

סיכום מחקר שנה ראשונה (אפריל 2006 עד ינואר 2007) בנושא "אפיון גנטי אקולוגי ומולקולרי של עמידות לפגסוס (Diafenthiuron) בכנימת עש הטבק חוקר אחראי - דר' שי מורין, המחלקה לאנטומולוגיה, הפקולטה לחקלאות.

1. רקע, חשיבות ותועלת צפויה: כנימת עש הטבק *Bemisia tabaci* היא מזיק חשוב ובמקרים רבים עיקרי במערכות חקלאיות רבות. הכנימה פוגעת בגידולים על ידי מציצה של מוהל הצמח, הפרשת טל-דבש הגורם להתפתחות פטריות, והעברה של מספר גדול של נגיפים צמחיים. מספר מאפיינים ביולוגיים של כנימת עש הטבק כגון: טווח פונדקאים רחב, כושר נדידה והתרבות גבוהים ויכולת פיתוח עמידות לחומרי הדברה, גורמים לקשיים רבים בפיתוחן של תוכניות ניהול מזיקים (Pest management programs) כנגדה.

לצערנו, שימוש נרחב, חוזר ונשנה, ולעיתים בלתי מבוקר הביא להתפתחות עמידות בכנימת עש הטבק כנגד מגוון של חומרי הדברה. עמידות כנגד Neonicotinoids התקבלה במדינות שונות באירופה ולאחרונה גם בישראל. רמות גבוהות של עמידות כנגד Pyriproxyfen התקבלו כבר בשנה הראשונה לשימוש בחממות פרחים בישראל, ולאחר ארבע שנים (למרות הקפדה על יישום אחד בעונה) גם בשדות כותנה. התפתחות עמידות לפגסוס עדיין לא דווחה בישראל אך דווחה באוסטרליה. הסכנות מהתפשטות תופעת העמידות הן רבות: 1. לא קיימים כרגע בידינו תחליפים בעלי מנגנון פעולה חדש וייחודי המסוגלים להחליף את התכשירים שבשימוש. 2. התפרצות בלתי-מבוקרת של כנימת עש הטבק עלולה לגרום לנזק כלכלי אדיר כדוגמת זה שארע באריזונה וקליפורניה בשנת 1995. 3. באין מוצא, עלולים חקלאים רבים לחזור ולהשתמש בחומרי ההדברה הישנים רחבי-הטווח, ולגרום לפגיעה אקולוגית קשה באוכלוסיות האויבים הטבעיים.

2. מטרת המחקר: פגסוס הינו כיום החומר היעיל היחיד בו משתמשים כנגד כנימת עש הטבק בכותנה. התפתחות עמידות כנגד פגסוס עלולה להביא לנזק כלכלי אדיר ולחזרה לשימוש בחומרי הדברה רחבי-טווח. על מנת למנוע זאת, יש צורך לפתח גישות חדשניות לשימוש מושכל בפגסוס. גישות אלה צריכות להיות מבוססות על הבנת הבסיס הגנטי, המולקולרי והאקולוגי של מנגנון העמידות. לכן, יתמקד המחקר בהשגת המטרות הבאות:

א. איסוף אוכלוסיות שדה של כנימת עש הטבק מאזורים בהם דווחה ירידה ביעילות הפעולה של פגסוס (**חלק זה של המחקר בוצע בקיץ 2006**).

ב. הקמת אוכלוסיות מעבדה אשר יעברו סלקציה רציפה ו-Bioassays בכל דור שני לזיהוי עליה ברמת העמידות (**חלק זה של המחקר מבוצע כעת**).

ג. זיהוי עליה משמעותית בעמידות לפגסוס (ערכי LC50 הגבוהים לפחות פי 10 מאוכלוסיית הביקורת) (**חלק זה יבוצע ב-2007**).

ד. הכלאות בין פרטים עמידים לרגישים על מנת לקבוע את המאפיינים הגנטיים של העמידות (מספר גנים, דומיננטיות לעומת רצסיביות) (**חלק זה יבוצע ב-2007**).

ה. אפיון המחיר הכשירתי (Fitness-cost) של פרטים עמידים. ניתן לנצל את "המחיר" אותו משלמים פרטים עמידים על מנת לעכב את קצב התפתחות העמידות (**חלק זה יבוצע ב-2007**).

ו. השוואה מולקולרית בין פרטים עמידים לרגישים למציאת סמן מולקולרי הנמצא בתאחיזה לעמידות (**חלק זה יבוצע ב-2009-2008**).

ז. פיתוח שיטה מולקולרית לניטור הגן לעמידות באוכלוסיות שדה (חלק זה יבוצע ב-2008
2009).

ח. שימוש במודל סימולציה גנטי על מנת לאמוד את קצב התפתחות העמידות בנוכחות פגסוס ואת קצב ירידת העמידות בהעדר פגסוס תוך התבססות על הידע שנאסף בסעיפים ד'-ה' (חלק זה יבוצע ב-2008).

