الفصل الثامن

استخدام التقاني الحيوية الجزيئية والبيومعلوماتية في مجال الصحة النباتية

علاء الدين حموية، محمد حمزة عباس، عبد الستار عارف علي وخالد مكوك

المحتويات

1. المقدمة
2. الهندسة الوراثية
3. بعض التطبيقات المهمة للهندسة الوراثية في وقاية النبات
4. إيجابيات وسلبيات النباتات المحورة وراثياً
5. استخدام الواسمات الجزيئية للمساعدة في انتخاب أصناف من المحاصيل مقاومة للآفات
6. إنتاج طرائق تشخيص للآفات أكثر دقة تعتمد على التركيب الجزيئي للآفة
7. البيومعلوماتية (المعلومات الحيوية) (Bioinformatics)
8. الاستنتاجات والتوصيات
9. المراجع

1. المقدمة

حدث في العقود القليلة الماضية، ومع التقدم الهائل في العلوم الجزيئية الأحيائية تقدم كبير في العديد من المجالات ومنها الصحة النباتية. من أهم التطبيقات العملية التي أفرزها التقدم في العلوم الجزيئية الأحيائية: (أ) إنتاج أصناف من المحاصيل مقاومة للآفات من خلال تقنيات الهندسة الوراثية، (ب) استخدام الواسمات الجزيئية للإسراع في إدخال صفة المقاومة للآفات في الأصناف الزراعية بوساطة طرائق التحسين الكلاسيكية، (جـ) إنتاج طرائق تشخيص للآفات أكثر دقة تعتمد على التركيب الجزيئي للآفة، (د) نشوء علم البيومعلوماتية وتطبيقاته العملية. وسنعرض لهذه التقنيات كل على حدة.

2. الهندسة الوراثية

سمح التقدم الكبير الذي حدث في علوم البيولوجيا الجزيئية حول العالم في العقود القليلة الماضية باستنباط طرائق متعددة للإسراع في تحسين عدد كبير من الصفات المهمة، ومن ضمنها المقاومة للآفات، إما من خلال التحوير الوراثي للمحاصيل الزراعية أو استخدام المؤشرات الجزيئية في الانتخاب مما يرفع كفاءة برامج التربية في استنباط الأصناف المقاومة. ومن أهم الصفات التي حازت على اهتمام المؤسسات البحثية العامة والخاصة في هذا المجال هي مكافحة الحشرات، تحمُّل تأثير مبيدات الأعشاب، مكافحة الفطور الممرضة للنبات، مكافحة البكتيريا الممرضة للنبات ومكافحة الفيروسات الممرضة للنبات. أما أهم المحاصيل التي تناولها التحوير الوراثي فهي القطن، فول الصويا، الذرة، الكانولا وخضار القرعيات. وبعد 20 سنة تقريباً من زراعة هذه المحاصيل بشكل تجاري، هناك اليوم ما لا يقل عن 200 مليون هكتار تزرع حالياً في حوالي 24 دولة (5 صناعية و19 نامية) بمحاصيل محورة وراثياً (ISAAA, 2017). وكان لهذا التحول مساهمة معنوية في زيادة إنتاج الغذاء وعلف الحيوان حول العالم. فعلى مستوى العالم، فإن المساحات المزروعة لـ 77% من فول الصويا، 80% من القطن، 32% من الذرة و30% من الكانولا هي محاصيل معدلة وراثياً حسب إحصاءات العام 2017 (International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications, ISAAA, Brief 53, 2017). ولحسن الحظ أن جميع الدراسات المعمقة التي أُنجزت في العقدين الماضيين حول المخاطر الصحية والبيئية المحتملة من جراء استخدام المحاصيل المحورة وراثياً أشارت بأن ليس هناك من مخاطر مبررة.

تعددت تطبيقات التقانات الأحيائية في الزراعة ومنها ما جاء للحد من أثر ممرضات النبات المهمة سواء الفطرية منها أو البكتيرية والفيروسات، وكذلك مقاومة النبات للحشرات الضارة، فضلاً عن تحسين الإنتاج النباتي كماً ونوعاً. ومن هذه التطبيقات نقل الجينات (Gene transfer) سواء من نبات إلى نبات أخر، أو من البكتيريا إلى النباتات. واستخدمت طرائق عديدة لغرض نقل الجينات بإيجابيات كثيرة وأخرى رافقتها سلبيات عدة، لكن بشكل عام أوقفت التجارب العملية وأنتقلت إلى الجانب التطبيقي لما لها من فوائد جمة.

وبناء على معطيات التقانات الأحيائية وتطبيقاتها تبرز ضرورة تبني آليات عمل استراتيجية للنهوض بالواقع الزراعي والتحديات التي تواجهه، ويمكن الوصول إلى ذلك من خلال تحديد الجينات ذات الفعالية والأهمية للجانب الزراعي سيما بمواضيع وقاية النبات من الإصابات الممرضة والآفات، ويعد تشخيص الجين (Gene identification) حَجر الأساس لتطبيقات التقانات الأحيائية في هذا

المضمار، ثم تأتي أهمية معرفة الفعالية الجينية والأليات المتحكمة بالتعبير الجيني (Gene regulation) ومنها تحديد أفضل الوسائل لنقل الجين إلى النباتات لإنتاج محاصيل معدلة وراثياً (Transgenic crops). ومن المراحل المتقدمة التي تتعلق بالموضوع قيد المناقشة هي تحديد تركيب ووظيفة الجين (Gene structure and function) والوسائل التي تتحكم في عمله داخل النباتات المعدلة وراثياً.

من أول الإنجازات التي تحققت في هذا المجال كانت أصناف من البطاطا/البطاطس تمتلك المقدرة على إنتاج بروتين سام مصدره جينات نقلت إليها من البكتيريا *Bacillus thurengiensis* (Bt) تبعتها أصناف من القطن والذرة الصفراء خلال الفترة نفسها وكان ذلك في الولايات المتحدة الأمريكية، ثم توسعت هذه التقنية إلى مختلف بلدان العالم حيث أنتجت أصناف من القطن المقاوم في أستراليا والمكسيك وبلدان أخرى. إن تطوير الأصناف المقاومة للحشرات أو الآفات الأخرى باستعمال التقانات الأحيائية يتضمن توظيف هندسة الجينات (Genetic engineering) والزراعة النسيجية (Tissue culture) بشكل دقيق ومتقن. وتجدر الإشارة إلى وجود اتجاهين واسعين في مجال إنتاج المحاصيل الزراعية المقاومة للآفات بتقنية الهندسة الوراثية يهتم الأول بتطوير أصناف تمتلك جينات من أصل نباتي مسؤولة عن إنتاج بروتين سام أو مسؤولة عن إنتاج بروتين يتداخل مع العمليات الأيضية للسكريات والبروتينات. أما الإتجاه الثاني فانه يهتم بإدخال جينات من أصل بكتيري تكون مسؤولة عن إنتاج بروتينات سامة للحشرات أو آفات أخرى كما هو الحال مع سموم البكتيريا *Bacillus thurengiensis*. لذلك فان الأصناف المحورة وراثياً التي تتصف بالسمية للحشرات باعتبارها واحدة من آليات مقاومة النبات العائل تجاه الآفة تعد مصدراً مشجعاً لتبني التقانات الحديثة التي يمكن أن يكون لها دور كبير في استراتيجيات الإدارة المتكاملة للآفات الزراعية.

3. بعض التطبيقات المهمة للهندسة الوراثية في وقاية النبات

1.3. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة الحشرات الضارة

إن المخاطر المتعددة لاستعمال المبيدات الكيميائية المتنوعة ومنها المبيدات الحشرية من خلال الإضرار بالبيئة وكذلك للمخاطر الصحية للإنسان والحيوان، فضلاً عن المقاومة لفعل المبيدات الحشرية الكيميائية، أدى إلى بدأ البحث حثيثاً عن وسائل وطرائق بديلة لمكافحة الحشرات الضارة والحد من تأثيراتها في النباتات.

ومن الطرائق البديلة الناجحة هي توفير المقدرة للنبات نفسه على إنتاج المركبات القاتلة للحشرات الضارة، وبما يعرف بالمبيدات الحيوية (Biopesticides) وتم استثمار نجاح البكتيريا الحيوية (Bt) *Bacillus thuringiensis* والتي استعملت طوال العقود الثلاثة الأخيرة بنجاح في مكافحة الحشرات الضارة أحيائياً، وهنا استهدف علماء الكلونة والتقانات الأحيائية الجين المسؤول عن إنتاج السم الفعال ونقله للمحاصيل لتنتج نباتات معدلة وراثياً (Transgenic plants) تستطيع إنتاج المبيد الحيوي بنفسها (Barton *et al.*, 1987).

والسبب الذي دفع العلماء إلى التوجه إلى البكتيريا Bt هو المقدرة العالية لديها على إنتاج السموم الداخلية Endotoxins الفعالة في الفتك بالحشرات الضارة من رتب حشرية مختلفة مثل حرشفية الأجنحة وثنائية الأجنحة وغيرها. تمتاز هذه السموم بطبيعتها البروتينية البللورية (Crystal proteins)، وذات الوزن الجزيئي بين 13 إلى 14 كيلو دالتون، والتي تنتج داخل الخلية البكتيرية وبسمية تتجاوز 80 ألف مرة أكثر من سمية المبيدات الفوسفورية العضوية. وتقسم هذه السموم إلى مجاميع خمسة مهمة في طيف تأثيرها في الرتب الحشرية، على سبيل المثال: مجموعة السم CryI الفعالة ضد رتبة الحشرات حرشفية الأجنحة، وCryII الفعالة ضد رتبة الحشرات حرشفية الأجنحة وثنائية الأجنحة، وCryIII الفعالة ضد رتبة الحشرات حرشفية الأجنحة (Gomez *et al.*, 2014).

تمثل الحشرات الأجناس الأوسع إنتشاراً والأكثر تنوعاً في العالم، وتمثل معرفة التنوع الوراثي (Genetic diversity) التحدي الأكبر الذي يواجه العلماء خلال السنوات الأخيرة الماضية، لما له من أهمية في وقاية النبات على سبيل التحديد لتوفير الطرائق الفضلى في الحد من إنتشار وأضرار الحشرات الإقتصادية مع هدف أسمى هو حماية البيئة. وتتجه البحوث الحديثة الآن إلى إستعمال الواسمات الجزيئية الحديثة (Molecular markers) للوصول إلى الهدف أعلاه.

ومن الأمثلة التطبيقية الناجحة في نقل الجينات المشفرة للسموم البكتيرية الفعالة ضد الحشرات، ما تم تطبيقه على نباتات الذرة الصفراء وبنجاح في استهداف حشرة الحفار *Ostrinia nubilalis* التي تسبب خسائر إقتصادية بملايين الدولارات والتي تعد من الحشرات صعبة المكافحة لطبيعة معيشتها وشدة خطورتها، وهنا قام العلماء بإنتاج نباتات ذرة صفراء معدلة وراثياً من خلال كلونة الجين المسؤول عن إنتاج السم δ- endotoxin في نبات الذرة، سيما نوع السم δ- Cry lA(b) في سنة 1993. وعند تحليل مقدرة النباتات المعدلة وراثياً في إنتاج كميات من السم وجد أنها تنتج ما مقداره 250 و1750 نانوغرام من كمية السم، وتم اختبار كفاءة النباتات المعدلة وراثياً ضد حشرات

حفار الذرة حقلياً وبينت النتائج فعاليتها في الحد من الضرر المتسبب عنها إذ قل معدل طول الأنفاق التي تحدثها في الأوراق في النباتات الطبيعية من 40.7 سم إلى 6 سم في النباتات المعدلة وراثياً.

كما نجح Perlack *et al.* (1991) في كلونة جين Cry في نبات القطن وذلك عن طريق عمل تحوير مهم للجين *Cry1A* في طرفه النايتروجيني عن طريق تحويل قاعدة A وT إلى G وC من دون حدوث أيَ تغيير تشفير في الأحماض الأمينية، وهنا أنتج الباحثون جيناً غنياً بتتابعات الـ GC ونتيجة لذلك إزدادت نسبة التعبير الجيني لهذا التحوير بحدود 10 إلى 100 ضعفاً عنها في الجين الأصلي. مع استخدام البلازميد Ti plasmid والبكتيريا *Agrobacterium* في نقل الجين المطلوب لنبات القطن لِتُنتج نباتات قطن معدلة وراثياً واختبرت النباتات بالحقل وأثبت كفاءة عالية بحدود 75% في الحد من ديدان جوز/لوز القطن *Earias insulana* ذات الضرر الكبير والمعروفة بمقدرتها على إنتاج بيض بصورة كبيرة فضلاً عن تدميرها للمحصول والخسائر الكبيرة المترتبة على ذلك عن طريق تغذية اليرقات فيها على البراعم الورقية والزهرية والقمم النامية، ومهاجمة الجوز بشدة والتغذية على الألياف الرخوة والبذور.

في عام 2015 تم في مصر نشر بحث عن مقاومة حشرة سوسة القمح (*Sitophilus granarius*) باستخدام زيادة إنتاج بروتين Avidin في القمح. وتسببت هذه الحشره في خسائر كبيره في معظم مناطق زراعه القمح حول العالم وقد تم نقل المورث المسؤول عن إنتاج بروتين Avidin إلى سلالات القمح جيزه 168 باستخدام طريقه مدفع الجينات. وقد تم تأكيد دخول هذا المورث في نباتات القمح وأدت إلى زياده نسبه هذا البروتين في النباتات المعدله وراثياً. وكذلك تم تأكيد وجود المورث بشكل فعال في النباتات المعدلة الوراثية باستخدام التقنيات المختلفة مثل التهجين المتخصص (Southern blot) واختبار الإليزا (ELISA) وأظهرت النتائج نسبة عالية من مستوى التعبير الوراثي لهذا المورث في بذور القمح المعدل وراثياً عند مقارنتها مع البذور غير المعدله وراثياً. وعند اختبار فعالية بروتين Avidin داخل البذور المعدلة وراثياً ضد سوسة القمح، وجد أن موت الحشرات قد وصل إلى 100% بعد 21 يوماً من الإصابة. وبالتالي استنتج الباحثون أن مثل هذه النباتات المعدلة وراثياً قد أثبتت فاعليتها في مكافحة الحشره وتقليل الخسائر التي يصعب تجنبها بالطرائق التقليدية (Abouseadaa *et al*., 2015).

وفي دراسة أخرى تم نقل مورث cry1la5 لمحصول الأرز بهدف مقاومة حشرة حفار الساق الذرة (*Chilo Agamemnon*) (Moghaieb, 2010). تم تأكيد نقل المورث باستخدام تقنيات PCR وطريقه التهجين Southern blot. أدت العدوى بيرقات حشرة حفار الساق على النباتات المعدلة وراثياً إلى نسبة عالية من موت الحشرات وصل إلى 50% بعد يوم واحد، وارتفع حتى وصل إلى 100 بعد

أربعة أيام من العدوى وذلك بمقارنتها مع النباتات غير المعدلة وراثياً والتي لم يسجل أي نسبه موت الحشرة. استنتج الباحثون الدور الكبير الذي يمكن أن تسهم به هذه النباتات في مقاومة حشره خطيره مثل حفار ساق الذرة. في الذرة الصفراء أيضاً قام الباحثون Osman *et al.* (2015) بنقل انزيم Chitinolytic إلى نباتات الذرة الصفراء. ويعرف عن هذا الإنزيم دوره في مقاومة الأمراض والحشرات. يهضم هذا الأنزيم الكيتين في الحشرات وبالتالي سوف يرفع من نسبه مقاومة الذرة الصفراء للحشرات. إن ادخال هذا المورث في الذرة زاد من نسبة نفوق الحشرات لأكثر من 50% في النباتات المعدله وراثياً مقارنة بالنباتات غير المعدلة وراثياً.

