

131-0955-98

קוד מחקר:

נושא: דינמיקת העמידות וממשק תנגודת של כנימת עש הטבק בגידולי פרחים

מוסד: מינהל המחקר החקלאי

ד"ר רמי הורוביץ

חוקר ראשי:

2

חוקרים שותפים:

1996-1998

תקופת מחקר:

2

מאמרים:

תקציר

כנימת עש הטבק (כע"ט) היא מהמזיקים הקשים ביותר בפרחים החסויים. למרות שקיימים כיום מספר חומרי הדברה חדשניים יעילים כנגד כע"ט, הרי במשטר מסיבי של ריסוסים הקיים כיום בחממות הפרחים יש סכנה ממשיה להיווצרות תנגודת מהירה לחומרים אלו יותר מאשר בשדה הפתוח. לעקוב ולאתר מוקדי תנגודת לחומרי ההדברה החדשניים (כמו קונפידור) שנכנסו לאחרונה להדברת כע"ט בחממות הפרחים.

מטרות המחקר: לברר את הגורמים המשפיעים להיווצרות תנגודת מהירה בכע"ט לחומרים החדשים בחממות. לנסות לברר את המנגנונים הגנטיים והביו-כימיים של התנגודת בכע"ט. לתכנן ממשק עמידות לכע"ט בחממות הפרחים, תוך שימוש נבון בחומרי ההדברה החדשניים בעלי פעילות בררנית וללא תנגודת צולבת ביניהם.

תוצאות המחקר: המחקר התנהל בכמה רמות, במעבדה, בחממות פרחים ובשדה הפתוח: א. פותחו שיטות ניטור לעמידות לקבוצת הניטרו-מתילנים (כמו קונפידור). ב. באמצעות מכשיר ה-PCR נבחנו גזעים עמידים ורגישים של כע"ט לתכשיר טייגר כדי למצוא סמנים גנטיים האופייניים לכל גזע. ג. נערך ניטור לעמידות לחומרי ההדברה החדשניים (במיוחד לקונפידור, מוספילן וטייגר) ע"י איסוף כע"ט בחממות פרחים ובשדות סמוכים ובדיקתם בשיטות קונבנציונליות. ד. אוכלוסיות השדה שהוגדרו כעמידות ורגישות לטייגר נבחנו באמצעות מכשיר ה-PCR ונלמד הקשר בין הרגישות של האוכלוסיות השונות והסימון המולקולרי שלהן.

חשיבות המחקר בכך שיתרום להבנת הדינמיקה של התנגודת לחומרי הדברה חדשניים בחממות לעומת השדה הפתוח; בעזרת הסמנים הגנטיים נוכל להבדיל בין האוכלוסיות השונות ולהבין את השינויים הגנטיים המביאים להיווצרות מהירה יותר של תנגודת לכע"ט בבתי הצמיחה. מחקר זה יכול לעזור בבניית ממשק הדברה יעיל, המתבסס על חומרים חדשניים וימנע או ידחה היווצרות תנגודת.

דינמיקת העמידות וממשק תנגודת

של כנימת עש הטבק

בגידולי פרחים חסויים

Resistance dynamics and insecticide resistance management
against *Bemisia tabaci* in greenhouse flowers

דו"ח מחקר מסכם לשנים 1996 - 1998

מוגש למדען הראשי - תחום גידולים חסויים

והנהלת ענף הפרחים

(131-0955-98)

ע"י: רמי הורביץ, שרה יבלונסקי, זמירה מנדלסון,

רוני גפני¹ ויצחק ישעיה

A. R. Horowitz, S. Yablonski, Z. Mendelson, R. Gafni¹ and I. Ishaaya

המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן;

¹המחלקה לוירולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן

Dept. Entomology and Dept. Virology¹, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan, 50250, Israel

פברואר 1999

hrami@netvision.net.il

דינמיקת העמידות וממשק תנגודת

של כנימת עש הטבק

בגידולי פרחים חסויים

Resistance dynamics and insecticide resistance management
against *Bemisia tabaci* in greenhouse flowers

דו"ח מחקר מסכם לשנים 1996-1998 מוגש למדען הראשי - תחום גידולים חסויים
והנהלת ענף הפרחים (98-0955-131)

ע"י:

רמי הורביץ, שרה יבלונסקי, זמירה מנדלסון, רוני גפני¹ ויצחק ישעיה
המחלקה לאנטומולוגיה, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן.
¹המחלקה לזרעים, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן

ב. מבוא

כנימת עש הטבק (כע"ט) היא מהמזיקים הקשים ביותר בפרחים החסויים. כע"ט מהווה "מזיק קרנטינה" וכל נוכחות של דרגות חיות הישובות על העלים או על הפרחים עלולה לפסול משלוחים שלמים ליצוא. מזיק זה מסוגל לפתח בחממות אוכלוסיות מאוד גבוהות קשות-הדברה, הפוגעות ביכולת ההטמעה של הצמחים, מלכלכות ומכערות את הפרחים כתוצאה של הפרשת "טל דבש" והתפתחות של פטריות שחורות עליו. למרות שקיימים כיום מספר חומרי הדברה חדשניים יעילים כנגד כע"ט, הרי במשטר מסיבי של ריסוסים הקיים כיום בחממות הפרחים יש סכנה ממשית להיווצרות תנגודת מהירה לחומרים אלו יותר מאשר בשדה הפתוח, כפי שהראנו במחקרים הקודמים לגבי מווסת גדילת החרקים, אפלורד וטייגר (Horowitz and Ishaaya, 1994; Horowitz et al., 1994).

כנראה שהתפתחות התנגודת המהירה בחממות הפרחים קשורה הן ללחץ סלקציה גבוה לתנגודת שמצוי בחממות (ריסוסים תכופים על הצימוח החדש) והן למעבר מוגבל מאוד של פרטים רגישים לחומר ההדברה (gene-flow) מבחוץ, מצב שאינו מאפשר התמתנות ו"מיהול" התנגודת. למעשה נוצרות אוכלוסיות שונות בחממות ובשדה הפתוח שמכילות גנים לתנגודת לחומרי ההדברה ברמות שונות, וניתן לבחון את הדינמיקה של התפתחות התנגודת בחממות השונות ובשדה הפתוח ע"י סמנים גנטיים באמצעות מכשיר ה-Frohlich and-PCR (Brown, 1994; Anthony et al., 1994). לאחר מציאת הסמנים הגנטיים ובחינתם בהכלאות חוזרות של הגזע הרגיש והעמיד, ניתן למצוא כמה גנים מעורבים בתנגודת לחומר ובשלב שני אף למפות את הגנים שאחראים לתנגודת.

