الباب الخامس

الفصل الاول

- إنتاج نباتات مقاومة للامراض

§ الاهداف :

§ ١-إعطاء فكرة عن الطرق التقليدية للتربية للمقاومة

§ ٢- التربية للمقاومة بإستعمال مزارع الأنسجة والهندسة

§ الوراثية

§ ٣-عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية النبات

§ ٤- إنتاج نباتات مقاومة من مزارع المتوك

§ ٥- زيادة المقاومة عن طريق اندماج البروتوبلاست

§ ٦- إدخال ال DNAفى خلايا النبات لإحداث المقاومة

§ ٧- إنتاج نباتات مقاومة للفيرس وأخرى مقاومة للفطريات

مقدمة

- أصبح إنتاج نباتات مقاومة للأمراض بالأساليب الحديثة أمرا لا بديل عنه وبالرغم من استخدام تكنولوجيا الهندسة الو راثية قد بدأ حديثا إلا أن هذا الأسلوب أصبح هاما في مقاومة الأمراض النباتية .فهناك طرق كلاسيكية لتربية النباتات المقاومة للمرض إلا أنها تستغرق وقت طويل .يتضمن التقدم الحديث فى مزارع النسج عزل الطفرات المقاومة من مزارع الخلايا،إنتاج نباتات أحادية من مزارع المتوك وزيادة فى مقاومة المرض بواسطة اندماج البروتوبلاست .
- أما التقدم في الهندسة الو راثية والذي يشمل التحول الوراثى فى خلايا النبات لمقاومة المرض حيث يمكن إدخال المادة الوراثية DNAفى خلايا النبات بطرق معينة منها إستعمال عوامل النقل (عوامل الكلونة)مثل البلازميد ،الفاج والكوزميد .
- استخدمت الهندسة الو راثية للحصول على نباتات مقاومة للفيروسات حيث استخدمت الجينات المسئولة عن إنتاج بروتين أغلفة الفيروس مع محفز قوى فكانت النباتات المحولة تظهر مقاومة للإصابة بالفيروس
- ومن الأساليب الأخرى المستخدمة فى هندسة مقاومة الفيروس إنتاج الرنا الملحق satellite RNA حيث يقلل من حدة أعراض الإصابة بالفيروس ،كذلك إنتاج جزيئات RNA معوقة RNA defective وهى أشكال من المادة الوراثية لبعض الفيروسات يمكنها تسبب اضطراب فى عملية تضاعف الفيروس
- أما إنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات تعتمد على تعبير جينات تشفر لبروتين مضاد للفطريات بحيث لايؤثر ناتج هذه الجينات عكسيا على النبات

§ استخدم العديد من الكيماويات فى مقاومة الأمراض الفطرية ومع ذلك عجزت عن مقاومة البكتريا والفيروسات. ونظراً لاستخدام الكيماويات فى المقاومة من أثار ضارة على البيئة أو نظراً لصعوبة مقاومة الأمراض بالكيماويات ونظرا لحدوث طفرات فى الكائنات الممرضة مما يجعل النبات المقاوم لكائن غير مقام وبالتالى يصبح إنتاج نباتات مقاومة للأمراض بالأساليب الحديثة أمراً لا بديل عنه.

,وبالرغم من إستخدام تكنولوجيا الهندسة الو راثية قد بدأ حديثاً إلا أن هذا الأسلوب أصبح هاماً فى مقاومة الأمراض.

١-الطرق الكلاسيكية الرئيسية المستعملة فى التربية لإنتاج نباتات مقاومة للمرض:

- ١-انتقاء مقدار كبير من البذور من النباتات الأكثر مقاومة والتى بقيت حية فى الحقل حيث الإصابة الطبيعية تحدث بانتظام
- ٢-طرز نقيه أو الانتقاء الأصيل. وفيها تؤخذ أفراد النباتات عالية المقاومة وأجيالها ويجرى لها إكثار بصورة منفردة ويعاد حقنها لاختيار المقاومة.
- ٣-إعادة التهجين أو التهجين الرجعى
- ٤ -هناك طرق كلاسيكية أخرى لتربية النباتات المقاومة للمرض تسمح لنا بالاستفادة بظاهرة تفوق الهجين
- ٥- استعمال الطفرات الطبيعية أو الصناعية بواسطة أشعة X أو الأشعة الفوق بنفسجية أو المواد الكيماوية

٢- التربية للمقاومة باستعمال طرق مزارع النسج و الهندسة الو راثية :

