الباب السادس

الفصل الأول

دور التقانة الحيوية فى مواجهة المسببات المرضية والآفات

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

١- يستوعب أثر العوامل الحية والعوامل غير الحية على الفقد فى إنتاج الغذاء .

٢- يفهم نسبة المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا فى العالم والزيادة التى حدثت مؤخرا فى هذه المساحة .

٣- يتذكر طبيعة عمل المادة البروتينية السامة *Bt* .

٤- يعرض المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيا .

٥- يدرك أثر الفقد فى إنتاج الغذاء على حياة السكان .

٦- يقارن بين الفقد فى إنتاج الغذاء الناتج عن المسببات المرضية ، والناتج عن الحشرات وعن الحشائش .

٦-يتعرف على المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيا لتحقيق الأمن الغذائي للشعوب .

٨- يدرك الدرجات المختلفة من المقاومة المتكونة فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا بأربع جينات مختلفة من الباسيليس ثيرونجنسز ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات مقارنة بالنباتات غير المعدلة وراثيا .

٩- يستوعب دور الكائنات المعدلة وراثيا على إحداث تغيرات نظامية من خلال تغيير تعبير الجينات وطفورها .

المقدمة :

يعد الهدف من إنتاج الكائنات والنباتات المعدلة وراثيا هو التصدي للمسببات المرضية المختلفة التى تهدد غذاء الإنسان ، والكائنات المعدلة وراثيا هى الكائنات

obeikandi.com

الناتجة عن طرق التكنولوجيا الحيوية لتطعيم المادة الوراثية DNA ، وهى التى تتيح لجينات كائن معين أن تتحور بواسطة إدخال جينات إليها من كائن آخر ، ويترتب على ذلك حدوث تغيرات وراثية لم تشاهد فى الكائن الأصلى ، ومن أمثلة المنتجات المعدلة وراثيا المحاصيل المقاومة للحشرات ونباتات العائلة القرعية المقاومة للفيروس ، الطماطم المقاومة لمرض الذبول المتأخر ، المحاصيل المقاومة لمبيدات الحشائش ، نباتات القطن المقاومة لمبيد Bromoxynil ، وفول الصويا المتحملة للـ Lyphosate . وقد استخدمت عمليات التحور الوراثى بطرق مختلفة للمساعدة فى تصنيع الغذاء ولتحسين بعض الصفات مثل القيمة الغذائية للأطعمة ومقدرتها التخزينية ، وفى هذا الإطار نود الإشارة إلى أن أول منتج غذائى قد تم إعداده من خلال تكنولوجيا إدخال الجينات هو صنف الطماطم Flavr Savr Tomato ، ونباتات الطماطم التى تم لها إدخال جينات جديدة كان بغرض حمايتها من عملية تكسير الجدار الخلوى الذى يعمل على طراوة أنسجة الثمار مما يعمل على حماية الثمار عند تخزينها لفترات طويلة .

والمثال الثانى على المنتجات المصنعة بطرق الهندسة الوراثية هو إنزيم Chymosin (المنتج الأول من الرينية Rennet) الذى يستخدم فى صناعة الجبن ، وChymosin هو إنزيم موجود فى اللبن يستخدم فى صناعة الجبن والمنتجات اللبنية الأخرى . ويتم تصنيع حوالى ٩٠% من الجبنة الطازجة باستخدام هذا الإنزيم المتحصل عليه من مصادر مهندسة وراثيا . فمن أول الأطعمة المهندسة وراثيا والتى وجدت فى الأسواق الأمريكية هو إنزيم Chymosin المعادة صياغته والذى يستخدم فى صناعة الجبن ، فلقد تم تدعيم عملية التخمر بهذا الإنزيم المنتج عن جين من الأبقار تم حقنه فى خلايا بكتيريا القولون ، وفى العشر سنوات الأخيرة منذ أن تم إنتاج هذا الإنزيم وإدخاله فى صناعة الجبن ، ويجرى إنفاق بلايين الجنيهات فى صناعة الجبن لعمل إنزيم Chymosin المعادة صياغته والذى يجرى استهلاكه بأمان تام على مستوى المجتمع . علما بأنه يتم الحصول على الإنزيم التقليدي من أنسجة العجول الكبيرة بينما عملت التكنولوجيا الحيوية على تعزيز وإنتاج هذا الإنزيم من البكتيريا تحت ظروف عمليات التخمر الميكروبى والتى ينتج عنها الإنزيم بنقاوة وكفاءة مرتفعة ؛ ولذا فإن هذه التكنولوجيا الجديدة قد عملت على بيع الإنزيم بأسعار مرتفعة لزيادة نقاوته وكفاءته . وتستخدم الآن مشتقات أخرى ناتجة عن التكنولوجيا الحيوية مثل Bovine somatotropine والذى يستخدم لزيادة إنتاج الألبان من الأبقار .

حاجة زيادة التعداد السكاني إلى زيادة إنتاج الغذاء :

- طبقا لتقرير الأمم المتحدة فإن عدد سكان العالم سوف يصل إلى ٨ بلايين بحلول عام ٢٠٢٥ .
- فى المتوسط تحدث زيادة سنوية فى عدد سكان العالم تقدر بـ ٧٣ مليون إنسان، ٩٧ % من هذه الزيادة سوف تلتهم معدلات النمو فى الدول النامية .
- حوالي ١,٢ بليون فرد يعيشون فى دول تعاني من سوء التغذية .
- حوالي ٨٠٠ مليون فرد ليسوا فى حالة أمن غذائي ، و ١٦٠ مليون من الأطفال قبل سن المدرسة يعانون من سوء التغذية .
- العدد الأكبر من الذين يعانون من سوء التغذية يعانون من نقص العناصر الصغرى مثل الحديد وفيتامين A .
- انعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية يتسببان فى أمراض صحية فى المجتمعات يترتب عليها فقد الإنسان لجهده فى الدول النامية .
- المشاكل الرئيسية تواجه الريفيين الفقراء بسبب نقص الإنتاج ، وانعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية
- يزداد انعدام الأمن الغذائي فى الدول النامية عنه فى الدول المتقدمة .
- المساحة المتاحة للفرد فى كل من : المكسيك ، الإكوادور ، نيجيريا ، إثيوبيا هى ٠,٢٥ هكتار فى عام ١٩٩٠ بالمقارنة بأقل من ٠,١٠ هكتار فى كل من : مصر ، كينيا ، بنجلاديش ، فيتنام والصين .
- بحلول عام ٢٠٢٥ سوف تكون المساحة المتاحة للفرد أقل من ٠,١٠ هكتار فى بيرو ، تنزانيا ، باكستان ، إندونيسيا والفلبين .
- ينتج عن الضرر البيولوجى الناتج عن الأمراض والحشرات والحشائش فقد فى الإنتاج يقدر بحوالي ٢٤٣,٤ بليون دولار من الإنتاج الممكن تحقيقه على مستوى العالم والذى يقدر بحوالي ٥٦٨,٧ بليون دولار ، بما يمثل فقداً فى الإنتاج يقدر بحوالي ٤٢% .

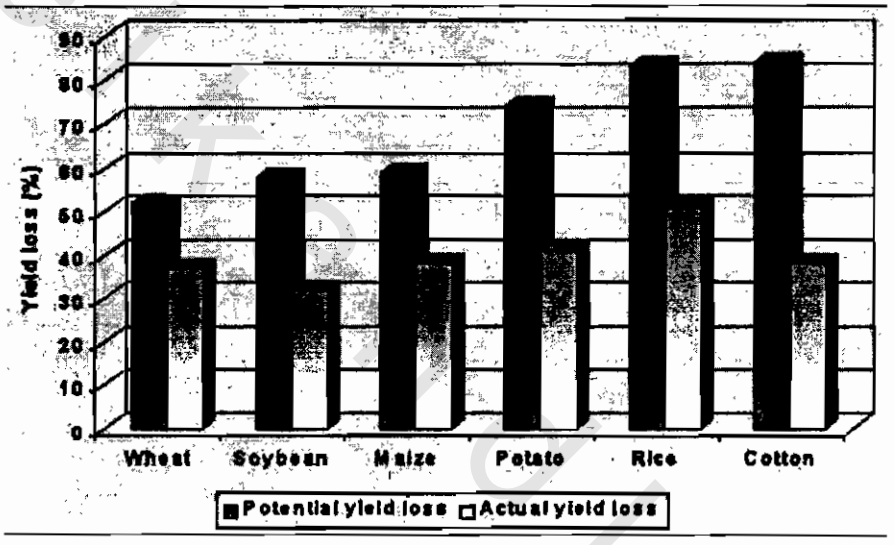
- هذا الإرهاب البيولوجى الذى يهدد غذاء وحياة الإنسان على الأرض تمثل فيه الحشرات فقداً فى الإنتاج يقدر بـ ٩٠,٤ بليون دولار ، والأمراض النباتية ٧٦,٨ بليون دولار ، الحشائش ٦٤ بليون دولار .
- تسبب العوامل الحية وغير الحية فقداً في الإنتاج يقدر ب١٥,٧٤ بليون دولار ، وعلى هذا المستوى تسبب الحشرات فقداً يقدر بـ ٣,١٧ ، والأمراض فقداً يقدر بـ ٤,١٢ ، والحشائش فقداً يقدر بـ ١,١٤ بليون دولار .
- يتسبب الاستخدام الموسع للمبيدات من أجل الحد من الفقد فى الإنتاج المتسبب عن الحشرات والأمراض والحشائش في تأثيرات ضارة بالكائنات المفيدة الموجودة بالبيئة ، كما يترك أثراً متبقياً للمبيدات فى الأطعمة ويتسبب أيضا فى تلوث البيئة .
- أظهر عدد من الحشرات تكوين صفة المقاومة للمبيدات الحشرية التى تنتمى لمجاميع مختلفة ، وقد سجلت ٦٤٥ حالة مقاومة حتى عام ١٩٩٦ .
- العدد الأكبر من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية تم تسجيلها على الخضراوات (٤٨) ، المحاصيل المثمرة (٢٥) ، القطن(٢١) ، محاصيل الحبوب (١٥) ، نباتات الزينة (١٣) .
- تكوّن صفة المقاومة للمبيدات الحشرية يستلزم استخدام جرعات عالية من المبيد أو عدداً أكبر من مرات الرش مما يزيد من معدلات تلوث البيئة ومن معدلات الأضرار الصحية المترتبة على ذلك .
- لذا كانت هناك ضرورة لمواجهة الإرهاب الحيوي حديثا باستخدام Biotechnological techniques للحد من الأضرار الناتجة عن الحشرات على مستوى الدول المتقدمة والدول النامية .
- حدثت زيادة فى المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا من ١,٧ مليون هكتار فى عام ١٩٩٦ إلى ٣٩,٥ مليون هكتار فى عام ١٩٩٩ ، وقد زاد العائد الناتج عن زراعة هذه المحاصيل من ٠,٢٣٥ مليون دولار فى عام ١٩٩٦ إلى ٢,٣ مليون دولار فى عام ١٩٩٩ .
- فى عام ١٩٩٧ تم زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا فى ١٢ دولة ومعظم المساحات المنزرعة بها كانت فى ٥ دول متقدمة هى أستراليا ، كندا ،

obeikandl.com

الأرجنتين ، الصين ، الولايات المتحدة الأمريكية ، حيث قامت الولايات المتحدة وحدها بزراعة ٨٠ % من المساحة العالمية المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا لمواجهة الإرهاب البيولوجي .

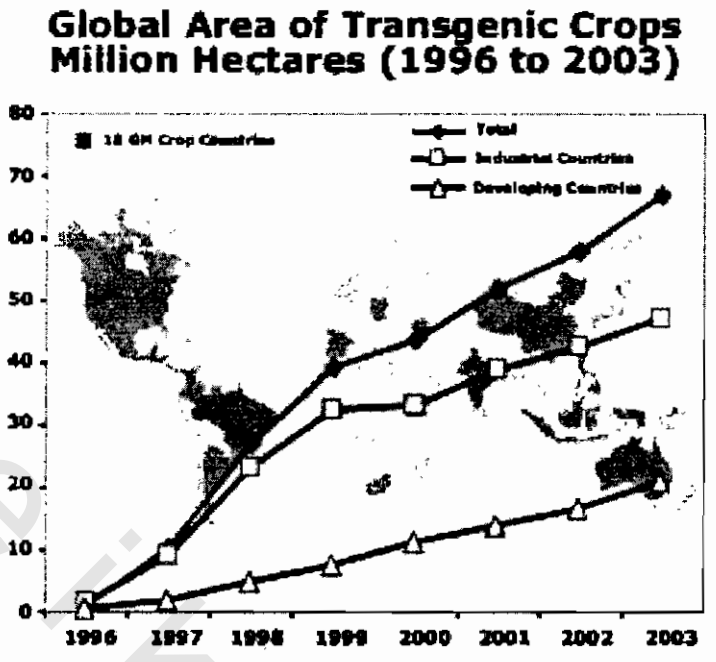
- يترتب على استخدام تكنولوجيا النباتات المعدلة وراثيا : خفض معدلات رش المبيدات الحشرية ، زيادة كفاءة ونشاط الأعداء الطبيعية للآفات .

الشكل التالي (شكل رقم ١٠٧) يوضح الفقد فى إنتاج الغذاء والراجع إلى المسببات المرضية المختلفة للنباتات والإصابات الجشرية والحشائش فى ٦ محاصيل مختلفة منتجة للغذاء ، منسوبا أو مقارنا بالإنتاج الحقيقي .



شكل رقم ١٠٧ . النسبة المئوية للفقد فى إنتاج الغذاء والراجع إلى المسببات المرضية المختلفة للنباتات والإصابات الحشرية والحشائش فى ٦ محاصيل مختلفة

الشكل التالي (شكل رقم ١٠٨) يوضح المساحة المنزرعة بالنباتات المعدلة وراثيا على مستوى العالم بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ – ٢٠٠٣ .



شكل رقم ١٠٨ : المساحة المنزرعة بالنباتات المعدلة وراثيا على مستوى العالم بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ – ٢٠٠٣

نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات الـ :

Bt Corn (Bt):

نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات الـ ***Bt*** هى نباتات هجينة تم هندستها وراثيا لإنتاج سموم الـ ***Bt*** ، **وكانت** هذه المادة السامة نشطة فى مكافحة الآفات الحشرية مثل ثاقبات الذرة الأوربية ، وأعطت نوعا من الحماية ضد الديدان اليرقية كما أعطت نتائج أفضل فى تقليل تكاليف الإنتاج مقارنة باستخدام المبيدات الحشرية وفى أغسطس عام ١٩٩٥ أعلنت كل من وزارة الزراعة الأمريكية ومنظمة ***EPA*** عن قبولها لنباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات ***Bt*** للاستخدام على النطاق التجارى، وقد زاد معدل استخدام نباتات الذرة المحورة وراثيا بجينات الـ ***Bt*** من ١,٤ % فى عام ١٩٩٦ إلى حوالى ٣٠% من المساحة الكلية المنزرعة بالذرة لتمثل حوالى ٢٦ مليون فدان فى عام ١٩٩٩. الشكل التالي(شكل رقم ١٠٩) يوضح درجات

مختلفة من المقاومة المتكونة فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا بأربع جينات مختلفة من الباسيليس ثيرونجنسز ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات مقارنة بالنباتات غير المعدلة وراثيا فى يسار الشكل .

A B C D E

Figure 109 . Leaf bioassay comparing control line (A) and transgenic lines expressing *cry*1Ca5 (B), *cry*1Ba1 (C), *cry*1Ac9 (D) and *cry*9Aa2 (E).

الشكل التالي (شكل رقم ١١٠) يوضح طبيعة عمل المواد البروتينية السامة من الباسيليس ثيرونجنسز .

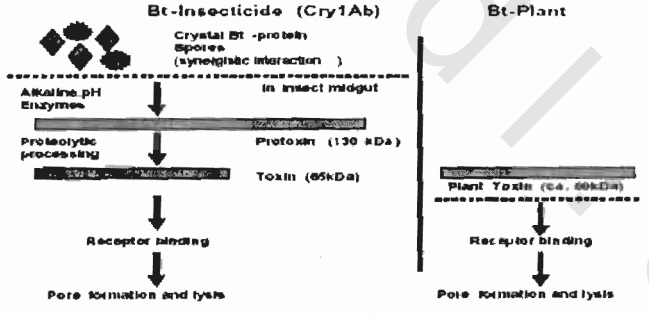


Figure 1. Differences Bt-insecticides and Bt-plants.

10

شكل رقم ١١٠ يوضح الإختلافات فى طبيعة عمل المبيد الحيوى *Bt*

وطبيعة عمله فى النباتات المعدلة وراثيا بجينات هذا المبيد الحيوي *Bt*

الشكل التالي (شكل ١١١) يوضح مرض اللفحة النارية فى التفاح الذى تسببه بكتيريا *Erwinia amylovora* والذي يصعب السيطرة عليه بسبب النشاط المحدود لرش المضادات الحيوية ، وتكوين عشائر من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية فى بساتين الفاكهة والنقص على المستوى التجاري فى الأصناف المقاومة لمرض اللفحة النارية . أظهرت نباتات التفاح المعدلة وراثيا التى حدث بها تعبير جينى للـ SB-37 lytic peptide analog مقاومة للبكتيريا المسببة للمرض فى الحقول .

