الفصل السادس عشر

استخدامات الهندسة الوراثية وتقنيات الدنا الأخرى فى التربية

يتطلب إجراء عمليات التحول الوراثى بهدف تحمل الظروف البيئية القاسية (أى بهدف تحمل عوامل الشدّ البيئى) فهمًا دقيقًا لطبيعة ذلك التحمل، علمًا بأن مختلف عوامل الشدّ 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 الشدّ 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 الشدّ البيئى، ومنها ما يوجه لحالات شدٍّ خاصة دون غيرها.

الصفات والمركبات المستهدفة فى عمليات التحول الوراثى لتحمل الشدِّ البيئى

من أهم الصفات والمركبات والإنزيمات التى تكون مستهدفة فى عمليات التحول الوراثى للنباتات لأجل تحمل الشدّ البيئى ما يلى (جدول ١٦-١):

١- الحاميات الأسموزية osmoprotectants (جدول ١٦-٢):

تعمل الحاميات الأسموزية فى ضبط وتعديل الضغط الأسموزى، وربما تفيد فى حماية البروتينات والأغشية البروتوبلازمية فيه، كما تعمل كـ reactive (OH^-) scavengers، ومن أمثلتها:

أ- الأحماض الأمينية، مثل البرولين proline، والإكتوين ectoine.

ب- مركبات الـ dimethyl sulfonium مثل الجليسين بيتين glycine betaine، والـ dimethylsulfoniopropinonate (اختصارًا: DMSP).

جـ الـ polyols، مثل المانيتول mannitol، والـ D-ononitol، والسوربيتول sorbitol.

د- السكريات، مثل السكروز، والتريهالوز trehalose، والفروكتان fructan.

٢- المركبات الـ reactive oxygen scavengers:

تعمل هذه المركبات لمنع سمية المركبات النشطة فى تفاعلات الأكسدة reactive oxygen speces، ومن أمثلتها:

أ- إنزيمات، مثل الـ catalase، والـ Fe/Mn superoxide dismutase، والـ ascorbate perpxidase، والـ glutathione cycle enzymes، والـ glutathione S-transferase، والـ glutathione peroxidase، والـ alternative oxidase.

ب- مركبات غير إنزيمية، مثل حامض الأسكوربيك، والفلافونات، والكاروتينات، والأنثوسيانينات.

جدول (١٦-١): جينات نباتية وميكروبية استخدمت فى عمليات تحول وراثى لأجل تحمل الشدّ البيئى (Leone وآخرون ١٩٩٩).

الجين	الكائن المعطى	المنتَج الجينى	النبات المحول وراثيًا	التحمل
بروتينات حامية				
HVAI	نبات	Lea protein	الأرز	الملوحة العالية
Afp	سمك	Antifereeze protein	التبغ البطاطس	التجمد
Afa3	سمك	Antifereeze protein	الطماطم	التجمد
ثبات الأغشية				
des9	*A. nidulans*	Δ-9-desaturase	التبغ	البرودة
fad7	نبات	Chloroplast ω-3 fatty acid desaturase	التبغ	البرودة
إنزيمات كاسحة				
Gst/Gpx	نبات	Glutathionetransferase/glutathione peeroxidase	التبغ	الشدّ التأكسدى
Mn-Sod	نبات	Mn-Super-oxide dismutase	البرسيم الحجازى التبغ	الشدّ التأكسدى
Fe-Sod	نبات	Fe-Super-oxide dismutase	التبغ	الشدّ التأكسدى

تابع جدول (١٦-١).

الجين	الكائن المعطى	المنتج الجيني	النبات المحول وراثيًا	التحمل
مواد منظمة أسموزيًا				
mtlD	*E. coli*	mannitol 1-P dehydrogenase	التبغ *A. thaliana*	الملوحة العالية
Bet A	*E. coli*	choline dehydrogenase	التبغ	الملوحة العالية
Bet A	*E. coli*	choline dehydrogenase	البطاطس	التجمد
SacB	*B. subtilis*	levansucrase	التبغ	الجفاف
CodA	*A. globiformis*	choline oxidase	*A. thaliana*	الجفاف البرودة
Imt1	نبات	Myo-inositol-O-methyl-transferase	التبغ	
Tps1	خميرة	trehalose-6-phosphate synthase	التبغ	الجفاف
otsA, otsB	*E. coli*	trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatases	التبغ	الجفاف
AtProDH	نبات	porline dehydrogenase	*A. thaliana*	التجمد الملوحة العالية
P5CS	نبات	Pyrroline-5-carboxylate synthetase	التبغ	الجفاف

جدول (١٦-٢): حالات متنوعة من التحول الوراثي بالحاميات الأسموزية لأجل زيادة التحمل لمختلف عوامل الشدّ البيئي (عن Chawla ٢٠٠٠).

النبات المحول وراثيًا	الجين المستعمل	المركب المعبر عنه	حالة التحمل
التبغ	Mannitol 1-phosphate dehydro-genase (*mtlD*) from *E. coli*	Mannitol	الملوحة
Arabidopsis	*MtlD* from *E. coli*	Mannitol	الملوحة
التبغ	*SacB* from *Bacillus subtilis*	Fructan	الجفاف
التبغ	TPS1 subunit encoding trehalose synthase from *E. coli*	Trehalose	الجفاف
التبغ	γ-Pyrroline-5-carboxylate synthetase	Proline	الشدّ الأسموزى
الأرز	Barley *lea* gene *(HVAI)*	LEA	الجفاف والملوحة
التبغ	*BetA* from *E. coli* encoding choline dehydrogenase	Glycine betaine	الملوحة
الأرز	*CodA* from *Arthrobacter globiformis* endcoding choline oxidase	Glycine betaine	الملوحة
Arabidopsis thaliana	*CodA* from *Arthrobacter globiformis endcoding choline oxidase*	Glycine betaine	الملوحة والبرودة

٣- بروتينات الشدّ stress proteins:

قد تلعب هذه البروتينات دورًا فى ثبات البروتين، وفى الارتباط بالماء لإبطاء الفقد الرطوبى، وكـ chaperones، وفى ثبات الأغشية، وفى خلب الأيونات، ومن أمثلتها ما يعرف باسم late embryogenesis abundant proteins.

٤- بروتينات الصدمة الحرارية Heat shock proteins:

تعمل هذه البروتينات فى منع تجلط البروتين بفعل الحرارة، وأنواعها كثيرة.

٥- ناقلات الأيونات والبروتونات ion/proton transporters:

تعمل على امتصاص ونقل البوتاسيوم والصوديوم وتحقيق تدرج بروتونى، وخلب الأيونات التى توجد فى السيتوبلازم وعضيات الخلية والتخلص منها. ومن أمثلتها ما يلى:

high-affainity K^+ transporters

low-affainity K^+ channels

plasma membrane, pre-vacular, vacular and organellar protom ATPase and ion transporters H^+/ATPase, Na^+/H^+ antiporters)

٦- سيولة الغشاء البلازمى membrane fluidty :

تعمل على زيادة تحمل البرودة، ومن أمثلتها الـ fatty acid desaturases.