- يتضمن التقدم الحديث فى مزارع النسج والهندسة الو راثية إلقاء الضوء على كل منهما

أولا مزارع النسج

- **أ- مزارع النسج النباتية المقاومة للمرض:**
- إن مزارع النسج النبات المقاومة للمرض تكون مفيدة بشكل خاص مع تلك التى تكون ناتجة عن وسائل التكاثر اللاجنسى مثل الفراولة ،التفاح ، الموز- قصب السكر، المنيهوت، البطاطس. إنتاج نباتات صغيره من مزارع النسيج مرستيمى ونسيج آخر يسهل التكاثر السريع للنباتات مع طرز جينية رائعة لمقاومة خاصة فى تلك المحاصيل التى لا تتكاثر بسهوله بالبذور، وأيضا هناك استعمال اكبر لمزارع النسج وذلك الاستعمال هو إنتاج أصول خالية من الكائن الممرض من النبات التى تتكاثر خضريا (وسائل تكاثر لاجنسى) والقابلة للإصابة.

- §
- **§ ب- عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية نبات :**
- § إن النباتات التى يعاد تخليقها من مزرعة (كالوس، خلايا فردية أو بروتوبلاست) كثيرا ما تظهر تنوعات كبيرة (تنوع جسمى وليس جنسى) معظمها لا فائدة منها أو ضارة، ومع ذلك فإن النباتات ذات الصفات المفيدة يمكن أن تظهر أيضا، فمثلا عندما أعيد تخليق النباتات من بروتوبلاست ورقة بطاطس صنف قابل للاصا به بالفطريين *Phytophthora infestans* والفطر *Alternaria solani*، بعضا من هذه النباتات كانت مقاومة للفطر *A. solani* وكانت مجموعة اخرى مقاومه للفطر *P. infestans* وبالمثل فى النباتات التى حصل عليها من مزارع نسيج قصب السكر أظهرت زيادة فى المقاومة للمرض المتسبب عن كل من فطر *Helminthosportium* والفطر *Ustilago*.

- **ج- إنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية مقاومة من نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية:**
- إن خلايا اللقاح غير ناضجة (مكروسبورز) غالبا ما تكون أقل من الميزواسبورز فى كثير من النباتات وهذه يمكن أن تستحث لتتطور إلى نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية الذى يكون فيها (الاليلات) من كل جين موجود فى كل أنواع الاتحا دات بواسطة التكاثر الخضرى وبتقنية مناسبة للمقاومة للمرض، يمكن أن تحتار معظم النباتات الأحادية المجموعة الكروم وسوميه وذات المقاومة العالية للمرض هذه النباتات يمكن فيما بعد أن تعامل بالكولشيسين والذى يؤدى إلى تضاعف الانوية وهذا يعنى مضاعفة عدد الكر وموسومات وإنتاج نباتات أحاديه المجموعة الكروموسوميه متماثلة الزيجوت لجميع الجينات بما فيها الجينات المقاومة.

§ د- – زيادة مقاومة المرض بواسطة اندماج البروتوبلاست:

- § إن البروتوبلاستس المأخوذة من النباتات القريبة العلاقة أو حتى غير قريبة العلاقة تحت ظروف خاصة يمكن أن تجهز لتندمج مع بعضها ينتج من الاندماج خلايا هجن (هجين) تحتوى على نوايا (كر وموسومات) أو السيتوبلازم لكلا البروتوبلاستين
- § وأحيانا يؤدى الاندماج إلى خلايا هجين سيتوبلازمى Cybrid cell تحتوى على نواة من أحد الخلايا و السيتوبلازم من خلية أخرى. وبشكل عام فإن الهجن من الخلايا غير متقاربة تتوقف عن النمو (تجهض) إما عاجلا أو أجلا
- § أو يمكن أن تنتج كالوس ولكنها لا تعيد النبات إلى التكاثر فى إتحادات الخلايا المتقاربة إلى حد ما بينما معظم أو كل الكروموسومات من إحدى الخليتين تستبعد خلال انقسام الخلية وإن واحدا أو قليلا من كروموسومات تلك الخلية تبقى حية
- § ويمكن أن تندمج مع مجموعة العوامل الوراثية (الجينوما) للخلية الأخرى. بهذه الطريقة فإن النباتات يكون فيها الكروموسومات أكثر وبالتالى صفات جديدة يمكن إعادة تخليقها من نواتج اندماج البروتوبلاست.
- § إن اندماج البروتوبلاست يكون نافعا بشكل خاص بين بروتوبلاستى من طرز نباتية مختلفة عالية المقاومة للمرض من نفس الصنف أو النوع. إن الاندماج البروتوبلاستى لمثل هذه الطرز يؤدى إلى نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية والتى تضم جينات المقاومة من كلا الطرازين الأحادية الكروموسومات عالية المقاومة.

