

## تعميقاً بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربي النباتات

السنة	الموضوع	الباحثون <sup>(١)</sup>
١٩٨٧	تطوير قاذفة الجينات التي تستعمل في التحويل الوراثي للنباتات	Sanford وآخرون، و Klein وآخرون

(١) للإطلاع على المصادر الأصلية لتلك التقديمات البحثية يراجع Chawla (٢٠٠٠)

وبين شكل (١-١) التقديمات النوعية التي تحققت في مجال التقنيات الحيوية خلال القرن العشرين.

### أهمية مزارع الأنسجة وتقنيات الدنا والهندسة الوراثية للمربي

يتضمن هذا الكتاب عرضاً مفصلاً لأهمية مزارع الأنسجة وتقنيات الدنا والهندسة الوراثية للمربي، ولذا .. فإن ما نتناوله بالشرح الآن ليس أكثر من مجرد تقديم للموضوع.

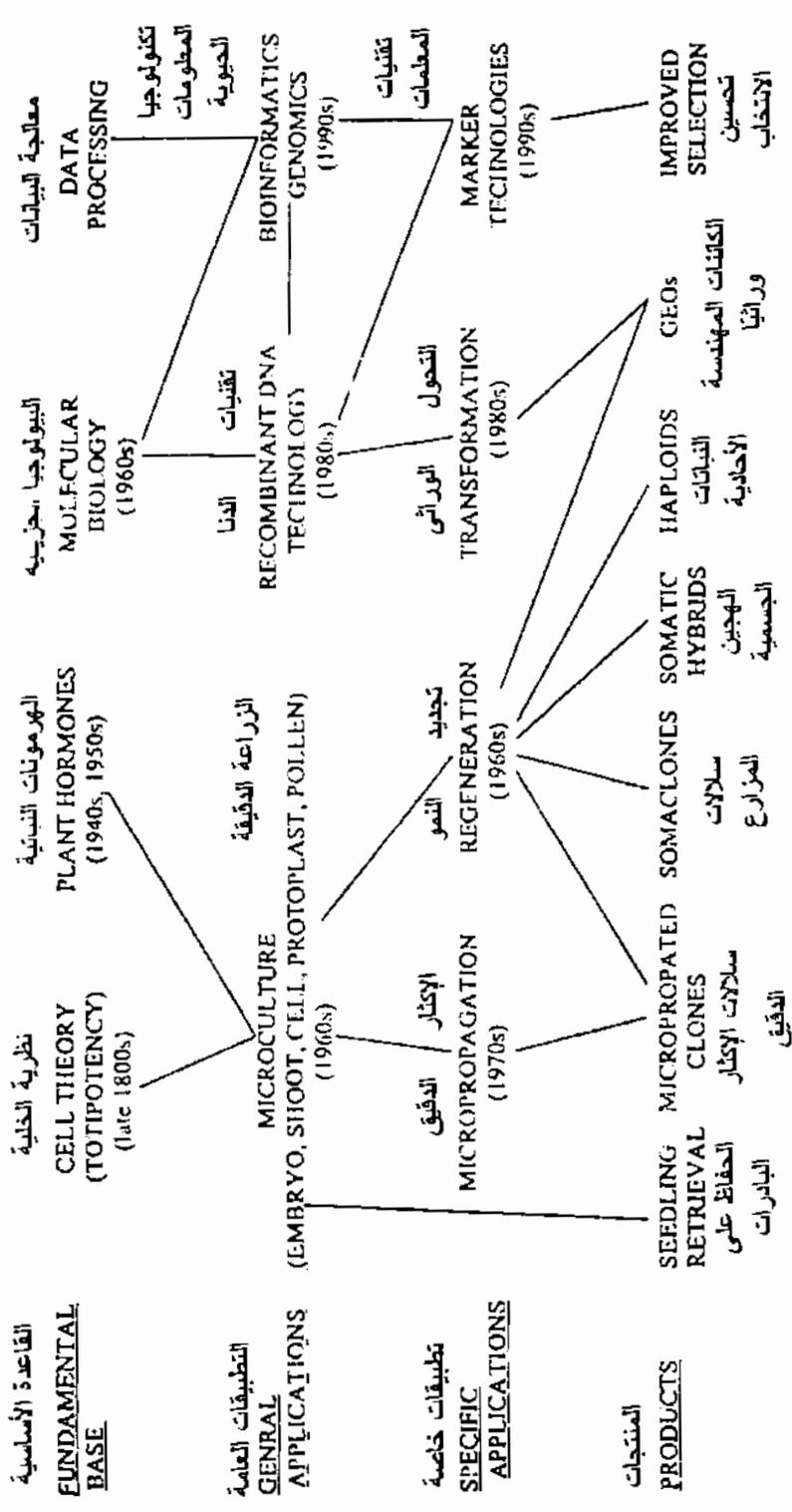
ويمكن حصر أهمية التكنولوجيا الحيوية للمربي - بصورة خاصة - وفي مجال الإنتاج الزراعي - بصورة عامة - فيما يلي:

