الفصل الأول

تعريف بالتكنولوجيا الحيوية وأهميتها لمربى النبات

تعريف التكنولوجيا الحيوية

يختلف تعريف مصطلح التقنية الحيوية (أو التكنولوجيا الحيوية) biotechnology باختلاف المشتغلين بها وقد أطلق مصطلح التقنية الحيوية الجديدة new biotechnology ليعنى به — عادة — استعمال تقنيات الدنا (الـ دى إن أى DNA)، إلاّ أن التقنية الحيوية ذاتها لها أبعاد أكبر، فهى تتضمن أى تقنية تستعمل فيها الأنواع البيولوجية والكتل الخلوية الحية biomass، أو مشتقاتها بهدف التوصل إلى منتجات مفيدة ومن هذا المنطلق فإن التربية الكلاسيكية للنباتات يمكن اعتبارها تقنية حيوية قديمة old biotechnology

ويجمع تعريف الكونجرس الأمريكى للتكنولوجيا الحيوية — الذى وضع فى عام ١٩٨٤ — بين كل من التكنولوجيا القديمة والحديثة على حد سواء، فهو يحددها بأى تقنية تستعمل فيها الكائنات الحية أو أجزاء منها لعمل منتجات جديدة أو محورة، بهدف تحسين النباتات أو الحيوانات، أو تطوير كائنات دقيقة لاستعمالات خاصة (عن Meiri & Altman ١٩٩٨)

ويستعمل مصطلح الهندسة الوراثية Genetic Engineering (أو التحول الوراثى Genetic Transformation) — أحيانا — 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 وراثيّ

تاريخ التقدم البحثى فى مجالات زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية وتقنيات الدنا

من بين أهم الإنجازات البحثية فى مجالات زراعة الأنسجة الوراثية وتقنيات الدنا، ما يلى (عن Chawla ٢٠٠٠)

السنة	الموضوع	الباحثون[1]
١٩٠٢	اول محاولة لزراعة الانسجة النباتية	Haberlandt
١٩٠٤	محاولة زراعة أجنة بعض الصيليبيات	Hanning
١٩٢٢	استنبات بذور الـ orchid فى بيئة صناعية (انبات asymbiotic)	Kudson
١٩٢٢	زراعة الجنة النامية للجذور فى بيئة صناعية	Robbins
١٩٢٥	استخدام تقنية زراعة الانسجة فى البحث الوعية للـ *Linum*	Laibach
١٩٣٤	زراعة نسيج الكامبيوم لعدد من الأشجار والشجيرات فى بيئة صناعية	Gautheret
١٩٣٤	نجاح زراعة جذور الطماطم فى بيئة صناعية	White
١٩٣٩	نجاح استمرار نمو مزارع الكالس	Gautheret وآخرون
١٩٤٠	زراعة أنسجة الكامبيوم للـ Ulmus لدراسة تكون الجذور العرضية	Gautheret
١٩٤١	استخدام لبن (ندوسرم) جوز الهند – لاول مرة – فى مزارع أنسجة الداتورة	Van Overbeek
١٩٤١	زراعة أنسجة الدراق النامى فى بيئة صناعية	Braun
١٩٤٤	تكون الجذور العرضية فى مزارع أنسجة التبغ	Skoog
١٩٤٦	انتاج نباتات كاملة من الـ *Lupinus* والـ *Tropaeolum* عن طريق مزارع الجنة النامية	Ball
١٩٥٠	تجديد نمو أعضاء من نسيج كالس *Sequoia sempervirens*	Ball
١٩٥٢	استخدام مزارع القمة الميرستيمية فى الحصول على نباتات خالية من الفيروس	Morel & Martin
١٩٥٢	أول تطبيق للتطعيم الدقيق micrografting	Morel & Martin
١٩٥٣	الحصول على كالس أحادى من أحد نباتات معراة البذور (*Ginkgo bilobu*) من حبوب اللقاح	Tulecke
١٩٥٤	الحصول على أول نبات من خلية واحدة	Muir وآخرون
١٩٥٥	اكتشاف الكينتين وهو هرمون مسئول عن الانقسام الخلوى	Miller وآخرون
١٩٥٧	اكتشاف إمكان تنظيم تكوين الأعضاء بتغيير نسبة الأوكسين إلى السيتوكينين	Skoog & Miller

