

פיתוח שיטה מהירה לבדיקת העמידות של אקרית הקורים המצויה לחומרי הדברה

ניצן כהן¹, אורנה בן עזיז², נטע מור¹, עדי קליאוט²
¹שה"מ, משרד החקלאות ופיתוח הכפר; ² מינהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני

תקציר

יעיל דיו. כיום נדרשים חקלאים רבים להסתמך על מספר רב של טיפולים כימיים, שיכולים להימשך כל עונת הגידול, כדי להימנע מהתפרצויות של אק"מ ומנוק חמור לגידול. שימוש מופרז ולא מושכל בחומרי הדברה יביא להתפתחות של עמידות באקריות, ולכן חרף מספרם הגבוה של הריסוסים, המגדלים מוצאים עצמם מול שדות נגועים.

לאק"מ יכולת יוצאת דופן לפיתוח עמידות לחומרי הדברה, והיא נחשבת כמזיק העמיד למספר הגבוה ביותר של תכשירי ההדברה בעולם^{2,3}.

זאת, הודות לשילוב של כמה גורמים, כפי שיפורט להלן. לאקרית מחזור חיים קצר מאוד, העשוי בעונות הקיץ החמות להימשך פחות משבוע מביצה לביצה, כלומר, יחלוף שבוע בלבד מרגע שהוטלה הביצה ועד להתפתחות נקבה בוגרת שהחלה להטיל בעצמה⁴, כך שפעמים רבות נקבות, השורדות ריסוס של חומר כימי בשדה עקב עמידותן אליו או בשל פיזורו הלקוי, יכולות לייסד מושבות חדשות במהירות שיה, עוד לפני שניתן ליישם טיפול כימי נוסף בשדה. כמו כן, לאק"מ יש מנגנונים גנטיים מפותחים, המאפשרים לה להתמודד עם מספר עצום של חומרי הגנה צמחיים, וכך היא יכולה לאכלס ולהיזון ממגוון נרחב של מיני צמחים⁵.

כאשר אק"מ נחשפת לריסוסים כימיים, אותם מנגנונים גנטיים נכנסים לפעולה ומאפשרים לחלק מהפרטים באוכלוסייה לשרוד ולייסד דורות עוקבים של אקריות העמידות לחומרים הכימיים.

בדיווח האחרון של IRAC נמסר כי עד שנת 2019 נספרו כ-517 דיווחים מדעיים על עמידויות של האק"מ כנגד 96 חומרי הדברה מכל העולם, מה שהציב אותה במקום הראשון

השנה התחלנו במעבדה במכון וולקני בפיתוח מערכת בדיקות מעבדתיות, שתאפשר העברת דיווח למגדלים על עמידות שפותחה בקרב אוכלוסיות אקרית הקורים המצויה (אק"מ, לשעבר אקרית אדומה מצויה) בשדה, כדי לסייע להם לקבל החלטה מושכלת לגבי המשך הטיפול נגד המזיק. לשם כך, אספנו אוכלוסיות של האקרית מאזורים שונים בארץ, כאשר נעזרנו בדיווחים של מגדלים על כישלונות הדברה של אק"מ. במעבדה בחנו כמה פרוטוקולים וריכוזים שונים, עד שהוחלט על מערך אופטימלי לבדיקות. השאיפה הייתה לשלוח למגדל דו"ח, שיפרט את יעילות החומרים השונים, תוך 72 שעות מרגע הגעת הדגימה למעבדה. בשנים הקרובות תיושם תוכנית להרחבת מספר החומרים הנבדקים, כך שיכללו גם חומרים קוטלי דרגות צעירות ושילובים בין חומרים.

