مصادر إضافية لأوجه الاستفادة من مزارع الأنسجة فى تربية النبات

لمزيد من التفاصيل عن تطبيقات مختلف أنواع مزارع الأنسجة فى شتى مجالات تربية النبات يراجع كل مما يلى : Morel (١٩٧٢) ، و Ledoux (١٩٧٥) ، و Street (١٩٧٥) Murashige (١٩٧٧) ، و Day (١٩٨٠) ، و Cooking & Riley (١٩٨١) ، و Jensen (١٩٨١) ، و Thorpe (١٩٨١) ، و Vasil وآخرون (١٩٨٢) ، و Bhojwani & Razdan (١٩٨٣) ، و Mantell & Smith (١٩٨٣) ، و Bliss (١٩٨٤) ، و Cailloux (١٩٨٤) ، وChin (١٩٨٥) ، والمرضى (١٩٨٦) ، و Fobes (١٩٨٧) و Hermsen (١٩٨٧) .

الهندسة الوراثية

يستعمل مصطلح الهندسة الوراثية Genetic Enginering – أحياناً – كمرادف لمصطلح التقنية البيولوجية Biotechnology ، إلاّ أن المصطلح الأخير أوسع وأشمل ، ويدخل ضمنه كل تقنيات الهندسة الوراثية . وتتضمن التقنيات البيولوجية – إلى جانب الهندسة الوراثية – كل تقنيات مزارع الخلايا ، والأنسجة ، والبروتوبلازم ، واندماج البرتوبلازم ، وتقنيات أخرى تهم الصناعات التى تعتمد على نظم حيوية معينة . أما الهندسة الوراثية .. فيعنى بها عزل وتنقية جينات معينة ، وإدخالها بتقنيات خاصة فى الكائنات الحية لتغييرها وراثيًا .

يعود الفضل فى دراسات الهندسة الوراثية إلى البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* التى تصيب معظم النباتات ذات الفلقتين (تتوزع العوائل فى أكثر من ٩٠ عائلة نباتية) وتحدث تدرنات بها . توجد فى نواة هذه البكتريا قطعة كروموسومية تعتبر كبيرة نسبيًا ، تعرف باسم Tuber - inducing plasmid (تكتب اختصاراً T-i plasmid) تتميز بخاصية الانفصال عن البكتريا ، والدخول إلى خلية العائل حاملة معها بعض الجينات ، التى تتسلط على جينات العائل وتجعلها تكثر من الانقسام فيحدث التدرن ، وتتكون بروتينات لاستعمال البكتريا فقط .

يتميز النسيج الذى تحدثه البكتريا *A. tumfaciens* بقدرته على النمو فى البيئات الصناعية البسيطة دون إضافة أية أوكسينات ، أو سيتوكينينات ، وبقدرته على تمثيل واحد

أو أكثر من مشتقات الأحماض الأمينية الأساسية ، يطلق عليها اسم أوبينات Opines . ولاتوجد هذه الأوبينات فى الأنسجة السليمة ، وتستفيد منها البكتريا فى الأنسجة المصابة . ويتحكم فى ذلك كله الـ T- i plasmid الذى تدخله البكتريا فى خلايا العائل . ويعد ذلك تحولاً وراثياً genetic transformation ؛ مثل التحولات الوراثية التى عرفت فى الكائنات الدقيقة (عن Schell وآخرين ١٩٨٢) .

تعتمد الهندسة الوراثية على التعرف على الجينات المرغوبة – أولا – وتحديد مكانها على كروموسومات الأنواع التى توجد فيها ، ثم فصلها عنهابطرق متقدمة ، يمكن الرجوع إلى تفاصيلها فى Flavell (١٩٨٢) .

ويلى ذلك إدخال الجين المرغوب فى الـ T-i plasmid للبكتريا *A. tumfaciens* قبل إصابتها للعائل . وعندما تحدث الإصابة تقوم البكتريا بنقل الـ T-i plasmid المحتوى على الجين المرغوب إلى نواة العائل ، ويتعرف على هذه الخلايا بقدرتها على النمو فى البيئات البسيطة التى لاتحوى هرمونات . ومن الطبيعى أن تكون الخطوة التالية فى إنتاج نباتات غير متدرنة من هذه الخلايا المتحولة وراثياً . وإذا تحقق ذلك يصبح بالإمكان تحسين جميع النباتات ذات الفلقتين التى تصاب بالبكتريا *A.tumfaciens* بإضافة أية صفات مرغوبة إليها من أى نوع نباتى توجد به هذه الصفات .

