	<b>תקופת המחקר:</b> 2001-2003	<b>קוד מחקר:</b> 596-0198-03
	<b>Subject:</b> DETERMINING THE USE OF ENTOPATHOGENIC NEMATODES FOR CONTROL OF MUSHROOM FLIES	<b>שם המחקר:</b> בחינת השימוש בנמטודות טפילות על חרקים להדברת זבובים בגידול פטריות למאכל
	<b>Principal investigator:</b> OFER DENAYI	<b>חוקר ראשי:</b> עפר דנאי
	<b>Cooperative investigator:</b>	<b>חוקרים שותפים:</b>
<b>Institute:</b> Northern R&D		<b>מוסד:</b> מו"פ צפון, ת.ד. 90000, ראש פינה 12100

### תקציר

הצגת הבעיה. זבובי פטריות מהסוג פוריד הם מגורמי הנזק העיקריים בתעשיית הפטריות, כתוצאה מנוק ישיר של פגיעה ביבול ונזק עקיף של העברת נבגי פטריות פטוגניות ואקריות. במדינות המערב הוטלו בשנים האחרונות מגבלות חמורות על שימוש באינסקטיצידים מחד ומאידך הגברת הדרישה לניקיון המוצרים מחרקים. סיבות אלו מחייבות פיתוח שיטות הדברה חילופיות.

המטרה הכללית הייתה בחינת אפשרות השימוש בנמטודות כמדביר ביולוגי של זבובי פטריות במערכות גידול פטריות המאכל בארץ כתחליף לחומרי ההדברה המשמשים כיום. המטרות הספציפיות הן:

- בחינת יעילות נמטודות מזנים ומינים שונים בתנאי מעבדה ומערכת לגידול מזערית.
  - בחינת התנאים המיטביים ליישום הנמטודות במערך גידול המודל.
  - יישום בניסויים בהיקף מסחרי בבתי גידול של מגדלים.
- מהלך ושיטות העבודה.** מכלים פתוחים בנפח 3 ליטר של קומפוסט מונבט, בשבוע השני לאחר הזריעה נחשפו להטלת זבובים במשך 48-72 שעות. בתום ההטלה הקומפוסט עורבב בעדינות, להשגת אחידות בפיזור ביצי הזבובים. בשלב זה הוספנו את הנמטודות ע"פ הטיפול. ערבבנו שוב את הקומפוסט והכנסנו 150 גר' מהתערובת הנ"ל למכל פלסטיק גלילי בנפח 1000 מ"ל. היו 5 מיכלים לכל טיפול. המכלים הוחזקו באינקובטור ב  $25^{\circ}\text{C}$ . שבועיים לאחר הכנסת המכלים לאינקובטור - מרחנו דבק רימיפוט נוזלי על החלק הפנימי של המכסים. הבוגרים שהגיעו נדבקו למכסה ונספרו.

**תוצאות עיקריות מתוך 11 זנים של נמטודות, שהתקבלו מהמחלקה לנמטולוגיה, 6 זנים נמצאו**  
יעילים בהפחתת בהדברה ביולוגית של הזבובים. הזן היעיל ביותר הקטין את רמת הזבובים  
לרמה של 44% מהביקורת כאשר ריכוז הנמטודות היה 300 נמטודות לגרם קומפוסט. רמת  
ההשרדות של הנמטודות נמצאה בתחום של 32%-49% מהרמה ההתחלתית המוספת. נבדקה  
השפעת ריכוז הנמטודות, על הקטנת גיחת הבוגרים ברמת עומסים התחלתיים שונים של זבובים.  
נמצא כי יעילות ההדברה פוחתת כאשר יש לקומפוסט מבנה גושי.

# בחינת השימוש בנמטודות טפילות על חרקים להדברת זבובים באידולי פטריות מאכל.

## Evaluation of entomopathogenic nematodes as biological control agents of Phorid flies in mushroom cultures

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י:

עפר דנאי      מו"פ צפון - החברה לחקלאות בגליל העליון  
איתמר גלזר      המחלקה לאנטומולוגיה/נמטולוגיה - מינהל המחקר החקלאי, בית דגן (חוקר ראשי)  
דוד בן יקיר      המחלקה לאנטומולוגיה - מינהל המחקר החקלאי, בית דגן  
ליאורה סלמה      המחלקה לאנטומולוגיה/נמטולוגיה - מינהל המחקר החקלאי, בית דגן  
נירית אזוב      מו"פ צפון - החברה לחקלאות בגליל העליון

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

תוצאות הניסויים לא מהווים המלצות לחקלאים

פברואר 2004

חתימת החוקר

### תקציר

**הצגת הבעיה.** זבובי פטריות מהסוג פוריד הם מגורמי הנזק העיקריים בתעשיית הפטריות, כתוצאה מנזק ישיר של פגיעה ביכול ונזק עקיף של העברת נבגי פטריות פטוגניות ואקריות. במדינות המערב הוטלו בשנים האחרונות מגבלות חמורות על שימוש באינסקטיצידים מחד ומאידך הגברת הדרישה לניקיון המוצרים מחרקים. סיבות אלו מחייבות פיתוח שיטות הדברה חלופיות.

**המטרה הכללית** הינה בחינת אפשרות השימוש בנמטודות כמדביר ביולוגי של זבובי פטריות במערכות גידול פטריות המאכל בארץ כתחליף לחומרי ההדברה המשמשים כיום. המטרות הספציפיות הן:

- בחינת יעילות נמטודות מזנים ומינים שונים בתנאי מעבדה ומערכת לגידול מזערית.
  - בחינת התנאים המיטביים ליישום הנמטודות במערך גידול המודל.
  - יישום בניסויים בהיקף מסחרי בבתי גידול של מגדלים.
- מהלך ושיטות העבודה.** מכלים פתוחים בנפח 3 ליטר של קומפוסט מונבט, בשבוע השני לאחר הזריעה נחשפו להטלת זבובים במשך 48-72 שעות. בתום ההטלה הקומפוסט עורבב בעדינות, להשגת אחידות בפיזור ביצי הזבובים. בשלב זה הוספנו את הנמטודות ע"פ הטיפול. ערבבנו שוב את הקומפוסט והכנסנו 150 גרי מהתערובת הנ"ל למכל פלסטיק גלילי בנפח 1000 מ"ל. היו 5 מיכלים לכל טיפול. המכלים הוחזקו באינקובטור ב  $25^{\circ}\text{C}$ . שבועיים לאחר הכנסת המכלים לאינקובטור - מרחנו דבק רימיפוט נוזלי על החלק הפנימי של המכסים. הבוגרים שהגיעו נדבקו למכסה ונספרו.
- תוצאות עיקריות** מתוך 11 זנים של נמטודות, שהתקבלו מהמחלקה לנמטולוגיה, 6 זנים נמצאו יעילים בהפחתת בהדברה ביולוגית של הזבובים. הזן היעיל ביותר הקטין את רמת הזבובים לרמה של 44% מהביקורת כאשר ריכוז הנמטודות היה 300 נמטודות לגרם קומפוסט. רמת ההישרדות של הנמטודות נמצאה בתחום של 32%-49% מהרמה ההתחלתית המוספת. נבדקה השפעת ריכוז הנמטודות, על הקטנת גיחת הבוגרים ברמת עומסים התחלתיים שונים של זבובים. נמצא כי יעילות ההדברה פוחתת כאשר יש לקומפוסט מבנה גושי.

