الفصل الثامن عشر

الهندسة الوراثية لتحسين صفات الجودة

تتنوع كثيرًا صفات الجودة المرغوب فيها بتنوع المحاصيل والأنواع النباتية، ولذا .. فإننا نتناول هذا الموضوع بنظرة عامة، ولا نتطرق إلى التفاصيل الدقيقة لصفات الجودة فى كل محصول على حدة إلاّ بالقدر الذى يتناسب مع مقدار الجهد الذى بذل لأجل تحسين صفات الجودة المعنية فى تلك المحاصيل. وسوف نولى فى هذا الفصل اهتمامًا خاصًا لموضوع تحسين القيمة الغذائية كأحد أهم عناصر صفات الجودة ذات الطبيعة العامة، بالإضافة إلى التركيز على بعض صفات الجودة الخاصة فى كل من الخضر الثمرية ونباتات الزهور.

التحول الوراثى لتحسين القيمة الغذائية

التحسين الكمى والنوعى للمحتوى البروتينى

أمكن عن طريق الهندسة الوراثية إحداث تغييرات هامة فى مخزون البذور من البروتين كمًا ونوعًا، وذلك بهدف تحقيق الأغراض التالية:

١ - زيادة المحتوى البروتينى للبذور.

٢ - زيادة محتوى البذور من الأحماض الأمينية الضرورية، مثل الليسين، والثيونين.

٣ - جعل البذور تقوم بتخزين أنواع جديدة من البروتينات أفضل فى قيمتها الغذائية.

٤ - زيادة محتوى حبوب القمح من البروتين ذات الوزن الجزيئى المرتفع: جلوتينين glutenin؛ الذى يؤدى إلى زيادة لدانة الطحين.

أهمية تحسين المحتوى البروتيني

لا يمكن لجسم الإنسان أن يقوم بتمثيل سوى عشرة أحماض أمينية فقط من بين العشرين حمضا أمينيًا التى تتكون منها مختلف البروتينات، أما العشرة أحماض الأخرى، فإن تواجدها فى غذائه يعد ضروريًا لأنه لا يستطيع تمثيلها مما يتوفر بالغذاء من مصادر كربونية ونيتروجينية ولذا يتعين تواجد توازن بين الأحماض الأمينية التى يتناولها الإنسان فى غذائه، الأمر الذى قد يشكل مشكلة أحيانًا كما هو الحال عند الاعتماد الكبير على الحبوب – التى تعد مصدرا هامًا للطاقة – وبذور البقول – التى تعد مصدرا رئيسيًا للبروتينات، ذلك لأن الحبوب الصغيرة غالبًا ما تكون فقيرة فى الحامض الأمينى الضرورى ليسين lysine، بينما تكون بذور البقوليات – غالبا - فقيرة فى الحمضين الأمينيين الكبريتيين ميثونين methionine، وسيستين cysteine

وتجدر الإشارة إلى أن الحيوانات الزراعية يمكنها تحويل الميثونين إلى سيستين، ولكنها لا تستطيع إجراء التحويل العكسى، ولذا يسعى مربو النبات – من خلال تقنيات الهندسة الوراثية – إلى إنتاج محاصيل تصلح لغذاء الحيوانات الزراعية تكون أكثر غنى فى محتواها من البروتين بصورة عامة، ومن البروتينات الغنية فى الأحماض الأمينية الكبريتية والحامض الأمينى ميثونين methionine بصورة خاصة

استراتيجيات تحسين المحتوى البروتيني

تنوعت الاستراتيجيات التى اتبعت لأجل تحسين المحتوى البروتينى للنباتات التى تستعمل كغذاء للإنسان والحيوانات الزراعية، كما يلى

١ – الاعتماد على جينات نباتية محورة:

جرت محاولة لعزل جين مسئول عن إنتاج بروتين فقير فى الأحماض الأمينية الكبريتية، تم تحوير تتابعاته من القواعد الآزوتية بما يسمح بتشفيره لمزيد من الأحماض الكبريتية، ولقد حدث ذلك بالنسبة لبروتينات، مثل الفاصولين phaseolin من الفاصوليا، والفيسلين vicilin من الفول، إلاّ أن البروتينات الناتجة المحورة كانت إما غير ثابتة، وإما كانت فقيرة جدًا فى الميثونين، مما جعلها بغير ذى فائدة

٢ – الاعتماد على جينات مخلقة معمليًا:

جرت محاولات أخرى لتشكيل جينات كاملة فى المعمل تشفر لتكوين بروتينات غنية فى الأحماض الأمينية الكبريتية، ونجح بالفعل إنتاج بروتين جديد يحتوى على ١٣٪ مثيونين، وأمكن التعبير عن الجين الصناعى – الذى يشفر لتكوينه – فى البطاطا.

٣ – الاعتماد على جينات ذات أصول نباتية:

أمكن التعرف على عديد من البروتينات الغنية فى المثيونين فى كل من: الذرة (البروتين 21-kDa zein الذى يحتوى على ٢٨٪ مثيونين، والبروتين 10-kDa zein الذى يحتوى على ٢٣٪ مثيونين)، والأرز (البروتين 10-kD prolamin الذى يحتوى على ٢٠٪ مثيونين)، ودوار الشمس (البروتين 2S sunflower seed albumin الذى يحتوى على ١٦٪ مثيونين، و ٨٪ سيتوسين)، والكاجو (جوز البرازيل) Brazil nut (ألبيومين الكاجو الذى يحتوى على ١٨٪ مثيونين، و ٨٪ سيتوسين). ولقد أمكن نقل الجينات المسئولة عن تمثيل تلك المركبات إلى عدد من المحاصيل الزراعية، منها الذرة، وفول الصويا، والترمس، ولفت الزيت (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

ومن أبرز الأمثلة على عمليات التحول الوراثى لتحسين المحتوى البروتينى بالاعتماد على الجينات ذات الأصل النباتى، ما يلى:

○ جرت محاولات عديدة لزيادة محتوى بعض المحاصيل الزراعية الهامة من الحامض الأمينى الضرورى ليسين lysine، ومن أبرز حالات النجاح فى هذا المجال، ما يلى

المحصول (البذور)	الجين المنقول ومصدره	عدد أضعاف الزيادة فى الليسين	
		الحر	الكلى
لفت الزيت	dhdps من البكتيريا *Corynebacterium*	١٤٠–٣,١	١,٧٥–١
لفت الزيت	Dhdps من البكتيريا *Corynebacterium*		
	، و ak من البكتيريا *E. coli*	٣٨–٤,٧	٢,٠–١
فول الصويا	Dhdps من البكتيريا *Corynebacterium*	٢٥–١٢	١,٢٥

المحصول (البذور)	الجين المنقول ومصدره	عدد أضعاف الزيادة فى الليسين	
		الحر	الكلى
فول الصويا	Dhdps من البكتيريا *Corynebacterium*		
	، و ak من *E. coli*	٣٣٥	٤,٧-٠,٩
الشعير	Dhdps من *E. coli*	٢	١,٠٥

● جرت محاولات مماثلة لتحسين مستوى الليسين بطرق الهندسة الوراثية فى كل من البطاطس (التى تحسن فيها محتوى الليسين الحر فى الدرنات بمقدار خمسة أضعاف دون حدوث أى تغير فى محصول الدرنات أو مواصفاتها الأخرى)، والذرة الرفيعة (التى لم يتحقق فيها نجاح مماثل). وقد أجرى التحول الوراثى فى كلا المحصولين باستعمال الطفرة dhdps-r1 (عن Jacobs وآخرين ٢٠٠٢).

● أمكن عزل الجين المسئول عن تكوين بروتين جوز البرازيل (الكاجو) Brazil nut (أو *Bertholletia excelsa*) – المعروف باسم BN2S protein – والذى يحتوى على مثيونين methionine بنسبة ١٩٪، وسيستين cysteine بنسبة ٨٪ – أمكن عزل هذا الجين ونقله بطرق الهندسة الوراثية إلى البطاطس، حيث عبر عن ذاته فى كل من أنصال الأوراق، وأعناق الأوراق والدرنات، مع تركيز للبروتين فى الدرنات يزيد بمقدار ٨ أمثال عن التركيز فى الأوراق وأعناق الأوراق. وبينما لم يكن للتعبير عن هذا الجين أى تأثيرات ضارة على نباتات البطاطس، فإن تركيز البروتين لم يرتفع إلى درجة يمكن أن تؤثر فى مستوى المثيونين بالدرنات (Tu وآخرون ١٩٩٤) ومن مساوئ الاعتماد على هذا البروتين أنه يسبب الحساسية لدى الأفراد ذوى الحساسية للكاجو؛ بما يعنى حتمية إجراء اختبارات دقيقة وموسعة قبل الاعتماد على مثل هذه البروتينات المسببة للحساسية فى عمليات التحول الوراثى (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

● على الرغم من أن الفاصوليا من المحاصيل البقولية الهامة، فإنها تعد فقيرة فى الحامض الأمينى الضرورى مثيونين methionine، ولقد أمكن تحويلها وراثيًا بجين مسئول عن تكوين بروتين الكاجو الذى أسلفنا الإشارة إليه، وبلغ مستوى حامض المثيونين فى النباتات المحولة وراثيًا قيمًا تزيد بمقدار ١٤-٢٣٪ عن نظيراتها فى النباتات غير المحولة وراثيًا (Aragao وآخرين ١٩٩٩)

● أمكن التعبير عن بروتين غنى فى الليسين فى إندوسبرم الأرز. ولأجل تحقيق أفضل تعبير عن البروتين ومكان التعبير عنه فى الأرز وقع الاختيار على بروتين فول الصويا: الجليسينين glycinin، وهو أحد أفراد عائلة الجلوبيولين 11S globulin. ومن أهم خصائص الجليسينين أنه يُمثَّل ويخزن فى فول الصويا بطريقة تتشابه كثيرًا مع حالة جلوتيلينات glutelins الأرز. وقد تبين عند دراسة نباتات الأرز المحولة وراثيًّا أن كِلا الجلوبيولينين (الجلوتيلين والجليسينين) عُبِّر عنهما وكونا معقدات بأحجام مميزة كان من السهل التعرف عليها، وبغير حدوث ذلك لم يكن من الممكن الحصول على مستويات مثلى من البروتينات. ومن الأمور الأخرى الهامة لبروتينات الجليسينين فى فول الصويا أنها تكون مصاحبةً بتأثير hypocholesterolaemic (خافض للكوليسترول) إذا زاد ما يتناوله الإنسان منها فى طعامه عن ٦ جم يوميًّا. وبذا .. فإن التعبير عن جين فول الصويا فى الأرز له ميزتان: زيادة محتوى إندوسبرم الأرز من الليسين، والإسهام فى زيادة ما يحصل عليه الإنسان من جلوبيولينات فول الصويا ذات التأثير المخفض للكوليسترول (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

● أمكن عزل الجين AmA1 من النبات *Amaranthus hypochondriacus*، وهو جين مسئول عن تكوين بروتين الألبيومين البذرى، الذى يتميز بكونه لا يسبب الحساسية، وبغناه فى الأحماض الأمينية الضرورية. وتبعًا لمعايير منظمة الصحة العالمية للتغذية المثالية للإنسان فإن هذا البروتين تنطبق عليه الشروط المثالثة. أمكن نقل هذا الجين إلى البطاطس بطرق الهندسة الوراثية، وبالدراسة .. وجد أن النباتات المحولة وراثيًّا كانت أقوى نموًّا، وأكثر إنتاجًا للدرنات، وكانت درناتها أعلى فى محتواها البروتينى، مع زيادة فى معظم الأحماض الأمينية الضرورية - وبصورة واضحة - عما كان عليه الحال فى النباتات غير المحولة وراثيًّا. وقد عبرت البطاطس عن البروتين الجديد المنقول إليها فى كل من السيتوبلازم والفجوات العصارية (Chakraborty وآخرون ٢٠٠٠).

