

היבטים בביולוגיה הרבייתית של קמחית הברוש

Planococcus vovae Nasonov (Hemiptera: Pseudococcidae)

עבודת-גמר מוגשת לפקולטה למדעי החקלאות, המזון ואיכות הסביבה
של האוניברסיטה העברית בירושלים לשם קבלת תואר 'מוסמך למדעי החקלאות'

מאת

טליה סמני

דצמבר 2007

טבת תשס"ח

עבודה זו נעשתה בהדרכתו של

פרופ' צבי מנדל

תודות

לפרופ' צבי מנדל על ההדרכה והסבלנות
לדר' אלכס פרוטסוב על העזרה בכל עת
לפביאן עשהאל ז"ל שלימדה אותי לעבוד עם קמחית הברוש
לד"ר ענת זאדה שליוותה את העבודה על הפרומון
לד"ר עזרא דונקלבלום שתתם מנסיונו ועצותיו
ולהוריי אסתר וששון סמני על תמיכתם

תקציר

קמחית הברוש (*Planococcus vovae* Nasonov (Hemiptera: Pseudococcidae) מתפתחת על מספר פונדקאים מצומצם, כולם ממשפחת הברושיים. באקלים ים-תיכוני מתקיימים 2-4 דורות בשנה ובאקלים ממוזג דור אחד הנמשך באביב-קיץ. קמחית הברוש אינה גורמת לנזק משמעותי ביערות ברוש, אך לעתים עולה צפיפות האוכלוסייה מסביב לפרדסים כתוצאה מפגיעה באויבים טבעיים לאחר ריסוס הפרדסים. נקבת קמחית הברוש היא נאוטנית, הזכר הבוגר קטן ובעל זוג כנפיים. מוכרים פרמוני מין של הנקבה במספר מינים של כנימות קמחיות. אפשרות קיומו של פרומון מין של קמחית הברוש נבחנת בעבודה זו, בנוסף לתצפיות וניסויי משך התפתחות, פוריות, התנהגות המינית והתאמת פונדקאים שונים לקמחית. העבודה עוסקת בשלושה נושאים עיקריים:

א. משך התפתחות ומהלך התפתחות של פרטים. נצפה מהלך גיחת הזכרים, עקומת גדילה של הנקבה, קשר בין משקל ופוריות, וקשר בין גיל הזדווגות להטלה.

ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש. נבדקים מיני ברוש וערער, תויה, קליטריס, טטרקליניס, וכן סקוויה וטכסודיום, והצלחת אוכלוסיית הקמחית בפונדקאים נמדדת בפרמטרים של משך התפתחות, הישרדות ופוריות.

ג. שאלת קיומו של פרומון מין. מיצוי כימי של אווירת נקבות במערכת איסוף נדיפים, משמש במבחני משיכה של זכרים בזירת צלחת פטרי. נושא נוסף שנבחן היה תהליך התארכות הגדילים האנליים של הזכר הבוגר ותפקידם בהתנהגותו המינית.

המחקר התבסס על אוכלוסיות קמחית שגודלו על שתילי ברוש גדול פירות, שעליו האוכלוסייה מתפתחת היטב ומתרבה במהירות. ערכנו אכלוסים סינכרוניים כדי למדוד את ערכי משך זמן התפתחות תוך ציון מועדי נשל, בגרות מינית, התגלמות וגיחה של זכרים בוגרים.

את מבחני הפונדקאים הברושיים ערכנו ע"י אכלוס של שתילי פונדקאים בזחלנים ונקבות בוגרות, ומדדנו פרמטרים של הצלחה והתפתחות – משך התפתחות, פוריות ואחוזי הישרדות. לבסוף שקללנו את התוצאות על-פי מדד Host Suitability Index.

הפקנו מיצוי פרומון מין וערכנו מבחני משיכה של זכרים לפרומון. נקבות בתולות התקבלו על-ידי הפרדתן מזכרים לפני הבגרות המינית. השתמשנו בנקבות בתולות לאיסוף פרומון במערכת זרימת אויר, ובזכרים למבחני משיכה לפרומון בזירה בצלחת פטרי. מדדנו את התארכות זוג הגדילים של הזכר, את הקשר לגיל הזכר, תגובתו לפרומון מין ויכולתו לאתר ולהזדווג עם נקבה.

נמצא שמשך ההתפתחות של קמחית הברוש ארוך יותר מזה של קמחיות אחרות מסוג *Planococcus* השכיחות בישראל. התגלמת תבנית של גיחת זכרים רצופה ומתואמת למועד הבגרות המינית של הנקבה. נמצא מתאם בין משקל ופוריות של הנקבה. נמצא מתאם הפוך בין מועד ההזדווגות וההטלה – כלומר נקבות שהזדווגו בגיל מוקדם הטילו שבועיים במוצא לאחר מכן, בעוד שנקבות שהזדווגו בגיל מאוחר הטילו לאחר 2-4 ימים, ובסופו של דבר שתי הקבוצות הטילו בערך באותו גיל.

שלושה מבין הפונדקאים הברושיים נמצאו כפונדקאים נוחים במיוחד לקמחית הברוש – ערער סיני, ערער וירג'יני וברוש גדול פירות. ברוש מצוי גילה מידה רבה יותר של עמידות, ושאר הפונדקאים גילו עמידות הגורמת לתמותה גבוהה ופגיעה בתהליכי התפתחות של הקמחית.

אישרנו את קיומו של פרומון מין אותו מפיצה הנקבה למשיכת הזכר. השתמשנו במיצוי הפרומון הגולמי שקיבלנו לניסויים שונים שבדקו את התנהגות ההזדווגות של הזכר. נמצא קשר בין אורך גדילי של הזכר, המתארכים משעת הגיחה, ובין רמת משיכתו לפרומון מין ויכולתו להזדווג עם נקבה. העלינו אפשרות, שאורך הגדיל משמעותי ליכולת התעופה. אנו משערים שיכולתו של הזכר להגיע לידי הזדווגות עם נקבה הולכת ונבנית, במקביל ליכולת נוספות שהוא מפתח בהדרגה בימי בגרותו .

תוכן

9	מבוא כללי
10	מטרות המחקר
11	א. מבוא
11	א. משך התפתחות ופוריות
11	עונתיות
11	משך התפתחות זחלים
11	משך חי זכר בוגר
11	מהלך גיחה של הזכרים
12	פוריות
12	עקומת גדילה של הנקבה
12	מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה
12	קשר בין מועד הזדווגות והטלה
13	המטרות בחלק זה של המחקר
13	ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש
13	משפחת הברושיים Cupressaceae וקמחית הברוש
16	שיטות לקביעת סוגי עמידות של צמחים
17	הברושיים וכנימות אחרות
17	התאמת פונדקאים לכנימות מגן
18	אינטראקציות בין חרק וצמח פונדקאי
19	איתור צמחים עמידים לחרקים
19	מנגנוני עמידות
19	המטרות בחלק זה של המחקר
20	ג. שאלת קיומו של פרומון מין נקבי ותגובת הזכר אליו
20	פרומון מין בכנימות מגן
21	סינרגיזם של פרומון ונדיפי הצמח
21	מחזוריות יומית בתעופת הזכר ובשחרור פרומון מין
22	שחרור פרומון לאחר הזדווגות
22	התארכות גדילי שעווה כמדד לגיל הזכר
22	שימוש בפרומוני מין
23	המטרות בחלק זה של המחקר
24	א. שיטות וחומרים
24	א. משך התפתחות ופוריות
24	ריבוי אוכלוסיית הקמחית
24	קבלת אוכלוסיה בגיל אחיד
24	קביעת משך הטלה ובקיעת זחלנים
24	קביעת משך זמן בין נשל לנשל
24	בחינת משך חי זכר בוגר
24	קבלת נקבות בתולות ע"י הפרדת נקבות וזכרים

25	בחינת עקומת גדילה של הנקבה
25	בחינת המתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה
25	לימוד הקשר בין מועד הזדווגות והטלה
25	ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש
26	קביעת משך התפתחות של קמחית הברוש על הפונדקאים שנבחרו
26	הישרדות ומשקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה
26	תוספת משקל של נקבות בוגרות
26	אינדקס להתאמת פונדקאים
28	ג. שאלת קיומו של פרומון מין נקבי ותגובת הזכר אליו
28	בדיקת הימצאות פרומון מין
28	ריבוי אוכלוסיית הקמחית
28	קבלת נקבות בתולות ע"י הפרדת נקבות וזכרים לפני בגרות מינית
29	מערכת לאיסוף נדיפים
29	מבחן התנהגות לזכרים
30	האם יש סינרגיזם של פרומון המין ונדיפי הצמח הפונדקאי
30	התארכות גדילי שעווה של הזכר
30	גיל הזכר ותגובה לפרומון המין
30	גיל הזכר ופעילות מינית

31. תוצאות

31	א. משך התפתחות ופוריות
31	משך התפתחות
31	משך התפתחות הזחלים
32	משך חיי זכר בוגר
32	מהלך גיחה של זכרים משתי אוכלוסיות
33	עקומת גדילה של הנקבה
33	מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה
34	קשר בין מועד הזדווגות והטלה
35	ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש
35	משך התפתחות מבקיעה עד הטלות ראשונות באוכלוסייה
36	אחוז הישרדות של נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה
36	משקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה
37	תוספת משקל של נקבות בוגרות שהועברו לפונדקאי למשך 10 ימים
37	אחוז הישרדות של נקבות בוגרות שהועברו לפונדקאי למשך 10 ימים
38	אינדקס להתאמת פונדקאים
39	ג. שאלת קיומו של פרומון מין נקבי ותגובת הזכר אליו
39	שאלת קיומו של פרומון המין
40	האם קיים סינרגיזם של פרומון ונדיפי הצמח
41	התארכות גדילי שעווה
41	גיל הזכר ותגובה לפרומון המין
41	גיל הזכר ופעילות מינית

IV. דיון

42	
42	א. משך התפתחות ופוריות
42	משך התפתחות הזחלים
42	משך חי זכר בוגר
42	מהלך גיחה של הזכרים
42	עקומת גדילה של הנקבה
43	מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה
43	קשר בין מועד הזדווגות להטלה
43	ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש
44	אחוז הישרדות ותוספת משקל 35 ימים לאחר הבקיעה
44	משקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה
44	תוספת משקל של נקבות בוגרות שהועברו לפונדקאי למשך 10 ימים
45	אינדקס HSI
45	ג. שאלת קיומו של פרומון מין נקבי ותגובת הזכר אליו
45	שאלת קיומו של פרומון מין
45	סינרגיזם של פרומון המין ונדיפי הצמח הפונדקאי
46	גדילי שעווה כמדד לגיל הזכר
46	גיל הזכר ותגובה לפרומון
46	גיל הזכר ופעילות מינית
48	רשימת ספרות

מבוא כללי

קמחיות מהסוג *Planococcus* קרובות מאוד מורפולוגית זו לזו, ועד אמצע שנות ה-70 רווח בלבול בין המינים השונים. קמחית הברוש *Planococcus vovae* (Nassonov) (Hemiptera: Pseudococcidae) (תמונה 1) זוהתה בטעות כקמחית ההדר *Planococcus citri* וכקמחית הגפן *Planococcus ficus*, שניזונות מפונדקאים אחרים. לקמחית ההדר טווח רחב של פונדקאים בעוד שקמחית הברוש תימצא ותתפתח על מיני ברושיים (Cupresaceae); ובניגוד לקמחיות אלה, אין היא מתפתחת במעבדה על פקעות מונבטות של תפוחי אדמה (בן-דב 1987).

התפתחות והפצה



כמו במיני קמחיות אחרים, הנקבה נאוטנית - דמויית זחל, מכוסה בהפרשות שעווה וחסרת כנפיים; הזכר קטן בהרבה מהנקבה, חסר גפי-פה ובעל זוג כנפיים. מספר דרגות הזחלים, בדומה לכנימות קמחיות אחרות (Walton and Gray 1954; Bodenheimer 1951; Pringle 2005; Ito 1938; Mani 1989): לנקבה 3 דרגות זחל בטרם הגיעה לבגרות, ולזכר 2 דרגות זחל, ושלבי טרום-גולם וגולם לפני גיחה.

תמונה 1.

נקבה בוגרת לקראת הטלה (מימין) וזכר בוגר (משמאל)

בישראל קמחית הברוש מקיימת 3-4 דורות בשנה, משך דור 32-39 ימים (Mendel and Blumberg)

(2002). במרכז אירופה 2 דורות בשנה על מיני ערער, כשעונות הרבייה הן מאי-יוני וספטמבר-אוקטובר. את החורף עוברת האוכלוסייה בדרגת זחל ראשון ולעתים שני, כשהזחלים חבויים מתחת לקשקשי קליפת העץ. במרץ מתחדשת ההתפתחות ומופיעים זחלים בדרגה שלישית (Francardi and Covassi 1992), והם עוברים למחטים וענפונים צעירים. באוקראינה ויוגוסלביה מקיימת הקמחית דור אחד בשנה באביב-קיץ, על מיני ערער (Kozarzhevskaya 1992). בחדרי גידול מתקיימים 6-8 דורות בשנה (Kosztarab and Kozar 1988). ההפצה של קמחית הברוש דומה לזו של מיני קמחיות אחרים ונעשית ע"י הזחלים: בדרך פסיבית ע"י הרוח שנושאת אותם למרחק מטרים אחדים או אף מספר קילומטרים, וכן, לעתים, נדידה אקטיבית בעזרת הרגלים והמחושים המפותחים שלהם (Gullan and Kosztarab 1997). בדרך כלל הם לא מתרחקים מהפונדקאי ומשק הביצים שבו בקעו, ולכן פיזור האוכלוסייה מקבצי (אגרגטיבי) (Nestel et al 1995).

חשיבות כלכלית ואויבים טבעיים

ביערות הברוש הטבעיים והנטועים במזרח הקרוב מתקיימת אוכלוסיית הכנימה בצפיפות נמוכה ללא נזק משמעותי. אך לעתים מוצאים אוכלוסיות צפופות בחגורות שוברי-רוח של ברוש מצוי *Cupressus sempervirens* מסביב לפרדסי הדרים. הקמחית בעצים אלה תורמת, קרוב לודאי, לפאונת האויבים הטבעיים שבתוך הפרדס, המשותפים לה ולקמחית ההדר (Mendel & Blumberg, 2002). רסס תכשירי הדברה

בפרדסים בישראל הגיע אל הברושים שמסביב, פגע באויבים הטבעיים, וכך גרם לעליה בצפיפות אוכלוסיות הקמחית (Cox and Ben-Dov 1986).

לקמחית הברוש צרעה טפילית ספציפית – *Leptomastix dactylopii* (Howard), וכן פרזיטואיד משותף לה ולקמחית ההדר וקמחית הגפן: *Anagyrus dactylopii* (Howard). הטורף העיקרי בישראל היא המושית *Cryptolaemus montrouzieri* (Mendel and Blumberg 2002).

רבייה ופרומון מין

הרבייה של רוב מיני משפחת הכנימות הקמחיות היא מינית (James 1937, Gullan and Kosztarab 1997). אך ישנם מינים רבים פרתנוגנטיים. בעבר בשל העובדה שבעונות מסוימות לא נמצאו זכרים היו חוקרים שטענו שמתקיימת רבייה פרתנוגנטית (Lloyd 1952, Singh and Ghosh 1970), ולעומתם חוקרים אחרים לא מצאו עדות כזאת במינים שנחקרו (Gray 1954, Tashiro and Moffit 1968, Bodenheimer 1951). השכיחות של פרתנוגנזה בעל-משפחת כנימות המגן - Coccoidea מוסברת בכך שלעתים הזכר קצר-הימים והעדין נעדר, והנקבה הנייחת יחסית או לגמרי, לא יכולה לחפש אותו (Gullan and Kosztarab 1997). באוכלוסייה של קמחית הברוש נצפה פעם אחת דור שבו הנקבות הטילו פחות ביצים מהרגיל בתקופת אוגוסט-ספטמבר בשדה ולא נצפו זכרים, והחוקרים הניחו בטעות שקיים דור פרתנוגנטי (Francardi and Covassi 1992). בשלושה מינים אחרים של הסוג *Planococcus* זוהה פרומון המין של הנקבה. בקמחית ההדר *P. citri* (Bierl- Leonhardt et al 1981a), בקמחית הגפן *P. ficus* (Hinkens et al 2001), ובקמחית הפסיפולורה *P. minor* (Ho et al 2007).

מטרות המחקר

להאיר היבטים לא מוכרים בביולוגיה של קמחית הברוש בשלושה תחומים:

- א. מהלך ההתפתחות של פרטים, מתאם בין משקל הנקבות ופוריותן, והקשר בין מועדי ההזדווגות והטלה.
- ב. השוואת ההתאמה של פונדקאים ברושיים שונים להתפתחות קמחית הברוש.
- ג. האם קיים פרומון מין בקמחית הברוש, ובירור גורמים המשפיעים על התגובה של הזכר לפרומון המין.

א. מבוא

א. משך התפתחות ופוריות

עונתיות

בכנימות קמחיות, מספר הדורות בשנה משתנה מדור אחד באזורים קרים ועד ל-8-6 דורות באזורים טרופיים. קמחית ההדר לדוגמא, מקיימת בארץ באזור החוף 6 דורות, בהר 4-5 דורות, ובבקעת הירדן 9 דורות בשנה (אבידב תשכ"א).

מינים של קמחיות עוברים את החורף בדרגות שונות – כביצים, כזחל בדרגה N_1 , N_2 ואף כנקבה בוגרת (Kosztarab and Kozar 1988). לקמחית *Pseudococcus comstocki* בקליפורניה 3 דורות בשנה, ואת החורף עוברות הביצים שהוטלו בספטמבר ובוקעות במרץ (Driggers and Hansens 1943). אוכלוסיות *Pl. ficus* עוברות את החורף בעיקר כנקבות בוגרות שאינן מטילות (Walton et al 2006, Berlinger 1977). ב- *Ps. maritimus* הזחלנים חורפים בתוך שקי הביצים מתחת לקשקשי קליפת העץ, ובסוף החורף נודדים אל ניצני הפירות (Hill and Burts 1982). גם קמחית הברוש חורפת בדרגת הזחלנים ובמרץ מופיעות שתי הדרגות הראשונות על ענפים צעירים (Mendel and Blumberg 2002).

משך התפתחות זחלים

בתנאי מעבדה טבעיים בצפון איטליה, בקיעת הביצים מתרחשת 21-14 ימים לאחר הטלת הביצים. דרגת הזחלן הראשונה נמשכת 8 ימים, והשנייה 9 ימים (Francardi and Covassi 1992). במינים אחרים של הסוג *Planococcus* מופיעים הבדלים בין הזכר והנקבה במהלך הדרגה השנייה. הנקבה מוסיפה משקל עד הנשל השלישי ומגיעה לבגרות מינית כ-32-39 ימים לאחר הבקיעה בטמפ. 24°C (Mendel and Blumberg 2002). הזכר של קמחית ההדר מאבד גפי פה במהלך הדרגה השנייה. הנשל השני, השלישי והרביעי מתרחשים בתוך פקעת לבנה וקלושה. לאחר הנשל האחרון הזכר נשאר בתוך הפקעת עוד יום-יומיים לפני הגיחה, ואז משקלו נמוך משהיה לפני ההתגלמות, כתוצאה מכך שאינו ניזון (Gray 1954). תופעת ההתקבצות שקיימת בשלב הזחלנים, ניכרת גם בפקעות הלבנות שבהן מתאספים הזכרים בשלב הטרום-גולם (Meyerdirk and Newell 1979).

משך חיי זכר בוגר

זכרי קמחית הגפן חיים 1.53 ימים בממוצע (Walton and Pringle 2005). הזכר של *Ps. maritimus* חי 1.4 ימים בממוצע (Grimes and Cone 1985). הזכר הבוגר של קמחית האננס *Ps. brevipes* חי לא יותר מיום לאחר ההזדווגות. זכרים שלא הזדווגו חיים עד 5 ימים (Ito 1938).

מהלך גיחה של הזכרים

Gullan and Kosztarab (1997) משערים שהיותם של זכרי כנימות מגן בוגרים קטנים ולא-ניזונים, זו התאמה לבתי-גידול עם לחץ מופחת לתעופה. הקטנת הגוף שמקלה על תנועה דרך עלים ואדמה, מביאה לקיצור זמן ההתפתחות. הצורך בסינכרוניזציה עם גיחת הנקבות, גורם להעדפה של שלבי "מנוחה" ללא הזנה.

