

الهندسة الوراثية للتحكم فى نمو وتطور النباتات ولأهداف أخرى زراعية وبيئية وصناعية

نتعرض فى هذا الفصل جهود الهندسة الوراثية التى بذلت لأجل تحقيق أهداف زراعية أخرى - غير تلك التى أسلفنا بيانها فى الفصول السابقة - مثل التحكم فى نمو وتطور النباتات، وكذلك الجهود التى استهدفت تحويل بعض النباتات والكائنات الدقيقة وراثياً لخدمة أغراض بيئية، وطبية، وصناعية.

التحول الوراثى لأجل التحكم فى نمو وتطور النباتات

التحكم فى تمثيل الهرمونات النباتية

غنى عن البيان أن الهرمونات النباتية الطبيعية هى المسئول الأول عن تنظيم عمليات النمو والتطور الطبيعية، وأن أى تحولات وراثية تؤدى إلى زيادة تمثيل أى منها - أو الحد منها - يترتب عليها تغيرات كبيرة فى النمو والتطور النباتى الطبيعيين.

ولقد تمكن الباحثون من تحديد هوية عديد من الجينات التى تؤثر فى إنتاج الهرمونات النباتية وعزلها واستخدامها فى عمليات التحول الوراثى. ويبين جدول (١٩-١) قائمة بتلك الجينات، ومصادرها، ونشاطها الإنزيمى، وتأثيراتها على مختلف الهرمونات سلباً أو إيجاباً.

وقد قدمنا فى الفصل الثامن عشر عديداً من الأمثلة على التحكم فى إنتاج الإثيلين بهدف زيادة قدرة الثمار والأزهار على الاحتفاظ بجودتها بعد القطف.

ونقدم فيما يلى - مريضاً من الأمثلة على التحكم فى تمثيل المرمونات، وما يستتبع ذلك من تغيراتها،

• قام الباحثون بتعديل نظام التعبير عن السيتوكينين فى النبات، وهو الهرمون الذى

النشاط الإنزيمي	تأثير الجين على الهرمون	الجين	الهرمون
Binding of single chain antibodies to ABA	تثبيت فعل الهرمون	Anti-ABA antibodies	ABA
Conjugates IAA to Lys	وقف نشاط الهرمون	<i>Pseudomonas syringae</i> <i>iaaL</i>	Auxin
Converts indole-3-acetonitrile to IAA	زيادة تثبيط الهرمون	<i>Arabidopsis</i> nitrilase II	
Converts Trp to IAM	زيادة تثبيط الهرمون	<i>A. tumefaciens</i> <i>iaaM</i>	
Converts Trp to IAM	زيادة تثبيط الهرمون	<i>A. tumefaciens</i> <i>iaaM</i> + <i>iaaH</i>	
Hydrolyses indoxyl glucosides (in vitro)	زيادة الحساسية للهورمون	<i>A. rhizogenes</i> <i>rolB</i>	
Condensates IP-PP to AMP	وقف نشاط الهرمون	<i>A. tumefaciens</i> <i>ipt</i>	Cytokinin
Hydrolyses cytokinin glucosides (in vitro)	تغيير شامل في الهرمون	<i>A. rhizogenes</i> <i>rolC</i>	
Converts ACC to α-ketobutyric acid	تثبيت تثبيط الهرمون بتغيير المسار	<i>Pseudomonas</i> ACC deaminase	Ethylene
Blocks conversion of ACC to ethylene	منع تثبيط الهرمون بالشفرة العكسية	Tomato ACC oxidase	
Blocks conversion from SAM to ACC	منع تثبيط الهرمون بالشفرة العكسية	Tomato ACC synthase	
Converts SAM to MTA and homoserine	تثبيت فعل الهرمون	T3 SAM hydrolase	
Converts hydroperoxide to allene epoxide	زيادة تثبيط الهرمون	Flax aos	Jasmonic acid
Reduced formation of jasmonic acid	التثبيط المشترك	<i>Arabidopsis</i> LOX II	
Hydroxylates salicylic acid to catechol	وقف نشاط الهرمون	<i>Pseudomonas putida</i> <i>nahG</i>	Salicylic acid
Reduced formation of systemin	منع تثبيط الهرمون بالشفرة العكسية	Tomato prosystemin	systemin
Increased formation of systemin	زيادة التثبيط عن الهرمون	Tomato prosystemin	

ABA, abscisic acid; ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid; AMP, adenosine monophosphate; aos, allene oxide synthase; IAA, indole-3-acetic acid, *iaaH*, indoleacetamide hydrolase; *iaaL*, indoleacetic acid-lysine synthetase; *iaaM*, tryptophan monoxygenase; IAM, indoleacetamide; IP-PP, isopentenyl pyrophosphate; *ipt*, isopentenyltransferase; LOX, lipoxygenase; Lys, lysine; MTA, methylthioadenosine; SAM, S-adenosyl methionine; Trp, tryptophan.

يعتقد بأنه يلعب دوراً في تحفيز تجميع المركبات الأيضية في الأنسجة الحديثة التي لها صلة بعملية التكاثر الجنسي، مثل الثمار. ومن المعروف أن الإنزيم isopentenyl transferase يقوم بتكوين بادئ السيتوكينين isopentenyl AMP من سلسلة فرعية في المسار الكاروتيني ولقد قام الباحثون بربط جين الـ isopentenyl transferase (الذي يعطى الرمز ipt) مع promoter خاص بمبيض الزهرة في الطماطم، مما أدى إلى زيادة مستويات السيتوكينين في مبايض الأزهار؛ ومن ثم زيادة جاذبية الثمرة لنواتج البناء الضوئي من مواد كلية صلبة ذائبة، وزيادة في نسبة ما تحتويه من سكريات إلى أحماض، إلا أن ذلك كان على حساب المحصول الكلي للثمار الحمراء، ومتوسط وزن الثمرة (Martineau وآخرون ١٩٩٥، وعن Wehling ٢٠٠٠).

• أمكن نقل جين الذرة UDPG-transferase إلى البطاطس، وأدت عملية التحويل الوراثي تلك إلى زيادة تمثيل إندول حامض الخليك عما في نباتات البطاطس غير المحولة وراثياً، وإلى زيادة معدل استطالة النباتات وإنتاجيتها. ويبدو أن نقل الجينات التي تحسن من وضع الأوكسين في النبات يؤدي إلى زيادة المستوى الطبيعي الأمثل من الأوكسين إلى حد أعلى (Rekolavskaya وآخرون ١٩٩٩).

• أدى تحويل الطماطم وراثياً بالشفرة العاكسة لجين الـ ACC oxidase إلى تثبيط فعل هذا الإنزيم ووقف إنتاج الإثيلين، مما أدى إلى تأخير شيخوخة الأوراق لبعض الوقت، ولكنها لم تبق خضراء اللون بصورة دائمة، فما أن بدأت فيها مرحلة الشيخوخة حتى استمرت بصورة طبيعية (John وآخرون ١٩٩٥).