وقد قام باحثون من مركز بحوث الهندسة الوراثية ومعهد بحوث القطن في مصر بإنتاج نباتات قطن معدلة وراثياً تحتوي على مورثات *Cry1AC* و*Cry2AC* بهدف مقاومة حشرة دودة اللوز الأمريكية (Cotton bollworm)، دوده اللوز الشوكية (Spiny Bollworm) ودودة ورق القطن (Egyptian cotton leafworm). اختبار الأصناف المعدلة جيزة 86 و89 و90 و91 و96 بمعهد بحوث الهندسة الوراثية أثبت كفاءة هذه الأصناف في مقاومة الحشرات الضارة، وكما أنها لم تؤثر سلبياً في الحشرات الأخرى في الحقل. ويعد هذا النوع من القطن المعدل وراثياً والمقاوم للحشرات فريد لأنه أيضاً حافظ على صفات هي الأخرى مرغوبة عن المستوى الإنتاجي والمواصفات الصناعية تجارياً. إن النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة قد ينقذ زراعه القطن في مصر ويوفر ملايين الدولارات كلفة المبيدات الحشرية (Sedeek, 2018). وكل هذه النتائج لا تزال تنتظر صدور القرار السياسي للإستخدام والذى سوف يرفع إنتاج مصر من الحاصلات الزراعية.

2.3. النباتات المعدلة وراثياً لمقاومة تأثير مبيدات الأدغال/الأعشاب الضارة الكيميائية

لا تخفى خطورة الأدغال وما تسببه من خسائر إقتصادية كبيرة سنوية بملايين الدولارات لعملية الإنتاج الزراعي، لا سيما مع المحاصيل الزراعية المهمة والتي تزرع بمساحات كبيرة، فضلاً عن تقليل نوعية المنتج الزراعي بدرجة كبيرة، لذا عمد الباحثون إلى استخدام مبيدات الأدغال/الأعشاب (Herbicides) ومنها التي تعمل على تثبيط عمل الأنزيمات في الأدغال ومنها المسؤولة عن التركيب الضوئي أو تصنيع الأحماض الأمينية. وبذلك تنتج خطورة مبيد الأدغال/الأعشاب غير المتخصص الذي يسبب ضرراً للنبات الإقتصادي، لتأتي تطبيقات الهندسة الوراثية بالحل من خلال نقل جينات مقاومة مبيد الأدغال/الأعشاب إلى النباتات الإقتصادية لمنحها صفة المقاومة لتأثيرات المبيد القاتلة دون الأدغال.

ويعد إنتاج نباتات معدلة جينياً لمقاومة مبيدات الأدغال/الأعشاب الأكثر تطبيقاً مقارنة بالمعاملات الأخرى وبشكل تجاري على نطاق واسع جداً سيما النباتات المعدلة وراثياً لمقاومة مبيد

الأدغال الجلايفوسيت، ويعود السبب إلى طبيعة المبيد نفسه والذي يتميز بعدم سميته للحشرات النافعة والحيوانات مع فترة بقاء قليلة نسبياً في التربة وتحطمه خلال فترة أيام إلى مركبات غير سامة. وبناءً على هذ المفهوم تم نقل جين مقاوم المبيد *aroA* genes من البكتيريا *Salmonella typhimurium* إلى عديد من النباتات الإقتصادية المهمة ومنها نباتي الذرة الصفراء وفول الصويا. كما تم نقل هذا الجين وبنجاح إلى نبات التبغ واستخدم النظام الثنائي للناقل الحيوي والذي يحتوي على الجين المقاوم لفعل المبيد الجلايفوسيت (Feng & Yueping, 2018).

من التحديات التي تواجه مكافحة الأدغال/الأعشاب في العالم عموماً والوطن العربي بصورة خاصة (إضافةً إلى خطورتها على النباتات الإقتصادية سيما المحاصيل التي تزرع بمساحات شاسعة بسبب سرعة نموها ومنافستها الشديدة للمحاصيل وإنتشارها الخطير بالبذور)، تبرز مشكلة مقاومة الأدغال للمبيدات الكيميائية (Herbicides resistance) التي مثلت خلال السنوات الأخيرة تحدياً استراتيجياً يجب على المهتمين بمجال الهندسة الوراثية والتقانات الأحيائية الاهتمام به ووضع الخطط الناجعة للتعامل معه.

وتأتي هذه التطبيقات من خلال تقانة كلونة الجينات (Gene cloning) وبشكل محدد عن طريق إضافة الجين (Gene addition) من كائن حي (نبات أو بكتيريا) إلى النبات المستهدف بالتعديل الوراثي لإضافة صفات مهمة ومحددة، وهنا تتهيأ للنباتات المعدلة وراثياً صفات جديدة غير موجودة في النبات الأم (Wild type)، والجدول 1 يبين بعض التطبيقات التي تم إجراؤها في التحوير الجيني (Gene modification).

3.3. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة الفطور الممرضة للنبات

تتعدد مسببات أمراض النبات وتتنوع، لكنها تتفق جميعاً في مدى الخسائر الكبيرة التي تسببها من خلال تدمير النبات وتقليل الإنتاجية فيه، وتبرز الفطور في هذا السياق بكونها من المسببات الممرضة المهة في إحداث الخسائر على عديد من العوائل النباتية الإقتصادية، ولقد استخدمت وسائل عديدة للحد من هذه التأثيرات السلبية للفطور ومنها المقاومة الحيوية والمكافحة الكيميائية والطرائق الزراعية بالمكافحة من حجر ونظافة حقل وتحسين لإنتاج أصناف مقاومة وغيرها (Rommens & Kishore, 2000).

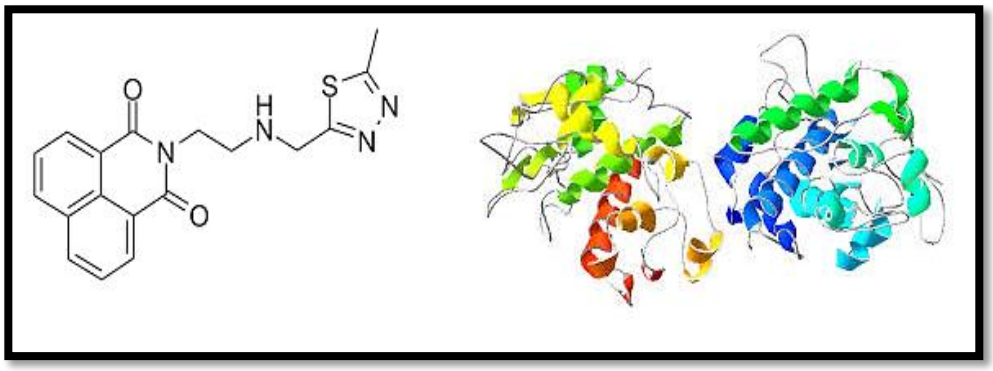
جدول 1. بعض الأمثلة عن نباتات معدلة جينياً بإضافة جينات من مصادر مختلفة.

الجين	مصدر الجين	الآفات الممكن مكافحتها
Endotoxins	*Bacillus thuringiensis*	الحشرات
Proteinase inhibitor	عدد من النباتات البقولية	الحشرات
Chitinase	نبات الرز	الفطور
Glucanase	نبات الجت	الفطور
Ribosome-inactivation protein	نبات الشعير	الفطور
Ornithine carbamyltransferasw	*Pseudomonas syringae*	البكتيريا
RNA polymerase; helicase	*Potato leafroll virus*	الفيروسات
Satellite RNAs	فيروسات مختلفة	الفيروسات
Acetolactate synthase	نبات التبغ	مقاومة تأثير مبيد الأدغال/الأعشاب
Glyphosate oxidoreductase	*Ochrobactrum anthropi*	مقاومة تأثير مبيد الأدغال/الأعشاب
Glyphosate *N*-acetyltransferase	*Bacillus licheniformis*	مقاومة تأثير مبيد الأدغال/الأعشاب
Nitrilase	*Klebsiella ozaenae*	مقاومة تأثير مبيد الأدغال/الأعشاب
Phosphinothricin acetyltransferase	*Streptomyces* spp.	مقاومة تأثير مبيد الأدغال/الأعشاب

ولكل طريقة مما تقدم ذكرها جوانب إيجابية وأخرى سلبية تحد من العمل بها، فعلى سبيل المثال قد تكون مبيدات الفطور ذات فعالية جيدة لكن مع مرور الوقت وكثرة الاستخدام تؤدي إلى ظهور صفة المقاومة لها في الفطور الممرضة للنبات مما يفقدها أهميتها فضلاً عن سمية المبيدات الكيميائية الفطرية وخطورتها على البيئة وصحة الأنسان، كذلك إنتاج أصناف مقاومة عن طريق التهجين التقليدي يكون فعالاً في بداية الأمر ومع تكرار الزراعة تنكسر صفة المقاومة ليتحول الصنف إلى حساس للممرض الفطري.

ونتيجة منطقية لما تقدم أندفع الباحثون في تقصي طرائق بديلة وكفوءة في مقاومة الممرضات الفطرية، وهنا جاءت تطبيقات التقانات الأحيائية لتوفر بدائل يمكن الإعتماد عليها في مجال وقاية النبات (van der Biezen, 2001)، ومن الجدير بالذكر أن هناك آليات معقدة تتحكم باستجابة النبات للممرضات المختلفة وهي بدورها تسيطر عليها جينات متعددة (Multiple genes)، ساعد في فهم طبيعة عملها الباحثون من خلال تحديد الجينات المطلوبة لغرض كلونتها واعتمادها لإنتاج نباتات معدلة وراثياً (Grover & Gowthaman, 2003؛ Islam, 2006). ومن أهم الطرءق لإنتاج نباتات محورة وراثياً لمكافحة الفطور الممرضة هي الطرائق التالية:

أ. تحوير نباتات معدلة جينياً لإنتاج إنزيم الكايتينيز – تعد إنزيمات الكايتينيز من إنزيمات التحلل المائي (Hydrolytic enzymes) المسؤولة عن تحطيم الكايتين Chitin والذي هو عبارة عن بوليمر خيطي عالي الوزن الجزيئي من وحدات متعددة من N-acetyl-D-glucosamine (شكل 1)، ولقد اهتم الباحثون بشكل كبير بهذا الإنزيم لمقاومة الفطور كون الكايتين يعد المركب المهم في تأليف الجدار الخلوي في الفطور (Fungal cell wall) ، وعادة ما يوجد هذا الإنزيم في عديد من الأحياء منها على سبيل المثال البكتيريا وبعض الفطور والحشرات وبعض النباتات وغيرها.



شكل 1. التركيب الكيميائي وثلاثي الأبعاد لإنزيم الكايتينيز
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound

ويوجد نوعان من إنزيمات الكايتين هي إنزيمات الكايتينيز الداخلية (Endochitinases) والتي تعمل على تحليل الكايتين داخلياً مكونةً نواتج تحطيم مايكرو ليفية دقيقة ذائبة عبارة عن متعدد بوليمري منخفض الوزن الجزيئي (Low molecular multimer)، والنوع الثاني هي إنزيمات الكايتينيز الخارجية (Exochitinases).

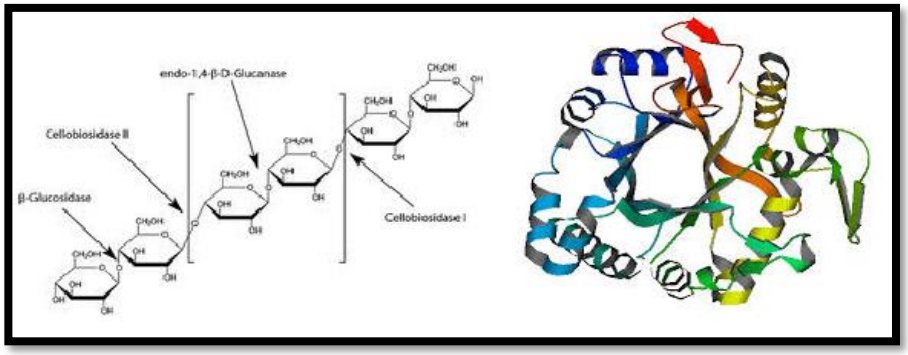
ولقد نجح الباحثون في إنتاج نباتات معدلة جينياً لديها المقدرة على إنتاج إنزيم الكايتينيز مع تأشير مدى جيد لمقاومة الفطور الممرضة للنبات والتي تترتب عن فعالية هذا الإنزيم وما يسبب من تحطيم فوري للجدار الخلوي للممرضات الفطرية، ومن التجارب الفعالة هي الإفادة من الجين المسؤول عن إنتاج إنزيم الكايتينيز *chi1* من الفطر *Rhizopus oligosporus* وإدخاله في نبات الأقحوان من قبل الباحثين Terakawa *et al.* (1997) لمقاومة مرض التبقع البني المتسبب عن الممرض الفطري *Botrytis cinerea*، كما تم استهداف الجين *RCC2* من نبات الرز والمسؤول عن إنتاج أنزيم

الكايتينيز وإنتاج نباتات عديدة معدلة وراثياً لمقاومة الممرضات الفطرية كما في نباتات العنب والخيار والبرتقال (Yamamoto *et al.*, 2000 ؛Mitani *et al.*, 2006 ؛Kishimoto *et al.*, 2002).

في عام 2017 نشر بحث آخر (Eissa *et al.*, 2017) على القمح باستخدام المورث المسؤول عن إنتاج إنزيم هضم الكايتين *chi26*، المعزول من الشعير والذي يسهم بدور فعال في مقاومة صدأ القمح والبياض الدقيقي. تم نقل هذا المورث بطريقه المدفع الجينى إلى نباتات قمح حساسة للصدأ وتم تاكيد عمليه الانتقال بالطريقة المخبرية (qRT-PCR). وقد تم اختبار عدة أجيال متقدمة للنباتات المعدلة وراثياً (T4، T5، T6، T8 و T9) لعدة مواسم تحت ظروف الحقل، واثبتت النتائج أن النباتات المعدلة وراثياً اتسمت بمقاومتها لأمراض الصدأ والبياض الدقيقي نتيجة عمل المورث المنقول *chi26* عند مقارنتها بالنباتات الطبيعيه غير المعدلة وراثياً، وهذا ما دفع الباحثون للاستنتاج أن هذه المقاومة هي مقاومة مستدامة لتوارثها وثباتها خلال عدة أجيال.

في البندورة/الطماطم، قام باحثون من مصر (Abdallah *et al.*, 2010) باستخدام مورث *MSDef1* لمقاومة مرض ذبول البندورة/الطماطم. وقد تم نقل المورث باستخدام تقنية مدفع الجينات (Biolistic gene gun technique). تم تاكيد انتقال المورث بالطرائق المخبرية التقليديه مثل اختبارات الـ PCR وقدر نجاح عملية الانتقال بنسبة 52% في نباتات الجيل الأول. وأكدت نتائج الأبحاث بعد العدوى بالفطر المسبب لمرض ذبول البندورة/الطماطم أن نسبة مقاومة هذه النباتات المعدلة للفطر الممرض كانت جيدة جدا حتى عند استخدام عزلات مختلفة منه.

