

# עלון הנוטע



ALON HANOTEA مجلة البستاني

בטאון ארגון מגדלי הפירות בישראל

כוכבי החודש:

דובדבן, שזיף, אפרסק, נקטרינה, משמש

אוסף פנימי קבוע

**פירות**

דפי מידע לנוטע

# בסיס לכנות מותמרות שמבטאות גנים לרעלנים מחידקים - למניעת נזקי קפנודים

צבי מנדל, גלינה גינדין, טטיאנה קוזניצובה, אלכס פרוטסוב /  
המחלקה לאנטומוולוגיה, מינהל המחקר החקלאי  
אריה זריצקי, צבי צפירה, דן וינטל, בלה לויטין, ודים חסדן, מוניקה  
עינב / המחלקה למדעי החיים, אוניברסיטת בן-גוריון בנגב  
איתן בן-דב / המחלקה למדעי החיים, המכללה האקדמית  
אחוזה, ד.ג. שקמים  
אריאל קושמרו / המחלקה להנדסת ביטכנולוגיה, אוניברסיטת  
בן-גוריון בנגב

באופן שיבטאו רעלנים יעילים, יאפשרו הפיכתן לחסיונות לחולי הנוב-  
רים הללו. בכך יתגבש פתרון ידידותי לסביבה ולבעיית הקפנודים.

## מבוא

■ **קפנודים וחשיבותו הכלכלית:** קפנודים האבל (*Capnodis ten-*  
*ebriosis*) וקפנודים השקדים (*C. carbonaria*) מתפתחים בעצי פרי  
גלעניים (אפרסק, דובדבן, משמש, נקטרינה, שזיף ושקד) וטיפוסי  
הבר שלהם בבתי גידול מאופיינים בקיץ חם ויבש באזור המערב פא-  
לארקטי. הבוגרים חיים חודשים אחדים ולעתים אף למעלה משנה  
וניזונים תוך כירסום הסות (הקליפה החיה, הקורטקס) של הענפים.  
כ-2,000 ביצים מוטלות במהלך חיי הנקבה, כולן בקרקע, ומיד לאחר  
הבקיעה החולים חודרים לתוך השורשים ונוברים בסות של קליפת  
השורש. התפתחות החול והגולם יכולה להימשך שישה עד 14 חוד-  
שים (11). זחל בודד יכול לקטול עץ צעיר ומספר מועט של זחלים  
עלול לגרום למותו של עץ בוגר. חלק ניכר מהשטח הנוסע גלעניים  
בארץ (כ-85 אלף ד') מטופל נגד קפנודים לפחות בשלושה ריסו-  
סים ואיבוקים בשנה, בעלות של כ-5 מיליון ש"ח לכלל המגדלים. לפי  
אומדן זהיר ומזערי, בממוצע שנתי מפוזרים בישראל עשרות טונות של  
תכשירים רעילים על הקרקע וכתורת העצים להדברת קפנודים. ללא  
טיפולם נמצים הפגיעה בעצי המטע עלולה להיות קטלנית.



תמונת ארכיון

**ח** יפושית הקפנודים הינה מזיק מפתח לענף  
הגלעניים בישראל. המאמץ לשלב שיטות  
הדברה ידידותיות לסביבה נגד מזיק זה אינו  
פוסק. במאמר שלפניכם מוצגות תוצאות מחקרים שמהווים את  
הבסיס ליצירת כנות חסיונות, "רעילות" לקפנודים, שיהוו, בנפרד  
או בשילוב עם רעיונות נוספים, פתרון ידידותי לסביבה לבעיה  
קשה זו

