أ – البكتيريا المقاومة، سواء أكانت طبيعية، أم حُصل عليها بالانتخاب المختبرى

ب – النباتات المتحملة التى حُصل عليها من مزارع الأنسجة.

جـ – النباتات المتحملة التى انتخبت تحت ظروف الحقل.

٣ – بساطة وراثة مختلف حالات التحمل، حيث تبين أن جينًا واحدًا يتحكم فى كل حالة منها

٤ – توفر لدى شركات إنتاج مبيدات الحشائش الحافز المادى القوى لإنتاج الأصناف المقاومة لتلك المبيدات.

ويتركز الاهتمام بهندسة النباتات وراثيًا لتحمل مبيدات الحشائش على المبيدات التى تستخدم بمعدلات منخفضة، والتى تتحلل بيولوجيًا بصورة سريعة، والتى لا تصل إلى المياه الجوفية، وبذا يقل تلوث البيئة بالمبيدات التى لا توجد بها تلك الصفات ومن بين أهم المبيدات التى تنطبق عليها هذه الصفات الجلايفوسيت glyphosate (مثل الروند أب)، والسلفونيل يوريا sulfonylurea، والجلوفوسينيت glufosinate وقد تنطبق تلك المواصفات – كذلك – على البروموكسينيل bromoxynil، فهو يتحلل بيولوجيًا بسرعة، ولكننا لا نعرف ماذا يحدث لنواتج التحلل، وما هى تأثيراتها على النباتات وعلى الكائنات الدقيقة فى التربة (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

طرق واستراتيجيات الهندسة الوراثية لتحمل مبيدات الحشائش

يتعين بداية تحديد الأساس الجزيئى لعمل مبيدات الحشائش لأجل إنتاج نباتات مهندسة وراثيًا لتحمل تلك المبيدات، الأمر الذى دُرسَ جيدا من قِبل شركات إنتاج المبيدات هذا وترجع فاعلية معظم المبيدات الناجحة إلى تأثيرها على خطوة واحدة فى المسار الكيميائى الحيوى، حيث تؤثر على تفاعل إنزيمى يلعب دورًا حيويًا فى أيض الخلية. وعلى سبيل المثال . فإن موقع فعل المبيدين chlorsulfuron (كما فى المبيد التجارى Glean)، و sulfometuron methyl (كما فى المبيد التجارى Oust) هو الإنزيم acetolactate synthase، وهو أول إنزيم متخصص فى مسار تمثيل الأحماض الأمينية المتفرعة الأيزوليوسين isoleucine، والليوسين leucine. والفالين valine (عن Walden ١٩٨٨).

ويتبع فى برامج هندسة النباتات لمقاومة مبيدات الحشائش إحدى استراتيجيتين، كما يلى:

أولا: إفقاد مبيد الحشائش لسميته Detoxification

يمكن إفقاد مبيدات الحشائش لفاعليتها - وبالتالى إفقادها لسميتها - بنقل جينات للنباتات تتحكم فى إنتاج إنزيمات تعمل على مبيد الحشائش وتغير من خصائصه، حيث يقوم الإنزيم الذى ينتجه الجين المنقول بتحليل مبيد الحشائش الذى يصل إلى النبات ومن أمثلة ذلك الجين bar المتحصل عليه من البكتيريا *Streptomyces hygroscopicus* والذى يكسب النباتات التى ينقل إليها مقاومة ضد مبيدات الحشائش التى يدخل فى تركيبها الـ phosphinothricin (اختصارا ppt) ينتج هذا الجين الإنزيم phosphinothricin acetyl transferase (اختصارا PAT) الذى يحلل الـ ppt إلى طراز يحتوى على الـ acetyl (طراز acetylate) يكون غير سام وقد تبين أن النباتات التى نقل إليها هذا الجين أمكنها النمو فى تركيزات من الـ ppt بلغت ٤ ١٠ أضعاف التركيزات المستعملة منه - عادة - فى مكافحة الحشائش

كذلك فإن الجين bxn من البكتيريا *Klebsiella ozaenae* - والذى يتحكم فى إنتاج إنزيم الـ nitrilase - يكسب النباتات مقاومة ضد مبيدات الحشائش التى تحتوى على المادة الفعالة bromoxynil ولقد أنتج بالفعل فى الولايات المتحدة صنفا من القطن (الصنف BXN) مقاوم للـ bromoxynil

ومن بين الجينات الأخرى التى استعملت فى مقاومة مبيدات الحشائش الجين tfdA لتحمل الـ 2,4-D، والجين GST لتحمل الأترازين Atrazine (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

ثانيًا: إدخال جينات لا تعمل عليها مبيدات الحشائش

يمكن جعل النباتات مقاومة لمبيدات الحشائش بإكسابها جينات تتحكم فى إنتاج إنزيمات لا تكون حساسة للمبيدات تعمل هذه الجينات الطفرية على إنتاج إنزيمات لا يمكن لمبيدات الحشائش التعرف عليها، ومن ثم فإن النباتات لا تُقتل بفعل المبيد ومن أمثلة ذلك الجين الطفرى aroA من البكتيريا *Salmonella typhimurium* الذى استعمل