- و- التحول الوراثى فى خلايا النبات لمقاومة المرض:
- إن المادة الوراثية DNA يمكن إدخالها فى خلايا النبات أو البروتوبلاست بعدة طرق. من هذه الطرق:
- ١- امتصاص الـ DNA مباشرة.
- ٢- الحقن الدقيق الـ DNA.
- ٣- اللايبوسوم (حويصلة دهنية) تسليم وسط لـ DNA .
- ٤- التسليم بواسطة (كر وموسومات صغيرة
- ٥- استعمال عوامل نقل الفيرس النباتى.
- ٦- الطريقة الأكثر أهمية هى استعمال نظام ناقل الجين الطبيعى للبكتريا ***Agrobacterium tumefaciens*** مسبب مرض التدرن التاجى فى كثير من النباتات

تابع

- الىالآن فان نظام *Agrobacterium* فقط هو الذى استعمل بنجاح ليدخل فى النباتات جينات جديدة متخصصة والتى بعد ذلك ظهر تأثيرها بواسطة النبات. هذا كان متبوعا بعزل جين بروتين البذرة من الفاصوليا ووصل بطريقة الجدل إلى المنطقة الملائمة من البلازمد الحاث على الورم Ti- plasmid للبكتريا *Agrobacterium* بعد ذلك يسمح للبكتريا أن تصيب نباتات أخرى مثل عباد الشمس. بعد الاصابه فان حوالى ١/١٠ الـ DNA من البلازمد الذى يحوى الجين الجديد ينقل إلى خلية النبات ويلتحم مع الجينوما (مجموعة العوامل الوراثية). هناك حيث يتضاعف الجين الجديد خلال انقسام خلية النبات ويظهره أثره مع جينات النبات الأخرى.

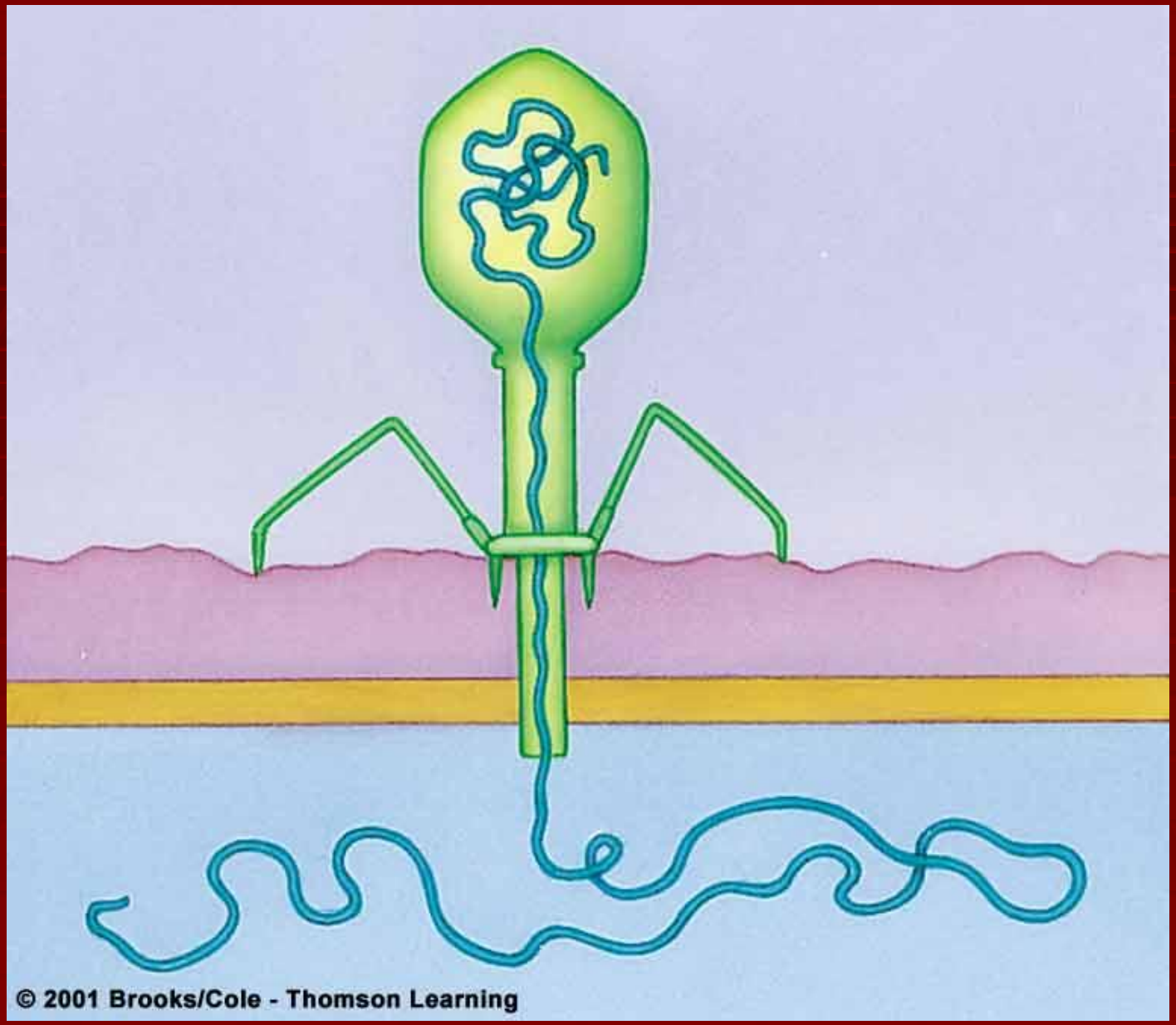
§ نتيجة لإستخدام الطرق الحديثة مثل زراعة الانسجة والهندسة الوراثية (التكنولوجيا الحيوية) فى مقاومة الامراض النباتية تحسنت كمية ونوعية المحصول تحسناً كبيراً عما كانت عليه فى الماضى. ومع ذلك فإن المحاصيل المحسنة مازالت مهددة بالعديد من الأمراض بل أنها أصبحت مرتعاً خصباً للعديد منها مقارنة بالنباتات البرية لاستمرار الانتخاب لصفات معينة (مثل كمية ونوعية المحصول) بدرجة أكبر من الانتخاب لمقاومة هذه الأمراض.

