الفصل السابع عشر

الهندسة الوراثية لتحمل الظروف البيئية القاسية

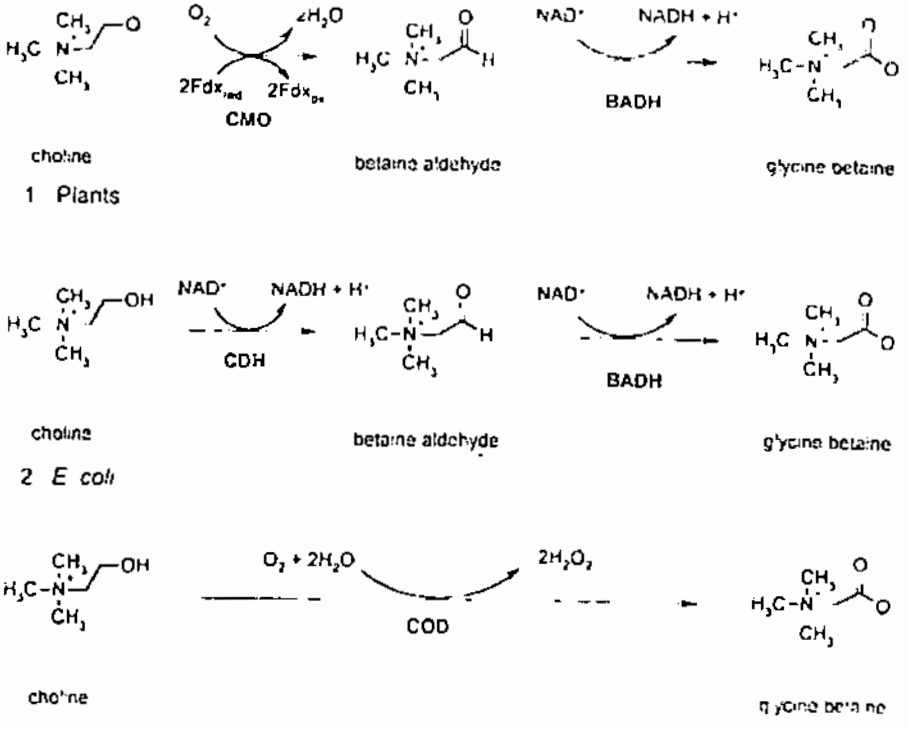
يتطلب إجراء عمليات التحول الوراثى بهدف تحمل الظروف البيئية القاسية (أى بهدف تحمل عوامل الشدِّ البيئى) فهمًا دقيقًا لطبيعة ذلك التحمل، علمًا بأن مختلف عوامل الشدِّ البيئى - مثل: الملوحة العالية، والحرارة المنخفضة، والتجمد، والجفاف - تشترك جميعها فى كونها تتضمن شدًا مائيًا، على الرغم من أن تفاصيل الأضرار التى تحدث للنباتات من جراء تعرضها لأى من حالات الشدِّ تختلف اختلافًا بينًا من حالة لأخرى، وتختلف معها - بالتالى - طبيعة تلك الأضرار، والاستراتيجيات المحتملة للوقاية منها. ولهذه الأسباب مجتمعة فإن من استراتيجيات الهندسة الوراثية لتحمل الظروف البيئية القاسية ما هو ذات طبيعة عامة تشمل كل حالات الشدِّ البيئى، ومنها ما يوجه لحالات شدٍّ خاصة دون غيرها.

التحول الوراثى لتحمل أكثر من واحد من عوامل الشدِّ البيئى

الاعتماد على جين الجليسين بيتين

يُنتج الجليسين بيتين glycine betaine (وهو مركب رباعى الأمونيوم quaternary ammonium compound) بواسطة أكثر من عشرة عائلات نباتية مزهرة، بالإضافة إلى الطحالب البحرية وبعض الأنواع البكتيرية. يقوم الجليسين بيتين بالمحافظة على كيان البروتينات والأغشية الخلوية (منعها من التدهور)، كما يقوم بحماية الخلايا مما قد يحيط بها من ضغوط أسموزية عالية بتوفير ضغط أسموزى مقابل داخل الخلايا، أى إنه يعمل كـ osmolyte. ولقد دُرست عملية تمثيل الجليسين بيتين فى النباتات - فقط - فى أنواع من العائلة الرمرامية، مثل: السبانخ والبنجر وغيرهما.

