

مقدمات فى الهندسة الوراثية

تمهيد

تُعرَّف النباتات المحولة وراثياً transgenic plants بأنها تلك التى تحمل جينات غريبة نقلت إليها - عادة - من كائنات لا تمت لها بصلة قرابة. تعرف العملية الكاملة التى تتضمن عملية إدخال الجين، ودمجه فى جينوم الكائن، والتعبير عنه فى ذلك الكائن العائل له باسم التحول الوراثى genetic transformation. وبالاعتماد على كل من تقنيات الدنا وطرق نقل الجينات، وتقنيات مزارع الأنسجة .. أمكن إنتاج النباتات المحولة وراثياً بكفاءة فى أعداد كبيرة من المحاصيل الزراعية.

ولقد برزت تلك التقنية كأداة جديدة لإنجاز ما أصبح يعرف بالتربية للجين الواحد single gene breeding، أو التربية بالتحول الوراثى transgenic breeding. وعلى خلاف التربية الكلاسيكية، فإن الجين المرغوب فيه ينقل منفرداً، ومجرداً من أى جينات أخرى - مرغوباً أو غير مرغوب فيها - قد تكون مرتبطة به. وبذا .. فإن الصنف المحول وراثياً - والذى يفترض أن يكون جيداً - لا يحتاج إلى أى تلقيحات رجعية (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

وتاريخياً .. حُصل على أول نبات محول وراثياً - وكان قادراً على نقل الجين المنقول إليه مندلياً - فى عام ١٩٨١. وفى عام ١٩٩٤ سمحت وزارة الزراعة الأمريكية بالإنتاج التجارى لأول صنف محصولي حوّل وراثياً، وهو صنف جديد من القطن عُدّل وراثياً ليكون مقاوماً لمبيد الحشائش bromoxynil. ويعد ذلك بقليل أعطى التصريح بإنتاج أول صنف لمحصول غذائى محول وراثياً، وهو صنف الطماطم Flavr-Savr الذى تميز ببطء نضج ثماره (عن Owens ١٩٩٥).

وعلى الرغم من أن الغالبية العظمى لحالات التحول الوراثي التي أجريت على النباتات حتى الآن كانت باستعمال جين واحد أو جينين، فإنه أمكن في حالات قليلة جداً إجراء تحويل وراثي بعدد كبير من الجينات في آن واحد. ومن أمثلة ذلك تحويل فول الصويا وراثياً بـ ١٢ جيناً بطريقة القذف الدقيق، والحصول على نباتات أرز خصبة تحمل ١٣ جيناً نقلت إليها بتحويلات وراثية مستقلة (عن Bhat ٢٠٠٠)

وتتطلب الاستفادة من تقنيات المصنعة الوراثية في الإنتاج التجاري للأصناف النباتية المصنعة وراثياً، ما يلي:

- ١ - عزل الجين المعنى وإكثاره.
- ٢ - إجراء عملية التحول الوراثي والتأكد من تعبير الجين عن ذاته في النوع المعنى بالتحويل.
- ٣ - إجراء الاختبارات الحقلية
- ٤ - تطوير صنف محسن يناسب الزراعة التجارية ويحتوى على الجين المنقول
- ٥ - توصيف الصنف وإجراء كافة الاختبارات اللازمة لتسجيله
- ٦ - قبول الصنف الجديد من جمهور المستهلكين
- ٧ - تسويق الصنف الجديد (Horsch ١٩٩٣)

هذا ومن المعروف أن تركيب الجينات ونشاطها على المستوى الجزيئي لا يتحدد فقط بسفرته الوراثية، وإنما - كذلك - بتتابعات أخرى بالدنا تحدد الجزء من النبات الذي يحدث فيه التعبير الجيني ووقت حدوث ذلك التعبير. ومعدل حدوثه، وهى التعليمات الوراثية التى تتحدد بما يعرف باسم الـ promoter region للجين، والتي تتضمن التتابعات المحفزة enhancer sequences التى تُعلى أى الأنسجة، وأى مراحل التكوين التى يحدث فيها - وعندها - التعبير الجيني.

إن الـ promoters الخاصة بالجينات المنقولة من مصادر غير نباتية لا يعبر عنها - غالباً - بصورة مرضية فى النباتات، مما يستلزم عزل promoters مناسبة لذلك ويتيسر حالياً مجموعة من الـ promoters التى يقود بعضها إلى زيادة فى تعبير الجين وهو فى موقعه الجديد فى النبات المحول وراثياً.

مقدمات في الهندسة الوراثية

وحتى بعد التحول الوراثي الناجح، فإن الخلايا أو النباتات الناتجة يجب أن تقيم لأجل تحديد النباتات المحولة وراثياً وتمييزها عن تلك التي لم يحدث بها تغيير. ولذا يجب إيجاد علاقة بين الجين المنقول وجين آخر تسهل ملاحظته، وهو الذي يعرف باسم reporter gene

وتعرف حزمة الجينات التي تشمل الجين المنقول - والذي يعرف باسم structural gene - وال promoter gene، وال reporter gene باسم gene construct.