وقد استخدمت البكتريا *A. tumfaciens* – على سبيل المثال – فى نقل جينات من مصادر مختلفة إلى الطماطم ، منها جينات من أصناف أخرى من الطماطم ، ومن البكتريا والفيروسات ، والبقوليات ، والذرة ، ومن نباتات أخرى من العائلة الباذنجانية . ومع ذلك .. فلم يمكن – إلى الآن – إنتاج صنف جديد من الطماطم استفيد فى عملية إنتاجه من تقنيات الهندسة الوراثية (عن Fobes ١٩٨٧) . ولمزيد من التفاصيل عن استخدامات الـ T-i plasmids فى مجال الهندسة الوراثية .. يراجع Chiltom (١٩٨٠) ، و Schell (١٩٨٢) ، و Schroder وآخرون (١٩٨٣) .

تتميز الفيروسات – كذلك – بقدرتها على إصابة النباتات ونقل أحماضها النووية إلى عوائلها ، لذا .. فإنها تستخدم فى الأخرى لأغراض الهندسة الوراثية ، ويستفاد فى هذا الشأن من الفيروسات التى يكون حامضها النووى من نوع دى إن إيه DNA سواء أكانت

مزدوجة الخيط double - stranded (مجموعة Caulimovirus التى يعرف منها ١٢ فيرساً ؛ مثل فيرس تبرقش القنبيط Cauliflower Mosaic Virus الذى يتكون من دى إن إيه مزدوج الخيط double - stranded DNA ويصيب نباتات العائلة الصليبية بصفة أساسية) أو مفردة الخيط Single - stranded DNA (مثل فيروسات مجموعة الجمنى geminii viruses ، التى يوجد منها أكثر من ١٢ فيرساً ، منها فيرس تبرقش القاصوليا الذهبى ، وفيرس تخطيط الذره) .

ولكن يعاب على استخدام الفيروسات فى مجال الهندسة الوراثية أنه لم يمكن إضافة قطعة دى إن إيه كبيرة إلى الحامض النووى الخاص بالفيرس دون التأثير فى قدرته على إصابة العائل ، وهى الخطوة الضرورية لإحداث التحول المطلوب . كما أن الجينات الصغيرة المضافة تبطئ حركة الفيرس من خلية إلى أخرى ، ويرجع ذلك إلى أن الحامض النووى الخاص بالفيروس صغير بطبيعته فهو لايتعدى واحدا من ثلاثين جزءاً من الـ T - i plasmid (Kado ١٩٨٢) .

وقد تبين أن دى إن إيه فيرس تبرقش القنبيط يحمل ستة جينات ، ليس لأحدها (وهو الجين رقم II) ضرورة بالنسبة لتكاثر الفيرس ، أو تمثيل بروتين الفيرس ، أو حركة الفيرس من خلية إلى أخرى ، ولكنه يؤثر فى عملية الانتقال الحشرى الفيرسى فى الطبيعة ، ويعد هذا الجين موقعاً مناسباً لإضافة الجينات المرغوبة إلى دى إن إيه الفيرس . كما وجدت منطقة كروموسومية أخرى عن دى إن إيه الفيرس (هى الجين رقم VI) تتحكم فى شدة أعراض المرض ، حيث يؤثر أى تغيير فى هذه المنطقة كثيراً على شدة الأعراض . ووجد أن أعراض الإصابة بالفيرس ، قد تلاشت تقريباً حينما أضيفت ١٢ نيكليوتيدة فى هذا الموقع الجينى ، ونمت النباتات التى تمت عدواها بهذه الطفرة من الفيرس بصورة طبيعية (Shepherd وآخرون ١٩٨٢) . ولمزيد من التفاصيل عن استخدامات الفيروسات فى مجال الهندسة الوراثية .. يراجع Hull (١٩٨٣) .

