مبادئ الانتخاب والتحسين الوراثي
النباتي (الجزء النظري)

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

منشورات جامعة دمشق

كلية العلوم

مبادئ الانتخاب والتحسين الوراثي النباتي

(الجزء النظري)

الدكتور

غسان عياش

أستاذ في قسم علم الحياة النباتية

الدكتور

محمد سليمان

أستاذ في قسم علم الحياة النباتية

١٤٢٩-١٤٣٠ هـ

جامعة دمشق

٢٠٠٨-٢٠٠٩ م

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

فهرس الموضوعات

الموضوع	الصفحة
مقدمة	١٥
مفردات المنهاج	١٧
الفصـــــل الأول	١٩
التربية والإنتخاب	١٩
١-١ الإرتباط بالعلوم الأخرى	٢١
١-٢ الأهمية الاقتصادية لتربية النبات وعلاقتها بالمشكلة الغذائية	٢٢
١-٣ طرائق تحسين النباتات المزروعة	٢٣
١-٣-١ الإنتخاب الطبيعي	٢٤
١-٣-٢ الإنتخاب الصناعي	٢٤
١-٣-٢-١ الإنتخاب الإجمالي (الكتلي)	٢٥
١-٣-٢-٢ الإنتخاب الفردي (إنتخاب السلالة النقية)	٢٧
١-٣-٢-٣ الإنتخاب عن طريق السلالة الخضرية	٢٨
١-٣-٣ التربية الجزيئية للنبات والإنتخاب بوساطة الواسمات	٣١
١-٤ الثورة الخضراء وثورة المورثات	٣٣
الفصـــــل الثاني	٣٥
دور التغير في الإنتخاب	٣٥

٢-١ تغيرات الضم ٣٧

٢-٢ التغيرات الطفرية ٣٨

٢-٣ التغيرات العددية في الصبغيات ٤٣

الفصـــــل الثالث ٤٧

طرائق التكاثر وأهميته في التربية ٤٧

٣-١ التكاثر اللاجنسي ٤٩

٣-٢ التكاثر الجنسي ٥٠

٣-٢-١ ظاهرة كسينيا ٥١

٣-٢-٢ ظاهرة ميتاكسينيا ٥٢

٣-٣ الجنس في النباتات ٥٢

٣-٣-١ تحديد الجنس في بعض النباتات ٥٣

٣-٤ العقم في النبات ٥٤

٣-٤-١ العقم الذكري ٥٧

٣-٤-١-١ العقم الذكري الوراثي ٥٨

٣-٤-١-٢ العقم الذكري السيتوبلاسمي ٥٩

٣-٤-١-٣ العقم الذكري الوراثي السيتوبلاسمي ٦٤

٣-٤-١-٤ العقم الذكري المحدث صنعياً ٦٦

٣-٤-٢ عدم التوافق ٦٦

٣-٤-٢-١ أهمية التنافر بالنسبة للتربية ٦٧

٣-٤-٢-٢ عدم التوافق والصنويات المتعددة للمورثة S ٦٩

٣-٤-٢-٣ بعض الفرضيات المفسرة لآلية عدم التوافق الذاتي ٧٣

٣-٤-٢-٤ التغلب على التنافر في برامج تربية النبات ٧٤

الفصـــــل الرابع ٧٧

طرائق التربية وأهميتها في تحسين الأنواع النباتية ٧٧

٤-١ التربية الداخلية ٧٩

٤-٢ التربية الخارجية ٨٥

٤-٣ الاستفادة من طرق التهجين ٨٦

٤-٤ ظاهرة قوة الهجين ٨٧

٤-٤-١ فرضية قوة السيطرة ٩١

٤-٤-٢ فرضية فوق السيطرة ٩٢

٤-٥ دور طفرات التهجين النوعي (الخلطي) في تربية النبات ٩٦

٤-٥-١ أصل القمح الطري ٩٧

٤-٥-٢ هجونات القمح مع الجودار ١٠٠

٤-٥-٣ الهجونة بين القمح والدوسر ودورها في التربية ١٠٤

٤-٥-٤ التهجين بين أعشاب من النجيليات ١٠٧

٤-٦ ظاهرة فوق التزاوج ١٠٩

٤-٧ النوليسومي ودور المورثة ph_1 في القمح الطري ١١٢

الفصـــــل الخامس ١١٧

تربية الأصناف النباتية المقاومة للأمراض ١١٧

٥-١ المورثات والأمراض النباتية ١١٩

٥-٢ مورثات المقاومة ١٢٠

٥-٣ المبيدات ودورها في المقاومة ١٢١

٥-٤ أنماط المقاومة ١٢٣

٥-٤-١ المقاومة العمودية ١٢٤

٥-٤-٢ المقاومة الأفقية ١٢٥

٥-٤-٣ المقاومة الكاملة ١٢٦

٥-٥ العلاقة بين الأصناف النباتية والسلالات الممرضة ١٢٧

٥-٦ تفاعل مورثات الإصابة مع مورثات المقاومة ١٢٩

٥-٦-١ مورثة لكل مورثة ١٢٩

٥-٦-٢ احتمالات الإصابة بوجود مورثتين لكل من الفطر والمضيف ١٣١

٥-٧ مصادر المورثات ومورثات المقاومة واستعمالاتها ١٣٢

الفصـــــل السادس ١٣٥

زراعة النسج وتقانة البروتوبلاست ودورهما في الإنتخاب النباتي ١٣٥

٦-١ زراعة الخلايا والنسج النباتية ١٣٧

٦-١-١ أنماط النسج المزروعة ١٣٩

٦-١-٢ فوائد زراعة النسج ١٤٠

٦-١-٣ تجهيزات زراعة النسج ومكونات الوسط الغذائي ١٤١

٦-١-٣-١ مخابر زراعة النسج ١٤١

٦-١-٣-٢ الأوساط الزراعية ١٤٣

٦-١-٣-٣ خطوات الزراعة ١٤٦

٦-١-٤ بعض نماذج الخلايا والنسج المستعملة في الزراعة ١٤٨

٦-١-٤-١ الكالوس أو الثفنة ١٤٨
٦-١-٤-٢ زراعة المرستيم القمي ١٤٩
٦-١-٤-٣ زراعة بعض مكونات البذرة ١٥٠
٦-١-٤-٤ زراعة الخلايا المفردة ١٥٣
٦-١-٥ بعض الأمثلة الواقعية حول زراعة النسج ١٥٥
٦-١-٥-١ زراعة النخيل ١٥٥
٦-١-٥-٢ زراعة الموز ١٥٧
٦-١-٦ مشاكل زراعة النسج ١٥٨
٦-١-٦-١ تشكل اللون البني ١٥٨
٦-١-٦-٢ ظاهرة الشفافية ١٦٠
٦-٢ تقانة البروتوبلاست في الأحياء الدقيقة ١٦٢
٦-٢-١ البروتوبلاست في الجراثيم ١٦٤
٦-٢-١-١ نزع الغلاف والحصول على البروتوبلاست الجرثومي ١٦٥
٦-٢-١-٢ هل يحافظ البروتوبلاست على الخصائص التي كان يتمتع بها الجرثوم ؟ ١٦٨
٦-٢-١-٣ دمج البروتوبلاستات الجرثومية والاستفادة منها كطرائق وراثية ١٧١
٦-٢-١-٤ البروتوبلاستات وجراثيم الريزوبيوم ١٧٣
٦-٢-١-٥ استخدام وفوائد دمج البروتوبلاستات في الجراثيم ١٧٥
٦-٢-٢ البروتوبلاست في الفطريات ١٧٦
٦-٢-٢-١ البروتوبلاست في الخمائر ١٧٧

٦-٢-٢-٢ البروتوبلاست في الفطريات المشيجية ١٧٨
٦-٢-٣ الاستفادة من بروتوبلاست الفطريات في المجالات الوراثية ١٨٢
٦-٣ عزل البروتوبلاست من الطحالب الكارية ١٨٤
٦-٤ تقانة البروتوبلاست في النباتات الراقية ١٨٧
٦-٤-١ طرائق الحصول على بروتوبلاستات النباتات الراقية ١٨٩
٦-٤-٢ مصادر بروتوبلاستات النباتات الراقية ١٩٢
٦-٤-٣ دمج البروتوبلاستات ١٩٤
٦-٤-٣-١ الاندماج الطوعي بين البروتوبلاستات ١٩٤
٦-٤-٣-٢ نواتج دمج البروتوبلاستات بوجود محفز ١٩٦
٦-٤-٤ زراعة البروتوبلاست للوصول إلى نبات كامل ١٩٧
٦-٤-٥ أمثلة تطبيقية حول نتائج التهجين الجسمي ٢٠١
٦-٤-٥-١ في نبات الفاصولياء ٢٠١
٦-٤-٥-٢ هجين البرتقال والليمون ٢٠٤
٦-٤-٥-٣ في نبات البطاطا ٢٠٧
٦-٤-٦ فوائد البروتوبلاست واستخدامه في دراسة أمراض النبات ٢٠٩
٦-٤-٦-١ حقن البروتوبلاست بالفيروسات ودراسة تكاثرها وفيزيولوجيتها ٢١٢
٦-٤-٦-٢ حقن البروتوبلاست بمواد وراثية ٢١٢
٦-٤-٦-٣ نقل مورثة المقاومة R بدمج البروتوبلاستات ٢١٣
٦-٥ زراعة المآبر وأعضاء التكاثر ٢١٣

٦-٥-١ الحصول على الهابلوئيدات بالطريقة التقليدية التهجينية ٢١٤
٦-٥-١-١ التهجين بين الشعير البصيلي والشعير المزروع ٢١٤
٦-٥-١-٢ التهجين بين جنسي القمح والذرة ٢١٦
٦-٥-٢ الحصول على الهابلوئيدات بزراعة المآبر والأبواغ الدقيقة ٢١٧
٦-٥-٣ الخطوات العملية لزراعة مآبر النجيليات ٢٢٢
٦-٥-٤ العوامل المؤثرة على إنتاج Dhs ٢٢٣
٦-٥-٥ المورثات المحرضة على إنتاج الهابلوئيد ٢٢٤

الفصـــــل السابع ٢٢٧
مبادئ الهندسة الوراثية وبرامج التربية النباتية ٢٢٧
٧-١، البلاسميدات وتطبيقاتها في التربية النباتية ٢٢٨
٧-١-١ أنواع البلاسميدات ٢٣٠
٧-١-١-١ البلاسميد Ti ٢٣١
٧-١-١-٢ البلاسميد Ri ٢٣٩
٧-١-١-٣ البلاسميد R ٢٤٠
٧-١-٢ البلاسميدات والهندسة الوراثية ٢٤٩
٧-١-٢-١ تجزئة الـ DNA ٢٥٠
٧-١-٢-٢ الحصول على المورثات ٢٥٣
٧-١-٢-٣ البلاسميد والحصول على الأنسولين ٢٥٣
٧-١-٢-٤ البلاسميد والحصول على الأنيترفرون (مضاد الفيروسات) ٢٥٧

٧-١-٢-٥ الأسس العامة لتصميم DNA مؤشب ودمجه مع خلايا آخذة ٢٥٩
٧-٢ الكائنات المعدلة وراثياً ٢٦٢
٧-٢-١ إيجابيات الأغذية المعدلة وراثياً ٢٦٧
٧-٢-٢ أضرار وسلبيات الأغذية المعدلة وراثياً ٢٦٨
٧-٢-٣ التقانة المستخدمة في التعديل الوراثي ٢٧١
٧-٣ أهم منجزات الهندسة الوراثية في تربية النبات وخدمة الإنسان ٢٧٣

الفصـــــل الثامن ٢٧٧

الإنتخاب والتحسين الوراثي – حاضره ومستقبله ٢٧٧
٨-١ حقائق وراثية على أرض الواقع ٢٧٩
٨-١-١ الزراعة بالماء الممغنط والزراعة العضوية ٢٧٩
٨-١-٢ النبات الأعجوبة آرابيدوبسيس تاليانا ٢٨١
٨-١-٣ التخلص من النفايات والبقايا العضوية ٢٨٦
٨-١-٤ الحشرات المتوهجة والبعوض المسالم ٢٨٧
٨-١-٥ بنوك المورثات ٢٨٨
٨-٢ تصورات وحقائق مازالت أحلاماً أو في طريق الإنجاز ٢٨٩
٨-٢-١ العلاج بالمورثات ٢٨٩
٨-٢-٢ انقسامات حسب الطلب ٢٩٢
٨-٢-٣ كشف أحياء الماضي ٢٩٤
٨-٢-٤ النباتات المضيئة ٢٩٥
٨-٢-٥ جنوميا الجريمة ٢٩٦

٨-٢-٦ المورثات والرياضة ٢٩٦
٨-٢-٧ المورثات والاقتصاد ٢٩٧
المصطلحات العلمية وترجمتها ٢٩٩
المراجع العربية والأجنبية ٣٠٨

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المقدمـــــة

تشهد الحياة منذ نشأتها صراعات مستمرة، وأهـم هـذه الـصراعات هـو الصراع من أجل البقاء، ولذلك يبذل الإنسان الجهد الكبيـر، ويمـضي الوقـت الطويل وهو يعمل، ويفكر، ويخطط لحسم هذا الصراع لصالحه. والـصراع لا يفرضه الإنسان وحده، وإنما كل الكائنات واجهتـه وتواجـه الظـروف غيـر الملائمة، وتتكيف أو تتغلب على هذه الظروف.

ولكي نحصل على الغذاء، وعلى متطلبات الحياة الكثيرة، يجب الاهتمام بما لدينا من مصادر تمدنا بأسباب البقاء، والنمو، والازدهار.. وعالم النبـات أهـم هذه المصادر وفرة للغذاء والكساء و الدواء، ولذلك فإن الاعتناء بهـذا العـالم يتطلب توفير أفضل الوسائل والطرق المعتمدة علـى العلـوم، والتكنولوجيـا، والتحسين الوراثي، ولعل طرق التربية المختلفة هي أهم الوسائل المتاحـة مـن قبل المربي النباتي، الذي يهدف للحصول على أفضل الإنتاج كماً ونوعاً.

ولا شك أن الأنواع النباتية خرجت من رحم الطبيعة سالمة، وتغلبت علـى الظروف، وتكيفت حاسمة الصراع لصالح بقائها، و المربي النباتي يعمل عليهـا وبها لإحداث أفضل الأصناف الجديدة المتممة بأفضل المواصـفات الإنتاجيـة المرجوة، ولما كانت هذه الخصائص يحكمها عوامل وراثية فإنه يمكن إدخالهـا بالتربية كصفات في الأصناف الجديدة، كما يمكن العمل على تثبيتها، والحفـاظ عليها.

يشتمل هذا الكتاب على تسعة فصول تتناول في البداية مفهوم الانتخـاب و طرائق التكاثر والتربية، ودورها في الانتخاب، والتحسين الـوراثي النبـاتي، واستنباط الأصناف المقاومة للأمراض، بينما تتبادل الفصول الأخرى الطرائـق الحديثة في التحسين الوراثي للنباتات، من خلال استعراض دور أهـم التقانـات

المستعملة في ذلك، مثل : التحوير الوراثي، وراثة النسج الجسمية و النسج الجنسية مثل المآبر والبويضات و مولداتها، وكذلك تقانات الحصول على البروتوبلاست وزراعتها، أو دمجها لإعطاء هجائن جسمية دون اللجوء إلى الطرائق الجنسية التقليدية .... وغيرها من المواضيع الوراثية الحديثة، التي انتشرت بكم هائل في المرجعيات و الأبحاث المنشورة في الكتب والمجلات، أو على الشبكة العالمية للإنترنت.

يأتي هذا الكتاب الجديد، الذي يقدم للمرة الأولى لطلاب علوم الأحياء في جامعة دمشق، يحدونا أمل كبير في أن نكون قد وضعنا غرسة بسيطة في حديقة المعرفة، ولا شك أنها بحاجة إلى رعاية وعناية ، ومن ثم انتخاب وتحسين في الطبعات القادمة، شاكرين لكل من يقدم لنا ملاحظاته، التي ستكون محط اهتمامنا وسرورنا، والله ولي التوفيق، وهو من وراء القصد .

المؤلفان

مفردات المنهاج المقرر
(مبادئ الإنتخاب والإنتاجية النباتية)

- الإنتخاب الطبيعي والإنتخاب الصنعي ودور التنوع في الإنتخاب النباتي.
- التكاثر والإنتخاب: التكاثر اللاجنسي واللاإخصاب، التكاثر الجنسي، العقم الذكري.
- طرائق التربية في الإنتخاب والإنتاجية النباتية: التربية المغلقة (الداخلية)، التربية المفتوحة (الخارجية)، قوة الهجين، الطفرات والهجونات بين الأنواع والأجناس.
- تربية الأصناف النباتية المقاومة للأمراض: مورثات الأمراض النباتية، مورثات المقاومة، المقاومة (R) للعامل الممرض.
- استعمال التقانات الحديثة في التربية والإنتخاب النباتي: زراعة الخلايا والنسج النباتية، تقانة البروتوبلاست (في الأحياء الدقيقة والنباتات الراقية)، زراعة المآبر، الهندسة الوراثية وبرامج التربية والإنتخاب، الأغذية المحورة وراثياً.
- تحديات المستقبل.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الأول

التربية والانتخاب

Breeding and Selection

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

١-١ الارتباط بالعلوم الأخرى :

إن علم التحسين الوراثي والتربية النباتية من العلوم التي تعد وثيقة الصلة بالعلوم الأخرى، وأولها علم الوراثة Genetics الذي يتناول توارث الصفات والقوانين المنظمة له، وتستفيد تربية النبات من ذلك في تجميع مختلف الصفات المرغوبة معاً في صف واحد .. كما أن علم الخلية Cytology وثيق الصلة بهذا العلم، حيث يدرس الخلية ومحتوياتها، وخاصة الصبغيات، و النواة، و الصانعات، والميتوكوندريا....إلخ.

وتعد هذه المعلومات ضرورية لتربية النباتات، إلى ذلك فإنه من الأهمية بمكان الدراسة المورفولوجية والعددية للصبغيات التي تعد مهمة لإجراء التهجينات، كما أن علم الإحصاء الحيوي Biostatistic يشتمل على تطبيقات قوانين الإحصاء، وعلى بيانات المقاربة بين الأصناف المنتجة بالتربية والأصناف السالفة لها، مع ما يتطلبه ذلك من إجراء تجارب حقلية، وتحليل النتائج اعتماداً على علم الإحصاء الحيوي . كما أن لعلم التصنيف النباتي plant systematics دوراً مهماً حيث يتبع في برامج التربية أنماط مختلفة من التهجينات، سواء بين الأنواع أو الأجناس أو الأصناف (داخل النوع الواحد) ويعتمد نجاح التهجينات على معرفة القرابة بين الأطراف الداخلة في الهجين، وبالطبع لإدراك ذلك يجب أن يلم المربي Selector بعلم التصنيف النباتي.

ويعد علم فيزيولوجيا physiology ووظائف الأعضاء مهماً للمربي، حيث من الضروري معرفة الكيفية التي يقاوم فيها النبات الحرارة والبرودة والجفاف، كما يهم المربي معرفة العلاقة بين النبات (المضيف) والعامل الممرض (الطفيلي) حتى يمكنه إنتاج أصناف مقاومة، الأمر الذي يوفره له الصلة بعلم أمراض النبات plant diceases .

كما يعد من الأهمية على المربي النباتي معرفة الأجزاء الزهرية للنبات، حيث يقوم بإجراء تهجينات أثناء تطبيقه بعض برامج التربية، وهذا يلزمه أن يكون على دراية بتركيب وسلوك الأزهار، وكذلك بآلية انفتاح وانغلاق الأزهار، وكذلك الكيفية التي تؤدي إلى حدوث التلقيح الخلطي أو الذاتي .

كما يعد مهماً معرفة العلاقة بين بعض أنواع الجراثيم مع بعض الأنواع النباتية، كما للنبات البقولي وسلالة جراثيم العقد الجذرية *Rhizobium* ، وبالطبع يعد علم الهندسة الزراعية شديد الصلة بالتحسين الوراثي، لضرورة أنه يحيط المربي النباتي باستخدام الآلات الزراعية الحديثة، واستخدام الوسائل الحديثة الملائمة.

١-٢ الأهمية الاقتصادية لتربية النبات وعلاقتها بالمشكلة الغذائية :

المشكلة التي تتزايد خطورتها في جميع أنحاء العالم هي مشكلة إمداد الأعداد المتزايدة من البشر بالغذاء، ويعتمد في حل هذه المشكلة على إيجاد توازن بين تزايد السكان والناتج من الغذاء. والحل في إحقاق هذا التوازن يمر من طريقين: أولهما: الحد من الانفجار السكاني، وثانيهما: إيجاد مصادر جديدة للإمداد الغذائي. أما في الطريق الأولى فلا نستطيع أن نقدم حلولاً، والعالم بأسره يتحدث عن أهمية الوعي، والإحساس بالمسؤولية تجاه تزايد المخاطر المترتبة من الانفجار السكاني، الذي ضاق به الكوكب ذرعاً بما يحمل. وأما في الطريق الثانية المتمثلة بزيادة الإنتاج ومواجهة الحاجة إلى الغذاء، فنتبع العديد من السبل، وأهمها: زيادة الإنتاج عن طريق تحسين الزراعة بعدة طرائق، كاستخدام الأسمدة، ومعالجة الحشرات الضارة، إلى أداء العمليات الزراعية بكفاءة عالية. ولكن ما سوف نقف عنده –هنا – هو تربية Breeding النبات كأحد أهم هذه الوسائل للتغلب على مشاكل كل السبل الأخرى، وحيث تسعى إلى الاستفادة من

كل المعلومات العلمية المتاحة في إنتاج أصناف نباتية عالية الإنتاجية، ومستوفية للمتطلبات التي يرغب بها الإنسان ، وبهذا تكون تربية النبات أكثر الوسائل ضماناً للتغلب على مشكلة الغذاء والكساء العالمي .

١-٣ طرائق تحسين النباتات المزروعة :

إن الهدف الرئيس لتربية النبات - كما ذكرنا سابقاً - هو إنتاج أصناف جديدة من النباتات تتفوق على الأصناف الموجودة من جميع الوجوه، ويمكن الوصول إلى ذلك بعدة طرق، أهمها :

- الانتخاب Selection
- التهجين Hybridization
- استيراد النباتات، وأقلمتها Introduction and Acclimazation
- تربية الطفرات المستحدثة Mutation breeding

يعد الانتخاب من أقدم طرائق التربية استعمالاً، وما يزال هو الأساس في كل عمليات التحسين، والغرض الأساس من الانتخاب هو عزل صفات، وبالتالي تراكيب وراثية معينة ومرغوب فيها .

ولكي يضمن المربي نتيجة الانتخاب لابد وأن يكون ذلك على أساس وراثي ، وأن ينتخب في كل مرة أفراداً ممتازة بارتفاع إنتاجها عن متوسط إنتاج النوع نفسه .

ولا شك أن الانتخاب يكون قاصراً، والنتيجة سلبية إذا أجري على أساس صفات لا ترتكز على التركيب الوراثي، فالصفات التي تظهر نتيجة التركيب الوراثي هي صفات تنتقل من جيل إلى آخر، وتستمر في نسل هذه الأفراد. أما الأخرى، والتي تظهر نتيجة لعوامل وظروف بيئية فهي صفات مؤقتة، تنتهي مع زوال تنوع العوامل .

كذلك، ولكي يكون الانتخاب مجدياً لا بد وأن يكون بين الأفراد تفاوت وتباين في الصفات، فضلاً عن ارتكاز ذلك على عوامل وراثية في التركيب الوراثي للفرد نفسه .

فكلما كان التباين الوراثي محصوراً بعوامل قليلة، أمكن الوصول بالانتخاب إلى هدفه بسرعة.ونجد العكس في حال كان التباين والاختلاف عائداً على عدد كبير من العوامل الوراثية، أما إذا تداخلت هذه العوامل مع الظروف البيئية، فإن مهمة الانتخاب تكون صعبة، والنتائج بطيئة.

١-٣-١الانتخاب الطبيعي Natural selection:

هو القاعدة التي يتم على أساسها الإنتخاب في الطبيعة، وعن اسلوب حدوث التطور Evolution وتعتمد فكرته على البقاء للأصلح، مما ينتج عنه النباتات المزروعة، والسلالات المتلائمة مع بيئة معينة. ويمكن القول أن كل الأصناف المحلية نتجت عن طريق الانتخاب الطبيعي. وهذا النوع من الانتخاب يبقى دائماً فعالاً في الطبيعة، ويمثل واحداً من المصادر الطبيعية لخلق الاختلافات في الأصناف الموجودة فعلاً .

١-٣- ٢الانتخاب الصناعي Atificial selection :

يقوم المربي في هذه الطريقة بانتخاب بعض أنماط النباتات – من المجتمع Population – (مجموعة النباتات) المختلط وفقاً لما لها من ميزات مرغوبة، ويمكن تعريف الانتخاب الصناعي بأنه انتخاب بعض نباتات فردية معينة بهدف الحصول على محصول أفضل، وذلك من مجتمع مختلط يضم، نباتات لها صفات مختلفة .

١-٣-٢-١ الانتخاب الإجمالي (الكتلي) Mass Selection :

يعد الأكثر شيوعاً، والأقدم، والأبسط في مجال طرق التحسين النباتية، ويمكن للمزارع العادي إجراؤه دون أن يكون لديه فكرة عن توارث الصفات، حيث يمكنه اختيار أفضل نباتاته من ناحية قوة النمو، وجودة الإنتاج ، حيث يجمع بذورها، ويخلطها مع بعضها بعضٍ ويقوم بزراعتها في الموسم الثاني .

ويجري الانتخاب بالكيفية نفسها، ويستمر بذلك عدة مواسم حتى يجد أن نباتاته أصبحت متجانسة، وتحمل صفات الجودة. ويستعمل- عادة -هذا النمط في المحاصيل خلطية التلقيح لإنتاج أصناف جديدة، ويستغرق ذلك وقتاً يصل إلى ثماني سنوات، لكل سنة خطوة أو خطوات على طريق البرنامج الكامل . ولا مجال هنا لتفصيل هذا البرنامج، وسنكتفي بالوقوف عند بعض أهدافه، ومعانيه، ونتائجه، دون التفصيل في خطواته، ومراحل تنفيذه الطويلة .

ويلاحظ أن هذه الطريقة لا يكون من شأنها إحداث أي تغيير جديد في التراكيب الحاصلة للمجتمع population ولكن يحدث عن طريقها توزيع الأنماط المختلفة الموجودة فعلاً في المجتمع .

وبديهي أن هذه الأنماط وجدت بفعل ما يوجد من تراكيب وراثية خليطة، وما ينتج عنها من اتحادات جديدة هي أساس وجود الاختلافات، التي تم عليها الانتخاب الإجمالي، ولذلك كلما زادت درجة وجود الاختلافات حصل المربي على نتائج أفضل باتباع هذه الطريقة. ومن ميزات طريقة الانتخاب الإجمالي نجد الآتي :

- اعتبارها أبسط الطرق، وأسرعها، وأن المربي لا يحتاج لإجراء اختبارات على الصنف الناتج.
- لا تتطلب سيطرة المربي على عملية التلقيح.

- لا تتطلب منا معرفة علمية كبيرة، وإنما هي أقرب إلى الفن منها إلى العلم.
- اعتبارها الطريقة الوحيدة التي يمكن اتباعها في تنقية الأصناف المحلية، كي تصبح متلائمة مع أغراض المنتج.
- تمثل الخطوة الأولى في برامج التربية الأخرى.
- يتكون الصنف الناتج عنها من عدة أنماط، مما يجعله أكثر تأقلماً لتحمل الظروف البيئية المختلفة.

ومن عيوب هذه الطريقة نجد الآتي :

- إن التحسين المتحصل عليه باتباعها قصير الأجل، لأن الصنف الناتج يكون به نسبة من الخلط بالنسبة للتراكيب الوراثية، أي: أنه يكون خليطاً من عدة تراكيب وراثية ، كما أنه لا يكون هناك سيطرة على عمليات التلقيح، مما يؤدي إلى مزيد من التراكيب الوراثية الخليطة ، حيث تؤدي هذه الدرجات من الخلط إلى حدوث انعزالات سنة بعد سنة، مما يؤدي في النهاية إلى تدهور Regression الصنف بسرعة، ولذلك يجب إعادة برنامج الانتخاب الإجمالي على فترات غير متباعدة حتى لا يفقد الصنف معالمه.
- إن لهذه الطريقة وسيلة لزيادة محصول الصنف، على اعتبار أنها تأخذ بالاعتبار فقط الصفات الجيدة للأب المؤنث، بينما لا تعطى أهمية لما تحمله حبوب اللقاح الواردة للتلقيح من عوامل وراثية .
- يتأثر المحصول كثيراً بالظروف البيئية، ولهذا لا يمكن فصل تأثير التراكيب الوراثية عن تأثير البيئة، ويتم الانتخاب على المظهر الخارجي، وهي حصيلة تفاعل البيئة، مع الوراثة.

- لا يمكن إعادة اتباع هذه الطريقة مع النباتات ذاتية التلقيح، لأن درجة الخلط غير كبيرة، والنباتات متجانسة، وليس بها اختلافات تتيح إجراء الانتخاب عليها .

١-٣-٢-٢ الانتخاب الفردي (انتخاب السلالة النقية) Pure line selection:

أول من أطلق مصطلح السلالة النقية هو العالم الدانماركي يوهانسن Yohansen عام ١٩٠٣ م، وعرف السلالة النقية بأنها عبارة عن النسل الناتج من نبات واحد ذاتي التلقيح، والذي تكون كل أفراده ذات تركيب وراثي متجانس.

وعرفت السلالة النقية فيما بعد أنها عبارة عن سلالة، أو أورمة Strain مكونة من نسل نبات واحد ذاتي التلقيح، ومتماثل الأعراس Homozygous ،أو أنها عبارة عن مجموعة من النباتات منتجة جميعها من نبات واحد ذاتي التلقيح، ومن ميزاتها، أنها أصيلة أو نقية pure في عواملها الوراثية، وبالتالي فإنها متجانسة وراثياً ومظهرياً حيث لا يكون بينها سوى اختلافات طفيفة ترجع للظروف البيئية، وتبقى النباتات نقية ما لم يحصل فيها طفرة Mutation أو تهجين Hybridization ، أو أي خلط ميكانيكي للبذور .

وتنتج هذه السلالات من المحاصيل ذاتية التلقيح، حيث تفصل بسهولة، وذلك بزرع البذور الناتجة من النبات المنتخب على حدة، لأن النباتات ذاتية التلقيح تكون بصفة عامة نقية، وتكون السلالات النقية بشكل طبيعي .

أما في المحاصيل خليطة التلقيح، والتي تكون النباتات خليطة في عواملها الوراثية (أعراسها) فإن الحصول على سلالات نقية منها يتطلب إجراء التلقيح الذاتي الإجباري لعدة أجيال متعاقبة، حيث يؤدي ذلك إلى تقليل

درجة الخلط في كل جيل، حتى تصبح العوامل الوراثية بصورة أصيلة، وتعرف السلالات الناتجة عن طريق تكرار التلقيح الذاتي لنبات خلطي التلقيح بسلالات التربية الداخلية Inbred – line ، وقد يصل إجراء ذلك إلى إحدى عشرة سنة في النباتات الخليطة التلقيح، ويتم ذلك وفق برامج تفصيلية .

ومن محاسن هذه الطريقة: تحسين الأصناف المحلية للنباتات ذاتية التلقيح، كما أنها تعد سهلة في إجرائها، حيث لا تحتاج إلى عملية اخصاء ولا تلقيح، وتكون الأصناف الناتجة متجانسة في المظهر والإنتاج.كما أن هذه الطريقة ممكنة الاستعمال في المحاصيل الذاتية، أو الخلطية الإلقاح لإنتاج السلالات النقية Pure- line وسلالات التربية الداخلية Inbred - line .

ولكنْ لهذه الطريقة عيوب، حيث يلزم اتخاذ احتياطات شديدة كي يحدث التلقيح الذاتي في المحاصيل التي يسود فيها التلقيح الخلطي، كما لا تدخل الأنماط المورثة الجديدة Genotype بهذه الطريقة ، حيث تقتصر النتيجة على عزل أفضل الأنماط المورثية الموجودة ، وتكون الأصناف الناتجة عن طريقها متماثلة في عواملها الوراثية، ومع ذلك لا تبدي مرونة في استجابتها للتغيرات البيئية والحيوية .

١-٣-٢-٣ الانتخاب عن طريق السلالة الخضرية Vegetative selection :

تتكاثر النباتات الاقتصادية إما عن طريق البذور، أو بالتكاثر الخضري، أو الإعاشي (لاجنسي) ويتم اللجوء إلى التكاثر الخضري في الحالات التي لا يحدث فيها تكوين بذور، أو يتوقف إنتاج البذور على توافر ظروف معينة، أو في الحالات التي تنشأ فيها النباتات عن طريق هجن متباعدة القرابة، فلا تنتج بذوراً خصبة .

كما يلجأ المربون إلى التكاثر الخضري في النباتات، التي تحتوي نسبة عالية من الأنماط الوراثية الخلطية، كما في حالات تعدد الصبغة الصبغية Polyploidy، فإذا ما تم إكثارها بالبذور فإنه ينتج عنها نباتات تكثر فيها الاختلافات الوراثية، أي: أن النسل الناتج لا يكون مجتمعات متجانسة، كما أن الانعزالات التي تحدث بينها بكثرة تؤدي إلى ظهور العديد من الصفات الوراثية الرديئة، وبذلك لا يكون من الميسور الحفاظ على الصنف بصفاته المحددة، لذا يلجأ إلى التكاثر الخضري .