● كذلك طورت فى الهند أصنافًا من البطاطا محولة وراثيًّا غنية فى قيمتها الغذائية بنقل هذا الجين (AmA1) إليها من *A. hypochondriacus*. يتحكم هذا الجين فى إنتاج

بروتينًا خاصًا فى السيتوبلازم والفجوات العصارية للبطاطا. وكما أسلفنا .. فإن هذا البروتين لا يسبب الحساسية، ويتميز بارتفاع محتواه من جميع الأحماض الأمينية الضرورية ويعد - تبعًا لمنظمة الصحة العالمية - مثاليًا لتغذية الإنسان (عن Ahloowalia & Khush ٢٠٠١)

• جرت - كذلك - محاولات لزيادة محتوى البرسيم الحجازى - الذى تتغذى عليه الأغنام - فى محتواها من الأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت، بهدف زيادة إنتاجها من الصوف، علمًا بأن الصوف ذاته عبارة عن بروتين غنى جدًا بالكبريت، وأن نموه يتحدد بمدى توفر الكبريت فى العليقة المستخدمة (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

٤ - الاعتماد على جينات ذات أصول حيوانية:

تمكن العلماء من نقل جين الدواجن ovalbumin إلى البرسيم الحجازى (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

التحسين الكمى والنوعى للمحتوى الكربوهيدراتى

لم يقتصر الاهتمام بعمليات التحول الوراثى لأجل التحسين الكمى والنوعى للمستوى الكربوهيدراتى على الجانب الغذائى فقط، بل شمل كذلك الجوانب الصيدلانية والصناعية، كما يلى:

أولاً: الجوانب الغذائية والصناعات الغذائية

من بين الأمثلة على عمليات التحول الوراثى لأجل التأثير فى المحتوى الكربوهيدراتى للمحاصيل الزراعية بما يجعلها أكثر صلاحية كغذاء، أو أكثر صلاحية لعمليات التصنيع الغذائى، ما يلى:

١ - التأثير فى المحتوى النشوى لدرنات البطاطس:

من بين الدراسات فى هذا المجال، ما يلى:

أ - زيادة المحتوى النشوى للدرنات.

لا تزيد نسبة النشا فى أصناف البطاطس التجارية المتداولة عن ٢٢٪، وبينما تكون

الأصناف التى تحتوى على تلك النسبة المرتفعة أو القريبة منها هى الأصلح لصناعة الشبس، فإن النسبة المثلى للنشا فى الدرنات لأجل صناعة الشبس هى ٢٥٪، وهى نسبة لا تتوفر فى أى من أصناف البطاطس التجارية أو سلالاتها وأنواعها البرية. وقد أمكن بالفعل تحقيق هذا الهدف باستعمال تقنيات الهندسة الوراثية بالاعتماد على جين حُصِلَ عليه من أحد الأنواع البكتيرية.

يؤثر هذا الجين فى عملية تمثيل النشا ذاتها. فجزئ النشا فالنشا – وهو الذى يتركب من جزيئات جلوكوز كثيرة متراصة – ينمو بنقل جزيئات الجلوكوز واحدة تلو الأخرى من مصدر مانح للجلوكوز يسمى ADP-glucose إلى مستقبل له. ويبدو أن الإنزيم المسئول عن هذا النقل يوجد بوفرة فى البطاطس، إلاّ أن الإنزيم المسئول عن تكوين الـ ADP-glucose لا يوجد بوفرة. وقد أمكن عزل هذا الجين (adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase) من أحد الأنواع البكتيرية ونقله إلى البطاطس، حيث أظهرت النباتات المحولة وراثيًا تمثيلاً سريعًا للـ ADP-glucose عن النباتات العادية، ومن ثم كانت أقدر على إنتاج النشا (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

ب – منع التحول الإنزيمى لنشا البطاطس إلى سكر

من الممكن تخزين البطاطس لفترات طويلة فى الحرارة المنخفضة، إلاّ أن النشا يتحول – فى تلك الظروف – إلى سكر، الأمر الذى يجعلها غير صالحة للقلى أو لصناعة الشبس. ولقد أمكن منع هذا التحول الإنزيمى للنشا بتحويل البطاطس وراثيًا بـ "tobacco invertase-inhibitor-like protein" (عن Kempken ٢٠٠١).

ثانيًا: الجوانب الصناعية

تلعب المركبات الكربوهيدراتية دورًا كبيرًا فى الصناعة، ونتناول هذا الأمر بالشرح من الجوانب التى لاقت اهتمام العاملين فى مجال الهندسة الوراثية.

المحتوى النشوى:

لا ينظر إلى النشا فى الصناعة كمصدر للسعرات الحرارية، ولكن كمادة خام يكمن أن

تصنع منها مواد أخرى تدخل فى صناعة الأغذية أو الصناعات الأخرى ويمكن لعمليات التخمر تحويل النشا إلى عديد من المركبات المفيدة الأخرى، علمًا بأن نحو ١٠٪ من الإنتاج الكلى للنشا يستعمل بهذه الطريقة.

يتكون النشا من مخلوط من نوعين من المركبات الكربوهيدراتية الكبيرة المعقدة، هما: الأميلوز amylose، والأميلوبكتين amylopectin. يتكون الأميلوز من سلسلة طولية من جزيئات الجلوكوز يتراوح طولها بين ١٠٠٠ إلى ٢٠٠٠٠ جزئ، ويتباين هذا الطول باختلاف النوع النباتى. أما الأميلوبكتين فهو يتكون من نحو ٣٠٠٠٠٠ إلى ثلاثة ملايين من جزيئات الجلوكوز المتفرعة. ويحدد المحتوى النسبى للأميلوز والأميلوبكتين فى النشا خصائصه الكيميائية والفيزيائية، وبالتالى مدى صلاحيته لإنتاج بعض المنتجات الصناعية، وللاستعمال فى مختلف الصناعات الغذائية.

يعتمد تمثيل النشا على ثلاثة إنزيمات، وهى التى يحدد مستواها النسبى الكميات النسبية لكل من الأميلوز والأميلوبكتين (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

وقد أمكن الحصول على نباتات بطاطس ذات مستوى منخفض من الأميلوز بالدرنات من خلال تثبيط التعبير عن الجين المسئول عن التشفير لتكوين الإنزيم granule-bound starch synthase (اختصارًا GBSS) باستعمال الشفرة العكسية (antisense RNA-mediated inhibtion). هذا علمًا بأن GBSS هو أحد الإنزيمات الرئيسية التى تلزم لتمثيل النشا، وهو المسئول عن تكوين الأميلوز. وقد أدت عملية التحول الوراثى تلك إلى منع تكوين الإنزيم GBSS، ومن ثم منع تكوين الأميلوز كلية، دون أن يكون لذلك أدنى تأثير على محصول الدرنات المحولة وراثيًا، أو محتواها من النشا والسكر، أو صفات الجودة الخاصة بها (Kuipers وآخرون ١٩٩٤).

كذلك أمكن تحويل البطاطس وراثيًا بالشفرة العكسية للجين المسئول عن تكوين الإنزيم ADP-glucose pyrophosphorylase – بهدف تثبيط تكوين النشا – وهو ما أنقص – بشدة محتوى الدرنات من المادة الجافة، مع حدوث انخفاض شديد مماثل فى محتواها من النشا، ومع تراكم فى محتواها من السكريات الذائبة. وقد حولت تلك

النباتات – التى يثبط فيها تمثيل النشا – حولت وراثيًا بالجين المسئول عن تمثيل الإنزيم levan sucrase من البكتيريا *Erwinia amylovora*. أدى هذا التعديل الوراثى الأخير إلى تراكم الفروكتان fructan بالدرنات بنسبة بلغت ٢١٪ من وزنها الجاف، وكان هذا الفروكتان مماثلاً تمامًا للـ levan المعزول من *E. amylovora* (Rober وآخرون ١٩٩٦).

المحتوى من المركبات الكربوهيدراتية الأخرى:

من بين حالات التحول الوراثى التى استهدفت التأثير فى إنتاج مختلف المواد الكربوهيدراتية الأخرى فى النباتات للأغراض الصناعية، ما يلى:

١ – تحويل التبغ والبطاطس والذرة وراثيًا بالجين fructosyl transferase من البكتيريا *Bacillus subtilis* لجعلها تخزن الفروكتان fructan، علمًا بأنها لا تخزن هذا المركب الكربوهيدراتى بصورة طبيعية.

٢ – تحويل التبغ وراثيًا بالجين mannitol-1-phosphate dehydrogenase (ورمزه mtlD) من البكتيريا *E. coli*؛ لأجل تمثيل كمية أكبر من المانيتول mannitol، علمًا بأن النباتات المحولة وراثيًا كانت أكثر تحملاً للتركيزات العالية من الأملاح.

٣ – تحويل التبغ وراثيًا بالجين myo-inositol o-methyl transferase من *Mesembryanthemum crystallimum* (نبات الثلج ice plant)؛ لأجل إنتاج الـ cyclic sugar alcohol من الـ myo-inositol.

٤ – تمثيل كميات صغيرة من التريهالوز trehalose من نباتات التبغ المحولة وراثيًا، علمًا بأن المركب يضاف إلى الأغذية المصنعة والمجففة لإكسابها طعمًا أفضل (عن Chawla ٢٠٠٠).

٥ – تحويل بنجر السكر وراثيًا بجين من الخرشوف لأجل إنتاج الفروكتانات.

