الفصل السادس عشر

الهندسة الوراثية لمقاومة الفطريات والبكتيريا

تتنوع كثيرًا مصادر الجينات التى تستعمل فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية فى النباتات، كما تتنوع - بالتالى - الآلية التى تعمل بها تلك الجينات.

الاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية فى عمليات التحول الوراثى

يعد الاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية التى تتوفر فى شتى الأنواع النباتية ضد مختلف المسببات المرضية الفطرية والبكتيرية طريقة مؤكدة - غالبًا - لتحقيق المقاومة لتلك المسببات المرضية فى الأنواع النباتية المستهدفة بعملية التحول الوراثى، ولكن يتعين - بطبيعة الحال - عزل تلك الجينات أولاً حتى يمكن نقلها من نوع نباتى لآخر بعيد عنه.

وتظهر فى جدول (١٦-١) قائمة بعدد من أهم جينات المقاومة الطبيعية التى استخدمت أو تستخدم فى عمليات التحول الوراثى.

ومن بين المركبات الكثيرة ذات الأصل النباتى، والتى تنتج من قبل النباتات كرد فعل للإصابة بمختلف المسببات المرضية من أجل مقاومتها، والتى يمكن الاستفادة منها فى التحويل الوراثى للنباتات لجعلها أكثر مقاومة للمسببات المرضية، ما يلى:

١ - النشاط العالى لإنزيم البيروكسيديز peroxidase.

٢ - إنزيمات البروتينيز proteinases.

٣ - إنزيمات الهيدروليز hydrolases.

٤ - مجموعة من البروتينات المضادة للفطريات - مثل البروتين زيّاماتين zeamatin -

وهى تعمل من خلال تأثيرها على نفاذية الأغشية الخلوية بالفطريات (عن Mount & Berman ١٩٩٤)

جدول (١٦-١): قائمة بعدد من أهم جينات المقاومة الطبيعية للمسببات المرضية التى أمكن عزلها لأجل استخدامها فى عمليات التحول الوراثى (عن Dickinson ٢٠٠٣).

المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	النبات الحامل للجين	الجين المنتج للبروتين	طبيعة البروتين المسئول عن المقاومة[1]	فئة البروتين المسئول عن المقاومة
Melampsora lini (fungus)	الكتان	L	TIR-NBS-LRR	١
Melampsora lini (fungus)	الكتان	M		
Melampsora lini (fungus)	الكتان	P		
Tobacco mosaic virus	التبغ	N		
Peronospora parasitica (oomycete)	*Arabidopsis*	RPP1		
Peronospora parasitica (oomycete)	*Arabidopsis*	RPP5		
Pseudomonas syringae (bacterium)	*Arabidopsis*	RPS4		
Pseudomonas syringae (bacterium)	الطماطم	*Prf*	CC-NBS-LRR	
Meloidogyne incognita (nematode)	الطماطم	*Mi*		
Globodera (nematode) & Potato virus X	البطاطس	*Gpa2/Rx1*		
Pseudomonas syringae (bacterium)	*Arabidopsis*	*RPS2*		
Pseudomonas syringae (bacterium)	*Arabidopsis*	*RPS5*		
Pseudomonas syringae (bacterium)	*Arabidopsis*	*RPM1*		
Peronospora & Turnip crinkle virus	*Arabidopsis*	*RPP8/HRT*		
Xanthomonas campestris (bacterium)	الفلفل	*Bs2*	NBS-LRR	
Bremia lactuca (oomycete)	الخس	*Dm3*		
Fusarium oxysporum (fungus)	الطماطم	*I2*		
Heterodera avenae (nematode)	القمح	*Cre3*		
Xanthomonas oryzae (bacterium)	الأرز	*Xa1*		
Magnaporthe grisea (fungus)	الأرز	*Pib*		
Magnaporthe grisea (fungus)	الأرز	*Pi-ta*		
Puccinia sorghi (fungus)	الذرة	*Rp1*		
Blumeria graminis (fungus)	الشعير	*Mla*		

تابع جدول (١٦-١).

قـــة				
البروتين				
المسئول	طبيعة البروتين	الجين		
عن	المسئول عن	المنتج	النبات الحامل	
المقاومة	المقاومة(أ)	للبروتين	للجين	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين
	TIR-NBS-LRR-NLS-WRKY	*RRS1-R*	*Arabidopsis*	*Ralstonia solanacearum* (bacterium)
٢	LRR-TM	*Cf-2, Cf-4* *Cf-5, Cf-9*	الطماطم	*Cladosporium fulvum* (fungus)
٣	Kinase	*Pto*	الطماطم	*Pseudomonas syringae* (bacterium)
		PBS1	*Arabidopsis*	*Pseudomonas syringae* (bacterium)
	Kinase-kinase	*Rpg1*	الشعير	*Puccinia graminis* (fungus)
٤	LRR-TM-Kinase	*Xa21*	الأرز	*Xanthomonas oryzae* (bacterium)
		FLS2	*Arabidopsis*	*Innate immunity* (flagellin)
٥	Unique	$HS1^{pro-1}$	بنجر السكر	*Heterodera schachtii* (nematode)
٦	Unique	*RPW8*	*Arabidopsis*	*Erysiphe* (fungus)
٧	Membrane protein	*Mlo*	الشعير	*Blumeria graminis* (fungus)
٨	Cell-surface glycoprotein	*Ve1*	الطماطم	*Verticillium albo-atrum* (fungus)
٩	Toxin reductase	*Hm1*	الذرة	*Cochliobolus carbonum* (fungus)

أ - اختصارات طبيعة البروتين المسئول عن المقاومة:

TIR = Toll interleukin receptor; LRR = leucine-rich repeat; NBS = nucleotide binding site; CC = coiled coil; NLS = nuclear localisation signal; WRKY = transcription factor; and TM = transmembrane.

الاعتماد على الجينات التى تتحكم فى إنتاج البروتينات المضادة للفطريات

تعتمد خاصية المقاومة فى حالة هندسة نباتات تحمل جينات تتحكم فى إنتاج بروتينات مضادة للفطريات على قدرة النباتات التى حولت وراثيًا على إنتاج إنزيمات معينة تكون مدمرة للفطريات التى يمكن أن تهاجم تلك النباتات.

