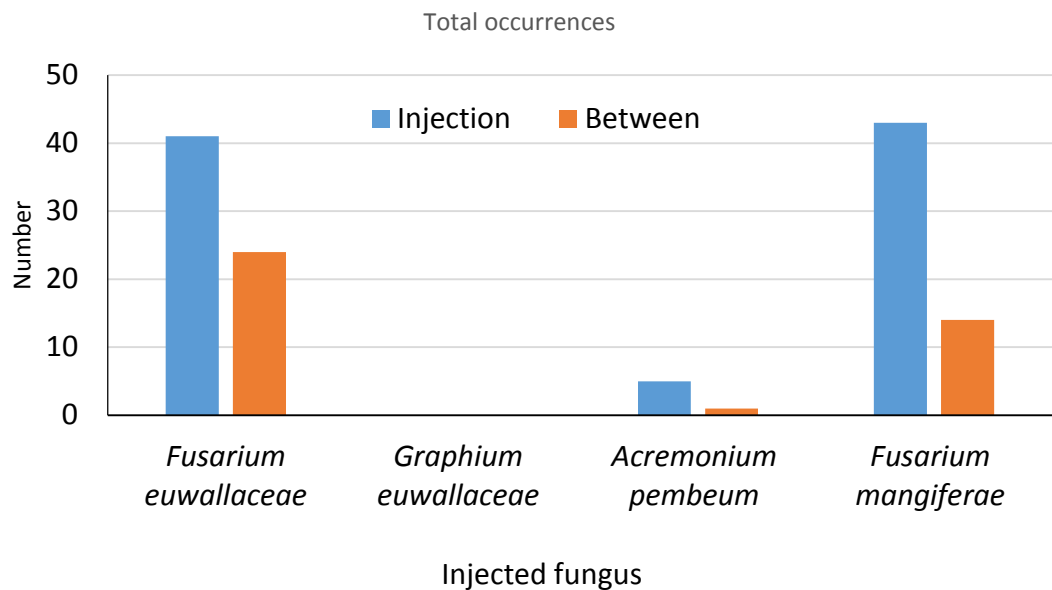
איור 1. תגובת הפרשת הסוכר (פרסיטול) במטע אבוקדו בנחשולים כחודש לאחר ההזרקה (משמאל) וכשמונה חודשים לאחר מכן (מימין)



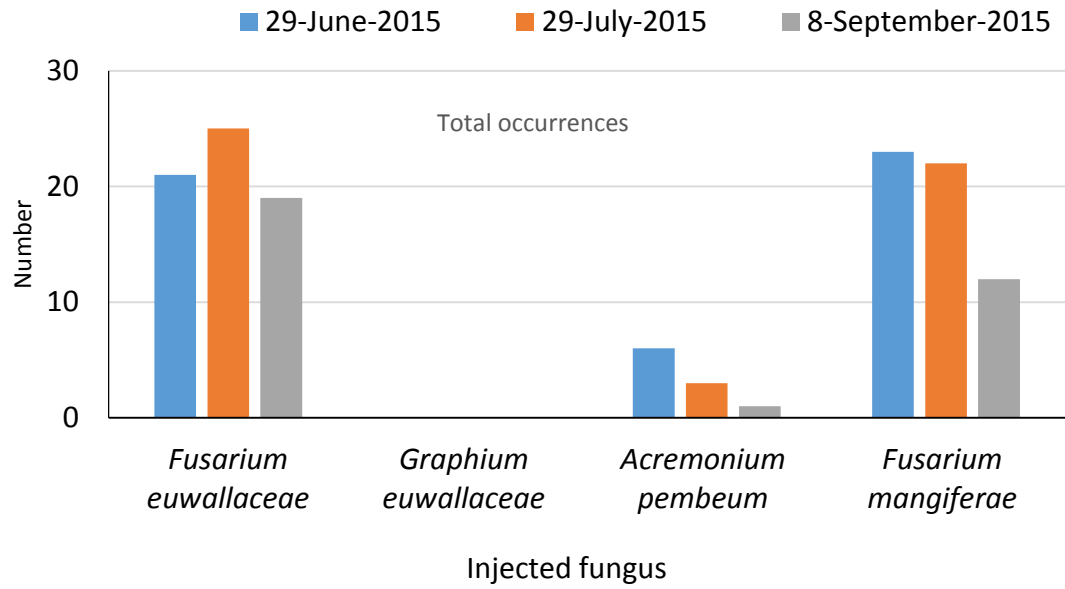
איור 2. תגובת הפרשת הסוכר (פרסיטול) במטע אבוקדו באיל כשבועיים לאחר ההזרקה (משמאל) כשישה חודשים מאוחר יותר (באמצע) וכשמונה חודשים לאחר מכן, (משמאל) (המקרא באיור 1).