כדי לנסות להאט או למנוע היווצרות תנגודת מהירה לכע"ט בחממות הפרחים יש להנהיג שם ממשק תנגודת לחומרי הדברה (Insecticide Resistance Management). ממשק זה הוא נושא מחקרי חדש המתקשר באופן הדוק לתכנית ההדברה המשולבת (IPM) בגידולים השונים (Graves et al., 1991). ממשק העמידות מבוסס על הגבלת השימוש בחומרי ההדברה היעילים לתקופות של פעילות המזיקים, ומטרתו לדחות היווצרות תנגודת לחומרי ההדברה, למנוע שימוש מיותר בחומרים ולהוציא את אלו שאיבדו יעילותם מחמת פיתוח התנגודת. כדי לתכנן את ממשק העמידות צריך לעקוב אחר התנגודות ברגישות המזיקים לחומרי ההדברה; יש להתחקות באופן רציף אחר יכולתו של החרק לפרק או לנטרל את חומר ההדברה המגיע לגופו. לשם כך יש לפתח שיטות ניטור ואבחון לתנגודת פוטנציאלית של המזיקים העיקריים לחומרי ההדברה (Brown and Brogdon, 1987).

מטרות המחקר: 1. לעקוב ולאתר מוקדי תנגודת לחומרי ההדברה החדשניים (כמו קונפידור ומוספילן) שנכנסו לאחרונה להדברת כע"ט בחממות הפרחים. 2. לברר את הגורמים המשפיעים להיווצרות תנגודת מהירה בכע"ט לחומרים החדשים בחממות. 3. לנסות לברר את המנגנונים הגנטיים והביו-כימיים של התנגודת בכע"ט לחומרים החדשניים. 4. לתכנן ממשק עמידות לכע"ט בחממות הפרחים, תוך שימוש נבון בחומרי ההדברה החדשניים בעלי פעילות בררנית וללא תנגודת צולבת ביניהם.

ג1. שיטות וחומרים

1. ניטור לתנגודת בכנימת עש הטבק

בשנות המחקר 1996 - 1998 נעשה ניטור לעמידות של כע"ט לקונפידור, מוספילן, ולמוסט גדילת החרקים (מג"ח) טייגר. האיסופים של כע"ט נעשו בעיקר בחממות פרחים

באזור הנגב המערבי (בשור), וכן באזור המרכז ובאזור "גוש תל מונד", וגידולי הפרחים היו בעיקר ורדים, הפיריקום, לימוניות וגרברה. כדי להשוות את רמת התנגדות בגידולים ואזורים שונים נאספו, במקביל לאיסוף בחממות, בוגרי כע"ט משדות (בעיקר כותנה) באזורים שונים. עלים שהכילו בוגרים וגלמים הוכנסו לתוך כלוב והועברו תוך שעתיים למעבדה שבמרכז וולקני. המבחנים נעשו במעבדה על צמחי כותנה בעציצים.

מהלך הבדיקה: צמחי כותנה בגודל של 20 ס"מ הוטבלו בתמיסות המימיות של החומרים השונים ולאחר שהצמחים הושארו לשעתיים לייבוש, הוצמדו לעלים כלובונים קטנים ובתוך כל אחד מהם 15-20 נקבות כע"ט שהושארו להטיל על העלים המטופלים למשך 48 שעות בטמפרטורה קבועה (26 ± 1 מ"צ). לאחר הסרת הכלובונים עם הנקבות, נספרו הביצים; לאחר 7-8 ימים נבדק אחוז הבקיעה ולאחר כשלושה שבועות ממועד ההטלה נקבע אחוז ההתגלמות וגיחת הבוגרים. לגבי טייגר נקבע שיעור התמותה כאחוז עיכוב בקיעת ביצים. לגבי קונפידור, החומר ניתן בהגמעה בקרקע לצמחים שבעציצים ונקבעה תמותת בוגרי כע"ט לאחר 4 ימים לאחר היישום (יומיים לפני האיסוף + יומיים בהם נחשפו הנקבות לצמחים המטופלים). לאחר מכן נספרו מספר הביצים שהוטלו ונקבעה התמותה של הזחלים לאחר כשבועיים. **המוספילן**, שנבדק לאחר הגברת השימוש בו שייך אף הוא לניטרומטילנים (בדומה לקונפידור), וחומר זה יעיל יותר בריסוס עלוותי. עלי הצמחים טופלו בחומר ולאחר התייבשות הצמחים הושבו נקבות על העלים ל- 48 שעות ונקבעה ההשפעה על הבוגרים; הביצים שהוטלו נספרו, ולאחר שלושה שבועות נקבעה התמותה המצטברת של הזחלים. תכשיר חדש מאותה קבוצה (נאו-ניקוטינואידים), **CGA-293** (שם מוצע - אקטרה), נבדק אף הוא בשנת 1998, בדומה למוספילן.

שיעור התמותה כתגובה לחומרים השונים תוקן לפי התמותה שנתקבלה בהיקש ע"י

נוסחת Abbott.

2. סמנים גנטיים לתנגדות (ריאקציות במכשיר ה-PCR)

הפקת DNA

לצורך בדיקת השונות הגנטית של כנימות בודדות באוכלוסייה, הפקת ה-DNA נעשתה ע"י הרתחת כנימת עש בודדת בתערובת ריאקציה ה-RAPD (תנאי הריאקציה מפורטים בהמשך). בניסויים מוקדמים מצאנו בשיטה זו פולימורפיזם בין כנימות בודדות באוכלוסייה שגדלה בכלוב אחד.

