

הזברה ביולוגית של קרנפית התמר (*Oryctes sp.*) התוקפת תמרים ומדשאות בערבה.

אלי הררי, נור צ'חנובסקי ועדי קליש-שדה - - מרכז וולקני

תקציר

הצגת הבעייה. קרנפיות התמר (*Oryctes sp.*) פוגעות קשה בעצי תמר ומדשאות בערבה. כיום מודברים הדרנים ע"י דיאזינון שהשפעתו על הסביבה רעה. נמצא שהנגיף *Oryctes nudivirius* מסוגל לקטול מינים שונים של החיפושית כשהוא מועבר בין הבוגרים ע"י מגע. הזכרים מפרישים פרומון התקהלות דבר המאפשר העברה מואצת של הווירוס בתוך האוכלוסייה.

מהלך ושיטות העבודה. חיפושיות בוגרות נאספו בחודשים מאי-אוגוסט ממדשאות ותחת תאורת רחוב באזור הערבה. לצורך זיהוי זן הנגיף היעיל ביותר להדבקת החיפושיות נבדקה יעילות ההדבקה של זכרים ונקבות בנגיף ממספר מקורות: (i) נגיף המקור (יובא מארה"ב), (ii) נגיף שהופק מפרטים חולים (לאחר אכילת גזר מוטבל בנגיף המקור בשנת 2005), (iii) נגיף שהופק מפרטים חולים (לאחר הזרקה בנגיף המקור בשנת 2005), (iv) ביקורת (בופר). נבחנה היעילות של מעבר והתפתחות הנגיף בבוגר בשתי שיטות הדבקה (i) הזרקה ישירה להמולימפה דרך דופן הגוף של החיפושית ו-(ii) אכילה של פרוסה גזר שהוטבלה בנגיף. כמו כן נבדק מעבר הנגיף בין הפרטים.

תוצאות עיקריות. לא נמצא הבדל בשיעור ההדבקה או זמן התפתחות המחלה עד למות הפרט הנגוע, בריכוזים שונים של הנגיף שניתן בהזרקה. נמצא כי נקבות, באופן כללי, רגישות יותר לנגיף מהזכרים, וזמן התפתחות המחלה בהן ארוך יותר. נמצא כי נקבות, באופן כללי, רגישות יותר לנגיף מהזכרים, וזמן התפתחות המחלה בהן ארוך יותר. שיעור הנקבות שחלו בנגיף היה גדול יותר מזה של הזכרים בכל הנגיפים שנבדקו. מכאן, ניתן להניח ששימוש בנקבות לפיזור הנגיף באוכלוסייה טבעית יהיה יעיל יותר מאשר פיזור זכרים שהודבקו במחלה. יותר נקבות נדבקו בנגיף המהול מאשר בנגיף המרוכז, אך זמן התפתחות המחלה עד למות החיפושית היה דומה בשני הטיפולים. נקבות שטופלו בנגיף המקור חלו במחלה (33%) לעומת הזכרים שלא חלו בה כלל. נקבות אלו שרדו 3 ימים בלבד. מכאן ניתן להסיק שנגיף המקור עשוי להיות יעיל פחות לצורך פיתוח מגפה שכן זמן המוות של הנקבות מהיר מידי.

מסקנות והמלצות. השימוש בנגיף ליצירת מחלה אפיזואוטית בקרב אוכלוסיית החיפושית הקרנפיות נראה מבטיח שכן הנגיף מועבר בין הפרטים ואף כי חלק מהפרטים מגלה עמידות למחלה נראה כי הנגיף מועבר לנקבות ומהן לביצים.

מבוא

עצי התמר בערבה ובעיקר נכון הדבר למטעים האורגניים, נפגעים באופן קשה על ידי דרני הקרנפית המכרסמים את השורשים ונוברים בתוך הגזע. הכרסום והנבירה פוגעים בצינורות ההובלה של הצמח וגורמים לייבוש התמר. עיקר הפגיעה היא בחוטרים ועצים צעירים אולם גם עצים בוגרים סובלים מהקרנפית עד כדי פחת ניכר בתנובתם ולבסוף למותם.