وتنتج السلالة الخضرية عن طريق الانقسام الخيطي Mitosis في الأجزاء المستخدمة للإكثار، مما يترتب عليه تكوين نبات جديد، وانطلاقاً من ذلك فإن نباتات السلالة الخضرية تتصف بالخصائص التالية :

١- كل النباتات متشابهة (متطابقة) Identical أي أنه لا يوجد بينها اختلافات، لأنها في الحقيقة جزء من نبات واحد، نتجت عنه بالانقسام الخيطي، فهي متطابقة من ناحية النمط المورثي Genotype وكذلك من ناحية النمط الشكلي Phenotype وأي اختلافات بينها يعود إلى الظروف البيئية، وهذه الاختلافات الشكلية لا تورث . أما الاختلافات الوراثية في نباتات السلالة الخضرية فتتشكل في حال حدوث الطفرة Mutation .

٢- كل نباتات السلالة الخضرية، تكون خليطة في عواملها الوراثية : وعلى الرغم من تشابه نباتات السلالة الخضرية لكنها من ناحية الأنماط المورثية تكون غير متماثلة الأعراس، لأنها ناشئة أصلاً من نباتات مختلفة في عواملها الوراثية، وعند زراعة البذور التي تعطيها نباتات السلالة الخضرية ستتشكل نباتات تضم اختلافات كثيرة، مما يعني أن الأنماط المورثية خلطية .

٣- تبقى نباتات السلالة الخضرية ثابتة : فهي تتشابه بذلك مع السلالات النقية، حيث لا تحصل انعزالات مع تكرار زراعتها، مما يعد مرغوباً في الحفاظ على صفات الصنف .

٤- تتشابه مع نباتات السلالة النقية في تطابق النباتات، ولعدة أجيال، مع فارق أن نباتات السلالة النقية دائماً أصيلة في أنماطها المورثية (عدا ما يحدث من طفرات) بينما نباتات السلالة الخضرية تكون دائماً خليطة في عواملها الوراثية، ولو أن النباتات فيما بينها تكون متشابهة النمط المورثي .

ويمكن الإشارة إلى فارق مع النباتات خليطة التلقيح، بأن التلقيح الذاتي يؤدي بالمحصلة إلى سلالات نقية نتيجة الانعزالات، بينما استمرار إكثار السلالة الخضرية لا يترتب عليه أي انعزالات، أو نشوء سلالات جديدة .

وتنحصر أهمية السلالات الخضرية بما يأتي :

١- تعد الطريقة الوحيدة للمحافظة على بعض النباتات العقيمة، أو التي تسود فيها الاختلافات الوراثية .

٢- تستعمل في إنتاج أصناف جديدة من النباتات، التي تتكاثر خضرياً عن طريق انتخاب السلالة الخضرية .

٣- تعد وسيلة نافعة جداً في المحافظة على بعض النباتات، التي تظهر تفوقاً في الجودة.

ومن مميزات هذه الطريقة :

١- الأصناف الناتجة ثابتة، ولا تحدث انعزالات، وبذلك لا خوف من تدهور الصنف ما لم يحدث طفرات ضارة .

٢- تمكن من المحافظة على قوة الهجين، والاستفادة منها، وذلك بالتكاثر الخضري للنبات الهجين إن أمكن .

٣- تعد الطريقة الوحيدة للتحسين بغياب التكاثر الجنسي لبعض المحاصيل .

ومن أوجه القصور بهذه الطريقة :

١- تستخدم هذه الطريقة في النباتات التي تتكاثر خضرياً فقط، ولا يمكن استخدامها في عدد من المحاصيل المهمة مثل: القمح، والشعير، والقطن ....إلخ.

٢- لا تحدث اختلافات جديدة، ويقتصر دورها على انتخاب التراكيب الموجودة، وبذلك لا تحدث فرصة لتحسين المحاصيل بهذه الطريقة .

١-٣-٣ التربية الجزيئية للنبات والانتخاب بوساطة الواسمات :

إن إنتاج الأصناف الجديدة من المحاصيل يتطلب خطوات عديدة، ومدى طويل من الزمن، ولكن بفضل تطبيقات التكنولوجيا الحيوية تم اختصار هذه المدة حيث إن الانتخاب بطرائق حديثة مكن من الوصول إلى هذا الهدف، ويعد الانتخاب بوساطة أو مساعدة الواسمات أو المعلمات Marker assisted selection أهم هذه الطرائق ، وفي ذلك فإن مورثة واحدة يمكن أن تتحكم في صفة نباتية معينة، أو أن تتحكم العديد من المورثات في توريث بعض الصفات فيما يعرف بالصفات الكمية . ووفقاً للانتخاب بوساطة أو مساعدة الواسمات يستطيع المربي اختصار الوقت، وضمان الدقة .

ولتحديد مورثة معينة يستخدم العلماء الواسمات الجزيئية (الوراثية) Molecular genetie markers وهذه الواسمات تتكون من تتابع نيوكليوتيدات الـ DNA مكون مقاطع منه، بحيث تقع بالقرب من تتابعات DNA المورثة المطلوبة ، وتنتقل وفقاً لقوانين الوراثة من جيل إلى جيل، ونظراً لكون موقع الواسمات قريباً من المورثات على الصبغي نفسه لذا فهي تنتقل معها من جيل إلى آخر، ويعرف ذلك بالارتباط المورثي . وهذا يساعد العلماء في توقع احتواء

النبات على المورثة المطلوبة، حيث إن الكشف عن الواسم المرتبط بالمورثة المرغوبة دليل على وجود المورثة نفسها .

وبمعرفة كل ذلك تمكن العلماء من وضع الخرائط الارتباطية، التي توضح موقع الواسمات، والمورثات، والمسافة الفاصلة بينهم، وبين مورثات أخرى معروفة على الصبغي نفسه.

وعلى الرغم من الفوائد العديدة للتربية الجزيئية Molecular breeding من خلال الانتخاب بمساعدة الواسمات Marker assisted selection إلا أنها تبقى كطريقة محدودة إذا ما قورنت بالهندسة الوراثية، وذلك للأسباب الآتية :

١- تصلح لصفات معينة فقط موجودة في النبات .

٢- لا تستخدم بكفاءة لتربية الأشجار المعمرة مثل الحمضيات .

٣- لا تستخدم بكفاءة مع النباتات التي تتكاثر خضرياً .

غير أنه من أهم إيجابيات طريقة استخدام الواسمات في الدراسات الوراثية للمحاصيل فإننا نجد عدة أمور تتجلى من خلال :

١- تقييم التنوع الوراثي في الموارد الوراثية .

٢- تعريف وإيجاد البصمة الوراثية للتراكيب الوراثية .

٣- قياس درجة القرابة الوراثية بين المجتمعات والسلالات ومواد التربية .

٤- تحديد موقع المورثات المتحكمة في الصفات الكمية، وكذلك الصفات التي تتحكم فيها مورثة واحدة .

٥- التعرف على تتابعات المورثات المسؤولة عن الصفات المرغوبة .

٦- تجميع المورثات المقاومة للأمراض في البندورة مثلاً ضمن نمط مورثي واحد، مما أدى إلى إنتاج أصناف من البندورة مقاومة، أو متحملة لأكثر من مسبب مرضي .

١-٤ الثورة الخضراء وثورة المورثات :

قادت برامج التربية النباتية إلى إنتاج سلالات من البذور الهجينة عالية المحصول، حيث أدت إلى زيادة كبيرة في إنتاج المحاصيل، لا سيما بين الأعوام ١٩٥٠-١٩٨٤ومن هنا جاء مصطلح الثورة الخضراء Green revalution ليصف قصة هذا النجاح الزراعي الكبير خاصة في آسيا، وتم الاعتقاد بأنه قدم حلولاً للمشاكل الزراعية في دول العالم الثالث .

وهكذا تضاعفت سلالات الرز عدة مرات، وكثير من المحاصيل في أمريكا، ومع ذلك فإن زيادة المحاصيل والغلال أظهرت بعد عام ١٩٨٤ أن لها ثمناً باهظاً، والسبب في ذلك هو الطلبات المتزايدة من الكيماويات، والأسمدة، وتكاليف الزراعة، ووسائل الري، و المكننة، إضافة إلى الدور الضار بالبيئة بسبب استعمال المبيدات، ورفع مناعة الآفات مع استمرار هذا الاستخدام المتزايد من المبيدات بأنواعها المختلفة .

كما إن التنوع الوراثي انخفض بعد أن حلت البذور الهجينة محل الأصناف المحلية ، وهذه الحداثة من جهة أخرى أضرت بصغار الفلاحين، الذين لم يتمكنوا من امتلاك البذور الهجينة .

وبالمقابل فقط ظهر الجيل الجديد من المحاصيل المحورة وراثياً والناتج عن استخدام الهندسة الوراثية ، وبدأت ثورة جديدة من الظهور هي ثورة المورثات Gene revolution .

إن التربية التقليدية للنبات مستمرة بإنتاج تحسينات هائلة من المحاصيل لكنها تبقى مقيدة بحدود التوافق الجنسي Sexual compatibility الذي يمنع التلقيح بين الأنواع . هذا الأمر يحد من المستودع المورثي الذي يستعمله المربي، ولذلك تأتي الهندسة الوراثية لتوسع هذا المستودع بإضافتها مادة وراثية جديدة، كي يعمل عليها المربي . فإذا ما تم هندسة مورثة في سلالة ما، فستمرر

إلى الهجين، كأي مورثة أخرى باستخدام طرق التربية التقليدية .لقد مكنت الهندسة الوراثية المورثات من أن تعبر حدود النوع وبذلك نستطيع أن ننقل المورثات بطرق لم تكن ممكنة سابقاً لا بالتربية التقليدية ، ولا في الطبيعة بشكل طوعي .

- هناك من يرى أن الهندسة الوراثية هي امتداد لطرق التربية التقليدية ، وما هي إلا مجرد تقانة جديدة لإيجاد تغيرات مفيدة.

- وهناك من يرى أن الهندسة الوراثية تختلف جذرياً عما كان يجري سابقاً، فهي حالة خاصة تتطلب معالجة خاصة .

وهكذا فإن التربية التقليدية تنتج سلالات ناتجة عن تبدلات داخل المستودع المورثي للأنواع بصور مختلفة .

أما التربية بالهندسة الوراثية فإنها تسعى لنقل مورثات غريبة على المستودع المورثي لهذه الأنواع، لم تكن موجودة أصلاً، وبذلك تقدم الهندسة الوراثية مزايا هائلة ،ولكن بهذا الدمج قد يكون للمورثات الغريبة آثار بيوكيميائية وفيزيولوجية غير متوقعة ، وقد تكون هناك خصائص غير مرغوبة لناقلات المورثات ذات مخاطر كبيرة ، ولذلك ينظر إلى النباتات المحورة وراثياً نظرة تختلف عن نظرتنا للسلالات التي ربيت تقليدياً .

إن السرعة في النباتات المهندسة وراثياً تفوق بكثير ما شاهدناه في الثورة الخضراء، التي تتطلب عقوداً من الزمن .

تم تطبيق الهندسة الوراثية على الكثير من الأنواع، مثل : الذرة، الشوندر السكري، البطاطا، البندورة، والقطن، و.....و لصفات عديدة. وسنتعرف في فصول قادمة- وبالتفصيل- على تطبيقات الهندسة الوراثية في مجالات الأغذية المحورة وراثياً، والتحسين الوراثي النباتي.

الفصل الثاني
دور التغير في الانتخاب

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

إن تبدل المادة الوراثية الأولية في النباتات يؤثر بشدة على تبدل الصفات المختلفة لهذه النباتات، مما يؤدي إلى تشكيل الأصناف الجديدة. وتوجد ثلاثة مصادر رئيسة للتغير Variation، وهي : تغيرات الضم ، التغيرات الطفرية، وتغيرات الأعداد الصبغية .

٢-١ تغيرات الضم :

إن معظم الأصناف النباتية الجديدة المتحصل عليها بطريقة الانتخاب التقليدي تنتج بفضل التهجين المتكرر، حيث يتم ضم العديد من المورثات، التي تتوارث عبر الأجيال وفقاً للمبادئ المندلية . وعلى سبيل المثال تم إدخال أكثر من(٤٠) مورثة طافرة إلى نبات الذرة، ومعظمها يبدي تأثيراً ملموساً على الصفات الكيميائية الحيوية لسويداء البذور Albumen وخاصة محتوى المواد السكرية كالنشاء، والسكاكر الثنائية والمتعددة . وقد يؤدي ضم هذه المورثات في نبات واحد إلى ارتفاع ملحوظ في نسبة وجود المركبات المختلفة (جدول ٢-١).

وقد تمكن العلماء من استنباط أصناف متنوعة من القمح بفضل ضم المورثات بطريقة التهجين المتكرر، وبخاصة منها الحصول على القمح الشتوي الخالي من الحسك Beardless. لقد تميز هذا الصنف بمجموعة من الصفات المميزة :قصر النبات – النضج المبكر – الثبات تجاه مرض صدأ القمح .كما تجمعت عنده عدد من المورثات الثمينة لدى انتخاب الجيلين الثاني والثالث، وخاصة مورثات القدرة على التكيف تجاه الشروط المختلفة، مما جعله من الأصناف العالمية المهمة.

(جدول ٢-١)

تبدل نسبة الأميلوز في نشاء بذور الذرة، ربطاً مع ضم بعض المورثات إليها

المورثات	نسبة الأميلوز في نشاء البذور %
النمط البري	٢٧
المورثة الطافرة ae	٦١
Su2	٤٠
ae + Su2	٦٠
Su2+du	٥٢
Su1 / du	٦٠
Su1+Su2+du	٧٣

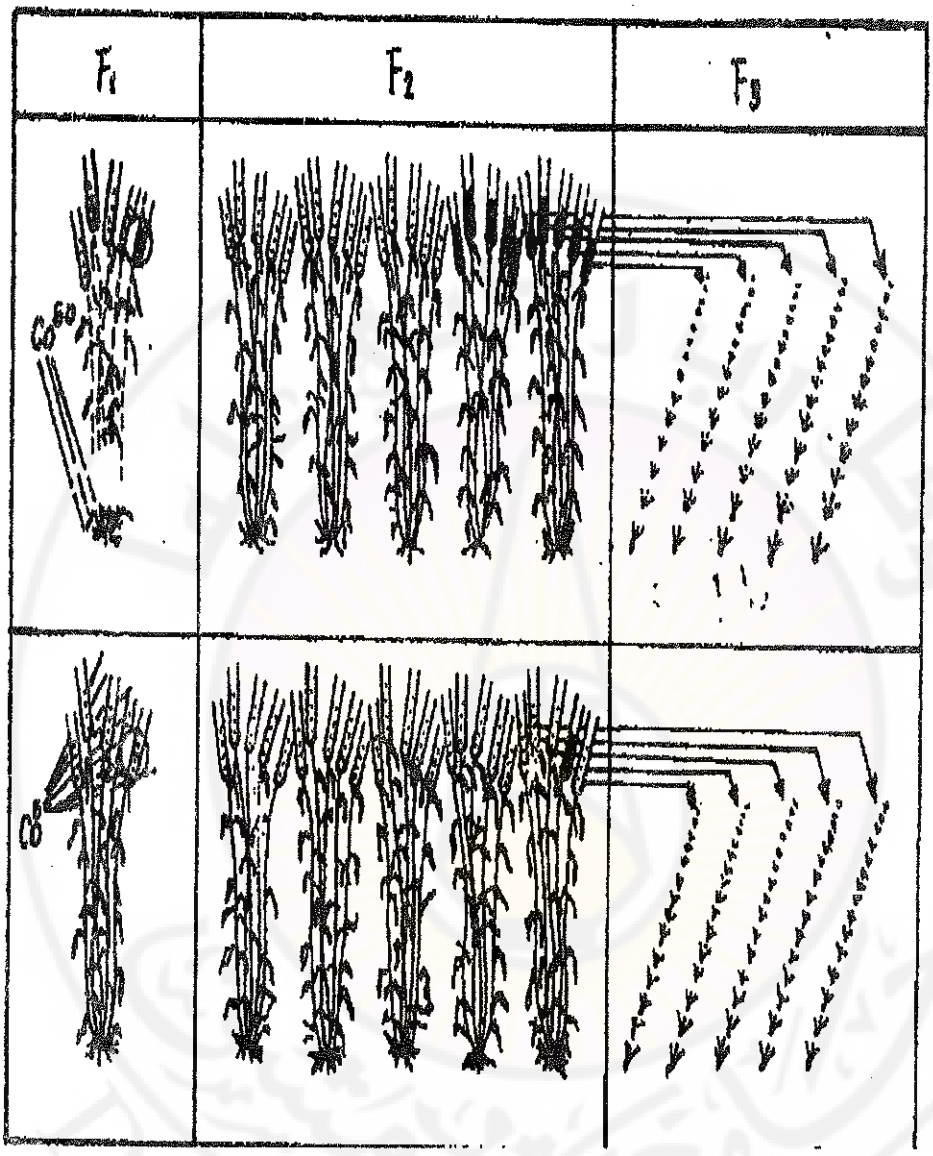
٢-٢ التغيرات الطفرية :

تعد الطفرات المصدر الرئيس للتبدلات الوراثية، لأنها تسهم في دعم الانتخاب، والحصول على الأصناف الجديدة المحسنة . وبما أن المورثات الطافرة المتنحية لا تظهر بسهولة بسبب الغطاء الواقع عليها من مورثات النمط البري ، فإنها لا تعبر عن نفسها إلا بالحالة المتماثلة Homozygous ، وبذلك يزداد احتمال ظهورها في تبدلات الضم .

إن ظهور العوامل المحرضة على الطفور وخاصة منها المحرضات الإشعاعية وضع الطفرات المحرضة Induced mutation في مكان الصدارة بالنسبة لدراسات الانتخاب ، وزاد عدد الأصناف الجديدة عند مختلف النباتات. يفضل إحداث هذه الطفرات، مثل: الشعير، والبازلاء، والفاصولياء، والبندورة ....الخ، حيث بدت ثابتة تجاه معظم الأمراض، وخاصة منها الفطرية . ومن أهم الطفور الفيزيائية الإشعاعية نجد أشعة رونتجن (أشعةX) والنترونات

السريعة والبطيئة، وأشعة غاما، والأشعة فوق البنفسجية، وقد طبق الباحثون بشكل واسع طريقة خاصة تعرف باسم "حقل غاما " حيث يتم تطبيق أشعة غاما Qamma ray باستعمال الكوبالت المشع Co60 لمدة طويلة .

إن ظهور الطفرات المتنحية في حب الطلع سيؤدي لدى الإلقاح إلى إعطاء نباتات غير متجانسة الأعراس بالطفرات ، ويمكن عزل نباتات طافرة متجانسة في الجيل الثاني مباشرة . لكن تعريض سنابل القمح أو الشعير إلى حقل غاما سيؤدي إلى ظهور طفرات في بعض حبوب السنبلة بشكل قليل ونادر ضمن مئات الحبوب الموجودة فيها، ويعود السبب في ذلك إلى وجود خلايا جسمية Somatic celles كثيرة في جنين الحية، بحيث إن الطفرات لا تصيب إلا بعضاً من هذه الخلايا .ولإظهار الطفرات في حقل غاما بالحالة المتنحية المتجانسة، نأخذ من (١٠-٢٠) حبة من أصل (٢-٥) سنبلة ناضجة من سنابل الجيل الأول، المعرضة للأشعة، ونزرعها في مكان واحد، فنحصل على نباتات الجيل الثاني، الذي يحمل بعض الطفرات المتجانسة . ويمكن تكرار عملية الزراعة والانتخاب للحصول على الأجيال التالية، التي تحمل الطفرات بشكل أكثر انتشاراً وتواتراً (شكل ٢-١).



مخطط يوضح التحليل الوراثي للطفرات الناجمة عن التعريض الإشعاعي بالكوبالت المشع CO6o لنبات القمح في المراحل المختلفة من نموها (حقل غاما) يشار إلى المستنبتات الطافرة في الجيل الثالث (F3) بخطوط فاتحة (أعلى)

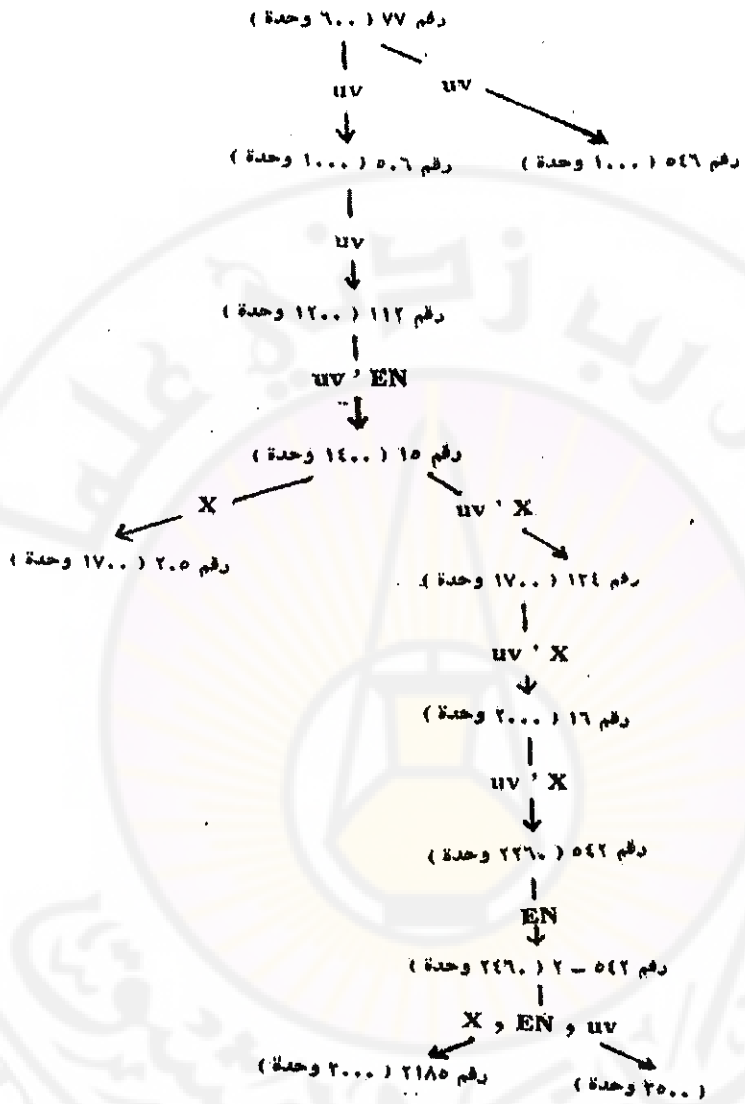
لقد لعبت الطفرات المحرضة دوراً مهماً في انتخاب سلالات متميزة من الأحياء الدقيقة Microorganism لا سيما منها الفطريات الغنية لإنتاج المضادات الحيوية Antibiotics ،ورفع وحدات النشاط عندها مقدرة بالميكروغرام/ مل (جدول ٢-٢) قيم إنتاجية بعض الفطريات من المضادات الحيوية، ربطاً مع العامل المحرض على الطفور ومقارنة مع شاهد .

جدول ٢-٢ قيم انتاجية بعض الفطريات من المضادات الحيوية ربطاً مع العامل المحرض على الاطفرار مقارنة مع الشاهد

المضاد الحيوي	العامل المحرض على الطفرة	الإنتاجية في وحدات النشاط	
		الأصلية	الطافرة
البنسلين	X,Uv,En, AMg	١٠٠	٥٢٠٠
الستربتومايسين	X,Uv	٢٥٠	٤٢٠٠
الكلورتتراسكلين	X,Uv,En	٦٠٠	٣٥٠٠

الرموز: X- أشعة رونتجن ، UV- أشعة فوق بنفسجية ،En- إيثان أمين AMG- غاز الخردل الآزوتي .

لقد تبين أن الانتخاب المجدي لا يتحقق دفعة واحدة، وإنما يكون من خلال انتخاب متدرج تزداد من خلاله الإنتاجية تدريجياً على دفعات، ربطاً مع العامل المحرض المستعمل (شكل ٢-٢).



شكل (٢-٢)

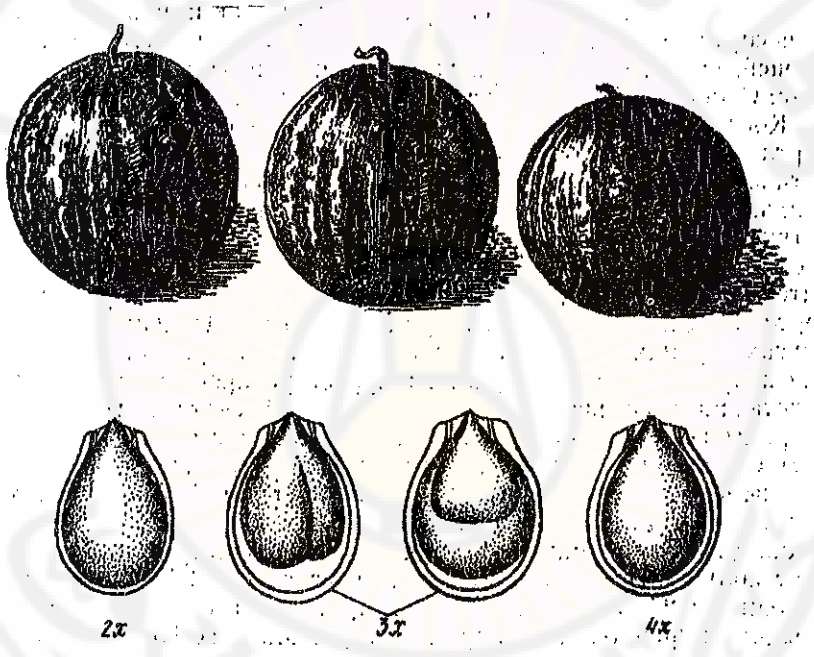
الحصول على سلالات فطرية تنتج الصاد الحيوي وكلورتتراسكلين بطريقة الانتخاب المتدرج. لقد أشير إلى أرقام السلالات وإلى إنتاجيتها في وحدات النشاط (ميكروغرام / مل) داخل الأقواس . لاحظ أن السلالة رقم /٧٧/ تنتج ٦٠٠ وحدة ، وهكذا بالانتخاب المتدرج وصلنا إلى السلالة الفطرية رقم /٢٢٠١/ التي تنتج /٢٥٠٠ وحدة /

٢-٣ التغيرات العددية للصبغيات :

تعد ظاهرة التعدد الصبغي من أهم مظاهر التبدل بالنسبة للانتخاب، وتسهم النباتات المالكة لأعداد صبغية مضاعفة في إعطاء ميزات كبيرة لدى تطور الأنواع المختلفة ، إضافة إلى إكسابها مجموعة من الصفات الاقتصادية الجيدة .

وتشكل النباتات ذاتية التعدد الصبغي Autopolyploidy أهمية خاصة في مجال الانتخاب – ويقصد بالتعدد الصبغي الذاتي: زيادة مجموع الصبغيات ذاتياً بشكل متكرر – ومن الواضح أن اكتشاف مادة الكولشيسين Colchicine وسهولة استخدامها قدم الإمكانيات الكبيرة، واختصر الزمن الطويل في مجال الحصول على مثل هذه النباتات، فهي تقطع خيوط المغزل الانقسامي، وتكثف الصبغيات، وتحافظ على انتشطارها، وبذلك تتعدد الصبغيات في الخلية المنقسمة، وتتضاعف . ويتم استعمال الكولشيسين بوضعه على الأعضاء النباتية المختلفة، مثل : البراعم، والجذور، والبذور، و غيرها. وتتميز النباتات المضاعفة بزيادة حجومها، وضخامة خلاياها ونسجها ، فمثلاً يتراوح وزن ١٠٠٠حبة من الجودار *Secale cereal* الرباعي 2n=28 من (٤٥-٥٠غ) مقارنة مع وزن العدد نفسه من حبات الجودار الثنائي 2n=14 الذي لا يزيد عن (٣٠ غ) . إضافة إلى ذلك تشترط النباتات المتعددة في بعض الحالات زيادة المحتوى من المواد الكيميائية الثمينة بها مثل بعض المركبات الدوائية في نبات الخشخاش و الفيتامين (A) في الذرة وغيرها . ولا بد من الاعتراف بأن النباتات المتعددة الصبغيات لا تشكل أصنافاً جاهزة للإكثار والاستهلاك المباشر، وإنما تحتاج إلى انتخاب طويل ودقيق قد يتطلب إجراء عمليات تهجين مع أصناف أخرى، وخلال أجيال عديدة .

تبدو النباتات الثلاثية Triploids كأصناف عقيمة عديمة البذور تـزداد فيها الكتلة الإعاشية، لتزيد من أهميتها الاقتصادية، كما هو الحـال مـثلاً فـي درنات الشمندر السكري المضاعف، الذي يزيد عنده محصول السكر بحدود من ١٠-٢٠ % مقارنة مع درنات الـشمندر العـادي (2n) . كمـا أن البطـيخ الأخضر عديم البذور الثلاثي (33= 2n) يشكل أهمية اقتصادية مميزة شـكل (٢-٣).



شكل ٢-٣

مظهر خارجي للثمار ومخطط لبذور للبطيخ الثنائي والرباعي والثلاثي.

لاحظ عقم بذور الثلاثي

وقد تم الحصول عليه من تهجين الثنائي (2n=22) مع الرباعي (2n=44) ويرجع سبب العقم في هذه الأصناف الثلاثية إلى توضع الصبغيات على شكل ثلاثيات Trivalents بدلاً من ثنائيات Bivalents في الطور الأول من الانقسام المنصف (pr.I) وبذلك ينتهي هذا الانقسام بإعطاء أعراس عقيمة تصل نسبتها إلى 99.9% وبالتالي تشكل بذوراً عقيمة.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثالث

طرائق التكاثر وأهميته في التربية

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

يلعب التكاثر في النباتات دوراً مهماً في تربية وانتخاب الأصناف النباتية، وتختلف طرائق التكاثر في النباتات، حيث يسود فيها التكاثر الجنسي، إضافة إلى التكاثر اللاجنسي ، وقد ينتشر العقم بكثرة في بعض الحالات، مما يتسبب في إحداث مشاكل كثيرة للنباتات يجب معالجتها .

٣-١ التكاثر اللاجنسي Asexual reproduction :

يتشكل بنتيجته نمط مورثي صافٍ وهو النمط الأصلي نفسه الذي جاء منه ، وينمو النبات الناتج عنه بالانقسام الخيطي Mitosis ، ونميز في هذا التكاثر مايلي :

a- التكاثر الإعاشي (أو الخضري) Vegetative reproduction
يتحقق بفصل الدرنات، والجذور، والجذامير، والأبصال وغيرها .

b- التكاثر بزراعة النسج والخلايا Tissue and cell Culture ومنها مزارع الميرستيم، التي تهدف إلى إنتاج نباتات خالية من الفيروسات، ومزارع الخلايا، حيث يتم زرع خلايا مفردة لتعطي فيما بعد في المزرعة أجنة لاجنسية (أشباه أجنة) Embryoids كاملة النمو (سنتعرف على بعض المواضيع بالتفصيل في فصل مستقل) .

c- اللإخصاب، أو تدهور الشقية (Apomictic reproduction)أو Apomixis يتحقق هذا التكاثر بالبذور التي تحوي أجنة لا إخصابية، أي: لم تنشأ من إخصاب البويضة بحب الطلع، وإنما نشأت من إحدى الخلايا الأمية (من الكيس الجنيني) (2n) إلى جنين يعطي سلالة لا إخصابية Apomictic line ويشتمل اللإخصاب على:

١- التطور البكري parthenogenesis وهو ينتج من نمو الخلية البيضية دون إلقاح، لتعطي جنيناً أحادي الصيغة الصبغية (1n) .

٢- لا إلقاح Apogamy وهو الذي ينتج من باقي خلايا الكيس الجنيني، مثل الخلايا المساعدة، أو إحدى الخلايا المقابلة للقطب، ليعطي جنيناً أحادي الصيغة الصبغية أيضاً (1n) .

٣- لا تبوغ Apospory أو لاتنصيف Ameiosis ينتج من إحدى خلايا النوسيل أو اللحافة، لتعطي جنيناً ثنائي الصيغة الصبغية (2n).

تنحصر أهمية التكاثر اللاجنسي في المحافظة على التركيب الوراثي بشكل مستمر، أما عيوب التكاثر اللاجنسي الإجباري (كما في الموز، والثوم ...إلخ) فإنه يقلل من فرصة ظهور تراكيب وراثية جديدة للتحسين والانتخاب ، وبذلك لا توجد جدوى من الانتخاب بين نباتات التكاثر اللاجنسي .

٣-٢ التكاثر الجنسي Sexual reproduction :

هو التكاثر الذي يتحقق بالبذور، التي تحتوي على أجنة نشأت جنسياً ، ويهتم المربي بالمراحل التي سبقت تشكل الجنين، وهي :

الانقسام المنصف المذكر والمؤنث ، الارتباط والعبور ، الإلقاح المضاعف الذي يعطي جنيناً مختلفاً وراثياً عن أبويه في حال التلقيح الخلطي . هذا وإن لطريقة التلقيح أهمية خاصة في مجالات التربية، كما رأينا سابقاً في موضوع الانتخاب للنباتات ذاتية التلقيح، وخلطية التلقيح . ونورد فيما يأتي بعض المفاهيم المهمة للمربي في هذا الموضوع، حيث تتجه الأنظار من قبل المربي إلى الزهرة، كونها المصنع الذي يوجه إنتاجه نحو الغاية التي ينشدها من برنامج التربية . والزهرة فرع قصير دون سلاميات واضحة تحمل أوراقاً متزاحمة، تحورت لغرض التكاثر. وللزهرة أنواع مختلفة، وتوضعات متفاوتة، وتؤدي إلى تشكل حب الطلع والبويضات .