Hill and Burts (1982) מתארים 8 ימי גיחת זכרים רצופה של הקמחית *Ps. maritimus*, ובשבועיים שאחרי כן מגיחים בודדים, והנקבות נודדות להטלה על הגזע. בסוף עונת הקיץ דורות של קמחית הגפן חופפים זה את זה וכל דרגות ההתפתחות נמצאות באוכלוסייה, ויש חפיפה של תעופת זכרים מדורות שונים (Walton et al 2006).

פוריות

הפוריות בכנימות קמחיות תלויה במצב הפונדקאי, בטמפרטורה ובחלק הצמח שממנו הן ניזונות. קמחיות שניזונות מפירות פוריות יותר מאלה הניזונות מעלים. בטמפרטורות נמוכות מספר הביצים נמוך (Bodenheimer 1951). נקבות קמחית הברוש, באוגוסט-ספטמבר, מטילות פחות ביצים משהטילו הנקבות במאי-יוני (Francardi and Covassi 1992). נקבות קמחית הגפן שב- 25°C הטילו 297 ביצים בממוצע, הטילו 75 ביצים ב- 18°C (Walton and Pringle 2005).

קצב גדילה של הנקבה

אורכה של הנקבה הבוגרת 2.8 מ"מ ורוחבה 1.4 מ"מ, תלוי בפונדקאי, באתר ההזנה, בעונת השנה ובצפיפות האוכלוסייה (Mendel and Blumberg 2002). נקבת קמחית ההדר ניזונה בהתמדה ו-27 יום לאחר הבקיעה מגיעה למשקל של 4 מ"ג (Gray 1954).

מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה

בקמחית ההדר *Pl. citri* נמצא שחלק מהנקבות שהחלו להטיל מוקדם מהשאר, הטילו מעט ביצים. אחרות שהטילו מאוחר יותר, הטילו הרבה ביצים. ההסבר שניתן היה שתנאים כמו פונדקאי לא מתאים וצפיפות מביאים להטלה מוקדמת. (Bodenheimer 1951). בכנימה הקמחית *Ps. maritimus* נמצא מתאם בין אורך הנקבה והפוריות (מספר הביצים), כשנקבות גדולות הטילו יותר ביצים מנקבות קטנות (Grimes and Cone 1985).

קשר בין מועד הזדווגות והטלה

פרק הזמן שעובר ממועד ההזדווגות של נקבות בתולות ועד להטלה - pre-oviposition - דומה בכנימות קמחיות לזה שנמדד בקמחית *Macomellicoccus hirsutus*, כ-3.6 ימים בממוצע ב- 25°C (Serrano et al 2001).

עיכוב במועד ההזדווגות בקמחית ההדר גורם לשינוי ביחס הזוויגים: ללא דחייה יחס הזוויגים 1:1, ודחייה של 6 שבועות שינתה את היחס ל-2:1 לטובת הזכרים; בדחייה של 8 שבועות היחס 3:1, ובדחייה של 10 שבועות היחס הגיע ל-10:1 לטובת הזכרים (Bodenheimer 1951).

השפעה נוספת של דחיית ההזדווגות: בקמחית *Pl. bengalensis*, ככל שגיל ההזדווגות היה מאוחר התקצרה תקופת ההטלה (Senapati and Ghose 1988).

הזרע של זכרי כנימות מגן - על-משפחת Coccoidea - ייחודי בכך שתאי הזרע דקים ומאוגדים בקבוצות של 64-16 בתוך מעטפת. הזרע נעשה נייד לאחר שנכנס לנקבה, שם הוא נשמר לפרק-זמן משתנה ואז משתחררים תאי זרע שעשויים להישאר פעילים עד שלושה חודשים (Robison, Jamieson B.G.M. 1987, Robison W.G.J. 1990, W.G.J. 1977, מצוטטים ב-Gullan and Kosztarab 1997). לאור אורך-חיים ממושך כזה של תאי זרע בתוך הנקבה, מעלים המחקרים את האפשרות שהפריית הביצים מתרחשת לאורך תקופת הטלה ממושכת או זמן רב לאחר ההזדווגות. אם זכרים מזדווגים עם נקבות שעדיין לא בגרו, אז

ההפריה תצטרך להידחות שבועות וחודשים עד שהביצים בשלות. תופעה כגון זאת אכן תוארה בכנימה הקומסטוקית *Ps. comstocki* בקליפורניה, כשהזכר מפרה את הנקבה כשהיא עדיין בדרגת זחל שלישי, והשרצת הזחלים התחילה רק לאחר שהנקבה הגיעה לנשל השלישי (Ebeling W. 1950 מצוטט באבידב תשכ"א).

המטרות בחלק זה של המחקר

תצפית וקביעה של:

משך התפתחות

• משך התפתחות הזחלים

• משך חיי זכר בוגר

• מהלך גיחה של הזכרים

פוריות

• עקומת גדילה של הנקבה

• מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה

• קשר בין מועד הזדווגות להטלה

ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש

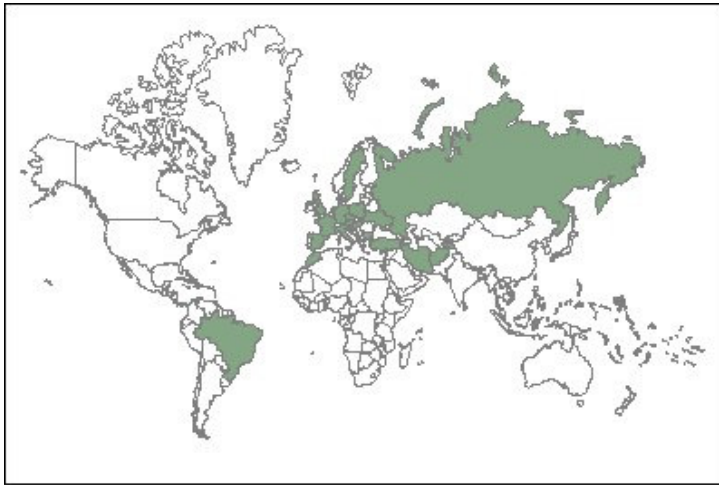
משפחת הברושיים *Cupressaceae sensu lato* וקמחית הברוש

קמחית הברוש נרשמה על 6 סוגים ממשפחת הברושיים *Cupressaceae*: *Cupressocyparis*, *Chamacyparis*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Thuja*, *Calocedrus* (Mendel & Blumberg 2002).

בארצות מערב אירופיות וים-תיכוניות, הכנימה גורמת לנזק משמעותי לעצים מהמינים ברוש גדול-פירות *C. macrocarpa*, ערער סיני *Juniperus chinensis* ותויה מזרחית *Thuja orientalis*. ערערי נוי בגווני כחלחל וצהוב ירקרק הם הרגישים יותר (Mendel & Blumberg 2002).

בדרום אמריקה, אוכלוסיות גדולות מתפתחות על ברוש *Cupressus lusitanica* וגורמות לנזק חמור. במזרח אירופה, פונדקאי רגיש הוא ערער וירג'יני *J. virginiana* והכנימה מתקיימת גם בערער סיני. ביוגוסלביה, ערער מצוי *J. communis* וערער אדום *J. phoenicea* (Kozarzhenskaya 1992). באיטליה, הפונדקאי הטבעי ערער מצוי *J. communis*, וכמו כן *J. oxycedrus* וערער סיני (Francardi & Covassi 1992).

בין המינים הרגישים הנטועים בארץ נמצאים *J. sopulorum* var. blue heaven, *Chamacyparis alwodee*, ערער סיני var. blue cloud, ערער וירג'יני ומספר זנים של *J. thurifera*, *J. horizontalis* וברוש גדול-פירות. כפי שנזכר, ביערות הברוש הטבעיים והנטועים במזרח הקרוב מתקיימת אוכלוסיית הכנימה בצפיפות נמוכה ללא נזק משמעותי. עם זאת מוצאים לעתים אוכלוסיות צפופות בחגורות שוברי-רוח של ברוש מצוי *C. sempervirens* מסביב לפרדסי הדרים. הקמחית בעצים אלה תורמת, קרוב לודאי, לפאונת האויבים הטבעיים שבתוך הפרדס, המשותפים לה ולקמחית ההדר (Mendel & Blumberg 2002).



איור 1.

מפת התפוצה של *Pl. vovae*

הכנימה תועדה בארצות הברית, אפגניסטן, ארמניה, אוסטרליה, ברזיל, בולגריה, קפריסין, צ'כיה, צרפת, קורסיקה, גרמניה, הונגריה, איראן, ישראל, איטליה, מרוקו, פולין, רוסיה, ספרד, האיים הקנריים, שוודיה, טג'יקיסטן, טורקיה, אוקראינה, בריטניה.

מקור: <http://zipcodezoo.com>

המינים הבאים נבדקים במחקר זה: שני מינים שמוצאם חופף חלק מהתפוצה של קמחית הברוש (אזור הים התיכון, מזרח-מרכז אירופה ומערב אסיה): ברוש מצוי *C. sempervirens* שתפוצתו ממזרח אגן הים התיכון ולמקוטעין מזרחה עד הרי ההימלאיה; וערער אדום *J. phoenicea* שמוצאו גם כן בארצות הים התיכון.

המין ערער מצוי לא נבדק במחקר זה כי לא נמצאו פרטים בארץ. סביר שלקמחית הברוש קשר ארוך טווח עם מין זה. תפוצתו – מערב ומזרח אסיה, צפון אמריקה, אירופה וצפון אפריקה – מעידה על קשר, וכמו כן היותו הפונדקאי הטבעי בכל מרחב התפוצה של הכנימה באזור המערב הפלארקטי (Francardi & 1992, Kovass). (Kozarzhevskaya 1992, Covassi).

כפי שזכרנו, מינים שמגלים רגישות מיוחדת הם ברוש גדול-פירות *C. macrocarpa* שמוצאו בקליפורניה; ערער וירג'יני *J. virginian* שמוצאו בצפון מערב אמריקה; וכן ערער סיני *J. chinensis* שמוצאו בסין, יפן והימלאיה. אלה מינים שטווח התפוצה שלהם אינו חופף את זה של קמחית הברוש ויתכן שנחשפו אליה רק במאה השנים האחרונות.

מינים שאין בידינו מידע על מידת הרגישות שלהם לקמחית הברוש ומקורם באזורים גיאוגרפיים שרובם מרוחקים מהים התיכון: קליטריס *Calitris* שמוצאו באוסטרליה; ברוש קרח *C. glabra* שמוצאו באריזונה; טטרקליניס *Tetraclinis articulata* שמוצאו בצפון אפריקה; תויה מזרחית *Thuja orientalis* שמוצאה בסין הצפונית וקוריאה; וסקוויה נאה *Sequoia sempervirens* שמוצאה בקליפורניה.

טבלה 1 מפרטת את מיני הברושיים שבדקנו. Gadek et al (2000) חילקו את משפחת הברושיים ל-6 תת-משפחות. על פי חלוקה זו נבחרו גם מיני ברושיים. מיני ברוש וערער שייכים לתת-משפחה Cupressoideae, קליטריס לתת-משפחה Callitroideae, סקוויה לתת-משפחה Sequoioideae וטכודיום לתת-משפחה Taxodioideae. באיור 2 ההתפלגות הפילוגנטית של הסוגים של מיני הברושיים שנחקרו.

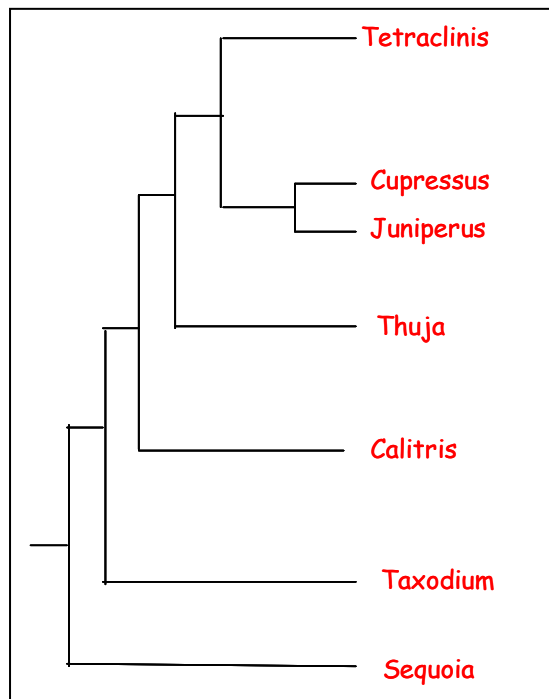
טבלה 1:

11 מינים ממשפחת הברושיים (בסדר אלפביתי) שהתאמתם לקמחית הברוש נבחנה, עם נתוני מוצא ותפוצה.

שם עברי	שם מדעי	תת-משפחה	תפוצה	מוצא
ברוש גדול-פירות	<i>Cupressus macrocarpa</i> Hartweg	Cupressoideae	תפוצה טבעית במפרץ מונטרי, קליפורניה. בצרפת בחופי הים התיכון והאטלנטי. דרום מערב בריטניה, דרום אפריקה, ניו זילנד, אוסטרליה, אוגנדה וקניה.	קליפורניה
ברוש מצוי	<i>Cupressus sempervirens</i> Linnaeus	Cupressoideae	מזרח אגן הים התיכון ולמקוטעין מזרחה עד הרי ההימלאיה	מזרח הים התיכון
ברוש קרח (אריזוני)	<i>Cupressus glabra</i> Sudworth	Cupressoideae	תפוצה מוגדרת במרכז אריזונה	מרכז אריזונה
טטרקליניס מפריק	<i>Tetraclinis articulata</i> Masters	Cupressoideae	דרום מזרח ספרד, מרוקו, אלג'יריה, טוניסיה, מלטה	צפון אפריקה
טכסודיום	<i>Taxodium</i>	Taxodioideae	צפון-מזרח אמריקה, מקסיקו	מפרץ מקסיקו
ערער אדום	<i>Juniperus phoenicea</i> Linnaeus	Cupressoideae	אזור הים התיכון והאיים הקנריים. צפון אמריקה.	ארצות הים התיכון
ערער וירג'יני	<i>J. virginiana</i> Linnaeus (Gr. Var)	Cupressoideae	דרום מזרח קנדה ומזרח ארה"ב	צפון מערב אמריקה
ערער סיני	<i>Juniperus chinensis</i> Linnaeus	Cupressoideae	סין, מונגוליה, יפן, קוריאה, רוסיה.	הימלאיה, סין, יפן
סקווייה נאה	<i>Sequoia sempervirens</i>	Sequoioideae	צפון-מערב אמריקה	קליפורניה
קליטריס	<i>Calitris verrucosa</i> F. Muell	Callitroideae	אוסטרליה	אוסטרליה
תויה מזרחית	<i>Thuja orientalis</i> Linnaeus	Cupressoideae	צפון סין	סין הצפונית וקוריאה

איור 2:

התפלגות פילוגנטית לסוגים בתוך משפחת הברושיים Cupressaceae sensu lato, כפי שעובדה מנתונים שהוצגו ע"י Gadek et al (2000) על-פי סמן גנטי matK במשולב עם נתונים מורפולוגיים.



הברושיים וכנימות אחרות

את הברושיים תוקפות גם כנימות מגן ממשפחת Diaspididae. הן פעילות בעיקר ממאי עד ספטמבר. אלה הן *Aonidia mediterranea*, *Carulapsis juniperi*, *Carulapsis carveli*, *Lineaspis striata*, ו- *C. carveli*. בדרום אירופה אין בד"כ צורך בהדברה כי אויבים טבעיים מגבילים את האוכלוסייה (Teissier Du Cros, 1999).

התאמת פונדקאים לכנימות מגן

בכנימות מגן, בחירת המזון היא בעצם בחירת אתר ההזנה ע"י הזחלן הראשון הנייד. התאמת הצמח ניתנת למדידה לפי צפיפות האוכלוסייה וקצב התפתחות, פוריות, תמותה, יחס זוויגים וכו'. מינים שונים מתיישבים על חלקים שונים של הצמח, והגורמים להבדלים באתרי התיישבות אינם מובנים לחלוטין. יש מידע המצביע על חשיבות ההבדלים המורפולוגיים והפיסיולוגיים בין חלקי הצמח (Kozar 1976). הכנימות הן חרקים ניחים יחסית, ומידת ההגנה שמספק הצמח מפני טורפים וטפילים משמעותית להישרדותן. זחלני קמחית ההדר טיגמוטקטיים – מתיישבים במקומות שבהם מגע מקסימאלי עם עצמים בסביבה, תחת עלי-גביע של פירות, במקומות-מגע בין פירות או בין פרי לעלה, ובתוך שקיקים המשמשים לכיסוי פירות (אבידב תשכ"א). מבין ההדרים, האשכולית היא המין הנגוע ביותר בקמחית ההדר, ונמצא

שהסיבה היא העוקץ הרחב ששוליו צמודים למשטח הפרי והוא נותן הגנה טובה יותר לקמחית מפני טפילים (Berlinger and Gol'berg 1978).

אוכלוסיות קמחית ההדר שגשגו על צמחי *Coleus* מגוונים (עם שטחי-עלה צבעוניים שבהם פוטוסינתזה מופחתת), תודות לריכוז נמוך של חומצות אמינו החיוניות לייצור חומצה פנולית וחומרי הגנה נוספים (Sadof et al 2003). במחקר אחר, אוכלוסיית הכנימה עלתה דרמטית כאשר הוסיפו חנקן לאדמה שמסביב לעצי הקקאו הפונדקאים, וירדה כשהוסיפו אשלגן (Fennah R.T. 1959, מצוטט ב- Miller and Kosztarab 1979). בפונדקאים של כנימות מגן מתגלות רמות משתנות של רגישות לכנימה מסוימת. עץ הדר עשוי להיות נגוע קשות ע"י כנימה באזור אחד, ובאזור אחר להיות עמיד כלפיה. לעתים אפשר לראות שני עצים מאותו מין עומדים זה ליד זה, כשאחד נגוע קשות והשני קלות. כמו כן, צמח עשוי להיות רגיש לכנימה בשנה אחת ועמיד בשנה שאחריה, ומין שבד"כ נשאר במספרים קטנים מתפרץ ספוראדית (Compere H. 1940, מצוטט ב- Miller and Kosztarab 1979). Edmunds and Alstad (1978) שחקרו את הכנימה *Nuculaspis californica* (Diaspididae) באורן *Pinus ponderosa*, הציעו הסבר הנקרא "demic adaptation", ולפיו הבדלים ברמת רגישות של פונדקאי לכנימות מגן נגרמים עקב הבדלים בתוך-מיניים בהגנות הצמח; מקור ההבדלים בטוקסינים הפוגעים בכנימות כגון מונוטרפנים, והם נמצאים בכמויות ואיכויות שונות בפונדקאים אינדיבידואלים; קו של כנימות שמצליח להתגבר על ההגנות ומתאים עצמו יותר ויותר לצמח אחד מסוים, באותה עת הוא נעשה פחות מותאם לצמח אחר מאותו מין עם ההגנות אחרות. לרוב, הנקבות הנייחות נמצאות כל חייהן על אותו פונדקאי, והזכרים, שאינם מרחיקים במעופם, מזדווגים עם נקבות מתוך האוכלוסייה המקומית בפונדקאי שלהם. כאשר מתקיימת לאורך זמן התרבות פנימית בתוך אוכלוסייה, התוצאה תהיה שעם מות הפונדקאי ימות גם מאגר הגנים של אוכלוסיית הכנימה שחיה עליו. לדעתם של Miller and Kosztarab (1979), כך ניתן להסביר בין השאר את התפוצה הכתמית של *Matsucoccus resinosae* באורן *Pinus resinosa*, שתוארה ע"י McClure (1977). היפותזת demic adaptation נבחנה על-ידי Alstad and Corbin (1990) באמצעים של אנליזה גנטית באוכלוסיות הכנימה ששימשה השראה להיפותזה, Nu. californica. הם השוו מערכות אנזימטיות פולימורפיות ומצאו הבדלים גנטיים משמעותיים בין אוכלוסיות של ענפים בתוך אותו עץ, בין עצים שכנים, ובין קבוצות אורנים בשכונות סמוכות בעיר. מסקנתם - שאכן אינטראקציות בין גנוטיפ העץ וסביבה מקומית משתנה, הם בין הגורמים ללחצי סלקציה על אוכלוסיית החרק. Boavida and Neuenschwander (1995) הראו שרמת הנגיעות של קמחית המנגו נקבעת על-ידי הגנוטיפ של העץ ולא על-ידי עברו כנגוע או לא.