ومن بين البروتينات ذات العلاقة بالحماية من الإصابات المرضية فى النباتات تلك التى تلعب دورا فى عملية اللجننة lignification، وفى تمثيل الفيتو ألاكسينات phytoalexins، وكذلك إنزيمات الشيتينيز chitinases، والـ β-1,3-glucanases، ومثبطات البروتينيز proteinase inhibitors، والبروتينات المثبطة لعمل الريبوسومات ribosome inactivating proteins (عن Nascari & Montanelli ١٩٩٧).

كذلك يفيد استخدام الجينات التى تشفر لتكوين البولى بيبتيدات الصغيرة الغنية فى السيستين، مثل الثيونينات thionins، والهيفينات heveins، وهى المركبات التى تؤدى إلى تدهور الأغشية الخلوية للفطريات، كما تقوم الأخيرة بربط الشيتين فى الجدر الخلوية للفطريات (عن Williamson ٢٠٠٢)

ومن أكثر الجينات أهمية فى عمليات هندسة النباتات لمقاومة الفطريات عن طريق البروتينات المضادة لها antifungal protein-mediated resistance الجينين المتحكمين فى إنتاج كل من الشيتينيز chitinase، والجلوكانيز glucanase، حيث يعمل هذان الإنزيمان على الجدر الخلوية للفطريات المهاجمة للنباتات؛ مما يجعلها أكثر حساسية لقوى الدفاع الطبيعية العادية للنباتات (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

وتجدر الإشارة إلى أن الاستعانة بالجينات التى تحلل الجدر الخلوية للبكتيريا والفطريات – بهدف مقاومة النباتات لها – ليس لها أى تأثير على الجدر الخلوية للنباتات التى تختلف – تماما – فى تركيبها – عن الجدر الخلوية للبكتيريا والفطريات

إنزيمات الشيتينيز والجلوكونيز

تتكون الجدر الخلوية للفطريات من مكونين، هما الجلوكان glucan، والشيتين chitin، وهما اللذان يمكن تحللهما بواسطة كل من الـ glucanases (مثل β-1,3-glucanase) والـ chitinases – على التوالى، هذا . إلا أن تركيب الشيتين يتباين كثيرًا بين الأنواع الفطرية المختلفة، ولذا فإن إنزيم الشيتينيز chitinase الذى يكون فعالاً

ضد أحد الفطريات لا يلزم – بالضرورة – أن يكون فعالاً ضد الفطريات الأخرى، بما يعنى أن نجاح إكساب النباتات صفة المقاومة لفطر ما بطرق الهندسة الوراثية التى تعتمد على تحويلها وراثيًا باستعمال إنزيم الشيتينيز يعتمد على الاختيار المناسب للإنزيم الذى يكون فعالاً ضد الفطر المعنى (عن Broglie & Broglie ١٩٩٤، و Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

وكان Brooglie وآخرون (١٩٩٣) قد قدما شرحًا لعملية التحول الوراثى للتبغ بجين الفاصوليا endochitnase، والذى أدى التعبير عنه فى التبغ إلى جعله مقاومًا للفطر *Rhizoctonia solani*. ومن المعتقد أن مرد ذلك كان إلى تحليل الإنزيم لشيتين الجدر الخلوية للفطر.

ومن المعروف أن البكتيريا *Serratia marcescens* وكائنات دقيقة أخرى كثيرة تفرز طرزا مختلفة من الإنزيمات التى تعمل على تحليل الشيتين chitinases، وهى التى ثبتت فاعليتها ضد الفطريات، التى تحتوى جدرها الخلوية على الشيتين chitin كمكون أساسى. كذلك ربما يكون لتلك الإنزيمات تأثيرات ضارة على الحشرات والنيماتودا. ولكن يتعين تحديد إنزيم الشيتينيز chitinase المناسب للعمل ضد المسببات المرضية المعنية. وقد يبدو من المفيد نقل جينات تتحكم فى إنتاج عدة إنزيمات شيتينيز مرة واحدة لأجل الحصول على مدى واسع من المقاومة.

وتجدر الإشارة إلى أن النباتات ذاتها يمكن أن تنتج إنزيمات الشيتينيز – ضمن مركبات أخرى – استجابة للإصابة بالمسببات المرضية (Mount & Berman ١٩٩٤).

وبينما يكون نشاط الشيتينيز فى النباتات السليمة غير المصابة منخفضًا، أو غير ملحوظ، فإن ذلك النشاط يزداد بوضوح بعد الإصابة بأحد الفطريات الممرضة، أو بعد المعاملة بأحد المثيرات elicitors. وبينما يحمى الشيتينيز النباتات من الإصابة بالفطريات التى تحتوى على شيتين chitin فى جدرها الخلوية، فإنه لا يكون مؤثرًا على الفطريات التى يعوزها الشيتين (عن Nascari & Montanelli ١٩٩٧).

وقد أمكن التعرف فى النباتات على خمس طرز (من I إلى V) من إنزيمات الـ

endochitinases، وعلى ثلاثة طرز (I إلى III) من إنزيمات الـ β-1,3-endoglucanases. وعلى خلاف الـ isoforms الخلوية intercellular من طراز chitinases II، فإن الـ isoforms التى توجد بالفجوات العصارية vacular من طراز chitnases I، وطراز β-1,3-glucanases I ثبت أنها مثبطات قوية جدًا لنمو الفطريات فى البيئات الصناعية، حيث تعمل معًا بصورة تداؤبية synergistically. يحدث هذا التداؤب - كذلك - بين الـ chitinases V والـ β-1,3-glucanases الخلويين.

وقد ازدادت مقاومة الطماطم للإصابة بالفطريات عندما حولت وراثيًا بكل من طراز I من إنزيم الشيتينيز class I chitinase، وطراز I من إنزيم بيتا ١، ٣ جلوكانيز class I β-1,3-glucanase من التبغ، بينما لم يؤد التحول الوراثى للطماطم بأى من الجينين على انفراد إلى حمايتها من الإصابة الفطرية. ولقد بلغ مقدار النقص فى شدة الإصابة بالفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* فى نباتات الطماطم المحولة وراثيًا المقاومة، مقارنة بالوضع فى النباتات غير المحولة وراثيًا ٣٦٪، و ٥٨٪، وذلك فى سلالتين محولتين وراثيًا من الطماطم. وقد حدث تخلص كامل من الإصابة الأولية بالفطر فى سلالتين محولتين وراثيًا، فى الوقت الذى كانت فيه نباتات المقارنة قد قتلها الفطر وتتفق تلك النتائج مع ما هو معروف من أن كلا الإنزيمين class I chitinase، و class I β-1,3-glucanase يعملان - تداؤبيًا synergistically - على تثبيط نمو الفطريات فى البيئات الصناعية (Jongedijk وآخرون ١٩٩٥).

