	תקופת המחקר: 1998-2000	קוד מחקר: 131-1019-00	
יעילות של צמחי כותנה מהונדסים (טרנסגנים) עם בצילוסטורנינגיאנסיס נגד עשי כותנה מזיקים בישראל.		שם המחקר: THE EFFECTIVENESS OF BACILLUS THURINGIENSIS- TRANSGENIC COTTON AGAINST LEPIDOPTERAN PESTS IN COTTON.	
חוקר ראשי: דר' רמי הורוביץ		מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250	
חוקרים שותפים: דר' יצחק ישעיה, אריאלה ניב, דר' עמוס נבון, גברת שרה יבלונסקי, גברת שרה קרן		מאמרים: 2	

תקציר

הצגת הבעיה: כותנה מהונדסת גנטית עם רעלן החיידק *בצילוס תורנינגיאנסיס* מהווה כיום חלק של הכותנה המסחרית בארה"ב, אוסטרליה ומדינות נוספות. חברת מונסנטו בארה"ב יצרה לראשונה את הכותנה המהונדסת, על ידי שיבוט גן הרעלן Cry1Ac לכותנה באמצעות מין של החיידק-וקטור אגרובקטריום. כותנה זו מתאפיינת בכך שכל תאי הצמח מכילים את רעלן החיידק, ולכן הכותנה יעילה נגד זחלים אוכלי עלים ונוברים לכפתורי פרחים ולהלקטים. המחקר נועד לענות על השאלה האם כותנת מונסנטו המהונדסת עם רעלן החיידק (Nucotton, Bollgard) חוסמת ביעילות את העשים מזיקי הכותנה בכל חלקי הצמח. לפיכך, מטרת המחקר הייתה: לבחון את יעילות הכותנה המהונדסת עם Bt נגד העשים המזיקים בכותנה - בתנאי הארץ ובשלבי התפתחות שונים של צמח הכותנה.

מהלך ושיטות עבודה: חלקות כותנה נבדקו במחלקה לאנטומולוגיה במינהל המחקר החקלאי באופן מבוקר במבחני מעבדה ושדה בחשוואה לכותנה ביקורת דלתאפין, ובחלק מהעבודה נגד הכותנה המקומית "סיב-און", כביקורת נוספת. פותחו שיטות מבחן במעבדה ובשדה לבחון את יעילות הכותנה המהונדסת. יעילותה נבדקה נגד מספר עשים (הלקטית ורודה, הליותיס, זיפית ופרודניה) במשך שלוש שנים רצופות שאפשרו לקבל תמונה מייצגת ויסודית של שיעור חסימת הכותנה בפני זחלי העשים. נבחנה ההעדפה להטלה של נקבות הליותיס וזיפית על הכותנה המהונדסת לעומת הביקורות. בנוסף, נדגמו בעיקר בסוף העונה - שדות שונים של כותנה מהונדסת לנוק מזחלי הלקטית ורודה וזיפית.

תוצאות עיקריות: 1. הכותנה המהונדסת עם Bt יעילה מאוד נגד הלקטית ורודה - עד סוף העונה. 2. העלים של כותנת Bt חוסמים טוב יותר זחלי הליותיס וזיפית - מאשר אברי הפרי. 3. בסוף העונה ישנה חסימה נמוכה של זחלי הליותיס. 4. אין ההעדפה להטלה על כותנת Bt לעומת כותנה מהזן המקביל הלא-טרנסגני. 5. כותנת Bt אינה חוסמת זחלי פרודניה.

מסקנות והמלצות: ממחקר זה אנו למדים: 1. זחל ורוד יחסם ביעילות. 2. למרות היעילות הבינונית של הכותנה המהונדסת כחוסמת הליותיס, בתנאי שדה יתכן שלא יהיה צורך לטפל. 3. זיפית נפגעת, אך יכול להיות נזק מסוים. 4. פרודניה לא נפגעת, אך פחות נפוצה בזנים הטרנסגנים. 5. בגלל הדחייה בריסוסים תיתכן דחייה גם בטיפולים כנגד כנימת עש הטבק ומזיקים אחרים. 6. תיתכן התקפה של ציקדות ושאר מוצצים. 7. עם הכנסת הכותנה המהונדסת נגד מזיקים צפויה פחתה משמעותית בריסוסים. 8. הגדלת השטחים של כותנה מהונדסת נגד מזיקים חייבת להיות מלווה במחקר בנושא ממשק כנגד תנגודת.

דוח מחקר מסכם לשנים 1998-2000
תוכנית 1019-131

נושא המחקר:

היעילות של צמחי בותנה מהונדסים (טרנסגניים) עם בצילוס תורנינגיינזיס

נגד עשי כותנה מזיקים בישראל

Effectiveness of *Bacillus thuringiensis*-transgenic cotton
against lepidopteran pests in cotton

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ומו"פ גדולי שדה
על ידי

רמי הורוביץ	אנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, גילת
עמוס נבון	אנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן
שלומית לבסקי	אנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן
שרה יבלונסקי	אנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן
אריאלה נייב	מועצת הכותנה, הרצליה ב'

R. Horowitz Entomology, ARO, Gilat 85280, E-mail: hrami@netvision.net.il

A. Navon Entomology, ARO, Bet Dagan 50250, E-mail: navona@netvision.net.il

S. Levski, Entomology, ARO, Bet Dagan 50250

S. Yablonski Entomology, ARO, Bet Dagan 50250

A. Niv The Israeli Cotton Board, Herzelia

March 2001

אדר תשס"א

תקציר

1. הצגת הבעיה

כותנה מהונדסת גנטית עם רעלן החיידק בצילוס תורנינגיינזיס מהווה כיום חלק של הכותנה המסחרית בארה"ב, אוסטרליה ומדינות נוספות. חברת מונסנטו בארה"ב יצרה לראשונה את הכותנה המהונדסת, על ידי שיבוט גן הרעלן Cry1Ac לכותנה באמצעות מין של החיידק-וקטור אגרובקטריום. כותנה זו מתאפיינת בכך שכל תאי הצמח מכילים את רעלן החיידק, ולכן הכותנה יעילה נגד זחלים אוכלי עלים ונוברים לכפתורי פרחים ולהלקטים. המחקר נועד לענות על השאלה האם כותנת מונסנטו המהונדסת עם רעלן החיידק (Nucotton, Bollgard) חוסמת ביעילות את העשים מזיקי הכותנה בכל חלקי הצמח. לפיכך, מטרת המחקר הייתה: לבחון את יעילות הכותנה המהונדסת עם Bt נגד העשים המזיקים בכותנה - בתנאי הארץ ובשלבי התפתחות שונים של צמח הכותנה.

2. מהלך ושיטות עבודה

חלקות כותנה נבדקו במחלקה לאנטומולוגיה במינהל המחקר החקלאי באופן מבוקר במבחני מעבדה ושדה בהשוואה לכותנה ביקורת - דלתאפיין, ובחלק מהעבודה נגד הכותנה המקומית "סיב-און", כביקורת

נוספת. פותחו שיטות מבחן במעבדה ובשדה לבחון את יעילות הכותנה המהונדסת. יעילותה נבדקה נגד מספר עשים (הלקטית ורודה, הליותיס, זיפית ופרודניה) במשך שלוש שנים רצופות שאפשרו לקבל תמונה מייצגת ויסודית של שיעור חסימת הכותנה בפני זחלי העשים. נבחנה ההעדפה להטלה של נקבות הליותיס וזיפית על הכותנה המהונדסת לעומת הביקורות. בנוסף, נדגמו בעיקר בסוף העונה - שדות שונים של כותנה מהונדסת לנוק מזחלי הלקטית ורודה וזיפית.

