الباب الرابع
الفصل الأول
إنتاج نباتات مقاومة للأمراض

الأهداف : من المتوقع فى نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على فهم وإستيعاب :

١. الطرق التقليدية للتربية للمقاومة للأمراض .
٢. التربية للمقاومة بإستعمال مزارع الأنسجة والهندسة الوراثية .
٣. عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية النبات .
٤. إنتاج نباتات مقاومة من مزارع المتوك .
٥. العمل علي زيادة المقاومة عن طريق إندماج البروتوبلاست .
٦. إدخال الـ DNA فى خلايا النبات لإحداث المقاومة .
٧. إنتاج نباتات مقاومة للفيروس وأخرى مقاومة للفطريات .

المقدمة :

أُستخدمت العديد من المواد الكيماويات فى مقاومة الأمراض الفطرية ومع ذلك عجزت عن مقاومة البكتريا والفيروسات، ونظراً لما لإستخدام الكيماويات فى المقاومة من أثار ضارة على البيئة أو نظراً لصعوبة مقاومة الأمراض بالكيماويات أونظرا لحدوث طفرات فى الكائنات الممرضة مما يجعل النبات المقاوم لكائن غير مقام وبالتالى يصبح إنتاج نباتات مقاومة للأمراض بالأساليب الحديثة أمراً لابديل عنه . وبالرغم من إستخدام تكنولوجيا الهندسة الوراثية قد بدأ حديثاً إلا أن هذا الأسلوب أصبح هاماً فى مقاومة الأمراض .

obeikandl.com

أولا : الطرق الكلاسيكية الرئيسية المستعملة فى التربية لإنتاج نباتات مقاومة للمرض :

الإنتخلب الإجمالى : وهو إنتخاب مقدار كبير من البذور من النباتات الأكثر مقاومة والتى ظلت حية فى الحقل حيث الإصابة الطبيعية تحدث بإنتظام . إنها طريقة بسيطة ولكن تحسين النبات يكون بطيئا وكذلك فإنه فى النباتات خلطية التلقيح لا يكون هناك أى تحكم بمصدر اللقاح .

الإنتخاب الفردى : وفيها تؤخذ أفراد النباتات عالية المقاومة وأجيالها ويجرى لها إكثار بصورة منفردة ويعاد حقنها لإختيار المقاومة. هذه الطريقة سهلة وأكثر فاعلية مع المحاصيل ذاتية التلقيح ولكنها صعبة تماما مع الأفراد خلطية التلقيح .

التهجين الرجعى : وفى هذه الطريقة يهجن صنف من محصول ذو صفات مرغوبة ولكنه قابل للإصابة مع صنف آخر مزروع ويحمل المقاومة لكائن ممرض معين. وبعد ذلك تختبر الأجيال للمقاومة. بعدئذ تؤخذ الأفراد المقاومة وتهجن تهجينا رجعيا مع الصنف المرغوب. وتكرر هذه العملية عدة مرات حتى تثبت المقاومة فى الأساس الوراثى للصنف المرغوب. هذه الطريقة تستغرق وقت وتختلف فاعليتها كثيرا حسب كل حالة خاصة، يمكن أن تطبق أيضا (حيث تكون أكثر سهولة إلى حد ما) فى حالة محاصيل التلقيح الخلطى أكثر منه فى محاصيل التلقيح الذاتى .

استعمال الطفرات : إن إستعمال الطفرات الطبيعية أو الصناعية بواسطة أشعة X أو الأشعة فوق البنفسجية التى تبين زيادة المقاومة وكذلك تغير عدد الكروموسومات فى النبات وإنتاج متضاعفات المجموعة الكروموسومات (n6 ، 4n) أو ثنائى مجموعة الكروموسومات لكن تنقص أو تزيد واحدا أو أثنين من الكروموسومات عن طريق استعمال الكيماويات مثل الكولشيسين أو الإشعاع فيمكن إستعمال النباتات المقاومة الناتجة من إستعمال المطفرات .

ثانيا - التربية للمقاومة باستعمال طرق مزارع الأنسجة و الهندسة الوراثية :

تشمل طرق مزارع الأنسجة على مزارع الكالوس، مزارع الخلايا المفردة، إكثار القمم المرستيمية، إنتاج نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية، عزل

وزراعة ونقل ودمج البروتوبلاستات وإعادة إكثارها إلى أن تصل إلى نباتات كامله كل هذه الطرق المتنوعة تعمل على الإختلافات فى العديد من الصفات التى تتضمن صفات المقاومة للأمراض النباتية . أما ما يتعلق بتكنولوجيا (الهندسة الوراثية) فإن طرق الهندسة الوراثية تسمح بإكتشاف وعزل وتحوير ونقل وإظهار القدرة الوراثية للجينات المفردة أو مجموعة من الجينات المتقاربة من كائن حى إلى أخر حيث يمكن نقل الجينات الخاصة بالمقاومة من كائن إلى أخر .

١- مزارع الأنسجة النباتية المقاومة للمرض :

إن مزارع الانسجة للنباتات المقاومة للمرض تكون مفيدة بشكل خاص فى حالة النباتات التى تتكاثر لاجنسى حيث يتم إنتاج أصول خالية من الكائن الممرض فى النباتات التى تتكاثر خضريا (وسائل تكاثر لاجنسى) والقابلة للإصابة .

فإنتاج نباتات خالية من مسببات الأمراض خاصة الفيروسية منها :-

Production of pathogens [mainly virus] - free plants

من المعروف أن بعض النباتات التى يتم إكثارها خضرياً تكون عرضة للإصابة بالأمراض الفيروسية والتي تنتقل من خلال وسائل الإكثار ومن أهم الأمثلة:- البطاطس، الثوم، الفراولة، التفاح، الموز، القصب، وغيرهما . لذلك فمن خلال مزارع الأنسجة يتمم زراعة جزء صغير جداً ٠,٢ - ٠,٥ ملليمتر . هذا الجزء غالباً خالي من الفيروس حتى في النباتات المصابة بالفيروس لعدم احتوائه علي أوعية vesseless وبطئ حركة الفيروس في المنطقة النشطة . النباتات الناتجة من هذا الجزء هي نباتات خالية من مسببات الأمراض وبذلك يمكن توفير ملايين الدولارات التي تستخدم في إستيراد شتلات من مناطق باردة حيث لا ينمو الفيروس.

٢- عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية نبات :

إن النباتات التي يعاد تخليقها من مزرعة (كالوس، خلايا مفردة أو بروتوبلاست) كثيراً ما تُظهر تنوعات كبيرة (تنوع جسمى وليس جنسى) معظمها لا فائدة منها أو ضارة، ومع ذلك فإن النباتات ذات الصفات المفيدة يمكن أن تظهر أيضا، فمثلا عندما أعيد تخليق النباتات من بروتوبلاست ورقة بطاطس صنف قابل للإصابه بالفطرين *Phytophthora infestans* والفطر

Alternaria solani، بعضاً من هذه النباتات كانت مقاومة للفطر *Alternaria solani* وكانت مجموعة أخرى مقاومه للفطر *Phytophthora infestans* وبالمثل في النباتات التى حصل عليها من مزارع نسيج قصب السكر أظهرت زيادة في المقاومة للمرض المتسبب عن كل فطر *Helminthosportium* و الفطر *Ustilago* .

٣- إنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية مقاومة من نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية :

إن زراعة حبوب اللقاح على بيئة غذائية تنمو إلى نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية حيث يكون كل جين موجود بحالة فردية و بتقنية مناسبة للمقاومة للمرض، يمكن أن تختار معظم النباتات الأحادية المجموعة الكروموسوميه وذات المقاومة العالية للمرض. هذه النباتات يمكن فيما بعد أن تعامل بالكولشيسين والذى يؤدى إلى تضاعف الأنوية حيث يعمل على منع تكوين خيوط المغزل وهذا يعنى مضاعفة عدد الكروموسومات وإنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسوميه متماثلة الزيجوت لجميع الجينات بما فيها جينات المقاومة .

٤- نقل جينات المقاومة إلى العوائل الغير متوافقة جنسيا باندماج البروتوبلاست :

عند خلط البروتوبلاست المتحصل عليه المأخوذ من أنواع نباتية بينها أو ليست بينها صلة قرابة فإن البروتوبلاستات تندمج مع بروتوبلاستات أخرى من نفس النوع أو أنواع أخرى، هذا ما يسمى التهجين الجسمى Somatic hybridization فإن هذه الهجن تظهر إختلافا واسعاً نتيجة لإتحادات النواة والـ DNA السيتوبلازمى (خصوصا DNA الميتوكوندريا) أما DNA البلاستيدات الخضراء فإنه يبقى نوعا واحداً فقط.إجراء الدمج للبروتوبلاست ضمن نفس الجنس أو بين أجناس متقاربة يؤدى إلى تكوين هجن تكون أكثر قابلية للحياة بعكس إذا حدث الدمج بين أنواع بعيدة القرابة، فإن هذه الهجن الجسمية لاتنمو أوتكون عقيمة وتكون هذه الهجن ذات أهمية كبرى فى أمراض النبات إذا إحتوت هذه الهجن على المجموعة الكروموسومية لأحد الآباء بالإضافة إلى أجزاء من المجموعة الكروموسومية التى قد تحتوى على جينات المقاومة من الأب الآخر ضد أحد الكائنات الممرضة. إن دمج البروتوبلاست يكون نافعا بشكل خاص بين بروتوبلاستات من طرز نباتية مختلفة عالية المقاومة للمرض من نفس الصنف أو النوع. إن الدمج البروتوبلاستى

لمثل هذه الطرز يؤدى إلى إنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية والتى تضم جينات المقاومة من كلا الطرازين عالية المقاومة وبالتالى يمكن الإنتخاب لهذه النباتات المقاومة .