אינטראקציות בין חרק וצמח פונדקאי

מצד החרק, בד"כ מתוארת סדרה של צעדים שמוליכים אל התיישבותו בצמח: מציאת בית-הגידול, מציאת הצמח, קבלתו כפונדקאי והיות הצמח מתאים להישרדות ורבייה מוצלחת של אוכלוסיות החרק. תכונות של הצמח כמו קשיחות של הגזע, שעווה ושערות על פני העלה, ישפיעו על החלטתו אם להישאר ולהיזון או להטיל בצמח. לאחר שהחרק ניזון, קיבל די חומרי תזונה ולא ניזוק מרעילות הצמח, הוא ישלים את התפתחותו בפרק זמן נורמאלי ויהפוך לבוגר (Pedigo 1999).

התאמה של חרק ספציפי לצמח המזון שלו מתקיימת על רקע של גורמים נוספים מלבד סבילות לחומרי הגנה של הצמח. חרק עשוי להיות מותאם לצמח עד כדי כך שחומר שבמקור אמור לדחות, הופך לחיוני, כמו למשל לצורך משיכה והשראת הזנה או הטלה, ואף עשוי לשמש כפרומון (Edwards & Wratten 1980).

התאמת הצמח מוגדרת בכפוף להצלחה של החרק, כלומר הישרדות וגדילה על הצמח. מושגים המתארים יחסי חרק-צמח הם - העדפה, הניתנת למדידה ע"י הסבירות שחרק יקבל צמח שנקרה בדרכו. העדפה להטלה על צמח אינה מעידה על מידת ההצלחה של הביצים או הזחלים שיוטלו עליו. המושגים הישרדות, קצב התפתחות ופוריות הם צדדים שונים של מה שנקרא הצלחה. תוצאות ניסויים מספקות מדדים לקבלה והצלחה, שעל בסיסם נעשות הערכות של העדפה והצלחה (Miller and Miller 1986).

קבלה – היא הסבירות שצמח יתקבל אם פוגשים בו. לפני הטלה יש סדרה של מפגשים וקבלות ברצף מתקדם כמו הישארות וטעימה מהצמח (Kennedy 1965). המושג שימוש בצמח מתאר דפוסים של מתקפות חרקים על פונדקאים שונים בשדה. לדוגמה, שימוש בצמח עשוי להימדד על-פי מספר הביצים שהוטלו ע"י אוכלוסיית חרקים על צמחים שונים.

איתור צמחים עמידים לחרקים

הרעיון של שימוש בעמידות הצמח לטובתנו בא מהידיעה, שרוב הצמחים (ובעלי החיים) עמידים לרוב החרקים. מאפיינים תורשתיים פיסיולוגיים, מורפולוגיים והתנהגותיים מסוימים מהווים גרעין הגנה כנגד מינים שעלולים לתקוף. מאפיינים אלה הם תוצאה של ברירה טבעית. בטבע, פרטים רגישים במיוחד אינם שורדים כדי להתרבות. ולעומתם ישנם פרטים עם פנוטיפים שמפחיתים את השפעות מתקפת המזיק. בריבוי צמחים ובעלי חיים, נושא חשוב הוא גילוי של פנוטיפים כאלה ושימוש בהם לפיתוח זנים עמידים למזיקים ומחלות.

מנגנוני עמידות

עמידות של צמח לחרק מתבטאת בדרכים שונות: הוא אינו מספק את התנאים הנדרשים להתפתחות החרק, או מייצר אללוקמיקלים שדוחים את החרק, או שרמת הקיירומונים בו מופחתת. מקובל להתייחס למנגנוני עמידות כמורשים גנטית, ולחלק אותם על-פי Painter (1951):

- **Non-preference** - (או Antixenosis על-פי Kogan & Ortman (1978) – לצמח תכונות שמרחיקות את החרק ממנו, כמו אללוקמיקלים או מורפולוגיה, וכך פוחתים הסיכויים שהחרק יזון מהצמח, יטיל עליו או ימצא בו מחסה. המנגנון של אי-העדפה יפעל בעיקר כשיש לחרק פונדקאי אלטרנטיבי. באין ברירה, הוא יקבל גם פונדקאי לא מועדף.
- **Antibiosis** – המנגנון הרצוי של עמידות, שמעכב תהליכים מטבוליים בחרק. לדוגמה, אללוקמיקלים כמו גוסיפול בכותנה, גליקוזידים סטרואידילים בתפ"א, וספונינים באלפלפא. אנטיביוזיס עשוי לגרום לסימפטומים כמו תמותת זחלים, קצב גידול מואט, תמותה מוגברת של גלמים, בוגרים קטנים, פוריות מופחתת, משך חיים קצר, עיוותים מורפולוגיים והתנהגות לא-נורמאלית.
- **Tolerance** – במצב זה, לצמח יכולת לתת יבול מספק למרות רמות הנזק. קיים ויכוח אם סבילות נחשבת לעמידות. היא נשענת על תכונות כמו חיוניות רבה של הצמח, צמיחה מפצה, הגלדת פצעים וחלוקה מחדש של משאבים פוטוסינתטיים. חסרונה בכך שאוכלוסיות חרקים עשויות למצוא מחסה בצמחים כאלה, ולגרום לבעיות ביבולים שכנים (Pedigo 1999).

יש דרכים שונות לקביעה של כל אחד ממנגנוני העמידות, כמו מבחני ברירה/אין ברירה, מבחני טעימה, תמותת חרקים ותמותת פונדקאים, ועוד.

שיטות לקביעת סוגי עמידות של צמחים

כאשר סורקים אוכלוסיית צמחים לעמידות, מתחילים עם הערכה כללית של האוכלוסייה ונותנים לחרקים בחירה חופשית של הצמחים בשדה או בחממה. צמחים שנראים עמידים פוטנציאלית נבדקים לאחר מכן בקבוצות קטנות. לאחר שהוכחה עמידות של זן, הצעד הבא הוא קביעת סוג העמידות כדי להבין ולהשתמש כראוי באותו זן עמיד, בתוכנית הדברה משולבת. קביעה זו נעשית בניסויים שמטרתם לאמת או לשלול מעורבות של כל אחד מ-3 סוגי העמידות: ל-antixenosis עורכים מבחני ברירה, ל-antibiosis מבחני אין-ברירה (no choice), ול-tolerance תנאי נגיעות ואי-נגיעות (Smith et al 1994).

שיטות מקובלות להערכת Antixenosis: סוג עמידות זה מתאר חוסר יכולת של צמח לשמש כפונדקאי לחרק. קיימות תכונות מורפולוגיות או כימיות שמשפיעות לרעה על החרק, והוא יעדיף צמח אחר. כדי לאשר עמידות אנטי-קסנוטיבית בשתילי חממה, מאכלסים זנים שונים בעציצים ומשחררים את החרקים לידם. אוכלוסיית החרקים נשארת עד שבשתילי הביקורת הרגישים הגיעה האוכלוסייה לצפיפות גבוהה. אז נבדקים שתילי הניסוי לרמת צפיפות, הנזק שגרמו החרקים הניזונים, והטלה.

במבחנים שמטרתם לקבוע תגובת התיישבות של זחלים או בוגרים, מעריכים את בחירת החרק והעדפתו את הצמח או חלקים ממנו, לעומת צמחים אחרים שעומדים לבחירתו. הבדיקה נעשית לפי מידת האכלוס בזחלים או נדידת הזחלים לצמחים שכנים בתקופת-זמן מוגדרת לאחר האכלוס, בזמן קצוב. נעשים גם מבחני בחירת מזון או אתר הטלה.

שיטות להערכת Antibiosis: בסוג עמידות זה נכללות השפעות שליליות על טבלת החיים של החרק, שמתרחשות לאחר שהחרק השתמש בצמח כמזון. השפעה אנטי-ביוטיבית נמדדת בתמותה של זחלים צעירים, משקל מופחת, הארכת משך התפתחות של זחלים, הפחתה במשך חיי בוגרים ובפוריות והתנהגות חריגה כמו שיטוט וחוסר-מנוחה.

כדי לאמת אנטיביוזיס, שתילי הצמח הפונדקאי מוחזקים בכלובים ומאכלסים בניסוי אין-ברירה, כלומר לחרק אין גישה לפונדקאי אחר. במהלך התפתחות החרקים נבדקים מדדים כמו תמותת זחלים, שימוש מטבולי במזון, התפתחות זחלים, תוספת פוריות, אחוזי גיחה וצמיחת האוכלוסייה.

שיטות להערכת סבילות – Tolerance: מדידה כמותית של סבילות נעשית באופן שונה ממדידת סוגי העמידות הקודמים. מידת הסבילות נקבעת על-פי השוואת התגובה של הצמח – נזק ופגיעה בצמיחה או ביבול – בין צמח מאוכלס ובין צמח לא-מאוכלס מאותו זן (Smith et al 1994).

במחקר זה נעשה אכלוס תטולות, זחלים ובוגרים בשתילי פונדקאים בניסוי no-choice, שבהם לכנימות לא היה פונדקאי אלטרנטיבי, בהתאם לשיטות המקובלות להערכת Antibiosis.

המטרות בחלק זה של המחקר

שימוש בשלושה מדדים להערכת מידת ההתאמה של מיני פונדקאים ממשפחת הברושיים – *Cupressaceae*:

- משך התפתחות עד הטלה
- הישרדות ומשקל נקבות מבקיעה עד בגרות
- תוספת משקל של נקבה ב-10 ימים

ג. שאלת קיומו של פרומון מין נקבי ותגובת הזכר אליו

פרומון מין בכנימות מגן

בשבעה מינים של כנימות מגן וכנימות קמחיות זוהו פרומון מין של הנקבה, או שהתקבלה עדות לקיומו. ביניהם:

<i>Planococcus citri</i>	(Bierl-leonhardt et al 1981a)
<i>Planococcus ficus</i>	(Hinkens et al 2001; Zada et al 2003)
<i>Planococcus minor</i>	(Ho et al. 2007)
<i>Pseudococcus comstocki</i>	(Negishi et al 1980; Bierl-Leonhardt et al 1981b)
<i>Pseudococcus cryptus</i>	(Arai 2000, Arai 2003)
* <i>Pseudococcus maritimus</i>	(Grimes and Cone 1985)
<i>Maconellicoccus hirsutus</i>	(Serrano et al 2001, Zhang 2004)

* הפרומון לא זוהה

המבנה של פרומוני מין בכנימות מגן מורכב יחסית, ייחודי לכל מין, וכמעט לכל התרכובות יש מרכז כירלי אחד או שניים (Dunkelblum et al 1995). במינים מאותה משפחה אפשר למצוא דמיון במבנה. כך במשפחה Diaspididae, בשלושה מינים מוצאים דמיון מבני (Gieselmann et al 1979). כך גם במינים של *Matsucoccus* (Dunkelblum et al 1993). במשפחה Pseudococcidae הפרומון של *Ps. Cryptus* דומה לפרומון של *Pl. citri*, וקבוצת האלכוהול של פרומון *Ps. comstocki* דומה לזו של פרומון *Pl. ficus* (Arai et al 2003).

בכנימות מגן אברי הפרשת הפרומון אינם חיצוניים ובולטים כמו בעשים, וכל הפרומונים שזוהו נאספו במערכת זרימת אוויר דרך סופח Porapak-Q או Tenax או ספיחה-קרה (Dunkelblum 1999). נעשו מספר איסופים או מיצויים של פרומוני כנימות מגן ע"י מיצוי מנקבות בתולות שלמות בהקסאן וממיסים אחרים (Tashiro and Chambers 1967). במקרה אחד שימש נייר סינון לספיגת פרומון מנקבות *Ps. Comstocki* שישבו עליו, והפרומון מוצה מהנייר (Negishi et al 1980).

איסוף פרומון מין מצריך גידול המוני של נקבות בתולות במעבדה, על צמח פונדקאי טבעי או מצע צמחי תחליפי. הנקבות מופרדות מזכרים עוד לפני שיגיוחו כבוגרים, או שהאוכלוסייה מטופלת בתכשיר הדברה סלקטיבי הקוטל את הזכרים בלבד (Hinkens et al 2001) כדי למנוע הזדווגות שתביא להפסקת שחרור הפרומון. לאחר שהגיעו לבגרות מינית מוכנסות מאות ואלפי נקבות למערכת סגורה עם זרימת אוויר קבועה, כשהנדיפים בחלל המערכת הכוללים פרומון מין של הנקבות, זורמים עם האוויר הלאה אל החומר הסופח ואמורים להישאר קשורים אליו עד שיישטפו בהקסאן או פנטאן.

הנקבות שוהות במערכת ימים מספר, לעתים עם מצע מזון ולעתים ללא מצע. נוח להשתמש כמצע בצמח חסר ריח. נדיפים חריפים של צמח ארומטי, יפריעו לבידוד וניקוי כימי של הפרומון על-ידי מיסוך שלו בספקטורוגרף. מסיבה זו, פונדקאי כמו לימון מוחלף בתפוח-אדמה מונבט, לדוגמה (Dunkelblum 1999) – אם החרק יכול להיזון ממנו ולהתפתח עליו. חרק מונפאגי או אוליגופאגי שטווח הפונדקאים שלו מצומצם,

יקשה על מציאת פיתרון מסוג זה. ואכן, הפיתרון המקובל עם קמחיות אחרות – נבטי תפוחי אדמה כמצע מזון או כל מזון אחר שאינו הפונדקאי הטבעי – אינו רלוונטי במקרה של קמחית הברוש (בן-דב 1987). עם זאת, שינוי מצע המזון עשוי להשפיע על האטרקטיביות של הנקבה. נקבות קמחית הדר שניזונו מפרי תפוז או נבטי תפוז"א משכו זכרים פי 1.5-3 יותר מנקבות שניזונו מקצה ענף הדר או פרי לימון (Moreno et al 1984). במיני חרקים אחרים שגודלו במעבדה, כנראה בעקבות שינוי במזון פחת ייצור הפרומון פי 100 מזה של אוכלוסיית הבר, והמחזוריות היומית נפגעה (Kerkut et al 1985).

סינרגיזם של פרומון ונדיפי הצמח

הצמח הפונדקאי עשוי להשפיע על החרק שמפיק את פרומון המין, והוא עשוי להשפיע על החרק שחש ומגיב לפרומון. הפונדקאי מספק לחרק מקור לחומרים ביו-אקטיביים ופרקורטרים לפרומון דרך בליעה, ספיגה או שאיפה. נדיפים של הפונדקאי משפיעים גם על התנהגות החרקים שמגיבים לפרומון מין ששחרר בצמוד לפונדקאי. השפעות כאלה נראות בד"כ במבחני התנהגות השוואתיים שבהם בוחנים תגובות לפרומון ולפונדקאי, ביחד ובנפרד, או שהן נבדקות בפעילות בשטח של הפרומון בצירוף עם צמחים פונדקאים, מיצוי צמחים, או חומרים צמחיים ידועים. קיים צורך לבדוק אם הפונדקאי מעורר את החרק לשחרר פרומון, או שנדיפי הפונדקאי עצמם מצטרפים לפרומון כחומר משיכה (Landolt & Philips 1997).

מחזוריות יומית בתעופת הזכר ובשחרור פרומון מין

בכמה מינים של קמחיות ידועה מתכונת של מחזוריות יומית לתעופת הזכרים, בד"כ רק בשעות הבוקר המוקדמות כשמהירות הרוח נמוכה ומתאימה ליכולת התעופה החלשה שלהם (Moreno et al 1972). ככל הידוע פעילות הבוקר והתגובה לפרומון של זכרי קמחית ההדר אינה קשורה למחזוריות שחרור פרומון של הנקבות אלא נקבעת לפי שעות האור והחושך, כשהתגובה החזקה ביותר היא בדקות האור הראשונות (Moreno et al 1984). גם טאובר (1987) מצאה שלזכרי קמחית ההדר שעות תעופה מוגדרות ביממה, החל משעת הזריחה ו-3 שעות לאחר מכן. Mendel et al (1990) הראו שגיחת הזכרים של *Matsucoccus josephi* (Hemiptera: Matsucoccidae) מתרחשת לפנות בוקר ועד שעות לפני הצהריים. הם מסבירים את שעות הפעילות בכך שהטמפרטורה נמוכה והלחות גבוהה, והזכרים יכולים לשרוד שעות ארוכות. השפעת הטמפרטורה על פעילות הזכרים באה לביטוי גם בלכידה מועטה של זכרי קמחית ההדר במלכודות פרומון, בבוקר שלאחר יום בו הטמפרטורה נמוכה (טאובר 1987).

שחרור פרומון של נקבות חרקים בד"כ מתרחש בזמן קבוע במשך היממה ומבוקר כקצב צירקדיאני פנימי, בנוסף לגורמים חיצוניים כמשך היום וטמפרטורה (Kerkut et al 1985). במספר מינים של כנימות מגן נמשך שחרור פרומון ע"י הנקבה כל שעות היממה. במינים *P. citri* ו-*P. calceolariae* לא נמצאו הבדלים בתגובה למיצוי פרומון שנאספו בשעות שונות של היממה, ומכאן הוסק ששחרור הפרומון קבוע בכל שעות היממה. שחרור פרומון של הנקבה לא מושפע ממשטרי אור שונים אלא נראה כתלוי במקצבים פנימיים או לחלופין מתמשך (Rotundo and Tremblay 1980, Moreno et al 1984). שחרור קבוע של פרומון נראה גם ב-*M. josephi* על-פי תגובות של זכרים למיצוי פרומון שנאספו בשעות שונות, והחוקרים מסיקים ששחרור מתמשך של פרומון המין הוא הכלל בעל-משפחת Coccoidea (Mendel et al 1990). ממצא יוצא דופן הוא זה של הכנימה *Pseudaulacaspis pentagona*. שחרור הפרומון מתחיל עם עליית האור ונפסק עם חשיכה (McLaughlin et al 1990).

שחרור פרומון לאחר הזדווגות

במספר מינים של כנימות מגן תועדה הפסקת שחרור פרומון מין של הנקבה לאחר הזדווגות. בקמחית *Ps. maritimus*, מלכודות פרומון שבתוכן נקבות בתולות, משכו זכרים במשך שבוע ואז המשיכה נפסקה. בדיקת המלכודות הראתה שזכרים נכנסו למיכלים, והמסקנה היא ששחרור פרומון נפסק זמן קצר לאחר ההזדווגות (Grimes and Cone 1985). Serrano et al. (2001) הניחו לזכרים לאתר נקבות ששהו בקפסולות פתוחות, וברוב המקרים נמצא רק זכר אחד בתוך קפסולה עם נקבה. רק ב-6.7% נמצאו שני זכרים עם נקבה אחת, מה שמצביע לדעתם על כך שהנקבה מפסיקה לשחרר פרומון זמן קצר לאחר הזדווגות. Tashiro and Moffit (1968) מציינים פרק-זמן של 24 שעות לאחר הזדווגות שבו נקבת הכנימה האדומה הקליפורנית מאבדת אתרקיטיות.

התארכות גדילי שעווה כמדד לגיל הזכר

במספר משפחות של כנימות מגן יש לזכר זוג גדילי שעווה ארוכים (Gullan and Kosztarab 1997) (תמונה 2). טאובר (1987) עקבה אחר זכרי *Pl. citri* מגיחה ועד למותם ומצאה שהם מגיחים ללא גדילי שעווה. הגדילים הולכים ומתארכים עד לשיא, 44 שעות לאחר הגיחה (משך חייהם 51.5 שעות בממוצע). תופעה זו אופיינית גם למיני קמחיות אחרים (פרוטסוב ומנדל, טרם פורסם). נושא זה נלמד בעבודה הנוכחית.

שימוש בפרומוני מין

בעשרות השנים האחרונות מחקר הפרומונים הביא לאפיון של הכימיה והתגובות ההתנהגותיות במספר רב של מיני חרקים. עם זאת, במערכות פרומון רבות עדיין לא ידועים כל המרכיבים הכימיים ואין הבנה מעמיקה של מנגנוני האוריינטציה המעורבים בתגובה לפרומון והתנהגות הזדווגותית.