٦ – كذلك تحويل التبغ وراثيًا بجين من *E. coli* لأجل إنتاج الفروكتانات أيضًا (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

ثالثا. الجوانب الصيدلانية

أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين بكتيرى (حُصل عليه من البكتيريا *Klebsiella pneumoniae*) يشفر لإنتاج إنزيم يتخصص فى تمثيل جزيئات نشا صغيرة حلقية يحتوى كل منها على ٧-٨ جزيئات جلوكوز. تعرف هذه الجزيئات باسم سيكلودكسترينات cyclodextrins، ويمكنها تكوين معقدات مع جزيئات أخرى صغيرة بداخلها، وبهذه الطريقة تكتسب تلك الجزيئات خصائص جديدة، مثل زيادة الثبات والقدرة على الذوبان. ولهذه السيكلودكسترينات استعمالات صيدلانية، وتستخدم فى التخلص من المركبات غير المرغوب فيها (مثل الكافيين) من الأغذية. ونظرًا لأن إنتاج تلك السيكلودكسترينات صناعيًا يعد أمرًا مكلفًا، فإن الحصول عليها من درنات البطاطس المحولة وراثيًّا مباشرة يعد أمرًا واعدًا (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

أمكن - كذلك - تحويل البطاطس وراثيًّا بالجينين المسئولين عن تمثيل الإنزيمين sucrose sucrose 1-fructosyltransferase، و fructan-fructan 1-fructosyltransferase والمتحصل عليهما من الخرشوف، والمسئولين عن تمثيل جزيئات الإنيولين inulin بكل أطوال السلاسل التى تتكون بصورة طبيعية، والتى تكونت فى درنات البطاطس التى حولت وراثيًّا بنسبة ٥٪ من الوزن الجاف، وكان ذلك مصاحبا بنقص فى محتوى تلك الدرنات من النشا، مما يدل على أن تمثيل الإنيولين لم يؤد إلى زيادة القدرة التخزينية للمواد الكربوهيدراتية فى الدرنات (Hellwege وآخرون ٢٠٠٠)

التحسين النوعى لمحتوى الدهون

تتحدد نوعية الزيوت والدهون بكل من محتواها من الأحماض الدهنية، وطول السلسلة، ودرجة عدم التشبع، والمجموعات الكيميائية المرتبطة بها إلخ.

وتتكون جميع الزيوت الصالحة لغذاء الإنسان (ومعظم الزيوت غير صالحة) من أحماض دهنية تتشابه فى احتوائها على ١٨ ذرة كربون مع رابطة واحدة غير مشبعة بها، أو رابطتين أو ثلاث. وباستثناء زيت الزيتون وزيت الكانولا (لفت الزيت) اللذان يتميزان بانخفاض محتواهما من الأحماض الدهنية المشبعة، ودهن الكاكاو الذى يتميز

بخصائص فيزيائية تجعله أكثر صلاحية لمنتجات التجميل والحلويات فإن باقي الزيوت تتماثل معًا إلى حد كبير.

وبالنسبة للأغراض الصناعية فإنه يلزم أن تكون الزيوت أو الدهون ذات محتوى عالٍ من أحماض دهنية مفردة لا مثيل لها أو غير عادية، أو ذات محتوى جديد من تلك الأحماض (جدول ١٨-١)، وجميعها أمور يصعب تحقيقها بوسائل التربية الكلاسيكية، لعدم توفرها - أصلاً - في الأصول الوراثية المتاحة، إذ لا تتوفر سوى في أنواع لا تُستأنس كمحاصيل زيتية، أو لا تهجن مع الأنواع المزروعة من المحاصيل الزيتية. هذا بينما يمكن تحقيق ذلك بوسائل الهندسة الوراثية بزيادة أو خفض التعبير الخاص ببعض الإنزيمات.

جدول (١٨-١): بعض الاستعمالات الخاصة للأحماض الدهنية والزيوت (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

نوع الدهن	مثال	المصدر	الاستعمالات
سلسلة متوسطة الطول (C_8-C_{14})	Lauric acid	Palm kernel, coconut, *Cuphea*	المنظفات
سلسلة طويلة (C_{22})	Erucic acid	Rapeseed, *Crambe*	الشحوم - النيلون - اللدائن
Epoxy	Vernolic acid	Soybean, *Veronia*	اللدائن
Hydroxy	Ricinoleic acid	Castor bean, *Lesquerella*	الأغطية - المغلفات
Trienoic	Linolenic acid	Flax	المغلفات - المجففات
Low melting solid	Cocoa butter	Cocoa bean	الشيكولاتة - مستحضرات التجميل
Wax ester	Jojoba oil	Jojoba	الشحوم - مستحضرات التجميل

وقد تبين لدى حصر عشرات الآلاف من الأنواع النباتية أن ٩٥٪ من كل الزيوت النباتية تتكون من ستة أحماض دهنية فقط. وعلى الرغم من ذلك فإنه يعرف أكثر من ألف من التراكيب المختلفة للأحماض الدهنية، يوجد معظمها في النباتات غير المستأنسة وقد وجدت لبعض من تلك الأحماض الدهنية استعمالات صناعية خاصة

بها، علمًا بأن بعضها يتواجد فى نباتات مستأنسة وبعضها الآخر فى نباتات برية غير مستأنسة وباستعمال تقنيات الهندسة الوراثية يمكن نقل الجينات المسئولة عن تمثيل تلك الأحماض الدهنية من الأنواع غير المستأنسة إلى الأنواع المحصولية التى نعرف جيدًا كيف نقوم بإنتاجها ونستفيد منها، وذلك بدلاً من محاولة استئناس نباتات برية

ويعد نبات الخروع *Ricinus communis* مثالاً لما يمكن عمله فى هذا المجال. ينمو هذا النبات بريًا فى عديد من الأنحاء، ولكنه يزرع تجاريًا على نطاق ضيق فى الهند تحتوى بذور هذا النبات على أربعة مركبات سامة للإنسان، هى lectin سام، ومركب يسبب حساسية شديدة، ومركب قلوانى (ألكالويدى) سام، وزيت يحتوى على ٩٠٪ ricinoleic acid، وهو المعروف بتأثيره المسهِّل الشديد وبخلاف معظم الأحماض الدهنية تحتوى السلسلة الهيدروكربونية للـ ricinoleic acid على مجموعة هيدروكسيل وكذلك على رابطة غير مشبعة ويتضمن الاستعمال الصناعى لزيت الخروع تصنيع النيلون، وتصنيع الشحوم، والسوائل الهيدروليكية، والبلاستك، ومستحضرات التجميل

وحتى إذا ما استئنست النباتات لأجل زيادة إنتاجها من الزيت فإننا سنواجه بما تحتويه بذور النبات من مركبات سامة ولقد أظهر البحث العلمى أن إنزيما واحدًا فى بذور الخروع يعمل على تحويل حامض أمينى عادى – هو حامض الأوليك oleic acid – إلى هذا الحامض غير العادى ricinoleic (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

ومن بين حالات التحول الوراثى التى استهدفت إحداث تغييرات فى نوعيات الدهون فى النباتات – لكل من الأغراض الغذائية والصناعية – ما يلى:

١ – أمكن تحويل لفت الزيت وراثيًا لأجل إنتاج حامض اللوريك lauric acid. وهو ذو ١٢ ذرة كربون، ويستعمل فى إنتاج الصابون والمنظفات الصناعية. وقد تحقق ذلك بواسطة شركة كال جين Calgene فى صنف تجارى أطلق عليه اسم Laurical، وقد حُصِلَ على الجين اللازم لذلك من شجرة California bay، وهو جين يقوم بوضع نهاية لتمثيل الأحماض الدهنية بعد تكوينها لإثنتى عشرة ذرة كربون بدلا من ثمانى عشرة ذرة من السلسلة الطبيعية للأحماض الدهنية بهذا النبات، وذلك دون التأثير على إنتاج

النبات من الدهون. وقد وصلت نسبة حامض اللوريك فى بعض سلالات لفت الزيت التى حولت وراثيًا إلى نحو ٤٠٪ من محتواها من الزيت.

٢ – كذلك تمكنت كالجين من تحويل لفت الزيت وراثيًّا بالجين C8/C10 thioestrase، حيث احتوت السلالات المنتجة على أحماض دهنية ذات سلاسل متوسطة الطول (8:0 أو 10:0) بنسبة وصلت إلى ٢٨٪ فى الزيت، مع انخفاض مماثل فى محتوى الزيت من الأحماض الدهنية الطويلة (C18)، مثل: حامض اللينوليك Linoleic acid، وحامض اللينولينك Linolenic acid (عن Williamson ٢٠٠٢).

٣ – يتميز زيت نبات لسان الثور borage (وهو *Borago officinalis*) باحتوائه على حامض جاما لينوليك gama-linoleic بنسبة ٢٥–٤٠٪، بينما ليس لهذا الحامض وجود فى زيت لفت الزيت. ولقد أمكن بنقل الجين Δ6-desaturase من لسان الثور إنتاج نباتات محولة وراثيًا من لفت الزيت تحتوى على ٢٠,٨٪ حامض أوليك oleic، و ٢٣,٤٪ حامض لينوليك linoleic، و ٤٣٪ حامض جاما لينوليك.

٤ – أدى التعبير عن جين الإنزيم thioestrase (TE) من النبات الاستوائى جوز جندم mangosteem (وهو: *Garcinia monostana*) فى لفت الزيت إلى تراكم حامض الاستياريك stearic به بنسبة ٢٠٪.

٥ – استخدمت الهندسة الوراثية – كذلك – فى تغيير طول سلسلة الأحماض الدهنية، ومن الأمثلة على ذلك أن التعبير عن جين الإنزيم TE من نبات California bay (وهو: *Umbellularia californica*) – الذى يحتوى على ٧٠٪ حامض لوريك lauric فى زيته – التعبير عنه فى *Arabidopsis thaliana* رفع نسبة تراكم الأحماض الدهنية المتوسطة الطول (١٢ ذرة كربون) به إلى ٢٥٪.

٦ – أمكن من خلال التعبير المعاكس anti-sense expression للـ Δ9-stearoyl-ACP-desaturase زيادة كمية حامض الاستياريك إلى نحو ٤٠٪ من المحتوى الكلى من الأحماض الدهنية فى لفت الزيت (عن Weber وآخرين ٢٠٠١).