تحسين القدرة على البناء الضوئي

اتخذت جهود التحولات الوراثية لتحسين القدرة على البناء الضوئي اتجاهين، هما التأثير في مسارات البناء الضوئي ذاتها، وتأخير شيخوخة الأوراق التي تقوم بعملية البناء الضوئي

التأثير في مسارات البناء الضوئي

أمكن تحويل الطماطم وراثياً بجين الذرة sucrose-phosphate synthase (اختصاراً: SPS)، وأدى هذا التحول الوراثي إلى زيادة تمثيل الكربون إلى سكروروز بنسبة ٥٠٪، وقلل من محدودات عملية البناء الضوئي التي تحدث بفعل تراكم نواتج تلك العملية كذلك كانت النباتات المحولة وراثياً أكبر في الإزهار، وازداد عدد العناقيد الزهرية فيها جوهرياً عما كان عليه الحال في النباتات العادية غير المحولة وراثياً، عندما كان نموها في تركيز ٣٥ أو ٦٥ باسكال من ثاني أكسيد الكربون وفي تركيز ٣٥ باسكال كان عدد الثمار الكلي في النباتات المحولة وراثياً ١,٥ مثل عدد الثمار في نباتات الكنترول، وكان نضج ثمارها أسرع وازداد الوزن الجاف الكلي لثمارها بنسبة ٣٢٪ كذلك انخفض معدل إصابة ثمار النباتات المحولة وراثياً بتعفن الطرف الزهري (Micallef وآخرون ١٩٩٥)

وأمكن زيادة القدرة على البناء الضوئي في الأرز (وهو نبات ذو مسار C3 في البناء الضوئي) بتحويله وراثياً بجيني الذرة (وهو نبات ذو مسار C4 في البناء الضوئي). phosphoenolpyruvate carboxylase (اختصاراً: PEPC)، و pyruvate orthophosphate dikinase (اختصاراً: PPK) ولقد أظهرت النباتات المحولة وراثياً - كذلك - مستوى أقل من التنفس الضوئي photorespiration، وتركيزاً أعلى من ثاني أكسيد الكربون بالأوراق (عن Zeigler ٢٠٠١)

تأخير شيخوخة الأوراق وسقوطها

اتجه تفكير الباحثين نحو إنتاج نباتات محولة وراثياً تحتوى على الـ SAG12 promoter (وهو جين لا ينشط إلا مع بدء مرحلة الشيخوخة) مع جين الأجيروباكتيريم ipt المسئول عن تمثيل السيتوكينين فمع بدء وصول الأوراق إلى مرحلة الشيخوخة يبدأ عمل الجين ipt، مما يؤدي إلى زيادة مستوى السيتوكينين بها، الأمر الذي يؤخر اكتمال الشيخوخة، فيستمر احتفاظ الأوراق بمحتواها الكلورفيلي، ومن ثم تستمر عملية البناء الضوئي هذا إلا أنه لا يعرف على وجه التحديد مدى نجاح تلك الاستراتيجية، إذ

إن النيتروجين الذى ينطلق من الأوراق التى تدخل فى مرحلة الشيخوخة يلزم فى عمليات حيوية أخرى؛ مما يجعل من غير المحتمل أن يكون بقاءه فى الأوراق مفيداً وفى منحنى آخر اتجه الباحثون نحو تأخير سقوط الأوراق؛ بهدف تمديد فترة الاستفادة منها. إن تكوين طبقة الانفصال التى تؤدى إلى سقوط الأعضاء النباتية تكون مصاحبة بتحلل للجدر الخلوية فى طبقة الخلايا التى يحدث عندها الانفصال. وفى الطماطم .. يرتبط الانفصال المستحث بواسطة الإثيلين بزيادة فى نشاط إنزيمى البولى جالاكتورونيز، والسيلوليز (وهو: endo-β-1,4-D-glucanase). ولقد أمكن عزل جين من الطماطم يفترض أنه بولى جالاكتورونيز يُعبر عن ذاته أثناء عملية الانفصال، وأعطى الرمز pTAPGI. ويعتقد أن التعرف على هذا الجين وعزله يمثل أداة إضافية تساعد فى دراسة عملية الانفصال وما يحدث فيها بصورة أفضل (Kalaitzis وآخرون ١٩٩٥)

التحكم فى إنتاج الفيتوكروم

تتجه النباتات تحت تأثير الأشعة تحت الحمراء (الأمر الذى يحدث عندما تتعرض النباتات للتظليل من النباتات المجاورة لها). تتجه نحو الاستطالة الكبيرة لتجنب التظليل ولقد تمكن العلماء من إنتاج نباتات تبغ محولة وراثياً يزداد فيها كثيراً التعبير عن الجين المسئول عن تكوين الفيتوكروم A الذى يقوم بتثبيط عملية تجنب الظل، أى يقوم بتثبيط استطالة النباتات فى ظروف الإضاءة الضعيفة. ولا شك أن هذا الجين يمكن أن يكون له دور كبير فى تطوير شتلات لا تستطيل سيقانها سريعاً فى المثائل (وهو الأمر الذى يستلزم - أحياناً - الحد من استطالتها بمعاملتها بمشبطات النمو)، وكذلك فى تطوير نباتات للزراعات المحمية - كالطماطم والخبار والفاصوليا - لا تستطيل سلامياتها بسرعة كبيرة؛ الأمر ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة فى الزراعات المحمية (عن Woodson ١٩٩٧).

وقد أثبت Jackson وآخرون (١٩٩٦) أن الفيتوكروم بى phytochrome B ينظم عملية تحكم فترة الإضاءة فى تكوين الدرناات فى البطاطس، وذلك من خلال تحويل البطاطس *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* - التى تحتاج إلى نهار قصير لتكوين الدرناات

- تحويلها وراثياً بالشفرة المضادة لجين الفيتوكروم بى antisense PHYB cDNA. أدى ذلك التحول الوراثى إلى إلغاء عملية تحكم الإضاءة فى تكوين الدرناات، حيث تكونت الدرناات فى النباتاات اللى حولت وراثياً فى كل من النهار القصير، والنهار الطويل، والنهار القصير الذى قطع فيه الليل الطويل بإضاءة لفترة قصيرة. وتعنى تلك النتائج أن فيتوكروم بى يلزم لعملية تحكم فترة الإضاءة فى تكوين الدرناات فى *S. tuberosum* subsp. *andigena*، وأنه ينظم تلك العملية بمنع تكوين الدرناات فى الفترات الضوئية غير الحاتئة لتكوين الدرناات، وليس بتحفيز تكوين الدرناات فى الفترات الضوئية الحاتئة لذلك.

وأدى تحويل البطاطس وراثياً بجين phytochrome B المتحصل عليه من نبات *Arabidopsis thaliana* إلى زيادة التعبير عن الفيتوكروم بى، الذى أحدث - بدوره - عدة تأثيرات، مثل قصر النمو إلى درجة قريبة من التقزم، وضعف السيادة القمية، وزيادة عدد الأوراق الصغيرة السمكة، وزيادة تواجد الصبغات. وبسبب زيادة الكلوروبلاستيدات الخضراء فى خلايا النسيج العمادى للنباتاات المحولة وراثياً ازداد البناء الضوئى فى وحدة المساحة من الورقة وفى النباتاات ككل، كما كانت عملية البناء الضوئى أقل حساسية للتثبيط الضوئى فى ظروف الشد الضوئى لفترة طويلة. وبينما لم تتأخر بداية مرحلة الشيخوخة فى النباتاات المحولة وراثياً، فإن إبطاء تحليل الكلوروفيل أدى إلى إطالة فترة حياة النباتاات النشطة فى عملية البناء الضوئى. وقد أدى كلا الأمرين (زيادة القدرة على البناء الضوئى وطول فترة حياة النباتاات) إلى زيادة إنتاج المادة العضوية؛ مما أحدث زيادة فى نمو الأجزاء تحت الأرضية والمحصول (Thiele وآخرون 1999).