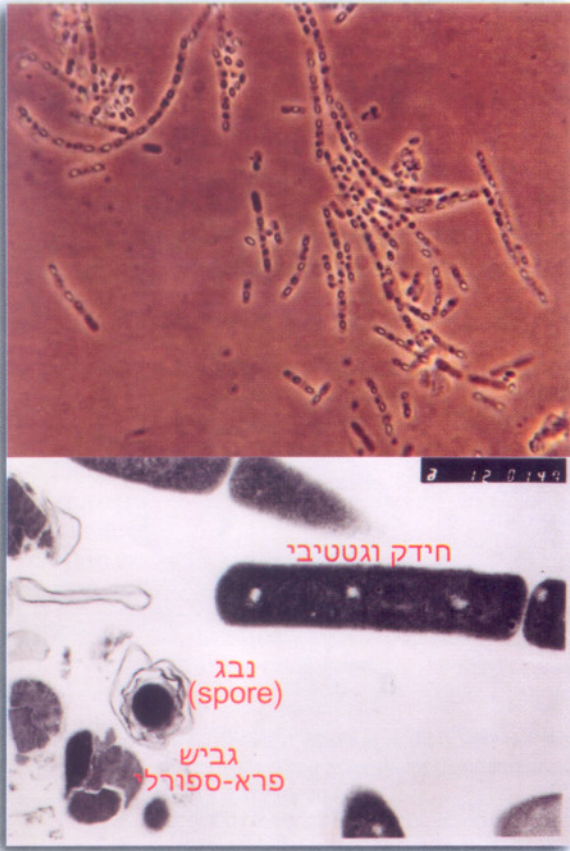
## תקציר

הקפנודים היוו מזיק מפתח לענף הגלעניים בישראל. ממשקי הד-  
ברה מקובלים נגד חיפושיות אלו אינם מוצלחים מכיוון שהתכשירים  
שקיימים אינם בררניים והזחלים נוברים ברקמת השורש ומוגנים. פת-  
רון יעיל להדברתם טמון ביצירת כנות חסיונות. תת-מינים שונים של  
חידקיי *Bacillus thuringiensis* מייצרים רעלנים נגד חרקים מקבוצת  
צות שונות, בהן חיפושיות. בחנים ביולוגיים ל-28 תבדידי שדה שבוצעו  
במעבדותינו באמצעות הטמעת החידקים במצע מזון מלאכותי גילו  
שבעה תבדידים קוטלי קפנודים. אנליזה באמצעות PCR זיהתה גנים  
אחדים (*cry*) לרעלני *Cry*. שילובים של כמה גנים כאלה בצמחי כנות,

■ **הקשיים בממשק ההדברה הקיים ותחליפיו הידודיים לסביבה:** הקושי הבסיסי שסטמן בממשק ההדברה של שני מיני הקפנודיים קשור בכך שאין להם אויבים טבעיים יעילים, כמו לרבים ממיני החרתים הנוברים בעומק שלד העץ, והעמידות הטבעית שיש בעצי הבר מבין העצים הפונדקאים חסרה במיני התרבות. הוחלים בתוך רקמת השורש מוגנים מפני קוטלי חרקים וטריפה מקרית (11). היות שרק ממשק ההדברה של הקפנודיים מתבסס ברובו על יישום של תכשיים רים חריפים ובלתי בררניים. כיום מסתמכים גם על תכשירים סיסטיים כמיון ויאוקוטיוואידים (3). מכיוון שרבים מאלה לא יורשו לשימוש מ-2014, צורפו לאחרונה לסל ההדברה תכשירים מקבוצות חדשות. ממשקי הדברה המבוססים על שימוש בפרמונים וחומרים אחרים מכווני התנהגות חרקים, או הדברה ביולוגית על גווני השונים, מהווים גישות מקובלות, ידידותיות לסביבה נגד מוזיקים בחקלאות. אולם גישות אלו בדרך כלל אינן יעילות כשמדובר במיני חיפושיות כמו ברק ויות ויקרונות, שנוברות בעומק רקמות השלד של העץ ובעיקר בשורשים. המאמץ לשלב שיטות הדברה ידידותיות לסביבה נגד קפנודיים אינו פוסק. בעשור האחרון נוסו נמסודות ופטריות אנטומו-פונגיות כאמצעי הדברה ביולוגיים נגד הוחלים, אך ההצלחה של אלו עד כה אינה רבה (6, 9). יישום נמסודות כאלו באמצעות מערכת הטפטוף (מחקר שמתבצע בראשותו של ד"ר חיים ראובני ואחרים) הוא כיוון מבטיח. הגנה אחרת על מערכת השורשים מפני הוחלים היא באמצעות כיסוי שכבת הקרקע העליונה במחסומים פיזיים (מוצג במסגרת מאמר של ראובני וחוב' בחוברת זו).