תמונה 2. התפתחות גדילי זכר בקמחית כדורית *Nipaecoccus viridis* (פרוטסוב ומנדל, טרם פורסם)

רוב המינים משתמשים בתערובת של שניים או יותר חומרים קרובים (Bell et al 1984). יתכן שלכל מרכיב יש תפקיד מסוים ברצף ההתנהגותי, כמו משיכה מרחוק או עירור מיני בטווח קרוב. קיים מינוח של "מרכיבים

ראשוניים" ו"מרכיבים משניים" בתערובת הפרומון. המרכיבים "הראשוניים" מעוררים תגובה מרחוק (מעל 1 מ') וה"משניים" קשורים לתגובה מקרוב (Kerkut et al 1985).

פרומון כשלעצמו אינו אמצעי הדברה. אבל ניתן להשתמש בו בהדברה משולבת עם שיטות נוספות. אפשר לגרום בעזרתו להגדלה ושגשוג של אוכלוסיות אויבים טבעיים (Howse et al 1998), תוך ניצול פעילות קיירומונלית.

בעבודות רבות נמצא שמלכודות פרומון מושכות זכרים של כנימות קמחיות ממרחקים של עשרות מטרים (Meyerdirk et al 2004, Walton et al 2002, Millar et al 2002) ואף יותר מ-100 מ' (Moreno et al 1984). עם זאת, Meyerdirk et al (1981) לא מצאו מתאם בין מספר הזכרים של *Ps. comstocki* שנלכדו ובין צפיפות האוכלוסייה, מכיוון שהגיעו זכרים מחוץ לתחום הבדיקה. חוסר התאמה בין לכידה ולבין הנגיעות בפועל הראה גם גרוס (2007) באוכלוסיות קמחית ההדר בפרדסים. ניסוי בלכידה המונית של קמחית ההדר הראה שניתן להפחית כך משמעותית את מספר הזכרים, אבל הלכידה ההמונית יצרה וקום שמשך זכרים מפרדסים שכנים, מה שמעורר צורך בתכנון ועיצוב של מערכת לכידה המתחשבת בגורם זה (Franco et al 2002).

המטרות בחלק זה של המחקר

לבחון את שאלת קיומו של פרומון מין של הנקבה והשפעתו על הפעילות המינית של הזכר, ע"י מענה לשאלות הבאות:

- האם קיים פרומון מין של הנקבה בקמחית הברוש
- האם יש סינרגיזם של פרומון המין ונדיפי הצמח הפונדקאי
- פעילות מינית של הזכר -
 - התארכות גדילי שעווה כמדד לגיל הזכר
 - השפעת גיל הזכר על תגובתו לפרומון מין
 - השפעת גיל הזכר על פעילותו המינית

II. שיטות וחומרים

א. משך התפתחות ופוריות

ריבוי אוכלוסיית הקמחית

גידול האוכלוסייה נעשה על שתילי ברוש גדול-פירות *C. macrocarpa* (תמונה 3) בגובה כ-50 ס"מ, בתאי גידול בטמפ. 24°C , השתילים נמצאו בכלובי זכוכית שקופים על מנת להבטיח תאורה מספקת להתפתחות השתילים.



תמונה 3. שתיל ברוש המשמש לריבוי הקמחית

קבלת אוכלוסייה בגיל אחד - סינכרונית

אספנו משתילי ריבוי תטולות שזחלנים החלו לבקוע מהן. פיזרנו על מגש דסקיות נייר בקוטר 7 ס"מ, והנחנו את התטולות עליהן. לאחר מספר שעות טיילו על כל דסקית עשרות ומאות זחלנים. אספנו מהנייר את התטולות, השארנו את הדסקיות עם הזחלנים שירדו אליהן והנחנו 10 דסקיות כאלה בכל שתיל בין הענפים. בשעות הבאות הזחלנים עברו אל הצמח ודסקיות הנייר נותרו ריקות.

קביעת משך הטלה ובקיעת זחלנים

ההטלה נמשכת מספר ימים. בתחילה נראה שק הביצים מעין זנב לבנבן בחלק האחורי של הנקבה. כאשר נקבה החלה להטיל, גזרנו את הענפון שנמצאה עליו והעברנו לכלי שקוף וסגור במכסה מרושת, שדרכו עקבנו אחר התקדמות ההטלה ובקיעת הזחלנים.

קביעת משך זמן בין נשל לנשל

אספנו זחלים במכחול דק מייד לאחר נשל או בקיעה והנחנו בקצות ענפים נקיים. מספר ימים לאחר מכן הופיע הנשל החדש. בכל אחד מהשלים עקבנו אחר 12-15 פרטים.

בחינת משך חיי זכר בוגר

כ-90 זכרים הועברו עם התגלמות למעקב בצלחת פטרי. מדי יום ספרנו זכרים שהגיוחו, עקבנו אחר מספר החיים והרחקנו את המתים מהצלחת.

קבלת נקבות בתולות ע"י הפרדת נקבות וזכרים לפני בגרות מינית

בקמחית ההדר ניתן להבחין בין זכרים ונקבות בראשונה בדרגת הזחל השני כשהזכר ניכר בצבעו הכהה וגופו המאורך מזה של הנקבה (Gray 1954). הפרדה בין המינים נעשתה אחרי שהזכרים התחילו להתגלם בפקעות, 19-20 ימים לאחר הבקיעה וכ-7 ימים לפני גיחת ראשוני הבוגרים. משתיל מאוכלס נלקחו נקבות בעזרת מכחול והועברו לשתיל ללא זכרים.

בחינת עקומת גדילה של הנקבה

אכלסנו 4 שתילים באכלוס סינכרוני, ולקחנו דגימות מכל אחד אחת ל-5 ימים החל מהאכלוס. בכל דגימה קבוצה של כ-10 נקבות. בכל דגימה נלקחו נקבות אחרות. שקלנו את הקבוצה כולה וחישבנו משקל ממוצע של נקבה בקבוצה.

בחינת המתאם בין משקל וכמות הביצים בתטולה

נלקחו 42 נקבות מאוכלוסיות שהתפתחו על שתילי ברוש גדל פירות. הן ייצגו את כל מגוון הגדלים באוכלוסיה. כל נקבה נשקלה והוכנסה לצלחת פטרי עם ענפון של ברוש. ההנחה היא שכולן כבר הזדווגו בשתיל האם, אבל למקרה שהיו כאלה שטרם הזדווגו, הוכנס לכל צלחת גם זכר בוגר. לאחר מכן התקיים מעקב אחר התטולות. לאחר שההטלה הושלמה, התטולה נלקחה לספירה. בתוך צלוחית עם מעט מי-סבון, השעווה נמסה והביצים התפזרו באופן שניתן לספור אותן בעזרת בינוקולר.

לימוד הקשר בין מועד הזדווגות והטלה

השתמשנו בנקבות בתולות שחולקו ל-3 קבוצות-משקל: 0.6, 2.6 ו-4.4 מ"ג. משקל הנקבות שימש אינדיקציה להערכת גילן הממוצע, בהתאם לעקומת הגדילה ובהתאם לתצפיות במעבדה: 0.6 מ"ג מקביל לגיל 32 ימים, 2.6 מ"ג מקביל לגיל 45 ימים, ו-4.4 מ"ג מקביל לגיל מעל 50 ימים. 3 הקבוצות אכלסו 3 שתילים נפרדים (בשתי חזרות), 9-12 נקבות בכל קבוצה. הנקבות הופגשו עם זכרים בוגרים (ארוכי זנב) ולאחר מכן נשארו על השתיל עד שהופיעו תטולות.

ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש

ניסויי התאמת הפונדקאים כאן נעשו באופן של אכלוס תטולות, זחלים או בוגרים בשתילי פונדקאים, ומעקב אחר מדדי התפתחות ושגשוג כמו משקל, משך התפתחות ואחוזי תמותה. הניסויים נערכו במקביל ב-11 מיני פונדקאים. הכנימות והתטולות נלקחו לניסויים משתילי ברוש גדול-פירות *C. macrocarpa*, ששימשו לריבוי כמתואר כנ"ל.

השתילים הצעירים שאכלסנו, היו נתונים בכלובי זכוכית עם חלונות מרושתים בחממה בטווח טמפ. שבין C⁰-18⁰ (יום - לילה).

טבלה 1 במבוא מפרטת את מיני הברושיים שבדקנו. Gadek et al (2000) חילקו את משפחת הברושיים ל-6 תת-משפחות. על פי חלוקה זו נבחרו גם מיני הברושיים.

באיור 2 במבוא, התפלגות פילוגנטית של שבעה סוגים בתוך משפחת הברושיים על-פי Gadek et al (2000), על-פי סמן גנטי matK במשולב עם נתונים מורפולוגיים.

ערכנו אכלוס תטולות, זחלים ובוגרים בשתילי פונדקאים בניסויי no-choice שבהם לכנימות לא היה פונדקאי אלטרנטיבי, בהתאם לשיטות המקובלות להערכת Antibiosis. באופן זה נבדקו מדדים שונים להצלחת החרק בפונדקאי: משך התפתחות משלב הזחלן ועד הטלות ראשונות באוכלוסיה; אחוזי הישרדות ומשקל ממוצע של הנקבות בגיל 35 ימים; ותוספת משקל שנקבות העלו לאחר 10 ימים של שהות בפונדקאי.

קביעת משך התפתחות של קמחית הברוש על הפונדקאים שנבחרו לבחינה

הגדרנו את משך ההתפתחות כפרק זמן שעבר מבקיעת הזחלים ועד שהופיעו תטולות ראשונות באוכלוסיית השתיל. קיבלנו אוכלוסיה בגיל אחיד באופן שתואר קודם לכן בחלק זה. הזחלים מתפתחים ללא הפרעה עד שמופיעות 2 תטולות ראשונות בשתיל.

הישרדות ומשקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה

האכלוס בשתיל כמתואר בפסקה הקודמת. הזחלים נספרים, הנחנו שמחצית מהם נקבות (חישוב אחוזי הישרדות בתום הניסוי מתייחס לנקבות בלבד). ניתן לפרטים להתפתח ללא הפרעה במשך 35 ימים, מועד שבו רוב הנקבות שהתפתחו בברוש גדול-פירות הגיעו לבגרות מינית אך עדיין לא הטילו. לאחר מכן ספרנו ושקלנו את הנקבות, וחישבנו את אחוז הישרדות ומשקל נקבה ממוצע.

תוספת משקל של נקבות בוגרות

תוספת משקל בפרק זמן קצוב שמשה מדד לפרויות הקמחית, שהתפתחה על פונדקאי מסוים. וזאת על פי המתאם החיובי שהתקבל בין משקל נקבה וכמות הביצים בתטולה (פרק א). הנקבות התפתחו עד נשל III בשתיל ברוש גדול-פירות באוכלוסיה שהורחקו ממנה זכרים (כדי למנוע הפריה והטלה שתפריע לשקילת הנקבות. פירוט על אופן הרחקת הזכרים בתיאור השיטות בפרק ג'). לאחר הנשל הן נשקלו בקבוצות, נקבע משקל ממוצע והקבוצה הועברה לשתיל הניסוי. 10 ימים מאוחר יותר נאספו הנקבות בעדינות, בעזרת מכחול, לכלי. הן נספרו ונלקחו לשקילה.

מדד (אינדקס) להתאמת פונדקאים

קיימות גישות שונות לשקלול מרכיבי ההתאמה. Lynch et al (1981) פיתחו את HSI - Host Suitability Index, שהמשוואה שלו היא:

$$HSI = \text{weight} \times \text{survival} / (\text{development duration} \times \text{consumption})$$

אם נתאים את המשוואה לניסויים שערכנו ונחליף את הפרמטרים כך:

Weight – משקל נקבות בגיל 35 ימים (מ"ג)

Duration – משך התפתחות עד הטלה ראשונה (ימים)

% survival – הישרדות של הנקבות מבקיעה עד גיל 35 ימים

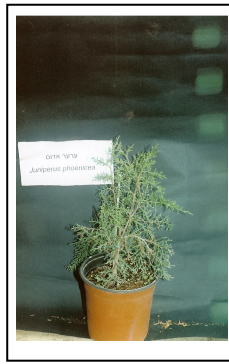
...ואם נוציא מהמשוואה את הפרמטר consumption שאותו לא מדדנו (יש להניח שהוא נמצא במתאם חיובי לפרמטר המשקל), נוכל להשתמש בה לשקלול תוצאות הניסויים שלעיל ולקבל מדד נוסף להתאמת הפונדקאים.



ברוש גדול פירות
Cupressus macrocarpa



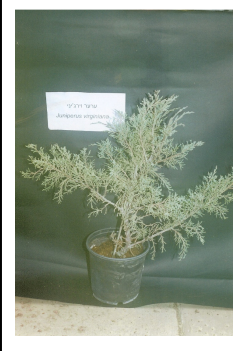
ברוש מצוי
Cupressus sempervirens



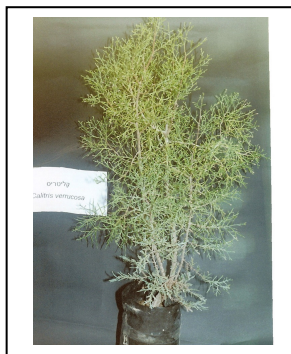
ערער אדום
Juniperus phoenicea



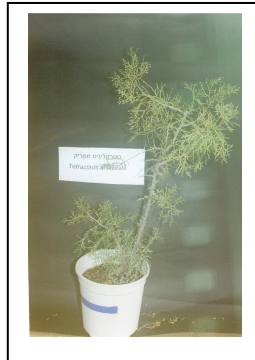
ערער סיני
Juniperus chinensis



ערער וירג'יני
Juniperus virginiana



קליטריס
Calitris verrucosa



טטרקליניס מפריק
Tetraclinis articulata



תויה מזרחית
Thuja orientalis

תמונה 4. שתילים של מיני ברושיים ששימשו לניסויי התאמת הברושיים. גובה השתילים 40-50 ס"מ.

ג. שאלת קיומו של פרומון המין ותגובת הזכר אליו

בדיקת הימצאות פרומון מין

כדי לוודא הימצאות פרומון מין יש להראות שמיצוי שהתקבל מנדיפי הנקבות מראה פעילות משיכה לזכרים במבחני התנהגות. לצורך זה אספנו כ-50,000 נקבות בתולות במספר מחזורי איסוף, במערכות איסוף למספר ימים. לאחר מיצוי הפרומון מקולונת החומר הסופח, בחנו את תגובת הזכרים לחומר. בכל איסוף מתקבלת כמות מוגבלת של חומר פעיל.

ריבוי אוכלוסיית הקמחית

גידול האוכלוסייה נעשה על שתילי ברוש *C. macrocarpa* כפי שתואר בניסויי הפונדקאים. הגורם המגביל בריבוי אוכלוסייה זו היה מקום מרווח מספיק עם טמפרטורה מבוקרת וכלובים שקופים על מנת להבטיח תאורה מספקת להתפתחות שתילי הברוש. בשל כך איסוף של נקבות קמחית הברוש דורש מקום, זמן ועבודה רבים יותר מגידול שמתבצע על מצע שטוח בחשכה כגון נבטי תפ"א או פרי הדר, המאפשר לגדל מספרים גדולים מהן בזמן קצר.

קבלת אוכלוסייה בגיל אחיד: כפי שתואר בניסויי הפונדקאים, ע"י הנחת דסקיות נייר עם זחלנים בין ענפי השתילים.

הפרדה בין זכרים ונקבות התבצעה 19 ימים לאחר ההתיישבות.

קבלת נקבות בתולות ע"י הפרדת נקבות זכרים לפני בגרות מינית

בקמחית ההדר ניתן להבחין בין זכרים ונקבות בראשונה בדרגת הזחל השני כשהזכר ניכר בצבעו הכהה וגופו המוארך מזה של הנקבה (Gray 1954). בקמחית הברוש ההבדלים ניכרים היטב בסוף תקופת הזחל השני (תמונה 5), אז הזכרים מאטים את תנועותיהם ומתכנסים בקבוצות לפקעות התגלמות.

הפרדה בין הזוויגים נעשתה אחרי שהזכרים התחילו להתגלם בפקעות, 19-20 ימים לאחר הבקיעה וכ-7 ימים לפני גיחת ראשוני הבוגרים. הגלמים הוצאו ע"י נייעור השתיל מעל גיליון נייר בגודל 70X50 ס"מ, תוך ניצול הפסיביות והאחיזה הרופפת שלהם בצמח. הם נפלו על הנייר ונאספו למיכלים קטנים מרופדים בנייר סופג, ונשמרו לשימוש במבחני תגובה, לניסויים שונים ולשם ריבוי. כשהזכרים נוערו ונפלו מהשתיל רוב הנקבות נותרו צמודות לענף שעליו ישבו. מעטות, בעיקר הקטנות שבהן, נוערו ונפלו אל הדף יחד עם הגלמים (והוחזרו לשתיל). חזרנו על הנייעור מספר ימים מאוחר יותר כדי להוציא זכרים שלא נפלו בפעם הקודמת וכאלה שהתגלמו באיחור. כך התקבלה אוכלוסייה של נקבות בתולות בלבד.



תמונה 5.
נקבה בדרגה II 16 ימים לאחר
הבקיעה (ימין) וזכרים בני אותו
גיל לפני התגלמות (שמאל)

כשהנקבות בגיל 30-33 ימים ונראו נשלים רבים בין הענפים (נשל שלישי - סימן לבגרות מינית, כפי שמתואר בפרק א'), הן נאספו עם מכחול לצלחת פטרי מרופדת נייר ומשם הועברו למערכת איסוף. מכל שתיל נאספו כ-300 נקבות. רוב השתילים נותרו במצב של קמילה חלקית כתוצאה מהעקה ושימשו לגידול דור אחד בלבד, מאחר שלא עמדו בנשיאת דור נוסף וקמלו עוד לפני שהזחלים הפכו לבוגרים. בדרך-כלל נותרו על השתיל כמה עשרות נקבות שהתפתחו לאט ועדיין לא הגיעו למשקל של נקבה בוגרת. את אלה השארנו על הצמח ואספנו שבוע או שבועיים מאוחר יותר, לשימוש במחזור הבא של איסוף פרומון, או לריבוי.

מערכת לאיסוף נדיפים

מערכת האיסוף היא צינור זכוכית באורך 30 ס"מ וקוטר 10 ס"מ עם פתחי צוואר בקבוק בשני הצדדים. מצד כניסת האוויר מחוברת צינורית ששקועה בכלי עם מים. האוויר הזורם פנימה עובר דרך מסנן פחם ודרך המים שבכלי, ונכנס למערכת מטוהר ולח. בצד היציאה פועלת משאבה שמושכת אוויר החוצה דרך קולונה עם חומר סופח Porapak Q, שקושר מולקולות נדיפים. לאחר האיסוף ממצים את תכולת הקולונה במעבדה כימית ע"י שטיפה בהקסאן או פנטאן. הנוזל המתקבל הוא מיצוי אווירת הנקבה הכולל את הפרומון הגולמי.

בעת איסוף הפרומון הנקבות נמצאות בתוך צינור הזכוכית כשהן מקובצות על פיסות נייר סינון, בכל איסוף בין 1,000-2,000 נקבות. האיסוף נמשך יומיים ולא יותר כי נקבות רבות לא שרדו ללא מזון זמן ממושך יותר. נמנענו מלהכניס צמח פונדקאי למערכת כדי לקבל מיצוי עם חומרים נדיפים מעטים ככל האפשר. נדיפים של ברוש דומיננטיים וממסכים נדיפים אחרים על סקאלת מכשיר ה-GC.

לאורך כל תקופת העבודה אספנו פרומון מ-50,000 נקבות, אבל התקבל ריכוז מזערי שלא הספיק לבידוד במעבדה הכימית. נדיפי הברוש דומיננטיים ומאפילים על הפרומון גם בעת הפעלת מערכת עם כנימות ללא ברוש במערכת. מקור נדיפי הברוש כנראה בשיירים זעירים של עלים ואולי הפרשות שדבוקים לכנימות.