٧ – أمكن زيادة مستوى الدهون ذات الأحماض الدهنية الـ monounsaturated،

بهدف تحسين قيمتها الغذائية وقد تحقق ذلك بتحويل التبغ وراثيًا بجين desaturase حُصِل عليه من الفئران، حيث أدى إلى زيادة مستويات كلا من حامضى الباليتوليك palmitoleic acid (وهو 16:1)، والأوليك oleic acid (وهو 18:1) (عن Chawla ٢٠٠٠)

تحسين محتوى الفيتامينات

فيتامين أ (وكذلك الكاروتينات والزانثوفيللات بصورة عامة)

يُعد المسار الكاروتينى الأيضى من المسارات الأساسية فى النباتات التى تقود إلى إنتاج مجموعتين من المركبات: الكاروتينات carotens، والزانثوفيللات xanthophylls. وتقود سلسلة جانبية من هذا المسار إلى إنتاج الهرمون سيتوكينين cytokinin الذى يتم عن طريق الإنزيم isopentenyl transferase

تعد الكاروتينات من أهم الصبغات فى عديد من الثمار والخضروات، كالطماطم، والبقدونس، والبرتقال وغيرهم. وفى الطماطم يكون مرد اللون الأحمر إلى صبغة الليكوبين lycopene ومن بين أكثر من ٦٠٠ من المركبات الكاروتينية التى تتكون بصورة طبيعيه فى النباتات، فإن ثلاثة منها فقط لها نشاط فيتامين أ، وهى: الـ α-carotene، والـ β-carotene، والـ ε-carotene وتلك الكاروتينات، إضافة إلى γ-carotene، والكاروتينات الليكوبين، والليوتين lutein – وهى التى لا تتحول إلى فيتامين أ – يعتقد بأنها توفر حماية للجسم من الإصابة ببعض أنواع الأمراض السرطانية، مثل سرطان الثدى، وسرطان الرحم، وسرطان البروستاتا كذلك ترتبط الكاروتينات باستجابة مناعية للجسم تحمى الجلد من الأشعة فوق البنفسجية. وبالإضافة إلى ذلك فإنها توفر حماية ضد الأكسدة لإنزيمات الكبد التى تعرف باسم glutathione Phase II detoxification enzymes، وبذا . فهى تُسهم فى التخلص من الملوثات والسموم التى قد تتواجد فى الجسم.

أما المجموعة الثانية من الكاروتينات – الزانثوفيللات - فإن منها – كذلك – مركبات ذات خصائص بيولوجية إيجابية، مثل الـ canthaxanthin (يوفر حماية من الأشعة فوق

البنفسجية)، والـ cryptoxanthin، والـ zeaxanthin، والـ astaxanthin. ويبدو أن هذه المركبات توفر حماية لفيتامين أ وفيتامين E ومركبات كاروتينية أخرى. ومثلما عليه الحال مع الكاروتينات، يبدو أن الزانثوفيللات تكون فعالة فى أنسجة خاصة، فمثلاً يُعتقد بأن الـ cryptoxanthin يوفر حماية لأنسجة الرحم

ولقد أطلق على الكاروتينات عدة أسماء تصف مصدرها البيولوجى وأهميتها الغذائية والصحية والطبية، مثل الأسماء phytochemicals، و phytonutrients، phytofoods، و functional foods.

وعلى سبيل المثال فإن تثبيط فعل الإنزيم phytoene synthase الذى يعمل على إنتاج الكاروتين الأول فيتوين phytoene ربما يؤدى إلى إنتاج طماطم بدرجات مختلفة من اللون الأصفر وفى الجانب الآخر . فإن التعبير الزائد بصورة غير عادية لهذا الإنزيم قد يؤدى إلى إنتاج طماطم أكثر أحمرارًا وأكثر قيمة فى محتواها من الكاروتينات (عن Wehling ٢٠٠٠).

ومن أبرز جهود الهندسة الوراثية لتحسين مستوى الكاروتينات النشطة بيولوجيًا كفيتامين تلك التى بُذلت لأجل إنتاج أرز غنى بفيتامين أ، أو ما أصبح يعرف بالأرز الذهبى golden rice

يعد الأرز من أهم المحاصيل الغذائية فى عديد من دول العالم، وخاصة فى جنوب وجنوب شرق آسيا

وعلى الرغم من أن الغلاف الثمرى الخارجى للأرز يعد غنيًا فى الفيتامينات، والزيوت، وبعض العناصر، إلاّ أنه يتم التخلص منه أثناء عملية ضرب الأرز وتلميعه، علمًا بأن الحبة يجب أن تلمع بعد إزالة الغلاف الخارجى لأن الزيوت المتبقية سريعا ما تتزنخ، مما يفقد حبة الأرز صلاحيتها للاستعمال كغذاء هذا .. ولا يحتوى الإندوسبرم المتبقى بعد ذلك على فيتامين أ أو أى من المركبات التى يتكون منها الفيتامين، مثل البيتاكاروتين، كما لم يكتشف أى جيرمبلازم من الأرز يحتوى على صبغات صفراء من تلك التى يتكون منها فيتامين أ فى الإنسان والحيوان

ولقد أمكن التعبير عن بادئ فيتامين أ (البيتاكاروتين) فى الأرز بتحويله وراثيًّا بالجين phytoene desaturase من البكتيريا *Erwinia uredovora*، والجينين phytoene synthase والـ lycopene β-cyclase من النرجس البرى daffodil. (وهو *Narcissus pseudonarcissus*). وكما كان متوقعًا اكتسب إندوسبرم الأرز لونًا أصفر واحتوى على كميات متباينة من البيتا كاروتين (بادئ فيتامين أ) بالإضافة إلى نوعين آخرين من المركبات الكاروتينية، هما: اللوتين lutein، والزيازانثين zeaxanthin، اللذان يلعبان دورًا فى تقليل ظهور البقع الجلدية المتغيرة اللون لدى المرضى المتقدمين فى العمر

تُحمل هذه الصفة فى صنف الأرز TP 309، وهو صنف لم يلق – بكل أسف – أية قبول من قبل منتجى الأرز على المستوى العالم كله؛ مما يعنى ضرورة نقل تلك الصفة بطرق التهجين والانتخاب إلى سلالات أرز أخرى أكثر قبولاً، أو محاولة إنتاج سلالات أخرى محولة وراثيًا تكون أفضل من سابقتها، هذا بالإضافة إلى ضرورة توعية مستهلكى الأرز بالقيمة الغذائية للأرز الذهبى اللون (عن Zeigler ٢٠٠١).

فيتامين إى أو هـ (E)

تعرف التوكوفيرولات tocopherols (وهى دهون ذائبة) – مجتمعة – باسم فيتامين إى vitamin E، وهى من مضادات الأكسدة الهامة، وتتوفر فى بعض الزيوت، مثل زيت فول الصويا، وزيت الذرة، وزيت اللفت، ويؤدى تواجدها بصورة أكبر من حاجة الجسم إلى تقليل مخاطر أمراض الشرايين التاجية، وإلى زيادة القدرات المناعية للجسم، وتأخير الشيخوخة التى تظهر كنتيجة لحدوث تدهور تدريجى فى مختلف وظائف الأعضاء

ونجد فى معظم البذور الزيتية أن التوكوفيرول الرئيسى هو الـ γ-tocopherol وهو قليل النشاط – نسبيًا – كبادئ للـ α-tocopherol الذى يعد الصورة النشطة لهذا الفيتامين ويتطلب تحول γ-tocopherol إلى α-tocopherol إضافة مجموعة مثيل ($-CH_3$)، وقد تمكن الباحثون من عزل جين يشفر لإنزيم مسئول عن هذا التفاعل (تفاعل المثلمة methylation reaction) فى الأنسجة النباتية الخضراء وبتزويد الجين بـ

promoter خاص بالبذور ونقلهما إلى النبات التجريبى *Arabidopsis thaliana* أمكن إنتاج نباتات كان فيها ٩٥٪ من التوكوفيرول على الصورة النشطة، مع زيادة مقدارها ٨٠٪ فى محتواها من فيتامين E النشط (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

تحسين محتوى الحديد

ترجع مشكلة نقص الحديد فى غذاء الإنسان فى الدول النامية إلى عاملين، هما:

١ - انخفاض محتوى معظم الأغذية من العنصر، وخاصة الأرز الذى يعد أهم محصول غذائى فى عديد من دول العالم، وخاصة فى جنوب وجنوب شرق آسيا

٢ - ضعف امتصاص الإنسان للعنصر الذى يحصل عليه من مصادر نباتية

وبينما نجد فى الدول المتقدمة أن معظم مصادر الحديد هى حيوانية الأصل (heme iron) وسريعة الامتصاص، كما فى اللحوم، والبيض، فإن معظم ما يتناوله فقراء العالم الثالث من حديد يوجد فى صورة نباتية تكون ضعيفة الامتصاص وتلك الصورة النباتية (nonheme iron) يضعف امتصاصها بفعل حامض الفيتيك phytic acid، وهو مركب تخزين فوسفورى يتواجد فى إندوسبرم الحبوب النجيلية وبذور البقوليات هذا بالإضافة إلى أن الأغذية التى تحفز امتصاص الحديد ذات الأصل النباتى - كالفاكهة والخضر الورقية - لا تكون عادة متاحة بوفرة فى الدول النامية، إلاّ أن امتصاص ذلك الحديد يمكن تحسينه باستهلاك الإنسان لكميات إضافية من البيبتيدات الغنية فى السيستين cystein-rich peptides كذلك فإن توافر البيتا كاروتين فى غذاء الإنسان يحفز امتصاص الحديد ذات الأصل النباتى

ولقد حاول علماء الهندسة الوراثية البناء على تلك الحقائق لأجل إنتاج أرز يكون أكثر محتوى من الحديد، ويكون ما به من العنصر أكثر صلاحية للامتصاص، فَجَرَتْ محاولات فى الاتجاهات التالية:

١ - إنتاج أرز محول وراثيًا بجين حُصل عليه من البقوليات يشفر لتمثيل البروتين فرّيتين ferritin الذى يحتوى على الحديد.

٢ - نقل جين يتحكم فى الإنزيم المقاوم للحرارة فيتيز phytase، الذى يقوم بتحليل

حامض الفيتيك، وذلك من الفطر *Asperigillus fumigatus*، وجين البيتا جلوكانيز β-glucanase من الشعير الذى يحدد موضع الفيتيز فى الأبوبلاست apoplast

٣ – التعبير عن الزائد عن البروتين الغنى بالسيستين: الميتالوثايونين metallothionein.

٤ – تلقيح سلالات الأرز الغنية بالحديد مع تلك الغنية بالبيتا كاروتين، لإنتاج سلالات غنية فى كليهما، لأجل تحفيز امتصاص الحديد (عن Zeigler ٢٠٠١)

التحول الوراثى لتحسين صفات الجودة فى بعض الخضر الثمرية

تحسين القدرة التخزينية لثمار الطماطم، وما يرتبط بذلك من صفات ثمرية أخرى

يؤثر تحسين القدرة التخزينية لثمار الطماطم إيجابيًا فى عدد من صفات الجودة الثمرية الأخرى، الأمر الذى قد يحدث بصورة مباشرة أو غير مباشرة، والذى يتوقف على الاستراتيجية التى تتبع لأجل تحسين القدرة التخزينية، وهى التى تعتمد جميعها على خاصية تأخير اكتمال نضج الثمار

أخذت عملية تعديل جينات الطماطم التى تتحكم فى نضج الثمار اتجاهين. اتجاه نحو خفض إنتاج الثمار ذاتها من الإثيلين، الذى يعد الأساس الفسيولوجى لعملية النضج، واتجاه آخر لتأخير فقد الثمار لصلابتها فى المراحل الأخيرة من النضج.