٣-٢-١ ظاهرة كسينيا Xenia :

يطلق على هذه الظاهرة اسم التلقاح، وتعني تأثير حب الطلع على صفات البذور الناتجة عن الإلقاح، وهي (الأثر المباشر الذي يحدثه حب الطلع في الثمرة أو البذرة عند الإلقاح أو التهجين) . فمثلاً في الذرة يؤثر حب الطلع على صفات السويداء مباشرة أثناء التلقيح المضاعف (إحدى النطفتين تلقح النواة الثانوية لتعطي السويداء 3n) فإذا كانت النطفة حاملة لمورثة سائدة، والنواة الثانوية حاملة لمورثتين متنحيتين، فيكون الإيندوسبيرم سائداً . إن لهذه الظاهرة أهمية كبيرة في إنتاج المحصول وإنتاج البذور العائدة للذرة السكرية، والذرة الشامية .

وهكذا فإن تلقيح بويضات الذرة السكرية (الصافية بالمورثة su المسؤولة عن السويداء السكرية) بحب طلع الذرة الشامية من حقل مجاور (يحمل المورثة السائدة Su المسؤولة عن السويداء النشوية) فإن الذرة الناتجة ستحمل سويداء من النمط (Su su su) وهو نشوي لا يصلح للاستعمال كذرة سكرية ، في حين يكون جنين البذرة من الشكل 2n (Su su) وهي أيضاً لا يصلح كأساس (أصول) لإنتاج الذرة السكرية .

ونلاحظ الشيء نفسه لدى تلقيح بويضات ذرة سكرية بذورها بيضاء بحب طلع ذرة بذورها صفراء، سنحصل على ذرة صفراء البذور، لأن مورثة اللون الأصفر سائدة على الأبيض . ومن أمثلة (الكسينيا) نجد تأثير حبة الطلع على لون طبقة الألورون، حيث يسود اللون القرمزي، وكذلك على شكل نواة ثمرة التمر، وعلى صفات الجنين في بعض الأحياء .... وغيرها .

٣-٢-٢ ظاهرة ميتاكسينيا metaxenia :

وهي ظاهرة تأثير حبة الطلع على نسج الثمرة، وهي النسج التابعة للأم بالكامل، وعلى سبيل المثال تأثير حب الطلع على شكل ثمرة التمر، وعلى حجمها، وعلى موعد نضجها . هذه الظاهرة لا تفسر على أساس الإلقاح المضاعف بصورة مباشرة، لأن نسج الثمرة تابعة للأم . وقد رأى بعض الباحثين ومنهم W.Swingle أن هذا التأثير غير مباشر، حيث إن المورثة والسويداء ربما يفرزان (أثناء النمو) هرمونات (أو مواد شبيهة بالهرمونات) يمكن أن تنتشر في النسج المحيطة بهما، لتحدث التأثير المشاهد .

٣-٣- الجنس في النباتات :

من المعروف لدينا دور المورثات والصبغيات المحددة للجنس في النباتات، وكذلك ظاهرة الخنث، ومقاومة الإلقاح الذاتي في النباتات الزهرية، وكما هو معروف، فإننا نصادف نمطين من النباتات الراقية :

الأول : أحادي المسكن Monoecious وهو الذي يحمل أعضاء التأنيث والتذكير معاً، في هذه الحالة قد تجتمع هذه الأعضاء في زهرة واحدة (خنثوية) وهو الأكثر انتشاراً، أو أن تنفصل الأعضاء المذكرة عن المؤنثة في النبات الواحد (منفصلة الجنس) .

الثاني : نبات ثنائي المسكن Dioecious حيث نصادف نباتاً مذكراً مستقلاً وآخر مؤنثاً للنوع الواحد ، وهي الحالة الأقل انتشاراً . كما نصادف بشكل أقل النماذج الثلاثة الآتية :

١. نصادف في بعض الحالات وجود نباتاً أحادي المسكن مع فروع ذات أزهار مذكرة فقط Andromonoecious (بطيخ مثلاً) .

٢. نصادف نبات أحادي المسكن مع فروع مؤنثة فقط Gynomonoecious.

٣. نصادف نباتاً أحادي المسكن مع فروع مؤنثة وأخرى مذكرة Trimonoecious (تلاحظ الحالتان السابقتان في بعض أنواع القرعيات).

وسوف نتناول في مجال الجنس لدى النباتات بعض المواضيع، التي لها علاقة وثيقة بالانتخاب، وتربية النبات .

٣-٣-١ تحديد الجنس في بعض البناتات :

يتحدد الجنس في السبانخ بالصبغيات الجنسية Y,X وهكذا يكون النبات المؤنث (XX) والنبات المذكر (XY) . وتوجد على الصبغيات الجسمية Autosomes بعض المورثات المبدلة (محورة) للجنس، ويؤدي وجودها إلى ظهور حالات جنسية وسطية بين الذكور والإناث عن (Duvil١٩٦٦ م) وفي الخيار المؤنث *gynoecious cucumber* يؤدي وجود عامل وراثي واحد سائد إلى تحويل الخيار من أحادي المسكن إلى نبات ينتج أزهاراً مؤنثة فقط .

إن نبات الهليون *Asparagous* ثنائي المسكن (مذكر على نبات ومؤنث على نبات آخر) وهو حسب الدراسات (Hanna و Rick) عن (Ellison ١٩٨٦ م) يورث كما لو كان محكوماً بعامل وراثي واحد سائد لصفة الذكورة . كما أمكن التعرف على اختلافات سيتولوجية في الشفع الصبغي الخامس للنبات، ترتبط بحالة الجنس، وبذلك تعرف النباتات المؤنثة (XX) والمذكرة (XY) .

٣-٤ العقم في النبات :

يعرف ماتير Mather ودارلينكون Darlington العقم Sterility بأنه فشل الكائن جزئياً أو كلياً في إنتاج أعراس كاملة حية، وبالتالي عدم تكوين بذور خصبة تحت ظروف بيئية معينة . وكما يبدو واضحاً أن المعنى الحرفي لكلمة العقم -هنا- لا يدخل تحته العقم الهجيني Cross sterility وهو العقم الذي ينشأ نتيجة التهجين بين آباء متباعدة بدرجة كبيرة.

كما لا يشتمل على الحالات التي تخفق فيها الأعراس المذكرة في إخصاب البويضات، نتيجة التشابه بينها في صنويات خاصة (صنويات التنافر) وهي الظاهرة التي تعرف بالتنافر، أو عدم التوافق .

ويمكن تقسيم العقم إلى نوعين هما :

١. عقم جيلي تكويني Generational sterility وينتج عن حدوث شذوذ ما في إحدى خطوات عملية تعاقب الأجيال، مثل تكوين حبوب اللقاح، أو الكيس الجنيني أو الجنين أو الأندوسبيرم، أو في العلاقة بين هذه الخطوات بالنسبة لبعضها .

٢. عقم موفولوجي Morphological sterility وهو العقم الذي يحدث نتيجة عدم تكوين الأعضاء الجنسية في الكائن، أو موتها بعد تكوينها، أو لوجود نقص وظيفي فيها . ويذكر سترن Stern أن العقم قد ينشأ عندما ينتج الفرد أعراساً غير حية، أو نتيجة عدم إتمام الإخصاب على الرغم من حيوية الأعراس، وذلك لوجود شذوذ في التركيب الطبيعي في الأعضاء الداخلية أو الخارجية للتكاثر، أو نقص وظيفي فيها . وقد يحدث العقم نتيجة شذوذ في إحدى خطوات تكشف الجنين بعد الإخصاب، بالإضافة إلى التقسيمات الأخرى. وفيما يلي نوجز بصفة عامة أهم مسببات العقم، وهي :

١- عدم قدرة النبات على إنتاج أعراس حية .

٢- عدم إتمام عملية الإخصاب .

٣- عدم ملاءمة درجة الحرارة، خاصة خلال فترة تشكل الأزهار .

٤- عدم ملاءمة الفترة الضوئية لأزهار النبات .

٥- إن انخفاض الرطوبة في الجو أو في التربة قد يؤدي إلى عـدم الإزهار، أو موت حبوب اللقاح .

٦- عدم توافر الحشرات التي تنقل حبوب اللقاح .

٧- عدم توافر العناصر الغذائية.

٨- الإصابة بالحشرات التي تتغذى على الأزهار، وتحدث فيها جروحاً .

٩- الإصابة بالأمراض الفطرية مثل التفحم المغطى، حيث تكون الحبوب ممتلئة بأنواع الفطر، أو التفحم السائب، حيث تتكون أبواغ المرض مكان الحبوب على المضيف .

١٠-وجود اختلافات في بنية الزهرة كقصر الأنبوب الإلقاحي بالنسبة لطول القلم في المدقة، أوأن الأنبوب ثخين، لا يستطيع اختراق القلم كما في حالة تهجين النباتات، مضاعفة الصيغة الصبغية مع النباتات الثنائية. وقد يحدث العقم بسبب عدم تفتح قطع التويج لدى نضج البرعم الزهري، فلا تنتشر حبات الطلع، ولا تتكون الثمار .

١١-عدم توافق موعد الإزهار في كل من الآباء والأمهات.

١٢-وجود بعض العوامل الوراثية، التي تسبب العقم، كما في حالة العقم الذكري الوراثي.

١٣- وجود عوامل سيتوبلاسمية تسبب العقم الذكري السيتوبلاسمي.

١٤-وجود تحورات صبغية سواء في العدد، أو في البنية.

١٥-حدوث العقم الأندوسبيرمي.

تؤدي أي من العوامل السابقة إلى إحداث العقم الذاتي، أو العقم التهجيني. والمقصود بالعقم الذاتي هو أن يكون النبات عقيماً ذاتياً لا ينتج بذوراً، أو ينتج بذوراً غير حية، والمقصود بالعقم الذاتي هو أن يكون النبات عقيماً ذاتياً لا ينتج بذوراً، أو ينتج بذوراً غير حية.

ومن العقم التهجيني نجد :

١- عقماً عروسياً و يحصل نتيجة تحلل بعض أجزاء الخلايا الجنسية في الفترة بين حدوث الانقسام المنصف وانتشار حبات الطلع، و يتم التعرف على ذلك بموت الحبات، أو البويضات .

٢- عقم البيضة الملقحة (زيغوتي) ويحصل نتيجة إخفاق البيضة الملقحة في النمو بعد حدوث الإخصاب. و يقسم العقم التهجيني إلى :

أ- عقم مورثي : ويشتمل كل أنواع العقم التي تنتج عن إخفاق الخلايا الجنسية في النمو إلى المرحلة التي يحدث فيها الانقسام المنصف، أو عن حدوث شذوذ وراثي في عملية الانقسام المنصف كعيوب تكوين المغزل، أو شذوذ عند عملية التشافع الصبغي .

ب-عقم صبغي : ينتج عن عدم تشابه الصبغيات الأبوية الداخلة في عملية التهجين، كاختلاف في عدد الصبغيات، أو وجود فروق بنيوية بين الصبغيات، كما في حالة الانقلاب -مثلاً- مما يؤدي إلى عقم كلي في الحالة الأولى، وإلى عقم جزئي في الحالة الثانية.

تعد دراسة العقم من الموضوعات التي تهم مربي النبات، حيث قد يؤدي العقم الذاتي إلى عدم نجاح عملية التلقيح الذاتي، وبالتالي يتعذر الحصول على نباتات صافية بنمطها المورثي، ويشجع العقم الذاتي على حدوث الخلط الوراثي، كما قد يتطلب وجود العقم الذاتي في النباتات اتخاذ إجراءات معينة عند زراعتها، كما هو الحال في بعض نباتات الفاكهة، حيث تتطلب زراعة أكثر من صنف واحد مختلطة مع بعضها بعض .

كما قد يستفيد المربي من ناحية أخرى من وجود ظاهرة العقم، إذ أن وجود العقم يوفر على المربي الجهد والمال، الذي يبذله في حالة إنتاج البذور الهجينة، حيث لا يتطلب إجراء عمليات الإخصاء Emasculation لنباتات الأمهات في هذه الحالة .

بعد استعراض المعاني المتعددة، والأسباب الكثيرة للعقم، لا بد من الدراسة التفصيلية والوراثية لبعض أنواع العقم المهمة، لا سيما وأنه على ارتباط وثيق مع برامج وخطوات التربية النباتية ، الأمر الذي يتطلب من المربي المعرفة الكاملة بظاهرة العقم، وبمواصفات الآباء النباتية، التي سيتم العمل معها لإنجاز البرامج الانتخابية الناجحة .

٣-٤-١ العقم الذكري :

تنتشر ظاهرة العقم الذكري Male sterility بشكل كبير في بعض أجناس المملكة النباتية، وتؤدي إلى عدم قدرة النبات على تلقيح أزهاره، أو أزهار غيره من النباتات. ولهذه الظاهرة دور كبير في التربية أو الانتخاب . ويمكن تمييز ثلاثة مظاهر منه :

١- عقم في حب الطلع داخل المآبر pollen sterility حيث تبدو الأسدية إما دون حبات طلع، أو أنها تحمل حبات طلع ضامرة غير قادرة على التلقيح .

٢- عقم الأسدية Staminal sterility حيث تتحور الأسدية إلى تراكيب أخرى ليس لها شكل السداة، أو أنها تختفي كلياً . فمثلاً تتحور الأسدية عند بعض أصناف نبات الجزر إلى بتلات مختلفة الأشكال، وتسمى هذه الظاهرة Petaloidy .

٣- عقم بسبب عدم تفتح المآبر positional sterility حيث تخفق المآبر بالتفتح على الرغم من أنها مملوءة بحب الطلع الخصب ، وبذلك فالإخصاب يتحقق يدوياً . ويتحكم في أنماط هذا العقم مورثات نووية، أو سيتوبلاسمية، أو نووية سيتوبلاسمية .

٣-٤-١-١ العقم الذكري الوراثي Genetie male sterility :

نصادف في بعض النباتات البرية أو المزروعة وجود عقم ذكري، تتحكم فيه مورثة واحدة متنحية يرمز لها ms ، وأحياناً مورثتان أو أكثر، وبالتالي يمكن تمييز الأنماط المورثة الثلاثة الآتية :

msms = عقيم ، MS MS = خصب ، MS ms = خصب

لدى تلقيح السلالات المؤنثة الحاملة للعقم بحبات طلع خصبة، نحصل على الجيل الأول الذي يكون خصباً . وبالتلقيح الذاتي لأفراد الجيل الأول يتم انتخاب سلالة صافية حاملة لصفة العقم.

إلقاح ذاتي

P ms ms × MSMS ← MSms ← MS ms + ms ms

نبات ♂ خصب نبات ♀ عقيم ٧٥%خصب ٢٥% عقيم

حب طلع حب طلع F1 سلالة نقية F2

وبذلك فهي تعادل نسبة هجونة أحادية (٣ : ١) .

٣-٤-١-٢ العقم الذكري السيتوبلاسمي Cytoplasmic male sterility (cyt . s) :

لقد اكتشف كل من الباحث الروسي كادجينو Khadgino والأمريكي رودس Rhoades ظاهرة العقم السيتوبلاسمي المذكر في نبات الذرة أحادي المسكن، حيث لوحظت المآبر في الشرابات مملوءة بحبات الطلع غير الناضجة، وبعضها خال كلياً من حب الطلع (شكل ٣-١).



(شكل٣-١) ظاهرة العقم الذكري السيتوبلاسمي في الذرة :
في الأعلى صورة فوتوغرافية ،في الأسفل مخطط .إلى اليمين شرابة عقيمة ، إلى اليسار شرابة خصبة

وتنتشر هذه الظاهرة في بعض النباتات المزروعة المستعملة بشكل واسع في مجالات الانتخاب، وتحسين الأنواع، مثل: البصل: والخوخ: والكتان: وغيرها ... ويرى بعضهم أن هذا النمط من العقم المرتبط بالسيتوبلاسمى يرجع

إلى الميتوكوندري، وفي الواقع لم يتمكن الباحثون لدى دراستهم الخلوية بالمجهر الضوئي من ملاحظة أي اختلافات ملموسة في خلايا نباتات الذرة من النمط (cyt . s) مقارنة مع خلايا الذرة خصبة حب الطلع (cyt . n) .لكن الدراسة بالمجهر الالكتروني أشارت إلى وجود جسيمات Carpuscules تحت مجهرية تحتوي على الـ DNA وذلك في خلايا العقم (cyt . s) من النمط التكساسي الذي تحتوي مآبره على حب طلع غير ناضج، ومجعد، وسريع التناثر من الأزهار ، وهذه الجسيمات أكبر حجماً في النباتات العقيمة مقارنة مع النباتات التي ينتعش فيها إخصاب حب الطلع . وتتراوح أقطار هذه الجسيمات في cyt.n وسطياً نحو (٤٨) A° في حين تتراوح أقطارها في cyt . s وسطياً نحو (٦١) A° (شكل ٣-٢) .

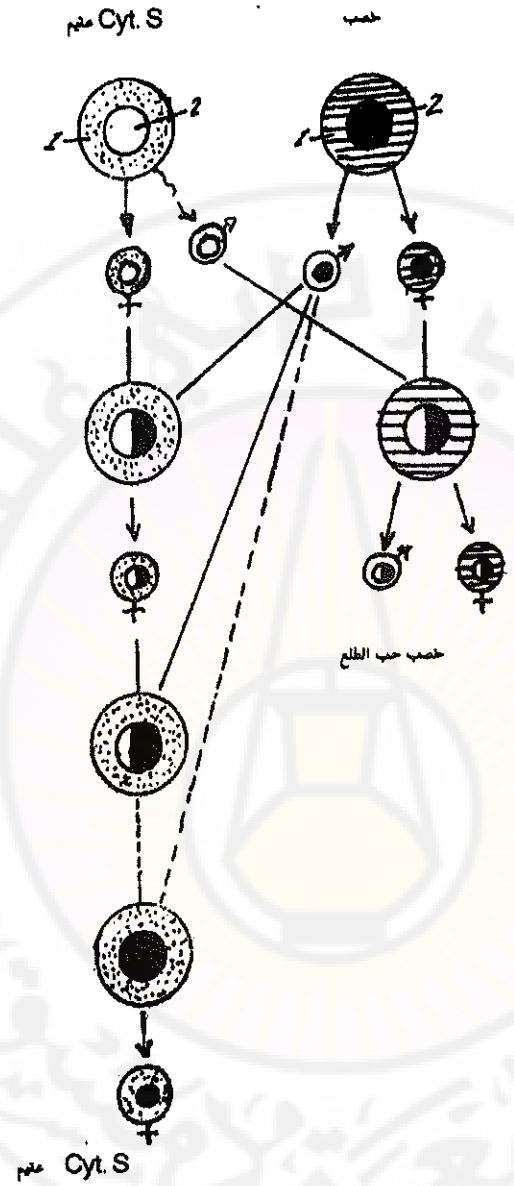


(شكل ٣-٢) صورة بالمجهر الألكتروني توضح أجزاء خلوية تحمل Carpuscules في نبات ذرة خصبة حب الطلع إلى اليسار وفي نبات ذرة ذي عقم سيتوبلاسمي مذكر (إلى اليمين) .gi جسيمة تحت مجهرية (تكبير ٣٣٠٠٠ ×) حسب أدوارسون

إن تأبير النباتات المؤنثة ذات العقم السيتوبلاسمي المذكر cyt . s بحب طلع النباتات الخصبة cyt .n يؤدي إلى نباتات عقيمة (لأن صفة العقم انتقلت عن طريق بويضات الأم) . وبإعادة هذا التأبير خلال أجيال عديدة فإن صفة العقم هذه ستحافظ على وجودها عن طريق الأم، حتى وإن تم استبدال جميع صبغيات الأم بصبغيات الأب (شكل ٣-٣).

وهذا يؤكد أن توريث صفة العقم المذكر يتحقق فعلاً عن طريق سيتوبلاسمى الأم، وهذا هو سبب التسمية (عقم سيتوبلاسمي مذكر) حيث يرمز له cyt . s Cytoplasmic sterility تميزاً له عن الخصب السيتوبلاسمي cyt .n Cytoplasmic normal .

Damascus University



شكل (٣-٣) التهجين المستمر بين نباتات ذرة خصبة حبات الطلع مع بويضات نبات ذرة عقيمة حبات الطلع خلال عدة أجيال، لإثبات انتقال صفة العقم عن طريق سيتوبلاسمى الأم

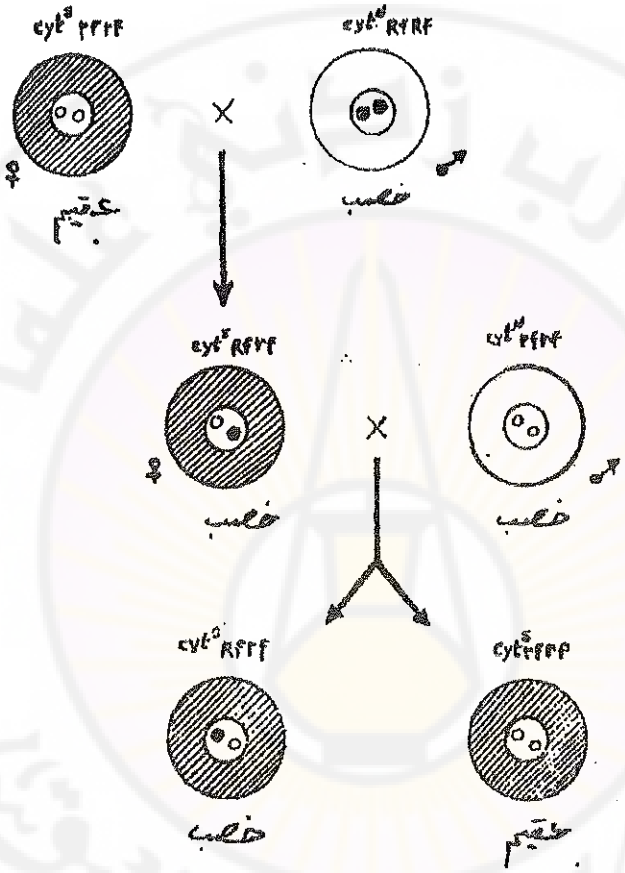
٣-٤-١-٣ العقم الذكري الوراثي – السيتوبلاسمي :

يتشابه هذا العقم مع العقم السيتوبلاسمي كونه يرجع إلى وجود عامل خاص في السيتوبلاسمى يسبب عقم حب الطلع، وهو العامل S (cyt . s) وعامل N (cyt .n) أو F في النباتات الخصبة . لكنه يختلف عنه بوجود مورثة سائدة في النواة تسمى مورثة الإرجاع (مورثة الإنعاش) Restorer gene (Rf) ذلك يتفاوت إشراف مورثة الإرجاع النووية على (مورثات) العقم السيتوبلاسمية (جدول ٣-١).

جدول (٣-١) تأثير مورثة الإرجاع النووية على عقم أو إخصاب نبات الذرة ربطاً مع وجود العامل السيتوبلاسمي cyt . s أو cyt.n

السيتوبلاسمي	النواة	النبات
Cyt.S	Rf	خصب
Cyt.S	Rf	خصب
Cyt.S	rf	عقيم
Cyt.n	Rf	خصب
Cyt.n	Rf	خصب
Cyt.n	rf	خصب

وبذلك فإن النواة تؤثر على إخصاب وعقم حب الطلع، وتشرف على عامل السيتوبلاسمي . وهكذا بوجود مورثة الإرجاع أو الإنعاش (R-) ستؤدي إلى الإخصاب حتى وإن وجد العقم السيتوبلاسمي، لكن المورثة المتنحية النووية (rf) لن تؤدي إلى الإخصاب . ويمكن توضيح العلاقة التهجينية في هذه الحالات من خلال الشكل (٣-٤) .



شكل (٣-٤) نتائج تلقيح بويضات السلالة الصافية الوحيدة العقيمة في الذرة cyt . s. rfrf بحبات طلع السلالة الصافية الخصبة cyt. n RfRf حيث الانفصال بنسبة (١:١)

٥٠% خصب ، ٥٠% عقيم

٣-٤-١-٤ العقم الذكري المحدث صنعياً :

تحدث بعض المركبات الكيميائية العقم الذكري في النباتات، لذلك أطلق عليها اسم مبيدات الأعراس Gametocides وتبدو هذه الظاهرة مرغوبة في بعض الحالات مثل رش النباتات بمركب إيتيفون Ethephon بتركيز (١٠٠٠-٢٠٠٠) جزء بالمليون ppm . وفي نبات البصل يرش مرتين بمحلول الجبريلين تركيز ٢% مع بداية نمو الشماريخ، وتطبق هذه الطريقة لإحداث العقم الذكري في سلالات نرغب باستخدامها كأمهات في التهجين .

ومن شروط المواد المحدثة للعقم الذكري :

١- تحدث عقماً مذكراً ولا تحدث عقماً مؤنثاً .

٢- تثبط تكوين حب الطلع كلياً .

٣- لا يتأثر فعلها بعوامل البيئة .

٤- لا يتأثر فعلها بالنمط المورثي للنباتات .

٥- فعالة في المراحل المختلفة للنمو .

٦- ليس لها تأثير ضار على النبات

٧- اقتصادية .

٣-٤-٢ عدم التوافق Incompatibility :

يستخدم لفظ عدم التوافق أو التنافر حينما تخفق الأنابيب الإلقاحية لحب الطلع في اختراق الميسم ونسيج القلم وصولاً إلى المبيض، وبالتالي عدم حدوث الإخصاب .وقد يكون عدم التوافق ذاتياً Self-incompatibility وذلك إذا لم يحدث الإخصاب الذاتي ، أما إذا لم يحدث الإخصاب الخلطي في حالة التهجين بين بعض الأنواع غير المتوافقة، فهذا هو عدم التوافق الخلطي أو التهجيني Cross- incompatibility.

ولقد عرف Stout ١٩١٨ عدم التوافق بأنه: " عـدم إمكـان حـدوث الإخصاب ذاتياً أو تهجينياً نتيجة تماثل التركيب الوراثي لمجموعـة – الأفـراد، وكان يمكنها أن تتزاوج مع بعضها بسهولة، لولا وجود عوامل (مورثات) معينة تعمل على منع أو تعطيل الإخصاب، وذلك في الفترة ما بين حـدوث التـأبير والإخصاب" . كما وصف العالم نفسه في العام ١٩٣٨ م عدم التوافـق الـذاتي والخلطي بأنه عبارة عن: تفاعل فيزيولوجي يمنع أو يحد من الإخصاب .

وذكر Allard ١٩٦٠م أن التنافر ينتج عن عمليـة كيميائيـة حيويـة يتحكم فيها نظام وراثي بسيط . ولقد أثبتت الأبحاث أن ظـاهرة عـدم التوافـق شائعة الوجود في كثير من النباتات، وأوضح East ١٩٤٠م أن التنافر الـذاتي يوجد في أكثر من ٣٠٠٠ نوع من النباتات الزهرية الراقية، موزعة في فصائل نباتية مختلفة، كما ذكر Riley ١٩٤٨م أن هذه الظاهرة قد درست (فـي ذاك الوقت) على ١٧٦ نوعاً من النباتات موجودة في ٥٥ فصيلة نباتية من أحاديات وثنائيات الفلقة . ثم أضاف deuiy ١٩٥٤م: إن تقدير East لعـدد الأنـواع النباتية التي تحدث بها ظاهرة عدم التوافق يعد أقل بكثير مما هو موجود فعـلاً بالطبيعة ، ومن أهم المحاصيل الحقلية التي تحدث بهـا هـذه الظـاهرة هـي محاصيل التبغ، وأنواع البرسيم، كما توجد في عدد من محاصيل الفاكهة مثـل: التفاح، والإجاص، والخضار مثل: الملفوف، والفجل، ونباتات الزينة مثـل: فـم السمكة، وألبيتونيا، والأضاليا، وغيرها .

٣-٤-٢-١ أهمية التنافر بالنسبة للتربية :

لدراسة التنافر أهمية خاصة بالنسبة لمربي النبـات، يمكـن توضـيحها بالآتي :

١- لا يستطيع المربي تربية النباتات التي تحمل مورثات التنافر الذاتي تربية داخلية Inbreeding، وبذلك يتعذر عليه تثبيت نمط معين، أو الحصول على نباتات صافية وراثياً Homozygous، أو سلالات نقية نتيجة عدم نجاح الإخصاب الذاتي ، والمعروف أن الإخصاب الذاتي يؤدي إلى تكدس الأنماط المورثية الصافية، ويكون لوجود هذه المورثات أثرها إذا كان هدف المربي هو تربية المحصول تربية داخلية، للحصول على السلالات النقية بهدف إدخالها في برامج التهجين للحصول على هجين، أو أصناف (تركيبية).

٢- أوضح Mather ١٩٤٢م أهمية التنافر كنظام وراثي ذي كفاءة عالية في تشجيع التلقيح الخلطي، بمعنى أن عدم التوافق يجعل التلقيح الخلطي هو الأساس، لأنه يقلل من فرص التهجين بين النباتات التي تحمل مورثات متماثلة، ويزيد من فرص حدوث التهجين بين النباتات التي تحمل مورثات غير متماثلة .

٣- قد يؤثر وجود التنافر على عملية الانتخاب الطبيعي والصناعي، إذ أن عدم حدوث الإخصاب الذاتي يشجع في الوقت نفسه على الإخصاب الخلطي، وبذلك لا تفقد النباتات قوتها نتيجة التربية الداخلية، ولاحتفاظها بعواملها الوراثية الخليطة . وقد يكون للتنافر أثر على مدى تأقلم النباتات، واستجابتها للظروف البيئية المتباينة، إذ أن المجتمعات الخليطة التركيب الوراثي تكون على درجة عالية الكفاءة من حيث الأقلمة بعكس المجتمعات التي تكون ذاتية التلقيح، فهي أقل أقلمة .

٤- يؤدي عدم التوافق الذاتي إلى تحوير في النسب المندلية في الأجيال الانعزالية، خصوصاً إذا كان هناك ارتباط تام أو جزئي بين عامل العقم الذاتي وعوامل الصفات الأخرى المحمولة على الصبغي نفسه .

٥- ذكر Lawrence ١٩٥٠م أن خبرة مربو نباتات الزينة قد أثبتت أن وجود التنافر يعمل على زيادة عدد الأزهار على النبات الواحد، لأن كل نشاط النباتات سوف يكون موجهاً نحو تكوين الأزهار لا البذور .

٣-٤-٢-٢ عدم التوافق والصنويات المتعددة للمورثة S :

يفسر عدم حدوث التوافق نتيجة وجود سلسلة من الصنويات المتعددة Multiple alleles لمورثة العقم الذاتي (S) Sterility الموجودة على موقع مورثي واحد locus على الصبغي نفسه ويختلف عدد هذه الصنويات باختلاف المحصول . فقد أحصي في التبغ /١٥/ صنوياً أو أكثر و /٣٧/ صنوياً في نبات الأنوثرا Oenothera organensis و /٢٠/ صنوياً في البرسيم الأحمر .

وتحمل حبة الطلع في النباتات الثنائية صنوي واحد فقط من صنويات المورثة (S)، فإذا حملت حبة الطلع صنوياً مماثلاً لذاك الموجود في نسيج القلم فإن عملية الاخصاب لا تتم نتيجة لوجود نوع من التفاعل، الذي تتحكم فيه مورثات الميسم والأنبوب الطلعي، مما يؤدي إلى عدم اختراق الأنبوب الطلعي للميسم والقلم، أو أنه ينمو ببطء بحيث لا يصل إلى المبيض، وبالتالي البويضة في الوقت المناسب .

إن حدوث الإخصاب، أو عدم حدوثه يتوقف على معدل سرعة نمو الأنبوب الطلعي ، ففي حالة عدم وجود الصنويات، التي تسبب التنافر، تسقط حبة الطلع على الميسم، وينمو منها الأنبوب الطلعي، الذي يخترق نسج الميسم والقلم، ويستمر النمو بسرعة متزايدة حتى يصل إلى المبيض، ثم تتحد مكوناتها مع مكونات الكيس الجنيني، ويتم الإخصاب .

وأما في حالة عدم التوافق فإن سرعة نمو الأنبوب الطلعي لا يتزايد، مما ينتج عنه بطء نمو الأنبوب، فيصل إلى المبيض متأخراً، وبالتالي لا يحدث الإخصاب، حيث تكون البويضات قد فقدت قابليتها للإخصاب، مما يؤدي إلى ذبول الزهرة وسقوطها.

وفي مجال التفسير الوراثي لعدم التوافق فقد سمي لمورثة العقم الذاتي (S) أربعة صنويات، وهي (S_1, S_2, S_3 , S_4) وذلك في كل من المبيض وحب الطلع . فمثلاً لا تنمو حبات الطلع الحاملة للصنوي S_1 أو الصنوي S_2 على الميسم الذي يتميز مبيضه بالنمط الورثي S_1S_2 في حين تنمو حبات الطلع الحاملة للـ S_3 أو S_4 على مثل هذا الميسم (جدول ٣-٢) .

وتفسر بعض المراجع آلية عمل المورثة S في حالتي التوافق وعدم التوافق بالآتي :

إن وجود المورثة S (أحد صنوياتها) في الميسم يؤدي إلى إنتاج مادة يطلق عليها اسم الجزيء المؤثر (Effector molecule) ، وبالمقابل تعمل المورثة ذاتها الموجودة في حبة الطلع على إنتاج مادة تسمى الجزيء المستقبل Reseptor molecule . من جهة أخرى في حالة التنافر تتشكل مادة في الميسم تمنع إنتاش حبة الطلع Generation inhibitor ، وفي حالة التوافق تتشكل مادة في الميسم تؤدي إلى إنتاش حبة الطلع Generation activator . فإذا لامست حبة الطلع ميسماً وفي كل منها

الصنوي نفسه من المورثة S فإنه تتشكل مواد منع الإنتاش نتيجة لوجود سلسلة من التفاعلات تتحقق على الجزيء المؤثر (♀) والجزيء المستقبل (♂) ، وبالعكس يتحقق الإنتاش في حالة التوافق.