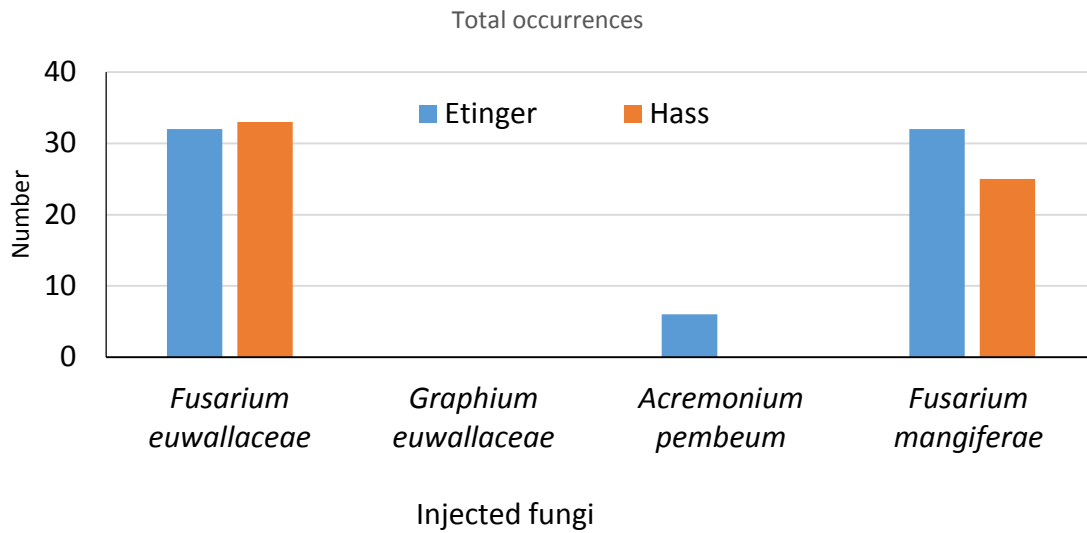
איור 3. סיכום כללי של נוכחות הפטריות בהתאמה לטיפול בשתי החלקות יחדיו במערך הדגימות שנלקחו מהענפים שנכרתו למטרה זו. האיור מציין את כל מיני הפטריות הרלוונטיים שבודדו מנקודות ההזרקה וביניהן. יש לציין בנקודות ההזרקה של הגרפיום ושל המים (הביקורת) נמצאו זיהומים של שני מיני הפוזריום.



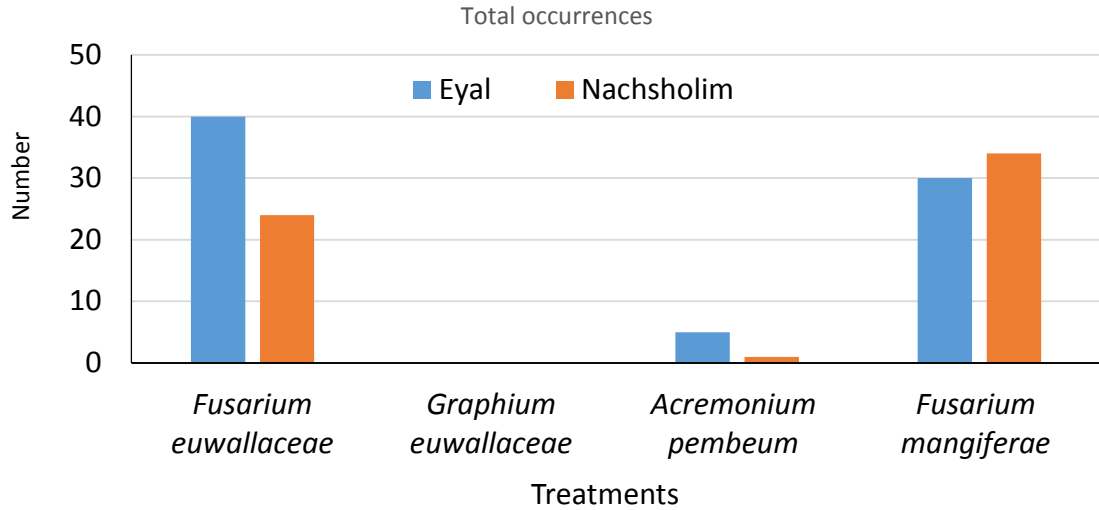
איור 4. השוואת שכיחות הופעת הפטריות במערך הדגימות, שכיחות ההופעה הדגימות בנקודת ההזרקה לעומת נקודת דגימה בין ההזרקות.