ب. تحوير نباتات معدلة جينياً لإنتاج إنزيم الكلوكانيز – تعد مجموعة إنزيمات الكلوجانيز (Glucanases) من الإنزيمات المحطمة للجلوكان (Glucan) والذي يعد بدوره بوليمر من سكر الكلوكوز التي ترتبط فيما بينها عن طريق أواصر كلايكوسيدية، ويدخل هذا المركب في تأليف الجدار الخلوي في الفطور جنباً إلى جنب الكايتين. ويوجد نوعان من إنزيم الكلوكانيز هما ألفا كلوكانيز (α-Glucanases) وبيتا كلوكانيز (β–Glucanases). فضلاً عن الدور الدفاعي الذي تسهم به هذه الإنزيمات في الدفاع ضد الفطريات الممرضة للنبات لكن لها أدواراً فسيولوجية مهمة في حياة النبات منها إنبات البذور وتكون الأزهار وتطور الأجنة وغيرها (شكل 2).



شكل 2. التركيب الكيميائي وثلاثي الأبعاد لإنزيم بيتا كلوكانيز
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound

ولقد طور الباحثون نباتات معدلة وراثياً بإنتاج إنزيم الكلوكانيز كما في نبات الحنطة المعدل وراثياً بإدخال الجين المشفر للإنزيم β -1,3-glucanase وما سبب ذلك من مقاومة للمرض الفطري *Fusarium graminearum* (Mackintosh *et al.*, 2006) ونبات الخردل الهندي الذي عدل جينياً بإضافة جين *Bglu* للتغلب على مرض تبقع الأوراق المتسبب عن الفطر الممرض *Alternaria brassicae* (Mondal *et al.*, 2007).

جـ. تحوير نباتات معدلة جينياً لإنتاج إنزيمي الكايتينيز والكلوكانيز لمكافحة الأمراض الفطرية – بالنظر لأهمية كلا الإنزيمين في مكافحة الممرضات الفطرية للنبات، عمد الباحثون إلى إنتاج نباتات معدلة وراثياً تمتلك نسخاً جينية لإنتاج أكثر من إنزيم، ومن بواكير البحوث ما قام به الباحثون Liu *et al.* (2004) من خلال إدخال ثلاث جينات *ech42*، *nag70* و*gluc78* لتشفير إنتاج الإنزيمات Endochitinase، Exochitinase و Glucanase، على التوالي، في نبات الرز والتي تم اعتمادها من جينوم الفطر التضادي *Trichoderma atroviride*، لتنتج نباتات رز قادرة على مكافحة مرض لفحة الغمد المتسبب عن الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

د. تحوير نباتات معدلة جينياً لإنتاج البروتينات المرتبطة بالإمراضية لمكافحة الأمراض الفطرية أو البكتيرية – تعرف البروتينات المرتبطة بالإمراضية (Pathogenesis related-proteins, PR) على أنها مجموعة من المركبات البروتينية النباتية مختلفة التركيب سامة للفطور والبكتيريا الممرضة للنبات

تتواجد بشكل طبيعي داخل النبات بتراكيز واطئة جدا ويزداد تركيزها عند مهاجمة النبات من قبل مسبب ممرض معين أو التعرض لإجهاد بيئي كالجفاف والملوحة وغيرها. وتقسم هذه المركبات إلى مجاميع حسب فاعليتها وحسب علاقاتها المصلية/السيريولوجية وتتابع الأحماض الأمينية فيها وحسب وزنها الجزيئي وبعض الخصائص الأخرى، وبشكل عام فهي اما ان تكون حامضية جداً أو قاعدية جداً (Abass & Morris, 2013). وتمتلك معظم الأنواع من هذه البروتينات الدفاعية أوزاناً جزيئية تقع ضمن مدى يتراوح ما بين 10 إلى 40 كيلو دالتون، وتوجد في الفجوات (Vacuoles) والمسافات البينية (Intercellular spaces) والجدار الخلوي (Cell wall). وتم تشخيص البروتينات الدفاعية أول مرة في نباتات التبغ المصابة بمرض موزاييك التبغ (TMV) سنة 1970 من قبل van Loon & van Kammen (1970)، ويقدر أعداد المشخص منها بحدود سبعة عشرة عائلة تم تحديدها في مختلف النباتات من ذوات الفلقة الواحدة (Monocots) وثنائية الفلقة (Dicots) كما في الجدول 2.

ولقد تم تعديل بعض النباتات جينياً وجعلها منتجة لأنواع مختلفة من هذه البروتينات الدفاعية التي أثبتت كفاءة في الحقل في الحد من تأثير الممرضات الفطرية للنبات، كما في جدول 3.

جدول 2. المجموعات المشخصة من البروتينات الدفاعية في النباتات (van Loon *et al.*, 1994).

النوع النباتي	الصفة	الوزن الجزيئي (كيلو دالتون)	المجموعة
Tobacco PR-1a	Antifungal	15	PR-1
Tobacco PR-2	Glucanase	30	PR-2
Tobacco P, Q	Chitinase I and II	25-30	PR-3
Tobacco 'R'	Chitin binding, hevein	15-20	PR-4
Tobacco S	Thuamatin-like	25	PR-5
Tomato Inhibitor I	Thuamatin-like	8	PR-6
Tomato P69	Endoproteinase	75	PR-7
Cucumber chitinase	Chitinase III	28	PR-8
Tobacco 'lignin-forming peroxidase'	Peroxidase	35	PR-9
Parsley 'PR1'	Ribonuclease-like	17	PR-10
Tobacco 'class V' chitinase	Chitinase	40	PR-11
Radish Rs-AFP3	Defensis	5	PR-12
Arabidopsis THI2.1	Thionin	5	PR-13
Barley LTP4	Lipid-transfer protein	9	PR-14
Barley OxOa (germin)	Oxalate oxidase	20	PR-15
Barley OxOLP	Oxalate oxidase-like	20	PR-16
Tobacco PRp27	Aminopeptidase-like	27	PR-17

جدول 3. النباتات المعدلة وراثياً بإستخدام جينات البروتينات المرتبطة بالإمراضية والممرضات المستهدفة.

مصدر الجين	نوع البروتين	النبات المعدل وراثياً	الممرض	المرجع
البندورة/ الطماطم	PR-5	البرتقال	*Phytopthora citrophthora*	Fagoaga *et al.*, 2001
الرز	PR-5	التبغ	*Alternaria alternata*	Velazhahan & Muthukrishnan, 2003
التبغ	PR-2	فستق الحقل (فول سوداني)	*Cercospora arachidicola & Aspergillus flavus*	Sundaresha *et al.*, 2010
الرز	PR-3	الباذنجان	*Verticillium dahliae & Fusarium oxysporum*	Singh *et al.*, 2015
العنب	PR-2	إكليل الجبل	*Botrytis cinerea*	Fujimori *et al.*, 2016
الخردل	PR-12	فتسق الحقل	*Cercospora arachidicola*	Anuradha *et al.*, 2008
الشعير	PR-13	البطاطا الحلوة	*Fusarium graminearum*	Muramoto *et al.*, 2012
القمح	PR-16	إكليل الجبل	*Sclerotinia sclerotiorum*	Fang *et al.*, 2015
القمح	PR-16	البندورة/الطماطم	*Botrytis cinerea & Sclerotinia sclerotiorum*	Walz *et al.*, 2008
الشعير	PR-16	فستق الحقل (فول سوداني)	*Sclerotinia minor*	Chriscoe, 2008

هـ. تحوير نباتات معدلة بإدخال جينات المقاومة – تمتلك النباتات خطوطاً دفاعية أولية متمثلة بالجدار الخلوي والشمع والتراكيب الخارجية والمركبات الكيميائية الأولية وغيرها، لكن يمتلك الفطر الممرض أحياناً المقدرة على التغلب على هذه الخطوط الدفاعية، لتبرز حاجة النبات إلى تطوير أنماط مقاومة أخرى للبقاء، ومن هذه الأنماط جينات المقاومة (*R* genes) Resistance genes والتي تتميز بمقدرتها العالية على التفاعل مع جينات الإمراضية (*Avr*) Avirulence genes والتي تفرز من قبل الممرض للتغلب على آليات التعرف على الممرض (Pathogen recognition patterns) أو تسهم بإحداث الإمراضية. وقد تم تقسيم جينات المقاومة إلى ست أقسام بالإعتماد على تركيبها وتسلسل الأحماض الأمينية فيها وهي *CNL*، *TNL*، *RLP* و*RLK* وجينات أخرى مثل *Mlo*.

وتمنح هذه الجينات المقاومة للنبات بآليات مختلفة منها على سبيل المثال التفاعل المباشر لبروتينات جينات المقاومة مع جينات الإمراضية (*R* genes interaction with *Avr* genes) وكذلك حماية هذه الجينات للبروتينات في النبات التي تستهدف من قبل الممرض، ومن الآليات الأخرى مقدرة بروتينات المقاومة على التعرف على منتجات الممرض ونقل الإشارة لتعديل الإستجابة الجينية في النبات لمقاومة الممرض، فضلاً عن تشفيرها لإنزيمات لها المقدرة على تحليل السموم التي يفرزها

الممرض Detoxification. ولقد نجح الباحثون في تعديل النباتات وراثياً من خلال إما إدخال جينات مقاومة جديدة في النبات، أو مضاعفة عدد نسخ الجين المقاوم فيها لمضاعفة كمية إنتاج البروتين Overexpression، كما في الجين المقاوم *RCT1* المأخوذ من نبات الحندقوق إلى نبات الفصة/الجت لمنحه المقاومة للممرض الفطري *Colletotrichum trifolii* (Yang *et al.*, 2008)، والجين *RPI-BLB2* من نبات البطاطا البري إلى نبات البطاطا/البطاطس المزروع والذي يمنح المقاومة للممرض *Phytophthora infestans* (van der Vossen *et al.*, 2005).

4.3. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة البكتيريا الممرضة للنبات

تسبب البكتيريا الممرضة للنبات خسائر كبيرة سنوية على مختلف النباتات والتي تتنوع من نباتات خضر إلى محاصيل إلى أشجار فاكهة، وتتأتى خطورة البكتيريا كممرضات نباتية من خلال وجودها في بيئات مختلفة، كالتربة والهواء والماء، مع إمكانية انتقالها عن طريق الحشرات والديدان الثعبانية واللبائن بأنواعها مما يجعل النبات أكثر عرضةً للإصابة بها. وبعد الوصف الأول للبكتيريا *Erwinia amylovora* كممرضة للبنات قبل أكثر من 130 سنة على أشجار فاكهة التفاح والكمثرى المصابة بمرض اللفحة النارية (Fire blight)، توالى تسجيل عديد من الأجناس البكتيرية كممرضات حقيقة على النبات (True pathogens)، ويقدر الآن عدد الأنواع البكتيرية الممرضة للنبات بـ 100 نوع (فياض وعباس، 2018). وتختلف الآليات التي يتبعها النبات في الحد من نمو البكتيريا الممرضة للنبات وتأثيراتها السلبية، ولقد اكتشفت في السنوات الأخيرة مجموعة مركبات ببتيدية طبيعية في بعض النباتات ذات الخواص المضادة للبكتيريا (Antibacterial properties). ومن الجدير بالذكر أنه تم تحديد شكلين لهذه المركبات الببتيدية الفعالة الشكل الأول الببتيدات الحلزونية (α-helical peptides) ومثالها Cecropines وMaganins، والببتيدات الصفيحية (β-sheet peptides) ومنها على سبيل المثال Defensins، Protegrins وLactoferrin (Huang *et al.*, 2010).

يمتلك الببتيد التضادي السكروبين (Cecropine) وهو بروتين يتألف من 31–39 حامضاً أمينياً، له مقدرة تثبيطية عالية للبكتيريا من خلال الارتباط بالغشاء البكتيري وإحداث ثقوب متعددة. وقام الباحثون Sharma *et al.* (2000) بإنتاج نباتات رز معدلة وراثياً من خلال إدخال الجين *Sp-cecB* للمقاومة ضد البكتيريا الممرضة للنبات *Xanthomonas oryzae*. كما تم تحديد كفاءة الجين اللاكتوفيرين (Lactoferrin) والذي يشفر بروتين بوزن جزيئي يبلغ 80 كيلودالتون، والذي يعمل على تثبيط البكتيريا الممرضة من خلال تقليل جاهزية الحديد (Iron availability) الضروري

للبكتيريا في إحداث الإمراضية على النباتات الحساسة من خلال صفاته المخلبية للحديد (Iron- chelating features) كخالب فعال للحديد (Siderphore)، ولقد تم إنتاج نباتات تبغ معدلة جينياً بإدخال جين اللاكتوفيرون من مصدر بشري في مقاومة البكتيريا شديدة الإمراضية على التبغ *Ralstonia solanacearum* (Zhang *et al.*, 1998).

كما تم إنتاج نباتات معدلة وراثياً من خلال إدخال جينات تشفر إنزيمات الحالة (Lysozymes) والذي يقوم بشطر الروابط الكلايكوسيدية نوع (α-glycosidic bond) والتي تربط البروتينات السكرية في جدار الخلية البكتيرية مسبباً تحطيم الجدار وموت البكتيريا، وعلى سبيل المثال تم إدخال الجين البشري المشفر للايسوسومات في نبات التبغ ليمنح المقاومة لها ضد البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*، والنتيجة نفسها مع نباتات البطاطا/البطاطس والتي عدلت وراثياً وأصبحت أكثر مقاومة للبكتيريا *Erwinia carotovora* (Rivero *et al.*, 2012)، فضلاً عن الإفادة من الجين *R93* المشفر لإنزيم اللايسوسوم في الدجاج واستعماله في إنتاج نباتات بطاطا محورة جينياً والتي منحتها مقاومة أعلى للبكتيريا المسببة لمرض اسوداد الساق المتسبب عن البكتيريا *Erwinia chrysanthemi* (Hirai *et al.*, 2004). ويلخص الجدول 4 البحوث التي تم فيها تعديل بعض النباتات وراثياً لمقاومة مدى واسع من البكتيريا الممرضة للنبات.

جدول 4. بعض النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة البكتيريا الممرضة للنبات.

البروتين ومصدره	النبات المعدل وراثياً	نوع البكتيريا المتأثرة	المرجع
Msr A1 (Cecropin +Chitinase)	البندورة/الطماطم	*Erwinia carotovora*	Osusky *et al.*, 2000
MSI-99 (Melittin +cecropin)	البندورة/الطماطم	*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*	Jan *et al.*, 2010
Attacin E	التفاح	*E. amylovora*	Norelli *et al.*, 1999
Lysozyme	البطاطا/البطاطس	*E. carotovora*	Düring *et al.*, 1993
Lactoferrin (bovine)	الخوخ	*E. amylovora*	Malnoy *et al.*, 2003

5.3. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة الفيروسات الممرضة للنبات

من الحقائق التي لا يمكن مجادلتها خطورة الفيروسات كممرضات مدمرة للنباتات الإقتصادية، إذ تسبب الفيروسات خسائر إقتصادية في الإنتاجية العالمية تصل إلى ملايين الدولارات سنوياً، ومما يزيد من خطورة الإصابات الفيروسية عوامل عدة، فهي توجد بمختلف البيئات وتسبب أمراضاً مختلفة على كل النباتات، ولها طرائق مختلفة في الإنتقال وسرعة كبيرة في العدوى والإنتشار،

فضلاً عن صعوبة مكافحتها والسيطرة على انتشارها (فياض وعباس، 2018). وتعرف الفيروسات على أنها وحدات مجهرية قادرة على غزو الخلايا الحية والتكاثر داخلها، وهي إجبارية التطفل (Obligate parasite) وتتكون بصورة رئيسية من الحامض النووي الـ DNA أو RNA محاط بغلاف بروتيني.

تبرز خلال المرحلة الحالية أهمية الدراسات المسحية لأمراض النبات المتسببة عن الفيروسات سيما الدراسات الجزيئية، ومن بينها دراسات التقارب الوراثي (التشابهات الوراثية) (Genetic distance and similarity) للسلالات الفيروسية الأكثر خطورةً وانتشاراً في البلدان العربية، فضلاً عن تحديد طرائق الإنتشار فيها سيما عن طريق البذور (Seed-borne viral pathogens) وتحديد النواقل الحشرية (Insect vectors) لفهم أفضل لطبيعة المرض الفيروسي بشكل يخدم وضع آليات السيطرة على المرض والحد من إنتشاره.