## מבוא ומטרות המחקר:

ענף גידול הפטריות - בשנים האחרונות מתאפיין ענף פטריות המאכל בגליל בתנופת פיתוח מתמשכת. היקף יצור הקומפוסט במפעל קומפית פטריות הגליל, גדל במהלך 10 השנים האחרונות מ כ- 1500 טון בשנת 1990 ל 27,000 טון בשנת 2003. היקף יצור הפטריות בישראל עמד בשנת 2003 על כ- 6,000 טון והן כולן משווקות כמוצר טרי. כ- 80% מהפטריות המיוצרות הן מהסוג שמפיניון (*Agaricus bisporus*) מזנים שונים, ובהם זני מכלוא איכותיים שהוכנסו לגידול בשנים האחרונות במסגרת מו"פ צפון, שאר הפטריות הן מהסוג יער ירדן (*Pleurotus sp*), מזנים שונים, וחורש (*Portabella*), פטרייה שהוכנסה לשוק בשנים האחרונות במסגרת שיתוף פעולה בין מו"פ צפון והיחידה לחקר שווקים של משרד החקלאות. בסקר שוק שנערך בשנת 1998 נמצא, כי במרבית עונות השנה קיים מחסור בפטריות טריות, ישנה ירידה אופיינית שמורגשת בעיקר בעונת הקיץ, שמקורה מהתפרצות מחלות שמועברות ע"י זבובי פטריות.

התפרצות המחלות החריפה בשנים האחרונות מכיוון שהמגדלים הפסיקו להשתמש ב"כבוץ" להכנת קרקע כיסוי מאחר ואינו זמין יותר. בתהליך פיתוח קרקע כיסוי לפטריות שמפיניון המבוססת על השימוש ב"כבוץ" כתחליף לכבול נמצא, כי בקרקע כיסוי זו התקבלה הפחתה ניכרת בהתפתחות מחלת המיקוגון, שהייתה המחלה הנפוצה ביותר בגידול, בהשוואה לקרקע כיסוי שהוכנה מכבול בלבד. מקור הסופרסיביות אינו ברור (Danai & Levanon, 1996).

זבובים כמזיק בפטריות מאכל – זבובי פטריות הם מגורמי הנזק העיקריים בתעשייה זו, כתוצאה מנזק ישיר של פגיעה ביבול ונזק עקיף של העברת נבגים של פטריות פטוגניות ואקריות. במרבית מדינות המערב חלו בשנים האחרונות, הגבלות חמורות על השימוש באינסקטיצידים מצד אחד, תוך דרישה לניקיון המוצר מזבובים מצד שני. דבר זה מחייב פיתוח שיטות הדברה חליפיות. במדינות מערב אירופה ובארה"ב הזבובים הנפוצים במרבית עונות השנה הם מהסוג *Lycoriella* *Sciariid auripila* והם מתחילים להתפתח במצע עוד לפני זריעת הפטריות, ופוגעים בתפוקה ובגופי פרי שלתוכם הם חודרים. בישראל נמצא (ע"י מר ארגמן מהאגף להגנת הצומח), כי זבובי הפטריות הם מהסוג *Phorid Megaselia halterats*, שנדרשים לטמפ' הגבוהה מ 14 מ"צ על מנת לעוף ועיקר הנזק שהם גורמים הוא שהם משמשים כוקטור להעברת גורמי מחלה. על-מנת להדביר את המזיק תוך כדי הפחתת השימוש בחומר הדברה המשמשים כיום, יש לבחון את השימוש במדביר ביולוגי, כפי שנעשה במספר מדינות מערביות בהן הוגבל השימוש בחומרי הדברה בגידול.

המדביר הביולוגי - נמטודות טפילות על חרקים (נטע"ח) מהסוגים *Steinernema* ו- *Heterorhabditis* משמשות זה מכבר כמדביר ביולוגי מסחרי ומשווקות בעיקר כנגד מזיקי קרקע או חרקים החבויים בנישות מוגנות (Georgis & Manweiler, 1994). הסביבה המיטבית לפעולות הנטע"ח היא הקרקע. נמטודות אלו יעילות במיוחד בסביבה לחה ומאוררת. לכן, כבר בתחילת שנות ה- 80 נבחנה יעילותן של הנמטודות להדברת זבובים במצעי גידול של פטריות למאכל. מצעים אלו מאופיינים בלחות ובאירור רב המהווים כר נוח לפעילות הנמטודות. ואכן

בניסויים ראשוניים שנערכו ע"י Richardson (1987) נמצא שנמטודות משני הסוגים קוטלים ביעילות המשתווה לזו של חומרי הדברה כימיים זבובים הנמנים על המשפחות Cecidomyidan, Phoridae, Sciaridae. ממצאים מעודדים אלו הביאו להמשך פיתוח השיטה ע"י Richardson & Grewal (1991) בניסויים שערכו בבתי גידול לפטריות מסחריים באנגליה.

על בסיס ממצאים אלו פותחו ומשווקים מספר תכשירים מסחריים באירופה ובקנדה המכילים את הנמטודה *Steinernema feltiae* ומיועדים להדברת זבובים בגידול פטריות. לאחרונה נמסר לנו ע"י (Dr. Roma Gwynn מחברת MicroBio – תקשורת אישית) שכמחצית ממגדלי הפטריות באנגליה משתמשים בתכשירים המכילים נמטודות להדברת זבובים. ההדברה הנה של זבובים ממשפחת ה-Sciaridae.

תוכנית המחקר הייתה אמורה לתת פתרונות מעשיים להפחתת הנזקים הישירים והעקיפים הנגרמים על ידי זבובי פטריות. הדברה ביולוגית עשויה להקטין את כמות חומרי ההדברה הכימיים המשמשים בבתי גידול של פטריות מאכל בארץ. במספר מדינות במערב חל איסור על שימוש בחומרי הדברה כימיים בגידול זה. בנוסף, עבודות שנעשו מצביעות על כך שיעילותם של חומרי ההדברה פוחתת עקב התפתחות עמידויות במזיק ועל פיטוטוקסיות של חומרים אלו שהביאו להפחתה ביבולים. מכאן חשיבות השיטה האלטרנטיבית להדברת המזיק שתביא לשיפור איכות המוצר ותקטין את השימוש בהדברה כימית ופגיעה באיכות הסביבה. המטרה הכללית הייתה לבחון את אפשרות השימוש בנמטודות כמדביר ביולוגי של זבובי פטריות במערכות גידול פטריות המאכל בארץ. המטרות הספציפיות הן:

- ☐ בחינת יעילות נמטודות מזנים ומינים שונים בתנאי מעבדה ומערכת לגידול מזערית.
- ☐ בחינת התנאים המיטביים ליישום הנמטודות במערך גידול המודל.
- ☐ יישום בניסויים בהיקף מסחרי בבתי גידול של מגדלים.

## הניסויים שבוצעו:

### שנה א'

בשנת המחקר הראשונה ניסינו להקים מערך לגידול רציף של זבובי *Phorid* נקיים מטפילים, במעבדה, ע"מ לנטרל השפעות של אורגניזמים אחרים הקיימים בחדרי הגידול של הפטריות. לאחר ניסיונות רבים התברר שהזבובים אינם מתרבים במכלי הגידול בקצב המאפשר מאגר מספיק לניסויים.