شكل رقم ١١١ . يوضح شجرة من التفاح مصابة بشدة بمرض اللفحة النارية الذى سببته بكتيريا *Erwinia amylovora* وفيه يلاحظ أن الأجزاء البنية المقتولة من المجموع الخضرى تتخلل المجموع الخضري

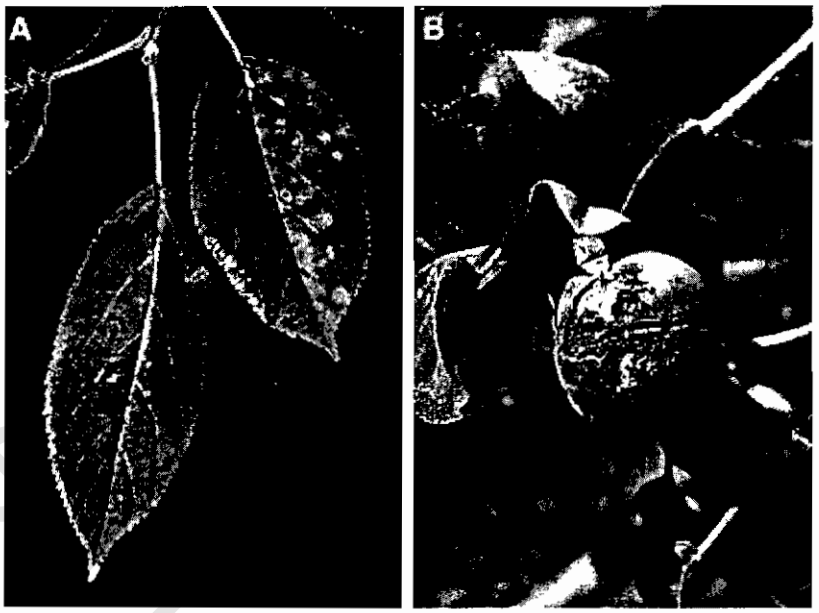
ميكانيكية عمل الـ Attacin كمادة بروتينية تعمل على تثبيط تخليق الغشاء البروتيني الخارجي فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، والـ Attacin يحدث له تعبير فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا لتعزيز مقاومتها للعدوى البكتيرية بواسطة السلالة *E. carotovora subsp. atrospetica* ، أشجار التفاح والكمثرى المعدلة وراثيا والتى يحدث بها تعبير لإنتاج هذا البروتين (Attacin) Attacin Transgenic pear and apple expressing attacin genes يحدث بها تعزيز معنوى ملحوظ فى صفة المقاومة لبكتيريا *E. amylovora* فى اختبارات الصوبة الخارجية. بينما فى الاختبارات الحقلية لوحظ انخفاض ملحوظ فى مرض اللفحة النارية فى نباتات التفاح المعدلة وراثيا والتى حدث بها تعبير وظيفي للـ attacin genes ، حيث تنتج نباتات التفاح المعدلة وراثيا مادة attacin فى المسافات بين الخلوية intercellular space والتى فيها تتضاعف البكتيريا المسببة للمرض .where E

amylovora multiplies قبل حدوث العدوى ، مما يقلل بدرجة معنوية من مـــرض اللفحة النارية حتى وإن كانت النباتات تنتج مستويات منخفضة مـــن هـــذه المـــادة البروتينية even in apple plants with low attacin production levels .

شكل رقم ١١٢ يوضح فى اليسار صنف التفاح المعدل وراثيا والذى يحدث فيه تعبير وظيفي للمادة البروتينية expressing attacin مقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا فى يمين الشكل

الشكل السابق (شكل رقم ١١٢) يوضح فى اليسار صنف التفاح المعدل وراثيا والذى يحدث فيه تعبير وظيفي للمادة البروتينية expressing attacin والتى تعزز وبدرجة معنوية من المقاومة لمرض اللفحة النارية مقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا فى يمين الشكل .

فطر *Trichoderma harzianum* هو عبارة عن عنصر مقاومة حيوية biological control agent ؛ لأن له نشاط مضاد ضد الفطريات الممرضة . ميكانيكية هذا النشاط تعود إلى تثبيطه لعملية إنبات الجراثيم وإلى تثبيط إطالة الأنبوبة الجرثومية وإلى تحليل قمة الهيفا الفطرية ، ولملاحظة ذلك فإن فطر *Trichoderma harzianum* ينتج إنزيمات تقوم بتحليل الشيتين chitin الموجود فى الجدار الخلوى للفطريات وإنزيمات الشيتينيز يمكن تقسيمها إلى endochitinase, exochitinase (N-acetyl-□ -D-glucosaminidase), and chitobiosidase . نباتات البطاطس المعدلة وراثيا يحدث بها تعبير وظيفي لجين endochitinase gene فتظهر المقاومة للمسبب المرضي A. solani (الذى يسبب اللفحة المبكرة) ولـ *B. cinerea* (التى تسبب القالب الرمادي) . الفطر *Venturia inaequalis* هو الفطر الذى يسبب apple scab الذى يصيب أوراق التفاح وثماره مسببا انخفاض فى إنتاج الثمار وجودتها ولذلك تطبق رشات عديدة من المبيدات الفطرية من قبل مزارعي التفاح للسيطرة على هذا المرض خلال موسم النمو . أشجار التفاح المعدلة وراثيا Transgenic 'McIntosh' apple trees التى يحدث بها تعبير وظيفي لجين الشيتينيز الداخلي أوالخارجي أو كلاهما expressing either the endo- or exochitinase gene or both genes تعمل على زيادة المقاومة لمرض apple scab الموجود بالشكل التالي ، وهذا يعكس الاستخدام الواسع المدى للنباتات المعدلة وراثيا بجين الشيتينيز chitinase transgenes للسيطرة على الأمراض الفطرية فى النباتات .



شكل رقم ١١٣ . أعراض إصابة أوراق التفاح

(اليسار) والثمار (اليمين) بمرض Scab

الشكل السابق (شكل ١١٣) يوضح أعراض إصابة أوراق وثمار التفاح بمرض Scab علما بأن scabby fruits ترفض من قبل المستهلكين ولها جودة ضعيفة فى التخزين .

شكل رقم ١١٤ . يوضح أوراق الصنف المعدل وراثيا من التفاح 'transgenic 'McIntosh line T564 (اليسار) بالمقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا 'McIntosh (اليمين) والقابل للإصابة

الشكل السابق (شكل رقم ١١٤) يوضح أوراق الصنف المعدل وراثيا من التفاح transgenic 'McIntosh' line T564 مع الصنف غير المعدل وراثيا 'McIntosh والقابل للإصابة .

تتركز الدراسات فى مجال التحور الوراثي للنباتات والكائنات الحية الدقيقة على التأثيرات المباشرة لحث الكائنات المحورة وراثيا على إحداث تغيرات نظامية من خلال تغيير تعبير الجينات وطفورها . وسوف نعرض في هذا الموضوع النقاط التالية :

١- الأحماض النووية الحرة :

من المعروف أن الـ DNA العارى وهو DNA بدون غلاف فيروسي يمكن لهذه الأحماض النووية أن تتحرر من الخلايا بعد موت الكائن . ولقد شوهدت الأحماض النووية بحيويتها وبقائها فعالة لمدة طويلة بعد موت الكائن ، ولقد أقر معهد علوم الدراسات الاجتماعية أن الأحماض النووية تعرف الآن ببقائها فى كل البيئات متضمنا ذلك النظام الهضمى فى الكائنات الحيوانية ، ولقد عرفت الآن عملية النقل الأفقى للجينات على مستوى البكتيريا والتحول الوراثى بإعطاء الـ DNA والتوافيق الوراثية بأن لها دورا معنويا فى المقاومة للعقاقير والمضادات الحيوية للأمراض المعدية .

٢- الكائنات المعدلة وراثيا :

وهنا سوف نتناول مثالاً على بكتيريا *Klebsiella planticola* والتى تسببت فى موت نباتات القمح فى التربة المختلطة بالكائنات الدقيقة خلال المراحل التجريبية ، فهى لم تتسبب فقط فى موت نباتات القمح بل أثرت أيضا تأثيرا سلبيا على العمليات الميكانيكية مع القمح ، وقد اختلف ذلك من حالة لأخرى . وفى حالة أخرى فإن البكتيريا المهندسة وراثيا من نفس النوع السابق والتى تعمل على المساعدة فى تحويل المخلفات المحصولية إلى إيثانول قد قضت على ٥٠% من الفطريات المثبتة للنيتروجين ، ومع ذلك فإن السلالات الأبوية من نفس البكتيريا وغير المحولة وراثيا لم تتسبب فى قتل نباتات القمح مثل الأنواع المحورة وراثيا منها .

٣- القيمة الغذائية :

تكمن خطورة نقل الجينات فى الإقلال من القيمة الغذائية للأطعمة بسبب التوافيق الوراثية غير المرغوبة والتى تحدث تغيرات كيموحيوية فى النباتات .

٤- تلوث التربة :

أظهرت دراسات حديثة عديدة أن جذور نباتات الذرة المحورة وراثيا بجينات ال *Bt* تقوم بإفراز سموم الـ *Bt* والتى ترتبط بجزيئات التربة وتبقى نشطة بها لعدة شهور ضد الحشرات والميكروبات ويعد تأثيرها على العشائر الميكروبية فى التربة غير معروف حتى الآن .

٥- التفوق العشبي :

تزيد عملية نقل الجينات من خطورة إنتاج أعشاب مقاومة لمبيدات الحشائش ، الأمر الذى سوف يترتب عليه الحاجة لمبيدات حشائش أكثر وأقوى لمكافحة تلك الأعشاب ، وهذه سوف تحتاج إلى تكاليف ملايين الأطنان من المبيدات لمكافحتها . ولقد شوهدت حديثا أعشاب فى حقول الكانولا مقاومة لثلاثة مبيدات وقد أظهرت اختبارات الـ DNA أن هذه الأعشاب مقاومة لكل من المبيدات التالية :

Roundup , Liberty , Pursuit Chemicals

وفيما يلي بعض المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيا لتحقيق الأمن الغذائي للشعوب :

١- تم عمل أول نباتات معدلة وراثيا فى عام ١٩٧٠ واستخدمت على نطاق واسع فى عام ١٩٩٣ وأحيانا كانت تتم العملية بأخذ جينات من أنواع معينة ونقلها لأنواع أخرى .

٢- تحتوى أكثر من ٦٠% من الأطعمة التى نتناولها على مشتقات مهندسة وراثيا وهذه تتضمن أغذية الأطفال ، الصودا ، شيبسى الذرة ، الكيك ، وكل الأغذية التركيبية للأطفال مثل الصويا واللبن والتى تحتوى بصفة أساسية على مشتقات معدلة وراثيا .

٣- إن الهندسة الوراثية فى مجال الزراعة سوف تعمل على تلبية الحاجة الملحة لإنتاج مبيدات حشائش أكثر سمية لمكافحة الأعشاب المتفوقة Supper weeds وسوف تعمل أيضا على إنتاج مبيدات حيوية لمكافحة الحشرات المتفوقة Super insects .

٤- يمكن إزالة الحساسية للأطعمة المهندسة وراثيا من خلال الهندسة الحيوية لها ، كما يوجد احتمال قائم وهو أن البروتينات من مصادر غير غذائية ربما تصبح مصادر جديدة للحساسية .

٥- تحتوى الأطعمة المهندسة وراثيا على جينات من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية الشائعة .

٦- يلزم حكومة الولايات المتحدة الأمريكية أمانا غير خاص لإختبار الأطعمة المعدلة وراثيا حيث لا توجد منتجات معلمة ، خاصة وأن ٨١% من المستهلكين يرغبون فى تعليم الأطعمة المعدلة وراثيا .

الخلاصة :

هناك أموراً معينة تحيط باستخدام الكائنات المعدلة وراثيا تتركز هذه الأمور حول عملية التحور الوراثى نفسها ، خاصة وأن التحور الوراثى يرجع إلى انتقال DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن آخر يتبع جنس آخر . وقد أمكن حديثا استخدام DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن آخر يتبع يتبع جنساً أخر . كما أمكن حديثا استخدام الـ DNA من مصدر حيوانى أو من البكتيريا ونقله للنباتات ، ومن أحد الأمثلة على ذلك هو نقل الجينات من كائنات حيوانية مثل الأسماك وحقنها داخل جينومات أخرى للأطعمة مثل الفراولة Strawberries أو الطماطم ، ومن هنا نستطيع أن نستنتج ونتوقع المخاطر الصحية المحتملة المترتبة على نقل الجينات بين أنواع مختلفة من الكائنات ، وتسمى مجموعة الأطعمة التى استخدمت فيها تقنيات التطويع الجينى بالـ Frankenfood أو بالأطعمة خليعة الهندسة الوراثية .

الأسئلة :

١- اذكر الهدف من إنتاج النباتات المعدلة وراثيا ؟

٢- ما هي الكائنات المعدلة وراثيا ؟

٣- ما هى المنتجات الغذائية التى تم إعدادها من خلال تكنولوجيا إدخال الجينات ؟

٤- لماذا الحاجة إلى زيادة إنتاج الغذاء والحد من معدلات الفقد فى الإنتاج باستخدام طرق الهندسة الوراثية ؟

٥- لماذا تنتج نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات *Bt* ، وما هي طبيعة عمل المادة البروتينية السامة للـ *Bt* فى القناة الهضمية ليرقات الحشرات ؟

٦- اشرح دور الأطعمة المعدلة وراثيا في تحقيق الأمن الغذائي للشعوب ؟

٧- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- أمكن استخدام جينات *Bt* فى تكوين صفة المقاومة فى البطاطس ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات ؟

ب- ترتب على استخدام *Klebsiella planticola* المهندسة وراثيا فى حقول القمح للمساعدة فى تحويل المخلفات المحصولية إلى إيثانول القضاء على ٥٠% من الفطريات المثبتة للنيتروجين ؟

ج- لا يترتب على نقل الجينات حدوث تغيرات كيموحيوية فى النباتات تؤدي إلى توافيق وراثية غير مرغوبة تقلل من القيمة الغذائية للأطعمة ؟

د- يترتب على استخدام النباتات المعدلة وراثيا بجينات *Bt* حدوث تأثير على العشائر الميكروبية فى التربة بفعل سموم *Bt* التى ترتبط بجزيئات التربة وتبقى نشطة بها لعدة شهور ؟

هـ- تحتوى أكثر من ٦٠% من الأطعمة التى نتناولها على مشتقات مهندسة وراثيا؟

obeikandl.com

الفصل الثاني

نباتات *Bt* المهندسة وراثيا كعوائل نباتية كاذبة للآفات

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

١- يوضح المميزات الاقتصادية والبيئية للنباتات المهندسة وراثيا بالجينات المعبرة وظيفياً من Bt والمنتجه للمواد البروتينية السامة المضادة للحشرات .

٢- يعي بمحدودية استخدام المنتجات البكتيرية والتى ترجع إلى التكلفة المرتفعة والانخفاض الشديد فى خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ،الأمر الذى يتسبب فى زيادة معدلات الرش بهذه المبيدات الميكروبية.

٣- يستعرض أهمية دعم صفات المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام Chitinase gene الموجود فى سلالة *Bacillus licheniformis* والذى يقوم بتحليل Chitin، والشيتين بدوره يوجد فى كيوتيكل الكائنات البحرية من الفقاريات ، الهيكل الخارجى للحشرات ، الجدار الخلوى للفطريات ،بينما لا يوجد فى الفقاريات والكائنات النباتية ،ولذلك فإنه يعتبر مبيداً حيوياً ذا خاصية انتخابية حيث يعمل ضد بعض الكائنات ولا يعمل ضد البعض الاخر .

٤- يفهم بأن الشيتين أصبح له اهتماماً خاصاً فى مكافحة كل من الفطريات التى تسبب الأمراض النباتية والآفات الحشرية حيث يتسبب إنزيم Chitinase فى زيادة معدل موت الحشرات بفعل المبيد الحيوى *Bt*.

٥- يعي بأن تطبيق استخدام إنزيم الشيتينيز ضمن تحضيرات المبيد الميكروبى Bt سوف يؤدى إلى اتصال جيد وأفضل للـــ Bt مع الغشاء الخلوى للقناه الهضمية للحشرات.

٦- يفهم بأن استخدام مثل هذه المبيدات الميكروبية (استخدام الجينات المنتجة لإنزيم الشيتينيز فى عملية التحول الوراثي للنباتات) سوف تكون مفيدة جدّ فى القضاء على صفة المقاومة الموجودة عادة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt*.

٧- يستوعب أهمية استخدام إنزيم Chitinase في تحسين كفاءة المبيدات الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الآفات.

٨-يستعرض أثر استخدام المبيدات الكيماوية في مكافحة الآفات ولمكافحة الفطريات والحشائش فيما تسببه من أضرار بيئية تضر بالكائنات النافعة فى البيئة وغير المستهدفة من عملية المكافحة الكيماوية

٩-يدرك وجود الأثر المتبقى للمبيدات فى أوراق النباتات وفى الأطعمة مما يتسبب فى تلوث البيئة وفى أضرار صحية خطيرة

١٠- تفهم خطورة عملية استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات والذي يترتب عليه زيادة الضغوط البيئية على الكائنات بفعل زيادة معدلات التلوث البيئى .

١١- بيان ضرورة إدخال التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة لإنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض لتحسين إنتاجية النباتات وللإقلال من الفاقد فى الإنتاج وللحد من تلوث البيئة بالكيماويات التى تستخدم فى مكافحة الأمراض والآفات.

١٢- استعراض أن العديد من الأنواع الحشرية والمسببات المرضية والحشائش قد تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات المستخدمة فى مكافحتها.

١٣- التوعية بدور العالم Mayer بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة والذى أوضح أن النباتات تحتوى على بروتينات الحماية ،وهذه البروتينات وجدت فى جنس Citrus ،الموالح والذى وجد هو وزملاؤه مجموعتين من الإنزيمات فى جنس Citrus هما Chitinase, glucanases حيث وجدوهما فى الجذور والأوراق والثمار والأزهار مما يجعل هذه النباتات نشطة فى مكافحة الحشرات والفطريات.

١٤- توضيح دور عالم فسيولوجيا النبات McCollum والذي ركز فى عمله على إنزيمات Glucanases التى تقوم بتكسير Glucans ، وهذه الإنزيمات تعتبر مركبات مضادة للفطريات وتوجد فى الموالح.