منع التلون البنى الإنزيمى

يعد التلون البنى الإنزيمى فى درناات البطاطس بعد الحصاد مشكلة هامة، ونقد وجد أن تثبيط إنزيم البولى فينول أوكسيديز (ال catechol oxidase) بالتحول الوراثى بالشفرة المعاكسة للإنزيم يوقف عملية التلون البنى الإنزيمى تلك فى سلالات البطاطس المحولة

وراثياً (Bachem وآخرون ١٩٩٤) ومن المعتقد أن هذا الاكتشاف يمكن أن يفتح الطريق أمام عمليات تحول وراثي مماثلة في عديد من المحاصيل الغذائية التي يحدث بها تلون بني إنزيمي مماثل لدى تعرضها للتجريح

العقد البكري للثمار

أمكن تحويل التبغ والباذنجان وراثياً بالجين *taam* من البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*، مع استخدام الجين المنظم DefH9 الخاص بالبويضات والمتحصل عليه من *Antirrhinum majus*، وذلك لأجل إنتاج ثمار بكرة العقد ولقد أدى خصى أزهار النباتات التي حولت وراثياً إلى إنتاجها لثمار بكرة، كما أنتجت ثماراً بكرة لدى تلقيحها. وفي الباذنجان، سمحت عملية التحول الوراثي بإنتاج النباتات لثمار في ظروف بيئية لا تناسب عقد الثمار في النباتات غير المحولة وراثياً، والتي لم تثمر إطلاقاً في تلك الظروف والجدير بالذكر أنه بينما أنتجت كلا من النباتات المحولة وراثياً وغير المحولة وراثياً ثماراً بحجم مناسب للتسويق في الظروف البيئية المناسبة للعقد، فإن النباتات غير المحولة وراثياً لم تنتج ثماراً بحجم صالح للتسويق إلا بعد تلقيحها (Rotino وآخرون ١٩٩٧، وعن Bhat ٢٠٠٠)

العقم الذكري

إن لظاهرة العقم الذكري أهمية كبيرة في إنتاج الهجن التجارية وقد أمكن التخلص من حبوب اللقاح بالتعبير عن إنزيمات الـ *ribonucleases* في المتوك فقط، واستعمل لتحقيق ذلك إنزيم البارنيز Barnase - وهو جين يتحكم في إنتاج أحد الـ *ribonucleases* خارج الخلية *Rnase* extracellular - من البكتيريا *Bacillus amyloliquefaciens*، تستعمل هذه البكتيريا إنزيم البارنيز كنظام دفاعي ضد البكتيريا المنافسة لها كذلك تنتج البكتيريا ذاتها إنزيم البارستار Barstar الذي يعد مثبطاً خاصاً للبارنيز، والذي يمكن استعماله في إنتاج نباتات جيل أول خصبة (عن Kempken ٢٠٠١)

وكما أسلفنا يوجد في هذه البكتيريا (*Bacillus amyloliquifaciens*) جينًا يقوم بتحليل الرنا، يعرف باسم barnase، ولقد أمكن تحويل خلايا النسيج المغذي tapetal cells في متوك لفت الزيت بهذا الجين؛ مما أدى إلى موتها وبغياب تلك الخلايا انعدم مصدر الغذاء الذي كان يمد الخلايا الجرثومية الصغيرة microspores باحتياجاتها منه؛ مما أدى إلى موتها وعدم تكون حبوب اللقاح. وبمعنى آخر فإن عملية التحول الوراثي تلك أحدثت عمقًا ذكريًا في النبات. ومن ناحية أخرى فإن تلك النباتات أنتجت بذورًا حينما لُقحت بحبوب لقاح خصبة. ولكن نظرًا لأنه في الحالات التي يكون فيها المنتج التجارى هو البذور يتعين أن يكون الجيل الأول خصبًا، لذا استعمل جين استعادة الخصوبة barstar الذى حُصِّلَ عليه من البكتيريا ذاتها. يلتحم البروتين الذى ينتجه الجين barstar مع إنزيم الـ barnase ويوقف نشاطه؛ وبذا تكون الخلايا المغذية فى نباتات الجيل الأول عادية وتقوم بتغذية الخلايا الجرثومية الصغيرة بصورة طبيعية

ولأجل الإنتاج التجارى لبذور الجيل الأول الهجين تم عمل ارتباط بين جين يعرف باسم bar يكسب النباتات مقاومة لمبيد الحشائش phosphinothricin والجين barnase، وبذا أمكن بالرش بالمبيد التخلص من النسل الخصب الذكر (٥٠٪)، الذى ينتج من تلقيح السلالات العقيمة الذكر الـ hemizygous (الـ barnase) مع سلالات عادية غير محولة وراثيًا (-/-) أما الـ ٥٠٪ المتبقية من النباتات فإنها يمكن أن تستعمل فى إنتاج بذور الجيل الأول الهجين (عن Bhat ٢٠٠٠).

كذلك أمكن بنجاح تحويل بعض النباتات وراثيًا بنقل جينات (نووية) سائدة لاستعادة الخصوبة يعتمد هذا النظام فى الهندسة الوراثية على جين التبغ TA29 الذى يقتصر نشاطه النسخى على طبقة الخلايا المغذية Tapetal layer بالتوك، والـ Rnase (*Bacillus amyloliquifaciens*) من البكتيريا (barnase)/Rnase-inhibitor (barstar) يودى إدخال الـ gene construct المعروف باسم -tapetum specific promoter Ta29، tapetum barnase الخاص بالـ cytotoxic protein. يودى إدخال هذا الـ construct والتعبير عنه إلى إتلاف خلايا النسيج المغذي tapetum بالملك، مما يمنع تكوين حبوب اللقاح

ويسبب حالة من العقم الذكري ويؤدى إدخال الـ gene construct الخاص باستعادة الخصوبة - المعروف باسم tapetum specific promoter-barstar - T29 - يؤدى إدخال هذا الـ construct فى نبات آخر إلى استعادته لخصوبته، أى يؤدى إلى إنتاج ما يعرف بالـ restorer line يُعد الـ barstar هو المثبط الخاص بالـ barnase، ويتضمن التثبيط تكوين معقد ثابت من البروتين بنسبة ١ : ١ وليس لتعبير barstar فى الأب المذكر (الخصب الذكر) أى تأثير على تطور تكوين طبقة الـ tapetum، ومن ثم يكون النبات خصباً وبعد العقم الذكري الذى يسببه الـ barnase صفة سائدة