هذا .. بالإضافة إلى الجينات التى تتحكم فى الوضع المائى بالنبات (مثل القنوات المائية، أو الـ aquaporins)، ومكونات الإشارات signal components (مثل الـ Ca^{2+} - dependent protein kinases، والـ Ca^{2+} sensors)، والـ transcription factors، والجينات التى تحور من مسارات تمثيل الهرمونات (عن Leon وآخرون ١٩٩٩).

لقد عرفت كثيرًا من الجينات التى يمكن استخدامها — أو استخدمت بالفعل — فى عمليات التحول الوراثى لأجل تحمل الظروف البيئية القاسية (جدول ١٦-٣).

جدول (١٦-٣): الجينات المنقولة بطرق الهندسة الوراثية التى أظهرت أنها تكسب النباتات المحولة وراثيًا مقاومة لواحدة أو أكثر من حالات الشدّ البيئى (عن Singh ١٩٩٣).

الجين المنقول	عُزل من	الوظيفة	النبات المحول وراثيًا	الحماية من حالات الشدّ البيئى
mtlID	*E. coli*	Mannitol-1-phosphate dehydrogenase	التبغ	الشدّ الملحى (٢٥٠ ملى مول كلوريد صوديوم)
			Arabidopsis	أنبتت البذو فى بيئة عالية الملوحة
P5CS	*Mothbean*	Pyrroline-5-carboxylate synthetase	التبغ	
hsf		Heat shock factor (transcription factor)	التبغ	الشدّ الحرارى
sacB	*Bacillus subtilis*	Fructan accumulation	التبغ	شدّ الجفاف
ala3 [أ]	مخلق صناعيًا	Antifreeze protein (AFP)	التبغ	شدّ التجمد
	الكوسة	Glycerol-3-phosphate acetyl transferase	التبغ	شدّ البرودة
hval	الشعير	A class 3 lea protein [ب]	الأرز	شدّ الملوحة
Cor47		A low temperature responsive gene product	الأرز	شدّ الجفاف والملوحة
betA	*E. coli*	Choline dehydrogenase [جـ]	التبغ	شدّ الملوحة
betB	*E. coli*	Betaine aldehyhyde dehydrogenase [د]	التبغ	الشدّ الأسموزى
codA	*Arthrobacter globiformis*	Choline oxidase [هـ]	Arabidopsis	الشدّ الملحى وشدّ البرودة
sal1	*Arabidopsis* sp.	Sulphur assimilation	الخميرة	شد الملوحة العالية

أ- حُصل عليه من سمك يعيش فى البحار القطبية.
ب- Lea تعنى late embryogenesis abundant protein.
جـ- يحول الـ choline إلى betaine aldehyde.
(د) يحول الـ betaine aldehyde إلى glycine betaine.
(هـ) يحول choline إلى glycine betaine.

واستخدمت عديد من جينات الـ *Arabidopsis* التى تم التعرف عليها وعزلها فى عمليات تحول وراثى لأجل زيادة القدرة على تحمل الظروف البيئية القاسية فى النباتات (Nakashima & Yamaguchi-Shinozaki ٢٠٠٥).

وتبين جداول (١٦-٤) إلى (١٦-١١) كثيرًا من حالات التحول الوراثى التى أجريت حتى عام ٢٠٠٧، بهدف تحسين تحمل النباتات للظروف البيئية القاسية (Genes for stress resistance in transgenic/mutant plants — ٢٠٠٧ — plantstress.com — الإنترنت).

جدول (١٦-٤): بعض الجينات التى استخدمت فى التحول الوراثى للنباتات لزيادة قدرتها على تحمل بعض حالات الشدّ البيئى (عن **Genes for stress resistance in transgenic/mutant plants** — ٢٠٠٧ — الأنترنت).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
adc	Polyamine synthesis	الأرز	تحمل الجفاف
BADH-1	Betaine aldehyde dehydrogenase	الطماطم	المحافظة على ضغط أسموزى عال
BADH-1	Betaine aldehyde dehydrogenase	الجزر	تحمل الملوحة
betA	Choline dehydrogenase (glycinebetaine synthesis)	الأذرة	تحمل الجفاف فى مرحلة البادرة مع المحصول العالى بعد ظروف الجفاف
codA	Choline oxidase (glycine hetaine synthesis)	الأرز	زيادة تحمل الملوحة والبرودة
codA	Choline oxidase (glycine betaine synthesis)	الطماطم	تحمل البرودة
COX	Choline oxidase (glycine betaine synthesis)	الأرز	تحمل الملوحة والشدّ
GS2	Chloroplastic glutamine synthetase	الأرز	زيادة تحمل الملوحة والبرودة
mt1D	Mannito-1-phosphate dehydrogenase (mannitol synthesis)	القمح	تحمل الكالوس والنباتات للملوحة والجفاف
Osmyb4	Cold induced transcription factor	الطماطم	تحمل الجفاف ولكن ليس البرودة
OsP5CS2	Highly homologous to P5C5	الأرز	تحمل البرودة والملوحة
P5CS	Pyrroline carboxylate synthase (proline synthesis)	البطاطس	تحمل الملوحة

تابع جدول (١٦-٤).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
P5CS	Pyrroline carboxylate synthase (proline synthesis)	الأرز	انخفاض الشدّ التأكسدى فى ظروف الشدّ الأسموزى
P5CS	Pyrroline carboxylate synthase (proline synthesis)	الأرز	تحمل شد النقص المائى والملوحة
P5CS	Pyrroline carboxylate synthase (proline synthesis)	فول الصويا	تحمل الشدّ الأسموزى والحرارة العالية
P5CS	Pyrroline carboxylate synthase (proline synthesis) (tomato)	قصب السكر	تحمل الجفاف من خلال دور مضاد للأكسدة يلعبه البرولين
pdc1	Pyruvate decarboxylase overexpression	الأرز	زيادة تحمل الغمر بالماء
P5CR	Pyrroline carboxylate reductase (praline accumulation)	فول الصويا	نشاط مضادات الأكسدة فى ظروف الشدّ
P5CR	Pyrroline carboxylate reductase (proline accumulation)	فول الصويا	تراكم الأحماض الأمينية
PPO	Polyphenol oxidases suppression	الطماطم	تحمل الجفاف
SAMDC	S-adenosylmethioninedecarboxylase (polyamine synthesis)	الأرز	تحسن نمو البادرات فى ظروف شد الملوحة لمدة يومين
SST/FFT	Fructan accumulation	البطاطس	انخفاض تراكم البرولين فى ظروف نقص الرطوبة
TPSP	Trehalose synthesis	الأرز	تحمل الجفاف والملوحة والبرودة معبرًا عنها بفلورة الكلوروفيل
TPS1	Trehalose synthesis	الطماطم	تحمل الجفاف والملوحة والشدّ التأكسدى
WCOR410	Dehydrin	الفراولة	تحمل التجمد

