

**מימשק למניעת תנגודת לכותנה מהונדסת (טרנסגנית)
בעשי הכותנה העיקריים**

דו"ח מחקר לשנת 2003 מוגש להנהלת ענף כותנה

131-1154-03

ע"י

רמי הורביץ
ודים חסדן
מריו ריפא
רפי מורי
סופיה קלייטמן
והמל בהט

המחלקה לאנטומולוגיה
מרכז מחקר גילת
מינהל המחקר החקלאי

1. מבוא ורקע מדעי

תכשירי הדברה שמבוססים על החיידק בצילוס תורנינגיינזיס (Bt) מסוגלים להדביר ביעילות זחלי עשים שונים (Navon, 2000). תכשירים אלו הוכרו כבטוחים וידידותיים לסביבה. הבעיה שאינם יציבים בתנאי שדה וזחלים חודרניים עשויים להתחמק מהם.

בכותנה הטורנסגנית הצליחו להחדיר בשיטות הנדסה גנטית את הגן של החיידק שמבטא את רעלן החיידק בכל אחד מתאי הצמח; באופן כזה הצמח עצמו מתגונן נגד המזיקים באמצעות הרעלן של החיידק. ההגנה וחסימה כנגד מזיקים על ידי הכותנה הטורנסגנית נחשבת כפריצת דרך טכנולוגית העשויה לשנות באופן משמעותי את כל ההתייחסות אל מימשק הדברה נגד מזיקי הכותנה. התועלת מיישום של גידול מהונדס עם Bt נגד מזיקים מפחית בהרבה את השימוש בתכשירי הדברה רעילים וכך מונע את זהום הסביבה והחשיפה של העובדים לתכשירים אלו. בנוסף, הוא אינו פוגע באויבים טבעיים, וכך יכול להשתלב בתוכניות להדברה משולבת.

למרות כל אלו, ניצול ושימוש בצמחים טורנסגניים נגד מזיקים יש לו מגרעת בסיסית עיקרית והיא הסיכון הגבוה של התפתחות תנגודת במזיקי המטרה. בכותנה זה נובע כתוצאה מחשיפה מתמדת של המזיק לצמחים המהונדסים (ולרעלן) במשך 5-7 חודשים של עונת הכותנה. כמו כן ישנן כבר הוכחות שבחרקים שונים כמו עש הכרוב (*Plutella xylostella*), ומיני הליותיס (כמו *Heliothis virescens*) נמצאו גנים לפיתוח של עמידות לרעלן ה-Bt (Tabashnik et al., 1997; Gould et al., 1997; Gelernter, 1997). בכמה מיקרים נמצאה גם עמידות צולבת למספר רעלני Bt, ובמחקר שנעשה במעבדה נמצא שניתן לעשות סלקציה לעמידות של הלקטית ורודה לרעלן ה-Bt הנפוץ בכותנה הטורנסגנית, Cry1Ac (Bartlett, 1995).

מכל האמור לעיל, כדי לגדל גידול מהונדס המסוגל להתגונן בפני מזיקי כותנה יש לפתח אסטרטגיות נגד תנגודת לגידול זה. לצורך זה פותחו מספר מודלים שכוללים בעיקרם: ביטוי גבוה של הרעלן באברי המטרה שיהיו מסוגלים לקטול זחלים עם אלל יחיד לתנגודת (כלומר פרטים הטרוזיגוטים, RS); חלקות צמודות של 'צמחי מיפלט' לא טורנסגניים (refuge plants), ומעקב צמוד אחר התפתחות התנגודת לצמחים המהונדסים (למשל, Roush, 1997). ההנחה הבסיסית בהקצאת החלקה של צמחי מיפלט היא שעשים רגישים שמגיחים מחלקה זו יזדווגו עם עשים עמידים שמגיחים מהשטח הטורנסגני, וכך תדחה העמידות באופן משמעותי.