السنة	الموضوع	الباحثون[1]
١٩٥٨	تجديد نمو أجنة جسمية فى البيئات الصناعية من نواة بيضات الحمضيات	Maheshwari & Rangaswamy
١٩٥٩	تجديد نمو الأجنة من تجمعات كالس لمعلق خلايا الجزر	Reinert, Steward
١٩٥٩	نشر أول كتاب دليل عن مزارع الأنسجة النباتية	Gautheret
١٩٦٠	أول إخصاب ناجح فى الأنابيب لنبات *papaver rhocas*	Kanta
١٩٦٠	استخدام طريقة الزراعة الدقيقة لتنمية خلايا مفردة فى نقط معلقة hanging drops فى بيئة خاصة	Jones وآخرون
١٩٦٠	تحليل الجدر الخلوية إنزيميًا للحصول على أعداد كبيرة من البروتوبلاستات	Cocking
١٩٦٠	ترشيح معلقات الخلايا وعزل الخلايا المفردة بطريق الزراعة فى بيئة صناعية	Bergman
١٩٦٢	تطوير بيئة موراشيج وسكوج Murashige & Skoog المغذية	Murashige & Skoog
١٩٦٤	إنتاج أول نباتات أحادية من حبوب لقاح الداتورة	Guha & Masheshwari
١٩٧٠	انتخاب طفرات بيوكيميائية فى البيئات الصناعية باستعمال تباينات حُصل عليها فى مزارع الأنسجة	Carlson
١٩٧٠	أول نجاح لعملية دمج البروتوبلاست	Power وآخرون
١٩٧٠	اكتشاف أول إنزيم قاطع للدنا فى موضع محدد restriction endonuclease فى *Haemophillus influenzae*، والذى أطلق عليه – فيما بعد – الاسم Hind II	Smith
١٩٧١	عمل أول خريطة لأماكن القطع الإنزيمى بالدنا restriction map باستعمال إنزيم Hind II ودنا SV 40، والذى تم قطعه إلى ١١ جزءًا	Nathans
١٩٧١	تجديد نمو أول نباتات من البروتوبلاستات	Takabe وآخرون
١٩٧٢	نجاح أول تهجين جسمى نوعى، وذلك بدمج بروتوبلاستات نوعين من الـ *Nicotiana*	Carlson
١٩٧٢	التحام قطعتان من الدنا – أيًا كان مصدرهما – وانتجتا بنفس الإنزيم القاطع – التحامهما بفعل إنزيم DNA ligase	Mertz & Davis
١٩٧٢	تطوير طريقة يمكن عن طريقها إضافة إنزيم مناسب للى أى فراغ فى خيط دنا مفرد، واستعمال الـ DNA ligase للصق قطعتان من الدنا؛ ومن ثم الحصول على دنا جديد مختلف recombinant DNA	Lobban & Kaiser