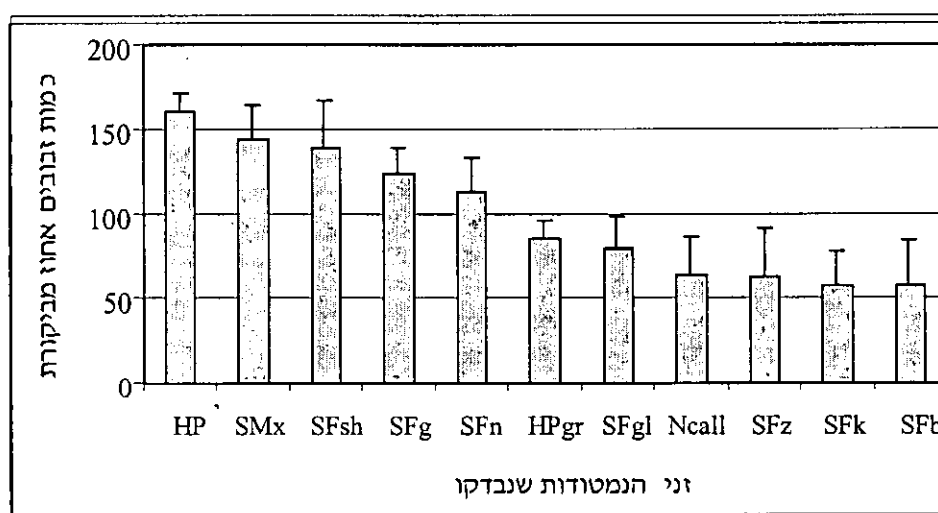
לקראת סוף שנה א' עברנו לעבוד עם זבובים מחדרי גידול מסחריים (Scheepmaker et al. 1995). מכלים פתוחים בנפח 3 ליטר של קומפוסט מונבט, בשבוע השני לאחר הזריעה נחשפו להטלת זבובים במשך 48-72 שעות. בתום ההטלה הקומפוסט עורבב בעדינות, להשגת אחידות בפיזור ביצי הזבובים. בשלב זה הוספנו את הנמטודות ע"פ הטיפול. ערבבנו שוב את הקומפוסט והכנסנו 150 גר' מהתערובת הנ"ל למכל פלסטיק גלילי בנפח 1000 מ"ל, 5 מכלים לכל טיפול. המכלים הוחזקו באינקובטור ב-25°C. שבועיים לאחר הכנסת המכלים לאינקובטור, מרחנו דבק רימיפוט נוזלי על החלק הפנימי של המכסים. הבוגרים שהגיחו נדבקו למכסה ונספרו.

## שנה ב'

1. סריקת זני נמטודות ביצענו סריקה של 11 זנים, בשיטה שנמצאה יעילה בסוף שנה א'. בדקנו את השפעת הנמטודות על הפחתת מספר הזבובים בקומפוסט מונבט, בתנאי מעבדה. בשלב הסריקה, הריכוז הנבדק היה 50 נמטודות לגרם קומפוסט. בזנים שנתנו תוצאות חיוביות חזרנו על הניסוי פעמיים. זני הנמטודות השונים גודלו וסופקו ממכון וולקני, המח' לנמטולוגיה.

## הזנים שנבדקו:

1. (SFz) *Steinernema feltia* Zichron
2. (SFk) *Steinernema feltia* Karmiel
3. (SFg) *Steinernema feltia* Gvulot
4. (SFn) *Steinernema feltia* Nir-oz
5. (SFb) *Steinernema feltia* Beit-nir
6. (SFsh) *Steinernema feltia* Sha'labim
7. (SFgl) *Steinernema feltia* Glaseri
8. (Mex) *Steinernema carpocapsae* Mexican
9. (Ncall) *Steinernema carpocapsae* All
10. (HP88) *Heterorhabdits bacteriophora* HP88
11. (HPgr) *Heterorhabdits* sp. Gvulot-green



## איור מס' 1. השפעת זן הנמטודות על יעילות ההדברה.

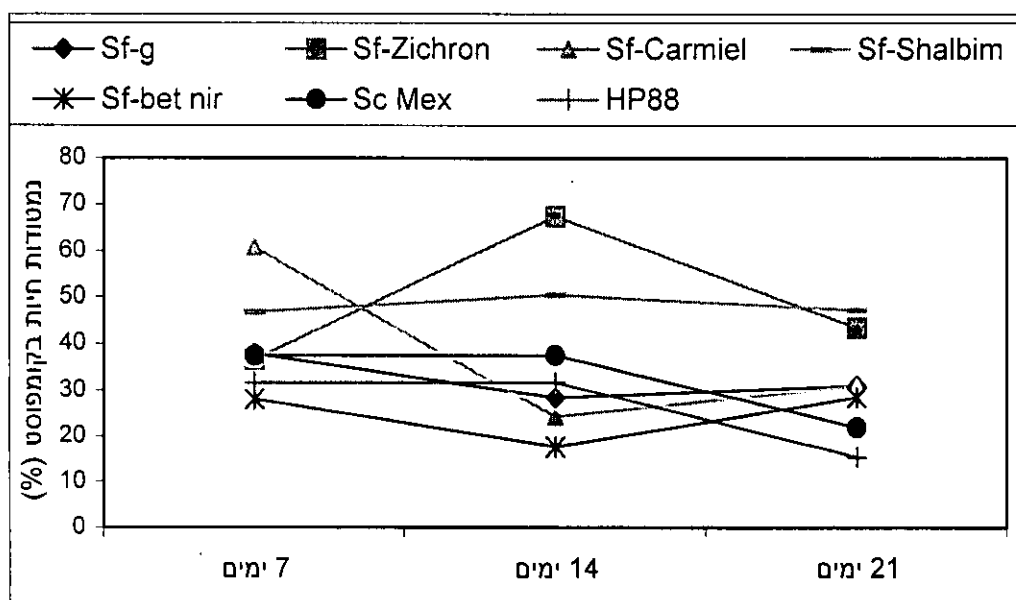
גרף זה מסכם את תוצאות הניסויים שבהם בדקנו את יעילותם של 11 זני נמטודות שונים, להפחתת מספר הזבובים בקומפוסט, בתנאי מעבדה.

ניתן לראות ששישה זני נמטודות גרמו להפחתה בכמות הזבובים, יחסית לביקורת ללא נמטודות. חמישה זנים גרמו לעליה בכמות הזבובים. הסיבה לעלייה זאת אינה ברורה לנו, כיוון שהנמטודות מורחפות במים מזוקקים בלבד, אך התוצאות חזרו על עצמן בחזרות רבות. שני הזנים היעילים ביותר (SFb) *Steinernema feltia* Beit-nir, (SFk) *Steinernema feltia* Karmiel הפחיתו את מספר הזבובים בכ 42%, ביחס לביקורת.

2. בדיקת הישרדות הנמטודות בקומפוסט בחודש נובמבר 2001 בוצעו בדיקות לקביעת הישרדותם של זני נמטודות שונים בקומפוסט מונבט, המשמש גם לגידול הפטריות ובו מתפתחים הזבובים. הבדיקה נעשתה במחלקה לנמטולוגיה במכון וולקני. לתוך המכלים שפותחו לגידול זבובים יוּשְׁמוּ נמטודות ממיינים שונים בתרחיף מים בנפח של 40 סמ"ק, בריכוז 1000 נמט' לסמ"ק (סה"כ 40,000 נמט' לקופסא). הנמטודות עורבבו היטב והמכלים הושארו במשך 6 ימים בתנאי חדר (25 מ"צ). לאחר תקופת האינקובציה נלקחו דגימות במשקל 13 ג' מהחלק העליון המרכזי והתחתון של הקופסא (תמונה מס' 1). הדגימות הונחו ע"ג רשת בתוך צלחת פטרי בקוטר 9 ס"מ מלאה במים. לאחר 24 שעות נספרו הנמטודות בכל צלחת. הניסוי בוצע פעמיים וכל טיפול נערך ב 5-7 חזרות. טיפול ביקורת כלל קופסאות שבהם יוּשְׁמוּ מים בלבד ללא נמטודות.



