

## מימשק למניעת תנגודת לכותנה מהונדסת עם Bt בעשי הכותנה העיקריים / רמי הורביץ

דו"ח מחקר לשנת 2005 מוגש להנהלת ענף כותנה

131-1154-05

רמי הורביץ, ודים חסדון, מריו ריפא, רפי מורי, סופיה קלייטמן

E-mail: hrami@volcani.agri.gov.il

המחלקה לאנטומולוגיה, מרכז מחקר גילת

מינהל המחקר החקלאי

### תקציר

מטרת המחקר היא לפתח מימשק נגד התפתחות תנגודת בעשי הכותנה החשובים לרעלן Cry1Ac (מחידק Bt subsp. *kurstaki*) המבוטא בכותנה מהונדסת. בשלב הראשון של המחקר עבדנו על סיגול ושיפור של שיטות הגידול של הלוקטית ורודה (ה"ו) וכן בצענו ניסויים לשם יצירת הקו הבסיסי לרגישות מזיק זה לרעלן.

נעשו ניסויי רגישות של זחלי ה"ו והליותיס לרעלן ה-Bt. תערובת הרעלן הוכנה מהתכשיר הביו-אינסקטיציד MVP-II קפסולרי שמקביל בתכונותיו לרעלן הטרנסגני. לפי הניסויים נראה שהגזע הסטנדרטי של ה"ו אשר מגודל בגילת (מקורו מגידול ממושך בעמק בית שאן) רגיש ביותר לרעלן ה-Bt בדומה לגזעים הרגילים שנמצאו בניסויים בארה"ב. לאחר מכן פותח גם קו בסיסי של רגישות לרעלן ה-Bt מאוכלוסיות מעבדה רגישות של ה"ו והליותיס. בסלקציה מכוונת של אוכלוסייה ממקור גילת במשך כשלוש שנים עלתה העמידות לרעלן ה-Bt ליותר מפי 30 לעומת ההיקש.

לצורך בחינת אוכלוסיות של ה"ו ורגישותם לרעלן ה-Bt נעשו מספר איסופים של הלוקטים בשדות כותנה עם נגיעות גבוהה בזחל ורוד בסוף העונות 2004 ו-2005. נעשו גם בחינת הרגישות של זחלי הליותיס לרעלן מאוכלוסיות שנאספו בחוף הכרמל.

ניסויים לבדיקת המודלים השונים כנגד תנגודת לגידול טרנסגני נעשו בסוף העונות 2003 ו-2004 בחממה במרכז מחקר גילת. בניסוי זה נבדקו הנזקים להלקטי הכותנה ואפשרות היווצרות תנגודת בטיפולים הבאים: תערובת זרעים רגילים ומהונדסים, קטעים של צמחים רגילים בצמוד לחלקה המהונדסת לעומת חלקות ביקורת. בכל חלקה פיזרנו אחת לשבועיים עשי הלוקטית ורודה מהגידול. הנזק לצמחים, רמת התנגודת והקשר למודלים השונים – נבדקו לאחר סיום הניסויים. נראה שלגבי ה"ו, גם תערובת זרעים וגם קטעים צמודים נותנים פיתרון למניעת נזק מה"ו ודחיית תנגודת למזיק זה. בניסוי נוסף רב שנתי שנעשה בחממות בגילת ראינו שכותנה דו ותלת שנתית מתגוננת באופן יעיל כנגד זחל ורוד.

### מבוא ורקע מדעי

תכשירי הדברה שמבוססים על החיידק בצילוס תורנינגייזיס (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 הטרנסגנית הצליחו להחדיר בשיטות הנדסה גנטית את הגן של החיידק שמבטא את רעלן החיידק בכל אחד מתאי הצמח; באופן כזה הצמח עצמו מתגונן נגד מזיקים באמצעות הרעלן של החיידק (תמונה 1). ההגנה וחסומה כנגד מזיקים על ידי הכותנה הטרנסגנית 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 טרנסגניים נגד מזיקים יש לו מגרעת בסיסית עיקרית והיא הסיכון הגבוה של התפתחות תנגודת במזיקי המטרה. זה נובע כתוצאה מחשיפה מתמדת של המזיק לצמחים המהונדסים (ולרעלן) במשך 5-7 חודשים של עונת הכותנה. כמו כן, ישנן כבר הוכחות שבחרקים שונים 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 הטרנסגנית, CryI Ac (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 הטרואיגוטים, RS), חלקות צמודות של "צמחי מיפלט" לא מהונדסים (refuge plants), ומעקב צמוד אחר התפתחות התנגודת לצמחים המהונדסים (למשל, Roush, 1997). ההנחה הבסיסית בהקצאת החלקה של צמחי מיפלט היא שעשים רגישים המגיחים מחלקה זו יזדווגו עם עשים עמידים (שצפויים להיות נדירים) שמגיחים מהשטח הטרנסגני, וכך תדחה העמידות באופן משמעותי, כמו שהוראה בסימולציות שונות.