ריאקציות RAPD

הגברת ה-DNA נעשתה לפי (Martin et al., 1991). הריאקציה בנפח 25 µl מכילה:

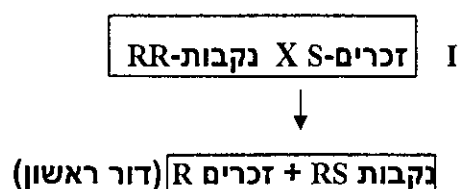
0.1 mM each of dATP, dCTP, dGTP, dTTP; 0.2 mM primer; 10mM Tris-HCl, pH 8.0

ההגברה נעשית ע"י 25ng DNA 1 unit Taq polymerase 8.8 ; 50 mM KCl ; 0.1% Triton x-100 40 מחזורים במכשיר PCR בתנאים הבאים: דקה אחת ב- 95 מ"צ, 2 דקות ב- 35 מ"צ ו- 2 דקות ב- 72 מ"צ. תוצרי האמפליפיקציה מורצים בגל 1.2% agarose וניצבעים ב- ethidium bromide. ניתן לציין ששיטה זו מאד רגישה וניתן לזהות בקלות שונות גנטית בין פרטים בודדים באותה אוכלוסייה ושונות גנטית המאפשרת להבדיל בין אוכלוסיות שונות. כך שההסתברות גדולה שע"י שימוש במספר פריימרים שונים נוכל לגלות הבדלים בין האוכלוסייה העמידה והרגישה. אמנם אם העמידות נגרמת רק ע"י גן יחיד קשה להגדירו בשיטת ה- RAPD, אבל במרבית האוכלוסיות העמידות קיימות תכונות גנטיות שנמצאות בתאחיזה לתכונות העמידות (למשל שינוי ב- fitness). העמידות נגרמת ברב המיקרים ע"י מספר מאפיינים גנטיים המביאים לעליה באנזימי הדטוקסיפציה, ירידה ברגישות האתר הביוכימי ושנויים פיסיולוגיים המביאים להקטנת חדירת החומר דרך מעטה הגוף וגם האטה במעבר החומר דרך ממברנות החרק וע"כ כמות יותר קטנה מגיעה לאתר הפעולה, ושינויים אלו נגרמים לעתים ע"י יותר מאשר גן אחד. כך שהיה סיכוי סביר שנוכל למצוא סמנים לאוכלוסיות השונות.

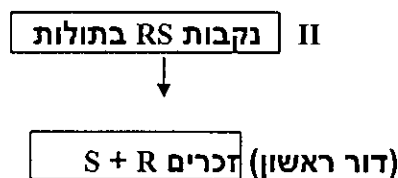
3. הכלאות של זן עמיד ורגיש לטייגר (וריאציות במכשיר ה- PCR)

לשם קביעת המבנה הגנטי של הגזעים העמידים והרגישים לטייגר (או לתכשיר הדברה אחר), נעשו הכלאות בין גזע עמיד ורגיש לטייגר ממקור מעבדתי. ההכלאות נעשו בין נקבות בתולות מגזע עמיד ובין זכרים מגזע רגיש ולהפך. לאחר ההכלאות נבדקו הצאצאים במבחן עם התכשיר טייגר ובנו עקומי תמותה. נעשתה השוואה בין עקומי תמותה של הגזעים המקוריים ובין מוכלאים. בנוסף, נלקחו הצאצאים לבדיקת RAPD-PCR. ההכלאות מתואר בתרשים 1. בחינת הצאצאים המוכלאים (F1) במכשיר ה- PCR היתה צריכה לאמת האם התכונות אכן קשורות בתופעת העמידות.

ציור 1. ההכלאות בין גזעי כנימות העש.



נעשתה גם הכלאה הפוכה. ביצי הנקבות RS חשפו לטייגר ונבנה עקום תמותה.



חצי מהזכרים נחשפו לריכוז מאבחן של 1 ח"מ של טייגר (DD+) - הצאצאים צפויים להיות עמידים לטייגר וחצי לא נחשפו (DD-) - 50% עמידים ו- 50% רגישים. שני טיפוסים הצאצאים נבחנו בריאקצית PCR-RAPD לאמת את הסמנים הגנטיים לטייגר.

4. דינמיקת האוכלוסיות של כנימת עש הטבק העמידה לטייגר - ניסויי סימולטור

באביב 1997 נעשו ניסויים בתאי סימולטור-שדה במכון המחקר רוטמסטד (Rothamsted) שבאנגליה עם שני גזעים של כע"ט מישראל. שני הגזעים שמקורם בגידול במרכז וולקני נוסו: האחד גזע עמיד לטייגר (כפי 1000 לבקיעת הביצים) וגזע רגיש להשוואה. מטרת הניסוי הייתה לבחון את התפתחות האוכלוסייה העמידה והרגישה לאחר טיפול בטייגר, במתקן סימולטור המחקר את תנאי השדה ומאפשר מעקב מדויק אחר הדינמיקה של האוכלוסיות.

הסימולטור נבנה במחלקה לביוכימיה ואקולוגיה (BEC) במכון המחקר רוטמסטד (Rothamsted) שבאנגליה. המתקן פותח כדי לעקוב אחר פעילות חומרי הדברה על מזיקים שונים (בעיקר כע"ט וכנימות עלה) ואויביהם הטבעיים.

כל תא סימולטור מכיל כלוב גדול (170 X 120 X 100 ס"מ) שבתוכו שמים צמחי כותנה מפותחים וחרקים במספר ידוע. בכלובים יש פיקוד ושליטה בתנאי חום, לחות ותאורה, ומתקן ריסוס מדויק. את הבוגרים שעל העלים ניתן לספור ע"י מכשיר אופטי משוכלל, "אנדוסקופ", המחובר לידיית ארוכה שאותה מכניסים דרך פתחים מיוחדים בצד הכלובים; במהלך הספירה ניתן להזיז את מוט האנדוסקופ, שבקצהו יש תאורה, לכל עלי הצמח. להקלת ספירת בוגרי כע"ט חובר לאנדוסקופ צג (מוניטור).

בניסוי השתמשנו בארבעה תאי סימולטור, כל אחד הכיל 8 צמחי כותנה מפותחים עם

10 עלים אמיתיים. שני תאים טופלו בטייגר ושנים שמשו כהיקש. שני גזעי כע"ט שיובאו מישראל השתתפו בניסוי, האחד עמיד לטייגר והשני רגיש. הטיפולים היו: 1. גזע רגיש, עם ריסוס בטייגר; 2. רגיש - ללא ריסוס; 3. גזע עמיד, עם ריסוס בטייגר; ו- 4. עמיד - ללא ריסוס. שמונים נקבות ו- 80 זכרים הוכנסו לכל כלוב ביום הראשון, שלוש שעות לאחר הטיפול בטייגר (ברכוז של 40 חלקי מיליון). אוכלוסיות הבוגרים בכל תא סימולטור נספרו מהיום הראשון פעמים-שלוש בשבוע עד ליום ה- 50 לאחר הריסוס).