♀ / ♂	S^1S^2	S^1S^3	S^2S^3	S^1S^4	S^2S^4	S^3S^4
S^1S^2	no F_1	$\frac{S^1}{S^3}\frac{S^2}{S^3}$	$\frac{S^1}{S^3}\frac{S^2}{S^3}$	$\frac{S^1}{S^4}\frac{S^2}{S^4}$	$\frac{S^1}{S^4}\frac{S^2}{S^4}$	$\frac{S^1}{S^3}\frac{S^2}{S^3}\frac{S^1}{S^4}\frac{S^2}{S^4}$
S^1S^3		no F_1				
S^2S^3			no F_1			
S^1S^4				no F_1		
S^2S^4					no F_1	
S^3S^4						no F_1

جدول (٣-٢) احتمالات الإخصاب الكلي والإخصاب الجزئي والعقم الكلي لدى تقابل مذويات التنافر، وعدم التنافر في حبات الطلع والبويضات.

٣-٤-٢-٣ بعض الفرضيات المفسرة لآلية عدم التوافق الذاتي :

لقد حاول East (١٩٣٤) تفسير حدوث التنافر الذاتي في نبات التبغ من الناحية الفيزيولوجية على أساس وجود بعض مواد في نسيج القلم، تتفاعل مع مواد أخرى في الأنبوب الطلعي لدى النباتات التي تتصف بالتنافر ، كما ذكر أيضاً أن هذه المواد توجد متجمعة في منطقة محددة في القلم، لأن سرعة نمو الأنبوب الطلعي تقل عندما تصل إلى هذه المنطقة، ثم تتزايد إذا تجاوزتها . ويعتقد Riley (١٩٣٤-١٩٣٦) أن هذه المواد المانعة توجد في نفس المياسم وخصوصاً في أطراف الشعيرات المحمولة على المياسم لأن حبات الطلع التي وضعها على المياسم لم تنم على الإطلاق .كما استنتج (yasuda ١٩٣٤) من تجاربه على نبات البيتونيا أن المواد المانعة تتكون في المبيض، ومنه تصعد إلى الميسم فإذا وصلت إلى المياسم مبكراً منعت نمو الأنبوب الطلعي، أما إذا وصلت إلى القلم فإنها تمنع الأنبوب الطلعي من اختراقه ، وإذا بقيت في المبيض فإنها تمنع نمو الأنبوب الطلعي في المبيض .كما ذكر yasuda أيضاً أن التنافر الذاتي يكون ضعيفاً في الحالات التي تكون فيها كمية المادة المفرزة ضئيلة .وذكر Allard ١٩٦٠م في تجاربه أن التفاعل التنافري مركز في الميسم، بدليل أن حبات الطلع قد عجزت عن الإنتاش عندما سقطت على مياسم النباتات المجرب عليها، أو عجزت عن اختراقها، في حين أن إزالة سطح الميسم قد جعل حبات الطلع تنتش، ويتم الإخصاب. وقد أوضح East أن المواد المانعة لا توجد في البراعم الزهرية الصغيرة، ويستدل على ذلك من نجاح عملية التلقيح الذاتي لنباتات التبغ العقيمة ذاتياً عندما لقح البرعم ذاتياً (يدوياً) قبل تفتح الزهرة بفترة تتراوح من ٢٤ إلى ٤٨ ساعة ، كما وجد East أيضاً أن التلقيح الذاتي لهذه النباتات العقيمة ينجح إذا أجري قرب نهاية

موسم الإزهار، وفسر ذلك على أساس أن هذه النباتات لا تنتج كمية كافية من المواد المانعة للإخصاب في الطور المتأخر من الإزهار، لذلك يتم الإخصاب.

٣-٤-٢-٤ التغلب على التنافر في برامج تربية النبات :

يحتاج المربي الذي يعمل في تربية المحاصيل، التي تتصف بظاهرة عدم التوافق الذاتي أو الخلطي، إلى اتباع بعض الوسائل التي تساعده لتحقيق أهدافه في التربية، ومنها :

١- إضافة صفة الخصب الذاتي، وذلك عن طريق التهجين بين النباتات التي تحمل صنويات التنافر الذاتي مع النباتات التي تحمل صنويات الخصوبة S_fS_f (Fertility = F) وتفيد إعادة الخصوبة في تمكين المربي من إجراء التربية الداخلية للحصول على سلالات نقية، ثم التهجين فيما بينها للحصول على الهجين المناسب .

٢- التلقيح في الطور البرعمي Bud pollination أي وضع حبات الطلع الناضجة على المياسم غير الناضجة، لأن ذلك يسمح في بعض الأحوال للأنبوب الطلعي بطيء النمو ،بسبب وجود عوامل التنافر ، بالوصول إلى المبيض قبل نضول الزهرة. ولقد نجحت هذه الطريقة في التبغ، والبيتونيا، والشوندر السكري، واللفت، والفجل، حيث يجري التلقيح في هذه الحالة قبل تفتح البرعم الزهري بـ ٤٨ ساعة.

٣- التلقيح قرب نهاية موسم الإزهار، حيث لوحظ في التبغ نجاح التلقيح الذاتي في نهاية الموسم على الرغم من وجود التنافر،

وفسر ذلك بتكون المواد المانعة بنسب قليلة قرب نهاية موسم الإزهار .

٤- التلقيح في درجات الحرارة المنخفضة – حيث ذكر Lawrence ١٩٥١ م أن هذه الطريقة قد نجحت في التغلب على عدم التوافق في بعض الحالات .

٥- معالجة الميسم بمعاملات مختلفة قبل وضع حبات الطلع عليه، مثل إزالة سطح الميسم قبل وضع الحبات ، وهذا ساعد على إتمام الإخصاب .

٦- استحداث الطفرات صناعياً بقصد الحصول على طفرات خصبة ذاتياً.

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الرابع
طرائق التربية وأهميتها في تحسين الأنواع النباتية

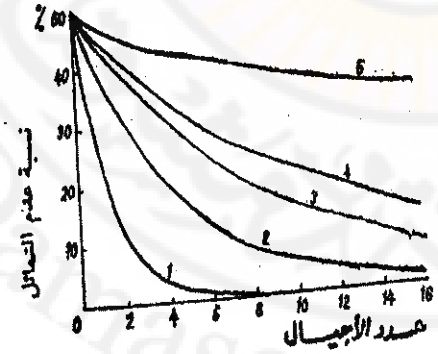
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

يوفر التهجين إمكانيات أكبر بكثير من الإمكانيات، التي توفرها أي طريقة أخرى لتحسين النباتات، حيث يتيح الفرصة لتجميع الصفات المرغوبة من سلالتين، أو أكثر في صنف واحد . وكان العالم الألماني Kolereuler 1960 من أوائل الذين استعملوا التهجين عملياً في تحسين النباتات، ولكن استخدام التهجين في تربية النبات لم يأخذ الأهمية العملية إلا بعد اكتشاف القوانين المندلية، وعملية التوارث، وهكذا فالتهجين طريقة تتبع لإنتاج نبات عن طريق التهجين الصناعي بين أبوين مختلفين وراثياً في صفة، أو عدة صفات، وعلى ذلك وفقاً للمبادئ والمفاهيم التي أفرزتها عمليات التهجين يمكن أن تسلك التربية طريقتين داخلية أو مغلقة Inbreeding ، وخارجية أو مفتوحة Outbreeding.

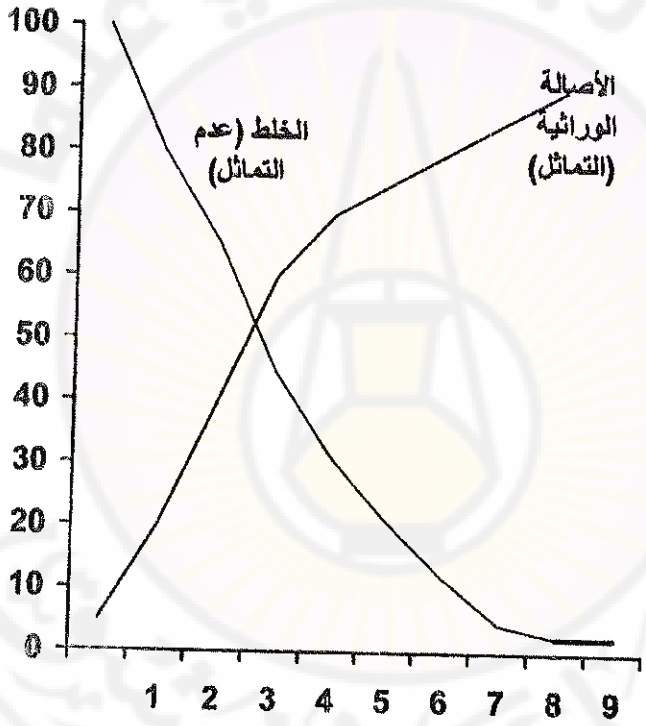
٤-١ التربية الداخلية :

وهي التي تتمثل بالتهجين بين الأفراد التي تربطها صلة قرابة، ويعد التلقيح الذاتي في النبات من أشد أنماط التربية الداخلية، ويظهر أثر التربية الداخلية بعد مرور عدد قليل من الأجيال (شكل ٤-١).

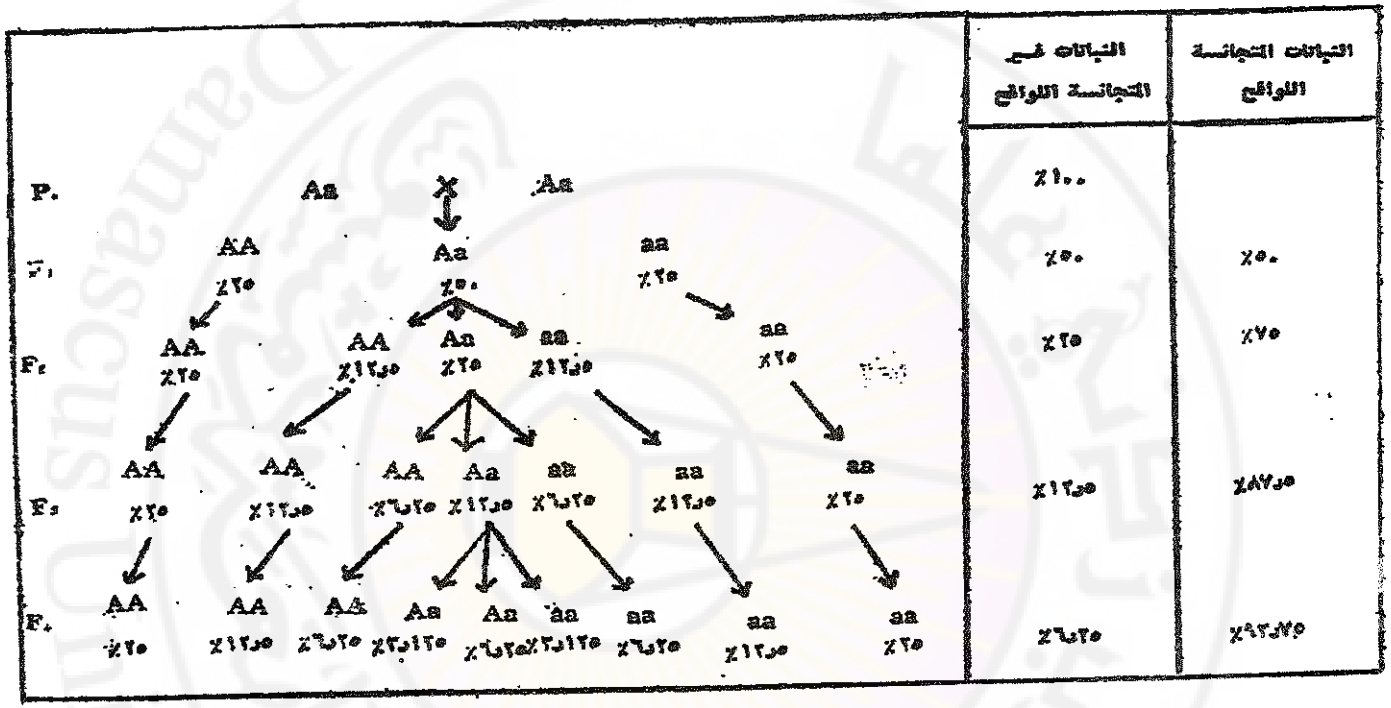


شكل (٤-١) النسبة المئوية المتوقعة لظهور الأفراد غير المتماثلة (Aaمثلاً) ربطاً مع درجة القرابة عبر الأجيال المتتالية .
(لاحظ أنه كلما زادت درجة القرابة زاد التماثل، والعكس صحيح)

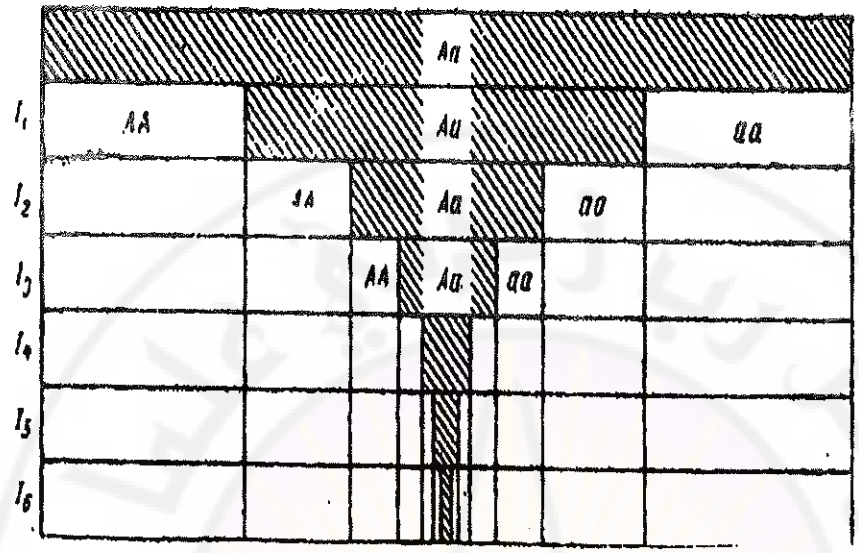
تهدف التربية الداخلية إلى الحصول على سلالات نقية وراثياً، بحيث لا يتبدل نمطها الورثي حين إكثارها . وتميل النباتات الناتجة عن التربية الداخلية إلى التدهور أو الكساد Inbreeding depression بسبب تزايد النمط الورثي المتماثل (الطفرات المتنحية) وتناقص الحالات غير المتماثلة، كما في الخط البياني (شكل ٤-٢) والمخطط النسبي (شكل ٤-٣) والنموذج التخطيطي (شكل ٤-٤).



شكل (٤-٢) مخطط بياني يوضح تزايد التماثل وتناقص عدم التماثل في التهجين الذاتي
(تربية داخلية) عبر الأجيال.



شكل (٤-٣) مخطط تهجيني نسبي يوضح تزايد التماثل وتناقص عدم التماثل لدى التهجين الذاتي عبر الأجيال.



شكل (٤-٤) رسم تخطيط يوضح وضع التماثل، وعدم التماثل لدى التربية الداخلية.

وتتجلى حالة الكساد بتدهور كل من قابلية الحياة، وإنتاجية المحصول، والنبات تجاه الأمراض وغيرها ....وهذا ما أثبته جونسن، حيث عرض نبات الذرة إلى الإلقاح الذاتي لمدة (١٥) جيل (شكل ٤-٥).



شكل (٤-٥) كساد الأجيال بعد التربية الداخلية في نبات الذرة عبر الأجيال

(النبات الأبوي قبل التربية على اليسار وبقية الأجيال السبعة على اليمين).

ويحسب التدهور لدى التربية الداخلية بالعلاقة $\frac{F_1 - F_2}{F_1} \times 100$ حيث F2,F1 متوسط الجيلين .

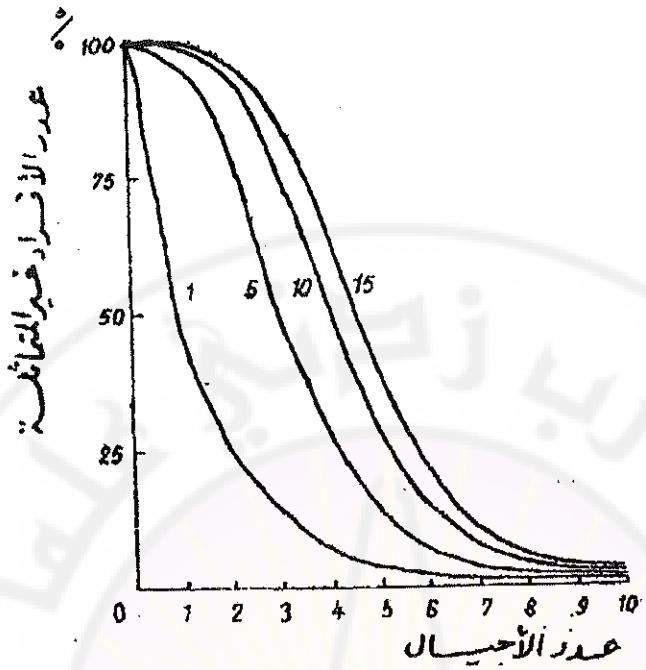
لقد ظهر الكساد لدى التربية الداخلية أيضاً في إنتاجية المحاصيل وفي أطوال النباتات (جدول ٤-١).

جدول (٤-١) أثر التربية الداخلية (تهجين مغلق) على إنتاجية المحصول وأطوال النباتات في صنفين من الذرة (مقدراً بوحدات نسبية) .

(تشير الأرقام إلى الكساد في كلا الصنفين المدروسين من الذرة).

عدد أجيال التربية الداخلية	صنف (A)		صنف (B)	
	الطول	المحصول	الطول	المحصول
صفر (شاهد)	١١٧	٧٥	١١٧	٧٥
١-٥	٨٧	٦٤	٧٧	٤١
٦-١٠	٩٧	٤٥	٨٢	٣٤
١١-١٥	٩٧	٣٨	٨٢	٢٨

كما تبين أن انخفاض نسبة النباتات غير المتماثلة (Aa) لدى التربية الداخلية مع مرور الأجيال ترتبط بعدد الأشفاع المورثية في النبات شكل (٤-٦) .



شكل (٤-٦) مخطط بياني يوضح علاقة عدد الأشفاع المورثية في النبات مع التماثل، وعدم التماثل لدى التربية الداخلية ربطاً مع الأجيال (لاحظ التناسب العكسي : كلما قل عدد الأشفاع المورثية زادت نسبة التماثل، والعكس صحيح).

٤-٢ التربية الخارجية Outbreeding :

يقصد بالتربية الخارجية التزاوج بين فردين لا يوجد بينهما درجة قرابة، والتأثير الوراثي لهذه الطريقة من طرق التربية هي – بوجه عام – عكس ما وجدناه في التربية الداخلية ، فالتربية الخارجية تعمل على زيادة نسبة عدم تماثل المورثات للأفراد .

كما أنها تسبب – ولا سيما في بدايتها – تشابه أفراد الجيل كله، وبالتالي لا تسمح التربية الخارجية بظهور مظاهر مميزة في النوع الواحد – لأنه كلما ظهرت – عادت، واندمجت في باقي أفراد المجتمع النباتي، والفائدة العملية

للتربية الخارجية تعتمد في أن الصفات المرغوبة فيها سائدة على الصفات غير المرغوب بها ، وتبعاً لذلك فإن التربية الخارجية، وإن رفعت إجمالاً قيمة الأفراد في متوسطها، إلا أنها تخفض من قيمة الأفراد الممتازة في إنتاجها – والنتائج الجيدة التي يحصل عليها المربي من إتباع التربية الخارجية هي الحصول على أفراد عالية الإنتاج عن قيمة الأبوين في متوسطهما ، تسمى هذه الظاهرة باسم قوة الهجين Hybred vigor أو Heterosis وهذه الظاهرة لا تتحقق إلا إذا كان كل من الأبوين ناتجين عن تربية داخلية مستقلة . أو بمعنى آخر أن كلاً من الأبوين مختلف عن الآخر وراثياً ، وعليه فإن أفراد هذا الجيل تكون أكبر حجماً، وأسرع نمواً، وأعلى محصولاً من متوسط الأبوين .

٤-٣ الاستفادة من طرق التهجين :

يتم اللجوء إلى التهجين بغرض تحسين المحاصيل لتحقيق الأغراض الثلاث الآتية :

١- تجميع مجموعة من الصفات الجيدة الموجودة في مصدرين في صنف واحد .

٢- زيادة مدى الاختلافات الوراثية عن طريق إحداث مزيد من الأنماط المورثية الجديدة .

٣- الاستفادة من ظاهرة قوة الهجين .

ويتضح أنه في الحالتين الأوليتين يكون الهدف إيجاد المزيد من الاختلافات صناعياً عن طريق تجميع العوامل الوراثية الجيدة من عدة مصادر، وتكون هذه الاختلافات بمثابة المادة الخام حتى تفيد مربي النبات، حيث يكون لديه الفرصة لانتخاب الأنماط المرغوبة، أما الغرض الثالث فيتيح الفرصة لاستعادة القوة التي تكون قد فقدت أثناء إجراء التربية الذاتية لمحصول هو بالأساس خلطي

التلقيح، كما أنه يفيد أيضاً في تحسين مستوى الإنتاج عن طريق تركيز الأنماط المورثية المرغوبة وتجميعها معاً .

٤-٤ ظاهرة قوة التهجين Heterosis :

عندما تتزاوج سلالتان من سلالات التربية الداخلية متباعدتين وراثياً مع بعضهما، فإن البذور الهجينة الناتجة تعطي نباتات غالباً ما تكون قوية، وذات إنتاجية عالية، وذات تحمل أكبر وارتفاع في قيم الصفات، وهذا الامتياز عن الآباء يطلق عليه قوة الهجين . وهي عبارة عن القوة المتزايدة والتفوق في النمو والمحصول والعمليات الفيزيولوجية للنبات الهجين إذا ما قورن بالأبوين . ويلاحظ أن التهجين هذا يعطي قوة هجين بينما التربية الداخلية لنبات خلطي التلقيح تعطي سلالات التربية الداخلية، التي تكون في الغالب أضعف إنتاجية، وهذا الانخفاض الراجح في الإنتاجية للتربية الداخلية يطلق عليه Inbreeding depressien أي أنه يمكن القول بأن التهجين وما يصحبه من قوة تهجين يكون عكس التدهور الراجع للتربية الداخلية .

أما قوة الهجين فلا تأتي من مجرد التهجين، وإنما من اجتماع المادة الوراثية غير المتشابهة .

وقد تحدث الباحث Shull ١٩١٤ م عن مصطلح قوة الهجين Heterosis (اختصار Heterzygosis) منوهاً إلى الفائدة الاقتصادية الكبرى التي تتمتع بها أفراد الجيل الأول القوية بأشكالها وحيويتها مقارنة مع آبائها التي نشأت عنها . وقد تبين لدى تأبير الأزهار المؤنثة في الذرة (طوله ١٨٠ سم) بحب طلع صنف آخر من الذرة (١٨٠سم) كانت أفراد الجيل الأول من أطوال(٢٠٠سم) مع زيادة ملموسة بحجوم العرانيس . لكن هذه

الزيادة سرعان ما تتلاشى في الأجيال القادمة لدى الإلقاح الذاتي نتيجة الكساد (الذي تم ذكره سابقاً) كناتج للتربية الداخلية . (شكل ٤-٧).



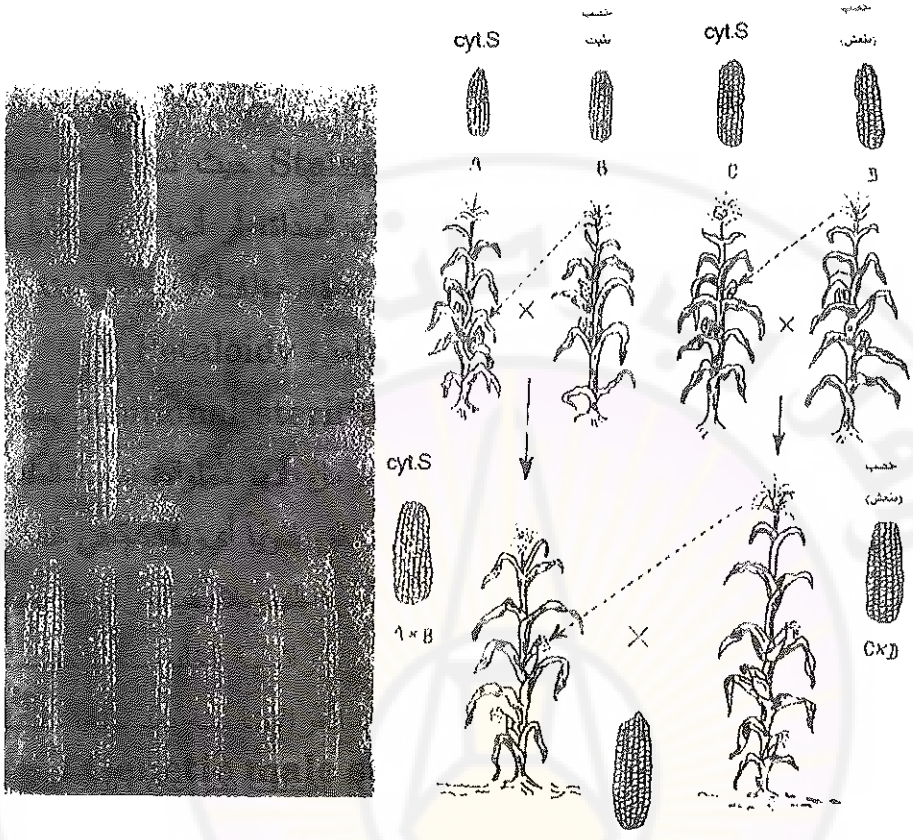
شكل (٤-٧) ظاهرة قوة الهجين في نباتات الذرة
(لاحظ إلى اليسار الأبوان ١و٢ والجيل الأول٣ الذي يبدو أكثر طولاً من أبويه).

والذي يحصل نتيجة إنقاص خلط الأجيال الناتجة عن التربية الداخلية، وبحسب معطيات Shull فإن إنتاجية البذور انخفضت في الجيل الثاني بالمقارنة مع قوة الهجين إلى ٣٥% وفي الجيل الثالث إلى ٥٠% (شكل ٤-٨) .



شكل (٤-٨) نباتات الذرة الأبوية والجيل الأول المتمثل بقوة الهجين ، وإلى اليمين عرانيس كل منهما.

وفي الأيام الأخيرة استغنى العلماء عن استعمال بذور الهجائن البسيطة العائدة لنباتات الجيل الأول، لأن الوقت الضائع في الحصول على مثل هذه البذور لا يمكن تعويضه . ولذلك يلجأ العلماء حالياً إلى زراعة بذور محسنة ناتجة عن التهجين المضاعف بين السلالات، حيث ترتفع إنتاجية الناتج بنسبة ٤٠-٨٠% (شكل ٤-٩) .



شكل (٤-٩) الحصول على هجائن بين نوعية في الذرة (الهجين المضاعف)
إلى اليمين صورة فوتوغرافية ،إلى اليسار مخطط الحصول على الهجين المضاعف .

إن استعمال قوة الهجين في الانتخاب يضعنا أمام مشكلة زوال القوة التهجينية، وتعد عملية تثبيت قوة الهجين في الأجيال من أهم المشاكل الوراثية في التربية، ومن أهم طرق تثبيتها نقلها من حالة التكاثر الجنسي إلى التكاثر اللاجنسي، على الرغم من أن هذه الطريقة لا تطبق إلا عند بعض الأنواع

النباتية. ويمكن تفسير قوة الهجين في الجيل الأول وفقاً لبعض الفرضيات، نذكر منها :

٤-٤-١- فرضية قوة السيطرة :

إن التهجين بين سلالات التربية الداخلية يؤدي إلى تكوين هجن تختفي فيها الصنويات المتنحية الضارة بوساطة غطاء من الصنويات السائدة الواردة من الأب الآخر. وتتوقف درجة الاستجابة للتهجين على الأنماط الوراثية للسلالات. فمثلاً لدى تهجين سلالات أبوية صافية من الشكل AAbbCCdd × aaBBccDD نحصل على الجيل الأول (F_1) الهجين الذي يكون من الشكل AaBbCcDd والذي يتمتع بقوة هجين واضحة .

ووفقاً لمبدأ السيطرة نتوقع أن يكون الهجين أفضل، لأنه لو فرضنا أن التركيب المتنحي (bb مثلاً) يقدم وحدة قوة والسائد (AA مثلاً) يقدم وحدتين من القوة يكون الناتج للأبوين والجيل الأول كما يأتي :

$$P_1(6) \times P_2(6) \longrightarrow F_1(8)$$

ويفترض أن المورثات المسيطرة تتمتع بإمكانية أفضل، حيث تتقوى من خلالها العديد من الصفات الكمية، والتي تبدي مظهراً من مظاهر قوة الهجين . ومن المفترض أيضاً أن المورثات المسيطرة تملك أثراً تراكمياً أو تجمعياً بالنسبة للكثير من الصفات الكمية، والتي بوساطتها تظهر قوة الهجين (F_1) .فمثلاً إذا كان نمو صفة ما يقع تحت إشراف مورثتين مسيطرتين B و A فإنه في الهجين الناتج عن التأبير لسلالتي كلا هاتين المورثتين سيعطي ناتجاً أكثر قوة منهما .

لقد لوحظ الأثر التراكمي بشكل جيد لدى تهجين صنفين من البازلاء، حيث كانت هجائن الجيل الأول أطول من أبويها، ولتفسير ذلك تبين أن طول ساق

البازلاء في الأبوين يقع تحت تأثير شفعين مسيطرين من المورثات، الأول يحث على إحالة المسافات بين العقد، والثاني يزيد من عددها (شكل ٤-١٠) .



(شكل ٤-١٠) ظاهرة قوة السيطرة لتفسير قوة الهجين المرتبطة بطول ساق البازلاء للجيل الأول، والذي يتمثل باجتماع مورثتين مسيطرتين (A) مسؤولة عن طول السلاميات و (B) مسؤولة عن زيادة عدد السلاميات.

٤-٤-٢- فرضية فوق السيطرة :

تفسر قوة الهجين بالتفاعل بين الصنويات المختلفة العائدة للشفع المورثي الواحد، ففي حالة الصفات الكمية (التراكمية) نجد أن قوة الهجين تزداد بزيادة عدم التماثل مقارنة مع التماثل أي : AA < Aa > aa

ويمكن تفسير ذلك بأن التركيب (aa) يعطي أثراً مـا و (AA) يعطـي أثـراً آخر، أما التركيب (Aa) فيعطي الأثرين معاً .

مثال ١ : في الذرة إذا كان النمط الورثي الأول (R_1R_1) أحمر اللون، والنمط الثاني (R_2R_2) أحمر اللون، فإن النمط غير المتماثل R_1R_2 يكون أكثـر شـدة باللون من كليهما .

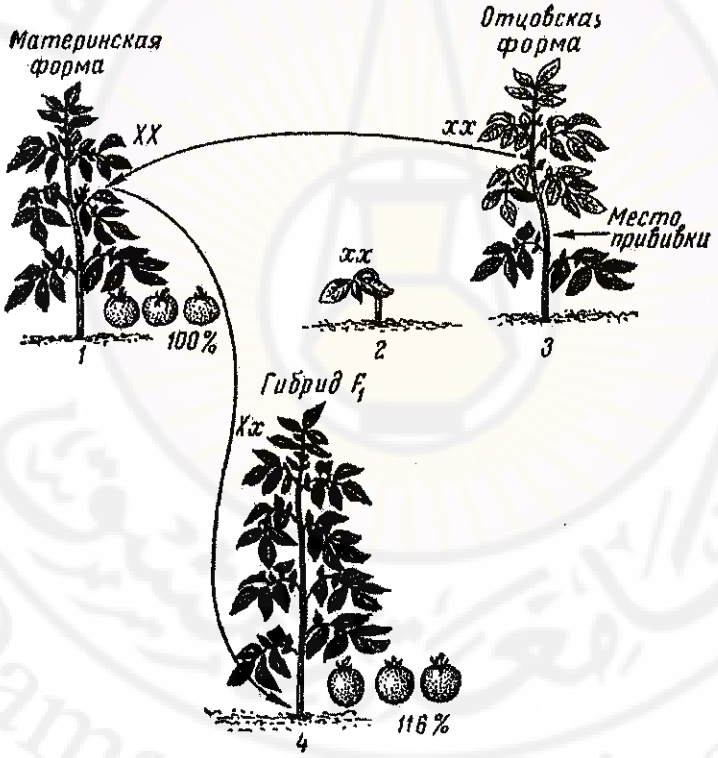
مثال ٢ : تبين من الدراسة أن نباتات الكتان من النمط M_1M_1 تكـون مقاومـة للسلالة رقم (١) من فطر الصدأ، والنباتات من النمط M_2M_2 تكـون مقاومـة للسلالة رقم (٢) من الفطر، أما النباتات من النمط الخليط M_1M_2 فـستكون مقاومة للسلالتين معاً (١) و(٢) من الفطر.

بشكل عام يمكن القول إن النباتات المتماثلة للنمط الأول تنتج كمية قليلة من مادة معينة والتركيب المتماثل الآخر ينتج كمية أكثر من هذه المادة، فـإن التركيـب الخليط غير المتماثل ينتج الكمية المثلى (الأكثر من كليهما) .

فمثلاً إن النمط (a_1a_1) ينتج كمية (x) من المادة والنمط (a_2a_2) ينتج كمية (y) من المادة، وبالتالي التركيب (a_1a_1) ينتج الكمية (z) من هذه المادة .