تعتمد الفيروسات على الخلايا العائلة لها في إنتاج البروتينات والأحماض النووية لها فهي لا تمتلك نظاماً أيضياً مع غياب المعلومات الوراثية لنظام ليبمان (Lipmann's system) المسؤول عن إنتاج الطاقة في الكائنات الحية، وتسمى الخلية الفيروسية المتكاملة (الغلاف البروتيني مع الحامض النووي) بالفيريونات (Virions). وطور الباحثون وسائل مختلفة في المحاولة للحد من تأثيرات الفيروسات الممرضة للنبات، وهنا جاءت تطبيقات الهندسة الوراثية لتساعد في وضع بعض الأسس العلمية والعملية في التعامل مع فيروسات النبات الممرضة. ومنذ المحاولات الأولى لإنتاج نباتات معدلة وراثياً مع المحدودية للمصادر المتاحة آنذاك (Fitchen & Beachy, 1993؛ Powell-Abel *et al.*, 1986)، إلا أن البحوث توالت وتطورت بشكل كبير خلال العقديين الماضيين لتسجل نجاحات مهمة في هذا المجال. ونجح الباحثون من خلال المقاومة المشتقة من الممرض (Pathogen- derived resistance; PDR) والتي تعتمد بجوهرها على جينات الفيروس الممرض أو جزء منها ونقلها للنبات والتي تكون بثلاثة أشكال هي:

1. المقاومة المعتمدة على الغلاف البروتيني للفيروس Coat protein mediated resistance (CPMR).
2. المقاومة المعتمدة على إنزيم التضاعف Replicase mediated resistance (Rep MR).

3. المقاومة المعتمدة على بروتينات التحرك Movement protein mediated resistance (MPMR).
4. المقاومة المعتمدة على تثبيط الحامض النووي الفيروسي RNA silencing technology.

ويعرض جدول 5 النباتات التي تم تعديلها وراثياً لمكافحة الفيروسات باستعمال جين أو جزء من جين الفيروس الممرض.

جدول 5. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة الفيروسات النباتية باستعمال أحد جينات الفيروس الممرض.

الجين الفيروسي	الفيروس الممرض	النبات العائل	الجين المستخدم في التحوير الوراثي	المرجع
الجين المشفر للغلاف البروتيني	*Ring spot virus*	البابايا	PRSV-CP	Wani & Sanghera, 2010
	Zucchini yellow mosaic 2 Potyvirus	القرع	ZYM2P-CP	Meng & Gubba, 2000
	Citrus psorosis virus	الحمضيات	CPsV-CP	Zanek *et al.*, 2008
	Potato virus X	البطاطا/ البطاطس	PVX- CP	Bai *et al.*, 2009
إنزيم التضاعف	*Rice yellow mottle virus*	الرز	RdRp	Palukaitis & Zaitlin, 1997
	Potato leaf roll virus	البطاطا/ البطاطس	PLRV-Rp	Ehrifeild *et al.*, 2004
	Bean golden mosaic virus	الباقلاء/الفول	BGMV	Faria *et al.*, 2006
بروتين الحركة	*Astobra, Caulimo, Nepovirus*	التبغ	MP	Cooper *et al.*, 1995
	Tobacco mosaic virus	التبغ	MP	Prins *et al.*, 2008
الحمض النووي الفيروسي	*Potato spindle viroid*	البندورة/ الطماطم	RNAi	Cillo *et al.*, 2004
	African cassava mosaic virus	الكسافا	Rep/AC-1	Vanderschuren *et al.*, 2009

في البطاطا/البطاطس تم استخدام مورثات مسؤولة عن تشكيل الغلاف والتضاعف (Coat protein & replicase) لتحفيز المقاومة ضد الفيروسات مثل مرض فيروس البطاطا/البطاطس Y وفيروس التفاف أوراق البطاطا/البطاطس (*Potato leaf roll virus*, PLRV). وكذلك قام معهد معهد بحوث الهندسة الوراثية في مصر بالتعاون مع جامعه متشجن في الولايات المتحده لانتاج نباتات بطاطس معدلة وراثياً ذات قدرة على مقاومة فراشة درنات البطاطا/البطاطس

(Potato tuber moth). وأعطت نتائج البحث رؤية جديده لزراعة البطاطس بشكل مستدام وآمن من الإصابه بعدد من الآفات الخطيرة (Abdallah, 2010).

كما طور الباحثون نباتات معدلة جينياً بدون الإعتماد على جينات الفيروس الممرض (Non-pathogen derived resistance, NPDR) ومنها على سبيل المثال الجينات المشفرة لتثبيط عمل الرايبوسومات (Ribosome inactivating proteins, RIPs) والجينات المشفرة لبروتينات مثبطة لعمل إنزيم البروتياز (Viral protease inhibitors, VPIs) (Saharan *et al.*, 2008).

6.3. النباتات المعدلة وراثياً لمكافحة النيماتودا الممرضة للنبات

تتميز الديدان الثعبانية الممرضة للنبات والتي تعرف أيضاً بالنيماتودا (Nematodes) بكونها كائنات حية صغيرة الحجم والغالبية منها ما تكون مجهرية، وتنتشر الديدان الثعبانية في اي بيئة تتوافر فيها الحياة ولذلك تتعدد البيئات التي تتكاثر فيها من البيئة الصحراوية إلى الينابيع إلى الغابات، ويوجد منها حوالي 25 ألف نوع تم تصنيفها حتى الآن، وتسبب النيماتودا أمراضاً مهمة على مختلف النباتات الإقتصادية وعلى المجموع الخضري والجذري وكذلك الزهري (فياض وعباس، 2018).

توجد عديد من جينات المقاومة في النباتات بصورة طبيعية تم تحديدها ومعرفة التتابعات الجينية فيها ووظيفتها، ونقلت من النباتات الأصلية المقاومة إلى أخرى حساسة لا تحتوي تلك الجينات، ومنها على سبيل المثال كلونة الجين *Mi-1.2* من نبات الطماطة البرية إلى نبات الطماطة لمقاومة النيماتودا *Meloidogyne incognita* والجين *SpTI-1* من نبات البطاطا الحلوة إلى نبات البطاط لمقاومة النيماتودا *Heterodera schachtii* والجين *OC-1 D86* من نبات الرز إلى نبات البطاطا/البطاطس لمقاومة النيماتودا *M. incognita* (Cai *et al.*, 2003؛ Lilley *et al.*, 2004؛ Milligan *et al.*, 1998).

كما نجح عديد من الباحثين في إنتاج نباتات معدلة وراثياً تشفر جيناتها نوعاً من الببتديات تعرف بالببتيدات المعرقلة (Chemodisruptive peptides) والتي تقوم وظيفتها على مبدأ عمل النظام العصبي في النيماتودا الممرضة للنبات والتي تعتمد على مستقبلات الأستيل كولين استيريز AChE أو الاستيكولين النيكوتيني للقيام بوظائفها العصبية بشكل صحيح، وهنا تعمل تلك الببتيدات على عرقلة عمل هذه المستقبلات مما يعيق معرفة الإشارات الصادرة من النبات وحدوث العدوى، ولقد تم تشخيص نوعين من هذه الببتيدات في النباتات وتم تحديد الجينات المسؤولة عن تشفيرها (Green *et al.*, 2012).

4. إيجابيات وسلبيات النباتات المحورة وراثياً

هناك عدد من المميزات التي تشجع على اعتبار الأصناف المحورة وراثياً من التقانات المرغوبة في تطبيقات إدارة الآفات (علي، 2017) منها:

1. أنها توفر حماية للمحصول طيلة موسم نموه في الحقل.
2. وصول المادة القاتلة إلى الطور الحساس للآفة المستهدفة.
3. يمكن أن تستعمل تجاه الآفات التي تعيش في النسيج النباتي التي لا تكون بتماس مع المبيدات التقليدية التي ترش على النبات وكذلك بعيدة عن تأثير الأعداء الحيوية بسبب كونها محمية في نسيج النبات.
4. تأثيرها المباشر يكون تجاه الآفات التي تتغذى على المحصول المزروع في الحقل المستهدف.
5. عامل القتل يوجد في النسيج النباتي ولا يتسرب إلى البيئة المحيطة، والمكافحة تكون مستقلة عن تأثير الظروف البيئية. كما أن السموم قابلة للتحلل الحيوية لذلك فإنها لا تتراكم في البيئة.

إلا أن استعمال الأصناف المحورة وراثياً لا يخلو من نواقص مثل:

1. أن قرار المكافحة يتم اتخاذه قبل زراعة المحصول بدون معرفة ماذا سيحصل لمستوى مجتمع الآفة في الحقل لاحقاً.
2. تكون المكافحة تجاه المستويات غير الإقتصادية مماثلة للمستويات الإقتصادية. يمكن أن يكون لهذا الإجراء تأثير سالب في استدامة الصنف المحور وراثياً سيما عندما تكون هناك زراعة مكثفة ومستمرة للصنف في المنطقة وهي بذلك تشابه استعمال المبيد الفعال بشكل غير عقلاني تجاه آفة معينة. إذ أن مثل هذا الإجراء سوف يقود إلى خسارة الصنف مثلما يقود إلى خسارة المبيد على حد سواء.
3. قد تتأثر الأعداء الحيوية التي تتغذى على آفات ثانوية وبذلك تصبح الفرصة متاحة لمثل هذه الآفات لأن تتحول إلى آفات رئيسية تهدد زراعة المحصول.

استمر التوسع في استعمال الأصناف المحورة وراثياً لمختلف المحاصيل الزراعية خلال السنوات الأخيرة في عشرات الملايين من الهكتارات في العديد من دول العالم. وكانت مكافحة الآفات تتجه في أغلب الحالات نحو التكامل بين الأصناف المحورة وراثياً وعوامل المكافحة الحيوية ضمن برامج إدارة الآفات على مستوى النظام البيئي الزراعي. أإن معظم الأصناف التجارية التي تحمل صفة

المقاومة هي تلك التي تمتلك جينات البكتيريا Bt المسؤولة عن إنتاج السموم القاتلة للحشرات. أما النباتات التي تحوي جينات أخرى مسؤولة عن إنتاج مركبات كيميائية فهي أيضاً تعد مصدراً مهماً في مقاومة النبات العائل تجاه أكثر من آفة، من ضمنها الآفات الماصة (Legaspi *et al*., 2004). كان التركيز في البداية يتجه نحو المواد ذات التأثير في العمل الإنزيمي مثل مثبطات إنزيم البروتينيز والأميليز وكذلك للكتينات (Lectins)، إلا أنه توسع ليشمل مواد أخرى ذات تأثير سام أو تثبيطي. ممكن أن يتم إدخال أكثر من جين من أجل الحصول على مقاومة تجاه آفات متعددة في آن واحد. إلا أن مستوى المقاومة الذي توفره الجينات النباتية يكون عادة أقل من الذي توفره سموم البكتيريا Bt. لذلك يكون تأثير السموم النباتية غير مميت للحشرة ولكن يتمثل التأثير السمي في خفض معدل التغذية والوزن ومعدل التطور والخصوبة إضافة إلى جوانب حياتية أخرى للحشرة. يمكن أن تكون هذه الأصناف أكثر فائدة وتقبلاً من الأصناف التي لها المقدرة على إنتاج السموم البكتيرية في برامج إدارة الآفات لأنها تكون أكثر توافقاً مع عناصر المكافحة الحيوية. كذلك فإن الأصناف المحورة وراثياً التي تحوي على مورثات تثبيط النشاط الإنزيمي التي تساعد على خفض معدلات الهضم وتكون أكثر استقراراً واستدامة من تلك التي تحوي على مورث Bt. تجدر الإشارة إلى أن متطلبات الزراعة المستدامة تستدعي أن تؤخذ احتياجات المزارع بالاعتبار قبل البدء بتطوير أصناف جديدة باعتماد تقنية الهندسة الوراثية. كذلك الحال مع المتطلبات الإجتماعية والإقتصادية والبيئية من أجل أن يكون القرار سليماً باتجاه إنتاج الصنف المطلوب بشكل تجاري.

إن الأصناف المحورة بالمورث Bt المتحصل عليه من البكتيريا تملك القدرة على مكافحة الآفات الحشرية، إلا أن هناك العديد من الجينات النباتية التي يمكن إدخالها إلى الأصناف النباتية المزروعة لتساعدها في مقاومة آفات متعددة في آن واحد. وتجدر الإشارة إلى أن مستوى المقاومة الذي توفره الجينات النباتية يكون عادة أقل مما توفره سموم البكتيريا Bt. ومع ذلك يمكن أن تكون هذه الأصناف أكثر فائدة وتقبلاً من الأصناف التي لها القدرة على إنتاج السموم البكتيرية في برامج إدارة الآفات لأنها تكون أكثر توافقاً مع عناصر المكافحة الحيوية.

إن التكامل الذي يحصل بين الأصناف المقاومة والأعداء الحيوية يمكن أن يعزز من خلال الاستفادة من عمليات خدمة المحصول السائدة في المنطقة التي هي الأخرى تؤثر في مجتمع الآفة التي تهاجم المحصول المعني. إلا أن استعمال مثل هذه الأصناف ضمن استراتيجيات الإدارة المتكاملة للآفات يمكن أن ترافقه بعض السلبيات التي قد تحدث من خلال أحد اتجاهين: الأول

الاستعمال المتكرر للأصناف المحورة وراثياً يمكن أن يزيد الضغط في مجتمع الآفة وهذا الضغط يمكن أن يدفع الآفة إلى تطوير مقاومة تجاه سموم Bt إذا لم تكن هناك إدارة جيدة لاستعمل هذه الأصناف. أما الاتجاه الثاني فيتمثل بانتقال السم إلى المستوى التغذوي الثالث الذي يمثل الأعداء الحيوية وبذلك فان السم سوف يؤثر في عناصر المكافحة الحيوية الموجودة أصلا في الطبيعة.

هناك أمثلة كثيرة عن تأثير الأصناف المحورة وراثياً في الأعداء الحيوية كالمتطفلات وكذلك في الحشرات النافعة. لذلك فان دور المكافحة الحيوية قد يكون عاملاً مساعداً أو إضافياً أو يكون سالباً سيما عندما لا تستطيع أفراد الآفة الحساسة للصنف المزروع من إكمال حياتها على مثل هذا الصنف وبذلك لا تتمكن بيضة المتطفل ويرقته من البقاء والتطور بسبب موت أفراد العائل أو انتقال السم الموجود في جسم العائل الذي وصل إليه من الصنف المحور وراثياً (علي، 2017). أما في حالة زراعة أصناف محورة وراثياً تمتلك مورثات مسؤولة عن تثبيط الإنزيمات أو إنتاج سموم بمستويات منخفضة، فإن التأثير على أفراد المتطفل قد لا يكون معنوياً.