תוצאות הניסויים מובאים באיור 2:



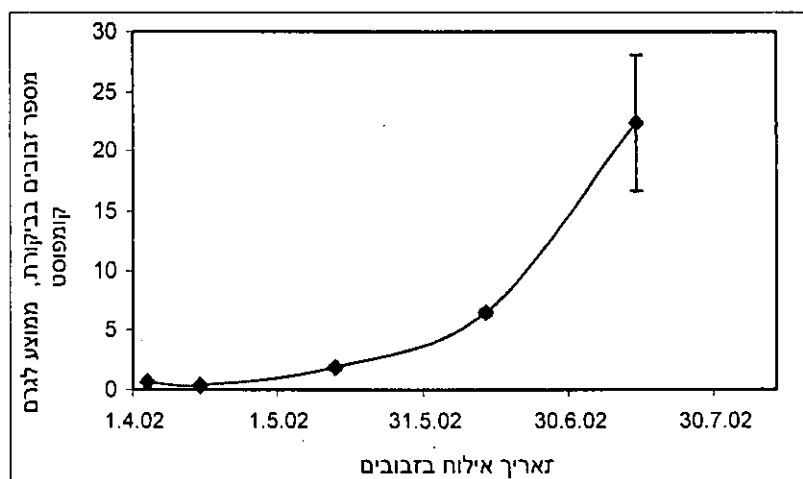
### איור מס' 2. השפעת זן הנמטודות על הישרדותן במהלך 21 יום.

גרף זה מסכם את הניסויים שבדקו את הישרדותם של 7 זני נמטודות בקומפוסט מונבט, במשך 21 יום. הניסויים נערכו במחלקה לנמטודות במכון וולקני.

שני הזנים ששרדו באחוזים הגבוהים ביותר לאחר 21 יום הם: *Steinernema feltia* Zichron - (43%) ו- *Steinernema feltia* Sha'labim - (47%). בשאר הזנים אחוז ההישרדות נע בין 15.3% ל-30.8% לאחר 21 יום.

### 3. מעקב אחר התפתחות אוכלוסיית הזבובים בחדרי הגידול, במהלך השנה

במהלך הניסויים בלטו ההבדלים גדולים באוכלוסיית הזבובים בחדרי הגידול, בהתאם לטמפרטורת הסביבה. זהו גורם חשוב שיש לקחת בחשבון כאשר מתכננים טיפול מונע כנגד הזבובים.



### איור מס' 3. רמת האילוח בזבובים בחדרי הגידול במהלך אביב וקיץ 2002.



גרף זה מראה את כמות הזבובים הממוצעת לגרם קומפוסט בטיפול הביקורת (ללא נמטודות). מספר הזבובים היה נמוך באפריל (0.36-0.62), עלה באופן מתון במאי ומהיר יותר ביוני, אך ביולי חלה עליה גדולה באוכלוסיית הזבובים לרמה של 22.4 זבובים לגרם קומפוסט.

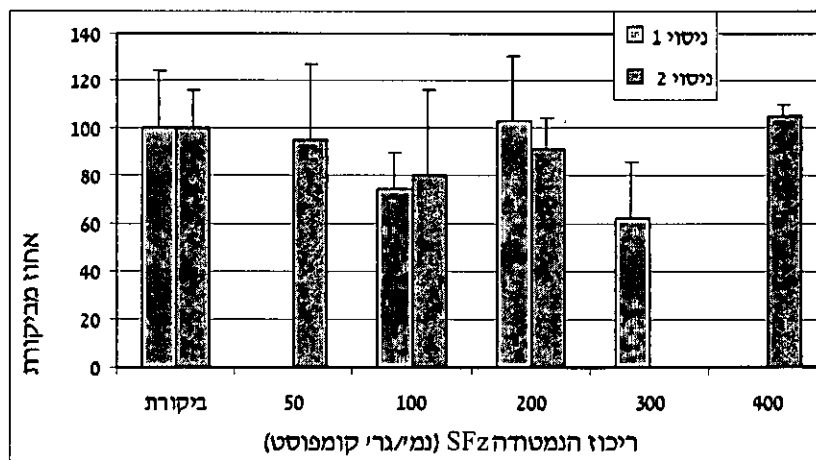
#### שנה ג'

לפי תכנית המחקר, עברנו בשנה ג' לבדיקת הפרמטרים ליישום, בזנים שנתנו את התוצאות הטובות ביותר בשנה ב':

1. הריכוז האופטימלי ליישום
2. משך פעילות הנמטודות
3. שילוב עם חומרי הדברה ביולוגיים

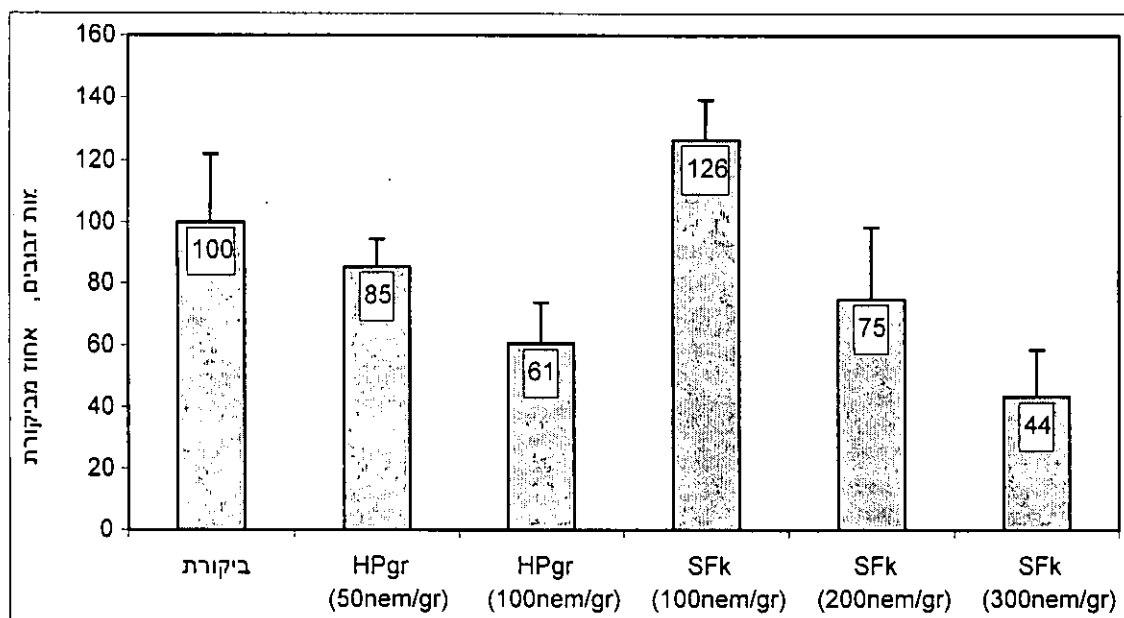
#### 1. בדיקת הריכוז האופטימלי

הזן שנבחר להמשך המחקר היה SF Zichron, מכיוון שנתן תוצאות טובות בשלב הסריקה וגם בניסויי ההישרדות. בתחילת שנה ג' ביצענו מספר ניסויים שמטרתם לבדוק כיצד תשפיע עליה בריכוז הנמטודה על הדברת הזבובים, ומהו הריכוז האופטימלי. הריכוזים שנבדקו: 100, 200, ו- 300 או 400 נמטודות לגרם קומפוסט.