وبالإضافة إلى التحويل الوراثي للأنواع النباتية المزروعة، فإن الهندسة الوراثية أصبحت تستخدم - على نطاق واسع - لأجل إنتاج مركبات كيميائية معينة يمكن أن تستعمل في مجالات عدة عن طريق التحويل الوراثي للكائنات الدقيقة التي تُسمى على نطاق واسع لأجل إنتاج تلك المركبات، وهو ما أصبح يعرف باسم molecular pharmung، أى الزراعة الجزيئية لأجل إنتاج المركبات الصيدلانية (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

ونقدم - فيما يلي - عرضاً لأبرز الإنجازات التي أسهمت في تطور الهندسة الوراثية في مجال الإنتاج النباتي:

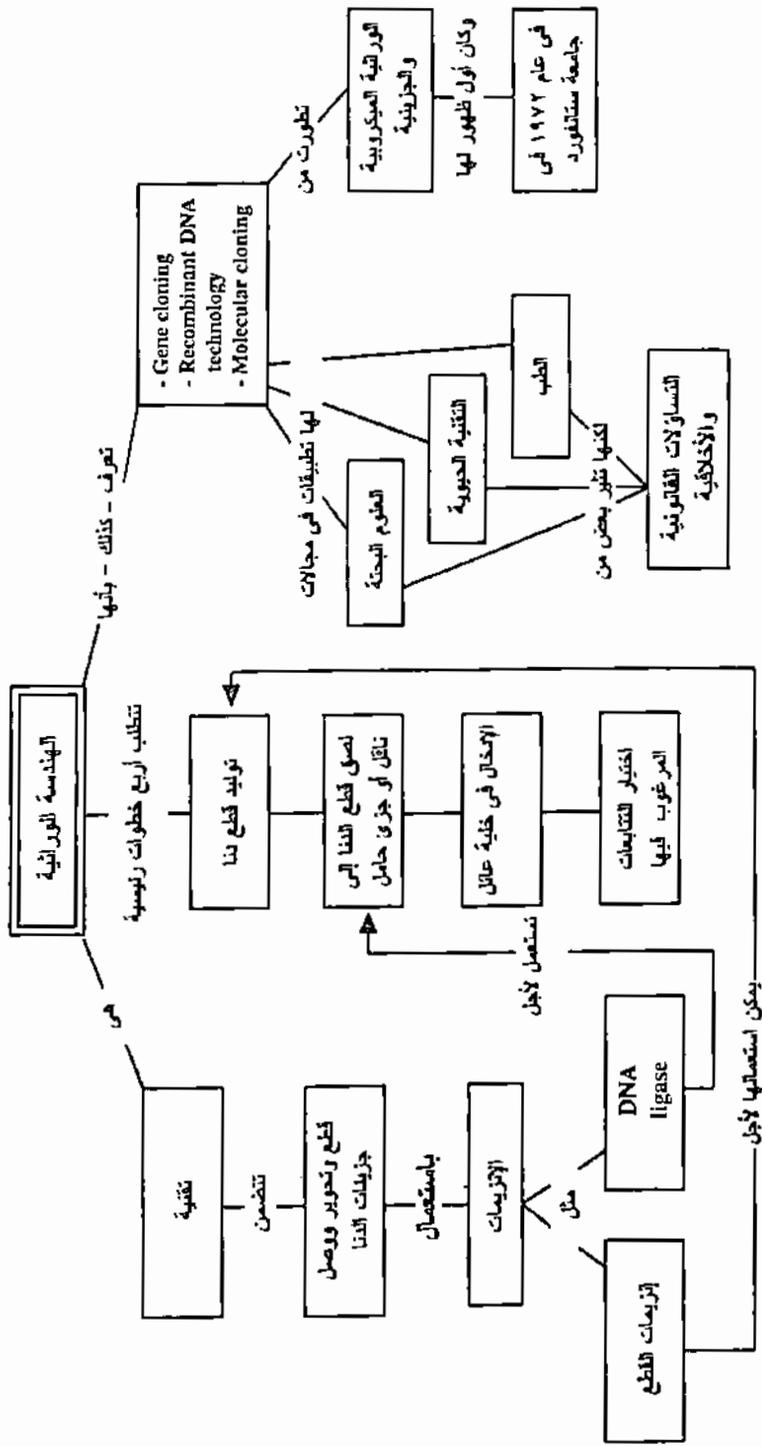
السنة	الموضوع
١٩٨٠	أول نقل للدنا البكتيري من <i>Agrobacterium tumefaciens</i> إلى النبات
١٩٨٣	توفر الـ selective markers
	تجريد الـ Ti plasmid من قدرته على إحداث النمو السرطاني
	أول تحويل وراثي باستعمال البروتوبلاست النباتي
١٩٨٥	هندسة نباتات مقاومة لمبيدات الحشائش
١٩٨٦	هندسة نباتات مقاومة للفيروسات
	أول تقييم حقلي لنباتات محولة وراثياً
١٩٨٧	هندسة نباتات مقاومة للحشرات
	التحويل الوراثي بالقذف المدفمى الدقيق
١٩٨٨	التحكم في نضج ثمار الطماطم بطريق الهندسة الوراثية
١٩٨٩	إنتاج أجسام مضادة في النباتات بطريق الهندسة الوراثية
١٩٩٠	إحداث العقم الذكري النباتي بطريق الهندسة الوراثية
١٩٩١	هندسة نباتات بمحتوى كربوهيدراتي معدل