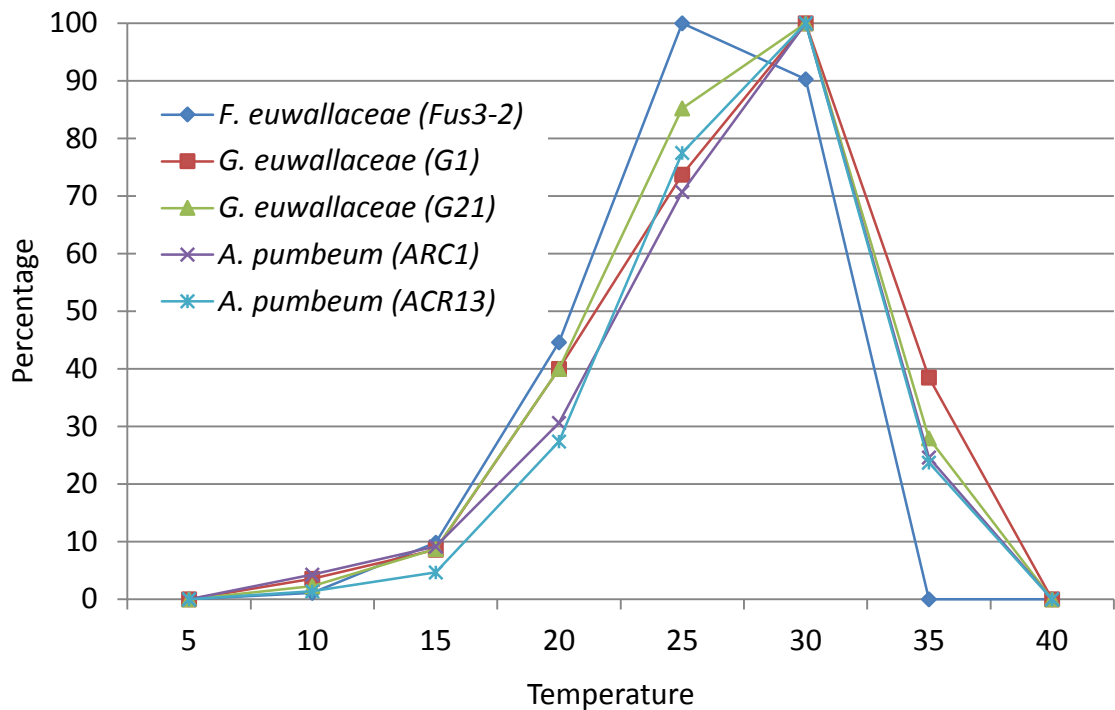
איור 5. השוואת שכיחות המצאות הפטריות במערך הדגימות שבניסוי ההזרקה בהתאמה למועד הדגימה לאחר הזרקה.