מבוא

אקרית הקורים המצויה (איור 1.א.) היא מזיק קשה בישראל, המסב נזקים למספר עצום של גידולים, כולל פרחי קטיף, גידולי ירקות - מלפפון, לפל, עגבניות ועוד (הנזק האופייני מופיע באיור 1.ב.) ואף עצי פרי¹. בארץ קיים מערך טיפול, המבוסס על שימוש באקריות טורפות, והוא מוכח כיעיל מאוד בכמה גידולים ובעונות מסוימות, אך הוא כרוך לעתים בהוספת תכשיר מתקן, הפוגע באקרית המזיקה ואינו פוגע בטורפת, ומטרתו לאפשר לאקרית הטורפת להתבסס ביתר קלות בחלקה. כמו כן, השימוש באקריות טורפות מחייב תזמון נכון של הפיזור, וכאשר זה אינו מושג, הטיפול אינו

בעולם מהיבט זה^{2,3}.

יש להתייחס לתוצאות הבדיקה במעבדה בהתאם ולהתחשב בכך שיעילות הריסוס בתנאי המעבדה שונה במידה זו או אחרת מתוצאות הריסוס בחלקה המסחרית, המושפעת ממגוון גורמים המאפיינים ריסוס בשטח.

יעילות נמוכה של חומר הדברה מסוים כנגד אוכלוסייה של אקריות כתוצאה מעמידות שווהתה במעבדה, תהיה, ככל הנראה, נמוכה עוד יותר בעת ריסוסו של החומר בתנאי השטח.

דיון

מהספרות המדעית עולה כי מיד לאחר הזדווגות נקבות צעירות נוצרות אוכלוסיות חדשות של אקריות הקורים המצויה, ובכל אחת מהן יש סיכוי לשונות גנטית, שבעקבותיה יכולה להיווצר אוכלוסייה שונה לחלוטין מבחינת מצב העמידות לחומרי הדברה. בניסויים נמצא כי אוכלוסיות חדשות, אפילו באותו בית רשת, הציגו יכולות שונות של עמידות תוצאות הבדיקה שלנו מאששות תוצאות אלה - דגימות מבתי רשת סמוכים הראו תוצאות עמידות שונות לחלוטין, אך לא מצאנו דפוסים גיאוגרפיים קבועים לגבי העמידות. כמו כן, היקף הבדיקות כיום אינו נרחב דיו כדי לאפשר זיהוי דפוס של עמידות הקשורה בגידול מסוים. עם זאת, הבדיקה מצביעה על נוכחות של עמידות צולבת בין חומרים מסוימים, כלומר מצב שבו עמידות לחומר א' מעלה את הסיכויים גם לעמידות לחומר ב'. זאת ועוד, ניתן לראות עלייה מובהקת ביכולות העמידות של האקריות עם התחממות העונה. בחודש אוגוסט נאספה כמות הדגימות הגדולה ביותר של אק"מ מרחבי הארץ, ורובן המוחלט (למעט דגימה אחת) העידו על עמידות לארבעה חומרים לפחות מקבוצות כימיות שונות.

המחקר תיעד תופעה מדאיגה, שחקלאים רבים התריעו לגביה מזה זמן מה, והיא הופעת אוכלוסיות עם יכולות של "עמידות-על", כלומר עמידות לשמונה חומרים ויותר מקבוצות כימיות שונות. מדובר בבעיה חמורה, המותירה את החקלאים חסרי אונים אל מול התפרצות המזיק בגידול בלי כל יכולת לפעול כנגדו בשום אמצעי כימי.

תוצאות המחקר הנוכחי הניבו הצעות למחקרים עתידיים לבחינת שיטות יישום להפחתת תופעת העמידות בקרב אוכלוסיות אקריות או שילוב טוב יותר של אמצעי הדברה ביולוגיים בגידולים שונים.

