

٣ - جينات من الثدييات

من بين بروتينات الثدييات التي أظهرت نشاطاً كبيراً في مقاومة الحشرات كلاً من: الـ bovine pancreatic trypsin inhibitor، و α -antitrypsin، و spleen inhibitor، ولقد أمكن نقل الجينات التي تتحكم في إنتاج تلك البروتينات إلى عدد من النباتات، إلا أن النتائج الأولية (مع فراشة درنات البطاطس على البطاطس) لم تكن مشجعة.

٤ - جينات من الحشرات

أدت جينات مثبطات البروتينيز المتحصل عليها من *Manduca sexta* مثل الـ anti-chemotrypsin، والـ anti-elastase، التي عبر عنها في القطن، وكذلك أدى إنزيم الـ chitinase الذي عبر عنه في التبغ إلى خفض تكاثر كلا من الذبابة البيضاء *Bemista tabaci* و *Heliothis virescens*، على التوالي (عن Chawla ٢٠٠٠).

البروتينات البلورية للبكتيريا باسيلس ثورنجنسيس

لقد عرف منذ نحو ٦٠ عاماً أن البروتينات البلورية crystal proteins التي تنتجها البكتيريا *Bacillus thuringiensis* لها تأثيرات سامة على الحشرات، واستخدمت التحضيرات التجارية لتلك البكتيريا - بالفعل - في مكافحة أكثر من ٥٠ نوعاً من حرشفيات الأجنحة هذا . إلا أن الاهتمام الحقيقي بها لم يبدأ إلا في عام ١٩٨٥ بعد عزز الجين الخاص بأحد تلك البروتينات، ثم نقله إلى الطماطم بواسطة Fischhoff وآخرون في عام ١٩٨٧، بهدف مقاومة يرقات حرشفيات الأجنحة في ذلك المحصول (عن King ١٩٩٠)

وقد أعقب ذلك اكتشاف هذا البروتين ذاته في عديد من سلالات هذه البكتيريا وتدرجياً بدا واضحاً أن السلالة البكتيرية الواحدة يمكنها إنتاج عدداً من تلك البروتينات كذلك أمكن التوصل إلى عدد من سلالات البكتيريا *B. thuringiensis* التي تفيد - مجتمعة - في مكافحة مدى واسعاً من حرشفيات الأجنحة. كما أمكن التوصل إلى عدد قليل من السلالات ذات النشاط المضاد لعدديات الأجنحة (عن Hilder ١٩٩٠)

وباختصار .. فإن البكتيريا *B. thuringiensis* تقوم بتمثيل بروتين متبلور قاتل للحشرات. يذوب هذا البروتين في الظروف القلوية للمعى الوسطى midgut ليرقات حرشفية الأجنحة بعد حصولها عليه ضمن غذائها، ثم يهضم هذا البروتين بواسطة إنزيمات الـ proteases بالمعى الأوسط؛ لينتج منه بولي بيبتييد polypeptide تكون مقاومة لمزيد من الهضم بفعل الـ peptidase، وتكون في الوقت ذاته سامة للحشرة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

أنواع السموم وطبيعة سميتها للحشرات

تعد *Bacillus thuringiensis* من بكتيريا التربة القادرة على تكوين الجراثيم، وهي تنتج نوعين - على الأقل - من البروتينات السامة للحشرات والنباتات، كما يلي:

١ - سموم خارجية exotoxins:

تنتج هذه السموم بواسطة الجين *vip3a* في مراحل النمو غير الجنسي، وهي تنطلق للتربة. وتعد الـ β -exotoxins سامة للنباتات.