المقدمة :

Chitinase هو الإنزيم المحلل للشيتين ، والشيتين هو واحد من معظم Biopolymers الموجودة فى الطبيعة ؛ لذلك فقد أخذ Chitinase اهتماماً خاصاً فى

مجال الصناعة والطب والمكافحة البيولوجية. وتقوم العديد من سلالات البكتريا بإنتاج إنزيمات Chitinase ،وهذه تتضمن الأجناس التالية *Bacillus, Streptomyces, Serratia, Alteromonas, Aeromonas* حيث تقوم هذه السلالات بإنتاج العديد من إنزيمات Chitinases. ولقد أوضحت الدراسات أن إنزيمات Chitinases المنتجة بواسطة *Bacillus circulans , Serratia, Streptomyces* يتم تخليقها بواسطة العديد من الجينات. بينما العديد من الإنزيمات المنتجة بواسطة *Streptomyces, B. circulans, Alteromonas* يتم تخليقها بواسطة جين واحد . وقد لوحظ أن المزارع النشطة من *Bacillus lichenformis TP-1* والتى عمرها من ٦- ٧ ساعات كانت ذات كفاءة عالية جداً فى إنتاج Chitinase حيث كانت تعطى نشاطاً لثلاثة إنزيمات من مجموعة Chitinases ، بينما وجد أن المزارع القديمة من *B. lichenformis* أظهرت نشاطاً لإنزيم واحد فقط من مجموعة Chitinases .

تعطى المبيدات الحشرية الميكروبية ميزة جيدة من ناحية الأمان والكفاءة فى مكافحة الحشرات. ففى عام ١٩٩٢ تم معاملة أكثر من ٢ مليون من مسطحات وزراعات المحاصيل الحقلية فى الولايات المتحدة الأمريكية بالمبيد الحيوى المستخلص من الباسيلس ثيرونجنسز، بينما فى عام ١٩٩٦ تم دخول المحاصيل الحقلية المهندسة وراثيا بالجينات المعبرة وظيفياً من *Bt* والمنتجه للمواد البروتينية السامة المضادة للحشرات ، وقد تسبب هذا فى نتائج جيدة وعديدة لها مميزات اقتصادية وبيئية ، وعلى سبيل المثال ، منذ أن تم إدخال نباتات القطن المهندسة وراثياً فى عام ١٩٩٦ فى مجال الزراعة حدث انخفاض فى كمية المبيدات التى تستخدم فى الرش على هذه النباتات بواقع ٣,٨ مليون لتر فى الولايات المتحدة الأمريكية ، وقد أدى هذا إلى حدوث انخفاض ملحوظ فى كمية المبيدات الحشرية التى تستخدم في مكافحة آفات نباتات القطن . ومع ذلك فإن إستخدام النباتات المهندسة وراثياً بجينات *Bt* ربما تتسبب فى أمر خطير يترتب عليه مقاومة الحشرات لكل من نباتات *Bt* ومعلق المبيد الميكروبى المستخدم فى رش هذه النباتات .

وتحت الظروف الحقلية لم توجد حالات تكونت فيها صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المهندسة وراثياً بجينات *Bt* ، بينما تكونت صفة المقاومة هذه فى حشرة السوس Plutella xylostella ضد سموم *Bt* عند رش هذا المبيد الحيوى تحت الظروف الحقلية ، أما العشائر المعملية من حشرة السوس والتى

كانت مقاومة للمادة البروتينية السامة Cry 1A استطاعت أن تقاوم النباتات المهندسة وراثياً والتى كان يحدث فيها تعبير مرتفع نحو إنتاج المادة البروتينية السامة Cry 1Ac .

ومن الأمثلة فى هذا الإطار نباتات البطاطا حيث تعتبر من المحاصيل الزراعية الهامة فى مجال الإنتاج الزراعى. وتبذل الآن الجهود المستمرة فى مجال التكنولوجيا الحيوية لإنتاج نباتات منها مقاومة للآفات ، وهذه تعتمد على إحداث تحول وراثى للنباتات بجينات فردية تنتج الإنزيمات أو السموم المضادة للحشرات وهذه تعتمد أساساً على جين الدلتا إندوتوكسين بروتين من سلالات *Bt* المكونه للجراثيم والموجبة لصبغة جرام. حيث تعتبر المادة البروتينية السامة المعروفة بـــ ICP (Insecticidal crystal protein) من Btk وهى مادة سامة متخصصة ضد الحشرات القشرية. وحتى الآن لم ينتج عن هذه المادة السامة أى سمية على الإنسان والفقاريات الأخرى . وعلى ذلك فلقد تم استخدام المنتجات البكتيرية منذ فترة طويلة وهذا الاستخدام لازال يعتبر محدوداً للغاية ، ويرجع هذا إلى التكلفة المرتفعة والانخفاض الشديد فى خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ، الأمر الذى يتسبب فى زيادة معدلات الرش بهذه المبيدات الميكروبية .

فلقد تم هندسة العديد من النباتات وراثياً بجين Cry 1A من خلايا بكتريا الباسيلس ثيرونجنسز لإنتاج نباتات مقاومة للعديد من الحشرات القشرية ، ومع ذلك فإن الجينات المنقولة للنباتات والتى تنتج المادة البروتينية السامة النشطة قد حدث لها تعبير وراثى فى نباتات البطاطا ، القطن ، الدخان ، الذرة ، الأرز. ولقد تبين أن استخدام المنطقة الأصلية التى تقوم بإنتاج الدلتا إندونوكسين بروتين والتى تتميز بمحتوى مرتفع من القواعد النيتروجينية أدنين – ثايمين (A-T) أظهرت أنه يوجد انخفاض غير عادى فى تعبيرها الوظيفى فى النباتات. بينما تبين أن التحور الوراثى فى هذه المنطقة لزيادة تتابعات ومحتوى السيتوسين – جوانين فيها (G-C) قد تسبب فى زيادة ملحوظة جداً فى التعبير الوظيفى لهذه المنطقة نحو إنتاج المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات. مما يدل على أن زيادة تتابعات G-C فى منطقة جين الدلتا إندوتوكسين بروتين على حساب تتابعات A-T سوف تؤدى إلى زيادة إنتاج هذه المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات .فلقد كانت أول خطوة فى اتجاه تكوين نباتات من البطاطس مقاومة للحشرات أجريت لمحاولة نقل جين Cry IA(a) نقلاً مباشراً بواسطة منطقة Promoter فى فيروس تبرقش القرنبيط

Cauliflower من خلال التحول الوراثى بواسطة الأجروباكتريم٠ وقد أعطت نباتات البطاطس المحولة وراثيّاً نتائج جيدة فى مقاومة النباتات للحشرات القشرية للحد نسبيّاً من أخطار المبيدات الحشرية الكيماوية .

دور إنزيم الشيتينيز في تحسين كفاءة المبيدات الحيوية للآفات لترشيد استخدام المبيدات والحد من تلوث البيئة :

يلعب إنزيم الشيتينيز Chitinase دوراً أساسياً فى عملية التحلل البيولوجى للشيتين Chitin ، الشيتين عبارة عن بوليمر من 1, 4- β- N- Acetyl -D- Glucosamine٠ وبالرغم من هذا فإن إنزيم الـ Chitinase وناتج تحلل الشيتين يتم استخدامهم فى صناعة الأغذية ، الأدوية وفى مجال الزراعة٠ ففى مجال الزراعة يستغل نشاط إنزيم الـ Chitinase في المكافحة الحيوية ، للفطريات الممرضة للنباتات ؛ ولذا فإنه يعتبر مبيداً حيوياً مضاداً للفطريات ذا كفاءة عالية٠ ونظراً لمقدرة وكفاءة إنزيم Chitinase فى المكافحة الحيوية ، لذا فقد تم عزل هذا الجين وتركيبه فى خلايا البكتريا من خلال استحداث تراكيب وراثية جديدة من البكتريا تحتوى على هذا الجين ومن ثم استخدامها فى المكافحة الحيوية ، وكذلك فقد أمكن استخدام جين Chitinase فى إنتاج نباتات محولة وراثيا بهذا الجين ومقاومة للفطريات .

وتجرى طرق عزل البكتريا المحتوية على جين Chitinase من الأنظمة المائية التى تأخذ اللون الأسود وباستخدام بيئة الأجار الإنتخابية المحتوية على Chitin٠ وتستطيع معظم النباتات الراقية أن تقوم بتخليق مجاميع من البروتينات المرتبطه بعملية الإصابة Pathogenesis-related (PR) proteins وذلك عندما يحدث للنباتات إصابة بالمسببات المرضية ، ولذا فإن Chitinase يعتبر واحداً من هذه البروتينات ويقوم بتكسير الرابطة ١ ، ٤ من البوليمر N-acetyl -D-glucosamine للشيتين٠ حيث إن الشيتين يعتبر مكوناً أساسياً فى الجدار الخلوى للعديد من الفطريات بينما يلعب الشيتينيز دوراً أساسيّاً فى الحماية من المسببات المرضية الفطرية٠ وفى السنوات الحديثة أظهرت النباتات المتحولة وراثيا من الدخان ، الراى ، الأرز مستويات مختلفة من نشاط إنزيمات Chitinases وذلك من خلال إدخال Chitinase gene لخلايا هذه النباتات لزيادة مقاومتها للأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات، وقد تم أيضا حديثاً إدخال جين Chitinase من الأرز لنباتات القمح وقد حدث لهذا

الجين تعبير وظيفى فى نباتات القمح وهذه النباتات المحورة وراثيّاً من القمح سوف تصبح مقاومة للفطريات .

فى إطار المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام المبيدات الميكروبية فإنه يوجد أيضاً Chitinase gene فى سلالة *Bacillus licheniformis* والتى تقوم بإنتاج كميات كبيرة جدّاً من إنزيم Chitinase التى يقوم بتحليل Chitin. والشيتين Chitin هو عبارة عن سلسلة طويلة Homopolymer من مادة الإن أسيتايل جلوكوز أمين يوجد فى كيوتيكل الكائنات البحرية من الفقاريات ، الهيكل الخارجى للحشرات ، الجدار الخلوى للفطريات. بينما لا يوجد فى الفقاريات والكائنات النباتية ولذلك فإنه يعتبر مبيداً حيويّاً ذا خاصية إنتخابية حيث يعمل ضد بعض الكائنات ولا يعمل ضد البعض الأخر ، ولذلك فإن إنزيم Chitinase هو الذى يقوم بتحليل الشيتين ، ولقد أصبح له إهتماماً خاصّاً فى مكافحة كل من الفطريات التى تسبب الأمراض النباتية وكذلك الآفات الحشرية .

ولقد أوضحت دراسات عديدة أن إنزيم Chitinase يتسبب فى زيادة معدل موت الحشرات بفعل المبيد الحيوى *Bt* ؛ ولذلك فإن تطبيق استخدام هذا الإنزيم ضمن تحضيرات المبيد الميكروبى *Bt* يؤدى إلى اتصال جيد وأفضل للـ *Bt* مع الغشاء الخلوى للقناه الهضمية للحشرات ؛ ولذا فإن استخدام مثل هذه المبيدات سوف تكون مفيدة جدّاً فى القضاء على صفة المقاومة الموجودة عادة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt*. وعلى سبيل المثال فإن أخطر الآفات الزراعية وهى حشرة دودة البنجر *Spodoptera exigua* يمكن مقاومتها بواسطة مبيد *B.t. aizawai (B.t.a)* وهذا يتطلب استخدام جرعة عالية من هذا المبيد الميكروبى ، وذلك من خلال نقل جين Chitinase من B. licheniformis إلى B.t.a وهذا العمل يتطلب إجراء حصر وانتخاب لسلالات الباسيلس المختلفة والتى تتميز بإنتاج مرتفع من إنزيم Chitinase، ثم اختبار كفاءة Chitinase المنتج من السلالة العالية الإنتاج نحو مقدرته على تعزيز الكفاءة السمية لسلالات Bta ضد حشرة ديدان البنجر *S. exigua* وذلك قبل أن يتم نقل هذا الجين لسلالات Bta. وأخيراً يتم نقل الجين إلى سلالات *Bta* ومن ثم اختبار السلالة المحورة وراثيّاً نحو التحسين الذى طرأ على كفاءتها السمية ضد حشرة ديدان البنجر *S. exigua*.

لذلك يمكن اعتبار إنزيم Chitinase مفيدا لتحسين كفاءة المبيدات الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الآفات. وفى الدراسة التى أجراها Tantimaranich عام ١٩٩٧ بقسم الميكروبيولوجيا الإكلينيكية بكلية الطب والتكنولوجيا بجامعة ماهيدول بتايلاند نحو تحسين الكفاءة السمية لسلالات *Bt. aizawa* بإدخال الجين الخاص بإنتاج Chitinase لهذه السلالات. حيث قام بدراسة إنتاج وتعبير الجين المنتج للإنزيم فى ٢٠٠ عزلة من سلالات *Bacillus* ؛ وجد أن سلالة B. licheniformis TP-1 قامت بإنتاج أعلى كمية من الإنزيم تحت درجة pH القلوى جدا وهذا على مستوى ٦٨ عزلة منتجة لإنزيم Chitinase. ولذا فإن إنزيم Chitinase من السلالة TP-1 قد تم استخدامه مع السلالة *Bta* فى صورة مختلطة لمكافحة يرقات حشرات دودة البنجر. وقد اتضح من استخدام ١٠ مللى من وحدات هذا الإنزيم أن قيمة الجرعة المميته لـ ٥٠% من الحشرات بواسطة *Bta* قد انخفضت بواقع ٧,٦ ، ١٣,٨ ، ١٥ مرة خلال الأيام ٣ ، ٥ ، ٧ على الترتيب ، مقارنة باستخدام *Bta* بمفردها. وبالإضافة إلى هذا فإن خلط ١٠ مللى من وحدات إنزيم *Chitinase* +*Bta* بالجرعة المميته قد أعاقت نمو وتطور اليرقات.

وتعتبر خلايا *E. coli* المتحولة وراثياً بواسطة الجين المنتج لإنزيم Chitinase من السلالة TP-1 أنتجت أيضاً العديد من إنزيمات Chitinases وبكميات مختلفة. ولذلك فإنه يمكن الإستفادة من جين Chitinase بنقله لخلايا Bt لتدعيم كفاءتها فى برامج المكافحة الحيوية للآفات الحشرية والفطريات بالتالى. حيث إن استخدام طرق الهندسة الوراثية فى نقل جين الدلتا إندوتوكسين بروتين من خلايا Bt ،وكذلك نقل جين Chitinase gene من خلايا *B. lichenformis TP-1* لخلايا النبات سوف يزيد من كفاءة هذه النباتات فى مكافحة الآفات التى تصيب الجذور والسيقان والثمار ؛ الأمر الذى سوف يترتب عليه عدم استمرار بقاء مثل هذه النباتات المحورة وراثيا بجينات بكتيرية كعوائل لمثل هذه الآفات ، وهذه يتطلب ضرورة وضع هذه النباتات تحت الملاحظة والمتابعة المستمرة للتأكد من عدم وجود أى تفاعلات حساسية أو آثار جانبية قد تنتج عن استخدامها ، حيث إن النباتات التى قد تنتج عنها مثل هذه الآثار أو التفاعلات يتم استبعادها فوراً لما قد ينتج عنها مستقبلاً من أضرار صحية. وبناء على ذلك فإن النباتات المحورة وراثياً يجب أن تتوافر فيها وسائل الأمان الحيوى وألاّ يترتب على إحداث التعديلات الوراثية فيها أيه أضرار أو آثار جانبية وإلا فقدت أهميتها الاقتصادية.

ومع هذا تتميز عملية التحور الوراثى للنباتات بجين Chitinase بجانب جين *Bt* بأنها سوف تعمل على عدم إمكانية تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المعدلة وراثياً بهذه الجينات معاً ، على العكس مما لو كانت النباتات محورة فقط بجين *Bt* والتى يمكن أن توجد إمكانية فى تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد هذه النباتات المحورة بجين واحد.

ولقد أدت كل من عملية استخدام النباتات القابلة للإصابة بالمسببات المرضية واستخدام التسميد الأزوتى فى الزراعة الحديثة معاً إلى زيادة قابلية النباتات للإصابة بالأمراض ، الأمر الذى أصبحت معه عملية مكافحة الأمراض النباتية تعتمد أساساً على استخدام المبيدات الفطرية لمكافحة المدى الواسع من الأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات التى تصيب المحاصيل الحقلية. وقد ورد بتقرير منظمة حماية البيئة بالولايات المتحدة الأمريكية أنه فى الولايات المتحدة الأمريكية وحدها تحدث سنويا ٣٠٠٠ - ٦٠٠٠ حالة سرطان ناتجة عن بقايا المبيدات الحشرية فى الأطعمة ، حوالى من ٥٠ - ١٠٠ حالة تنتج عن التعرض المباشر للمبيدات الحشرية أثناء الرش ، وهو الأمر الذى جعل الحكومات فى العديد من الدول تحاول التخلى عن رش المبيدات الكيماوية على المحاصيل الحقلية وذلك لتأثيراتها الضارة على البيئة وعلى نمو النباتات وعلى جودة المنتجات الزراعية ؛ ولذا فقد أجريت دراسات عديدة لمحاولة التغلب على هذه المشكلة التى تهدد صحة المواطنين والبيئة من خلال استبدال المبيدات الحشرية الكيماوية بطرق أخرى آمنة على البيئة ، وتعتبر عملية المكافحة الحيوية للأمراض النباتية هى جزء من حل مشكلة استخدام المبيدات الكيماوية للإقلال من الخسائر المتسببة عن الأمراض التى تصيب النباتات، حيث إن كفاءة المكافحة الحيوية لم يكن متوقعاً أنها تساوى كفاءة المبيدات الفطرية الممتازة ، بل أظهرت بعض نظم المكافحة الحيوية كفاءة عالية جداً فى المكافحة الحيوية للفطريات.