أولاً: استراتيجية خفض إنتاج الثمار من الإثيلين

تنتمى الطماطم إلى مجموعة الثمار الكلايمكتيرية، مثل التفاح، والكمثرى، والقاوون، والموز، وهى التى ينطلق منها الإثيلين ذاتيًا فى بداية مرحلة اكتمال التكوين ولهذا الهرمون – الإثيلين – تأثيرات عديدة، منها كسر سكون البذور، وتحفيز النضج، وذبول الأوراق وسقوطها، وذبول الأزهار.

يتم تمثيل الإتيلين من أكثر المركبات البادئة شيوعًا، وهو S-adenosylmethionine (اختصارا. SAM)، وهو الذى يتكون بكل من المثيونين methionene والـ ATP ويكون

تمثيل الإثيلين فى خطوتين محددتين يتحكم فيهما جينات مختلفة. يتحكم إنزيم الـ ACC synthase (اختصارًا: ACS) فى تحويل SAM إلى 1-aminocylopropane-1-carboxylate (اختصارًا: ACC)، وهو الذى يتحول بواسطة إنزيم ACC oxidase (اختصارًا: ACO) إلى إثيلين. وفى جميع النباتات التى درست حتى الآن .. يُشفَر لـ ACS بعائلة مركبة من الجينات المتعددة. وفى الطماطم – على سبيل المثال – يوجد ما لا يقل عن ١٠ جينات تشفر لـ ACC synthases مختلفة، وهذه الجينات على درجة عالية من التنظيم، ويستحث كل منها على العمل بطريقة مختلفة تحت مؤثرات داخلية تطورية أو خارجية بيئية. ويوجد جينان من الـ ACS مسئولين عن تمثيل إنزيم الـ ACS الذى يتكون أثناء نضج ثمار الطماطم. ويتم تنظيم عمل هذه الجينات إيجابيًّا بواسطة الإثيلين. وهذا التنظيم يفسر عملية تزايد تمثيل الإثيلين أثناء نضج الثمار؛ إذ يؤدى تمثيل قدر ولو ضئيل من الإيثلين إلى حدوث زيادة كبيرة وسريعة فى إنتاج الهرمون عند بداية النضج. ويبدو أن عملية تمثيل الـ ACC هى أكثر الخطوات تنظيمًا فى تمثيل الإثيلين. كذلك فإن الـ ACO يُنَظِّم تمثيله إلى حد ما – حيث يحث إنتاج الإثيلين – ولكنه لا يبدو مُحَدِّدًا لإنتاجه فى الظروف الطبيعية.

ونظرًا لأن أى نقص فى نشاط أى من الإنزيمين ACC synthase، و ACC oxidase يقود تلقائيًّا إلى نقص فى إنتاج الإثيلين .. لذا كان الاتجاه نحو تثبيط عملهما باستخدام الشفرة المعاكسة، (أو بالتثبيط المشترك cosuppression).

كذلك يمكن وقف نشاط الجينات التى تلعب دورًا فى تمثيل الإثيلين بطريقة بديلة تتضمن التعبير عن جين يشفر للإنزيم ACC deaminase. يقوم هذا الإنزيم بتحليل ACC إلى الحامض α-ketobutyric acid، وهو المادة التى تتكون منها الأحماض الأمينية ذات السلاسل المتفرعة. وكان هذا الجين قد عُزِلَ أصلاً من أنواع من الجنس البكتيرى *Pseudomonas* (مثل: *P. chloraphis*) عزلت من التربة. وعند التعبير عن هذا الجين فى النباتات يتنافس الإنزيم مع الـ ACO على الـ ACC، فإذا ما تواجدت كمية كافية من الـ ACC deaminase، فإن كميات الـ ACC التى تتراكم بالنبات تقل كثيرًا عما فى الحالات العادية. يعمل هذا الإنزيم على فتح حلقة الـ ACC cyclopropane، لإنتاج الـ

α-ketobutyrate وفى هذه الحالة .. فإن بادئ الإثيلين ACC يختفى من المسار الأيضى؛ مما يضعف إنتاج الإثيلين بشدة.

وفى اتجاه بديل . نجح الباحثون فى تحويل الطماطم وراثيًا بجين غريب عنها، مثل الجين S-adenosylmethionine hydrolase (اختصارًا AdoMet hydrolase) الذى عُزِلَ – أصلاً – من البكتيريوفاج تى ٣ bacteriophage T3 يقوم هذا الإنزيم (AdoMet hydrolase) بتحويل SAM إلى كل من methylthiodenosine، و homoserine ولقد عبّرت ثمار نباتات الطماطم المحولة وراثيًا عن SAMase خلال مختلف مراحل النضج وكانت قدرتها على إنتاج الإثيلين منخفضة.

وبذا . فإن أهم الجينات التى تُستهدف للحد من إنتاج الإثيلين بالثمار، هى ما يلى

AdoMet synthetase
N-ACC malonyltransferase
ACC synthase
ACC oxidase
ACC deaminase

(عن Good وآخرين ١٩٩٤، و Wehling ٢٠٠٠، و Klee & Clark ٢٠٠٢).

ولقد أمكن وقف التعبير عن أى من الإنزيمات: ACC synthase، أو ACC oxidase، أو phytoene synthase فى نباتات الطماطم المحولة وراثيًا باستعمال تقنية الشفرة المضادة antisense technology، وتبين ثبات وراثة الصفات المنقولة فى النباتات التى حولت وراثيًا.

إن التحويل الوراثى للطماطم باستخدام أى من Antisense ACC synthase، أو Antisense ACC oxidase يُحدث بها تثبيطًا لهذين الإنزيمين وتُظهر بطئًا فى كل من النضج وفى الوصول إلى مرحلة ما بعد النضج. كذلك تُظهر النباتات المحولة وراثيًا بالـ Acc oxidase antisense تأخيرًا فى شيخوخة الأوراق (عن Grierson & Fray ١٩٩٤)

وقد أنتج صنف الطماطم المعدل وراثيًا Freshworld Farms Endless Summer (فى عام ١٩٩٥)، حيث تمت هندسته وارثيًا بالتثبيط المزدوج cosuppression لجين ACC synthase، مما أدى إلى زيادة فترة احتفاظ الثمار بجودتها لمدة ٣٠-٤٠ يومًا بعد الحصاد، علمًا بأن هذه الثمار تنضج بصورة طبيعية إذا ما عوملت بالإثيلين من مصدر خارجى (عن Wehling ٢٠٠٠)

ثانيًا استراتيجية إبطاء فقد الثمار لصلابتها

بالنسبة للاتجاه نحو تأخير فقد الثمار لصلابتها فى المراحل الأخيرة من النضج ركز العلماء على تثبيط عمل الإنزيمات التى تقوم بتحليل المكونات الخلوية المسئولة عن صلابة الثمار، مثل السيليليوز، والهيمى سيليليوز، والبكتينات. ومن بين إنزيمات الـ pectinase التى تعمل على البكتينات الإنزيم: بولى جالاكتورونيز polygalacturonase (اختصارا PG)، الذى يقوم بتحليل الروابط α-1,4 فى حامض البولى جالاكيترونك polygalacturonic acid فى الجدر الخلوية. وهذا الإنزيم يتم تمثيله - خاصة - أثناء النضج، حيث يطلق فى المسافات بين خلايا الجدار الثمرى (البيريكارب pericarp) وتعد وظيفة إنزيم الـ PG - أثناء النضج الطبيعى للثمار - تحليل بكتين الصفيحة الوسطى بين خلايا الجدر الثمرية، مما يؤدى إلى فقد الثمار لصلابتها.

ومن أشهر حالات تثبيط تحليل البكتين بالهندسة الوراثية تثبيط جين الإنزيم PG باستخدام تقنية الشفرة المعاكسة (الرنا المعاكس للشفرة antisense-RNA technique)، وهى التى استخدمت فى إنتاج صنف الطماطم FlavrSavr

ومن بين الاتجاهات الأخرى التى طبقت فى ذات المجال (تقنية الشفرة المعاكسة) تثبيط الإنزيم pectin methylesterase (الذى يلعب دورًا فى تحلل البكتينات)، والإنزيم 1,4-β glucanase (الذى يعتقد بأنه يلعب دورًا فى طراوة الثمار لما يعرف عنه من تحليله للهيمى سيليليوز الرئيسى. xyloglucan) (عن Wehling ٢٠٠٠).

إن من أبرز مزايا الجين المعاكس للشفرة أنه يمنع التعبير عن تكوين إنزيم البولى

جالاكتورونيز polygalacturonase، ويبطئ من عملية فقد الثمار لصلابتها، ويمنع وصولها إلى مرحلة زيادة النضج يكون نشاط إنزيم البولى جالاكتورونيز فى ثمار النباتات الحاملة لهذا الجين منخفضا جدًا أو معدوما، ويكون فقدها لصلابتها بطيئا جدًا. وتستخدم تلك التقنية – حاليًا – على نطاق واسع فى إنتاج أصناف جديدة يمكن حصاد ثمارها بعد اكتمال تلوينها – حيث تكون أكثر جودة – مع استمرار احتفاظها بقدرتها على تحمل التداول والتخزين

ومن الأمثلة البارزة على التطبيق التجارى لتلك التقنية صنف الطماطم FlavrSavr الذى يحتوى على الـ antisanse construct للجين الخاص بتكوين الإنزيم بولى جلاكتورونيز، والذى كان أول صنف تجارى يُنتج بالاعتماد على تلك التقنية، وأول صنف لمحصول غذائى ينتج بطريق الهندسة الوراثية (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

وتُظهر النباتات التى تتلقى نسختان من جين الـ polygalacturonose antisense مستويات من البولى جالاكتورونيز تبلغ حوالى ١٪ من المستوى الطبيعى، كما تنخفض فيها – كذلك – كل الصور الشبيهة isoforms للإنزيم، وتكون غالبية نسبة الـ ١٪ المتواجدة فى صورة polygalacturonase 1، بينما لا يحدث فيها أى انخفاض فى مستوى الـ polyuronides الذائبة، إلاّ أن أوزانها الجزيئية تزداد (عن Grierson & Fray ١٩٩٤)

حالة الطماطم فلافرسافر:

كان صنف الطماطم FlavrSavr أول غذاء محول وراثيًا يعرض للبيع للجمهور (وذلك فى ٢١ مايو ١٩٩٤)، بعد اعتماد إدارة الغذاء والدواء Food and Drug Adminstration الأمريكية له فى ١٨ مايو ١٩٩٤، وهو صنف محول وراثيًا باستعمال مضاد شفرة جين البولى جالاكتورونيز antisense polygalacturonase gene. ولقد أنتج هذا الصنف بهدف حصاد الطماطم وهى مكتملة النضج – دون أن تفقد صلابتها – ومن ثم تكون أفضل طعما وهذا الجين (جين الـ polygalacturonase) عزل من الطماطم، ثم أعيد إليها فى وضع الشفرة المضادة antisense orientation

يعد البولى جالاكتورونيز هو الإنزيم الرئيسى فى عملية أيض البكتين أثناء نضج الثمار، وهو يرتبط بفقد الثمار لصلابتها ويؤدى استعمال الشفرة المضادة لهذا الجين فى تحويل النباتات وراثيًا إلى تقليل التعبير عن جين البولى جالاكتورونيز فى الطماطم ويتسبب فى تقليل ذوبان البكتين فى الثمار أثناء نضجها، الأمر الذى يؤدى إلى احتفاظ الثمار المكتملة النضج بصلابتها لفترة طويلة، كما يسمح بإجراء عملية الحصاد بعد اكتمال نضج الثمار على عروشها، الأمر الذى يزيد من جودتها.