هذا . ويتباين مسار تمثيل الجليسين بيتين فى كل من النباتات، والبكتيريا *Escherichia coli*، والبكتيريا *Arthobacter globiformis* (شكل ١٧-١).



شكل (١٧-١): مسارات تمثيل الجليسين بيتين glycine betaine فى كل من النباتات، والنوعين البكتريين *Escherichia coli*، و *Arthobacter globiformis* (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

ولقد جرت محاولات للتحكم فى إنتاج الجليسين بيتين بإجراء التحولات الوراثية المناسبة بأى من جينات النباتات، أو *E. coli*. أو *A globiformis* (جدول ١٧-١) ولقد أدى التحول الوراثى للنباتات بجينات الـ betaine aldehyde dehydrogenase من أى من النباتات أو *E coli* .. أدى إلى تراكم الجليسين بيتين فى النباتات عندما زودت تلك النباتات بالبيتين ألدهيد betaine aldehyde، لكن ذلك التراكم لم يحدث فى النباتات المحولة وراثيًا فى غياب البيتين ألدهيد

جدول (١٧-١): تراكم الجليسين بيتين glycine betaine في النباتات المحولة وراثيًا وتحملها لحالات الشدّ البيئي.

جين التحول الوراثي	النباتات المحولة وراثيًا	تراكم الجليسين بيتين	حالة تحمل الشدّ البيئي
Barley *badh* (betaine aldehyde dehydrogenase)	Tobacco peroxisome	لم يختبر	لم يختبر
Spinach *badh*	Tobacco chloroplast	20 μmol g^{-1} FW (in 5 mmol l^{-1} betaine aldehyde)	لم يختبر
Spinacb *cmo* (choline monooxygenase)	Tobacco chloroplast	<0.05 μmol g^{-1} FW	لم يختبر
E. coli betB (betaine aldehyde dehydrogenase)	Tobacco chloroplast or cytosol	Not tested	لم يختبر
E. coli. BetA (choline dehydrogenase)	Tobacco cytosol (membranes)	Not detected	اللوحة
betA/betB	Tobacco	0.035 μmol g^{-1} FW	البرودة اللوحة
betA	Rice	5.0 μmol g^{-1} FW	الجفاف اللوحة
A. globiformis codA (choline oxidase)	*Arabidopsis chloroplost*	1.2 μmol g^{-1} FW	اللوحة البرودة التجمد الحرارة الضوء القوى
codA	Rice	5.3 μmol g^{-1} FW	اللوحة البرودة
A. pascens cox (choline oxidase)	*Arabidopsis*	19 μmol g^{-1} DW	التجمد اللوحة
cox	*Brossica napus*	13 μmol g^{-1} DW	الجفاف اللوحة
cox	Tobacco	13 μmol g^{-1} DW	اللوحة

FW : وزن طازج، و DW: وزن جاف.

وفى عدد من الحالات التى حدث فيها تراكم للجليسين بيتين أظهرت النباتات التى حُوِّلت وراثيًا قدرة على تحمل شدِّ النقص المائى، بما فى ذلك تحمل اللوحة،

والبرودة، والتجمد، والجفاف (جدول ١٧-١)؛ بما يعنى أن هذا المركب "الواقى من الضغط الأسموزى العالى" osmoprotectant -- وربما غيره كذلك - يحفز القدرة على تحمل حالات الشدّ التى يحدث بسببها نقص مائى. هذا . إلاّ إنه لا يعرف وجه التحديد الدور الذى يلعبه الجليسين بيتين، خاصة وأن تراكمه فى النباتات المحولة وراثيًا لا يزيد عن ١٠٪ من مستوى التراكم الذى يحدث فى النباتات التى يتواجد فيها المركب بصورة طبيعية، مثل السبانخ، ولا يصل مستواه فى حالات التحول الوراثى إلى المستوى الذى يمكن أن يُسهم به كمنظم أسموزى فى حالات تحمل الشدّ الأسموزى المشاهد (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

الاعتماد على جينات لـ "واقيات أسموزية" أخرى

استعملت فى عمليات التحول الوراثى جينات لواقيات أسموزية osmoprotectants كثيرة أخرى غير تلك المتحكمة فى إنتاج الجليسين بيتين، ومنها الجينات التى تتحكم فى إنتاج كل من البرولين proline، والمانيتول mannitol، والسوربيتول sorbitol، والتريهالوز trehalose، والـ دى-أونونيتول D-ononitol، والفروكتانات fructans، والجلوتامين glutamine، والأزموتين osmotin ونقدم فى جدول (١٧-٢) قائمة بمحاولات استعمال الجينات المتحكمة فى إنتاج تلك المركبات فى عمليات التحول الوراثى وتأثيرها على تحمل مختلف عوامل الشدّ البيئى (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