3. תוצאות עיקריות

1. הכותנה המהונדסת עם Bt יעילה מאוד נגד הלקטית ורודה – עד סוף העונה. 2. העלים של כותנת Bt חוסמים טוב יותר זחלי הליותיס וזיפית – מאשר אברי הפרי. 3. בסוף העונה ישנה חסימה נמוכה של זחלי הליותיס. 4. אין העדפה להטלה על כותנת Bt לעומת כותנה מהזן המקביל הלא-טרנסגני. 5. כותנת Bt אינה חוסמת זחלי פרודניה.

4. מסקנות והמלצות

ממחקר זה אנו למדים: 1. זחל ורוד יחסם ביעילות. 2. למרות היעילות הבינונית של הכותנה המהונדסת כחוסמת הליותיס, בתנאי שדה יתכן שלא יהיה צורך לטפל. 3. זיפית נפגעת, אך יכול להיות נזק מסוים. 4. פרודניה לא נפגעת, אך פחות נפוצה בזנים הטרנסגנים. 5. בגלל הדחייה בריסוסים תיתכן דחייה גם בטיפול כנגד כנימת עש הטבק ומזיקים אחרים. 6. תיתכן התקפה של ציקדות ושאר מוצצים. 7. עם הכנסת הכותנה המהונדסת נגד מזיקים צפויה פחתה משמעותית בריסוסים. 8. הגדלת השטחים של כותנה מהונדסת נגד מזיקים חייבת להיות מלווה במחקר בנושא ממשק כנגד תגודת.

מבוא

כותנה מהונדסת גנטית עם רעלן החיידק *Bacillus thuringiensis* תורעגייניז מהווה כיום חלק של הכותנה המסחרית בארה"ב, אוסטרליה ומדינות נוספות. חברת מונסנטו בארה"ב יצרה לראשונה את הכותנה המהונדסת, על ידי שיבוט גן הרעלן Cry1Ac לכותנה באמצעות מין של החיידק-זקטור אגרובקטריום. כותנה זו מתאפיינת בכך שכל תאי הצמח מכילים את רעלן החיידק, ולכן הכותנה יעילה נגד זחלים אוכלי עלים ונוברים לכפתורי פרחים ולהלקטים. הנושא נועד לענות על השאלה האם כותנת מונסנטו המהונדסת עם רעלן החיידק (Nucotton, Bollgard) חוסמת ביעילות את העשים מזיקי הכותנה בכל חלקי הצמח. לפיכך, מטרת המחקר הייתה: לבחון את יעילות הכותנה המהונדסת עם Bt נגד העשים המזיקים בכותנה - בתנאי הארץ ובשלבי התפתחות שונים של צמח הכותנה. בשנים 1998-2000 גידלו לראשונה את הכותנה הטרנסגנית מתוצרת חברת מונסנטו. חלקות הכותנה נבדקו במחלקה לאנטומולוגיה במינהל המחקר החקלאי באופן מבוקר במבחני מעבדה ושדה בהשוואה לכותנה ביקורת - דלתאפין, ובחלק מהעבודה נגד הכותנה המקומית "סיב-און" כביקורת נוספת. יעילות הכותנה המהונדסת נבדקה נגד מספר עשים (הלקטית ורודה, הליותיס, זיפית ופרודניה) במשך שלוש שנים רצופות שאפשרו לקבל תמונה מייצגת ויסודית של שיעור חסימת הכותנה בפני זחלי העשים.

שיטות העבודה

1. החרקים

ההליותיס *Helicoverpa armigera* וזחל ההלקט הזיפי *Earias insulana* והלקטית ורודה *Pectinophora gossypiella* (זחל ורוד) וכן הפרודניה *Spodoptera littoralis* שימשו לבדיקת הכותנה

המהונדסת לתרעלן החיידק. החרקים גודלו על קרקע מזון מלאכותי פרט לפרודניה שגודלה גם על עלי קיקיון. זחלים ובצים של זחל ורוד התקבלו מהגידול המעבדתי בחוות עדן, ובמעבדות המועצה המקומית, בית שאן. השתמשנו בזחלים נאונטים שהם 0-12 ש' לאחר הבקיעה מהביצים ובזחלי דרגה 3.

2. הכותנה המהונדסת ל-Bt

זרעי הכותנה המהונדסת התקבלו מחברת מונסנטו לפי האישורים המתאימים. הזרעים נזרעו בעצים בחממה ובחלקות של חצי דונם של כ"א מהכותנות : כותנת Bt, מכותנת דלתאפיין 5415 שאינה מהונדסת וכותנת "סיבאון". השקיה ניתנה בטפטוף. במשך העונה נערך מעקב אחר נגיעות טבעית. בשלב פתיחת הלקטים הכותנה נקצרה, ונשרפה כדי לא להשאיר זרעים בשטח. נוהל הטיפול בכותנה הייתה בפיקוח המחלקה לשירותים להגנת הצומח ולביקורת.

3. מבחני יעילות של הכותנה המהונדסת במעבדה.

הליותיס וזחל ההלקט הזיפי

פסיגים, עלים, כפתורי פרחים והלקטים נלקחו מהחממה או מהשדה במועדי העונה השונים. נקטמו בפטוטר המרחק של 2 ס"מ מהטרף והקצה הוחדר לתוך שכבה של 1 ס"מ אגר מוקשה בבקבוקון זכוכית של 20 סמ"ק. באופן זה נשמרה הלחות של החומר הצמחי למשך 3 ימים. בכל בקבוק הוכנסו 5 זחלים מדרגה ראשונה (נאונטים) או זחלי דרגה שלישית. לאחר 2-3 ימים נקבעה תמותת הזחלים. כמוכן קבענו משקל זחל, שטח אכילה של העלה והוערך שיעור החדירה לכפתור פרח ולהלקט. חדירה של עד 2 מ"מ נרשמה כחדירה שטחית. חדירה לעומק רב יותר שכלל פגיעה בשחלות ואבקנים, נרשמה כחדירה עמוקה. שטח העלה שנאכל על ידי הזחל נמדד על ידי סורק במחשב פנטיום II באמצעות תוכנת פוטושופ. במבחני העדפה שמנו בכלי פלסטיק עם אגר עלה או הלקט מכותנה מהונדסת ולידו הלקט מכותנת הביקורת. הפרודניה נבחנו עלים בלבד ועליהם הונחו 10 נאונטים לכל חזרה. הלקטית וורודה. ההגנה של הצמחים המהונדסים נבחנה על ידי הנחת 10 ביצים (לכל הלקט) לפני בקיעה על הלקטים רכים שנקטפו באקראי מהשדה וטופלו בכלים עם אגר מוקשה כנ"ל. רמת החדירה להלקטים נקבעה לאחר כ- 8 ימים.

4. מבחני יעילות של הכותנה המהונדסת בתנאי שדה

מבחנים אלו נערכו בשדה בחודשים יוני עד אוקטובר. לבדיקת הליותיס וזיפית השתמשנו בכלובי עלים וכפתורי פרחים והלקטים לפי Navon (2000). בכל כלוב שמנו זחל אחד דרגה שלישית וכעבור 3-4 ימים נרשמו תמותה, משקל זחל ושיעור חדירה לכפתור פרח או הלקט. לבדיקת זחל הלקטית וורודה (זחל וורודה) הוכנסו פיסות נייר שעליהן כ- 10 ביצים (לפני בקיעה) לתוך חפי הלקטים רכים בשדה.