١ - الإكثار الدقيق:

يحتل الإكثار الدقيق - الذي نتناوله بالتفصيل في فصل لاحق من هذا الكتاب - أهمية خاصة في كافة تقنيات مزارع الأنسجة وعمليات التحول الوراثي، كما لا تخفى أهميته بالنسبة للمربي، الذي يستفيد من الإكثار الدقيق في جوانب عديدة من برامج التربية

وتقسم طرق التكاثر الدقيق التي يتم بها مضاعفة النمو النباتي في مزارع الأنسجة، كما يلي:

- أ - مزارع القمة المبرستيمية meristem-tip culture.
- ب - التطعيم الدقيق micrografting.
- ج - مزارع القمة الخضرية shoot-tip culture.
- د - مزارع النموات الخضرية العرضية adventitious shoot culture.
- هـ - مزارع الأنسجة والخلايا tissue and cell cultures .. وهي التي تقسم - بدورها - إلى الفئات التالية:



شكل (١-١) التقدمات التي تحققت في مجال النسيجات الحيوية النباتية خلال القرن العشرين. تمثل الأرقام التي داخل الأقواس الفترة الزمنية التي بدأ فيها ظهور تلك النسيجات (عن McCown ٢٠٠٣)

## تعريف بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربي النباتات

(١) مزارع الكالوس callus culture

(٢) مزارع معلقات الخلايا cell suspension

(٣) مزارع البروتوبلاست protoplast culture

كما تقسم طرق تكاثر النباتات البذرية بزراعة الأجزاء التكاثرية، كما يلي:

أ - مزارع المتوك وحبوب اللقاح anther and pollen culture

ب - مزارع البويضات ovule culture

ج - مزارع الأجنة embryo culture

د - مزارع البذور seed culture

هـ - مزارع الجراثيم spore culture (كما في السرخس terns)

وقد استخدمت تقنية استنبات البذور في البيئات لصناعية في تقصير فترة الجيل في برامج التربية، وخاصة في محاصيل الفاكهة ونبات الزينة الحشبية، حيث تتضمن مميزاتهما تجنب السكون (كما في أجناس *Prunus*، و *Iris*، و *Vaccinium*). وزيادة نسبة نجاح الحصول على البادرات من البذور (كما في الجنس *Rubus*). والتكوير التلقائي للجيرميلازم في صورة مزارع أنسجة - عند استنبات بذوره - بم يسمح بتخزينه وسرعة إكثاره

وإذا ما أخذت الجوانب المتنوعة للإكثار الدقيق في الحسبان، فإن تأثيرها في مجال الإنتاج النباتي كان كبيراً وعلى سبيل المثال فإن عدد النباتات التي تنتج سوياً بطريقة الإكثار الدقيق - على مستوى العالم - ومعظمها من المحاصيل البستانية يربو على ٥٠٠ مليون نبات (عن McCown ٢٠٠٣)