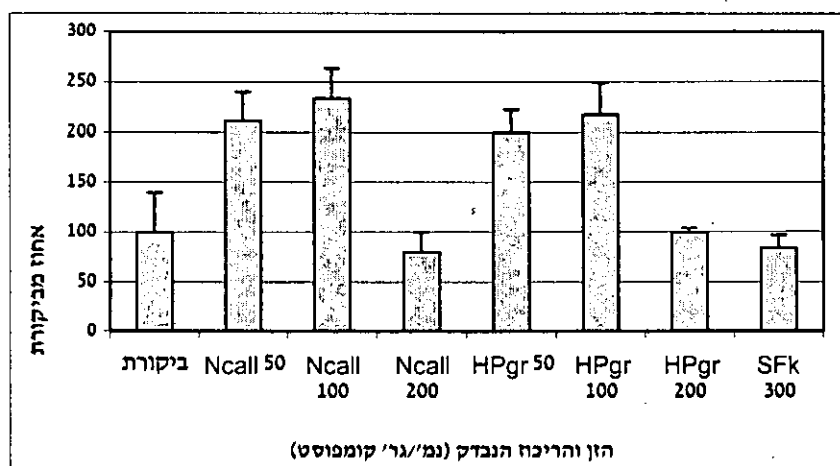
**איור מ' 4.** מציג את תוצאות שני הניסויים שביצענו, לבדיקת הריכוז האופטימלי של הנמטודה SFz. לא ניתן להצביע על קשר ברור בין העלייה בריכוז הנמטודות להפחתת מספר הזבובים. שני ריכוזים אמנם הפחיתו את כמות הזבובים (100 ו- 300 נמ'גר' קומפוסט) אך הריכוזים 200 ו- 400 נמ'גר' קומפוסט לא הביאו להפחתה במספרם. גם הריכוז של 50 נמ'גר' שהיה יעיל בשנה ב' (הפחית את כמות הזבובים בכ- 40%) בשנה ג' כמעט לא השפיע (הפחתה של 5% בכמות הזבובים).

עקב התוצאות הגרועות שהתקבלו בניסויי הריכוזים בון SFz, עברנו לבדוק את שאר הזנים שנתנו תוצאות חיוביות בשנה ב' (HP Gvulot-green ו-SF Karmiel) בריכוזים עולים.



#### איור מס' 5. השפעת ריכוזי הנמטודות SFk ו HPgr על יעילות ההדברה.

בשני זנים אלו ניתן לראות בברור כי עליה בריכוז הנמטודות גרמה להפחתה משמעותית במספר הזבובים. ריכוז נמטודות של 300 נמטודות/גרם קומפוסט בזן SFk גרם להפחתה של 56% במספר הזבובים. אולם גם בזנים אלו נצפתה ירידה משמעותית בהשפעת הנמטודות על אוכלוסיית הזבובים לעומת שנה ב'.

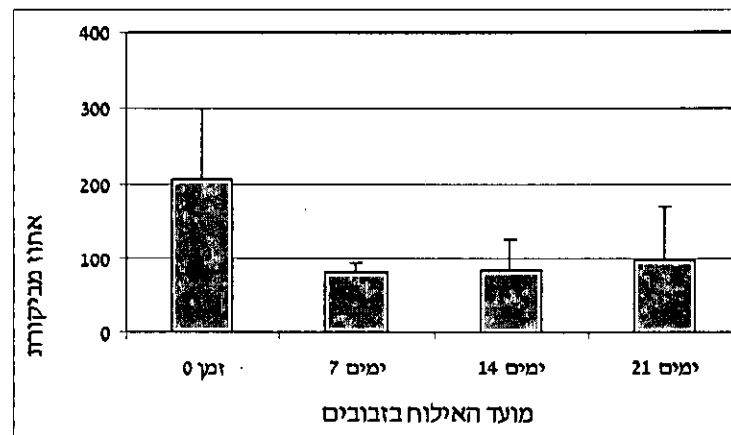


#### איור מס' 6. ניסוי חוזר לבדיקת ריכוזים שונים של הזנים SFk, Ncall ו HPgr על יעילות ההדברה.

מניסוי זה ניתן לראות שלא הייתה חזרה על תוצאות הניסוי הקודם. רק בריכוזים הגבוהים ביותר של הזנים SFk ו Ncall נצפתה הפחתה במספר הזבובים. הנמטודות מהזן HPgr לא גרמו להפחתה כל שהיא בכמות הזבובים באף אחד מהריכוזים שנבדקו.

## 2. משך פעילות הנמטודות

פרמטר נוסף שביקשנו לבדוק הוא משך פעילות הנמטודות, כדי לקבוע את מועד הטיפול המיטבי. לשם כך לקחנו קומפוסט מונבט והוספנו לו נמטודות (בריכוז 170 נמ/גר' קומפוסט). אחת לשבוע הכנסנו רבע מכמות הקומפוסט לאילוח בזבובים (בחדר גידול מסחרי שבו אוכלווייסת זבובים גדולה) למשך 12 שעות. לאחר מכן הועבר הקומפוסט להדגרה באינקובטור במעבדה. הנמטודה בניסוי זה היתה SFk.

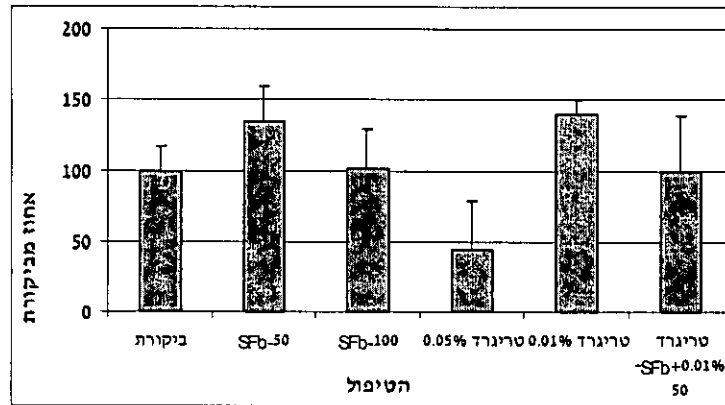


## איור מס' 7. משך פעילות הנמטודות בקומפוסט.

הנתון הבולט ביותר בתוצאות הניסוי הוא שבאילוח בזבובים בזמן 0, ז"א מיד עם יישום הנמטודה, נגרמה עליה של 200% ויותר באוכלוסיית הזבובים! לעומת זאת לאחר 7 ימים הנמטודה הפחיתה את כמות הזבובים ב 20%. בהמשך הניסוי (14 ו 21 ימים) הייתה ירידה בהשפעת הנמטודות, (84 ו 97% בהתאמה).

## 3. שילוב חומרי הדברה ביולוגיים

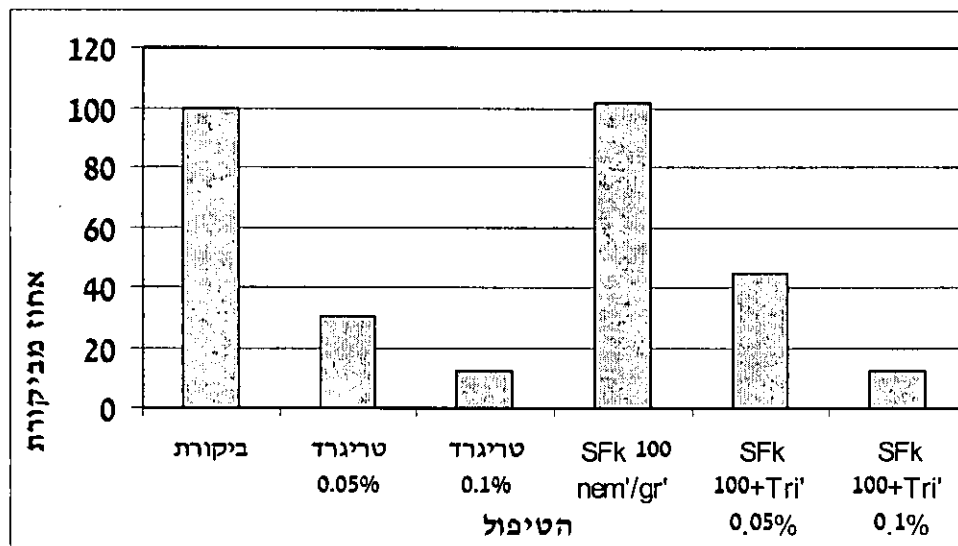
מידע שקיבלנו בע"פ מאיתמר גלזר הצביע על תוצאות טובות מאוד שהתקבלו בפולין, בשילוב נמטודות וחומר ההדברה הביולוגי Trigard. חומר זה הנו מקבוצת המג"חים (מעכבי גילגול חרקים) המעכב את התנשלות הרימה וכך גורם לתמותת הזבוב. מסיבה זו רעילותו ליונקים בכלל ולאדם בפרט, נמוכה. בניסויים שנערכו בפולין ע"י A.Szzyk-Basalyga, נמצא שריכוז של 10% מהריכוז המקובל בשימוש בחקלאות, בשילוב נמטודות, הביא לתוצאות טובות בהדברת זבובי הפוריד. הבעיה העיקרית בשימוש בטריגרד היא מחירו הגבוה: 1000 ₪ לק"ג, שהופך את השימוש בו ללא כלכלי, אלא אם משתמשים בריכוזים מאוד נמוכים. אנחנו ניסינו לשלב את הנמטודות מהזן SFb בריכוז 50 נמ/גר' קומפוסט, עם טריגרד בריכוז 0.01% שהנו 20% מהריכוז המומלץ בחקלאות.