ومن الأنظمة ذات الكفاءة فى المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النباتات هى عملية التنافس التى تحدث فى منطقة الريزوسفير المحيطة بجذور النباتات بين كل من الفطريات والبكتريا من خلال عملية التضاد والتى لها المقدرة على الاستجابة لحث عملية النمو من خلال إنتاج العوامل المنبهة لنمو النباتات لتقوى على مهاجمة المسببات المرضية وتهرب من حدوث الإصابة. والتقدم الكبير الذى حدث فى الاونة الأخيرة فى المكافحة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة كان استجابة

مباشرة للاتجاهات الحديثة فى تقنيات الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية للنباتات والكائنات الحية الدقيقة والتى من خلالها أمكن تطويع بعض الجينات لتعبر عن نفس آدائها الوظيفى فى عملية المكافحة الحيوية مثل عملية إنتاج نباتات متعدلة وراثيا بجين Delta endotoxin encoding gene المنقول من خلايا *Bacillus thuringiensis* للنباتات بغرض مكافحة الحشرات. ومن عوامل المكافحة الحيوية المسجلة الآن هى ما يلى :

١- *Agrobacterium radiobacter* ضد الخدوش القمية وتستخدم فى الولايات المتحدة وأستراليا ونيوزيلندا.

٢- *Pseudomonas fluorescens* ضد البثرات البكترية وتستخدم فى أستراليا.

٣- *Pseudomonas fluorescens* وتستخدم ضد أمراض البذور فى الولايات المتحدة الأمريكية.

٤- *Peniophora gigantea* ضد *Fommes annosus* فى المملكة المتحدة.

٥- *Pythium oligandrum* ضد *Pythium spp.* فى روسيا.

٦- *Trichoderma viride* ضد أمراض الخشب فى أوربا.

٧- *Trichoderma spp.* ضد أمراض الجذور فى روسيا.

٨- *Fusarium oxysporiun* ضد *Suarium oxysporum* فى اليابان.

٩- *Trichoderma harzianum* ضد أمراض الجذور فى الولايات المتحدة.

١٠- *Gliocadium virens* ضد أمراض البذور فى الولايات المتحدة الأمريكية.

١١- *Trichoderma harzianum / polysporum* ضد تسوس الخشب فى الولايات المتحدة الأمريكية.

ومع ذلك تعتبر المبيدات الحيوية الميكروبية المضادة للحشرات ومقاومة العوائل النباتية للحشرات والمسببات المرضية طرقاً بيئية آمنة عادة تستخدم لحماية المحاصيل الحقلية. وعلى سبيل المثال إنتاج النباتات لوسائل الدفاع البروتينية تعتبر مسئولة جزئياً عن المناعة المكتسبة فى النباتات من خلال استحداث صفة المقاومة بها عن طريق استخدام الهندسة الوراثية فى نقل إنزيم Chitinase لخلايا النباتات ، هذا الإنزيم الذى بدوره يقوم بتحليل الشيتين هو مادة عديدة السكريات توجد فى

الهيكل الخارجى للحشرات وفى القناه الهضمية. ويكون تعبير هذا الجين فى خلايا النبات استجابة مباشرة لتغذية الحشرات على هذه النباتات أو عند تلقيحها بالمسببات المرضية من الفطريات والبكتريا والفيروس ؛ ولذلك فإن هذه تعتبر مناعة مكتسبة فى النباتات. ويشبه التركيب العام لجين Chitinase الموجود فى الحشرات ؛ الجينات الأخرى الموجودة فى الكائنات ذات الأنوية الحقيقية بينما يعتبر أكثر تعقيداً عن الجينات الأخرى المشابهة له الموجودة فى النباتات.

لهذا فإن العمل الحيوى يعتبر ذات أهمية خاصة متميزة فى صناعة الزراعة من خلال المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية حيث أصبحت منتجات المكافحة الحيوية الآن تعزز من صحة النباتات ، وتزيد من الإنتاج النباتى وجعلت هناك أماناً فى استهلاك السلع الغذائية وفى العمل الزراعى ، الأمر الذى جعل الشركات التى تعمل فى مجال Biocontrol أصبحت تعتمد فى عملها على الطبيعة واستبعدت استخدام المبيدات الكيماوية وإنتاجها وعملت على الحد من الأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات وخاصـــة التى تصيب الجذور ، فلقد أصبحت السلالة T-22 من *Trichoderma harzianum* ذات كفاءة عالية جداً فى مكافحة أمراض الجذور المتسببة عن الفطريات وأدت إلى الإقلال من استخدام المبيدات الكيماوية الفطرية وقد قامت منظمة حماية البيئة بالولايات المتحدة على الفور بتسجيل هذه السلالة بغرض استخدامها فى المكافحة الحيوية ، وتستخدم منتجات هذه السلالة فى صورة جراثيم يتم حقنها فى التربة التى تستخدم فى زراعات الصوب النباتية أو توضع مباشرة على البذور أثناء الزراعة. وفى تلك الفترة تبدأ الميكروبات فى النمو على جذور النباتات وتتغذى على by-products الناتجة عن الجذور كناتج طبيعى لعملية نمو النباتات ، وفى الحال يبدأ الفطر المستخدم فى المكافحة الحيوية بتطويق منطقة الجذور وقتل الفطريات الممرضة التى تحاول اختراق الجذور لتتغذى عليها . ويتم ذلك من خلال عدة طرق بعضها تلامس فسيولوجى وبعضها يتعلق بإنتاج الإنزيمات مثل Chitinase الذى يعمل على تكسير الجدار الخلوى للفطريات.

وفى هذا الإطار تستخدم جينات الترايكودرما والتى تتسبب فى إنتاج البروتينات المضادة للفطريات فى إنتاج نباتات محولة وراثياً بهذه الجينات لمكافحة الحشرات والأمراض النباتية. وقد اهتمت الشركات التى تعمل فى مجال المكافحة الحيوية من خلال استخدام نواتج التعبير الجينى بنقل هذه الجينات لخلايا النباتات .

وقد أظهرت النباتات المعدلة وراثيّاً بهذه الجينات درجات عالية من المقاومة ضد الهجمات الفطرية ، وقد تسلمت هذه الشركات حديثاً جينات من *Streptomyces* والتى تعزز من مقاومة النباتات للحشرات عندما يتم حقنها بداخل الخلايا النباتية لإحداث تحور وراثى للخلايا بهذه الجينات. ولقد تأسست شركة Bioworks فى يونيو سنة ١٩٩٣ ومقر هذه الشركة جنيف ونيويورك ولها العديد من المكاتب التى تقدم تسهيلات فى مجال الأبحاث العلمية المرتبطة بعمل الشركة.

بروتينات الحماية النباتية :

مثلما يحدث فى أجسامنا فإن النباتات تمتلك ميكانيكات بناء الحماية عندما يحدث لها إصابة ، وهذه تتمثل فى إنتاج البروتينات المرتبطة بالإصابة Pathogensis-related (PR) proteins وهذه البروتينات يتم استحداثها وتبدأ فى العمل فى الوقت الذى يوجد فيه المسبب المرضى أو الحشرة على السطح الخارجى للنبات، وعندما تبدأ الحشرة فى التغذية على النبات فإنها تعمل على تحليل المركبات النباتية فى اللعاب وتعمل على تحويلها إلى بروتينات الحماية وهنا يحدث خلل فى وظائف الخلايا النباتية عند تغذية الحشرات والتى بدورها تدفع بروتينات الحماية على الظهور. فالبروتينات والكربوهيدرات المفرزة بواسطة المسببات المرضية من الفطريات تعمل على بدأ تكوين نظم الحماية فى النباتات.

ولقد وجد العالم Mayer بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة أن النباتات تحتوى على بروتينات الحماية وهذه البروتينات وجدت فى جنس Citrus الموالح. وفى هذا الإطار وجد Mayer وزملاؤه مجموعتين من الإنزيمات فى جنس Citrus هما Chitinase, glucanases حيث وجدوهما فى الجذور والأوراق والثمار والأزهار مما يجعل هذه النباتات نشطة فى مكافحة الحشرات والفطريات. ولتدعيم هذه المعلومات بصورة أكبر عن نظم الدفاع فى النباتات فإن هيئة بحوث إنتاج الموالح فى فلوريدا بالولايات المتحدة قامت بتدعيم أبحاث وزارة الزراعة الأمريكية ماديّاً. فإذا تم إنتاج نباتات بنظم دفاع ذاتية فإنها سوف تنمو أفضل وبتكاليف أقل من خلال الحد من استخدام المبيدات الفطرية والحشرية ، الأمر الذى سوف يترتب عليه حماية البيئة من التلوث.

المنتجات الدفاعية الثلاثة الحديثة :

هذه المنتجات الدفاعية المسجلة فى فلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية عبارة عن ثلاثة مركبات هى: Key Plex 250-DP, 350-DP and 445-DP وهذه المركبات تعتبر مبيدات فطرية نشطة جداً ضد نوعين من الأمراض التى تسبب وباء أو طاعون الموالح Plague citrus هما البقع الشحمية Greasy spot التى يسببها *Cosphaerella citri* ، وسقوط البراعم الثمرية التى يسببها *Colletotrichum acutatum*. وهنا أود أن أشير إلى أن أراضى فلوريدا غنية بالكالسيوم وفقيرة فى محتواها من المادة العضوية وتحتاج إلى إضافة العناصر الغذائية للتربة عند الزراعة فيها. وقد أنتج معمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة منتجات تحتوى على العناصر الغذائية الصغرى للنبات ويتم استخدامها فى تغذية النباتات لزيادة معدل نموها ولجعل النباتات صحيحة ، وقد استخدم علماء وزارة الزراعة الأمريكية هذه المنتجات وأضافوا إليها بعض المركبات التى تزيد من مقاومة النباتات بجعلها تنتج معدلاً أعلى من البروتينات المرتبطة بالإصابة المرضية ، ويمكن استخدام هذه المنتجات المحسنة عن طريق الرش على النباتات أو بحقنها فى التربة لحماية محصول الطماطم وأشجار الموالح وقد أوضح العالم Butler بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة أن Key Plex 350-DP قد تسبب فى الإقلال من سقوط البراعم الزهرية من على الأفرع بمعدل يصل لحوالى ٨٠% مع العلم بأن Key Plex أيضا يعتبر ذا كفاءة عالية ضد الذبابة البيضاء والتى عندما تتغذى على المحاصيل فإنها تنقل إليها الإصابة الفيروسية والتى تؤثر بشدة على نباتات الطماطم.

ومعاملة نباتات الطماطم بالـ Key Plex 350-DP تؤدى إلى انخفاض عدد الحشرات الكاملة والعذارى والبيض للذبابة البيضاء ؛ ولذا فإن الذبابة البيضاء تفضل النباتات غير المعاملة بالـ Key Plex ويتم استخدام منتجات Key plex على الموالح ، الفول البلدى ، الطماطم وقد تم اختبارها على الليمون ، الموز ، القطن ، أزهار الفلفل. والاختبارات المستقبلية سوف تشمل القرعيات ومعظم محاصيل الخضر والفاكهة. وقد تم اختبار Key plex 350-DP على الموز فى فلوريدا بالولايات المتحدة وفى أمريكا الوسطى ضد كل من Yellow and black sigatoka Butler فوجدوا انخفاضاً شديداً فى الإصابة بكلا المرضين ، واللذين كانا يسببا مشكلة كبيرة جداً فى أمريكا الوسطى. ومع ذلك فلقد تم استخدامKey plex 350-DP

على ثلاثة أنواع رئيسية من زراعات الموز فى الولايات المتحدة وذلك لأن معالجة أمراض Sigatoka مكلفة جداً من الناحية المادية باستخدام المبيدات الفطرية والتى لا تكون كفائتها ١٠٠%. هذه المنتجات الطبيعية التى تستخدم فى عمليات المكافحة الحيوية مثل منتجات Key plex لا يستلزم الأمر تسجيلها بواسطة هيئة حماية البيئة، علما بأن منتجات Key plex ليست سامة للإنسان أو للحيوان أو للنبات أو للحشرات مقارنة بوسائل التسميد الكيماوى الشائعة الإستخدام كما يقول Butler. وقد استهدف عمل معمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة حث النباتات على إنتاج مركبات أكثر لمقاومة الأمراض وطرد الحشرات.

فمنذ حوالى ٦ سنوات تعمل وزارة الزراعة الأمريكية على تعريف وتنقية بروتينات الحماية النباتية فى الموالح ؛ حيث إن عملية تنقية هذه البروتينات سوف تمكنا من تصنيفها وتحديد تركيبها ونشاطها لأنه يجب معرفة موقع هذه البروتينات فى تركيب النبات ، فإذا استطعنا أن نتوقع إمكانية تطويع هذه البروتينات فإننا سوف نتعرف على طبيعة وكيفية تكوينها ؛ ولذا فقد تم عزل الجينات المنتجة لهذه البروتينات والاحتفاظ بها فى بنوك الجينات لتكون شائعة الاستخدام والتداول. ولذا فإنه إذا حصلنا على هذا الجين وحقناه داخل الخلايا النباتية التى لا تحتوى عليه فإنه سوف ينتج عن ذلك نباتات معدلة وراثيا بالجين المنقول إليها والذى سوف يعبر فيها عن أدائه الوظيفى نحو إنتاج كميات كبيرة وفى أماكن وأزمنة مختلفة من بروتينات الحماية النباتية. وأما الخطوة الثانية فى هذا الاتجاه سوف تكون مركزة على إمكانية تطويع مستويات المركبات الخاصة بالحماية فى النباتات بدون الحاجة إلى إنتاج نباتات معدلة وراثيا والتى تأخذ عدة سنوات حتى يتم الحصول على هذه النباتات المطلوبة خاصة فى أشجار الموالح ، وحينئذ سوف لا يتم الحصول على ثمار منها لمدة ٤ إلى ٥ سنوات. وحينئذ يجب أن ننظر إلى المركبات الكيماوية التى تستخدم فى حماية النباتات من مهاجمة الحشرات علما بأن النتائج الجيدة التى قد تم الحصول عليها كانت من خلال استخدام (BTH (Benzothiadiazole وهو مادة كيماوية غير سامة تنتجها شركة نوفارتس Novartis ولا ينتج من استخدامها أى أضرار على الإنسان أو النبات أو الحيوان. وقد أوضحت معاملة حقول الطماطم بالـــBTH حدوث انخفاض يقدر بحوالى ٣٠% من الإصابة بالـــ Leafminers مقارنة بالحقول غير المعاملة ، حيث إن محصول الطماطم يستغرق فترة نمو تتراوح مابين ٢- ٣ شهور ، وهنا يجب أن تتم معاملة النباتات

وهى فى المشتل قبل نقلها للحقل المستديم بأسبوع ، بعد ذلك يتم رشها بواقع مرة كل ثلاثة أسابيع. وقد عملت شركة Novartis أن تكون تركيبة BTH مناسبة لحماية النباتات من الحشرات والفطريات والبكتريا.

العلامات المستخدمة بعد الحصاد :

تعمل الخضر والثمار بعد جمعها على بناء ميكانيكات حماية مختلفة بعد الحصاد وذلك طبقاً للتقرير الوارد عن وزارة الزراعة الأمريكية ، وتتمثل هذه العلامات فيما يلي :

١- عندما نجد إنزيم Chitinase فى ثمار الموالح فإن هذا يعنى أن هذا المركب وجد لحماية الثمار ليعمل على تكسير الشيتين Chitin الذى لا يوجد فى الموالح ويوجد فى المسببات المرضية من الفطريات والحشرات التى تهاجم الثمار ، حيث يتكون الهيكل الخلوى فى الحشرات من الشيتين ويتكون الجدار الخلوى أيضا فى الفطريات من الشيتين ، ويتكون إنزيم Chitinase لحماية الثمار عندما تكون نشطة ، وذلك عندما يتم مهاجمة الثمار بالمسببات المرضية المختلفة.

٢- ركز عالم فسيولوجيا النبات McCollum فى عمله على إنزيمات Glucanases التى تقوم بتكسير Glucans ، وهذه الإنزيمات تعتبر مركبات مضادة للفطريات وتوجد فى الموالح. وقد قام McCollum بتنقية البروتين المثبط للعديد من إنزيمات galacturonase (PGIP) من قشور الجريب فروت Grapefruit peel . وهذا البروتين يلعب دوراً أساسيّاً فى المقاومة للفطريات. ففى أثناء إصابة الفطريات للثمار ينتج عنها إنزيمات Pectinases ، حينئذ تقوم البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase التى تنتجها الثمار بتثبيط عملية إنتاج Pectinase مما يعمل بدوره على حماية الثمار من الفطريات ووقف نموها.

٣- أوضح Mayer أن البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase تعمل على زيادة مقاومة النباتات للحشرات حيث تنتج الحشرات أيضا إنزيم Pectinase عندما تتغذى على الثمار ؛ ولذا فإنه إذا تمكنا من إنتاج نباتات محورة وراثيا من الموالح بالجينات التى تقوم بإنتاج هذه البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase ، Polygalcturonase inhibitor protein ((PGIP) فإنه سوف تكون لدينا فرصة ممتازة لإنتاج نباتات مقاومة للحشرات.

٤- ومع هذا تعمل إنزيمات Chitinases التى مصدرها الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية مثل فطر *Trichoderma harzianum* على تثبيط إنبات الجراثيم وتثبيط نمو الهيفات للفطريات الممرضة للنباتات مثل *Uncinula necator, Botrytis cinerea* ، ومع ذلك فقد وجد Kikkert وزملاؤه عام ١٩٩٨ أن مزارع الأجنة المحورة وراثيّاً بجين Endochitinase من فطر *Trichoderma* أن حوالى ٤١% من نباتات Merlot ، ٥٥% من نباتات Chardonnay المنتخبة قد أظهرت زيادة فى نشاط إنزيم Chitinase تتراوح مابين ١٠ – ١٠٠% مقارنة بالنباتات فى تجربة المقارنة غير المتحولة وراثيّاً ، ولذا فإن هذه النباتات المحورة وراثياً تتميز بمقاومتها للأمراض النباتية والحشرات.