يحافظ على السلالات عقيمة الذكر التى تحتوى على الـ barnase السائد (والتي يكون تركيبها الوراثى -/ barnase-) بتلقيحها بحبوب لقاح من نبات طبيعى خصب غير محول وراثياً (أى يكون -/- وبدون barnase). هذا إلا أن نسل التلقيح بين النباتات العقيمة (-/ barnase) والنباتات الخصبة (-/-) يكون ٥٠٪ عقيماً (-/ barnase)، و ٥٠٪ خصباً (-/-)، وتتعين إزالة النباتات الخصبة قبل إزهارها ويتم التعرف على النباتات الخصبة بربط الجين barnase بالجين bar، الذى يكسب النباتات مقاومة للمبيد الفطرى phosphinothricin، وذلك على صورة gene-construct هو barnase-bar. ومن ثم تكون النباتات العقيمة الذكر (barnase-bar) مقاومة لمبيد الحشائش، بينما تكون النباتات الخصبة الذكر (-/-) حساسة للمبيد، وتموت عندما ترش به

وعندما تلحق النباتات عقيمة الذكر بنباتات بها جين استعادة الخصوبة (barstar) فإن النسل المهجين الناتج يكون حاملاً لكلا الجينين، ويشكل البروتينان اللذان يعبر عنهما الجينين مركباً معقداً خاملاً، ومن ثم يتكون الـ tapetum بصورة طبيعية، ويكون المهجين كامل الخصوبة

وقد أنتجت بهذه الطريقة سلالات مهندسة وراثياً من لفت الزيت والذرة لأجل الإنتاج التجارى للهجن

هذا وتعرف جينات أخرى للعقم الذكري والخصوبة، مثل E، و BcPI، إلا أنها لم تلق لنجاح الذى لاقاه نظام الـ barnase-barstar (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

التحول الوراثى لأغراض المكافحة الحيوية

لا يدخل تحت موضوع التحول الوراثى لأغراض المكافحة الحيوية أى من الأمور التى سبقت لنا مناقشتها فى فصول عديدة سابقة تناولنا فيها عمليات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات، والحشرات، والنيماطودا، والفطريات، والبكتيريا التى تصيب النباتات، على الرغم من أن المقاومة الوراثية هى - بطبيعتها - مكافحة حيوية، فما يعيننا هنا هو عمليات التحول الوراثى التى تجرى على الكائنات الدقيقة ذاتها - المستعملة فى المكافحة الحيوية - لأجل زيادة كفاءتها

ومن بين الدراسات التى أجريتها فى هذا المجال، ما يلى:

• تمكن الباحثون من إنتاج مبيدات حيوية بطرق الهندسة الوراثية اعتمدت غالباً على نقل الجين Bt الخاص بالبكتيريا *Bacillus thuringiensis* إلى البكتيريا *Pseudomonas*، حيث تنمى البكتيريا المحولة وراثياً، ثم تقتل، وتعادل بها النباتات تحتوى الخلايا البكتيرية الميتة - تلك - على بروتين قاتل ليرقات حرشفية الأجنحة.

• كذلك أمكن التعبير عن الجين Bt فى كائنات تقوم - طبيعياً - باستعمار جذور النباتات (عن Malik 1999)

• أمكن عزل الجين *chiA* المسئول عن تكوين الشيتينيز *chitinase* الرئيسى فى البكتيريا *Serratia marcescens*، ونقله إلى البكتيريا *Pseudomonas fluorescens*، التى أصبحت - بدورها - فعالة فى المكافحة الحيوية للفطر *Rhizoctonia solani* على بادرات الفاصوليا (Downing & Thomson 2000).

• أمكن تحويل البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* وراثياً بزيادة قدرتها على إنتاج المركب 2,4-diacetyl phloroglucinol، مما جعلها أكثر كفاءة فى المكافحة البيولوجية للفطر *Pythium ultimum*، إلا أن ذلك كان مصاحباً بنقص فى قدرتها على استعمار جذور النباتات، مقارنة بالطراز البرى من البكتيريا (Alsanus وآخرون 2002)

• يُثبَط فطر الميكودرما نشاط مسببات الأمراض النباتية بوسائل متعددة، منها.

التطفل mycoparasitism، والتضادية الحيوية antibiosis، والتنافس على الغذاء. ومن بين وسائل التريكودرما في وقف نشاط الكائنات الممرضة إفرازها للمضادات الحيوية أو الإنزيمات المحللة للجدر الخلوية، مثل إنزيمات: الـ chitinases، والـ β -1,3- glucanases، والـ proteases، والـ mannanases، وغيرها من الإنزيمات المحللة (عن Limon وآخرين ١٩٩٩).

ولقد أمكن تحويل السلالة CECT 2413 من *Trichoderma harzianum* وراثياً بالجين Chit 33 الذى يتحكم في زيادة إنتاج الإنزيم chitinase 33-kDa، حيث وصل إنتاج السلالة المحولة وراثياً من الشيتينيز - عند نموها في الجلوكوز - إلى ٢٠٠ ضعف إنتاج السلالة العادية، بينما كان إنتاج السلالتين من الشيتينيز متساوياً عند نموها في الشبتين وفي كلتا الحالتين. كانت السلالة المحولة وراثياً أكثر كفاءة في منع نمو الفطر *Rhizoctonia solani* عن السلالة العادية (Limon وآخرون ١٩٩٩).

التحول الوراثي لأجل التخلص من العناصر الثقيلة في البيئة

تتراكم العناصر الثقيلة في التربة والمياه بصورة متزايدة، وصلت في حالات كثيرة إلى مستويات سامة لكل من الحياة البحرية والبرية، وانتقلت تلك السمية - بدورها - إلى الإنسان من خلال ما يتناوله في طعامه من أغذية ملوثة، سواء أكانت من أصل نباتي، أم حيواني ومن بين مختلف العناصر الثقيلة يعد الزئبق أحد أهم مخلفات بعض الصناعات

ولقد وجدت بعض الأنواع البكتيرية التي تتميز بدرجة عالية من المقاومة للتركيزات العالية من الزئبق، وذلك بفضل احتوائها على عدد من الجينات التي تشكل ما يعرف باسم mercury resistance operon يأخذ أحد هذه الجينات الرمز merB، وهو يشفر لإنزيم (يوصف بأنه organomercurial lyase) يقوم بتحليل الرابطة الكربونية في الزئبق العضوي، لينتج Hg(II) ويأخذ جين آخر الرمز merA، وهو يشفر لإنزيم mercuric ion reductase يقوم - بدوره - بتحويل الـ Hg(II) إلى الزئبق العنصري

Hg(O)، الذى يعد أقل سمية بكثير عن كل من الـ Hg(II)، و HeHg، كما أنه يتبخّر من الخلايا ولهذا السبب جرت محاولات للاستفادة من هذه البكتيريا فى التخلص من تراكمات الزئبق فى التربة والمياه، إلا أنها لم تكن على درجة عالية من الفاعلية، وكانت بطيئة إلى درجة استحالة الاعتماد عليها - بصورة تامة - فى التخلص من الزئبق المتراكم خلال فترة مناسبة.