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية سوف نستعرض بعض الابحاث فى هذا المجال

- استخدمت في معظم محاولات الهندسة الو راثية التى أجريت للحصول على نباتات مقاومة
- ١- الفيروسات :
- الجينات المسئولة عن إنتاج بروتينات أغلفة الفيروسات (virus coat protein genes) والمعزولة من هذه الفيروسات). وغالبًا ما يستخدم مع جين بروتين غلاف الفيروس محفز قوى (strong promoter) يكون عادة ثرتى فايف إس ويتم النقل الجينى عن طريق الأجروبكتريم.

كان بويل أبيت

-)ول من أثبت أن النباتات المحولة التى تظهر تعبير جين بروتين غلاف الفيروس تظهر مقاومة للإصابة بالفيروسات. حيث أمكن إنتاج نباتات دخان تحتوى على نسخة من جين بروتين غلاف السلالة u1 لفيروس موزايك الدخان (tobacco mosaic virus,TMV). وعندما تم إحداث عدوى للنباتات المحولة بهذه السلالة لم تظهر أعراض الإصابة بالمرض (symptoms) أو ظهرت متأخرة. كما وجد أن تراكم الفيروس فى النباتات المحولة كان أقل منه فى نباتات المقارنة سواء كانت الإصابة سطحية أو جهازية فى الأوراق
- أمكن بعد ذلك نقل جينات بروتين الغلاف للعديد من أنواع الفيروسات إلى نباتات مختلفة ولقد أظهرت النباتات المحولة مقاومة للفيروسات التى تم إليها نقل جين الغلاف البروتينى



http://www.armageddononline.net/image/virus2.JPG

نقل الجينـــات إلى النباتات
Transgenic plant

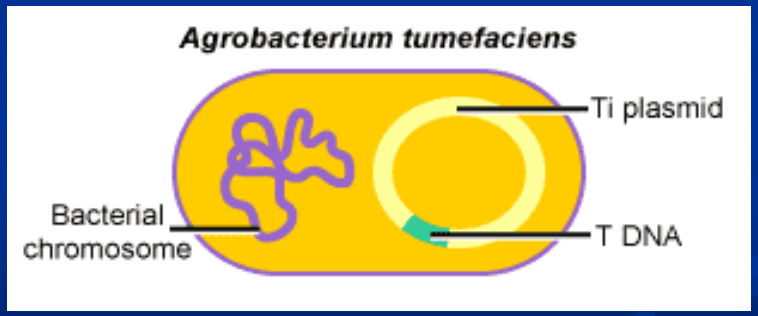


Figure 3. Transfer DNA on a plasmid in *Agrobacterium*

- أمكن بعد ذلك نقل جينات بروتين الغلاف للعديد من أنواع الفيروسات إلى نباتات مختلفة ولقد أظهرت النباتات المحولة مقاومة للفيروسات التى تم إليها نقل جين الغلاف البروتينى