ولذا فقد تم منذ أكثر من ستون عاماً دراسة السلالات المستخدمة فى المكافحة الحيوية من جنس *Trichoderma* وذلك لتطوير هذه الأداة البيولوجية لتتكامل مع المبيدات الكيماوية الفطرية المستخدمة فى مكافحة الأمراض النباتية ، حيث إن التأخر فى استخدام هذه الوسيلة البيولوجية فى المكافحة الحيوية كان يرجع إلى المعلومات القليلة المتاحة عن ميكانيكية فعلها فى مكافحة الفطريات داخل الكائن الحى.

ومع هذا فإن الإنتاجية المنخفضة للنباتات تتحدد بواسطة مدخلات الإنتاج من الأسمدة الكيماوية والمبيدات الحشرية والتى تمثل فى مجملها عوامل ضغط على النباتات تتسبب فى الفقد الحادث فى الإنتاج وتؤثر على زيادة الإنتاج وجودة المنتج النهائى ؛ ولذا فإن عملية التحول الوراثى للمحاصيل بواسطة الجينات المقاومة للحشرات من *Bacillus thuringiensis* قد تم استحداثها فى الزراعات بالولايات المتحدة الأمريكية ، كندا ، الصين ، أستراليا. بينما يوجد انخفاض كبير فى إستخدام هذه التكنولوجيا لتحسين إنتاجية المحاصيل تحت الظروف البيئية القاسية التى توجد فى المناطق الإستوائية ، وهذه المناطق هى التى تعتبر بحاجة ماسة جدّاً وحرجة لإدخال هذه التكنولوجيا المتقدمة فى زيادة إنتاج الغذاء بهذه المناطق . علماً بأن إدخال هذه التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة والغذاء تتطلب تنظيماً حيوياً آمناً وعرضاً جيداً للنتائج التى يتم الحصول عليها بفعل إدخال المحاصيل المهندسة وراثيّاً فى مجال الغذاء.

زيادة التعداد السكانى وعدم الأمن الغذائى :

طبقا لتقرير الأمم المتحدة فإن التعداد السكانى فى العالم سوف يزيد بحلول عام ٢٠٢٥ بواقع ٢٥% ليصل إلى ٧,٥ بلايين ، منهم تقريباً ١,٢ بليون يعيشون فى مناطق الفقر المطلق ، حوالى ٨٠٠ مليون يعانون من عدم الأمن الغذائى مما يتسبب فى مشاكل صحية وفقدان مقدرة الإنسان على العمل فى الدول النامية ، ويرجع ذلك بصفة أساسية إلى انخفاض الإنتاج وعدم الأمن الغذائى وضعف التغذية. ومع هذا فإن مساحة الأرض المتاحة للإنتاج الغذائى يحدث فيها انخفاض عاماً بعد عاماً. وهذا الانخفاض يكون أكبر فى الدول النامية مقارنة بالدول المتقدمة ، فلقد كانت مساحة الأرض المتاحة فى عام ١٩٩٠ بالنسبة للفرد الواحد هى ٠,٢٥ هكتار فى كل من المكسيك ، الإكوادور ، نيجيريا ، أثيوبيا إلى أقل من ٠,١٠ هكتار للفرد فى كل من مصر ، كينيا ، بنجلاديش ، فيتنام ، الصين ، وبحلول عام ٢٠٢٥ فإن المساحة التى سوف تكون متاحة للفرد ستكون أقل من ٠,١٠ هكتار فى بعض الدول مثل بيرو ، تنزانيا ، باكستان ، إندونسيا ، الفلبين. وسوف يترتب على انخفاض وحدة المساحة المتاحة للفرد انعدام الأمن الغذائى وإنخفاض نصيب الفرد من الإنتاج خاصة فى الدول النامية. فلقد حدثت زيادة فى إنتاج الحبوب فى الفترة من ١٩٥٠ إلى ١٩٨٠ ، ومع هذا فإنه لازال فى الغالب إنتاج الحبوب ثابتاً. كما يلاحظ أن معدل الزيادة فى إنتاج الغذاء قد حدث له انخفاض يقدر بحوالى ١% فى عام ١٩٩٠ مقارنة بزيادة قدرها ٣% فى عام ١٩٧٠ . بينما فى الهند يكاد يكون إنتاج الحبوب ثابت فيما عدا المناطق التى يكون فيها الإنتاج يتم بواسطة الرى والتى تحدث فيها زيادة جوهرية فى الإنتاج الغذائى.

وبحلول عام ٢٠٠١ أصبحت هناك حاجة ملحة لزيادة الإنتاج البقولى من ١٥ مليون طن فى عام ١٩٩٥ إلى ٢٠ مليون طن ، اللبن من ٦٤ إلى ٩٢ مليون طن ، اللحوم الحيوانية من ٧ إلى ١٧ مليون طن.

الحاجة إلى إنتاج النباتات المهندسة وراثياً :

تعتبر إحدى طرق زيادة الإنتاج الزراعى هى الإقلال من الفاقد فى الإنتاج ، هذا الفاقد يقدر بحوالى ١٤% من الإنتاج الزراعى بوجه عام ، هذا بالإضافة إلى الحد من تكاليف الإنتاج المتعلقة باستخدام المبيدات فى مكافحة الآفات والتى تقدر بحوالى ١٠ بلايين دولار أمريكى سنوياً ، وهذا يصاحبه الأثر الضار المتبقى من

المبيدات ليس فقط على الأوراق بل أيضا فى الغذاء والذى بدوره يسبب أضراراً صحية على الكائنات غير المستهدفة من استخدام المبيدات وكذلك على البيئة المحيطة. فالحشائش والحشرات والأمراض وجد أنها تسبب خسائر فى الإنتاج تقدر بحوالى ٢٤٣,٤ بليون دولار أمريكى فى ٨ مواقع رئيسية لإنتاج المحاصيل فى العالم ، وهذه المواقع تمثل ٤٢% من المساحة الكلية المتاحة للإنتاج فى العالم وهذا من بين الإنتاج الزراعى العالمى الذى يقدر بمبلغ ٥٦٨,٧ بليون دولار.

وعلى مستوى الفقد السابق نجد الآتى :

- تتسبب الحشرات فى فقد يقدر بحوالى ٩٠,٤ بليون دولار فى الإنتاج.
- تسبب الأمراض فى فقد يقدر بحوالى ٧٦,٨ بليون دولار .
- بينما تتسبب الحشائش فى فقد يقدر بحوالى ٦٤,٠ بليون دولار .

ويقدر هذا الفقد فى الإنتاج الزراعى بحوالى ٥١% فى الأرز ، ٣٧% فى القمح ، ٣٨% فى الذرة ، ٤١% فى البطاطا ، ٣٨% فى القطن ، ٣٢% فى فول الصويا ، ٣٢% فى الراى ، ٢٩% فى البن. ولقد اتضح مدى خطورة الأمراض والحشرات اللذين كانا يسببان فقط ٥٢% من الفقر فى إنتاج القمح ، يسببان فقداً فى فول الصويا يقدر بـ ٥٨% ، ٥٩% فى الذرة ، ٧٤% فى البطاطا ، ٨٣% فى الأرز ، ٨٤% فى القطن.

وكما هو معلوم أن فقد الإنتاج الناتج عن الإجهادات البيئية مثل Biotic and abiotic stress يقدر بحوالى ١٥,٧٤ بلايين دولار أمريكى ، من هذا المبلغ يوجد فقد راجع للحشرات يقدر بحوالى ٣,١٧ بلايين دولار أما الفقد الراجع للأمراض النباتية فهو يقدر بحوالى ٤,١٢ بلايين دولار أمريكى ، أما الفقد الناتج عن الحشائش فهو يقدر بحوالى ١,١٤ بلايين دولار. ومع هذا فإن الفقد الناتج عن عوامل Biotic stress وحدها فهو يقدر بحوالى ٨,٤٨ بلايين دولار.

وفى هذا الإطار فإن استخدام المبيدات الكيماوية لمكافحة الآفات للإقلال من الفقد الناتج عن مهاجمة الحشرات للنباتات ولمكافحة الفطريات والحشائش فإنها تتسبب فى أضرار بيئية وتضر بالكائنات النافعة فى البيئة وغير المستهدفة من عملية المكافحة الكيماوية ، حيث إن وجود الأثر المتبقى للمبيدات فى أوراق النباتات وفى الأطعمة سوف يتسبب فى تلوث البيئة وفى أضرار صحية خطيرة ،

علما بأن استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات سوف يتسبب فى زيادة الضغوط البيئية على الكائنات بفعل زيادة معدلات التلوث البيئى ، الأمر الذى يتطلب ضرورة إدخال التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة لإنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض لتحسين إنتاجية النباتات وللإقلال من الفاقد فى الإنتاج وللحد من تلوث البيئة بالكيماويات التى تستخدم فى مكافحة الأمراض والآفات. خاصة وأن العديد من الأنواع الحشرية والمسببات المرضية والحشائش قد تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات المستخدمة فى مكافحتها. فلقد وجد حتى عام ١٩٩٦ حوالى ٦٤٥ حالة مقاومة فى عدد كبير من الحشرات للمبيدات الحشرية وقد أوضحت أحدث تقارير المقاومة التى تكونت فى الحشرات للمبيدات ما يلى :

٢٥٠ حالة للـ Organophosphates.

١٥٦ حلة للـ Synthetic pyrethroids.

١٥٤ حالة للـ Carbamates.

٨٥ حالة لمركبات أخرى تشمل Chlorinated hydrocarbons.

وقد تبين أن حوالى ٨٥ نوع من الحشرات تكونت بها صفة المقاومة لأكثر من مجموعتين من المبيدات الحشرية ، وقد وجد أقصى عدد من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات فى تلك التى تهاجم محاصيل الخضر ، وقد وصل عددها إلى حوالى ٤٨ بالنسبة لمحاصيل الخضر ، ٢٥ فى تلك التى تهاجم بساتين الفاكهة ، ٢١ فى تلك التى تهاجم محصول القطن ، ١٥ فى تلك التى تهاجم محاصيل الحبوب .وعلى العموم فإن أقصى عدد من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية شملت تلك التى تهاجم كل من القطن ، الخضر ، الدخان. وقد اتضح أن حشرة *Helicoverpa armigera* والتى تعتبر من أكثر الحشرات التى تهاجم كل من القطن ، البقوليات ، محاصيل الحبوب ، الخضر ، وقد ظهرت بها صفة المقاومة للعديد من المبيدات الحشرية التى تستخدم على القطن، الطماطم ، عباد الشمس ، العدس. أما الذبابة البيضاء التى تهاجم القطن فقد ظهرت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية المستخدمة فى رش القطن ، والبامياء.

الخلاصة :

تتطلب عملية تكون صفة المقاومة فى الحشرات ضد المبيدات المستخدمة فى المكافحة استخدام جرعات مرتفعة من نفس المبيد المستخدم أو زيادة عدد المبيدات المستخدمة فى المكافحة. ولذلك فإن المزارعين غالباً ما يلجأون لخلط عدة مبيدات مع بعضها للإقلال من خطورة مهاجمة الحشرات للمحاصيل ، وهذا لا يترتب عليه فقط زيادة تكلفة المكافحة الحشرية بل أيضا يتسبب فى أضرار بيئية من خلال زيادة معدلات التلوث البيئى. ولذلك فإن استخدام تقنيات الهندسة الوراثية فى إنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض تعتبر هى الوسيلة الأمثل للتخلص من مشاكل استخدام المبيدات فى كل من الدول المتقدمة والنامية على السواء ؛ ولذلك فإن الهندسة الوراثية تقدم لنا أدلة جيدة نحو تحسين الصفات الفردية للمحاصيل مثل المقاومة للأمراض وللحشرات ، حيث إن المقاومة للأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات تعتبر من الصفات المرغوبة جدا ، والتوسع فى تطوير المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية قد أصبحا ضرورة حتمية فى الوقت الحاضر للتخلى عن إستخدام المبيدات الكيماوية وللإقلال من تكلفة الإنتاج وللحفاظ على صحة الإنسان والبيئة من التلوث ، خاصة وأنه من المتوقع أن يزداد تعداد سكان العالم من ٦,٥ بليون فى الوقت الحاضر إلى ٧,٥ بلايين فى عام ٢٠٢٥ ، ومعظم هذه التجمعات البشرية تعيش فى المناطق الريفية فى الدول النامية حيث يوجد الفقر ، نقص الغذاء، انعدام الأمن الغذائى وهى فى مجملها مشاكل رئيسية فى هذه المناطق.

الأسئلة :

١- ما أهمية الجين المنتج لإنزيم الشيتينيز فى دعم صفات المقاومة الحيوية فى النبات ؟

٢- ما علاقة زيادة تتابعات G - C على حساب تتابعات A - T بإنتاج وكفاءة المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات ؟

٣- بين هل يمكن القضاء على صفة المقاومة التى تتكون فى الحشرات ضد سلالات *Bt* ؟

٤- ما رأيك في دور إنزيم الشيتينيز فى تحسين كفاءة المبيدات الحيوية للآفات ؟

٥- اكتب ما تعرفه عن بروتينات الحماية النباتية ؟

٦- اذكر العلامات التى تظهر فى الثمار بعد الحصاد والتى تعد دليلا على ميكانيكيات الحماية ؟

٧- ما رأيك في أن عملية تطوير المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية أصبحت ضرورة حتمية فى الوقت الحالي ؟

٨- ما علاقة زيادة التعداد السكاني بانعدام الأمن الغذائي ولماذا أصبحت هناك حاجة لإنتاج النباتات المهندسة وراثيا ؟

٩- ما قيمة الفقد فى إنتاج الغذاء الناتج عن كل من الحشرات والأمراض والحشائش مقارنة بالفقد الناتج عن الإجهادات البيئية ؟

١٠- ما تأثير الرش المتكرر بالمبيدات على الحشرات مقارنة بدور الهندسة الوراثية فى دعم صفات المقاومة الحيوية فى النبات ؟

١١- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- إنزيمات Chitinases المنتجة بواسطة *Bacillus circulans* , *Serratia*, *Streptomyces* يتم تخليقها بواسطة العديد من الجينات، بينما العديد من الإنزيمات المنتجة بواسطة *Streptomyces, B. circulans, Alteromonas* يتم تخليقها بواسطة جين واحد ؟

ب- لم توجد حالات تكونت بها صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المهندسة وراثيا بجينات *Bt* بينما تكونت هذه الصفة فى حشرة السوس ضد سموم *Bt* تحت الظروف الحقلية ؟

ج- المادة البروتينية السامة من *Bt* لم تثبت أى سمية على الإنسان والفقاريات ؟

د- ترجع محدودية استخدام سموم *Bt* فى مكافحة الأفات للتكلفة المرتفعة وانخفاض خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ؟

هـ- منطقة إنتاج المادة البروتينية السامة فى *Bt* تتميز بمحتوى مرتفع من A , T؟

و- التحور الوراثي فى منطقة إنتاج المادة البروتينية السامة *Bt* بزيادة محتواها من G , C ترتب عليه زيادة ملحوظة فى التعبير الوظيفي لإنتاج المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات ؟

ل- يلعب الشيتينيز دوراً أساسيّاً فى الحماية من الأمراض الفطرية ؟

م- استخدام الشيتينيز مع تحضيرات المبيد الحيوي Bt يقضي على صفة المقاومة المتكونة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt* ؟

ن- يعمل الشيتينيز على تحسين كفاءة المبيدات الحيوية المستخدمة فى مكافحة الآفات ؟

ي- يترتب على استخدام الهندسة الوراثية فى دعم صفة إنتاج النباتات لوسائل الدفاع البروتينية تكوين مناعة مكتسبة فى النباتات لإستحداث صفة المقاومة بها؟

oberkandl.com

obeikandl.com

الفصل الثالث

الأهمية الاقتصادية للفطريات والبكتيريا وتحوراتها الوراثية

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

١- يدرك أنه بالرغم من أن بعض الميكروبات هى عوامل مسببة للمرض ، إلا أن غالبيتها مفيدة ، فهى تحلل الأنسجة الميتة ، وتعيد دورة العناصر ، وتساعد النبات على تمثيل النيتروجين من الهواء.

٢- يستعرض فكرة إنتاج البنسلين من فطر البنسيليوم كأول مضاد حيوي عرف ضد البكتيريا المرضية والذى استخلصه كل من الألمانى المهاجر إرنست تشين مع عالم الباثولوجيا الأسترالى هوارد فلورى واللذين كانا يعملان فى أكسفورد ، حيث استخلصا البنسلين من فطر البنسليوم نوتاتم .

٣- يستوعب ملاحظة ألكسندر فلمنج أثناء عمله فى عام ١٩٢٨ بمستشفى سانت مارى بلندن والذى لاحظ أن عفناً هو عبارة عن فطر البنسليوم نوتاتم الذى لوث مزرعة لبكتريا عنقودية كروية تسبب عدوى الجلد ، وقد أطلق فلمنج على هذه المادة غير المحددة اسم البنسلين وهو مادة تهاجم البكتيريا .

٤- يعي أن مكتشف البنسلين هو السيد Alexander Fleming فى عام ١٩٢٩ لكنه لم يستغل حتى الحرب العالمية الثانية وأن الأهمية الكبيرة لهذه المادة هى أنها تمنع نمو البكتيريا بدون أن تكون سامة على الأنسجة الحيوانية .

٣- يستعرض مراحل التطور فى إنتاج فاكسينات شلل الأطفال .

٤- يفهم أهمية التعويق الوراثى لإنتاج إنزيم بوليجا لاكتويورونيز الذى يقوم طبيعياً بتحليل البكتين الموجود فى جدر الخلايا مما يجعل الفاكهة طرية٠ وذلك من خلال التدخل فى عملية استنساخ الجين بأن أدخلوا فى خلايا الطماطم قطعة مخلقة من DNA تحوى معنى مضاداً لعملية النسخ وهى قطعة صممت بحيث تلتصق بالـ m-RNA الخاص بهذا الإنزيم مما يمنعه من عملية الترجمة وعدم تكوين الإنزيم بالتالي .