وقد أمكن تحويل عددًا من أصناف الخيار والجزر وراثيًا بجينات مختلفة للشيتينيز chitinase حُصِل عليها من كل من البيتونيا، والتبغ، والفاصوليا. وبينما لم تُظهر نباتات الخيار المحولة وراثيًا بأى واحد من الجينات الثلاثة أى فروق معنوية عن النباتات غير المحولة لدى عدواها بأى من الفطريات المرضة *Alternaria cucumerina*، و *Botrytis cinerea*، و *Colletotrichum orbiculare*، و *Rhizoctonia solani*. فإن نباتات الجزر المحولة بجين شيتينيز التبغ أظهرت مقاومة أعلى بصورة معنوية ضد الإصابة بأى من الفطرين *R. solani*، أو *Corticium rolfsii* مقارنة بالنباتات غير المحولة وراثيًا، هذا بينما لم تظهر تلك المقاومة فى نباتات الجزر المحولة وراثيًا

بجين شيتينيز البيتونيا، وفى كليهما لم تظهر أى مقاومة فى نباتات الجزر المحولة وراثيًا ضد أى من الفطرين *Alternaria radicina*، أو *Thielaviopsis basicola* ويستدل من تلك النتائج على أن كفاءة التحول الوراثى بجينات الشيتينيز فى مقاومة النباتات للفطريات تتأثر بكل من النوع النباتى المحول وراثيًا، وجين الشيتينيز المستخدم، والفطر المستهدف مقاومته (Punja & Rharjo ١٩٩٦).

كذلك أمكن تحويل الخيار وراثيًا بجين شيتينيز من الأرز، وأظهرت النباتات المحولة وراثيًا مستوى من المقاومة للفطر *Botrytis cinerea* أعلى من نباتات المقارنة، وتوقف فيها انتشار المرض كلية (Tabei وآخرون ١٩٩٧)

كذلك أمكن تحسين المقاومة للأمراض فى النباتات بتحويلها وراثيًا بجينات من فطريات تستخدم فى المقاومة الحيوية فعلى سبيل المثال أمكن نقل الجين المسئول عن إنتاج شيتينيز قوى التأثير على الفطريات من *Trichoderma harzianum* إلى كل من التبغ والبطاطس، وظهرت مستويات عالية من الإنزيم المضاد للفطريات فى الأنسجة النباتية المختلفة، دون أن يكون لذلك أى تأثيرات منظورة على نمو النباتات أو تطورها ولقد أظهرت النباتات المحولة وراثيًا تحملاً أو مقاومة تامة للفطريات *Alternaria alternata*، و *A. solani*، و *Botrytis cinerea*، و *Rhizoctonia solani*، الأمر الذى يجعلها أفضل حالاً بكثير من تلك التى تحول بجينات الشيتينيز المتحصل عليها من النباتات أو البكتيريا (Lorito وآخرون ١٩٩٨).

وأمكن تحويل البروكولى وراثيًا بجين endochitinase حُصل عليه من *Trichoderma harzianum*، وذلك لإكسابه صفة المقاومة للفطر *Alternaria brassicicola* (Mora & Earle ٢٠٠١)

بروتينات الديفنسين

يُستفاد – كذلك من بروتينات الديفينسين definsins فى عمليات التحول الوراثى، وهى بروتينات تتواجد فى كل الخلايا الحية، ولها خصائص متنوعة، ولكنها تشترك جميعها فى كونها ببتيدات صغيرة (٢٦–٥١ حمض أمينى) مضادة للميكروبات تُظهر

الديفينسينات نشاط انحلالى lytic بالارتباط داخل الغشاء البلازمى الميكروبى، علمًا بأنه يكون من الصعب جدًّا على أى مسبب مرضى أن يطور مقاومة لهذا التأثير نظرًا لأهمية المحافظة على كمال الغشاء البلازمى لاستمرار بقاء الكائن. ومن ثم لا يمكن أن تحدث به تغيرات تمنع هذا الارتباط بين الديفينسينات وبينه

ولقد أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين الديفينسين alfAFP من البرسيم الجازى، حيث تبين تمثيل الديفينسين فى النباتات التى حولت وراثيًّا وتم إفرازه فى المسافات بين الخلايا فى كل من الأوراق والجذور، وأظهرت النباتات مقاومة معنوية ضد الفطر *Verticillium dahlia*، بدرجة كانت مماثلة للمقاومة الطبيعية فى أصناف البطاطس المقاومة لهذا الفطر. إلاّ أن النباتات المحولة وراثيًّا لم تكن مقاومة للفطر *Alternaria solani* (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

الإنزيمات المثبطة لنشاط الريبوسومات

تفيد البروتينات المثبطة للريبوسومات ribosome-inactivating proteins (اختصارًا: RIP) فى عمليات التحول الوراثى إذ إنها تمنع الريبوسومات من القيام بعملها، ومن ثم يتوقف تمثيل البروتين ولهذه البروتينات درجات مختلفة من التخصص، وبعضها يؤثر على الثدييات (عن Williamson ٢٠٠٢).

وقد أحدث إدخال جينات تتحكم فى إنتاج البروتينات المثبطة للريبوسومات مع جين الشيتينيز أحدث ذلك تأثيرًا متدائبا synergistic ولقد نقل بالفعل جين الفجل Rs-AFP2 الذى يشفر لإنتاج مضاد الفطريات ٢ antifungal 2 .. نقل إلى التبغ الذى أظهر مقاومة للفطر *Alternaria longipes* (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

بروتينات أخرى تفيد فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض

من بين البروتينات الأخرى التى حازت باهتمام الباحثين فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الفطريات المسببة للأمراض، ما يلى

- يحتوى عنب الذئب (أو عنب الثعلب) pokeweed على بروتين مضاد

للفيروسات، وقد أظهرت نباتات التبغ التى حولت وراثيًا بالجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين تدهورًا شديدًا فى نموها، إلاّ أن إطفار هذا الجين واستخدام الجين المطفر فى عملية التحول الوراثى أدى إلى إنتاج نباتات تبغ طبيعية النمو ومقاومة للفيرس، كما كانت كذلك - وعلى غير المتوقع - مقاومة للفطر *Rhizoctonia solani*، وارتبط ذلك بإنتاج النباتات المحولة وراثيًا لعدد من البروتينات ذات العلاقة بالدفاع ضد الإصابات الفطرية (عن Williamson ٢٠٠٢).