במחקר שבצענו לאחרונה (2000-1998) נבדקה יעילות הכותנה המהונדסת עם Bt מתוצרת מונסנטו נגד זחלי עשים מזיקים (הורביץ וחובי, 1999; דוחות מחקר למדען ראשי של משרד החקלאות ומועצת הכותנה - 1998, 1999, 2000) אולם לא ניתן היה לבחון את השינויים ברגישות הזחלים לרעלן (אם נגרמה עליה בעמידות) כתוצאה מחשיפה לכותנה המהונדסת.

מטרות העבודה:

1. לפתח קו בסיסי (Baseline) של רגישות לרעלן מאוכלוסיות מעבדה של הלקטית ורודה והליותיס שישמשו כגזעים סטנדרטים לפני החשיפה המסחרית לצמחים המהונדסים עם Bt.
2. לנטר ולמצוא את הרגישות הטבעית של זחלי הלקטית ורודה והליותיס לרעלן ה-Bt באזורי הארץ השונים.
3. לחשוף ולערוך סלקציה לעמידות לרעלן ולצמחים המהונדסים בגזעים שימצאו סבילים, זאת כדי למצוא את רמת הסיכון להיווצרות עמידות לצמחים הטרנסגנים.
4. לבחון בתנאי שדה או חממה מספר מודלים שהוצעו להתגוננות בפני תגודות בצמחים טרנסגנים, המתייחסות למיקום וגודל של אזורי המיפלט; כמו חגורות צמחים מחוץ לחלקות, שורות מיפלט בתוך הגידול המסחרי ותערובת זרעים.

2. שיטות וחומרים

2.1 ניסויי חממה

2.1.1 מבחן ביולוגי

לצורך בדיקת הביטוי של הרעלן נעשה מבחן ביולוגי עם הלקטים של כותנה טרנסגנית וביקורת אשר נאספו באופן אקראי מחממה. המבחנים נערכו נגד הלקטית ורודה (ה"ו) – גזע רגיש שמגודל בגילת, אשר לא נחשף לתכשירי הדברה. הגידול נעשה במצע מלאכותי של מזון על בסיס נבטי חיטה וסויה. נייר ההטלה של ה"ו סומן מתחת לבינוקולר וחולק לקטעים קטנים עם 10 ביצים. הקטעים נגזרו לפיסות נייר עם הביצים והונחו על הלקטים שהיו נעוצים בשכבת אגר בתוך כוסות פלסטיק. הניסויים נעשו בתנאים סטנדרטים של גידול והתמותה נקבעה לאחר 14 יום.

2.1.2 ניסוי בחממה

בוצע ניסוי חממה שבחן את המודלים השונים שהוצעו לדחות פיתוח תגודות של עשים לצמחים מהונדסים (ניסוי רב שנתל). הניסוי נערך בבלוקים באקראי עם ארבעה טיפולים ושלוש חזרות במרכז מחקר גילת (איור 1). בניסוי נזרעה כותנה טרנסגנית Bollgard (Bt. Monsanto, USA) ולא טרנסגנית (DP, Delta Pine 5415) כהיקש – לפי הטיפולים הבאים:

- (1) 100% Bt (B-33);
- (2) "שורות מיפלט" Internal refuges (2 שורות- כותנה טרנסגנית: שורה 1 - לא טרנסגנית);
- (3) תערובת זרעים - Seed mixtures (16 זרעים טרנסגנים ו-4 לא טרנסגנים, ז"א -80%-20%, בהתאם);
- (4) היקש (100% לא טרנסגנית).

הכותנה נזרעה ב- 16 למאי 2003 לתוך עציצים בתוך תערובת של חול וכבול. כל חזרה בודדה באמצעות רשת עדינה תוצרת Agril - על מנת למנוע מעבר עשים בין הטיפולים. האילוח נעשה באמצעות מספר פיזורים של 250 גלמים/לחזרה

של ה"י מתוך הזן המעבדתי שמגודל בגילת ושלא נחשף לתכשירי הדברה. האילוח נעשה אחרי פריחת הכותנה כל 15 יום; סה"כ 5 פעמים - עד אמצע אוקטובר.

