

## تطبيقات الهندسة الوراثية في مجال تحسين الخضر

### تحسين صفات الجودة ومقاومة الأمراض والآفات

لعبت الهندسة الوراثية دوراً كبيراً في مجال تحسين محاصيل الخضر، ومن ذلك - على سبيل المثال لا الحصر - ما يلي:

١- تأخير النضج، وذلك بوقف إنتاج الثمار للإيثيلين أو تثبيط إنتاجه، كما في الطماطم.

٢- تأخير طراوة الثمار، وذلك بتثبيط عمل الإنزيمات المحللة للجدر الخلوية، مثل البولي جالاكتيرونيك polygalacturonase، كما في الطماطم كذلك.

٣- تقليل التلون البني في الثمار (browning)، وذلك بتثبيط نشاط إنزيم البولي فينول أوكسيديز polyphenol oxidase، الذي ينشط عند تجريح الأنسجة، وكذلك الإنزيم phenyl alanine ammonia-lyase.

٤- زيادة محتوى الثمار من المواد الصلبة، وذلك بتثبيط نشاط إنزيم البولي جالاكتيرونيك أثناء نضج الثمار.

٥- زيادة حلاوة الثمار، وذلك بزيادة محتوى الثمار من الفركتوز.

٦- تحسين جودة المنتج أثناء التخزين وعند طهيها، وذلك بتثبيط الإنزيمات التي تحول النشا إلى سكريات.

٧- المقاومة للحشرات، وذلك بإنتاج نباتات قادرة على إنتاج سم الـ Bt بواسطة الجين cryIIIa المتحصل عليه من البكتريا *Bacillus thuringensis*.

٨- مقاومة الأمراض، مثل:

البياض الزغبى والجذر الفليني بالاعتماد على الواسمات الوراثية في الانتخاب للمقاومة.

عفن جذور فيثوفثورا والندوة المتأخرة بتحويل النباتات وراثياً للقدرة على إنتاج الإنزيمات المحللة lytic enzymes للفطريات.

٩- المقاومة للفيروسات بالتحويل الوراثي بالشفرة المضادة (antisense inhibition) وبتقنيات أخرى، كما في حالات مقاومة الطماطم لفيروسى موزايك الطماطم وذبول الطماطم المتبقع، ومقاومة البطاطس لفيروسى واى البطاطس والتفاف أوراق البطاطس، ومقاومة القرعيات لفيروسات موزايك الزوكينى الأصفر وموزايك البطيخ وموزايك الخيار (VRIC ٢٠٠٧).

ومن بين الإنزيمات التى يمكن أن تؤثر فى جودة الخضار، والتى تم عزل الجينات المسؤولة عن إنتاجها ما يلى:

١- إنزيمات تؤثر فى نضج الثمار.. وتتضمن ثلاث مجموعات، هى:

أ- إنزيمات تؤثر فى تمثيل الإثيلين وفعله، ومنها

ACC synthase

ACC oxidase

Ethylene perception (E-8)

ACC diaminase

ب- إنزيمات تؤثر فى طراوة الثمار وفقدانها لصلابتها، ومنها:

Polygalacturonase

Cellulase

ج- إنزيمات تؤثر فى اللون وتمثيل الصبغات، ومنها:

Phytoene synthase

٢- إنزيمات تؤثر في جودة الثمار، ومنها:

Sucrose phosphate synthase

Invertase

Sucrose synthase

Pectin methylesterase

Polyphenol oxidase

(Roming ١٩٩٥).

## تحسين القيمة الغذائية للخضر

### تحسين محتوى الخضر من الفيتامينات والكاروتينات

أمكن وقف التفاعل الأول في تفرع الك  $\beta$ -epsilon من تمثيل الكاروتينويدات lycopene epsilon cyclase - carotenoid biosynthesis - الذى يتحكم فيه الإنزيم (الجين LCY-e) - فى البطاطس، وهى المحصول الدرني الفقير فى الكاروتين بطبيعته. وبالشفرة المضادة لهذا الجين فى الدرنات أمكن زيادة محتواها من الكاروتينات، بدرجة وصلت إلى ١٤ ضعف من البيتاكاروتين. كذلك أمكن فى البطاطا التعرف على مواقع QTLs لكل من المادة الجافة، ومحتوى النشا، ومحتوى البيتاكاروتين بالجذور؛ مما يتيح تحسين المحصول فى تلك الصفات.

