الفصل الخامس عشر

الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات والنيماتودا

لم تحظ جهود الهندسة الوراثية لمقاومة النيماتودا باهتمام الباحثين بالقدر الذى حظيت به جهود إنتاج الأصناف المحولة وراثيًا لمقاومة الحشرات، الأمر الذى ينعكس - بالتالى - على شرحنا لموضوع هذا الفصل، والذى يميل بشدة نحو جهود التحول الوراثى لمقاومة الحشرات.

الاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية فى عمليات التحول الوراثى

إن نقل جينات المقاومة للأمراض والآفات من أحد الأنواع النباتية إلى نوع نباتى آخر بطرق الهندسة الوراثية يعد أحد الإنجازات الهامة التى أمكن تحقيقها عن طريق تقنيات الهندسة الوراثية. تتواجد هذه الجينات فى النباتات - عادة فى عناقيد clusters - يطلق عليها اسم R-genes تتضمن عديدًا من الجينات المتماثلة homologus genes، ويدخل ضمنها نسخًا غير نشطة من الجين، وهى التى ربما تمثل مساحات من التباين الوراثى الكامن الذى قد يتحور ليعطى جينات R جديدة تحت ظروف الشد الانتخابى لجينات ضراوة جديدة (avr genes) من قبل المسبب المرضى.

طُرُز المقاومة للحشرات

يعرف طرازان رئيسيان لمقاومة الحشرات فى النباتات يختلفان فى طبيعة المقاومة، كما يلى:

١ - أنتى زينوسس antixenosis .. يُعاق فى تلك الحالة تغذية الحشرات للنبات أو يقل، وذلك - أساسًا - من خلال إحداث تغيرات فى سلوك الحشرة، تعتمد على وسائل فيزيائية أو كيميائية.

تعرف الأنتى زينوسس كذلك باسم عدم التفضيل non-preference، وهى قد تعتمد على صفات فيزيائية فى النبات، مثل سمك الجدر الخلوية، وحدوث تضخمات فى الأنسجة المجروحة، وصلادة السيقان، وتواجد الشعيرات الغدية وكثافتها وأنواعها، والشموع السطحية، وتواجد السليكا بالأنسجة النباتية، وحدوث تحورات تشريحية فى الأعضاء المتخصصة إلخ

وقد تلعب المركبات التى تفرزها النباتات دورًا فى طرد الحشرات أو إحداث تغيرات فى سلوكياتها، مما يؤثر فى تكاثرها وفى مدى الأضرار التى يمكن أن تحدثها كذلك فإن عدم إفراز النباتات لمركبات معينة جاذبة للحشرات قد يفيد فى حمايتها من الإصابة هذا إلاّ أن بعض المركبات التى تنتجها النباتات قد تلعب دورًا مزدوجًا، كما فى حالة الكيوكربتينات التى تنتجها القرعيات، والتى تعد بمثابة جاذبات تغذية لخنفساء الخيار المنقطة، ولكنها طاردة للعنكبوت الأحمر (وهو ليس من الحشرات)

٢ التضادية الحيوية antibiosis تحدث فى تلك الحالة تغيرات فى تطور الحسرة بعد استعمارها للنبات وبداية تغذيتها عليه.

وغالبًا ما تتضمن التضادية الحيوية تأثيرات كيميائية سامة للحشرات، أو نقص فى تغذيتها ومن أكثر مجموعات المركبات تأثيرًا كمضادات تغذية، والتى تحدث نقصًا فى النمو الحشرى التربينويدات terpenoids، والألكالويدات alkaloids، والفلافونات flavonoids، والسيانوجينات الجلوكوسيدية cyanogenic glucosides، والأحماض الأيدروكسامية hydroxamic acids (عن Duck & Evola ١٩٩٧).

أما خاصية التحمل tolerance فهى ليست بمقاومة، إذ إن النباتات المتحملة تتعرض للإصابة الحشرية بالقدر ذاته التى تتعرض له النباتات القابلة للإصابة، ولكن دون أن تتأثر فيها كمية المحصول أو جودته.

استراتيجية التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بالاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية

تعرف استراتيجية التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بواسطة جينات المقاومة التى توجد بصورة طبيعية فى أنواع نباتية أخرى باسم نَسْخ الطبيعة copy nature، وهى تتضمن الخطوات التالية:

١ - البحث عن مصادر المقاومة الحشرية فى الطبيعة.

٢ - تنقية البروتين المسئول عن المقاومة فى كل حالة منها، ودراسة ما إن كان له نظير فى النبات الموديل *Arabidopsis* أم لا.

٣ - إجراء اختبارات السمية على الحشرة باستعمال البروتين النقى.

٤ - إجراء اختبارات السمية على الحيوانات - ومن ثم على الإنسان - باستعمال البروتين النقى.

٥ - التعرف على الجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين ونقله بطرق الهندسة الوراثية إلى النوع النباتى المطلوب.

٦ - بعد التأكد من ثبات الصفة المنقولة فى الـ T_1، والـ T_2 (الجيلان الـ transformed الأول والثانى) تجرى الاختبارات البيولوجية على كل من السمية على الحشرة المعنية والحيوانات - ومن ثم على الإنسان - مرة أخرى (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

ويفيد تهريم pyramiding الجينات فى النباتات فى زيادة مقاومتها للأمراض والحشرات، وفى الحد من حالات كسر المقاومة، حيث يؤدى التهريم - بعدة جينات للمقاومة متنوعة التأثير - إلى الحد كثيرًا جدًّا - إلى درجة الانعدام - من فرصة ظهور عدة طفرات مناظرة - فى آن واحد - يمكنها كسر كل عوامل المقاومة التى توفرها تلك الجينات، علمًا بأن الطفرة التى تؤدى إلى كسر أحد عوامل المقاومة لا يمكنها البقاء لوجود عوامل المقاومة الأخرى فى النبات.