السنة	الموضوع
١٩٩٢	هندسة نباتات بمحتوى معدل من الأحماض الدهنية
	تحويل القمح وراثياً بطريق القذف المدفعي الدقيق
	إنتاج نباتات محولة وراثياً قادرة على إنتاج بلاستيك يمكن أن يتحلل بيولوجياً
١٩٩٤	إنتاج أول محصول غذائي معدل وراثياً (صنف الطماطم FlavrSavr)
١٩٩٨	نقل أكثر من ١٠ جينات - كل على انفراد - إلى نبات واحد
	اعتماد أكثر من ٤٨ صنف محول وراثياً على المستوى العالمي
	إنتاج أرز محول وراثياً أعلى في قيمته الغذائية
	رعاية أكثر من ٤٠ مليون هكتار (>٩٥ مليون فدان) - على المستوى العالمي - بالمحاصيل المعدلة وراثياً
١٩٩٩	إجراء أكثر من ٩٠٠٠ تجربة تقييم حقلية على المحاصيل المعدلة وراثياً

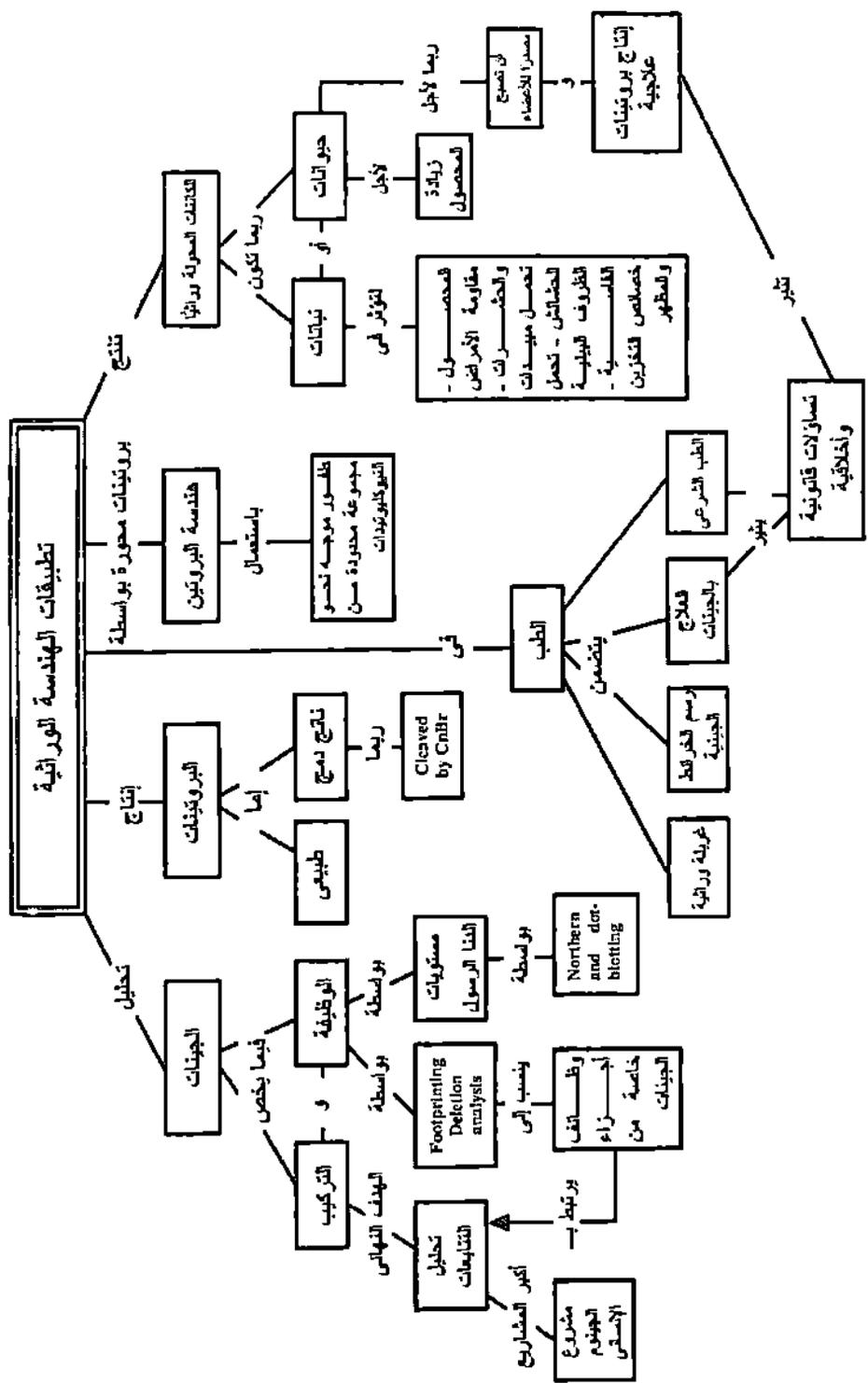
هذا وللتفاصيل المتعلقة بالمراجع الخاصة بتلك الإنجازات . يراجع Kempken (٢٠٠١)، كما أننا سنتطرق إلى تفاصيل جميع تلك الأحداث - وغيرها - في الفصول التالية من هذا الكتاب.

