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

المستهدف EPSP synthase وبالإضافة إلى الفائدة المباشرة لاستعمال هذا الجين، فإنه سهل عملية تمثيل وعزل دنا ممثل للـ EPSP synthase مكّن الباحثين من زيادة قدرة البيتونيا كثيرًا على تحمل الجلايفوسيت (حتى ٩ ٠ جم/هكتار)

٢ – نظرًا لأن الجلايفوسيت لا يثبط الـ EPSP synthases بالكائنات الدقيقة، فقد أمكن بالانتخاب للنمو البكتيرى – فى وجود تركيزات عالية من الجلايفوسيت تكفى لوقف نمو البكتيريا العادية – أمكن عزل طفرات بكتيرية متحملة للجلايفوسيت من كل من *Salmonella typhimurium*، و *Aerobacter aerogenes*، و *Escherichia coli*. ولقد أمكن بهذه الاستراتيجية تعديل التبغ، والطماطم، والبيتونيا وراثيًا بجين من البكتيريا *Salmonella typhimurium* (الجين aroA)، وهو جين يشفر لطراز من الإنزيم EPSPs لا يأتلف (ينجذب) كثيرًا للجلايفوسيت؛ مما جعل النباتات أكثر تحملا للمبيد، ولكن دون القدرة على مقاومته (عن Walden ١٩٨٨، و Gardner وآخرين ١٩٩١، و Hopkins ١٩٩٥).

النترايازين

إن مبيدات الحشائش المحتوية على الترايازين triazine (مثل الأترازين atrazine، والسيمازين simazine) توقف انتقال الإليكترونات بارتباطها بالبروتين 32-kDa D1 فى الـ photosystem II (اختصارًا PSII).

ويعرف نظامان لمقاومة مبيدات الترايازين، هما:

١ – يدخل الترايازين النباتات – غالبًا – عن طريق الجذور، وهى التى تحتوى فى بعض الأنواع المحصولية – مثل الذرة والسورجم – على الإنزيم glutathione-S-transferase، الذى يوقف سمية المبيد سريعًا بربطه بالجلوتاثيون glutathione ولهذا السبب فإن مبيدات الترايازين تعد مبيدات اختيارية هامة لهذين المحصولين ولقد عزل هذا الجين من الذرة. وأصبح متاحًا لعمليات التحول الوراثى فى الأنواع النباتية الحساسة للأترازين

٢ – طورت عديد من الحشائش مثل الـ *Amaranthus*، و *Chenopodium* سلالات

مقاومة للترايازين. ويمكن فى كل حالات المقاومة تتبع جذورها إلى حدوث طفرة فى الجين psbA الذى يشفر للبروتين D1 فى الـ PSII. ومرد هذه الطفرة إلى تغير فى حامض أمينى واحد فى البروتين D1 من السيرين serine إلى جليسين glycine؛ الأمر الذى يخفض الألفة (الانجذاب) بين البروتين والترايازينات ألف مرة.

وعلى الرغم من أن الحشائش المقاومة للترايازين سوف تبقى مشكلة يتعين التعامل معها، فإن نقل جين المقاومة هذا من الحشائش إلى المحاصيل الزراعية يمكن أن يكون ذا فائدة كبيرة. ولسوء الحظ .. فإن التشفير للبروتين D1 يحث من خلال جينوم البلاستيدات الخضراء، حيث أحبطت محاولات الهندسة الوراثية لإنتاج نباتات مقاومة للترايازين بالصعوبات التى تواجه تحويل دنا الكلوروبلاستيدات. وفى إحدى الحالات .. استخدمت الطرق الكلاسيكية لتربية النبات فى نقل هذا الجين، وذلك بالتلقيح بين النوع المقاوم *Brassica campestris* ولفت الزيت *B. napus*. وعلى الرغم من أن نباتات لفت الزيت التى حُصِلَ عليها من برنامج التربية كانت مقاومة للترايازين، إلاّ أن محصولها كان يقل بمقدار ٢٠٪ عن محصول النباتات غير المقاومة (عن Hopkins ١٩٩٥).

المبيدات المؤثرة فى الإنزيم أسيتوهيدروكسى آسد سنثيز

توجد مجموعة غير متجانسة من مبيدات الحشائش (هى: الـ sulfonylureas، و imidazoline، والـ triazolopyrimidine) لا يجمعها سوى اشتراكها فى التأثير على الإنزيم acetohydroxyacid synthase (اختصارًا: ALS). يتواجد هذا الإنزيم فى كل من النباتات والكائنات الدقيقة، وهو يؤثر فى مرحلة مبكرة من تمثيل الأحماض الأمينية ذوات السلسلة المتفرعة: الإيزوليوسين isoleucine، والليوسين leucine، والفالين valine.

وقد وجد أن سلالة التبغ Hra تحتوى على طفرة فى الجين المسئول عن تمثيل الإنزيم ALS تجعل النباتات مقاومة للـ sulfonylureas بأكثر من ١٠٠٠ ضعف مقاومة النباتات العادية. ولقد استخدم هذا الجين فى تطوير نباتات مقاومة لهذا المبيد من كل من الطماطم، وبنجر السكر، والقطن، والبرسيم الحجازى، والتبغ (عن Hopkins ١٩٩٥).