٥- يدرك أهمية الهندسة الوراثية فى مقاومة مسببات أمراض النبات البكتيرية والفيروسية.

٦- يتعرف على الفيروسات النباتية ووسائل انتقالها وطريقة تقسيمها على أسس وراثية .

٧- يعي نتائج Puntambekar et al. (1995) والذى وجد أن سلالات *B.t.* التى حدث بها اندماج للبروتوبلاست وصلّت نسبة الموت ليرقات دودة ورق القطن المعاملة بالهجن الناتجة من اندماج البروتوبلاست إلى ٧١,١% بينما كانت نسبة الموت لليرقات المعاملة بالسلالات الأبوية للـ *B.t.* هى ٦١,١% ، ٦٥,٠% مما يعكس مدى أهمية التحور الوراثى للخلايا الميكروبية من *B.t.* فى زيادة الكفاءة السمية للمبيد الحيوى المستخلص منها.

المقدمة :

الميكروبات كائنات دقيقة لا ترى إلا باستخدام الميكروسكوب ، وهى موجودة فى كل مكان وضرورية للحياه وتحاط بنا بأعداد فلكية ، ويوجد ما يقرب من ١٠٠,٠٠٠ ميكروب فوق كل سنتيميتر مربع من الجلد. وعالم الميكروبات يشمل أعداداً هائلة من أنواع وسلالات مختلفة. ورغم أن بعض الميكروبات هى عوامل مسببة للمرض ، إلا أن غالبيتها مفيدة ، فهى تحلل الأنسجة الميتة ، وتعيد دورة العناصر ، وتساعد النباتات على تمثيل النيتروجين من الهواء. والميكروبات لها القدرة على التكاثر بسرعة أكبر كثيراً من الكائنات الحية الراقية ويحدث بها معدل سريع من الطفور منتجة أنواعاً متباينة لتستثمر التغيرات البيئية الملائمة لبقائها .

والإنسان عندما صنع الجبن والخبز والمشروبات الكحولية كان يستثمر هذه الميكروبات منذ زمن بعيد. وقد بدأ العلماء فى بداية القرن العشرين فى اتخاذ طرق مدروسة أكثر لتسخير الميكروبات لصناعة مواد معينة. ففى أثناء الحرب العالمية الأولى كان الكيميائى الألمانى حاييم وايزمان مهاجراً فى ذلك الوقت فى مانشستر ، حيث أنشأ طريقة لإنتاج الأسيتون بواسطة بكتيريا كلوستريديوم أسيتو بيوتيليكم ، والأسيتون مذيب مطلوب فى صناعة المفرقعات ، علماً بأن وايزمان هذا هو أول رئيس لدولة إسرائيل ، ويقال أن اختراعه هذا قدمه ثمنا لوعد بلفور المشئوم.

وفى أثناء الحرب العالمية الثانية أطلق الألمانى المهاجر إرنست تشين مع عالم الباثولوجيا الأسترالى هوارد فلورى واللذان كانا يعملان فى أكسفورد ، ثورة المضادات الحيوية بأن استخلصا البنسلين من فطر البنسليوم نوتاتم .

البنسلين أول مضاد حيوى :

كان ظهور البنسلين أحد التطورات الرائعة فى استخدام الميكروبات لإنتاج أدوية تنقذ الحياة. وقد حدث بأن كان ألكسندر فلمنج يعمل فى عام ١٩٢٨ بمستشفى سانت مارى بلندن، حيث لاحظ أن عفناً قد لوث مزرعة لبكتريا عنقودية كروية تسبب عدوى الجلد. وقد أمكن فيما بعد تحديد أن هذا العفن هو فطر بنسليوم نوتاتم، وقد اتضح أن هذا الفطر ينتج شيئاً يهاجم هذه البكتريا (شكل رقم ١١٥) وأطلق فلمنج على هذه المادة غير المحددة اسم البنسلين وقد عجز الكيميائيين فى ذلك الوقت عن استخلاص المادة النقية .

وقد تبنى هوارد فلورى فكرة تعاطى البنسلين لمعالجة العدوى ومعه كثير من العاملين فى مدرسة سير ويليام دن للباثولوجيا بأكسفورد ، وكان أحد دوافع هذا العمل هو الحاجة الشديدة لعلاج الأعداد الكبيرة من حالات الجروح الملوثة للحرب. وقاد فلورى مشروع بحث نجح فيه فى استخلاص وتنقية البنسلين. وقد تبين أن البنسلين له فعالية هائلة فى شفاء حالات معينة من العدوى بالبكتريا ، وسرعان ما تم الترحيب بالبنسلين كدواء مبهر. وأصبح البنسلين هو العضو الأول لجيل المضادات الحيوية الجديد الذى أدى إلى حدوث تحول فى ممارسة الطب ، وما لبث أن أدى الأمر بعد عقد آخر إلى ظهور مايسمى بالبنسلينات الجديدة التى صنعت بتحوير جزىء البنسلين كيميائياً ليصبح أكثر فعالية بطرق شتى (شكل رقم ١٢٠) .

وكان الطلب على البنسلين فى عام ١٩٤١ يفوق كثيراً ما ينتجه معمل أكسفورد بسبب غارات الأعداء التى كانت تعوق الصناعة ، ثم قام فلورى وهيتلى بزيارة الولايات المتحدة حيث حصلا على الدعم لتنظيم إنتاج مكثف من البنسلين. وقبل أن يغادرا بريطانيا مسحا بطانة بلاطيهما بجراثيم البنسيليوم حتى يمكن استعادتها لو أن المزارع التى فى أوكسفورد ضاعت عقب وقوع غزو ألمانى.

- Some fungi produce antibiotics
  - Penicillin was the first antibiotic to be discovered

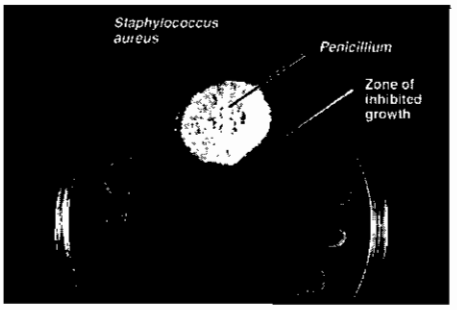


Figure 17.20B

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

شكل رقم ١١٥ . يوضح أن بعض الفطريات تنتج مضادات حيوية ويتضح من الشكل أن فطر البنسيليوم ينمو ويكون حوله هالة من تثبيط النمو لبكتيريا *Staphylococcus aureus* .

الشكل التالي (شكل رقم ١١٦) يوضح لماذا تكون الفطريات مهمة ، فبعضها مثل المشروم (فطر عيش الغراب) يحتوى على أجسام ثمرية ، الخميرة مهمة فى صناعة البيرة وفى تخمر العجين ، وبعض الفطريات التى تستخدم فى تصنيع ونضج بعض أنواع الجبن .

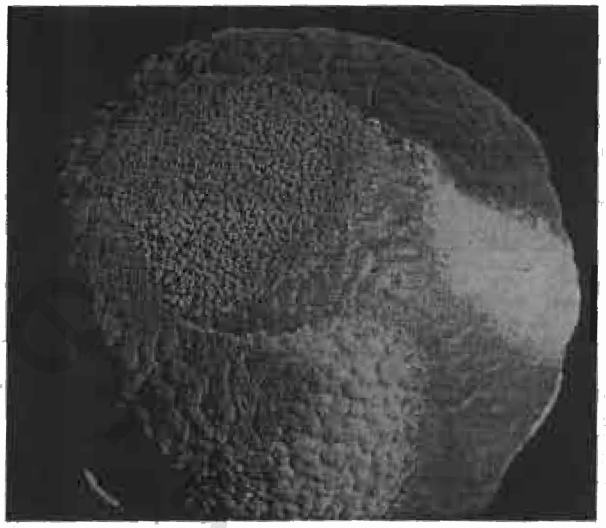
- Fungi are also important as food
  - Mushrooms are the fruiting bodies of subterranean fungi
  - Yeasts (unicellular fungi) are essential for baking and beer and wine production
  - Fungi are used to ripen certain cheeses

Figure 17.20A

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

شكل رقم ١١٦ . يوضح أهمية الفطريات في تصنيع الجبن

obeikandl.com



The spores in *Penicillium* often contain blue or green pigments which give the colonies on foods and feeds their characteristic colour. It is the spores in the blue cheese that give the colour to the cheese.

شكل رقم ١١٧ . يوضح نمو فطريات البنسيليوم

Penicillium *italicum* and Penicillium digitatum على ثمرة البرتقال

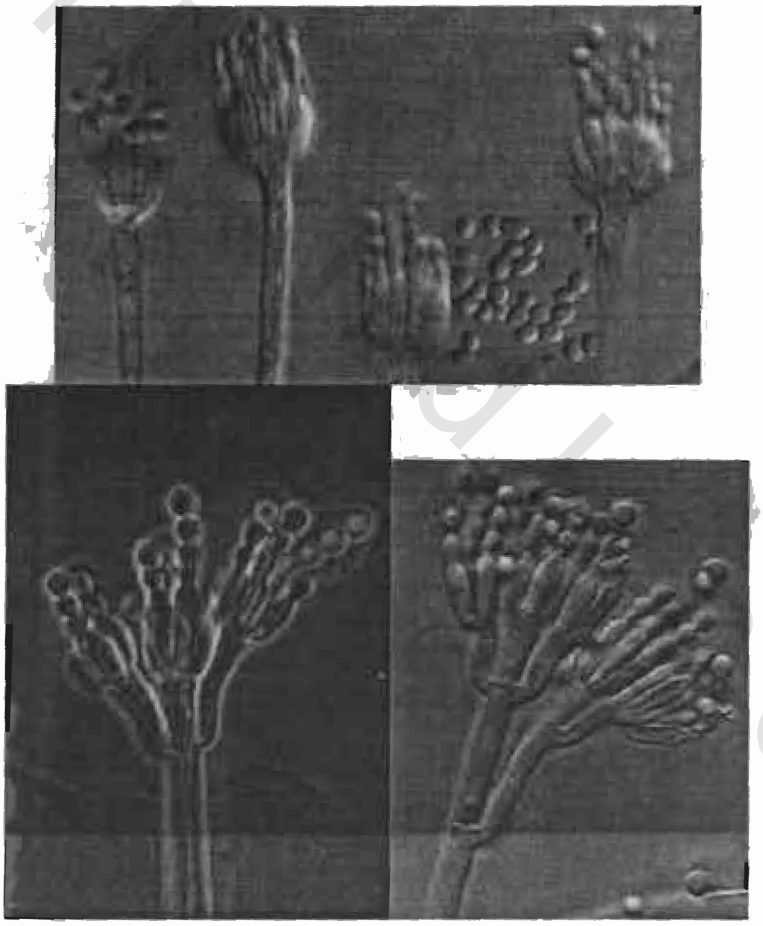
أتت كلمة بنسيليوم Penicillium من كلمة penicillus وهى تساوى كلمة brush أو فرشاة ، وهى تعتمد على ظهور ما يشبه الفرشاة من التركيب الثمري تحت الميكروسكوب . ثمرة البرتقال تم تلقيحها بنوعين من فطر البنسيليوم فى نفس الوقت ، المستعمرات الزرقاء الصغيرة هى *Penicillium italicum*،أما المستعمرات ذات اللون الأخضر الزيتوني هى *Penicillium digitatum* (شكل رقم ١١٧) ، وهذان نوعان شائعان من فطر *Penicillium* الذى يهاجم ثمار الموالح ، ملايين الدولارات من الخسائر تحدث كل عام بسبب هذا الفطر أثناء عمليات التخزين أو نقل ثمار الحمضيات . الحقيقة هى أن *P. digitatum* ينمو بسرعة أكبر وهذا لا يعنى بالضرورة أنه فطر التعفن الأكثر جدية ، وهو يعتمد على درجة الحرارة ، فعندما يتم تلقيح البرتقال عند درجة حرارة الغرفة ، وعند درجة حرارة الثلاجة (٥ درجات مئوية) حينئذ سنجد أن *P. italicum* سينمو أسرع . بالنسبة للجزء الأكبر من أنواع فطر البنيسيليوم مثل درجة الحرارة، وعلى الجانب الاخر فإن البنيسيليوم فطر انتهازى متعدد الاستعمال بترسانة الإنزيمات المفيدة تحت تصرفه لمهاجمة مجموعة كبيرة من المواد الغذائية العضوية . ولذلك يمكن أن نراه عادة على الغذاء المتروك لمدة طويلة فى الثلاجة ، إنه يميل إلى الخبز ، الجبن ، اللحوم

الباردة ، السندويتشات القديمة ، منتجات الحبوب ومجموعة كبيرة من الأشياء الأخرى .

إذا كنت مزارعاً وتقوم بتخزين حبوبك فى الصناديق فإن البنسيليوم حينئذ سيكون خصماً خطراً و إذا كانت نسبة الرطوبة فى حبوبك عالية جدا فإن فطر البنيسليوم سيحطمها بكل سعادة ، فبينما هذا الفطر ينمو فى الغذاء فإنه يمكن أن ينتج سموم خطرة تعرف بالـــmycotoxins فى بقايا الحبوب وحينئذ يمكن أن يسبب تأثيرات مؤذية جدا فى غذاء الحيوان المستهلك الملوث . يسبب فطر *Penicillium expansum* العفن اللين فى التفاح و الجزء المتعفن من التفاح يحتوى على سموم فطرية تسمى patulin المنتجة بواسطة الفطر . إذا كان هذا التفاح مجهزاً للعصير فإن السموم الفطرية patulin ستوجد فى العصير ؛ ولذا فإن التفاح المصاب بالعفن الأسود لا يجب أن يستعمل لعمل عصير التفاح . السموم الفطرية patulin لها طيف واسع كمضاد حيوي بالنسبة لكل من البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام ، وكذلك ضد بعض الفطريات الأخرى ، وأنواع البنيسيليوم تحطم المنتجات الغذائية بالإفراز الخارجي من الإنزيمات . إنتاج المضادات الحيوية سيمنع المنافسة ويحمى المواد من الاستعمال الخاص بواسطة البنيسيليوم على الأقل لفترة محدودة . فطر *Penicillium* ليس كله سيئ ، وعلى الجانب الأخر يمكن أن نستعمل *Penicillium roquefortii* لتصنيع الجبن الأزرق ، فى أثناء عملية التخمر فإن الفطر يمكن أن يمنح المنتج النهائى نكهة لطيفة ، وبالمناسبة فإن اللون الأزرق فى الجبن الأزرق تسببه الصبغة الموجودة فى الجراثيم الكونيدية للفطر ، ويمكن للفرد أن يأكل ويستهلك ملايين الجراثيم بالملايين عند تناوله الجبن الأزرق ، وهذا يدعونا ألا ننسى مساهمات فطريات *Penicillium notatum and P. chrysogenum* فى إنتاج المضاد الحيوي البنسلين in the production of the antibiotic penicillin . لقد أصبحت أنواع البنيسليوم مشهورة بالارتباط بالمضادات الحيوية . فالبنسلين هو ناتج عرضي لفطر البنسيليوم نوتاتم *by-product of Penicillium notatum* والذى عندما يتم تحرره فى الوسط الغذائي فإنه يثبط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، والبنسلين قد تم اكتشافه بواسطة السيد Alexander Fleming فى عام ١٩٢٩ لكنه لم يستغل حتى الحرب العالمية الثانية . الأهمية الكبيرة لهذه المادة هى أنها تمنع نمو البكتيريا بدون أن تكون سامة على الأنسجة الحيوانية . الاهتمام بالبنسلين يعود إلى البحث المركز للمضادات الحيوية الأخرى . وعلى أية حال فإن البنسليوم له أهمية اقتصادية فى النواحى الأخرى ، على سبيل المثال بعض الأنواع تعطى النكهة لبعض أنواع الجبن والرائحة ، وهذه الصفات قد تم تقييمها إلى حد كبير من قبل خبراء الأطعمة. واحد فى هذا الاتجاه هو فطر *P. roquefortii* والذى وجد أولا فى

الكهوف بالقرب من قرية ريكفورت الفرنسية near the French village of Roquefort.

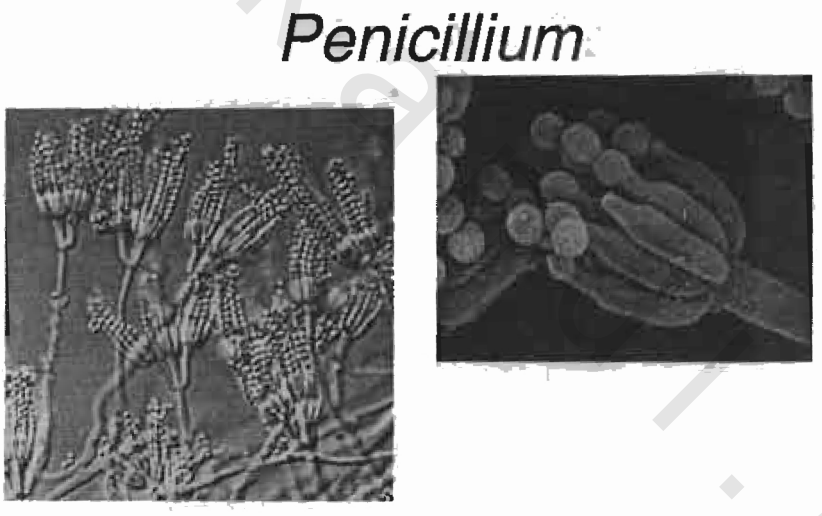
والقصة الأسطورة فى هذا الموضوع هى أن شابًا فلاحاً ترك ، غذاءه وهو قطعة من الجبن المعتدل ، فى أحد هذه الكهوف ، وبعد أن عاد إليها بعد بضعة أسابيع وجد أنها فطيرة معطرة . الأجبان الوحيدة من المنطقة المحيطة بهذه الكهوف المعينة سمح لها بأن تحمل اسم ركفورت Roquefort ،والأنواع الأخرى التابعة لهذا الجنس مثل *P. camembertii* تعطى جبن Camembert cheese جودة نوعية خاصة . ويتكاثر فطر البنسيليوم لاجنسيا بتكوين الجراثيم الكونيدية (شكل رقم ١١٨ ، ١١٩) ، مع ملاحظة أن الحوامل الكونيدية conidiophores تنشأ من أنسجة العائل . وتتكاثر أنواع فطر البنسيليوم جنسيا بتكوين الجراثيم الأسكية .