ولقد أنتجت أولى سلالات الطماطم المحولة وراثيًا باستعمال polygalacturonase antisense construct أخذ الرمز *p*CGN 1416.

وتبين أن غياب إنزيم بولى جالاكتورونيز فى نباتات الطماطم المحولة وراثيًا يكسب الثمار قدرة على البقاء بحالة جيدة وصلبة عند تأخير الحصاد حتى اكتمال التلوين، كما يزيد من مقاومتها لبعض الفطريات التى تصيب ثمار الطماطم – عادة – بعد الحصاد.

وبالنسبة للثمار المنتجة لغرض التصنيع أدى غياب التعبير عن إنزيم البولى جالاكتورزنيز فيها إلى حدوث تحسن جوهرى فى قوام العصير ولزوجته

وفيما عدا ذلك .. لم تختلف النباتات المحولة وراثيًا عن نظيراتها العادية فى أى من الصفات البستانية الأخرى، وذلك فى عديد من الاختبارات الحقلية والمعملية فباستثناء تأثير الـ antisense gene على تركيب البكتين فى الثمرة لم تظهر له أية تأثيرات على محتوى الثمار من الفيتامينات والعناصر المغذية، والتوماتين tomatine، والطعم، ورقم الحموضة pH، والحموضة المعايرة، واللون، والحجم، والقدرة على التأقلم والمنافسة تحت الظروف الطبيعية ... إلخ (جدول ١٨–٢).

كذلك ثبت أن ثمار الطماطم FlavrSavr ليست معرضة لأية إصابات غير عادية بالأمراض أو الآفات، ولا تشكل أية خطورة على البيئة.

وتحتوى نباتات هذا الصنف على تتابعات نيكليوتويدية معينة تم إدخالها فى الهيئة الكروموسومية للطماطم من خلال الناقلات الثنائية التكوين binary vectors: *p*CGN1547،

أو pCGN1548، أو pCGN1549، أو pCGN1557، أو pCGN1558، أو pCGN1559، أو pCG1578 بالإضافة إلى جين الـ antisense polygalacturonase، مع الـ promoter، والـ terminator الخاصين به (عن Kramer & Redenbaugh ١٩٩٤).

جدول (١٨-٢): المحتوى الغذائي لثمار صنف الطماطم Savr Flavr مقارنة بالمدى الطبيعي ومحتوى سلالات الشاهد غير المحولة وراثيًا (عن Kramer & Redenbaugh ١٩٩٤)

المحتوى	المدى الطبيعي للطماطم	المدى المقدر للسلالات المحولة وراثيًا	المدى المقدر لسلالات الشاهد	وحدة القياس
البروتين	٠,٨٥	١,١٤-٠,٧٥	١,٠٥-٠,٥٣	جم
فيتامين أ	١٩٢-١٦٦٧	١٦٠٠-٣٣٠	٢٢٠٠-٤٢٠	وحدة دولية
الثيامين (ب١)	١٦-٨٠	٧٢-٣٨	٦٤-٣٩	ميكروجرام
الريبوفلافين (ب٢)	٢٠-٧٨	٣٦-٢٤	٣٦-٢٤	ميكروجرام
فيتامين ب٦	٥٠-١٥٠	١٥٠-٨٦	١٤٠-١٠	ميكروجرام
فيتامين جـ	٨,٤-٥٩	٢٩,٢-١٥,٣	٢٩,٢-١٢,٣	مجم
حامض النيكوتينك (النياسين)	٠,٣-٠,٨٥	٠,٧٠-٠,٤٣	٠,٧٦-٠,٤٣	مجم
الكالسيوم	٤,٠-٢١	١٣-٩	١٢-١٠	مجم
المغنيسيوم	٥,٢-٢٠,٤	١٢-٧	١٣-٩	مجم
الفوسفور	٧,٧-٥٣	٣٧-٢٥	٣٨-٢٩	مجم
الصوديوم	١,٢-٣٢,٧	٥-٢	٣-٢	مجم
الحديد	٠,٢-٠,٩٥	٠,٤١-٠,٢	٠,٤٢-٠,٢٦	مجم

تأثير التحول الوراثي لزيادة القدرة التخزينية على الصفات الثمرية الأخرى

يلخص جدول (١٨-٣) التأثيرات التي يُحدثها تثبيط فعل بعض الجينات المؤثرة في نضج ثمار الطماطم وزيادة قدرتها التخزينية على الصفات الثمرية الأخرى.

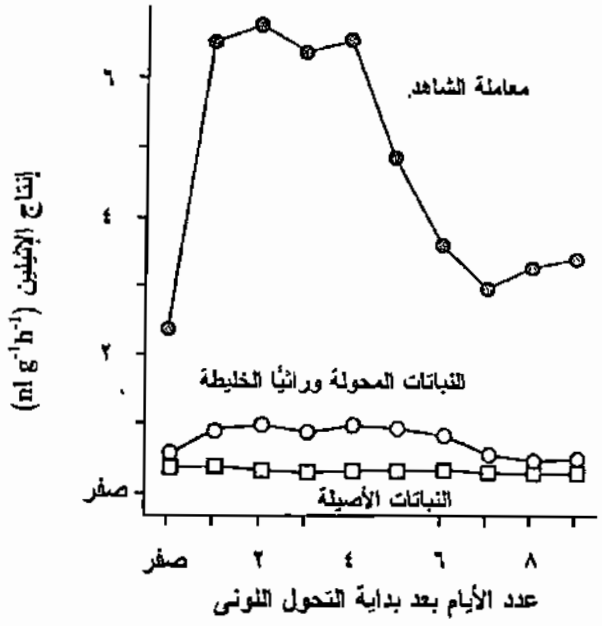
وفي أشكال (١٨-١) إلى (١٨-٣) يظهر تأثير التحولات الوراثية على عدد من الصفات، فيوضح شكل (١٨-١) تأثير التحول الوراثي بالشفرة المضادة للـ ACC

oxidase على إنتاج الثمار من الإثيلين، وفى شكل (١٨-٢) يظهر تأثير التحول الوراثى بالجين ذاته على تكوين الصبغات بالثمار. أما شكل (١٨-٣) فيظهر فيه تأثير التحول الوراثى بالشفرة المضادة للـ polygalacturonase على نشاط الإنزيم بالثمار خلال مراحل نضجها (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

جدول (١٨-٣): التأثيرات التى يُحدثها تثبيط فعل بعض الجينات المؤثرة فى نضج ثمار الطماطم (عن Grierson & Fray ١٩٩٤).

الجين	الوظيفة	التحسُّن
Polygalacturonase	الجدر الخلوية	زيادة القدرة التخزينية (تحسين الطعم كتأثير غير مباشر) تحسين خصائص التصنيع زيادة القدرة على مقاومة أعفان الثمار أثناء التخزين
Pectinestrase	الجدر الخلوية	تحسين خصائص التصنيع
Phytoene synthase	المواد الكاروتينية	تحسن (فيتامين أ)
ACC oxidase	C_2H_4	التحكم فى النضج، ومنع زيادة النضج، وزيادة القدرة التخزينية، وخفض خسائر التخزين
ACC synthase	C_2H_4	التحكم فى النضج، ومنع زيادة النضج، وزيادة القدرة التخزينية، وخفض خسائر التخزين

ولقد كان عصير ثمار الطماطم المحولة وراثيًا بالشفرة المعاكسة للـ polygalacturonase أكثر لزوجة (معبرًا عن ذلك بمسافة انسياب العصير فى وحدة الزمن) عن عصير الطماطم غير المحولة، علمًا بأن نشاط البولى جالاكتورونيز فى ثمار تلك النباتات كان أقل من ١٪ من النشاط الطبيعى له فى الثمار غير المحولة وراثيًا فى جميع مراحل نضج الثمار. وعلى الرغم من أن صلابة تلك الثمار لم تختلف عما فى الكنترول، إلا أن قدرتها التخزينية وقدرتها على تحمل النقل دون أن تحدث بها أضرار كانت أفضل (Schuch وآخرون ١٩٩١).

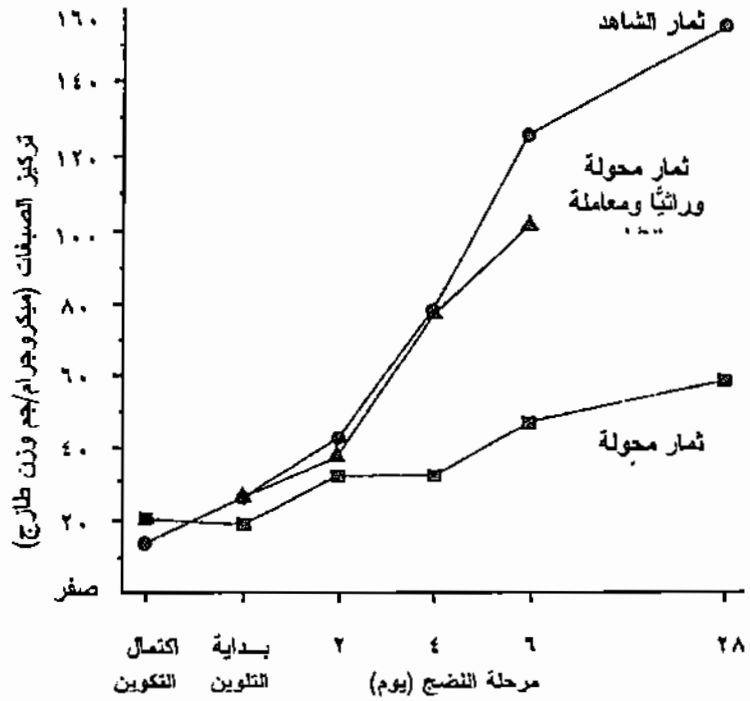


شكل (١٨-١): إنتاج الإثيلين فى ثمار الطماطم المحولة وراثيًا بالـ **antisense ACC oxidase construct**. يلاحظ أن الزيادة الكبيرة التى تحدث فى إنتاج الثمار غير المحولة وراثيًا (معاملة الشاهد) تنخفض بشدة فى الثمار التى تحمل جين **antisense** واحد (الخليطة وراثيًا)، وتنعدم تقريبًا فى النباتات المحولة وراثيًا الأصيلة التى تحمل جينين **antisense**.