المفهوم العام للهندسة الوراثية

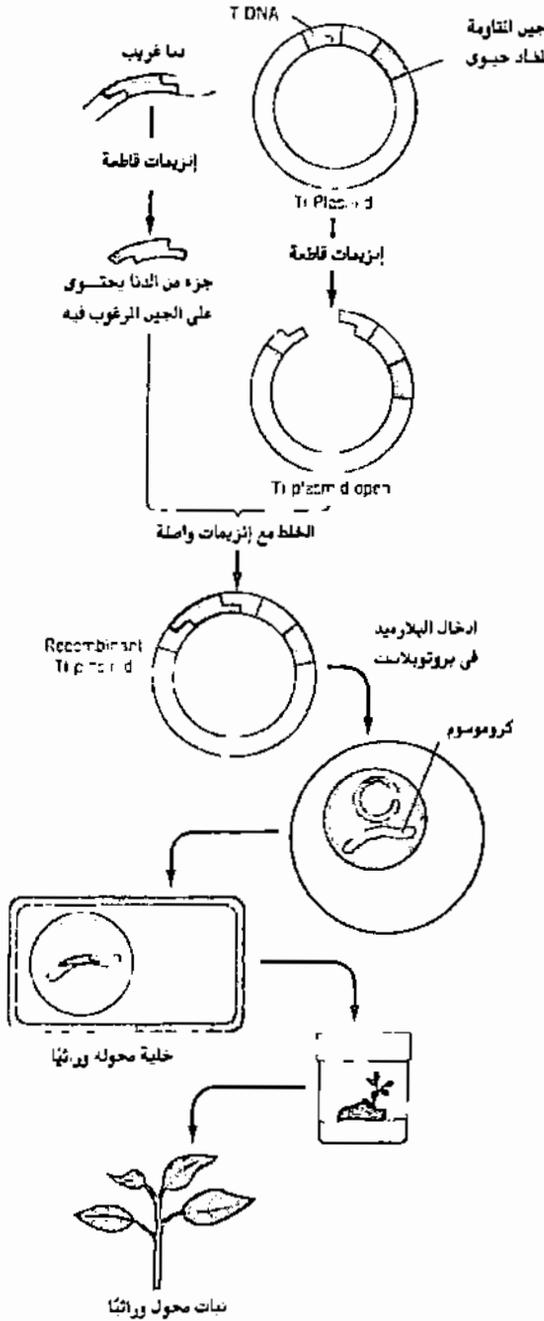
نقدم - فيما يلي - (نقلًا عن Nicholl ١٩٩٤) موجزًا للمفهوم العام للهندسة الوراثية في صورة ثلاثة أشكال تخطيطية، يوضح الأول (شكل ١٠-١) عرضًا لماهية الهندسة الوراثية، والثاني (شكل ١٠-٢) عرضًا لماهية المادة الوراثية التي تُخضع لتقنيات الهندسة الوراثية، والثالث (شكل ١٠-٣) عرضًا لمختلف تطبيقات الهندسة الوراثية هذا ويلخص شكل (١٠-٤) خطوات استعمال الهندسة الوراثية في تحويل النباتات وراثياً بجينات غريبة عنها (عن Hopkins ١٩٩٥).



شكل (١٠-١): المفهوم العام للهندسة الوراثية.



شكل (١٠-٣): تطبيقات الهندسة الوراثية.



شكل (١٠-٤): ملخص خطوات استعمال الهندسة الوراثية في تحويل النباتات وراثيًا بحبات غريبة عنها.

ولقد استخدمت البكتيريا *A. tumfaciens* - على سبيل المثال - فى نقل جينات من مصادر مختلفة إلى الطماطم، منها جينات من أصناف أخرى من الطماطم، ومن البكتيريا والفيروسات، والبقوليات، والذرة، ومن نباتات أخرى من العائلة الباذنجانية (عن Fobes ١٩٨٧).

وتتميز 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 DNA (مجموعة Caulimovirus التى يعرف منها عديداً من الفيروسات؛ مثل فيروس موزايك القنبيط Cauliflower Mosaic Virus الذى يتكون من رنا مزدوج الخيط double-stranded DNA ويصيب نباتات العائلة الصليبية بصفة أساسية) أو مفردة الخيط Single-stranded DNA (مثل فيروسات مجموعة الجمنى gemini viruses، التى يوجد منها عديد من الفيروسات، منها فيروس موزايك الفاصوليا الذهبى، وفيروس تخطيط الذرة).

ولكن يعاب على استخدام الفيروسات فى مجال الهندسة الوراثية أنه لم يمكن إضافة قطعة دنا كبيرة إلى الحامض النووى الخاص بالفيروس دون التأثير فى قدرته على إصابة العائل، وهى الخطوة الضرورية لإحداث التحول المطلوب. كما أن الجينات الصغيرة المضافة تبطن حركة الفيروس من خلية إلى أخرى، ويرجع ذلك إلى أن الحامض النووى الخاص بالفيروس صغير بطبيعته فهو لا يتعدى واحداً من ثلاثين جزءاً من الـ Ti plasmid (Kado ١٩٨٢).

وقد تبين أن دنا فيروس موزايك القنبيط يحمل ستة جينات، ليس لأحدهما (وهو الجين رقم II) ضرورة بالنسبة لتكاثر الفيروس، أو تمثيل بروتين الفيروس، أو حركة الفيروس من خلية إلى أخرى، ولكنه يؤثر فى عملية الانتقال الحشرى الفيروسي فى الطبيعة، ويعد هذا الجين موقماً مناسباً لإضافة الجينات المرغوب فيها إلى دنا الفيروس. كما وجدت منطقة كروموسومية أخرى من دنا الفيروس (هى الجين رقم VI) تتحكم فى شدة أعراض المرض، حيث يؤثر أى تغيير فى هذه المنطقة كثيراً على شدة الأعراض.