٢ - سموم داخلية δ -endotoxins:

تنتج هذه السموم بواسطة مجموعة جينات الـ *cry*، خلال مرحلة التجرثم البكتيري، حيث تكوّن البكتيريا بأورات بروتينية تبقى داخل الجرثومة. وعندما تحصل الحشرة على هذا السم ضمن غذائها فإنه يرتبط بمواقع خاصة في الخلايا المبطنة للمعى. وقد أمكن التعرف على جينين من الـ *cry2* يتخصص السم الذي يفرزه أحدهما على حرشفية الأجنحة Lepidoptera والآخر على ثنائية الأجنحة (الذباب) Diptera. ونتيجة لعملية ارتباط السم تحدث تغيرات تركيبية في السم، يتبعه تكون ثقب في الخلية المبطنة التي حدث معها الارتباط، تؤدي إلى حدوث تحلل أسموزي قاتل.

ولقد وجد أن السموم الداخلية كانت سامة - كذلك - لبعض الأنواع الـ نيماتودية؛ فوجد - مثلاً - أن السم *CryB* كان ساماً للنباتات *Caenorhabditis elegans* (عن Atkinson وآخرين ٢٠٠٣).

وكما أسلفنا .. فإن سُم الـ Bt لا يكون فعالاً إلا إذا التصق مع الجدر العوية للحرشة، فإن لم يحدث هذا الالتصاق فإن السم لا يكون مؤثراً. وليست لجميع سلالات *B. thuringiensis* تلك العلاقة مع جميع الأنواع الحشرية، فبعضها يتخصص - فقط - على حشرات رتبة حرشفية الأجنحة *lepidoptera*، بينما توجد سلالات متخصصة على حشرات غمدية الأجنحة *coleoptera*، أو ثنائية الأجنحة *diptera*، أو حتى على النيماتودا.

على الرغم من أن قتل وتجفيف البكتيريا *B. thuringiensis* ذاتها، ورش المسحوق الناتج عن ذلك على النباتات يؤدي إلى قتل الحشرات الحساسة للسلالة المستعملة من البكتيريا، إلا أن سُم الـ Bt الذى ينطلق من البكتيريا سريعاً ما يتحلل ويختفى من النباتات ويصبح عديم المفعول فى المكافحة.

ولكن وجد عند نقل الجين المسئول عن إنتاج سُم الـ Bt من *B. thuringiensis* إلى البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* أن السم يبقى داخل البكتيريا بعد قتلها وتجفيفها، وبذلك يبقى ثابتاً بعد رش البكتيريا على النباتات

ونظراً لأن البكتيريا تُستعمل فى المكافحة بعد قتلها؛ لذا . فإنه لا يوجد أى ضرر من استعمالها، ولكن الضرر يمكن أن يحدث إذا ما رشت البكتيريا الحية لأن تلك البكتيريا تتواجد بصورة طبيعية على الأسطح الورقية؛ فإذا ما انتقل الجين الـ Bt من السلالة المرشوشة المحولة وراثياً إلى السلالات الطبيعية لكان هناك احتمال الخطر من استمرار تناول الإنسان لها على الدوام فى طعامه.

وتجدر الإشارة إلى أن تلك الطريقة فى المقاومة لا تكون فعالة ضد الحشرات التى تعيش على الأجزاء تحت الأرضية من النبات كالجذور والدرنات، والتى لا يصلها محلول الرش (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

وحالياً يعد السُم الحشرى الـ $\beta\text{t } \delta\text{-endotoxin}$ - من البكتيريا *B. thuringiensis* - أهم وسائل الهندسة الوراثية لمكافحة الحشرات، وقد وصلت مبيعات بذور الذرة

الصدسة الوراثية لمقاومة الحشرات والديمتودا

والقطن وتقاوى البطاطس المهندسة وراثياً بجين الـ Bt أرقاماً قياسية، كما حولت وراثياً بالجين ذاته محاصيل: اليرسيم الحجازى، والتفاح، والباذنجان، والهور، والأرز، والتبغ، والطماطم، والجوز.

ومن أهم مميزات الـ β t δ -endotoxin عدم استمرار تواجده فى البيئة لفترة طويلة، وفعاليتها ضد مجموعة محددة من الآفات الحشرية، وعدم سميته لمعظم النباتات والحيوانات، وكذلك عدم سميته للإنسان. تُحدث هذه السموم ثقباً وتحللاً بالخلايا فى الأمعاء الوسطى لليرقات، عند تركيزات تقدر بالجزء فى البليون.