وفد اتجه الاهتمام إلى نقل جينات المقاومة للزئبق من البكتيريا إلى النباتات، ونقل بالفعل الجين merA إلى بعض الأنواع النباتية، إلا أن النتائج لم تكن مشجعة، حيث لم يحدث تعبير لهذا الجين فى النباتات المحولة وراثياً به، وبقيت النباتات حساسة للـ Hg(II)

هذا إلا أن عملية التحول الوراثى لمقاومة الزئبق كانت ناجحة حينما عدّل الجين merA جزئياً، وذلك فى كل من *Arabidopsis thaliana*، و'لحور الأصفر' *Liriodendron tulipifera* أنبتت بذور الـ *Arabidopsis* المحولة وراثياً بالجين merA المعدل ونمت بادراتها بقوة وأزهرت وأعطت بذوراً فى تركيز ٢٥-١٠٠ مللى مول من الزئبق، وهو تركيز يعد - عادة - ساماً للنباتات العادية. ولقد أفرزت النباتات المحولة وراثياً الزئبق العنصرى Hg(O) فى الهواء الجوى - عند تنميتها فى محلول مغذ غنى بالزئبق - وذلك بدرجة زادت بمقدار أربع مرات عما حدث فى النباتات العادية غير المحولة وراثياً (عن Rugh وآخرين ١٩٩٨).

التحول الوراثى للأغراض الطبية

تعرف العديد من حالات التحول الوراثى التى استهدفت إنتاج المركبات الدوائية من هرمونات، وبروتينات، وبيبتيدات، ولقاحات ضد عدد من الأمراض الخطيرة التى تهدد البشرية، مثل الكوليرا والأيدز، والملاريا كما تتجه الأبحاث نحو إنتاج لقاحات يمكن أن يتناولها الإنسان فى طعامه على صورة نبات محول وراثياً ليكون لقاحاً؛ فيما يعرف بـ edible vaccines وقد حدثت تقدمات فى هذا المجال فى إنتاج لقاحات مضادة للبكتيريا *E. coli*، و *Shigella*، و *Salmonella* (عن Chawla ٢٠٠٠)

إنتاج اللقاحات

إن فكرة إنتاج البروتينات المناعية والمضادات الحيوية فى النباتات مازالت جديدة، إلا أن التوقعات المؤلمة عليها كبيرة للغاية، ويعد الغياب المؤكد للفيروسات الممرضة أحد أهم المميزات التى توفرها اللقاحات التى تنتج بواسطة النباتات ولعل من أهم تطبيقات الهندسة الوراثية فى هذا المجال استخدامها فى إنتاج لقاحات ضد الالتهاب الكبدى hepatitis، والكوليرا cholera، والإسهال البكتيرى diarrhoea، والبكتيريا المسببة لتسوس الأسنان، وبروتينات البويضات غير المخصبة ذات الأهمية فى منع الحمل. ويعتقد العلماء أن نبات الموز ربما كان الاختيار المثالى لإنتاج تلك اللقاحات، التى يكون إنتاجها رخيصاً وآمناً (Moffat 1995).

إن الأجسام المضادة عبارة عن بروتينات تنتج بواسطة الجهاز المناعى للفقاريات، تقوم بالتعرف على جزيئات خاصة تسمى أنتيجينات وترتبط بها. وقد تكون هذه الأنتيجينات بروتينات، أو مواد كربوهيدراتية، أو مركبات عضوية بسيطة، أو أيونات معدنية وتسهل الأجسام المضادة الأنتيجينات، حيث تجدها وترتبط بها، وتوقف أى تأثير يمكن أن تحدثه فى الكائن الفقارى ولذا فإن الأجسام المضادة تعد حيوية فى حماية الكائنات المنتجة لها من أى كائنات قد تصيبها

ولقد ثبت أن بالإمكان تحويل النباتات وراثياً لإنتاج الأجسام المضادة التى تنتجها الحيوانات، وذلك بنقل الجينات المسؤولة عن إنتاج الأجسام المضادة من الحيوانات إليها، وأمكن بالفعل إنتاج عدد من الأجسام المضادة، والأجسام المضادة الكيميرية (المختلفة قليلاً عن الأصلية)، وقطع من الأجسام المضادة فى نباتات مختلفة حولت وراثياً ولقد وصل تركيز الأجسام المضادة فى النباتات المنتجة لها - فى بعض الحالات - إلى 1٪ من البروتين الخلو الكلى ومن بين أهم الانجازات فى هذا الشأن إنتاج ما يعرف باسم Guy's 13 secretory antibody فى النباتات، وهو الجسم المضاد الذى يتعرف على البكتيريا *Streptococcus mutans* المسببة لتسوس الأسنان فى الإنسان

وتتضمن عملية التحصين vaccination إدخال مركبات أنتيجينية فى الجسم أو فى

الدورة الدموية، بهدف تحفيز الكائن المحصن لإنتاج الأجسام المضادة المقابلة لتلك المركبات الأنتيجينية، بحيث يكون الجسم مجهزاً لمحاربتها حال وصولها إليه في مرات تالية وتجرى عملية التحصين غالباً عن طريق الدم، ولكنها قد تتم عن طريق الفم كما في حالة لقاح شلل الأطفال، ولكن التحصين عن طريق الفم أقل شيوعاً منه عن طريق الدم لاحتياج الأول لكميات كبيرة من اللقاح. ولهذا السبب اتجه الباحثون نحو إنتاج اللقاحات على نطاق واسع في النباتات التي تحول وراثياً لهذا الغرض وفضلاً عن تواجد تلك اللقاحات في أجزاء نباتية يمكن استعمالها كغذاء، فإنها لا تتطلب عمليات استخلاص وتنقية وتخزين مبرد كما هو الحال في اللقاحات التي تنتج في مزارع الخلايا (عن Bhat 2000).

هذا وتتميز اللقاحات التي يمكن أن يتناولها الإنسان في غذائه المحول وراثياً بأنها رخيصة الثمن، ويمكن إنتاجها قريباً من أماكن التجمعات السكانية التي قد تكون في حاجة إليها، كما يمكن جعل النبات الواحد ينتج أكثر من لقاح (Tacket & Mason 1999).

ومن أهم إنجازاته المصنعة الوراثة في مجال إنتاج اللقاحات، ما يلي:

• كان أول اللقاحات التي عبر عنها في النباتات الأنتجين *III* - المتحصل عليه من *Streptococcus mutans* (يعرف بالاسم *streptococcal antigen III*) - وهو الذي وصل تركيزه إلى 0.02% من البروتين الكلي بأوراق التبغ. وبالنظر إلى أن البكتيريا *S. mutans* تعد المسؤل الأول عن تسوس الأسنان، فإن استعمال ذلك اللقاح قد يفيد في منع تسوس الأسنان

• كذلك أمكن التعبير عن سُم البكتيريا *E coli* (وهو المعروف باسم *heat labile entrotoxin B subunit of E coli*) في البطاطس، وأدت تغذية الفئران بها إلى إنتاجها للمواد المضادة لذلك السُم

• وأمكن التعبير عن الجليكوبروتين الخاص بفيرس داء الكلب *rabis-virus*

glycoprotein في الطماطم بتركيز منخفض لم يتعد ٠,٠٠١٪ من تركيز البروتينات الذائبة (عن Kampken ٢٠٠١).