٢ - دفع الأنواع - التي يصعب إزهارها - إلى الإزهار في مزارع الأنسجة

تفيد عملية دفع النباتات للإزهار في مزارع الأنسجة في تربية الأنواع النباتية التي يصعب إزهارها، وتلك التي لا تزهر سوى مرة واحدة كل عدة سنوات. ومن لأتمثلة المهمة على الحالة الأخيرة نبات الغاب bamboo الذي يزهر مرة واحدة خلال فترة حياته، ثم يموت في نهاية موسم النمو الذي حدث فيه الإزهار، الأمر الذي يحدث - بعد ١٢-٢٤ سنة من النمو - فجأة، وفي كل العشيرة النامية، دونما سابق دليس على

احتمالات الإزهار، الأمر الذي يجعل تربية الغاب صعباً للغاية. ولكن مع التوصل إلى طريقة سهلة وسريعة لإزهار عدة أجناس وأنواع من الغاب فى البيئات الصناعية .. أصبح من الممكن تربية ذلك النبات.

تتلخص طريقة إزهار الغاب - التى لا تتطلب سوى أشهراً قليلة - فى زراعة بادرات الغاب - المنتجة فى البيئات الصناعية - فى بيئة مورايش و سكوج سائلة ومزودة بـ ٢٪ سكروز، و ٥٪ لين (إندوسبرم) جوز الهند، و ٠,٥ مجم/لتر من BAP (أى: 6-benzyladenine) ووضعتها فى هزاز دوار على ٢٨م، وإضاءة قوتها ٥٠٠ لكس.

كذلك أمكن إزهار الأوركيد بسهولة وباستمرار فى مزارع الأنسجة بعد نحو ستة شهور من الزراعة، علماً بأنه يستغرق - عادة - نحو ٣-٦ سنوات لكى يصل إلى مرحلة الإزهار.

ومن واقع النتائج المشجعة للغاية الخاصة بسهولة إزهار عديد من الأنواع النباتية فى مزارع الأنسجة (جدول ١-١)، فإنه يمكن التفاؤل بإمكان تطبيق تلك التقنية على أى نبات (عن Taira وآخرين ٢٠٠٢).

جدول (١-١): الأنواع البالية التى أمكن دفعها إلى الإزهار فى مزارع الأنسجة.

منظمات النمو التى أضيفت	الجزء النباتى المزروع	النوع
GA <sub>3</sub>	أنسجة زهرية	<i>Allium sativum</i>
Kinetin, Adenine	جزء من الساق	<i>Begonia spp.</i>
GA <sub>3</sub>	القمة الخضرية	<i>Chrysanthemum spp.</i>
BAP, 2,4-D	السويقة الجنينية السفلى	<i>Cucumis sativus</i>
Kinetin, cocconut milk, IAA	المتك	<i>Dianthus caryophyllus</i>
BAP or Kinetin	القمة الخضرية	<i>Heliantus anus</i>
BAP, IAA, GA <sub>3</sub>	القمة الخضرية	<i>Munihot esculenta</i>
BAP, Kinetin, IAA	طبقات رقيقة من الحامل النورى	<i>Nicotiana tabacum</i>

## تهريف بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربي النباتات

تابع جدول (١-١): الأنواع النباتية التي أمكن دفعها إلى الإزهار في مزارع الأنسجة.