5. דגימות שדה להערכת הנזק

במשך החודשים ספטמבר ואוקטובר נלקחו דגימות הלקטים באקראי מהחלקות השונות להערכת הנזק הטבעי מזחל ההלקט הזיפי והלקטית וורודה. מכל חלקה נלקחו 20 צמחים באקראי והוסרו מהם ההלקטים. ההלקטים נבדקו במעבדה ונקבע הנזק (לפי חורי היציאה) מפגיעת שני המזיקים. בשנת 2000 נדגמו 100 הלקטים מכל חלקה ונבדקו במעבדה. ההלקטים הונחו בתוך קופסאות פלסטיק עם פתחי אוורור מכוסים ברשת, וכל אחד מהם נפתח לאחר כ- 10 ימים לבדיקת הנגיעות שהייתה בעיקר מזחל הלקט זיפי.

6. העדפה להטלה של נקבות ההליותיס והזיפית

ניסוי זה נערך בשנת 1999. כדי ללמוד אם ישנה העדפה להטלה לזן הטרנסגני ובין הביקורת (דלתא-פיין, לא מהונדסת), נזרעו שורות של שני הזנים בצמידות אחת לשניה. לצורך ניסויי ההטלה נבנו כלובים עם מסגרת מתכת וכוסו ברשת, גודל כל כלוב היה $2 \times 3 \times 2$ מ'. בתאריכים שונים במשך העונה הונחו הכלובים באופן שכיסו 5 צמחי Bt ו-5 צמחי דלתאפיין (ביקורת). בתוך הכלוב הוכנסו 20 נקבות ו-20 זכרים של הליותיס (או זיפית) בני יומיים-שלושה. ההטלה נבדקה על פני כל אברי הצמחים בשדה לאחר 3 ימי שהייה של העשים בכלוב. ב-5.8.99 הושוותה ההטלה גם בכלובים נפרדים לכל זן (כולל סיבאון).

7. מבחן שדה בתנאים משקיים

מבחן שדה לבחינת יעילות הכותנה הטרנסגנית בתנאים משקיים בוצע בשדה כותנה בקיבוץ הסוללים (בעזרת אריאלה ניב ומועצת הכותנה) בעונת 2000. הזנים היו הזן הטרנסגני B33 בחלקת שדה של 200 דונם ולידו הזן הסטנדרטי הישראלי, 'סיבאון'. מהלך הגידול ופיקוח המזיקים היה דומה בכל החלקות. כדי לבחון נוכחות הליותיס וזיפית, נעשו בדיקות של 10 קטעים באורך מטר אחד פעמיים בשבוע. נגיעות בהלקטית ורודה נבחנו ע"י דגימה ובחינה של 100 הלקטים בשבוע לכל שדה. ונגיעות של פרודניה נבדקה ע"י ספירת מוקדים ל-100 מטר שורה. נוכחות של מזיקים מוצצים נבדקה לפי חוברת ההמלצות.

תוצאות

א. מבחני יעילות נגד הליותיס

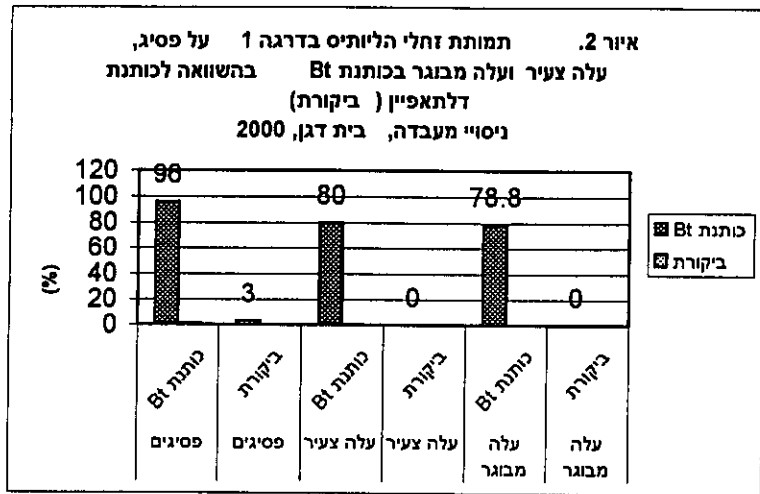
מבחני הפעילות של פסיגים ועלים נגד ההליותיס (טבלה 1, איור 1) הראו חסימה יעילה מאוד של הזחלים. אולם בסוף עונת הכותנה ההשפעה של העלים כולל עלים מבוגרים הייתה נמוכה באופן משמעותי ביחס לתמונה בחודשים יוני-יולי. שוני בין החסימה של סוגי העלים השונים נראה בניסויים השונים בשנות המחקר. במבחן מעבדה השוואתי נראה כי לפסיגים יש יכולת התגוננות גבוהה יותר מאשר עלים צעירים או מבוגרים (איור 2). במבחנים שנערכו לאורך העונה נפל הביטוי הטרנסגני (יכולת החסימה) בעלים הצעירים באמצע העונה לרמה נוכה מאוד ואילו הביטוי בעלים המבוגרים היה יציב יותר אך בסוף העונה גם הוא היה נמוך (איור 3). החדירה לכפתורי פרחים בתחילת בעונה הייתה מצומצמת ותמותת הזחלים הייתה גבוהה. לעומת זאת בהלקטים התמותה והנוק היו בינוניים. במבחני העדפה עם זחלים טאונטים הפגיעה בהלקטים ותמותת זחלים הייתה בינונית, אולם זחלי דרגה שלישית פגעו מאוד בהלקטי כותנת Bt ולא נקטלו ממנה. בדיקת התמותה של זחלי ההליותיס במשך מספר תאריכים בחודש יולי עד לאמצע אוגוסט (איור 4) הראתה ירידה בתמותה מ-100% עד ל-20% בלבד ב-19 באוגוסט. ירידה זו הייתה מתונה אבל עקבית במגמתה. בביקורת – כותנת דלתפיין הזחלים התפתחו וגרמו נזק רב לאברי הצמח הנבחנים. התמותה הטבעית של זחלים לא עלתה בדרך כלל על 10%.