• كذلك أمكن إنتاج بطاطس محولة وراثياً بجين البروتين LT-B (وهو enterotoxin حساس للحرارة العالية تفرزه البكتيريا *Escherichia coli* في معدة الأفراد الذين يصابون بها). ولقد أوضحت نتائج الدراسات التي أجريت في هذا الشأن أن لقاحاً أنتيجينياً حصل عليه من نبات بطاطس محول وراثياً أمكن التعرف عليه من قبل الجهاز المناعي للإنسان بطريقة ترتب عليها إحداث مناعة جهازية (Tacket وآخرون ١٩٩٨).

• أمكن تحويل الترمس والخس وراثياً بجزء الدنا الذي يشفر أنتجين فيرس التهاب الكبدى الوبائى بي، وأدت تغذية الفئران عليها إلى إنتاجها لمستويات عالية من الأجسام المضادة لهذا الفيروس (Kapusta وآخرون ١٩٩٩).

• كذلك أمكن إنتاج لقاح التهاب الكبدى الوبائى HBsAg فى التبع، وثبت أنه لم يختلف عن اللقاح المائل الذى يُنتج بواسطة الخميرة (عن Bhat ٢٠٠٠).

• وأمكن التعبير فى البطاطس عن اللاكتوفيرين lactoferrin الإنسانى المضاد للميكروبات، وظهر نشاط مضاد للميكروبات ضد أربع سلالات بكتيرية مختلفة - من تلك التى تصيب الإنسان - فى مستخلصات درنات البطاطس المحولة وراثياً (Chong & Langridge ٢٠٠٠).

• كذلك أمكن التعبير فى النباتات عن أنتيجين سُم الكوليرا المعروف باسم: antigen of cholera-toxin B subunit of *Vibrio cholerae* (عن Bhat ٢٠٠٠).

• أمكن تحويل البسلة وراثياً لجعلها مصنعاً لإنتاج الجسم المضاد scFV (اختصار للمكون single-chain Fv fragment للجسم المضاد) المستخدم فى تشخيص الإصابات السرطانية وعلاجها. أنتجت النباتات المحولة وراثياً ٩ ميكروجرامات من الجسم المضاد لكل جرام من الوزن الطازج من البذور. وقد استمر ثبات ظهور الجسم المضاد فى نسل النباتات المحولة وراثياً، كما احتفظ بنشاطه فى البذور المجففة والمخزنة لمدة شهرين على حرارة الغرفة (Perrin وآخرون ٢٠٠٠).

هذا ونعرض في جدول (١٩-٢) قائمة بأنواع الأجسام المضادة التي أمكن إنتاجها في النباتات، وقائمة أخرى في جدول (١٩-٣) بأمثلة لأنواع اللقاحات التي أنتجت في النباتات، وذلك من خلال عمليات التحول الوراثي (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

جدول (١٩-٢): أمثلة لبعض أنواع الأجسام المضادة التي أمكن إنتاجها في النباتات

Signal sequence	الجسم المضاد	النبات	التطبيق
Immunoglobulins:			
Murine IgG	slg A (hybrid)	التبغ	<i>S. mutans</i> SA VII (dental cavities)
Murine IgG	IgG (guy's 13)	التبغ	<i>S. mutans</i> SA VII (dental cavities)
Murine IgG/KDEL	IgG Co17-1A	التبغ	Surface antigen (colon cancer)
Tobacco extensin	IgG (anti HSV-2)	فول الصويا	Herpes simplex virus
Single-chain Fv:			
Rice α -amylase	scFv (38C13)	التبغ	Lymphoma
Murine IgG/KDEL	scFv T84.66	الحبوب	Carcinoembryonic antigen (cancer)

جدول (١٩-٣) أمثلة لبعض اللقاحات التي أمكن إنتاجها في النباتات.

مستوى الإنتاج	النبات	البروتين المُعبَّر عنه	المصدر
لقاحات للإنسان			
0.001% SLP	التبغ	Heat-labile enterotoxin B	<i>Escherichia coli</i>
0.3% TSP	البطاطس	Cholera CtoxA and CtoxB subunits	<i>Vibrio cholerae</i>
<0.1% FW	التبغ والبطاطس	Envelope surface protein	Hepatitis B
0.23%/0.37% TSP	التبغ والبطاطس	Capsid protein	<i>Norwalk virus</i>
1% TSP	الطماطم	Rabies virus glycoprotein	<i>Rabies virus</i>
لقاحات للحيوان			
N/A	البرسيم الحجازي و <i>Arabidopsis</i>	Virus epitope VP1	Foot and mouth virus
0.2% TSP/0.01% FW	التبغ والذرة	Viral glycoprotein	Porcine coronavirus
N/A (CPMV)	الفاصوليا	Viral epitope VP2	Mink enteritis virus
3% SLP	<i>Arabidopsis</i>	Peptide from VP2 capsid protein	Canine parvovirus

إنتاج بروتين حليب المرضعات

أمكن تحويل البطاطس وراثياً بالجين المسئول عن إنتاج بروتين اللبّين الإنساني (حليب المرضعات) β -casein، وبذا .. يمكن الحصول على بروتين هذا الحليب من مصادر نباتية يمكن استعمالها كبديل لأغذية الأطفال الصغار؛ بهدف تحسين قيمتها الغذائية (Chong وآخرون ١٩٩٧).

إنتاج الهرمونات

أمكن التعبير عن هرمون النمو الخاص بالسلمون المرقط *Oncorhynchus mykiss* في بذور الـ *Arabidopsis* وأوراق التبغ (Bosch وآخرون ١٩٩٤).

إنتاج عقاقير أخرى متنوعة

قدّم Malik (١٩٩٩) قائمة بالعقاقير واللقاحات التي أنتجت بطرق الهندسة الوراثية واعتد استعمالها بدءاً بالأنسولين الإنساني في عام ١٩٨٢، ومروراً بأنواع المختلفة من الإنترفيرون *interferon*، والـ *erythropoietin*، والـ *filgrastim* وغيرها كثير ونقدم في جدول (١٩-٤) أمثلة لبعض المنتجات الصيدلانية التي أمكن إنتاجها في النباتات من خلال عمليات التحوّل الوراثي

التحوّل الوراثي للأغراض الصناعية

يستفاد من الهندسة الوراثية في تحويل النباتات إلى مغاغل بيولوجي لإنتاج الدهون والمواد الكربوهيدراتية والبروتينات للأغراض الصناعية ومن الواضح أن ذلك الهدف يتداخل مع هدف تحسين القيمة الغذائية، وهدف خدمة الأغراض الطبية، بل أن الهدف الأخير يمكن أن يندرج تحته

ونقدم في جدول (١٩-٥) قائمة ببعض التطبيقات التي استخدمت فيها النباتات كمفاعلات بيولوجية لإنتاج مركبات متنوعة يمكن أن تستخدم - أو استخدمت بالفعل - في الأغراض الصناعية

جدول (١٩-٤) أمثلة لبعض المنتجات الصيدلانية التي أمكن إنتاجها في النباتات عن طريق التحولات الوراثية (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