ويمكن أن تلاحظ قوة الهجين الأحادية في تلك الحالات التي تشكل فيها المورثة المتنحية عاملاً مميتاً في الحالة المتماثلة . وعلى سبيل المثال عن قوة الهجـين متعدد التهجين في البندورة من أعمال الباحث البلغاري الوراثي (داسكالوف) . ففي أحد الأصناف اكتشفت الطفرة اليخضورية (يصفور Xantha) . ووجـود هذه المورثة المتنحية بالحالة المتماثلة يمنع تشكل اليخضور والتركيب الضوئي، وتموت النباتات بعد إنتاش البذور الحاملة لها بعدة أيام . ويمكن التغلـب علـى ذلك بالنسبة لهذه النباتات بطريقة تطعيمها على نباتات خضراء طبيعية . عندها يستعمل النبات الطافر مواد النبات المطعم عليه، وينمو بشكل طبيعي، ويـشكل أزهاراً خصبة . مثل هذه الأزهار تزاوجت مـع النبـات الأخـضر الطبيعـي،

وأعطت هجيناً من الصنف نفسه. وبزراعة البذور الناتجة من هذا الهجين تم الحصول على نبات بذوره أكثر قوة من الصنف الأصلي . هذه النباتات الهجينة تميزت عن العادية باحتوائها على مورثة واحدة من الطفرة (Xantha)، والتي توجد في الحالة غير المتماثلة، وبالتالي في هذه الحالة لوحظت ظاهرة قوة هجين عادية أحادية . شكل (٤-١١)



(شكل ٤-١١) تجربة داسكالوف على البندورة، وإثبات قوة هجين بطريقة التطعيم
(الشرح في النص)

إن ظاهرة قوة الهجين تبدو كظاهرة بيولوجية معقدة، ولا يمكن تفسيرها فقط من خلال فرضيتي السيطرة وفوق السيطرة ، فقد أشـــار Ashby ١٩٣٠ م إلى وجود أسس فيزيولوجية لهذه الظاهرة، وانتهى إلى القول أن قـــوة الهجـــين ترجع إلى زيادة في حجم الجنين المبـــدئي، وكـــذلك East و Wang ١٩٤٧ م أثبتوا أن الزيادة في الأندوسبيرم والجنين تحدثان كإحدى نتائج قوة الهجين .

كما اقترح Michaelis و Shull و Denis أن الـــسبب الفيزيولـــوجي لقوة الهجين يرجع إلى التفاعل الموجود بين الأنظمة الموجودة في السيتوبلاسمى والنواة.

وفي استكمال لذلك فقد رأى بعض العلماء أن فكرة النمو المتفوق للهجين يتطلب مزيداً من الطاقة الحيوية، حيث من المعروف أن الطاقة المنطلقـــة إثـــر عملية التنفس تخزن بشكل مركب ATP الموجود في الجسيمات الكوندرية، ثـــم تنطلق الطاقة في صورة مفيدة بفعل أنـــزيم ATPase . وقـــد دلـــت أبحـــاث Srivastva التي تم اجراؤها عام ١٩٧٣ م في كل من النبات والحيوان علـــى أن: الميتوكوندريا الموجودة في الهجـــين المتفـــوق تكـــون ذات شـــكل متعـــدد polymorphic وأكثر كفاءة من نظيرتها الموجودة في الأبوين .

وبإجراء خلط بنسبة ١:١ من ميتوكوندريا مأخوذة من ســـلالتين لـــيس بينهما قرابة، يظهر تكاملاً عند قيامهما بعملية التنفس .

كما أظهرت التجارب أن نشاط أنزيم الـــ ATPase له علاقة مباشـــرة بظاهرة قوة الهجين، حيث إن الهجين يعطي مظاهر القوة، لأنه يحـــافظ علـــى مستوى أعلى من إنتاج الطاقة وتخزينها في صورة ATP ، وكـــذلك مـــستوى أعلى من إطلاق الطاقة من ATP عن طريق نشاط أنزيم ATPase مما يمكنه

من النجاح في إمداد الخلايا بمزيد من الطاقة، التي تحتاجها للنمـو، والتنـامي السريع .

٤-٥- دور طفرات التهجين النوعي (الخلطي) في تربية النبات :

سبق دراسة التغيرات الطفرية والعددية للصبغيات، ودورها في التربية، وهنا نعالج دور الطفرات في تربية النبات، من حيث استخدام هذه المبادئ فـي إنتاج أنواع اقتصادية، والتحسين الوراثي لها . وينجم عن التهجين بين الأنـواع أو الأجناس طفرات على شكل عقم الجيل الأول، الذي يرجع إلى سببين :

١. عقم وراثي Genetic sterility ومرده إلى وجود اختلافات بـين مورثـات الأبوين الداخلين في الهجين، وبالتالي عدم قدرة النبات على إنتاج الأزهـار وعرقلة الانقسام المنصف .
٢. عقم صبغي Chromosomal sterility ومرده إلى الاختلافات فـي عـدد صبغيات الأبوين، والاختلاف الكبير يعرقل عملية تشافع هـذه الـصبغيات، مما يؤدي إلى عرقلة الانقسام المنصف، وإعطاء أعراس عقيمة .

ومن الطرق العديدة في التغلب على عقم هجائن الجيل الأول نذكر :

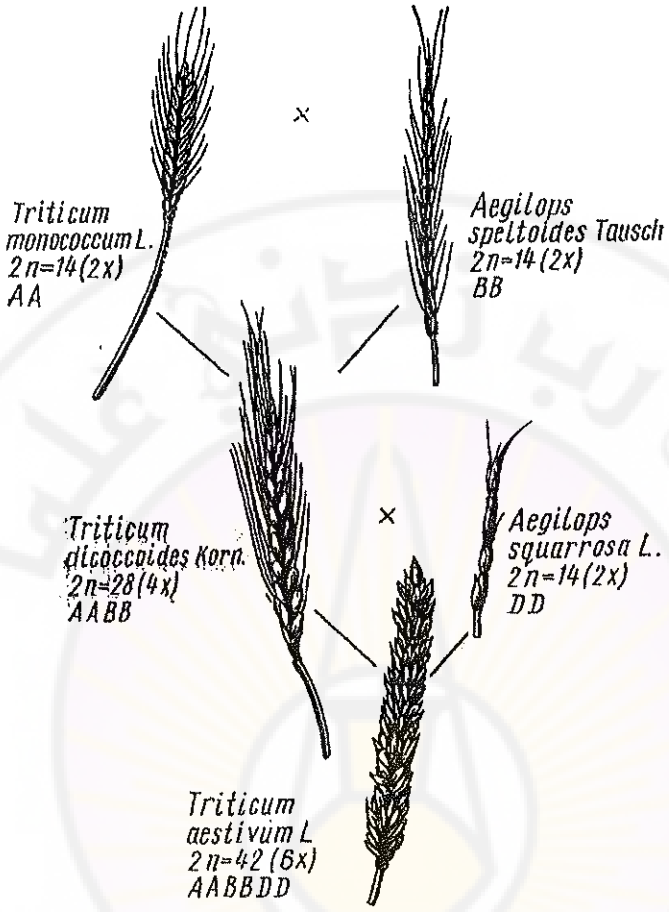
١- تهجين الجيل الأول مع أحد الأبوين (هجونة رجعية) أو مع كليهما، فقـد نحصل على بعض النواتج الخصبة .
٢- مضاعفة العدد الصبغي العائد لأفراد الجيل الأول .
٣- تطعيم الجيل الأول العقيم على أصل أحد نوعي الآباء، أو على جنس آخر .

ويمكن توضيح بعض الأمثلة حول دور الهجونة النوعية (الخلطية) في تربيـة النبات .

٤-٥-١- أصل القمح الطري :

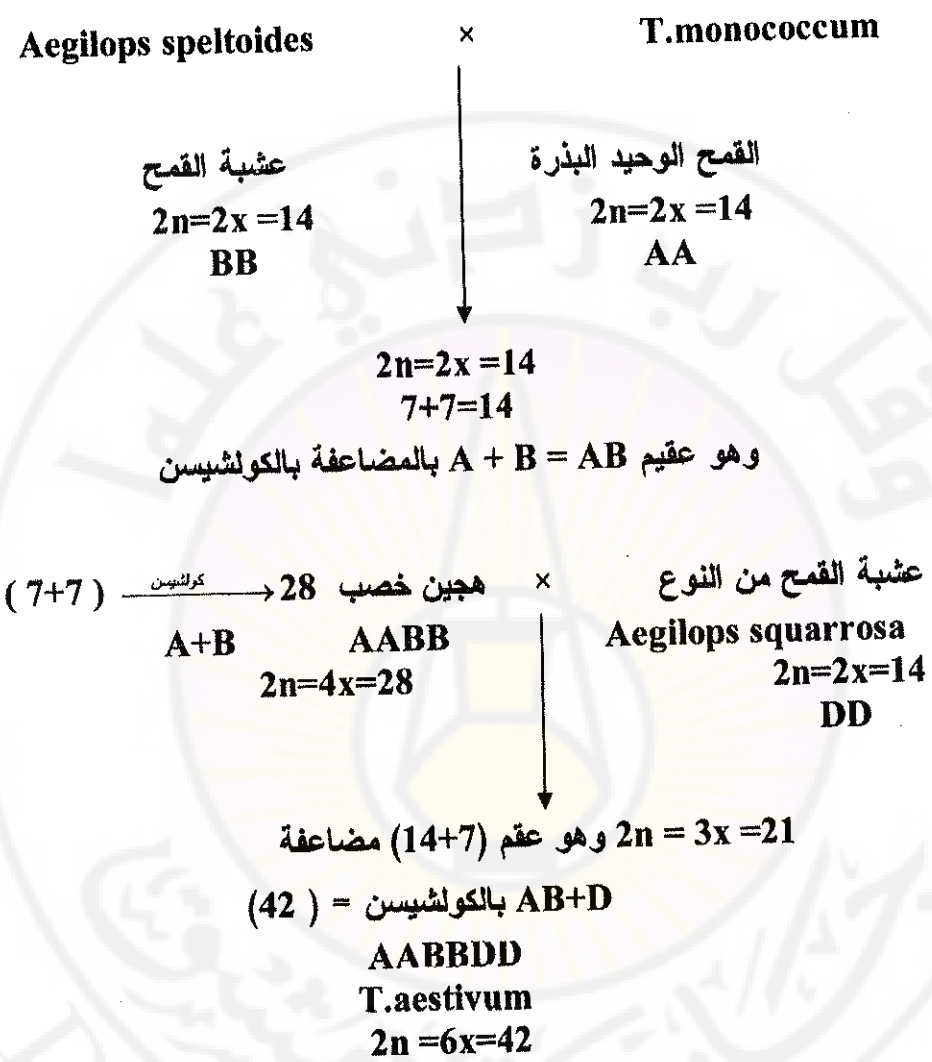
بالتهجين بين القمح وحيد البذرة (من الأصول الوراثية) Triticum monococcum حامل الجينوم AA(2n=2x=14) مع الدوسر (أحد أعشاب القمح) Aegilops speltoides حامل الجينوم BB (2n=2x=14) تم الحصول على الجيل الأول حامل الجينوم AB وقد بدا عقيماً . وبمضاعفة صبغيات الجيل الأول تم الحصول على نبات خصب جينومه AABB وهو القمح الصلب (قمح المعكرونة) T . dicocoides (2n=4x=28) .

وبتهجين القمح الصلب مع الدوسر من النوع A.squaurrosa حامل الجينوم DD تم الحصول على هجين عقيم أيضاً جينومه ABD ، وبمضاعفة صبغياته تم الحصول على القمح الطري، أو قمح الخبز T. aestivum جينومه AABBDD وهو من الشكل (2n=6x=42) . والملاحظ أن العدد الأساس للأنواع الثلاثة الداخلة في هذه التهجينات هو (7) x=7 (شكل ٤-١٢) .



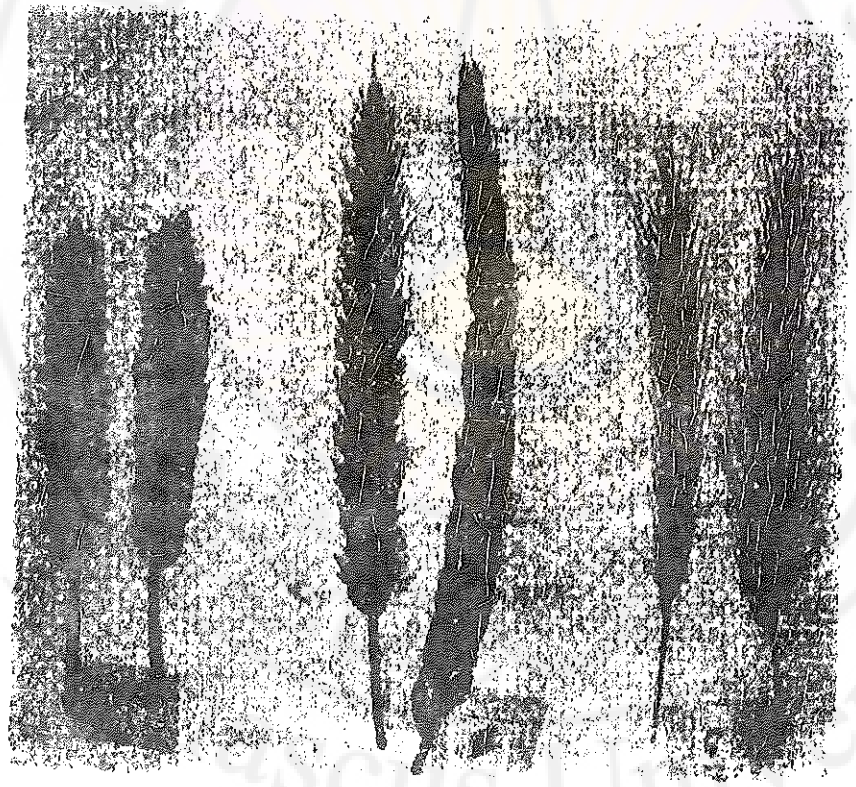
شكل (٤-١٢) توضيح خطوات الحصول على القمح الطري بطريقة التهجين النوعي
(أو الخلطي)

ويمكن متابعة مخطط التهجين فيما يأتي :



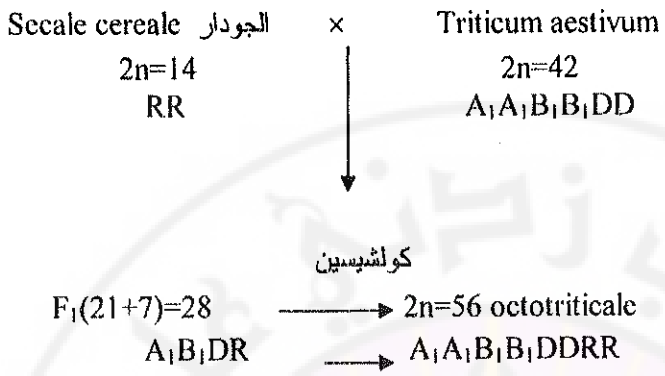
٤-٥-٢- هجونات القمح مع الجودار :

أ- بعد أن تم الحصول على القمح الجوداري Triticales الرباعي وذلك لدى تهجين القمح الثنائي (2n=14) مع الجودار الثنائي (2n=14) ومضاعفة الجيل الأول العقيم ، نجحت محاولة الحصول على القمح الجوداري الثماني، وذلك بتهجين قمح الخبز الطري (2n=42) مع الجودار الثنائي (2n=14) فكان الجيل الأول عقيماً (2n=28) وبمضاعفته بالكولشيسن نتج النبات الهجين الخصب (2n=56) وهو قمح جوداري ثماني خصب Octotriticules (شكل ٤-١٣) .



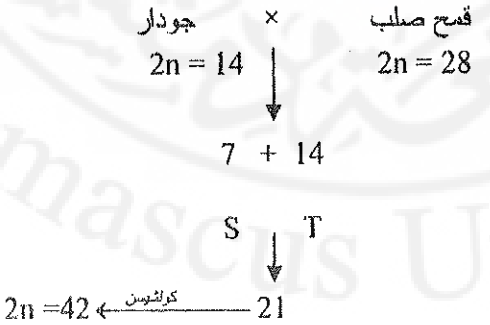
(شكل ٤-١٣) صورة فوتوغرافية توضح سنابل القمح الجوداري الثماني (B) والسنابل الأبوية وهي القمح (A) والجودار (C).

وفيما يأتي مخطط الحصول على القمح الجوداري الثماني :



هذا الهجين الخلطي يتصف بمحتوى عالٍ من البروتين ١٩-٢٣% والليزين وبوجود سنابل ضخمة، وبنمو سريع، وثبات اتجاه الأمراض . إن وجود الجينوم R في القمح الجوداري يعطيه تحملاً أكثر لبرد الشتاء مقارنة مع الأصناف الشتوية العادية للأقماح، لكن نتيجة لانخفاض الإخصاب، وكثرة عدد التنانرات المتعددة الصيغة، فإن تشكل البذور في القمح الجوداري الثماني يكون بحدود ٥٠%.

ب- لقد تم الحصول أيضاً على القمح الجوداري السداسي 2n=42 من تهجين القمح القاسي مع الجودار، ومن ثم المضاعفة بالكولشيسن.



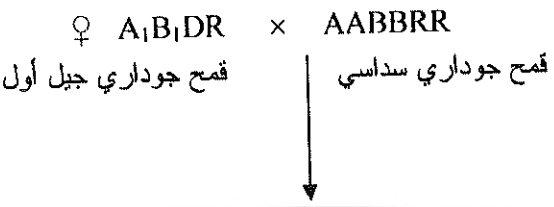
وتكون الصيغة الجنومية لهذا التهجين من الشكل :

$$AABB \times RR \longrightarrow ABR \xrightarrow{\text{تضاعف}} AABBRR$$

ت- لقد تمكن الباحثون (المربون) من الحصول على قمح جوداري Triticales يضم ٤٢ صبغياً، وهو عبارة عن هجين خلطي يضم ثلاثة أنواع، وذلك من تأبير هجائن F_1(قمح طري × جودار) بحب طلع القمح الجوداري السداسي . وأثناء هذه الهجونة يحصل إبعاد (إقصاء) الجينوم DDالعائد للقمح الطري بوجود الجينومات A_1 و B_1 من القمح الطري والجينومات B,A من القمح القاسي . وبالتالي يملك الهجين ثلاثي الأنواع المتشكل (١٤) صبغياً من الجودار و(١٤) صبغياً من القمح الطري و(١٤) صبغياً من القمح القاسي (AA_1BB_1RR) . وانطلاقاً من الجيل الثالث F_3فإن هذا القمح الجوداري لا ينفصل إلى الأنواع الأبوية الأصلية، ولكن تتبدل خصائصه إلى صفات مورفولوجية مستقلة للسنبلة، وبالخواص البيئية البيوكيميائية (المقاومة لبرد الشتاء ، محتوى البروتينات في البذور ....إلخ).

تشكل الجينومات المتقاربة فيما بينها أي A و B للقمح الطري والقاسي تزاوجاً خلطياً طبيعياً، والصبغيات الـ (١٤) للجودار تتشافع ذاتياً بالكامل، وبالنتيجة يسير الميوز في مثل هذا التريتيكال ثلاثي الأنواع سيراً طبيعياً ما عدا بعض التشوهات، حيث يعطي سنابل فيها نسبة عالية من البذور .

وفيما يأتي توضيح للمخطط التهجيني :



وهذا الناتج هو قمح جوداري ثلاثي الأنواع سداسي الصيغة، وقد تم استبعاد الجينوم D منه.

إن القمح الجوداري (42) صبغياً ثلاثي الأنواع، هو أول نوع تركيبي تم الحصول عليه بالنسبة للنباتات الاقتصادية، والذي يملك أهمية تطبيقية واسعة مقارنة مع القمح الجوداري (56) صبغياً. فهو أي (42) صبغياً الأكثر إخصاباً وإنتاجاً ، وهو الأفضل فيما يخص الانتخاب .

ومن الواضح فإن أشكال القمح ذات الأعداد الصبغية الأكثر من (42) تملك علاقات غير مناسبة للمادة النووية والسيتوبلاسمية ، ولذلك تنخفض قابليتها للحياة. ولإثبات ذلك نجد أنه في الطبيعة تختفي أنواع القمح ذات الأعداد الصبغية فوق الـ (42) صبغياً، وقد توقف تطور جنس القمح Triticum عند مستوى السداسي، ولم يحصل انتخاب القمح الثماني .

وقد ارتبطت الأبحاث المعاصرة الأخيرة على التريتيكال باستعمال الأشكال ذات الـ (42) صبغياً، وانحصرت أهميتها الكبرى لدى التهجين فيما بينها ، لا سيما تلك التي تملك في بنية جينوماتها أنواعاً مختلفة من الأقماح . وقد تميزت الأنواع الناتجة عن الانفصالات في F_2 بكثير من الصفات المورفولوجية والفيزيولوجية : أشكال السنابل ، ألوانها ، الحسكات ، الكثافة ، شكل البذور ، استمرار الطور الإعاشي ، الإنتاجية ، أطوال النباتات ... وغيرها .

ولدى تهجين الترتيكال (56) صبغياً مع (42) صبغياً تم الحصول على سنابل ضخمة جداً، وأشكال بذور ضخمة، وفي إحدى السنابل وجد (٨٠-٩٠) بذرة، وقد أعطي وزن (١٠٠٠) بذرة (٩٠) غرام طحين، مقارنة مع الأفضل بما يماثل هذه الحالة من محطة فير الدولية (٨٠) غراماً. إن الأقماح الجودارية (56) و (42) تستعمل أيضاً للتهجين مع أفضل أصناف القمح والجودار .

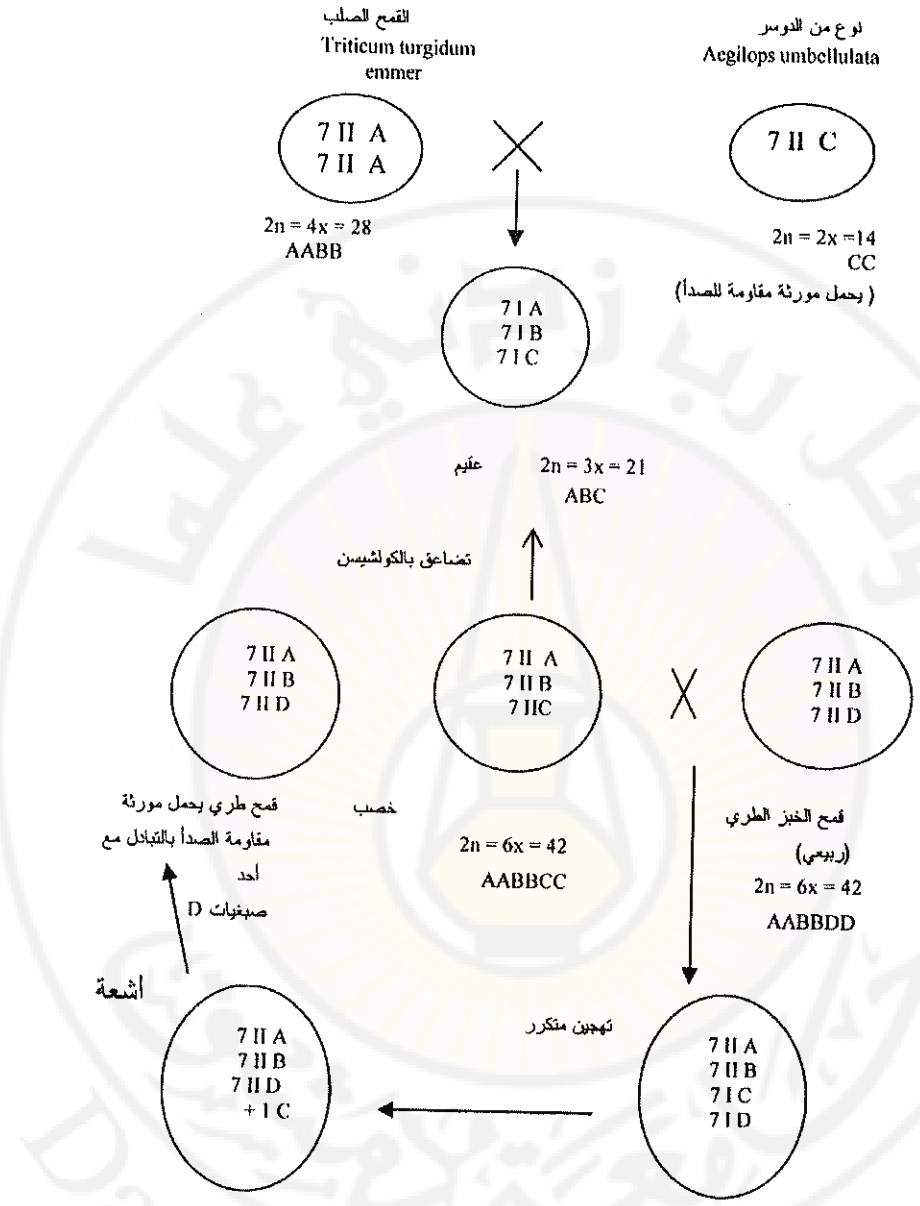
٤-٥-٣- الهجونة بين القمح والدوسر ودورها في التربية :

يتميز الدوسر (عشبة القمح) Aegilops umbellulta بوجود مورثة صفة مقاومة صدأ الأوراق ، وهي مورثة سائدة تنعدم في جينوم القمح الطري T.aestivum (AABBDD) ، وتحمل هذه العشبة الجينوم (CC) .

ويخفق التهجين بين الدوسر والقمح الطري، وبالتالي لا يمكن نقل مورثة مقاومة الصدأ المهمة إلى القمح الطري . وقد أوجد الباحثون طريقة فعالة وناجحة لنقل هذه المورثة، وذلك وفق الخطوات التالية :

أ- يتم تهجين القمح القاسي T.turgidum صنف (Emmer) (zn=4x=28) جينوم (AABB) مع الدوسر حامل مورثة الصدأ (2n=2x=14) جينوم (CC). فنحصل على هجين F_1 (ABC) عقيم . وبالتضاعف نحصل على هجين سداسي (AABBCC) ويعطي ناتج خصب جزئياً لدى تهجينه مع قمح الخبز الطري ، ومن محاولات التهجين المتكررة أمكن الحصول على هجين خصب مقاوم للصدأ يملك الجينوم (AABBCD) . ولتثبيت مورثة مقاومة الصدأ في جينوم القمح تم إجراء تهجينات رجعية متكررة، حيث كان منها تريسومي القمح (2n+1 = 43) جينومه (AABBDD+C_1) حيث حمل الصبغي الزائد من الجينوم (C) مورثة مقاومة

الصدأ . وبالمعالجة الإشعاعية حصل انتقال القطعة من الـصبغي (C) حامـل مورثة مقاومة الصدأ ، ومن ثم تبادلت مع قطعة من جينـوم القمـح، وحلـت محلها، وبذلك أمكن الحصول على قمح طري فيه مورثة صدأ القمح جينـوم (AABBDD) 2n =6x =42 شكل (٤-١٤) .



قمح طري فيه تناذر(زيادة صبغي من c)

$2n + 1 = 43$

$AABBDD + C_1$

هجين مقاوم للصدأ (خصب جزئياً)

$2n = 6x = 42$

AABBDC

مخطط يوضح الطريقة التهجينية لنقل مورثة مقاومة الصدأ من الدوسر إلى القمح الطري

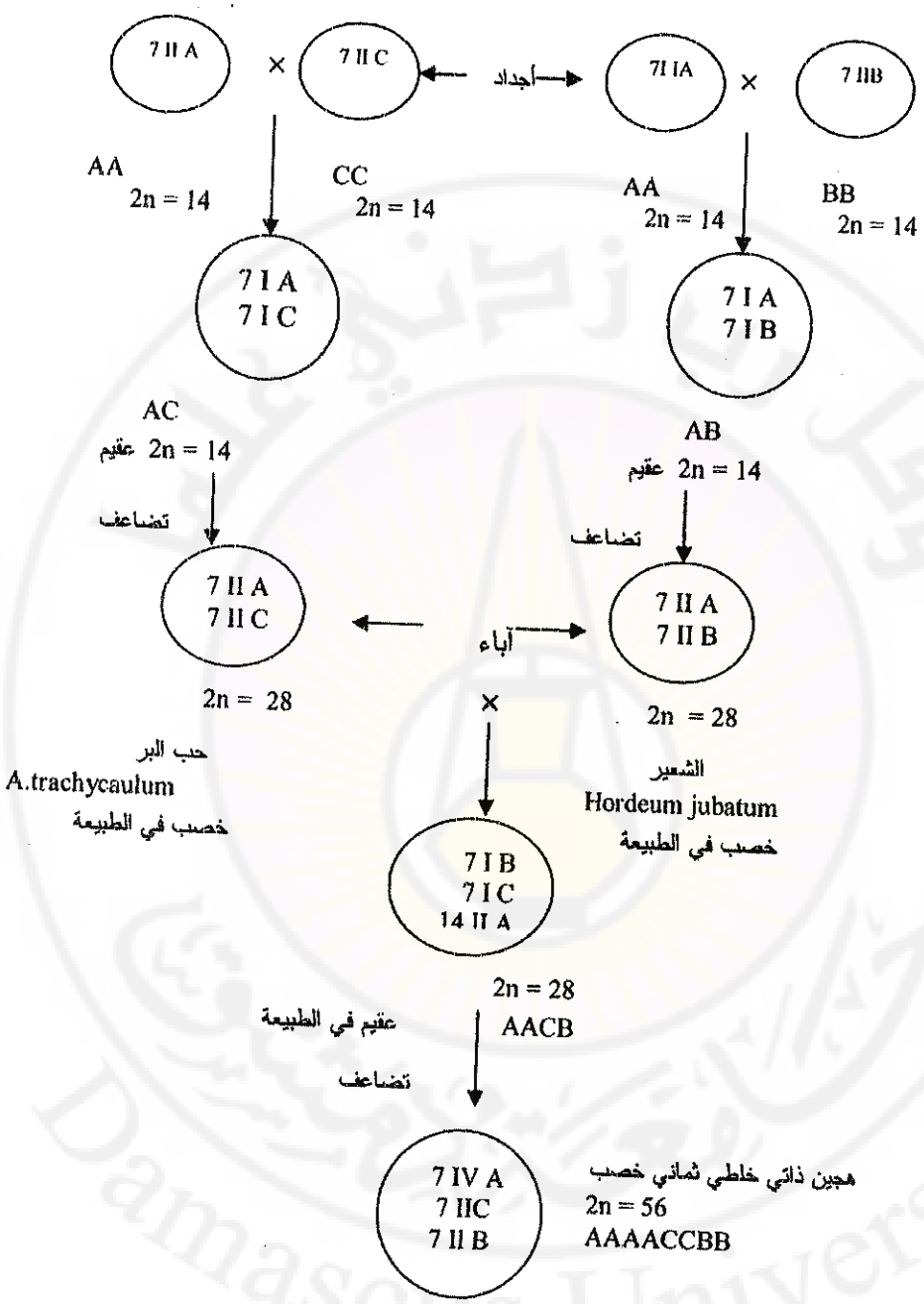
٤-٥-٤ التهجين بين أعشاب من النجيليات :

لقد تبين من خلال دراسة النجيليات المنتشرة في الطبيعة انتشار ظاهرة العقم لدى التهجين التلقائي فيما بينها، كما أشارت الدراسات المورفولوجية والسيتولوجية.

وهكذا ظهر العقم في الحقول لدى التهجين بين حب البر Agropyron trachycaulum × الشعير Hordeum jubatum ⟵ f_1 عقيم.

بالدراسة تبين أن كلاً من هذين النوعين رباعي خلطي 2n=28 وسبب عقم الجيل الأول (F_1) هو تشكل (١٤) اونيفالنت univlents (أحاديات) و (٧) بيفالنت Bivalents (ثنائيات) فتحصل هجرة غير طبيعية، وتتشكل نوى صغيرة.

وقد تمكن العلماء من إزالة هذا العقم بمضاعفة الجيل الأول بالكولشيسين والحصول على هجين ذاتي خلطي ثماني خصب Autoallooctoploid (شكل ٤-١٥) .



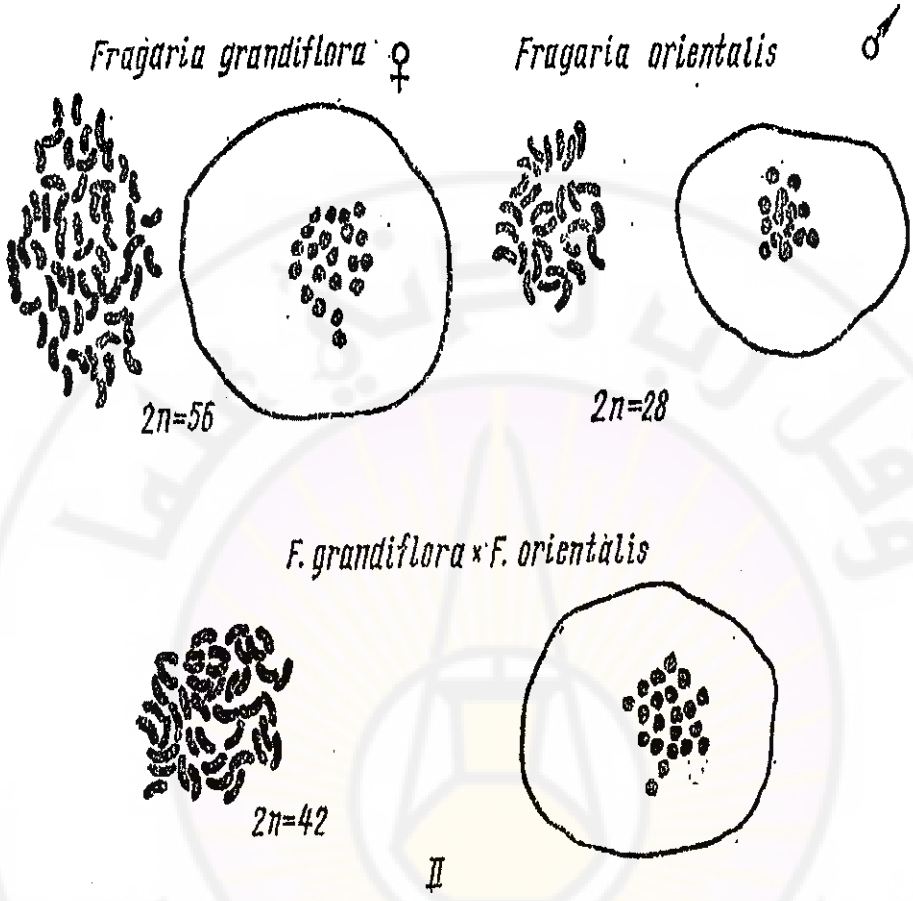
شكل (٤-١٥) التهجين بين الأعشاب في الطبيعة والتي تشترك ببعض الجنومات (مثل الجنوم AA)، والحصول على هجائن خصبة خليطة ذاتية (تابع النص) .