منظمات النمو التي أضيفت إلى بيئة الزراعة <sup>(أ)</sup>	الجزء النباتي المزروع	النوع
BAP, GA <sub>4</sub>	أجنة جسمية	<i>Panax ginseng</i>
BAP, NAA	القمة الخضرية	<i>Pisum sativum</i>
GA <sub>3</sub> , GA <sub>7</sub>	القمة الخضرية	<i>Spinacia oleracea</i>
Kinetin	القمة الخضرية	<i>Xanthum strumarium</i>

أ - مفتاح الرموز:

BAP 6-benzyladenine

2,4-D. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid

GA<sub>4</sub> gibberellic acid

IAA indole-3-acetic acid

NAA  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid

٣ - التحسين الوراثي للجيرميلازم:

إن من أهم تطبيقاته تقنيات مزارع الأنسجة والحدائق مجال تربية النباتات والتحصين الوراثي للجيرميلازم المتوفر، ما يلي (Ahloowalia 1998):

التطبيقات	التقنية
إدامة السلالات الخضرية - الإكثار على نطاق واسع - إنتاج بذور الهجن	الإكثار الدقيق
إجراء التهجينات البعيدة - توسيع القاعدة الوراثية - نقل صفات جديدة	مزارع الأجنة
استحداث الطفرات - الحصول على تباينات المزارع - الانتخاب - إنتاج البذور الصناعية	تكوين الأجنة الجسمية
استخدام عدم التوافق الذاتي في إنتاج الأصناف الهجين	الإخصاب في بيئة الزراعة
الحصول على نباتات أحادية مضاعفة - الحصول على سلالات أصيلة للهجن، والأصناف التركيبية والمركبة	مزارع المتوك والمبايض
توسيع القاعدة الوراثية	دمج البروتوبلاست

التطبيقات	التقنية
التحكم فى مكزونات السيتوبلازم - العقم الذكري	نقل عضيات الخلية
مقاومة مبيدات الحشائش - إضافة العوامل الكيميائية المطفرة	التحكم فى بيئة الزراعة
التخلص من الارتباطات غير المرغوب فيها فى الـ cybrids	تعريض المزارع ونباتات المزارع للإشعاع
والهجن والتهجينات البعيدة	مجسدت الدنا DNA probes
كشف الأمراض - تعرف الجنس - الانتخاب للصفات -	Recombinant DNA
خرائط جينات الصفات الكمية	
التحول الوراثي - تحديد مواقع الجينات - إيلاج الجينات	
واستبعادها ووضع الخرائط لها	

ونعرض فى القائمة التالية لعدد من المصادر التى يمكن الرجوع إليها فى مجال زراعة الأنسجة، مع بيان المجال الذى يتناوله كل منها.

الموضوع	المراجع
تطبيقات مزارع الأنسجة - بصورة عامة - فى مجال تربية النبات	Morel (١٩٧٢)
التطبيقات بصورة عامة	Ledoux (١٩٧٥)
تطبيقات مزارع الخلايا	Street (١٩٧٥)
التطبيقات فى مجال التربية لمقاومة الأمراض	Day (١٩٨٠)
تطبيقات مزارع الأنسجة وتيجين الخلايا الجسمية	Cooking & Riley (١٩٨١)
تطبيقات مزارع الخلايا والأنسجة فى مجال تربية النبات والدراسات الوراثية	Jensen (١٩٨١)
التطبيقات فى مختلف المجالات الزراعية	Thorpe (١٩٨١)
التطبيقات بصورة شاملة	Vasil وآخرون (١٩٨٢)
شامل لمزارع الأنسجة وتطبيقاتها	Bhojwani & Razdan (١٩٨٣)
شامل لمزارع الأنسجة وتطبيقاتها	Mantell & Smith (١٩٨٣)
الاستخدامات فى مجالات الإكثار السريع، واستحداث الطفرات، ودمج التروبلاست	Cailloux (١٩٨٤)
تطبيقات التقنيات الحيوية - وخاصة الإكثار الدقيق - فى مجال تربية النبات	Prakash & Pienk (١٩٩٣)
تطبيقات مزارع الأنسجة فى تربية قصب السكر، والذرة، وفول الصويا	Giles وآخرون (١٩٩٣)