هذا .. وقد يزيد تهريم جينات المقاومة من شدة المقاومة إما بطريقة تراكمية، وإما بطريقة تداؤبية synergistic (عن Gatehouse ١٩٩٩).

جينات المقاومة الطبيعية للنيماتودا

إن من أهم جينات المقاومة الطبيعية للنيماتودا التى استعملت أو يمكن استعمالها فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة النيماتودا، ما يلى:

١ الجين $Hs1^{pro-1}$:

كان من أوائل الـ R-genes الفعالة ضد النيماتودا - والتى أمكن عزلها والاستفادة منها عن طريق تقنيات الهندسة الوراثية - الجين $Hs1^{pro-1}$ الذى عُزِلَ من النوع *Beta procumbens*، وهو نوع برى من البنجر يكسبه هذا الجين مقاومة للنيماتودا المتحوصلة *Heterodera schachtii*. وقد أدى نقل هذا الجين إلى سلالات بنجر قابلة للإصابة بتلك النيماتودا إلى جعلها مقاومة لها.

٢ - الجين Mi.

كان جين المقاومة الثانى فى الدراسة الـ Mi gene المسئول عن مقاومة الطماطم لكل من *Meloidogyne incognita*، و *M. arenaria*، و *M. javanica*. وقد أوضحت الدراسات تواجد ثلاثة مواقع على دنا الطماطم بها تماثل فى هذا الـ R-gene، تبين أن إحداها كان جينًا كاذبًا pseudogene، بينما كان الآخران جينين محتملين نشطين أعطيا الرمزين Mi 1.1، و Mi 1.2، وتبين أن الثانى (Mi 1.2) هو الذى يكسب النباتات المحولة وراثيًا به المقاومة للنيماتودا. وتبين أيضًا أن هذا الجين يكسب النباتات - كذلك - مقاومة ضد من البطاطس *Macrosiphum euphorbiae*

٣ - الجين Hero

تم عزل الجين Hero من الطماطم، وهو جين يكسب النباتات مستوى واسعًا من المقاومة لنيماتودا البطاطس المتحوصلة، حيث يعطى ٩٥٪ مقاومة ضد *Globodera rostochiensis*، وأكثر من ٨٠٪ ضد *G. pallida*. يقع الجين على الكروموسوم الرابع فى منطقة تحتوى على ١٤ جينًا متماثلاً homologous genes، منها ٨ تبدو كجينات فعالة ونشطة. يتماثل الجين Hero فى نحو ٣٢٪ من الأحماض الأمينية التى يشفر لها مع الجين Mi 1.2، ولكن بنسبة تماثل قدرها ٢١٪ فقط مع الجين Gpa2 (عن Atkinson وآخرين ٢٠٠٣).

٤ – الجين Cre3 لمقاومة النيماتودا *Heterodera avenae* فى القمح

٥ – الجين Gro1 لمقاومة نيماتودا الحوصلات بالبطاطس

٦ – من بين استراتيجيات مقاومة النيماتودا – كذلك – هندسة التعبير الجينى لمركبات سامة للنيماتودا، مثل المركب cystatin – وهو proteinase inhibitor من الأرز – الذى أدى نقل الجين المسئول عن إنتاجه إلى نبات *A. thaliana* إلى إكسابه مقاومة لكل من نيماتودا الحوصلات ونيماتودا تعقد الجذور (عن Bent & Yu ١٩٩٩)

٧ – مثبطات إنزيم البروتييز كمضات للنيماتودا:

تتواجد الأنواع الأربع المعروفة لمثبطات إنزيم البروتييز protease (وهى: الـ cysteine، والـ serine، والـ aspartyl، والـ metallo) فى النباتات، وغالبا ما تتراكم فى أنسجة نباتية معينة استجابة للجروح التى تحدثها آكلات الأعشاب. كذلك تتراكم مثبطات البروتييز فى عديد من البذور، مثل الأرز، والذرة، ودوار الشمس، واللوبيا، ويلعب بعضها دورًا فى التحكم فى الإنبات وتشكل تلك المثبطات مكونًا طبيعيًا يدخل ضمن غذاء الإنسان، والحيوانات الزراعية، والثدييات الأخرى، والطيور وتتغلب بعض الثدييات على التأثير الذى تحدثه تلك المثبطات بزيادة إفرازاتها الطبيعية من الإنزيم عند غذائها على علائق غنية بها.

ومن أبرز الأمثلة على مثبطات البروتييز السيرين serine المثبط لإنزيم التربسن trypsin، والذى يتواجد فى بذور اللوبيا (يعطى الرمز CpTI). وجد أن التعبير عن هذا المركب CpTI فى البطاطس المحولة وراثيًا يؤثر فى عملية التكاثر الجنسى للنيماتودا المتطفلة *Globodera pallida* فى بداية الإصابة؛ مما يؤدى إلى سيادة أعداد الذكور الأصغر حجمًا والأقل ضررًا (Atkinson وآخرون ٢٠٠٣)

٨ – يجرى الباحثون محاولات لتحويل النباتات وراثيًا لأجل جعلها أقل صلاحية لتغذية النيماتودا وتطورها داخل جذور النباتات بعد اختراقها لها، كما هو الحال بالنسبة لاستخدام جين التبغ TobRB7 الذى يؤثر – خاصة – على الخلايا العلاقة التى يتحتم تكوينها لاستمرار النمو الطبيعى للنيماتودا (عن Bent & Yu ١٩٩٩).