• أمكن تحويل الطماطم وراثيًا بالجين المسئول عن تكوين البروتين هاربين harpin والمتحصل عليه من البكتيريا *Erwinia amylovora* المسببة لمرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى. وبعدوى النباتات بسلالة مركبة من الفطر *Phytophthora infestans* وجد أن زيادة تعبير النباتات عن الهاربين - سواء أكان ذلك ذاتيًا أم بسبب حث المسبب المرضى على ذلك - أدى إلى انخفاض معدل نمو البقع المرضية (Li & Fan ١٩٩٩).

الاعتماد على الجينات التى تتحكم فى إنتاج مركبات مضادة للفطريات

قد يُحصل على الجينات التى تتحكم فى إنتاج المركبات المضادة للفطريات من حالات المقاومة الطبيعية كتلك التى أسلفنا بيانها (مثل الجينات التى تتحكم فى إنتاج الفيتوألاكسينات)، وقد تكون من مصادر أخرى نباتية أو غير نباتية.

الجينات التى تتحكم فى إنتاج الفيتوألاكسينات

تعد الفيتوألاكسينات phytoalexins من المركبات المضادة للكائنات الدقيقة، وتلعب - بطبيعتها - دورًا فى مقاومة النباتات للمسببات المرضية الفطرية والبكتيرية، وتعرف المقاومة التى تعتمد عليها بأنها antifungal-compound mediated resistance.

وقد أمكن تحويل الطماطم وراثيًا وجعلها قادرة على إنتاج فيتوألاكسين نبات العنب، بهدف حمايتها من الإصابة ببعض الفطريات الممرضة، فقد نقل إلى الطماطم جينين من جينات الـ stilbene من العنب، حيث حدث التعبير عن كليهما فى النباتات المحولة

وراثيًّا ونسلها لدى عدواها بالفطر *Phytophthora infestans*، أو تجريحها، أو تعريضها للأشعة فوق البنفسجية. وحدث تراكم قوى للرنا الرسول الخاص بالإنزيم stilbene synthase لدى عدوى النباتات بكل من *P. infestans*، و *Botrytis cinerea*، حيث أمكن ملاحظته فى الأوراق بعد ٣٠ دقيقة من عدواها. ووصل هذا التراكم إلى ذروته بعد ٢٤ ساعة من الحقن الفطرى، ثم اختفى فى خلال ٧٢ ساعة. كذلك حدث تراكم قوى للمركب resveratrol، وصل ذروته بعد ٤٤ ساعة، ثم قل تدريجيًّا، وأدى تواجده إلى الحد من الإصابة بالفطر *P infestans* (Thomzik وآخرون ١٩٩٧).

كذلك أمكن الاستفادة من عملية التحول الوراثى السالفة الذكر ذاتها فى مقاومة مرض العصفة فى الأرز (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

جينات المضادات الحيوية

إن أحد الاتجاهات التى يفكر فيها علماء الهندسة الوراثية لإنتاج نباتات مقاومة للأمراض (الفطرية والبكتيرية وتلك التى تسببها الفيكوبلازما)، هى بتحويلها وراثيًّا لتحتوى على الجينات المتحكمة فى إنتاج أحد المضادات الحيوية المؤثرة فى المسببات المرضية المعنية، ومنها – على سبيل المثال – المضاد الحيوى nikkomycin الذى ينتجه الاستربتوميسيت *Streptomyces tendae*، والذى أوضحت الدراسات عدم سميته لفئران التجارب.

ومن أهم الاعتراضات على هذا الاتجاه فى الهندسة الوراثية، ما يلى

١ – الأخطار الصحية التى قد يتعرض لها الإنسان من جراء تناول أطعمة تحتوى على مضادات حيوية.

٢ – قد تطور الكائنات المرضة التى عُدِّلت النباتات لكى تكون مقاومة لها . قد تطور سلالات جديدة مقاومة لفعل تلك المضادات.

ويمكن الحد من تلك التأثيرات السلبية باستعمال جينات منظمة لظهور فعل جينات المضادات الحيوية، بحيث لا يظهر إلاّ فى مرحلة معينة من النمو (كالبادرات – مثلاً –

لمقاومة فطريات الذبول الطرى)، أو فى جزء معين من النبات لتجنب ظهور أمراض معينة لا تصيب إلاّ ذلك الجزء (عن Mount & Berman ١٩٩٤).

الجينات التى تتحكم فى إنتاج مركبات أخرى

من بين عمليات التحول الوراثى التى أجريت بهدف إنتاج مركبات أخرى مضادة للفطريات، ما يلى:

الأحماض الدهنية غير المشبعة

أدى تحويل الطماطم وراثيًا بجين الخميرة المسئول عن تكوين الإنزيم stearoyl-CoA desaturase إلى زيادة محتوى أوراقها من الأحماض الدهنية. ولدى اختبار مقاومتها للفطر *Erysiphe polygoni* المسبب للبياض الدقيقى، وجد أن المستعمرات الفطرية التى ظهرت عليها كانت أصغر مساحة وأقل احتواء على الجراثيم الكونيدية عما كان عليه الحال فى النباتات التى لم تحول وراثيًا. وقد أوضحت الدراسات أن إنبات جراثيم الفطر فى البيئات التى تحتوى على أحماض دهنية مختلفة ثبط معنويًا عند تواجد أحماض دهنية غير مشبعة. كذلك احتوت نباتات الطماطم المحولة وراثيًا على تركيزات أعلى من إنزيمات البيروكسيديز peroxidases عما فى النباتات غير المحولة (Wang وآخرون ١٩٩٨).