التطبيق	النبات المحول وراثياً	المصدر	البروتين المُعبَّر عنه
Anticoagulant	التبغ	الإنسان	Protein C
Anticoagulant	لفت الزيت	<i>Hirudo medicinalis</i>	Hirudin
Growth hormone	التبغ	الإنسان	Somatotrophin
Treatment for hepatitis B + C	الأرز / اللفت / التبغ	الإنسان	β -Interferon
Burns/fluid replacement, etc.	التبغ	الإنسان	Serum albumin
Blood substitute	التبغ	الإنسان	Haemoglobin - α and - β
Collagen	التبغ	الإنسان	Homotrimeric collagen
Cystic fibrosis, haemorrhages	الأرز	الإنسان	α_1 -Antitrypsin
Transplant surgery	الدرة	الإنسان	Aprotinin (trypsin inhibitor)
Antimicrobial	البطاطس	الإنسان	Lactoferrin
Hypertension	التبغ / الطماطم	الإنسان	ACE
Opiate	<i>Arabidopsis</i> / لفت الريح	الإنسان	Fknephelin
HIV therapy, cancer	التبغ <i>Trichosanthes kirilowii</i>		Trichosanthin -a

ونلقى - فيما يلي - مزيداً من الضوء على بعض التطبيقات التي لاقت نجاحاً، أو نالت اهتماماً خاصاً من الباحثين

إنتاج الإنزيمات

تستعمل الإنزيمات بكثرة في الصناعة لأغراض متنوعة، وهي تنتج لهذا الغرض من خلال عمليات التخمر الذي تسعمل فيه الخمائر وغيرها من الفطريات على نطاق واسع (جدول ١٩-٦) وتعد معظم تلك الإنزيمات ثابتة حرارياً حيث يناسب نشاطها - عادة حرارة تتراوح بين ٥٥، و ٩٠م° ونظراً لأن إنتاج تلك الإنزيمات يتحكم فيه جينات بسيطة، لذا اتجه الباحثون نحو محاولة نقل الجينات من البكتيريا إلى النباتات، مع جينات أخرى منظمة للتعبير عنها في أجزاء التخزين من النبات كالبذور أو الأوراق

جدول (٥-١٩): أمثلة على استخدام النباتات كمفاعلات بيولوجية لإنتاج الدهون، والمركبات الكربوهيدراتية، والبروتينات للأغراض الصناعية (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣).

النباتات التي حولت وراثيًا	التطبيق	مصدر الجينات	المركب
فلفن الزيت	Food, detergent, industrial	California bay tree (<i>Umbellularia californica</i>) - Thioesterase	Medium chain fatty acids
التبغ	Food	Rat-desaturase	Mono-unsaturated fatty acids
فلفن الزيت، وفول الصويا	Biodegradable plastics	<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Poly-hydroxybutyric acid
فلفن الزيت	Food, confectioneries	<i>Brassica rapa</i>	Saturated fatty acids
البطاطس	Food, industrial	<i>Solanum tuberosum</i> (GBSS)	Amylese free starch
البطاطس	Food, pharmaceutical	<i>Klebsiella pneumoniae</i> -Cyclodextrin glucosyl transferase	Cyclodextrins
التبغ والبطاطس	Industrial, food	<i>Bacillus subtilis</i> - Fructosyl transferase	Fructans
البطاطس	Food, industrial	<i>E. coli</i> (glc16)	Increased amount of starch
التبغ	Food, stabilizer	<i>E. coli</i>	Trehalose
<i>Nicotiana benthamiana</i>	Inhibition of HIV replication	Chinese medicinal plant	Alpha-trichsantfin
التبغ والطماطم	Anti-hypersensitive effect	Milk	Angiotensin converting enzyme inhibitor
التبغ	Various	Mouse	Antibodies
التبغ والطماطم، والبطاطس والخس	Orally administered vaccines	Bacteria, viruses	Antigens
التبغ	Subunit vaccine	Pathogens	Antigens
فلفن الزيت، و <i>Arabidopsis</i>	Opiate activity	Human	Enkephalin
فلفن الزيت	Thrombin inhibitor	Synthetic	Hirudin

دهون:

بروتينات:

جدول (١٩-٦). استعمالات الإنزيمات في الصناعات الغذائية (عن Chrispeels & Sadava

٢٠٠٣)

الاستعمالات	الكائن المنتج له	الإنزيم
التحلل التام للنشا إلى جلوكوز تحويل الجلوكوز إلى فركتوز يستخدم في التحلية	فطر الـ <i>Aspergillus</i>	Amylase & glucoamylase Glucose isomerase
تحليل المركبات المعقدة للجدر الخلوية يستعمل في تسهيل ترشيح مستخلصات الثمار	الفطريات	Pectinase
تحليل المركبات المعقدة بالجدر الخلوية للحبوب. يستعمل في جعل البيرة قابلة للترشيح	الفطريات	Gluconase
تبييض دقيق القمح.	البقوليات (البذور)	Lipoxygenase
يجلط بروتين اللبن، بما يجعل بالإمكان إنتاج مصل اللبن whey وخبثارة اللبن curd	ينتج في المعدة الرابعة للحيوانات المجتررة .. يحتوى عدة إنزيمات أهمها الكيمورين chymosin	Rennet extract
يحول اللاكتوز (سكر اللبن) إلى جالاکتوز وجلووكوز يستعمل في إنتاج بعض منتجات الألبان مثل Lactaid للأشخاص الذين يعانون من نقص اللاكتيز ولا يمكنهم تحمل اللاكتوز.	الخمائر والفطريات	Lactase
لها استعمالات كثيرة في صناعة الجبن (كبديل لمستخلص المسحة) ولجعل اللحوم أسهل مضغاً (meat tenderizers)	البكتيريا والفطريات والنباتات	Proteases
تحلل الدهون في الجبن لإنتاج الأحماض للحيوانات المجتررة تستخدم في إنضاج الجبن وتكوين مركبات تكسيها مذاقها الخاص.	تنج في المعدة الرابعة للحيوانات المجتررة والكائنات الدقيقة	Lipases
تحليل الـ phytate في البذور لإطلاق الفوسفات. يمكن استخدامها في معاملة عليقة الحيوانات لأجل توفير الفوسفات لها	النباتات والكائنات الدقيقة	Phytase

وعلى الرغم من أن الإنزيمات التى تنتج بواسطة الكائنات الدقيقة فى عمليات التخمر تكون أكثر نقاوة عن تلك التى يمكن أن تنتجها النباتات المحولة وراثياً، والتى تحتاج إلى تنقيتها وفصلها عن البروتينات والمركبات الأخرى فى النبات قبل استعمالها فى الأغراض الصناعية .. على الرغم من ذلك فإن استعمال النباتات التى تحتوى على إنزيم معين قد يكون ذو فائدة تطبيقية كبيرة؛ فمثلاً إذا احتوت النباتات على إنزيم يلزم لتعديل العليقة المستعملة (بدلاً من إضافة ذلك الإنزيم إلى العليقة) فإن ذلك يعد أمراً واعداً وعلى سبيل المثال .. يساعد إنزيم الفيتيز phytase - الذى ينتج بالتخمر - والذى يضاف إلى العلائق الحيوانية - فى هضم حامض الفيتيك phytic acid، ولكن إنتاجه فى جزء نباتى مثل درنات البطاطس يجعل من الممكن إجراء عملية الهضم بسهولة بإضافة تلك الدرناات إلى العلائق الغنية بحامض الفيتيك (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

هذا ويسمح فى المملكة المتحدة باستعمال خميرة محولة وراثياً فى صناعة الخبز. تحتوى تلك الخميرة على جين نقل إليها من سلالة قريبة منها، وهذا الجين يعمل على إسرار إنتاج إنزيمات معينة هى المسئولة عن التخمر. ونظراً لأن الخميرة الجديدة قد حصلت على هذا الجين من سلالة قريبة مماثلة لها، فلم تكن هناك حاجة لتمييز هذا الخبز بأنه مصنع باستعمال خميرة محولة وراثياً (Connett & Barfoot ١٩٩٢).