מהנתונים שנאספו השנה ניתן לראות בבירור (איור 5) כי החומרים Pyridaben (נקסטר) ו-Chlorfenapyr (פיראט ודומיו) אינם יעילים על פי רוב, וממוצע הקטילה שלהם בסקר זה נמוך מ-50 אחוזים. החומרים שהראו את היעילות הגבוהה ביותר עד כה השנה הם Tebufenpyrad (מסאימיט) ו-Acequinoxyl (אקסמיט)

לפני כשנה התחלנו בייסודו של מערך לניטור עמידות אוכלוסיות שדה של אק"מ, שבו משתתפים חוקרים ממכון וולקני ומדריכי שה"מ. במחקר מתבצע איסוף אוכלוסיות אק"מ מאזורים שונים בארץ (איור 2). במעבדה נערכות בדיקות מהירות לעמידות נגד מספר גבוה ככל הניתן של תכשירים מקבוצות כימיות שונות, והתוצאות מועברות תוך 72 שעות למדריכי שה"מ, שמוסרים אותן ואת המלצותיהם לפקחים ולמגדלים באזור.

הדוחות מספקים למגדלים תמונת מצב לגבי יעילות חומרי ההדברה שנבדקו בבדיקת המעבדה, על סמך מדגם מאוכלוסיית האק"מ בשטחם, ומסייעים להם בבחירת החומרים המתאימים לגידול שלהם (דוגמה לדוחות מופיעה באיור 3).

שיטות

בדיקת יעילות חומרי ההדברה נעשית באמצעות ריסוס ישיר על האקריות. עשר נקבות בוגרות מושמות על דסקית עלה של פלפל מזן אפעה (זרעים גדרה), שקוטרה 5 ס"מ, המונחת על אגר נוזלי. האגר שומר על רעננותו של העלה ומונע מהאקריות לברוח. לכל תכשיר נבדק מבצעים 4-5 חזרות ביולוגיות, בהתאם למספר האקריות בדגימה שהתקבלה מהשדה. שלב זה מבוצע תחת בינוקולר. כל צלוחית מכילה עשר אקריות בוגרות ממין נקבה והיא מרוססת בנפרד בתכשיר הנבדק. הריסוס מבוצע בעזרת מערך מבוסס air brush (שהוקם במעבדתו של ד"ר רועי כספי), המאפשר ריסוס בפיזור טיפתי אחיד ובנפח אחיד. כל בדיקה כוללת שני טיפולי ביקורת: (1) ריסוס במים בלבד, כביקורת שלילית שבה לא אמורה להיות תמותה; (2) ריסוס ב-2% שמן נים (המשמש כקוטל פיזיקלי), כביקורת חיובית שבה אמורה להתקבל תמותה די מלאה. הצלוחיות המרוססות הועברו לחדר גידול שבו תנאים קבועים (24°C, 14 שעות אור). כעבור 48 שעות נספרו האקריות החיות והמתות בכל צלוחית וחושב אחוז התמותה הכולל בכל חומר הדברה (תיאור סכמתי מוצג באיור 4).

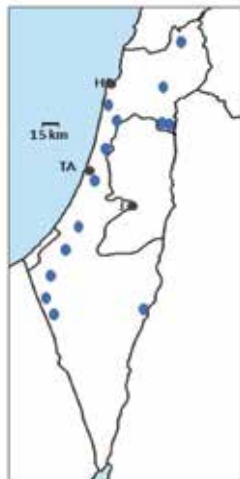
רשימת החומרים נבחרה כך שתייצג כמה שיותר קבוצות חומרים פעילים המשמשים בגידול ירקות כנגד האק"מ. ריכוזו של כל חומר שרוסס חושב על פי המינון הגבוה ביותר של התכשיר המומלץ לדונם בתווית, בנפח תרסיס ממוצע של 50 ליטר לדונם (כך לדוגמה, תכשיר המומלץ במינון של 100 סמ"ק לדונם בתווית - ניתן בריכוז 0.2%). באופן זה כל סימן של עמידות שמתקבל במעבדה הוא מובהק וברור. רשימת החומרים ומינונם מוצגת בטבלה מס' 1.