٥- التحول الوراثى فى خلايا النبات لمقاومة المرض :

يمكن إدخال المادة الوراثية الـ DNA فى خلايا النبات أو البروتوبلاست بعدة طرق . من هذه الطرق :

١. امتصاص الـ DNA مباشرة .
٢. الحقن الدقيق با لـ DNA. .
٣. إدخال الـDNA مغلفاً باللايبوسوم (وهى حويصلة دهنية تتكون من خلط الفوسفوليبيدات بالماء يمكنها إحتواء الـDNA وإدخاله إلى الخلايا) .
٤. إدخال الـ DNA بواسطة قاذف الجينات Gene Gun .
٥. إستعمال بعض الفيروسات كعوامل نقل للنبات .
٦. إستخدام بكتريا الـ*Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجى كوسيلة لنقل الـDNA للنبات عن طريق بلازميد Ti plasmed المحمل بالـ DNA المرغوب نقله كوسيلة للتحول الوراثى إستخدمت فى كثير من النباتات وتعتبر من أفضل طرق التحول الوراثى حتى الأن .

كل هذه الطرق تدخل فى خلايا أو بروتوبلاست النبات قطعا صغيرة أو كبيرة من الـ DNA يمكن أو لا يمكن لها أن تندمج فى الـ DNA الكروموسومى للنبات أو أنه يندمج مع جينات أخرى منتظمة على طول كروموسومات النبات. عندئذ فإن الـ DNA يظهر تعبيرة الجينى يعنى أنه ينسخ إلى mRNA الرسول وهذا عندئذ يترجم إلى بروتين .

يعتبر نظام *Agrobacterium* من أنجح النظم التى أستعملت بنجاح لإدخال جينات جديدة متخصصة إلى النباتات تظهر تأثيرها بواسطة النبات. حيث قاموا بعزل جينات خاصة ببروتينات تعمل على المقاومة الحيوية لمدى كبير من الآفات الحشرية وأستخدموا بكتريا *A. tumefaciens* فى إيلاج هذه الجينات فى كل من

الطماطم والبطاطس والقطن .حيث وصلت هذه الجينات المنطقة الملائمة من البلازميد المحدث للورم Ti-plasmid للبكتريا *Agrobacterium* بعد ذلك يُسمح للبكتريا أن تصيب هذه النباتات . بعد الإصابه بالبلازميد المحتوى على الجين الجديد ينقل إلى خلية النبات ويلتحم مع جينات النبات الجديد (مجموعة العوامل الوراثية). حيث يتضاعف الجين الجديد خلال إنقسام خلية النبات ويظهر أثره مع جينات النبات الأخرى .

نتيجة لإستخدام الطرق الحديثة مثل زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية (التكنولوجيا الحيوية) فىمقاومة الأمراض النباتية تحسنت كمية ونوعية المحصول تحسناً كبيراً عما كانت عليه فى الماضى. ومع ذلك فإن المحاصيل المحسنة مازالت مهددة بالعديد من الأمراض بل أنها أصبحت مرتعاً خصباً للعديد منها مقارنة بالنباتات البرية لإستمرار الإنتخاب لصفات معينة (مثل كمية ونوعية المحصول) بدرجة أكبر من الإنتخاب لمقاومة هذه الأمراض .

ومع ظهور تقنيات الهندسة الوراثية وإمكانية نقل الجينات من كائن لآخر وتطور علم الفيرولوجي وإستخدامه فى دراسة جينوم الفيروسات، فقد أدى ذلك الى ظهور إستراتيجيات مختلفة لإنتاج نباتات مقاومة للفيروس والتي منها نقل جين الغلاف البروتينى Coat protein (cp) gene الخاص بالفيروس إلى النبات .وسوف نستعرض بعض الأبحاث ليتعرف عليها القارىء .

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية :

أولاً : كلونة الجينات المسئولة عن إنتاج بروتينات أغلفة الفيروسات (virus coat protein genes) والمعزولة من هذه الفيروسات .

١- البطاطس المقاوم للفيروس :

تم تعديل عدة أصناف من البطاطس لمقاومة فيروس إلتفاف أوراق البطاطس PLRV وفيروس PVY وذلك بإستخدام التكنولوجيا الحيوية، حيث تؤدى زراعة تلك الأصناف المقاومة للفيروسات إلى تقليل إستخدام مبيدات الحشرات والتى نحتاج إلى إستخدامها لمكافحة الحشرات التى تنقل الفيروسات . هذا الصنف متوفر ومصرح به كغذاء فى كل من أستراليا وكندا والولايات المتحدة الامريكية .

وغالبًا مايستخدم مع جين بروتين غلاف الفيروس محفز قوى (strong promoter) ويتم النقل الجينى عن طريق الأجروبكتريم .

حيث نقلت قطعة الـDNA التى تحتوى على التتابع الجينى المشفر لبروتين غلاف فيروس إكس potato virus X-PVX إلى الأصناف التجارية عن طريق الأجروبكتريم. وأجرى إختبار للنباتات المحولة الناتجة لدراسة تعبير هذا الجين للمقاومة، فأظهرت النباتات المحولة قدراً كبيراً من المقاومة فى معمل زراعة الأنسجة، وعند إكثارها ثم أختبارها لمقاومة الفيروس فأظهرت نفس درجة المقاومة التى أظهرتها أثناء الإختبارات فى معمل زراعة الأنسجة. وأُجرى إختبار المقاومة للفيروس على نباتات ناتجة من عيون درنات نباتات بطاطس محولة وأظهرت هذه النباتات أيضاً مقاومة للفيروس .

وأظهر تحليل الدرنات والأوراق من النباتات الخالية من الفيروسات (virus free plants) تعبيراً ثابتاً (stable expression) للجينات المشفرة لبروتين غلاف الفيروس طوال موسم النمو. وبمقارنة النباتات المحولة بنباتات المقارنة وجد أن فيروس إلتفاف أوراق البطاطس (potato leaf roll virus-PLRV) يتراكم بدرجة أقل فى النباتات المحولة عن نباتات المقارنة أمكن بعد ذلك نقل جينات بروتين الغلاف للعديد من أنواع الفيروسات إلى نباتات مختلفة ولقد أظهرت النباتات المحولة مقاومة للفيروسات التى تم إليها نقل جين الغلاف البروتينى .

٢- البابار المقاوم للفيروس :

يحتوى بابار هاواى المطور على جين الغلاف البروتينى لفيروس PRSV ، لذا يعطى هذا البروتين حماية داخلية لنبات البابار ضد هذا الفيروس، ويعمل هذا الصنف المحور من البابار بشكل مشابه لصنف البطاطس المقاوم للفيروس . متوفر ومصرح به كغذاء فى الولايات المتحدة الامريكية .

٣- إنتاج قرعيات مقاومة للفيروسات :

تم إنتاج كوسة "صنف إسكندرانى" معدلة وراثيا لمقاومة فيروس التبرقش الزوكينى الأصفر (ZYMV) كما تم التوصل إلى أفضل الطرق لإجراء التعديل الوراثى لكل من الشمام والخيار والبطيخ، ويتم حالياً تقييم تلك النباتات المعدلة وراثيا لمقاومة فيروس (ZYMV) .

- طريقة إنتاج نباتات كوسة مقاومة للفيروسات :

يعتبر فيروس التبرقش الأصفر الزوكيني (ZYMV) من أخطر الفيروسات التي تصيب نباتات العائلة القرعية وخاصة نبات الكوسة حيث يؤثر على إنتاجية هذه المحاصيل بنسبة تتراوح ما بين ٤٠-٨٠% مما يهدد المساحة المنزرعة بأصناف الكوسة والتى تقدر بمائة الف فدان وفقا للإحصائيات، ولهذا الفيروس عدة سلالات أكثرها خطورة هى السلالة المصرية. ومن المعروف أن مقاومة هذا الفيروس الخطير بالطرق التقليدية قد ثبت عدم فاعليتها فى الحد من خطورته وإنتشاره .