فوق أكسيد الأيدروجين

يتضمن النظام الدفاعى للنباتات ضد الإصابات المرضية إنتاج مركبات ذات قدرة عالية على الأكسدة، مثل فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 ولدراسة ذلك الأمر تم تحويل البطاطس وراثيًا بجين الفطر *Aspergillus niger* الذى يشفر لتمثيل الإنزيم glucose oxidase، الذى يعمل على إنتاج فوق أكسيد الأيدروجين عندما يتأكسد الجلوكوز. أدت عملية التحول الوراثى تلك إلى زيادة مستويات فوق أكسيد الأيدروجين فى كل من الأوراق والدرنات، وأظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة قوية ضد بكتيريا العفن البكتيرى الطرى الذى تسببه البكتيريا *Erwinia carotovora* subsp *carotovora*،

واستمرت حالة المقاومة فى كل من الظروف الهوائية واللاهوائية. ويبدو أن تلك المقاومة كان مردها إلى المستويات العالية التى تكونت من فوق أكسيد الأيدروجين، نظرًا لأنها – أى المقاومة – اختفت لدى معاملة الأنسجة المحولة وراثيًا والمحقونة بالبكتيريا بإنزيم محلل لفوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 degrading catalase كذلك أظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة جيدة ضد الفطر *Phytophthora infestans* المسبب للندوة المتأخرة، حيث تأخر ظهور البقع المميزة للإصابة بهذا الفطر (Wu وآخرون ١٩٩٥)

كذلك أظهرت نباتات البطاطس التى حولت وراثيًا بهذا الجين مقاومة عالية لعدد آخر من الأمراض الفطرية والبكتيرية، وخاصة لمرض ذبول فيرتسيلليم. كما أظهرت نباتات الأرز التى حولت وراثيًا بجين فوق أكسيد الأيدروجين مقاومة للفطريات (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

الجينات المستعملة فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة البكتيريا

لم تلق جهود الهندسة الوراثية لأجل مقاومة الأمراض البكتيرية نجاحًا كبيرًا، ومن الأمثلة القليلة الواعدة فى هذا الشأن، ما يلى:

جينات المقاومة الطبيعية

قد تكون الجينات المتحصل عليها من النباتات الراقية – لأجل عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض البكتيرية – من جينات المقاومة الطبيعية للمرض ذاته أو لأمراض أخرى فى النباتات التى حُصِّل منها على تلك الجينات، ومن الأمثلة على ذلك، ما يلى

- من بين جينات المقاومة الطبيعية التى تكثر الدراسات عليها حاليًا فى مجال هندسة المقاومة للأمراض البكتيرية الجين Rps2 من *Arabidopsis*، وجينا الطماطم Cf9، و Pto (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

- أمكن عزل طفرة من النبات الموديل *Arabidopsis thaliana* تؤدى إلى وقف ظهور أعراض الإصابة بالذبول بعد حقن النبات بسلالة عالية الضراوة من البكتيريا

Ralstonia solanacearum. أعطى هذا الجين الرمز nws1 (حيث لا توجد أعراض ذبول no wilt symptoms). ولم يكن لغياب أعراض الذبول ارتباطًا مع أى موت لخلايا العائل، أو لأى تعبير معين لجينات حامض السلسليك salicylic acid أو حامض الجاسمونيك jasmonic acid، أو تلك المتعلقة بالإثيلين، كما كانت هذه الطفرة خاصة – فقط – بتلك البكتيريا (Feng وآخرون ٢٠٠٤).

● وتتطلب مقاومة الطماطم للبكتيريا *Pseudomonas syringae* pv *tomato* الجينين Pto، و Prf. وفى الطفرات التى يختفى فيها الجين Prf تُفْقَد المقاومة للـ Pto، والحساسية للمبيد الحشرى العضوى الفوسفورى فِنثيون fenthion؛ بما يفيد تحكم الجين Prf فى كلا الشكلين المظهريين. ولقد وجد أن زيادة التعبير عن الجين Prf تؤدى إلى زيادة المقاومة لعدد من المسببات المرضية البكتيرية والفيروسية وزيادة الحساسية للفنثيون، كما تُظهر تلك النباتات مستويات من حامض السلسليك تقارن بما تظهره النباتات التى تحدث بها حالات المقاومة الجهازية المكتسبة ويستفاد من تلك الدراسة أن زيادة التعبير عن Prf يُنَشِّط المسارات الأيضية لكل من الـ Pto والـ Fen بطريقة مستقلة عن المسبب المرضى، وتؤدى إلى تنشيط المقاومة الجهازية المكتسبة (Oldroyd & Staskawicz ١٩٩٨).

● أمكن تحويل الأرز وراثيًا بالجين Xa21 – الذى يكسبه مقاومة ضد البكتيريا *Xanthomonas oryzae* – بنقله إليه من النوع *Oryza longista-minata*، الأمر الذى لم يمكن تحقيقه بطرق التربية التقليدية.

هذا . إلاّ أنه عندما نقل جين الفلفل Bs2 – المسئول عن مقاومته للبكتيريا *Xanthomonas* – إلى أنواع من غير الباذنجانيات فإنه لم يكن فعّالاً، بما يعنى أن جينات المقاومة R genes قد تقتصر فاعليتها على الأنواع المتقاربة تقسيميًا فقط (عن Dickinson ٢٠٠٣)

التعبير عن جينات البكتيروفاجات

أدى التعبير عن الـ bacteriophage T4 lysozyme فى البطاطس المحولة وراثيًا إلى زيادة مقاومتها للبكتيريا *Erwinia carotovora*

وتجدر الإشارة إلى أن الليزوزيمات تعد من البروتينات ذات النشاط المضاد للبكتيريا

الجينات التى تشفر لبروتينات مضادة للبكتيريا

يمكن الاستفادة من الجينات التى تشفر لبروتينات ذات نشاط مضاد للبكتيريا، وهى التى تعرف باسم lytic proteins، مثل: السركوبينات cercopins، والأتاسينات attacins، والليزوزيمات lysozymes (التى أسلفنا الإشارة إليها).