2. תוצאות ודיון

1. רגישות כע"ט לקונפידור ותכשירי הדברה אחרים בחממות הפרחים

מכיון שהחומר קונפידור נכנס לחממות הפרחים באופן נרחב לשם הדברת כע"ט, התחלנו בניסוי מעבדה לקבוע את הרגישות של הגזע הרגיש לקונפידור; כמוכן נלקחו כע"ט מחממות לפני מתן החומר כדי שיהיה אפשר למצוא את עקום התמותה הבסיסי (Base-line) לחומר קונפידור (ולתכשירים מאותה קבוצה שנכנסים למערך ההדברה בחממות) ולעקוב אחר השינויים ברגישות אליו באוכלוסיות כע"ט מחממות פרחים.

כמו שמוזכר בפרק שיטות וחומרים, בחנו את השפעת הקונפידור על הבוגרים ועל הדרגה הראשונה של כע"ט. בטבלה 1 מובאים הערכים הטוכסיקולוגיים הבסיסים של קונפידור, מוספילן ו- CGA-293 כלפי הבוגרים וזחל ראשון של כע"ט. הריכוזים המשפיעים על שתי הדרגות הם מאד דומים ולמעשה אין הבדל מובהק ביניהם; כלומר, הרגישות של הבוגרים ודרגה ראשונה לקונפידור דומה זו לזו באוכלוסייה רגישה מגידול המעבדה. בנוסף, אין הבדלים בין היעילות לקטילת כע"ט בין התכשירים השונים מחוץ לחומר CGA-293 (אקטרה) שהראה יעילות רבה יותר כלפי הבוגרים (טבלה 1, ציור 2).

בניטור העמידות כלפי קונפידור שנעשה בשנת 1998 נמצא שרמת הרגישות של כע"ט לחומר זה שונה בין חממות ואזורים שונים. לגבי זחלים נמצאה פחיתה ברגישות של פי 5 – 10 באזור הנגב המערבי (ישע); הפחיתה ברגישות כלפי הבוגרים היתה רבה יותר (ציור 3) ולפחות משלוש חממות (היפריקום בישע, לימוניום בנירים וגרברות במושב פורת) פחתה הרגישות לקונפידור פי כ- 15 מהגזע הסטנדרט הרגיש. בחממת הגרברות שבפורת נמצאה באוקטובר- נובמבר אוכלוסייה גבוהה מאד של כע"ט. אוכלוסייה זו גרמה לנזקים גבוהים ביבול ובגידול הפרחים ולמרות הטיפולים הרבים (הטיפולים כללו - לפי המגדל - 4 פעמים של נתינת קונפידור: באמצע אוגוסט טיפול ב- 200 סמ"ק בהגמעה וריסוס לאחר כ- 10 ימים

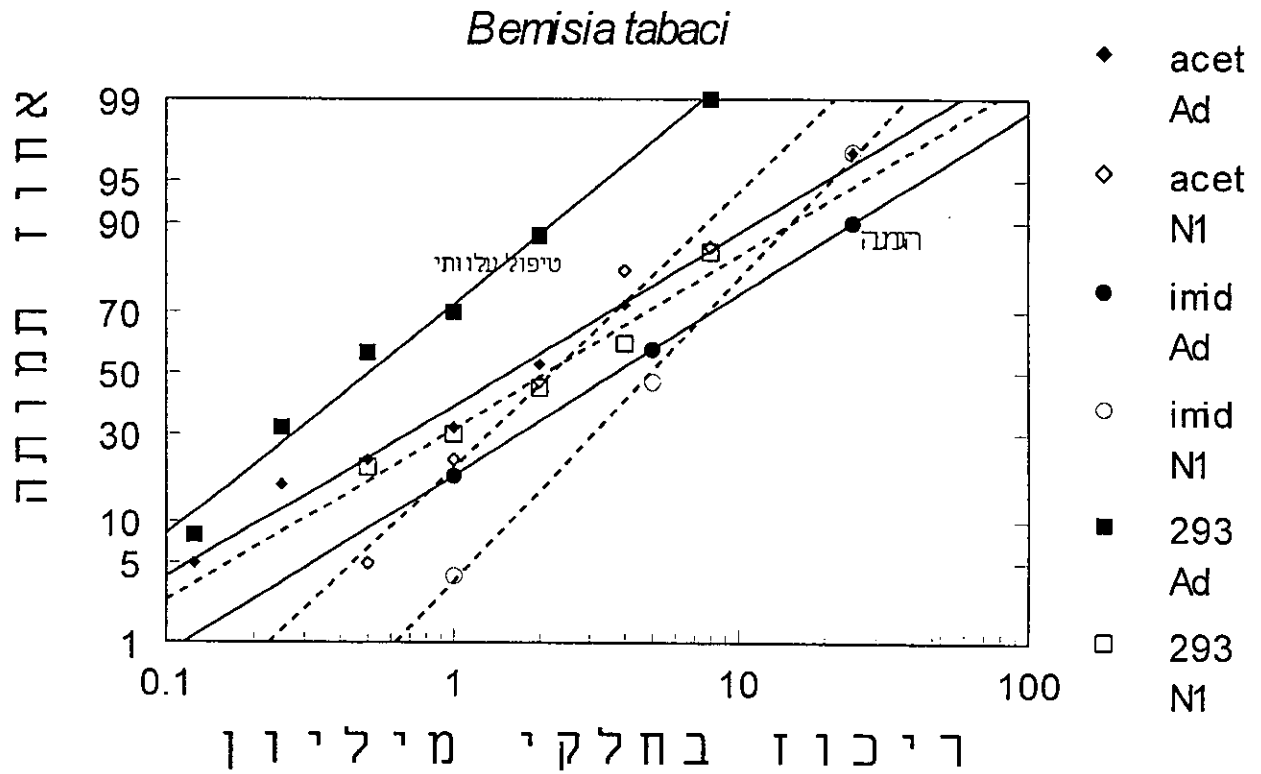
ובאוקטובר טיפול כפול דומה. בנוסף, טיפל המגדל בתכשירים רבים אחרים כולל טמיק) לא הצליח המגדל להדבירה עד שאוכלוסייה זו ירדה באופן טבעי בגלל החורף. לפי המבחנים (ציור 3) נראה שקיימת בחממה זו תנגודת נמוכה עד בינונית לקונפידור. תנגודת זו יכולה להקשות על ההדברה בייחוד כשיש אוכלוסיות גבוהות או אם מדברים את הכנימות בשלב התפרצות האוכלוסיות. יתכן שהבעיה במושב פורת נבעה גם מקשיים ביישום החומר כי בחממה נוספת שסמוכה לזו לא נמצאו אוכלוסיות כע"ט.

