## البروتينات البللورية للبكتيريا باسيلّس ثورنجينسس

لقد عرف منذ نحو ٦٠ عامًا أن البروتينات البلّورية crystal proteins التى تنتجها البكتيريا *Bacillus thuringiensis* لها تأثيرات سامة على الحشرات، واستخدمت التحضيرات التجارية لتلك البكتيريا - بالفعل - فى مكافحة أكثر من ٥٠ نوعًا من حرشفيات الأجنحة. هذا .. إلاّ أن الاهتمام الحقيقى بها لم يبدأ إلاّ فى عام ١٩٨٥ بعد عزل الجين الخاص بأحد تلك البروتينات، ثم نقله إلى الطماطم بواسطة Fischhoff وآخرون فى عام ١٩٨٧؛ بهدف مقاومة يرقات حرشفيات الأجنحة فى ذلك المحصول (عن King ١٩٩٠).

وقد أعقب ذلك اكتشاف هذا البروتين ذاته فى عديد من سلالات هذه البكتيريا. وتدريجيًّا .. بدا واضحًا أن السلالة البكتيرية الواحدة يمكنها إنتاج عددًا من تلك البروتينات. كذلك أمكن التوصل إلى عدد من سلالات البكتيريا *B. thuringiensis* التى تفيد - مجتمعة - فى مكافحة مدى واسعًا من حرشفيات الأجنحة، كما أمكن التوصل إلى عدد قليل من السلالات ذات النشاط المضاد لغمديات الأجنحة (عن Hilder ١٩٩٠).

وباختصار .. فإن البكتيريا *B. thuringiensis* تقوم بتمثيل بروتين متبلور قاتل للحشرات. يذوب هذا البروتين فى 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 بولى بيبتيد polypeptide تكون مقاومة لمزيد من الهضم بفعل الـ peptidase، وتكون فى الوقت ذاته سامة للحشرة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

## أنواع السموم وطبيعة سميتها للحشرات

تعد *Bacillus thuringiensis* من بكتيريا التربة القادرة على تكوين الجراثيم، وهى تنتج نوعين - على الأقل - من البروتينات السامة للحشرات والنيماتودا، كما يلى:

١ - سموم خارجية exotoxins:

تنتج هذه السموم بواسطة الجين vip3a فى مراحل النمو غير الجنسى، وهى تنطلق للتربة. وتعد الـ β-exotoxins سامة للنيماتودا.

٢ - سموم داخلية δ-endotoxins:

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

ولقد وجد أن السموم الداخلية كانت سامة - كذلك - لبعض الأنواع النيماتودية، فوجد - مثلاً - أن السم CryB كان سامًّا للنيماتودا *Caenorhabditis elegans* (عن Atkinson وآخرين ٢٠٠٣).

وكما أسلفنا .. فإن سُم الـ Bt لا يكون فعّالاً إلاّ إذا التصق مع الجدر المعوية للحشرة، فإن لم يحدث هذا الالتصاق فإن السم لا يكون مؤثرًا. 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 يؤدى إلى قتل الحشرات الحساسة للسلالة المستعملة من البكتيريا، إلا أن سُم الـ Bt الذى ينطلق من البكتيريا سريعًا 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 ثابتًا بعد رش البكتيريا على النباتات.

ونظرًا 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 وراثيًا 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).

وحاليًا .. يعد السُم الحشرى الـ βt δ-endotoxin – من البكتيريا *B. thuringiensis* – أهم وسائل الهندسة الوراثية لمكافحة الحشرات، وقد وصلت مبيعات بذور الذرة والقطن وتقاوى البطاطس المهندسة وراثيًا بجين الـ Bt أرقامًا قياسية، كما حولت وراثيًا بالجين ذاته محاصيل: البرسيم الحجازى، والتفاح، والباذنجان، والحور، والأرز، والتبغ، والطماطم، والجوز.

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

وحديثًا .. أصبحت المقاومة للحشرات بهذه الطريقة محل تساؤلات بعد أن اكتشفت حالات المقاومة للـ βt δ-endotoxin فى بعض الحشرات (عن Bent & Yu ١٩٩٩).

ولقد وجد الباحثون سلالات جديدة من *B. thuringiensis* أقوى تأثيرًا فى سميتها،

وأخرى مؤثرة على يرقات حشرات أخرى غير حرشفيات الأجنحة. كذلك يحاول الباحثون هندسة جينات منتجة للبروتين البلّورى تكون أقوى سمية أو أوسع تأثيرًا.