3. שיטות וחומרים: בקיץ 2006 נערך סקר מוקדם להערכת רמת העמידות והפוטנציאל להיווצרות עמידות כנגד פגסוס באוכלוסיות שדה. המחקר התמקד בחוף הכרמל וגליל מערבי בגלל דיווחים בעבר על ירידה ביעילות החומר. נבחרו שישה שדות: שלושה שדות כותנה בקיבוץ כפר מסריק ושלושה שדות כותנה בחוף הכרמל: מעיין צבי, נחשולים, וניר עציון. בכל אחד מהשדות נאספו כ-200-500 פרטים לפני השימוש בפגסוס בשדה ולאחר ריסוס אחד בחומר, ונפתח במעבדה כלוב גידול לכל אוכלוסיה שנאספה. רמת העמידות נבדקה במעבדה בעזרת Bioassay של בוגרים המשתמש בדסקיות עלים. עלים של צמחי כותנה הוטבלו בתמיסה המכילה פגסוס בריכוז 0, 25, 50, 100 ו-200 חלקים למיליון (Part per million or ppm). מעלים אלו נחתכו דסקיות בקוטר של 3 ס"מ. 5 עלים מכל ריכוז הונחו על מצע 1% אגר בצלחת פטרי עם מכסה המכיל רשת. כ-15-20 כנימות בוגרות הוכנסו לכל צלחת. בכל Bioassay נערכו חמש חזרות על כל ריכוז ונבדקו חמישה ריכוזים כמפורט למעלה (סך-הכול 25 צלחות פטרי). ספירת מספר הפרטים החיים/מתים נערכה לאחר 72 שעות. התוצאות נותחו בעזרת POLO-PC.

Population	LC ₅₀ Diafenthiuron µg/ml	95% CI	LC ₉₅ Diafenthiuron µg/ml
B-ref	14.0	2.9 – 24.4	-
PyriS	53.95	30.4 - 71.0	
Nir-Etzyon	49.9	22.1 – 79.3	315.5
Maayan Zvi	65.1	46.7 – 82.6	
Kfar Masarik	39.2	21.5 – 58.6	285.0

טבלה 1 – סיכום ערכי LC-50 שהתקבלו עבור שתי אוכלוסיות מעבדה, אוכלוסיית B (B-ref) שנאספה ב-1987 ו אוכלוסיית Q (PyriS) שנאספה ב-1991 ואוכלוסיות שדה שנאספו בשנת 2006 לפני ואחרי ריסוס בניר עציון, מעיין צבי וכפר מסריק.

4. תוצאות הקדמיות: תוצאות ה-Bioassay מפורטים בטבלה 1. ערכי ה-LC50 היו 49.9-65.1 (95% CI 22.1-82.6) מיקרוגרם/מיליליטר בחוף הכרמל ו-LC50=39.2 (95% CI 21.5-58.9) בכפר מסריק. על פי התוצאות שהתקבלו ניתן לומר כי לא נמצאה עלייה בעמידות בעקבות טיפול בפגסוס. מכיוון שרמת עמידות דומה התקבלה באוכלוסיית מעבדה שנאספה בשנת 1991 (LC50=53.95 (95% CI 30.4-71.0) אנו מניחים כי כרגע עדיין לא מתפתחת עמידות בשדה.

אם זאת, נמצא כי בשתי אוכלוסיות (אומרזי אפק בכפר מסריק וניר עציון בחוף הכרמל) היו 10.7%-ו-13.4% פרטים, בהתאמה, המסוגלים לשרוד על 200 ppm פגסוס (טבלה 2).

Population	Mortality (%) at 200 ppm Diafenthiuron $\mu\text{g/ml}$	LC ₉₅ Diafenthiuron $\mu\text{g/ml}$
B-ref	97.9 ± 2.1	-
PyriS	85.7 ± 6.1	
Nir-Etzyon	86.6 ± 7.9	315.5
Maayan Zvi	98.8 ± 1.2	
Kfar Masarik	89.3 ± 5.2	285.0

טבלה 2 – אחוז הפרטים המתים בריכוז של 200 ppm עבור שתי אוכלוסיות מעבדה, אוכלוסיית B- B (ref) שנאספה ב-1987 ו אוכלוסיית Q (PyriS) שנאספה ב-1991 ואוכלוסיות שדה שנאספו בשנת 2006 לפני ואחרי ריסוס בניר עציון, מעיין צבי וכפר מסריק. ניתן לראות כי בניר עציון וכפר מסריק קיימים 10.7%-ו-13.4% שורדים בהתאמה.

סיכום:

- רמת העמידות לפגסוס דומה לזו שהתקבלה באוכלוסיית מעבדה שנאספה בשנת 1991.
- לא נמצאה עלייה בעמידות בעקבות טיפול בפגסוס בשדה.
- לכן, אנו מניחים כי כרגע עדיין לא מתפתחת עמידות בשדה.
- אם זאת, נמצא כי בשתי אוכלוסיות (אומרזי אפק בכפר מסריק וניר עציון בחוף הכרמל) היו 10.7%-ו-13.4% פרטים, בהתאמה, המסוגלים לשרוד על 200 מיקרוגרם/מיליליטר פגסוס. באוכלוסיות אלה סביר להניח כי קיים גן המקנה עמידות גבוהה כנגד פגסוס.
- כרגע, אנו עושים סלקציה לאוכלוסיות אלה על מנת לקבל אוכלוסיות עמידות.