وقد إستطاع الفريق البحثى فى "معمل نقل الجينات GTL " بمعهد بحوث الهندسة الوراثية الزراعية AGERI ، التابع لمركز البحوث الزراعية، إنتاج نباتات كوسة مقاومة لفيروس ZYMV وذلك بإستخدام إستراتيجية جين الغلاف البروتينى cp gene .

تم عزل جينوم الفيروس الخاص بالسلالة المصرية (ZYMV-Eg isolate) وكلونة الجين المسئول عن إنتاج الغلاف البروتينى لإدخاله فى نباتات الكوسة . تلى ذلك نقل هذا الجين إلى نباتات الكوسة لإنتاج نباتات معدلة وراثيا Transgenic plants ثم التأكد من وجود وتعبير الجين داخل النباتات الناتجة وذلك بإجراء إختبارات معملية متخصصة مثل PCR كإختبار جزيئى، و ELISA كإختبار سيرولوجى. بعد ذلك تم تقييم مدى مقاومة تلك النباتات لفيروس (ZYMV) تحت ظروف الصوب البلاستيكية وذلك بإحداث عدوى ميكانيكية بإستخدام العصير المستخلص من نباتات مصابة بالسلالة المصرية من الفيروس، مع إنتخاب أفضل النباتات من حيث درجة المقاومة للفيروس وصفات جودة الثمار. وقد تم إختيار النباتات الأكثر تحملا للإصابة الفيروسية لتقييمها تحت ظروف الحقل المفتوح لمدة جيلين متتاليين، وشمل التقييم مدى قدرة النباتات على مقاومة فيروس (ZYMV)

حيث تأخر ظهور الأعراض المميزة للفيروس بعد فترة تراوحت بين ١٠ إلى ١٣ أسبوع من الزراعة، وكانت أعلى نسبة إصابة بالفيروس ٤ -٨% فى النباتات المعدلة وراثيا ، بينما كانت ٦٠-٨٠% فى النباتات غير معدلة وراثيا، كما تم تقييم الخواص البستانية للنباتات من حيث جودة الثمار ومدى ملائمتها لعملية التسويق وجدير بالذكر أن تلك التجارب المعملية والحقلية لإنتاج نباتات كوسة معدلة وراثيا مقاومة لفيروس التبرقش الاصفر الزوكينى قد بدأت منذ عام ١٩٩٤ وهى لازالت مستمرة حتى الآن ، وهى مدة كافية للتأكد من ثبات صفة مقاومة تلك النباتات للفيروس. وحاليا يتم إجراء إختبارات أخرى على تلك النباتات تتعلق بسلامة الغذاء وتأثيره على البيئة وذلك فى معامل متخصصة، يلى ذلك عرض نتائج تلك الإختبارات على لجنة الأمان الحيوى لتقرر مدى صلاحية أصناف الكوسة المعدلة وراثيا للتداول والتسويق .

٤- إنتاج طماطم مقاومة للفيروسات :

يجرى العمل على إنتاج نباتات طماطم مقاومة للفيروسات خاصة " فيروسات الجيمينى " Gemini viruses ، والتى تنتقل عن طريق الذبابة البيضاء، وقد تم نقل جين يسبب موت الخلايا النباتية التى يحدث بها العدوى فقط ويمنع أو يحد من إنتشار الفيروس إلى باقى خلايا النبات. وقد أظهرت نباتات الطماطم المعدلة وراثيا بهذه الطريقة مقاومة للفيروس تحت ظروف العدوى الصناعية داخل الصوب .

٥- إنتاج نباتات موز معدلة وراثيا :

إنتاج نباتات موز معدلة وراثيا تحتوى على جين الغلاف البروتينى لكل من الفيروسات التالية :

- فيروس الـBBTV والذي يسبب مرض تورد القمة في الموز (BBTD) .
- فيروس الموزيك في الموز(Banana-CMV) والذى يسبب مرض الموزيك فى الموز (BMD) .

حيث تم جمع عينات من نباتات موز بها أعراض الإصابة بأمراض تورد القمة والموزيك، ثم التأكد من وجود تلك الفيروسات بإستخدام سيرم مضاد متخصص لهما بإستخدام تقنية إليزا ELISA .

تم عزل جينات الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين (BBTV & Banana-CMV) وذلك بإستخدام إحدى تقنيات البيولوجيا الجزيئية وهى PCR و RT-PCR .

تمت عملية الكلونة للجينات موضع الدراسة كل على حده فى إحدى البلازميدات وإدخالها في بكتريا القولون E. coli ، ثم عُزل الحمض النووى للبلازميدات ودُرس التتابع النيوكليوتيدى لتلك الجينات موضع الدراسة .

بعد التأكد من التعبير الجينى لتلك الجينات فى البكتريا، تم عمل كلونة بإستخدام ناقل التعبير النباتى حتى تكون الجينات قادرة على التعبير عن نفسها داخل خلايا نباتات الموز .

تم تأسيس نظام التحول الوراثى لصنف الموز وليامز بإستخدام تقنية القذف الجينى فى وجود جينات معلمة سمية بالعوامل المخبِرة Reportergenes ومنها جينات الـ gus و bar التى تعطى تعبيراً مميزاً يدلل على نجاح عملية التحول الوراثى .

تم إدخال جينات الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين بصورة منفصلة فى صنف الموز وليامز وإستكمال خطوات إعادة التمايز للحصول على نباتات كاملة ثم أقلمتها تحت ظروف الصوب .

تم الكشف عن وجود وتعبير الجينات موضع الدراسة باستخدام تقنيات الـ PCR و ELISA و Western blot .

بعد التأكد من نجاح التعبير الجينى لجين الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين داخل خلايا نباتات الموز المعدلة وراثيا، يتم حالياً تقييم قدرة تلك النباتات على مقاومة الفيروسات موضع الدراسة- فى حقل منعزل Contained field trail وفى وجود نباتات غير معدلة وراثيا ومصابة بهذه الفيروسات (كمصدر للإصابة الفيروسية) بجانب عدم إستخدام أى مبيدات لمقاومة الحشرات الناقلة لتلك الفيروسات .

ثانياً : عن طريق إنتاج الـRNA التابع :

Satellite RNA

وجد أن بعض سلالات الفيروسات تنتج RNA تابعا أو ملحقاً يقلل من حدة أعراض الإصابة بالفيروسات. ويمكن إنتاج هذا الـ RNA وذلك بنقل الـ DNA المسئول عن هذا الـRNA فى النبات حيث يتم نسخ الـDNA فى النبات فينتج الـRNA فى النباتات المحولة وتصبح مقاومة لبعض الفيروسات. وكان أول إستخدام لهذا الإسلوب مع الـRNA الخاص بالسلالة $I_{17}N$ من فيروس موزايك القرنبيط وذلك لإنتاج نباتات دخان محولة ومقاومة للفيروسات. وعندما أظهرت نباتات الدخان المحولة التعبير الجينى لإنتاج هذا الـRNA وأمكنها إنتاج كمية كبيرة منه قلت كثيراً أعراض الإصابة بمرض الموزايك، ومن ناحية أخرى لايوجد أى تأثير الـRNA الملحق لفيروس الطماطم الأسبرمى (tomato aspermy virus-TAV) على حدة الإصابة به أو الإصابة بأنواع أخرى من الفيروسات. ففيها أظهر تعبير هذا الـRNA لفيروس موزايك القرنبيط فعالية فى إختبارات الحقل والصوبة الزجاجية فى نباتات الفلفل والدخان والطماطم. كذلك تميزت نباتات الطماطم التى أظهرت تعبير جينات الـRNA الملحق بمقاومة للأمراض الفيروسية .

ثالثاً : إنتاج جزيئات الـRNA المعوقة :

RNA defective

تعتمد هذه التقنية على إنتاج جزيئات الـRNA المعوقة (RNA defective) وهى عبارة عن أشكال من المادة الوراثية لبعض أنواع الفيروسات يمكنها أن تسبب إضطراباً فى عملية تضاعف الفيروسات. وأياً كان مصدر الجين المنتج للـRNA المعوقة (طبيعياً أوصناعياً) فإنه يكون فعالاً فى الدفع لمقاومة الفيروسات بواسطة النباتات المحولة بها .

ولقد أمكن إنتاج الـRNA المعوقة لثلاثة فيروسات تشمل كل من فيروس شجيرة الطماطم المتقزمة (tomato bushy stunt virus-TBSV) وفيروس البقع المستديرة فى السيمبديم (cymbidium ring spot virus-CyRSV) وفيروس تجعد اللفت (turnip crinkle virus-TCV) بعد إجراء التحوير الوراثى فربما تتغير الصفات الأخرى للأصناف الزراعية بسبب التباينات الجسمية التى تحدث خلال

مرحلة زراعة الأنسجة أو تأثير الجينات المنقولة على تعبيرات الجينات الأخرى (endogenous gene expression). لذلك يجب إجراء إختبارات على النباتات المحولة من حيث خصائصها المورفولوجية والمحصولية. ومن المهم جداً المحافظة على الخصائص الإقتصادية الأخرى للنباتات المحولة خلال نقل الجينات. كذلك تميزت نباتات الطماطم التى أظهرت تعبير جينات الـRNA الملحق بمقاومتها للأمراض الفيروسية .

