وربما أمكن كذلك الاستفادة من الجين المسئول عن تمثيل البروتين أجلوتينين agglutinin، الذى يصنع فى جنين حبة القمح، والذى يعد من اللكتينات lectins المقيدة والرابطة للشيتين chitin-binding، ويعرف بتثبيطه لنمو يرقات الحشرات التى تتغذى على الأغذية المجهزة المزودة بهذا البروتين. فإذا أمكن نقل هذا الجين إلى الذرة - مثلاً - وعُبِّرَ عنه بقدر كافٍ فإنه قد يجعل النبات مقاومًا لعديد من الحشرات. لكن بالنظر إلى أن هذا البروتين يمنع بعض العمليات الحيوية فى خلايا الإنسان - كذلك - فإنه يتعين ألا يزيد حد التعبير عنه فى النباتات المحولة وراثيًا عن ذلك الذى يتحمله الإنسان (كالمستوى الموجود فى القمح)، أو أن يرافق الجين بآخر ينظم التعبير عنه فى الأجزاء النباتية التى لا يستعملها الإنسان فى غذائه (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

إن من أهم العوامل المسببة للقلق بشأن استخدام اللكتينات فى عمليات التحول الوراثى هى خصائصها المضارة للتغذية فى أغذية الإنسان والحيوان، وتأثيراتها على الحشرات النافعة غير المستهدفة بها. فعلى سبيل المثال .. أظهرت لكتينات الفاصوليا وفول الصويا تأثيرات سامة مضادة للتغذية على معظم الحيوانات. كذلك من مشاكل الاعتماد على اللكتينات الحاجة إلى تركيزات عالية منها لكى تُحدث تأثيرها السام على الحشرات (عن Czapla ١٩٩٧).

إنزيمات الشيتينيز

يدخل الشيتين chitin [وهو البوليمر غير المتفرع للـ 2-acetamide-2-deoxy-D-glucopyranoside (أو N-acetylglucosamine، واختصارًا: GlcNAc)] برابطة β-1,4 .. يدخل هذا الشيتين كمكون أساسى فى تركيب الأديم cuticle والغلاف القشرى shells للحشرات، وفى تركيب الجدر الخلوية للفطريات وبعض الطحالب، كما يتواجد فى كل من النيماتودا والرخويات mollusks، وأنواع عديدة من الكائنات.

ونظرًا للأهمية الكبرى للشيتين والإنزيمات الشيتونيلية chitinolytic enzymes فى نمو الحشرات وتطورها، فإن تلك الإنزيمات تحظى بقدر كبير من اهتمام الباحثين فيما

يتعلق باستعمالها ذاتها كمبيدات حشرية حيوية، أو بروتينات دفاعية فى النباتات، التى تحول وراثيًا لهذا الغرض، أو الاعتماد عليها فى كائنات حية دقيقة محولة وراثيًا بها، لتستخدم فى المكافحة الحيوية للحشرات.

وتُعَرَّف إنزيمات الشيتينيز chitinases بأنها إنزيمات ذات نشاط موجه لتحلل بوليمر الشيتين. هذا .. إلاّ أن بعض إنزيمات الشيتنيز تحلل بوليمرات أخرى قريبة، مثل متعددة السكريات التى توجد فى الجدر الخلوية والتى تحتوى على N-acetylglucosamines، و N-acetylmuramates التى يكون فيها الارتباط برابطة β،1-4. يحدث التحلل الإنزيمى عشوائيًا فى مواقع داخلية على امتداد طول جزئ الشيتين، ويكون المنتج النهائى لعملية التحلل كتل جزيئية قابلة للذوبان فى الماء من الـ GlcNAc، مثل chitotetraose، والـ chitotriose، والـ chitobiose، وجميعها مركبات عديدة التسكر تعد بمثابة مواد يعمل عليها إنزيم شيتونيلى آخر، هو β-N-acetylglucosaminidase الذى يقوم بفصل وحدات الـ GlcNAc عن النهاية غير المختزلة. ولقد وجد كلا النوعين من الإنزيمات فى عدد من الكائنات متضمنة كائنات تحتوى على الشيتين، مثل الحشرات. والقشريات crustaceans، والخمائر، والفطريات، وكذلك فى كائنات لا تحتوى على شيتين، مثل البكتيريا والنباتات الراقية والفقاريات.

تلعب إنزيمات الشيتينيز - فى الحشرات - دورًا فى كل من الانسلاخ والهضم؛ فالحشرات تقوم دوريًا بطرح أديمها القديم وتمثيل آخر جديد، وتتم تلك العملية بمساعدة إنزيمات الشيتنيز التى تتواجد فى سائل الانسلاخ الذى يتراكم فى المسافة التى تفصل بين الأديم القديم وطبقة البشرة. هذا .. ويعاد استخدام نواتج تحلل الأديم القديم فى تمثيل الجديد، حيث غالبًا ما تقوم الحشرة بتناول تلك النواتج ضمن غذائها، ويبدو أن إنزيمات الشيتينيز التى توجد فى معى اليرقة تلعب دورًا هاضمًا. بالإضافة إلى دورها فى تحليل الشيتين الذى يتواجد فى بطانة المعى.

أما فى الفطريات .. فإن إنزيمات الشيتينيز تساعد فى تحليل المادة العضوية، وربما

تفيد فى الحد من نمو الفطريات الأخرى. وفى الخمائر تفيد إنزيمات الشيتينيز فى فصل الخلايا عن بعضها البعض.