■ **כנות עמידות כפתרון לבעיית הקפנודיים:** שימוש בכנות עמידות הוא המבטיח ביותר ומהווה את הפתרון האופטימלי. הרכבת עצי פרי על כנות מיוחדות להשגת עמידות נגד גורמים ביולוגיים או פיזיקליים-כימיים בקרקע היא גישה חקלאית קלאסית, שנמצאת בשימוש נרחב בכל הקשור לעמידות של עצי פרי גלעניים לנמסודות (7). כנות שקד או כנות מכלוא עם "דם" שקד הושמו במקומות רבים והביאו להשגת עמידות מסוימת נגד קפנודיים. עמידות חלקית זו הושגה בעיקר בשל עמידות הכנה ליובש, ולא, כפי שהיה מקובל לחשוב, בשל הרמות הגבוהות יחסית של תרכובות ציאוגליקוזידיות בשורשי השקד (10). אולם, אף לא אחת מהכנות מקנה חסיונות או עמידות מספקת נגד החיפושיות בתנאי שדה. מחסום של מערכת ההגנה הפיזיולוגית (כמו הפרשת גומי) מושפע ישירות מחיוניות הצמח, ובעקיפין מתנאי בית הגידול וממשק ההשקיה. מכאן, שהעמידות "נשברת" במצבי עקה. אנו גורסים שהכיוון המבטיח למונעת נזקי חיפושיות הקפנודיים הוא פיתוח גנטי של כנות חסיונות. השגת עמידות מוחלטת מחייבת שייבוט של גנים שמבטאים רעלנים ייחודיים שיפגעו בוחלים הצעירים, הניאונטים, עם חדירתם לתוך השורש. הניאונטים הם "החוליה החלשה" במחזור החיים של הקפנודיים. הביולוגיה המולקולרית מאפשרת שילוב לתוך גנום הצמח של גנים שיבטאו את הרעלנים, ובכך יאפשרו הגנה על השורש מפני הוחלים. טכנולוגיה כזו כבר מיושמת להקניית עמידות של צמחים לחרקים ופתוגנים אחרים (4).

■ **רעלנים שמקורם בחידק *Bacillus thuringiensis* והשימוש בהם להדברה:** בדרום איטליה נעשה שימוש תדיר להדברת בגורי קפנודיים האבל בתכשירי Spinetoram (שמקורם בחידק



קבוצות שונות של Cry ועוד שלוש קבוצות מסוג Cyt. לכל אחד מהם תחום מטרה ייחודי, רבים מהם אושרו לשימוש בתכניות להדברת חרקים מזיקים מטעם ארגונים בינלאומיים שונים. למשל, השימוש בתירס ובכותנה טרנסגניים שמבטאים גנים לרעלני Cry לשם הדברת מזיקיהם מתרחב בארה"ב, ולאט יותר גם בשאר העולם.

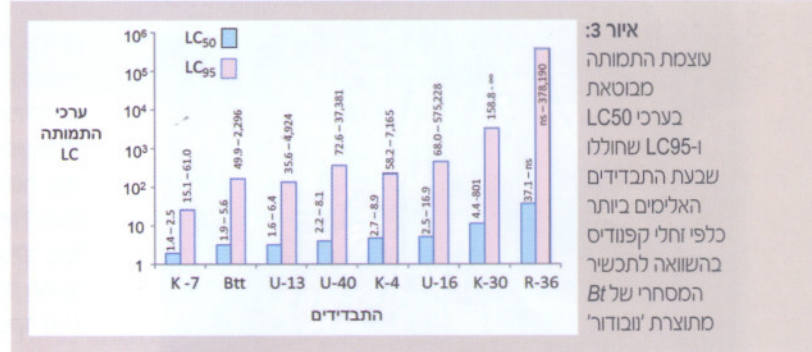
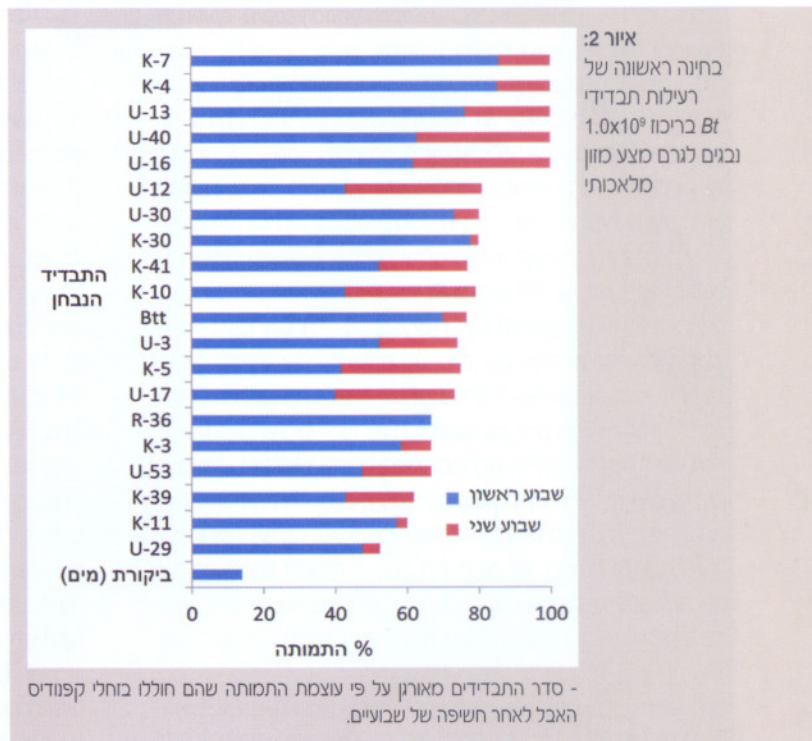
**■ חשיבותו של מצע מזון מלאכותי לשימוש ברעלנים להדברת קפודים:** הסריקה אחר מיקרו-אורגניזמים אנטומו-פתוגניים שפועלים נגד נזרים כמו מיני קפודים הייתה מוגבלת כתוצאה ממחסור בשי- טה להזנה מלאכותית של הזחלים. מצע מזון מלאכותי שפותח לפני שנים אחדות (8) מאפשר גידול של זחלים במצע בו משולבים רעלנים, וכך ניתן לבצע בחן ביולוגי (bioassay) מתאים.