מבחן התנהגות לזכרים

במבחן נבדקת המשיכה של זכרים לדסקית נייר ספוגה במיצוי פרומון, בהשוואה לדסקיות נייר ללא מיצוי. המבחן נערך בצלחת פטרי מזכוכית בקוטר 20 ס"מ שבה מונחות 3-4 דסקיות נייר במרחקים שווים. בדסקית אחת הספגנו באמצעות מיקרופיטה 5 µl מיצוי פרומון בהקסאן. בנוסף מונחות מספר דסקיות נייר ללא כל



תמונה 6.

זכרים שנמשכו לדסקית נייר הספוגה מיצוי פרומון

טיפול כביקורת. באיסופים שערכנו, 5 µl שווה ל-0.5 עד 1 FDE (Female Day Equivalent). FDE מחושב כך: מס' הנקבות במערכת X מספר ימים של איסוף, מחולק בכמות נוזל המיצוי. לפי אופן חישוב זה, כל דסקית ספוגה בפרומון הכילה בין מחצית למלוא כמות הפרומון שמתקבלת מנקבה אחת ביום אחד.

במבחן מכניסים למרכז הזירה 20-40 זכרים בוגרים. מכסים את הכלי עם מכסה זכוכית. הזכרים מתפזרים בכלי, ולאחר 15 דקות סופרים את הזכרים שנמצאים מעל או מתחת לכל אחת מהדסקיות (תמונה 6). חוזרים על הספירה מדי 15 דקות, 10 פעמים. משך המבחן ¼ 2 שעות.

האם יש סינרגיזם של פרומון המין ונדיפי הצמח הפונדקאי

כדי לבדוק האם הצמח הפונדקאי עשוי להשפיע על החרק שחש ומגיב לפרומון, כלומר את תרומתם של נדיפי הברוש במשיכת זכרים לנקבה, אספנו שוב נדיפים של נקבות בתולות, והפעם יחד עם שתיל ברוש. התוכנית הייתה להשוות את רמת המשיכה של זכרים לשני סוגי המיצוי – זה עם נקבות בלבד וזה עם נקבות יחד עם צמחי ברוש.

לאיסוף זה השתמשנו במערכת איסוף אחרת מזו ששימשה לנקבות בלבד. המערכת שמכילה שתיל ברוש עם אוכלוסיית נקבות עליו, בנויה ממכל זכוכית בגובה 50 ס"מ עם שני פתחים לכניסה ויציאה של אויר. בצד היציאה פועלת אותה משאבה ונמצאת אותה קולונה של סופח, שתוארו במערכת הראשונה. כאשר הנקבות נמצאות על הפונדקאי וממשיכות להיזון, אפשר להפעיל את המערכת מספר ימים רצופים. בנוסף לאיסוף נדיפי נקבות יחד עם פונדקאי, ערכנו עוד מספר איסופים לביקורת: עם מערכת המכילה נייר סינון בלבד, וכן איסופים של נדיפי שתיל ברוש ללא נקבות, כדי להשוות למערכת צמחי הברוש עם נקבות.

התארכות גדילי שעווה של הזכר

אספנו גלמים מאוכלוסיות קמחית על שתילי ברוש והעברנו אותם לצלחות פטרי למעקב. אחרי הגיחה עקבנו אחר התארכות הגדילים עם הזמן: 5-10 שעות מהגיחה, 16-24 שעות ו-48 שעות. מכל קבוצה אספנו כ-20 זכרים.

גיל הזכר ותגובה לפרומון המין

ערכנו מבחני התנהגות לתגובה לפרומון כפי שתואר בפרק הקודם, ב-4 צלחות פטרי גדולות. בכל צלחת דסקית נייר ספוגה ב-5 µ תמיסת פרומון. חילקנו את הזכרים ל-4 קבוצות-גיל (10, 20, 30, 40 שעות), ובדקנו את תגובותיהם למיצוי פרומון. מספר הזכרים בקבוצה נע בין 30 ל-35.

גיל הזכר ופעילות מינית

נאספו 100 גלמים חיוניים. מתוכם אספנו 3 קבוצות של 20 זכרים: 5-10 שעות לאחר הגיחה עם גדיל 20% מאורך מלא; 16-24 שעות לאחר הגיחה עם גדיל בינוני 50% מאורך מלא; ו-48 שעות לאחר הגיחה עם גדיל באורך מלא.

כל זכר נחשף ל-2 נקבות בתולות בצלחת פטרי קטנה, 35 מ"מ (קבלת נקבות בתולות תוארה בפרק ב'). כאשר זכר מקבוצת הניסוי (A-C) לא הזדווג, הוא הוחלף בזכר ביקורת עם גדיל מלא כדי לבדוק את הרצפטיביות של הנקבה. כל הנקבות היו רצפטיביות, כך ששיעור ההזדווגות משקף את שיעור ההזדווגות של אוכלוסיית הזכרים. לאחר ההזדווגות הועברו הנקבות לכלוב פלסטיק (15x15x10 ס"מ) ועקבנו אחר הטלה.

נתוח התוצאות

הבדלים בין ממוצעים נבחנו במבחן שונות חד כיווני ANOVA בפרוצדורת GLM (SAS 2002). ערכי הממוצעים עברו טרנספורמציה ל- \arcsin לפני ניתוח השונות. ניתוחים לבדיקת מובהקות בין הממוצעים נערכו על פי מבחן Student-Newman-Keuls (SNK) test, ועל פי מבחן Tukey Cramer ($P=0.05$).

III. תוצאות

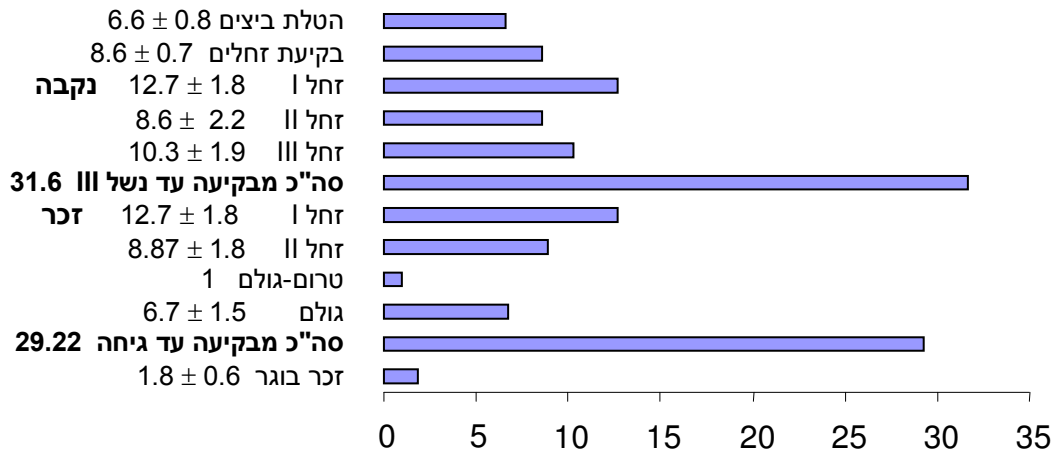
א. משך התפתחות ופוריות

משך התפתחות

הנקבות מטילות בכל חלקי השתיל, ובעיקר מצטופפות בחלק העליון של הגזע והענפונים הסמוכים. הטלה נמשכת 5-7 ימים שבמהלכם הנקבה לא זזה ממקומה. בטרם הסתיימה ההטלה מתחילים לבקוע הזחלנים הראשונים (תמונה 7). במשך 4-6 ימים בוקעים רוב הזחלנים, ועוד מעטים בימים שאחרי כן. הזחלנים לא מתרחקים מהתטולה והם משוטטים סביבה.

משך התפתחות הזחלים

בשלב הזחלן לא ניתן להבחין בין זכרים ונקבות. לקראת הנשל השני ניכרים הבדלים – הזכרים מאורכים וכהים יותר. לנקבות צבע ורוד בהיר וצורתן סגלגלה. הן מתנשלות בשנית 19-20 ימים לאחר הבקיעה. לאחר כ-10 ימים נוספים הן מתנשלות בפעם השלישית, ומספר שעות לאחר מכן מזדווגות הנקבות הראשונות. כ-16 ימים לאחר הבקיעה ראשוני הזכרים נודדים ומחפשים מקום להתגלם. הם מתקבצים בין ענפים ועלים יבשים וטווים פקעת לבנה קלושה (תמונה 8). לאורך תקופת הגולם מצטברים 3 נשלים בפקעת של זכר אחד. בתמונה 9 גולם שהשלים את רוב התפתחותו והכנפיים ניכרות מבעד לפקעת. הזכרים יוצרים פקעות בטווח של 16-35 ימים לאחר הבקיעה.



איור 3. משך דרגות התפתחות של קמחית הברוש (ימים) ± S.D. בטמפ. 24°C



תמונה 9. גולם לפני גיחה



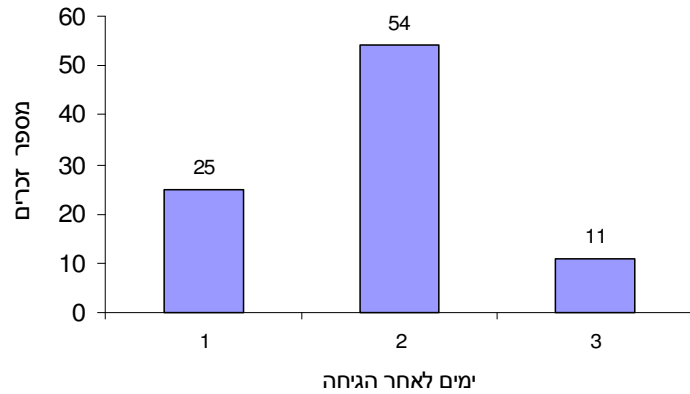
תמונה 8. זכר מתגלם



תמונה 7. זחלנים בוקעים

משך חיי זכר בוגר

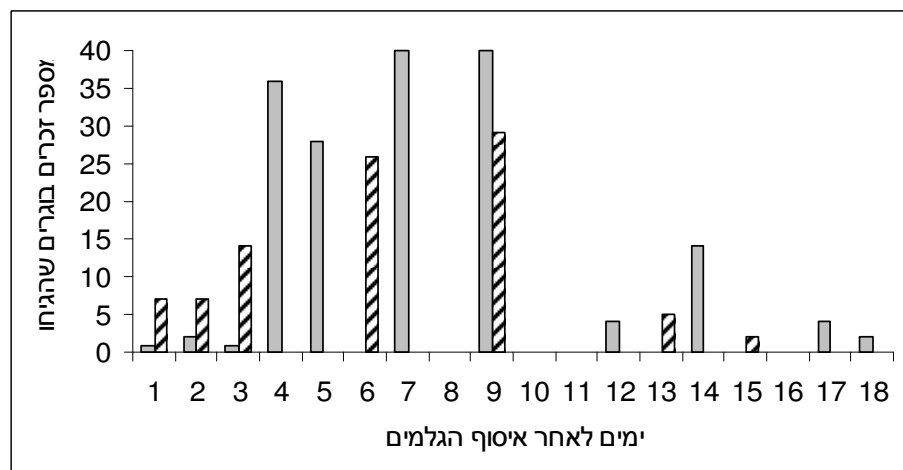
משך חיי זכר בוגר 1-3 ימים. 60% מהזכרים חיים 2 ימים, 27% חיים יום אחד ו-12% חיים 3 ימים. משך חיים ממוצע של זכר בוגר: 1.8 ± 0.6 ימים.



איור 4. משך חיי זכר בוגר.

מהלך גיחה של הזכרים

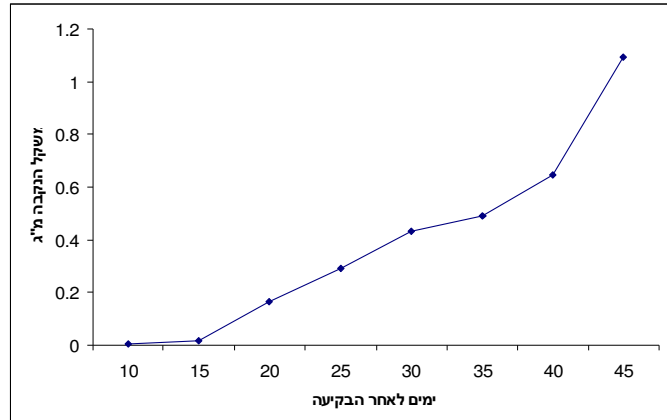
הזכרים מגיחים החל מ-28-29 ימים לאחר הבקיעה, בסמוך למועד הבגרות המינית של הנקבות. הגיחה נמשכת כ-10 ימים. אחרי כן מגיחים זכרים בודדים מספר ימים נוספים. באיור 5 נראית תבנית גיחה של שתי אוכלוסיות סינכרוניות. במשך מספר ימים הזכרים מגיחים ברציפות, ולאחר 10 ימים היא נפסקת כמעט בפתאומיות.



איור 5. מהלך גיחה של שתי אוכלוסיות אחידות-גיל (סינכרוניות).

עקומת גדילה של הנקבה

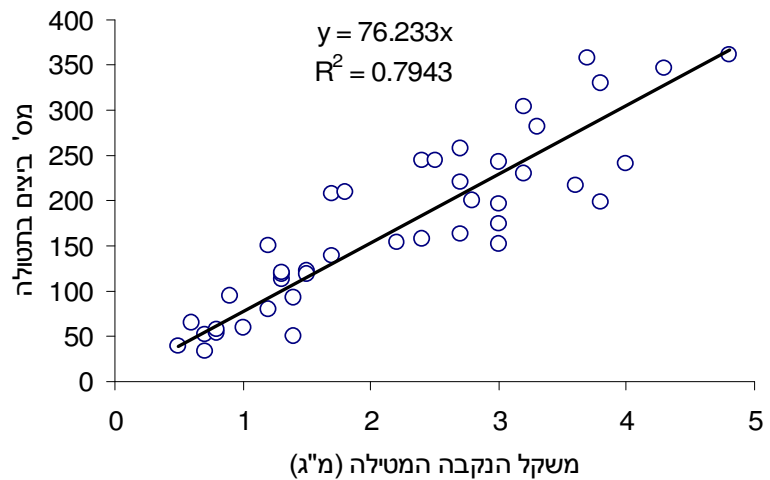
ב-15 ימים ראשונים לאחר הבקיעה, עדיין קשה להבחין בין העלים בזחלנים הזעירים שמשקלם מיקרוגרמים בודדים. במהלך דרגת הזחל השני כבר נראים לעין הזחלים. בשלב זה, כאשר הזכרים מפסיקים להיזון ונכנסים לשלב הגולם (תמונה 8) הנקבות ממשיכות להיזון וקצב עלייתן במשקל מואץ.



איור 6. עקומת גדילה של נקבות עד 45 ימים לאחר הבקיעה.

מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה

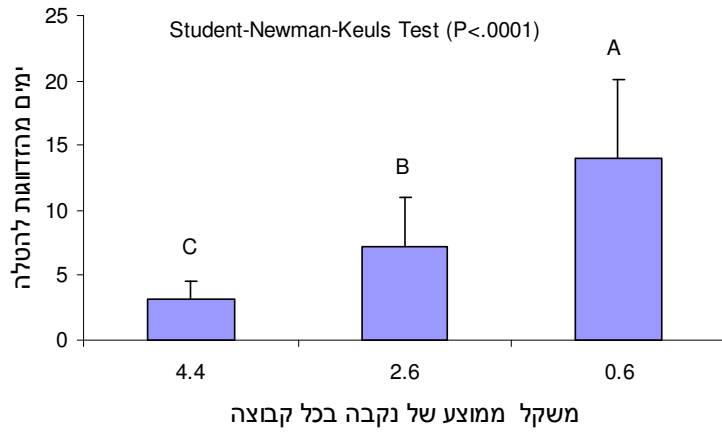
נמצא מתאם חיובי בין משקל הנקבה המטילה ובין מס' הביצים בתטולה שלה, כאשר $R^2 = 0.7943$. מכאן שהנקבות הגדולות הן הפוריות ביותר.



איור 7. מתאם בין משקל הנקבה המטילה ומס' הביצים בתטולה.

קשר בין מועד הזדווגות והטלה

כשהנקבה מזדווגת בסמוך לנשל השלישי, משך הזמן בין הזדווגות להטלה ארוך. כשנקבה מזדווגת בגיל מאוחר יותר, מתקצר משך הזמן בין הזדווגות להטלה. ההבדלים בין משכי הזמן ב-3 קבוצות הגיל, מובהקים. (ממוצעים שנושאים אות שונה נבדלים באופן מובהק $P=0.05$).

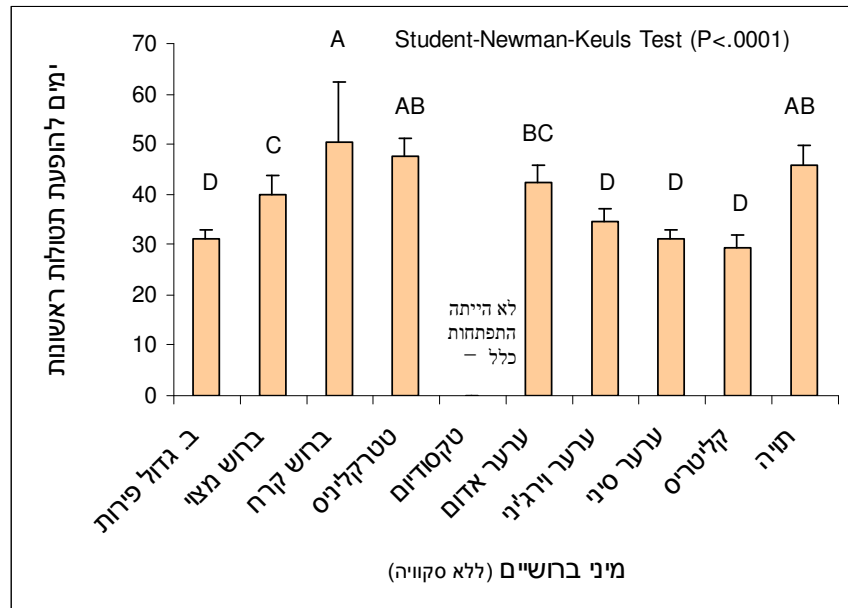


איור 8. משך זמן בין הזדווגות להטלה (ימים) בנקבות שהזדווגו בגילאים שונים. הקבלת המשקל לגיל: 0.6 מ"ג – 35 ימים. 2.6 מ"ג – 45 ימים. 4.4 – 50 ימים.

ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש

משך התפתחות מבקיעה עד הטלות ראשונות באוכלוסייה

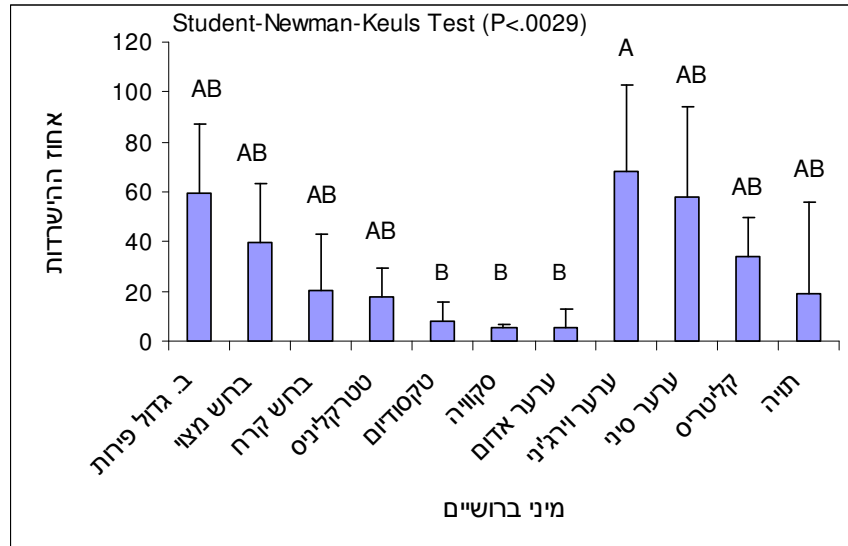
משך ההתפתחות נבדל בין שלוש קבוצות של פונדקאים. ההתפתחות הארוכה ביותר (42.5-50.3 ימים) נרשמה על ברוש קרח, טטרקליניס, תויה, ועל ערער אדום שלא נבדל מהקבוצה השנייה. קבוצה שנייה כוללת מין אחד, ברוש מצוי (39.7 ימי התפתחות). ההתפתחות המהירה ביותר (29.5-34.7 ימים) התקבלה על ברוש גדול-פירות, ערער סיני, ערער וירג'יני, ערער קליטריס.