במחקרים שבצענו בעבר (1998-2000) נבדקה יעילות הכותנה המהונדסת עם Bt מתוצרת מונסנטו (Monsanto) 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.

בשלב הראשון של המחקר הנוכחי סיגלנו שיטות גידול חדשות לקבלת עשים של הלקטית ורודה, יצרנו קוים בסיסים של ה"ו לרגישות לרעלן ה-Bt, בחנו אוכלוסיות שדה שונות לרגישות לרעלן ובחנו מודלים שונים שהוצעו כדי לדחות היווצרות עמידות לרעלן ה-Bt בניסויי חממה.

מטרות העבודה לשנים 2004-5

1. לאסוף אוכלוסיות (גזעי שדה) של הלקטית ורודה והליותיס באזורי הארץ השונים ולגדלן לשם מבחן רגישות ל-Bt ולכותנה מהונדסת עם רעלן ה-Bt ; זאת בהשוואה לקווי הסטנדרט הרגישים.
2. לבחון סלקציה מכוונת של הלקטית ורודה לרעלן Cry1Ac.

שיטות וחומריםשיטות גידול להלקטית ורודה

הבחינה למציאת שיטות גידול להלקטית ורודה הסתיימה בהצלחה. נכון להיום, אנחנו מגדלים אוכלוסיות שונות של הלקטית ורודה במצע מזון מלאכותי מיובא מארה"ב בכמויות נדרשות למחקר שלנו ומספקים ביצים או גלמים של ה"ו לפי הדרישות למחקרים ארציים שמבצעת מועצת הכותנה.

שיטות גידול להליותיס

נבחנו שיטה לגידול הליותיס מהשדה שנהוגה בבית דגן. השיטה דומה לזאת לגידול ה"ו עם הבדלים קטנים. מכניסים זחל אחד או שניים לאחר הבקיעה לתוך בארות של פלטת ELISA (50 בארות, כ"א 3 מ"ל) עם מצע מזון. אחרי החיטוי מכניסים גלמים לצנצנות הטלה (~50 גלמים לצנצנת עם נפח כ-5 ליטר) עם פתחים למבחינות האכלה עם מי דבש לבוגרים.

מציאת קווי הסטנדרט לה"ו והליותיס

בניסויים נבחנו אוכלוסיית מעבדה שלא נחשפה לתכשירי Bt מגידול מעבדתי שמגודל בגילת כבר כארבע שנים. תטולות צעירות של עד יומיים בנות 10 ביצים הועברו לכוסות של 30 מ"ל עם מכסים (תמונה 2), המכילים 10 גרם של מצע מזון בריכוזים שונים של רעלן Cry1Ac. נייר ההטלה סומן מתחת לבינוקולר וחולק לקטעים קטנים עם מספר הביצים הדרוש. הקטעים נגזרו לפיסות נייר עם הביצים והונחו בכוסות על גבי פיסות נייר כסף ונאטמו בפלסטיק להצמדת מזון. בכוסות הוכנס מצע מזון מלאכותי על בסיס נבטי חיטה וסויה (כני"ל). לתוך תמיסת המזון עורבב הרעלן, Cry1Ac בריכוזים שונים, והתמותה נקבעה לאחר 14 יום. תערובת הרעלן מורכבת מהתכשיר הביו-אינסקטיצידי - 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. עשר חזרות של 10 זחלים כ"א נבחנו בכל ריכוז. במכסים של הכוסות נעשו חורים לצורך אוורור והוכנסו טיפים צהובים למניעת בריחת זחלים. הכוסות הוכנסו לתבניות ביצים והועברו לחדר גידול עם טמפרטורה קבועה של  $27 \pm 2$  מ"צ.