تحسين القدرة التخزينية لثمار الكنتالوب (القاوون)، وما يرتبط بذلك من صفات ثمرية أخرى

اتبعت مع الكنتالوب استراتيجية خفض إنتاج الإثيلين بالثمار مثلما اتبعت مع الطماطم، وذلك بهدف زيادة قدرتها التخزينية؛ فقد تمكن Ayub وآخرون (١٩٩٦) من إنتاج كنتالوب شارانتيه يعبر فيه عن الشفرة العكسية لجين الإنزيم ACC oxidase، وهو الإنزيم الذى يُتَّم الخطوة الأخيرة فى عملية تمثيل الإثيلين، وذلك بتحول 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (اختصارًا: ACC) إلى إثيلين. ولقد وجد أن إنتاج الإثيلين فى ثمار النباتات المحولة وراثيًا يقل عن ٥٠٪ من إنتاجه فى ثمار النباتات العادية غير المحولة وراثيًا، كما توقفت فى هذه الثمار عملية النضج تمامًا قبل

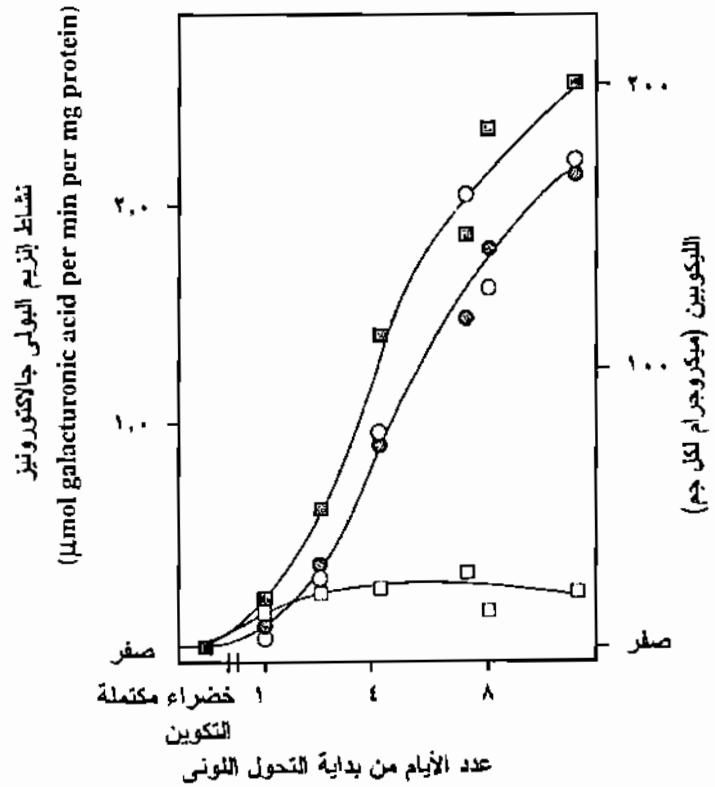
القطف وبعده، وأمكن وقف هذا التأثير - واستكمال الثمار لنضجها - بمعاملتها بالإثيلين. ويمكن إجراء هذه المعاملة قبل الوقت المتوقع لاستهلاك الثمار بفترة قصيرة، مما يعنى إمكان احتفاظ الثمار بقدرتها التخزينية وصفاتها الجيدة لفترة طويلة.



شكل (١٨-٢): تكوين الصبغات فى ثمار الطماطم المحولة وراثيًا بالـ antisenic ACC oxidase construct. يلاحظ أن معدل تكوين الصبغات فى الثمار التى قطفت فى مرحلة اكتمال التكوين وهى خضراء المخفض بشدة مقارنة بما حدث فى ثمار الشاهد غير المحولة وراثيًا، بينما استعادت الثمار المحولة وراثيًا قدرتها على تكوين الصبغات عندما عوملت بمصدر خارجى للإثيلين

وقد أوضحت الدراسات أن نباتات الكنتالوب شارانتيه المحولة وراثيًا والتى تحمل الشفرة العكسية للجين ACC oxidase (وهى التى تنتج ثمارها الإثيلين بمعدل يقل عن ٥٠ ٪ من المعدل الطبيعى) أوضحت الدراسات أنها لم تُظهر أى من أعراض أضرار البرودة (تكون النقر السطحية والتلون البنى بالقشرة) لدى تخزينها على ٢°م لمدة ٣-٤ أسابيع، على عكس الحال فى ثمار النباتات التى لم تحول وراثيًا. كما تبين أن منع

إنتاج الإثيلين فى ثمار النباتات العادية بمعاملتها - قبل وصولها إلى مرحلة الكلايمكتيرك - بالمركب 1-methylcyclopropene منع - كذلك - ظهور أعراض أضرار البرودة ولقد كانت القدرة على تحمل البرودة فى ثمار النباتات المحولة وراثيًا مصاحبة بالفشل فى تراكم الإيثانول والأسيتالدهيد، وبعدم حدوث أى تدهور فى الأغشية الخلوية أثناء التخزين البارد. كذلك أدت معاملة ثمار النباتات المحولة وراثيًا بالإثيلين قبل تعريضها للحرارة المنخفضة إلى حدوث زيادة فى ظهور أعراض أضرار البرودة (Ben Amor وآخرون ١٩٩٨)



شكل (١٨-٣): نشاط إنزيم البولى جالاكتورونيز galacturonase، ومحتوى الثمار من الليكوبين أثناء النضج فى نباتات الطماطم المحولة وراثيًا بالـ antisense polygalacturonase construct تظهر فى الشكل مقارنة بين نشاط الإنزيم (المربعات السوداء) ومحتوى الليكوبين (الدوائر السوداء) فى الثمار المحولة وراثيًا، مقارنة بنشاط الإنزيم (المربعات البيضاء) ومحتوى الليكوبين (الدوائر البيضاء) فى الثمار غير المحولة يلاحظ أن جين التحول الوراثى يخفض بشدة نشاط إنزيم البولى جالاكتورونيز، ولكنه لا يؤثر على تراكم تكوين الليكوبين.

وأمكن الاستفادة من نباتات كنتالوب الشارانتيه المحولة وراثيًّا – والتى يثبط فيها إنتاج الإثيلين بشدة – باستخدامها كنموذج للتمييز بين مسارات النضج الأيضية التى تنظم بواسطة الإيثلين وتلك التى لا تنظم. ولقد وجد أنه – مقارنة بثمار النباتات غير المحولة وراثيًّا – لم يظهر بثمار النباتات المحولة وراثيًّا اصفرار خارجى، أو طراوة بلبها هذا إلا أن تلك التأثيرات انعكست تمامًا لدى معاملة الثمار المحولة وراثيًّا بالإثيلين بتركيز ٥٠ ميكروليتر/لتر. وقد تلون لب الثمار مبكرًا قبل بداية الكلايمكتيرك؛ وبذا .. فإن اللون الداخلى للثمار لم يتأثر بتثبيط إنتاج الإثيلين فى الثمار المحولة وراثيًّا. كذلك تراكمت المواد الكلية الصلبة الذائبة بنفس المعدل فى كل من الثمار المعدلة وراثيًّا وغير المعدلة حتى اليوم الثامن والثلاثين بعد التلقيح، حينما بدأت الثمار غير المعدلة فى الانفصال هذا .. إلاّ أن الثمار – ومع تكون طبقة انفصال فى أعناق الثمار المحولة وراثيًّا التى ثُبِّطَ فيها إنتاج الإثيلين – استمرت متصلة بالنبات؛ مما أدى إلى زيادة محتواها من السكريات، وخاصة السكروز. وقد أدى حصاد الثمار المحولة وراثيًّا إلى إنتاجها لكميات صغيرة – ولكن معنوية – من الإثيلين الداخلى الذى ارتبط بفقد الثمار لصلابتها (Guis وآخرون ١٩٩٧).

تحسين بعض صفات الجودة الأخرى فى ثمار الطماطم

قد تتحقق زيادة فى محتوى ثمار الطماطم من السكريات – وخاصة الجلوكوز والفراكتوز – بزيادة محتواها من إنزيم الإنفرتيز invertase الذى يقوم بتحويل سكر السكروز إلى مكوناته الأصلية من الجلوكوز والفراكتوز. يحدث هذا التحول مع بداية نضج الثمار، وهو الوقت الذى يتوقف فيه – تقريبًا – تخزين السكروز فى الثمار وبدء تمثيل الإنفرتيز. وقد اقترح أن الهندسة الوراثية باستعمال إنزيم الإنفرتيز يمكن أن تسرع من معدل انتقال السكروز من النبات إلى الثمار، ومن تحويله إلى جلوكوز وفراكتوز.

كذلك وجد أن تثبيط التعبير عن الإنزيم pectin methyl esterase – وهو الذى يلعب دورًا فى عملية تحلل الجدر الخلوية – وذلك باستعمال (شفرته العكسية) – أدى إلى زيادة محتوى الثمار من المواد الصلبة الذائبة بنسبة حوالى ١٥٪ دون التأثير على أى من

محصول الثمار أو النمو الخضرى للنبات، إلاّ أنه قلل قليلاً من القدرة التخزينية للثمار. ولا شك أن المواد الصلبة الزائدة التى تتراكم فى تلك الحالة تختلف كليًا عن تلك التى تتراكم فى حالات النضج الطبيعى للثمار.

وتبين أيضًا أن التعبير عن الجين المسئول عن تكوين الإنزيم ADP-glucose pyrophosphorylase فى ثمار الطماطم بطرق الهندسة الوراثية أدى إلى زيادة محتوى الثمار من النشا بدرجة قليلة، إلا أنها كانت كافية لإحداث زيادة هائلة فى درجة لزوجة العصير

ولاشك أن تربية الطماطم بطرق الهندسة الوراثية يمكن أن تلعب دورًا هامًا فى زيادة صلاحية الطماطم لصناعة المعجون (الصلصة) والكتشب