- فلإنتاج نباتات بطاطس مقاومة للفيروس إكس (potato virus X-PVX) نقلت قطعة الدنا التى تحتوى على التتابع الجينى المشفر لبروتين غلاف هذا الفيروس إلى الأصناف التجارية عن طريق الأجروبكتريم (وأجرى إختبار للنباتات المحولة الناتجة لدراسة تعبير هذا الجين فى الحماية ضد الإصابة به
- فأظهرت النباتات المحولة قدراً كبيراً من المقاومة فى معمل زراعة الأنسجة، وأكثرت هذه النباتات إكثاراً دقيقاً ثم أختبرت لمقاومة الفيروس فأظهرت نفس درجة المقاومة التى اظهرتها أثناء الإختبارات فى معمل زراعة الأنسجة
- وأجرى اختبار المقاومة للفيروس على نباتات ناتجة من عيون درنات نباتات بطاطس محولة وأظهرت هذه النباتات أيضاً مقاومة للفيروس وأظهر تحليل الدرنات والأوراق من النباتات الخالية من الفيروسات(virus free plants) تعبيراً ثابتاً (stable expression) للجينات المشفرة لبروتين غلاف الفيروس طوال موسم النمو

§ كما وجد أن تعبير بروتين غلاف فيروس موزايك الدخان لم يؤثر على مدى الإصابة بفيروسات أخرى غير قريبة منه مثل فيروس البطاطس إكس وفيروس موزايك الخيار(cucumber mosaic virus-CMV) وفيروس موزايك البرسيم الحجازى (alfalfa mosaic virus-AIMV). وبالتالى فإن تعبير جين بروتين غلاف أحد الفيروسات قد يكون فعالاً فى إعطاء درجات مختلفة لمقاومة الأنواع الفيروسية الأخرى

§ ويعطى جين بروتين غلاف فيروس موزايك فول الصويا النباتات حماية ضد الإصابة بفيروس البطاطس واى وفيروس الدخان المحفور ولكل منهما غلاف متشابه فى حوالى ٦٠% من تركيبه لبروتين غلاف فيروس موزايك فول الصويا. ولم يعط تعبير جين بروتين غلاف أحد سلالات فيروس موزايك خشخيشة الدخان (tobacco rattle virus-TRV) حماية للنباتات ضد الإصابة بسلالة أخرى متشابهة معها فى حوالى ٣٩% فقط بروتين الغلاف بالتالى فللحصول على نباتات مقاومة لأكثر من فيروس يجب نقل جين بروتين الغلاف لأى من هذه الفيروسات إلى المادة الوراثية للنبات ولقد تم إنتاج نباتات بطاطس مقاومة لفيروسى البطاطس إكس وواى بهذه الطريقة

- وتتأثر كفاءة الحماية الناتجة عن نقل جينات بروتين غلاف الفيروس بكمية البروتين المنتج بواسطة النباتات المحولة ويتركز الفيروسات التى تصيل النبات وبالتالى فهى تعتمد على الجرعة
- . فلقد وجد أنه بزيادة تركيز الفيروسات التى تصيب النباتات يمكن التغلب على مقاومة فيروس موزايك الدخان وفيروس موزايك البرسيم الحجازى وفيروس البطاطس فى نباتات الدخان المحولة والتى يكون مسئول عنها جينات بروتينات أغلفة هذه الفيروسات (
- و وعند معاملة نباتات الدخان المحولة بجينات بروتين غلاف فيروس موزايك الدخان بتركيزات منخفضة من هذا الفيروس (٤ميكروجرام/ميلليلتر) وجد أن بداية ظهور المرض تأخرت حوالى أسبوعين بعد العدوى فى حين ظهرت الإصابة مباشرة على نباتات المقارنة. وظهرت أعراض الإصابة على ٤٠% فقط من النباتات المحولة بعد حوالى ثلاث أسابيع من العدوى. كما تأثرت المقاومة فى هذه النباتات المحولة بتركيز الفيروسات التى تصيبها.
- فقد ظهرت أعراض الإصابة بعد أيام قليلة من العدوى عند الإصابة بتركيزات عالية من الفيروسات.