המבחנים הביולוגיים עם הליותיס נעשו באופן דומה אבל עם שינויים קלים להתאמה לזחלים אלו. בכל חזרה הועברו שני נאונטים של הליותיס בעזרת מכחול לכוסות ה-30 מ"ל עם מצע מזון בריכוזים שונים של רעלן Cry1Ac. הרעלן נבדק בתמיסות המזון כדי ליצור רצף ריכוזים גבוהים יותר מאשר ה"ו (0.1 עד 32 מיקרוגרם לגרם של מצע המזון).



תמונה 1. הלקט טרנסגני עם Bt (מימין) לעומת הלקט היקש לא טרנסגני. ההלקטים אולחו עם 10 ביצים (כ"א) ונפתחו להערכת הנגיעות לאחר כשבועיים מהאילוח.



תמונה 2. כוס של 30 מ"ל עם מצע המזון שיועדה למבחני הרגישות עם Bt. פיסת נייר עם כ-10 ביצים הונחה מעל מצע המזון; בכוסות עורבב הרעלן Cry1Ac בריכוזים שונים עם מצע המזון. הטיפ הצהוב – לאורור.

### איסוף אוכלוסיות למבחני רגישות של זחלים משדות הכותנה

איסוף של הלקטים נעשה בסופי העונות באזור הדרום (רבדים, 2004) ובאזור הנגב מערבי (נחל עוז, 2005) - משדות כותנה שנחשדו בנגיעות גבוהה של זחל ורוד. כשלושת אלפים ההלקטים שנאספו, הונחו בתוך רשתות מאווררות שהוכנסו לקעריות של 10 ליטר כ"א ובתוכן ניירות מקופלים להתגלמות. לאחר מספר דורות של גידול על מזון מלאכותי, בססנו את הגידול מאוכלוסיות השדה והוא התפתח בחדר הגידול עד שהגיע לרמה שבה ניתן היה לערוך בו ניסויי רגישות. זחלי הליותיס נאספו באזור חוף הכרמל באמצע העונות 2004 – 2005. הזחלים גודלו במעבדה מספר דורות ואחר כך נבחנו לרגישות לרעלן ה-Bt.

### סלקציה מכוונת של הלקטית ורודה לרעלן Cry1Ac

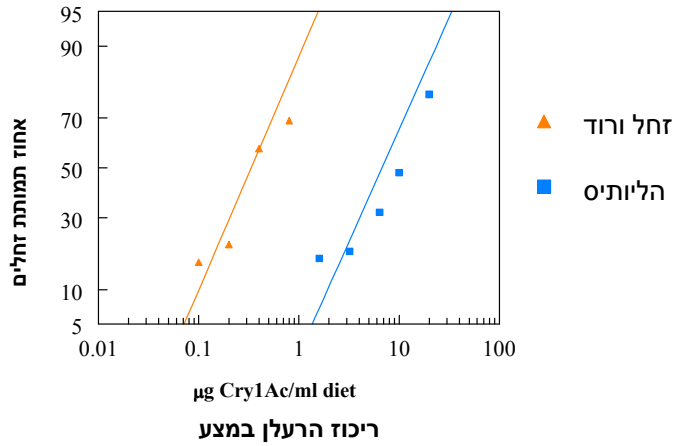
כדי לעשות סלקציה מכוונת של ה"ו לרעלן ה-Bt, נבחנו שלוש אוכלוסיות: גזע מעבדתי מגילת וגזע משדה מחוף הכרמל (עין כרמל). פרטים של ה"ו שגילו סבילות לריכוזים יותר גבוהים של רעלן מ-0.2 מיקרוגרם לגרם מצע מזון (בערך LC30) נבחרו לסלקציה מכוונת. פרטים של ה"ו גודלו בתנאי מעבדה מוגדרים על מצע מזון המכיל ריכוז 0.2 מיקרוגרם של הרעלן Cry1Ac לגרם מצע מזון ונבחנו מדי שלושה דורות לרגישות ביחס לקו הסטנדרט הרגיש. ניסויי הסלקציה התרכזו לבסוף באוכלוסיית ה"ו מגזע המעבדתי של גילת (GDR – Gilat Development Resistant) אשר גודלה במצע מזון (המכיל ריכוז 2 מיקרוגרם של הרעלן Cry1Ac לגרם מצע מזון); ובניסויים האחרונים נבחן הגידול הנ"ל לאחר 36 דורות של סלקציה.