ونظرًا لما تتميز به الخضر الثمرية - كالطماطم والفلفل - من زيادة التيسر البيولوجى لمحتواها الكاروتينى عما فى الخضر الجذرية والدرنية، فإن تحسينها فى محتواها من الكاروتينات يكون له مردود أكبر. ولقد أمكن إنتاج سلالات محولة وراثيًا من الطماطم بجين يكتيرى (هو الجين crtI) يُشفر لتمثيل الإنزيم phytoene desaturase، الذى يحول الفيتوين إلى ليكوبين. وعلى الرغم من أن التعبير عن هذا

الجين في الطماطم Ailsa Craig لم يرفع مستويات الكاروتينات الكلية فيها، فإن محتواها من البيتاكاروتين ازداد بمقدار ثلاثة أضعاف، وبلغ ٤٥٪ من محتواها الكلى من الكاروتينات. ولم يؤثر هذا التغير في المحتوى الكاروتينى فى نمو وتطور السلالات المحولة وراثياً. كذلك تحققت زيادة فى محتوى ثمار الطماطم Ailsa Craig من كل من الكاروتينويدات: فيتون phytoene، وليكوبين، وبيتاكاروتين، وليوتين lutein عندما حولت وراثياً بجين الـ phytoene synthase (وهو: crtB) من البكتيريا *Erwinia uredovora*. ولقد بلغ المحتوى الكلى من الكاروتينويدات فى ثمار النباتات المحولة وراثياً ٢ - ٤ أضعاف المحتوى فى ثمار نباتات الكنترول.

وفى الصليبيات.. أمكن إنتاج نباتات محولة وراثياً فى محتواها فى عدد من الفيتامينات والأحماض الأمينية. ففى القنبيط.. أمكن إنتاج نباتات محولة وراثياً ذات محتوى عالٍ من البيتاكاروتين.

ويعرف أربعة طرز isoforms من التوكوفيرولات (التي تشكل فيتامين E)، هى ألفا وبيتا وجاما ودلتا، وهى التى تعمل كفيتامين E بنسبة ١٠٠٪، ٥٠٪، و ١٠٪، و ٣٪، على التوالى. ويؤدى تحويل الجاما توكوفيرول إلى ألفاتوكوفيرول فى الخضر إلى تحسين قيمتها الغذائية كفيتامين E، وهو الذى يحمى من أمراض القلب والسرطان ويبطئ الشيخوخة ويحسن المناعة ولقد أمكن إنتاج خس محول وراثياً من الصنف Chung-chima يُعبّر فيه عن الجين gamma-tocopherol methyl transferase من *Arabidopsis thaliana* لأجل تحسين محتوى النباتات من التوكوفيرول ولقد ساعدت الزيادة فى النشاط الإنزيمى فى تحويل الجاماتوكوفيرول إلى ألفاتوكوفيرول الأكثر نشاط كفيتامين E.

هذا. ويُمثّل حامض الفوليك من كل من البادئات: petridine، و-para aminobenzoate (اختصاراً: PABA)، وحامض الجلوتامك. ولقد أمكن إنتاج طماطم

محولة وراثياً يُعبّر في ثمارها عن الإنزيم GTP cyclohydrolase I، الذى يتحكم فى التفاعل الأول لتمثيل الـ petridine، وعن الإنزيم aminodeoxychorismate synthase، الذى يتحكم فى التفاعل الأول لتمثيل الـ PABA. واحتوت ثمار النباتات المحولة وراثياً - فى المتوسط - على حامض فوليك يزيد بمقدار ٢٥ ضعف عما فى ثمار نباتات الكنترول، وذلك عندما جُمع بين التحويلين الوراثيين معاً بالتهجين.

### تحسين محتوى الخضر من العناصر

#### (الكالسيوم والزنك)

أمكن إنتاج جزر محول وراثياً يزيد فيه التعبير عن ناقل الكالسيوم sCAX1؛ مما أسهم فى زيادة استفادة الجسم من الكالسيوم. كذلك أمكن تحويل الخس وراثياً بطفرة الـ metallothionein (وهى:  $\beta$ -cDNA) من الفران؛ مما أدى إلى زيادة محتوى النباتات من الزنك حتى ٤٠٠ ميكروجرام/جم وزن جاف.

#### (الفوسفور)

تحتوى بذور الخضر المأكولة - عادة - على كميات جيدة من الفوسفور، إلا أن معظمه يكون فى صورة حامض فيتك phytic acid (وهى صورة الـ inositol hexaphosphate)، وهى صورة الفوسفور المخزن التى لا يمكن هضمها إلا بواسطة المجترات، والتى ليس منها الإنسان. هذا بالإضافة إلى أن حامض الفيتيك يمكن أن يعمل كخالب لبعض المعادن الهامة، مثل الكالسيوم والمغنيسيوم والحديد والزنك؛ فلا يستفيد منها الإنسان. ولقد أمكن التعرف على طفرات فى عدة محاصيل (مثل الذرة والأرز والقمح والشعير وفول الصويا) تحتوى بذورها على تركيزات منخفضة من حامض الفيتيك، وعلى تركيزات عالية من الفوسفور. وتبع ذلك اكتشاف طفرات مماثلة فى العدس والفاصوليا. هذا.. إلا أن انخفاض محتوى البذور من حامض الفيتيك كان مصاحباً بانخفاض فى إنبات البذور، والقدرة على تحمل الشد، والمحصول. وأمکن مؤخرًا استحداث طفرات ينخفض محتوى بذورها من حامض الفيتيك، وتتماثل فى محصولها مع نظيراتها العادية.