טבלה 1. סיכום הפעילות של הכותנה המהונדסת נגד זחלי ההליותיס *

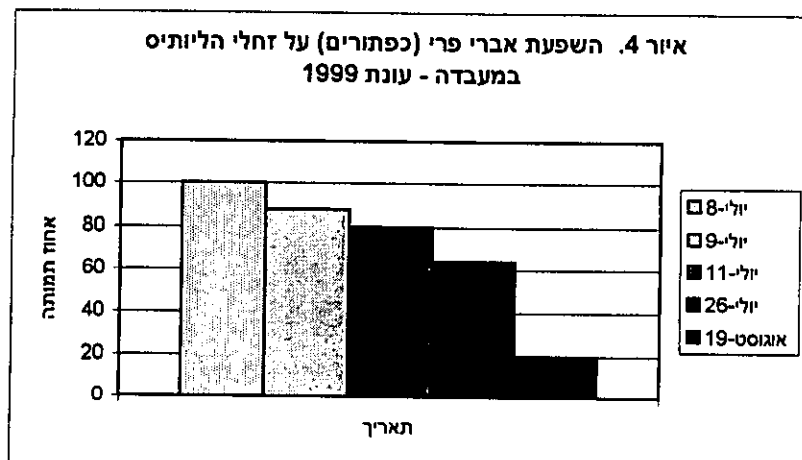
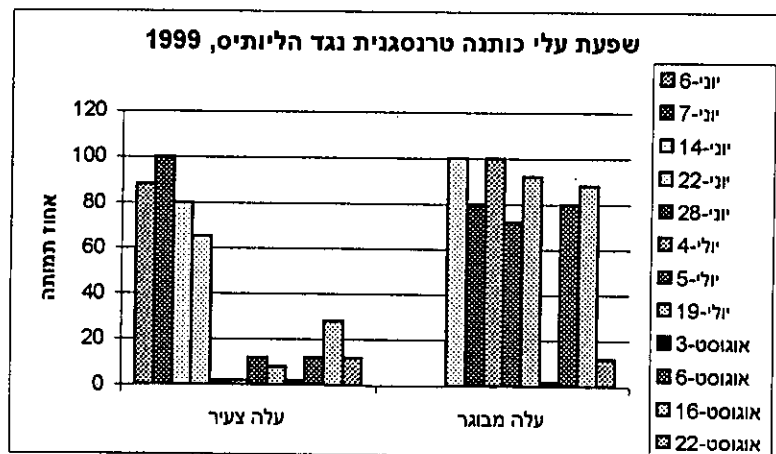
טיב החסימה של זחלים		נתוני הניסוי – מעבדה
נזק לכותנה מהונדסת	תמותת זחלים	
-	גבוהה מאד	פסיגים/נאונטים
כרסום רב	בינונית	עלה צעיר/נאונטים/יוני-יולי/השוואה
	נמוכה	עלה צעיר /נאונטים/ יולי-אוגוסט/השוואה
-	בינונית	עלה מבוגר/נאונטים/השוואה
חדירה בעיקר שטחית	גבוהה	כפתורים/נאונטים/השוואה
חדירה בעיקר שטחית	בינונית	הלקטים/נאונטים/השוואה
חדירה שטחית	בינונית	הלקטים/נאונטים/העדפה
חדירה עמוקה	אפסית	הלקטים/דרגה 3 / העדפה

* = תמותה מועטה - 0%-30%; תמותה בינונית 40%-60%; תמותה גבוהה - 80%-100. תמותה גבוהה מאד - 95%-100

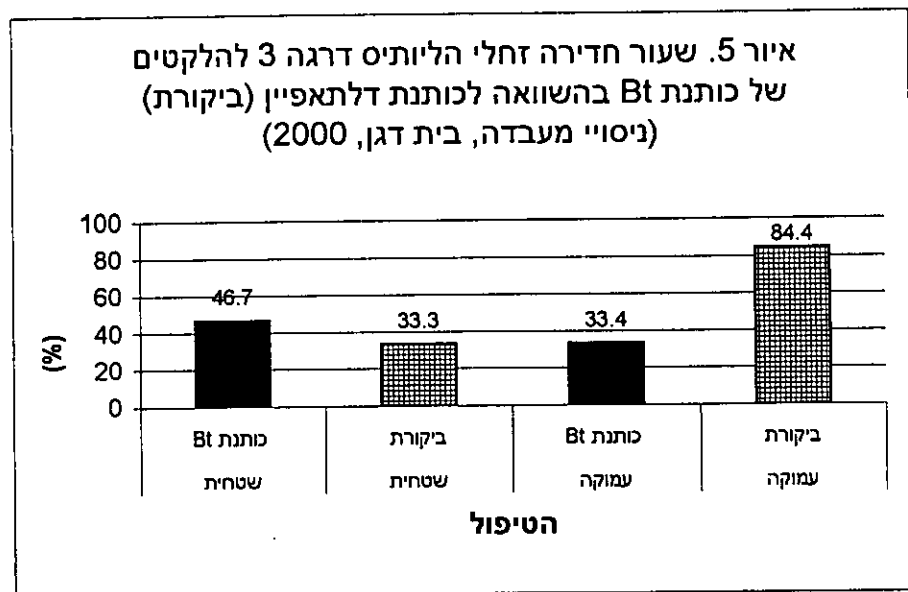




איור 3



החדירה של זחלי ההליותיס לכפתורי פרחים או הלקטים נבחנה לפי עמוקה, חדירה שטחית או עמוקה. לגבי הנזק לכפתורי פרחים מזחלים בדרגה שלישית, שעור החדירה העמוקה היה נמוך בכותנה המהונדסת באופן משמעותי יותר מאשר בכותנת הביקורת. אחוז החדירה השטחית, היה ברוב הניסויים גבוה יותר בכותנה המהונדסת בהשוואה לכותנת הביקורת כלומר מצב הפוך ביחס לחדירה העמוקה. אין כנראה דחייה לאברי הכותנה המהונדסת וכנראה הזחלים "טועמים" (חדירה שטחית) את הכפתורים ונקטלים אחרי כן. ואילו בכותנה ללא חסימה טרנסגנית הזחלים מסוגלים לחדור לתוך אבר הפרי (חדירה עמוקה). בניסויים עם הלקטים בניסוי עם דרגה שלישית, אחוז החדירה העמוקה היה נמוך בכותנה המהונדסת (33%) לעומת חדירה גבוהה בכותנת הביקורת (84%). לא נמצא הבדל בין החדירה השטחית בכותנת ה-BT או בביקורת (איור 5).



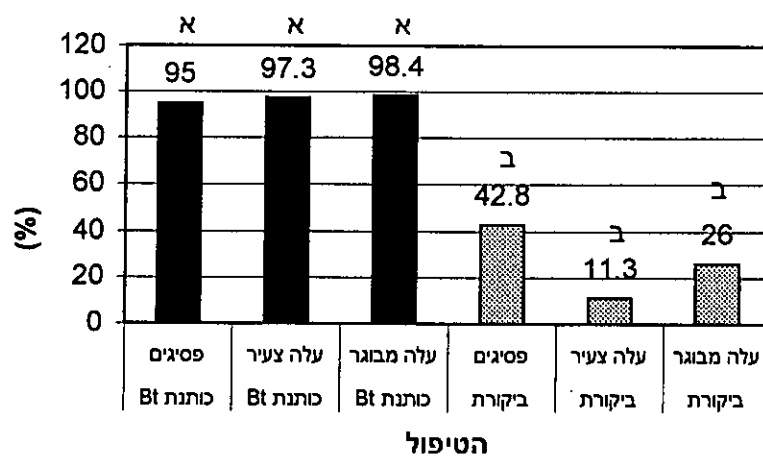
ב. מבחני יעילות נגד זיפית

גם לגבי זיפית התוצאות היו דומות לאלה של ההליותיס; אומנם עלי הכותנה המהונדסת חסמה מזיק זה ביעילות תוך גרימת תמותה גבוהה לזחלים הנחשפים (טבלה 2, איור 6) אבל גם במזיק זה אברי הפרי (אברי המטרה) לא חסמו ביעילות מכסימלית את זחלי הזיפית בתנאי מעבדה. התמותה של הזחלים על אברי הפרי הגיעה רק ל-75%, אבל החדירה העמוקה הייתה פחותה באברי הפרי של הצמחים המהונדסים מאשר הביקורת, וזאת בניגוד לחדירה השטחית, בדומה להליותיס (איורים 7, 8, 9).