2.1.3 הערכת הנזק

בסוף העונה נאספו הלקטים פתוחים ונבדקו לפי קריטריונים הבאים: יש/אין נזק של ה"י. הזחלים המועטים שנמצאו בהלקטים טרנסגנים נשמרו ב-80% Ethanol על מנת לבדקם בסמני DNA לעמידות ל-Bt.

2.2 איסוף אוכלוסיות למבחני רגישות של זחלים משדות הכותנה

מספר איסופים של הלקטים החשודים בנגיעות בהלקטית ורודה בוצע בסוף עונת 2003. האיסוף נעשה בעין צורים ב-7 לספטמבר, בעין כרמל ואפק (גליל מערבי) ב-9 לספטמבר וברבדים (דרום) ב-28 לאוקטובר. ההלקטים הונחו בתוך רשתות מאווררות שהוכנסו לקעריות של 10 ליטר ובתוכן ניירות מקופלים להתגלמות. עדיין נמשכת התבססות הגידול מאוכלוסיות השדה עד שתגענה לרמה שבה ניתן יהיה לערוך ניסויי רגישות. מכיוון שמעבר ממזון טבעי (הלקטים) למלאכותי יוצר קשיים רבים בגידול, יש לגדל לפחות שלושה דורות עד שאוכלוסיית השדה תסתגל למזון.

2.3 מציאת הקו הסטנדרטי

בניסויים נבחנה אוכלוסיית מעבדה שלא נחשפה לתכשירי Bt מגידול מעבדתי שמקורו מהמבי"ע בית שאן. נאונטים (זחלים לאחר בקיעה) של הלקטית ורודה הועברו בעזרת מכחול דק למצע מזון מלאכותי על בסיס נבטי חיטה וסויה (כנ"ל). לתוך תמיסת המזון הוכנס הרעלן, CryIAc - בריכוזים שונים, והתמותה נקבעה לאחר 14 יום. תערובת הרעלן מורכבת מהתכשיר הביו-אינסקטיציד - MVP-II 20% קפסולרי (Mycogen) שמקביל בתכונותיו לרעלן הטרנסגני, והמשמש בארצות הברית כבסיס למבחני רגישות לצמחים מהונדסים עם Bt. הרעלן נבדק בתמיסות המזון כדי ליצור רצף ריכוזים מ-0.1 עד 10 מיקרוגרם לגרם של מצע מזון. לצורך המבחן נלקחו ביצים של ה"י שהוטלו על נייר. הנייר סומן מתחת לבינוקולר ונגזרו פיסות נייר שהכילו כ-10 ביצים. עשר חזרות של 10 ביצים כ"א הוכנסו לכוסות 30 מ"ל עם מכסים ונבחנו בכל ריכוז. במכסים נעשו חורים לצורך אוורור והוכנסו טיפים צהובים למניעת בריחת זחלים. הכוסות הוכנסו לתבניות והועברו למעבדה עם טמפרטורה קבועה של 27 מ"צ.

המבחנים הביולוגיים עם הליותיס נעשו באופן דומה אבל עם שינויים קלים להתאמה לזחלים אלו. בכל חזרה, הועברו בעזרת מכחול שני נאונטים של הליותיס לכוסות 30 מ"ל עם מצע מזון וריכוזים שונים של רעלן CryIAc. הרעלן עורבב בתמיסות המזון כדי ליצור רצף ריכוזים גבוהים יותר מאשר ה"י (0.1 עד 32 מיקרוגרם לגרם של מצע המזון).