ووجد أن أعراض الإصابة بالفيروس ، قد تلاشت تقريباً حينما أضيفت ١٢ نيكليوتيدة فى هذا الموقع الجينى، ونمت النباتات التى تمت عداوما بهذه الطفرة من الفيروس بصورة طبيعية (Shepherd وآخرون ١٩٨٢)

الجينوم الإنسانى والجينومات النموذج

الجينوم الإنسانى

بدأت فكرة رسم خريطة شفرة الجينوم الإنسانى فى منتصف ثمانينيات القرن العشرين، ومع نهاية ذلك العقد كان قد تحقق لهذا المشروع ما يكفى من قوة الدفع للتفكير جدياً فى تنفيذه وقد جاءت البداية من الولايات المتحدة حيث بدأ مشروع الجينوم الإنسانى Human Genome Project - رسمياً - فى أكتوبر ١٩٩٠. ومع تكوين جمعية الجينوم الإنسانى Human Genome Organisation فى العام ذاته أخذ المشروع طابعاً دولياً، حيث كان الهدف من تلك الجمعية هو تنسيق الجهود التى بذلها العلماء فى هذا الخصوص فى عديد من دول العالم.

ولقد كان الهدف هو الانتهاء من المشروع فى بدايات القرن الحادى والعشرين، إلا أنه انتهى فعلياً فى عام ٢٠٠٠. ومن خلال هذا المشروع أمكن التعرف على نحو ١٠٠٠٠٠ جين فى الجينوم الإنسانى، ولكن هذه الجينات لم تمثل سوى ٥٪ من الدنا الجينومى الذى قدر أنه يحتوى على نحو ثلاثة بلايين زوج من النيكلوتيدات.

الجينومات النموذج أو الموديل

إلى جانب الجينوم الإنسانى، فقد بدأ العلماء - كذلك - وقاموا بتطوير موديلات جينومية أخرى تمثل كل منها مجموعة من الكائنات، مثل جينومات كل من

١ - البكتيريا *E. coli*.

٢ - الخميرة (القط) *Saccharomyces cerevisiae*.

٣ - الديدان *Caenorhabditis elegans*.

٤ - النبات *Arabidopsis thaliana*.

٥ - الحشرة *Drosophila melanogaster*.

٦ - الفأر.

٧ - الخنزير (عن Nicholls وآخرين ١٩٩٤).

الجينوم النباتي الموديل أرابيدوبسيس ثاليانا

على الرغم من أن تحسين النباتات بطرق الهندسة الوراثية يمكن أن يعتمد على نقل جينات إليها من أي كائن حي، فإن النباتات تبقى هي المصدر الرئيسي لتلك الجينات، ولما كان التعامل مع النباتات على مستوى الدنا ليس بالسهولة التي يكون عليها التعامل مع الكائنات الدقيقة؛ لذا .. كان الاتجاه نحو اختيار نبات "موديل" يسهل التعامل معه ويتم التركيز عليه للتعرف على جينومه الكامل.

ونظراً لما يتمتع به النبات *Arabidopsis thaliana* من مزايا عديدة تجعل التعامل معه أمراً ميسوراً عن غيره من النباتات الراقية، فقد اختير ليكون هو النبات "الموديل"، حيث تناوله الكثير من الباحثون في عديد من دول العالم بالدراسة المفصلة جزئياً، وربط ذلك بالمستوى الخلوي، وبنموه وتطوره، وبصفاته المميزة. وحالياً .. يعتبر هذا النبات كائن قنطري لإسراع تطوير نباتاتنا الاقتصادية وراثياً، حيث يُستعان بجيناته الهامة في تطوير الأنواع النباتية الأخرى، إما بنقلها بصورة مباشرة إلى الأنواع الأخرى، وإما باستعمالها في التعرف على الجينات المثيلة لها فيها (عن Flavell ١٩٩٢).

يعتبر *A. thaliana* أحد نباتات العائلة الصليبية (الكرنبية) الذي طالما استخدم في الدراسات الوراثية الكلاسيكية لمدة تزيد عن أربعة عقود، ولكنه لم يصبح أحد أهم الكائنات المستخدمة في البحوث الوراثية إلا منذ منتصف ثمانينيات القرن الماضي حينما أتضح أن الهيئة الكروموسومية لهذا النبات صغيرة للغاية، ولا تحتوي - تقريباً - على أي دنا مكرر كذلك الذي ينتشر ويتوزع بطول الكروموسومات في الأنواع الأخرى. وقد برز *A. thaliana* منذئذٍ كموديل مناسب للدراسات الوراثية في الملكة النباتية، مثل دراسة وتحليل العمليات الأيضية، والتطور، والاستجابة لاختلاف عوامل الشد البيئي، والمقاومة للأمراض والحشرات ... إلخ.