מטרת המחקר הייתה להניח את הבסיס לבחינה של רגישות של זחלי קפודים לרעלנים ממקור בקטריאלי שניתן יהיה לשבטם בכ- נות. במחקר זה נמצא גם לראשונה שזחלי הקפודים רגישים לחידק *Bt* subsp. *tenebrionis* - *Btt*. חידק זה משמש להדברת חיפושית הקולורדו של תפ"א. תת מין זה זוהה גם בארה"ב תחת השם *Bt* subsp. *san Diego* ומצא פעיל נגד חיפושיות ממשפחות שונות. מידת הרגישות של מין חרק מסוים וייחודה הם פועל יוצא של סוג הרעלן וצירופים של רעלנים אחדים. בידינו למעלה מ-215 תבדידי *Bt* מרחבי העולם, כאשר כ-28 מהם גילוי (1), באמצעות PCR, גנים מכמה משפ- חות *cry*, שמבטאים רעלנים שפועלים נגד חיפושיות (2, 13).

הבסיס למחקרנו הוא בחנים ביולוגיים של תבדידים אלה שמתוכם זוהו זני *Bt* בעלי פוטנציאל להדברת קפודים. ממצאינו אלה יאפשרו תכנון מהיר ומושלם של שיבוט הגנים שמקודדים לרעלנים הפוגעים בזחלי קפודים לשם ביטויים בצמח כדי להכין כנות חסיונות. בבסיס המחקר נעוצה ההשערה שגנים נוספים עשויים להימצא בעזרת שורה חדשה ומתוחכמת יותר של תחילי DNA (פריימרים), לזיהוי גנים רלוונ- טיים שנתגלו בעשור האחרון ושרעלניהם פועלים נגד זחלי חיפושיות. במאמר זה אנו מציינים תוצאות שהושגו עד כה, ומה נדרש על מנת לייצר כנות חסיונות לקפודים.

### שיטות

**■ גידול תבדידי *Bt*, זיהוי הגבישים ובחינת הרעילות של החידקים שבודדו:** חידקי *Bt* מבודדים ונדגמים מקרקע או מדוגמאות של חר- קים שמתו מתחלואה בקטריאלית. הדגימה מודגרת במצע מזון נוזלי עשיר (LB) שמכיל M 0.25 אצטט. במצע זה מתרבים חידקים שונים, אך בשל הימצאות האצטט מתעכבת הנביטה של נבנים מקבוצת ה-*Bacillus*. הלם חום (10 דקות כ-70 מ"צ) קוטל את החידקים הווגטיביים (כלומר את אלה שמתרבים) אך לא את הנבנים. לאחר הלם החום ואספים הנבנים ונורעים מחדש על צלחות פטרי עם מצע LB מוצק ללא האצטט. לאחר בידוד מושבות החידקים וגידולן במצע שמעודד התפתחות נבנים, מתבצע מעקב אחר החידקים באמצעות מיקרוסקופ פאזה לנוכחות נבנים וגבישים פרא-ספורליים, שבדרך כלל מכילים את הרעלנים. לעתים נעשה שימוש בצביעה ספציפית לזיהוי הגבישים. לאחר גידול של תרבויות נקיות (שמכילות מין חידק יחיד) במשך שלושה-ארבעה ימים ואימות של נוכחות נבנים וגבישים נספגת התרבית ומורחפת במים, ותרחיף הנבנים והגבישים מוסף



## תוצאות

■ **רעילות של תבדידי Bt לוחלי קפודים:** כדי להצביע על תבדידי שדה בעלי גנים שעשויים לקטול את זחלי הקפודים, ניצלנו ספריה בת 215 תבדידים. מתוכם נבחרו לסקירה 28 שנראו כוללים את הגנים *cry7/cry8* (1), וזאת באמצעות אנליזות PCR בשילוב בחנים ביולוגיים. סקירה משולבת ראשונית הצביעה על 19 תבדידים ותבדידי ה-*Btt* כמתאימים, והם נבחנו ביולוגית בנפרד (איור 2).