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفطرية :

تعتمد الحماية الطبيعية للنباتات ضد العدوى أو الإصابة بالكائنات الدقيقة المسببة للأمراض على أساليب متعددة يرتكز معظمها على تنشيط جينات معينة للدفاع ضد هذه الإصابة. وينتج عن تنشيط مثل هذه الجينات تغيرات طبيعية فى النبات العائل تسمح بأن يكون أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى .

من بين هذه التغيرات ما يؤثر على خصائص الجدار الخلوى (cell wall) مثل تراكم الجلايكوبروتين الغنى فى الهيدروكسى برولين (hydroxyproline-rich glycoproteins) . وتراكم اللجنين والسوبرين (lignification and suberization) فى الجدار الخلوى وتكون الكلّس وتجمع المركبات الفينولية حيث وجد أن لكل ذلك دور فى صفة المقاومة .

دور الفينولات فى المقاومة :

- تتحد الفينولات مع البروتينات وتكون التانينات وهى سامة للمسببات المرضية
- حرمان الفطر من البروتينات .
- فصل الأكسدة عن الفسفرة وبالتالى حرمان الفطر من الطاقة .
- تثبيط الأنزيمات المفرزة من الفطر .
- عند أكسدة المواد الفينولية تتحول إلى كيتونات وهى سامة للفطر.
- تدخل فى تكوين اللجنين.

دور اللجنين فى المقاومة :

- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد إختراق الخلايا.
- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد أنزيمات المسبب المرضى والتوكسينات.
- عمليات تكون اللجنين سامة للممرضات.
- عند إختراق هيفا الفطر يحدث لها لجننة.
- تكوين البروتينات المسؤولة عن المقاومة PR – Protein

تكوين الإنزيمات المسئولة عن المقاومة مثل : الشيتينيز – الجلوكانيز – البيروكسيديز .

حيث أن المكون الأساسي لجدر خلايا الفطريات تتكون من الشيتين أو الجلوكان كما يلى :

- العائلة الاسكية البازيدية الناقصة تتكون الجدر الخلوية لها من الشيتين والجلوكان .
- العائلة البيضية يتكون من الجلوكان و السيلولوز .
- العائلة الزيجية يتكون من الشيتين و الشيتوزان .

أما البيروكسيديز فهو يدخل فى تكوين لجنين جدر الخلايا النباتية :

تخليق وتراكم الفيتوأليكسينات (phytoalexins) :

من بين التغيرات البيوكيماوية التى تجعل النبات أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى تخليق وتراكم الفيتوأليكسينات (phytoalexins) وذلك للأسباب التالية :

- هى مواد سامة تتكون من النبات نتيجة الإصابة .
- توجد فى النبات المصاب ولا توجد فى النبات السليم .
- يختلف النبات المقاوم عن القابل للإصابة فى سرعة التكوين وكمية المادة المتكونة منها .

دور PR-Proteins في المقاومة :

يستطيع النبات طبيعياً أن يزيد من تركيز بروتينات معينة مثل (pathogenic – related proteins) (PR – proteins) وذلك إستجابةً لهجوم المسبب المرضى والتى يظهر بعضها فعلاً مضاداً للعديد من الفطريات (antifungal activity) ومع أن الدور المحدد لهذه البروتينات فى الإستجابة الدفاعية للنبات ليس معروفاً فإن وجودها يرتبط بمقاومة الأمراض الفطرية. ويعتمد أسلوب إنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات على تعبير جينات تشفر لبروتين مضاد للفطريات ويجب ألا يؤثر ناتج هذه الجينات عكسياً على النبات. فمثلاً تدخل عملية تخليق الفينايل بروبانويد (phenylpropanoid) فى عمليات التمثيل فى النبات وعند إعاقة مسار تخليقه قد تكون النتيجة عكسية على نمو النبات مما قد يؤدى فى النهاية إلى موته. وبالإضافة للكايتينيز والجلوكانيز توجد سلسلة إنزيمية لها فعل هدمى فى مسار الفينايل بروبانويد (phenylpropanoid pathway) والتى يظهر زيادة فى نشاطها خلال الإستجابة الدفاعية للفطريات .

ولقد تم إثبات خاصية تضاد الفطريات (antifungal property) للكايتينيز النباتى فى الكثير من التجارب. فمثلاً وجد أن الكايتينيز المعزول من نبات الفول يثبط نمو فطر السابروفيت (saprophyte) تريكوديرما فيريد (Trichoderma viride) . ولقد أمكن عزل ووصف الجين المشفر لإنزيم الكايتينيز. كما تم عزل الجينات المشفرة والإنزيمات المحللة المضادة للفطريات (antifungal hydrolyses) من نبات الدخان ونقلها إلى نبات الطماطم ليظهر فيها نفس التعبير للجينات المشفرة لإنزيمات الكايتينيز والجلوكانيز (chitinases and β – 1,3-glucanases). وأظهرت هذه النباتات مقاومة للمرض الذى يسببه الفطر فيوزاريم أوكسيسبورام (Fusarium oxysporum) ذو الأهمية الإقتصادية.وسوف نستعرض بعض النباتات المقاومة للفطريات .

إنتاج أصناف أرز معدل وراثيا مقاوم لمرض اللفحة :

تعد مصر من الدول القليلة التى تنتج محصولا عاليا من الأرز، وتنتمى أغلب أصناف الأرز المصرى الى Oryza sativa، ويزرع فى مصر سنويا 1.2 مليون فدان، يعطى محصولا يقدر بحوالى 3.5 مليون طن، ويقدرإجمالى الدخل القومى من الأرز بحوالى 801.5 مليون جنيه سنويا. ويتعرض محصول الأرز فى مصر

للإصابة بمرض لفحة الأرز Rice blast الذى يسببه الفطر Pyricularia grisea محدثا إصابات شديدة تؤثر على إنتاجية المحصول، وبالرغم من إنتاج أصناف مقاومة لفطر لفحة الأرز بطرق التربية التقليدية، وإستخدام المبيدات المكافحة للفطر، إلا أن مقاومة هذا الفطر مازالت تمثل مشكلة خطيرة نظرا لقدرته العالية على التغيير .

لذلك كانت هناك حاجة ملحة لتطوير إستراتيجية جديدة لمقاومة هذا الفطر وتتمثل فى إنتاج أصناف من الأرز مهندسة وراثيا مقاومة لفطر لفحة الأرز وذلك من خلال :

١. التعرف على بروتينات دفاعية مقاومة للفطر من نباتات لها القدرة على تثبيط نمو الفطر تتبع عائلة الكايتينيز Chitinase .

٢. عزل جين بروتين الكايتينيز Chitinase gene المقاوم للفطر من أصناف الأرز الناتجة وكلونته .

٣. انتاج بروتين الكايتينيز فى البكتيريا وتنقيته لإجراء إختبارات السمية معمليا على بيئة صناعية لمعرفة قدرته على مقاومة فطر لفحة الأرز .

٤. نقل وتعبير هذا الجين فى أجزاء نباتية لأصناف الأرز المصرية لإنتاج أصناف مقاومة لمرض لفحة الأرز .

٥. إعادة التمايز للأجزاء النباتية المهندسة وراثيا الحاملة للجين والإختبار نشاط هذا الجين وقدرته على مقاومة الفطر، ومقارنة نشاطه بنشاط بروتين الكايتينيز .

٦. بعد التأكد من نشاط بروتين الكايتينيز ومقاومته للفطرفى أصناف الأرز المعدله وراثيا يتم اكثار النباتات بطرق زراعة الأنسجة .

٧. بعد نجاح التجارب والإختبارات معمليا وداخل الصوب، يستعد حاليا الباحثون لإجراء الإختبارات الحقلية .

٨. تخضع التجارب والأبحاث المتعلقة بالتكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية فى المعامل وداخل الصوب أو عند إجراء الإختبارت الحقلية إلى تطبيق "القواعد الارشادية" االتى أقرتها لجنة الأمان الحيوى، وهى اللجنة المسئولة عن تقييم

المحاصيل المعدلة وراثيا ومعرفة مدى تأثيرها على كل من الانسان والحيوان والبيئة من خلال تقييمها لإختبارات معملية متخصصة يتم إجراؤها على تلك المحاصيل، كما تقوم اللجنة بالتصديق على تلك المحاصيل بعد التأكد من سلامتها وتصرح بتداولها فى الأسواق .