جدول (١٦-٥):بعض الجينات ذات العلاقة بالـ late embryogenesis abundant (اختصارًا: LEA) المستخدمة فى التحول الوراثى لزيادة تحمل بعض حالات الشدّ البيئى.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
HVA1	Group 3 LEA protein gene	الزمير	تحمل الملوحة فى صفة المحصول
HVA1	Group 3 LEA protein gene	الأرز	تحمل الجفاف والملوحة
HVA1	Group 3 LEA protein gene	القمح	زيادة الكتلة البيولوجية وكفاءة استخدام المياه تحت ظروف الشدّ
OsLEA3-1	LEA protein	الأرز	تحمل الجفاف فى صفة المحصول تحت ظروف الحقل
ME-leaN4	LEA Protein	الخس	تحفيز النمو وتأخير الذبول فى ظروف الجفاف مع تحمل الملوحة
ME-leaN4	LEA Protein	الكرنب الصينى	تحمل الجفاف والملوحة

جدول (١٦-٦): بعض الجينات المنظّمة المستخدمة فى التحول الوراثى لزيادة القدرة على تحمل بعض حالات الشدّ.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
ABF3	Transcription factor	الأرز	تحمل الجفاف
ADC	Arginine decarboxylase overexpression	الأرز	تراكم متعددة الأمينات وتحمل الملوحة فى صفة تراكم الكتلة البيولوجية
ADH1	alcohol dehydrogenase	الأرز	تحمل الغمر بالماء
ADH1;ADH2	alcohol dehydrogenase	الذرة	تحمل البرودة
AtCBF1-3	Transcription factor	البطاطس	تحمل التجمد فى صفة المحصول
AtMT2a AtMT3	Metallothioneins synthesis in guard cells	الفول	تحمل الكادميم من خلال فعل مضاد للأكسدة

تابع جدول (١٦-٦).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
CaPIF1	Cys-2/His-2 zinc finger protein	الطماطم	تحمل البرودة ومقاومة للأمراض
CBF1	Transcription factor	الطماطم	تحمل البرودة وفعل مضاد للأكسدة وتنشيط لجين تمثيل الكاتاليز CAT1
CBF3	Transcription factor	الأرز	تحمل الجفاف والملوحة
DREB1 or OsDREB1	Transcription factor	الأرز	تحمل الجفاف والملوحة والبرودة مع ضعف النمو فى غير ظروف الشدّ
DREB1A	Transcription factor	القمح	تأخر الذبول تحت ظروف الجفاف
FER	Root development and physiology	الطماطم	احتمال تحفيز التغذية بالحديد
Ferritin	Iron storage protein	الأرز	زيادة تراكم الحديد والزنك بالحبوب
Gal	Raffinose hydrolysis	البيتونيا	زيادة تحمل التجمد
GPAT	glycerol-3-phosphate acyltransferase of chloroplasts	الأرز	تحمل البرودة
HAL1	Promote K^+/Na^+ selectivity	الطماطم	تحمل الملوحة فى صفات النمو وإنتاج الثمار
HAL1	Promote K^+/Na^+ selectivity	البطيخ	تحمل الملوحة فى صفة النمو
HAL 2 (Yeast)	Promote K^+/Na^+ selectivity	الطماطم	تحمل الملوحة فى كل من الكالوس والتجذير
HvCBF4	Transcription factor	الأرز	تحمل الجفاف والبرودة
IMPDH	Root Inosine-5'-monophosphate dehydrogenases	فول الصويا	خفض امتصاص الجذور للألومنيوم
LeGPAT	Glycerol-3-phosphate acytransferase	الطماطم	تحمل البناء الضوئى لشدّ الحرارة المنخفضة
MsPRP2	Transcription factor	البرسيم الحجازى	زيادة تحمل الملوحة
naat	Nicotianamine aminotransferase activity	الأرز	زيادة كفاءة الحديد وزيادة إفرازات الـ phytosiderophores وزيادة محصول الحبوب

تابع جدول (١٦-٦).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
NPK1	mitogen-activated protein kinase	الذرة	تحمل الجفاف فى صفة البناء الضوئى
OsCDPK7	Transcription factor	الأرز	تحمل البرودة والجفاف
OsCOIN	RING finger protein	الأرز	تحمل البرودة والملوحة والجفاف
OCPI1	Transcription factor	الأرز	تحمل الجفاف فى صفة المحصول
OsSbp	Calvin cycle enzyme sedoheptulose-1,7-bishosphatase	الأرز	تحمل الملوحة فى صفة البناء الضوئى
OsPTF1	Transcription factor	الأرز	تحمل نقص الفوسفور
PDH45	DNA helicase 45	البسلة	تحمل الملوحة فى صفة المحصول
See2	Senescence-associated legumain gene	الذرة	دور لاستعمال النيتروجين عند نقص العنصر
SNAC1	Stomatal activity	الأرز	تحمل الجفاف والملوحة
TaSTK	Serine/threonine protein kinase	القمح	تحمل الملوحة
WXP1	Epicuticular wax accumulation	البرسيم الحجازى	تحمل الجفاف فى صورة المحافظة على حالة الرطوبة بالأوراق
ZPT2-3	Encodes a Cys2/His2-type zinc finger protein	البيتونيا	تحمل الفقد الرطوبى

جدول (١٦-٧): بعض الجينات المنظمة للهرمونات التى استخدمت فى التحول الوراثى لتحسين تحمل بعض الظروف البيئية.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
PSAG12-IPT	Over production of cytokinins	البيتونيا	تأخر شيخوخة الأوراق
rolD	ACC deaminaseoverexpression	لفت الزيت	ضعف إنتاج الإثيلين وتحمل النيكل

تابع جدول (١٦-٧).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
sp12 and sp5	ABA Over production	الطماطم	زيادة كفاءة استخدام المياه وزيادة قدرة توصيل الجذور للماء
tos1	Increased ABA sensitivity	الطماطم	فرط الحساسية للشدّ الأسموزى وللمعاملة بحامض الأبسيسك
ZmACS6	Ethylene synthesis	الذرة	طفرة تتحكم فى شيخوخة تستحثها ظروف الجفاف

جدول (١٦-٨): بعض الجينات ذات العلاقة بالشدّ التأكسدى التى استخدمت فى عمليات التحول الوراثى لتحسين تحمل بعض حالات الشدّ البيئى.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
Apx	Ascorbate peroxidase	القطن	حماية البناء الضوئى فى ظروف شدّ البرودة
Apx	Ascorbate peroxidase	الطماطم	تحمل البرودة والملوحة
CAT	Wheat catalase	الأرز	خفض مستوى H_2O_2 فى ظروف شدّ البرودة
GST	glutathione S-transferase overexpression	القطن	لا يظهر تحملا للملوحة فى النباتات الكاملة ولا يظهر نشاط مضاد للأكسدة
GST	glutathione S-transferase overexpression	الأرز	تحمل الملوحة والبرودة
SOD	Cu/Zn superoxide dismutase	الطماطم	لا تظهر حماية من نشاط الـ superoxides
SOD	Mn superoxide dismutase	البرسيم الحجازى	تحمل لشدّ التجمد
SOD	Mn superoxide dismutase	الأرز	تقليل الضرر واستمرار البناء الضوئى تحت ظروف شد الـ PEG