השפעתם של שבעת התבדידים הרעילים ביותר ושל *Btt*, שמקורו במוצר מסחרי של חבר' Novodor הידוע כרעיל לוחלים של מיני חי פושיות מסוימים (12), נבחנו באופן מפורט באמצעות הוספה של ריכוזי חלבון שונים שנועו בין 0.1 ל-0.5 מ"ג חלבון כולל ב-1 ג' של מצע המזון (איור 3). הון המסחרי היחיד *Btt* (טבלה 1) מראה ערכי  $LC_{50}$  ו- $LC_{95}$  נמוכים, ואלה שמעידים על הרעילות הגבוהה ביותר הם של K-7, שהוא תבדידי השדה הרעיל ביותר שנמצא ויעילותו גבוהה באופן משמעותי מו של תת המין *Btt*. הרעילות של תבדידים פוטנטיים אחרים, U-13 ו-K-4, היו ברי השוואה לזה של *Btt*, בעוד שאלה של התבדידים R-36 ו-K-30 היו נמוכים מאוד (איור 3).

בשלב זה של המחקר נמצאו לראשונה תבדידים חדשים של *Bt* רעילים נגד זחלים צעירים של קפודים האבל ושעשויים להיות זמינים מסחרית.

ערכי התמותה (LC), המבוססים על ריכוז של 1 מ"ג חלבון בגרם מצע מזון, נקבעו לאחר שבוע של הזנה. במקרה של התבדידי R-36 לא ניתן היה לקבוע רווח בר סמך - הרשום ליד כל עמודה (CI) (איור 3). רק במקרה של התבדידי R-36 הקשר בין ריכוז התבדידי ועוצמת התמוד תה לא היה מובהק.

הזחלים ששרדו לאחר חודש הזנה במוון המכיל ריכוזים נמוכים של חידקים (0.1 ו-1 מ"ג של חלבון בג' של מצע מזון) נשקלו (טבלה 1, איור 4). משקלם הממוצע של זחלים שניזונו ממצע עם K-7 היה נמוך משמעותית ממשקלם של אלה שניזונו ממצע עם *Btt* או ללא תוספת חידקים (Anova, F = 3.07; df = 6, 148; P=0.07). משקלם של הזחלים שגדלו על U-16 (בעל רעילות ביונית) היה בינוני.

טבלה 1: שיעור ההישרדות ומשקלם (במיליגרם) של זחלי קפודים האבל על מצע שהכיל אחד משלושה תבדידים של *Bt* בהשוואה לזחלים ב-28 מ"ג

התבדידי	ריכוז החלבון (mg/g <sup>1</sup> )	שעור התמותה (%)	משקל ממוצע (מ"ג) של הזחל ± SD
K-7	0.1	40.0	70.9 ± 103.2 *x
	1.0	43.3	49.5 ± 74.5 x
U-16	0.1	13.3	56.5 ± 118.4 xy
	1.0	16.7	76.0 ± 113.5 xy
<i>Btt</i>	0.1	21.0	49.2 ± 141.4 y
	1.0	21.0	48.6 ± 135.8 y
Control	0	6.7	89.1 ± 145.4 y

\* אותיות שונות מציינות הבדל מובהק בין הממוצעים (P < 0.01).

■ **סריקה ואנליזה של גנים נוספים באמצעות PCR:** בחינת הימצאות של גנים מהקבוצות *cry* ו-*cyt* שמקודדים לרעילים בוצעה בעזרת תחילי DNA אוניברסליים וספציפיים שנבנו במיוחד למחקר זה ובעזרת ריצוף חלקי של מקטעים שהוגברו (פרטים שאינם מתוארים כאן ניתן



ציור: לאוניד פרידמן

משמאל:  
בוגר של קפודים האבל (*Capnodis tenebrionis*);  
מימין:  
בוגר של קפודים השקדים (*Capnodis carbonaria*)

למצע המזון של החרק המזיק במיהולים שונים, לקביעה כמותית של רעילותם (בחן ביולוגי).

■ **איפיון גנים שמקודדים לרעילים הרלוונטיים:** ה-DNA הגנומי מתבדידי *Bt* שבדודו כנ"ל נסרק בעזרת PCR וזוגות ייחודיים של תחילי DNA, שמוזהים נוכחות גנים שמשתייכים לקבוצות של *cry* ו-*cyt*. גנים פוטנציאליים מבודדים ומשובטים בחידקים כמו *Escherichia coli* או חידק *Bt* שאינו יוצר ספורות (*acrystalliferous*), וזאת לשם ביטוי, ניקוי ואיפיון קביעה מדויקת של רעילות, מבנה ראשוני ושיוני של החלבון ועוד. השיי בוס מאפשר להכין כל רעלן בנפרד ולבחון אותו לבד או בצירופי רעלונים שונים.