כיום, בעת הנטיעה של החוטרים מיושם טיפול של טבילת השורשים בתמיסת דיאזינן ופיזור של דיאזינן מגורען לבור הנטיעה. לעצים מיישמים דיאזינן יחד עם המים המושקים, בהגמעה, או ביישום ישיר לקרקע מסביב לגזע העץ. יעילות הטיפול לא נחקרה, ובכל מקרה טיפול זה אינו מתאים למטעים אורגניים.

בהודו, אינדונזיה ומזרח אפריקה מדבירים את המזיק (הקטנת האוכלוסייה ל- 90% מגודלה ההתחלתי) על ידי שימוש בנגיף *Oryctes nudivir* שהוא פתוגן טבעי למספר מינים של קרנפיות. הדבקת החיפושיות נעשית על ידי אכילה של מזון נגוע בחלקיקי הנגיף או הזרקתו ישירות להמולימפה. כתוצאה מכך מתפתחת מחלה שגורמת להפסקת האכילה, הפסקת הטלת הביצים ומוות.

באינדונזיה וטנזניה נמצא שהנגיף *Oryctes nudivir* מסוגל לקטול מינים שונים של החיפושיות הקרנפיות. הנגיף מועבר בין הבוגרים ע"י מגע (הזדווגות, אכילה וכו'). הזכרים במיני הקרנפיות מפרישים פרומון התקהלות המקבץ יחד זכרים ונקבות דבר המאפשר העברה מואצת של הווירוס בתוך האוכלוסייה המקומית. תכונה זו תשמש בעתיד להעברת הנגיף בין הפרטים והקטנת אוכלוסיית המזיק.

מטרות המחקר:

- א. פיתוח שיטה יעילה להדבקת הקרנפית *Oryctes sp* ע"י הנגיף *Oryctes nudivir*.
- ב. בחינת הדינאמיקה של מעבר הנגיף בין פרטים מודבקים לפרטים בריאים.

שיטות וחומרים:

חיפושיות נאספו מאמצע יולי ועד אוגוסט 2006 מאזור הערבה (פארן, לוטם, סמר, אליפז) ליד מקורות אור, והובאו למעבדה במחלקה לאנטומולוגיה, מרכז וולקני. ההיסטוריה הרבייתית, כמו גם גיל החיפושיות שנאספו אינו ידוע. לפיכך, לכל הניסויים הועמדה קבוצת ביקורת לא מטופלת, בה הוחזקו החיפושיות באותם תנאים של חיפושיות הניסוי אך לא נערכה עליהם כל מניפולציה ניסויית אחרת. חיפושיות אלו נבדקו אחת ליומיים, כמו חיפושיות הניסוי וזמן המוות של כל חיפושית נרשם. זמן ההישרדות של קבוצת חיפושיות אלו שימש כבסיס להשוואת השפעת הנגיף על משך ההישרדות של החיפושיות המטופלות.

ניסוי 1- זכרים

- א. בחירת זן נגיף המתאים ליצירת מגיפה לצורך זיהוי זן הנגיף היעיל ביותר להדבקת החיפושיות נבדקה יעילות ההדבקה של זכרים בנגיף ממספר מקורות:

(i) נגיף המקור (יובא מארה"ב), (ii) נגיף שהופק מזכרים חולים (לאחר אכילת גזר מוטבל בנגיף המקור בשנת 2005), (iii) נגיף שהופק מזכרים חולים (לאחר הזרקה בנגיף המקור בשנת 2005), (iv) ביקורת (בופר).

ב. פיתוח שיטה יעילה להדבקת החיפושית הקרנפית בנגיף

לצורך פיזור פרטים נגועים בנגיף מן ההכרח לפתח שיטת הדבקה יעילה בה ניתן יהיה להדביק מספר רב של פרטים בזמן קצר ובעלות נמוכה. לצורך כך נבדקו שתי שיטות להדבקת החיפושיות בנגיף *Oryctes nudivirus* מהמקורות השונים לעיל (ניסוי 1. א).