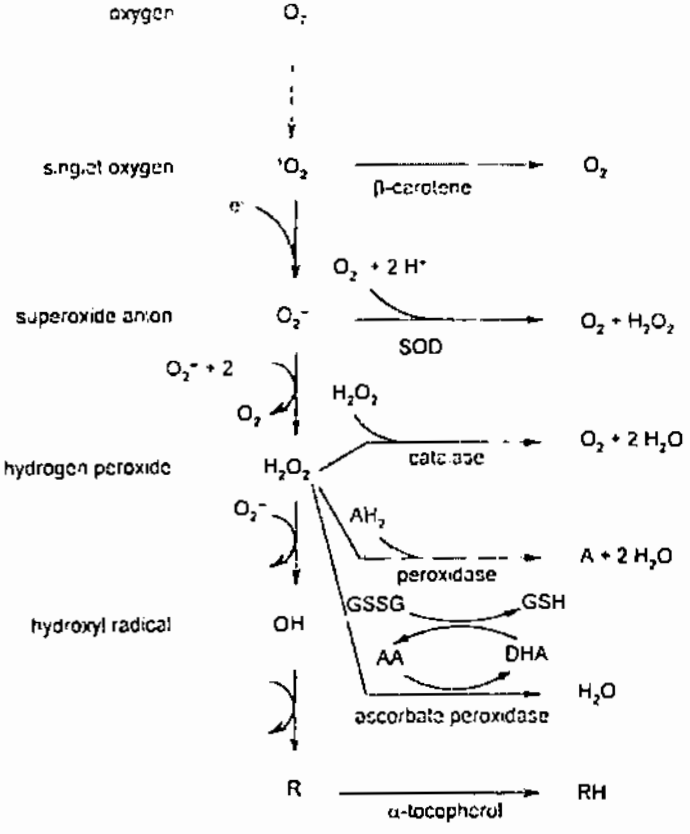
الاعتماد على الجينات المتحكمة فى إنتاج مضادات الأكسدة

يترتب على غالبية حالات الشدّ (غير البيولوجى والبيولوجى) شدًّا تأكسديًّا oxidative stress، وعلى الرغم من أن الشد التأكسدى يحدث بصورة مباشرة من جراء التلوث بالأوزون أو الأشعة المؤينة، إلاّ أنه يحدث - غالبًا - كأثر ثانوى لأنواع كثيرة من الشدّ تتراوح ما بين الإصابة بالكائنات الممرضة إلى العوامل المحدثة لشدّ النقص المائى وينشأ الشدُّ التأكسدى نتيجة لإنتاج free radicals، وما يعقب ذلك من حدوث لسلسلة من التفاعلات الضارة.

جدول (١٧-٢): أمثلة لحالات تحول وراثى بجينات تتحكم فى إنتاج عدد من الواقيات الأسموزية osmoprotectants (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

الواقى الأسموزى osmoprotectant	الجينات المستعملة فى التحول الوراثى	النباتات المحولة وراثيًا	تراكم الواقى الأسموزى	حالة تحمل الشد البيئى
Proline	Mothbean *P5CS* (Pyrroline carboxylate Synthetase)	التبغ الأرز فول الصويا		الملوحة الجفاف والملوحة الملوحة والحرارة
	P5CS (feedback inhibition) Insensitive)	التبغ	4 mg g^{-1} FW	الملوحة
	Anti-ProDH (proline dehydrogenase)	*Arabidopsis*	0.6 mg g^{-1} FW	الملوحة والتجمد
Mannitol	*E. coli mt1D* (mannitol-1-phosphate dehydrogenase)	*Arabidopsis* التبغ	10 µg g^{-1} FW 6 µmol g^{-1} FW	الملوحة الملوحة
Sorbitol	Apple *s6pdh* (sorbitol-6-phosphate) dehydrogenase)	التبغ البرسيمون	 61.5 µmol g^{-1} FW	ضد التأكسد الملوحة
Trehalose	Yeast *tps1* (trehalose-6-phosphate synthase, T-6-PS)	التبغ البطاطس	3.2 µg g^{-1} DW	الجفاف الجفاف
	E. coli otsA + otsB (T-6-PS and T-6-P Phosphatase)	التبغ	90 µg g^{-1} FW	الجفاف
D-Ononitol	Ice plant *imtl* (Myo-inositol o-methyltransferase)	التبغ	35 µmol g^{-1} FW	الجفاف والملوحة
Fructans	*B. subtilis sacB*	التبغ بنجر السكر	0.35 mg g^{-1} FW 5 mg g^{-1} DW	الجفاف الجفاف
Glutamine	GS2 (chloroplastic glutamine synthetase)	الأرز		الملوحة والبرودة
Osmotin	*Osm1-Osm4* (protein accumulation)	التبغ		الجفاف والملوحة