2.4 סלקציה מכוונת של הלקטית ורודה לרעלן CryIAc

כדי לעשות סלקציה מכוונת של ה"י לרעלן ה-Bt, נבחנו שלוש אוכלוסיות: גזע מעבדתי מבית שאן וגזעים משדות כפר מסריק ובארי שנאספו בסוף עונת 2002. פרטים של ה"י שגילו סבילות לריכוזים יותר גבוהים של רעלן מ-0.2

מיקרוגרם לגרם מצע מזון (בערך, LC_{30} , טבלה 1, תרשים 4) נבחרו לסלקציה מכוונת. פרטים של ה"ו גודלו בתנאי מעבדה מוגדרים על מצע מזון המכיל ריכוז 0.2 מיקרוגרם של הרעלן לגרם מצע מזון Cry1Ac ונבחנו מדי שלושה דורות לרגישות ביחס לקו הסטנדרט הרגיש.

2.5 בדיקת ביטוי הרעלן Cry1Ac ע"י מבחנים ביולוגיים בכותנה מהונדסת דו-שנתית

בניסויים נבדקה רמת הביטוי של הרעלן Cry1Ac בכותנה מהונדסת עם Bt, בשנת הגידול השנייה (כותנה זו יכולה להיות הבסיס לגידול כותנה בשנת שמיטה במשקים דתיים והיא תמנע טיפולים רבים בקוטלי חרקים רעילים). בסוף הקיץ של 2002 גזמנו את הצמחים הנ"ל לאחר שנה ראשונה של גידול וניסויים. במשך האביב וקיץ של 2003 ועד סוף העונה בדקנו בעזרת מבחנים ביולוגיים את יעילות הכותנה הטרנסגנית הדו-שנתית (הלקטים, כפתורים ועלים) כנגד זחלי ה"ו והליותיס. בחן ביולוגי עם הלקטים כנגד ה"ו נעשה כנ"ל (2.1.1). המבחנים הביולוגיים עם הליותיס נעשו בצורה הבאה: שני נאונטים של הליותיס בכל חזרה, הועברו בעזרת מכחול לכוסות 30 מ"ל (עם כפתורים נעוצים באגר) או לצלחות פטרי (עם עלים נעוצים בקוביות של אגר). הניסויים התבצעו בתנאים סטנדרטים של גידול, והתמותה נקבעה לאחר 3-4 ימים.

3. תוצאות ודיון

3.1 ניסויים בחממה

בדיקת הביטוי של רעלן ה-Bt בצמחי הכותנה שגודלו בחממה, באמצעות מבחן ביולוגי (ראה שיטות וחומרים), מצביעה על כך שהייתה בצמחים רמה גבוהה של ביטוי של הרעלן, אשר התבטאה ב-100% תמותה של זחלי ה"ו לעומת הביקורת (DP) (טבלה 1). בהמשך המחקר אנחנו מתכוונים לרכוש ערכות לבדיקות כמותיות של ביטוי רעלן Bt בהלקטים.

התוצאות מניסוי החממה מצביעות על כך שנמצא מעט מאוד נזק להלקטים מה"ו בחלקות ה-Bt ($0.7\% (\pm 1.15)$) לעומת ($67.8\% (\pm 16.32)$) בביקורת (DP 5415) (טבלה 2, איור 2). לא היו הבדלים מובהקים בין הטיפולים "שורות מיפלט" (Internal refuge) " ותערובת זרעים (Seed mixture) (טבלה 2, איור 2).

איור 1. תוכנית הטיפולים בחממה

תערובת זרעים Seed Mixture	היקש (Non-Bt)	Bt
Bt	תערובת זרעים Seed Mixture	היקש (Non-Bt)
"שורות" מיפלט" Internal Refuges	Bt	"שורות" מיפלט" Internal Refuges
היקש (Non-Bt)	"שורות" מיפלט" Internal Refuges	תערובת זרעים Seed Mixture