בשיטה זו מבוצע ריסוס יעיל מאוד, המיושם ישירות על המזיק, ללא העברה עקיפה של החומר דרך הצמח, והאקריות הנבדקות נחשפות לתכשיר במידה רבה, הרבה יותר ממה שהיו נחשפות אליו אילו רוססו בתנאי שדה מסחרי. לפיכך,

טבלה 1: רשימת החומרים שנבדקו במעבדה וריכוזם*
 *הריכוזים שנבדקו חושבו לפי המינון לדונם הגבוה ביותר
 המומלץ בתווית, בנפח ריסוס של 50 ליטר לדונם

ריכוז החומר הפעיל (g/L)	חומר פעיל	תיאור	קבוצת פעילות
19.4%	שמן נים	שמנים	UNE
3.6	Abamectin	חומרים נגד תולדות גלוטמאט (ורטימק, מילבנוק וכדומה)	6
1.86	Milbemectin		
75	Diafenthiuron	מעכבי מיטוכונדריה (פגסוס 250, פניקס 250, בוננוה וכדומה)	12A
112.5	Fenbutatin oxide	מעכבי מיטוכונדריה (אקרמיט וכדומה)	12B
40	Fenazaquin	מעכבי מיטוכונדריה (מייטקלין, נקסטר, מסאימיט וכדומה)	21A
50	Pyridaben		
0.4	Tebufenpyrad		
43	Cyflumetofen	מעכבי מיטוכונדריה (דפנדר)	25A
45	Acequinocyl	מעכבי מיטוכונדריה (אקסמיט וכדומה)	20B
36	Bifenazate	מעכבי מיטוכונדריה (פלורמיט וכדומה)	20D
19.2	Chlorfenapyr	מעכבי מיטוכונדריה (פוליס ופיראט)	13

איור 2. מפת נקודות איסוף של דגימות האקריות כל נקודה מסמנת נקודת איסוף שנדגמה לפחות פעם אחת במהלך שנת 2023

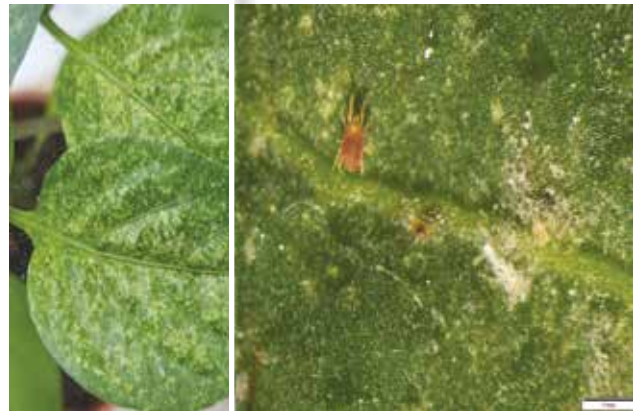


תוצאות אלו משפיעות על ההמלצות שפקחים פרטיים ומדריכי שה"מ מוסרים למגדלים, ועל האמצעים שחקלאים נוקטים במטרה להדביר אקריות בשדה.

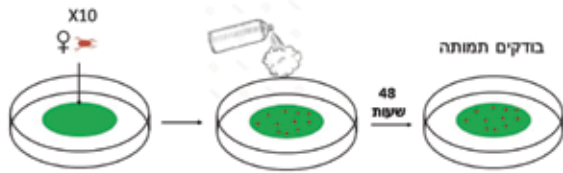
סיכום ותוכניות עתידיות

מערך דיגום ושיטה חדשה לבדיקת עמידות של אקרית הקורים המצויה פותחו במעבדה של ד"ר עדי קליאוט בשיתוף עם מדריכי שה"מ. השיטה נמצאת עדיין בפיתוח, אך כבר הניבה תוצאות חשובות ומועילות בחודשים הראשונים להרצתה.