ويستعمل الإنزيم الهاضم للبروتين subtilisin تجارياً مع منظفات الملابس، حيث يتعرض للكلورين، والمواد المؤكسدة، والحرارة العالية، والانحرافات الشديدة فى ال pH. وقد تمكن العلماء من تحضير أكثر من ٨٠ طفرة من هذا الإنزيم، ولاحظوا أن استبدال الميثيونين methionine فى الموقع ٢٢٢ بأى من الأحماض الأمينية المقاومة للأوكسدة (الآلاينين، أو السيرين، أو الثريونين) جعل الإنزيم أكثر ثباتاً، ولكن مع حدوث نقص فى نشاطه.

كذلك أمكن هندسة إنزيم آخر هاضم للبروتين وقادر على تحمل الكلورين أطلق عليه اسم Durazyme، وفيه استبدل الميثيونين بأحماض أمينية أخرى. ولهذا الإنزيم القدرة على النشاط مع المنظفات الصناعية لإزالة البقع البروتينية (عن Malik ١٩٩٩).

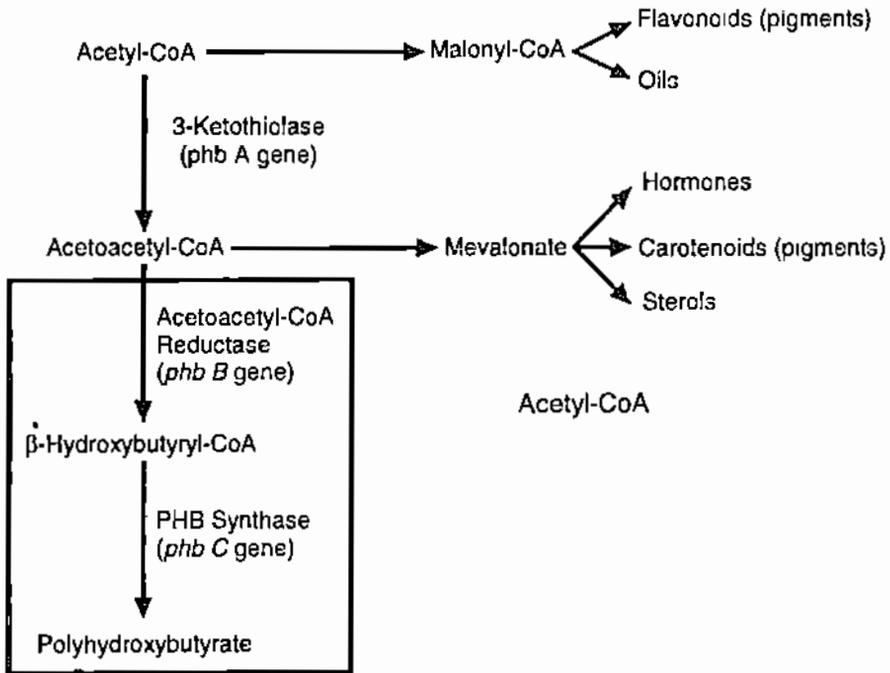
إنتاج بلاستيك يتحلل بيولوجياً

يتراكم المركب بولى هيدروكسى بيوتيريت polyhydroxybutyrate (اختصاراً PHB) وهو بوليستر polyester أليفاتى - بصورة طبيعية - كمادة مُخزّنة - فى عديد من الأنواع البكتيرية (مثل: *Alcaligenes eutrophus*) بذات الكيفية التى يتراكم بها فى النباتات النشا، والزيوت، والسكروز، وغيرهم من المركبات المخزنة. ويستعمل - حالياً - الـ PHB الذى تنتجه البكتيريا (وهو يعاثل البلاستيك البترولى فى خصائصه) يستخدم بواسطة الصناعة كمصدر متجدد لتصنيع بلاستيك قابل للتحلل بيولوجياً. هذا إلا أن المشكلة الرئيسية التى تواجه هذا التوجه هى صعوبة الحصول على كميات كبيرة من الـ PHB من خلال البكتيريا.

ولقد وجد أن تمثيل الـ PHB يلزمه ثلاثة إنزيمات فقط (شكل ١٩-١)، علماً بأن الإنزيم الأول فى مسار تمثيل المركب يتواجد بالفعل طبيعياً فى النباتات ولقد أمكن نقل الجينين الآخرين - بطرق الهندسة الوراثية - من البكتيريا إلى النبات *Arabidopsis thaliana*، وتبين أن الـ PHB يتراكم كحبيبات صغيرة فى السيتوبلازم، والنواة، والفجوات بخلايا النباتات المحولة وراثياً. ولكن - لسوء الحظ - كانت النباتات المحولة وراثياً شديدة التقزم، ربما بسبب تحويل مسار أحد المركبات الوسطية الهامة (وهو Acetoacetyl-CoA) من الاتجاهات التى يحتاجها النمو النباتى إلى اتجاه تخزين الـ PHB وربما يمكن التغلب على مشكلة تقزم النمو بإدخال promoter ينظم تمثيل المركب فى البذور فقط بدلاً من تكوينه - كما حدث - فى جميع أجزاء النبات (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣)

وقد أمكن - بالفعل - حل مشكلة ضعف النمو النباتى وضعف إنتاج الـ PHA فى النباتات المحولة وراثياً بإضافة تتابع نيكلويتيدى للجين يجعل الإنزيمات التى تكونها تستهدف التخزين فى البلاستيدات، مما وفر للإنزيمات تركيزات عالية من المادة الخام التى تعمل عليها لأجل تمثيل الـ PHB، ووفر حماية للخلايا النباتية الأخرى من أى احتمالات ضارة لتراكم الـ PHB بها. وقد أدى ذلك إلى زيادة تمثيل الـ PHB بمقدار

١٠٠ ضعف دون أن تحدث أى أضرار معنوية على النمو النباتى ومحصول البذور (عن Chawla ٢٠٠٠).



شكل (١٩-١): مسار تمثيل الـ polyhydroxybutyrate (اختصاراً: PHB) فى البكتريا والنباتات. تمثل الإنزيمات والجينات التى توجد داخل المستطيل تلك التى يلزم نقلها من البكتريا *Alcaligenes eutrophus* إلى النباتات؛ لجعلها قادرة على إنتاج الـ PHB (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).