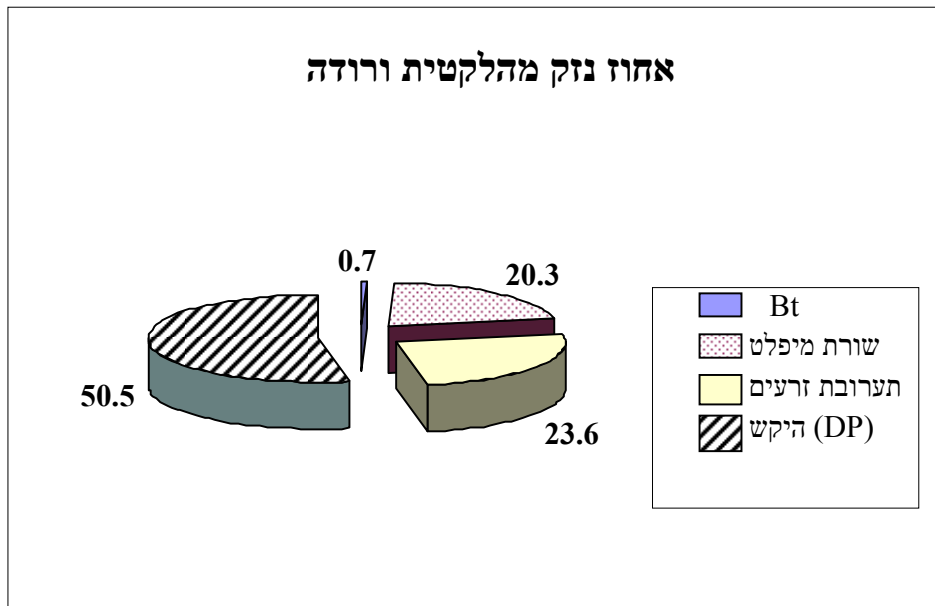
מספר הצמחים בניסוי = $12 \times 21 = 252$

טבלה 1. השפעת כותנת Bt שגודלה בחממה על זחלי הלקטית ורודה

Sr. No.	Bt cotton כותנת Bt		DP (היקש)	
	מספר הזחלים	משקל הזחל (gm)	מספר הזחלים	משקל הזחל (gm)
1.	0	-	3	0.0621
2.	0	-	1	0.0080
3.	0	-	1	0.0357
4.	0	-	4	0.0751
5.	0	-	1	0.0089
6.	0	-	1	0.0036
7.	0	-	3	0.0490
8.	0	-	1	0.0141
9.	0	-	0	סימני פגיעה
10.	0	-	0	סימני פגיעה
Total	0	-	15	

טבלה 2. אחוז ההלקטים שנפגעו מזחלי הלקטית ורודה בחממה

טיפול	אחוז הלקטים שנפגעו מזחלי הלקטית ורודה				ממוצע (SD)
	08/10/2003	21/10/2003	16/11/2003	17/12/2003	
Bt	2.38	0	0	0.25	0.66 (1.15)
שורות מיפלט	6.11	6.67	42.86	25.48	20.28 (17.54)
תערובת זרעים	20.12	27.78	25	21.32	23.55 (3.5)
היקש (DP)	28.71	50	55.39	67.83	50.48 (16.32)



איור 2. התפלגות הנזק להלקטים לפי הטיפולים בחממה

3.2 איסוף אוכלוסיות למבחני רגישות של זחלים של ה"ו משדות הכותנה

בכל האיסופים שנעשו בעונת 2003, נמצאו זחלים בהלקטים שנאספו בשדות שנחשדו כנגועים יחסית. בעין כרמל אספנו סה"כ 3375 הלקטים עם אחוז הנגיעות גבוה (25.81%) ומתוכם יצאו להתגלם 186 זחלים, לעומת זאת, מהשדה של אפק עם נגיעות 2.48% מתוך 3507 הלקטים יצאו סה"כ רק 38 זחלים ומהשדה של עין צורים עם נגיעות 8.54% מתוך 2296 הלקטים יצאו סה"כ 266 זחלים. באסוף שנעשה לאחר קטיף הכותנה בשדה של רבדים שנחשב נגוע יחסית בה"ו נאספו כ- 3000 הלקטים עם נגיעות של כ- 90% במזיק זה. אוכלוסייה זו נמצאת כיום במעבר לגידול במזון מלאכותי.