الخلاصة :

تستعمل الطرق التقليدية لإنتاج نباتات مقاومة مثل الإنتخاب الاجمالى والفردى والتهجين الرجعى وإستحداث الطفرات . ونظرا للتقدم الحادث في مجال التكنولوجيا الحيوية فإنها تستعمل فى محاولة لإيجاد نباتات مقاومة للكائنات الممرضة ..ففى مجال زراعة الأنسجة تم عزل نباتات مقاومة من مزارع الخلية، مزارع المتوك ومزارع البروتوبلاست كما تستخدم الهندسة الوراثية عن طريق التحول الوراثى بإدماج الـ DNA لنبات مقاوم في أخر مصاب كما تستخدم الجينات المسئولة عن بروتين أغلفة الفيروس، إنتاج ال RNA التابع ، إنتاج RNA المعوقة وإستخدام بروتينات دفاعية للفطريات لانتاج نباتات مقاومة .

الأسئلة :

١. تكلم عن الطرق التقليدية للتربية للمقاومة للأمراض ؟

٢. ما أهمية زراعة الأنسجة فى إنتاج نباتات مقاومة –أذكر بعض النباتات المقاومة ؟

٣. ما دور الهند سة الوراثية فى إنتاج نباتات مقاومة لأمراض ؟

٤. أذكر أهم الميكروبات التى تستخدم فى عملية نقل الـ DNA ؟

٥. كيف يمكنك إنتاج نباتات مقاومة للفيروس وأخر مقاوم للفطر ؟

أجب بنعم أم لا مع التعليل :

١. إنتاج نباتات مقاومة محولة وراثيا أسرع من الغير محولة وراثيا .

٢. جميع مزارع النسيج النباتي المقاومة للمرض تكون مفيدة فى جميع النباتات .

obeikandl.com

٣. يمكن إستخدام بلازميد بكتريا التدرن التاجى فى جميع النباتات .

٤. النباتات المحولة تظهر مقاومة للإصابة الفيروسية إذا إستخدم الـ DNA لبروتين الفيروس .

٥. يمكن تقليل حدة الفيروس بحدوث إضطراب فى عملية تضاعفه .

٦. لإنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات تعتمد على تعبير جينات تشفر لبروتين الفطريات.

obeikandl.com

obeikandl.com

الفصل الثاني

الأضرار الناشئة عن مسببات أمراض النبات ودور الوراثة في المقاومة الحيوية

الأهـداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يتعرف على العوامل الحية وغير الحية التى تسبب فقد فى إنتاج الغذاء .

٢- يستوعب الأمراض المتسببة عن كائنات حية تؤدى إلى الفقد فى إنتاج الغذاء.

٣- يفهم كيفية استخدام تقنيات الهندسة الوراثية فى المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات الفيروسية والفطرية والبكتيرية من خلال إدخال صفات جديدة للنباتات تزيد من المقاومة الحيوية للنباتات بما يعمل على الحد من الضرر الذى يتعرض له النبات ، كما تعمل على تحسين خصائص الغذاء .

٤- يستوعب إيجابيات وسلبيات إنتاج النباتات المعدلة وراثيا .

٥- يعي المقاومة الحيوية للحشرات باستخدام نباتات *Bt* المعدلة وراثيا .

٦- توضيح دور الهندسة الوراثية فى حماية الملكية الفكرية من خلال إنهاء حياة النبات Terminator technology .

٧- يتعرف على خطورة تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة .

٨- يلم بالتأثيرات المتتابعة لإدخال صفات المقاومة الحيوية فى مجال الزراعة وإنتاج الغذاء .

٩- يوضح اعتبارات المقاومة الحيوية فى الحد من معدلات التلوث .

١٠- يستوعب ما سيترتب على إدخال صفة مقاومة العوائل النباتية للآفات من تقليل الحاجة لاستخدام المبيدات الحشرية فى مكافحة الآفات وهذا يتوافق مع بعض مكونات مكافحة الآفات فى برامج المكافحة .

مقدمة :

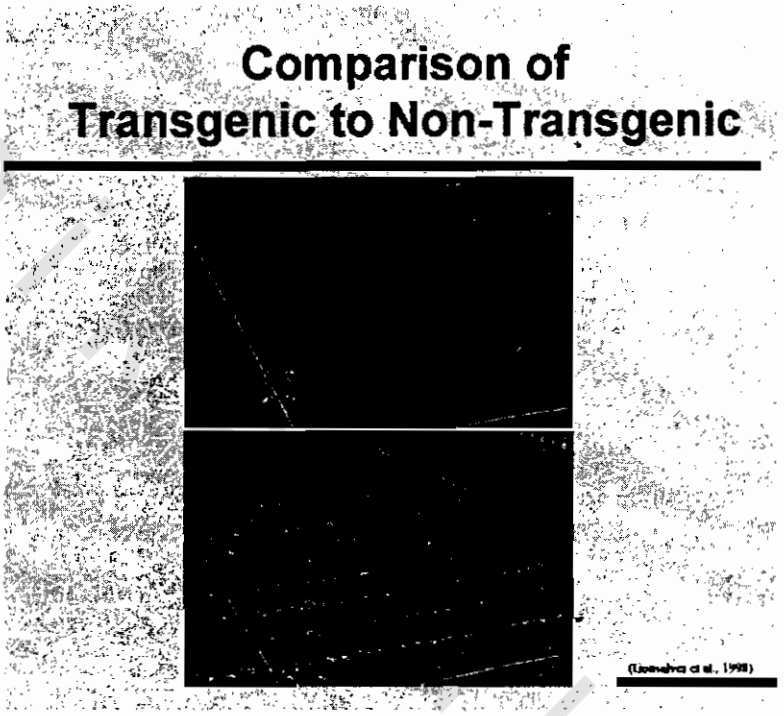
يعتبر الفقد فى إنتاج الغذاء هو أحد المشاكل التى تواجه الإنسان فى البيئة ، ويحدث هذا الفقد بسبب عوامل مختلفة ، قد تكون عوامل حية biotic stress موجودة فى البيئة مثل المسببات المرضية بأنواعها المختلفة الفطرية والفيروسية والبكتيرية ، الإصابة بالحشرات ، أو قد يكون راجعاً لعوامل غير حية abiotic stress مثل الإجهادات البيئية المتمثلة فى الملوحة والجفاف وغيرها ، وسوف يكون التركيز فى هذا الموضوع على الأمراض المتسببة عن كائنات حية تؤدى إلى الفقد فى إنتاج الغذاء بما يهدد الإنسان فى حياته مع استعمال المقاومة الحيوية لهذه المسببات المرضية من خلال استخدام تقنيات الهندسة الوراثية التى تعمل على إدخال صفات جديدة للنباتات تزيد من المقاومة الحيوية للنباتات بما يعمل على الحد من الضرر الذى يتعرض له النبات ، كما تعمل على تحسين خصائص الغذاء وبذلك تعتبر المقاومة الحيوية صديقة للبيئة وتحد من معدلات التلوث البيئى .

١- الضرر الناتج عن المسببات المرضية المختلفة Plant invasion :

أ - المقاومة الحيوية للأمراض الفيروسية :

تعتبر طبقة الكوتيكل الشمعية هى التى تحمى النبات من الإرهاب الحيوي المتمثل فى دخول وغزو معظم الكائنات الدقيقة (بكتيريا ، فطر ، فيروس) ، ولذا تعتبر الأمراض الفيروسية من الأمراض الشائعة التى تسبب فقد فى إنتاج النباتات ، وتحتوى الفيروسات على مادة وراثية بسيطة جدا very simple genomes وتعتمد الفيروسات على عوائلها فى معظم عملياتها الحيوية ، ويحتوى عدداً بسيطاً من الفيروسات النباتية على DNA genome ، بينما يحتوى عدداً كبيراً منها على single-stranded RNA genome وهى تحتوى على على خيط واحد أو على عدد من جزيئات RNA ، ولمعظم الفيروسات غلاف بروتينى يتكون من واحد أو أكثر من polypeptide molecules من نوع واحد أو أكثر والذى يحمى جينوم الفيروس من التحلل . والأمراض الفيروسية ليست لها ميكانيكية خاصة فى دخول خلية العائل ، فالجدار الخلوى للخلية النباتية وطبقة الكيوتيكل تعتبر من العوامل التى تحمى النباتات من غزو الفيروسات ، وتعتمد الفيروسات النباتية على العصير الخلوى الذى ينتقل بفعل الفقاريات مثل الحشرات والنيماتودا ، كما يمكن أن تنتقل بواسطة الفطريات ، وفى بعض الحالات يعتبر animal transmitter كعائل وسطى

وبذلك يمكن لبعض الفيروسات النباتية أن تتضاعف داخل النسيج الحيواني، كما يمكن أن تتواجد بتركيزات مرتفعة داخل النسيج النباتى دون أن تسبب أى أعراض ظاهرة على العائل ، وبذلك تسمى فى تلك الحالة latent infection . بينما العديد من الفيروسات تسبب أمراض قاسية للنباتات حتى وإن وجدت بتركيزات منخفضة (شكل رقم ٧٦) .