טבלה 1. ערכים טוכסיקולוגיים של קונפידור, מוספילן ו- CGA-293 על בוגרים וזחלים של כע"ט ממקור רגיש (הקונפידור ניתן ביישום בהגמעה והמוספילן וה- CGA בטבילה)

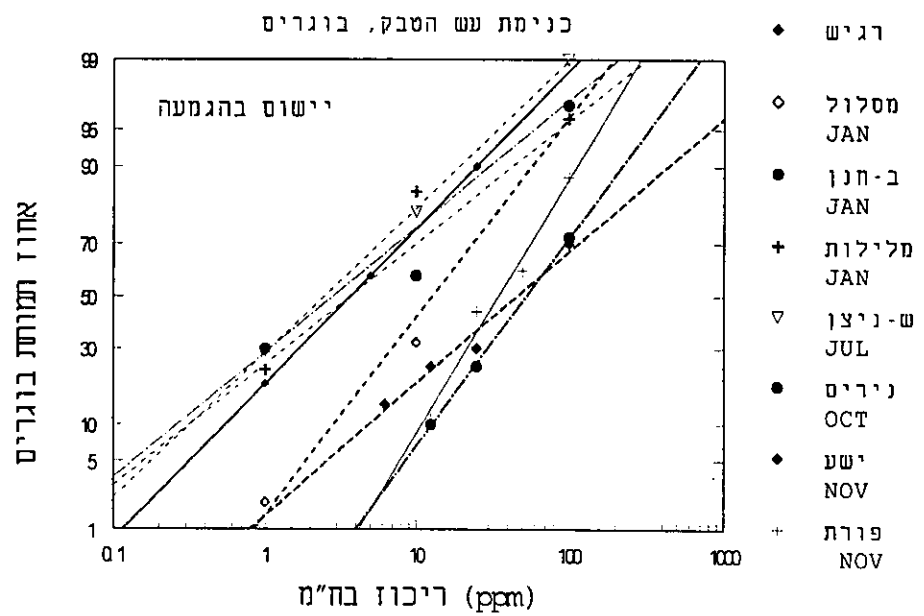
CGA-293		מוספילן		קונפידור		ערכים טוכסיקולוגיים בח"מ-חומר פעיל
זחלים	בוגרים	זחלים	בוגרים	זחלים	בוגרים	
2.14 (1.15-3.17)	0.485 (0.39-0.60)	2.14 (1.56-2.97)	1.64 (1.37-1.98)	5.19 (4.34-6.20)	3.70 (2.86-4.72)	LC-50 95% FL)
16.38 (8.54-63.42)	2.17 (1.58-3.41)	7.61 (4.97-16.79)	12.84 (9.21-19.58)	16.19 (12.71-22.3)	24.99 (17.25-42.08)	LC-90 95% FL)
1.45 (0.15)	1.97 (0.15)	2.33 (0.18)	1.43 (0.09)	2.59 (0.24)	1.54 (0.16)	שיפוע העקום

ציור 2. עקומי הבסיס של הניאז-ניקוטינואידים

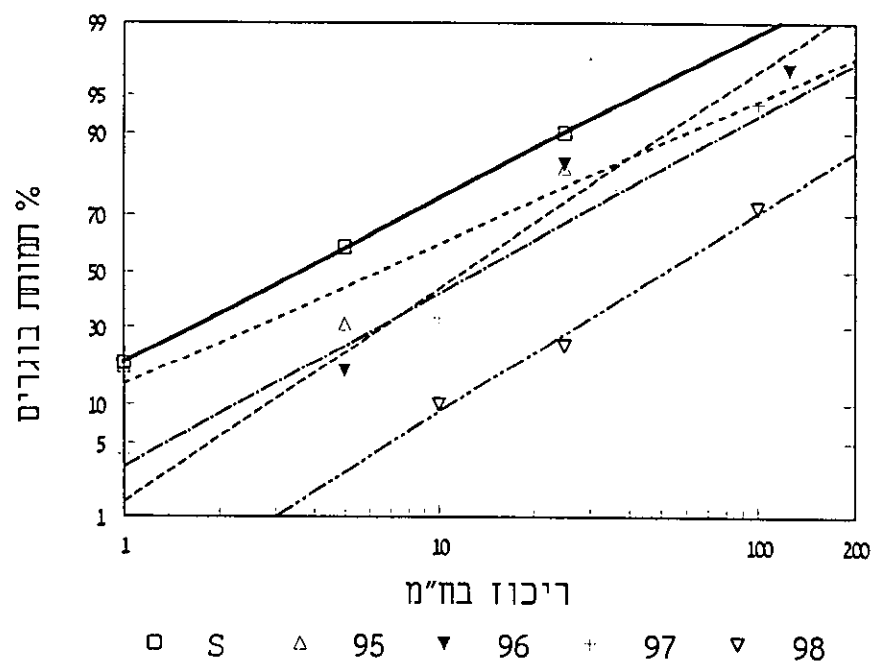
ACET=מוספילן; IMID=קונפידור; 293="אקטרה". Ad=בוגרי כע"ט; N1=חלי כע"ט



ציור 3. ניטור העמידות לקונפידור בבוגרי כע"ט בשנת 1998



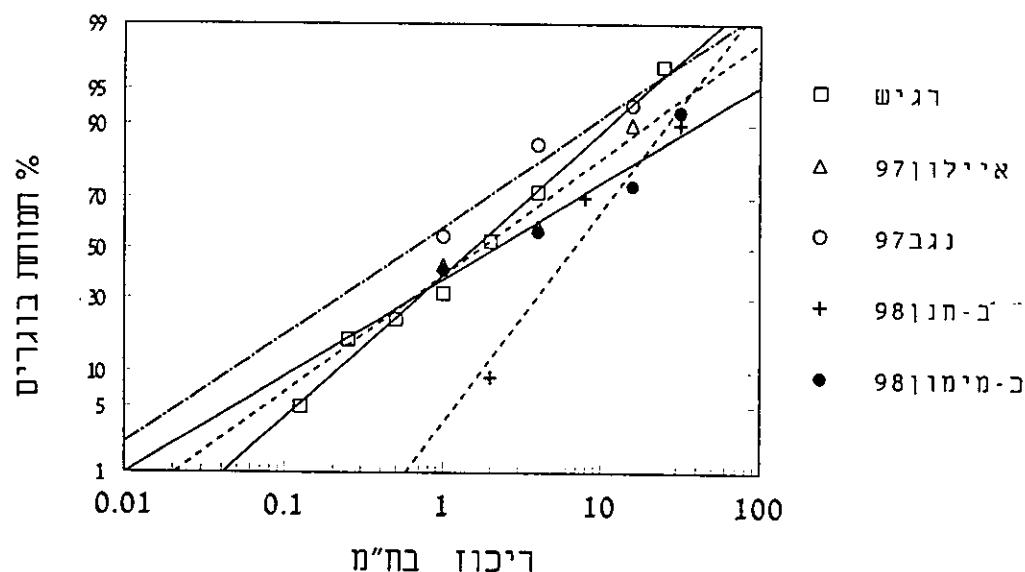
ציור 4. הרגישות לקונפידור של בוגרי כע"ט, חממת לימונים, נירים 8-1995