■ **אספקת זחלי קפודים לניסויים:** בוגרי קפודים שגודלו במעבדה או נאספו במטעים מוכנסים לכלובי פרספקס מאווררים, שנמצאים בתאי גידול מוארים, בטמפרטורה של 28 מ"צ במהלך החורף ובחממות מאווררות בקיץ. עופים טריים של שויף או משמש, המובאים למעבדה מחלקות מטע שאינן מטופלות בתכשירי הדברה חריפים, משמשים להזנת הבוגרים. בתוך הכלובים מונחים מגשי הטלה עם חול מסוון. הבי צים מסוננות מתוך החול ומועברות להדגרה בצלחות פטרי שנבדקות מדי יום להוצאת הניאונטים לניסויים.

■ **גידול זחלי קפודים על מצע מזון מלאכותי:** מצע המזון המלאכותי חיוני לבחינת רגישות זחלי קפודים לרעלנים הנוכחים. המצע מבוסס על סות של שורשי אפרסק או שויף עם החלבון קזאין, בתוספת שמרים ותערובת של סוכר, מלחים, ויטמינים ותכשירים אנטי-מיקרוביאליים. חומר מבנה למצע משמש צלולוז. במצע נשמר איוון קפודי של לחות ומבנה שמאפשרים את ההתפתחות התקינה של הזחלים. יש לציין שזחלים בדרגה הראשונה גדלים על קרקע מזון במרקם אחיד באחוזי לחות גבוהים, ואילו זחלים בדרגות האחרות גדלים על מצע מזון גרגרי במבנה פריך. במצעים אלה, בטמפרטורה של 28 מ"צ, התפתחות הזחלים נמשכת עשרה עד 15 שבועות עד ההתגלמות.

■ **ביצוע המבחנים הביולוגיים:** סדרה של מיהולים מתרחיפי הנוגים עם גבישי הרעלן מוספים למצע מזון מעוקר כנ"ל, לקבלת ערכי תמותה,  $LC_{50}$  ו- $LC_{90}$ , שמבוססים במונחים של ריכוז ספורות. ההבדלים מנותחים באמצעות גרסיות פרוביט. קביעת התמותה נמשכת עד ארבעה שבועות. בכל מבחן ובכל ריכוז חלבון כללי של תבדידי *Bt* שונים מוכנסים כ-30 ניאונטים לצלחות פטרי (קוטר 5 ס"מ, שלושה זחלים בכל צלחת) עם-12 ג' מצע מזון. הצלחות מודגרות ב-28 מ"צ ותמותת זחלים נקבעת מדי יום. זחלים ששרדו שבוע גודלו בנפרד באותם התנאים ובאותו מצע, אולם במבנה פריך. לאחר כחודש נקבע המשקל של אלה ששרדו.

נגד זחלי קפנוודים האבל. רעלנים דמויי Cry8 שנמצאו בעבודה זו ידועים ברעילותם נגד מספר מיני חיפושיות עלים מזיקות. שני הגנים שזוהו בעבודת מחקר זו עשויים לשמש לביטוי משותף (pyramiding expression) יחד עם גנים אחרים בגלעיניים, להקניית עמידות גבוהה וחסינות נגד זחלי קפנוודים. התוצאות שהושגו מדגימות את הרגישות הגבוהה של הזחלים לרעלנים שמקורם בתת-מינים אחדים של *Bt*. שיבוט של גנים אלה וביטויים בכנות גלעיניים מותרות עשויים להקנות לעצים המורכבים עליהן חסינות לקפנוודים ובכך לפתור את הבעיה הקשה שיוצרת קבוצת מזיקים זו לתעשיית הגלעיניים.

לכנה מהונדסת יתרון אקולוגי גם מכיוון שחלק זה של הצמח נמצא מתחת לפני הקרקע. השימוש בכנות משובטות שמקנות חסינות נגד מזיקים הולך ותופס מקום רב בחקלאות. יתרון נוסף בהינדוס הכנה, אך לא הרכב, הוא בהפחתת סיכוי הפגיעה בתכונות ההור-סיקולטוריות הרצויות מהרכב שעשויות לנבוע מאופיה האקראי של ההנדסה הגנטית. לכנה מהונדסת יתרון משמעותי נוסף בכך שהיא מאפשרת גידול של רוכב רצוי שאינו מהונדס ויצירת אבקה ופירות שאינם מהונדסים. ליתרון זה ערך בעיקר בשל ההתנגדות הציבורית לשיווק ומיסחור של חלקי צמח מהונדסים גנטית לצרכי מאכל באירופה ומדינות נוספות, וכן במינע "בריחה" של תכונות מהונדסות לעצי בר ומטעים לא מהונדסים. אנו מקווים שמחקר זה יאפשר פיתוח של תחליף איכותי לשימוש האגרסיבי בתכשירי הדברה חריפים.