وحديثاً .. أصبحت المقاومة للحشرات بهذه الطريقة محل تساؤلات بعد أن اكتشفت حالات المقاومة للـ β t δ -endotoxin فى بعض الحشرات (عن Bent & Yu 1999).

تقسيم السلالات البكتيرية والسموم التى تنتجها

يعتمد تقسيم سلالات *Bacillus thuringiensis* العديدة التى تم اكتشافها على أساس سيروولوجى يقوم على تفاعلات الترسيب بين الخلايا البكتيرية الهدبية مع antisera تم إنتاجها ضد الأهداب أو الخلايا البكتيرية الخضرية. ويعرف حالياً أكثر من ثلاثين طرازاً سيروولوجياً، والعدد فى ازدياد. وعلى الرغم من عدم وضوح الأهمية البيولوجية للتفاعل السيروولوجى فإنه مازال هو الأساس الذى يبنى عليه تقسيم هذه البكتيريا، علماً بأنه لا علاقة له بنشاط البكتيريا كمنتج للسم الحشرى.

وجد الباحثون سلالات جديدة من *B. thuringiensis* أقوى تأثيراً فى سميتها، وأخرى مؤثرة على يرقات حشرات أخرى غير حرشفيات الأجنحة. كذلك يحاول الباحثون هندسة جينات منتجة للبروتين البلورى تكون أقوى سمية أو أوسع تأثيراً.

وكما أسلفنا .. فإم السلالة البكتيرية الواحدة يمكنها إنتاج عدداً من البروتينات البلورية، علماً بأن تلك البروتينات تتباين كثيراً فى خصائصها وفى تأثيراتها (جدولا ١٥-٦، و ١٥-٧) (عن Peferon 1997).

وقد أمكن تعريف ما لا يقل عن ٦٠ جين من تلك الخاصة بالبروتينات البأورية Bt crystal protein genes، وذلك على مستوى النيكلوتيدات.

وتنقسم هذه الجينات إلى خمس مجموعات رئيسية حسب تأثيراتها العامة التي تخصص فيها، كما يلي:

١ - مجموعة CryI . وهي سامة لحشريات الأجنحة.

٢ - مجموعة CryII وهي سامة لكل من حشريات الأجنحة، وثنائية الأجنحة (الذباب)

٣ - مجموعة CryIII .. وهي سامة لغمدية الأجنحة

٤ - مجموعة Cry IV .. وهي سامة لثنائية الأجنحة.

٥ - مجموعة خاصة تأخذ الاسم cry VI .. وهي نشطة ضد الديدان (عن Chen وآخرين ١٩٩٥).

وحيالياً . تقسم تلك البروتينات على أساس تنابعاتها من الأحماض الأمينية فقط، وليس على أساس المجموعات الحشرية التي تتأثر بها، كما كان الحال في بداية العهد بتقسيمها (عن Peferoen ١٩٩٧).

التقدمات في عمليات التحول الوراثي وجينات الـ Cry الأكثر

شيوفاً

(الجينات والبروتينات والسلالات البكتيرية الشائعة للاستعمال)

إن بروتينات الـ Bt التي يُعبّر عنها حالياً في المحاصيل الزراعية المحولة وراثياً هي من الطرازين CryI، و CryIII من الـ d-endotoxins، وهي التي تعرف بفاعليتها في مقاومة عديد من الآفات الحشرية من كل من رتبتي حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة. وقد أفاد استمرار غريلة وتقييم سلالات الـ BT في اكتشاف d-endotoxins ذات صفات مفيدة ونشطة ضد حشرات أخرى إضافية. وعلى سبيل المثال .. وجدت d-endotoxins تنتمي إلى طراز Cry II ذات نشاط ضد بعض الآفات الرئيسية من حرشفية الأجنحة.