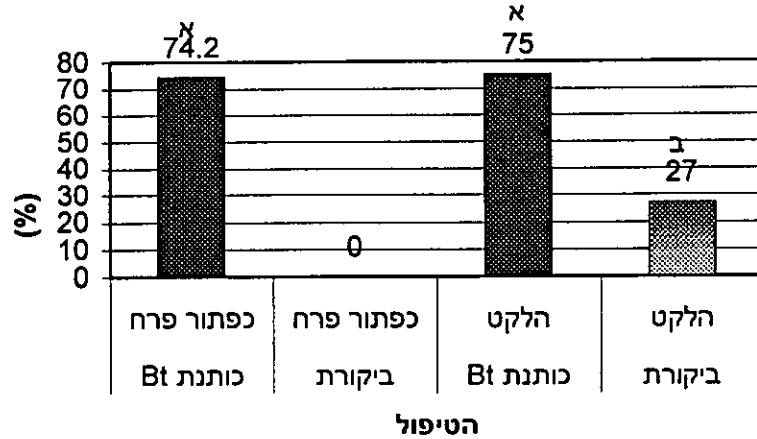
טבלה 2. סיכום הפעילות של הכותנה המהונדסת נגד זחלי הזיפית

טיב החסימה של זחלים		נתוני הניסוי - מעבדה
תמותת זחלים	חדירה לכותנת מהונדסת	
גבוהה מאד		פסיגים/נאונטים
גבוהה	נוק כרסום מועט	עלה צעיר/נאונטים/יוני-יולי/השוואה
גבוהה		עלה צעיר /נאונטים/ יולי-אוגוסט/השוואה
גבוהה מאד	כרסום מועט מאד	עלה מבוגר/נאונטים/השוואה
בינונית	בינונית	כפתורים/נאונטים/השוואה
גבוהה מאד	בעיקר שטחית	הלקטים/נאונטים/השוואה
גבוהה	שטחית	הלקטים/נאונטים/העדפה
מועטה	אפסית	הלקטים/דרגה 3 / העדפה

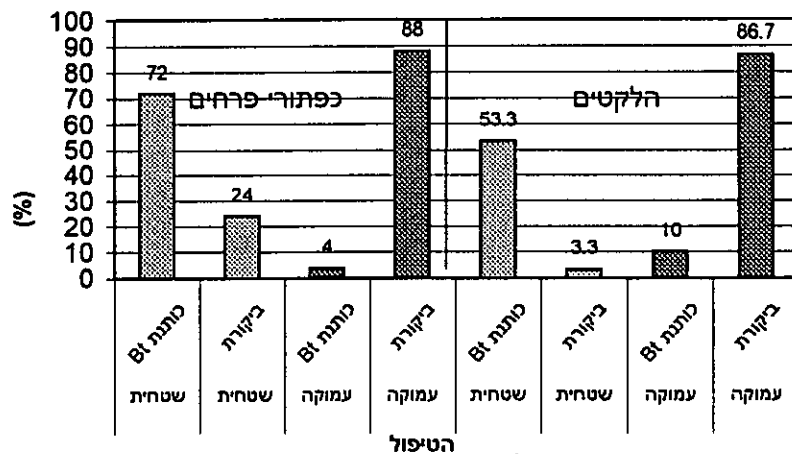
איור 6. תמותת זחלי זיפית בדרגה 1 בכותנת Bt על פסיג, עלה צעיר ועלה מבוגר בהשוואה לדלתאפיין כביקורת (ניסוי מעבדה, בית דגן, 2000)



איור 7. תמותת זחלי זיפית בכותנת Bt על כפתורי פרח והלקטים בהשוואה לכותנת דלתאפיין (ניסויי מעבדה, בית דגן, 2000)



איור 8. שיעור חדירת זחלי זיפית לכפתורי פרחים והלקטים של כותנת Bt בהשוואה לכותנת דלתאפיין (ביקורת) (ניסויי מעבדה, בית דגן, 2000)

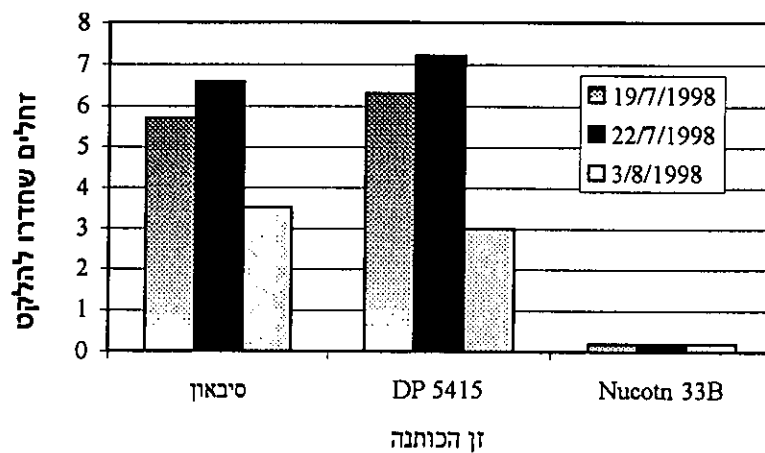


ג. מבחני יעילות הכותנה המהונדסת עם BT נגד הלקטית ורודה

בכל שנות המחקר נעשו מספר ניסויי מעבדה ושדה בהם נקטפו הלקטים רכים מהשדה שעליהם הונחו ביצים של הלקטית ורודה לפני הבקיעה, ונבדקה החדירה להלקטים לאחר כ-8 ימים. בכל הניסויים, למרות שנראו ניסיונות חדירה, לא נמצאה חדירה של זחלים (או שמעט מאוד הצליחו לחדור) להלקטים הצעירים לעומת חדירה משמעותית של הנאונטים להלקטי הביקורות (איורים 9, 10). בכך הוכח שיעילות הכותנה הטרגסגנית נגד מזיק זה היא גבוהה מאוד בדומה למה שנמצא במחקרים באריזונה.

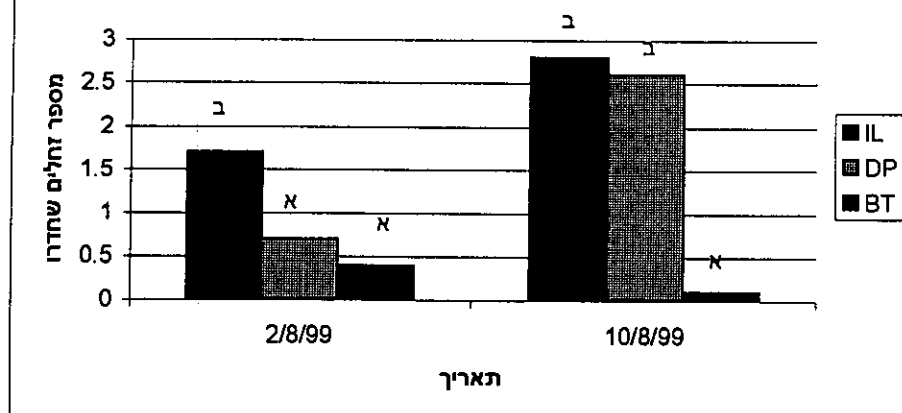
איור 9

יעילות כותנה מהונדסת עם BT, חדירה של זחל ורוד להלקטים



בית דגן, 1988

איור 10. חדירה להלקטים של זחל ורוד, ניסויי מעבדה 1999



ד. יעילות הכותנה הטרגסגנית עם BT לפרודניה

בכל הניסויים שנעשו ע"י הושבת נאונטים של פרודניה על עלי הכותנה, משלב הפסיגים (חודש מאי) ועד סוף העונה (ספטמבר), לא נמצאה תמותה או אפילו השפעה של הכותנה המהונדסת על משקל הזחלים. בניסוי אחד נמצאה תמותה גבוהה יותר של זחלים מדרגה שלישית על הלקטים רכים של כותנה מהונדסת מאשר