#### איור מס' 8. הדברה משולבת של נמטודות והאינסקטיצייד הביולוגי Trigard.

ניתן לראות שהטיפול המשולב היה אמנם יעיל יותר משני מרכיביו כאשר פעלו בנפרד, אך לא גרם להפחתה כלשהי בכמות הזבובים. לעומת זאת הריכוז המומלץ לשימוש ע"י היצרן (0.05%) הפחית ב 56% את אוכלוסיית הזבובים. גם בניסוי זה לא גרמו הנמטודות להורדת אוכלוסיית הזבובים, לעומת שנה ב' שבה נמטודה זו הפחיתה את רמת הזבובים ב 42%.

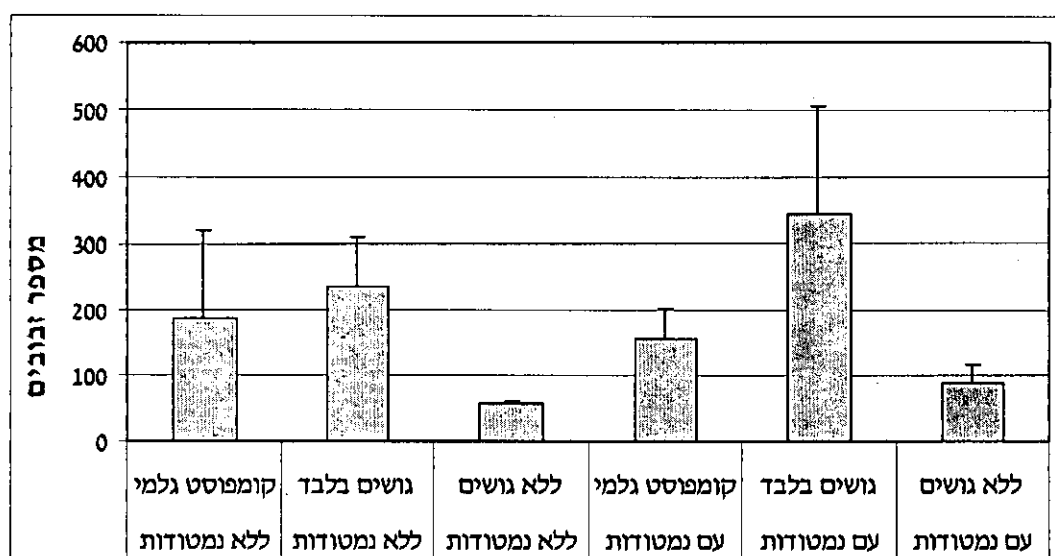
בניסוי הבא ביקשנו לבדוק האם עלייה בריכוז הטריגרד תגרום להפחתה נוספת בכמות הזבובים. בדקנו שוב את הריכוז המומלץ בשימוש (0.05%) וכן ריכוז כפול (0.1%) ושילוב של ריכוזים אלו עם הנמטודה SFk בריכוז של 100 נמ"גר/קומפוסט.



#### איור מס' 9. הדברה משולבת של נמטודות והאינסקטיצייד הביולוגי Trigard בריכוז כפול.

בניסוי זה ההדברה המשולבת הייתה יעילה פחות מהטריגרד בלבד, באותו ריכוז. הכפלת ריכוז הטריגרד (ל 0.1%) הביא להפחתת כמות הזבובים ב 88%! גם בניסוי זה לא הייתה לנמטודות כל השפעה על הפחתת כמות הזבובים.

במרביית הניסויים שביצענו בשנה ג', הנמטודות לא הפחיתו את כמות הזבובים כלל. במחצית השנייה של השנה ביצענו ניסויים ותצפיות כדי למצוא את הסיבה לכך. בתצפיות בקומפוסט המאולח בזבובים בלטה התופעה שהרימות נמצאות בעיקר בתוך גושים דחוסים בקומפוסט. התמקדנו בבדיקת ההשערה שהרימות מתרכזות בתוך גושים, שהנמטודות אינן נכנסות לתוכם. בניסוי זה השתמשנו בקומפוסט מונבט ומאולח בביצי זבובים (כמתואר בשיטות העבודה בשנה א'). יום אחרי ההוצאה מאילוח הוספנו למחצית מהקומפוסט תמיסת נמטודות מזן SFz, בריכוז נמוך של כ 20 נמ/גר' קומפוסט (עקב בעיות בגידול הנמטודות במכון וולקני). למחצית השניה של הקומפוסט הוספנו מים מזוקקים בכמות זהה והכנסנו את הקומפוסט להדגרה באינקובטור למשך 4 ימים, במהלכם ניתן לשער שהרימות כבר עברו 2-3 התנשלויות ונמצאות בנישות המתאימות להן. אחרי 4 ימים העברנו לכלי ניסוי קומפוסט גלמי, קומפוסט מנופה מגושים וכן גושים בלבד (5 כלים לכל טיפול, 100 גרם קומפוסט לכלי).



#### איור מס' 10. הקשר בין הימצאות גושים, לכמות הזבובים בקומפוסט.

הנתון הבולט ביותר מניסוי זה הוא ההבדל הגדול במספר הזבובים שהיו בגושים, לעומת מספרם בקומפוסט ללא גושים (פי ארבע). בנוסף ניתן לראות שהנמטודות לא הפחיתו את אולוסיית הזבובים, למעט בקומפוסט הגולמי, אך גם כאן הירידה אינה גדולה. לעומת זאת ניתן לראות שבגושים היו למעלה מ 30% יותר זבובים בטיפול שהכיל נמטודות לעומת טיפול הביקורת ללא נמטודות.

## ד. מסקנות והמלצות להמשך המחקר

### 1. השפעת זן הנמטודות על יעילות ההדברה וכושר הישרדותן בקומפוסט.

בניסויי ההדברה בדקנו 11 זנים, משתי משפחות של נמטודות: *Steinernema* ו- *Heterorhabdits*. מתוכם מצאנו חמישה זנים שהפחיתו את כמות הזבובים בצורה משמעותית בשנת המחקר השניה. שלושת הזנים היעילים ביותר משתייכים למין *Steinernema feltia*, שמספר זנים שלו משמשים באופן מסחרי להדברת זבובי ה- *Sciaridae* המהווה באירופה את המזיק העיקרי. בניסויי ההישרדות נבדקו 7 זני נמטודות, ונקבע אחוז הנמטודות החיות לאחר 7, 14 ו 21 יום בקומפוסט המשמש לגידול פטריות. בשני זנים (*SF Zichron* ו- *SF Sha'labim*) נמצא שאחוז הנמטודות ששרדו לאחר 21 יום היה מעל ל 40% ובשאר הזנים אחוז ההישרדות היה בין 15.3% ל 30.8% לאחר 21 יום.