الموضوع	المرجع
تطبيقات مزارع الخلايا فى تربية النبات (مرجع عملى شامل ومختصر لعظم جوانب الموضوع)	(1994) Dixon & Gonzales
حفظ الجيرمبلازم على صورة مزارع أنسجة	(1998) Withers & Engelman
استخدامات مزارع الأنسجة العادية والمحولة وراثياً فى إنتاج مركبات الأيض الثانوية	(1998) Kurz & Constabel
استخدامات النباتات الأحادية - ناتج مزارع الأنسجة - فى دراسات التحكم الوراثةى للصفات المتحبة	(1996) Pauls
موجر شامل لمختلف تقنيات مزارع الأنسجة فى مجال تربية النبات	Taji وآخرون (2002)

ولقد ظهرت تقنيات مُعلّمت الدنا DNA marker technologies فى نهاية القرن العشرين كوسيلة جديدة لتحليل الهيئة الوراثةية genome، حيث تُفيد فى عملية الانتخاب المباشر، فيما يعرف باسم marker-assisted selection، وخاصة فى الصفات النوعية، ولكن التقنية بدأ استخدامها - كذلك - فى الانتخاب للصفات الكمية (عن McCown 2003).

هذا .. إلا أن جميع التقنيات التى أسلفنا الإشارة إليها لا تعطى كامل الفائدة المرجوة منها إلا إذا استعملت ضمن برنامج تربية تقليدى للتحسين الوراثةى. وعلى الرغم من قوة التقنيات الحيوية، فإنها تتطلب - دائماً - توفر قاعدة من الجيرمبلازم الجيد لى يمكن البناء عليها، كما تتطلب توفر برامج اختبار وتقييم فعالة.

#### ٤ - الهندسة الوراثةية للنباتات:

إن الأهمية الكبرى للهندسة الوراثةية تكمن فى أنه أصبح فى الإمكان فصل جينات مرغوب فيها بصورة نقية، وإدخالها فى نباتات من نفس النوع، أو من أنواع أخرى. تماثل هذه الخطوة فى نتائجها برنامجاً كاملاً للتربية بطريقتة التهجين الرجعى، دون الدخول فى أى من مشاكل التربية، خاصة ارتباط الصفات المرغوب فيها بصفات أخرى غير مرغوب فيها. كما أن تأثير الجين يتحدد - جزئياً - بموقعه من الجينات الأخرى على الكروموسوم، وعليه .. فإن إدخال جين ما إلى مواقع مختلفة من الكروموسومات

يعنى الحصول على تباينات وراثية، لا تتوفر في الظروف الطبيعية، نظراً لأن الجين يحتل موقعا ثابتا على الكروموسوم، ومن المؤكد أن النباتات الجديدة المتحولة وراثياً سوف تختلف في عدد نسخ الجين التي تنتقل إليها، والموقع (أو المواقع) الكروموسومية التي تستقر بها هذه النسخ الجينية وينتج عن ذلك كله تباينات لا حصر لها، قد يكون بعضها مرغوباً فيه ويعنى ذلك أن خطوة انتخاب النباتات المرغوب فيها بعد إحداث التحول الوراثي لا تقل أهمية عن عملية التحول الوراثي ذاتها، كما يعنى - كذلك - ضرورة إنتاج تحولات وراثية كثيرة، لكي تزيد فرصة الحصول على تغيرات مرغوب فيها (عن Flavel 1982)

لقد استعملت طريقتين رئيسيتين في عمليات التحول الوراثي، هما باستعمال ناقلات معينة، وبالنقل المباشر. أما الناقلات فقد كان الاعتماد الأكبر على البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* ولكن استعملت أيضاً *A. Rhizogenes*، وقد طور من النوع البكتيري الأول طرازين، عرفا بالإسمين: co-integration، و binary. وقد ساع إجراء التحول الوراثي بطريق الناقلات بدرجة أكبر عن طريق النقل المباشر.