وعلى سبيل المثال أمكن تحويل البطاطس وراثيًا بالجين cercopin B، وكانت النباتات الناتجة أكثر تحملاً للسلالة ٣ من البكتيريا *Ralstonia solanacearum* عن النباتات غير المحولة وراثيًا

كذلك فإن الجينات التى تشفر لتكوين البولى بيبتيدات الصغيرة مثل الثيونينات thionins – وهى التى تؤدى إلى تدهور الأغشية الخلوية فى الكائنات الدقيقة – تفيد فى عمليات التحول الوراثى وقد وجد أن التعبير عن جين الشعير α-thionin فى التبغ المحول وراثيًا يزيد بشدة من مقاومته للبكتيريا *Pseudomonas syringae*، إلاّ أن محاولات أخرى مع هذا البروتين لم تُحسن من صفة المقاومة (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

هذا وتتركب الجدر الخلوية للبكتيريا مما يعرف باسم peptidoglycans، وهى تتكون من بروتين ومكونات كربوهيدراتية يمكن هضمها بالإنزيم ليزوزيم lysozyme، الذى يوجد بوفرة فى بيض الدجاج يتواجد هذا الإنزيم – كذلك – فى معدة الماشية حيث يلعب دورا فى تحليل البكتيريا التى تتكاثر هناك لأنها تساعد فى تحليل السليليوز والمكونات الأخرى للجدر الخلوية النباتية ومن الممكن استعمال إنزيم الماشية هذا المُحلِّل للجدر الخلوية للبكتيريا فى عمليات التحول الوراثى للنباتات. ولقد أمكن –

بالفعل – نقل هذا الجين إلى الخميرة *Pichia pastoris* التى أصبحت قادرة على إنتاج كميات ضخمة من إنزيم الليزوزيم ولدى استعمال هذا الإنزيم فى معاملة بذور النباتات بتركيز ٢٥–١٠٠ جزء فى المليون فإنه أدى إلى قتل ما على تلك البذور من بكتيريا.

هذا . إلاّ إنه من مخاطر استعمال إنزيم الليزوزيم فى عمليات التحول الوراثى ثباته الشديد، الأمر الذى قد يؤدى إلى قتله للبكتيريا النافعة فى التربة؛ ولذا .. يتعين التأكد من مدة بقاء الإنزيم فى التربة بعد زراعة نباتات محولة وراثيًا به، وما هى تأثيراته على بكتيريا التربة (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

ولقد أمكن تحويل البطاطس وراثيًا بجين الدجاج chly المسئول عن تكوين الإنزيم lysozyme (وهو إنزيم يحلل الشيتين والببتى دوجليكان petidoglycan)، وقد أظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة للإصابة بالبكتيريا *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* المسببة لمرض العفن الأسود لقاعدة الساق والعفن الطرى. وقد ارتبط مستوى المقاومة بمستوى التعبير عن الجين chly فى النباتات المحولة وراثيًا (Serrano وآخرون ٢٠٠٠).

الجينات التى تشفر لتكوين مركبات مضادة للبكتيريا

من بين محاولات التحول الوراثى التى أجريت بهدف التشفير لتكوين مركبات مضادة للبكتيريا، ما يلى:

- تم تحويل البطاطس وراثيًا بالجين المنتج للبروتين sarcotoxin IA (وهو سُم بكتيرى) المتحصل عليه من *Sarcophaga peregrina*، وذلك لجعلها أكثر تحملاً للإصابة للأعفان التى تسببها كلا من *Erwinia* spp.، و *Ralstonia solanacearum* (Galun وآخرون ١٩٩٧)

- أمكن تخليق جين فى المختبر - يتميز بنشاطه الواسع المدى المضاد للكائنات الدقيقة – أعطى الرمز MsrA1، وهو يشفر لتكوين المركب: N terminus-modified, cecropin-melittin cationic peptide chimera ذات الفاعلية الواسعة المدى ضد

الكائنات الدقيقة وقد تم نقل هذا الجين المخلق إلى البطاطس، التى لم يتأثر مظهرها أو محصولها من الدرنات، بينما كانت شديدة المقاومة للمسببات المرضية التى حقنت بها البطاطس، وهى: *Phytophthora cactorum*، و *Fusarium solani*، و *Erwinia carotovora* ولقد احتفظت الدرنات المحولة وراثيًا بقدرتها على المقاومة لأكثر من عام، ولم تظهر أى أضرار على الفئران التى غذيت عليها (Osusky وآخرون ٢٠٠٠)

- أمكن تحويل البطاطس وراثيًا بجين تم تحضيره من جينى الديفينسين cecropin من الفراشة giant silkmoth، والـ melittin من نحل العسل، وباختبارها تبين مقاومتها للبكتيريا *Erwinia carotovora* المسببة للعفن الطرى البكتيرى

- تُجرى محاولات تأخذ اتجاهات شتى فى محاولة لتحويل التفاح والكمثرى وراثيًا بأنواع مختلفة من البروتينات المضادة للميكروبات لأجل مقاومتها للبكتيريا *Erwinia amylovora* المسببة للفحة ولقد نجح تحويل التفاح وراثيًا بجين الـ attacin E فى جعله أكثر مقاومة للبكتيريا تحت ظروف الحقل (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

- أمكن زيادة المقاومة فى كل من التبغ والكرنب بتحويلهما وراثيًا بجين glucose oxidase الذى حُصل عليه من *Aspergillus niger*، وكانت حالات المقاومة التى اختبرت هى ضد كل من *Phytophthora nicotianae* فى التبغ، و *Xanthomonas campestris* pv *campestris* فى الكرنب (Lee وآخرون ٢٠٠٢)

- يؤدى المركب المعروف باسم tachyplesin I [وهو ببتيد مضاد للميكروبات يُنتجه سلطعون حدوة الحصان الآسيوى *Tachypleus tridentatus* (أحد أنواع سرطانات البحر)] .. يؤدى بتركيز ٤ ١- ١١,١ ميكروجرام/مل فى البيئات الصناعية إلى قتل البكتيريا *Erwinia* spp. المسئولة عن إصابة البطاطس بكل من العفن الطرى وعفن قاعدة الساق الأسود وعندما حولت البطاطس وراثيًا بالجين الذى يشفر لهذا المركب كانت الدرنات أقل إصابة فليلاً ببكتيريا العفن الطرى *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Allefs وآخرون ١٩٩٦)