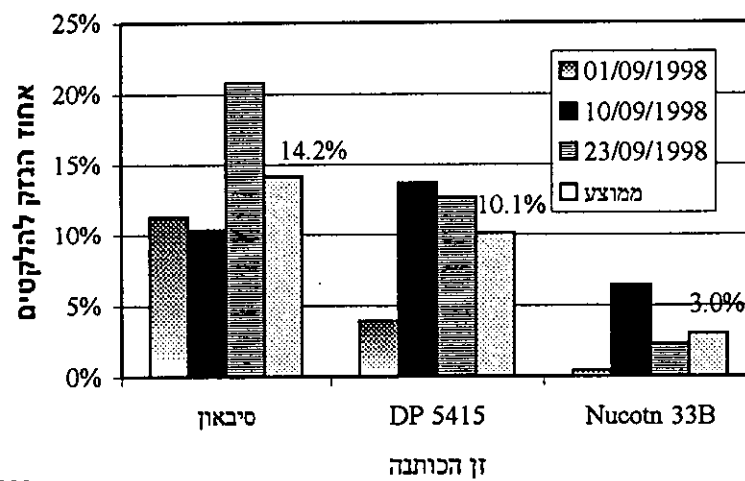
בהלקטי הביקורות, אבל בניסוי נוסף לאימות התוצאה, התקבלה אומנם תמותה גבוהה יותר בון המהונדס, אבל תמותה דומה התקבלה גם בון המקביל (DP-5415).

ה. יעילות הכותנה הטרנסגנית בשדה הכותנה בסוף העונה

בסוף עונת הכותנה, בחודשים אוגוסט וספטמבר נדגמו 100 הלקטים מכל חלקה בתאריכי הדגימה השונים והנזק המצטבר מזחל זיפית והלקטית ורודה הוערך. לפי דגימות השדה ולמרות שהגיעות לא הייתה אחידה בכל העונות, נראה שהכותנה המהונדסת עם BT חסמה ביעילות רבה את מזיקים אלה ומנעה נזק מסחרי ליבול ההלקטים. לגבי הזחל הורוד היו התוצאות דומות לאלו של ניסויי המעבדה, אולם למרות שבניסויי המעבדה החסימה הייתה לעיתים בינונית, בתנאי שדה ובגידות שנמצאה שם לא נגרם נזק משמעותי לכותנה הטרנסגנית (איורים 11, 12, 13).

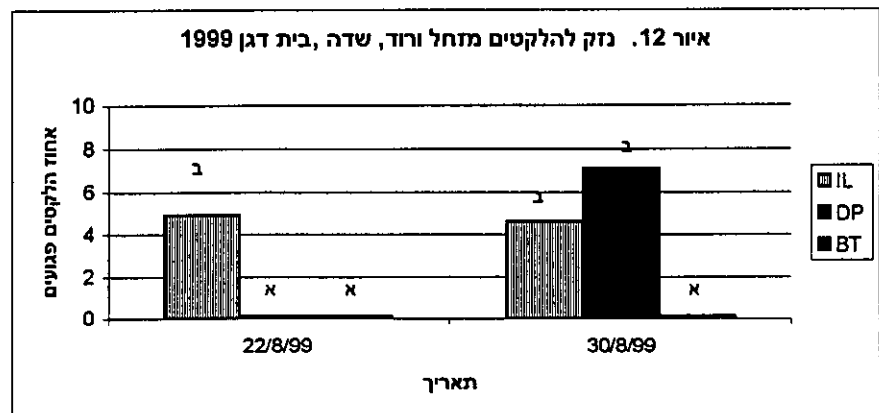
איור 11

הנזק להלקטים מזחל ורוד (דגימות שדה)



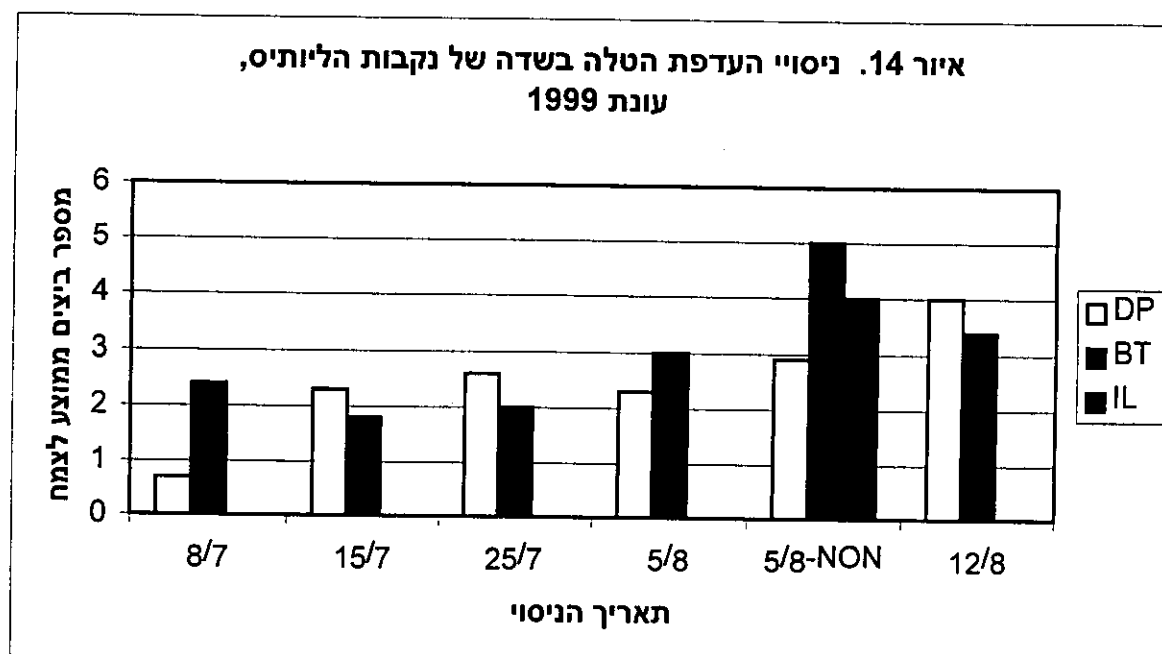
בית דגן, 1998

איור 12. נזק להלקטים מזחל ורוד, שדה, בית דגן 1999





ו. ניסויי העדפה להטלה של נקבות הליותיס וזיפית על הכותנה הטרינסגנית בניסויי ההעדפה להטלה שנערכו בעונת 1999 מ- 8.7 עד 12.8 הועמדו להליותיס ששה ניסויים בתאריכים שונים. ב- 5.8 שוחררו בוגרים גם בנפרד על כל כותנה לחוד (NON). לזיפית הועמדו ארבעה ניסויים אך רק בשניים הוטלו מספר ביצים שאפשר ניתוח סטטיסטי. לא נרשמה העדפה להטלה בשני החרקים בין כותנת Bt לכותנת דלתאפיין (איורים 14, 15).





ז. יעילות הכותנה הטרנסגנית בשדה כותנה בתנאים משקיים (ניסוי הסוללים 2000, בוצע ע"י צוות מועצת הכותנה ואריאלה ניב).