جدول (١٥-٦): تقسيم جينات البروتينات البلورية للبكتريا *Bacillus thuringiensis* (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

سلالة <i>B. thuringiensis</i>		عائلة ال	cry gene
الآفات الحساسة لها	أو تحت النوع	حجم البروتين	
حرفية الأجنحة	kurstaki	133	<i>cryI Aa(1-14)</i>
حرفية الأجنحة	berliner	130	<i>cryI Ab(1-16)</i>
حرفية الأجنحة	kurstaki	133	<i>cryI Ac(1-15)</i>
حرفية الأجنحة	aizawai	133	<i>cryI Ad-g</i>
حرفية الأجنحة	kurstaki	140	<i>cryI Ba(1-4)</i>
حرفية الأجنحة	EG5847	1340	<i>cryI Bb-g</i>
حرفية الأجنحة	entomocidus	134	<i>cryI Ca(1-8)</i>
حرفية الأجنحة	galleriae	133	<i>cryI Cb(1-2)</i>
حرفية الأجنحة	aizawai	132	<i>cryI Da(1-2)</i>
حرفية الأجنحة	BTS00349A	131	<i>cryI Db(1-2)</i>
حرفية الأجنحة	kenyae	133	<i>cryI Ea(1-6)</i>
حرفية الأجنحة	aizawai	134	<i>cryI Ebl</i>
حرفية الأجنحة	aizawai	134	<i>cryI Fa(1-2)</i>
	Morrisoni	132	<i>cryI Fb(1-5)</i>
	BTS00349A	132	<i>cryI Ga(1-2)</i>
حرفية الأجنحة	wuhanensis	133	<i>cryI Gb(1-2)</i>
	BTS02069AA	133	<i>cryI Ha-b</i>
حرفية الأجنحة	kurstaki	81	<i>cryIIa(1-9)</i>
حرفية الأجنحة وغمدية الأجنحة	entomocidus	81	<i>cryIIb-e</i>
حرفية الأجنحة	EG5847	133	<i>cryIJa-d</i>
حرفية الأجنحة	morrisoni	137	<i>cryIKaI</i>
حرفية الأجنحة وثنائية الأجنحة	kurstaki	71	<i>cry2Aa(1-10)</i>
حرفية الأجنحة	kurstaki	71	<i>Cry2Ab(1-5)</i>
حرفية الأجنحة	shanghai	70	<i>cry2Ac(1-2)</i>
غمدية الأجنحة	tenebrionis	73	<i>cry3Aa(1-7)</i>
غمدية الأجنحة	tolworthi	75	<i>cry3Ba(1-2)</i>
غمدية الأجنحة	EG4961	74	<i>Cry3Bb(1-3)</i>
غمدية الأجنحة	kurstaki	73	<i>cry3CaI</i>

سلالة <i>B. thuringiensis</i>		عائلة الـ	cry gene
أوقات الحساسية لها	أوتحت النوع	حجم البروتين	
ثنائية الأجنحة	israelensis	135	<i>cry4Aa(1-3)</i>
ثنائية الأجنحة	israelensis	128	<i>cry4Ba(1-5)</i>
النيماطودا	darmstadiensis	152	<i>cry5Aa1</i>
النيماطودا	darmstadiensis	142	<i>cry5Ab1</i>
غشائية الأجنحة	PS86Q3	135	<i>Cry5Ac1</i>
غشائية الأجنحة	PS86Q3	140	<i>cry5Ba1</i>
النيماطودا	PS52A1		<i>cry6Aa(1-2)</i>
النيماطودا	PS69D1		<i>cry6Ba1</i>
غمدية الأجنحة	galleriae	129	<i>cry7Aa1</i>
غمدية الأجنحة	dakota	130	<i>cry7Ab(1-2)</i>
غمدية الأجنحة	kumamoroensis	131	<i>cry8A-D</i>
حرفشية الأجنحة	galleriae	130	<i>cry9Aa(1-2)</i>
حرفشية الأجنحة	galleriae		<i>cry9Ba1</i>
حرفشية الأجنحة	tolworthi	130	<i>cry9Ca1</i>
	japonensis	132	<i>cry9Da(1-2)</i>
ثنائية الأجنحة	israelensis	78	<i>cry10Aa1</i>
ثنائية الأجنحة	israelensis	72	<i>cry11Aa(1-2)</i>
ثنائية الأجنحة	jegathesan	81	<i>cry11Ba-b</i>
-- متنوعة	--	--	<i>cry12-40</i>