جدول (١٦-٩): بعض الجينات المشفرة للمرافقات الجزيئية التى استخدمت فى عمليات تحول وراثى لتحسين تحمل بعض حالات الشدّ البيئى.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
Hsp101	Heat shock protein	الأرز	تحمل الحرارة العالية فى صورة النمو النباتى
Hsp17.7	Heat shock protein	الجزر	زيادة أو نقص فى تحمل الحرارة العالية
LeHSP100/Clp B	Chloroplast HSP	الطماطم	تحمل الحرارة العالية
P5CR	Inducible heat shock promoter (ISP)	فول الصويا	زيادة تراكم البرولين
wx	Control amylose synthesis	الأرز	٥ زيادة محتوى الأميلوز فى الحرارة المنخفضة

جدول (١٦-١٠): بعض الجينات المسئولة عند تنظيم حركة العناصر داخل النبات (تُشفر لتمثيل الـ proton pumps، والـ antiporters، والـ ion transporters) والتى استخدمت فى عمليات تحول وراثى لتحسين تحمل نقص أو سمية بعض العناصر، وتحمل الملوحة، وزيادة محتوى النباتات من بعض العناصر.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
ALMT1	aluminum-activated malate transporter	القمح	تحمل الألومنيوم
ALMT1	aluminum-activated malate transporter	الشعير	تحمل الألومنيوم
AtNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	لفت الزيت	تحمل الملوحة فى صورة النمو ومحصول البذور وجودة زيت البذور
AtNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	القطن	تحمل الملوحة فى البناء الضوئى والمحصول
AtNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	الطماطم	تحمل الملوحة فى صورة النمو ومحصول الثمار
AtNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	القمح	تحمل الملوحة فى صورة محصول الحبوب تحت ظروف الحقل

تابع جدول (١٦-١٠).

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
AtZIP1	Zinc transporter	الشعير	زيادة محتوى الحبوب من الزنك
AtPDR8	Plasma membrane efflux pump	Arabidopsis	تحمل الكادميم والرصاص
BOR1	Boron transporter	Arabidopsis	تحمل نقص البورون
AhHMA4	Low Cd & Zn in cytoplasm	Arabidopsis	تحمل الكادميم والزنك
AtMGT1	Mg^{2+} transporter protein	*Nicotiana benthamiana*	تحمل نقص المغنيسيوم
AtPDR12	ABC transporter	Arabidopsis	تحمل الرصاص
AtMTP11	Encode proteins of the cation diffusion facilitator (CDF) family	Arabidopsis	تحمل نقص المنجنيز
cNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	الموالح	استجابة تحمل البرودة تستحثها الحرارة العالية
HKT1	Potassium transporter	القمح	تحمل الملوحة فى النمو مع تحسن فى نسبة K^+ إلى Na^+
HvPIP2;1	PIP2 plasma membrane aquaporin Over-expression	الأرز	زيادة الحساسية لشدّ الملوحة
NtPT1	Phosphate transporter	الأرز	الحصول على الفوسفور
NRT2.1	Nitrate transporter	Arabidopsis	الشكل البنائى للمجموع الجذرى وامتصاص النترات فى ظروف نقص النيتروجين
OsNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	الأرز	تحمل الملوحة
OsSOS1	Plasma membrane Na^+/H^+ exchanger	الأرز	تحمل الملوحة
SOD2	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	الأرز	تحمل الملوحة
SsNHX1	Vacuolar Na^+/H^+ antiporter	الأرز	تحمل الملوحة

جدول (١٦-١١): جينات أخرى تتحكم فى صفات متباينة واستخدمت ف عمليات تحول وراثى لتحسين تحمل بعض النباتات لبعض الظروف البيئية القاسية.

رمز الجين	الإنزيم أو المركبات التى يتحكم الجين فى تمثيلها	النبات المحول وراثيًا	فعل الجين فى النبات المحول وراثيًا
Als1	Aluminum sensitivity	الأرز	ضعف النمو فى وجود شدّ الألومنيوم
Calcineurin (mouse)	Ca^{2+}- and calmodulin-dependent serine/threonine phosphatase	الأرز	تحمل الملوحة من خلال التحكم فى تراكم أيون الصوديوم
GDH	Bacterial Glutamate dehydrogenase expression	الذرة	تحمل الجفاف
Rf1	Fertility restorer	الأرز	تحسين الخصوبة فى الحرارة المنخفضة

ومع التقدمات فى دراسات الهندسة الوراثية يحاول العلماء الاستفادة مما يعرف باسم الـ transcriptome engineering، وهو التعبير الفائق لجين مفتاحى أساسى (مثل مجسّات الشدّ stress sensors، والـ protein kinases، والـ transcription factors) التى تنظم عدة جينات مستهدفة تُشفر لتمثل الإنزيمات الخاصة بتكوين المواد العضوية الذائبة المتوافقة، وإنزيمات مضادات الأكسدة، وبروتينات الشدّ، مثل الـ late embryogenesis abundant proteins. يبرز هذا الجانب من الهندسة الوراثية كأداة هامة للتغلب على حالات الشدّ البيئى. فمثلاً .. تُنظم البروتينات التى تتكون عند التعرض للشدّ، مثل الـ C-repeat binding proteins (اختصارًا: CBFs)، والـ dehydration responsive element binding proteins (اختصارًا: DREBs) تعبير عديد من الجينات للـ LEA-type proteins، وتمثيل المواد العضوية الذائبة المتوافقة، وإدارة الشدّ التأكسدى (Dalal وآخرون ٢٠٠٦).

الجليسين بيتين وأهميته فى عمليات التحول الوراثى لتحمل الظروف البيئية القاسية

إن البيتينات betaines — التى منها الجليسين بيتين — عبارة عن مركبات رباعية الأمونيوم quaternary ammonium compounds فيها ذرة النيتروجين مشبعة المثيل (fully

methylated). وأكثر أنواع البيتينات شيوعًا فى النباتات – وأكثرها دراسة – هو الجليسين بيتين glycine betaine (اختصارًا: GB)، وكذلك البرولين بيتين proline betaine، والـ β-alanine betaine، والـ choline-O-sulfate، والـ 3- dimethylsulfoniopropionate.

يتوزع الجليسين بيتين على نطاق واسع فى النباتات الراقية، ويتم تمثيله فى كثير من الأنواع النباتية بمعدلات عالية استجابة لعدة أنواع من الشدِّ البيئى. وبينما يتراكم الجليسين بيتين تحت تلك الظروف فى عديد من الأنواع البعيدة عن بعضها البعض تقسيميًّا مثل السبانخ والشعير، فإن أنواعًا غيرها مثل الـ *Arabidopsis*، والأرز، والتبغ لا يحدث فيها هذا التراكم.

يرتبط مدى تراكم الجليسين بيتين إيجابيًّا مع شدة الشدِّ البيئى الذى يتعرض له النوع النباتى. كذلك فإن المعاملة بالجليسين بيتين تحسن نمو أنواع متباينة من النباتات وقدرتها على البقاء تحت ظروف متباينة من الشدِّ البيئى. وأوضحت الدراسات أن تراكم هذا المركب يفيد فى المحافظة على بناء الإنزيمات والبروتينات المعقدة، وفى ثبات الأغشية البلازمية فى ظروف كل من الشدِّ الملحى والشدِّ الحرارى. كما يتبين أن التحويل الوراثى للأنواع التى لا يتراكم فيها الجليسين بيتين بمسار بنائى يعمل على تكوينه وتراكمه يفيد فى جعل تلك الأنواع أكثر تحملاً للظروف البيئية القاسية (Chen & Murata ٢٠٠٢، و Sakamoto & Murata ٢٠٠٢).