- ويعتقد أن التركيب الوراثي للنوع المضيف (host species) والفيروس يلعبان دوراً هاماً في عمية الإعتماد على الجرعة. فبينما يمكن التغلب على المقاومة للإصابة بفيروس موزايك الدخان فى نباتات الدخان المحولة والتى تظهر تعبير جين بروتين غلاف السلالة U1 من موزابك الدخان بزيادة تركيز الفيروسات التى تصيب النباتات فإن مقاومة نباتات الطماطم المحولة والتى تظهر تعبير نفس الجين لاتتأثر عند ٤٠ ضعفاً للتركيز فى الحالة الأولى.
- ولم تتأثر أيضاً مقاومة هذه النباتات لفيروس موزايك الطماطم عندما كان تركيز الفيروسات عشرة أضعاف التركيز المستخدم فى الحالة الأولى
- ومع ذلك فلقد تأثرت المقاومة بزيادة تركيز الفيروسات فى حالة بعض سلالات فيروس موزايك الدخان. ويعتقد أن التركيب الوراثي للنوع المضيف (host species) والفيروس يلعبان دوراً هاماً في عمية الإعتماد على الجرعة. فبينما يمكن التغلب على المقاومة للإصابة بفيروس موزايك الدخان فى نباتات الدخان المحولة والتى تظهر تعبير جين بروتين غلاف السلالة U1 من موزابك الدخان بزيادة تركيز الفيروسات التى تصيب النباتات فإن مقاومة نباتات الطماطم المحولة والتى تظهر تعبير نفس الجين لاتتأثر عند ٤٠ ضعفاً للتركيز فى الحالة الأولى. ولم تتأثر أيضاً مقاومة هذه النباتات لفيروس موزايك الطماطم عندما كان تركيز الفيروسات عشرة أضعاف التركيز المستخدم فى الحالة الأولى
- ومع ذلك فلقد تأثرت المقاومة بزيادة تركيز الفيروسات فى حالة بعض سلالات فيروس موزايك الدخان.

تابع

- ولقد وجد أن فيروس إلتفاف أوراق البطاطس (potato leaf roll virus-PLRV) يتراكم بدرجة أقل فى نباتات البطاطس التى تظهر تعبير جين بروتين غلاف هذا الفيروس منها فى نباتات المقارنة (وأظهرت نباتات الدخان والبطاطس والبرسيم الحجازى والتى تتميز بمستوى منخفض فى إنتاج بروتين غلاف الفيروسات المختلفة حساسية أكثر للإصابة بتركيزات منخفضة من هذه الفيروسات عن تلك التى تتميز بمستوى عالى فى إنتاج بروتين غلاف هذه الفيروسات
- كما وجد أن نباتات الدخان الأصيلة (homozygous) لجين بروتين غلاف فيروس موزايك فول الصويا تنتج مستويات أعلى من بروتين الغلاف كما تكون أكثر مقاومة من النباتات الخليطة (heterozygous) لنفس الجين

§ ووجد أيضاً أن المقاومة للإصابة بفيروسى البطاطس إكس وواى بواسطة النباتات المحولة والتى تظهر تعبير بروتينات الغلاف لنوعى الفيروسات كانت مستقلة عن مدى التعبير لجين بروتين الغلاف ومستوى هذه البروتينات فى النباتات .

- وفى حالة المقاومة ضد الإصابة بفيروس خشخيشة الدخان فى الدخان (١٠) وفيروس إلتفاف الأوراق فى البطاطس والتى تظهرها النباتات التى لاتحتوى على بروتينات أغلفة هذين الفيروسين فلا يكون مستوى بروتين غلاف الفيروس عاملاً هاماً فى التأثير على مستوى المقاومة.
- كذلك فإن النوع عامل هام ويؤثر على درجة المقاومة (فلقد وجد أن كمية بروتين غلاف فيروس موزايك الدخان المنتجة فى النباتات المحولة من الدخان والطماطم تقل عند درجات الحرارة العالية مع ظهور نقص فى مقاومة نباتات الدخان للإصابة بالمرض بينما لم تتأثر مقاومة نباتات الطماطم.