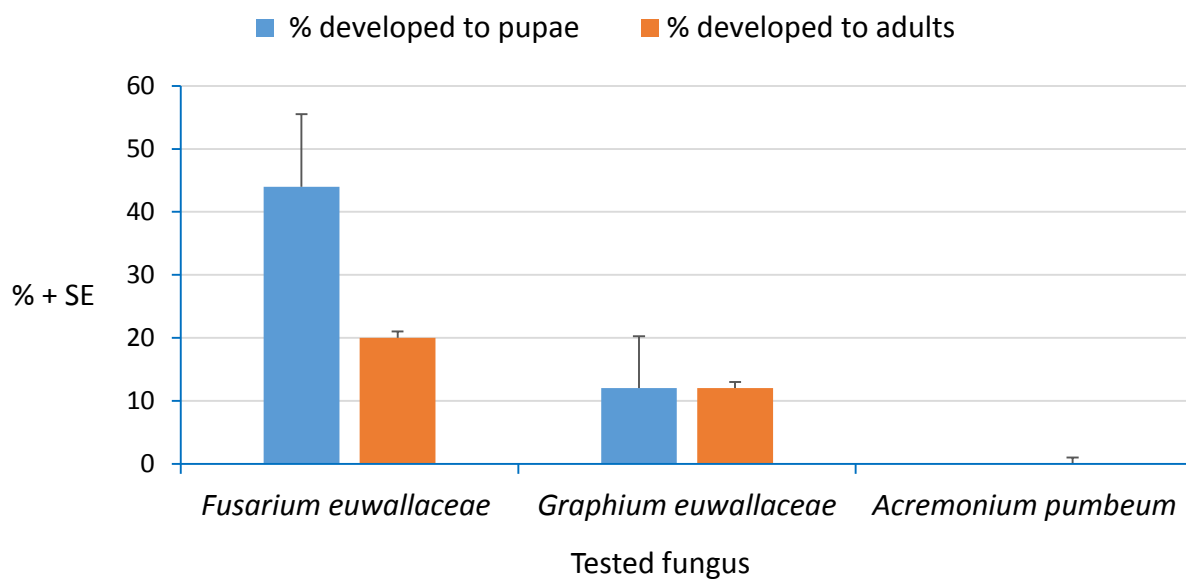
איור 6. השוואת שכיחות הפטריות במערכת הדגימות בניסוי ההזרקה בהתאמה לזן האבוקדו שטופל (האס לעומת אטינגר).



איור 7. השוואת שכיחות גילוי הפטריות שנבחנו בניסוי ההזרקה בהתאמה למטע האבוקדו בו נערך הניסוי (איל לעומת נחשולים).



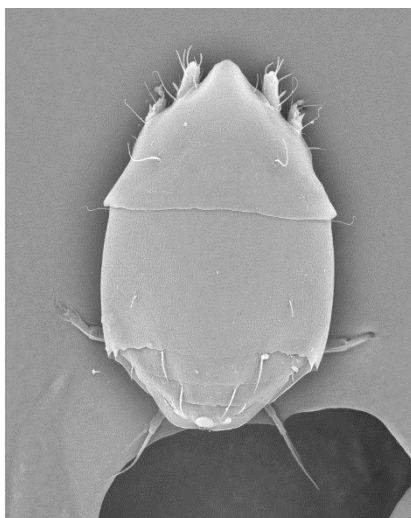
איור 8. השפעת הטמפרטורה על קצב הגדילה היחסי של הפטריות הסימביוטיות המתבטא בשטח הצלחת שכוסה בכל טמפרטורה, שנקבע ביום בו באחת הטמפרטורות שנבדקו כוסה כל השטח הצלחת בתפטיר (הגרפיום והאקרמוניום מיוצגות ע"י שני תבדדים).



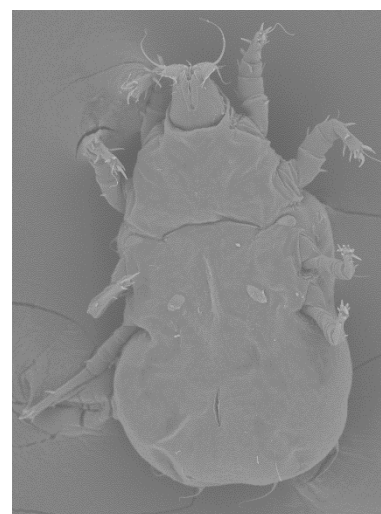
איור 9. בחינת התפתחות זחלים של חיפושית האמברוזיה על כל אחת משלשות הפטריות המלוות את החיפושית בנפרד. ההתפתחות נבדקה בצלחות פטרי עם מצע PDA בה גדלה הפטריה.



Tarsonemus near smithi



Tarsonemus sp.



Histiostoma sp.

איור 10. שלושה מיני אקריות שנמצאו באדר מילני נגוע בחיפושית האמברוזיה.