وقد طورت أكثر من ١٤ وسيلة للنقل المباشر للجينات، كانت أولاها ما يعرف باسم electroporation في عام ١٩٨٦، وأعقبها طرق أخرى كانت أبرزها وأكثرها استعمالاً وفاعلية طريقة القذف الدقيق microprojectile bombardment في عام ١٩٩٠.

ولا يمكن أن تكتمل الفائدة المرجوة من التحولات الوراثية - التي تكون على مستوى الخلايا المفردة - إلا بتوفر وسيلة فعالة لتجديد النمو، ووسيلة أخرى ناجحة لانتخاب الخلايا التي تحدث بها التحولات. وقد كان الاعتماد الأكبر في عملية الانتخاب - ولا يزال - قائماً على أساس تحمل الخلايا المحولة وراثياً للمضادات الحيوية أو لمبيدات الحشائش؛ علماً بأن تلك الصفات تنتقل إلى الخلايا المحولة وراثياً مع الجينات المراد نقلها وقد لا قي هذا الأسلوب في انتخاب الخلايا المحولة وراثياً انتقادات واسعة نظراً لاحتواء النباتات الناتجة من عملية التحول الوراثي على جينات المقاومة تلك وقد جرت محاولات للتخلص من تلك الجينات بعد انتخاب النباتات المحولة وراثياً (عن McCown 2003).

## تعريف بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربي النباتات

ولقد كان الأنسولين هو أول المركبات التجارية المفيدة التي أمكن إنتاجها من البكتيريا بعد تحويلها وراثياً بأساليب الهندسة الوراثية، وذلك فى عام ١٩٨٦. وعلى الرغم من أن أول نجاح معملى فى هندسة النبات وراثياً حدث فى عام ١٩٨٠، فإن أول الأصناف النباتية الغذائية المحولة وراثياً (صنف الطماطم FlavrSavr) لم تتوفر تجارياً سوى فى عام ١٩٩٤. ويدل ذلك الفارق الزمنى الكبير على الجهد الهائل الذى يتعين بذله لإخراج النباتات المحولة وراثياً من المختبرات ومحطات البحوث إلى العالم الواقعى الذى لا يزال رافضاً لكثير من المنتجات المهندسة وراثياً، خاصة ما يتعلق منها بغذاء الإنسان، فى الوقت الذى يتقبل فيه بسعة صدر المنتجات الصيدلانية التى تنتجها الكائنات الدقيقة المحولة وراثياً (عن Bent & Yu ١٩٩٩).

يجب أن توضع تقنيات الهندسة الوراثية فى مكانها الطبيعى من تربية النبات، فمقابل كل صفة واحدة يتم نقلها بطرق الهندسة الوراثية توجد ألف صفة أخرى يتعين على المربى تداولها بطرق التربية التقليدية لكى يكون الصنف الجديد المنتج مقبولاً. ولقد ثبت أن تطوير عمليات عزل الجينات المرغوب فيها ونقلها إلى النباتات المرغوب فى تحسينها والتأكد من التعبير عنها بصورة ثابتة ومقبولة فى النباتات المحولة وراثياً لهو أمر بطئ ومكلف وكثيراً ما ينتهى إلى لا شئ. وعلى الرغم من ذلك فإن قصص النجاح فى هذا المجال يؤيدها انتشار زراعة الأصناف المحولة وراثياً والمقاومة للحشرات والفيروسات ومبيدات الحشائش؛ الأمر الذى يجعل من الهندسة الوراثية حقيقة قائمة (عن Bent & Yu ١٩٩٩).