עדיין, לא התקבלו מספיק צאצאים להמשך הגידול מהאיסופים הנ"ל, במיוחד בגלל אחוז נגיעות גבוה בווירוס של זחלים מהאוכלוסיות (בעיה הזו פתרנו באמצעות חיטוי כני"ל). כמו כן, בהתחלה היו קשיים בהגדלת אוכלוסיות השדה, מכיוון שקשה היה להן להסתגל למזון מלאכותי בתנאי המעבדה. כך שזה לוקח מספר דורות עד שהאוכלוסייה מגיעה לגודל מתאים. זחלים מהשדה מתנהגים באופן שונה מאלו של המעבדה: במקום לנבור לתוך מצע המזון המלאכותי אחרי בקיעתם, הם מנסים לברוח מכלי הגידול דרך פתחי אוויר. בשלב זה, לאחר פתרון הבעיות, אנחנו אמורים לקבל אוכלוסיות של ה"ו מהשדה בגודל רצוי ואלפי הלקטים שנאספו בסוף העונה מהשדות הנ"ל ייצרו בסיס טוב להמשך הגידול ולניסויי רגישות מאוכלוסיות השדה.

כמסקנות לעונה הבאה: נתרכז באיסופים של הלקטים במספר שדות נגועים יחסית - לקראת סוף העונה ואפילו לאחר הקטיף (סוף אוגוסט – סוף ספטמבר). בגלל שבתקופה זו הריסוסים מתמעטים, אוכלוסיית ה"ו מתרבה מאוד ומתרכזת בהלקטים הצעירים.

3.3 מציאת קו סטנדרטי

לאחר ביסוסה של שיטת הגידול פיתחנו את שיטת המבחן למציאת הרגישות של זחלי ה"ו לרעלן ה-Bt (CryIAc). נמצא שהניסויים בהם הביצים של ה"ו הועברו למצע המזון בתוך כוסות פלסטיק (כפי שצוין בשיטות וחומרים) היו יותר אמינים; מפני שמספר הזחלים שנמצאו בביקורות ובטיפולים היה גדול יותר מאשר בשיטה הקודמת בהם השתמשנו (פלטות גידול). עקב כך, עברנו לשיטה זו בלבד. האוכלוסיות השונות נבחנו לרגישות (תמותה) לרעלן ה-Bt נבנו עקומי תמותה בסיסיים לקו הסטנדרט (בית שאן) ולקוי השדה מעונת 2002. נימצא שהקו מבארי רגיש במעט מגזע הסטנדרט ואילו זה מכפר מסריק סביל במעט מקו הבסיסי.

בניסויים התקבלה תמותה מלאה בריכוז רעלן יותר גבוה מ-1.6 מיקרוגרם לגרם מצע מזון לעומת ביקורת בלתי מטופלת. בהתייחסות למחקרים אחרים שנעשו באריזונה (Liu et al., 2001) נמצא כי הגזע שמוצאו מגידול בית שאן רגיש ביותר לרעלן ה-Bt. ה- LC_{50} (ריכוז דרוש לקטילה 50% מהאוכלוסייה מטופלת) הוא (0.25-0.42) 0.32 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון (טבלה 1). הגזע הרגיש מאריזונה נקטל גם הוא באופן מלא מ-10 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון, ורק כ-3% שרדו בריכוז של 1 מיקרוגרם (כ-50% שרדו מריכוז של 0.1 מיקרוגרם רעלן).

בניתוח פרוביט נמצא, כי הגזע שמוצאו משדה כפר מסריק רגיש באותה מידה לרעלן ה-Bt, כמו הגזע מבית שאן [LC_{50} הוא (0.26-0.53) 0.36 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון]; הגזע, שמוצאו משדה בארי רגיש פי 2 מהסטנדרט (טבלה 3).