- يتميز جليكوبروتين اللبنيات lactoferrin (الذى يأخذ الرمز Lf) بخاصيتى قتل

البكتيريا bactericidal ووقف نشاطها bacteristatic، وذلك بالنسبة لمدى واسع منها، وكذلك تأثيره على الفطريات والفيروسات، حيث يتراوح التركيز القاتل منه بين ٣، و ١٥٠ ميكروجرام/مل بالنسبة للبكتيريا، و ١٨–١٥٠ ميكروجرام/مل بالنسبة للخميرة، و ٣–٦٠ ميكروجرام/مل بالنسبة للفطريات الخيطية (عن Zhang ١٩٩٨)

وقد أمكن تحويل التبغ وراثيًا بالجين المسئول عن تكوين الـ lactoferrin الإنسانى، حيث أظهرت النباتات التى عُبِّرَ فيها عن هذا الجين تأخيرا جوهريًا فى ظهور أعراض الإصابة بالذبول عندما تم عدواها بالبكتيريا *Ralstonia solanacearum*، وكانت العلاقة طردية بين شدة التعبير عن الجين وشدة المقاومة للبكتيريا (Zhang وآخرون ١٩٩٨).

الجينات التى تشفر لتكوين إنزيمات تلغى التأثير السام للسموم البكتيرية

إن عديدًا من الأنواع البكتيرية والفطرية المرضة للنباتات تقوم بزيادة قدرتها على الإصابة (زيادة درجة ضراوتها virulence) بإنتاجها لسموم متخصصة على عوائل معينة أو غير متخصصة ونظرًا لأن المسببات المرضية تكون مقاومة للسموم التى تنتجها، فإن الأعراض المرضية التى تُحدثها بعض تلك المسببات يمكن الحد منها بنقل جينات المسببات المرضية – التى تتحكم فى إنتاج تلك السموم – إلى النباتات. ومن الأمثلة الهامة على المقاومة – المتحصل عليها من المسبب المرضى – للأمراض التى تظهر أعراضها من خلال السموم التى تفرزها المسببات المرضية – حالة اللفحة الهالية فى الفاصوليا التى تسببها البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*

إن الاصفرار الشديد الذى يظهر على النباتات التى تُصاب بهذه البكتيريا يحدث بفعل السم phaseolotoxin (وهو ثلاثى الببتيد tripeptide) الذى تفرزه البكتيريا. يثبط هذا السم الإنزيم ornithine carbamoyltransferase (اختصارا OCTase) الذى يقوم بتحويل كل من الـ ornithine والـ carbomyl phosphate إلى citrulline، وهو تفاعل يدخل فى تمثيل الـ arginine وفى التحولات بين الأحماض الأمينية من عائلة الـ

glutamate يثبط الـ phaseolotoxin – كذلك – نمو عديد من الأنواع البكتيرية نظرًا لاحتوائها – أيضًا – على OCTase.

تنتج البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* طرازين من الـ OCTase، أحدهما حساس للـ phaseolotoxin، والآخر مقاوم له. وأثناء النمو فى الجو البارد نسبيًا – عندما يكون إنتاج الـ phaseolotoxin مثاليًا – تنتج هذه البكتيريا الـ OCTase المقاوم فقط، ومن ثم تكون البكتيريا مقاومة للسم الذى تفرزه. ولقد عزل الجين المسئول عن إنتاج الـ OCTase البكتيرى غير الحساس ونقله إلى النباتات، التى أصبحت قادرة على إنتاج هذا الـ OCTase غير الحساس للـ phaseolotoxin، بالإضافة إلى الـ OCTase الأصلى الذى يعد حساسًا لهذا السم. هذا إلاّ أن وجود الـ OCTase غير الحساس فى النباتات يجعلها قادرة على التغلب على التثبيطات الإنزيمية التى يمكن أن تحدث عندما تنتج البكتيريا السم داخل النبات، ومن ثم تكون هذه النباتات أقل حساسية للسم وأقل إظهارًا لأعراض المرض (عن Lindow ١٩٩٦)

ويشفر جين الطماطم Pto لإنزيم من الـ serine-threonine kinase، الذى يكسب النباتات مقاومة لسلالات البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* التى يُعَبِّرُ فيها عن جين عدم الضراوة avirulence gene الذى يأخذ الرمز avrPto. ولقد تبين أن سلالة التبغ Wisconsin-38 يظهر عليها حالة فرط حساسية hypersensitivity لدى حقنها (عدواها) بالبكتيريا *P. syringae* pv. *tabaci* التى يُعَبِّرُ فيها عن الجين avrPto. وعندما حولت سلاله التبغ Wisconsin-38 وراثيًا بالجين Pto أظهرت النباتات زيادة معنوية فى المقاومة للبكتيريا، مقارنة بمقاومة السلالة الأصلية غير المحولة وراثيًا (Thilmony وآخرون ١٩٩٥). ولقد حدث الأمر ذاته عندما حولت نباتات *Nicotiana benthamiana* بنفس الجين Pto (Rommens وآخرون ١٩٩٥)، مما يعنى أن جينات المقاومة تحافظ على خصائصها وتأثيراتها المسئولة عن صفة المقاومة المتخصصة حتى عند نقلها من جنس الآخر.

كذلك أمكن تحويل التبغ وراثيًا بالجين ttr الخاص بتنظيم المقاومة للـ tabtoxin فى

Pseudomonas syringae pv. *tabaci*، حيث أظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة لكل من المعاملة بالسم البكتيرى وللإصابة باليكتيريا ومن الطبيعى أن هذه الاستراتيجية فى الهندسة الوراثية لا تفيد إلاّ مع الأمراض التى تلعب فيها السموم دورًا مباشرًا وأساسيًا فى ظهور المرض (عن Nascart & Montanelli ١٩٩٧)

الاستراتيجيات الأخرى لهندسة نباتات مقاومة للأمراض

من بين الاستراتيجيات التى يفكر فيها علماء الهندسة الوراثية لإنتاج نباتات مقاومة لمسببات الأمراض، ما يلى

١ - تجريد المسببات المرضية - التى تحدث أضرارها من خلال إفرازها لإنزيمات تقوم بتحليل الجدر الخلوية - تجريدها من أسلحتها، نبس بوقف إنتاج تلك الإنزيمات - فهى كثيرة - وإنما بالحد من مفعولها بتعديل النباتات بجينات تؤثر فى انتقال تلك الإنزيمات فى النباتات، وهى التى ينظم انتقالها جينات مثل Aep (وهو رمز لوظيفة الجين activation of extracellular enzyme production)؛ فإذا أمكن تحديد ونقل جين يحد من نتاط الجين Aep activator لأمكن الحد من انتقال إنزيمات بعينها، كتلك التى تعمل على تحلل الجدر الخلوية