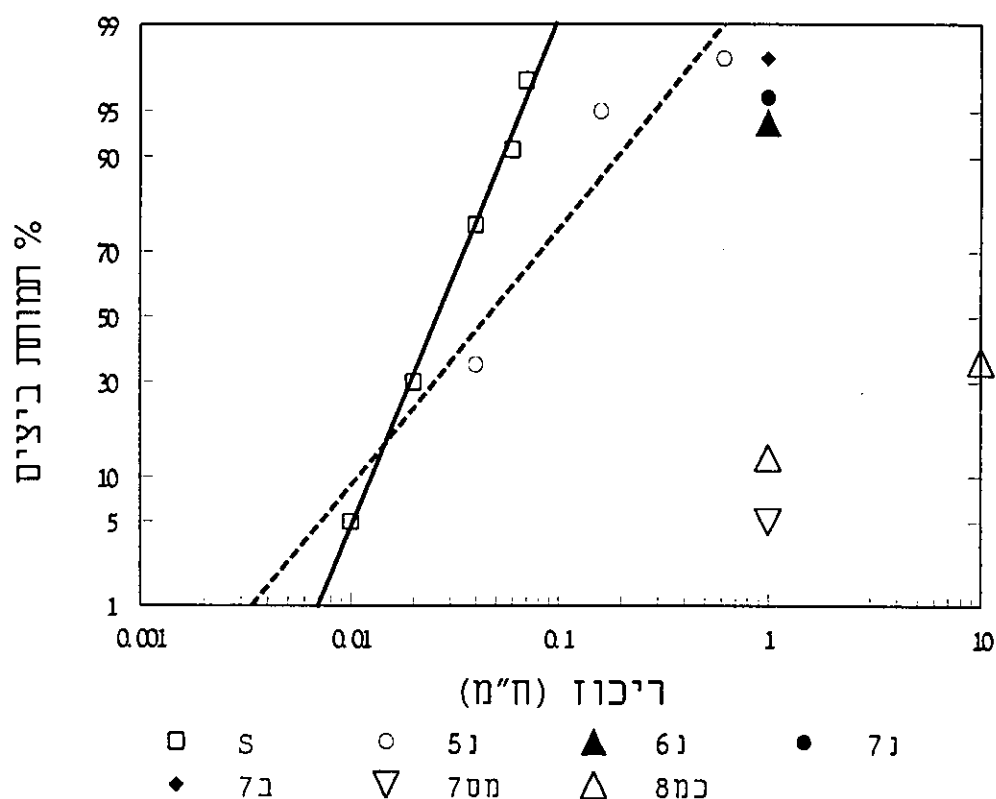
בציור 4 מוזשזות אוכלוסיות הבוגרים של כע"ט שנאספו בשנים 1995 עד 1998 בחממת לימוניום בנירים לעומת גזע הסטנדרט הרגיש. הרגישות של אוכלוסיית החממה (גם הבוגרים וגם הזחלים) לקונפידור נעה במשך ארבע שנות השימוש בחומר; השינוי עד 1997 לא היה ניכר (כפי 5 מהגזע הרגיש) ואילו בשנת 1998 חלה הרעה ביעילות החומר, בדומה לחממות אחרות. אמנם לא נוצרה עמידות גבוהה לקונפידור בכל אזורי הארץ, אך הרעה מסויימת שאנו רואים מניטור העמידות עלולה לפגועה בתוצאות ההדברה אם רמת האוכלוסייה גדולה, אחר ביישום או יישום לא יעיל (כמו שארע כנראה בחממה בפורת בעונת 98). בסיכום, אם נתבונן בכל הדגימות של אוכלוסיות כע"ט ורגישותן לקונפידור נראה שחומר זה אומנם עדיין יעיל מאד נגד כע"ט באזורי הדגימה, אך לפי ניטור העמידות שנעשה בשלוש השנים האחרונות מתגלית פחיתה מסוימת ביעילות החומר. אין ספק שהטיפולים הבלתי מבוקרים בקונפידור הביאו למצב זה, ואם רוצים לשמור על החומר יש לטפל בו פעם אחת בלבד בעונה.

חומר חדש יחסית, מאותה קבוצה של הקונפידור, שהוכנס בשנתיים האחרונות לניסויים באזורי הארץ השונים הוא מוספילן (Acetamiprid) שהנתונים הטוקסיקולוגיים שלו ניתנים בטבלה 1 (בהשוואה לקונפידור). אפשר לראות שבתנאי מעבדה, ביישום בריסוס של מוספילן, הוא נמצא במקצת יותר יעיל (לפי LC_{50}) מקונפידור שיושם בהגמעה. בניטור שנעשה בשנתיים האחרונות לא נמצא שינוי משמעותי ברמת הרגישות לתכשיר באזורים שונים בארץ ורק מעט שינוי ברגישות חל בחממת הורדים מבית חנן (ציור 5)

ציור 5. הרגישות למוספילן של אוכלוסיות הבוגרים של כע"ט שנאספו ב- 1997-8 באזורים שונים בארץ.



ציור 6. תגובת אוכלוסיית כע"ט לטייגר; האוכלוסיות נאספו בשנים 1995-8 בחממות פרחים. S=גזע רגיש; נ5= נירים 1995 וכו'; ב7= בית חנן 1997; מס7= מסלול 1997; כמ8= כפר מימון 1998.



חומר נוסף - הטייגר, שנחשב מאד יעיל נגד כע"ט (בעיקר בשדות הכותנה) וסבל מתנגודת גבוהה בחממות פרחים שונות בשנים 1992, נבחן אף הוא באזור הנגב המערבי ובבית חנן בשנים 1995-8 (ציור 6). לפי ציור 6 החומר טייגר נמצא יעיל בכל החממות מלבד בחממה במושב מסלול והחממה בכפר מימון (שם נתגלתה העמידות בשנת 1991-2; מכך נראה שהשימוש בחומר זה יכול להמשיך וההדברה צפויה להיות טובה; הוא צריך להיות מוגבל לפעם בעונה וחייב להיות מלווה בניטור לעמידות שוטף.