وقد نشأت تلك البروتينات الـ CryII من سلالة معروفة جيداً من Bt هي السلالة HD-1 التي تنتج - كذلك - الطراز CryI الذى سبق التعرف عليه، علماً بأن كلا الطرازين البروتينين - CryI، و CryII - يختلفان تركيبياً بوضوح، ويختلفان فى طريقة ارتباطهما بالأغشية المبطنة للغشاء المعدى لليرقة. ويعتقد بأن تلك الاختلافات قد تفيد فى المساعدة على مقاومة الحشرات التى طورت مقاومة للطراز البروتينى CryI (عن Corbin وآخرين ١٩٩٨).

جدول (١٥-٧): مدى البروتينات البلورية السامة للحشرات في مختلف سلالات البكتيريا *Bacillus thuringiensis* (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

سلالات وتحت أنواع <i>B. thuringiensis</i>	البروتينات البلورية التي تنتجها
	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ad, Cry1Ca, Cry1Da, Cry1Eb, <i>aizawai</i>
	Cry1Fa, Cry9Ea, Cry39Aa, Cry40Aa
	Cry1Aa, Cry1Ba, Cry1Ca, Cry1Ib <i>entomocidus</i>
	Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Da, Cry1Cb, Cry7Aa, Cry8Da, <i>galleriae</i>
	Cry9Aa, Cry9Ba
	Cry10Aa, Cry11Aa <i>israelensis</i>
	Cry8Ca, Cry9Da <i>japonensis</i>
	Cry11Ba, Cry19Aa, Cry24An, Cry25Aa <i>Jegathesan</i>
	Cry2Aa, Cry1Ea, Cry1Ac <i>kenyae</i>
	Cry7Ab, Cry8Aa, Cry8Ba <i>kumamotoensis</i>
	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ia, Cry2An, Cry2Ab <i>kurstaki</i> HD-1
	Cry1Ac <i>kurstaki</i> HD-73
	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac <i>kurstaki</i> NRD-12
	Cry1Bc, Cry1Fb, Cry1Hb, Cry1Ka, Cry3An <i>morrisoni</i>
	Cry3Aa <i>tenebrionis</i>
	Cry3Ba, Cry9Ca <i>tolworthi</i>
	Cry1Bd, Cry1Ga, Cry1Gb <i>wuhanensis</i>

وسائل تحسين التعبير الجيني

لقد لوحظ انخفاض مستوى تعبير الجين Bt في بعض النباتات المحولة وراثياً، ولكن يمكن زيادة هذا التعبير من خلال اختيار الـ promoters المناسبة (جدول ١٥-٨)، أو بتحويل منطقة التشفير coding region بالجين Bt. ولقد تحقق تنشيط فعل الجين باستعمال نسختين من الـ constitutive 35S promoter من فيرس موزايك القنبيط.

كذلك استعملت جينات Bt مخلقة أعيد تشكيلها بزيادة محتواها من الـ GC .. استعملت في بعض من تلك المحاصيل (جدول ١٥-٩)، وأظهرت تلك الطرز المخلقة - في كثير من الأحيان - زيادة مقدارها ٥٠٠ ضعف في التعبير الجيني.