٢ - نفس الجينات التى تجعل النباتات أقل عرضة للتجريح، أو تزيد من سرعة الاستجابة للتجريح، أو تزيد من سرعه تكوين بيريدرم الجروح

٣ - إبطاء النضج بحيث لا تفقد الثمار صلابتها سريعا بعد الحصاد، ومن ثم تستمر أقل عرضة للإصابة بالأعفان لأطول فترة ممكنة بعد الحصاد، وقد تناولنا هذا الموضوع بالشرح فى موضع آخر من هذا الكتاب (Mount & Berman ١٩٩٤)

الإنجازات فى مجال التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية

على الرغم من حداثة العهد نسبيًا فى مجال دراسات التحول الوراثى لإنتاج نباتات مقاومة للفطريات والبكتيريا المرضة للنباتات، فقد تم إنتاج واختبار عديد من حالات التحول الوراثى فى عدد من أهم المحاصيل الزراعية؛ بهدف جعلها مقاومة لعدد من أهم المسببات المرضية (جدولا ١٦-٢، و ١٦-٣)

جدول (١٦-٢): حالات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية التى تم اختبارهـا حقليًا فى الولايات المتحدة حتى عام ١٩٩٨ (عن Chopra ١٩٩٩)

المحصول	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	الجين	مصدر الجين
التفاح	*Erwinia amylovora*	Attacin	*Hyalophora cecropia*
	E. amylovora	Lysozyme	الدجاج
	E. amylovora	Cecropin B	*H. cecropia*
الخيار	*Phytophthora*	Glucanase	التبغ
	Phytophthora	Osmotin	التبغ
	Phytophthora & Verticillium	Chitinase	التبغ
الخس	Downy mildew	Osmotin	التبغ
	Downy mildew	Chitinase	التبغ
	Downy mildew	Glucanase	التبغ
الكنتالوب	*Phytophthora*	Chitinase	التبغ
	Phytophthora	Glucanase	التبغ
	Phytophthora	Osmotin	التبغ
البطاطس	*Rhizoctonia solani*	Glucanase	التبغ
	R. solani	Chitinase	*Serratia marcescens*
	R. solani	Glucanase	التبغ
	Verticillium	DRRG 49	البسلة
	Corynebacterium sepedonicum	Cecropin B	*H. cecropia*
	E. carotovora	Cecropin B	*H. cecropia*
	Soft rot and Ring rot	Lysozyme	الدجاج
	Streptomyces scabies	Cecropin B	*H. cecropia*
	Soft rot	Glucanase	التبغ
الكوسة	Mildew	Osmotin	التبغ
	Mildew	Chitinase	التبغ
	Mildew	Glucanase	التبغ
التبغ	*Phoma*	Glucanase	البرسيم الحجازى
	Phoma	Chitinase	الأرز
	Rhizoctonia, Thelaviopsis	Chitinase	*S. marcescens*
	Botrytis cinerea	Stilbene synthase	العنب
	Rhizoctonia, Phytophthora	Glucanase	التبغ
الطماطم	Fungal post-harvest	Chitinase	*S. marcescens*
	Crown rut	Chitinase	*S. marcescens*
	Soft rot fungus	Polygalacturonase inhibitor	الكمثرى
	Powdery mildew	Chitinase	*S. marcescens*
	Botrytis	Chitinase	*S. marcescens*
	Alternaria solani	Chitinase	التبغ

جدول (١٦-٣): النباتات المحولة وراثيًا التى أنتجت من مختلف المحاصيل الزراعية لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية حتى عام ١٩٩٩ (عن Chawala ٢٠٠٠).

طبيعة المقاومة والمحصول	الجين	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين
بروتينات:		
التبغ	Bacterial chitinase from *serratia marcescens*	*Altermaria longipes*
	Bean chitinase gene	*Rhizoctonia solani*
	PR-1-a gene	*Peronospora tabacina, Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*
	Chitinase	*Sclerotinia sclerotiorum*
	Chitinase	*Rhizoctania solani*
	Chitinase and 1,3-β glucanase	*Cercospora nicotinae*
الطماطم	Chitinase and 1,3-β glucanase	*Fusarium oxysporum lycopersici*
Brassica napus	Chitinase	*Rhizoctonia solani*
Brassica napus var. oleifera	Chitinase	*Cylindrosporium concentricum; Phoma lingam; Sclerotinia scleratiorum*
الأرز	Chitinase	*Rhizoctonia solani*
الجزر	Chitinase and 1,3-β glucanase	*Alternaria douci, Alternaria radicina, Cercospora carotae, Erysiphe heraclei*
البطاطس	PR5	*Phytophthora infestans*
مضادات ميكروبية بروتينية:		
التبغ	Barley RIP (ribosome inactivating protein)	*Rhizoctonia solani*
الطماطم	Prohevein from *Hevca brassiliensis*	*Trichoderma hamotum*
التبغ	Defensin-Rs AFP_2 from radish	*Alternaria longipes*
التبغ	Barley α thionin geme	*Pseudomonas syringae* pv *tabaci, P. syringae* pv *syringae*
التبغ	Cecropin	*P. syringae* pv *tabaci*
الأرز	Cecropin	Bacterial pathogen
البطاطس	Bacteriohage T-4 lysozyme	*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptia*
التبغ	Hen egg white lysozyme (HEWL)	*Botrytis cinerca, Verticillium nlboatrum, Rhizactonia solanum*

تابع جدول (١٦-٣).

طبيعة المقاومة والحصول	الجين	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين
التبغ	Lysozyme from human being	*Pseudomonas syringae* pv *tabaci;* *Erysiphe cichoracearum*
البطاطس	H_2O_2 gene for glucose oxidase	*Verticillium dahlea, Phytophthora;* *Erwinia carotovora*
فيتو ألاكسينات:		
التبغ	Stilbene synthase	*Botrytis cinerea*
Brassica napus	Stilbene synthase	--
الأرز	Stilbene synthase	*Pyricularia oryzae*