איור 9. משך התפתחות מבקיעה עד הטלות ראשונות באוכלוסייה של קמחית הברוש בעצים מעשרה מיני ברושיים. (ממוצעים שנושאים אות שונה נבדלים באופן מובהק $P=0.05$).

אחוז הישרדות של נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה

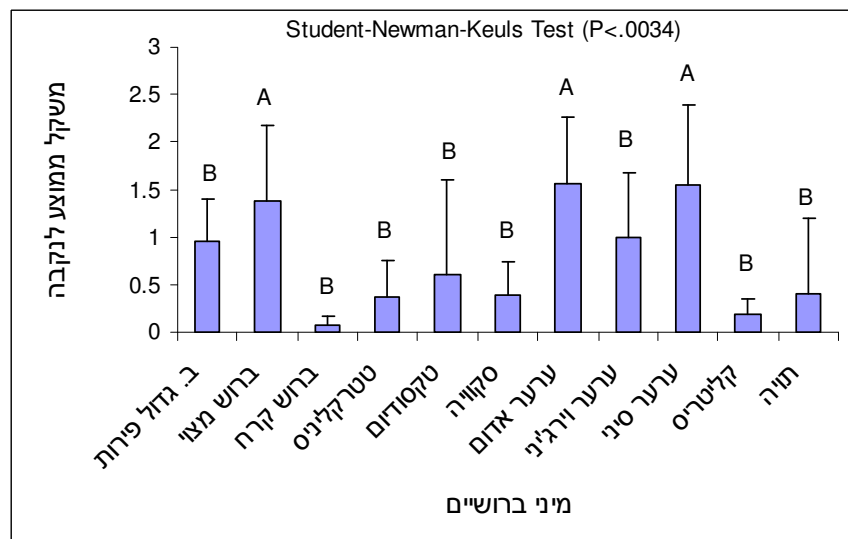
נרשמו הבדלים ניכרים באחוזי הישרדות על פונדקאים שונים. אך עם זאת גם השונות בתוך הפונדקאים הייתה גבוהה. בערער וירג'יני אחוז הישרדות הגבוה ביותר – 68.2%, ובערער אדום, סקוויה וטקסודיום אחוזי הישרדות הנמוכים ביותר (5.7%-8).



איור 10. אחוז הישרדות ממוצע (± SD) של נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה. (ממוצעים שנושאים אות שונה נבדלים באופן מובהק $P=0.05$).

משקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה

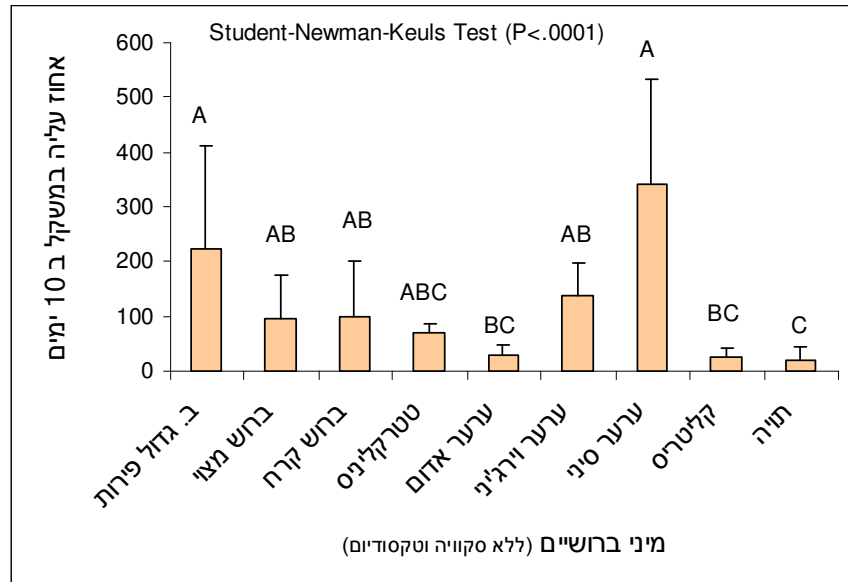
נראים הבדלים ניכרים במשקל הנקבות. השונות בתוך הפונדקאים גבוהה ושתי קבוצות נבדלות זו מזו באופן מובהק: משקל גבוה של הנקבות התקבל בברוש מצוי, ערער אדום, ערער סיני (בין 1.37-1.56 מ"ג). משקל נמוך יותר התקבל בברוש גדול פירות, ברוש קרח, טטרקליניס, טקסודיום, סקוויה, ערער וירג'יני, קליטריס וותיה (בין 0.07-0.99 מ"ג).



איור 11. משקל הנקבות 35 ימים לאחר בקיעה.

תוספת משקל של נקבות בוגרות שהתפתחו על ברוש גדול פירות והועברו לפונדקאי למשך 10 ימים

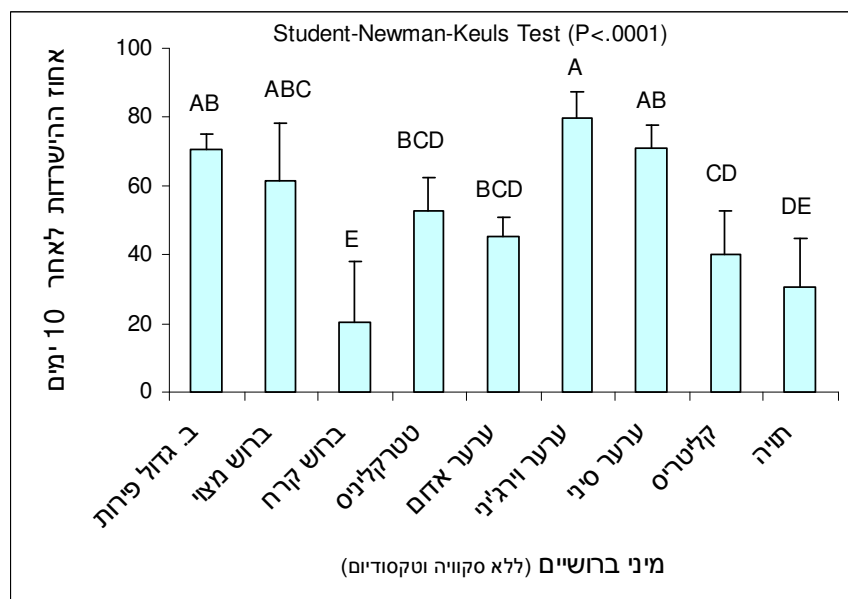
בתוספת המשקל נראו הבדלים גדולים בין הפונדקאים והיא נעה בין 20% בתויה ו-319% בערער סיני. שתי קבוצות מראות הבדלים מובהקים זו מזו: תוספת משקל גבוהה ביותר בברוש גדול פירות וערער סיני (142% ו-319% בהתאמה). תוספת משקל נמוכה ביותר בערער אדום, קליטריס ותויה (20%-31%).



איור 12. אחוז תוספת משקל של נקבות שהועברו משתיל המוצא אל הפונדקאי ושהו בו 10 ימים. (ממוצעים שנושאים אות שונה נבדלים באופן מובהק $P=0.05$).

אחוז הישרדות של נקבות בוגרות שהתפתחו על ברוש גדול פירות והועברו לפונדקאי למשך 10 ימים

אחוז ההישרדות נע בין 15% בסקוויה ו-79% בערער וירג'יני. קבוצות שנבדלות זו מזו באופן מובהק: אחוז הישרדות גבוה ביותר בערער וירג'יני (79%), אחוז הישרדות בינוני-נמוך בטטרקליניס, ערער אדום, קליטריס (40%-52%), ואחוז הישרדות הנמוך ביותר בברוש קרח (21%).



איור 13. אחוז הישרדות של נקבות שהועברו משתיל המוצא אל הפונדקאי ושהו בו 10 ימים.

אינדקס להתאמת פונדקאים

בשקלול התוצאות התקבל הדירוג המתואר בטבלה 2: ערער וירג'יני, ערער סיני וברוש גדול פירות בדירוג הגבוה ביותר (1.92-2.88). ברוש קרח, סקוויה וטכסודיום בדירוג הנמוך ביותר (0.0-0.028)..

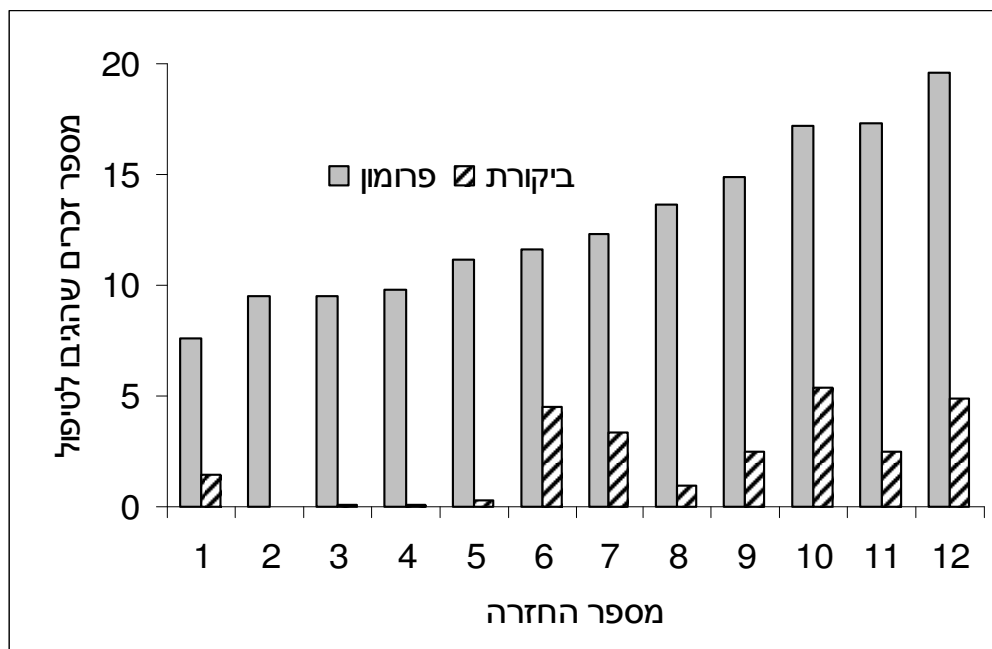
טבלה 2. מדד התאמת הברושיים שנבחנו על פי אינדקס HSI (Lynch et al 1981).

הפונדקאי	Host Suitability Index
ברוש גדול פירות	1.92
ברוש מצוי	1.37
ברוש קרח	0.028
טטרקליניס	0.14
טכסודיום	0.0
סקוויה	0.0
ערער וירג'יני	2.12
ערער סיני	2.88
ערער אדום	0.4
קליטריס	0.19
תויה	0.16

ג. שאלת קיומו של פרומון המין ותגובת הזכר אליו

שאלת קיומו של פרומון המין

המיצוי מאיסופי אווירת הנקבות עורר תגובה ברורה של הזכרים, כאשר לדסקיות הביקורת הייתה תגובה פחותה בהרבה, אם בכלל. נמצאו הבדלים מובהקים בין הטיפולים ($F_{1,22} 683.7, P < 0.0001$). מספר הזכרים הממוצע לטיפולים של מיצוי אווירת נקבות בלבד 12.8, כשעל דסקיות הביקורת היו בממוצע 2.2 זכרים לדסקית.



איור 14. שתיים עשרה חזרות לבחינת תגובת זכרים למיצויי פרומון מין, שנאספו ונבחנו במועדים שונים.



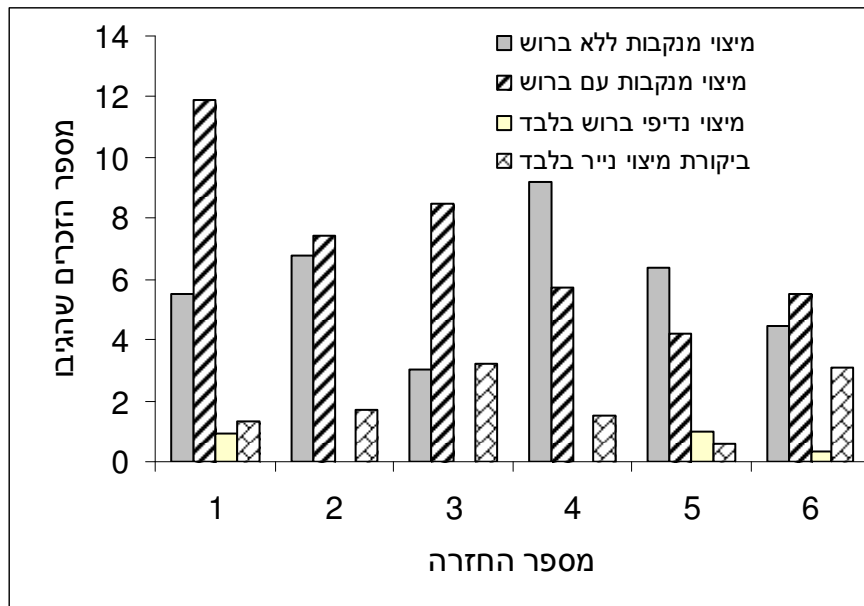
תמונה 10. זכרים על דסקית פרומון במבחן התנהגות. המחושים בזווית 45° לגוף.

האם קיים סינרגיזם של פרומון ונדיפי הצמח

גם המיצוי מאיסופים של נקבות ביחד עם שתיל ברוש עורר תגובה טובה מהזכרים. הזכרים נמשכים למיצוי פרומון עם נקבות ולמיצוי עם נקבות יחד עם ברוש, ואינם נמשכים למיצוי ביקורת מהברוש והנייר בלבד. נראים כאן הבדלי התגובה של זכרי קמחית הברוש במערכת זירות של צלחות פטרי בהן ניתן להם לבחור בין דסקית הספוגות במיצוי הפרומון, מיצוי הפונדקאי (אווירת שתילי ברוש), מיצוי של אווירת כנימות יחד עם שתילי הפונדקאי ולבין 2 דסקיות ביקורת.

נמצאו הבדלים מובהקים בין הטיפולים ($F_{3,20} 18.2, P < 0.0001$).

מספר הזכרים הממוצע לטיפולים של מיצוי אווירת נקבות בלבד 5.9, ומיצוי של אווירת פונדקאי ונקבות 7.2 זכרים לדסקית, לא נבדלו ביניהם, אך נבדלו באופן מובהק משני הטיפולים האחרים, מיצוי אווירת פונדקאי בלבד, וביקורת ללא נדיפים, 0.37 ו-1.90, זכרים לדסקית בהתאמה (LSMeans Differences Tukey HSD,) $(P=0.05)$.



איור 15. שש חזרות לתגובת זכרים למיצויים מנקבות עם ובלי ברוש.

בהמשך ערכנו מבחן נוסף שמטרתו לבדוק אם הזכרים נמשכים למרכיב הברוש כאשר אין מעורבות פרומון המין: טבלה 3. מספר ממוצע של זכרים בדסקית ספוגה במיצוי ברוש בלבד לעומת נייר ביקורת. אין הבדל מובהק בין הממוצעים $F_{2,6} 2.0365, P < 0.2113$

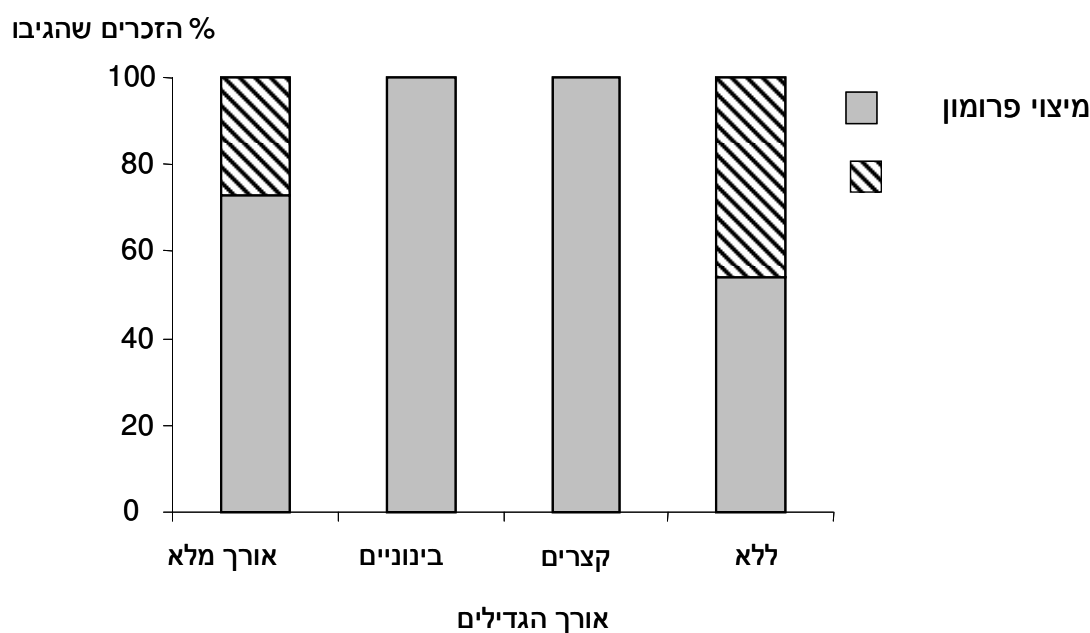
חזרה מס.	ברוש בלבד	ביקורת נייר 1	ביקורת נייר 2
1	1.5	2.6	1.8
2	2.5	2.1	2.3
3	1.0	4.8	0
ממוצע:	1.67	3.17	1.37

התארכות גדילי שיעור

נראית התארכות קבועה של הגדילים בכל הזכרים. 5-10 שעות לאחר הגיחה, הגדילים מבצבים ומגיעים ל-10-20% מאורכם הסופי. 16-24 שעות לאחר הגיחה הם מגיעים ל-40-60% מאורכם הסופי. 48 שעות לאחר הגיחה נראו הגדילים במלוא אורכם.

גיל הזכר ותגובה לפרומון המין

הזכרים עם גדיל קצר ובינוני התגודדו כולם על מיצוי פרומון. זכרים ללא גדיל הראו משיכה חלקית. בזכרים עם גדיל ארוך, המבוגרים ביותר, ניכרה "עייפות" מסוימת והתגובה הייתה חלשה יותר.



איור 16. תגובת זכרים למיצוי פרומון ב-4 קבוצות גיל של זכרים, באורכי גדיל שונים.

גיל הזכר ופעילות מינית

נמצא שבכל גיל הזכרים מגיבים לפרומון המין של הנקבה. תגובה חלקית נרשמה בזכרים הצעירים והמבוגרים ביותר. שיעור ההטלה של הנקבות היה 75-80%. הנקבות הראו כושר משיכה כשזווגו לאחר המפגש עם זכר אחר, כך ששיעור הנקבות שלא הטילו הוא למעשה שיעור הזכרים שלא הזדווגו.

טבלה 4. אחוז זכרים שהזדווגו בקבוצות עם אורכי גדיל שונים.

גדיל ארוך אורך מלא	גדיל בינוני 50% מאורך מלא	גדיל קצר 20% מאורך מלא	
0%	10%	10%	% שהראו התנהגות חיזור
90%	0%	0%	% שהזדווגו

IV. דיון

א. משך התפתחות ופוריות

משך התפתחות הזחלים

נקבת קמחית הברוש מגיעה לנשל שלישי ובגרות מינית בתום 31.6 ימים בממוצע, בטמפ. 24°C . משך התפתחות זה ארוך יותר מזה של קמחית ההדר שהוא כ-21 ימים ב"טמפרטורת החדר" (Gray 1954). סיבה אפשרית לפער במשך התפתחות היא התזונה השונה של הקמחיות. קמחיות הניזונות מפירות פוריות יותר מקמחיות הניזונות מעלים (Bodenheimer 1951). פירוש הדבר שהן עולות במשקל מהר יותר (ראה איור 5 המראה מתאם בין משקל ופוריות), ותוצאה אפשרית היא זירוז התפתחותן.