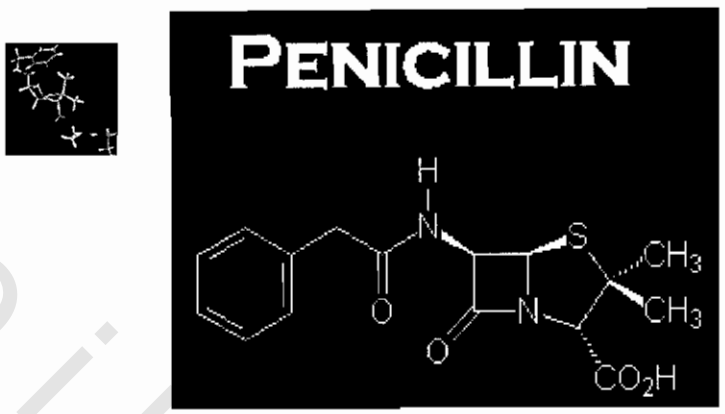
كل ر قم ١١٨١ . يوضح تكاثر فطر البنسيليوم لاجنسيا بتكوين الجراثيم الكونيدية ، مع ملاحظة أن الحوامل الكونيدية *conidiophores* تنشأ من أنسجة العائل .

وأنواع فطر البنسيليوم معروف عنها أنها تكون تراكيب جرثومية كثيفة تشبه الفرشاة . الحوامل الجرثومية تكون بسيطة أو متفرعة ومنتهية بعناقيد على هيئة قارورة ، وتنتج الجراثيم الكونيدية فى سلاسل جافة عند قمة phialides . الجرثومة الأكبر ستكون عند قاعدة السلسلة وتكون خضراء بشكل دائم تقريبا . عملية التفريع تعتبر ميزة مهمة فى تعريف أنواع البنسيليوم . الحدوث المشترك لأنواع البنسيليوم فى الغذاء هو مشكلة لها اهتمام خاص . فبعض الأنواع تنتج سموما وقد تعيد الخطر إلى الغذاء غير الصالح للأكل أو للغذاء المطهى ، إنها ممارسة جيدة لنبذ الأطعمة التى تظهر تطوير من أى نوع (شكل رقم ١٢١) .

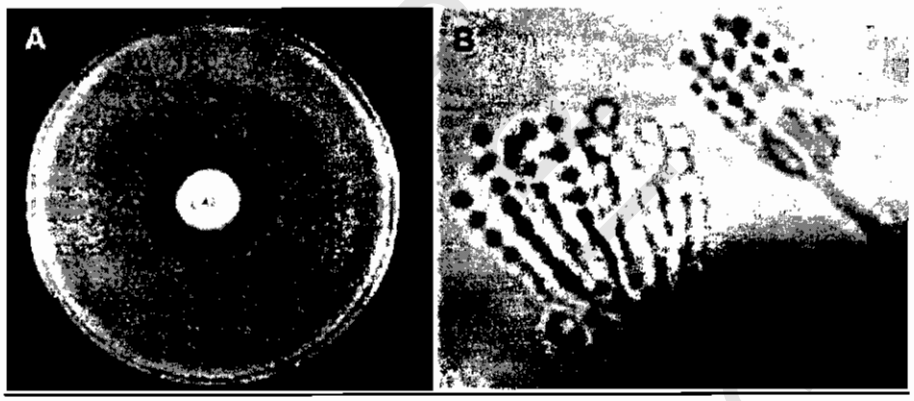
شكل رقم ١١٩: يوضح النموات التى تشبه الفرشة للتراكيب الثمرية لفطر البنسيليوم



The name *Penicillium* comes from penicillus = brush, and this is based on the brush-like appearance of the fruiting structures



شكل رقم ١٢٠ : يوضح التركيب الكيميائي للبنسلين



شكل رقم ١٢١ : يوضح نمو فطر *Penicillium chrysogenum* (A)
والجراثيم الكونيدية التى يكونها الفطر (B)

جيل جديد من الفاكسينات (الطعوم) :

يتأسس إنتاج الكثير من الفاكسينات المستخدمة فى التحصين على مبادىء لم تتغير إلا قليلاً على مر القرون القليلة الماضية. فبعضها مثل فاكسين سولك لشلل الأطفال يتكون من ميكروبات مقتولة ولكنها تحتفظ بقدرتها على إحداث المناعة. والبعض الآخر مثل فاكسين سابين لشلل الأطفال يتكون من فيروس حى تم إضعافه لمنعه من أن يسبب المرض (فيروس مستضعف) ويمكن أن ينتقل هذا الفيروس من الشخص المطعم به إلى الأفراد الآخرين فى المجتمع ، مما يجعلهم بالتالى محصنين ضد مرض شلل الأطفال.

والتحور الوراثى يتيح لنا الإمكانيات التالية فى مجال إنتاج الطعوم :

١- يمكن لشركات صناعة الفاكسينات تنمية بكتيريا غير ضارة حُورت وراثياً بجينات تشفر لبروتينات (أنتيجينات) تستثير إنتاج الأجسام المضادة الواقية من الميكروبات المسببة للمرض. وقد صنعت بهذه الطريقة فاكسينات الالتهاب الكبدى B ، التيتانوس ، الدفتريا.

٢- إنتاج فاكسينات حية من خلال البرمجة الوراثية لجينات معينة داخل ميكروب غير ضار يعمل كحامل للجينات المختصة. وبهذا فإن الميكروب ينتج أنتيجينات تستثير إنتاج الأجسام المضادة.

والحقيقة أن فاكسينات شلل الأطفال الحالية توضح نقطة خطيرة بشأن إطلاق خلية حية فى البيئة. ففاكسين سابين يتكون من فيروس مستضعف وإن كان حياً ، وهو يؤخذ عن طريق الفم ، وإحدى مزايا هذا النوع من التحصين هو أن الفيروس يتم إخراجه فى براز الأطفال المطعمين وبالتالي فإنه يمكن تمريره إلى الآخرين الذين تصيبهم عدواه فيصبحون إذن محصنين حتى وإن كانوا لم يطعموا هم أنفسهم. والضرر المقابل لذلك هو مايحدث من تغيرات نادرة فى فيروس سابين ، بما يجعله قادراً على إحداث مرض شلل الأطفال وهذا التغير المعاكس لا يمكن أن يحدث مع فاكسين سولك لشلل الأطفال . والذى يتكون من فيروس غير حى ، وهذا يجب تعاطيه بالحقن ، مما لا يعمل على استحداث المناعة فى الأطفال الذين لم يطعموا بهذا الطعم. وفى الحقيقة إنها حيرة فى المفاضلة بين الفاكسين الحى والميت ، وتتضح هذه الحيرة من الخبرة التى مرت بها هولندا. فعندما أصبحت فاكسينات شلل الأطفال متاحة لأول مرة ، قررت الحكومة الهولندية على غير

المعتاد بين الدول الأوربية الأخرى ؛ أن تختار فى برنامجها للتحصين الوقائى ضد مرض شلل الأطفال فاكسين سولك بدلاً من فاكسين سابين(فيروس حي مستضعف) ومنذ ذلك الوقت كان قد تم عملياً إستئصال مرض شلل الأطفال فى الدول التى مارست عملية التحصين الجماعى ، إلا أنه رغم ذلك تحدث نوبات من تفشى مرض شلل الأطفال بين أفراد المذهب البروتستنتى المتطرف والذين يرفضون التطعيم عن عقيدة. إلا أن الأطفال اللذين تأثروا بهذه النوبات كان يمكن لهم أن ينجوا من المرض لو أن هولندا اختارت فاكسين سابين الذى كان سينتشر فى المجتمع ويحدث المناعة حتى بين الأفراد غير المطعمين.

استخدام البكتريا كمبيدات للآفات :

إن النوع المستحدث من مبيدات الآفات هو ذلك النوع الذى من أصل حيوى تنتجه بكتريا الباسيلس ثيرونجينسيس *(B.t.)* وهذه البكتريا تتطفل على يرقات دودة ورق القطن طاحنة الأوراق وكذلك على اليرقات الأخرى التى تهاجم محاصيل زراعية هامة. وقد استخدم المزارعون مستحضرات تجارية لهذا النوع من البكتريا خلال ربع قرن من الزمان لحماية نباتات اقتصادية هامة مثل الكرنب والقطن والفاصوليا والبطاطس. وللتأكد من استمرار الوقاية يجب رش المحاصيل عدة مرات متكررة. فلقد أصبحت مكافحة هذه الدودة تنصب من الدرجة الأولى على استخدام المبيدات ، وهذه تسبب بدورها أضراراً بالغة للإنسان وللبيئة خاصة وأن تكرار استخدام المبيدات ضد هذه الحشرة قد أدى إلى إنتاج سلالات منها مقاومة للمبيدات المستخدمة . ولقد أظهرت الأبحاث أن Crystalline body المتكون داخل خلايا *B.t.* عند التجرثم يعتبر مصاحباً لنشاط البكتريا المضاد لهذه الحشرة حيث يحتوى هذا الكريستال على مادة سامة سائلة قلوية سميت هذه المادة σ-endotoxin ولقد استخدمت هذه المادة فى المكافحة الحيوية للحشرة فى ولاية تكساس بالولايات المتحدة الأمريكية . هذا مع العلم بأن استخدام المواد المطفرة مع *B.t.* يمكن أن ينتج عنها Sporogenous strains تتميز بخصائص تحسين سمية الكريستال ضد يرقات هذه الدودة التى تهدد المحاصيل الحقلية فى العالم. إن سلالات *B.t.* عندما تهاجم رتبة Lepidoptera تنتج مادة Crystals التى تتكون من ١٣٠ – ١٤٠ كيلو دالتون من البولى ببتيدات . وقد عرفت هذه البولى ببتيدات بأنها توكسينات أولية غير نشطة ، واليرقات المصابة عندما تتناول هذه التوكسينات الأولية فإنها تقوم

بإفراز إنزيم البروتينيز عليها وتعمل على تحويلها إلى جزيئات ذات سمية حقيقية وزنها الجزيئى ٥٥-٧٢ كيلو دالتون.

ولقد وجد Puntambekar et al. (1995) أن سلالات *B.t.* التى حدث بها اندماج للبروتوبلاست كان محتوى DNA بها هو ١١٧٣,٠٤ pb مقارنة بالآباء التى كان محتوى DNA بها حوالى ٦٥٤,٢٨ pb ، ٥٤٥,٥٩ pb ، وقد وصلت نسبة الموت ليرقات دودة ورق القطن المعاملة بالهجن الناتجة من اندماج البروتوبلاست إلى ٧١,١% ، بينما كانت نسبة الموت لليرقات المعاملة بالسلالات الأبوية للـ *B.t.* هى ٦١,١% ، ٦٥,٠% ، وهذا يعكس مدى أهمية التحور الوراثى للخلايا الميكروبية من *B.t.* فى زيادة الكفاءة السمية للمبيد الحيوى المستخلص منها.

هل التحور الوراثى بالجينات للخلايا الميكروبية عملية آمنة :

إن كان علماء البيولوجيا الجزيئية قد اكتشفوا حديثاً القدرة على إدخال جينات جديدة محددة بدقة إلى خلايا الكائنات الدقيقة ، إلا أنه من الواضح أن بعض التحورات الممكنة قد يكون فيها ماهو طائش ، كأن ندخل مثلا جيناً مسرطناً فى خلية بكتيرية قادرة على استعمار الأمعاء البشرية . والتحورات التى من هذا النوع لا يمكن أن تحدث صدفة ، كما أنها لا يتم تنفيذها عن عمد إلا فى أبحاث الحرب البيولوجية ، فالتحور الوراثى بشكل عام له فوائده إذا استخدم فى خدمة البشرية وله أضراره إذا تم استخدامه فى الاتجاه المضاد.

إطلاق الميكروبات فى التربة :

هناك تحكم فعال فيما يزيد عن مائة آفة مختلفة بإدخال وترسيخ أنواع هى عدو طبيعى للأنواع الضارة. فقد تمت تربية خلايا ميكروبية مثل *B.t.* وإطلاقها عن عمد ، ودون أى خطر يذكر ، وذلك لمكافحة أشكال أخرى من الحياة ضارة بالمحاصيل ، ورغم أن هذا النوع من البكتريا يحتوى على آليات لنقل جينه السام إلا أنه لم ترصد له أى آثار بيئية ضارة خلال ما يزيد عن عشرين عاماً من استخدامه على نطاق عالمى.

عملية إطلاق الرايزوبيوم أيضا وهو نوع من البكتريا يكوّن عقداً على جذور النباتات البقولية مثل البسلة ، البرسيم ، فول الصويا ، الفول البلدى ، الفول السودانى ، اللوبيا ، العدس ، الترمس ، الحمص ... إلخ. وفى هذا الإطار من التعايش تقوم الرايزوبيا بإمداد النبات بالنيتروجين الذى قامت بتثبيته من الجو إلى

شكل قابل للتمثيل بواسطة النبات. ولقد تبين لعلماء الكائنات الدقيقة والوراثة إمكانية تشجيع البكتريا على تكوين العقد الجذرية بخلط البذور بخلايا الرايزوبيا الموجودة طبيعياً أو المحورة وراثياً. ومنذ ذلك الوقت ظهرت للوجود صناعة لإمداد المزارعين بهذه المستحضرات وتعالج الآن سنوياً ملايين الهكتارات من الأرض بالرايزوبيا وذلك بدون وجود أى ردود فعل ضارة بالصحة والبيئة.

وفى الخلايا الميكروبية المحورة وراثيا بجينات معينة يجب تقييم ما إذا كان البلازميد الحامل لجين مطعم يحتمل أن ينتقل ويدخل فى خلايا ميكروبية أخرى غير مستهدفة. وهناك برنامج لتقييم مخاطر التحور الوراثى تقوم به دول المجموعة الأوربية ، قام فيه علماء بريطانيون وألمان وفرنسيون بإطلاق بكتريا الرايزوبيوم والتى تحتوى جيناً يشفر لمقاومة مضادات حيوية معينة ، وذلك كعلامة ترقيم لتحديد المدى الذى تنتقل فيه الجينات إلى خلايا أخرى لأنواع جنس الرايزوبيوم الموجودة من قبل بالتربة. وتوجد طرق أخرى استخدمت لسنين طويلة لأهداف متابعة انتشار مقاومة الأدوية فى سائر أنحاء العالم وهذه الطرق ستكون لها فائدتها فى تقييم التوتر الذى يحدث فيه تبادل البلازميدات بين الميكروبات الطبيعية أو المحورة وراثيّاً والتى أدخلت فى التربة مع الفلورا الموجودة أصلاً بالتربة.

الخلاصة :

يمكن أن تكون بعض الفطريات مفيدة ولها قيمة وأهمية اقتصادية ، فبعض أنواع البنسيليوم مفيداً للبشر . عديد من الأجبان مثل Roquefort, Brie, Camembert, Stilton .. إلخ ، تنضج بأنواع من فطر البنسيليوم وتصبح آمنة جدا للأكل، وينتج عقار البنسلين بواسطة *Penicillium chrysogenum* وهو عموما يحدث فى معظم البيوت . بعض السلالات البكتيرية مثل الباسيليس ثيرونجنسز وجد أن Crystalline body المتكون داخل خلايا *B.t.* عند التجرثم يعتبر مصاحباً لنشاط البكتريا المضاد لهذه الحشرة حيث يحتوى هذا الكريستال على مادة سامة سائلة قلوية سميت هذه المادة σ-endotoxin . ولقد استخدمت هذه المادة فى المكافحة الحيوية للحشرة فى ولاية تكساس بالولايات المتحدة الأمريكية ، هذا مع العلم بأن استخدام المواد المطفرة مع *B.t.* يمكن أن ينتج عنها Sporogenous strains تتميز بخصائص تحسين سمية الكريستال ضد يرقات هذه الدودة التى تهدد المحاصيل

الحقلية فى العالم وتعد من الأفات طاحنة الأوراق ، ورغم أن هذا النوع من البكتريا يحتوى على آليات لنقل جينه السام إلا أنه لم ترصد له أى آثار بيئية ضارة خلال ما يزيد عن عشرين عاماً من استخدامه على نطاق عالمى..