٤-٦ ظاهرة فوق التزاوج :

يلاحظ أن ظاهرة تعدد الصبغي الذاتي Autopolyploids تترافق أحياناً مع ظاهرة فوق التزاوج Autosyndes والتي تسمى أيضاً Supersyndesis . وتتجلى هذه الظاهرة بأنه لدى تهجين الأشكال ذات التعدد الصبغي الذاتي مرتفعة العدد الصبغي (مكررات التعدد) مع الأشكال ذات الأعداد الصبغية القليلة ، فإن الصبغيات التي تكون بحالة أحاديات Univalents تتزاوج مع بعضها بعض لتشكل ثنائيات Bivalents ، حيث يحصل على حساب التزاوج الذاتي . وهذا ما نلاحظه في نبات الفريز Fragaria (شكل ٤-١٦) والمخطط التهجيني هو :

		♂		♀
F_1 جيل أول خصب	←	F.orientalis	×	F.grandiflora
(من كل نوع) 14∏		2n=28		2n=56
(من التزاوج الذاتي) 7 ∏		14 ∏		28 ∏

إن هذا يشير إلى أن الفريز ناتج عن متعددات ذاتية، والصبغيات عندها تتكرر باستمرار (العدد الأساسي 7 هو الذي يتكرر) وبذلك فإن التعدد الصبغي الذاتي يلعب دوراً مهماً في تطور جنس الفريز، ويدعم بشكل كبير تربية مثل هذه النباتات الناتجة عن الهجونة النائية .



شكل ٤-١٦ التهجين بين الفريز 2n = 56 والفريز 2n = 28 لإعطاء جيل أول خصب بسبب تشافع صبغيات كل نوع على حدة وهذه هي ظاهرة فوق التزاوج .

ومن الأمثلة التي قادت إلى إيجاد نبات من نوع جديد نجد نبات الكريبس Crepas (شكل ٤-١٧) :

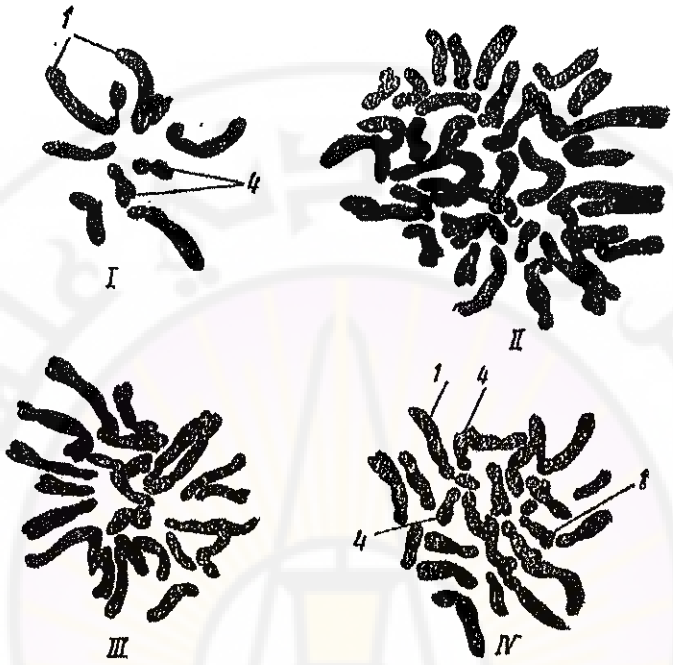


Рис. 89. Происхождение *Crepis artificialis*. *I* — соматические хромосомы *C. setosa* ($2n=8$); *II* — *C. biennis* ($2n=40$); *III* — F_1 гибрид *C. setosa* × × *C. biennis* ($2n=24$); *IV* — *C. artificialis* ($2n=24$), две пары хромосом от *C. setosa* обозначены как 1,1 и 4,4 (по Коллинсу, Холлингсхед и Авери)

شكل (٤-١٧) تشكل نوع جديد في نبات الكريبس بسبب ظاهرة فوق التزاوج وذلك بتهجين نبات كثير العدد الصبغي (2n = 40) مع نبات قليل العدد (2n =8).

والمخطط التهجيني هو :

C.biennis × C.setosa ← F_1 خصب ← اعطى F_2 (فيه انفصال ببعض الصفات)

2n=40 zn=8 2n=24(20 Ⅱ + 4 Ⅱ)

n=20 n=4

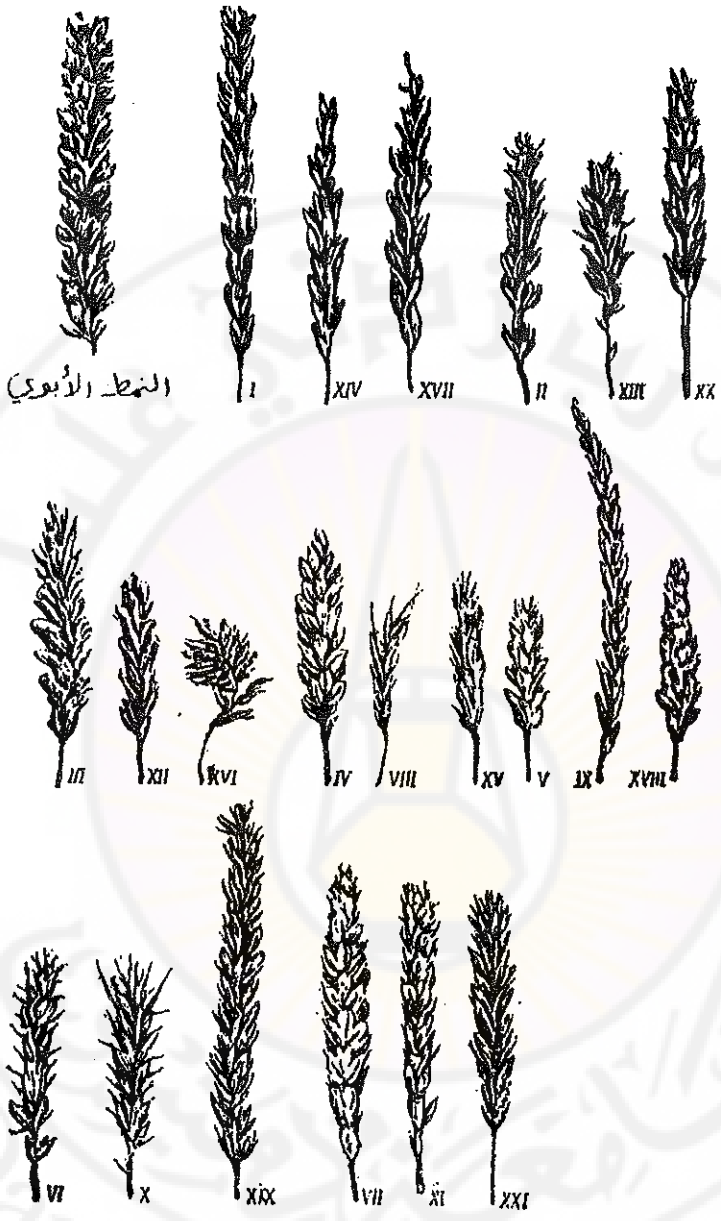
وفي الجيل الرابع F_4 أعطى نبات اسمه C.artificialis وقد تميز بشدة عن الأنواع الأخرى، وأعطى نسلاً ثابتاً، وهو نوع جديد .

٤-٧ النواليسومي ودور المورثة ph_1 في القمح الطري :

يساهم تحليل الجينومات في كشف علاقات القرابة بين النباتات المتعددة الصيغة polyploids ويعطينا معلومات مهمة عن تشافع الصبغيات، الذي يعد مؤشراً بارزاً على مدى درجة القرابة بين الأنواع لا سيما في محاصيل الحبوب. وقد تبين وجود مورثات خاصة بالتشافع الصبغي، يمكن اكتشاف دورها في نبات القمح الطري .

لقد تم الحصول على ٢١ سلالة في نبات القمح الطري Triticum aestivum (2n=42) تتميز كل واحدة بفقدان شفع صبغي متماثل (2n=40) عرفت باسم سلالات Chinese spring (أوجدها سيرس في جامعة كولومبيا – أمريكا) . وقد تميز كل نبات من هذه السلالات بتبدلات مورفولوجية على السنابل (شكل ٤-١٨) .

علماً بأن جميع هذه السلالات فقدت بعض قوتها وإنتاجها مقارنة مع النبات الأصلي (2n) وهو قمح الخبز.



شكل (٤-١٨) سنابل /٢١/ نبات من القمح الطري Triticum aestivum وكل منها نوليسومي (2n – 2) من صنف Chinese spring والتبدلات ناجمة عن نقص شفع صبغي من كل سلالة (من I – XXI).

لقد قسمت النوليسومات الـ(٢١) إلى سبع مجموعات، وفي كل مجموعة ثلاثة نباتات (٣×٧=٢١) ، بحيث تتشابه أفراد المجموعة الواحدة فيما بينها بكثير من الصفات، وتختلف عن بعضها بشكل أو بآخر عن نباتات المجموعات الباقية ، وتسمى كل مجموعة شبه متماثلة (هوميولوغية) Homeologous group وكل نبات من كل مجموعة يحمل شفعاً صبغياً مفقوداً، وبفقدانه يؤدي إلى إظهار صفات مورفولوجية متقاربة بين أفراد المجموعة الواحدة (جدول ٤-٢) .

جدول (٤-٢) المجموعات شبه المتماثلة (هوميولوجية) لصبغيات القمح الطري.

المجموعات شبه المتماثلة	الجنومات		
	A	B	D
1	1A – XIV	1B – I	1D - XVII
2	2A –II	2B – XIII	2D - XX
3	3A –XII	3B –III	3D – XVI
4	4A –IV	4B – VIII	4D – XV
5	5A –IX	5B – V	5D – XVIII
6	6A – VI	6B – X	6D – XIX
7	7A – XI	7B - VII	7D - XXI

لقد سمحت الدراسة التفصيلية للصفات والخواص العائدة للنوليسومات الـ (٢١) بالحصول على معطيات قيمة حول ماهية المورثات المتوضعة على الصبغيات المفقودة ، وكيف ينعكس فقدان هذه المورثات على تبدل مورفولوجية أو فيزيولوجية هذه النباتات .

فمثلاً بدراسة النوليسومي بالصبغي (5B) من المجموعة الخامسة حامل المورثة (ph_1) pairing homeologous chromosome تبين أن الهابلوئيدات الناتجة عن مثل هذه النوليسومات تشكل (من٣ -٤) بيفالنت (يزداد التشافع) كما يلاحظ تشافع مرتفع عن الهجائن الحاصلة بطريقة تهجين هذه النوليسومات مع القمح الثنائي T.monococcun 2n=14 . من ذلك تم استنتاج أنه في الصبغي(5B) تتوضع مورثة (أو مورثات)ph_1 تعيق التشافع بين الصبغيات شبه المماثلة ، وهذه المورثة لا تمنع التشافع بحد ذاته، وإنما على ما يبدو تقوي ربط الهيستونات مع الـ DNA وفي الوقت نفسه تصعب(تعرقل) تشافع الصبغيات شبه المماثلة (هومولوجية) .

وفي مثال آخر: تبين وجود حالة معاكسة للسابقة موجودة في النوليسومي بالصبغي 3B-IV حيث تبين وجود انخفاض ملحوظ بالتشافع الصبغي وزيادة عدد الأونيفاليتات (أحاديات) . ارتباطاً مع ذلك افترض أنه في الصبغي المفقود 3B تتوضع المورثة(المورثات) المسؤولة عن زيادة النزعة العامة للتشافع ، وبالتالي التأثير على توازن أثر المورثات المتوضعة على الصبغي 5B بشكل عام إذا تحددت الصفة بالمورثة الغالبة، واختفى شفع الصبغيات الحامل لهذه المورثة (المورثات) في النوليسومي، فإن هذه الصفة (الصفات) لن تظهر على النبات .

فمثلاً يحمل الشفع الصبغي الأول 1A(X1V) (جينوم A) المورثة المسيطرة المسؤولة عن اللون الأحمر للبذور، وبالتالي فإن النوليسومي بهذا الصبغي سيحدد اللون الأبيض للبذور (يزول الأحمر) .

وفي مثال آخر الصبغيات 6 BX و 4B VIII تحمل المورثة القامعة (المانعة) لتطور الحسكات على السنابل، لذلك في النوليسومات بهذه الصبغيات ستبدو الحسكات طويلة واضحة بدلاً من اختفائها نظراً لزوال المورثة (انظر الشكل ٤-١٨).

إن النولسيومي يؤثر كثيراً على بعض الصفات الإنتاجية (وكذلك المونوسومي 2n-1) لا سيما من حيث تبدلات طول النبات، وعدد السنيبلات في السنبلة، الواحدة وعدد البذور في السنبلة، ووزن الـ (١٠٠٠) بذرة وغيرها (جدول ٤-٣).

جدول (٤-٣) تبدل إنتاجية القمح الطري من تناذر مونوسومي (zn -1) سلالة تشاينز سبرينغ مقارنة مع الشاهد

الصبغي المفقود 2n-1=41	طول النبات سم	عدد السنيبلات في السنبلة	عدد البذور في السنبلة	وزن ١٠٠٠ حبة (غ)
الشاهد 2n=42	٩٠	٢٠	٥٤	٦٣,٨
1A	٨٣	٢٠	٥٦	٤٢,٥
5A	١٠٤	٢١	٤٨	٣٢,٥
2B	٩٥	٢٢	٣٥	٤٢,٩
4B	٩٧	١٩	٤٠	٤٢,٥
5B	١٠٢	٢١	٣٠	٢٨,٣
6B	٧٨	١٧	٩٦	٣١,٢
3D	٦٨	١٥	٥٢	٣٢,٨
5D	١١٠	٢١	٤٩	٣١,٣
7D	٨٥	١٨	٣٨	٢٩,٢

الفصل الخامس

تربية الأصناف النباتية المقاومة للأمراض

Damascus University


وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

من المعروف أن النباتات تصاب بأمراض كثيرة ، ودراسة أعراض هذه الأمراض ومسبباتها تمكننا من التوصل إلى أسلوب معالجتها ، وبالتالي تحسين إنتاجية النبات من الناحيتين الكمية والنوعية .

وعلى ما يبدو فإن الكائنات الممرضة كالفيروسات، والجراثيم، والفطريات تكون نوعية تجاه النبات المضيف، حيث تتفاعل معه لإحداث المرض ، وخاصة عندما يكون كل منهما قريباً من الآخر : فمثلاً يصيب فطر البياض الزغبي Plasmopara viticola نبات العنب فقط ، بينما يهاجم فطر بوكسينيا puccinia graminis نبات القمح فقط، ويسبب لسوقه مرض صدأ القمح . ويتطفل فطر فوزاريوم Fusarium oxysporium lycoperic على نبات البندورة فقط، ويتسبب في ذبولها.....وهكذا .

٥-١ المورثات والأمراض النباتية :

لقد تبين أن الكائن الممرض (فطر مثلاً) يحمل مورثه واحدة أو أكثر تسبب المرض النوعي للنبات المضيف (العنب ، القمح ، البندورة، في الأمثلة السابقة). وبالمقابل النبات المضيف النوعي مع الفطر يحمل مورثة واحدة أو أكثر تعرف باسم " مورثة قابلية الإصابة "، أي :

فطر(عامل ممرض) + قمح (مضيف)

مرض صدأ القمح

مورثة إحداث المرض + مورثة قابلية الإصابة

وبشكل آخر : مورثة إحداث المرض (فطر) + مورثة قابلية الإصابة (مضيف) مرض النبات .

من ذلك نجد أن العامل الممرض، وقبول الإصابة ما هي إلا صفات وراثية موجودة عند كل من الكائن المتطفل، والنبات المضيف مثلها مثل أي صفة (ربما مندلية أو غيرها) مسؤول عن إظهارها مورثات محمولة على الصبغيات .

فإذا تمكنا من معرفة مورثات الأمراض النباتية، ونحدد خصائصها ووجودها وماهيتها، نستطيع أن ننتج محاصيل جيدة بتقانات حيوية مختلفة تتمكن من مقاومة هذه الأمراض . ويجب أن نعلم أن العوامل الممرضة للنباتات شديدة التنوع ، فقد تكون فيروسات، أو جراثيم، أو فطريات، أو حشرات، وبالتالي فهي ضيوف غير مرغوب فيها على مضيفات نباتية متنوعة، تقدم للبشرية الفوائد الجمة من غذاء، وكساء، ودواء، ومأوى، ودفء .....إلخ .

إن وجود المضيف إلى جانب الضيف، واحتكاكهما مع بعضهما بعضا سوف يؤدي إلى حدوث الأمراض النباتية، التي غالباً ماتنجم عن تلاؤم مورثات كلا الطرفين مع بعضهما بعض.

٥-٢ مورثات المقاومة :

إن النباتات التي تتعرض للعوامل الممرضة المختلفة تسعى إلى مقاومتها بأشكال متعددة، ومنها المقاومة الوراثية . وتتجلى هذه العملية بوجود مورثات خاصة تعرف باسم مورثات المقاومة Resistance genes ويرمز لها بالحرف (R) .

تتحقق مقاومة النباتات للأمراض عادة كمجموعات، ولا تتحقق كحالات فردية باستثناء مضيفات معينة كالأشجار، ونباتات الزينة، وبعض النباتات المصابة بالفيروسات، حيث تتعامل كحالات فردية . وهكذا يكون وضع المورثة (R) في الحالة الإفرادية من الشكل R_1 ، R_2 ، R_3 ، R_4 .....إلخ . وفي

الحالة الجماعية من الشكل R_1R_2 ، R_1R_3 ، R_1R_4 ، $R_1R_2R_3$ .. إلخ. وتجدر الإشارة إلى أن بعض الأمراض الخطيرة إذا دخلت منطقة معينة فإنها تستفحل عاماً بعد عام؛ مما يصعب مقاومتها بعد انتشارها؛ لذلك يجب انتخاب سلالات نباتية تملك مورثات المقاومة بشكل مدروس ومحكم .

٥-٣ المبيدات ودورها في المقاومة :

لقد اعتبر بعض الباحثين منذ نحو ستين عاماً أن النباتات المقاومة للأمراض مضيعة للوقت؛ لأن هذه المقاومة ستتوقف إن عاجلاً أم آجلاً . وفي ذلك الوقت اكتشف الدكتور بول موليير Paul muller في سويسرا مادة الـ D.D.T كمبيد حشري قوي، وحصل بذلك على جائزة نوبل؛ لذلك توقفت أبحاث تربية نباتات مقاومة للحشرات، وتم استعمال الـD.D.T (مع بعض الكيميائيات الأخرى) بشكل واسع للقضاء على الحشرات، وبذلك استمرت هذه الأفكار حول عدم جدوى الدراسات البحثية حول المقاومة سنوات طويلة . ومع ذلك نجد دراسات هنا وهناك تتحدث عن مقاومة النبات للأمراض دون توقف، وعن مورثات المقاومة، وخاصة مع انتشار التقانات الحيوية الحديثة .

تقسم آثار المبيدات الحشرية والفطرية المستعملة إلى صنفين : ثابتة Stable وغير ثابتة Unstable . وفيما يأتي نورد بعض الأمثلة التوضيحية :

- لقد انتشر بكثرة استعمال المبيد الحشري الصناعي D.D.T مع بداية الحرب العالمية الثانية عندما كان ضباط الحلفاء في نابولي (إيطاليا) خائفين من انتشار الأوبئة التي تأتي مع فصل الصيف مثل التيفوئيد والملاريا؛ لذلك قاموا برش مدينة نابولي بكاملها بال D.D.Tالمكدس في المخازن؛ علماً أن المدينة كانت آنذاك خالية من الأمراض والأوبئة .وبعد شهور قليلة من بداية الرش امتلأت المدينة

بالذباب المنزلي الذي امتلك سلالات مقاومة Resistance (ثابتة) لهذا المبيد .من ذلك نستنتج أن مبيد D.D.T غير ثابت، يؤدي مع الزمن إلى إعطاء سلالات من الذباب مقاومة للمبيد بعد موت الكثير منه .

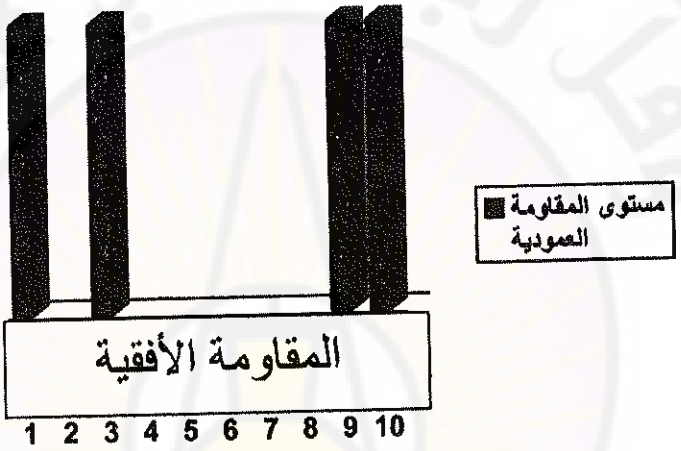
- لقد اعتاد الشعب اليوغسلافي التقاط أزهار برية خاصة، تعطي مادة تسمى بيرتيرين Pyrethrins ويضع هذه الأزهار في الفراش للسيطرة على البراغيث والبق .ومن الدراسات حول هذا الموضوع تبين أن لهذه الأزهار قدرة القضاء على الحشرات حتى بعد مرور ثلاثة قرون من هذا الاستعمال، دون أن تكتسب الحشرات مقاومة ضد هذه المادة . من ذلك نجد أن منتج الأزهار من البيرتيرين يشكل مبيداً حشرياً ثابتاً .
- لقد تم اكتشاف مزيج " بوردو" Bordeaux عام ١٨٨٢ في فرنسا، واعتبر كمبيد فطري قوي يسيطر على العفن الذي يصيب البطاطا والعنب ، وقد بقي هذا المبيد قيد الاستعمال فترة طويلة جداً من الزمن دون أن يكتسب الفطر مقاومة ضده (لم تتشكل سلالات فطرية مقاومة)، وهذا يشير إلى أن " البوردو " مبيد فطري ثابت .
- يعد المبيد الفطري " ويدميل " Widmil مبيداً شاملاً ضد الكوارث الفطرية المتنوعة؛ التي تصيب بعض المحاصيل الزراعية المتنوعة، لكن استعماله خلال سنوات قليلة أدى إلى ظهور سلالات مقاومة من الفطريات تجاه هذا المبيد ، وهذا يشير إلى أن "ويدميل" هو مبيد فطري غير ثابت .

وماذا نقول في أيامنا المعاصرة عن الأشكال العديدة والكثيرة من المبيدات الفطرية، والحشرية، والعشبية، التي تنتجها المصانع بآلاف الأطنان،

وتصدرها إلى أنحاء العالم كافة..... هذه المبيدات تتسبب بإلحاق أضرار جسيمة جداً بالأحياء على المستوى الوراثي والصبغي، وهذا ما تشير إليه آلاف الأبحاث التي تجرى في المؤسسات العلمية ، إضافة إلى أخطارها المتنوعة على البيئـــة، والتنوع الحيوي.

٥-٤ أنمـــاط المقـــاومة :

نصادف نمطين من المقاومة عمودية، وأفقية (شكل ٥-١).



السلالات العشر للعامل الممرض (فطر) صنف نباتي (A)



السلالات العشر للعامل الممرض (فطر) صنف نباتي (B)

(شكل ٥-١) **درجات المقاومة الأفقية والعمودية على صنفين من النبات تجاه عشر سلالات من الكائن الممرض الفطر.**

(لاحظ أن قابلية الإصابة العمودية عند الصنف A تكمن عند السلالات 1 , 3 , 9 , 10 من الفطر ، وعند الصنف B عند السلالات 1 , 4 , 7 , 8, 10).

٥-٤-١ المقاومة العمودية Vertical resistance :

وهي المقاومة التي تحدث عنها الباحثون منذ نحو ٢٠٠ سنة، حيث إنهم لم يكونوا على علم بوجود مقاومة أخرى . وتتوقف هذه المقاومة على الأصناف الجديدة من العامل الممرض (فطر، أو حشرة) وبذلك فهي على الغالب مقاومة غير ثابتة، تتمثل المقاومة العمودية بفضاء كبير، وتغطي منطقة بيئة ضخمة مع أن المكان الذي تشغله صغير جداً .

ومن الأمثلة الكلاسيكية في هذا المجال هو القمح القديم؛ الذي توسع انتشاره في مرحلة الثورة الخضراء Green revolution وتميز بمقاومة عمودية واحدة امتدت على مساحات شاسعة من المغرب إلى الصين .

تتصف المقاومة العمودية بمجموعة من المزايا، أهمها :

١- نوعية Qualitative متخصصة تجاه عامل ممرض واحد.

٢- تتحكم فيها مورثة مقاومة واحدة Monogenic أو عدد قليل جداً من المورثات Oligogenic (لكل قفل مفتاح خاص به، وبالتالي لا يمكن فتح بيوت المدينة بمفتاح واحد) .

٣- تشتمل على أجزاء صغيرة جداً من الحقل الذي تنتشر فيه (بفضاء كبير) ، ولذلك سميت مقاومة عمودية .

٤- لدى البحث عن أصناف نباتية ذات مقاومة عمودية، نجد أن هذه العملية مكلفة جداً (غالية) تحتاج إلى مختبرات مجهزة، وبيوت زجاجية مدروسة، وعلماء متدربين، وليسوا هواة يستعملون التقانات الحديثة ....إلخ . (يذكر أن ميزانية المركز الدولي للقمح والذرة الصفراء في المكسيك تبلغ سنوياً / ٣٥ / مليون دولار) .

٥-٤-٢ المقاومة الأفقية Horizontal resistance :

تتصف المقاومة الأفقية بمجموعة من المزايا، أهمها :

١- ثابتة، لا علاقة لها بالسلالات الجديدة من العوامل الممرضة ، وهذا يضيف بعداً مهماً للتربية الزراعية .

٢- كمية Quantitative غير متخصصة تجاه عامل ممرض محدد، فهي عامة، وبذلك فهي تراكمية .

٣- تتحكم فيها عدة مورثات Polygenic (عشرات وأحياناً مئات)، وبذلك لا يمكن لمورثة مقاومة واحدة أن تؤثر وحدها ضد العامل الممرض؛ لهذا السبب يقل انتشار المرض في الحقل المصاب بوجود المقاومة الأفقية .

٤- تشتمل على كامل الحقل؛ لذلك سميت المقاومة الأفقية .

٥- رخيصة جداً (غير مكلفة) وبذلك لا تحتاج تربية النباتات إلى تجهيزات ومخابر واختصاصيين ، وإنما تستخدم فيها أدوات عادية رخيصة الثمن، قد تكون أجهزة مطبخ عادية مثل مرشحات القهوة، والخلاط العادي، وفراشي الأسنان، وغيرها من التجهيزات البسيطة؛ التي تستخدم في التهجين والتربية .

٥-٤-٣ المقاومة الكاملة :

تقع المقاومة الكاملة للنبات ضد عامل ممرض ما تحت إشراف مورثة واحدة مسيطرة مثل R_1 ، R_2 ، R_3 ....إلخ ، أما النبات المقاوم لأكثر من عامل ممرض؛ فإنه يقع تحت إشراف (اتحاد) عدة مورثات مثل R_1R_2 ، R_1R_3 ، $R_1R_2R_3$ ....إلخ ، بالمقابل يمكن أن يكون للنوع النباتي الواحد من (٢٠-٤٠) مورثة مسيطرة مقاومة ضد عامل ممرض واحد: فمثلاً يمتلك نبات القمح Triticum من (٢٠- ٤٠) مورثة مقاومة ضد فطر صدأ القمح ، ويمتلك نبات الشعير Hordeum عدداً مماثلاً من مورثات المقاومة لفطر البياض الدقيقي Erysiphe graminis tritici .

وسواء كانت المقاومة أفقية أم عمودية فإن المقاومة الحقيقية True resistance تتحكم فيها مورثات موجودة في نواة (صبغيات) النبات . ومع ذلك أشارت بعض الدراسات إلى وجود مقاومة لدى بعض النباتات تجاه أمراض فطرية، مصدرها مادة وراثية سيتوبلاسمية، موجودة عند النبات المعرض للإصابة الفطرية (وراثة سيتوبلاسمية غير مندلية) . وقد تم إثبات وجود المقاومة السيتوبلاسمية في نبات الذرة Zea وخاصة ضد مرض لفحة الوراق

الصفراء التي يسببها فطر Phyllosticta ، حيث تم التأكد من أنها تتوارث عن طريق السيتوبلاسما.

٥-٥ العلاقة بين الأصناف النباتية والسلالات الممرضة :

لننظر في الحالات الثلاث الآتية :

١- عندما يتم حقن صنف نباتي (A) مثلاً بسلالتين مختارتين من العامل الممرض (فطر مثلاً) وهما (١) و (٢) ، فإن الصنف النباتي (A) قد يصاب بالسلالة الممرضة (٢) ولا يصاب بالسلالة الممرضة (١) .

٢- بالمقابل عندما يتم حقن السلالة الفطرية الممرضة (١) لصنفين من النباتات هما (A) و (B) ، فإن الصنف (A) قد لا يصاب بها في حين يصاب الصنف (B) بالسلالة الممرضة (١) .حسب الجدول الآتي:

توضيح احتمالات إصابة صنفين نباتيين بسلالتين ممرضتين من الفطر.

+ إصابة - لاإصابة

سلالتان / صنفان	١	٢
A	-	+
B	+	-

٣- لدى حقن أربعة أصناف نباتية وهي (A) ، (B) ، (C) (D) بأربع سلالات ممرضة من الفطر وهي(١)، (٢)، (٣)، (٤) ، فإننا نجد أيضاً احتمالات إصابة أصناف نباتية بسلالات ممرضة، وذلك بأشكال مختلفة حسب الجدول الآتي:

جدول (٥-٢) توضيح احتمالات إصابة أربعة أصناف نباتية بأربع سلالات ممرضة من الفطر (+ إصابة) (- لا إصابة)

أربع سلالات / أربعة أصناف	١	٢	٣	٤
A	-	+	+	+
B	+	-	-	+
C	+	-	-	+
D	+	-	+	-

ولتوضيح ذلك نقول : إن إحدى السلالات الممرضة (في أي من الشكلين السابقين) تملك صفات وراثية تمكنها من مهاجمة المضيف، وتحقق له الإصابة ، في حين أن السلالة الممرضة الثانية (أو الثالثة أو الرابعة) لا تملك هذه الخاصية . وبالمقابل نقول: إن أحد الأصناف النباتية (A) مثلاً يملك صفات وراثية تمكنه من الدفاع عن نفسه ضد الكائن الممرض، وبذلك لا يصاب، ويكون مقاوماً للمرض ، بينما لا يستطيع الصنف (B) أو (C) أو

لاقي مورثة المقاومة عند النبات مع مورثة إحداث الإصابة عند الفطر

نبات / فطر	R	r
A	RA (-)	rA (+)
a	Ra (+)	ra (-)
صاب – لايصاب (مقاوم)		

ل السابق نجد أن الاحتمال (RA) هو الوحيد الذي يقاوم
ي: أن اجتماع المورثتين المسيطرتين (R) مع (A) في
ابة ، ووجود ولو مورثة واحدة متنحية (a أو r) في النبات
الإصابة، وبالتالي ستكون النسبة الاحتمالية (لمورثة مقابل
ـ (١:٣) . وتجدر الإشارة إلى أن هذا المثال يحصل
عمودية حصراً (نوعية وحيدة المورثة)، وأن النبات
د الذي يستخدم في برامج التربية النباتية كونه مقاوماً لمرض
، هذا المثال .

نبات / فطر	R	r
A	RA (-)	rA (+)
a	Ra (+)	ra (-)
+ يصاب – لايصاب (مقاوم)		

من الجدول السابق نجد أن الاحتمال (RA) هو الوحيد الذي يقاوم إحداث المرض، أي: أن اجتماع المورثتين المسيطرتين (R) مع (A) في النبات تمنع الإصابة ، ووجود ولو مورثة واحدة متنحية (a أو r) في النبات تؤدي إلى حدوث الإصابة، وبالتالي ستكون النسبة الاحتمالية (لمورثة مقابل مورثة) من الشكل (١:٣) . وتجدر الإشارة إلى أن هذا المثال يحصل بالنسبة للمقاومة العمودية حصراً (نوعية وحيدة المورثة)، وأن النبات (RA) هو الوحيد الذي يستخدم في برامج التربية النباتية كونه مقاوماً لمرض فطر الفوزاريوم في هذا المثال .