מבין שלושת הזנים שנמצאו יעילים בניסויי ההדברה, לשניים הייתה רמת הישרדות נמוכה. רק בזן *Steinernema feltia Zichron* נמצא שילוב של הדברת זבובים יעילה והישרדות טובה בקומפוסט לאורך זמן ולכן זן זה נבחר להמשך המחקר בשנה השלישית.

### 2. דינמיקת התפתחות אוכלוסיית הזבובים בחדרי הגידול.

גידול פטריות מאכל מתבצע במהלך השנה כולה, בחדרי גידול מבוקרי אקלים וסגורים באופן מוחלט כמעט, לחדירת חרקים. למרות זאת, בלטו מאוד הבדלים הגדולים באוכלוסיית הזבובים בתוך חדרי הגידול, עם העלייה בטמפרטורת הסביבה. באפריל מספר הזבובים היה 0.36 זבובים לגרם קומפוסט, ביוני 6.5 ובאמצע חודש יולי הגיעה כמותם ל 22.4 זבובים לגרם קומפוסט מאולת, עליה של פי 60!

ההסבר לתופעה הוא קיצור זמן הדור עם העלייה בטמפרטורת החיצונית אשר יוצר אינוקולום התחלתי גדול בסביבת חדרי הגידול בעונות החמות, ומביא לעליה מהירה בכמות הזבובים בחדרים. מומלץ לעקוב בצורה שיטתית אחר דינמיקת ההתפתחות של אוכלוסיית הזבובים לאורך השנה, כדי שניתן יהיה להתאים את הטיפול לרמת הזבובים הצפויה.

### 3. השפעת ריכוז הנמטודות על יעילות ההדברה.

ניסויים לבחינת השפעת ריכוז הנמטודות על יעילות ההדברה בוצעו בשנת המחקר השלישית. הזן הראשון שנבדק היה *SF Zichron*. כפי שניתן לראות מאיור 4, לא היתה לריכוז הנמטודה השפעה ברורה על הדברת הזבוב. גם בניסויים בזני נמטודות אחרים לא קיבלנו תוצאות עקביות המצביעות על קשר ישר בין ריכוז הנמטודה להדברת הזבובים, וככלל בשנה זו חלה ירידה גדולה ביעילות הנמטודות, לעומת שנה קודמת. לירידה זו יכולות להיות מספר סיבות:

א. **שינויים בקומפוסט** – הקומפוסט מוכן מחומרי גלם שהינם פסולות אורגניות, בעיקר קש חיטה ורפד לולים. לחומרים אלו שונות רבה, הן מבחינת ההרכב הכימי והן מבחינה פיסיקאלית. הרכב חומרי הגלם משפיע על מבנה הקומפוסט (רטיבות, גושים, pH ועוד). יתכן שבשנה האחרונה היה שינוי באחד מחומרי הגלם והוא שגרם לירידה באפקטיביות הנמטודות.

- ב. **הנמטודות** - קיימת תופעה שנמטודות המגודלות מספר שנים במעבדה, מאבדות במידה מסוימת את כושר הפעילות שלהן. גם תופעה זו יכולה להיות הסיבה לירידה ביעילות הנמטודות בניסויים שערכנו, אם כי אפשרות זאת נראית פחות הגיונית, כי לא סביר שכמה זנים איבדו אפקטיביות באותו זמן.
- ג. **הזבובים** – יתכן שגורם כלשהו (אורגניזם חדש במערכת הגידול או שינוי כלשהו בתנאים), גרם לרימות הזבוב לחפש נישה מוגנת יותר, בתוך הגושים בקומפוסט, שם הנמטודות אינן מסוגלות להדביר אותם. באיור 9 הראנו שאכן הרימות מתרכזות בגושים דחוסים במצע. לדעתנו כדאי להמשיך את המחקר בכיוון זה ולחפש נמטודה המסוגלת לחדור לגושים ושם להדביר את הזבוב.
- ד. **שילוב כמה גורמים** – תופעה ידועה בהדברה ביולוגית, שבמקרים רבים היא אינה יציבה לאורך זמן. הסיבה לכך היא שמערכת הבנויה על מדביר שהנו אורגניזם חי, נתונה יותר להשפעות סביבתיות שונות, כגון: עונות השנה, טמפרטורה, נוכחות חומרים או אורגניזמים שונים במצע או בבית הגידול ועוד. כל שינוי עלול להשפיע על יעילות ההדברה וקשה מאוד למצוא את הגורם הישיר לכך.

#### 4. משך פעילות הנמטודות.

מתוצאות הניסוי שערכנו (איור 7) ניתן להסיק שיש ליישם את הנמטודות כשבעה ימים לפני מועד ההדברה הרצוי. במידה ובעתיד תמצא נמטודה המסוגלת להדביר את זבוב הפוריד במערכת גידול פטריות מאכל, יש להמשיך ולבדוק את מועד היישום וכן לבדוק אפשרות של מספר יישומים לאורך תקופת הגידול.

#### 5. שילוב עם חומרי הדברה ביולוגיים.

כדאי לבדוק גם כיוון זה, מניסויים שערכנו ניתן לראות שיש לחומרים אלו פוטנציאל גבוה להדברת הזבוב (איורים 8,9).

- Boemare, N. E., Akhurst, R. J. & Mourant, R. G. (1993). DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae) symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescence* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *Journal of Systematic Bacteriology* **43**, 249-255.
- Caroli, I., Glazer, I., & Gaugler, R. (1996). Entomopathogenic nematode infectivity bioassay: Comparison of penetration rate into different host. *Biocon Sci & Tec* **6**, 227-233.
- Grewal P S, Richardson P N (1993): Effects of Application Rates of *Steinernema feltiae* (Nematoda, Steinernematidae) on Biological Control of the Mushroom Fly *Lycoriella auripila* (Diptera, Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology* **3**: 29-40
- Grewal P S, Richardson P N, Collins G, Edmonson R N (1992) Comparative effects of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) and insecticides on yield and cropping of mushroom *Agaricus bisporus*. *Annals of Applied Biology* **121**: 511-520
- Georgis, R. & Manweiler, S. A. (1994). Entomopathogenic nematodes: A developing biocontrol technology. in *Agricultural Zoology Reviews*. (ed. Evans K.). Andover: Intersept. pp. 63-94.
- Glazer, I. (1992). Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insects. *J Invert Pathol* **59**, 90-94.
- Glazer, I. (1990). Nematodes against insects: A new way of biological control. *Hassade* **70**:1778-1780.
- Glazer, I., Galper, S., & Sharon, E. (1991). Virulence of the nematode (*Steinernematids* and *Heterorhabditis*)-bacteria (*Xenorhabdus* spp.) complex to the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Invertebrate Pathology* **57**, 94-100.
- Grewal P S, Tomalak M, Keil C B O, Gaugler R (1993) Evaluation of a Genetically Selected Strain of *Steinernema feltiae* Against the Mushroom Sciarid *Lycoriella mali*. *Annals of Applied Biology* **123**: 695-702
- Hay D B, Richardson PN (1995) Inter- and intraspecific variation in infectivity of *Steinernema* spp to larvae of the mushroom fly *Lycoriella solan*L. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **77**: 11-15
- Kaya, h. K. & Stock, s. P. (1997). Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. (Ed.). *Manual of Techniques in Insect Pathology*. USA, Academic Press Limited, pp. 303-305.
- Richardson PN (1987). Nematode parasites of mushroom flies: Their use as biological control agents. In: Proceedings of the international symposium on the scientific and technical aspects of cultivating edible fungi. Wuest PJ, D.J.; Beelman, ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers, pp. 385-394



Richardson PN (1987): Susceptibility of mushroom pests to the insect-parasitic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis*. *Annals of Applied Biology* **111**: 433-438

Richardson PN, Grewal PS (1991) Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella lauripila* Diptera: Sciaridae. *Biocontrol Science and Technology* **1**: 217-228

*Richardson PN, Hughes JC (1983) Prospects for the biological control of mushroom pests. Glasshouse Crops Research Institute Annual Report 1982: 96-*

*100*

Rinker DL, Olthof TH. HA, Dano, J. Alm G (1995) Effect of entomopathogenic nematodes on control of a mushroom-infesting sciarid fly and on mushroom production. *Biocon. Sci. Tech.* **5**, 109-119.