### תוצאות ודין

#### קביעת קווי הסטנדרט של ה"ו והליותיס הרגישים לרעלן ה-Bt

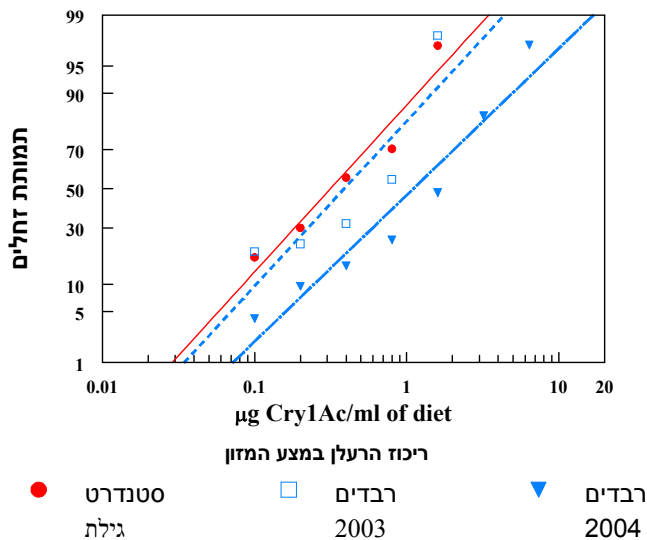
באיור 1 ניתן לראות את עקום התמותה שמייצג את השפעת רעלן ה-Bt (Cry1Ac) על זחלי הלקטית ורודה והליותיס. לפי איור זה, זחלי הלקטית ורודה רגישה לרעלן זה פי 40 בערך מאשר זחלי הליותיס. תוצאה זו מתאימה למה שדווח בארה"ב (לגבי זחל ורוד) ולגבי הליותיס (מאוסטרליה). גם בשדות הכותנה באוסטרליה רעלן זה של ה-Bt יעיל באופן מוגבל נגד הליותיס. לעומת זאת, הרגישות של הזחל הורוד לרעלן היא גבוהה מאוד.

בניסויים התקבלה תמותה מלאה של זחל ורוד 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 גילת רגיש ביותר לרעלן ה-Bt ויכול לשמש כגזע הסטנדרט בבחינת כותנה מהונדסת עם Bt. ה-LC<sub>50</sub> (ריכוז דרוש לקטילה 50% מהאוכלוסייה מטופלת) הוא 0.32 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון. 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).

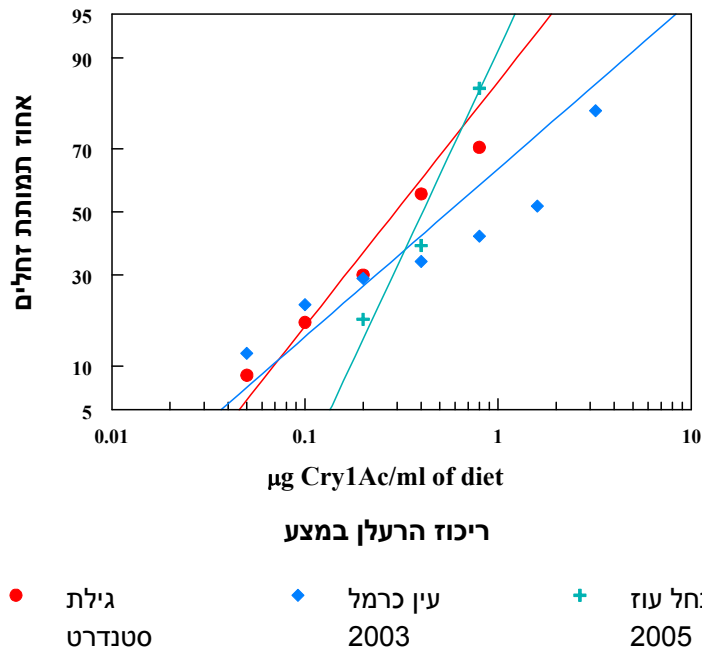


איור 1. עקום התמותה שמייצג את הרגישות של קווי הסטנדרט של הלקטית ורודה והליותיס לרעלן ה-Bt במצע הגידול