٥-٦-٢ احتمالات الإصابة بوجود مورثتين لكل من الفطر والمضيف:

لم تدرس فكرة مورثة لكل مورثة على النباتات وحيد المورثة فقط ، وإنما درست على مورثتين (وربما أكثر) أيضاً . وفعلاً طبق مربو النبات هذه الفكرة في جميع أعمالهم حيث دمجوا في نباتاتهم مورثات جديدة للمقاومة؛ بهدف الحصول على أصناف نباتية مرغوبة تصبح مقاومة للفطريات، أو الكائنات الممرضة . كما بدأ التفكير بإحداث أصناف جديدة فيما يخص المقاومة الأفقية أيضاً، على الرغم من أن هذه التطبيقات ما زالت قيد الدراسة . وإذا فرضنا وجود نبات البندورة مع مورثتي المقاومة (R_1,R_2) وفطر الفوزاريوم مع مورثتي قابلية الإصابة (A_1,A_2) فإن احتمالات الإصابة بوجود مورثتين تتوضع في الجدول الآتي:

احتمالات تلاقي مورثتي المقاومة عند النبات مع مورثتي إحداث الإصابة عند الفطر

بندورة / فطر	R_1R_2	R_1r_2	r_1R_2	r_1r_2	
$A_1\ A_2$	–	–	–	+	(+) إصابة
A_1a_2	–	–	+	+	(–) مقاومة
a_1A_2	–	+	–	+	
a_1a_2	+	+	+	+	

النتيجة : (٩) إصابة : (٧) مقاومة (أثر متتام).

ملاحظات حول الجدول :

- إن وجود المورثتين معاً (r_1r_2) في النبات، أو (a_1a_2) في الفطر سيؤدي إلى إصابة النبات بجميع الأحوال (انظر السطر الأيمن والأسفل من الجدول) .
- إن وجود المورثة المتنحية (a_2) في الفطر مع المورثة المسيطرة المقابلة (R_2) في النبات ستؤدي إلى الإصابة حصراً بسبب التماثل بالرقم (2) .
- إن وجود المورثة المتنحية (a_1) في الفطر مع المورثة المسيطرة المقابلة (R_1) في النبات ستؤدي إلى الإصابة حصراً بسبب التماثل بالرقم (١).

وماعدا ذلك فسنحصل على أصناف نباتية مقاومة نسبتها ١٦/٧ ، وهذا إنجاز كبير في مجال اختيار السلالات النباتية المقاومة للأمراض الفطرية، وذلك لاستخدامها في برامج تربية النبات بعد إدخال هذه النماذج من المورثات المتفاعلة مع بعضها بشكل مناسب .

٥-٧ مصادر المورثات ومورثات المقاومة واستعمالها :

توجد محاولات منظمة ومكثفة في العالم بهدف تربية وإنتاج نباتات تضمن معظم المورثات المفيدة، وخاصة منها صفات : الإنتاج العالي ، النوعية الجيدة ، تماثل حجوم النباتات والثمار ، تماثل النضج ، تحمل البرودة ، مقاومة الأمراض...إلخ . وللوصول إلى هذا الهدف يقوم مربو النبات بالبحث عن مورثات جديدة مفيدة، وذلك من خلال الآتي :

١- إجراء عمليات تهجين بين الأصناف الموجودة والمزروعة محلياً مع الأصناف الأخرى المتوفرة في مناطق مختلفة؛ بهدف الحصول على أصناف تحمل المزايا الجيدة من الطرفين .

٢- إجراء عمليات التهجين بين الأصناف المحلية وأصناف تم إحداث طفرات مفيدة فيها، سواء بالطرق الكيمائية أو الفيزيائية .

٣- استعمال طرائق الهندسة الوراثية؛ بإدخال مورثات مرغوبة إلى النباتات المراد تحسين إنتاجيتها .

٤- استعمال طرائق زراعة الخلايا والنسج الجسمية حتى الوصول إلى النباتات الكاملة .وتسعى برامج تربية النبات في الأيام الأخيرة إلى دمج مورثات النبات المراد تحسينه مع مورثات أصناف نباتية أخرى؛ كي يصبح مقاوماً للعوامل الممرضة، دون تغيير في صفاته الأصلية المتوارثة والجيدة .

٥- تعد عملية إدخال مورثات المقاومة (R) إلى النبات من أهم أهداف عمليات التربية النباتية . وتوجد هذه المورثات بكثرة في الأصناف والأنواع النباتية؛ التي تنمو بشكل طبيعي في المنطقة؛ التي ينتشر فيها المرض بشدة، حيث تشكل أهم مصادر مورثات المقاومة . وهكذا تظهر من بين آلاف النباتات المصابة بعض الأصناف المقاومة (غير المصابة) بشكل طبيعي ، وهي التي تحمل مورثات المقاومة؛ خلافاً للنباتات التي لم تقاوم العامل الممرض، وأصيبت به. وبذلك تؤخذ المورثات من النباتات المقاومة، ويتم إدخالها إلى النباتات المطلوب تحسنها بتقانات الهندسة الوراثية ، أو يتم تهجين هذه النباتات مع غيرها بهدف نقل مورثات المقاومة بالطرائق التقليدية . وما زالت عمليات التهجين الذاتي والتصالبي

مستعملة في هذا المجال، على الرغم من أنهـا معقـدة، وطريقهـا طويل وشاق .

ولا بد من التنويه إلى أن العلماء لم يتمكنوا حتى الآن من عزل مورثات المقاومة، وبالتالي لا توجد نسخ وراثية عنها، ولا تحولات وراثية تـمّ إنجازهـا في أي علاقة بين المضيف (النبات) والعامـل الممـرض . ومـن المحتمـل الاعتقاد بأن مورثات المقاومة هي مورثات إفرادية خاصة، تتسبب في المقاومـة العمودية (R_1 ، R_2 ، R_3 ... إلخ)، وهذه ستدخل في أول الاستخدامات الناجمة عن النقل الوراثي في النباتات، والتي ستقدم الفوائد الكثيرة للتطبيقات الحديثة في مجال تقانات الهندسة الوراثية، ومن ثم عزلها، واستخدامها، وحفظها في بنـوك المورثات .

الفصل السادس

زراعة النسج وتقانة البروتوبلاست ودورهما في الانتخاب النباتي

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

لقد تم استخدام طرائق التربية التقليدية بنجاح كبير في مجال الانتخاب، والتحسين الوراثي النباتي ، حيث تم إنتاج العديد من المحاصيل الزراعية؛ التي حملت الكثير من التغيرات المفيدة على مدى عشرات السنين ، وما زالت هذه الطرائق مستعملة في الكثير من دول العالم . وفي السنوات الأخيرة بدأت التقانة الحيوية الحديثة Biotechnology تشق طريقها بقوة في المجالات كافة، إلى أن دخلت بشكل واسع في مجالات تربية النباتات . ومن هذه التقانات نجد زراعة الخلايا، والنسج النباتية ، وتقانة البروتوبلاست التي ستكون دراستها محور هذا الفصل ، على أن يكرس الفصل القادم للتعرف على تقانات استخدام الهندسة الوراثية في مجالات التربية .

٦-١ زراعة الخلايا والنسج النباتية Tissue and cells culture:

أصبح علم زراعة الخلايا والنسج النباتية من أهم التقانات الحديثة المستخدمة في مجال انتخاب النباتات وتحسينها؛ لما لها من فوائد عديدة في مواجهة المشاكل الزراعية المختلفة في العديد من دول العالم . وقد حققت هذه التقانة انتشاراً واسعاً بين العلوم المختلفة، حيث ساهمت في تقدمها، وازدهارها.

ونقصد بزراعة النسج- التي انتشرت منذ نحو ثلاثين سنة- زراعة نسج أو أجزاء من الأعضاء أو خلايا مفردة (سواء نباتية، أم حيوانية، أم بشرية) وذلك في شروط معقمة، وضمن أوساط صنعية مدروسة ومناسبة بهدف الوصول إلى نبات كامل (بالنسبة للنسج النباتية).

إن الهدف الرئيس من الزراعة هو مواجهة التقانات التقليدية التي تعتمد عليها البلدان النامية (بشكل خاص) وهي طريقة التهجين العادية. وحالياً تنتشر في الكثير من الدول الشركات التجارية والبحثية الخاصة بزراعة النسج

وتقاناتها المتطورة؛ بهدف إنتاج نباتات مهمة اقتصادياً تكفي الأسـواق المحليـة للبلدان المنتجة لها، ويصدر الفائض منها إلى بلدان أخرى (شكل ٦-١).



شكل (٦-١) تخيل إنتاج مجموعات نباتية مختلفة من زراعة النسج.

٦-١-١ أنماط النسج المزروعة :

تتحقق زراعة الخلايا، أو النسج، أو الأجزاء النباتية التي تسمى Explant في أوعية زجاجية أو بلاستيكية تحتوي على أوساط مغذية . ويمكن تمييز ثلاثة أنماط من النسج النباتية :

- نسج مرستيمية منقسمة .
- نسج بسيطة دائمة، وهي برانشيم ، كولنشيم إسكليرانشيم .
- نسج معقدة مثل النسج الناقلة (خشب Xylem ولحاء phloem) .

ولابد من التنويه إلى أنه من المستبعد جداً زراعة النسج الناقلة، وكذلك النسج المتمايزة بشدة مثل الكولنشيم وإسكليرانشيم . ومع ذلك يمكن زراعة النسيج البرانشيمي ، وأفضل النسج التي تتم زراعتها: النسيج المرستيمي .

ومن النسج التي تتم زراعتها: النسيج المؤنث الموجود في البويضة، والمعروف بالنوسيل (2n) لإعطاء نبات مؤنث ، والنسيج المغذي الموجود في بويضات عريات البذور، والمعروف باسم الإيندوسبرم Endosperm (مؤنث أيضاً) وكذلك النسيج الموجود في بذرة مغلفات البذور، والمسمى بالسويداء (Albumen (3n . إضافة إلى زراعة حبات الطلع (خلايا مفردة) وخلايا الأبواغ الصغيرة Microsporen (1n) والمآبر، وغيرها .

ولقد انتشرت في الأعوام الأخيرة تقانة زراعة النسج بشكل واسع جداً، حيث تم تطبيقها على بعض الفواكه مثل : الفريز ، الموز ، والتفاح ، وبعض الخضار، والبطاطا، والباذنجان.

٦-١-٢- فوائد زراعة النسج :

للتقانات التقليدية المعتمدة على التهجين بعض المساوئ التي تتغلب عليها تقانة زراعة النسج الحديثة .وقبل أن نتعرف على أهم فوائد زراعة النسج؛ نذكر أهم مساوئ طرائق التهجين :

١- لا يمكن تحقيق التهجين عند بعض النباتات؛ التي لا تملك تكاثراً جنسياً بوساطة البذور، وإنما تتكاثر بالطرق الإعاشية الخضرية مثل: الموز، والنخيل؛ الذي لا يعطي " فروخ " صغيرة إلا بعد /٢٠/ سنة من عمر الشجرة ، وبهذه الفروخ يتم إكثارها .

٢- إن بعض النباتات الناتجة عن التهجين تموت بوقت مبكر ولا تصل إلى مرحلة النبات الكامل .

٣- من الصعب الحصول بطريقة التهجين التقليدية على نباتات أحادية، أو ثلاثية الصيغة الصبغية (1n , 3n) ، وهذه تحتاج إلى جهود كبيرة، ووقت طويل .

٤- من الصعب الحصول بطريقة التهجين على سلالات نقية ، وهذه تحتاج إلى وقت طويل أيضاً، وأماكن شاسعة .

وغيرها من المساوئ .

ومن أهم فوائد زراعة النسج نجد الآتي :

١- إنتاج نباتات كاملة لا يمكن تكاثرها جنسياً، من خلية واحدة، أو من نسيج، وذلك ضمن شروط مخبرية (أنابيب اختبار) ومن ثم نقلها إلى التربة خلال مدة زمنية قليلة .

٢- العمل على تربية النباتات المرغوبة مثل : النباتات النادرة والثمينة ، أو النباتات التي تملك طفرات طبيعية أو محرضة بالأشعة، وزراعتها في أنابيب اختبار .

٣- الحصول على أصناف نباتية خالية من الفيروسات، وذلك بزراعة النسج المرستيمية، التي لم تتمايز خلاياها بعد .

٤- استخدام الهندسة الوراثية، والعمل على إدخال صفات جديدة مرغوبة إلى نواة الخلية الأم .

٥- إنتاج النباتات بهدف الحصول على المواد العطرية والطبية النادرة بطريقة اقتصادية في المخبر .

٦- الشتلات؛ وبالتالي النباتات الناتجة عن زراعة النسج تتصف بالقوة والجودة ، وهذا يعطي دعماً مادياً للفلاح المزارع، ومردود جيد للدولة التي ترعى هذه التقانات .

٧- إذا كانت غرفة الزراعة (المخابر) بكل مستلزماتها لا تتجاوز (١) م^{٢} . ويمكن إنتاج ملايين النباتات فيه،ا فهي تعادل بيت زجاجي بسعة ٢٥٠ م^{٢} وبذلك تحتاج الطريقة التقليدية إلى أراضٍ شاسعة .

٨- إعطاء كم هائل من النباتات الناتجة عن زراعة النسج ، فالنبات الواحد؛ الذي يقدم الخلايا والنسج للزراعة ينتج عنه مليون نبات ناضج وكامل .

٦-١-٣- تجهيزات زراعة النسج ومكونات الوسط الغذائي :

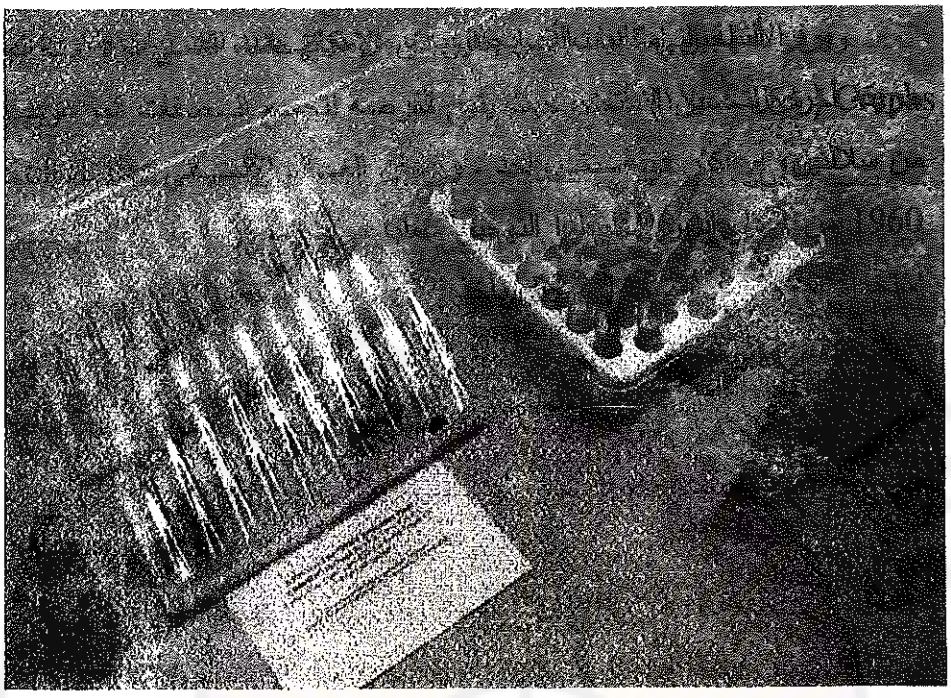
٦-١-٣-١- مخابر زراعة النسج :

تتحقق زراعة النسج في مخابر خاصة تعمل في ظروف معقمة، وضمن شروط مناسبة، وتضم هذه المخابر مجموعة من الغرف العلمية ، غرفة تجهيز الأوساط الزراعية ، غرفة زراعة النسج ، وغرفة حضانة المزروعات وحفظها

وجمعها ، هذه الغرف مزودة بالزجاجيات المناسبة، والمواد الكيميائية، والحاضنات، والأجهزة المختلفة من مبردات، وأماكن التخزين، وأفران التعقيم، وغيرها (شكل ٦-٢) .

وبشكل عام يجب أن تتوافر في مخابر زراعة النسج وحدات خاصة، تضم الواحدة منها مجموعة من الأشخاص تشكل طاقمها الخاص بها ، والوحدات هي:

- وحدة الغسيل والتجفيف ، - وحدة تحضير الأوساط ، - وحدة الزراعة ، - وحدة الإضاءة (فلوريسانت) ، - وحدة التكييف ، - الترموستات (المحم) ، - وحدة الحاضنات . وقد يضاف إلى المخبر مصادر إحداث الطفرات مثل الأشعة، أو المطفرات الكيميائية بهدف إحداث طفرات للخلايا المزروعة، وانتقاء ما هو مقاوم للأمراض ، أو لإحداث التعديل الوراثي المدروس . ومن الضروري أن تتمتع وحدات مخابر زراعة النسج بالنظام والنظافة؛ إضافة إلى شروط التعقيم المستمر والدقيق منعاً من انتشار مستعمرات الأحياء الدقيقة على الأوساط الزراعية كونها أسرع نمواً بكثير من خلايا الأحياء الراقية .



شكل ٦ ــ ٢ بعض أدوات زراعة النسج

٦-١-٣-٢ الأوساط الزراعية Culture nedia :

تضم أوساط زراعة النسج معظم الأغذية والهرمونات اللازمة لنمو النسج النباتية ، ويفضل تجريب ثلاثة مستويات منخفضة ومتوسطة ومرتفعة؛ بحيث تضم جميعها أربعة أنواع من المركبات :معادن ، أكسينات ، سيتوكسينات ، مركبات عضوية .

ومع ذلك لايمكن تحضير وسط زراعي، يصلح لجميع أنواع المزارع، وتحتاج كل حالة زراعة إلى تجارب اختبارية للوصول إلى الوسط الأمثل للحالة المزروعة .

و بشكل عام يجب أن يضم الوسط الزراعي خمس مجموعات، وهي :

أولاً – العناصر الأساسية، وهي هيدروجين وأكسجين (ماء) وكربون (سكروز،أو غلوكوز) وآزوت (نترات) إضافة إلى cl, Na, S, Mg, K, Ca, p.

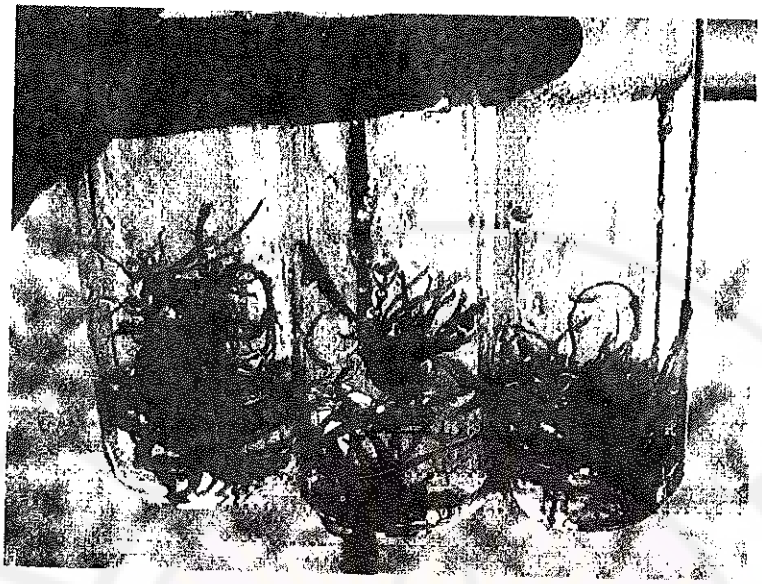
ثانياً– عناصر صغرى : تحتاج الخلية لنموها على الوسط الزراعي من الوصول إلى مرحلة النبات، إضافة بعض العناصر المغذية مثل Cu, Zn, Co, I, Fe, Mm , B.

ثالثاً– الفيتامينات مثل حمض النيكوتين Nicotinic acid ، الثيامين Thiamime ، البيريدوكسين Pyridoxine .

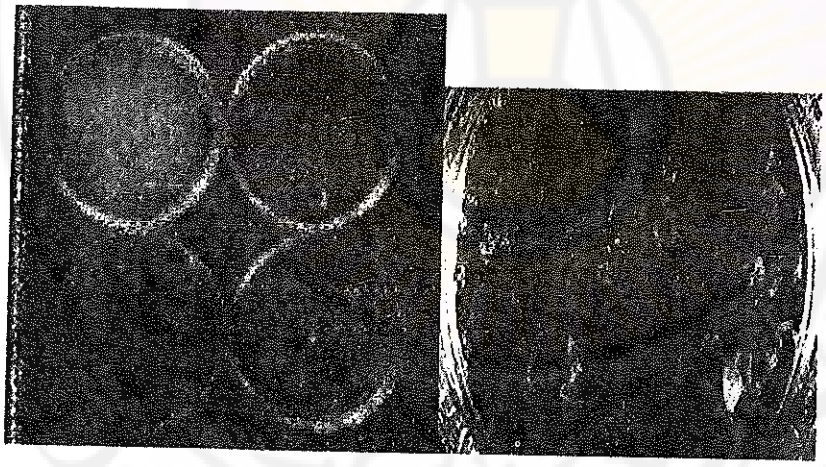
رابعاً – (الأكسينات) حمض الإيندول الخلي IAA، سيتوكسينات هرمونات النمو مثل: كينين.

خامساً – الوسط المجمد الذي لا بد منه في جميع الزرعات ضمن أنابيب الاختبار، أو علب بتري، سواء للأحياء الدقيقة، أو للنسج النباتية، وهو الآغار آغار .

وتجدر الإشارة إلى أن زراعة الخلايا تبدأ على وسط سائل ، وبعد ذلك تبدأ عملية تجميد الوسط بإضافة الآغار الذي يتألف من سللوز صافٍ (غير مغذٍ) وهذه الإضافة التدريجية تحول الوسط من سائل (شكل ٦–٣) إلى نصف صلب إلى صلب (شكل ٦–٤).



شكل ٦ ـ٣ نباتات مزروعة في أنابيب اختبار ضمن وسط سائل ونصف صلب

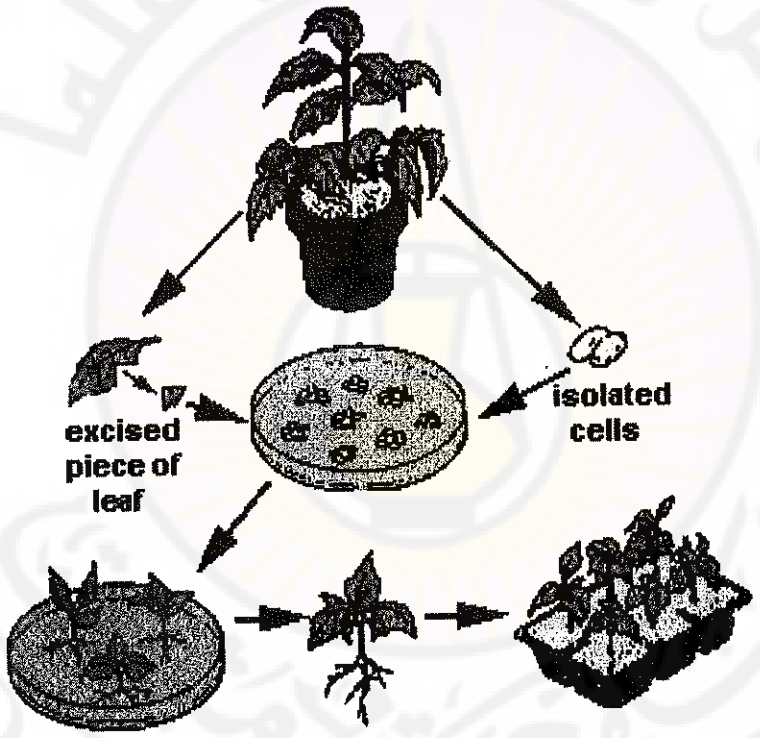


شكل ٦ ـ ٤ إلى اليمين: مراحل نمو نباتات في علب بيتري على وسط صلب
إلى اليسار نباتات فتية بدأت بالتشكل على الوسط المغذي الصلب في العلب

٦-١-٣-٣ خطوات الزراعة :

تمر زراعة النسج بثلاث مراحل حتى الوصول إلى النبات الكامل، وهي :

١- مرحلة عزل النسيج النباتي (أو الخلية المفردة) بشروط التعقيم، وزرعه على الوسط الصناعي المناسب، ثم حفظه في حاضنات بدرجة حرارة، ورطوبة، وإضاءة مدروسة، ولمدة زمنية محددة ، وتعد من أهم المراحل على الإطلاق (شكل ٦-٥).

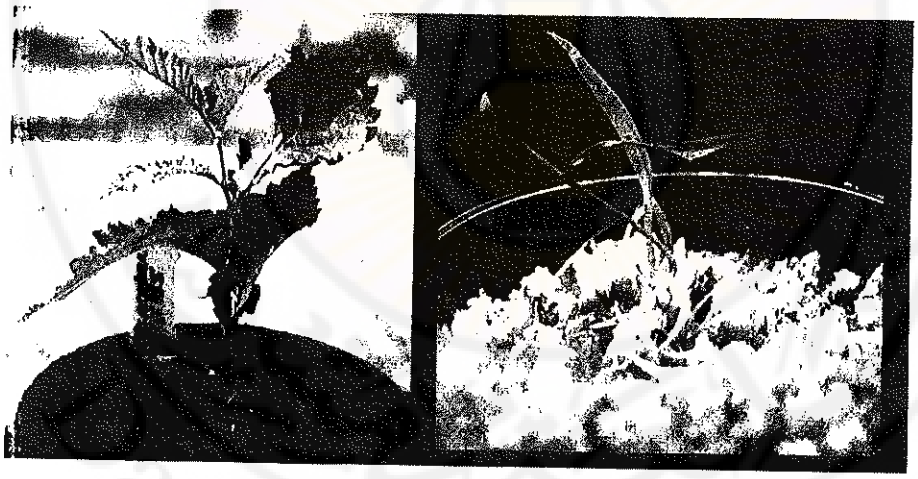


شكل ٦ – ٥ مخطط يوضح خطوات زراعة النسج النباتية :
عزل الخلية أ و القطعة الورقية ، الزرع على الوسط المغذي ، تشكل النباتات الفتية على الأغار ، النقل إلى التربة في الأصص .

٢- مرحلة إكثار عدد النباتات تمهيداً لنقلها إلى وسط زراعي آخر يضم تركيب كيميائي محدد، يقود إلى إعطاء فروع جديدة للنباتات، ويجب أن تتكرر هذه العملية عدة مرات حتى الوصول إلى الوسط المطلوب تماماً.

٣- مرحلة نقل النباتات الصغيرة الناتجة عن الأوساط الصنعية السابقة إلى البيت الزجاجي؛ كي تتأقلم على جو التربة؛ بعد أن خرجت من المغذيات الصنعية.

في هذه المرحلة يتم استخراج النباتات من أنابيب الاختبار، وزراعتها في أصص تضم تربة زراعية ورمل، ويتم تأمين جو رطب لها بأغطية بلاستيكية، وهكذا ترفع هذه الأغطية تدريجياً حتى تصبح قادرة على التكيف والتأقلم مع الجو الخارجي (شكل ٦-٦).



شكل ٦ ـ ٦ إلى اليمين : نبات أخضر يتشكل على الكالوس (الثفنة) إلى اليسار: إخراج النباتات الناتجة عن زراعة النسج ، وتقله إلى التربة وتركه للأقلمة مع الوسط الخارجي

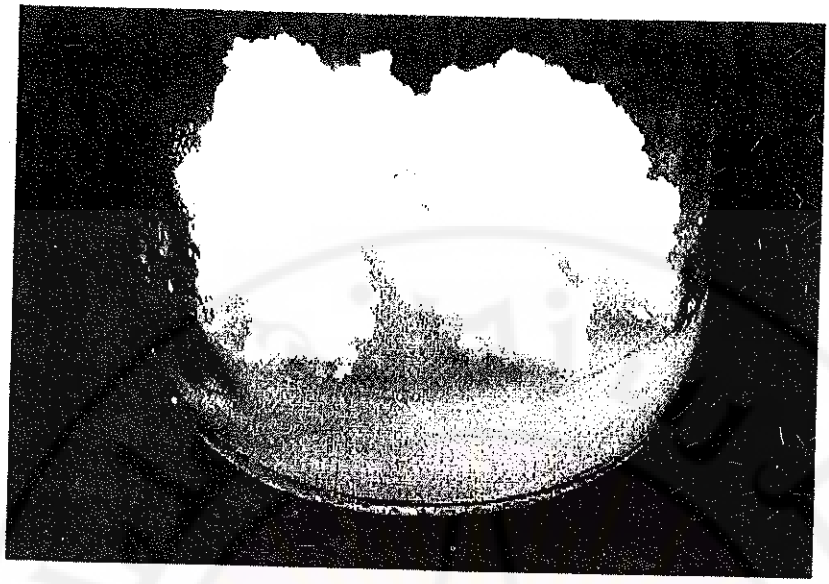
تكون النباتات الناتجة خالية من الأمراض، وبذلك تحد من استعمال الأسمدة الكيميائية ، كذلك تبدو قوية متماثلة فيما بينها، وتتمثل بزيادة إنتاجيتها من ١٠-٢٠%، ويمكن الحصول عليها في الوقت الذي نريده، وبالسعر المناسب ، كما يمكننا تنويع زراعة الأجناس المختلفة في مخبر واحد .

٦-١-٤ بعض نماذج الخلايا والنسج المستعملة في الزراعة :

تتفاوت أشكال ونماذج العينات المستعملة في الزراعة بشكل كبير ونجد منها ما يأتي :

٦-١-٤-١ الكالوس أو الثفنة Callus :

يعرف الكالوس بأنه مجموعة من خلايا برنشيمية عشوائية الترتيب، ناتجة عن انقسام خلية من جزء نباتي مزروع على وسط صنعي مغذٍ . هذه الخلية تكون متخصصة أو متمايزة، ولدى زراعتها تتحول إلى خلايا غير متخصصة برشيمية (البرنشيم المكون للكالوس) وبأعداد كبيرة جداً (شكل ٦-٧) . وبعد هذه المرحلة تعود وتتخصص من جديد نتيجة لإضافة المغذيات المناسبة إلى الوسط الزراعي . ومن المعروف في عالم النسيج أن المرستيم غير متخصص، يعطي بانقسامه خلايا باستمرار، وأول الخلايا الناجمة عنه هو البرنشيم، ثم الكولنشيم والاسكليرانشيم.



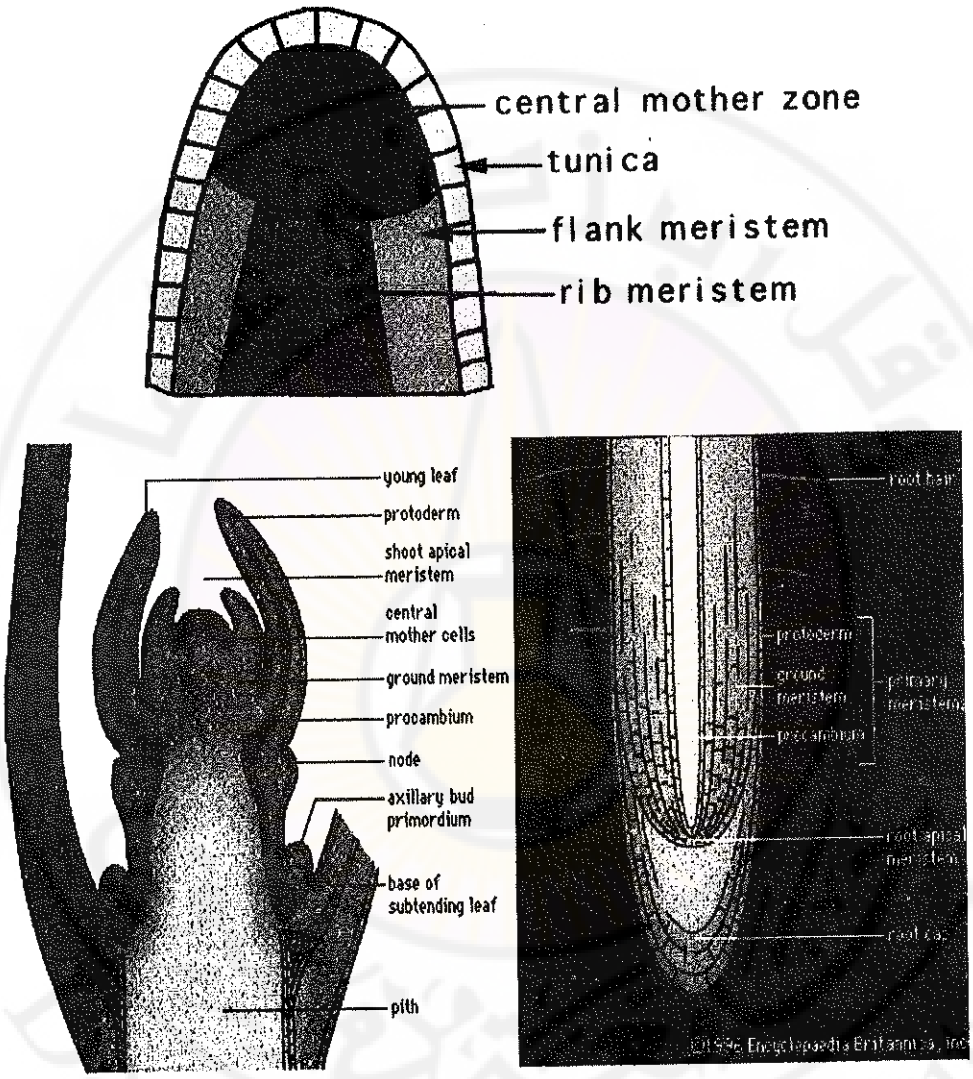
شكل ٦ – ٧ منظر ثفنة (كالوس) متشكل حديثا ، وهو عبارة عن خلايا برانشيمية غير متمايزة

٦-١-٤-٢ زراعة المرستيم القمي Apical meristen :

تتوضع الخلايا المرسيمية في نهايات الجذور الرئيسة و الجانبية، وفي قمم السوق والفروع، وتبنى من خلايا صغيرة الفجوات تنقسم باستمرار لإعطاء خلايا جديدة (شكل ٦-٨).