إن بروتينات الـ Bt التى يُعَبَّر عنها حاليًّا فى المحاصيل الزراعية المحولة وراثيًّا هى من الطرازين CryI، و CryIII من الـ d-endotoxins، وهى التى تعرف بفاعليتها فى مقاومة عديد من الآفات الحشرية من كل من رتبتى حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة. وقد أفاد استمرار غربلة وتقييم سلالات الـ BT فى اكتشاف d-endotoxins ذات صفات مفيدة ونشطة ضد حشرات أخرى إضافية. وعلى سبيل المثال .. وجدت d-endotoxins تنتمى إلى طراز Cry II ذات نشاط ضد بعض الآفات الرئيسية من حرشفية الأجنحة.

## الإنجازات على المستوى التجارى

من بين الشركات الأمريكية التى أجرت اختبارات حقلية لنباتات محولة وراثيًّا بالجين Bt، أو اعتُمدت اختباراتها الحقلية بواسطة وزارة الزراعة الأمريكية، ما يلى (Chrispeels & Sodava ٢٠٠٣).

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

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

ويعطى جدول (١٣-٦) قائمة بأصناف بعض المحاصيل الزراعية الهامة التى أنتجتها بعض شركات التكنولوجيا الحيوية لمقاومة أنواع حشرية متنوعة.

جدول (١٣-٦): الأصناف التجارية التى أنتجتها شركات التكنولوجيا الحيوية من بعض المحاصيل الاقتصادية الهامة (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

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

## كسر مقاومة الجين Cry

عند زراعة الأصناف المعدلة وراثيًا المحتوية على الجين Cry على نطاق واسع، فإن الضغط الانتخابى على الحشرات لتطوير سلالات جديدة مقاومة للسم الذى ينتجه هذا الجين يكون قويًا، الأمر الذى يؤدى إلى ظهور السلالات المقاومة، ثم انتشارها مع استمرار زراعة الأصناف المعدلة وراثيًا (عن Bergelson وآخرين ١٩٩٩).

وتعرف عدة حالات كسرت فيها الحشرات المقاومة الحشرية فى النباتات المحولة

وراثيًّا، وخاصة فى تلك التى حصلت على جين المقاومة الحشرية من *Bacillus thuringiensis*، ولعل أبرز مثال على ذلك المقاومة التى تطورت فى الفراشة ذات الظهر الماسى *Plutella xylostella* ضد سموم الـ Cry1A فى كل من الفيلبين، وهاواى، وفلوريدا، وكذلك ضد Cry1F فى هاواى. ولقد بدا واضحًا أن مقاومة تلك الحشرة لهذه السموم يتحكم فيها جين واحد أو عدد قليل من الجينات. وجدير بالذكر أن هذه الحشرة - على وجه الخصوص - قد طورت مقاومة ضد معظم المبيدات الحشرية فى عديد من دول العالم (عن Roush ١٩٩٧).

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

**ومن بين هذه الاستراتيجيات، ما يلى:**

١ - اتباع دورة زراعية تتبادل فيها المحاصيل المعدلة وراثيًّا بالجين Bt مع المحاصيل غير المعدلة وراثيًّا، أو أن تتنوع فى الأصناف المزروعة فيها سموم الـ Bt.

٢ - استعمال أصناف محولة وراثيًّا 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 وراثيًّا ذاتها، أو بزراعة أصناف محولة وراثيًّا وأخرى غير محولة فى الحقل ذاته، أو فى حقول متجاورة. يؤدى ذلك إلى إبطاء عملية تطور وظهور سلالات حشرية جديدة مقاومة.

٤ - التعبير القوى جدًّا لجينات الـ Bt فى النباتات المعدلة وراثيًّا؛ مما يزيد من صعوبة ظهور السلالات المقاومة.

٥ - الحد من حجم عشيرة الحشرة - بهدف الحد من التباينات الوراثية التى قد تظهر فيها والتى 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 وراثيًّا 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 وراثيًّا. يذكر الباحث - بداية - أن التحضيرات التجارية من البكتيريا لا تخلط - غالبًا - بالمبيدات الحشرية الكيميائية، وليس من المحتمل أن تكون بديلاً عنها. وبالمقارنة .. فإن استعمال النباتات المحولة وراثيًّا في الزراعة يمكن أن يحل كلية محل الرش بالمبيدات الكيميائية، مما يجعل لاستعمالها قيمة كبيرة في حماية البيئة. كذلك أظهرت الدراسات المختبرية 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 أيضًا أن سلالات خنفساء كلورادو *Leptinotarsa decemlineata* التي طورت معمليًّا لمقاومة الرش بالبكتيريا لم تكن قادرة على إصابة النباتات المحولة وراثيًّا؛ مما يعني أن طبيعة المقاومة الحشرية تختلف بين حالتي الرش بالبكتيريا واستعمال النباتات المحولة وراثيًّا. وأخيرًا .. فإن استعمال نباتات محولة وراثيًّا بجينين من جينات الـ Bt تزيد - كثيرًا - من احتمالات تطوير حالات المقاومة الحشرية.