تحتوى النباتات على عدد من الإنزيمات التى يمكنها تحويل المركبات ذات القابلية الشديدة للتأكسد إلى مركبات أخرى أقل قابلية (شكل ١٧-٢). ومن أهم الإنزيمات فى هذا الشأن كلاً من: الـ superoxide dismutase، والـ catalase، والـ peroxidases كما يوجد - أيضًا - كما يظهر فى شكل (١٧-٢) _ مركبات مضادة للأكسدة antioxidants تتفاعل مع المركبات النشطة فى الأكسدة؛ لتحولها إلى مركبات غير ضارة. ومن أهم تلك المركبات ثلاثة فيتامينات، هى البيتا كاروتين β-carotene (بادئ فيتامين أ)، وحامض الأسكوربيك ascorbic acid (فيتامين جـ)، والألفا توكوفيرول α-tocopherol (فيتامين هـ) ومن مضادات الأكسدة الهامة الأخرى الجلوتاثايون glutathione، والزيازانثين zeaxanthin



شكل (١٧-٢): تمثيل المركبات النشطة فى الأكسدة، والإنزيمات التى تعمل على التخلص منها، وكذلك تمثيل مضادات الأكسدة الهامة (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

ولقد وجد أنه يمكن الحد من أضرار الشدّ التأكسدى بإحدى استراتيجيتين، هما: إما بزيادة مستوى الإنزيمات التى تعمل على التخلص من المركبات النشطة فى الأكسدة، وإما بزيادة مستوى مضادات الأكسدة التى تتفاعل مع المركبات النشطة فى الأكسدة.

ولقد أمكن إجراء عمليات تحول وراثى بثلاثة من الإنزيمات التى ظهرت فى شكل (١٧-٢)، وهى ascorbate peroxidase، و glutathione peroxidase، و glutathione reductase، حيث نقلت إلى الـ *Arabidopsis* والتبغ (جدول ١٧-٣)؛ مما أدى إلى زيادة قدرتها على تحمل مختلف حالات الشدّ غير البيولوجى، مثل: الحرارة العالية، والبرودة، والملوحة، كما وفر الـ glutathione reductase - كذلك - مقاومة للشدّ التأكسدى الناتج من المعاملة بالباراكوات paraquat (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

هذا ويجمع جدول (١٧-٤) بين مجموعة من الجينات التى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لأجل تحمل مختلف حالات الشد البيئى (عن Chawla ٢٠٠٠).

التحول الوراثى لتحمل حالات خاصة من الشدّ البيئى

تحمل الملوحة العالية

من بين عمليات التحول الوراثى التى أجريت لأجل زيادة القدرة على تحمل الملوحة، ما يلى.

● أنتجت نباتات تبغ محولة وراثيًا لتحمل الملوحة ولذلك بالجينmtlD، الذى حُصِلّ عليه من البكتيريا *Escherichia coli*، والذى يجعل النباتات تنتج كميات محسوسة من المانيتول mannitol، وتبين أن النباتات التى حولت وراثيًا بهذا الجين كانت أكثر تحملاً للملوحة عن قريناتها غير المحولة (عن Pharr وآخرين ١٩٩٥).

● أمكن تحويل السيانوبكتيريا: *Synechococcus* sp. وراثيًا بالجين codA المسئول عن تمثيل الإنزيم choline oxidase المنقول من النوع البكتيرى الذى يعيش فى التربة *Arthrobacter globiformis*. وقد تراكم الـ glycinebetaine فى البكتيريا التى حولت وراثيًا، وأصبحت أكثر تحملاً للملوحة (Murata وآخرون ١٩٩٦).