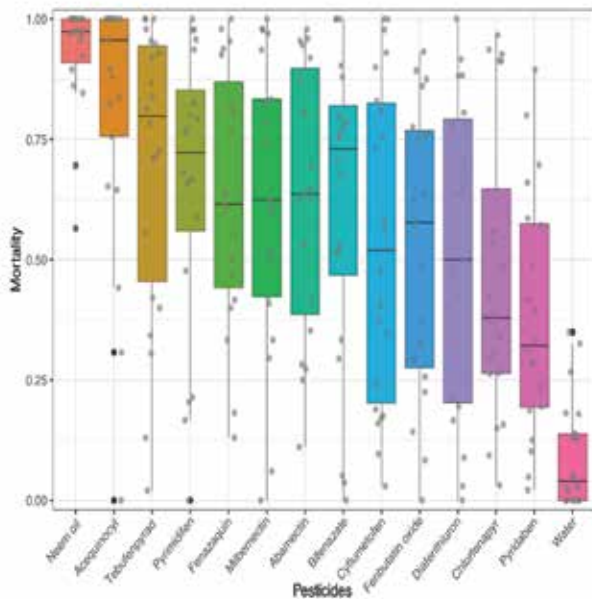
בעתיד, אנו מתכננים להרחיב את הבדיקה כך שתכלול חומרים נוספים מקבוצות כימיות שונות. עד כה בחנה השיטה את השפעתם של חומרי הדברה שונים על דרגות בוגרות בלבד, אולם בהמשך היא תורחב גם לבדיקת חומרים ייעודיים לקטילת דרגות צעירות (נימפות וביצים). בנוסף, תיבחן אפשרות של עמידות צולבת בין חומרים, כלומר מקרים שבהם עמידות לחומר אחד מאפשרת עמידות לחומרים נוספים, בדרך כלל מאותה קבוצה כימית בטווח הרחוק, ברצוננו לפתח בדיקת עמידות מהירה, מבוססת PCR. לשם כך, מכלל האוכלוסיות שאנו בודקים לעמידות, אנו דוגמים כיום פרטים אחדים ושומרים אותם בהקפאה, כדי שישמשו אותנו בעתיד לפיתוח סמנים גנטיים בבדיקות מעבדתיות מהירות יותר לקביעת העמידות. בדיקות אלו יהיו, כאמור, מהירות יותר ויצריכו דגימות אקריות קטנות משמעותית.



איור 1. תמונות של אקרית קורים מצויה
 א. נקבה בוגרת של אק"מ ושתי דרגות צעירות על עלה פלפל, בצילום תחת בינוקולר (הגדלה של פי 20. סקלה בתחתית התמונה מראה 1 מ"מ)
 ב. נזק אופייני שיוצרת אק"מ בעלי פלפל



איור 4. תיאור שיטת הבדיקה המעבדתית תיאור סכמתי של שיטת הבדיקה המעבדתית: ראשית, אוספים עשר נקבות בוגרות מהדגימה לדסקית עלה בצלוחית עם מצע נוזלי. האיסוף נעשה תחת בינוקולר עם מכחול. עבור כל חומר נאספות 4-5 צלוחיות, ככל שהדגימה מאפשרת. כל אחת מהצלוחיות מרוססת ומועברת לחדר שבו תנאי טמפרטורה ואור מבוקרים למשך 48 שעות. כעבור 48 שעות נספרת התמותה בכל צלוחית תחת בינוקולר. התוצאות מנותחות ונשלחות לפקח ולחקלאי



איור 5. גרף המסכם את תמותת האקריות לכל חומר מהדגימות שנאספו בישראל בשנת 2023 (עד ספטמבר 2023) כל עמודה בגרף מייצגת תמותה מחומר אחר. העמודות מסודרות לפי הממוצע (מהגבוה ביותר לנמוך ביותר). עבור כל חומר מוצג החציון (קו שחור) וסטיית התקן. תוצאות הבדיקה של כל אוכלוסייה מוצגות כנקודות אפורות. ביקורות שמן הנים והמים מוצגות על הגרף

A

ד"ר סמכי - עמידות לחומר הדברה בדגימת שדה.
גבע ניסוי (תביל) 04.2023

החומרים נבדקו בריכוז שחשוב לפי המסמן לדוגמה הגבוה ביותר המומלץ בשותי בנפח ריסוס של 50 ליטר לדונם. אין כנסוב בד"ר זה המלצה לשימוש בחומר זה או אחר. התוצאות המוצגות בד"ר נכנסת עבור המיקום והזמן בהם נאספו הדגימות.