الجينات المسئولة عن مسارات تمثيل الجليسين بيتين فى مختلف الكائنات الحية

لقد تم تعريف وعزل الجينات التى تشفر لتكون الإنزيمات الداخلة فى مسارات تمثيل الجليسين بيتين فى مختلف الكائنات، والتى تتضمن ما يلى (شكل ١٦-١):

١- الجينان الخاصان بالـ choline monooxygenase (اختصارًا: CMO)، والـ betaine aldehyde dehydrogenase (اختصارًا: BADH) من مختلف النباتات.

٢- الجينان الخاصان بالـ choline dehydrogenase (اختصارًا: CDH)، والـ BADH من *Escherichi coli*.

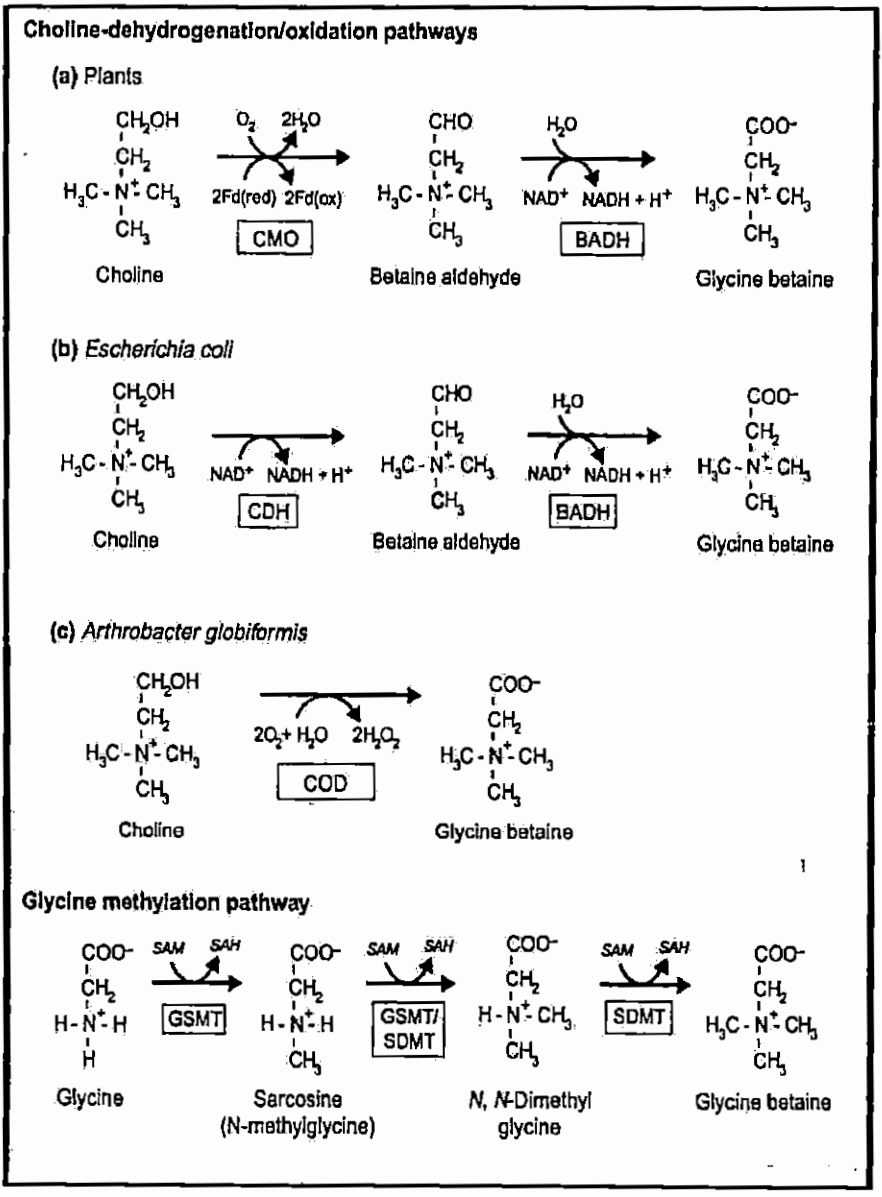
٣- الجينان الخاصان بالـ choline oxidase (اختصارًا: COD): codA من *Arthrobacter globiformis*، و cox من *Arthrobacter pascens*.

٤- الجينان الخاصان بكل من الـ glycine sarcosine methyltransferase (اختصارًا: GSMT)، و sarcosine dimethylglycine methyltransferase (اختصارًا: SDMT) من *Actinopolyspora halophilia*، و *Ectothiorhodospira halochloris* (شكل ١٦-١). وقد أنتجت نباتات محولة وراثيًا من مختلف الأنواع النباتية يُعبر فيها عن تلك الجينات، ويتراكم فيها الجليسين بيتين بدرجات متفاوتة، كما تُظهر تحسنًا فى تحمل أنواع مختلفة من الشدِّ البيئى (جدول ١٦-١٢) (عن Chen & Murata ٢٠٠٢).

استخدام الجليسين بيتين فى عمليات التحول الوراثى

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.

ولقد جرت محاولات للتحكم فى إنتاج الجليسين بيتين بإجراء التحولات الوراثية المناسبة بأى من جينات النباتات، أو *E. coli*، أو *A. globiformis* (جدولا ١٦-١٢، و ١٦-١٣). 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.



شكل (١٦-١): مسارات تمثيل الجليسين بيتين glycine betaine في مختلف الأنواع النباتية. يُراجع المتن للتفاصيل.

جدول (١٦-١٢): تراكم الجليسين بيتين **betaine glycine** فى النباتات المحولة وراثيًا وتحملها لحالات الشدّ البيئى.

جين التحول الوراثى	النباتات المحولة وراثيًا	تراكم الجليسين بيتين	حالة تحمل الشدّ البيئى
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	الملوحة
betA/betB	Tobacco	0.035 μmol g^{-1} FW	البرودة الملوحة
betA	Rice	5.0 μmol g^{-1} FW	الجفاف الملوحة
A. globiformis codA (choline oxidase)	*Arabidopsis chloroplast*	1.2 μmol g^{-1} FW	الملوحة البرودة التجمد الحرارة الضوء القوى
codA	Rice	5.3 μmol g^{-1} FW	الملوحة البرودة
A. pascens cox (choline oxidase)	*Arabidopsis*	19 μmol g^{-1} DW	التجمد الملوحة
cox	*Brassica napus*	13 μmol g^{-1} DW	الجفاف الملوحة
cox	Tobacco	13 μmol g^{-1} DW	الملوحة

FW : وزن طازج، و DW: وزن جاف.

جدول (١٦-١٣): النباتات التى حوّلت وراثيًا لتمثيل الجليسين بيتين، وما أظهرته من تحسن فى تحمل مختلف حالات الشدّ البيئى.