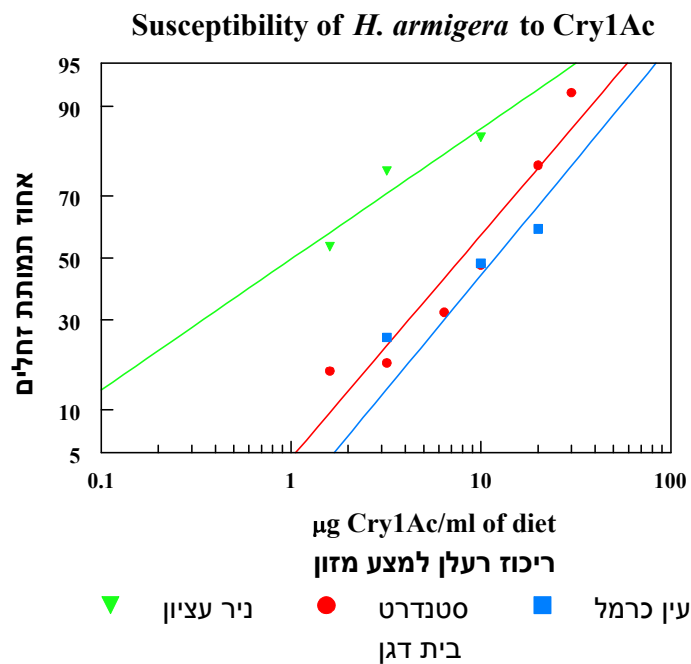
איסוף אוכלוסיות למבחני רגישות של זחלי ה"ו והליותיס משדות הכותנה והשוואתן לקווי הסטנדרט  
 כמסקנות מהעונות קודמות בשנה הזו: התרכזנו באיסוף של הלקטים בשדה נגועה יחסית - לקראת סוף העונה (ספטמבר). בסוף עונת 2004 קטפנו הלקטי כותנה משדות נגועים בה"ו מאזור רבדים ולאחר התבססותה של האוכלוסייה בתנאי מעבדה בדקנו (2005) אותה לרגישות לרעלן. בסוף עונת 2005 נאספו הלקטים בשדה נגוע בנחל עוז. האוכלוסייה גודלה בחדר הגידול ונבדקה בתחילת 2006.



איור 2. הרגישות של אוכלוסיות רבדים (2003 – 2004) לרעלן ה-Bt לעומת קו הסטנדרט מגילת.



איור 3. אוכלוסיות הלקטיות ורודה שנאספו בסוף עונת 2005 משדה נגוע בנחל עוז בהשוואה לסטנדרט גילת ועין כרמל 2003.



איור 4. אוכלוסיות הליותיס שנאספו באזור חוף הכרמל ב- 2004 (עין כרמל) ו- 2005 (ניר עציון) ונבדקו לרגישות לרעלן ה-Bt בתוך מצע המזון.

איור 2 מבטא את הרגישות לרעלן ה-Bt של אוכלוסיות ה"ו משדות כותנה ברבדים בסוף עונת 2003 ו-2004 לעומת קו הסטנדרט. באופן כללי אוכלוסיות השדה היו רגישות לרעלן, למרות שאוכלוסיית 2004 הייתה קצת פחות רגישה מהסטנדרט (כפי שמקובל לעיתים לראות באוכלוסיות שדה). באיור 3 ניתן לראות את הרגישות של אוכלוסיית שדה של ה"ו מנחל עוז 2005 לעומת הסטנדרט ואוכלוסיית עין כרמל שנאספה בשנת 2003. למרות הסטייה מקו הסטנדרט של אוכלוסיית עין כרמל, עדיין נחשבות שתי אוכלוסיות אלו רגישות לרעלן ה-Bt.