ومن الوسائل الأخرى التي اتبعت لزيادة التعبير الجيني إجراء تحويلات في الجين والحصول على انمزالات من الطرز المحورة؛ بهدف قصر التعبير الجيني على الأنسجة التي تضار من النشاط الحشوي فقط (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

الإنجازات على المستوى التجاري

من بين الشركات الأمريكية التي أجرت اختبارات حقلية لنباتات محولة وراثيًا بالجين Bt، أو اعتمدت اختباراتها الحقلية بواسطة وزارة الزراعة الأمريكية، ما يلي (Chrispeels & Sodava ٢٠٠٣)

المحصول	الشركة
البطاطس - القطن - الطماطم - الذرة	Monsanto
القطن - التبغ - البطاطس	Calgene
التبغ - الذرة	CIBA-GEIGY
لفت الزيت (الكانولا)	Agrigentics
الطماطم	Campbell Institute R & T
التبغ	Rohm & Haas
الطماطم	Roger NK Seed
البطاطس	Frito-Lay
الذرة	Delkab
الذرة	Northrup King
الفُبراء Serviceberry	Dow Gardens

ومن بين الأصناف الجديدة التجارية التي أدخلت في الزراعة وتحمل الجين Bt الأصناف: Bollgard، و Maximizer، و Yield Gard من القطن، و New Leaf من البطاطس (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

ويعطى جدول (١٥-١٠) قائمة بأصناف بعض المحاصيل الزراعية الهامة التي أنتجتها بعض شركات التكنولوجيا الحيوية لمقاومة أنواع حشرية متنوعة.

جدول (١٥-٨): الـ promoters التي استخدمت مع جينات الـ Cry في عمليات التحول الوراثي لمقاومة الحشرات (عسن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

النباتات التي حورت وراثيًا	البوتين البورى	موقع التعبير	المصدر	الـ Promoter
التبغ والبطاطس	CryIAb	معظم الأنسجة النباتية	<i>Agrobacterium</i> Ti plasmid	Mannopine synthase TR
البسلة وفاصوليا أدزوكى والتبغ	a-AI-Pv	البذور	الفاصوليا	Phytohaemagglutinin (PHA-L)
معظم النباتات	Most proteins	معظم الأنسجة النباتية	Cauliflower mosaic virus	CaMV 35S
التبغ	GNA	الحاء	الأرز	Sucrose synthase (RSs1)
الذرة	CryIAb	الجذور	الذرة	Metallothionein-like (MT-L)
الذرة والأرز	CryIAb	الأنسجة الخضراء	الذرة	Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC)
الذرة	CryIAb	حبوب اللقاح	الذرة	Pollen-specific
الذرة	CryIAb	النخاع	الذرة	Tryptophan synthase α -subunit (trpA)
الأرز	CryIAc	كل الأعضاء النباتية	الذرة	Ubiquitin-1 (Ubi-1)
الأرز والتبغ والبطاطم	Pot PI-II, ipt	يستحث بفعل الجروح	البطاطس	Proteinase inhibitor II (Pot PI-II)
التبغ	CryIAc	البلاستيدات الخضراء	rRNA operon (Prrrn)	rRNA operon (Prrrn)
الأرز	CpTI	كل الأعضاء النباتية	الأرز	Actin-1 (Act-1)
التبغ	CryIAb	يستحث كيميائيًا	التبغ	Pathogenesis-related protein-1a (PR-1a)

جدول (١٥-٩): تحولات وراثية لقائمة الحشرات اعتمدت على جينات Bt مخلقة (عس Mandaokar وآخرين ١٩٩٩).

النبات	الجين	بروتين الـ Bt (كسبة مئوية من البروتين السذاب)	الحشرة المستهدفة
القطن	cry1Ab/	٠,١	<i>Heliothis zea</i>
	cry1Ac		<i>Pectinophora gossypiella</i>
البطاطس	cry3A	٠,٣	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
الدرة	cry1Ab	٠,١٧	<i>Ostrinia nubilalis</i>
الأرز (<i>japonica</i>)	cry1Ab	٠,١٥	<i>Chilo suppressalis</i>
الأرز (<i>indica</i>)	cry1Ac	٠,١٢٥	<i>Scirpophaga incertulas</i>
الطماطم	cry1Ab	٠,٣	<i>Heliothis zea</i>
التبغ	cry1Ab	٠,٠٣	<i>Heliothis virescens</i>
البادنجان	cry1Ab	٠,٠٣	<i>Leucinodes orbonalis</i>
لنت الزيت	cry1Ac	٠,٤	<i>Plutella xylostella</i>
البرسيم الحجازي	cry1C	٠,٢	<i>Spodoptera littoralis</i>