ومن أهم مميزات *A. thaliana* ما يلي،

- ١ - النبات صغير الحجم (٢٥-٣٠ سم)، ويعد أصغر النباتات الراقية المعروفة؛ وبذا يمكن زراعة أعداد كبيرة منه في حيز صغير في حجرات النمو.
- ٢ - تأقلمه على ظروف بيئية متباينة.
- ٣ - يكمل النبات دورة حياته خلال فترة زمنية قصيرة تبلغ حوالى ٥-٨ أسابيع.
- ٤ - يُنتج النبات أعداداً كبيرة من البذور تصل إلى ٤٠٠٠٠ بذرة للنبات الواحد.
- ٥ - يستجيب النبات لمختلف طرق التحول الوراثي المعروفة.
- ٦ - الصفر الشديد للهيئة الكروموسومية للنبات، وهى التى تقدر بنحو 7×10^7 أزواج من النيكلوتيدات، وبالمقارنة .. فهى تبلغ نحو ٢٠ ضعف حجم الهيئة الكروموسومية للبكتيريا *E. coli*، وحوالى $1/100$ من حجم الهيئة الكروموسومية للذرة.
- ٧ - لا يوجد بالهيئة الكروموسومية سوى القليل جداً من الدنا المكرر المنتشر هنا وهناك على امتداد الكروموسومات؛ فنجد أن التتابعات الفريدة (التي لا نظير لها) للدنا تبلغ - فى المتوسط - حوالى ١٢٠٠٠٠ ألف زوج من النيكلوتيدات طولاً فى *A. thaliana*، مقارنة بنحو ١٠٠٠ زوج منها طولاً فى الذرة.
- ٨ - النبات ثنائى التضاعف.
- ٩ - يتلقح النبات ذاتياً فى الطبيعة، مع نسبة ضئيلة جداً من التلقيح الخلطى.

ومن أهم عيوب استخدام *A. thaliana* فى الدراسات الوراثية الصفر الشديد لحجم أزهاره؛ الأمر الذى يتطلب استخدام العدسات الكبيرة لأجل خصيها وتلقيحها عند الرغبة فى إجراء التهجينات (عن Gardner وآخرين ١٩٩١، و Coury & Feldman ١٩٩٨).

ولقد بدأ تحليل جينوم *A. thaliana* فى عام ١٩٩٠، واستكمل رسمياً فى ديسمبر من عام ٢٠٠٠.

بلغ إجمالى عدد الجينات للنبات *A. thaliana* - بعدما اكتملت دراسة جينومه - حوالى ٢٦٠٠٠ جين (حوالى ١١٦ مليون نيكلوتيدة). وعلى الرغم من أن هذا العدد لا يقل بدرجة كبيرة عما فى عديد من النباتات الزراعية الهامة، إلا أن صغر الحجم

مقدمان في الهندسة الوراثية

الكامل للدنا في هذا النبات أسهم في مهمة دراسته تفصيلياً. فمثلاً يزيد حجم الدنا في نباتات مثل التبغ والقمح بمقدار ٢٠، و ٦٠ ضعف حجم الدنا في الـ *Arabidopsis* - على التوالي - مما يجعل من الصعوبة بمكان البحث عن الجينات في هذه الكمية الزائدة من الدنا.

وعلى الرغم من أن جينوم الـ *Arabidopsis* يزيد عن جينوم *Escherichia coli* بمقدار ٢٥ ضعف فقط، فإن النبات أكثر تعقيداً بكثير من البكتريا، وهو يقوم بأداء العمليات الحيوية ذاتها التي يقوم بها أى نبات آخر. وفي الواقع .. فإن الـ *Arabidopsis* والإنسان يحتويان - تقريباً - على نفس العدد من الجينات.

أما عن وظائف تلك الجينات فقد تعرف العلماء على دور الكثير منها، ولكن يبقى نحو ١٥٠٠٠ جين لا تعرف وظائفها على وجه التحديد. ويحاول العلماء التعرف عليها من خلال خاصية قدرة بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* على زرع الدنا الذى تحمله (T-DNA) فى أى مكان من جينوم النبات؛ مما يترتب عليه ما اتفق على تعريفه باسم knockout mutant، حيث يختفى تأثير الجين الذى دمج فيه الـ T-DNA؛ لتظهر صفة جديدة لم تكن معروفة من قبل؛ وبذا .. يمكن التعرف على وظيفة الجين الذى يمكن تحديده بسهولة (عن Chrispeels & Sadava ٢٠٠٣).

ومن أهم الخصائص التى تم التوصل إليها بخصوص جينوم نبات *Arabidopsis thaliana* ما يلى (عن Kato وآخرين ٢٠٠٣).

أولاً: الدنا:

الطول	١١٥٤٠٩٩٤٩ bp
عدد الجينات	٢٥٤٩٨
كثافة الجينات	٤,٥ جين/kb
متوسط طول الجين	٢,٠١١ bp
متوسط طول الببتيد peptide	٤٣٤ aa
الـ exons	

متوسط الحجم	٢٥٠ bp
ال introns	
متوسط الحجم	١٦٨ bp
متوسط العدد/جين	٤,١
ثانياً: ال proteome :	
الأبيض الخلوى	%٢٢,٥
ال transcription	%١٦,٩
الدفاع plant defense	%١١,٥
signaling	%١٠,٤
النمو	%١١,٧
مصير البروتين	%٩,٩
الانتقال داخل الخلايا	%٨,٣
الانتقال	%٤,٨
تمثيل البروتين	%٤,١
المجموع	%٦٩,٩

ويوضح جدول (١٠-١) توزيع تلك الجينات على كروموسومات النبات الخمسة (عن Slater وآخرين ٢٠٠٣)

ولمزيد من التفاصيل عن جينوم *A. thaliana* .. يراجع Kato وآخرين (٢٠٠٣)، و Schmidt وآخرين (٢٠٠٣).