الأسئلة :

١- اذكر مثال توضح به أهمية فطر البنسيليوم نوتاتم فى مكافحة الأمراض البكتيرية ؟

٢- ما رأيك في مراحل تطور فاكسين شلل الأطفال ؟

٣- اذكر ما تعرفه عن الطريقة التى ابتكرها الباحثون فى المملكة المتحدة لمنع الفاكهة من أن تصبح طرية ؟

٤- ألق الضوء على الأمان الحيوي المتوقع من التحور الوراثي بالجينات للخلايا الميكروبية ؟

٥- ما هى الإمكانيات التى يمكن أن يتيحها التحور الوراثى فى مجال إنتاج الطعوم؟

الخاتمة :

بنهاية هذا الكتاب يجب أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قد أدرك ما يلي :

١- التقدم السريع الذي حدث فى مجال استخدام الهندسة الوراثية لتحسين المحاصيل الحقلية ضد الحشرات والمسببات المرضية المختلفة ؟

٢- التوسع فى المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيّاً بجينات معينة من ١,٧ مليون هكتار فى عام ١٩٩٦ إلى ٣٩,٥ مليون هكتار فى عام ١٩٩٩ على مستوى العالم ؟

٣- علاقة النباتات المعدلة وراثيا بالبيئة حيث يتراوح عدد المبيدات الكيماوية المستخدمة فى رش نباتات القطن وحدها مابين ١٠ – ٤٠ نوعاً ، من المبيدات بينما فى حالة استخدام المحاصيل المعدلة وراثيا بجينات لمكافحة الآفات فإنه

obeikandl.com

يحدث انخفاض فى معدل استخدام المبيدات الكيماوية فى مكافحة الآفات يتراوح مابين ٣٢ إلى ٥٠% ؟

٤- أهمية زراعة النباتات المعدلة وراثيا بالانخفاض فى معدل استخدام المبيدات الكيماوية وما سيترتب عليه من زيادة كفاءة ونشاط الوسائل الطبيعية مثل الأعداء الطبيعية للآفات والمبيدات الحيوية ؟

٥- علاقة التحول الوراثى للنباتات بزيادة إنتاج الغذاء ليتواكب والزيادة السكانية المضطردة فى العالم ؟

٦- علاقة التعديل الوراثي للنباتات بتكوين صفة المقاومة للآفات الحشرية وكذلك صفة المقاومة للأمراض وللظروف البيئية القاسية الناتجة عن الضغوط البيئية غير الحية ؟

٧- علاقة دعم صفات المقاومة فى النبات للمسببات المرضية بتحسين القيمة الغذائية للمنتج الزراعى كما تعمل على تعزيز تحمل المنتج لعمليات الحصاد والتخزين ؟

٨- أهمية الأنواع الجديدة من المحاصيل والمبيدات الحيوية في الإقلال من معدلات استخدام المبيدات الكيماوية والإقلال من تكلفة الإنتاج والمقاومة للمزارع ، وسوف تعمل كذلك لحماية صحة الإنسان والبيئة من التلوث بفعل استخدام المبيدات الكيماوية والأسمدة ؟

٩- أهمية التحور الوراثى للنباتات في التحكم فى وجود الأعشاب الضارة مما سيعمل على زيادة دخل المزارع وتوفير الوقت الذى يستغرقه المزارع فى مكافحة هذه الأعشاب أو الحشائش ؟

١٠- إنه في ختام هذا الكتاب يجب أن ننتهي بتوفر معلومات كافية عن ناقلات المادة الوراثية وجينات المقاومة للحشائش والمضادات الحيوية والمستخدمة كعلامات وراثية لانتخاب النباتات المعدلة وراثيًا ، فالتعديل الوراثي فى المحاصيل هدفه دعم صفات المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات وللأفات والمساعدة فى تصنيع الغذاء وتحسين القيمة الغذائية للأطعمة ولمقدرتها التخزينية ، فخطورة التعديل الوراثي على البيئة تتضمن التأثيرات الضارة على الكائنات النافعة غير المستهدفة من نواتج التعديل الوراثى للكائنات ، وفور انطلاق النباتات المعدلة وراثيًا فى البيئة فإنه تحدث منها حركة حرة لكل من حبوب اللقاح والبذور والنباتات خارج منطقة زراعة هذه النباتات ، وهنا من

المهم أن يتم متابعة الجينات المنقولة وأثرها على البيئة المحيطة بعد أن يتم إطلاق النباتات المعدلة وراثياً فى البيئة، كما أن اختبار وفحص تأثير النباتات المعدلة وراثيا على الأنواع غير المستهدفة منها يمكن أن يتم عمله بوسائل أو علامات عديدة مثل β-glucorinidase أو بالعلامات الانتخابية مثل المقاومة للمضادات الحيوية أو بالتحليلات الجزيئية أو باستخدام PCR ، أو برامج الأمان الحيوي Biosafety and risk assessment of genetically engineered crops (or products) ؟

١٢- العلاقة الجينية بين المسبب المرضي والعائل النباتي والتى تكون سببا فى التخصص العائلي للمسببات المرضية المختلفة ؟

١٣- الطرق المختلفة لنشأة السلالات الفسيولوجية وكيفية مواجهة السلالات الأشد ضراوة من المسببات المرضية الأبوية ؟

obeikandl.com

المصادر والمراجع العلمية للكتاب

أ - المراجع العربية :

١- أبو عرقوب ، محمود مرسي (ترجمة) ، جورج أجريوس ، ١٩٩٤ ، أمراض النبات ، المكتبة الأكاديمية .

٢- الشرقاوي ، أحمد ، العبيدي ، أحمد ، ١٩٩٩ ، الهندسة الوراثية وتطبيقاتها فى الإنتاج النباتي ، مركز جامعة القاهرة للطباعة والنشر .

٣- حسن ، أحمد عبد المنعم ، ١٩٩٤ ، تربية النباتات لمقاومة الأمراض والآفات . الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصر – القاهرة .

٤- شوقي ، أحمد شوقي ،، عبد التواب ، فتحي محمد ،، زين العابدين ، علي زين ، إسماعيل ، ممدوح أبو المحاسن ، حسانين ، السيد حسن ، مباديء علم الوراثة ، الدار العربية للنشر والتوزيع – القاهرة .

ب- المراجع الأجنبية :

5- Abdallah . M. M. F. and J . G. Th. Hermsen . 1971 . Concept of breeding for uniform and differential resistance and their integration . Euphytica 20 ; 351 – 361 .

6- Becker, N. (2000). Bacterial control of dipterans – general strategy and further development. In: Proceedings of the 13th European Society for Vector Biology Meeting (S. S. Caglar, B. Alten and N. Ozer, eds), pp. 63–70. DTP, Ankara.

7- Bergstrom, G. C., Davis, P. M., and Waldron, J. K. 1997. Management of anthracnose stalk rot/European corn borer pest complex with transgenic Bt corn hybrids for silage production. Biol. Cultural Tests 12:13.

obeikandl.com

8- Bernhard, K.; Utz, R. (1993). Production of Bacillus thuringiensis insecticides for experimental and commercial uses. In: Bacillus *thuringiensis*, an Environmental Biopesticide Theory and Practice (P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey, and S. Higgs, eds), pp. 255-267. John Wiley, Chichester. Biology, Ecology and Safety. Wiley, Chichester. 350 pp.

9- Cairns, J., G. Stent, and J. Watson. 1966. Phage and the origins of molecular biology. Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology, NY.

10- Brenner, F.J., Brenner, E.K., Schwartz, T.E. (1999). Use of plaque assay to detect enteric viruses in a rural watershed. Journal of Environmental Quality 28:845-849.

11- Brenner, S. (1955). The adsorption of bacteriophage by sensitive and resistant cells of Escherichia coli strain B. Topley & Wilson's Principles of Bacteriology and Immunology. Anonymous (1955). p.1106Arnold, London .

12- Cavallo, J. D. (1998). *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (Serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. Journal of Clinical Microbiology 36, 2138–2139.

13- Chan, M.T. ; L.J. Chen and H.H. Chang. 1996. Expression of *Bacillus thuringiensis (Bt)* insecticidal crystal protein gene in transgenic potato. Bot. Bull. Acad. Sin., 37 :17-31.

14- Crouch , M . L . 1998 . How the terminator terminates : an explanation for the non – scientist of a remarkable patent for killing second

obeikandi.com

generation seeds of crop plants . The Edmonds Institute , Edmonds , Wash. USA .

15- Delannay, X. et al. 1989. Field performance of transgenic tomato plants expressing the *Bacillus thuringinesis* var. *Kurstaki* insect control protein. Biotechnology, 7:1265.

16- Dowd, P. F. 1998. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions, pp. 307-350 in Mycotoxins in Agriculture and Food Safety (Sinha, K. K., and Bhatagnar, D., eds.) Marcel Dekker, NY.

17- Dowd, P. F., and Munkvold, G. P. 1999. Associations between insect damage and fumonisin derived from field-based insect control strategies. Proc. 40th Annual Corn Dry Milling Conf., June 3-4, 1999. Peoria, IL.

18- Engelman, R. and LeRoy, P. 1995. Sustaining water. An update, population action international, Washington DC, USA.

19- Fahmy, M. 1995. Our Genetic Future. The Science and Ethics of Genetic Technology. British Medical Association. Academic Bookshop, Cairo.

20- Farrand, S.K. 1990 . Agrobacterium radiobacter K84: a model biocontrol system. PP. 679-691. in New directions in biological control: Alternative for suppressing agricultural pests and diseases. (Publ. Alan R. Liss Inc.).

21- Farrand, S.K. 1990. *Agrobacterium radiobacter* K84: a model biocontrol system. PP. 679-691. in, New directions in biological control:

Alternative for suppressing agricultural pests and diseases. (Publ. Alan R. Liss Inc.).

22- Gatch, E. W., and Munkvold, G. P. 1999. The role of transgenic *Bt* hybrids in the management of the maize stalk rot complex. Proc. 111th Session, Iowa Acad. Sci., April 23-24, 1999, Ames, IA.

23- Gellert M. 1967 . Formation of covalent circles of lambda DNA by E. coli extracts. Proc Natl Acad Sci U S A. Jan ; 57(1):148–155.

24- Genetically modified organisms.http: //edis.ifas.ufl.edu./BODY-FSO84

Genetically engineered foods.http://www.alaskawellness.com/sept-oct00/organic.htm

25- Giles, J., and Knight, J. (2003). Dolly's death leaves researchers woolly on clone ageing issue. Nature 421, 776.

26- Hilder, V.A. and Boulter, D. 1999. Crop Prot., 18:177-191.

27- Hopwood, D.A. 1989. Antibiotic: Opportunities for genetic manipulation. Phil. Trans. R. Soc. Lond., pp. 324-549.

28- Human and environmental health risks of agricultural biotechnology .http://www.wholefoods.com/issues/ge-risks.html

29- Jaenisch, R., and Wilmut, I. (2001). Developmental biology. Don't clone humans! Science 291, 2552.

30- James, C. and Krattiger, A. 1999. In biotechnology for developing country agriculture: Problems and Opportunities (ed. Persley, G.J.), 2020 Vision Focus 2, Brief 4 of 10, International Food Policy Research Institute, Washington DC, USA.

31- Kikkert, J.R. et al. 1998. Expression of a fungal chitinase in Vitis vinifera L. Merlot and Chardonnay plants produced by biolistic transformation. Proceedings of the VIIth International Symposium on Grapevine Breeding and Genetics, Montpellier, France, July 6-10, 1998, Acta-Horticulturae .

32- Lederberg, Joshua. 1956 . Conjugal pairing in *Escherichia coli*. J Bacteriol. Apr;71(4):497–498.

33- Lederberg, Joshua, and Edward L. Tatum .1946 . "Gene Recombination *in Escherichia coli*." Nature 158, (19 October 1946): 558.

34- Lynch, R. E., Wiseman, B. R., Plaisted, D., and Warnick, D. 1999. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing CryIA(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 92:246-252.

35- Marasas, W. F. O. 1995. Fumonisins: their implications for human and animal health. Natural Toxins 3:193-198.

36- Martin, P. A. W.; Travers, R. S. (1989). Worldwide abundance and *distribution of Bacillus thuringiensis* isolates. Applied and Environmental Microbiology 55, 2437–2442.

37- Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., and Rice, L.G. 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and non-transgenic hybrids. Plant Dis. 83:130-138.

38- Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., and Showers, W. B. 1997. Reduced Fusarium ear rot and symptomless infection in kernels of maize

obeikandi.com

genetically engineered for European corn borer resistance. Phytopathology 87:1071-1077.

39- Oerke, E.C.; Dehne, H.W.; Schonbeck, F. and Weber, A. 1994. Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, The Netherlands.

40- Olsen, K.M. and J.C. Daly. 2000. Plant-toxin interactions in transgenic Bt cotton and their effect on mortality of Helicoverpa armigera (Lepidoptera : Noctuidae). J. Econ. Entomol., 93(4):1293-1299.

41- Pilcher, C. D., Rice, M. E., Obrycki, J. J., and Lewis, L. C. 1997. Field and laboratory evaluations of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn on secondary Lepidopteran pests (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 90:669-678.

42- Puntambekar, et al. 1995. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* and protoplast fusant against Spodoptera litura (F.). Letters in Appl. Microbiol., 21:348-350.

43- Reimers, C. I., Clark, T. L., Kamble, S. T., and Foster, J. E. 1998. Relationship of European corn borer and stalk rots in Bt and near isoline non-Bt maize hybrids in southeastern Nebraska. (Abstr.) 1998 Entomol. Sci. Am. North Central Branch Abstract D-7.

44- Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the Bacillus thuringiensis pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62(3), 807–813.

45- Russell , G. E. 1972 . Components of resistance to diseases in sugar – beet . In F. G. H. Lupton , G Jenkins and R. Johson (Eds) The Way

Ahead in Plant Breeding , pp . 99 – 107 . The Plant Breeding Institute , Morris Lane , Cambridge .

46- Ryder, M.H. and Jones, D.A. 1990. Biological control of crown gall. PP. 45-63. In: Biological control of soil-borne plant pathogens (ed. D. Hornby). CAB International, Wallingford.

47 - Schnepf, H. E.; Tomczak, K.; Ortega, J. P.; Whiteley, H. R. (1990). Specificity-determining regions of a lepidopteran-specific insecticidal *protein produced by Bacillus thuringiensis.* Journal of Biological Chemistry 265, 20923–20930.

48- Schuler, T.H. (2000). The impact of insect resistant GM crops on populations of natural enemies. Antenna. Bulletin of the Royal Entomological Society 24(2), 59–65.

49- Schuler, T. H.; Poppy, G. M.; Denholm, I. (2000). Recommendations for assessing affects of GM crops on non-target organisms. Proceedings of the Brighton Crop Protection .

50- Sharma, H.C.; K.K. Sharma; N. Seetharame and Rodomiro Ortiz. 2001. Genetic transformation of crop plants: Risks and opportunities for the rural poor. Current Science, vol. 80(12) :1495-1508.

51- Sharma, H.C.; Sharma, K.K.; Seetharma, N. and Ortiz, R. 2001. Genetic trnansformation of crop plants: Risks and opportunities for the rural poor. Current Science, vol. 80(12, 25) :1495-1508 .

52- Smeltzer, D. G. 1958. Relationship between Fusarium ear rot and corn earworm infestation. Agron. J. 50:53-55.

53- Smith, D. R., and White, D. G. 1988. Diseases of corn, pp. 701-766 in Corn and Corn Improvement, Agronomy Series #18 (3rd ed.) (Sprague, C.F., and Dudley, J.W., eds.) ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI.

54- Sobek, E. A., and Munkvold, G. P. 1999. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larvae as vectors of Fusarium moniliforme, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. J. Econ. Entomol. 92:503-509.

55- Tantimavanich, S.; S, Pantuwatana; A. Bhumiratana and W. Panbangred. 1998. Multiple chitinase enzymes from a single gene of Bacillus licheniformis TP-1. J. of Fermentation and Bioengineering, 85(3):259-265.

56- Tantimavanich, S.; S, Pantuwatana; A. Bhumiratana and W. Panbangred. 1997. Cloning of a chitinase gene into *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* for enhanced insecticidal activity. J. Gen. Appl. Microbiol., 43:341-347.

57- Tatum EL, Lederberg Joshua. 1947 . Gene Recombination in the Bacterium *Escherichia coli.* J Bacteriol. Jun;53(6):673–684.

58- Tinland, B. 1996. The integration of T-DNA into plant genomes. Trends in Plant Science, 1:178-184 .

59- Tinland, B. 1996. The integration of T-DNA into plant genomes. Trends in Plant Science, 1:178-184

60- Tull, D.E. 1988. The release of genetically-engineered micro-organisms. Academic Press.

obeikandl.com

61-Union of Concerned Scientists . Biobit and Terminator Technology . The Gene exchange , Winter 1998 . pp . 4 – 5 .

62- Van der Plank , J. E. 1984 . (2 nd Ed .) . Disease resistance in plants . Academic proc. N. Y. 194 p .

63- Windham, G. L., Williams, W. P., and Davis, F. M. 1999. Effects of the southwestern corn borer on *Aspergillus flavus* kernel infection and aflatoxin accumulation in maize hybrids. Plant Dis. 83:535-540.

64- Zhong, C.; Ellar, D. J.; Bishop, A.; Johnson, C.; Lin, S.; Hart, E. R. (2000). Characterization of a *Bacillus thuringiensis* delta -endotoxin which is toxic to insects in three orders. Journal of Invertebrate Pathology 76, 131–139.

65- ZINDER ND. 1953 . Infective heredity in bacteria. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. ;18:261–269.

66- Zinder, Norton D.; Lederberg, Joshua. 1952 . G.enetic exchange in S.almonella. J Bacteriol. Nov ; 64(5) : 679–699

67- Van der Plank , J. E. 1984 . (2 nd Ed .) . Disease resistance in plants . Academic proc. N. Y. 194 p.

obeikandl.com

obeikandl.com

المواقع المرتبطة بالصور الخاصة بموضوعات الكتاب :

- (http://www.scq.ubc.ca/?p=518).
- (http://www.artsci.wustl.edu/~anthro/blurb/Backgrounder.html).
- (http://www.agbioforum.org/v7n12/v7n12a04-zehr.htm)
- (http://www.scq.ubc.ca/?p=518).
- (http://www.biosicherheit.de/imagescontent/lexikon/leximg_id39_145x93.jpg).
- (http://www.apsnet.org/education/feature/maize/top.htm).
- (http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/3/8/626_meiyalaghans.htm).
- (http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/CC/s5.html).
- (http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/penicill.htm).
- (http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Penicillium.html)
- http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/penmicro.htm
- http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/penicill.htm.
- http://www.egypt-bic.com/Book2.htm
- http://www.angelfire.com/ut/ASSIUTAG/TC.htm
- http://www.kenanaonline.com/page/7447

obeikandl.com