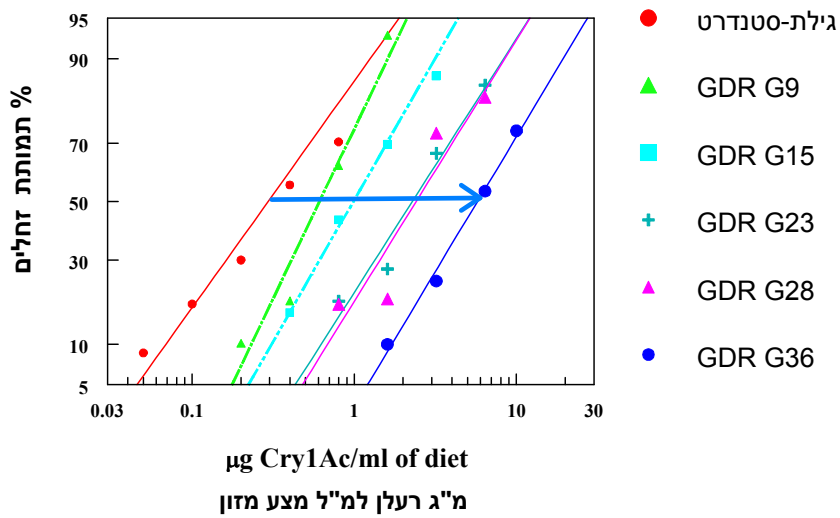
#### מבחני רגישות עם הליותיס

התוצאות של הניסויים עם הליותיס מצביעות על כך שהוא פחות רגיש לרעלן Cry1Ac (איור 1); ה-LC50 הוא 8.37 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון. 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 מסוגלים להתפתח. אוכלוסיות ההליותיס נאספו בעונות 2004 ו-2005 מאזור חוף הכרמל ונמצא שהן עמידות במעט לתיונקס. לעומת זאת, שתי האוכלוסיות האלו היו רגישות יחסית לרעלן ה-Bt (בדומה לסטנדרט, אוכלוסיות השדה של ההליותיס פחות רגישות לרעלן מאשר אוכלוסיות ה"ו).

#### סלקציה מכוונת של הלקטית ורודה לרעלן Cry1Ac

הפרטים של ה"ו אשר נבחרו לסלקציה מכוונת גודלו בתנאי מעבדה מוגדרים על מצע מזון המכיל ריכוז של 0.2 מיקרוגרם של הרעלן Cry1Ac לגרם מצע מזון (ראה שיטות וחומרים). אחרי 3 דורות נבדקה אוכלוסיית של ה"ו להתפתחות עמידות (GDR) ונמצא שהם הפכו עמידים יותר לרעלן (יותר מפי 2 לעומת האוכלוסייה מבית שאן לפי LC50) הוא 0.32 ו-0.72 מיקרוגרם של הרעלן Cry1Ac לגרם מצע מזון, בהתאם; יחס העמידות (RR50) עלה ל-2.25. במשך 15 דורות הרגישות לרעלן באוכלוסייה הזאת לא השתנתה. בבדיקות האחרונות נמצא שהאוכלוסייה (דור 18) הפכה לעמידה יותר לרעלן (LC<sub>50</sub>) הוא 2.02 מיקרוגרם של הרעלן Cry1Ac לגרם מצע מזון, יחס העמידות (RR<sub>50</sub>) עלה ל-6.31. בהמשך הדורות: 23, 28, חלה עלייה משמעותית ברמת העמידות לרעלן, ובמיוחד בדור 36 (איור 5) התקבלה אוכלוסייה עמידה לרעלן ה-Bt פי 30 מגזע הסטנדרט (גילת - GDR). אנחנו ממשיכים לגדל את האוכלוסייה הזאת על ריכוזים יותר גבוהים של רעלן כדי לראות האם התנגודת לרעלן תעלה באופן עקבי.





איור 5. הרגישות של זחלי הלקטית ורודה מאוכלוסיית הסלקציה (GDR) שנחשפה לריכוזים מ-0.2 עד 10 מיקרוגרם רעלן לגרם מצע מזון לעומת הסטנדרט. בדור 36 (G36) הגיעה העמידות של הזחלים לפי 30 מאשר הסטנדרט.

#### מבחנים עם כותנה דו-שנתית ועם כותנה משנה שלישית

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 כנ"ל. בכל המבחנים התקבלה תמותה מלאה של זחלי ה"ו צעירים בהשוואה לביקורות לא מהונדסות שבהם התקבל נזק ניכר ממזיק זה. כמסקנה, רמת הרעלן בשנה שנייה ושלישית עדיין קוטלת באופן מלא את זחלי ה"ו לעומת הביקורות.

**מסקנות וסיכום**

כדי לגדל גידול מהונדס המסוגל להתגונן בפני מזיקי כותנה (או כל מזיק-גידול לצמח מהונדס) 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, חלקות צמודות של 'צמחי מפלט' לא טרנסגנים ומעקב צמוד אחר התפתחות התנגודת לצמחים המהונדסים.

במחקר הקודם שבצענו נבדקה יעילות כותנה מהונדסת עם Bt מתוצרת מונסנטו (Monsanto) נגד זחלי עשים מזיקים, אולם לא ניתן היה לבחון את השינויים ברגישות הזחלים לרעלן (עליה בעמידות) כתוצאה מחשיפה לכותנה המהונדסת.