- ولقد وجد أن تعبير جين بروتين غلاف فيروس موزايك الدخان كان أعلى فى الأوراق الكبيرة وعلى العكس من ذلك فإن بروتين غلاف فيروس موزايك البرسيم الحجازى فى النباتات المحولة يوجد بكمية كبيرة فى الأوراق الصغيرة عنه فى الأوراق الكبيرة. بينما لايوجد تأثير لعمر الأوراق على كمية بروتين غلاف فيروس البرسيم الحجازى المنتجة فى النباتات المحولة
- وأشار تيومر وأخرون سنة ١٩٨٧ إلى عدم ثبات التعبير الجينى فى النباتات المحولة بجينات غلاف الفيروس.
- ففى نبات البطاطس يكون تعبير جين بروتين غلاف فيروس البطاطس إكس غير ثابت ولم ينتج هذا البروتين إلا بعد أن نقلت النباتات إلى الحقل
- وربما ترجع هذه الإختلافات فى التعبير الجينى إلى تأثير إختلاف الموضع الذى إستقر فيه الجين على دنا النبات أو إلى تأثير الحالة الفسيولوجية والبيئية التى تحيط بالنباتات المحولة.

- ووجد أن المقاومة الناشئة فى النباتات المتحولة بجين بروتين غلاف أحد الفيروسات ترجع مباشرة إلى فعل بروتين غلاف هذا الفيروس (٢٨٠). وقد تكون صفة تراكم بروتينات غلاف الفيروسات فى الخلايا عاملاً هاماً فى الدفع لمقاومة الإصابة بهذه الفيروسات.
-

ومن الأساليب الأخرى المستخدمة فى هندسة مقاومة الفيروسات ، إنتاج الرنا الملحق (satellite RNA)

تابع

-). إذ وجد أن بعض سلالات الفيروسات تنتجRNA ملحقاً يقلل من حدة أعراض الإصابة بالفيروسات. ولقد أقترح نقل DNAا المسئول عن هذا الRNAا إلى النباتات وبالتالى ينتج هذا الرنا فى النباتات المحولة وتصبح مقاومة لبعض الفيروسات
- وكان أول إستخدام لهذا الإسلوب مع الرنا الخاص بالسلالة I17N من فيروس موزايك القرنبيط وذلك لإنتاج نباتات دخان محولة ومقاومة للفيروسات وعندما أظهرت نباتات الدخان المحولة التعبير الجينى لإنتاج هذا الرنا وأمكنها إنتاج كمية كبيرة منه قلت كثيراً أعراض الإصابة بمرض الموزايك والتبرقش) (mottling

يتدخل إسلوب أخر لهندسة المقاومة للفيروسات فى عملية تضاعف الفيروسات (virus replication) يعتمد على إنتاج جزيئات الرنا المعوقة (RNA defective

- (RNA defective) وهى عبارة عن أشكال من المادة الوراثية لبعض أنواع الفيروسات يمكنها أن تسبب إضرابا فى عملية تضاعف الفيروسات
- ولقد أمكن إنتاج الرنا المعوقة لكل من فيروس شجيرة الطماطم المتقزمة (tomato bushy stunt virus- TBSV) وفيروس البقع المستديرة فى السيمبديم ((cymbidium ring spot virus-CyRSV) وفيروس تجعد الفت (turnip crinkle virus- TCV). وأيا كان مصدر الجين المنتج للرنا المعوقة (طبيعياً أوصناعياً) فإنه يكون فعالاً فى الدفع لمقاومة الفيروسات بواسطة النباتات المحولة بها

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفطرية

- تعتمد الحماية الطبيعية للنباتات ضد العدوى أو الإصابة بالكائنات الدقيقة المسببة للأمراض على أساليب متعددة يرتكز معظمها على تنشيط جينات معينة للدفاع ضد هذه الإصابة وينتج عن تنشيط مثل هذه الجينات تغيرات فيزيقية وبيوكيماوية فى النبات العائل تسمح بأن يكون أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى.
- من بين هذه التغيرات الفيزيقية ما يؤثر على خصائص الجدار الخلوى (cell wall) مثل تراكم الجلايكوبروتين الغنى فى الهيدروكسى برولين (hydroxyproline–rich glycoproteins) بالجدار الخلوى. وتراكم اللجنين والسوبرين (lignification and suberization) فى الجدار الخلوى وتكون الكلّس) وتجمع المركبات الفينولية