## שילובי המחקר הבאים שנודרשים להשגת כנות חסינות

לדעתנו, מחקר זה יוליך לפיתוח תחליף איכותי לשימוש הנמרץ כיום בתכשירי הדברה חריפים להדברת קפנוודים, גם אם עדיין נדרש מחדק נוסף על מנת להשיג את המטרה המבוקשת. הצעד הראשון הוא קביעה של רמת פעולה שתאפשר את מידת הרעלנות הרצויה נגד קפנוודים באמצעות שילובים סינרגיסטיים שונים של רעלנים מתבדדיים רעילים, למציאת השילוב היעיל ביותר.

גנים שמקודדים לחלבונים בעלי פעילות רעלנית גבוהה נגד זחלי קפנוודים ישובטו בשלב ראשון לביטוי בפרוטופלאסטים של צמח מודל, ארבידופסיס (*Arabidopsis thaliana* - תודרנית לבנה בעברית). במקביל יתבצע מבחן נוסף באמצעות ביטוי זמני (*transient expression*) של הגנים לרעלנים בעוברי שקד. מערכות מודל אלו יאפשרו לבחון את רגישות הזחלים לרעלנים שסיונתו ואת רמת הביטוי הפתוגני נגד זחלי קפנוודים של הרעלנים ברקמת צמח (ולא רק ב-*Bt*), כבסיס לשיבוט בכנות גלעיניים. בכל אלה כבר התחלנו לעסוק לאחרונה.

להשגת השלב האחרון, שיבוט בצירוף המיטבי של הגנים לרעלנים לגנום של עץ פרי גלעיני לשם ביטוי בו ככנה, יש צורך בצירוף של צוות מחקר העוסק בטרנספורמציה גנטית של צמחים אלה. שיבוט מיטבי וביטוי משותף של מספר גנים כאירוע הנדסי יחיד מהווה אתגר טכנולוגי וביולוגי אחד. מספר הצמחים שהונדסו לביטוי מיטבי של מספר גנים הוא מצומצם יחסית, אך התפתחויות אחרונות בהבנת תהליך הטרנספורמציה של צמחים (14),

לקבל אצל המחברים).

תוצאות הסריקה של שבעה התבדדים הרעילים גילו הרכבים שונים של הגנים (טבלה 2). ב-DNA של התבדד K-7 זוהו שלושה גנים: *cry37Aa*-*cry9Ea*, *cry23Aa* ו-U-13 זוהו שילובים שונים של גנים שמשתייכים לקבוצות *cry1*, *cry2* כאשר בתבדדים K-4, K-30 ו-R-36 זוהו גנים בודדים: *cry9Ea*, *cry8Ra*-*8La*

**טבלה 2:** תוצאת סריקה של תבדדיי שדה של *Bt* באמצעות תחילים אוניברסליים לזיהוי גנים שמבטאים רעלנים לחיפושיות

משפחות הגנים וקבוצות החרקים נגדם הם פועלים	התבדדים שנבדקו							
	K-4	K-7	K-30	R-36	U-13	U-16	U-40	Btt
<i>cry1</i> - עשים						Aa, Ab, Ac, Da, Db	Aa, Ab, Ca, Da	
<i>cry2</i> - עשים וזבובים					Ab	Aa, Ab	Ab	
<i>cry3</i> - חיפושיות								Aa
<i>cry7+8</i> - חיפושיות	+	+	+	+	+	+	+	
<i>cry8</i> - חיפושיות			La	Ra				
<i>cry9</i> - חיפושיות ועשים	Ea	Ea			Ea	Aa, Ba	Ea	
<i>cry23</i> - חיפושיות		Aa						
<i>cry37</i> - חיפושיות		Aa						

- גנים שזוהו במחקר הנוכחי מצוינים ב**נופך אדום**. האחרים הם גנים שהתגלו במחקר קודם (1).  
 - התבדד המסחרי *Btt* בודד מהתכשיר ונבדד ומיוצג באמצעות נ אחד שאינו מופיע בתבדדיי השדה שנבדקו.  
 + מצוין הימצאות גנים המשוויכים לקבוצות *cry7+8*, רובם לפי שעה ללא איפון ספציפי, שלושה מהם *(cry8 La, cry8 Ra, cry9 Ea)* זוהו בכמה מהתבדדים.

## דין

קביעת הרעילות לזחלי קפנוודים של חלבונים קוטלי חרקים מהחידק *Bt* מוצגת כאן לראשונה (במקביל לדו"ח בעיתון מקצועי בתחום זה) והתאפשרה באמצעות מצע מזון מלאכותי שפותח כדי לגדל זחלי קפנוודים (8) והאוסף הזמין (1) של תבדדיי שדה של *Bt*.