جدول (١٠-١): توزيع جينات النبات *Arabidopsis thaliana* على كروموسوماته الخمسة

البيوع	كروموسوم					الخصائص
	٥ كروموسوم	٤ كروموسوم	٣ كروموسوم	٢ كروموسوم	١ كروموسوم	
١١٥٤١٠	٢٥٩٥٣	١٧٥٥٠	٢٣١٧٣	١٩٦٤٧	٢٩١٠٥	الطول Length (kbp)
	١١١٣٢	٣٠٥٢	١٣٥٩٠	٣٦٩٧	١٤٤٤٩	الذراع العلوى Top arm (kbp)
	١٤٨٠٣	١٤٤٩٨	٩٥٨٢	١١٠٤٠	١٤٦٥٦	الذراع السفلى Bottom arm (kbp)
٢٥٤٩٨	٥٨٧٤	٣٨٢٥	٥٢٢٠	٤٠٣٦	٦٥٤٣	عدد الجينات Number of genes
						Exons:
١٣٢٩٨٢	٣١٢٢٦	٢٠٠٧٣	٢٦٥٧٠	١٩٦٣١	٣٥٤٨٢	العدد Number
٣٣٢٤٩	٧٥٧١	٥١٥١	٦٦٥٥	٥١٠٠	٨٧٧٣	الطول الكلى Total length (kbp)
٢٩	٢٩	٢٩	٢٩	٢٦	٣٠	% of total length
	٥,٣	٥,٢	٥,١	٤,٩	٥,٤	Average per gene
	٢٤٢	٢٥٦	٢٥٠	٢٥٩	٢٤٧	متوسط الحجم Average size (bp)
						Introns:
١٠٧٤٨٤	٢٥٢٥٢	١٦٢٤٨	٢١٢٥٠	١٥٥٩٥	٢٨٩٣٩	العدد Number
١٨٠٥٦	٤٠٣٠	٣٠٣١	٣٣٩٨	٢٧٦٨	٤٨٢٩	الطول الكلى Total length (kbp)
	١٦	١٧	١٥	١٤	١٧	% of total
	١٥٩	١٨٦	١٥٩	١٧٧	١٦٨	متوسط الحجم Average size (bp)
	٤,٤	٤,٦	٤,٥	٤,٩	٤,٠	كثافة الجينات Gene density (kbp per gene)

مصادر متنوعة في مجال الهندسة الوراثية

تمثل القائمة التالية نخبه مختارة من المراجع المتنوعة في شتى مجالات الهندسة الوراثية

الموضوع	المرجع
استخدامات الـ Ti-plasmids في مجال الهندسة الوراثية	Chilton (1980)
الدراسات المبكرة في مجال الهندسة الوراثية	McDaniel (1981)
الدراسات المبكرة في مجال الهندسة الوراثية	Panopoulos (1981)
الدراسات المبكرة في مجال الهندسة الوراثية	Rachle & Lyman (1981)
طرق التعرف على الجينات وفصلها لأغراض الهندسة الوراثية	Flavell (1982)
استخدامات الـ Ti-plasmids في مجال الهندسة الوراثية	Schell (1982)
استخدامات الـ Ti-plasmids في مجال الهندسة الوراثية	Schroder وآخرون (1983)
استخدامات الفيروسات في مجال الهندسة الوراثية	Hull (1983)
مقدمة في الهندسة الوراثية النباتية	Mantell وآخرون (1985)
الهندسة الوراثية للنباتات	Dodds (1985)
مقدمة في الهندسة الوراثية	Brown (1986)
الهندسة الوراثية لمختلف الأغراض	Lycett & Gmerson (1990)
التحويل الوراثي لمقاومة الفيروسات بجين غلافها البروتيني	Nelson وآخرون (1990)
التحويل الوراثي لمقاومة الحشرات باستعمال جينات ذات أصل نباتي	Hilder وآخرون (1990)
التحول الوراثي لمقاومة الحشرات ومسببات الأمراض بجينات مثبطات إنزيمات البروتياز	Ryan (1990)
التحول الوراثي لمقاومة الفيروسات بجينات الغلاف البروتيني	Beachy وآخرون (1990)
إنزيمات القطع واستعمالها في تحضير خرائط الدنا	Webb & Wilson (1991)
التحول الوراثي بتقنيات القذف الدقيق للجينات.	Franks & Birch (1991)
التعديل الوراثي باستعمال الأخرىباكتيريوم	Grant وآخرون (1991)
التعديل الوراثي عن طريق التثقيب الكهربائي للأغشية الخلوية	Rathus & Birch (1991)
الهندسة الوراثية لوقاية النباتات	Gatehouse وآخرون (1992)
الهندسة الوراثية لتحمل مبيدات الحشائش	Mullineaux (1992)
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات باستعمال الجين Bt	Peferoen (1992)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Reavy & Mayo (1992)