إن أفراد الآفة المستهدفة والأنواع غير المستهدفة التي تتغذى على صنف محور وراثياً جميعها تتأثر بالتراكيز غير المميتة للسم الموجود في العائل النباتي ويتمثل ذلك بانخفاض في معدلات التغذية والوزن وهذه تؤثر في تطور يرقة المتطفل وأجياله اللاحقة (Setamou *et al*., 2002) بسبب انتقال التأثير إلى الإناث الناتجة عن اليرقات المتغذية على العائل النباتي المحور وراثياً. أما التأثير المباشر في البالغات فيتمثل في التداخل مع سلوك إيجاد العائل الذي يتأثر بالنبات المحور وراثياً أو بالآفة التي تغذت على ذلك النبات. فمثلا النبات الذي يتعرض لمهاجمة الآفة يقوم بإطلاق مواد متطايرة معينة يختلف تركيزها في النبات المحور وراثياً عن النبات الاعتيادي. وقد تكون هذه المواد مركبات سلوكية مثل الكرمونات (Kairomones) تنبعث من الآفة العائل من برازها ومخلفات غذائها أو من الندوة العسلية التي تفرزها أنواع من الحشرات، أو تكون سينومات (Synomones) تنبعث من النسيج النباتي مباشرة تستعملها المتطفلات في إيجاد العائل. فعندما يحصل اختلاف في هذه المواد في نسيج النبات المحور وراثياً فإنه يؤثر في سلوك بالغات المتطفل. كما أن المواد المنبعثة من النبات تعتمد على مسبباتها من الآفات ومكان تغذيتها على ذلك النبات. كذلك يمكن أن يكون التأثير في بالغات المتطفل ناتج عن التأثير في سلوك عوائلها. فقد تتأثر بالغات المتطفل بحركة عائلها حيث أن قسم منها يفضل العائل الضعيف بطيء النمو والحركة والقسم الآخر يفضل العائل المتحرك على الساكن. حيث أن أفراد الحشرة العائل التي تتغذى على صنف محور وراثياً غالباً ما تكون ضعيفة غير قادرة على الدفاع عن نفسها تجاه مهاجمة الأعداء الحيوية. أما الأعداء الحيوية التي تعتمد على حاسة البصر أو على ذبذبات جسم العائل فقد تكون أقل نجاحاً في إيجاد عائلها عندما يكون العائل أقل

فاعلية في الحركة بسبب تغذيه على نبات محور وراثياً. إن السموم التي تنتج في النسيج النباتي ممكن أن تؤثر سلباً في الأعداء الحيوية التي تحتاج العصارة النباتية لتلبية بعض احتياجاتها التغذوية أو الماء. كما قد يموت المفترس بسبب تغذيته على فريسة سبق وأن تغذت على نبات حاوي على السموم القاتلة. قد يحدث تغيير في النظام البيئي للكائنات الحية التي توجد على النبات المحور وراثياً وهذا ربما ينعكس إيجاباً أو سلباً على مكونات المقاومة الحيوية.

فقد تحدث بعض التغيرات المظهرية من الناحية الزراعية التي تلاحظ على شكل النبات المحور وراثياً وهذه قد تشجع زيادة أعداد الآفة على النبات مع نوع من التحمل الذي يجابه هذه الزيادة وانعكاس هذه العلاقة على أعداد الأعداء الحيوية. على سبيل المثال التغير في كمية حبوب اللقاح أو نوعيتها يؤثر في المفترسات التي تتغذى على حبوب اللقاح. كما أن إنتاج نباتات متحملة للحرارة والجفاف قد يؤثر في موسم نمو المحصول وينعكس ذلك على نوع التوافق الذي يحصل بين الآفة وأعدائها الحيوية. حيث أن النبات المحور وراثياً قد يؤثر إيجاباً أو سلباً في العدو الحيوي بأحد الإتجاهات التالية :

1. ممكن أن يوفر مصدراً للحماية والغذاء والماء التي قد تكون في صالح العدو الحيوي وقد تكون هذه المصادر غير كافية وتؤثر سلباً في الأعداء الحياتية.
2. المواد الكيميائية التي ينتجها النبات بشكل طبيعي أو كرد فعل على تغذية آفة زراعية يمكن أن تكون ذات تأثير سلوكي في الأعداء الحيوية وتساعد على زيادة كفاءة البحث عن الفريسة. غير أن التكامل بين الصنف المحور وراثياً والأعداء الحيوية لا يمكن أن يتحقق إلا في حالة خفض استعمال المبيدات التقليدية على هذه الأصناف مما يوفر حماية للأعداء الحيوية التي تتغذى على الآفة المستهدفة وآفات ثانوية أخرى تصيب المحصول.

قد يمتد التأثير ليشمل مجتمع الآفة ومجتمع الأعداء الحيوية الموجودة في المنطقة على حد سواء. إذ أن فعل النبات المقاوم قد يؤدي إلى استئصال الآفة من المنطقة وهذا يدفع الأعداء الحيوية إلى هجرة المنطقة بسبب عدم الاستطاعة على البقاء في تلك المنطقة وفي هذه الحالة يكون التأثير سالباً ومباشراً.

في حالات أخرى يكون التأثير موجباً على أساس العامل المساعد لكل منهما تجاه الآخر حيث تحصل نسبة قتل لأفراد الآفة بنسبة أعلى مما لو استعمل أي من النبات المقاوم أو عناصر المكافحة الحيوية على حده. هذه الحالة تكون أكثر وضوحاً سيما في النباتات التي يكون فيها مستوى السم غير عالي حيث أن أفراد الآفة لا تموت وإنما تكون بطيئة النمو والحركة مما يسهل على العدو

الحيوي مهاجمتها وبذلك تزداد نسبة الموت بين أفرادها مقارنة بالحالات الاعتيادية. كما أن وجود عامل المكافحة الحيوية يمكنه أن يؤخر تطور المقاومة لدى الآفة تجاه السم الموجود في النبات العائل المحور وراثياً. أما العامل الإيجابي الآخر للتداخل فيحصل من خلال خفض كميات المبيدات واسعة الطيف على الآفات التي تهاجم الصنف المحور وراثياً وهذا الإجراء يساعد في المحافظة على الأعداء الحيوية التي تتغذى على الآفات الثانوية الموجودة على المحصول.

إن السموم التي تنتج في النسيج النباتي ممكن أن تؤثر سلباً في الأعداء الحيوية التي تحتاج العصارة النباتية لتلبية بعض احتياجاتها التغذوية أو الماء. كما قد يموت المفترس بسبب تغذيته على فريسة سبق وأن تغذت على نبات حاوي على السموم القاتلة. قد يحدث تغيير في النظام البيئي للكائنات الحية التي توجد على النبات المحور وراثياً وهذا ربما ينعكس إيجاباً أو سلباً على مكونات المقاومة الحيوية.

أما عن انعكاس زراعة الأصناف المحورة وراثياً على النظام البيئي فقد يكون هناك تأثير مباشر أو غير مباشر أيضاً. حيث أن معظم المحاصيل الحولية على اختلاف أنواعها تزرع في حقول متجاورة ضمن المنطقة الواحدة وبذلك فان هجرة أفراد الآفة تكون محتملة بين الحقول والمحاصيل المختلفة وقد يحصل تداخل وتلقيح خلطي بين الأصناف المحورة وراثياً والأصناف الاعتيادية في النظام البيئي الزراعي. يحصل مثل هذا التداخل مع آفات مهمة متعددة العوائل مثل دودة عرانيس الذرة (*Heliothis zea*) التي يمكن أن تتطور على الذرة الصفراء ثم تنتقل البالغات المنبثقة لتهاجم محاصيل القطن وفول الصويا والبندورة/الطماطم التي تزرع في المنطقة نفسها أو المناطق المجاورة. كذلك الحال مع الحلم ذي البقعتين (*Tetranychus urticae*) الذي يهاجر من الذرة إلى محاصيل أخرى مزروعة في الحقل نفسه أو حقول مجاورة. كما توجد أمثلة متعددة على مجتمعات الأعداء الحيوية التي تتأثر تبعا لتأثر مجتمع الآفة وعلاقته بالعائل النباتي. وهذه معروفة مع متطفلات البيض من الجنس *Trichogramma* وحشرات الهليوثس (*Heliothis*) التي تصيب عوائل نباتية مختلفة وكذلك الحال مع المفترسات التابعة للجنس *Orius* التي تنتقل بين المحاصيل المختلفة تبعا لانتشار الفريسة والعائل النباتي. ينطبق الشيء نفسه على بعض أنواع الدعاسيق التي تتغذى على فرائس متنوعة وتوجد على مختلف المحاصيل الزراعية (علي، 2017). إن استعمال الأصناف المحورة وراثياً في إدارة الآفات ضمن النظام البيئي هو أسلوب حديث للتصدي للعديد من الآفات المهمة اقتصادياً فضلاً عن تحقيق فوائد كبيرة للنظام البيئي منها خفض حالات التضخم العددي لمجتمع الآفة بسبب

المحافظة على الأعداء الحيوية كما أنه يحقق إدارة ناجحة للآفات المتنقلة ضمن المنطقة فضلاً عن حصول مكافحة إضافية للآفات العرضية غير المستهدفة. إن استعمال الأصناف التي تنتج سموم البكتيريا Bt يكون تأثيرها متخصصاً تجاه آفات معينة وتسهم في تقليل استعمال المبيدات ذات الطيف الواسع، وفي هذه الحالة فإن الأعداء عامة التغذية تكون لها الفرصة للبقاء والتكاثر وتكون أكثر فاعلية في السيطرة على الآفة ومنعها من الوصول إلى حالة الانفجار أو التضخم السكاني خاصة الآفات الثانوية التي تزداد أعدادها بعد استعمال المبيدات واسعة الطيف. وعندما تكون هناك علاقة بين الأعداء الحيوية التي توجد على محاصيل مختلفة ضمن المنطقة فان زراعة المحصول المحور وراثياً يمكن أن تكون له فائدة كبيرة على مستوى النظام البيئي. حيث أن الأعداء الحيوية الموجودة على الصنف المحور وراثياً يمكن أن تذهب إلى المحاصيل الأخرى لتفترس آفات اخرى متنوعة موجودة على تلك المحاصيل لذلك فإن الصنف المحور وراثياً يمكن أن يوفر فرصة لإدارة الآفات المتنقلة في المنطقة. كما أن زراعة مثل هذه الأصناف في مساحة واسعة سوف يوفر عامل ضغط مكاني وزماني على الآفة المستهدفة فضلاً عن التأثير المحتمل في الآفات غير المستهدفة وبذلك يحصل تحسن في مستوى المكافحة وتقل فرص حدوث تضخم عددي لمجتمع الآفة على محاصيل حساسة مزروعة في المنطقة نفسها. إلا أن الفائدة المرجوة من الأصناف المحور وراثياً تعتمد على مستوى السم الذي تنتجه في أنسجتها وتأثيره في تلك الآفات. ومن الأمثلة المعروفة في هذا المجال زراعة أصناف القطن التي تنتج سموم البكتيريا Bt والتي عادة ما تكون موجهة تجاه أنواع الهليوثس ودودة الجوز القرنفلية بالدرجة الرئيسية في المناطق التي تنتشر فيها هذه الآفات لكنها يمكن أن تحقق نسب مكافحة جيدة تجاه آفات أخرى مثل دودة اللهانة المقوسة ودودة الشوندر السكري/البنجر وناخرة أوراق القطن وغيرها من الآفات التي تتغذى على النسيج النباتي للمحصول وهكذا تتحقق إدارة شاملة تجاه أكثر من آفة في آن واحد.

على الرغم من الجوانب الإيجابية التي رافقت استعمال الأصناف المحورة وراثياً فقد جوبهت هذه الأصناف بمعارضة شديدة في دول العالم. مع ذلك فقد أسهمت منظمة الأغذية والزراعة الدولية (الفاو) بتقديم الدعم لنشر مثل هذه الأصناف في العديد من الدول مثل الهند والصين وجنوب أفريقيا والأرجنتين وغيرها، حيث توسع الإهتمام الذي كان يركز على تقليل تكاليف الإنتاج وتقليل استعمال المبيدات إلى زيادة الإنتاج (Qaim & Zilberman, 2003). إن زراعة الأصناف المحورة متداخلة مع أصناف اعتيادية يزيد من احتمال حصول تزاوج بين أفراد تطورت على أصناف محورة وراثياً وأخرى على أصناف اعتيادية غير مقاومة وهذا يساعد على تأخير تطور المقاومة لدى الآفة تجاه الأصناف المقاومة وبذلك فإنها تحتاج إلى وقت طويل لكي تنتج سلالات حيوية يمكنها مجابهة

الأصناف المقاومة. مع هذا المسار اتجهت العديد من الجهات المعنية بإدارة الآفات باتخاذ إجراءات تطبيقية من شانها التعامل مع مقاومة الآفة تجاه المبيدات المستعملة. من هذه الإجراءات البرنامج الذي تم تطبيقه في الولايات المتحدة عام 2001 الذي سمي إدارة المقاومة عند الحشرات (Insect resistance management, IRM). حيث يتم القيام باستبيان ينفذه طرف ثالث وليس الشركات المنتجة أو جهة ذات علاقة من أجل ضمان امتثال المزارعين لتقديم المعلومات المطلوبة فيما يتعلق بإجراءات مكافحة آفة أو مجموعة آفات على محصول معين.

في المنطقة العربية، هناك جهود محدودة، غالبها على المستوى البحثي، تمت في كل من مصر وسورية والمغرب والأردن حول المحاصيل المحورة وراثياً، إلا أنه على الصعيد التجاري فإن السودان هو البلد العربي الوحيد الذي يزرع حالياً مساحات كبيرة بأصناف نباتية محورة وراثياً. ففي العام 2017 زرع السودان 192000 هكتار من القطن المحور وراثياً بالعامل الوراثي الذي يعطي نبات القطن المقدرة الذاتية لمكافحة الحشرات بدون استخدام مبيدات كيميائية، مقارنة بزراعة 120000 هكتار في العام 2016، أي بزيادة 59% في سنة واحدة. شمل هذا الإستخدام 90000 مزارع اعتمدوا هذه التقانة، بمعدل 2.1 هكتار لكل مزارع.

5. استخدام الواسمات الجزيئية للمساعدة في انتخاب أصناف من المحاصيل مقاومة للآفات

بدأ علم الواسمات الجزيئية منذ أكثر من عقدين من الزمن، ولكن تطوره الكبير كان من خلال الواسمات الجزيئية (Molecular markers) التي اعتمدت على تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase chain reaction (PCR)) سيما للمناطق التي تحتوي على تكرارات نيكليوتيدية قصيرة والمعروفة باسم Simple sequence repeats (SSR) أو الميكروساتلايت (Microsatellite). ولكن تطبيقها لا يزال ضعيفاً في برامج التربية لانخفاض نسبة وجودها في المجين الوراثي حيث أن النسبة لا تتجاوز 2000 إلى 5000 قاعدة نيتروجينية بين منطقة الـ SSR والأخرى. ولذلك كان الانتخاب من خلال هذه الواسمات ضعيف الكفاءة نظراً للمسافة الكبيرة التي يمكن أن تقع بين المورث والواسم الجزيئي مما ينتج عنه انتخاب خاطئ وإخفاق في برنامج التربية. لذلك شكلت مؤشرات التباين على مستوى القاعدة النتروجينية الواحد والذي يدعى بـ SNP اختصاراً لـ Single nucleotide polymorphism حلاً أمثل لإيجاد واسمات يمكن أن تكون أكثر ارتباطا بالمورثات المرغوبة ولأن وجود هذا النوع من الواسمات متوافر بكثرة تصل إلى واسم SNP لكل

100–150 قاعدة نيتروجينية. وقد تطورت تقانات البصمة الوراثية في العقد الأخير من الزمن حتى وصل إلى إمكانية اختبار تسعين ألف واسمة SNP في وقت قياسي وأسعار تنخفض يوماً بعد يوم حتى وصل إلى عدة سنتات أمريكية للواسم الواحد.