(i) הזרקה ישירה להמולימפה דרך דופן הגוף של החיפושית ו- (ii) אכילה של פרוסה גזר שהוטבלה בנגיף.

ג. בחינת המעבר של הנגיף מפרטים חולים לבריאים.

בשני הניסויים לעיל (1.א. ו- 1.ב.), כיומיים לאחר הטיפול צורפה נקבה בריאה לכל זכר כדי לבחון את מעבר הנגיף בין הפרטים. כל יומיים נבדקו הפרטים. כל פרט מת הוכנס למבחנה נפרדת ולהקפאה ב-80 מעלות צלסיוס עד לבדיקת נוכחות הנגיף כגורם המוות באמצעות PCR.

ניסוי 2 - נקבות

א. בחירת זן נגיף המתאים ליצירת מגיפה.

נבחנה מידת הוירולנטיות של נגיף שנלקח מפרטים שחלו בנגיף בשנת הניסוי הקודמת 2005. (i) נגיף מרוכז, (ii) נגיף מהול 1:10 (iii) נגיף המקור (iv) ביקורת (בופר).

ב. פיתוח שיטה יעילה להדבקת החיפושית הקרנפית ע"י הנגיף.

הנקבות נלקחו להדבקה ראשונית על ידי הנגיף: (i) הזרקה ישירה לגוף החיפושית להמולימפה ו- (ii) אכילה של פרוסה גזר שהוטבלה בנגיף.

ג. בחינת המעבר של הנגיף בין פרטים חולים לפרטים בריאים.

כיומיים לאחר הטיפול, צורפו זכר או נקבה לכל נקבה מודבקת כדי לבחון את מעבר הנגיף בין הפרטים. כל זוג חיפושיות הוכנס לצנצנת המכילה אדמת כבול לחה מעורבת בחול ובתוספת גזר נקי.

זמן ההישרדות של החיפושיות נבדק אחת ליומיים. כל פרט מת הוכנס למבחנה נפרדת ולהקפאה ב-80 מעלות צלסיוס. בדיקת נוכחות הנגיף בפרטים המודבקים ובפרטים המצורפים אליהם נעשתה על ידי

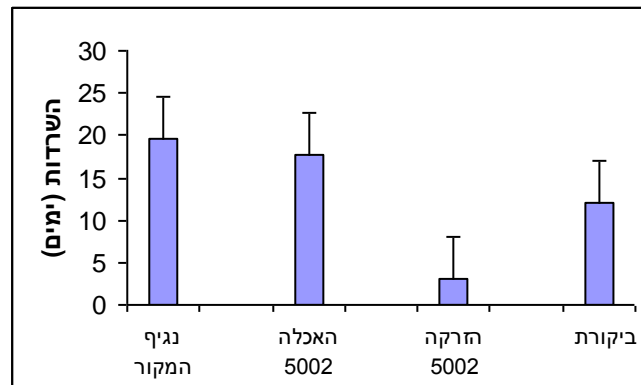
PCR עם תום הניסוי.

תוצאות

ניסוי 1 - זכרים

א. בחירת זן נגיף המתאים ליצירת מגיפה.

זכרים שהודבקו בנגיף המקור (i.א) לא פתחו סימני מחלה ולא נמצא בהם סימנים לנגיף במבחני PCR, כמו גם זכרים שהודבקו בנגיף שניתן בהאכלה בשנת 2005 (ii.א). הראשונים שרדו (mean±std) כ - 19.5 ± 11.9 ימים והאחרונים כ- 17.7 ± 12.5 ימים. מאידך, מתוך קבוצת הזכרים שטופלו בנגיף שהופק מזכרים חולים לאחר הזרקה (iii.א) נדבקו במחלה כ- 29% מהזכרים. זכרים אלו שרדו 3 ± 0 ימים לאחר ההדבקה בהשוואה לפרטים שלא חלו, מאותה קבוצה, ששרדו בממוצע 6.0 ± 4.8 ימים. בקבוצת הביקורת- פרטים שטופלו בכופר, שרדו הזכרים 12.1 ± 5.4 ימים (איור 1).