רעלני *Bt* קוטלי חרקים מחולקים לשלוש רמות של רעילות: גבוהה - כאשר ערכי LC<sub>50</sub> נעים בטווח של 0.01-0.10 מיקרוגרם חלבון לגרם מצע מזון; בינונית - בטווח של 0.10-10 מיקרוגרם/ג'; נמוכה - בטווח של 10-1,000 מיקרוגרם/ג' (13). רמות הרעילות של חלבוני *Cry* שפועלים על זחלי חיפושיות בדרך כלל נמוכות מאלה נגד זחלי עשים. חלבוני *Cry* בדרך כלל נבחנים במריחה או ריסוס על משחתי עלים, בעוד שהבחנים הביולוגיים בעבודה זו שולבו בתוך מצע מזון מלאכותי. ערכי LC<sub>50</sub> בתבדדים היעילים שנמצאו במחקר זה הרבה יותר נמוכים מהמוכר - 1.9 מיקרוגרם/ג' מצע (במקרה של התבדד K-7). ערך זה נמוך בכ-40% מהערך של *Btt* באותם התנאים (3.2 מיקרוגרם/ג'). כלומר K-7 היוו תבדדי *Bt* קטלני יותר מ-*Btt* (המסחרי).

רבים מהרעלנים במחקר זה סינרגיסטיים ביניהם (13) ומראים לפעמים פעילות נגד מיני חרקים שמשתייכים לסדרות שונות. למשל, משפחת רעלני *Cry9* פועלים בעיקר נגד עשים, אולם *Cry9Da* יוצא דופן ופועל גם נגד חיפושיות ממשפחת הזבליות. יתכן שצירופים כאלה, שכוללים *cry9* (טבלה 2), תורמים לרעלניות של חמשת התבדדים

## ספרות

1. Ben-Dov et al. (1997): Appl Environ Microbiol 63: 4883-4890.
2. Ben-Dov et al. (2001): Curr Microbiol 42: 96-99.
3. Ben-Yehuda et al. (2000): Phytoparasitica 28: 27-41.
4. Betz et al. (2000): Regulatory Toxicology and Pharmacology 32: 156-173.
5. de Maagd et al. (2001): Trends Genet 17: 193-199.
6. García del Pino & Morton (2005): Biocontrol 50: 307-316.
7. Lu et al. (1998): ActaHort 465: 111-116.
8. Gindin et al. (2009): Eur J Entomol 106: 573-581.
9. Marannino et al. (2006): J Invertebr Pathol 93: 210-213.
10. Mendel et al. (2003): Annu J Entomol 96: 127-134.
11. Rivnay (1945): Bull Entomol Res. 36: 103-119.
12. Sanahuja et al. (2011): Plant Biotechnol J 9: 283-300.
13. van Frankenhuyzen et al. (2013): J Invertebr Pathol 114: 76-85.
14. Liang & Tzfira (2013): Nat Commun. 4: 2253.
15. Zeevi et al. (2013): Plant Physiol. 2012 158 : 132-144.
16. Farhi et al. (2011): Nat Biotechnol 29: 1072-1074. ■

כמו גם התפתחויות טכנולוגיות להרכבת וקטורים מרחבי גנים בארץ ובעולם, הביאו ליצירתם של צמחים מהונדסים בעלי מס' לולים מטבוליים חדשים ומבטאים מספר רב של גנים זרים (15), לשם כך אנו מנסים לשלב כוחות עם מעבדה של ה-USDA בארה"ב וחוקרים נוספים בישראל.

## הבעת תודה

אנשים וגופים שונים תומכים בביצוע המחקר בדרכים שונות - תקציב, ייעוץ מקצועי ועזרה טכנית, וללא כל אלה לא ניתן היה להשיג את התוצאות אליהן הגענו. אנו מודים לאנשי משרד המדען הראשי של משרד החקלאות, לד"ר חיים ראובני וצוות המחקר מחוות מתתיהו, לכאמל חטיב מצוות המחקר בנווה יער, לד"ר גורל קרבליו מקדם אבוקדו גל.



השקט שלך  
הדאגה שלם

סולומוביל בע"מ



\* עסק זה מוכר לצורך מס.

# פתרונות כ"א לקטיף, חקלאות, ובתי אריזה

1. ביצוע עבודות קטיף הדרים.

2. ביצוע עבודות מסיק זיתים מכני / ידני

3. ביצוע עבודות שמירה

על שטחים חקלאיים (באזור הדרום בלבד).

מייל: noam\_solo@yahoo.com נייד: 054-7766037

פקס: 08-6371373, טל': 077-2121384