كسر مقاومة الجين Cry

عند زراعة الأصناف المعدلة وراثياً المحتوية على الجين Cry على نطاق واسع، فإن الضغط الانتخابي على الحشرات لتطوير سلالات جديدة مقاومة للسم الذي ينتجه هذا الجين يكون قوياً؛ الأمر الذي يؤدي إلى ظهور السلالات المقاومة، ثم انتشارها مع استمرار زراعة الأصناف المعدلة وراثياً (عن Bergelson وآخرين ١٩٩٩)

وتعرف عدة حالات كسرت فيها الحشرات المقاومة الحشرية في النباتات المحولة وراثياً، وخاصة في تلك التي حصلت على جين المقاومة الحشرية من *Bacillus thuringiensis*، ولعل أبرز مثال على ذلك المقاومة التي تطورت في الفراشة ذات الظهر الماسي *Plutella xylostella* ضد سموم الـ Cry1A في كل من الفيليبين، وهاواي، وفلوريدا، وكذلك ضد Cry1F في هاواي. ولقد بدا واضحاً أن مقاومة تلك الحشرة لهذه السموم يتحكم فيها جين واحد أو عدد قليل من الجينات. وجدير بالذكر أن هذه

الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات والنباتات

الحشرة - على وجه الخصوص - قد طورت مقاومة ضد معظم المبيدات الحشرية في عديد من دول العالم (عن Roush 1997).

جدول (١٥-١٠): الأصناف التجارية التي أنتجتها شركات التكنولوجيا الحيوية من بعض المحاصيل الاقتصادية الهامة (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

الشركة	الصنف	بروتين الـ Bt	المحصول	الحشرات المستهدفة
Monsanto	New-Leaf	Cry3A	البطاطس	Colorado beetle
Monsanto	Bollgard	CryIAc	القطن	Tobacco budworm, cotton bollworm, pink bollworm
Monsanto	YieldGard	Cry1Ab	الذرة	European corn borer
Novartis	YieldGard			
Mycogen	Knockout			
Mycogen	NaturGard			
DeKalb	Br-Xtra	Cry1Ac	الذرة	European corn borer
Aventis	StarLink	Cry9C	الذرة	European corn borer
Mycogen	Herculex 1	Cry1F	الذرة	European corn borer
Pioneer				
Monsanto		Cry3Bb	الذرة	Corn rootworm larvae

كذلك أمكن تطوير سلالات حشرية مقاومة للبروتين البلورى معملياً، وذلك من كل من الأنواع الحشرية: *Plodia interpunctella*، و *Cadra cautella*، و *Heliothis virescens*. وقد تراوح مقدار الزيادة في مقاومة التأثير السام للبروتين البلورى بين ٢٤٪، وأكثر من ٢٥٠٪. وفي هاواي وجدت في الحقول التي استعملت فيها *B. thuringiensis* في المقاومة الحشرية - رثاً - بكثافة عالية ولفترة طويلة .. وجدت عشائر من الحشرة ذات الظهر الماسي *Plutella xylostella* كانت أكثر مقاومة للبكتيريا بمقدار ٤١ ضعف.

وعلى الرغم من أن *Plodia interpunctella* قد طورت مقاومة لبعض سلالات البكتيريا، فإن هذه السلالة الحشرية المقاومة كانت حساسة لسلالات بكتيرية أخرى. ليس هذا فقط، بل إن السلالة الحشرية التي طورت مقاومة ضد السم المنقى (CryIA(b))

أصبحت أكثر حساسية للسم البلورى CryIC. وقد تبين أن المقاومة للبروتين البلورى CryIA(b) ترتبط بانخفاض قدره ٥٠٪ فى ألفة الغشاء الخلوى على استقبال البروتين، بينما ارتبطت زيادة حساسيتها للبروتين CryIc بزيادة فى مواقع الالتحام بينه وبين الخلايا المبطنة للمعى الحشرية (عن Peferoen ١٩٩٢).