ونتيجة للعدد الكبير من الواسمات الـ SNP التي تم إنتاجها وارتبطت بالعديد من المورثات المهمة، بدأ الحديث عن الانتخاب الجينومي (Genomic Selection) باستخدام موديلات مختلفة من تطبيقات المعلوماتية الحيوية (Bio-informatic). وبالرغم من أن هذه الموديلات لا تزال في بداياتها ولكن من المتوقع أن يشهد العقد المقبل تطوراً ملحوظاً لهذه التقنية وسينعكس هذا إيجابياً على زيادة الإنتاج كماً ونوعاً على مستوى العالم.

إن الهدف الرئيس من استخدام الأدوات الجزيئية من قبل المختصين في الأمراض النباتية هو تحديد الواسمات الجزيئية المرتبطة بمورثات مسؤولة عن مقاومة الأمراض الفيروسية والفطرية والبكتيرية والآفات الحشرية. يجدر الإشارة إلى أن أهمية هذه الواسمات الجزيئية المرتبطة بشكل وثيق بمورثات المقاومة يكمن في إمكانية استخدامها في مختبرات التقانات الحيوية لتساعد مربي النبات على الانتخاب المبكر بشكل يزيد في دقة الانتخاب وسرعته ويرفع من كفاءة برامج التربية النباتية لتحقيق غاية المربين في دمج مورثات مقاومة عديدة في الأصناف المحسنة (Hamwieh *et al*., 2018).

تدعى طريقة الانتخاب بمساعدة الواسمات بماس (MAS) اختصاراً لـ Marker assisted selection والتي تساعد على انتخاب نباتات هجينة جديدة أفضل من خلال احتوائها على مزيج من النظائر (Alleles) المرغوبة من قبل المربي. ومنها أصبح للمربي أن يجمع (Pyramiding) نظائر المورثات المهمة في نباتات جديدة ناتجة عن تهجينات مركبة من جراء استخدام آباء متعددة (Multi parental crosses). وتضم قائمة الصفات كل من مورثات المقاومة للإجهادات الأحيائية واللاأحيائية إضافة إلى الصفات الأخرى المرغوبة تسويقياً في ثمار الفاكهة والمحاصيل والغلة العالية. إن الانتخاب بمساعدة MAS فتح باب واسعاً لإمكانيات مدهشة للانتخاب، فمثلاً في حالة المقاومة التي يسيطر عليها مورث واحد أو أكثر، كان من الصعب معرفة عدد مورثات المقاومة على المستوى المظهري ولكن باستخدام مؤشرات MAS أصبح عدد المورثات قابلاً للمعرفة وبدقة أعلى بكثير من المستوى المظهري إضافة إلى توفير وقت الإختبار المظهري (حقلياً أو مخبرياً) وتكاليفه. إضافة إلى ذلك، وفي حال تعذر الإنتخاب المظهري لبعض سلالات الأمراض غير المسجلة في مكان برنامج التربية، تمكن عملية الإنتخاب باستخدام واسمات MAS من انتخاب تلك وضمها على السلالات الجديدة المنتجة وهذا ما تم تطبيقه بنجاح في عدة برامج تربية المحاصيل نتج عنها إنتاج سلالات

محاصيل تحمل صفات مقاومة أفقية للأمراض، خاصة الخطير منها، كما في مرض الصدأ في القمح.

يبقى العائق الوحيد الذي تواجهه برامج التربية للإنتخاب بواسمات MAS هو الحصول على قائمة موثوقة من الواسمات المرتبطة بشكل وثيق بالمورثات المرغوبة، وللأسف هذا غير يتوافر حتى الآن لجميع المحاصيل الحقلية والبستانية، ولكن يقوم الباحثون حول العالم حالياً بنشر أبحاثهم الجديدة التي تعرف المزيد من تلك الواسمات التي يثبت ارتباطها بمورثات المقاومة.

لا تزال هنالك فجوة بين الباحثين في مجال الهندسة الوراثية والمؤشرات الوراثية وبين مربي النبات العاملين ضمن البرامج الوطنية في الوطن العربي والذين لا زالوا يعتمدون بشكل أساسي على الطرائق التقليدية والتقويم الحقلي المظهري دون اللجوء إلى الواسمات الجزيئية. لذلك يقتصر تطبيق الواسمات الجزيئية على برامج التربية الدولية التي تقودها المراكز الدولية مثل المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا). وسنسرد لبعض تلك الواسمات على محصول القمح التي يتم تطبيقها بشكل عملي في برامج التربية.

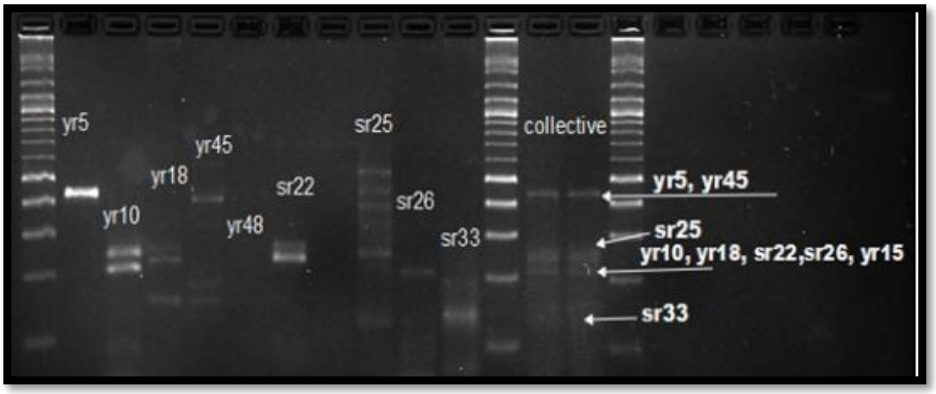
في القمح تم اعتماد العديد من واسمات الميكروساتلايت المرتبطة بمورثات مقاومة مرض الصدأ، ومنها مورثات المقاومة لمرض الصدأ الأصفر (مورثات *Yr*، *Yr*10، *Yr*18 و *Yr*45)، ومرض صدأ الساق (المورثتين *Sr*22 و *Sr*24)، وصدأ الأوراق (المورثتين *Lr*9 و*Lr*19) (جدول 6، وشكل 3)، إضافة إلى واسمات التباين النيوكليوتيدي (SNP) والتي تستخدم لتعريف المزيد من المورثات المرتبطة بمرض الصدأ (Lr34+، Sr2+، VPM-، Lr47+، Lr68-، Yr15+، Yr15-، Lr19/Sr25+، Yr36-، Lr67-، Sr22+، Lr34-). حيث يتم إرسال عينات أوراق جافة من بادرات نباتات القمح خلال موسم النمو إلى مختبرات Intertek في السويد ليتم اختبار كل مؤشرات الـ SNP في وقت لا يتجاوز الشهر وإرسال النتائج عبر البريد الالكتروني ليتم الانتخاب من قبل المربي قبل البدء بالتهجين. أما بالنسبة لتكاليف الإختبار، فهي حالياً ثلاث دولارات لكل نبات لاختبار ثلاثون مؤشر SNP وفق مشروع تشجيع استخدام وتطبيق مؤشرات MAS في تربية المحاصيل.

هنالك الكثير من الواسمات الجزيئية الأخرى التي يمكن استخدامها لتعريف المورثات المقاومة للصدأ ويتم استخدامها وفق رغبة مربي النبات. ففي الصدأ الأصفر بلغ عدد المورثات 25 مورثاً، نذكر هنا بعض الواسمات المرتبطة ببعض منها مثل Xbarc8 المرتبط بمورث رقم 15 والواسم Xcfa2149 المرتبط بمورث رقم 48 والواسم Xwmc776 المرتبط بمورث رقم 60 والواسمين Gli-B1 و Xpsp3000 المرتبطين بمورث المقاومة رقم 10، والواسمين Xsun476 و Xsun533 المرتبطين بمورث المقاومة 58 والواسم STS7/8 المرتبط بمورثات المقاومة 5، وثلاثة واسمات

(Xbarc8، Xgwm413، و Xgwm273) مرتبطة بمورث المقاومة 15 (Bariana *et al*., 2002؛ Herrera-Foessel *et al*., 2015؛ Peng *et al*., 2000؛ Tsilo *et al*., 2008).

جدول 6. بعض الواسمات التي يستخدمها مربي القمح في إيكاردا لتعريف مورثات المقاومة لكل من الصدأ الأصفر (Yr) وصدأ الساق (Sr) وصدأ الأرواق (Lr).

الواسم (Marker)	المورث (Gene)	تسلسل البادئات (Primer sequence)
CsLV34	Yr18	F: GTTGGTTAAGACTGGTGATGG R: TGCTTGCTATTGCTGAATAGT
CFA2123	Sr22	F: CGGTCTTTGTTTGCTCTAAAC R: ACCGGCCATCTATGATGAAG
Yr10	Yr10	F: GCAGACCTGTGTCATTGGTC R: GATATAGTGGCAGCAGGATAC
Sr24#12	Sr24	F: CACCCGTGACATGCTCGTA R: AACAGGAAATGAGCAACGATGT
Xwgp118	Yr45	F: AGTGTCTTGTAGGGTATC R: ACACTGGTCCATGAGGTT
STS(9-10)	Yr5	F: AAAGAATACTTTAATGAA R: CAAACTTATCAGGATTAC
J13	Lr9	F: TCCTTTTATTCCGCACGCCGG R: CCACACTACCCCAAAGAGAG
Scs123	Lr19	F: CCTGATCACCAATGACGATT R: CCTGATCACCTTGCTACAGA



شكل 3. المواقع الجزيئية المرتبطة بالمورثات المقاومة والتي يتم الحصول عليها باستخدام الواسمات المتخصصة لكل مورث. المورثات في الصورة تخص بعض مورثات المقاومة لكل من صدأ الساق (Sr)، والصدأ الأصفر (Yr) (المصدر مختبر التقانات الحيوية، إيكاردا).

كما يوجد العديد من الواسمات التي تستخدم لتعريف 41 مورثاً من مورثات المقاومة لصدأ الأوراق (Wheat leaf rust) ومنها واسم RGA567-5 المرتبط بمورث المقاومة رقم 1 وواسم cssfr المرتبط بمورث المقاومة رقم 34 ولاحقاً تم استخدام الواسمين Xgpw7425 وXwmc75 لتعريف المورث رقم 17 (Cloutier *et al*., 2007؛ Lagudah *et al*., 2009؛ Sadeghabad *et al*., 2017).

6. إنتاج طرائق تشخيص للآفات أكثر دقة تعتمد على التركيب الجزيئي للآفة

إبتداءً من أواخر الثمانينات وأوائل التسعينات من القرن الماضي استخدم تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase chain reaction; PCR) في الكشف أولاً عن الفيروسات النباتية ولاحقاً عن ممرضات أخرى مثل الفايتوبلازما أو البكتيريا أو الفطور، وأثبتت التجارب بأن لهذا الإختبار، وبأشكاله المتعددة التي لا يسمح المجال في هذا التقرير التعرض لها، ميزات متعددة فيما إذا قورن باختبارات أخرى مثل اختبار إليزا الذي كان سائداً (ولم يزل يستخدم حتى الآن) في أواخر السبعينات والثمانينات من القرن الماضي، أهمها مقدرته على التمييز بين السلالات المتقاربة وراثياً. أضف إلى ذلك أن التقدم الذي حصل في المقدرة على معرفة تتالي القواعد في مجين الممرضات النباتية أو أي جزء منه سمح بدراسة التباين الوراثي بين هذه الممرضات، سيما الفيروسية منها لأن حجم مجينها أصغر من الممرضات الأخرى، أو السلالات التابعة لنوع محدد منها. سمح هذا التقدم في التقنيات الجزيئية بالكشف عن العديد من الكائنات الممرضة والتي لم تكن معروفة سابقاً. فمثلاً، إذا عدنا إلى أوائل الثمانينات من القرن الماضي فإن عدد الفيروسات التي كانت معروفة بإصابتها للحمص وتسبب أعراض الإصفرار والتقزم وضعف أو عدم عقد الثمار في هذا المحصول لا تزيد عن ثلاث فيروسات، بينما يبلغ عددها اليوم 12 فيروساً. حصل التقدم نفسه في الكشف عن الفيروسات التي تصيب باقي المحاصيل البقولية مثل الفول والعدس. هذا التوسع في دقة التشخيص والذي شمل لاحقاً كائنات ممرضة أخرى مثل الفايتوبلازما والبكتيريا والفطور وغيرها لم يكن ممكناً لولا التقدم الهائل في علوم البيولوجيا الجزيئية (Abraham *et al*., 2010؛ Horn *et al*., 1995؛ Katul *et al*., 1995؛ Kumari & Makkouk, 2007).

7. البيومعلوماتية (المعلومات الحيوية) (Bioinformatics)

أدى التقدم الذي حصل في العقود القليلة الماضية في العلوم الحيوية الجزيئية وكذلك التقدم في التقنيات التي رافقتها إلى تراكم كم هائل من المعلومات البيولوجية. تبع ذلك نشوء علم البيومعلوماتية، وهو علم مبني على مجموعة تخصصات تعمل معاً لتطوير وتطبيق حلول تكنولوجيا المعلوماتية للتعامل مع المعلومات الحيوية المتوافرة. فالبيومعلوماتية هي وسيلة لتحليل المعلومات البيولوجية لتسهيل فهم السلوك الحيوي بهدف تلبية الحاجات المجتمعية بما فيها إنتاج الغذاء. يعد تحليل البيانات المتعلقة بتتالي القواعد في مجين الكائنات الحية للوصول إلى فهم أفضل لآلية عمل التركيب الوراثي من أهم تطبيقات البيومعلوماتية.

بشكل عام فإن البيومعلوماتية هي تطوير وسائل حسابية وقواعد بيانات ومن ثم استخدام هذه الوسائل لإنتاج معرفة بيولوجية تساعد في الوصول إلى فهم أفضل للأنظمة الحية. تساعد المعلوماتية، في مجال الصحة النباتية، في تحديد بزوغ تراكيب وراثية جديدة للآفات، إنتاج أصناف جديدة من المحاصيل مقاومة للآفات، وإنتاج وسائل متقدمة ودقيقة لتشخيص الآفات، وهذا ما تمت الاشارة إليه في الفقرات السابقة. بالإضافة إلى كل ذلك، فإن المعلوماتية تسمح بتكامل البيانات الزراعية، بما فيها بيانات المكافحة المتكاملة للآفات، بالبيانات المجينية الجزيئية للوصول إلى حلول تسمح بزيادة الإنتاج الزراعي.

ولأهمية الموضوع، تجدر الإشارة هنا إلى أن هناك عدد قليل من البرامج التعليمية في الجامعات العربية التي تشمل تخصص البيومعلوماتية، وبخاصة على مستوى الدراسات العليا. ولنتمكن من تحقيق تقدم في هذا المجال، وكون هذا التخصص معقد بطبيعته، فإن المؤسسات التعليمية في البلدان العربية مدعوة إلى تطوير برامج تعليمية لها المقدرة على إحداث تكامل فكري يعتمد على علوم متعددة مثل المعلوماتية والإحصاء والرياضيات والكيمياء والفيزياء واللغات. بدأ العديد من الجامعات حول العالم، في العقد الماضي، بتطوير هكذا تخصص، ولا بد للمؤسسات التعليمية العربية أن تحذوا حذوها وبدون أي إبطاء.

8. الاستنتاجات والتوصيات

1. تعد التقانات الحيوية الحديثة بتطبيقاتها الواسعة حلاً مهماً في إدارة أمراض النبات والإصابات الحشرية والأدغال والديدان الثعبانية التي تسبب خسائر إقتصادية كبيرة في البلدان العربية

والعالم سنوياً ، لذلك لا بد من تبني آليات عمل استراتيجية للنهوض بالواقع الزراعي والتحديات التي تواجهه، ويمكن الوصول إلى ذلك من خلال تحديد الجينات ذات الفعالية والأهمية العملية للجانب الزراعي سيما بموضوع وقاية النبات من الإصابات الممرضة والآفات.