وقد تبين من الدراسات التى أجريت على التحولات الوراثية فى الفطريات والخلايا الحيوانية أن عدم وجود الجدر الخلوية أو التخلص منها ، وتحضين البروتوبلازم مع الـ DNA المرغوب فيه فى ظروف مهيئة للاندماج البروتوبلازمى يعد ضروريا لزيادة كفاءة عملية التحول الوراثى ، ويستفاد من ذلك فى النباتات بتحضين البروتوبلام مع ناقل

أوموّجه الـ دى إن إيه DNA vector الذى يحمل الجين المرغوب . يظهر تأثير الجين بعد أن يكتسب البروتوبلازم الجدر الخلوية من جديد، ثم تتميز منه النباتات التى نقل إليها هذا الجين . يقتصر اتباع هذه الطريقة فى الوقت الحاضر على النباتات التى تنجح فيها زراعة البروتوبلازم وتتميز منها النباتات ، وأغلبها من العائله الباذنجانية .

ويتجه البعض إلى الحقن المباشر للدى إن إيه المرغوب فيه – بعد تنقيته – فى جاميطات النبات الذى يُراد تحويله وراثيًا ، وبذلك تصل الجينات المرغوبة إلى حبوب اللقاح أو البيضات مباشرة . يبدو أن لهذه الطريقة أهميتها فى نباتات الحبوب ، والبقول التى لم ينجح فيها إنتاج النباتات من مزارع البروتوبلازم ، بالإضافة إلى أن نباتات الحبوب هى من نوات الفلقة الواحدة التى لاتصاب بالبكتيريا *A. tumfaciens* .

وقد كانت آخر محاولات الهندسة الوراثية هى قذف النسيج النباتى الذى يراد تحويله وراثيًا (مثل قطعة من نسيج ورقى أو مزرعة خلايا) بالجين المرغوب (الدى إن إيه النقى) وهو محمل على كريات صغيرة جداً beads ، ويستخدم لذلك جهاز خاص لقذف الجينات بقوة كبيرة تحت تفريغ ، يعرف باسم micro injector ؛ تخترق الكريات المحملة بالجينات خلايا النسيج النباتى الذى يعطى – عند وضعه فى بيئة مناسبة – نسيجاً من الكالس تكون بعض أجزائه من الخلايا التى حدث بها التحول الوراثى .

لقد فكر العلماء فى نقل الجينات nif المسئولة عن تثبيت النيتروجين الجوى (Nitrogen Fixation) من إحدى سلالات بكتيريا تثبيت أزوت الهواء الجوى من النوع *Rhizobium japonicum* التى تعيش معيشة تعاونية مع جذور فول الصويا – إلى المحاصيل الزراعية الهامة ؛ مثل القمح و الذرة . وقد نجح العلماء فى عزل كروموسوم البكتريا *R. japonicum* وتنقيته لإدخاله فى البكتيريا *Escherici coli* . وقُدِّر أن إدخال الكروموسوم الكامل للبكتريا *Rhizobium* فى البكتيريا *E. coli* يتطلب نحو ٢٠٠٠ – ٤٠٠٠ تحول وراثى مستقل indepent transformations ، ووجد لدى فحص ٣٣٢٥ من هذه التحولات الوراثية فى *E. coli* أن ٢١ منها احتوت على قطعة من دى إن إيه البكتيريا *R. japonicum* يوجد بها الجينات nif . وقد مكّن ذلك العلماء من دراسة تأثير هذه الجينات عند زراعة البكتيريا *E. coli* – التى نقلت إليها الجينات – فى بيئات صناعية . هذا .. ويتطلب تثبيت أزوت الهواء الجوى – بواسطة بكتيريا العقد الجذرية فى

جذور البقوليات – بذل طاقة كبيرة من جانب النبات ، وقد قدر أحد الباحثين أن الطاقة التى تفقد لهذا الغرض فى حقول فول الصويا بالولايات المتحدة تعادل كل الطاقة التى تستخدمها بريطانيا لمدة ثلاثة شهور .