## تحسين محتوى الخضر من الفلافونويدات

تُعد الفلافونويدات flavonoids من البول فينولات التي تفيد في منع الإصابة ببعض الأمراض المزمنة ولقد أمكن التعرف على جينات في مسار تمثيل الفلافونويدات (مثل الـ stilbene synthase، والـ chalcone synthase، والـ chalcone reductase، والـ chalcone isomerase، والـ flavone synthase) تُفيد في إنتاج فلافونويدات جديدة في الطماطم، وأدى وجودها إلى زيادة محتوى الثمار من الفلافونويدات بمقدار ثلاثة أضعاف. ويعنى ذلك إمكان استخدام تلك الجينات في أغراض الهندسة الوراثية.

كذلك أمكن تحويل الخس وراثياً ليحتوى على البول فينول resveratrol (الذى قد يقى من الإصابة بالسرطان وبأمراض القلب التاجية) بتركيزات عالية.

ومن المعروف أن الأنثوسيانينات تعد من مضادات الأكسدة القوية. ولقد أمكن بطرق الهندسة الوراثية إنتاج قنبيط وبطاطس يحتويان على صبغات أنثوسيانينية إنجازات أخرى للهندسة الوراثية في مجال تحسين القيمة الغذائية والطبية

## للخضر

من بين الإنجازات الأخرى للهندسة الوراثية في مجال تحسين القيمة الغذائية والطبية لمحاصيل الخضر، ما يلي:

المحصول	التحول الوراثي
الكرنبيات، وخاصة البروكولي	زيادة محتوى الجلوكوسينولات وجعل النباتات يقتصر إنتاجها - أساساً - على الأيزوثيوسيانينات
البصل	احتواء النباتات على الشفرة المضادة لجين الـ alliinase، وكذلك نباتات يُوقف فيها فعل جين الإنزيم المسئول عن إنتاج المركب المسئل للدموع

يتبع

التحول الوراثي	المحصول
إنتاج خس يحتوي على البروتين miraculin الذي يُكسبه طعمًا حلواً، ويمكن استخدامه في التحلية.	الخس
إنتاج طماطم قادرة على إنتاج البروتين thaumatin الذي يمكن استخدامه في التحلية.	الطماطم
إنتاج بطاطس تحتوي درناتها على الإنيولين.	البطاطس
إنتاج نباتات ذات محتوى منخفض من المواد السيانوجينية	الكاسافا
إنتاج نباتات ينخفض فيها محتوى التانينات	القول الرومي
إنتاج ثمار قادرة على إنتاج بعض اللقاحات vaccines التي يمكن تناولها عن طريق الأكل بدلاً من الحقن بها، مثل تلك الخاصة بداء الكلب، وفيروس التهاب الكبد E (أو HEV)، وفيروس EV71 (وهو: enterovirus)	الطماطم

(عن Dias & Ortiz ٢٠١٢).

## استخدام الهندسة الوراثية في التحكم في إجراء التلقيحات عند

### إنتاج الهجن

أمكن التحكم في إجراء التلقيحات لأجل إنتاج بذور الهجن التجارية بطرق الهندسة الوراثية، فيما يعرف بالـ *barnase-barstar system*. ويرجع الأساس في هذا النظام إلى بكتيريا التربة *Bacillus amyloliquefaciens* التي تُنتج بروتين دفاعي يعرف باسم بارنيز barnase يقوم بتحليل رنا RNA الأعداء المحتملة للبكتيريا. وتقوم البكتيريا بحماية نفسها من الـ barnase بإنتاج بروتين آخر يُعرف باسم بارستار barstar، وهو الذي يلتحم بالـ barnase؛ ليفقده فاعليته. وقد أمكن الاستفادة من هذا النظام بتحويل الأصناف أو السلالات التي يُرغب في استخدامها كأمهات في الهجن بالجين المسئول عن تمثيل البروتين barnase في الأنسجة المسئولة عن إنتاج حبوب

اللقاح؛ مما يُعيق إنتاجها لحبوب اللقاح؛ وتُصبح بذلك عقيمة الذكر. وفي المقابل .. يتم تحويل الأصناف أو السلالات التي يُرغب في استخدامها كآباء في الهجن بالجين المسئول عن إنتاج البروتين barstar. وعند استخدام حبوب لقاح النباتات الـ barstar في تلقيح النباتات الـ barnase عقيمة الذكر فإن الهجين الناتج يكون كامل الخصوبة لأنه يكون محتويًا على جيني الـ barnase والـ barstar معًا وقد أمكن الاستفادة من هذا النظام في إنتاج البذرة الهجين في أنواع محصولية مختلفة، منها الذرة والشيكوريا <<http://www.geo-pie.comell.edu/traits/polcont.html>>.