لقد بلغت المساحة الإجمالية التى زرعت بالمحاصيل المحولة (المهندسة) وراثياً فى عام ٢٠٠٢ - على مستوى العالم - أكثر من ٥٥ مليون هكتار (١٣١ مليون فدان) فى ١٣ دولة. وبإنتاج تلك المحاصيل استفاد من تقنيات الهندسة الوراثية أكبر من ٥,٥ مليون مزارع؛ علماً بأن التوسع فى زراعة المحاصيل وراثياً ازداد بمعدل أكبر من ١٠٪ سنوياً. وقد حدث كل ذلك التوسع فى الإنتاج الزراعى لتلك المحاصيل فى خلال عقد واحد من الزمان وباستثناء الباباظ، فإن أغلب الإنتاج الزراعى من المحاصيل المهندسة وراثياً كان من المحاصيل الحقلية (عن McCown ٢٠٠٣).

تتبقى كلمة أخيرة في هذا الموضوع، وهي أن تربية النبات ليست مجرد نقل جين مرغوب فيه من نوع نباتي إلى آخر، بل إنها تتضمن خطوات كثيرة، وتقييماً مستمراً لكي ينتهي البرنامج بصنف يقبله المزارعون، والمستهلكون، ويكون له مستقبل في الزراعة التجارية، ولا يتحقق ذلك بالهندسة الوراثية وحدها، فلابد من التعاون الوثيق بين علماء الهندسة الوراثية، ومربي النبات، لكي تعطى الهندسة الوراثية ثمارها، فهي ليست أكثر من أداة لزيادة الاختلافات الوراثية، أما تطوير الجيرمبلازم الجديد إلى أن يصبح صنفاً مقبولاً .. فإنه يبقى من مهام مربي النبات (عن Moore 1988)

#### ٥ - منتجات صيدلانية خاصة يُحصل عليها من مزارع الأنسجة:

تتنوع كثيراً المنتجات الصيدلانية التي يُحصل عليها من مزارع الأنسجة، والتي نعرض بعضها في جدول (٢-١)، و (٣-١)

جدول (٢-١) محصول المنتجات التجارية الممكنة لبعض مزارع الأسجة (عن Scragg 1998).

النوع النباتي	المنتج	الحصول (%)	الاستعمال
<i>Coleus blumei</i>	Rosmarinic acid	٣٦ ٢١	—
<i>Morinda citrifolia</i>	Anthraquinones	١٨	—
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	Shikonin	١٢ ٤	مضاد لميكروبيا
<i>Thalictrum minus</i>	Berberine	١٠ ٦	دواء
<i>Perilla frutescens</i>	Anthocyanins	٨ ٩	-
<i>Discorcia deltoidea</i>	Dioseginin	٣ ٨	استيرويدي
<i>Papaver somniferum</i>	Morphine	٠ ٠٢٥	دواء
	Sanguinarine	٢ ٥	مضاد حيوي
<i>Taxus brevifolia</i>	Paclitaxel	٠ ٠٦	مضاد سرطاني
<i>Catharanthus roseus</i>	Vincristine	--	مضاد لسرطان الدم

## تعريف بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربي النباتات

جدول (١-٣): أمثلة لبعض مركبات الأيض الثانوية التي تنتج في مزارع الأنسجة (عن Scragg

١٩٩٨).

المنتج	النوع النباتي	المزرعة
		مزارع الجذور
Tropane alkaloids	<i>Atropa belladonna</i>	
Ajmalicine	<i>Catharanthus roseus</i>	
Thebaine	<i>Papaver bracteatum</i>	
Codeine	<i>Papaver somniferum</i>	
Pyrrolizidine alkaloids	<i>Senecio spp.</i>	
		مزارع النموات الخضرية
Tropane alkaloids	<i>Atropa belladonna</i>	
Ajmalicine	<i>Rauwolfia serpentina</i>	
Digitoxin	<i>Digitalis purpurea</i>	
Pinene	<i>Pelargonium fragrans</i>	
Quinine	<i>Cinchona ledgeriana</i>	
Valpotriates	<i>Centranthus macrosiphon</i>	
Coniferin	<i>Linum flavum</i>	
Forskolin	<i>Coleus forskohoo</i>	