איור 1. השפעת מקור הנגיף על הישרדות הזכרים (ממוצע + סטיית תקן).

ב. פיתוח שיטה יעילה להדבקה החיפושית הקרנפית ע"י הנגיף.

כ- 29% מכלל הזכרים שקיבלו את הנגיף בהזרקה נמצא הנגיף בבדיקת PCR בעוד בזכרים שאכלו פרוסת גזר טבולה בנגיף, לא נמצאו סימנים לנגיף בבדיקת PCR.

ג. בחירת המעבר של הנגיף בין פרטים חולים לפרטים בריאים.

בשני מיקרים נמצא כי בת הזוג של זכרים מודבקים נדבקו גם הן בנגיף. נקבות אלו שרדו 8 ימים. באותו ניסוי, הזכרים הבריאים שלא חלו, שרדו בממוצע 8 ימים.

ניסוי 2- נקבות

א. בחירת זן נגיף המתאים ליצירת מגיפה.

כ- 31.25% מהנקבות שהודבקו בנגיף המרוכז חלו. נקבות אלו שרדו בממוצע 14.9 ימים, בעוד שב-

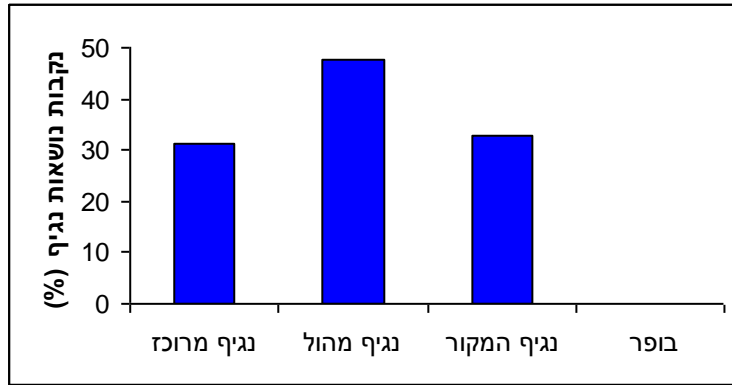
47.6% מהנקבות שהודבקו בנגיף המהול נמצא הנגיף במבחן PCR. נקבות אלו שרדו 14.7 ימים.

הנקבות שלא חלו בשתי קבוצות הטיפול שרדו 12.6 ו- 19.9 ימים, בהתאמה. אחוז הנקבות שפיתחו

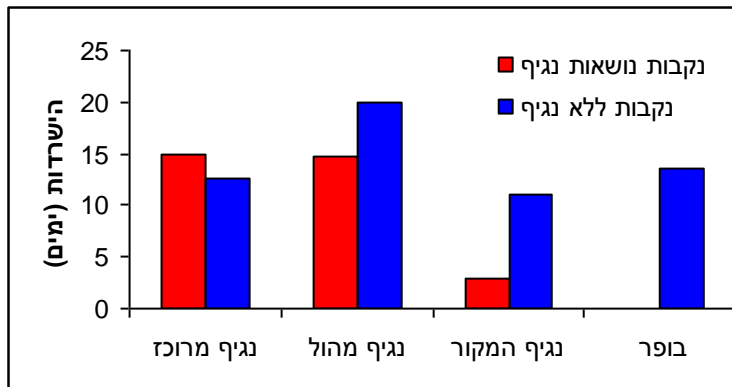
סימני מחלה לאחר הדבקה בנגיף המקור היה 33% אך נקבות אלו שרדו רק 3 ± 0 ימים. הנקבות שלא

נדבקו בקבוצת ניסוי זו שרדו כ- 11 ± 0 ימים בממוצע. בקבוצת הביקורת, לאחר טיפול בכופר בלבד,

שרדו הנקבות 13.5 ± 8.25 ימים בממוצע.