שדה הכותנה הטרנסגני בגודל 200 דונם גודל בשטחי קיבוץ הסוללים לידו חלקת ביקורת מזן סיבאון בגודל דומה. פיקוח המזיקים והטיפול האגרזטני היה דומה. בכל שדה בוצעה דגימת 100 הלקטים למצוא את רמת הנגיעות בזחל ורוד - מ- 10/7 עד 21/9, שלוש פעמים בכל חודש. באיור 16 ניתן לראות את רמת הנגיעות בכל אחת מהדגימות ומועדי הריסוסים (מסומנים ע"י חצים). למרות הטיפולים הרבים שניתנו נגד הלקטית ורודה (טבלה 3), התקבלה נגיעות בדגימות ההלקטים שנעה בין 4 ל- 14 אחוזים בחלקת הביקורת. לא נמצאו זחלים בדגימת ההלקטים של השדה הטרנסגני. בטבלה 3 ניתן לראות את רשימת הריסוסים שניתנו בכל שדה. הכותנה הטרנסגנית קיבלה 3 ריסוסים, בעיקר נגד מוצצים (כע"ט וציקדות) ונגד פרודניה. ואילו בשדה הביקורת ניתנו 9 טיפולים בעיקר נגד זחל ורוד. טבלה 4 מביאה את נתוני היבול משני השדות. לא היו הבדלים ברמה משמעותית בין היבול וטיבו למרות שבשדה הטרנסגני היה יותר יבול ומאיכות טובה יותר. כמסקנה מניסוי זה ניתן לומר שברמה גבוהה של הלקטית ורודה הצליח הגידול המהונדס עם BT לחסום נגיעות של מזיק זה ביעילות רבה, עם הפחתה ניכרת במספר הטיפולים הרעילים וללא ירידה ביבול או בטיבו. ניסויי שדה נוספים מתוכננים לעונות הבאות עם הגדלת השטחים הטרנסגנים.

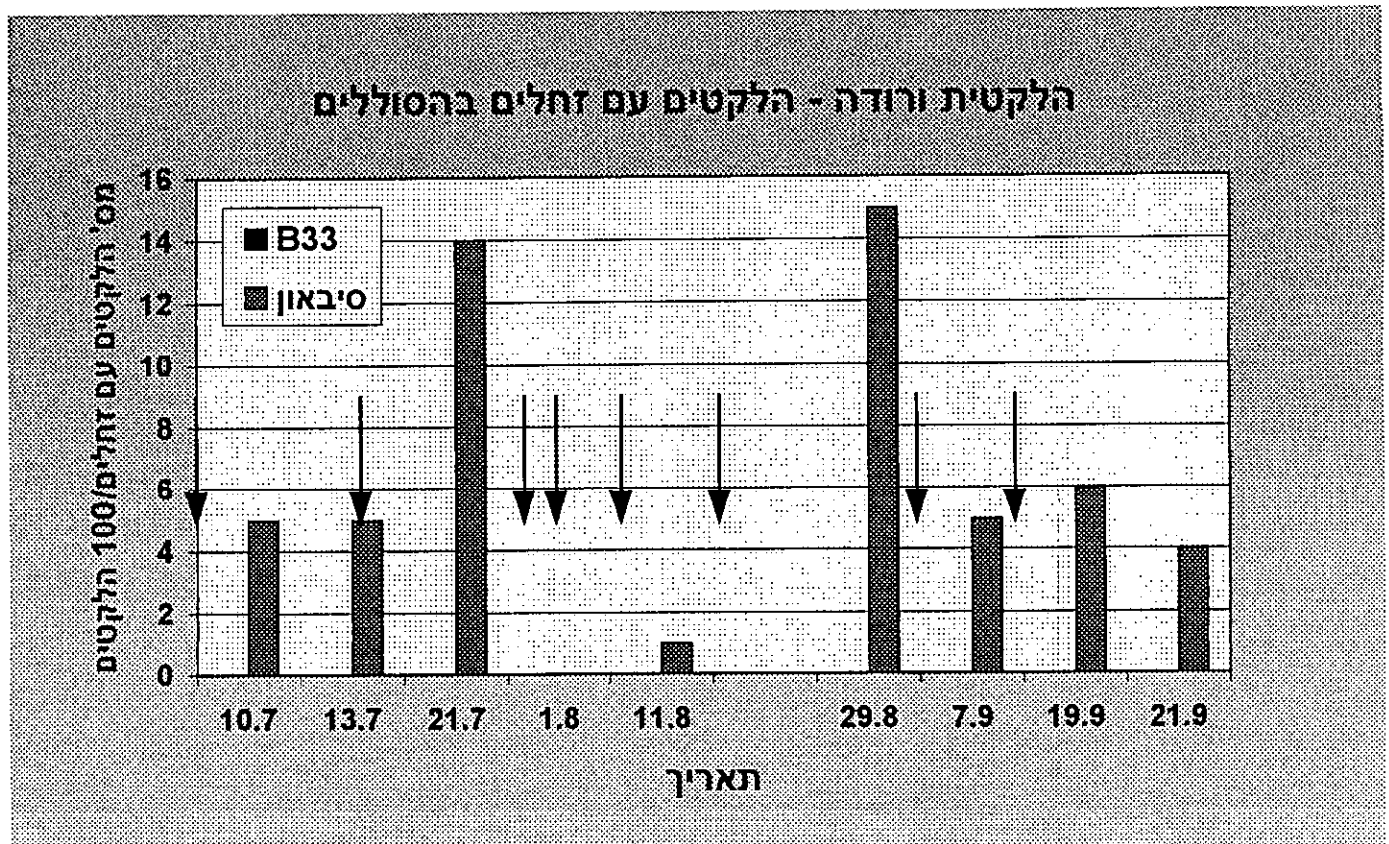
טבלה 3. רשימת הטיפולים בשדה הסוללים, 2000

תאריך	מזיק	תכשיר	כותרת BT	סיבאון
18/6	הליותיס	תיונקס	-	+
6/7	ורוד	טיטאן	-	+
13/7	ורוד	טיטאן	-	+
21/7	כע"ט, ציקדות	תיונקס+טייגר	+	-
26/7	כע"ט+ורוד	מוספילן+טיטאן	-	+
1/8	ורוד	טיטאן	-	+
7/8	ציקדות	תיונקס	+	-
8/8	ורוד+פרודניה	טיטאן+מץ'	-	+
14/8	ורוד	נובקרון	-	+
18/8	ציקדות+פרודניה	תיונקס+מץ'	+	-
31/8	ורוד	נובקרון	-	+
10/9	ורוד	נובקרון	-	+

טבלה 4. נתוני היבולים, שדה הסוללים, 2000.

	כותן גלמי	% סיבים	יבול סיבים	טיב
כותרת BT	609 ק"ג/ד'	34.4	210 ק"ג/ד'	46.1
סיבאון	542 ק"ג/ד'	33.9	184 ק"ג/ד'	51.6

איור 16. תוצאות הדגימות של זחלי הלקטית ורודה, ניסוי הסוללים 2000. (החצים מסמנים את הריסוסים שניתנו בכותנת הסיבאון).