קבוצת פתילות	חומר פעיל	ריכוז החומר המסומן (אחוזים) (50g ליטר)	אחוזי התמותה
	שמן נים	2	100.00
6	Abamectin	0.2	94.45
	Milbemectin	0.2	100.00
12A	Diafenthiuron	0.3	87.52
12B	Fenbutatin oxide	0.25	85.00
21A	Fenazaquin	0.2	100.00
	Pyridaben	0.25	79.46
25A	Tebufenpyrad	0.2	100.00
	Cyflumetofen	0.2	100.00
20B	Acequinocyl	0.3	100.00
20D	Bifenazate	0.15	87.68
13	Chlorfenvinphos	0.08	96.58
	מים	0	2.63

B

ד"ר סמכי - עמידות לחומר הדברה בדגימת שדה.
בר א סיכה (פולד הר"ף) 05.2023

החומרים נבדקו בריכוז שחשוב לפי המסמן לדוגמה הגבוה ביותר המומלץ בשותי בנפח ריסוס של 50 ליטר לדונם. אין כנסוב בד"ר זה המלצה לשימוש בחומר זה או אחר. התוצאות המוצגות בד"ר נכנסת עבור המיקום והזמן בהם נאספו הדגימות.

קבוצת פתילות	חומר פעיל	ריכוז החומר המסומן (אחוזים) (50g ליטר)	אחוזי התמותה
	שמן נים	2	92.31
6	Abamectin	0.2	25.00
	Milbemectin	0.2	62.50
12A	Diafenthiuron	0.3	21.05
12B	Fenbutatin oxide	0.25	62.16
21A	Fenazaquin	0.2	55.56
	Pyridaben	0.25	23.68
25A	Tebufenpyrad	0.2	55.56
	Cyflumetofen	0.2	17.62
20B	Acequinocyl	0.3	65.22
20D	Bifenazate	0.15	52.78
13	Chlorfenvinphos	0.08	38.64
	מים	0	0.00

איור 3. דוחות לדוגמה של תוצאות הבדיקה המעבדתית דוח A מציג תוצאות של האוכלוסייה הרגישה ביותר שנבחנה עד כה. דוח B מציג את התוצאות של אוכלוסייה בעלת 'עמידות-על' לחומרי ההדברה מכל המחלקות (למעט שמן נים)



3. Sparks, T. C. & Nauen, R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121, 122–128 (2015).

4. Bayu, M. S. Y. I., Ullah, M. S., Takano, Y. & Gotoh, T. Impact of constant versus fluctuating temperatures on the development and life history parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 72, 205–227 (2017).

5. Grbić, M. et al. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature* 479, 487–492 (2011).

6. Osakabe, M., Uesugi, R. & Goka, K. Evolutionary Aspects of Acaricide-Resistance Development in Spider Mites. *Psyche* 2009, (2010).

תודות

מחקר זה מומן על ידי קרן שה"מ והוא מבוסס על תמיכה נרחבת של מספר רב של מדריכי שה"מ ופקחים פרטיים מכל הארץ, השולחים למעבדה דגימות אק"מ ודיווחים על התפרצויות. ברצוננו להודות לכולם על עבודתם המעולה.

ספרות

1. Zhang, Z. Q. *Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control.* (CABI, 2003).

2. Sparks, T. C. et al. Insecticides, biologics and nematocides: Updates to IRAC's mode of action classification - a tool for resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 167, 104587 (2020).