3.4 סלקציה מכוונת של הלקטית ורודה לרעלן CryIAc

הפרטים של ה"ו אשר נבחרו לסלקציה מכוונת גודלו בתנאי מעבדה מוגדרים על מצע מזון המכיל ריכוז של 0.2 מיקרוגרם של הרעלן CryIAc לגרם מצע מזון (ראה שיטות וחומרים). אחרי 3 דורות נבדקה אוכלוסיית של ה"ו להתפתחות עמידות ונמצא שהם הפכו עמידים יותר לרעלן (יותר מפי 2 לעומת האוכלוסייה מבית שאן [LC_{50} הוא (0.25-0.42) 0.32 ו- (0.46-1.09) 0.72 מיקרוגרם של הרעלן CryIAc לגרם מצע מזון, בהתאם; יחס העמידות (RR_{50}) עלה ל-2.25. אף על פי שתוצאות מצביעות על כך שיש מגמה להתפתחות עמידות לרעלן CryIAc, בשלב הזה עדין קשה להגיד אם התהליך הוא אמיתי והאם הוא מצביע על מוטציה שקיימת בשדה. אנחנו נמשיך לגדל האוכלוסיות האלה ולבדוק אותם כל שלושה דורות. מצב דומה נמצא אחרי 3 דורות להתפתחות עמידות עם אוכלוסייה שנייה מכפר מסריק ובארי.

אוכלוסייה	מספר פרטים	שיפוע ± SEM	LC ₅₀ (F.L.)	LC ₉₀ (F.L.)
בית שאן	1600	1.9 ± 0.25	0.32 (0.25-0.42)	1.52 (1.02-2.82)
כפר מסריק	1750	2.07 ± 0.26	0.36 (0.26-0.53)	1.52 (0.93-3.78)
בארי	1100	2.06 ± 0.41	0.16 (0.1-0.21)	0.67 (0.46-1.5)

טבלה 3. טבלה מסכמת את רגישות זחלי ה"ו (זן מעבדתי שמקורו מבית שאן וזנים מהשדה – כפר מסריק ובארי) ל- Cry1Ac (מיקרוגרם מצע מזון). כדי לחשב את ערכי התמותה ערכנו ניתוח פרוביט לפי תוכנת Polo שמחשבת את ערכי ה- LCs.

מבחני רגישות עם הליותיס

התוצאות של הניסויים עם הליותיס מצביעות על כך שהוא פחות רגיש לרעלן Cry1Ac; ה- LC₅₀ הוא 8.37 (5.24-13.56) מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון (טבלה 4). גם הרגישות של זחלי ההליותיס לאברים שונים (עלים וניצני פרחים) של הכותנה הטרנסגנית פחותה מזו של ה"ו ולא התקבלה תמותה מלאה למרות שהזחלים שנחשפו לכותנה הטרנסגנית היו מאוד קטנים ויתכן שלא היו מסוגלים להשלים את התפתחותם.

3.5 מבחנים עם כותנה דו שנתית

הלקטים שנאספו במועדים שונים משלושת הזנים [כותנה טרנסגנית (Bt 33) וביקורות לא טרנסגניות (D.P. 5415 וסיבאון)] של כותנה דו-שנתית נחשפו לזחלי ה"ו כני"ל. בכל המבחנים התקבלה תמותה מלאה של זחלי ה"ו צעירים בהשוואה לביקורות לא מהונדסות שבהם התקבל נזק ניכר ממיזק זה.

טבלה 4. טבלה מסכמת את רגישות זחלי הליותיס (זן מעבדתי שמקורו מבית דגן) ל- Cry1Ac (מיקרוגרם מצע מזון)

אוכלוסייה	מספר פרטים	שיפוע ± SEM	LC ₅₀ (F.L.)	LC ₉₀ (F.L.)
בית דגן	420	1.87 ± 0.31	8.37 (5.24-13.56)	40.71 (21.88-182.57)