فى إنتاج نباتات متحملة للمبيد جلايفوسيت glyphosate يعمل مبيد الجلايفوسيت على إنزيم البلاستيدات الخضراء 5-enol pyruvylshkikimic acid 3-phosphate synthase (اختصارا EPSPS) ويؤدى نقل الجين الطفرى aroA إلى إنتاج إنزيم EPSPS محور لا يميزه الجلايفوسيت، ومن ثم لا يؤثر فيه ولقد أنتجت بالفعل أصنافا مقاومة للجلايفوسيت، مثل صنف فول الصويا Roundup Ready، وكذلك صنف القطن Roundup Ready

كذلك فإن مبيدى الحشائش sulphonylurea، و imidazolinone يبطان إنزيم acetolactate synthase (اختصارا ALS) الخاص بالبلاستيدات الخضراء وقد أمكن هندسة نباتات مقاومة لهذين المبيدين بنقل الجين ذات الأصل النباتى ALS (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

وتتحقق عمليات التحول الوراثى لتحمل مبيدات الحشائش فى النباتات بعدة طرق، نوجزها فيما يلى:

١ - التعبير الكثيف للبروتين الذى يعمل عليه المبيد، كما هو الحال بالنسبة للإنزيمات التى تتأثر بالجلايفوسيت glyphosate

٢ – إحداث طفرة بالبروتين الذى يعمل عليه المبيد لكى لا يتعرف عليه المبيد، ومن أمثلة ذلك طفره التبغ التى تحتوى على جين acetoacetate synthase، والتى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الـ sulfonylurea

ومنها كذلك حالات التحول الوراثى لتحمل كلا من المبيدات التالية

glyphosate	asulam
atrazine	chlorosulfuron

٣ – تحويل النباتات وراثيًا بجين يُلغى الأثر السام للمبيد، وتحويله إلى صورة غير سامة، وهو الذى يُتحصل عليه من البكتيريا، مثل حالات المقاومة لكل من

bilanafos	bromoxynil
phenoxyacetic acid	

ويمكن التوصل إلى تلك الإنزيمات - بسهولة - بتقييم الأنواع والسلالات النباتية المقاومة للمبيد، وكذلك غربلة الكائنات الدقيقة التى تعيش فى التربة المحتوية على المبيد والتى يمكنها تحليل مادته الفعالة ومن المهم طبعًا ألا تكون نواتج عمل الإنزيم على المبيد سامة للإنسان أو الحيوانات.

٤ - إنتاج جينات معمليًا يمكن أن تشفر لتكوين بولبيبتيدات مقاومة، الأمر الذى يمكن تحقيقه إذا ما عرف تركيب البوليبتيدات المستهدفة وكيفية فعل المبيد (عن Walden ١٩٨٨، و Mullineaux ١٩٩٢).

التحول الوراثى لتحمل أنواع مختلفة من مبيدات الحشائش

الجلايفوسيت

إن الجلايفوسيت glyphosate - وهو المادة الفعالة لمبيدات مثل الروند أب Roundup، وتمبل ويد Tumbleweed يعد من المبيدات الواسعة المفعول غير المتخصصة والفعالة ضد عديد من النباتات. يُمتص المبيد سريعًا بواسطة النبات، وينتقل سريعًا - كذلك - عن طريق اللحاء، ولذا .. تزداد فاعليته ضد الحشائش المعمرة. وهو يُعد مقبولاً بيئيًا، نظرًا لعدم سميته للحيوانات وسرعة تحلله بواسطة كائنات التربة.

يستهدف المبيد الإنزيم 5-enol-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (اختصارًا: EPSP synthase)، الذى يعمل فى البلاستيدات الخضراء، ويُشفَّر له بواسطة جين يقع فى النواة، والذى يعد من الإنزيمات الرئيسية للـ shikimate pathway الذى يتضمن تمثيل الأحماض الأمينية الأروماتية: التربتوفان، والفينيل آلانين، والتيروزين، علمًا بأن هذا المسار البيولوجى لا يوجد سوى فى النباتات والكائنات الدقيقة، بما يعنى عدم سمية المبيد للإنسان، الأمر الذى يجعل من تطوير محاصيل زراعية مقاومة له أمرًا هامًا (عن Walden ١٩٨٨).

ولقد اتبعت استراتيجيتان لتطوير نباتات محولة وراثيًا مقاومة للجلايفوسيت، كما يلى:

١- فى بداية الأمر تضمنت عملية هندسة نباتات مقاومة للمبيد استخدم جين - وجد فى سلالة من *Petunia hybrida* - كان قادرا على إحداث زيادة فى إنتاج الإنزيم