מטרת המחקר העיקרית היא לייצור קווי בסיס לרגישות לרעלן ה-Bt, ולפתח אסטרטגיה למימשק נגד תנגודת של כותנה מהונדסת עם Bt במזיקי הכותנה העיקריים. בניסויים שנעשו בחממה נבחנו שיטת תערובת הזרעים והפסים ביחס של 80%-20% של צמחים טרנסגניים לעומת צמחי מפלט, בהתאמה. נראה שאפשר ליישם את שתי השיטות כנגד ה"ו והנוק המכסימלי שהמתקבל בצמחי המפלט היה כ-20%. במחקר זה היינו חייבים לסגל ולשפר שיטות גידול של מספר מזיקים ובמיוחד הלקטית ורודה (זחל ורוד), והליותיס כדי ליצור קו בסיסי לרגישות מזיקים חשובים אלה לרעלן ה-Bt (Cry1Ac). עד עתה הצלחנו לבסס את שיטות הגידול. אנחנו מגדלים בהצלחה היום במעבדה לא רק את אוכלוסיית המעבדה, אלא גם את האוכלוסיות מהשדות השונים שנאספו בארץ.

במקביל לשיפור שיטות הגידול, ערכנו ניסויי רגישות של זחלי ה"ו לרעלן ה-Bt. תערובת הרעלן הוכנה מהתכשיר הביו-אינסקטיציד - MVP-II 20% קפסולרי (Mycogen) שהוא היחיד שמקביל בתכונותיו לרעלן הטרנסגני. לפי הניסויים, נראה שהגזע סטנדרטי של הלקטית ורודה, שמקורו מגידול ממושך בעמק בית שאן, ומגודל בגילת כ-4 שנים, רגיש ביותר לרעלן ה-Bt, בדומה לגזעים הרגישים שמשמשים כקווים רגישים בניסויים בארה"ב.

בשנים האחרונות נמשך ניטור הרגישות בשדה של זחלי הלקטית ורודה לרעלן ה-Bt באזורי הארץ השונים. נאספו הלקטים ממספר שדות כותנה בעונות 2002-2005 ונעשו מבחני רגישות של גזעי ה"ו שמקורם מהשדה. הקווים שנאספו מהשדות נמצאו רגישים לרעלן ה-Bt ולכותנה טרנסגנית הגדלה בחממות גילת. כדי ללמוד האם נמצאים בשדה אללים לתנגודת נלקחו חלק מאוכלוסיות ה"ו לניסויי סלקציה מכוונת במעבדה. נמצא שלאחר 36 דורות של סלקציה מכוונת במעבדה ניתן לייצור עמידות של אוכלוסיית ה"ו לרעלן (בדור 36 – פי 30).

**רשימת ספרות:**

- הורביץ, ר., נבון, ע., לבסקי, ש., ויבלונסקי, ש. 1999. היעילות של צמחי כותנה מהונדסים (טרנסגנים) עם בצילוס תורנינגיינזיס נגד עשי כותנה מזיקים בישראל. גן שדה ומשק, אוקטובר 1999: 23-26.
- Bartlett, A.C. 1995. Resistance of the pink bollworm to Bt transgenic cotton. In Proceedings Beltwide Cotton Conferences. pp. 766-768.
- Beckman H.F., Bruckart S.M., Reiser R. 1953: Laboratory Culture of the Pink Bollworm of Chemically Media. J. Econ. Entomol. 46. 627-630

- 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.
- Liu, Y., Tabashnik, B. E., Meyer, S. K., Carriere, Y. and Bartlett, A. C. (2001). Genetics of pink bollworm resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac. *J. Econ. Entomol.* 94: 248-252.
- Navon, A. 2000. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection - reality and prospects. *Crop. Prot.* 19: 669-676.
- Ouye M.T. 1962: Effects of Anti-microbial Agent on Microorganisms and Pink Bollworm Development. *J. Econ. Entomol.* 55. 854-857.
- 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.
- Sims, M. A., Dennehy, T. J., Patin, A., Carrière, Y., Liu, Y., Tabashnik, B., Antilla L. and Whitlow, M. 2001. Arizona's multi-agency resistance management program for Bt cotton: sustaining the susceptibility of pink bollworm. *Proceedings Beltwide Cotton Conferences 2001*, pp. 1173-1179.
- 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.