النوع	الجين	أقصى تراكم	صفة التحمل المحسنة
Arabidopsis thaliana	codA	1.2 umol g^{-1} fw	البرودة
	codA	1.2 umol g^{-1} fw	البرودة والملوحة
	codA	1.2 umol g^{-1} fw	الحرارة
	codA	1.2 umol g^{-1} fw	الإضاءة القوية
	codA	1.2 umol g^{-1} fw	الملوحة
	codA	1.2 umol g^{-1} fw	التجمد
	cox	19 umol g^{-1} fw	التجمد والملوحة
Brassica napus	cox	13 umol g^{-1} fw	الجفاف والملوحة
Brassica juncea	codA	0.82 umol g^{-1} fw	الملوحة
Diospyros kaki	codA	0.3 umol g^{-1} fw	الملوحة
Nicotiana tabacum	cox	13 umol g^{-1} fw	الملوحة
	betA	?	الملوحة
	betA/betB	0.035 umol g^{-1} fw	البرودة والملوحة
Oryza sativa	codA	5.3 umol g^{-1} fw	البرودة والملوحة
	betA (modified)	5.0 umol g^{-1} fw	الجفاف والملوحة

وفى عدد من الحالات التى حدث فيها تراكم للجليسين بيتين أظهرت النباتات التى حُوِّلت وراثيًا قدرة على تحمل شدّ النقص المائى، بما فى ذلك تحمل الملوحة، والبرودة، والتجمد، والجفاف؛ 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).

فعلى الرغم من زيادة إنتاج الجليسين بيتين فى النباتات المحولة وراثيًّا لهذا الغرض، فإن ذلك التراكم لم يصل فى النباتات المحولة وراثيًّا إلى مستويات عالية، حيث تراوح بين ٠,٠٣٥ إلى ٥,٣ ميكرومول من الجليسين بيتين لكل جرام وزن طازج من نسيج النبات المحول وراثيًّا، بينما يتراوح التركيز فى النباتات التى يتراكم فيها الجليسين بيتين طبيعيًّا تحت ظروف الشدّ بين ٤، و ٤٠ ميكرومول/جم وزن طازج. ويعتقد بوجود عاملين رئيسين يحدان من تراكم الجليسين بيتين فى النباتات المحولة وراثيًّا، هما: مدى تيسر الكولين choline الطبيعى، وسهولة انتقاله عبر غلاف البلاستيدات الخضراء (Singh ١٩٩٣).

التحول الوراثى بجينات 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 (١٦-١٤) قائمة بمحاولات استعمال الجينات المتحكمة فى إنتاج تلك المركبات فى عمليات التحول الوراثى وتأثيرها على تحمل مختلف عوامل الشدّ البيئى (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

جدول (١٦-١٤): 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	شد 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
Glutaminc	GS2 (chloroplastic glutamine synthetase)	الأرز		الملوحة والبرودة
Osmotin	*Osm1-Osm4* (protein accumulation)	التبغ		الجفاف والملوحة

البرولين

نظـرًا لأن الإنـزيم Δ^1-pyrroline-5-carboxylase synthase — الـذى يـتحكم فـى تمثيله الجين P5CS — من *E. coli*، والذى يؤدى إلى تكون البرولين proline .. نظـرًا لأن هـذا الإنـزيم يتعـرض للتثبـيط عنـد إنتـاج الـبرولين (feedback inhibition by proline)، فقد أمكن بتقنية استحداث الطفرات الموجهة لموقـع معـين (site-directed mutagensis) إبدال Phe residue عند الموقـع 129 مـن PSCS — مـن *V. aconitfolia* — بـ Ala residue. أدى ذلـك إلى عـدم تعـرض الـصورة المطفـرة PSCSF129A للـ feedback inhibition. وقد تراكم البرولين فى نباتات التبغ التى حولـت وراثيًـا بهـذا الجين بمقدار ضعف تراكمه فى النباتات التى حولت وراثيًا بالـ P5CS، وسـاعد ذلـك على نمو بادرات النباتات التى حولت وراثيًا فى بيئة احتوت علـى NaCl حتـى ٢٠٠ ملل مول. كذلك ساعد تراكم البرولين فى خفض الشدّ التأكسدى الـذى يُحدثـه الـشدّ الأسموزى (عن Singh ١٩٩٣).

الفروكتان

عندما حول التبغ وراثيًا بالجين sacB مـن *Bacillus subtilis* الـذى يـشفر لتمثيـل الإنزيم levansucrase، أدى الإنزيم إلى إنتاج الفروكتـان fructan مـن الفراكتـوز. وقـد كان أداء النباتات المحولـة وراثيًـا أفـضل جوهريًـا عـن أداء نباتـات الكـنترول تحـت ظروف شدّ الجفاف، حيث كان نموها أسرع بنسبة ٥٥٪، ووزنها الطازج أعلى بنسبة ٣٣٪، ووزنها الجاف أعلى بنسبة ٥٩٪ عـن النباتـات غـير المحولـة وراثيًـا. وتحـت ظروف شدّ الجفاف وصل تراكم الفروكتان فى النباتات المحولة وراثيًا إلى ٣٥ مجم/جم وزن طازج؛ أى أعلى بمقدار ٧ أمثال مستوى التراكم فـى نفـس النباتـات فـى ظـروف عدم الشدّ.

وعندما حولت نباتات بنجر السكر وراثيًا بـنفس الإنـزيم، تـراكم فيهـا الفروكتـان إلى نحو ٠,٥٪ من وزنها الجـاف بكـل مـن الجـذور والنمـوات الخـضرية، كمـا نمـت تلـك

النباتات بصورة أفضل جوهريًا تحت ظروف الجفاف عن نظيراتها غير المحولة وراثيًا (Singh ١٩٩٣).

المانيتول

لا تحتوى نباتات التبغ والـ *Arabidopsis* — عادة — على مانيتول mannitol، وبتحويلهما وراثيًا بالجين mt1D — من *E. coli* — الذى يشفر لتمثيل الإنزيم mannitol-1-phosphate dehydrogenase قاما بإنتاج المانيتول بتركيزات وصلت إلى ٦ ميكروجرام/جم وزن طازج بأوراق بعض نباتات التبغ، ووصلت إلى قريب من ٣ ميكروجرام/جم وزن طازج بأوراق نباتات الـ *Arabidopsis*. وقد أظهرت نباتات التبغ المحولة وراثيًا لإنتاج المانيتول زيادة فى تحملها للملوحة، إلا أنها كانت تقل فى أحجامها عن أحجام النباتات التى لم تحول وراثيًا بنحو ٢٠٪–٢٥٪ تحت نفس الظروف. وفى المقابل فإن شدّ الملوحة (١٥٠ ملى مول كلوريد صوديوم) قلل الوزن الجاف للنباتات غير المحولة وراثيًا بنسبة ٤٤٪، بينما لم يكن له تأثير على النباتات التى حولت وراثيًا (Singh ١٩٩٣).