על-פי תוצאות ניסויי התאמת הברושיים, משך ההתפתחות משתנה בפונדקאים השונים של קמחית הברוש. בתויה מזרחית, טטרקליניס וברוש קרח, הנקבה מגיעה לנשל שלישי ובגרות מינית בתום 45-50 ימים. בברוש גדול פירות, שהוא הפונדקאי המשמש לניסוי משך ההתפתחות, הנקבה מגיעה לנשל שלישי בתום 31 ימים. אבידב (תשכ"א) מציין שמשך התפתחות זכר קמחית ההדר קצר מעט מזו של הנקבה, ואילו Gray (1954) מצא שהנקבה מקדימה את הזכר ומגיעה לבגרות מינית יום לפני מועד הגיחה שלו. בתצפית כאן זכר קמחית הברוש מקדים את הנקבה ומגיע 29.22 ימים בממוצע לאחר הבקיעה. יתכן שבתיאום מועדי הבגרות המינית בין הזכר והנקבה יש תחום מסוים של שונות בין אוכלוסיות.

משך חיי זכר בוגר

הזכרים חיים בין 1 ל-3 ימים, ובממוצע 1.8 ± 0.6 . משך חיי זכר קמחית ההדר שדווח ע"י Gray (1954) 4-7 ימים, ועל-פי טאובר (1987) 51.5 שעות, שהן מעט יותר מיומיים. יתכן שמשך חיי הזכר מושפע מתנאים כמו טמפרטורה, לחות, רוח, או אם הזדווג או לא (Ito 1938).

מהלך גיחה של הזכרים

גיחת הזכרים באוכלוסיה מתחילה 28-29 ימים לאחר הבקיעה, בסמוך למועד הנשל השלישי של הנקבות שאז הן מגיעות לבגרות מינית. רוב הזכרים מגיחים ב-10 ימים הראשונים לאחר הגעת הנקבות לבגרות מינית, שהיא התקופה שבה נקבות כנימות מגן נמצאו אטרקטיביות ביותר לזכרים (Tashiro and Moffit 1968).

עקומת גדילה של הנקבה

נקודת הזמן באמצע דרגת הזחל השני (ראה תמונה 2 בעמ' 28) שבה משקל הנקבה מתחיל לעלות משמעותית, מתוארת באופן דומה על-ידי Gray (1954) בקמחית ההדר: כ-14 ימים לאחר הבקיעה הזכר מפסיק להיזון ומתחיל ביצירת פקעת גולם; והנקבה, שהגיעה למשקל 50 מיקרוגרם באותם 14 ימים, מוסיפה למשקלה עוד 200 מיקרוגרם ב-6 ימים בממוצע.

נקבת קמחית הברוש המגיעה לבגרות מינית שוקלת כ-0.45 מ"ג. המשקל מוסיף לעלות מספר שבועות נוספים. בכל אחת מהאוכלוסיות הנצפות נראו נקבות שהגיעו במהלך שבועות אלה למשקל של 3-4 מ"ג, ואז צבען השתנה לאפור.

קצב תוספת משקל בקמחית הברוש איטי מזה של קמחית ההדר, וכפי שנזכר קודם לכן, הפוריות (שהמשקל משקף אותה, ראה איור 5) גבוהה יותר בחרקים הניזונים מפירות (Bodenheimer 1951).

מתאם בין משקל ומס' ביצים בתטולה

המתאם החיובי שנמצא בין משקל ופוריות, מאפשר להשתמש במשקל הנקבה כמדד לפוריות בניסויים ותצפיות. מתאם דומה לזה נמצא בקמחית *Ps. Maritimus* על-ידי Grimes and Cone (1985) שציינו גורם נוסף שעשוי להשפיע על הפוריות - מידת החשיפה לזכרים. באותו מאמר עצמו ניתנות אינדיקציות המצביעות על הפחתה באטרקטיביות של נקבות זמן קצר לאחר הזדווגות.

אם שתי ההנחות נכונות: 1. חשיפה מרובה לזכרים משפרת פוריות, ו-2. הנקבה מאבדת אטרקטיביות זמן קצר אחרי הזדווגות (24 שעות על-פי Tashiro and moffit (1968) בכנימה הקליפורנית האדומה) - אם כן אז נקבה שתספיק להיחשף למספר זכרים בתוך פרק הזמן הקצר הזה, תשפר את פוריותה.

קשר בין מועד הזדווגות להטלה

משך הזמן עד להטלה מתקצר משמעותית עם עלייה בגיל ההזדווגות, כשההבדלים מובהקים בין קבוצות שהזדווגו לראשונה בגילאים שונים. עם זאת, הנקבות מגיעות להטלה באותו גיל בקירוב. אם נקבה מזדווגת לראשונה בגיל 35 ימים ומטילה כעבור 14 ימים, ונקבה אחרת מזדווגת לראשונה בגיל 50 ימים ומטילה כעבור 3 ימים, הרי ששתייהן הטילו בסביבות גיל 50 ימים בממוצע. בסופו של דבר גיל ההטלה הממוצע דומה, אם כי השונות רבה יותר. באוכלוסייה אחידת-גיל נראות בזמן של כ-50 ימים לאחר הבקיעה קבוצות צפופות של נקבות מטילות, לעתים זו על גבי זו.

יש היגיון בכך שישנו גיל אופטימאלי להטלה; כפי שראינו יש מתאם חיובי בין משקל לפוריות (איור 5), וכדי להטיל מספר רב של ביצים הנקבה צריכה להמשיך ולהעלות די משקל. גורמים חיצוניים שעשויים לגרום להטלה מוקדמת – ניתוק נקבה ממצע המזון (תצפית במעבדה); פונדקאי לא מתאים בקמחית ההדר (Bodenheimer 1951).

ב. התאמת פונדקאים ממשפחת הברושיים לקמחית הברוש

קיימת שונות תוך-מינית רבה ברגישות של פונדקאים מאותו מין לכנימות מגן. Edmunds and Alstad (1978) הסבירו את השונות עם היפותזת ה-demes: מתקיימת סלקציה על-פני דורות של אוכלוסיות כנימות המותאמות יותר ויותר לפרט פונדקאי מסוים. סלקציה כזאת יוצרת אוכלוסיות די מבודדות, או demes, שהתאמתן לפונדקאים אחרים מאותו מין הולכת ופוחתת.

במינים תויה מזרחית, ערער אדום וטטרקליניס, פרטים מסוימים הראו עמידות – אנטיביוזיס – כמעט או ממש מוחלטת, ואחרים אפשרו קיום לחלק קטן מהאוכלוסייה.

בשאר המינים של ברוש וערער נראתה שונות תוך-מינית מעטה בהתאמה לקמחית. ברוש גדול-פירות, ערער וירג'יני וערער סיני נראים כפונדקאים נוחים במיוחד לקמחית, ותוצאה זו הזכרה במחקר קודם (Mendel & Blumberg 2002). אלה מינים שטווח התפוצה שלהם אינו חופף את זה של קמחית הברוש (ראה טבלת הפונדקאים במבוא) ויתכן שנחשפו אליה רק במאה השנים האחרונות, מה שעשוי להסביר העדר מנגנוני הגנה.

אזורי המוצא הגיאוגרפיים של מיני הברושיים עשויים להיות משמעותיים בהבנת היחסים שלהם עם קמחית הברוש. חפיפה במוצא ותפוצה של חרק וצמח עשויה להעיד על הסתגלות ארוכה ביחסיהם. חפיפה כזאת קיימת בין קמחית הברוש וברוש מצוי.

אחוזי הישרדות ותוספת משקל 35 ימים לאחר הבקיעה

באחוזי הישרדות של נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה, לא נמצאו הבדלים מובהקים בין רוב המינים הנבדקים (איור 8). ההבדלים בין ממוצעי המינים גדולים אבל השונות גבוהה, ולכן רק שתי קבוצות נבדלו זו מזו באופן מובהק: בערער וירג'יני אחוז הישרדות גבוה ביותר, ובערער עדום, סקוויה וטקסודיום אחוזי הישרדות נמוכים ביותר.

במין ערער אדום, אחוז הישרדות מבקיעה ועד גיל 35 ימים הוא 11% בממוצע. ועם זאת, הנקבות שנתרו התפתחו, הגיעו לבגרות ולהטלה ומשקלן היה הגבוה ביותר: 1.56 מ"ג (איור 9). Saxena (1969) מציין שישה שלבים שמביאים להתבססות חרק בצמח פונדקאי, ומסביר ששלבים אלה אינם קשורים לתהליכים המעורבים בצריכת מזון והזנה של החרקים. אי-קשר כזה נראה במפגש בין קמחית הברוש והפונדקאי ערער אדום: אחוזים נמוכים של התבססות, ומצד שני עליה רבה במשקל הזחלים.

משקל נקבות 35 ימים לאחר הבקיעה

ברוב מיני הברושיים ישנה הקבלה בין אחוזי הישרדות ותוספת המשקל, כלומר אם אחוזי הישרדות גבוהים, כך גם המשקל. עם זאת, כפי שבמקרה של ערער אדום ראינו הישרדות נמוכה לצד משקל גבוה, יש מקרה הפוך שבו בברוש גדול-פירות הישרדות גבוהה, ואילו המשקל נמצא בקבוצת המשקל הנמוך, אם כי הממוצע בינוני באופן יחסי לשאר המינים. תוצאה זו משקפת סוג של שגשוג, כאשר השתיל נראה כמאוכלס בצפיפות בנקבות לא-גדולות, וזאת בשונה מהמראה של שתיל כמו ברוש מצוי או ערער אדום, שמראהו כמאוכלס לא בצפיפות רבה, אבל בנקבות גדולות מאוד. המשקל הבינוני בברוש גדול פירות עשוי להיות תוצאה של הצפיפות הגבוהה, המביאה לתחרות על מזון, מרחב מחיה ומקומות מסתור.

תוספת משקל של נקבות בוגרות שהועברו לפונדקאי למשך 10 ימים

הפונדקאים שבהם נראתה תוספת משקל רבה ביותר – ברוש גדול פירות וערער סיני. תוספת משקל הנמוכה ביותר בערער אדום, קליטריס ותויה, עם הבדלים מובהקים בין שתי הקבוצות. תוצאות אלה המשכיית לתוצאות אחוזי הישרדות, משך התפתחות ומשקל, מלבד בערער אדום שבו הייתה עליה במשקל בניסוי בין הנמוכות ביותר מבין הפונדקאים, בניגוד לעליה גבוהה במשקל של הזחלנים שהתפתחו בו מהבקיעה. התוצאות מצביעות על הבדל בין עמידות לנקבות בוגרות שהגיעו מפונדקאי אחר, ובין עמידות לזחלנים שהתפתחו עליו מהבקיעה.

בפונדקאי ברוש מצוי תוצאות הניסויים חזרו על עצמן במידה דומה, והראו מעין פשרה בין החרק והפונדקאי שבה אחוז מסוים מהאוכלוסייה מצליח יפה. במהלך הניסויים השתמשנו בשתילי ברוש מצוי גם לריבוי והבחנה שמין זה מגלה סבילות – tolerance – גבוהה יחסית למין ברוש גדול-פירות, והוא עשוי לעמוד באכלוס כבד זמן ממושך ממנו בטרם יתייבש.

הפונדקאים שמיקומם בעץ הפילוגנטי (ראה במבוא) מרוחק ביותר ממיני ברוש וערער, כלומר טקסודיום וסקוויה, הראו עמידות גבוהה ביותר. אחוז הישרדות מזערי – בין 0 ל-15. אף אחת מהנקבות שאכלסו אותם לא הגיעה להטלה. למרות הקושי בהשגת שתילי ניסוי שבעקבותיו נערכו פחות חזרות של מינים אלה, התקבלה תמונה ברורה שלפיה אינם בגדר פונדקאים לקמחית הברוש. גם אם מצליחים פרטים בודדים של קמחית הברוש להיזון

ולשרוד עליהם, הם אינם מגיעים לידי התרבות. Saxena (1969) מצא, שמצעי מזון מסוימים מאפשרים לחרק לעלות במשקל אבל מעכבים התנשלות וגלגול. ומאחר שהתבססות של חרק בצמח תלויה ביכולתו להגיע לשלב בוגר ולא תלויה במשקל בלבד, אז יכולת זו היא קריטריון טוב יותר להתאמה מאשר המשקל.

אינדקס HSI

תוצאות החישוב בטבלה 1 משקפות את מידת ההתאמה המשוקללת של הפונדקאים, שמחדדת את ההבדלים המשתקפים בכל ניסוי נפרד. מתוך האינדקס עולים שלושה פונדקאים שבהם אחוזי הישרדות גבוהים בצד פוריות גבוהה ומשך התפתחות קצר – ברוש גדול פירות, ערער וירג'יני וערער סיני, שהדירוג שלהם בין 2.88-1.92. ברוש מצוי נמצא באמצע עם דירוג של 1.37, וכל שאר הפונדקאים דורגו בין 0 ל-0.4. גורם שלא נבדק כאן הוא גיל הפונדקאי. בהתפרצויות של כנימות מגן יש קורלציה חזקה בין רמת הנגיעות וגיל העץ הפונדקאי. דגימה שערכו Edmunds and Alstad (1978) ב-667 עצי אורן שנבחרו אקראית, העלתה שמתוך האורנים שגובהם פחות מ-3 מ' היו 10% עם נגיעות כבדה, ואורנים שגובהם מעל 7.5 מ' הראו 67% של נגיעות כזאת. שתילי הניסוי במחקר זה היו כולם צעירים.

ג. שאלת קיומו של פרומון המין ותגובת הזכר אליו

שאלת קיומו של פרומון מין

תגובות הזכרים למיצוי אוירה של נקבות בתולות של קמחית הברוש מאשרות את נוכחות פרומון המין בנקבה של קמחית הברוש. מיצוי שהופק מנקבות ללא מצע מזון הראה פעילות של משיכת הזכרים. התוצאה לא מפתיעה, מאחר שנמצא פרומון מין בכל כנימה קמחית דו הורית שהיבט זה נחקר בה. לאורך כל תקופת העבודה אספנו פרומון מ-50,000 נקבות, אבל התקבל ריכוז מזערי שלא הספיק לבידוד במעבדה הכימית. בשל כך נאלצנו לוותר על ניקוי ובידוד הפרומון וזיהוי הכימי-מולקולארי בשלב זה. ועם זאת, לאור הפעילות הברורה של מיצוי הפרומון הגולמי, יכולנו לבחון היבטים נוספים בביולוגיה הרבייתית של הקמחית.

סינרגיזם של פרומון המין ונדיפי הצמח הפונדקאי

המיצוי של אווירת שתילי ברוש מאוכלסים בנקבות בתולות עורר תגובה, שהיתה אף חזקה מהתגובה למיצוי במערכת עם נקבות בלבד. מבדיקת משיכתם למיצוי מברוש בלבד נסיק שהמשיכה למיצוי נקבות עם ברוש נגרמת ממשיכה למרכיב הפרומון בלבד, ונדיפים שמקורם בברוש אינם מושכים את הזכר. אין פירוש הדבר בהכרח שלנדיפי הברוש אין מעורבות במשיכת הזכר אל בית הגידול של הנקבות. יתכן שמדובר רק בהיבט של משיכה מטווח ארוך, ולא בטווח קצר שנבחן בזירת צלחת הפטרי ששימשה במערכת הניסויים.

נראה שאפשר להשתמש במיצוי הגולמי במלכודות זכרים בשדה, למטרות של ניטור או אחרות, כאשר אין להשיג פרומון מנוקה סינתטי. אפשר גם לחקור בעזרתו היבטים הקשורים בפרומון כמו שעות פעילות יומית, גיל רבייה ושיטות למעקב עם מלכודות לזכרים. לפני שבדדו וסונתזו פרמוני מין שימשו מלכודות עם נקבות בתולות לזכרים (Serrano et al (2001) מציעים, שכל עוד לא זוהה וסונתז פרומון המין של *M. hirsutus*, כדאי להשתמש בנקבות בתולות במלכודות ניטור. מדווח על שימוש כזה ב- *Ps. comstocki* מאז 1974 במטעים, משתלות וערים, אך השימוש הוגבל מחשש שנקבות שיברחו ממלכודות יאכלסו פונדקאים בסביבת המלכודת

(Bierl-Leonhardt 1981b). מיצוי גולמי של פרומון הנקבות יהווה חלופה בטוחה מבחינה זאת ונגישה, שעדיין נותר לבדוק היבטים שימושיים שלה כמו מינונים, טריות, טווח משיכה, יעילות בפונדקאים שונים וכו'. איסוף פרומון קל יותר עם במערכת של נקבות עם ברוש, מאחר שנחסכת עבודה ליקוט נקבות מבין הענפים, ודי באוכלוסיית שתיל אחד, לעומת אוכלוסיות של 3-5 שתילים שנאספו במערכת עם נקבות בלבד. בשני המקרים מתקבל מיצוי פעיל. יתרון נוסף הוא ששימוש בנקבות עם הפונדקאי הטבעי שלהן, משפר את הסיכויים לקבל פרומון על כל מרכיביו השונים. עם זאת, נוכחות מסה גדולה של נדיפי הברוש עלולה להקשות מאד על בידוד הפרומון בתוך שורה ארוכה של נדיפים המופיעים בכמויות הגדולות בכמה סדרי גודל ביחס לכמות הפרומון.

גדילי שעווה כמדד לגיל הזכר

גדילי השעווה התארכו באופן שהיה צפוי על-פי התארכות גדילי השעווה של קמחית ההדר (טאובר 1987). כך התקבל כלי שבעזרתו אפשר למיין זכרים בגילאים שונים לצורך מבחנים וניסויים, כאשר נחסכה עבודה הכרוכה במעקב לקביעת גיל הזכר.

גיל הזכר ותגובה לפרומון

במקביל לצמיחת הגדילים (המדד לגיל הזכר) משתנה תגובת הזכר לפרומון. לפני צמיחת הגדילים הזכר לא מגיב לפרומון. לאור הממצאים של טאובר (1987) לפיהם 95% מזכרי קמחית ההדר שנלכדו במלכודות פרומון נמצאו במחצית חייהם השנייה, והאפשרות שהובאה לעיל, שלגדילים יש תפקיד באיזון התעופה (Duelli 1985), יתכן שזכר ללא גדילים חסר יכולת תעופה מספקת וממילא עדיין אין לו צורך לחוש בפרומון מין, כי גם אם יחוש לא יוכל להגיע לנקבה. לאור זאת, כאשר הזכר מתחיל להצמיח גדילים, 5-10 שעות לאחר הגיחה, יתכן שהוא כבר בעל יכולת תעופה מספקת, ואז הוא מגיב היטב לפרומון המין. המתאם בין משיכה לפרומון ויכולת תעופה עשוי להיבחן ע"י ניסויי תעופה של זכרים עם אורכי גדילים שונים אל מלכודות פרומון תלויות. בהמשך לכך מעניין יהיה לבחון כושר תעופה של זכרים שהגדילים שלהם נחתכו.

גיל הזכר ופעילות מינית

על-פי תוצאות ניסוי ההזדווגות נראה שיכולת תגובה לפרומון המין, עדיין אינה מצביעה על יכולת הזדווגות. חלק קטן – 10% – מזכרים עם גדיל קצר ובינוני – מראים התנהגות חיזור שהיא אולי מעין ניסיונות מוקדמים להזדווג. רק הזכרים שהגדיל שלהם במלוא אורכו מראים כושר הזדווגות, 90% מהם.

נראה שצמיחת הגדיל מקדימה, ובעקבותיה או יחד איתה מושגת יכולת חישת פרומון מין, שמאפשרת לזכר לאתר נקבה. רק בשלב זה הוא מפתח יכולת הזדווגות.

על-פי Gullan and Kosztarab (1997), בבתי גידול של כנימות מגן יש לחץ מופחת ליכולת תעופה. זכרים בוגרים נעשו קטנים בהשוואה לנקבות ולא-ניזונים. הקטנת הגוף שמקלה על תנועה דרך עלים ואדמה, מביאה לקיצור זמן ההתפתחות, אבל יש צורך בסינכרוניזציה עם גיחת הנקבות. מכאן העדפה לשלבי "מנוחה" ללא הזנה. הרעיון הוא שהזכר "מחכה" לנקבה עד שתגיע לבגרות. בשרשרת האירועים בזכר הבוגר, מצמיחת הגדילים עד להופעת יכולת תעופה (בקמחית ההדר) וחישת פרומון ומשם להזדווגות, גם אפשר לראות מין "שעון" ביולוגי שמאפשר התרבות רק לזכרים שחיו מספיק כדי לצמח גדילים ארוכים. כי אם השערתו של Duelli (1985) בדבר איזון תעופתי שמספקים הגדילים בזכר קמחית ההדר נכונה, יתכן וזכר ללא גדילים ארוכים יתקשה בתעופה אל הנקבה.