§ ومن بين التغيرات البيوكيماوية التى تجعل النبات أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى تخليق وتراكم الفيتوأليكسين (phytoalexins) والنواتج الثانوية السامة للبكتريا والفطريات وتراكم مثبطات إنزيم البروتيز (protease)يستطيع النبات طبيعياً أن يزيد من تركيز بروتينات معينة (pathogenic) (PR – proteins) (related proteins – إستجابة لهجوم المسبب المرضى والتى يظهر بعضها فعلاً مضاداً للعديد من الفطريات (antifungal activity)

§ ومع أن الدور المحدد لهذه البروتينات فى الإستجابة الدفاعية للنبات ليس معروفاً فإن وجودها يرتبط بمقاومة الأمراض الفطرية

- من البروتينات التى لها دور فى الإستجابة الدفاعية للنبات والتى تم التعرف عليها تلك الإنزيمات المحللة (hydrolic enzymes) الكايتينيز (chitinase) والجلوكانيز (β 1,3 glucanase) – وجد أن النشاط الملحوظ لهذه الإنزيمات يسبقه زيادة فى معدلات الرنا-م المشفر هذه الإنزيمات.
- ولقد حظى هذان الإنزيمان بإهتمام خاص كمكونين هامين فى إستجابة النبات الدفاعية إذ لايستطيع تحليل الكربوهيدارت فى الجدار الخلوى لمعظم الفطريات وهذه عبارة عن كايتين (chitin) وجلوكان – (β-1,3 glucan).

إثبات خصية تضاد الفطريات (antifungal property) للكايتينيز النباتى

- فمثلاً وجد أن الكايتينيز المعزول من نبات الفول يثبط نمو فطر السابروفيت (saprophyte) تريكوديرما فيريد (Trichoderma viride) عند تركيز ٢ ميكروجرام/لتر
- وبالمثل فقد إستطاعت إنزيمات الكايتينيز المعزولة من الشعير والذرة والقمح والداتورا والدخان وأرابيدوبسيس أن تثبط نمو فطريات مختلفة. فلقد أمكن تثبيط نمو الفطر فيوزاريم سولانى (*Fusarium solani*) بواسطة الكايتينيز المستخرج من نبات الدخان
- ولقد وجد أن إضافة الكايتينيز المستخلص من نبات الفول لمزرعة فطرية من ريزوكتونيا سولانى (*Rhizoctonia solani*) يؤدى إلي ظهور مناطق تثبيط بالقرب من موقع الإضافة. وهذا الفعل التثبيطى يزداد مع زيادة تركيز الإنزيم المضاف. ونشأ هذا نتيجة لتحليل الكايتين الحديث التكوين ومن ثم إضطراب نمو قمم الفطرولقد تأكدت هذه الملاحظة عن طريق الدراسة الميكروسكوبية.

- ويعتمد إسلوب إنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات على تعبير جينات تشفر لبروتين مضاد للفطريات (ويجب ألا يؤثر ناتج هذه الجينات عكسياً على النبات.
- فمثلاً بدخل عملية تخليق الفينايل بروبانويد (phenylpropanoid) في عمليات التمثيل فى النبات وعند إعاقة مسار تخليقه قد تكون النتيجة عكسية على نمو النبات مما قد يؤدى فى النهاية إلى موته
- ولقد أمكن عزل ووصف الجين المشفر لإنزيم الكايتينيز كما تم عزل الجينات المشفرة والإنزيمات المحللة المضادة للفطريات (antifungal hydrolyses) من نبات الدخان ونقلها إلى نبات الطماطم ليظهر فيها نفس التعبير للجينات المشفرة لإنزيمات الكايتينيز والجلوكانيز (chitinases and β – 1,3-glucanases).
- وأظهرت هذه النباتات مقاومة للمرض الذى يسببه الفطر فيوزاريم أوكسيسبورام (*Fusarium oxysporum*) ذو الأهمية الإقتصادية.

الخلاصة :

- تستعمل الطرق التقليدية لإنتاج نباتات مقاومة مثل الانتخاب والتهجين الرجعى ،ونظرا للتقدم الحادث في مجال التكنولوجيا الحيوية فإنها تستعمل فى محاولة لإيجاد نباتات مقاومة للكائنات الممرضة ..ففى مجال زراعة الانسجة تم عزل نباتات مقاومة من مزارع الخلية ، مزارع المتوك ومزارع البروتوبلاست كما تستخدم الهندسة الوراثية عن طريق التحول الوراثى بإدماج ال DNA لنبات مقاوم في أخر مصاب كما تستخدم الجينات المسئولة عن بروتين أغلفة الفيروس لإحداث المقاومة

§إنتهى الفصل