كما أمكن تحويل الباذنجان وراثيًا بالجين البكتيرى mtlD (الذى يُعرف باسم mannitol-1-phosphodehydrogenase gene). كانت النباتات المحولة وراثيًا أكثر قدرة على تحمل الملوحة العالية، والجفاف، والبرودة عن نظيراتها التى لم تحول وراثيًا دون حدوث أى تغير مورفولوجى بها باستثناء زيادة المحتوى الكلوروفيلى للأوراق فى بعض السلالات المحولة (Prabhavathi وآخرون ٢٠٠٢).

الـ D-Ononitol

أدى تحويل التبغ وراثيًا بالجين imt1 من نبات الثلج *Mesembryanthemum crystallinum*، الذى يشفر لتمثيل الإنزيم D-myo-inositol methyltransferase إلى تراكم الكحول السكرى D-ononitol بها إلى تركيزات زادت عن ٣٥ ميكرومول/جم وزن طازج فى السيتوبلازم تحت ظروف الشدّ الملحى أو شدّ الجفاف، كما كان تثبيط

تثبيت ثانى أكسيد الكربون فيها أثناء البناء الضوئى تحت ظروف الشدّ الملحى أو شدّ الجفاف أقل مما حدث فى النباتات التى لم تحول وراثيًّا (Singh ١٩٩٣).

السوربيتول

استخدم الجين S6PDH — من التفاح — الذى يشفر لتمثيل الإنزيم sorbitol-6-phosphate dehydrogenase فى التحويل الوراثى للبرسيمون؛ مما أدى إلى زيادة إنتاجه من السوربيتول sorbitol إلى ١٤,٥–٦١,٥ ميكرومول/جم وزن طازج، وكان تثبيط البناء الضوئى فى النباتات التى حولت وراثيًّا — تحت ظروف الشدّ الملحى — أقل مما فى النباتات التى لم تحول وراثيًّا تحت نفس الظروف (Singh ١٩٩٣).

التريهالوز

يؤدى تعرض النباتات لظروف بيئية قاسية مثل الجفاف والملوحة العالية إلى تراكم مركبات عضوية متنوعة ذات وزن جزيئى منخفض تعرف باسم المواد الذائبة المتوافقة compatible solutes، أو الـ osmolytes. ومن أمثلة تلك المركبات التريهالوز trehalose — وهو ما يعرف بثنائى السكر المبهم للجلوكوز (α-D-glucopyranosyl α-D-gucopyranoside)، والذى يتراكم فى عديد من الكائنات، والتى منها: البكتيريا والخمائر والحيوانات اللافقارية تحت ظروف شدّ متنوعة. ويعمل التريهالوز — وهو سكر غير مختزل — كمادة ذائبة متوافقة تحمى الأغشية البلازمية والبروتينات، وتوفر حماية ضد الفقد الرطوبى. ويستدل من بعض الدراسات أن التريهالوز يثبت البروتينات مباشرة على حالتها الأصلية ويقلل تجمع البروتين المدنتر.

وفى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* يرتبط تراكم التريهالوز بتحمل الحرارة، وبالمقاومة لشدّ البرودة والجفاف، وبحماية الخلايا من المركبات النشطة فى الأكسدة.

أمكن تحويل الطماطم وراثيًّا بجين الخميرة trehalose-6-phosphate synthase (الذى يأخذ الرمز TPS1)، وأظهرت النباتات المحولة وراثيًّا زيادة فى سمك السيقان، وزيادة فى

سمك ودكنة اللون الأخضر للأوراق، وانتصاب للفروع، وزيادة فى محتوى الأوراق من الكلوروفيل والنشا عما فى النباتات غير المحولة وراثيًا. وقد أظهرت النباتات المحولة وراثيًا زيادة فى قدرة تحملها لكل من الجفاف والملوحة العالية والشدّ التأكسدى عما فى نظيراتها غير المحولة وراثيًا؛ بما يعنى أن التحورات الكربوهيدراتية التى نتجت جراء تمثيل التريهالوز ربما كان لها دور فى تحمل حالات الشدّ تلك (Cortina & Culianez-Macia ٢٠٠٥).

وأدى التحويل الوراثى لنباتات التبغ والبطاطس بالجين TPS1 — المتحصل عليه من الخميرة — والمسئول عن التشفير للإنزيم trehalose-6-phosphate synthase إلى زيادة إنتاجها من التريهالوز trehalose، مع تحسين تحملها لظروف الجفاف، إلاّ أن زيادة تراكم التريهالوز فيها كان مصاحبًا بتقزم فى النمو وانخفاض فى مستوى السكروز (Singh ١٩٩٣).

التحول الوراثى بجينات تتحكم 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 المرضة إلى العوامل المحدثة لشدّ النقص المائى. وينشأ الشدُّ التأكسدى نتيجة لإنتاج free radicals، وما يعقب ذلك من حدوث لسلسلة من التفاعلات الضارة.

تحتوى النباتات على عدد من الإنزيمات التى يمكنها تحويل المركبات ذات القابلية الشديدة للتأكسد إلى مركبات أخرى أقل قابلية. ومن أهم الإنزيمات فى هذا الشأن كلاًّ من: الـ superoxide dismutase، والـ catalase، والـ peroxidases. كما يوجد – أيضًا – 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.

ولقد وجد أنه يمكن الحد من أضرار الشدِّ 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، هى ascorbate peroxidase، و glutathione peroxidase، و glutathione reductase، حيث نقلت إلى الـ *Arabidopsis* والتبغ (جدول ١٦-١٥)؛ مما أدى إلى زيادة قدرتها على تحمل مختلف حالات الشدِّ غير البيولوجى، مثل: الحرارة العالية، والبرودة، والملوحة، كما وفر الـ glutathione reductase – كذلك – مقاومة للشدِّ التأكسدى الناتج من المعاملة بالباراكوات paraquat (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

ووجد أن التحول الوراثى للكرنب الصينى بجينى الذرة Cu/ZnDOS (مضاد للأكسدة)، و CAT (تحمل الملوحة) — معًا فى آن واحد — يكسبان الكرنب الصينى قدرة على تحمل ثانى أكسيد الكربون حتى تركيز ٤٠٠ جزء فى البليون (حيث كان الضرر الحادث جراء التعرض لهذا التركيز ١٠٪ الضرر الذى حدث فى النباتات التى لم تحول وراثيًّا)، وتحمل تركيز ٢٠٠ ملى مول من كلوريد الصوديوم لمدة ٤ أسابيع (حيث لم تنخفض القدرة على البناء الضوئى سوى بنسبة ٦٪ مقابل انخفاض قدره ٧٢٪ فى النباتات التى لم تحول وراثيًّا (Tseng وآخرون ٢٠٠٧أ).

كما أظهرت نباتات البرسيم الحجازى التى حوِّلت وراثيًّا بالـ superoxide dismutase (اختصارًا: SOD) (الذى له القدرة على تخليص الجذور من المركبات الكيميائية التى تحتوى على أكسجين حر من سميتها بتحويلها إلى فوق أكسيد الأيدروجين وأكسجين جزيئى) .. أظهرت تحسنًا فى تحمل الجفاف، مع قوة نمو فى ظروف شدِّ التجمد، وزيادة فى القدرة على البقاء تحت ظروف الحقل (عن Liu وآخرين ٢٠١١).