ד. סיכום ומסקנות לשלוש השנים

בשלוש שנות המחקר קיבלנו חסימה יעילה של הליותיס וזחל ההלקט הזיפי על ידי פסיגים ועלים של כותנת Bt. העלים אינם אבר המטרה העיקרי של שני מזיקים אלו. אך ישנה חשיבות לתוצאות אלו בהיותן מעידות על ביטוי מוצלח של רעלן החיידק בחלקים הווגטטיביים של הצמח. ההלקטים של כותנת Bt היו יעילים באופן בינוני נגד ההליותיס בדרגה ראשונה. למעשה חלה ירידה הדרגתית ביעילות כותנת Bt שנמשכת כל חודש יולי ומחצית אוגוסט. הסיבה לירידה זו תיתכן כתוצאה מירידה בביטוי רעלן החיידק בכפתורי הפרחים. בדרגה שלישית בהעדפה, ההליותיס לא נחסם על ידי הכותנה המהונדסת, ואילו זחל ההלקט הזיפי נחסם אף הוא באופן בינוני עד טוב לפי מצב הצמחים ושנות המחקר. העדר הבדלים בהעדפה להטלה אצל ההליותיס והזיפית מצביעים על כך שנקבות המזיקים לא יעדיפו בשדה את כותנת Bt על פני כותנה ללא גן הרעלן של החיידק. לכך ישנה חשיבות כי בהעדר לחץ הטלה סלקטיבי על הכותנה המהונדסת עם רעלן החיידק, פוחת גם הלחץ לסלקציה לעמידות לרעלן של החיידק. ההלקטית הוורודה נחסמה היטב על ידי כותנת Bt והתוצאה חזרה על עצמה בכל שנות המחקר ובניסוי השדה שנערך בסוללים. יעילותה הרבה של כותנת Bt נגד המזיק פותרת בעיה של חוסר הצלחה בהדברה קונבנציונלית כימית או בריסוס החיידק.

אחד המבחנים שעשויים להועיל בהערכת מידת החסימה והיעילות של כותנה מהונדסת הוא מבחן שימצא את כמות הרעלן בתוך תאי הצמח. זה אפשר לעשות במבחני אלייזה או ע"י מציאת סטנדרט מעבדתי של ריכוזי BT. במחקר זה לא הגענו למבחנים אלו אבל המבחנים הביולוגיים הראו באופן ברור על היעילות של הכותנה המהונדסת.

בשנות המחקר התגבשה התוצאה שכפתורי פרחים והלקטים של כותנת Bt אינם יעילים די הצורך בחסימת זחלי ההליותיס וזחל ההלקט הזיפי. כנראה שמצב זה נוצר מירידה הדרגתית בריכוז הרעלן כפתורי הפרח וההלקט. לעומת זאת העדר העדפה להטלה בכותנת Bt בהליותיס וזחל הלקט זיפי, והחסימה הטובה של ההלקטית הוורודה שנרשמה בשנים אלו משפרים את תמונת היעילות של הכותנה המהונדסת. אולם יתכן שיהיה צורך להגביר את ביטוי הרעלן בכותנה המהונדסת כדי לחסום את זחלי ההליותיס וזחל הלקט זיפי ביעילות גבוהה יותר.

לדעתנו כדאי להכניס את הגידול הטרנסגני באופן משקי ואמצעי זה יוכל לחסוך בריסוסים רעילים בשדות הכותנה. מחקר שיתמקד במימשק עמידות לכותנה טרנסגנית הוא הכרח לכל גידול כזה.

ה. פירוט הפרסומים

1. דו"ח שנתי מסכם בכתב להנהלת ענף כותנה, ינואר 1999, עמ' 36-44.
 2. דו"ח בע"פ ניתן להנהלת ענף כותנה, סיבי הדרום, 21/1/99.
 3. דו"ח מסכם במסגרת יום עיון בנושא "גידולי שדה", בית דגן, 4/2/99.
 4. הרצאה ומאמר בכנס הכותנה בארה"ב (Beltwide, 1999).
- Spenser, J., G. Forer, A. Niv, A. R. Horowitz, A. Navon, S. Levski and S. Yablonski, (1999) Deltapine Bollgard variety response to the Israeli pest complex. Proceedings in the 1999 Beltwide Cotton Insect Research and Control Conference, vol. 2., pp. 1000-1002.
- 5.
- 1999 XIV International Plant Protection Congress, Jerusalem, Israel. Poster presentation.
6. הרצאה וסמינר ברוטמסטד, אנגליה ב- 14/12/1999.
 7. דו"ח מסכם בכתב להנהלת ענף כותנה ינואר 2000. "הערכת ביצועי כותנה טרנסגנית בישראל, 1999, המועצה לייצור ושיווק כותנה, עמ' 8-14.
 8. מאמר בגן שדה ומשק, הורביץ, ד., נבון, ע., לבסקי, ש., יבלונסקי, ש. 1999. יעילות צמחי כותנה מהונדסים נגד עשי כותנה. גן שדה ומשק, אוקטובר, עמ' 23-26.
 9. הרצאה למדריכים ומגדלים, חוות גד"ש בגליל העליון, 1/2/2001.
 10. דו"ח בע"פ במסגרת דיווחים למדען הראשי וענף גידולי שדה, 7/2/2001.

הבעת תודה

הננו מודים ליונה אהרון ולצוות חוות המרכז על גידול חלקות הכותנה, לדימיטרי מזירוב על העזרה הטכנית. לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות ולהנהלת ענף הכותנה על העזרה בביצוע ובמימון המחקר.

סיכום עם שאלות מנחות

1. מטרת המחקר לבחון את היעילות של כותנה מהונדסת-Bt נגד זחלי העשים-המזיקים העיקריים לכותנה בתנאי הארץ.
2. מבחני המעבדה התבססו על חשיפה של אברי הצמח לזחלי דרגה 1 ו-3. נבדקו: תמותה, משקל זחל, שטח אכילה של עלים ושעור החדירה של הזחלים לאברי הפרי. דגימת נזק בשדות, ניסויי שדה. התוצאות: עלי הכותנה המהונדסת קטלו בד"כ את זחלי דרגה 1 של ההליותיס והזיפית, אבל לא של הפרודניה. אברי הפרי לא חסמו במידה מספקת את זחלי הדרגה ה-1 וה-3 של מזיקים אלו. לעומת זאת, הלקטי הצמחים המהונדסים הגנו ביעילות בפני חדירה של "הזחל הורוד".
3. גנוטיפ זה של הכותנה המהונדסת לחיידק בצילוס תוריעניזיס אינו חוסם בניסויי המעבדה את זחלי ההליותיס והזיפית בכפתורי הפרחים ובהלקטים ברמה שמושגת בהדברה הקונבנציונלית; אבל יעיל מאוד נגד הזחל הורוד. העלים יעילים יותר אבל הביטוי הטרנסגני פוחת עם התקדמות העונה. בשדה, החסימה טובה יותר וכנראה לא צפוי נזק מהליותיס, זיפית וזחל ורוד.
4. מה נותר לבדוק: הביטוי הטרנסגני לאורך העונה נגד ההליותיס, הזחל הורוד וזיפית; השפעת מיקום וגיל ההלקטים על התגוננות בפני זחל ורוד; התנהגות של ברירה של זחלים כלפי צמחים מהונדסים לעומת רגילים. בחינת ההשפעה כלפי אוכלוסיות טבעיות של מזיקים לעומת אלו של המעבדה. שיטות לבחינת רמת הרעלן בצמח (שיטות אליזה, PCR, או סטנדרטים של הטוכסין).
5. הפצת הידע
דו"ח מסכם שנתי להנהלת ענף כותנה, ינואר 1999, 2000. דו"ח בע"פ להנהלת ענף הכותנה, סיבי הדרום. דו"ח מסכם במסגרת יום עיון בנושא "גידולי שדה", בית דגן, 4/2/99. 4.
הרצאה ומאמר בכנס הכותנה האמריקאי, 1999. פוסטר בכנס הבי"ל בירושלים 1999. מאמר בגן שדה ומשק, 1999. סמינר ברוטמסטד, אנגליה, 12/1999. הרצאות למגדלים, 2001. דיווח למדען, 2001.