وقد تبين أن بعض سلالات البكتيريا *R. japonicum* تحتوى على جينات لاستقبال الأيدروجين hup genes ، وهو ما يعنى أن نباتات فول الصويا التى تحتوى عقدها الجذرية nodules على هذه البكتيريا تكون أكثر كفاءة من النباتات الأخرى . كما تبين أن هذه الجينات توجد على plasmids ، وهو ما يعنى إمكانية انتقالها من خلية بكتيرية إلى أخرى فى حالات التزاوج البكتيرى Conjugation ، وإذا أمكن نقل هذه الجينات إلى البكتيريا *R . japomicun* التى تفتقر إليها .. فإن ذلك يوفر على النبات كثيراً من الطاقة التى تنعكس إيجابيًا على المحصول (عن Valentine ١٩٨٢) .

إن الأهمية الكبرى للهندسة الوراثية 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 بطريقة التهجين الرجعى ، دون الدخول فى أى من مشاكل التربية ، خاصة ارتباط الصفات المرغوب فيها بصفات أخرى غير مرغوب فيها . كما أن تأثير الجين يتحدد – جزئيا – بموقعه من الجينات الأخرى على الكروموسوم ؛ وعليه .. فإن إدخال جين ما إلى مواقع مختلفة من الكروموسومات يعنى الحصول على تباينات وراثية ، لاتتوفر فى الظروف الطبيعية ؛ نظرا لأن الجين يحتل موقعاً ثابتاً على الكروموسوم . ومن المؤكد أن النباتات الجديدة المتحولة وراثيًا .. سوف تختلف فى عدد نسخ الجين التى تنقل إليها ، والموقع (أو المواقع) الكروموسومية التى 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 الوراثى لاتقل أهمية عن عملية التحول الوراثى ذاتها ، كما يعنى – كذلك – ضرورة إنتاج تحولات وراثية كثيرة ؛ لكى تزيد فرصة الحصول على تغيرات مرغوب فيها (عن Flavell ١٩٨٢) .

تتبقى كلمة أخيرة فى هذا الموضوع ، وهى أن تربية النبات ليست مجرد نقل جين مرغوب فيه من نوع نباتى إلى آخر ، بل إنها تتضمن خطوات كثيرة ، وتقييماً مستمراً لكى ينتهى البرنامج بصنف يقبله المزارعون ، والمستهلكون ، ويكون له مستقبل فى الزراعة

التجارية ، ولايتحقق ذلك بالهندسة الوراثية وحدها ؛ فلابد من التعاون الوثيق بين علماء الهندسة الوراثية ، ومربى النبات ، لكى تعطى الهندسة الوراثية ثمارها ؛ فهى ليست أكثر من أداة لزيادة الاختلافات الوراثية ، أما تطوير الجيرمبلازم الجديد إلى أن يصبح صنفاً مقبولاً .. فإنه يبقى من مهام مربى النبات (عن Moore ١٩٨٨) .

وينبغى أن نتذكر أن الهندسة الوراثية لم تثمر - حتى الآن - صنفاً واحدًا جديداً من الطماطم - مثلاً - التى تعد من أكثر المحاصيل ، التى أجريت عليها دراسات الهندسة الوراثية ، وأكثرها مناسبة لهذه النوعية من الدراسات (Fobes ١٩٨٧) ولايمكننا عمل توقعات بشأن مايمكن أن تضيفه الهندسة الوراثية إلى تربية النبات ، إلى أن تظهر فعلاً بعض هذه الإضافات إلى حيز الوجود (Ryder ١٩٨٤) ، مثلما ظهرت بالنسبة لحقل الطب ؛ حيث كان أول نشاط عملى للهندسة الوراثية تحديد وتنقية الجين المسئول عن إنتاج هرمون الأنسلين وإدخاله فى البكتريا *E. coli* بواسطة الـ T-i plasmid لتصبح بدورها قادرة على إنتاج الأنسلين عوضاً عن استخراجه من غدد الحيوانات المذبوحة (عن نجار ١٩٨٦) .

ولمزيد من التفاصيل عن الهندسة الوراثية واستخداماتها فى مجال تحسين النباتات .. يراجع McDaniel (١٩٨١) ، و Panopoulos (١٩٨١) ، و Rachie & Lyman (١٩٨١) ، و Univ . Calif . (١٩٨٢) ، و Flavell (١٩٨٢) ، و Bliss (١٩٨٤) .