2. ضرورة توجيه البحوث العلمية في الجامعات والمعاهد العربية لتغطية البيئة المحلية بما تمثل من مصادر وراثية متنوعة سيما في النباتات البرية، لما تحويه من مخزون وراثي كبير يمكن الاستفادة منه في كلونة الجينات المتاحة للنباتات الإقتصادية في مجال مقاومة أمراض النبات التي تنتج عن مسببات مختلفة. كما أنه من المهم التركيز على دراسة العوامل البيئية السائدة في البلدان العربية والتي تتداخل مع عملية التعبير الجيني مع النباتات المعدلة وراثياً كونها قد تكون عوامل تثبيط تؤدي إلى إخفاق مقاومة النباتات للممرضات المختلفة.
3. تحديد الأولويات في مجال الأمراض النباتية في البلدان العربية فضلاً عن الإصابات الحشرية التي تسبب خسائر إقتصادية كبيرة، وتكون الأولويات ممثلة بخارطة توزيع الأمراض والآفات المختلفة حسب النبات الإقتصادي وكذلك البلد، مع ضرورة الإلتفات لتحديث الخرائط بشكل دوري مع إتاحتها للجميع، لأهميتها الإستراتيجية في إدارة الأمراض والحشرات في البلدان العربية.
4. التوجه العملي المدعوم إلى برامج الزراعة النسيجية والإكثار الدقيق للنباتات الإقتصادية كونها من الطرائق التي تستخدم في إنتاج النباتات المعدلة وراثياً بكميات جيدة وبثباتية عالية، وكذلك التقانات الخلوية المتاحة الأخرى، لذا لابد من دراسة وإعداد بروتوكولات عملية ناجحة لزارعة وإكثار النباتات نسيجياً.
5. التركيز على الدراسات المسحية لأمراض النبات المتسببة عن الفيروسات سيما الدراسات الجزيئية، ومن بينها دراسات التقارب الوراثي للسلالات الفيروسية الأكثر خطورة وانتشاراً في البلدان العربية، ومحاولة التعاون العلمي لغرض إجراء المسح المتكامل لتحديد كامل التتابعات الجينية في جينوم تلك الفيروسات الخطيرة، ورسم الخرائط الوراثية لما تمثله من أهمية لفهم أكبر لطبيعة الفيروسات النباتية بشكل يخدم وضع آليات السيطرة على المرض والحد من انتشاره.
6. التعاون العربي المشترك سيما في البلدان المتجاورة في توجيه العمل البحثي والتنسيقي في مكافحة أمراض النبات المشتركة والإصابات الحشرية، من خلال الإعتماد على برامج التقانات الأحيائية والمقاومة المتكاملة بشكل يحد من الممرضات والحشرات وتأثيراتها الضارة.

7. العمل على إنشاء قاعدة معلومات متكاملة متاحة للباحثين العرب حول تطبيقات التقانات الأحيائية ونجاحاتها في مواضيع أمراض النبات والإصابات الحشرية، وكذلك تبادل أحدث البحوث العلمية والنشرات البحثية حول المواضيع ذات الإهتمام المشترك بشكل يخدم الجميع.
8. تعد الأصناف المحورة وراثياً التي تتصف بالسمية للحشرات باعتبارها واحدة من آليات مقاومة النبات العائل تجاه الآفة مصدراً مشجعاً لتبني التقانات الحديثة التي يمكن أن يكون لها دور كبير في استراتيجيات الإدارة المتكاملة للآفات الزراعية.
9. ضرورة زيادة الاهتمام بالأصناف الي تنتج السموم النباتية غير المميتة وإنما يتمثل تأثيرها بخفض معدل التغذية، الوزن، معدل التطور والخصوبة وجوانب حياتية أخرى. مثل هذه الأصناف يمكن أن تكون أكثر فائدة وتقبلاً من الأصناف التي تحمل السموم البكتيرية في برامج إدارة الآفات لأنها تكون أكثر توافقاً مع عناصر المكافحة الحيوية. كذلك الحال مع الأصناف المحورة وراثياً التي تحوي على جينات مسئولة عن أفعال إنزيمية (مثبطات الإنزيم) التي تساعد على خفض معدلات الهضم تكون أكثر استقراراً واستدامة من تلك التي تحوي على الجينات البكتيرية.
10. إعطاء أهمية للإجراءات المتعلقة بمقاومة الآفة تجاه المبيدات المستعملة ضمن برامج إدارة الآفات من أجل اتخاذ إجراءات تطبيقية من شانها التعامل مع مقاومة الآفة للمبيدات على غرار البرنامج الذي تم تطبيقه في الولايات المتحدة عام 2001 الذي سمي Insect resistance management (IRM). يمكنه إدارة المقاومة من خلال تعاقب هذه الأصناف مع محاصيل قريبة حساسة وأن تستعمل وسائل علاجية أخرى عندما تقتضي الحاجة.
11. إن المعرفة المتصاعدة عن تشخيص الآلية التي يستطيع النبات من خلالها أن يميز مهاجمة الآفة له وكذلك عن المواد التحذيرية أو الدفاعية التي يطلقها سوف تساعد في دراسة الاختلافات في ردود الفعل التي يصدرها النبات تجاه الآفات المختلفة ومعرفة عمليات الأيض في النبات والمركبات الثانوية التي تنتج عنها. ستساعد كل هذه الأنشطة على التوصل إلى أفضل أسلوب لتطبيق المقاومة المستحثة في برامج إدارة الآفات.
12. إن التكامل بين الأصناف المقاومة المعدلة وراثياً والأعداء الحيوية يساعد على إبقاء تعداد الآفة عند مستويات منخفضة وهذا بدوره يقلل الحاجة إلى استعمال الإجراءات العلاجية التي تشمل المبيدات الكيميائية، ومثل هذا التوجه هو الأكثر فائدة في الأقطار النامية بضمنها البلدان العربية.

13. العمل على تطوير الأصناف المحلية التي تكون متكيفة للبيئة في البلد المعني ومن ثم إدخال الجينات المسئولة عن إنتاج السموم البكتيرية (Bt toxins) فضلاً عن الصفات المرغوبة. إلا أن الأصناف التي تمتلك الجينات المسئولة عن تثبيط الإنزيمات واللكتينات تكون أكثر ملاءمة من الأصناف التي تنتج سم البكتيريا Bt للزراعة في الأقطار النامية. هذه الأصناف يمكن أن تعمل بشكل مساعد أو متعاضد مع عناصر المكافحة الحيوية تجاه الآفات التي تصيب ذلك المحصول مما يساعد على تقليل الحاجة إلى الإجراءات العلاجية
14. إن الأصناف المحورة وراثياً هي واحدة من صفات مقاومة النبات العائل وهي عنصر مهم في استراتيجيات الإدارة المتكاملة لمختلف المحاصيل في البلدان النامية بضمنها الدول العربية باعتبارها مكوناً رئيسياً وليس تقنية قائمة بمفردها. إذ يمكن أن تعمل بشكل متعاضد مع عناصر المكافحة الحيوية أو المكونات الأخرى ضمن برامج إدارة الآفات وبخاصة إذا توافرت الخدمة الزراعية المناسبة لمثل هذه الأصناف. وهذا يتطلب توافر المعرفة الكافية بالتداخلات والعلاقات التي يمكن أن تحصل بين الصنف المحور وراثياً وآفاته والأعداء الحيوية.
15. رفع نتائج التحوير الوراثي وآثارها الاقتصادية الهامة إلى أصحاب القرار في البلدان العربية والتوصية بزراعة هذه المحاصيل ولو على مساحات محدودة بهدف تقويمها من حيث السلامة البيئية والعائد الإقتصادي الذي يمكن أن تسهم به في دعم الإقتصاد الوطني وبالتالي عرض النتائج على أصحاب القرار بغية اعتمادها على المستوى الوطني.
16. الاعتماد بشكل أكبر على استخدام المؤشرات الجزيئية في برامج تربية النبات، وتدريب الكوادر الوطنية من مربي النبات على استخدام هذه التقانة في الإنتخاب، والتدريب على موديلات الإنتخاب الجينومي الحديثة من خلال التعاون مع برامج التدريب والتربية في المراكز الدولية المعنية.

9. المراجع

علي، عبد الستار عارف. 2017. تطبيقات الأصناف المحورة وراثياً في برامج إدارة الآفات. الصفحات 195-209. في: الإدارة المتكاملة للآفات الزراعية في الدول النامية والعالم العربي: المكونات الرئيسة وتطبيقات ناجحة في نظم زراعية مختلفة. دار البيروني للنشر والتوزيع، عمان، الأردن. 618 صفحة.

فياض، محمد عامر وعباس، محمد حمزة. 2018. أمراض النبات (أساسيات ومتقدم). دار شهريار للطباعة والنشر. 435 صفحة.

Abass, M.H. and P.C. Morris. 2013. The *Hordeum vulgare* signalling protein MAP kinase 4 is a regulator of biotic and abiotic stress responses. Journal of Plant Physiology, 17(15): 1353-1359. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.04.009

Abdallah, N.A. 2010. GM crops in Africa: challenges in Egypt. GM crops, 1(3): 116-119. https://doi.org/10.4161/gmcr.1.3.12811

Abdallah, N.A., D. Shah, D. Abbas and M. Madkour. 2010. Stable integration and expression of a plant defensin in tomato confers resistance to fusarium wilt. GM crops, 1(5): 344-350. https://doi.org/10.4161/gmcr.1.5.15091

Abouseadaa, H.H., G.H. Osman, A.M. Ramadan, S.E. Hassanein, M.T. Abdelsattar, Y.B. Morsy, H.F. Alameldin, D.K. El-Ghareeb, H.A. Nour-Eldin, R. Salem, A.A. Gad, S.E. Elkhodary, M.M. Shehata, H.M. Mahfouz, H.F. Eissa and A. Bahieldin. 2015. Development of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing avidin gene conferring resistance to stored product insects. BMC Plant Biology, 15(1): 183. https://doi.org/10.1186/s12870-015-0570-x

Abraham, A.D., B. Bencharki, V. Torok, L. Katul, M. Varrelman and H.J. Vetten. 2010. Two distinct nanovirus species infecting faba bean in Morocco. Archives of Virology, 155: 37-46. https://doi.org/10.1007/s00705-009-0548-9

Anuradha, **T.S., K. Divya, S.K. Jami and P.B. Kirti.** 2008. Transgenic tobacco and peanut plants expressing a mustard defensing show resistance to fungal pathogens. Plant Cell Reports, 27(11): 1777–1786. https://doi.org/10.1007/s00299-008-0596-8

Bai, **Y., Z. Guo, X. Wang, D. Bai and W. Zhang.** 2009. Generation of double-virus-resistant marker-free transgenic potato plants. Progress in National Science, 19(5): 543–548. https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.08.005

Bariana, H.S., G.N. Brown, N.U. Ahmed, S. Khatkar, R.L. Conner, C.R. Wellings, S. Haley, P.J. Sharp and A. Laroche. 2002. Characterisation of *Triticum vavilovii*-derived stripe rust resistance using genetic, cytogenetic and molecular analyses and its marker-assisted selection. Theoretical and Applied Genetics, 104(2-3): 315–320. https://doi.org/10.1007/s001220100767

Barton, K.A., H.R. Whiteley and N.-S. Yang. 1987. *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabaccum* provides resistance to lepidopteran insects. Plant Physiology, 85: 1103–1109. https://doi.org/10.1104/pp.85.4.1103

Cai, D., T. Thurau, Y. Tian, T. Lange, K.W. Yeh and C. Jung. 2003. Sporamin mediated resistance to beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii* Schm.) is dependent on trypsin inhibitory activity in sugar beet (Beta vulgaris L.) hairy roots. Plant Molecular Biology, 51, 839-849. https://doi.org/10.1023/A:1023089017906

Chriscoe, S.M. 2008. Characterization of transgenic peanuts expressing oxalate oxidase for governmental approval of their release for control of *Sclerotinia* blight. MSc dissertation. Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Institute and State University.

Cillo, F., M.M. Finetti-Sialer, M.A. Papanice and D. Gallitelli. 2004. Analysis of mechanism involved in the cucumber mosaic virus satellite RNA-mediated transgenic resistance in tomato plants. Molecular Plant-Microbe Interactions, 17(1): 98-108. https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.1.98

Cloutier S., B.D. McCallum, C. Loutre, T.W. Banks, T. Wicker, C. Feuillet, B. Keller, and M.C. Jordan. 2007. Leaf rust resistance gene Lr1, isolated from bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is a member of the large psr567 gene family. Plant Molecular Biology, 65: 93–106. https://doi.org/10.1007/s11103-007-9201-8

Cooper, B., M. Lapidot, J.A. Heick, J.A. Dodds and R.N. Beachy. 1995. A defective movement protein of TMV in transgenic plants confers resistance to multiple viruses whereas the functional analog increases susceptibility. Virology, 206(1): 307–313. https://doi.org/10.1016/s0042-6822(95)80046-8

Düring, K., P. Porsch, M. Fladung and H. Lörz. 1993. Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. The Plant Journal, 3(4): 587–598. https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.03040587.x

Ehrifeild, N., E. Romano, C. Serrano and Arce-Johnson P. 2004. Replicase mediated resistance against potato leaf roll virus disease plants. Biological Research. 37(1): 71–82. https://doi.org/10.4067/s0716-97602004000100008

Eissa, H.F., S.E. Hassanien, A.M. Ramadan, M.M. El-Shamy, O.M. Saleh, A.M. Shokry and S.M. Hassan. 2017. Developing transgenic wheat to encounter rusts and powdery mildew by overexpressing barley chi26 gene for fungal resistance. Plant Methods, 13(1): 41-54. https://doi.org/10.1186/s13007-017-0191-5

Fagoaga, C., I. Rodrigo, V. Conejero, C. Hinarejos, J.J. Tuset, J. Arnau, J.A. Pina, L. Navarro and L. Pena. 2001. Increased tolerance to *Phytophthora citrophthora* in transgenic orange plants constitutively expressing a tomato pathogenesis related protein PR-5. Molecular Breeding, 7(2): 175-185. https://doi.org/10.1023/A:1011358005054

Fang, W.E., H.U. Jie, Y.A. Yan, Z.D. Hao, R.H. Wu, B.M. Tian, G.Q. Cao and Z.A. Xin. 2015. Transgenic *Arabidopsis thaliana* expressing a wheat oxalate oxidase exhibits hydrogen peroxide related defense response. Journal of Integrative Agriculture, 14: 2565–2573. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61040-1

Faria, J.C., M.M.C. Albino, B.B.A. Dias, L.J. Cançado, N.B. da Cunha, L.M. Silva, G.R. Vianna and F.J.L. Aragão. 2006. Partial resistance to *Bean golden mosaic virus* in atransgenic common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) line expressing a mutated *rep* gene. Plant Science, 171: 565–571. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.06.010

Feng, L. and C.A.O. Yueping. 2018. Expression of a bacterial *aroA* gene confers tolerance to glyphosate in tobacco plants. Turkish Journal of Biology, 42(2): 187-194.

Fitchen, J.H. and R.N. Beachy. 1993. Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. Annual Review of Microbiology, 47: 739-763. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.47.100193.003515

Fujimori, N., S. Enoki, A. Suzuki, H.A. Naznin, M. Shimizu and S. Suzuki. 2016. Grape apoplasmic β-1, 3-glucanase confers fungal disease resistance in *Arabidopsis*. Scientia Horticulturae, 200: 105-110. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.01.008

Gómez, I., J. Sanchez, C. Muñoz-Garay, V. Matus, S.S. Gill, M. Soberón and A. Bravo. 2014. *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins are versatile-proteins with multiple modes of action: two distinct pre-pores are involved in toxicity. Biochemical Journal, 459: 383-396. https://doi.org/10.1042/BJ20131408

Green, J., Wang, D., Lilley, C.J., Urwin, P. E. and Atkinson, H. J. 2012. Transgenic potatoes for potato cyst nematode control can replace pesticide use without impact on soil quality. PLoS ONE 7:e30973. https://doi.org/10.1371/journal.pone

Grover, A. and R. Gowthaman. 2003. Strategies for development of fungus-resistant transgenic plants. Current Science, 84: 330-340.