السنة	الموضوع	الباحثون
١٩٧٣	استعمال تقنية Lobban & Kaiser في الحصول على بلازميد دجين hybrid plasmid؛ حيث تم إيلاج قطعة Eco RI من جزيء الدنا في البلازميد الحلقي لدنا بكتيري باستعمال DNA ligase	Boyer & Cohen
١٩٧٣	اكتشاف قدرة السيتوكينين على كسر سكون الأجزاء النباتية المزروعة explants المتحصل عليها من الثورة الهامة capitulum للجربارة *Gerbera*	Frenk وآخرون
١٩٧٤	تجديد نمو نباتات بيتونيا أحادية البروتوبلاستات	Binding
١٩٧٤	التحويل الوراثي في مزارع الأنسجة النباتية	Reinhard
١٩٧٤	اكتشاف أن الـ Ti plasmid هو المسئول عن تكوين الأورام (الثآليل) التي تحدثها البكتيريا *Agrobacterium*	Zaenen وآخرون، و Lemebelue وآخرون
١٩٧٥	الانتخاب في مزارع كالوس الذرة لتحومة للسم T للطفر *Helminthosporium maydis*	Gengenbach & Green
١٩٧٦	النمو الخضري من القمم النامية للقرنفل التي سبق حفظها على ١٩٦-م	Seibert
١٩٧٦	اكتشاف التحكم الوراثي في كل من تمثيل الـ octopine، والـ nopaline وتحللهما بواسطة الـ Ti plasmid للـ *A. tumefaciens*	Bomhoff وآخرون
١٩٧٧	الدمج الناجح لدنا الـ Ti plasmid في النباتات	Chilton وآخرون
١٩٧٧	التوصل إلى طريقة للتعرف على ترتيب القواعد النيتروجينية في الجينات gene sequencing على أساس تحليل سلسلة الدنا	Maxam & Gilbert
١٩٧٧	التوصل إلى طريقة للتعرف على ترتيب القواعد النيتروجينية في الجينات على أساس إنهاء سلسلة الدنا عن طريق الـ dideoxy	Sanger & Coulson
١٩٧٧	اكتشاف الجينات المنشقة أو المنفصلة split genes	Sharp & Roberts
١٩٧٨	التهجين الجسمي بين الطماطم والبطاطس وانتاج الـ pomato	Melchers وآخرون
١٩٧٩	تطوير طريقة للزراعة المشتركة لتحويل البروتوبلاستات النباتية بواسطة الـ *Agrobacterium*	Marton وآخرون
١٩٨١	أول استعمال للمصطلح somaclonal variation	Larkin & Scowcroft
١٩٨٤	تحويل التبغ وراثيًا بواسطة الـ *Agrobacterium* وإنتاج النباتات المحولة الوراثية	De Block وآخرون، و Horsch وآخرون
١٩٨٦	إنتاج نباتات تبغ وطماطم محولة وراثيًا بإدخال الـ cDNA لجين الغلاف البروتيني لـ TMV لجعلهما مقاومين للفيرس	Powell-Abel وآخرون

السنة	الموضوع	الباحثون(أ)
١٩٨٧	تطوير قاذفة الجينات التى تستعمل فى التحويل الوراثى للنباتات	Sanford وآخـــرون، و Klein وآخرون

(أ) للإطلاع على المصادر الأصلية لتلك التقدمات البحثية يراجع Chawla (٢٠٠٠)

ويبين شكل (١-١) التقدمات النوعية التى تحققت فى مجال التقنيات الحيوية خلال القرن العشرين.

أهمية مزارع الأنسجة وتقنيات الدنا والهندسة الوراثية للمربى

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

ويمكن حصر أهمية التكنولوجيا الحيوية للمربى – بصورة خاصة – وفى مجال الإنتاج الزراعى – بصورة عامة – فيما يلى:

١ – الإكثار الدقيق:

يحتل الإكثار الدقيق – الذى نتناوله بالتفصيل فى فصل لاحق من هذا الكتاب – أهمية خاصة فى كافة تقنيات مزارع الأنسجة وعمليات التحول الوراثى، كما لا تخفى أهميته بالنسبة للمربى، الذى يستفيد من الإكثار الدقيق فى جوانب عديدة من برامج التربية

وتقسم طرق التكاثر الدقيق التى يتم بها مضاعفة النمو النباتى فى مزارع الأنسجة، كما يلى:

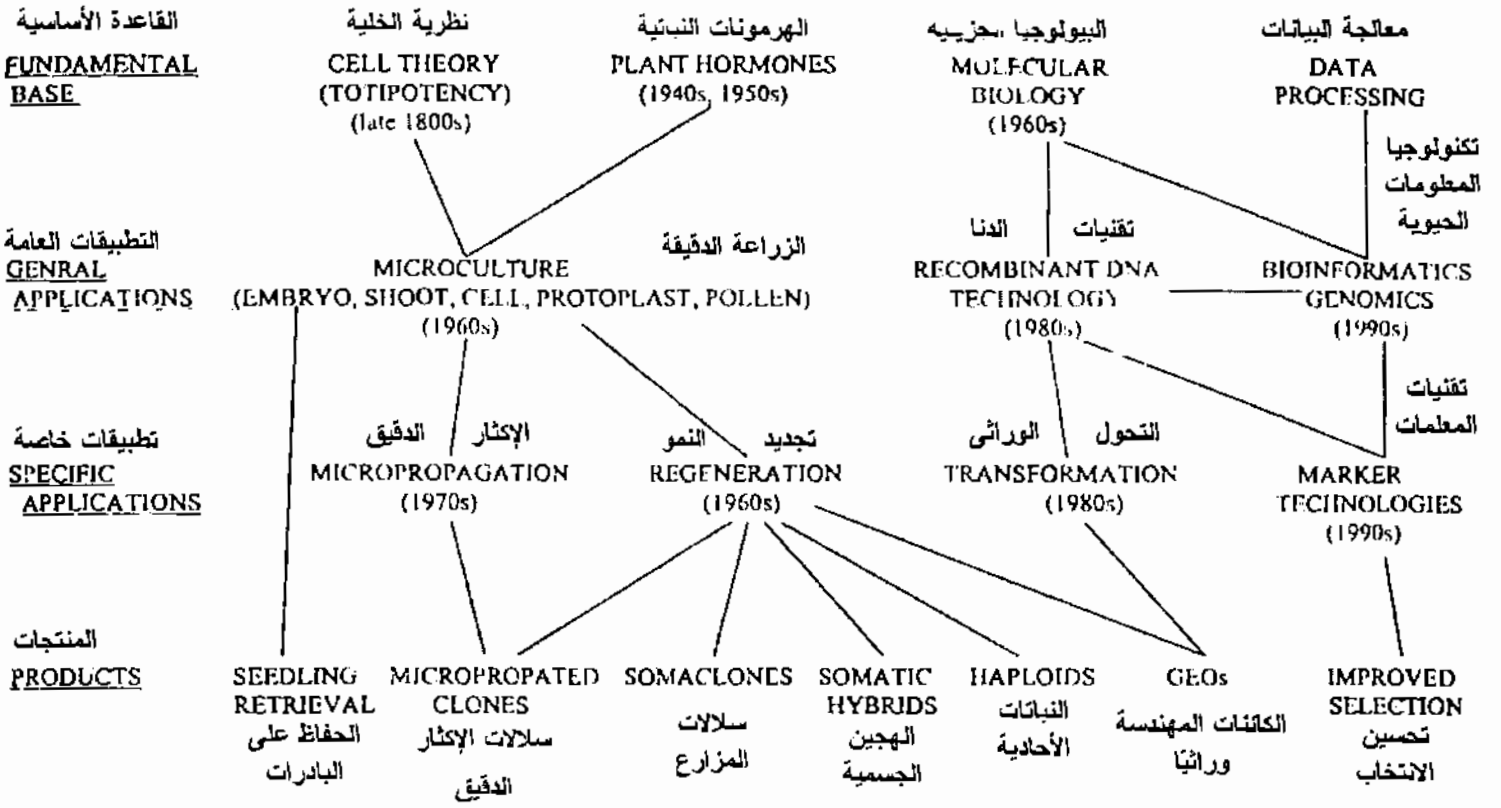
أ – مزارع القمة الميرستيمية meristem-tip culture.

ب – التطعيم الدقيق micrografting.

جـ – مزارع القمة الخضرية shoot-tip culture.

د – مزارع النموات الخضرية العرضية adventitious shoot culture.

هـ – مزارع الأنسجة والخلايا tissue and cell cultures .. وهى التى تقسم – بدورها – إلى الفئات التالية:



شكل (١-١) التقدمات التى تحققت فى مجال التقنيات الحيوية الباتية خلال القرن العشرين تُمثل الأرقام الى داخل الأقواس الفترة الزمنية التى بـــدأ فيهـــا ظهور تلك التقنيات (عن McCown ٢٠٠٣)

(١) مزارع الكالوس callus culture
(٢) مزارع معلقات الخلايا cell suspension
(٣) مزارع البروتوبلاست protoplast culture

كما تقسم طرق تكاثر النباتات البكرية بزراعة الأعضاء التكاثرية، كما يلى:

أ — مزارع المتوك وحبوب اللقاح anther and pollen culture
ب — مزارع البويضات ovule culture
جـ مزارع الأجنة embryo culture
د مزارع البذور seed culture
هـ — مزارع الجراثيم spore culture (كما فى السرخس ferns)