איור 2. השפעת מקור הנגיף על אחוז הנקבות שנמצא בהן הנגיף בבדיקת PCR

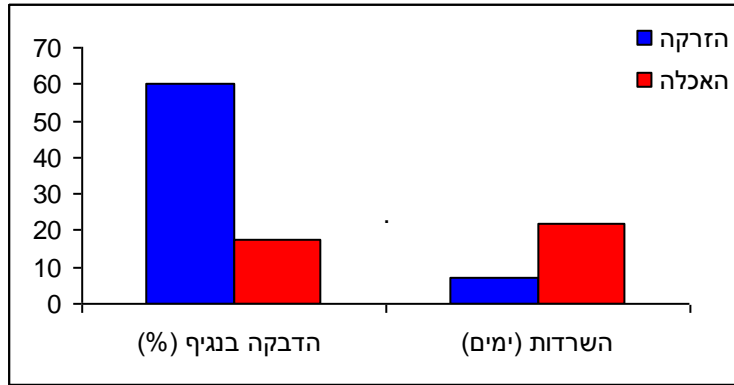


איור 3. השפעת מקור הנגיף על הישרדות הנקבות (ימים).

ב. פיתוח שיטה יעילה להדבקת החיפושית הקרנפית ע"י הנגיף.

בניסויי ההזרקה, אחוז הנקבות שנמצא בהן הנגיף היה גבוה מ-60% כאשר בממוצע נקבות אלו שרדו כ- 7.32 ± 5.58 ימים. מתוך הנקבות הנגועות, נמצאו 4 פרטים עם ביצים נגועות בנגיף (האמהות של ביצים אלו שרדו כ- 12 ימים). הנקבות שלא נדבקו בנגיף, בקבוצת טיפול זו, שרדו כ- 14 ימים. בניסויי האכלה של הנקבות, שיעורי ההדבקה היו 22% כאשר השתמשנו בנגיף מרוכז ו- 13% כאשר השתמשנו בנגיף מהול (17.5% בממוצע לשני הטיפולים). נקבות אלו שרדו בממוצע 21.67 ± 4.04 ימים.

פרטים שהואכלו בנגיף אבל לא חלו שרדו בממוצע 19.31 ± 14.37 ימים בקבוצת הנגיף המהול. בנוסף, נמצא הנגיף בביצים של שתי חיפושיות שהן עצמן, לא נמצאו נגועות במבחן PCR. ממוצע ההישרדות של נקבות אלו היה 21 ימים.



איור 4. השפעת שיטת ההדבקה על ההישרדות של הנקבות (ימים) ואחוז הפרטים שנמצא בהם הנגיף במבחן PCR.

ג. בחינת המעבר של הנגיף בין פרטים חולים לפרטים בריאים.

ב- 6 זכרים (25% מהזכרים שנבדקו) ששהו עם נקבות נגועות בנגיף לאחר הזרקה נמצא הנגיף במבחן PCR. זכרים אלו שרדו בממוצע 12 ימים בעוד זכרים (בני זוג) שלא נדבקו בקבוצה זו שרדו בממוצע 16 ימים. בזכרים שהם בני זוג של נקבות שהודבקו בנגיף המקור לא נמצא הנגיף במבחן PCR אך זכרים אלו שרדו רק 6 ימים. הזכרים (בני הזוג) בקבוצת הביקורת של טיפול זה (טיפול בבופר) שרדו 14 ימים.

בקבוצת הביקורת, בה נבדק זמן ההישרדות של פרטים שנלקחו מהשדה ושהו בתנאי הניסוי ללא מניפולציה נוספת, נמצא כי זמן ההישרדות הממוצע של זכרים ונקבות דומה (נקבות: 33.5 ± 11.3 , זכרים: 33.7 ± 12.1 ימים). נתון זה גבוה מזמן ההישרדות של פרטים שלא הודבקו במחלה בכל קבוצות הטיפול, כמו גם בקבוצות הביקורת של כל טיפול. דבר זה מרמז על כך שהטיפול עצמו משפיע על תוחלת החיים של הפרטים בניסוי.