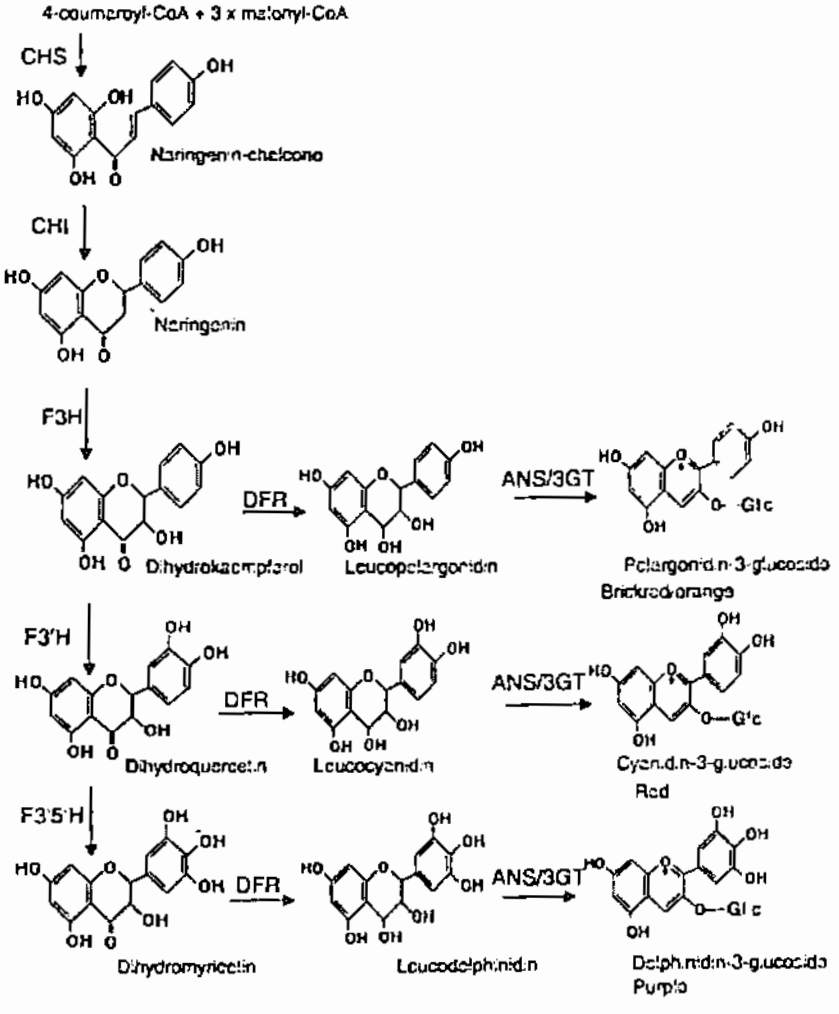
ولقد أدت زيادة التعبير عن الإنزيم phytoene synthase إلى إعادة اكتساب طفرات الطماطم الصفراء الثمار القدرة على إنتاج الكاروتين وإلى تحسين اللون فى الأصناف الأخرى (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

التحول الوراثى لتحسين صفات الجودة فى أزهار الزينة

لعل أهم الصفات التى تتبادر إلى الذهن عند ذكر صفات الجودة فى أزهار الزينة هو ألوانها، وأشكالها، ومدى قدرتها على الاحتفاظ بنضارتها بعد القطف، وهى الأمور التى حازت باهتمام الباحثين فى مجال الهندسة الوراثية

التحكم فى لون الأزهار

إن أهم الصبغات التى تتحكم فى لون الأزهار هى الفلافونات flavonoids (مسار الـ shikimate الأيضى)، والكاروتينات carotenoids (مسار الـ isoprenoid الأيضى)، والبيتالينات betalains وأهم الفلافونات المسئولة عن اللون، هى الأنثوسيانينات anthocyanins التى تتحكم فى اللونين الأحمر والأزرق ويبين شكل (١٨-٤) جانب من المسارات الأيضية التى تؤدى إلى تكوين بعض الصبغات الأنتوسيانينة.



Anthocyanin synthesis pathway. (CHS, chalcone synthase; CHI, chalcone flavanone isomerase; F3H, flavanone-3-hydroxylase; F3'H, flavonoid-3'-hydroxylase; F3'5'H, flavonoid-3', 5'-hydroxylase; DFR, dihydroflavonol-4-reductase; ANS anthocyanidin synthase; 3GT, UDP-flavonol 3-O-glucosyltransferase.)

شكل (١٨-٤): المسارات الأيضية التى تؤدى إلى تمثيل بعض الصبغات الأنثوسيانينية (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

يلاحظ فى الشكل أنه عند أكثر من موضع فى المسارات يمكن أن تحدث تحورات فى المركبات المتكونة من خلال نشاط الإنزيمات dihydroflavonol-4-reductase

(اختصارًا: DFR)، و anthcyanidin synthase (اختصارًا: ANS)، و UDP-flavonol 3-O-glucosyltransferase (اختصارًا: 3GT)، مما يؤدى إلى تمثيل صبغات بألوان مختلفة (البرتقالى والأحمر والأزرق)

هذا إلاّ أن بعض تلك الإنزيمات لا تتواجد فى بعض الأنواع النباتية، ومن ثم يستحيل على تلك الأنواع تمثيل بعض الألوان فى أزهارها. ولقد أمكن من خلال الجمع بين التربية بالطفرات والهندسة الوراثية إنتاج نباتات قادرة على تمثيل صبغات لم تكن قادرة على تمثيلها من قبل. وعلى سبيل المثال .. فإن البيتونيا لا يمكنها إنتاج الصبغات ذات الصلة بالبلارجونيدين pelargonidin (الأحمر الطوبى/البرتقالى) نظرًا لأن إنزيمها DFR لا يمكنه العمل على المركب dihydrokaempferol. هذا .. إلاّ أنه أمكن التعرف على طفرة من البيتونيا فى الجينين favonoid-3′-hydroxylase (اختصارًا: F3′H)، و flavonoid-3′,5′-hydroxylase (اختصارًا: F3′5′H). هذه الطفرة لم تكن قادرة على العمل على المركب dihydrokaempferol فى الأجزاء الأخرى من النبات، مما أدى إلى تراكمها ولقد أمكن تحويل هذه السلالة الطفرية وراثيًا بجين الذرة DFR، مما مكن النباتات من العمل على الـ dihydrokaempferol وتحويله إلى الصبغة ذات اللون الأحمر الطوبى pelargonidin-3-glucoside، مما سمح بإنتاج بيتونيا ذات أزهار حمراء طوبية اللون (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

إن أحد أهداف المشتغلين بالهندسة الوراثية فى مجال تحسين نباتات الزهور هو إنتاج أزهار ذات لون أزرق فى الأنواع التى لا تنتج بطبيعتها أزهارًا بهذا اللون، مثل الورد والقرنفل ولقد وجد أن الأنثوسيانين دلفنيدين delphinidin هو المسئول عن إنتاج هذه الصبغة الزرقاء كما أسلفنا، وأمكن بالفعل عزل جين من البيتونيا *Petunia hybrida* مسئول عن التشفير للإنزيم 3′,5′-hydroxylase الضرورى لتمثيل الدلفنيدين ونقله إلى الورد وعلى الرغم من أهمية ذلك الأمر إلاّ أن ظهور الصبغات الزرقاء يتوقف على الرقم الأيدروجينى فيما بين الخلايا intracellular pH، وهو أمر يتحكم فيه عدد من الجينات الأخرى (عن Woodson ١٩٩٧)

وفى استراتيجية أخرى تم الإخلال بالمسار الأيضى الموجود بالفعل فى البيتونيا عن طريق تقنية الشفرة المضادة، حيث استعمل الجين CHS - فى شفرته العكسية - فى تحويل البيتونيا وراثيًا. أظهرت تلك النباتات شفرة الـ CHS المضادة، وهى التى تفاعلت مع الشفرة العادية للجين، مما أدى إلى تعطيل مسار الأنثوسيانين؛ وترتب على ذلك إنتاج أزهار بلون أقل دكنة تدرجت حتى اللون الأبيض (عن Swarup & Swarup ١٩٩٣).

ولقد تمكنت بعض الشركات، مثل Florigene من إجراء تحولات وراية فى المسار الأيضى لتمثيل الأنثوسيانين فى نباتات، مثل: الورد، والقرنفل carnation، والأقحوان chrysanthemum، والجربارة gerbera، مما مكنها من إنتاج أزهار فى المجال اللونى الأزرق (الموف - البنفسجى - الأزرق). وهذه النباتات لا يمكنها - بطبيعتها - إنتاج الأنثوسيانين ديلفيندين delphinidin؛ نظرًا لأنها لا تحتوى على الإنزيم F3'5'H ولقد قامت الشركة بعزل هذا الجين ونقله إلى تلك الأنواع الزهرية، مما سمح بإنتاج أزهار زرقاء اللون منها. وكان أول الأصناف التجارية التى أنتجت وعرضت للبيع صنف القرنفل Moondus ذو الأزهار الموف اللون، وذلك فى عام ١٩٩٦ (عن Slater وآخرون ٢٠٠٣).

التحكم فى شكل الأزهار

يحاول الباحثون فى مجال الهندسة الوراثية تغيير شكل الأزهار، وذلك كما فى كل من: الخَطْم *Antirrhinum majus*، والـ *Petunia*، والـ *Arabidopsis*، حيث تعرف طفرات تؤثر على كل من سيمترية (تساوق أو تماثل أو تناظر) الأزهار وتكوين مختلف الأعضاء الزهرية. وأمكن - على سبيل المثال - عزل الجينين deficiens، و globosa من الأنترهينم، وهما يحولان البتلات إلى تراكيب سبلية (عن Swarup & Swarup ١٩٩٣).

تحسين قدرة الزهور على الاحتفاظ بنضارتها بعد القطف

تعرف المدة التى تحتفظ خلالها أزهار الزينة بنضارتها بعد القطف باسم vase life، وهى مدة تتأثر بعملية التلقيح التى تُنشِّط عددًا من التغيرات الفسيولوجية فى الزهرة، تقود فى نهاية الأمر إلى شيخوختها وذبولها وسقوطها إن لم تكن قد قطفت بعد. ويعد الإثيلين هو الهرمون النباتى الرئيسى الذى يتحكم فى تلك التغيرات وفى القرنفل carnation يتحكم فى شيخوخة البتلات مجموعتين من الجينات؛ ينظِّم نشاط إحداها الإثيلين ويمكن إيقافها بالمعاملة بمثبطات الإثيلين، ولا تُنَظمُ الأخرى بفعل الإثيلين، ولا يمكن وقفها بالمعاملة بمثبطات الإثيلين.

ويتضمن تمثيل الإثيلين تحويل المركب S-adenosylmethionine إلى 1-aminocyclo-propane-1-carboxylic acid (اختصارًا: ACC) بالإنزيم ACC synthase، وتحويل ACC إلى إثيلين بواسطة الإنزيم ACC oxidase. ولقد أمكن عزل كلا الإنزيمين ACC synthase، و ACC oxidase، وبذا أمكن التحكم فى إنتاج الإثيلين، ومن ثم فترة حياة الأزهار.

وعلى سبيل المثال أمكن فى القرنفل استعمال cDNA معزول للإنزيم ACC oxidase فى إنتاج قرنفل محول وراثيًا يُظهر الشفرة العكسية لهذا الجين (antisense ACC oxidase). ولقد كانت الأزهار التى أنتجتها تلك النباتات ذات مستوى منخفض للغاية من الإثيلين وازداد عمرها بعد القطف إلى أكثر من ٢٠٠٪.

وفى منحىً آخر يحاول الباحثون إطالة فترة حياة الأزهار بمنع حدوث التلقيح فيها من الأساس، الأمر الذى يتحقق بجعلها عقيمة الذكر، وهو ما تستخدم فيه تقنيات الهندسة الوراثية كذلك (عن Swarup & Swarup ١٩٩٣، و Woodson ١٩٩٧)