Scheepmaker, J.W.A., Geels, F.P., Smits, P.H., Vangriensven, L.J.L.D (1997). Location of immature stages of mushroom insect pest *Megaselia halterata* (Diptera: Phoridae) in mushroom growing medium. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **83**, 323-327

Scheepmaker, J.W.A., Geels, F.P., Rutjens, A.J., Smits, P.H., Vangriensven, L.J.L.D., 1998. Comparison of the efficacy of entomopathogenic nematodes for biological control of the mushroom pests *Lycoriella auripila* (Sciaridae) and *Megaselia halterata* (Phoridae). *Biocontrol Science & Technology* **8**, 277-288

Ricci, M., Glazer, I. & Gaugler R. (1996). Entomopathogenic nematode infectivity assay: Comparison of laboratory bioassays. *Sci Tecnol* **6**, 235-245.

- Glazer, I. 1992. Survival and efficacy of *Steinernema carpocapsae* in an exposed environment. *Biocontrol Sci. Technol.* 2, 101-107.
- Glazer, I. 1996. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. *Biocont. Sci. Technol.* 6, 373-378.
- Glazer, I. and A. Navon. 1990. Activity and persistence of entomoparasitic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 83:1795-1800.
- Glazer, I., M. Klein, A. Navon, and Y. Nakache. 1992. Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with antidesiccants applied by canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 85:1636-1641.
- Glazer, I., Gaugler, R. and Segal, D. 1991: Genetics of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (strain HP88): The Diversity of beneficial traits. *J. Nematol.* 23: 324-333.
- Glazer, I. 1990. Nematodes against insects: A new way of biological control. *Hassade* 70:1778-1780.
- Glazer, I. 1991. Susceptibility of different pest in Israel to entomopathogenic nematodes. *Hassade* 71:1271-1274.
- Glazer, I. 1992. Use of entomopathogenic nematodes against foliage pests. *Hassade* 2:351-354.
- Glazer, I., Golberg, A., Salame L. and Noriel, E. 1993. Field trails with entomopathogenic nematodes against the beetle *Maladera matrida*. *Hassade* 73: 1062-1066.
- Efron, D., Ben-Yakir D., Chen M. and **Glazer I.** 1998. Evaluation of entomopathogenic nematodes for control of the European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) on sweet corn. *Phytoparasitica* 26: 101-108.
- Solomon A., Paperna I., **Glazer I.** 1998. Desiccation tolerance of *Muellerius* cf. *capillaris* (Nematoda: Metastrongyloidea) first-stage larvae. *J. Parasitol.* 84: 802-805.

Navon A. , Keren, S., Salame L. and **Glazer, I.** 1998. An edible-to-insects calcium alginate gel as a carrier for entomopathogenic nematodes. *Biocon. Sci. & Technol.* 8:429-437.

Solomon A., Paperna I., **Glazer I.** 1999. Induction of anhydrobiosis on the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae*. *Nematology*. 21: (accepted).

Samish, M., Alekseev E. and Glazer I. 1998 The effect of the soil environment upon anti-tick activity of entomopathogenic nematodes. *Ann. NY Acad. Sci.* 849: 402-404.

**Glazer, I., Salame, L., Goldenberg S. and Blumberg, D.** 1999. Susceptibility of sap beetles (Coleoptera: Nitidulidae) to entomopathogenic nematodes. *Biocon. Sci. and Technol.* 9:259-266

Segal, D. and **Glazer. I.** 1998. Genetic approaches for enhancing beneficial traits in entomopathogenic nematodes. *Japanese J. Nematol.* 28:101-107.

Samish, M., Alekseev E. and **Glazer, I.** 1999. Efficacy of entomopathogenic nematode strains against engorged *Boophilus annulatus* female ticks (Acari: Ixodidae) under simulated field conditions. *J. Med. Entomol.* 36: 727-732.

Samish M., Alekseev E., and **Glazer I.** 1999. Interactions between Ticks (Acari: Ixodidae) and pathogenic nematodes (Nematoda): susceptibility of various species at various developmental stages. *J. Med. Entomol.* 36: 733-740

Solomon A., Cabaret J., **Glazer, I.** and Paperna I. 1999. Desiccation tolerance of *Muellerius capillaris* first-stage larvae from Israeli arid and French temperate habitats and their compatibility to the land snail *Theba pisana*. *Parasitology* 116: (accepted)

Fodor, A., Z. Buzás, H. Pamjav, D. Triga, T. Vellai, A. Lucskai, B. Adams, A. P. Reid, A.

Burnell, C. Griffin, **I. Glazer,** and M. G. Klein. 1998. Up-grated molecular taxonomy of entomopathogenic nematodes based upon RFLP-ITS patterns of individuals in polyacrylamide gel electro-phoresis, using the PhastSystem. *Electrophoresis* 20:1266-1273.

Kahal, h., and **Glazer I.** 2000. Environmental factors affecting sex determination in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *J. Experimental zoology* (In press)

**Glazer I** and Salame L. 2000. Osmotic survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Biological control* (in press)

Efron D, Nestel, D. and **Glazer I.** 2000. Spatial analysis of entomopathogenic nematodes and insect hosts at a citrus grove in semi-arid region. *Environ. Entomol.* (accepted)

## שאלות מנחות:

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכניות העבודה.  
הפחתת הקף הנזקים הנגרמים לפטריות המאכל ע"י זבובים מהסוג "פוריד" (Phorid) באמצעות הדברה ביולוגית בעזרת נמטודות טפילות על חרקים (נטע"ח), ולהקטין את השימוש בחומרי הדברה על מנת לשפר את איכות המוצר.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות בתקופה שאליה מתייחס הדו"ח.  
במסגרת עבודה ערכנו סריקה של 11 זני נמטודות ובדקנו את השפעתם על הדברת הזבוב המזיק. במקביל נערכה במח' לנמטודות בבית דגן סריקה לבדיקת משך ההישרדות של זנים אלו במצע גידול של פטריות. הנמטודה שנבחרה להמשך המחקר היא *Steinernema feltia* Zichron. נמצא גם כי קיימות תנודות גדולות באוכלוסיית המזיק במהלך השנה, בהתאם לטמפרטורת הסביבה.
3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.  
מהתוצאות שהתקבלו נראה שיש לנמטודות פוטנציאל טוב להפחתת הנזקים הנגרמים ע"י זבובי "פוריד" וע"י כך להפחתת השימוש בחומרי הדברה בגידול פטריות מאכל. מבנה גושי של הקומפוסט כניראה פוגע בכשר הדברה של הנמטודות. על מנת להגיע לרמת הדברה רצויה נצטרך לשלב אמצעים נוספים שנימצאים בבדיקה.
4. הבעיות שנתקנו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן:  
הבעייה העיקרית היא חוסר הדירות של תוצאות הניסויים שנובעות כניראה מכוסר הדברה שונה של הנמטודות שניגרם מסיבות שונות. אחת הסיבות היא כניראה מבנה גושי של הקומפוסט, דבר שניתן לפתרון בתהליך יצורו.
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח:  
לא.
6. פרסום הדו"ח: רק בספריות.