סיכום

1. פיתוח קו בסיסי (Baseline) של רגישות לרעלן מאוכלוסיות מעבדה של הלקטית ורודה והליותיסי שישמשו כגזעים סטנדרטים לפני החשיפה המסחרית לצמחים המהונדסים עם Bt. נעשו מבחני רגישות למינים הנ"ל לרעלן הבצילוס ונתקבלו קווי הסטנדרט שיהוו את הבסיס לכל ניטור של כותנה טרנסגנית בעתיד.
2. ניטור הרגישות הטבעית של זחלי הלקטית ורודה לרעלן ה-Bt באזורי הארץ השונים. נאספו הלקטים נגועים ממספר שדות: עין כרמל, אפק, עין צורים ורבדים. כיום מנסים להגביר את האוכלוסיות שנאספו לבחינת הרגישות שלהן להלקטית ורודה. באוכלוסיות שנאספו בסוף 2002 הייתה רגישות גבוהה לרעלן.
3. סלקציה לעמידות לרעלן ולצמחים המהונדסים בגזעי השדה, זאת כדי למצוא את רמת הסיכון להיווצרות עמידות לצמחים הטרנסגנים. בסלקציה שנעשתה במשך השנה הצלחנו להגדיל את העמידות פי 10, אבל אין זו עדיין עמידות רבה.
4. בחינת מספר מודלים שהוצעו להתגוננות בפני תגודת בצמחים טרנסגנים, המתייחסות למיקום וגודל של אזורי המיפלט; כמו חגורות צמחים, שורות מיפלט בתוך הגידול המסחרי ותערובת זרעים. לא נמצאו הבדלים בין שני המודלים שנבחנו לגבי הנזק מהלקטית ורודה. הוערך הנזק לצמחי המיפלט שגודלו בתוך החלקות הטרנסגניות.
5. במבחנים שנעשו בכותנה טרנסגנית "דו-שנתית" לא נמצאה פחיתה ברגישות לגבי הלקטית ורודה (מתאים לגידול דו-שנתי בשנת שמיטה).

רשימת ספרות

הורביץ, ר., נבון, ע., לבסקי, ש., יבלונסקי, ש. 1999. היעילות של צמחי כותנה מהונדסים עם בצילוס תורנגניניזיס נגד עשי כותנה מזיקים בישראל. גן שדה ומשק, אוקטובר 1999: 23-26.

Horowitz, A. R., A., Navon, S., Levski and S. Yablonski. 1999.
Efficacy of Bt transgenic cotton against the main lepidopteran cotton pests in Israel.
Gan Saddeh Va'Meshek October 1999: 23-26.

Adkinson, P.L., E.S. Vaderzant, D.L. Bull, and W.E., Allision. 1960. A wheat germ medium for rearing the pink bollworm . J. Econ. Entomol. 53:759-762.

Bartlett, A.C. 1995. Resistance of the pink bollworm to Bt transgenic cotton. In Proceedings Beltwide Cotton Conferences. pp. 766-768.

Gelernter, W. D. 1997. Resistance to microbial insecticides: the scale of the problem and how to manage it. In: Microbial Insecticides: Novelty or Necessity. The British Crop Protection Council Symposium Proceedings No. 86, Surrey, UK, pp.201-212.

Gould, F., A. Anderson, A. Jones, D.G. Heckel, J. Lopez, S. Micinski, R. Leonard, and M. Laster. 1997. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 3519-3523.

Navon, A. 2000. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection - reality and prospects. Crop. Prot. 19: 669-676.

Roush, R. T. 1997. Bt-transgenic crops: just another pretty insecticide or a chance for a new start in resistance management? Pestic, Sci. 51: 328-334.

Simmons, A.L., T.J. Dennehy, B.E. Tabashnik, L. Antilla, A. Bartlett, D. Gouge, and R. Staten. 1998. Evaluation of Bt cotton deployment strategies and efficacy against pink bollworm in Arizona. Proceedings Beltwide Cotton Conferences. Pp1025-1030.

Tabashnik, B.E., N. Finson, D.G. Heckel, Y.B. Liu, and L. Masson. 1997. One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1-5.