إن الدور الذى تلعبه إنزيمات الشيتينيز النباتية معروف جيدًا، ولقد أمكن عزل عديد من إنزيمات الشيتينيز النباتية والميكروبية، ونقل بعضها إلى النباتات، حيث أدت إلى زيادة مقاومتها للأمراض الفطرية. هذا .. إلاّ أن الدور الذى تلعبه مختلف الإنزيمات الشيتينية فى مقاومة الحشرات لم يمكن فهمه جيدًا بعد.

ولقد استعملت الإنزيمات الشيتينية البكتيرية فى تحفيز نشاط المبيدات الحشرية الميكروبية، بما فى ذلك *Bacillus thuringiensis*.

ويبدو أن إنزيمات الشيتينيز تلعب دورًا فى اختراق الفطريات الممرضة لأديم العائل.

وتُفْرَز إنزيمات الشيتينيز، والـ β-N-acetylglucosaminidases عندما تنمو الفطريات الممرضة للحشرات: *M. anisopliae*، و *B. bassiana*، و *Verticilium lecanii* على أديم الحشرات.

ولا نعرف أى استعمال للإنزيمات الشيتينية النباتية فى مكافحة الحشرات، علمًا بأن نباتات الحبوب النجيلية تحتوى على مستويات عالية من الإنزيمات الشيتينية (١٥-١٠٠ ميكروجرام/جم)، ومع ذلك فإن الحبوب المخزنة تكون قابلة للإصابة بالحشرات.

ولقد أمكن عزل الجين المسئول عن تكوين جين الشيتينيز من الحشرة *M. sexta*، ونقل بطرق الهندسة الوراثية إلى كل من التبغ والطماطم، وعندما ربيت يرقات *Heliothis virescens* على أوراقها لمدة ثلاثة أسابيع كان نموها يقل بمقدار ٨٠٪ عن نمو اليرقات التى ربيت على أوراق نباتات عادية غير معدلة وراثيًا (عن Kramer وآخرين ١٩٩٧).

هذا .. ويعطى جدول (١٣-٥) قائمة بعديد من الجينات ذات الأصل النباتى التى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات.

جدول (١٣-٥): الجينات ذات الأصل النباتى التى استخدمت فى مقاومة الحشرات (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

الجين النباتى	البروتين الذى يشفر له الجين	مصدر الجين	الحشرات الى يؤثر فيها	النباتات التى حولت وراثيًا
Protease inhibitors	*Inhibited protease*			
C-II	Serine protease	فول الصويا	Coleoptera, Lepidoptera	لفت الزيت والحور والبطاطس والتبغ
CMe	Trypsin	الشعير	Lepidoptera	التبغ
CMTI	Trypsin	الكوسة	Lepidoptera	التبغ
CpTI	Trypsin	اللوبيا	Coleoptera, Lepidoptera	التفاح والخس ولفت الزيت، والبطاطس والأرز والفراولة ودوار الشمس والبطاطا والتبغ والطماطم والقمح
14K-CI	Bifunctional serine Protease and α-amylase	الحبوب		التبغ
MTI-2	Serine protease	المسترد	Lepidoptera	الـ Arabidopsis والتبغ
OC-1	Cysteine protease	الأرز	Coleoptera, Homoptera	لفت الزيت والحور والتبغ
PI-IV	Serine protease	فول الصويا	Lepidoptera	البطاطس والتبغ
Pot PI-I	Proteinase	البطاطس	Lepidoptera, Orthoptera	البيتونيا والتبغ
Pot PI-II	Proteinase	البطاطس	Lepidoptera, Orthoptera	البتولا والخس والأرز والتبغ
KTi3, SKTI	Kunitz trypsin	فول الصويا	Lepidoptera	البطاطس والتبغ والأرز
PI-I	Proteinase	الطماطم	Lepidoptera	البرسيم الحجازى والتبغ والطماطم
PI-II	Proteinase	الطماطم	Lepidoptera	التبغ والطماطم

تابع جدول (١٣-٥):

الجين النباتى	البروتين الذى يشفر له الجين	مصدر الجين	الحشرات الى يؤثر فيها	النباتات التى حولت وراثيًا
α-Amylase inhibitors				
a-AI-Pv	α-amylase	الفاصوليا	Coleoptera	فاصوليا أدزوكى والبسلة والتبغ
WMAI-I	α-amylase	الحبوب	Lepidoptera	التبغ
14-K-CI	Bifunctional Serine protease and α-amylase	الحبوب		التبغ
Lectins				
GNA	Lectin	زهرة اللبن الثلجية	Homoptera, Lepidoptera	العنب ولفت الزيت والبطاطس و الأرز والبطاطا وقصب السكر ودوار الشمس والتبغ
p-lec	Lectin	البسلة	Homoptera, Lepidoptera	البطاطس والتبغ
WGA	Agglutinin	جنين القمح	Lepidoptera, Coleoptera	الذرة
Jacalin	Lectin	Jack fruit	Lepidoptera, Coleoptera	الذرة
Rice lectin	Lectin	الأرز	Lepidoptera, Coleoptera	الذرة
Others				
BCH	Chitinase	الفاصوليا	Homoptera, Lepidoptera	البطاطس
Peroxidase	Anionic peroxidase	التبغ	Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera	الصمغ والتبغ والطماطم
Chitinase	Chitinase			لفت الزيت
TDC	Tryptophan decarboxylase	*Catharanthus roseus*	Homoptera	التبغ