شكل رقم ٧٦ . يوضح مقارنة معدل النمو وعدم الإصابة بالأمراض بين النباتات المعدلة وراثيا (أعلى الشكل) والنباتات غير المعدلة وراثيا من نباتات البابيا (أسفل الشكل)

ب – الضرر البيولوجي الناتج عن الفطريات ومقاومتة حيويا :

تعتبر الأمراض الفطرية من الأمراض الشائعة التى تسبب فقد معنوى من الناحية الإقتصادية فى إنتاج النباتات ، والمثال على ذلك هو مرض لفحة الأرز Leaf blast of rice والذى يسببه فطر *Pyricularia grisea* وهو أحد الأمثلة على الأمراض التى تسببها الفطريات فى النباتات ذوات الفلقة الواحدة . كما يتضح ذلك من الشكل التالي (شكل رقم ٧٧) :

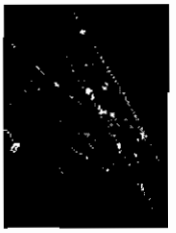


Fig. 77 . Rice leaf blast

وكذلك مرض black spot of rose والذى يسببه فطـــر *Diplocarpon rosae* وهذا المرض هو أحد الأمثلة على الأمراض التى تصيب النباتـــات ذوات الفلقتـــين وتتضح أعراض هذا المرض فى الشكل التالي (شكل رقم ٧٨) :

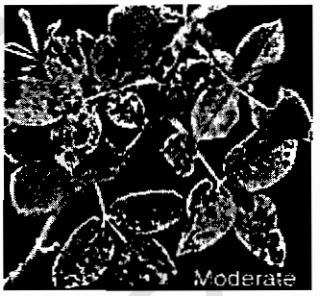


Fig. 78 . Black spot on rose

الشكل التالي (Fig. 79) يوضح مرض تعفن كوز الذرة الفيوزاريومي .

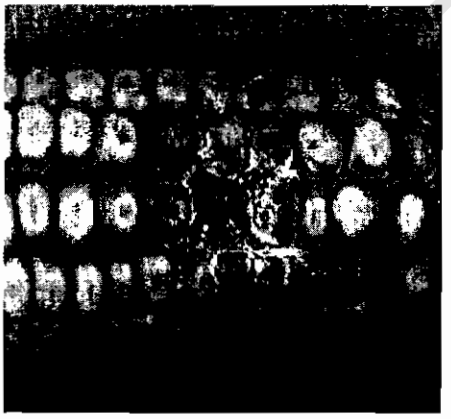


Fig. 79 . Fusarium ear rot symptoms associated with insect damage.

ومرض التعفن الفيوزاريومي لكيزان الذرة هو من أكثر الأمراض الشائعة التى تصيب الذرة ويمكن أن يلاحظ عندما تقترب النباتات من الحصاد ، وخطورة هـذا المرض تعد منخفضة عادة فى وسط شمال الولايات المتحدة الأمريكية ، ولكنه يقلل من المحصول ومن الجودة ، وعادة ما تكون أعراض هذا المرض مرتبطة بشـدة بالأضرار التى تحدثها ثاقبات الذرة الأوربية واليرقات التى تصيب كيـزان الـذرة European corn borer and corn earworm larvae . فالعديد من أنواع الفيوزاريوم يمكن أن تصيب حبوب الذرة بدون أن تسبب أعراض ظاهرة ولكنها تـؤثر علـى جودة الحبوب وتنتج سموماً فطريـة mycotoxins . وترجـع الأهميـة المبدئيـة لخطورة إصابة الفيوزاريوم لحبوب الذرة إلى مصاحبة تلـك الإصـابة بالسـموم الفطرية fumonisins التى تسبب السرطان فى الإنسان ، ومـن الأمـراض التـى تصيب حبوب الذرة أيضا مرض تعفن الحبوب الناتج عن الإصـابة بالأسـبرجلس وهو عادة ما يصاحب إصابة حشرية للكوز كما هو موضح بالشكل التالي (شـكل رقم ٨٠) ، وعادة ما ينتج كلا نوعى الأسبرجلس ، *Aspergillus flavus and A. parasiticus* معظم السموم الفطرية most notorious mycotoxins in maize, the aflatoxins فى الذرة والتركيز الفعال لها هو ٢٠ جزءاً فى البليون (20 parts per billion [ppb]) ولذلك ازداد الاهتمام بهذه السموم عن السموم الفطرية الأخرى فى الذرة بسبب المعدل الفعال لها من التركيزات المنخفضة .

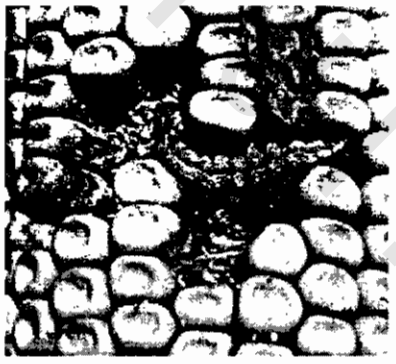


Fig. 80 . Aspergillus kernel rot symptoms associated with insect damage.

مواجهة الأمراض والسموم الفطرية بإنتاج الذرة المحور وراثيا بجينات من Bt :

خلال منتصف عام ١٩٩٠ تمت الموافقة على زراعة الذرة المحور وراثيا بجينات Bt فى عدد من الولايات بالولايات المتحدة الأمريكية لملاحظة هل المقاومة الحيوية للحشرات باستخدام *Bt maize* سيصاحبها مقاومة للأمراض التى تصاحب الحشرات التى تصيب الذرة أم لا ، وفى معظم الحالات فإن التجارب كانت تجرى لمقارنة الأمراض ومعدلات السموم الفطرية بين Bt hybrids والهجن القريبة منها، وفى هذه الدراسة لوحظت اختلافات بين الأنواع المختلفة للـ *Bt genes (or Bt* events) ، وفى كل الحالات لم تكن الجينات مثل بعضها فى تعبيرها الوظيفي ، فالهجن المختلفة للـ *Bt genes* يمكن أن يحدث فيها تعبير لأى من المواد البروتينية السامة التالية CryIA(b), CryIA(c), or Cry9C, ، وهى كلها تمثل أجزاءاً من المادة البروتينية السامة δ-endotoxins والتى تنتج بصفة أساسية عن بكتيريا *Bacillus thuringiensis* .

النتائج الموجودة فى الجدول التالي (Table 8) توضح خصائص المنتجات المختلفة لجينات *Bt* ، وعملية حدوث تعبير للجين الذى يقوم بإنتاج Cry proteins فى أنسجة معينة لنباتات الذرة يعتمد على gene promoter المستخدم فى عمل التحور الوراثي لجينوم الذرة transgenic genotype . فالمتحولات الوراثية بجين cryIA(b) والذى أعطى المتحولات التالية BT11 and MON810 والمعلمة بـ (YieldGard®) استخدم معه الجين بروموتر 35S من الفيروس use a CaMV (cauliflower mosaic virus) 35S gene promoter) وهذا الجين يحدث تعبير وظيفياً على المدى الطويل طوال موسم نمو النباتات فى كل الأنسجة ، بينما المتحولات بجين cryIA(b) والتى نتج عنها المتحولات ١٧٦ والمعلمة بـ(marketed as Knockout® and NatureGard®) استخدم معها خليط من البروموترز المعروفة في الأصل من نبات الذرة وهي متخصصة في نبات الذرة وبدورها متخصصة للعمل فى أنسجة معينة ، وهذه البروموترز هى عبارة عن a phosphoenolpyruvate carboxylase promoter والذى يحدث عنه تعبير وظيفي فقط فى الأنسجة النباتية الخضراء ، و pollen-specific promoter ، وعملية حدوث تعبير وظيفي لجين CryIA(b) فى حبوب الذرة يعد عاملاً هاماً جداً فى تحديد حجم الإرهاب الذى يقع على كمية الحبوب التى يمكن أن تتغذى عليها يرقات ثاقبات الذرة الأوربية European corn borer larvae والتى يترتب عليها معدل كبير إصابة الحبوب بالفيوزاريوم .

Table 8 . *Bt events* commercially available in the United States.

Bt event	Trademark	Cry protein	Promoter(s)	Expression
176	KnockOut, NatureGard	Cry1A(b)	PEPC + pollen	Green tissue + pollen
BT11	Yieldgard	Cry1A(b)	CaMV 35S	All tissue
CBH351	StarLink	Cry9C	CaMV 35S	All tissue
DBT418	BTXtra	Cry1A(c)	CaMV 35S	All tissue
MON810	Yieldgard	Cry1A(b)	CaMV 35S	All tissue

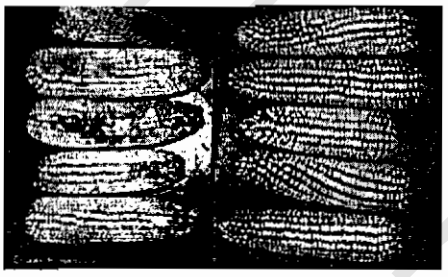


Fig.81 . Ear samples from a 1997 field trial. Non*Bt* hybrid is heavily damaged by insect feeding and Fusarium ear rot, but the near-isogenic *Bt* hybrid has little or no damage.