وقد استخدمت تقنية استنبات البذور فى البيئات الصناعية فى تقصير فترة الجيل فى برامج التربية، وخاصة فى محاصيل الفاكهة ونباتات الزينة الحتسبية، حيث تتضمن مميزاتها تجنب السكون (كما فى أجناس *Prunus*، و *Iris*، و *Vaccinium*)، وزيادة نسبة نجاح الحصول على البادرات من البذور (كما فى الجنس *Rubus*)، والتكوين التلقائى للجيرميلازم فى صورة مزارع أنسجة — عند استنبات بذوره — بما يسمح بتخزينه وسرعة إكثاره

وإذا ما أخذت الجوانب المتنوعة للإكثار الدقيق فى الحسبان، فإن تأثيرها فى مجال الإنتاج النباتى كان كبيرًا وعلى سبيل المثال فإن عدد النباتات التى تنتج سنويًا بطريقة الإكثار الدقيق — على مستوى العالم — ومعظمها من المحاصيل البستانية يربو على ٥٠٠ مليون نبات (عن McCown ٢٠٠٣)

٢ — دفع الأنواع — التى يصعب إزهارها — إلى الإزهار فى مزارع الأنسجة

تفيد عملية دفع النباتات للإزهار فى مزارع الأنسجة فى تربية الأنواع النباتية التى يصعب إزهارها، وتلك التى لا تزهر سوى مرة واحدة كل عدة سنوات. ومن الأمثلة الهامة على الحالة الأخيرة نبات الغاب bamboo الذى يزهر مرة واحدة خلال فترة حياته، ثم يموت فى نهاية موسم النمو الذى حدث فيه الإزهار، الأمر الذى يحدث — بعد ١٢–٢٤ سنة من النمو — فجأة، وفى كل العشيرة النامية، دونما سابق دليل على

احتمالات الإزهار، الأمر الذى يجعل تربية الغاب صعبًا 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 أشهرًا قليلة — فى زراعة بادرات الغاب – المنتجة فى البيئات الصناعية – فى بيئة موراشيج وسكوج سائلة ومزودة بـ ٢٪ سكروز، و ٥٪ لبن (إندوسبرم) جوز الهند، و ٠,٥ مجم/لتر من BAP (أى: 6-benzyladenine) ووضعها فى هزاز دوار على ٢٨°م، وإضاءة قوتها ٥٠٠ لكس.

كذلك أمكن إزهار الأوركيد بسهولة وباستمرار فى مزارع الأنسجة بعد نحو ستة شهور من الزراعة، علمًا 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 Taji وآخرين ٢٠٠٢).

جدول (١–١): الأنواع النباتية التى أمكن دفعها إلى الإزهار فى مزارع الأنسجة.

النوع	الجزء النباتى المزروع	منظمات النمو التى أضيفت إلى بيئة الزراعة[1]
Allium sativum	أنسجة زهرية	GA_3
Begonia spp.	جزء من الساق	Kinetin, Adenine
Chrysanthemum spp.	القمة الخضرية	GA_3
Cucumis sativus	السويقة الجنينية السفلى	BAP, 2,4-D
Dianthus caryophyllus	المتك	Kinetin, cocconut milk, IAA
Helianthus anus	القمة الخضرية	BAP or Kinetin
Manihot esculenta	القمة الخضرية	BAP, IAA, GA_3
Nicotiana tabacum	طبقات رقيقة من الحامل النورى	BAP, Kinetin, IAA

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

النوع	الجزء النباتي المزروع	منظمات النمو التي أضيفت إلى بيئة الزراعة[أ]
Panax ginseng	أجنة جسمية	BAP, GA_4
Pisum sativum	القمة الخضرية	BAP, NAA
Spinacia oleracea	القمة الخضرية	GA_3, GA_7
Xanthium strumarium	القمة الخضرية	Kinetin

أ – مفتاح الرموز:

BAP 6-benzyladenine
2,4-D. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid
GA, gibberellic acid
IAA indole-3-acetic acid
NAA α-napthaleneacetic acid