الموضوع	المرجع
أهمية النبات "الموديل" <i>A. thaliana</i> لمربى النبات	Flavell (١٩٩٢)
التحول الوراثى لتحمل مبيدات الحشائش	Gressel (١٩٩٣)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Fitchen & Beachy (١٩٩٣)
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات	Gatehouse وآخرون (١٩٩٣)
استخدام جين الشيتينيز chitinase فى تحويل النباتات وراثياً لمقاومة الفطريات	Brogli & Brogli (١٩٩٣)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Scholthof وآخرون (١٩٩٣)
الإنتاج التجريبى والتجارى للمحاصيل المحولة وراثياً	Dale وآخرون (١٩٩٣)
التحويل الوراثى لتحفيز إنتاج النشا فى درنات البطاطس	Nakata & Okita (١٩٩٤)
تنظيم تراكم السكر فى البطاطس - أثناء التخزين - بالهندسة الوراثية	Sowokinos (١٩٩٤)
التعبير عن بروتين الكاشو الغنى بالمثيونين فى درنات البطاطس.	Tu وآخرون (١٩٩٤)
الهندسة الوراثية	Nicholl (١٩٩٤)
التحكم فى النضج فى الطماطم المحولة وراثياً	Grierson & Fray (١٩٩٤)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Lomonosoff (١٩٩٥)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Grumet (١٩٩٥)
الهندسة الوراثية للطماطم بهدف إبطاء التقدم فى نضج الثمار	Picton وآخرون (١٩٩٥)
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	Kavanagh & Spillane (١٩٩٥)
الهندسة الوراثية لمحاصيل الحبوب الصغيرة	Jahne وآخرون (١٩٩٥)
الهندسة الوراثية لمقاومة الأمراض	Nascari & Montanelli (١٩٩٧)
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات	Carozzi & Kozziel (١٩٩٧)
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات بالبروتينات البلورية للبكتيريا <i>Bacillus thuringiensis</i>	Peferoen (١٩٩٧)
التحول الوراثى لمقاومة الحشرات باللكتيغات lectins	Czapla (١٩٩٧)
التحول الوراثى للبقوليات لمقاومة الـ bruchid بواسطة جين مثبط الأميليز من الفاصوليا	Chrispeels (١٩٩٧)
التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بجينات مثبطات البروتينيز	Reeck وآخرون (١٩٩٧)
التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بجينات مركبات الأيض الثانوية	Chilton (١٩٩٧)

الموضوع	المرجع
التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بجينات الشينينز	(1997) Kramer
كسر الحشرات للمقاومة الحشرية فى النباتات المحولة وراثياً	(1997) Roush
حصر كامل لجميع دراسات التحول الوراثى التى أجريت حتى نهاية عام 1995 باستعمال تقنية القذف الدقيق	Rajesh & Luthra وآخرون (1997)
microprojectile technology بالجينات المرغوب فيها	
التحويل الوراثى المؤثر فى الشكل المظهري بالتحكم فى تمثيل الجبريلين	Hedden وآخرون (1998)
تأثير التكنولوجيا الحيوية على البيئة - ندوة علمية	(1998) Amer Soc Hort Sci
النباتات المحولة وراثياً. الأساس الكيميائى الحيوى والفسولوجى لما يحدث فيها	(1998) Herbers & Sonnewald
مرجع فى التكنولوجيا الحيوية الزراعية، وخاصة الهندسة الوراثية	(1998) Altman
الهندسة الوراثية للمحاصيل الزراعية	Potrykus وآخرون (1998)
هندسة المحاصيل الزراعية فى نوعية المحتوى الغذائى من البروتينات والمواد الكربوهيدراتية والدهون	(1998) Topfer & Martin
إنتاج المركبات الدوائية فى النباتات المهندسة وراثياً	(1998) Pueyo & Hratt
الهندسة الوراثية لمقاومة الآفات الحشرية	Koziel وآخرون (1998)
الهندسة الوراثية لمقاومة مبيدات الحشائش	(1998) Gressel
تطبيقات الهندسة الوراثية النباتية	Chopra وآخرون (1999)
التحول الوراثى بالجين Bt	Mandaokar وآخرون (1999)
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات	(1999) Gatehouse
التحول الوراثى بطريقة القذف المدفئ الدقيق للجينات	(1999) Jansson & Maenpua
تطبيقات الهندسة الوراثية فى مجال مقاومة الأمراض والحشرات	(1999) Bent & Yu
الهندسة الوراثية النباتية وتطبيقاتها	(2000) Chawla
استعراض للتقدمات فى مجال الهندسة الوراثية	(2001) Kempken
تعديل الزيوت النباتية بالهندسة الوراثية	Weber وآخرون (2001)
وضع ومستقبل تسويق الأغذية المعدلة وراثياً عالياً	(2002) Santanello وآخرون
تقييم مخاطر زراعة النباتات المهندسة وراثياً لمقاومة الفيروسات	(2002) Topfer

الموضوع	المرجع
التكنولوجيا الحيوية النباتية والهندسة الوراثية	Oksman-Caldentey & Barz (٢٠٠٢)
الهندسة الوراثية لتحويل النشا والمواد الكربوهيدراتية الأخرى	(٢٠٠٢) Schulman
الهندسة الوراثية لتحسين المحتوى البروتيني للبذور ونوعيته	(٢٠٠٢) Shewry
الهندسة الوراثية للنباتات كمصدر للزيوت المحورة	(٢٠٠٢) Coughlan & Kinney
الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات	(٢٠٠٢) Jeske
الهندسة الوراثية لمقاومة البكتيريا والفطريات	(٢٠٠٢) Tenhaken
الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات	(٢٠٠٢) Llewellyn & Higgins
الهندسة الوراثية لمقاومة مبيدات الحشائش	(٢٠٠٢) Gressel
الهندسة الوراثية: الأساسيات والتطبيقات	Slater وآخرون (٢٠٠٣)
الهندسة الوراثية لتحسين القيمة الغذائية	Jacobs وآخرون (٢٠٠٢)
الهندسة الوراثية لمقاومة النيماطودا	Atkinson وآخرون (٢٠٠٣)
حجج المعارضون على الهندسة الوراثية النباتية والرد عليها	Richards وآخرون (٢٠٠٥)
تصميم واستعمال قاذفة جينات لأغراض الهندسة الوراثية	Gray وآخرون (٢٠٠٥)