ولقد طورت استراتيجيات للتعامل مع مشكلة مقاومة الحشرات للسم البكتيرى، وجميعها تعتمد على بقاء الآليل الحشرى الخاص بمقاومة السم البكتيرى منخفضاً، حيث يتسنى للأفراد الحساسة - التى تحتوى على الآليل الحشرى الخاص بالحساسية للسم البكتيرى - أن تكتسح الأفراد المقاومة.

ومن بين صله الأصقرا تهيبات، ما يلى:

- ١ - اتباع دورة زراعية تتبادل فيها المحاصيل المعدلة وراثياً بالجين Bt مع المحاصيل غير المعدلة وراثياً، أو أن تتنوع فى الأصناف المزروعة فيها سموم الـ Bt.
- ٢ - استعمال أصناف محولة وراثياً بأكثر من واحد من سموم الـ Bt، مع اختلافها فى طبيعة فعلها.
- ٣ - توفير ملجأ لتكاثر الحشرة العادية غير المقاومة لسموم الـ Bt، إما بالتعبير عن جينات الـ Bt فى أنسجة معينة من النباتات المحولة وراثياً ذاتها، أو بزراعة أصناف محولة وراثياً وأخرى غير محولة فى الحقل ذاته، أو فى حقول متجاورة. يؤدى ذلك إلى إبطاء عملية تطور وظهور سلالات حشرية جديدة مقاومة.
- ٤ - التعبير القوى جداً لجينات الـ Bt فى النباتات المعدلة وراثياً، مما يزيد من صعوبة ظهور السلالات المقاومة.
- ٥ - الحد من حجم عشيرة الحشرة - بهدف الحد من التباينات الوراثية التى قد تظهر فيها - التى قد تتضمن المقاومة - وذلك بالجمع بين زراعة الأصناف المقاومة ووسائل المكافحة الأخرى، مثل استعمال الأعداء الطبيعية (عن Mandaokar وآخرين ١٩٩٩، و Bent & Yu ١٩٩٩).

وقد قارن Roush (١٩٩٤) تأثير مقاومة الحشرات بتحويلها وراثياً بالجين Bt مع

المقاومة بالرش بالتحضيرات التجارية من البكتيريا *Bacillus thuringiensis*، وذلك على ضوء ما ابداه بعض الحشريين من أن فرصة ظهور سلالات حشرية مقاومة تكون أقل عند الرش بالبكتيريا عما يكون عليه الحال عند زراعة النباتات المحولة وراثياً. يذكر الباحث - بداية - أن التحضيرات التجارية من البكتيريا لا تخلط - غالباً - بالمبيدات الحشرية الكيميائية، وليس من المحتمل أن تكون بديلاً عنها. وبالمقارنة .. فإن استعمال النباتات المحولة وراثياً في الزراعة يمكن أن يحل كلية محل الرش بالمبيدات الكيميائية؛ مما يجعل لاستعمالها قيمة كبيرة في حماية البيئة. كذلك أظهرت الدراسات المخبرية على كل من الفراشة ذات الظهر الماسي *Plutella xylostella* وفراشة الدقيق الهندية *Plodia interpunctella* أن النباتات التي تحمل جين Bt واحد تكون أكثر كفاءة في تأخير ظهور المقاومة الحشرية عن الرش بالبكتيريا. كما وجد أيضاً أن سلالات خنفساء كلورادو *Leptinotarsa decemlineata* التي طورت معملياً لمقاومة الرش بالبكتيريا لم تكن قادرة على إصابة النباتات المحولة وراثياً؛ مما يعني أن طبيعة المقاومة الحشرية تختلف بين حالتى الرش بالبكتيريا واستعمال النباتات المحولة وراثياً. وأخيراً .. فإن استعمال نباتات محولة وراثياً بجينين من جينات الـ Bt تزيد - كثيراً - من احتمالات تطوير حالات المقاومة الحشرية.