אמנם, צמיחת הגדילים במקביל להופעת יכולת תעופה, חישת פרומון והזדווגות, אינה ראייה לכך שהגדילים הם שמאפשרים את התעופה והיכולת שבאות איתה. יתכן שהמפתח ליכולת תעופה טמון במשקל הגוף. בתיאור

של Gray (1954), הזכר של קמחית ההדר מאבד גפי פה ומפסיק להיזון בסוף הזחל השני כשמשקלו 45 מיקרוגרם. מאז ואילך הוא מאבד ממשקלו 2 מיקרוגרם ליום במשך כ-12 ימים ("בטמפרטורת החדר") עד למותו, ואז משקלו 20 מקרו"ג. יתכן שכדי לעוף הוא צריך להגיע ליחס מסוים של ממדי גופו, כמו משקל מול אורך, עם מרכז כובד מסוים שאותו יוכלו הכנפיים לשאת. ועם משקל שפוחת והולך וגוף שמתארך ע"י צמיחת הגדילים, ודאי שמרכז הכובד בגופו משתנה. השערה זו מתיישבת עם האפשרות שהועלתה ע"י טאובר (1987), לפיה הזכר צריך לעבור שינויים מורפולוגיים שיאפשרו לו תעופה. בהמשך להצעה שהועלתה לעיל, לבחון יכולת תעופה בזכר קמחית הברוש באורכי גדיל שונים ואף ע"י חיתוך הגדילים, אפשר לבדוק את שאלת המשקל והתעופה: לבחון יכולת תעופה של זכרים באותו גיל אך בקבוצות-משקל שונות, וכן בקבוצות עם יחס אורך-משקל שונה. ניסויים כאלה כרוכים במיון, שקילה ומעקב עם כלים עדינים ביותר. את מלכודות הפרומון הדרושות לניסויים אלה אפשר להכין, כפי שהוצע לעיל, ממיצוי פרומון גולמי שנאסף במערכת של נקבות יחד עם שתיל ברוש.

- אבידב צ. (תשכ"א) מזיקי צמחים בישראל, הוצאת י"ל מאגנס, האוני' העברית ירושלים, עמ' 144-151.
- בן-דב י. (1987) כנימות מגן מזיקות – חדשות או פחות ידועות, "השדה" ס"ז, ד', עמ' 802-801.
- גרוס שמואל (2006) הפעילות העונתית של קמחית ההדר (*Planococcus citri* (Risso) בפרדס, התנהגות הזכרים והשפעת משתני מלכודת הפרומון על לכידתם, חיבור לשם קבלת תואר דוקטור באוניברסיטה העברית.
- טאובר אורנה (1987) השימוש בפרומון המין של הכנימה הקמחית של ההדר *Planococcus citri* להדברתה, ע"ג באוניברסיטת תל-אביב.
- Alstad D. N. and K. W. Corbin (1990) Scale insect allozyme differentiation within and between host trees. *Evolutionary Ecology*. 4 : 43-56.
- Arai T. (2000) The existense of sex pheromone of *Pseudococcus cryptus* Hempel (Homoptera: Pseudococcidae) and a simple bioassay. *Appl. Entomol. Zool.* 35: 525-528.
- Arai T., Sugie H., Hiradate S., Kuwahara S., Itagaki N. and T. Nakahata (2003) Identification of a sex pheromone component of *Pseudococcus cryptus*, *J. Chem. Ecol.* 29: 2213-2223.
- Bell W.J. and R.T. Carde (1984) *Chemical ecology of insects*, Chapman and Hall, ch. 13
- Berlinger M. J. (1977) The Mediterranean vine mealybug and its natural enemies in southern Israel, *Phytoparasitica* 5: 3-14.
- Berlinger M. J. and A. M. Gol'berg (1978) The effect of the fruit sepals on the citrus mealybug population and on its parasite, *Entl. Exp. & Appl.*, 24: 38-43.
- Bierl-Leonhardt B. A., Moreno D.S., Schwarz M., Fargerlund J. and J.R. Plimmer (1981a) Isolation, identification and synthesis of the sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). *Tetrahedron Letter* 22: 389-392..
- Bierl-Leonhardt B. A., Moreno D.S., Schwarz M., Forster H. S., Plimmer J. R. and E. D. DeVilbiss (1981b) Isolation, identification, synthesis, and bioassay of the pheromone of the comstock mealybug and some analogs, *J. Chem. Ecol.* 8: 689-699.
- Boavida C. and P. Neuenschwander (1995) Influence of host plant on the mango mealybug, *Rastrococcus invadens*.. *Ent. Exp. & Appl.* 76: 179-188.
- Bodenheimer F. S (1951) The citrus mealybug. In *Citrus Entomology in the Middle East*, Dr W. Junk, pp. 396-409.
- Cox J. M. and Ben-Dov Y. (1986) Planococcine mealybugs of economic importance from the Mediterranean basin and their distinction from a new African genus (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bull. Ent. Res.* 76: 481-489.
- Duelli P. (1985) A new functional interpretation of the visual system of male scale insects (Coccidae, Homoptera), *Experimentia* 41: 1036.

- Driggers B. F. and E. J. Hansens (1943) The Comstock mealybug on apples and peaches in New Jersey, *J. Econ. Entomol.* 36: 222-224.
- Dunkelblum E., Mendel Z., Assael F., Harel M., Kerhoas L. and Einhorn J. (1993). Identification of the female sex pheromone of the Israeli pine bast scale *Matsucoccus josephi*. *Tetrahedron Letters* 34:2805-2808.
- Dunkelblum E, Gries R, Mori K. and Z. Mendel (1995) Chirality of Israeli pine bast scale, *Matsucoccus josephi* (Homoptera: Matsucoccidae) sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* 21: 849-858.
- Dunkelblum, E. 1999. Scale insects in *Peromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants*. Minks, A.K. and Hardie, J. Eds. CABI Publishing: Wallingford, UK, pp. 251-276.
- Edwards P. J. and Wratten S. D. (1980) The co-evolution of plants and herbivores. In *Ecology of Insect-Plant Interactions*, Edward Arnold, pp. 41-47.
- Edmunds G. E. and D. N. Alstad (1978) Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science* 199: 941-945.
- Francardi V. and Covassi M. (1992) Biological and ecological notes on *Planococcus vovae* (Nassonov) (Homoptera Pseudococcidae) living on Juniperus spp. in Tuscany. *Redia* 75: 1-20.
- Franco J.C., Gross S., Silva E.B., Dunkelblum E. and Mendel Z. (2002) Some basic ideas for the management of the citrus mealybug by mass trapping of males. In: Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Production. Abstr. Meeting of IOBC WRPS Working Group (Erice, Italy, 2002), P. 24.
- Franco J. C., Suma P., Borges da Silva E., Blumberg D. and Z. Mendel (2004) Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries, *Phytoparasitica* 32: 507-522.
- Gadek P. A., Alpers D. L., Heslewood M. and Quinn C. J. (2000) Relationships within *Cupressaceae* sensu lato: a combined morphological and molecular approach, *Am. J. Botany* 87: 1044-2057.
- Gieselmann M. J., Rice R. E., Jones R. A. and W. L. Roelofs (1979) Sex pheromone of the San Jose scale, *J. Chem. Ecol.* 5: 891-900.
- Gray H. E. (1954) The development of the citrus mealybug. *J. Econ. Entomol.* 47: 174-176
- Grimes E. W. and Cone W.W. (1985) Life history, sex attraction, mating and natural enemies of the grape mealybug, *Pseudococcus Maritimus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 554-558.
- Gullan P. J. and Kosztarab M. (1997) Adaptations in scale insects. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 23-50.
- Hill W. B. and E. C. Burts (1982) Grape mealybug (Homoptera: Pseudococcidae) on pear in North-Central-Washington, *J. Econ. Entomol.* 75: 501-503.

- Hinkens D. M, McElfresh J. S. and J. G. Millar (2001) Identification and synthesis of the sex attractant pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Tetrahedron Lett.* 42:1619-1621.
- Ho H.Y., Hung CC., Chuang TH. and Wang WL, 2007. Identification and synthesis of the sex pheromone of the passionvine mealybug, *Planococcus minor* (Maskell). *J. Chem. Ecol.* 33: 1986-1996.
- Howse P.E., Stevens I.D.R. and Jones O.t. (1998) *Insect Pheromones and Their Use in Pest Management*. Chapman & Hall, London, UK.
- Ito K. (1938) Studies on the life history of the pineapple mealybug, *Pseudococcus brevipes* (Ckll), *J. of Econ. Entomol.* 31: 291-298.
- James H.C. (1937). Sex ratios and the status of the male in Pseudococcinae. *Bull. Entomol. Res.* 28: 429-461
- Kennedy J. S. (1965) Mechanisms of host-plant selection, *Ann. Appl. Biol.* 56: 317-322.
- Kerkut G.A and L.I. Gilbert (1985) Behavior In: *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Pergamon Press, pp. 145-179, 240-245.
- Kosztarab M. and Kozar F. (1988) *Scale Insects of Central Europe*, Dr. W. Junk Publishers, pp. 22-24, 58-64.
- Kozar F. (1976) Colonization sites of scale insects (Homoptera: Coccoidea) on different plant species and varieties. In: *The host-plant in relation to insect behavior and reproduction*, ed. T. Jermy, Plenum Publishing New York. pp. 125-127.
- Kozarzhevskaya E. F. (1992) *The pests of ornamental plants*. (In Russian), Nauka, Moscow, pp. 149-152.
- Landolt P. J. and T. W. Phillips (1997) Host plant influence on sex pheromone behavior of phytophagous insects, *Ann. Rev. Entomol.* 42: 371-391.
- Lloyd D. C. (1952) Parthenogenesis in the mealybug, *Phenacoccus solani* Ferris. *The Canadian Entomologist* 84: 308-310.
- Lynch R. E, Branch W. D. and J. W. Garner (1981) Resistance of *Arachis* species to the fall armyworm. *Peanut Sci.* 8: 106-109.
- Mani M. (1989) A review of the pink mealybug – *Maconellicoccus hirsutus* (Green). *Insect Sci. Applic.* 10: 157-167.
- McClure M. S. (1977) Population dynamics of the red pine scale *Matsucoccus resinosae*: The influence of resinosis. *Environ. Entomol.* 6: 789-795.
- McLaughlin J. R., Heath R. R. and T. R. Ashley (1990) Periodicity of pheromone release from female white peach scale. *Physiological Entomology* 15: 193-197.
- Mendel Z, Dunkelblum E. and D. Robison (1990) Sexual behavior of *Matsucoccus josephi* (Homoptera: Margarododeae), asynchronous adult emergence and release of female sex pheromone, *J. Chem. Ecol.* 16: 2341-2352

- Mendel Z., Protasov A. and D. Blumberg (2002) The cypress mealybug *Planococcus vovae* (Nassonov). In: Plant Pests of the Middle East. S. W. Appelbaum and U. Gerson. A. [Eds] (e-book: www.agric.huji.il/mepests) *Publication of the Hebrew University of Jerusalem*.
- Meyerdirk D. E. and I. M. Newell (1979) Seasonal development and flight activity of *Pseudococcus comstocki* in California, *Ann. Entomol. Soc. Am.* 72: 492-494.
- Meyerdirk D.E., Newell I. M. and R. W. Warkentin (1981) Biological control of Comstock mealybug, *J. Econ. Entomol.* 74: 79-84
- Millar J.G., Daane K.M., McElfresh J.S., Moreira J.A., Malakar-Kuenen R., Guillen M. and W.J. Bentley (2002) Development and optimization of methods for using sex pheromone for monitoring the mealybug *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae) in California vineyards, *J. Econ. Entomol.* 95: 706-714.
- Miller D. R. and M. Kosztarab (1979) Recent advances in the study of scale insects, *Ann. Rev. Entomol.* 24: 1-27.
- Miller J. R. and T. A. Miller (eds) (1986) *Insect-Plant Interactions*, Springer-Verlag New York, pp. 65-75, 266-269.
- Moreno D. S., Reed D.K., Shaw J. G. and Newell J. M. (1972) Sex lure survey trap for Comstock mealybug. *Citrograph* 58: 43, 69.
- Moreno D.S, Fargerlund J. and William H. Ewart (1984) Citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae): Behavior of males in response to sex pheromone in laboratory and field, *Ann. Entomol. Soc. Am.* 77: 32-38.
- Negishi T., Uchida M., Tamaki Y., Mori K., Isiwatari T., Asano S. and Nakagawa K. (1980) Sex pheromone of the comstock mealybug, *Pseudococcus comstocki* Kuwana: isolation and identification. *Appl. Entomol. Zool.* 15:328-333.
- Nestel D., Cohen H., Saphir N., Klein M. and Z. Mendel (1995) Spatial distribution of scale insects: Comparative study using Taylor's Power Law. *Environ. Entomol.* 24: 506-512.
- Pedigo L. P. (1999) *Entomology and Pest Management*, Prentice-Hall Inc, ch. 12.
- Rotundo G. and Tremblay E. (1980) Evaluation of the daily rate of sex pheromone release by females of two mealybug species Homoptera Pseudococcidae. *Boll. Labg. Ent. Agr. 'F. Silvestri'*, 37: 167-170.
- Sadof C. S., Neal J. J. and R. A. Cloyd (2003) Effect of variegation on stem exudates of *Coleus* and life history characteristics of Citrus Mealybug (Homoptera: Pseudococcidae), *Environ. Entomol.* 32: 463-469.
- SAS Institute (2002) SAS/STAT User's guide, version 6.11 SAS Institute, Cary, N.C. Vol. 1+2.
- Saxena K. N. (1969) Patterns of insect-plant relationships determining susceptibility or resistance of different plants to an insect. *Ent. Exp. & Appl.* 12: 751-766.
- Senapati S. K. and S. K. Ghose (1988) Biology of the mealybug, *Planococcoides bengalensis* Ghose and Ghose (Homoptera: Pseudococcidae), *Environ. Ecol.* 6: 648-652.

- Serrano M. S., Lapointe S. L. and Meyerdirk D. E. (2001) Attraction of males by virgin females of the mealybug *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Environ. Entomol.* 30: 339-345.
- Singh M. P. and Ghosh S. N. (1970) Studies on *Maconellicoccus hirsutus* (Green) causing bunchy top in Mesta. *Indian J. Sci. Ind.* 4: 99-105.
- Smith C. N., Khan Z. R. and M. D. Pathak (1994) Techniques for Evaluating Insect Resistance in Crop Plants, CRC Press Inc, Boca Raton New York, ch. 3.
- Tashiro H. and D. L. Chambers (1967) Reproduction in the California red scale, *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae). I. Discovery and extraction of a female sex pheromone, *Ann. Entomol. Soci. Am.* 60: 1166-1161.
- Tashiro H. and Moffit C. (1968) Reproduction in the California red scale, *Aonidiella aurantii* . II. Mating behavior and postinsemination female changes. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 61: 1014-1020.
- Teissier Du Cros E. (1999) *Cypress. A Practical Handbook*. Studio Leonardo, Florence, Italy.
- Walton V. M., Daane K.M. and Pringle K. L. (2004) Monitoring *Planococcus ficus* in South African vineyards with sex pheromone-baited traps, *Crop Protection* 23: 1089-1096.
- Walton V. M. and Pringle K. L. (2005) Developmental biology of vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret) (Homoptera: Pseudococcidae), and its parasitoid *Coccidoxenoides perminutus* (Timberlake) (Hymenoptera: Encyrtidae), *African Entomology* 13: 143-147.
- Walton V. M., Daane K.M., Bentley W. J., Millar J. G., Larsen T. E. and R. Malakar-Kuenen (2006) Pheromone-based mating disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in California vineyards, *J. Econ. Entomol.* 99: 1280-1290.
- Zada A., Dunkelblum E., Assael F., Harel M., Cojocar M. and Z. Mendel (2003) Sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus* in Israel: occurrence of a second component in a mass-reared population, *J. Chem. Ecol.* 29: 977-988.
- Zhang A., Shirali S., Oliver J.E., Klun J.A., Aldrich J.R., Amalin D., Serrano M., Lapointe S., Franqui R. and Meyerdirk D.E. (2004). Sex pheromone of the pink hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus*, contains an unusual cyclobutanoid monoterpene. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 10: 9601-9606.

**Aspects of the reproductive biology of the cypress mealybug,
Planococcus vovae (Hemiptera: Pseudococcidae)**

M.Sc. Thesis submitted to the Faculty of Agriculture, Food and environmental Quality Sciences of the Hebrew University of Jerusalem for the degree of 'Master in Agricultural sciences'

by
Talya Samani

Rehovot, Israel

December 2007

The research was conducted under the supervision of
Prof. Zvi Mendel
Department of Entomology, Volcani Center
ARO, Bet Dagan

Summary

The cypress mealybug *Planococcus vovae* Nasonov (Hemiptera: Pseudococcidae) develops on a small number of host plants, all of which belong to the Cupressaceae family. In Mediterranean climate it produces 2-4 annual generations, and in temperate climate it carries a single generation during spring and summer. The cypress mealybug does not inflict severe damage to cypress stands. However, population density may rise at the vicinity of orchards, when natural enemy populations decline due to synthetic insecticide application in the orchards.

The female is neotenic, the male is small and has a pair of wings. Several sex pheromones of mealybug species are known. The possibility of production of a sex pheromone was examined in this work, in addition to observations and experiments of development duration, fecundity, sexual behavior and suitability of various hosts to the mealybug.

Three main topics have been investigated in this study:

A. Duration and course of development. Observations have been carried on male emergence pattern; female growth curve was drawn; correlation between weight and fecundity; and the relationships between copulation age of the female and time of oviposition.

B. Suitability of hosts of the family Cupressaceae for the cypress mealybug. The tested hosts are *Cupressus* and *Juniperus* species, *Thuja*, *Calitris*, *Tetraclinis*, *Sequoia* and *Taxodium*. The mealybug's success on the test hosts was measured using parameters such as development duration, survival and fecundity.

C. The question of existence of a sex pheromone in the cypress mealybug was put forward. Effluvia of virgin females collected on a porapak column were used to prepare a crude extract of pheromone solution. This solution was used in attraction bioassays for males. The tests were conducted in a Petri dish arena. Another investigated aspect was the elongation of the adult male's pair of setae and their role in the male's sexual behavior and maturation.

The laboratory populations were used as a source of crawlers, larvae and adults for this research. The rearing was on young seedlings of *Cupressus macrocarpa*. The infestations were synchronous in order to measure average timing and duration of molts, sexual maturity, pupation and male emergence.

The host suitability tests were conducted by infesting host seedlings with crawlers and mature females, and measured parameters of success and development – duration of development, fecundity and percent survival. Then, the data were calculated by an equation called Host Suitability Index.

A crude sex pheromone have been extracted and tested for attracting adult males. Virgin females were obtained by separating them from males at the larval stage, before they reach sexual maturity. The adult males were used in attraction bioassays. We have measured the adult male's setae elongation, it's correlation to the male's age, it's reaction to sex pheromone and it's ability to locate a female for mating.

We found that the development duration of the cypress mealybug was longer than that of other mealybug species of the genus *Planococcus*. The pattern of male emergence is continuous and synchronized with the timing of the female's sexual maturity. The correlation between weight and fecundity is high. A negative correlation between age of copulation and time of oviposition was found – which means that female copulation at early age leads to oviposition two weeks later on average, while females copulating at older age oviposit within a few days; the end result is the two groups oviposit at about the same age.

Three of the hosts tested were found to be very suitable for the cypress mealybug – *J. chinensis*, *J. virginiana* and *C. macrocarpa*. *C. sempervirens* displayed higher level of resistance. The rest of the hosts expressed a higher level of antibiosis – a mechanism of resistance which causes high mortality and disruption to developmental processes of the mealybug.

We confirmed the existence of a sex pheromone released by the female to attract the male. We used the crude pheromone we extracted, for various experiments aimed to test the male's sexual behavior. A correlation was found between the male's setae length, which grows since emergence, and it's attraction to sex pheromone and ability to copulate with a female. The setae's length has been thought in the past to have a role in the male's flight ability. We assume the male's ability to reach copulation with a female is built gradually along with other abilities he develops through it's days of adulthood.