לסיכום, נראה לנו שישנם כיום חומרי הדברה יעילים להדברת כע"ט וכדי לשמור על החומרים הללו יש להשתמש בהם לחילופין בעונה לפי תוכנית ניהול לעמידות (תוכנית ראשונית בנושא הנ"ל הוצעה על ידנו - הרביץ וחוקס, 1997). ביחוד יש לשים לב לא להרבות בשימוש

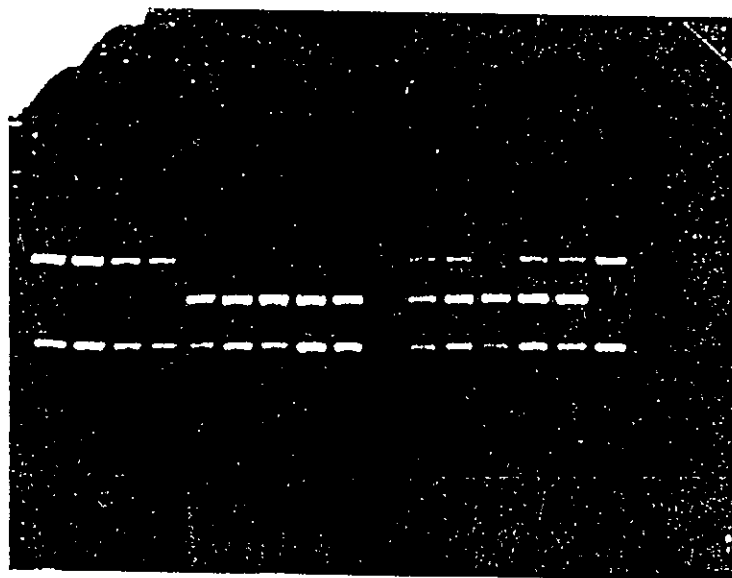
בקונפידור (או בתכשירים דומים מאותה קבוצה) כי ישנה פחיתה ברגישות של החומר באזורי הארץ השונים וטיפולם רצופים עלולים לגרום לאבדן התכשיר עם כל הקבוצה.

2. סמנים גנטיים לתנגודת

במשך השנים 1996-1998 נאספו דגימות מכ- 80 אוכלוסיות של בוגרי כע"ט מאזורים שונים מרחבי הארץ, מחממות ומשדות פתוחים (בעיקר כותנה). האוכלוסיות נבדקו במעבדה לרגישות לחומרי הדברה שונים, ובעיקר לטייגר והושושו לאוכלוסיות רגישות ועמידות לטייגר מגידול המעבדה. מכל אוכלוסייה נלקחו כמה עשרות בוגרים ונשמרו בהקפאה עד לבדיקות המולקולריות.

בבדיקות המולקולריות הראשונות הושושו זה לזה גזעי המעבדה הרגיש והעמיד לטייגר, ונמצא ששינם הבדלים ניכרים בין שני הגזעים. בכל אוכלוסייה נלקחו פרטים שנבדקו בנפרד זה מזה (ראה שיטות הפקת ה-DNA). האוכלוסיות השונות נבדקו כשל-DNA שלהן מוספים פריימרים שונים אחד מהשני; החומר הגנטי עובר הגברה במכשיר ה-PCR ואח"כ מורץ באגר-ג'ל; הג'ל מצולם במצלמה פולארויד או במצלמה דיגיטלית כאשר הוא מואר בקרינת UV שמבליטה את הבנדים. נראה לנו שהפריימרים בהם קל להבחין בין אוכלוסיות עמידות ורגישות הם: A4; A5; ו-A9. בניסויים נמצא שיש אפשרות למצוא הבדלים בין מיקום הפסים ("הבנדים") של אוכלוסיות שדה "עמידות ורגישות" (צויר 7);

צויר 7. צלום פולארויד של הרצת DNA של כע"ט בודדות שעבר ריאקציית RAPD-PCR; משמאל - 4 עמודות הג'לים הראשונות מבטאות גזע רגיש (S) ממקור המעבדה; 5 העמודות הבאות מבטאות גזע עמיד (R) ממקור המעבדה; ששת העמודות מימין מבטאות אוכלוסייה עמידה לטייגר שנאספה בעמק איילון מחמניות ב- 1/5/1996. (הפריימר = A4).



3. ההכלאות בין גזע עמיד ורגיש לטייגר ומבחן RAPD-PCR

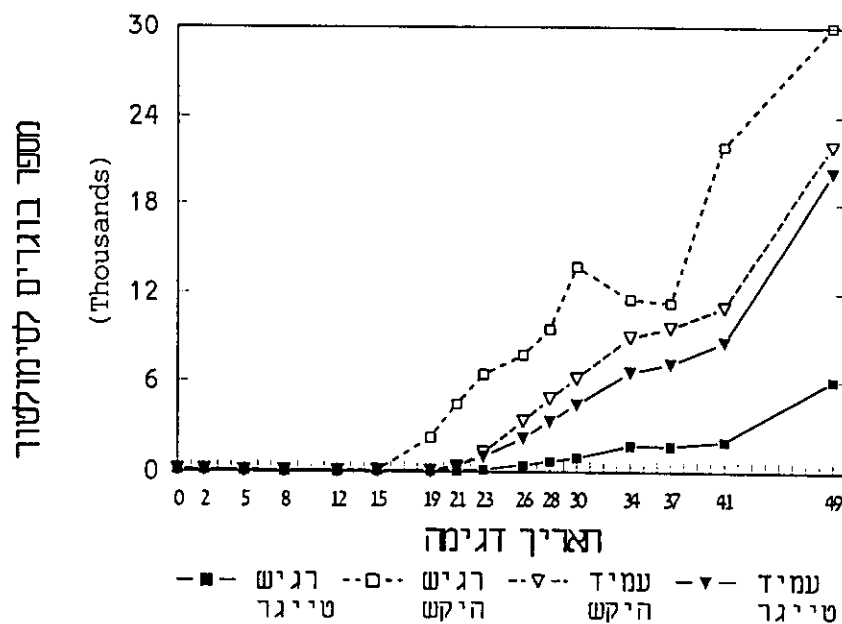
מבחן RAPD-PCR שנעשה בזכרים עם הריכוזים המאבחים (וגם אלו שהיו מעורבים: רגישים ועמידים לטייגר - ראה שיטות וחומרים) הראה ממצאים לא ברורים. "הבנד" שאופיין באוכלוסיות שדה ומעבדה עמידות לא הופיע בזכרים מהדור הראשון; והוא הופיע בעיקר בזכרים עם ריכוז מאבחן מהכלאות RRXS ומעט מאוד בהכלאות ההפוכות (SSXR).