٣ – التحسين الوراثي للجيرمبلازم:

إن من أهم تطبيقات تقنيات مزارع الأنسجة والخلايا في مجال تربية النبات والتحسين الوراثي للجيرمبلازم المتوفر، ما يلي (Ahloowalia ١٩٩٨):

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

التقنية	التطبيقات
نقل عضيات الخلية	التحكم فى مكزنات السيتوبلازم — العقم الذكرى
التحكم فى بيئة الزراعة	مقاومة مبيدات الحشائش — إضافة العوامل الكيميائية المطفرة
تعريض المزارع ونباتات المزارع للإشعاع	التخلص من الارتباطات غير المرغوب فيها فى الـ cybrids والهجن والتهجينات البعيدة
مجسّات الدنا DNA probes	كشف الأمراض — تعرف الجنس — الانتخاب للصفات — خرائط جينات الصفات الكمية
Recombinant DNA	التحول الوراثى — 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.

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

المرجع	الموضوع
Dixon & Gonzales (١٩٩٤)	تطبيقات مزارع الخلايا فى تربية النبات (مرجع عملى شامل ومختصر لمعظم جوانب الموضوع)
Withers & Engelman (١٩٩٨)	حفظ الجيرمبلازم على صورة مزارع أنسجة
Kurz & Constabel (١٩٩٨)	استخدامات مزارع الأنسجة العادية والمحولة وراثيًا فى إنتاج مركبات الأيض الثانوية
Pauls (١٩٩٦)	استخدامات النباتات الأحادية – ناتج مزارع الأنسجة - فى دراسات التحكم الوراثى للصفات المتنحية
Taji وآخرون (٢٠٠٢)	موجز شامل لمختلف تقنيات مزارع الأنسجة فى مجال تربية النبات

ولقد ظهرت تقنيات مُعَلِّمات الدنا DNA marker technologies فى نهاية القرن العشرين كوسيلة جديدة لتحليل الهيئة الوراثية 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 ٢٠٠٣).

هذا .. إلا أن جميع التقنيات التى أسلفنا الإشارة إليها لا تعطى كامل الفائدة المرجوة منها إلاّ إذا استعملت ضمن برنامج تربية تقليدى للتحسين الوراثى. وعلى الرغم من قوة التقنيات الحيوية، فإنها تتطلب – دائمًا – توفر قاعدة من الجبرمبلازم الجيد لكى يمكن البناء عليها، كما تتطلب توفر برامج اختبار وتقييم فعالة.

٤ – الهندسة الوراثية للنباتات:

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 برنامجًا كاملاً للتربية بطريقة التهجين الرجعى، دون الدخول فى أى من مشاكل التربية، خاصة ارتباط الصفات المرغب فيها بصفات أخرى غير مرغوب فيها. كما أن تأثير الجين يتحدد – جزئيًا – بموقعه من الجينات الأخرى على الكروموسوم، وعليه .. فإن إدخال جين ما إلى مواقع مختلفة من الكروموسومات

يعنى الحصول على تباينات وراثية، لا تتوفر فى الظروف الطبيعية؛ نظرًا لأن الجين يحتل موقعا ثابتا على الكروموسوم، ومن المؤكد أن النباتات الجديدة المتحولة وراثيًا سوف تختلف فى عدد نسخ الجين التى تنتقل إليها، والموقع (أو المواقع) الكروموسومية التى تستقر بها هذه النسخ الجينية وينتج عن ذلك كله تباينات لا حصر لها، قد يكون بعضها مرغوبًا فيه ويعنى ذلك أن خطوة انتخاب النباتات المرغوب فيها بعد إحداث التحول الوراثى لا تقل أهمية عن عملية التحول الوراثى ذاتها، كما يعنى — كذلك — ضرورة إنتاج تحولات وراثية كثيرة؛ لكى تزيد فرصة الحصول على تغيرات مرغب فيها (عن Flavell ١٩٨٢)