דיון

כל החיפושיות שהשתתפו בניסוי נאספו ממתע התמרים או מסביבות אורבאניות ולכן גידלן או מצבן הרבייתי אינו ידוע. הנקבות והזכרים במין זה מזדווגים מספר פעמים בחייהם ולכן הנחת היסוד של העבודה היא כי במשך הניסוי התרחשו הזדווגויות בין הפרטים שאפשרו את מעבר הנגיף בין הפרטים. מאידך, ייתכן כי הנגיף מועבר בין הפרטים גם דרך מגע פיזי אחר או דרך הפרשות. מתוצאות הניסוי עולה כי לא נמצא הבדל בשיעור ההדבקה או זמן התפתחות המחלה עד למות הפרט הנגוע, בריכוזים שונים של הנגיף שניתן בהזרקה. נמצא כי נקבות, באופן כללי, רגישות יותר לנגיף מהזכרים, וזמן התפתחות המחלה בהן ארוך יותר. שיעור הנקבות שחלו בנגיף היה גדול יותר של הזכרים בכל הנגיפים שנבדקו. מכאן, ניתן להניח ששימוש בנקבות לפיזור הנגיף באוכלוסיה טבעית יהיה יעיל יותר מאשר פיזור זכרים שהודבקו במחלה.

יותר נקבות נדבקו בנגיף המהול מאשר בנגיף המרוכז, אך זמן התפתחות המחלה עד למות החיפושית היה דומה בשני הטיפולים (כ- 15 ימים). נקבות שטופלו בנגיף המקור חלו במחלה (33%) לעומת הזכרים שלא חלו בה כלל. נקבות אלו שרדו 3 ימים בלבד. מכאן ניתן להסיק שנגיף המקור עשוי להיות יעיל פחות לצורך פיתוח מגפה שכן זמן המוות של הנקבות מהיר מידי.

יותר נקבות חלו לאחר הזרקה מאשר לאחר האכלה בנגיף, אך משך התפתחות המחלה עד למות החיפושית היה ארוך יותר לאחר טיפולי האכלה. טיפולי האכלה יעילים יותר כלכלית ויהיו מעשיים יותר בגידול המוני של נקבות לפני פיזורן בשדה. נמצא כי נקבות שלא נמצאו בהם סימנים של הנגיף, העבירו את הנגיף לביצים. מכאן שהסכנה בפיזור נקבות בשדה, שחלקן אינן נושאות את הנגיף עשוי בכל זאת להיות יעיל בהפחתת אוכלוסיית המזיק. יתר על כן, כ- 25% מהזכרים, בני הזוג של החיפושיות הנגועות בנגיף, נמצאו כנושאי המחלה. זכרים אלו עשויים להעביר את הנגיף לנקבות אחרות באוכלוסייה ולגרומם להמשך הדבקה באוכלוסייה הטבעית.

בהשוואת זמן ההישרדות של החיפושיות שלא הודבקו בנגיף, מכל קבוצות הטיפול והביקורת, לזמן ההישרדות של החיפושיות שנאספו בשדה אך לא עברו מניפולציה ניסויית במעבדה, נראה כי חיפושיות הניסוי מתות מהר יותר. מכאן ניתן להסיק שהמניפולציה הניסויית עצמה גורמת אף היא לתמותת החרקים. ייתכן, אם כן, שהתמותה כתוצאה מהדבקות בנגיף עצמו עשויה להיות איטית יותר לאחר שיפור הטכניקה המחקרית בה מועבר הנגיף אל החיפושית.

לסיכום – יש להמשיך ולחקור את אופני ההדבקה היעילים ביותר של הנגיף *Oryctes nudivirus*. כדאי להתמקד בהדבקה של נקבות שכן הן הראו שיעור ההדבקה גבוה יותר מזה של הזכרים, או לחלופין, לבדוק שיטה אחרת להדבקה הזכרים. לאחר קבלת אחוזי נגיעות גבוהים, נוכל לבדוק את אופני הדבקה הפרטים הנוספים באוכלוסייה (ע"י פרטים חולים).