לסכום התוצאות האלו: בשיטת ההכלאות לא נמצאה התאמה בין הגזע העמיד מהמעבדה לבין הסמן הגנטי המשוער, למרות שנמצאה התאמה יפה בין אוכלוסיות השדה העמידות והופעת "הבנד" הספציפי (ציור 7). יש להמשיך ולבדוק בצורה דומה גזעים אחרים שאין ביניהם מחסום רבייה, ובנוסף למצוא התאמה בפריימרים שונים. בנוסף, אנו מנסים כעת לבדד את הבנדים הקשורים בעמידות לטייגר, למצוא את הרצף שלהם ולהפעילם כפריימרים ספציפיים לאוכלוסיות השדה.

4. דינמיקת האוכלוסיות של כנימת עש הטבק העמידה לטייגר - ניסויי סימולטור

מספר ממצאים מעניינים התקבלו מניסוי זה (ציור 8):

א. הגזע הרגיש התגלה כיותר פורה מהגזע העמיד. אנו מתכננים ניסויים נוספים כדי לראות האם ההבדלים בין שני הגזעים מקורם מבעיות "חיוניות" (fitness) של הגזע העמיד ("מחיר" התנגדות). ב. המג"ח, מחקה הורמון הנעורים - טייגר, היה מאוד יעיל בהדברת הגזע הרגיש והוא "התאושש" מהטיפול בחומר רק כ- 40 יום לאחר הריסוס. ג. החומר טייגר השפיע במעט גם על הגזע העמיד, כך שהתפתחה אוכלוסייה של בוגרים נמוכה במעט מזו שלא טופלה. ציור 8. השפעת הטיפול בטייגר על בניית האוכלוסיות של בוגרי כע"ט מגזע עמיד ורגיש לטייגר; נבדק בסימולטור-שדה - רוטמסטד, אנגליה 1997.



רשימת ספרות מצוטטת

הורביץ, ר. וחוקס. מ. 1997. ממשק הדברה נגד כנימת עש הטבק בפרחים. "דפי מידע" י"ב: 63-60.

Anthony, N. M., J. K. Brown, P. G. Markham and R. H. ffrench-Constant. 1994. Cyclodien insecticide resistance in strains of *Bemisia tabaci* is correlated with presence in crop systems and not with whitefly biotype. *Phytoparasitica* 22: 347.

Brown, T. M. and W.G. Brogdon. 1987. Improve detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145-162.

Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.

Frohlich, D. R. and J. K. Brown. 1994. Mitochondrial 16s ribosomal subunit as a molecular marker in *Bemisia tabaci* and implications for population variability. *Phytoparasitica* 22: 311.

Graves, J. B., B. R. Leonard, G. Burris, S. Micinski, D.W. Long and P.J. O'Brien. 1991. Insecticide resistance management: an integral part of IPM. *Proc. 1991 Beltwide Cotton Conf.*

Horowitz A. R. and I. Ishaaya. 1994. Managing resistance to insect growth regulators in the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 866-871.

Horowitz A. R., G. Forer and I. Ishaaya. 1994. Managing resistance in *Bemisia tabaci* in Israel with emphasis on cotton. *Pestic. Sci.* 42: 113-122.

Martin, B. G., J. G. K. Williams and S. D. Tansley. 1991. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88: 2336-2340.

3. סיכום עם שאלות מנחות לדוחות מחקר 1998

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב-3 עד 4 שורות מכסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך הערכה של תוצאות המחקר. תודה.
הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתכנית העבודה:
* לעקוב ולאתר מוקדי תנגודת לחומרי ההדברה החדשניים להדברת כע"ט בחממות הפרחים.
* לברר את הגורמים המשפיעים להיווצרות תנגודת מהירה בכע"ט לחומרים החדשים בחממה
* לנסות לברר את המנגנונים הגנטיים של התנגודת בכע"ט.
* לתכנן ממשק עמידות לכע"ט בחממות הפרחים, תוך שימוש נבון בחומרי ההדברה.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח:
* אין הבדלים ביעילות לקטילת כע"ט בין התכשירים הנאו-ניקוטילינים השונים שנבדקו.
* לפי ניטור העמידות שנעשה בשלוש השנים האחרונות מתגלית פחיתה מסוימת ביעילות החומר קונפידור (בגלל הטיפולים הבלתי מבוקרים).
* נמצאו הבדלים בין מיקום הפסים ("הבנדים" - DNA) של אוכלוסיות שדה "עמידות ורגישות".
* בשיטת ההכלאות לא נמצאה התאמה בין הגזע העמיד לבין הסמן הגנטי המשוער.
* התפתחות הגזע העמיד לטייגר הייתה פחותה מהגזע העמיד.
2. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו:
* יש להמשיך לנטר את העמידות לתכשירים אלו בכע"ט ולהגביל שימושם בחממות.
* במחקר לא נמצא באופן ברור קשר בין עמידות בשדה וסמנים גנטיים
* ניתן להבחין בין האוכלוסיות של כע"ט לפי ניתוח מולקולרי
* הגזע העמיד לוקה כנראה בחיוניות נמוכה יותר מהרגיש וזה מאפשר לנקוט בשיטת האלטרנציה.
3. הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן:
* איתור ומיפוי העליה בעמידות לקונפידור לפי אזורים והקשר למספר הטיפולים
* מציאת בנדים הספציפים לגזע העמיד והפקת פריימרים למבחן אוכלוסיות מהשדה
* לימוד המבנה הגנטי של אוכלוסיות כע"ט בארץ בשיטת PCR-RAPD
* הכלאות בין גזעים עמידים ורגישים ללימוד הגנטיקה של התנגודת
4. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח – יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון – יש לפרט מקום ותאריך:
הרצאות בכנס DIARP הרצליה אוק' 1998.
הורביץ, ר. וחוקס. מ. 1997. "דפי מידע" י"ב: 60-63.
Denholm, I., Cahill, M., Dennehy, T. J. and A. R. Horowitz. 1998. <i>Phil. Trans. Roy. Soc. Series B</i> . 353: 1757-1767.
Horowitz, A. R., Z. Mendelson, M. Cahill, I. Denholm, and I. Ishaaya. In press. Managing resistance to the insect growth regulator, pyriproxyfen, in <i>Bemisia tabaci</i> . <i>Pestic. Sci.</i>