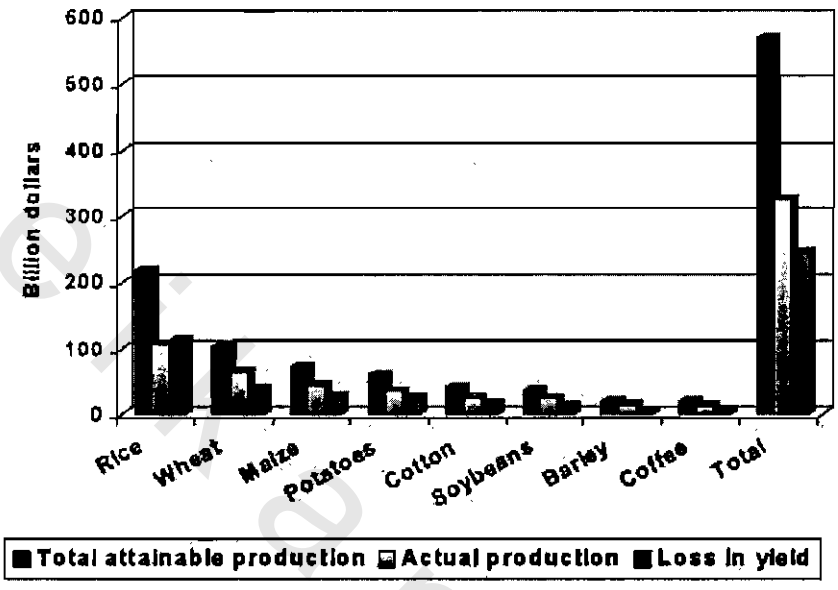
الشكل التالي (شكل رقم ٨١) يوضح عينات من كيزان الذرة جمعت فى عام ١٩٩٧ ، ومنه يتضح أن الكيزان الناتجة عن نباتات غير محورة وراثيا بجينات *Bt* تعتبر أكثر إصابة بالحشرات التى تغذت على كمية كبيرة من الحبوب ، علاوة على التعفن الفيوزاريومى الذى أصاب الكيزان ، بينما فى المقابل كانت كيزان *Bt* hybrid أكثر مقاومة لهذا الضرر البيولوجى حيث كانت أقل أو منعدمة الإصابة الحشرية والفطرية .

الفقد العالمي فى إنتاج الغذاء بسبب الأضرار التى تسببها الكائنات الحية :

الشكل التالي (شكل رقم ٨٢) يوضح حجم الضرر البيولوجي المتسبب فى فقد إنتاج الغذاء من خلال كمية الإنتاج الكلي العالمي والإنتاج الحقيقي بالبليون طن

خلال الفترة من عام ١٩٨٨ – ١٩٩٠ لثمانية محاصيل رئيسية هى : الأرز ، القمح، الذرة ، البطاطس ، القطن ، فول الصويا ، الشعير ، البن .

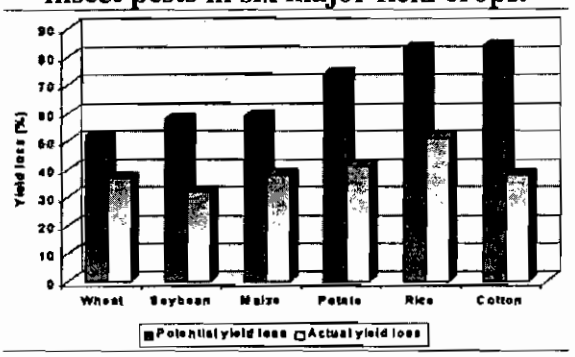
Fig. 82 . Attainable and actual production of eight major field crops (1988-90) .



Source: Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schonbeck, F., and Weber, A. 1995. Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Amesterdam,The Netherlands:Elsevier Publishing Co.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٣) يوضح حجم الضرر البيولوجي المتسبب فى فقد الغذاء من خلال النسبة المئوية للفقد فى المحصول والراجع للإصابة بالحشرات والأمراض النباتية والحشائش فى ٦ محاصيل رئيسية خلال الفترة من ١٩٨٨ – ١٩٩٠ موضحا الفقد المحتمل والفقد الحقيقي فى المحصول والراجع للإصابة الحشرية .

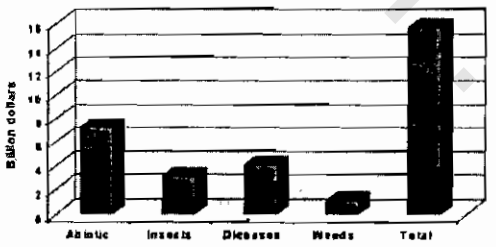
Fig. 83 . Estimated yield losses due to insects, diseases and weeds in six major field crops (1988-90) Potential and actual yield losses due to insect pests in six major field crops.



Source : Pinstrup-Andersen, and Cohen, M. 2000. Modern biotechnology for food and agriculture: Risks and opportunities for the poor. Pages 159-172 in Agricultural Biotechnology and The Poor (Persley, G.J., and Lantin, M.M., eds.). Washington DC, USA: Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Science Foundation.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٤) يوضح الفقد فى المحصـــول والراجـــع إلـــى الإجهادات البيئية ، الإصابة بالحشرات والأمراض والحشائش . وتصل قيمة هـــذا الفقد لأكثر من ١٤ بليون دولار .

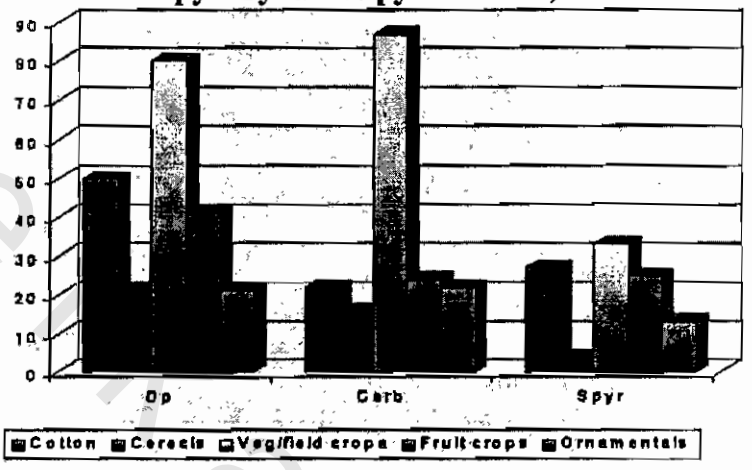
Fig.84 . Yield loss due to abiotic stress factors, insects, diseases and weeds in the SAT



Source: ICRISAT. 1992. Medium-Term Plan. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India (limited circulation).

الشكل التالي (شكل رقم ٨٥) يوضح تكون صفة المقاومة فـي الحشـرات لثلاثة مبيدات حشرية ، وهنا تكمن المشكلة من استخدام المبيـدات عـلاوة علـى الأضرار البيئية الناتجة عن إستخدام المبيدات .

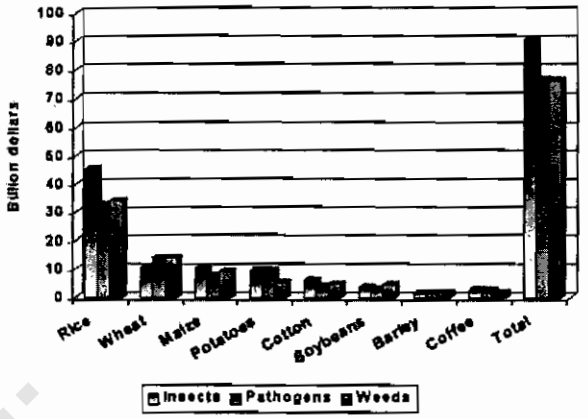
Fig. 85 . Development of insect resistance to different groups of insecticides (Op=Organophosphates, Carb= Carbamates, Spyr=Synthetic pyrethroides).



Source: Rajmohan, N. 1998. Pesticide resistance: A global scenario. Pesticides World 3(5): 34-40.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٦) يوضح حجم الفقد فـي المحصـول مقـدرا بالبليون دولار والراجع للإصابة بالحشرات ، الأمراض النباتية والحشـائش فـي ٨ محاصيل رئيسية خلال الفترة من عام ١٩٨٨ – ١٩٩٠ ومنه يتضح أن أكثـر معدلات الفقد فى الإنتاج كانت ترجع إلى الإصابة بالحشرات والتى تسببت فى فقد يقدر بحوالي ٩٠ بليون دولار ، يليها المسببات المرضية والحشائش حيث سبب كل منهما فقداً فى المحصول يقدر بحوالي ٧٥ بليون دولار .

Fig. 86 . Estimated yield losses due to insects, diseases and weeds in eight major field crops (1988-90) .