جدول (١٦-١٥): الجينات التى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لتحمل الشدّ التأكسدى (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

الجين	النبات المحول وراثيًا	حالة التحمل للشدّ البيئى
Mitochondrial Mn-SOD Tobacco	Alfalfa chloroplast	2X increase in SOD. Increased field drought tolerance. Increased freezing tolerance
Mitochondrial Mn-SOD Tobacco	Alfalfa chloroplast	2-4X increase in SOD. Increased ozone tolerance
Mitochondrial Mn-SOD Tobacco	Tobacco mitochondria	8X increase in SOD. No effect on ozone tolerance
Mn SOD	Canola	Increased aluminium tolerance
Chloroplast Cu/Zn-SOD Pea	Tobacco chloroplast	3-15X increase in SOD. Increased tolerance to high light and chilling
Cytosolic Cu/Zn-SOD	Tobacco cytosol	1.5-6X increase in SOD. Reduced damage from acute ozone exposure
Fe-SOD *Arabidopsis*	Tobacco	Protected plants from ozone damage
Apx3 (ascorbate peroxidase)	Tobacco	Increased protection against oxidative stress
Apx1 (ascorbate peroxidase)	*Arabidopsis*	Heat tolerance
GST/GPX (glutathione S-transferase with glutathione peroxidase)	Tobacco	Increased stress tolerance
Nt107 (glutathione S-transferase)	Tobacco	Sustained growth under cold and salinity stress
ParB (glutathione S-transferase)	*Arabidopsis*	Protects against aluminium toxicity and oxidative stress
NtPox (glutathione peroxidase)	*Arabidopsis*	Protects against aluminium toxicity and oxidative stress
Glutathione reductase *E. coli*	Tobacco chloroplast	3-6X increase in foliar GR. Increased tolerance to SO_2 and paraquat
Glutathione reductase *E. coli*	Tobacco cytosol	1-35X increase in GR. Increased tolerance to paraquat
Glutathione synthetase *E. coli*	Poplar cytosol	100X increase in GS. GSH not increased. No effect on paraquat tolerance
MsFer Alfalfa ferritin	Tobacco	Increased tolerance to oxidative damage caused by excess iron

SOD, superoxide dismutase; GST, glutathione S-transferase; GPX, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GS, glutathione synthetase; GSH, glutathione.

التحويل الوراثى بالجينات التى تتحكم فى إنتاج بروتينات الـ LEA

يُعبر عن الجينات المسئولة عن تمثيل بروتينات خاصة خلال المراحل المتأخرة لتكوين الأجنة – والتى تعرف باسم late embryogenesis abundant (اختصارًا: LEA) .. يُعبَّر عنها بدرجة عالية خلال المراحل المتأخرة لتكوين البذور فى ظروف النمو الطبيعية، إلا أن عديدًا من جينات الـ LEA كثيرًا ما يُعبَّر عنها فى الأنسجة الخضرية لدى تعرض النباتات لشدٍّ بيئى.

تنشط الجينات المسئولة عن تكوين الـ LEA proteins فى ظروف الشدِّ الأسموزى. ولقد افترض أن الـ LEA proteins تلعب دورًا فى تحمل الفقد الرطوبى أثناء تكوين البذور، كاستجابة لهذا الفقد، وكذلك استجابة لزيادة شدِّ الملوحة وشدِّ البرودة، ربما من خلال إدامتها لتركيب البروتينات أو الأغشية، أو خلبها للأيونات، أو ارتباطها مع الماء أو عملها ككاسحات (منظفات) chaperons جزيئية.

ولقد عُرِفَ لفئتين من تلك البروتينات دورًا وظيفيًّا فى تحمل الشدِّ، وهما مجموعة بروتين 3LEA من الشعير، ومجموعة بروتين 4LEA من الطماطم، ولقد وجد أن الأرز المحول وراثيًّا بجين HVA1 الخاص ببروتين الشعير 3LEA كان أكثر تحملاً لكل من الملوحة والتجمد (Zhang وآخرون ٢٠٠٠).

يُعبر عن أحد هذه الجينات – وهو LE25 – فى أوراق الطماطم وجذورها استجابة للنقص الرطوبى وتراكم حامض الأبسيسك. ولقد درست وظيفة هذا الجين وتأثير التعبير عنه فى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* بعد تحويلها وراثيًّا، حيث أظهرت الخميرة عدة استجابات لنوعيات مختلفة من الشدِّ البيئى، منها: تحسن النمو فى بيئة تحتوى على ١,٢ مولار كلوريد صوديوم، مقارنة بمدى نمو نظيراتها غير المحولة وراثيًّا فى الظروف ذاتها، هذا .. إلاّ إنه لم يحدث لها تحسن فى النمو فى بيئة تحتوى على ٢ مولار سوربيتول sorbitol. كذلك أظهرت الخميرة المحولة وراثيًّا قدرة أكبر على البقاء بعد التعرض للتجمد، ولكن ليس بعد التعرض لظروف الحرارة العالية (Imai وآخرون ١٩٩٦).

ولقد أدى تحويل الكرنب الصينى وراثيًا بجين LEA من *Brassica napus* إلى زيادة قدرة النباتات على النمو تحت ظروف الجفاف والملوحة معبرًا عن ذلك بتأخر ظهور أعراض أضرار حالات الشدّ تلك، كما ظهرت — أيضًا — فى صورة تحسن سريع فى استعادة النمو بعد زوال حالة الشدّ (Park وآخرون ٢٠٠٥).

كما وجد أن Em — وهو بروتين LEA من القمح — يعمل كجزئ حامٍ من الضغط الأسموزى العالى فى *S. cerevisiae* المحولة وراثيًا. وأدى التعبير عن HVA1 — وهى مجموعة رقم ٣ من بروتين LEA من الشعير — أدى التعبير عنها فى الأرز إلى إكسابه صفتى القدرة على تحمل شدّ النقص المائى وشد الملوحة العالية، كما أدى التعبير عنها فى القمح إلى زيادة إنتاجه من الكتلة الحيوية، وزيادة كفاءة استخدامه للمياه تحت ظروف شدّ نقص الماء. وتعد مجموعة ٣ لجينات الـ LEA غاية فى الأهمية فى المحاصيل الحقلية بصورة عامة (عن Park وآخرين ٢٠٠٥).

أهمية دراسات الـ QTLs فى تحديد مواقع جينات تحمل الظروف البيئية القاسية

الدراسات على الطماطم كمثال

على الرغم من تحقيق بعض التقدم فى تحسين التحمل لبعض الظروف البيئية القاسية بطرق التربية التقليدية، فإن التقدم لم يكن مشجعًا نظرًا للطبيعة المعقدة لصفات التحمل تلك؛ الأمر الذى يُعطى أهمية كبيرة لدراسات الـ Quantitative Trait Loci (اختصارًا: QTL) التى تمكن الباحثين من تحديد مواقع الجينات التى تتحكم فى مختلف الصفات ذات العلاقة بصفة التحمل. ونتناول — فيما يلى — أهم الدراسات التى أجريت فى هذا الشأن على محصول الطماطم.

تحمل الملوحة

نظرًا لأن تحمل الملوحة فى الطماطم يتباين باختلاف مرحلة النمو، فقد بُذلت