Hamwieh, A., F. Alo and S. Ahmed. 2018. Molecular tools developed for disease resistant genes in wheat, barley, lentil and chickpea: a review. Arab Journal of Plant Protection, 36(1): 50-56. http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.1.050056

Herrera-Foessel, S.A., R.P. Singh, C.X. Lan, J. Huerta-Espino, V. Calvo-Salazar, U.K. Bansal, H.S. Bariana and E.S. Lagudah. 2015. Yr60, a gene conferring moderate resistance to stripe rust in wheat. Plant Disease, 99: 508–511. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-14-0796-RE

Hirai, D., T. Suzuki and D. Yanagida. 2004. An evaluation of disease resistance of *Agrobacterium mediated* transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) containing the chicken lysozyme gene or the wild spinach chitinase gene. Bulletin of Hokkaido Prefecturate Agricultural Experimental Station, 86: 19-26.

Horn, N.M., K.M. Makkouk, S.G. Kumari, J.F.J.M. Van den Heuvel and D.V.R. Reddy. 1995. Survey of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for chickpea stunt disease and associated viruses in Syria, Turkey and Lebanon. Phytopathologia Mediterranea, 34: 192-198.

Huang, Y., J. Huang and Y. Chen. 2010. Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: relationships of structure and function. Protein Cell, 1: 143-152. https://doi.org/10.1007/s13238-010-0004-3

ISAAA. 2017. Global Status of Commercialized Biotech/GM crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 years. ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca NY. 143 pp.

Islam, A. 2006. Fungus resistant transgenic plants: strategies, progress and lessons learnt. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 16: 117-138. https://doi.org/10.3329/ptcb.v16i2.1113

Jan, P.S., H.Y. Huang and H.M. Chen. 2010. Expression of a synthesized gene encoding cationic peptide cecropin B in transgenic tomato plants protects against bacterial diseases. Applied Environmental Microbiology, 76: 769–775.

Katul, L., H.J. Vetten, D.-E. Lesemann, E. Maiss and K.M. Makkouk. 1995. Diagnostic methods for the detection of faba bean necrotic yellows virus, a circular ssDNA virus. EPPO Bulletin, 25: 329-336. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1995.tb01474.x

Kishimoto, K., Y. Nishizawa, Y. Tabei, T. Hibi, M. Nakajima and K. Akutsu. 2002. Detailed analysis of rice chitinase gene expression in transgenic cucumber plants showing different levels of disease resistance to gray mold (*Botrytis cinerea*). Plant Science, 162: 655-662. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00602-1

Kumari, S.G. and K.M. Makkouk. 2007. Virus diseases of faba bean (Vicia faba L.) in Asia and Africa. Plant Viruses, 1(1): 93-105.

Lagudah, E.S., S.G. Krattinger, S. Herrera-Foessel, R.P. Singh, J. Huerta-Espino, W. Spielmeyer, G. Brown-Guedira, L.L. Selter and B. Keller. 2009. Gene-specific markers for the wheat gene Lr34/Yr18/Pm38 which confers resistance to multiple fungal pathogens. Theoretical and Applied Genetics, 119(5): 889–898. https://doi.org/10.1007/s00122-009-1097-z

Legaspi, J.C., B.C. Legaspi, J.S. Bernal and M. Setamou. 2004. Insect resistant transgenic crops expressing plant lectins. Pages 171-228. In: Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, Vol. II. Intercept Press, Andover, Massachusetts, USA.

Lilley, C.J., P.E. Urwin, K.A. Johnston and H.J. Atkinson. 2004. Preferential expression of a plant cystatin at nematode feeding sites confers resistance to *Meloidogyne incognita* and *Globodera pallida*. Plant Biotechnology Journal, 2: 3-12. https://doi.org/10.1046/j.1467-7652.2003.00037.x

Liu, M., Z-X. Sun, J. Zhu, T. Xu, G.E. Harman and M. Lorito. 2004. Enhancing rice resistance to fungal pathogens by transformation with cell degrading enzyme genes from *Trichoderma atroviride*. Journal of Zhejiang University Science, 5(2): 133-136. https://doi.org/10.1631/jzus.2004.0133

Mackintosh, C.A., D.F. Garvin, L.E. Radmer, S.J. Heinen and G.J. Muehlbauer. 2006. A model wheat cultivar for transformation to improve resistance to fusarium head blight. Plant Cell Reports, 25(4): 313-319. https://doi.org/10.1007/s00299-005-0059-4

Malnoy, M., J.S. Venisse, M.N. Brisset and E. Chevreau. 2003. Expression of bovine lactoferrin cDNA confers resistance to *Erwinia amylovora* in transgenic pear. Molecular Breeding, 12(3): 231–244. https://doi.org/10.1023/A:1026365311067

Meng, B. and A. Gubba. 2000. Genetic engineering a novel and powerful tool to control plant virus. APS net Features. https://doi.org/10.1094/APSnetFeature-2000-0500B

Milligan, S.B., J. Bodeau, J. Yaghoobi, I. Kaolsian, P. Zabel and V.M. Williamson. 1998. The root knot nematode resistance gene *Mi* from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. The Plant Cell, 10: 1307-1319. https://doi.org/10.1105/tpc.10.8.1307

Mitani, N., S. Kobayashi, Y. Nishizawa, T. Kuniga and R. Matsumoto. 2006. Transformation of trifoliate orange with rice chitinase gene and the use of the transformed plant as a rootstock. Scientia Horticulturae, 108(4): 439-441. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.006

Moghaieb, R.E. 2010. Transgenic rice plants expressing cry1Ia5 gene are resistant to stem borer (*Chilo agamemnon*). GM crops, 1(5): 288-293. https://doi.org/10.4161/gmcr.1.5.14276

Mondal, K.K., R.C. Bhattacharya, K.R. Koundal and S.C. Chatterjee. 2007. Transgenic Indian mustard (*Brassica juncea*) expressing tomato glucanase leads to arrested growth of *Alternaria brassicae*. Plant Cell Reports, 26(2): 247–252. https://doi.org/10.1007/s00299-006-0241-3

Muramoto, N., T. Tanaka, T. Shimamura, N. Mitsukawa, E. Hori, K. Koda, M. Otani, M. Hirai, K. Nakamura and T. Imaeda. 2012. Transgenic sweet potato expressing thionin from barley gives resistance to black rot disease caused by *Ceratocystis fimbriata* in leaves and storage roots. Plant Cell Reports, 31(6): 987-997. https://doi.org/10.1007/s00299-011-1217-5

Norelli, J.L., J.A.Z. Mills, M.T. Momol and H. Aldwinckle. 1999. Effect of cecropin-like transgenes on fire blight resistance of apple. ISHS Acta Horticulturae, 489: 273–278. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.489.47

Osman, G.H., S.K. Assem, R.M. Alreedy, D.K. El-Ghareeb, M.A. Basry, A. Rastogi and H.M. Kalaji. 2015. Development of insect resistant maize plants expressing a chitinase gene from the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*. Scientific Reports, 5:18067. https://doi.org/10.1038/srep18067

Osusky, M., G.Q. Zhou, L. Osuska, R.E.W. Hancock, W. Kay and S. Misra. 2000. Transgenic plants expressing cationic peptide chimeras exhibit broad-spectrum resistance to phytopathogens. Nature Biotechnology, 18(11): 1162–1166. https://doi.org/10.1038/81145

Palukaitis, P. and M. Zaitlin. 1997. Replicase-mediated resistance to plant virus disease. Advances in Virus Research, 48: 349–377. https://doi.org/10.1016/s0065-3527(08)60292-4

Peng, J.H., T. Fahima, M.S. Röder, O.Y. Huang, A. Dahan, Y.C. Li, A. Grama and E. Nevo. 2000. High-density molecular map of chromosome region harboring stripe-rust resistance gene YrH52 and Yr15 derived from wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*. Genetica, 109(3): 199-210. https://doi.org/10.1023/a:1017573726512

Perlak, F.J., R.L. Fuchs, D.A. Dean, S.L. McPherson and D.A. Fischhoff. 1991. Modification of the coding sequences enhances plant expression of insect control protein genes. Proceedings of the National Academy of Science, USA., 88(8): 3324-3328. https://doi.org/10.1073/pnas.88.8.3324

Powell-Abel, P., R.S. Nelson, B. De, N. Hoffman, S.G. Rogers, R.T. Fraley and R.N. Beachy. 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science, 232(4751): 738–743. https://doi.org/10.1126/science.3457472

Prins, M., M. Laimer, E. Noris, J. Schubert, M. Wassenegger and M. Tepfer. 2008. Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. Molecular Plant Pathology, 9(1): 73–83. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00447.x

Qaim, M. and D. Zilberman. 2003. Yield effect of genetically modified crops in developing countries. Science, 299(5608): 900–902. https://doi.org/10.1126/science.1080609

Rivero, M., N. Funrman, N. Mencacci, P. Picca, L. Toum, E. Lentz, F. Bravo-Almonacid and A. Mentaberry. 2012. Stacking of antimicrobial in potato transgenic plants conferring resistance to bacterial and fungal pathogen. Journal of Biotechnology, 157(2): 334–343. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.11.005

Rommens, C. M., Kishore GM. 2000. Exploiting the full potential of disease- resistance genes for agricultural use. Current Opinion in Biotechnology, 11(2): 120–125. https://doi.org/10.1016/s0958-1669(00)00083-5

Sadeghabad, A.A., A. Dadkhodaie, B. Heidari, H. Razi and R. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa. 2017. Microsatellite markers for the *Triticum timopheevi*-derived leaf rust resistance gene Lr18 on wheat 5BL chromosome. Breeding Science, 67(2): 129-134. https://doi.org/10.1270/jsbbs.16148

Saharan, V., R.C. Yadav, R. Mishra and N.R. Yadav. 2008. Engineering disease resistance in crop plants. Pages 525-559. In: Advances in plant biotechnology. G.P. Rao, Z. Yipeng, V. Radchuk and S.K. Bhatnagar (eds.). Studium Press, Houston.

Sedeek, K.E.M. 2018. Plant Biotechnology Status in Egypt. Pages 213-230. In: Sustainability of Agricultural Environment in Egypt: Part I. A.M. Negm and M. Abu-hashim (eds.). The Handbook of Environmental Chemistry, No. 76. Springer, Cham.

Setamou, M., J.S. Bernal, J.C. Legaspi, T.E. Mirkov and B.C. Legaspi. 2002. Evaluation of lectin-expressed in transgenic sugarcane against stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae): effect on life history parameters and damage. Journal of Economic Entomology, 95(2): 469-477. https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.2.469

Sharma, A., R. Sharma, M. Imamura, M. Yamakawa and H. Machii. 2000. Transgenic expression of cecropin B, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*, confers enhanced resistance to bacterial leaf blight in rice. FEBS Letters, 484(1): 7–11. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02106-2

Singh, D., R. Haicour, D. Sihachakr and M.V. Rajam. 2015. Expression of rice chitinase gene in transgenic eggplant confers resistance to fungal wilts. Indian Journal of Biotechnology, 14(2): 233–240.

Sundaresha, S., A.M. Kumar, S. Rohini, S.A. Math, E. Keshamma, S.C. Chandrashekar and M. Udayakumar. 2010. Enhanced protection against two major fungal pathogens of groundnut, *Cercospora arachidicola* and *Aspergillus flavus* in transgenic groundnut over-expressing a tobacco β 1–3 glucanase. European Journal of Plant Pathology, 126(4): 497–508. https://doi.org/10.1007/s10658-009-9556-6

Terakawa, T., N. Takaya, H. Horiuchi, M. Koike and M. Takagi. 1997. A fungal chitinase gene from *Rhizopus oligosporus* confers antifungal activity to transgenic tobacco. Plant Cell Reports, 16: 439–443. https://doi.org/10.1007/BF01092762

Tsilo, T.J., Y. Jin and J.A. Anderson. 2008. Diagnostic microsatellite markers for the detection of stem rust resistance gene Sr36 in diverse genetic backgrounds of wheat. Crop Science, 48:253–261. https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0204

van der Biezen, E. A. 2001. Quest for antimicrobial genes to engineer disease-resistant crops. Trends in Plant Science, 6(3): 89–91. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)01870-2

van der Vossen, E.A.G., J. Gros, A. Sikkema, M. Muskens, T.C.A.E. Wouters, P. Wolters, A.B. Pereira and S. Allefs. 2005. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi-1 gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. The Plant Journal, 44(2): 208-222. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x

van Loon, L.C. and A. van Kammen. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var.'Samsum' and 'Samsum NN': II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. Virology, 40(2): 199–211. https://doi.org/10.1016/0042-6822(70)90395-8

van Loon, L.C., W.S. Pierpont, T. Boller and V. Conejero. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. Plant Molecular Biology Report, 12 :245–264. https://doi.org/10.1007/BF02668748

Vanderschuren, H., A. Alder, P. Zhang and W. Gruissem . 2009. Dose-dependent RNAi-mediated geminivirus resistance in the tropical root crop cassava. Plant Molecular Biology, 70(3): 265–272. https://doi.org/10.1007/s11103-009-9472-3

Velazhahan, R. and S. Muthukrishnan. 2003. Transgenic tobacco plants constitutively overexpressing a rice thaumatin-like protein (PR-5) show enhanced resistance to *Alternaria alternata*. Biologia Plantarum, 47(3): 347–354. https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000023876.55053.5e

Walz, A., I. Zingen-Sell, M. Loeffler and M. Sauer. 2008. Expression of an oxalate oxidase gene in tomato and severity of disease caused by *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Pathology, 57(3): 453-458. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01815.x

Wani, S.H. and G.S. Sanghera. 2010. Genetic engineering for viral disease management in plants. Notulae Scientia Biologicae, 2(1): 20-28. https://doi.org/10.15835/nsb.2.1.3614

Yamamoto, T, H. Iketani, H. Ieki, Y. Nishizawa, K. Notsuka, T. Hibi, T. Hayashi and N. Matsuta. 2000. Transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. Plant Cell Reports, 19(7): 639–646. https://doi.org/10.1007/s002999900174

Yang, S., M. Gao, C. Xu, J. Gao, S. Deshpande, S. Lin, B.A. Roe and H. Zhu. 2008. Alfalfa benefits from *Medicago truncatula*: The RCT1 gene from *M. truncatula* confers broad spectrum resistance to anthracnose in alfalfa. Proceedings of the National Academy of Science, USA, 105(34): 12164-12169. https://doi.org/10.1073/pnas.0802518105

Zanek, M.C., C.A. Reyes, M. Cervera, E.J. Pena, K. Velazquez, N. Costa, M.J. Plata, O. Grau, L. Pena and M.L. Garcia. 2008. Genetic transformation of sweet orange with the coat protein gene of citrus psorosis virus and evaluation of resistance against the virus. Plant Cell Reports, 27(1): 57–66. https://doi.org/10.1007/s00299-007-0422-8

Zhang, Z., D.P. Coyne, A.K. Vidaver and A. Mitra. 1998. Expression of human lactoferrin cDNA confers resistance to *Ralstonia solanacearum* in transgenic tobacco plants. Phytopathology, 88(7): 730–734. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.7.730