Source: Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schonbeck, F., and Weber, A. 1995. Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Amesterdam,The Netherlands:Elsevier Publishing Co.

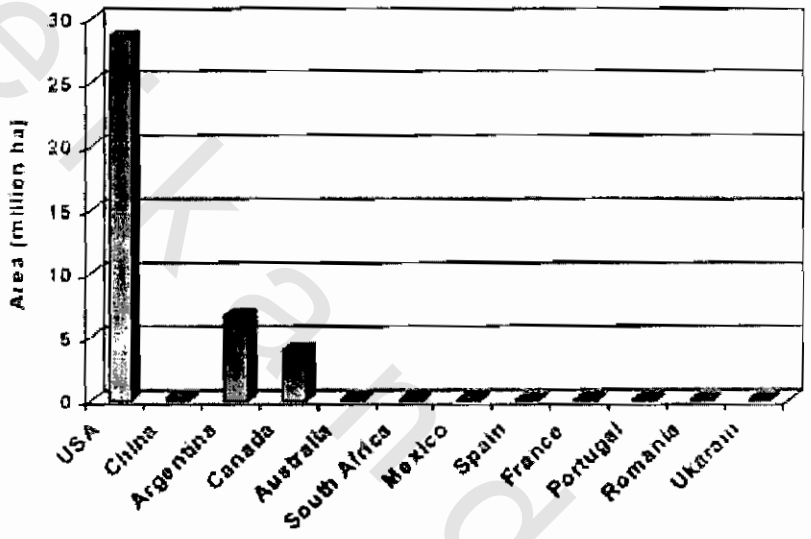
الشكل التالي (شكل رقم ٨٧) يوضح المساحة المنزرعة بالمحاصيل المحورة وراثيا بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ – ١٩٩٩ ، وكما هو واضح من الشكل أنه حدثت زيادة تدريجية فى معدل زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا ومعدلات الترويج لها فى العمود الأيسر .

Fig. 87 . Area (million ha) under transgenic crops (1996-99)

Source: Serageldin, J. 2000. The challenge of poverty in the 21st Century. The role of science. Pages 25-31 in Agricultural Biotechnology and the Poor (Persley, G.J. and Lantin, M.A., eds).Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Academy of Sciences, Washington, D.C., USA.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٨) يوضح المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا بالمليون هكتار فى ١٢ دولة ، ومنه يتضح أن الولايات المتحدة الأمريكية (أكثر من ٢٥ مليون هكتار) هى أكثر دول العالم فى زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا ، تليها الأرجنتين (أكثر من ٥ مليون هكتار) ثم كندا (حوالي ٣ ملايين هكتار) ، أما باقي الدول فلا زالت معدلات زراعة المعدلة المحورة وراثيا بها تكاد تكون منخفضة جدا أو منعدمة .

Fig. 88 . Area (million ha) under transgenic crops in different countries in 1999.

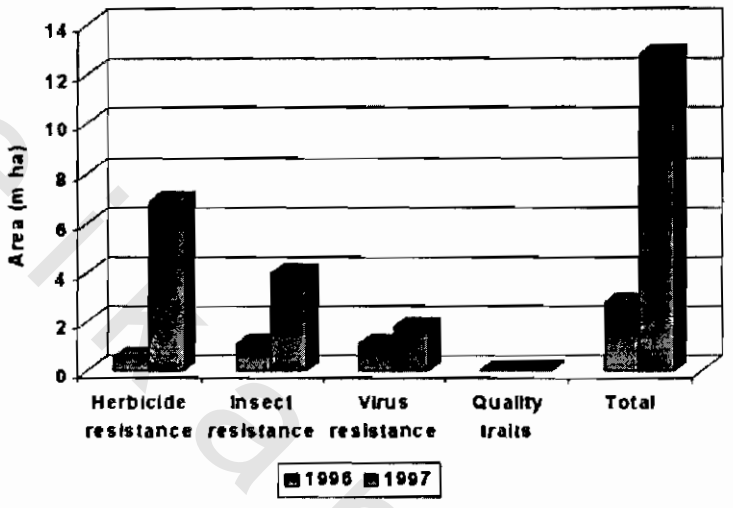


Source: Serageldin, J. 2000. The challenge of poverty in the 21st Century. The role of science. Pages 25-31 in Agricultural Biotechnology and the Poor (Persley, G.J. and Lantin, M.A., eds). Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Academy of Sciences, Washington, D.C., USA.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٩) يوضح المساحة بالمليون هكتار المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا بصفات مختلفة خلال الفترة من عام ١٩٩٦ إلى عام ١٩٩٧ لمواجهة الضرر البيولوجي ، ومنه يتضح زيادة معدل زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا خلال عام ١٩٩٧ عن عام ١٩٩٦ ، وأن المساحة المنزرعة بالمحاصيل المقاومة لمبيدات الحشائش كانت هى أكبر المساحات (أكثر من ٦ ملايين هكتار) ، تليها مساحات المحاصيل المقاومة للحشرات (أكثر من

٣ ملايين هكتار) ، ثم مساحة المحاصيل التى تحمل صفة المقاومة للأمراض الفيروسية (حوالي ١,٥ مليون هكتار) ، أما بالنسبة للمساحات المنزرعة بمحاصيل لتحسين الجودة الإنتاجية كانت تكاد تكون صفر خلال تلك الفترة .

Fig. 89 . Area (million ha) under transgenic crops with different traits in 1996 and 1997



Source: James, C. 1998. Global status and distribution of commercial transgenic crops in 1997. Monitor 35: 9-12.

الخلاصة :

تسبب الفطريات أضراراً كثيرة بالنباتات ، كما يمكن أن تكون بعضها مهمة مثل mycorrhizae والتى تقيم علاقة تكافلية مع جذور النباتات ، والفطريات تعتبر مرتبطة بشدة بالكائنات الحيوانية عنها بالنباتات ، وهى عادة ذات نموات هيفية ، ذات نواة حقيقية ، تنتج جراثيم يغيب فيها الكلوروفيل ، يتكون جدارها الخلوى من الشيتين chitin وهو يوجد فى الفطريات ولا يوجد فى النباتات ويختلط الشيتين مع مركبات كربوهيدراتية تشمل cellulose ، والصورة الرئيسية لتخزين الكربوهيدرات هى الجليكوجين كما يوجد فى الكائنات الحيوانية ولا يوجد فى الكائنات النباتية ، وهى عادة saprobes أى تحصل على احتياجاتها الغذائية من مواد عضوية غير حية ، أو symbionts أى تعيش مع كائنات أخرى فى علاقة تعاونية ،

أو قد تكون متطفلة parasites . وتتكاثر خضريا عن طريق الهيفات . واندماج الهيفات مع بعضها يكون الميسيليوم والذى يمكن أن يندمج ليكون الأجسام الثمرية fruiting body كما فى فطر عيش الغراب .

الأسئلة :

١- ما العوامل التى تؤدي إلى الفقد فى إنتاج الغذاء وما هو دور الهندسة الوراثية فى الحد من هذا الفقد وزيادة الإنتاج ؟

٢- ما رأيك في الأضرار البيولوجية الناتجة عن الفيروسات والفطريات وكيفية مقاومتها حيويا ؟

٣- ما تقييمك لخطورة الإصابات الحشرية لكيزان الذرة وعلاقتها بالإصابات الفطرية وأثر ذلك على الإنسان ؟

٤- أكتب موضوعا عن دور الهندسة الوراثية فى التغلب على الإصابات الحشرية والفطرية لكيزان الذرة وأثر ذلك على صحة الإنسان والبيئة ؟

٥- ما رأيك عن تطور زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا فى العالم اعتبارا من عام ١٩٩٦ وحتى الآن وماذا تستنتج من ذلك ؟

٦- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- تنتقل الفيروسات النباتية عن طريق العصير الخلوي بفعل الفقاريات مثل الحشرات والنيماتودا بالرغم من أنه ليس لها ميكانيكية خاصة فى دخول خلية العائل النباتي ؟

ب- كيزان *Bt* hybrid فى الذرة تكون أقل أو منعدمة الإصابة الحشرية والفطرية مما سيحمي الإنسان من التأثيرات السامة للسموم الفطرية ؟

ج- الفقد العالمي فى المحصول الراجع للإصابة بالأمراض يعد أكبر من الفقد الناتج عن الحشرات والحشائش وأقل من الفقد الفقد الناتج عن عوامل غير حية؟

د- المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا فى عام ١٩٩٩ كانت أكبر منها فى عام ١٩٩٧ ؟

هـ- الولايات المتحدة الأمريكية هى أكبر دولة فى العالم تقوم بزراعة المحاصيل المعدلة وراثيا تليها الأرجنتين ثم كندا ؟

و- المساحة المنزرعة على مستوى العالم بالمحاصيل التى تحمل صفة المقاومة للأمراض الفيروسية أقل من مساحات المحاصيل المقاومة للحشرات ؟

obeikandl.com