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

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

ولا يمكن أن تكتمل الفائدة المرجوة من التحولات الوراثية — التى تكون على مستوى الخلايا المفردة — إلاّ بتوفر وسيلة فعالة لتجديد النمو، ووسيلة أخرى ناجحة لانتخاب الخلايا التى تحدث بها التحولات. وقد كان الاعتماد الأكبر فى عملية الانتخاب — ولا يزال — قائمًا على أساس تحمل الخلايا المحولة وراثيًا للمضادات الحيوية أو لمبيدات الحشائش؛ علمًا بأن تلك الصفات تنقل إلى الخلايا المحولة وراثيًا مع الجينات المراد نقلها وقد لا قى هذا الأسلوب فى انتخاب الخلايا المحولة وراثيًا انتقادات واسعة نظرًا لاحتواء النباتات الناتجة من عملية التحول الوراثى على جينات المقاومة تلك وقد جرت محاولات للتخلص من تلك الجينات بعد انتخاب النباتات المحولة وراثيًا (عن McCown ٢٠٠٣).

ولقد كان الأنسولين هو أول المركبات التجارية المفيدة التى أمكن إنتاجها من البكتيريا بعد تحويلها وراثيًا بأساليب الهندسة الوراثية، وذلك فى عام ١٩٨٦. وعلى الرغم من أن أول نجاح معملى فى هندسة النبات وراثيًا حدث فى عام ١٩٨٠، فإن أول الأصناف النباتية الغذائية المحولة وراثيًا (صنف الطماطم FlavrSavr) لم تتوفر تجاريًا سوى فى عام ١٩٩٤. ويدل ذلك الفارق الزمنى الكبير على الجهد الهائل الذى يتعين بذله لإخراج النباتات المحولة وراثيًا من المختبرات ومحطات البحوث إلى العالم الواقعى الذى لا يزال رافضًا لكثير من المنتجات المهندسة وراثيًا، خاصة ما يتعلق منها بغذاء الإنسان، فى الوقت الذى يتقبل فيه بسعة صدر المنتجات الصيدلانية التى تنتجها الكائنات الدقيقة المحولة وراثيًا (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 وراثيًا لهو أمر بطئ ومكلف وكثيرًا ما ينتهى إلى لا شئ. وعلى الرغم من ذلك فإن قصص النجاح فى هذا المجال يؤيدها انتشار زراعة الأصناف المحولة وراثيًا 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) وراثيًا 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؛ علما بأن التوسع فى زراعة المحاصيل وراثيًا ازداد بمعدل أكبر من ١٠٪ سنويًا. 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 وراثيًا كان من المحاصيل الحقلية (عن McCown ٢٠٠٣)

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، وتقييما مستمرًا لكى ينتهى البرنامج بصنف يقبله المزارعون، والمستهلكون، ويكون له مستقبل فى الزراعة التجارية، ولا يتحقق 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 صنفا مقبولاً .. فإنه يبقى من مهام مربى النبات (عن Moore ١٩٨٨)

٥ – منتجات صيدلانية خاصة يُحصل عليها من مزارع الأنسجة:

تتنوع كثيرا المنتجات الصيدلانية التى يُحصل عليها من مزارع الأنسجة، والتى نعرض بعضها فى جدولى (١-٢)، و (١-٣)

جدول (١-٢) محصول المنتجات التجارية الممكنة لبعض مزارع الأنسجة (عن Scragg ١٩٩٨).

النوع النباتى	المنتج	المحصول (%)	الاستعمال
Coleus blumei	Rosmarinic acid	٢١ ٣٦	—
Morinda citrifolia	Anthraquinones	١٨	—
Lithospermum erythrorhizon	Shikonin	١٢ ٤	مضاد لبكتيريا
Thalictrum minus	Berberine	١٠ ٦	دواء
Perilla frutescens	Anthocyanins	٨ ٩	-
Dioscorea deltoidea	Diosegnin	٣.٨	استيرويدى
Papaver somniferum	Morphine	٠.٠٢٥	دواء
	Sanguinarine	٢ ٥	مضاد حيوى
Taxus brevifolia	Paclitaxel	٠.٠٦	مضاد سرطانى
Catharanthus roseus	Vincristine	--	مضاد لسرطان الدم

جدول (١-٣): أمثلة لبعض مركبات الأيض الثانوية التى تنتج فى مزارع الأنسجة (عن Scragg ١٩٩٨).

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