إن الخلايا المرسيمية خالية من جميع الأشكال الفيروسية، و الأمراض المرتبطة بها ، لذلك يستفاد منها بزراعة نسجها على أوساط مغذية بهدف الوصول إلى نباتات سليمة، لا تصيبها الأمراض (شكل ٦-٩)، ويعود السبب في ذلك إلى انعدام الأوعية الناقلة في المرستيم وهو الوسيلة الأهم لنقل العدوى الفيروسية عن طريق النسغ الموجود بداخل الأوعية . إضافة إلى ذلك يتمتع المرستيم بنشاط استقلابي مرتفع، وهذا يحد أيضاً من تكاثر الفيروس ، كما أن

ظام المقاومة للفيروسات عالٍ في المرستيم و الأوكسينات المتزايدة فيـــه تثـــبط بضاً من النشاط الفيروسي .



شكل ٦ – ٨ في الأعلى: مخطط يوضح المرستيم القمي ، حيث يلاحظ المرستيم الجانبي والمرستيم المركزي.في الأسفل إلى اليمين: مقطع طولي في جذر فتي يوضح المرستيم في قمته، إلى اليسار مقطع طولي في قمة الساق يوضح المرستيم في قمته أيضا.



شكل ٦ ــ ٩ بداية تشكل نبات فتي ناتج عن زراعة المرستيم وخالي من الفيروسات

٦-١-٤-٣ زراعة بعض مكونات البذور :

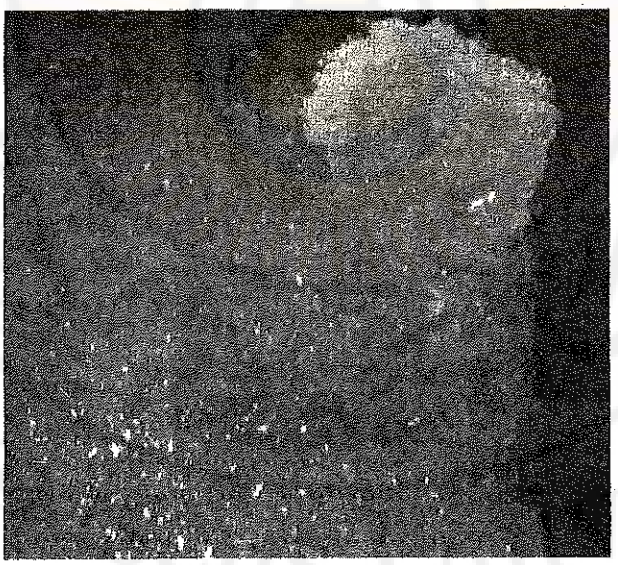
تختلف بذور النباتات عن مغلفاتها بالنسيج المغذي للجنين. وهكذا نجد في جميع بويضات النباتات الراقية نسيج النوسيل (2n) الذي يلاحظ بشكل واضح؛ قبل الشروع في تحول البويضات إلى بذور .

إن زراعة نسج النوسيل على أوساط صنعية، وباستعمال التقانات المناسبة تؤدي إلى تشكل نباتات ثنائيات الصيغة الصبغية، وتغلب عليها الصفات العائدة للأم .

أما النسيج المغذي للجنين في بذور العريانات؛ فهو المشرة العروسية المؤنثة أو الإندوسبرم Endosperm أحادي الصيغة الصبغية (1n) . إن زراعة هذا النسيج تؤدي إلى نباتات أحادية الصيغة الصبغية ، وكما هو معروف فإن الحصول على مثل هذه النباتات أمر صعب و نادر لدى استعمال التقانات التقليدية؛ لذلك تجري دراسات واسعة بهدف الحصول على مثل هذه

النباتات الأحادية بزراعة النسج؛ لما لها من أهمية تطبيقية كبيرة في مجالات شتى.

ويعد النسيج المغذي للجنين في بذور المغلفات السويدائية من أهم النسج المعدة للزراعة وهو السويداء Albumen ثلاثي الصيغة الصبغية. وتنحصر أهميته في تقانة الزراعة الحديثة بالحصول على نباتات ثلاثية الصيغة الصبغية Triploids (3n) بدلاً من استعمال الطريقة التقليدية الناتجة عن التهجين بين الثنائيات و الرباعيات (4n ×2n → 3n) الأمر الذي يأخذ وقتاً وجهداً كبيرين، ومساحة شاسعة لتحقيق ذلك . ولدى زراعة نسيج سويداء البذرة تتشكل براعم أو كالوس على الرغم من عدم إثبات تشكل أجنة في هذه النباتات. وقد تحقق في بعض الحالات زراعة الجنين حيث نتج عنه نسيج ثفني واضح (كالوس)(شكل ٦-١٠). إن لزراعة السويداء أهمية اقتصادية كبيرة في إنتاج بعض المحاصيل النباتية مثل: التفاح، وسكر القصب، و الشاي، والبطيخ الخالي من البذور، وغيرها .



شكل ٦ – ١٠ كالوس ينمو على جنين البذرة ، وربما يتناسى إلى نبات كامل

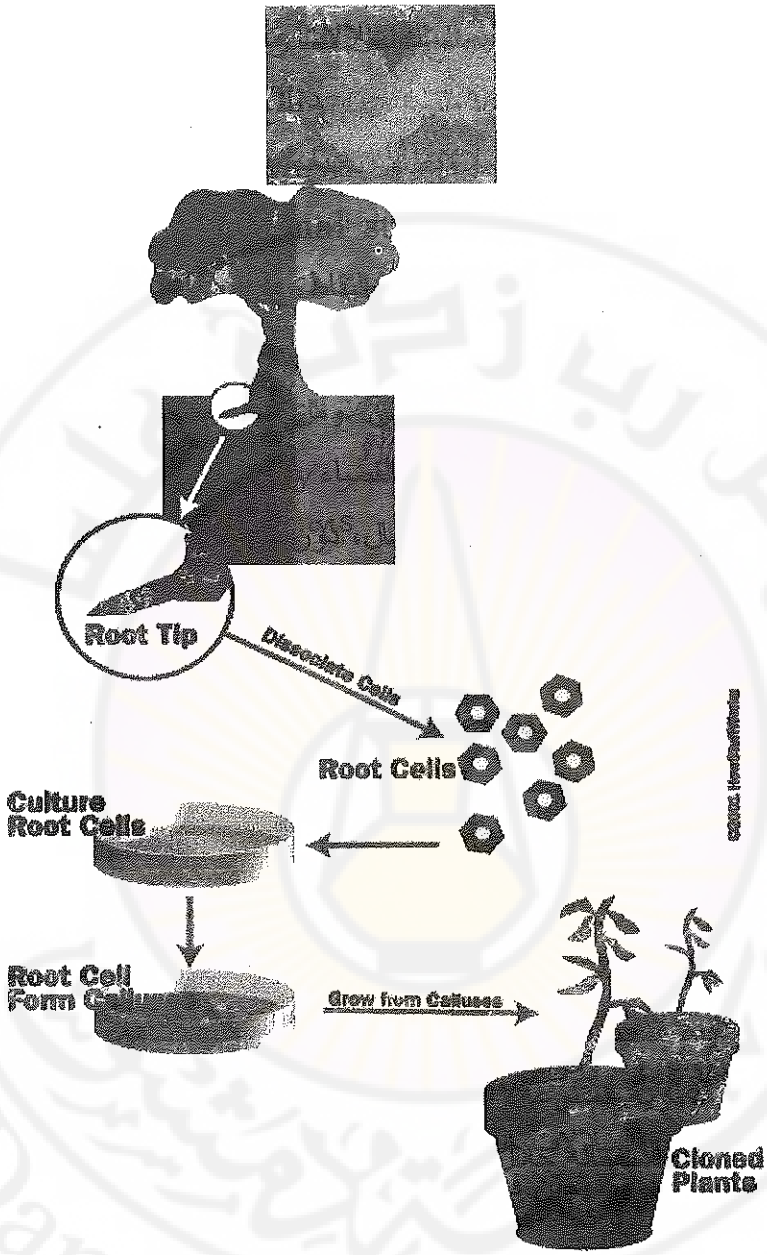
٦-١-٤-٤ زراعة الخلايا المفردة Cells Culture :

نميز نمطين من الخلايا المفردة : الأول ناجم عن تفكك الكالوس حيث يشكل خلايا معلقة ، وهكذا يتفكك الكالوس (بفضل الهز، أو الرج) إلى خلايا إفرادية، حيث تسحب منها خلية واحدة، وتزرع على وسط صنعي مناسب للحصول على نبات كامل (شكل ٦-١١).



شكل ٦ – ١١ كالوس مزروع على وسط صنعي مع بداية تشكل نبات جديد

والنموذج الثاني هو الخلايا الناجمة عن تفتيت Laceration نسيج مأخوذ من عضو (ورقة، أو جذر) ويتم التفتيت بطريقة ميكانيكية، أو أنزيمية . وفي جميع الأحوال توضع الخلايا المفردة على وسط يحتوي على تركيز عالٍ من الأوكسين ووسط منخفض من السيتوكسين ، حيث تنمو الخلية لتشكل نسيج ثفني Callus tissue بشكل كتلة من الخلايا، حيث ينقل إلى وسط صلب، وهكذا تتابع العمليات الزراعية حسب الطرق المدروسة شكل (٦-١٢).



شكل ٦ ــ ١٢ في الأعلى: كالوس ينشأ من الجذر .
المخطط في الأسفل: يوضح تشكل نبات كامل من الجذر بطريقة التفتيت، ثم الزراعة على وسط صنعي ، ثم النقل إلى الأصص

وقد تكون الخلية المفردة المزروعة جنسية كحبة الطلع مثلاً، حيث تعطي بزراعتها نباتاً أحادي الصيغة الصبغية يحمل صفات الذكورة بالكامل ، ويمكن تحويله إلى نبات خصب بمضاعفة صبغياته لتحويله إلى (2n) مع مورثات الذكر فقط .

ويمكن ان تتطور زراعة الخلية المفردة الجنسية إلى الخلية البيضية (1n) الموجودة في الكيس الجنيني، وذلك بهدف إعطاء نبات يحمل صفات الأنثى فقط، ومازالت هذه الأبحاث تنتظر الإنجاز، والتقصي .

٦-١-٥ بعض الأمثلة الواقعية حول زراعة النسج :

لقد فتحت زراعة النسج مجالات واسعة جداً لتحسين النباتات، لا سيما في مجال المقاومة تجاه الكثير من الأمراض، وهذا ما حصل عند معظم مزارع النسج لدى التوصل إلى النبات اعتباراً من الكالوس (الثفنة) أو من الخلايا المفردة، أو من حبات الطلع، أو من البروتوبلاست (خلايا منزوعة الفلاف) .

إن مزارع النسج النباتية المقاومة للمرض تكون مفيدة بشكل خاص مع تلك النباتات؛ التي تنتج عن التكاثر اللاجنسي مثل: الفريز، والتفاح، والموز، والبطاطا، والنخيل، وغيرها .

٦-١-٥-١ زراعة النخيل :

من المعروف أن زراعة وتربية أشجار النخيل صعبة جداً؛ لأنها لا تقبل عمليات التطعيم والشجرة منفصلة الجنس، و لا يمكن زراعتها بالبذور، ولا تثمر الشجرة إلا بعد مرور(١٠) سنوات، حيث تعطي "فروخ" تبقى بجانب الشجرة، وتتصل معها عدة سنوات، ثم تقطع وتزرع، و هكذا ...

إن غالبية أشجار النخيل المثمرة تعطي تموراً غير جيدة ، وقليل منها يحمل التمور الجيدة المفضلة في الأسواق المحلية، ومنها تستخرج "الفروخ"التي تستعمل للزراعة وقسم كبير منها يصدر إلى الخارج، بينما تبقى التمور السيئة في الاستهلاك المحلي؛ مما دفع الكثير من الدول العربية المنتجة للتمور الممتازة إلى منع تصديرها .

ومع دخول التقانات الحديثة في زراعة النسج بدأ العلماء يفكرون بإنتاج أشجار التمور الممتازة بهذه التقانات . وهكذا تؤخذ أوراق هذه الأشجار (من النوع الجيد و المرغوب) وتستخرج منها الخلايا الإفرادية بوساطة التفتيت Laceration وتزرع على الأوساط الصنعية، وتستخرج منها ملايين الأشجار (ربما من بضع أوراق) وبذلك أصبحت الدول المتقدمة التي تمتلك هذه التقانة المتطورة تنتج هذه التمور العربية الممتازة، وتعيد تصديرها إلى العرب (أصحابها الأصليون) بأسعار خيالية، وفعلاً أصبح شراء هذه (المنتجات الورقية المزروعة) من إنكلترا، وأمريكا، وفرنسا بمئات ملايين الدولارات (شكل ٦-١٣) .

ومن غرائب الإحصائيات التي أوردها الباحث حليم النجار في كتابه (علم الوراثة وهندستها) عام ١٩٩٤ أن صحاري أمريكا الشمالية، التي تضاهي صحاري بلاد العرب، بدأت (في ذاك الوقت) بإنشاء مزارع شاسعة لزراعة خلايا ونسج الكثير من الأنواع النباتية ومنها التمور . وتذكر الإحصاءات في هذا الكتاب أن إحدى الشركات أنتجت (٥,٢) مليون شجرة نخيل عام ١٩٨٦ ، و(٧,٧) مليون شجرة عام ١٩٨٧ ، و (٢٣,٣) مليون شجرة نخيل ممتازة عام ١٩٨٩ .... وإن إحدى الدول العربية اشترت مليون نخلة دفعة واحدة، وثمنها يكفي لتدريب (٢٠) اختصاصياً، وفتح (١٠) مراكز بحثية لزراعة النسج.... ومع ذلك بدأت تنتشر في الأيام الأخيرة مراكز زراعة

النسج في الكثير من الدول العربية، وذلك للقضاء على مشاكل زراعة وتربيـــة النباتات التي يصعب إكثارها بوساطة البذور



شكل ٦ ـ ١٣ أشجار نخيل ممتازة جاءت من زراعة الخلايا والنسج

٦-١-٥-٢ زراعة الموز :

كما في شجرة النخيل فإن الموز يتكاثر بوساطة "الفروخ" التـــي تنبـــت بجانب الشجرة الأم . وأهم مشاكل شجرة الموز أنها تتعرض لمرض فيـــروس

يصيب الأوراق ، كما تتعرض الجذور إلى " النيماتودا " ، وبذلك فإن زراعة الشتلات " أو الفروخ " الحاملة لهذه الإصابات من الفيروسات والديدان تعمل على نقلها إلى الأبناء من جيل لآخر، ومن بستان لآخر، ومن الصعب جداً الحصول على " فروخ " خالية من هاتين الآفتين.

وبتقانة زراعة النسج انطلاقاً من أوراق شجرة الموز حديثة النمو (قبل أن تصاب بالآفات المرضية) ، وبفتيت هذه الأوراق، وتوليد " نباتات " من خلايا سليمة غير مصابة تم الحصول على كميات هائلة منها، وأصبحت تستخدم للأغراض المحلية وللتصدير .

إن عمليات تطعيم الموز في هذه الحالات خطيرة جداً؛ لأنها تنقل بنسبة عالية ومؤكدة جميع الأمراض الفيروسية وغيرها إلى الأشجار السليمة ، ليس في الموز فقط، وإنما في جميع الأشجار المثمرة مثل الحمضيات ، وليس من حل لهذه المشكلة سوى زراعة النسج .

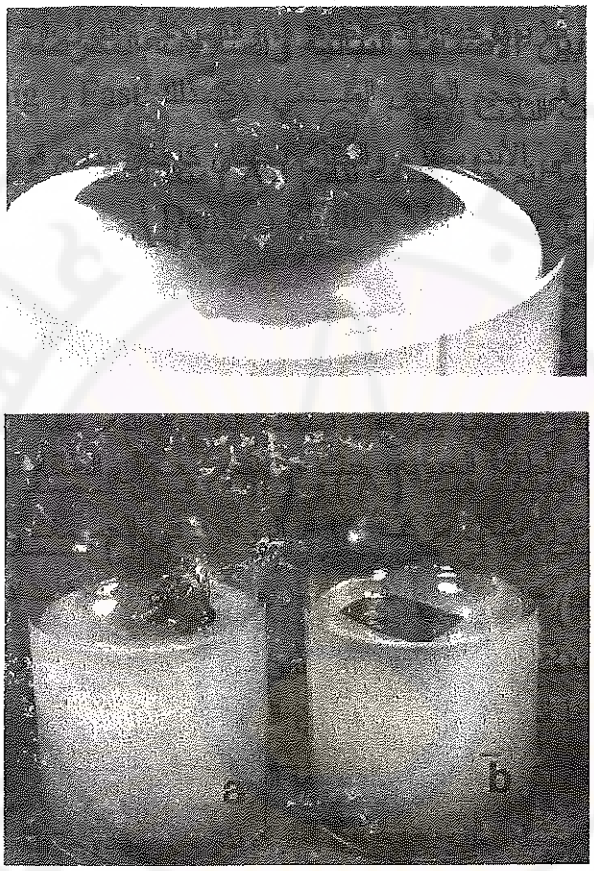
٦-١-٦ مشاكل زراعة النسج :

لقد تم رصد بعض الملاحظات التي ترافق زراعة النسج أثناء عمليات وضع الخلايا أو النسيج على الوسط المغذي أثناء الإكثار، ومن أمثلتها النموذجان الآتيان:

٦-١-٦-١ تشكل اللون البني Browning :

يلاحظ في بعض المزارع لبعض الأنواع النباتية تبدل لون الجزء النباتي المزروع؛ مما يؤدي إلى تثبيط النمو، وموت النسج بعد فترة قصيرة . وغالبية النسج التي تأخذ اللون البني هي التي تحتوي على نسبة عالية من التانين Tannins أو هيدروكسي فينول Hydroxy phenol حيث يحصل هذا

اللون إثر جرح النسيج أثناء عملية القص أو التطعيم ، وغالباً ما يصاب الكالوس بهذه الظاهرة (شكل ٦-١٤).



شكل ٦ – ١٤ ظاهرة تشكل اللون البني أثناء زراعة النسج

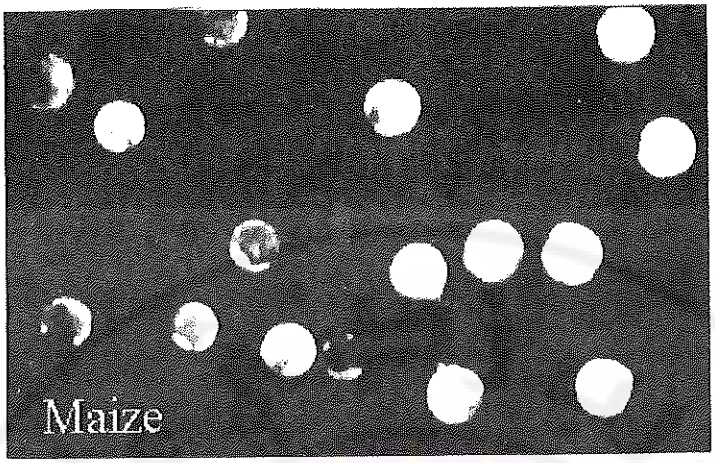
وللتخلص من تلون النسج وتأكسد الفينولات يجب أن نعمل على التخلص من هذه الفينولات بتثبيط الأنزيمات المرتبطة بتشكلها ، أو بنقل النسج المزروعة إلى وسط جديد في الفترة الأولى من الزراعة كيلا تتراكم الفينولات



شكل ٦ – ١٧ إلى اليمين كالوس صلب ، إلى اليسار كالوس هش سريع الكسر

٦-٢- تقانة البروتوبلاست في الأحياء الدقيقة :

يشير مصطلح البروتوبلاست Protoplast إلى الخلية منزوعة الغلاف بشكل كامل، وبالتالي الحصول على الكتلة المحاطة بالغشاء السيتوبلاسمي Plasma membrane والتي تتضمن السيتوبلاسمي مع كامل محتوياتها والنواة (شكل ٦-١٨).



شكل ٦ – ١٨ بروتوبلاست معزول من خلايا الذرة (الأشكال الفاتحة والكروية) والأغلفة الفارغة للخلايا (الأشكال الملونة وغير الكروية)

وهكذا يوصف البروتوبلاست المعزول بأنه خلية " عارية Naked " أبعد عنها الغلاف بطرق ميكانيكية أو أنزيمية، وقد أصبح الغشاء مكشوفاً للعيان شكل (٦-١٩) .ويستعمل البروتوبلاست في مجال الأبحاث الوراثية المختلفة، وفي تصميم سلالات للأهداف الصناعية . ويرى بعضهم أنه إذا لم يعزل كامل الغلاف (أي: بقي منه بعض الأجزاء على سطح الغشاء) فإن الناتج يسمى سفيروبلاست Sphaeroplast ، وهذه البقايا لها القدرة على إعادة ترميم غلاف جديد للخلية ضمن شروط معينة . ويستفاد من هذه الظاهرة إعادة البروتوبلاست إلى الشكل الخلوي بعد إجراء المطلوب منه وراثياً، أو تحقيق أهداف إنتاجية معينة ، وذلك بإضافة بقايا الغلاف الخلوي إلى البروتوبلاست المعدل وراثياً، والهدف النهائي من ذلك هو الحصول على نبات جديد فيه جميع الصفات المرغوبة . وتجدر الإشارة إلى أن الفيروسات لا يمكن أن تعطي أي شكل من أشكال البروتوبلاست، كونها غير خلوية، وهي طفيليات إجبارية على المستوى الوراثي .

لقد تم تطبيق أبحاث البروتوبلاست في البداية على الجراثيم والفطريات، ثم تحققت دراسات واسعة ومهمة جداً على بروتوبلاست النباتات الراقية والطحالب .



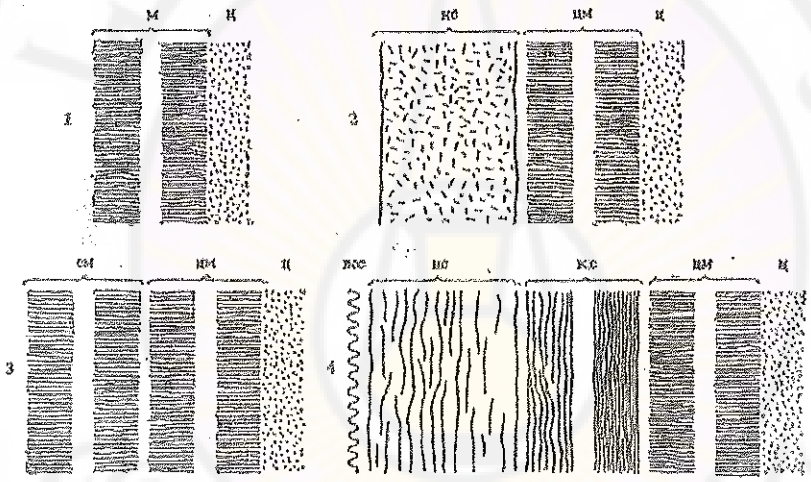
شكل ٦ ـ ١٩ بروتوبلاستات عارية من الغلاف الخلوي وقد أزيل بطرق ميكانيكية أو أنزيمية.

٦-٢-١ البروتوبلاست في الجراثيم :

الجراثيم من بدائيات النوى Prokaryotes تبنى من غلاف خلوي مختلف الثخانة حسب نوع الجرثوم ، يتوضع تحته الغشاء السيتوبلاسمي؛ الذي يحيط بالسيتوبلاسما و متضمناتها إضافة إلى الصبغي الجرثومي Nucleoid والبلاسميدات Plasmids وهي صبغيات إضافية لها دور مهم في الوراثة .

٦-٢-١-١ نزع الغلاف والحصول على البروتوبلاست الجرثومي :

ترتبط طرائق الحصول على البروتوبلاست الجرثومي بشدة مع طبيعة الغلاف العائد للجرثوم . وكما هو معلوم فإننا نجد نمطين من الجراثيم : موجبة الغرام (+) يكون غلافها متجانساً، وتتراوح سماكته من ٢٠ – ٨٠ نانو متر ، وسالبة الغرام (–) يكون غلافها معقداً سميكاً، يتكون من ثلاث طبقات: خارجية ومتوسطة وداخلية، مثل: جراثيم العصيات المعوية E. coli شكل(٦-٢٠) .



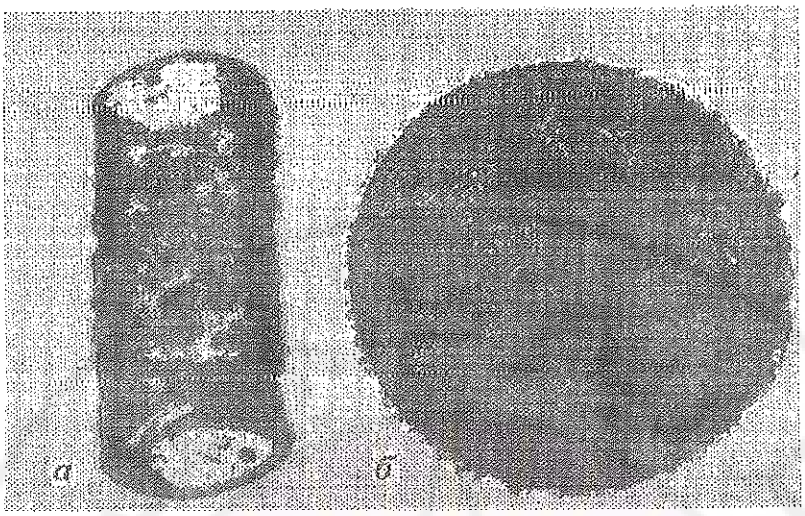
شكل(٦-٢٠) أنماط الغلف الخلوية في الجراثيم:

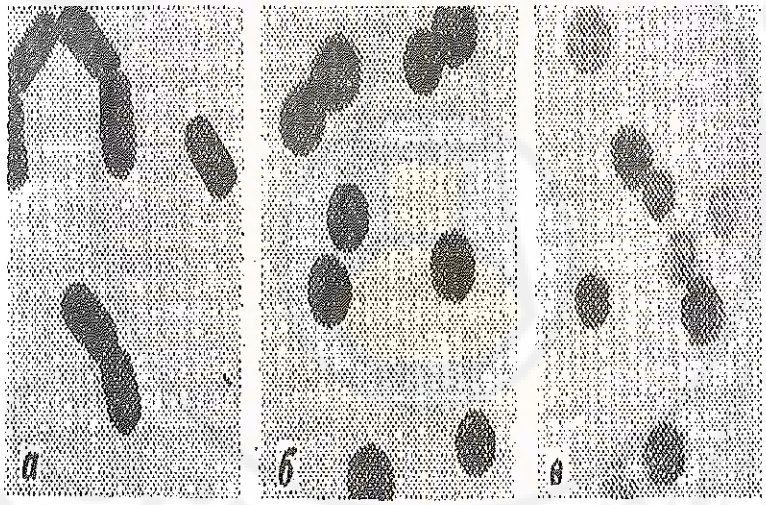
١- وحيد الغشاء (غشاء وسيتوبلاسما). ٢- غلاف في الجراثيم موجبة الغرام (غلاف، غشاء، سيتوبلاسما). ٣- غلاف سميك في الجراثيم سالبة الغرام (غلاف معقد، غشاء، سيتوبلاسما). ٤- غلاف سطحي معقد جداً (طبقة اسمنتية، غلاف، غشاء، سيتوبلاسما).

للحصول على البروتوبلاست في الجراثيم موجبة الغرام، يكفي معالجتها في محلول الليزوزيم مرتفع الضغط الحلولي، حيث تنحل الطبقة

الببتيدوغليكانية، ونحصل على البروتوبلاست الكامل (التركيز الأمثل لليزوزيم ١٠-١٠٠٠مكروغرام / لتر) ، والليزوزيم محلول حيوي وليس صنعياً موجوداً في دمع الإنسان .

للحصول على البروتوبلاست في الجراثيم سالبة الغرام؛ فإن محلول الليزوزيم لا يكفي لنزع وإذابة كامل الغلاف عندها ، وبذلك قد يؤدي هذا المحلول بالضغط الحلولي المنخفض في بعض الحالات إلى تحطيم أجزاء من الغلاف، والحصول على سفيروبلاست . إن الطريقة الأفضل للحصول على بروتوبلاست الجراثيم السالبة الغرام هي الطريقة البنسيلينية و التي تتمثل بالآتي : (وسط مغذٍ من مرق اللحم الببتيدي + سكاروز + كبريتات المغنيزوم + بنسيلين ١٠٠٠مكرو غرام / لتر) يخض هذا المزيج لدى وضعه مع الجراثيم في وسط شاردي ph=7.4 بالدرجة ٣٧° وبوجود هزاز كهربائي لمدة ١,٥-٤ ساعة، فتتحول جميع الجراثيم (E. coli) إلى بروتوبلاست ، ومن المعتقد أن البنسيلين يعرقل تركيب بوليميرات الغلاف المعقد (شكل ٦-٢١) .





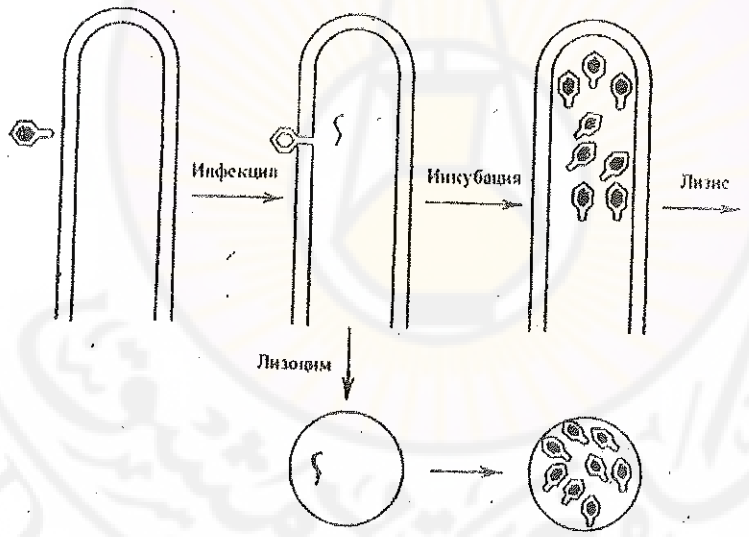
شكل (٦-٢١)

في الأعلى: صورة فوتوغرافية توضح شكل الجرثوم العصوي Lactobacillus fermenti (يسار)، وشكل البروتوبلاست الناتج عنها بعد نزع الغلاف (يمين) (X9400).

في الأسفل: صورة فوتوغرافية توضح عصيات جراثيم Bacillus megaterium (يسار)، والبروتوبلاستات الناجمة عنها (وسط) والغلف الخلوية (يمين) (X3000).

٦-٢-١-٢ هل يحافظ البروتوبلاست على الخصائص التي كان يتمتع بها الجرثوم ؟

لقد تبين من الدراسات الكثيرة أن تحول الخلايا العصوية للجرثوم إلى بروتوبلاست كروي لا يبدل من مختلف خصائصه الفيزيولوجية، و الوراثية، وغيرها . فمثلاً لدى مهاجمة بروتوبلاست جرثومي بآكل جراثيم Bacteriophage ، نجد أن الآكل يقوم بإدخال الـ DNA العائد له إلى بروتوبلاست الجرثوم، وبالتالي يتناسخ بداخله، ويشكل آكلات عديدة تؤدي إلى تفجير البروتوبلاست الجرثومي، والقضاء عليه تماماً، كما لو كان جرثوماً عصوياً شكل (٦-٢٢).

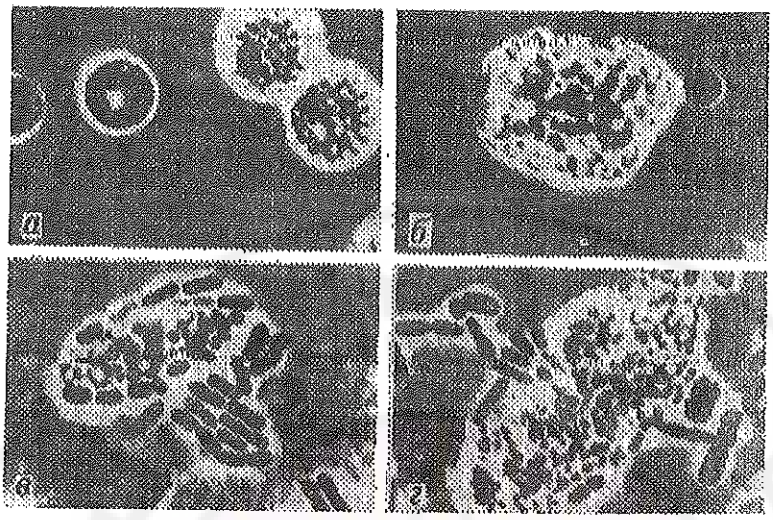


شكل(٦-٢٢) مخطط تكاثر آكل الجراثيم داخل الخلية الجرثومية وداخل البروتوبلاست الناجم عنها على حد سواء.

كما أن البروتوبلاست الجرثومي يقوم بتشكيل براعم على سطحه (كونه كروي الشكل فاقداً للغلاف الخلوي) ، وهذه البراعم تبدو بحجوم صغيرة مقارنة مع حجم الخلية الأم شكل(٦-٢٣)، إضافة إلى ذلك لدى الحصول على السفيروبلاست (بروتوبلاست مع بقايا غلاف خلوي لم يتحقق نزعه) تقوم هذه الأشكال الكروية بإعادة استرجاع الأشكال الجرثومية العصوية بعد زوال المؤثرات عليها وهي وسائل معالجة الجراثيم (ليزوزيم، أو طريقة بنسلينية) شكل (٦-٢٤).



شكل (٦-٢٣) صورة توضح تبرعم بروتوبلاست جرثوم Bacillus subtilis (X130000).



شكل (٦-٢٤) صورة توضح مراحل استرجاع البروتوبلاست إلى أشكال جرثومية عصوية عند Bacillus megaterium

أعلى: بروتوبلاست (يسار)، زيادة حجم (يمين).

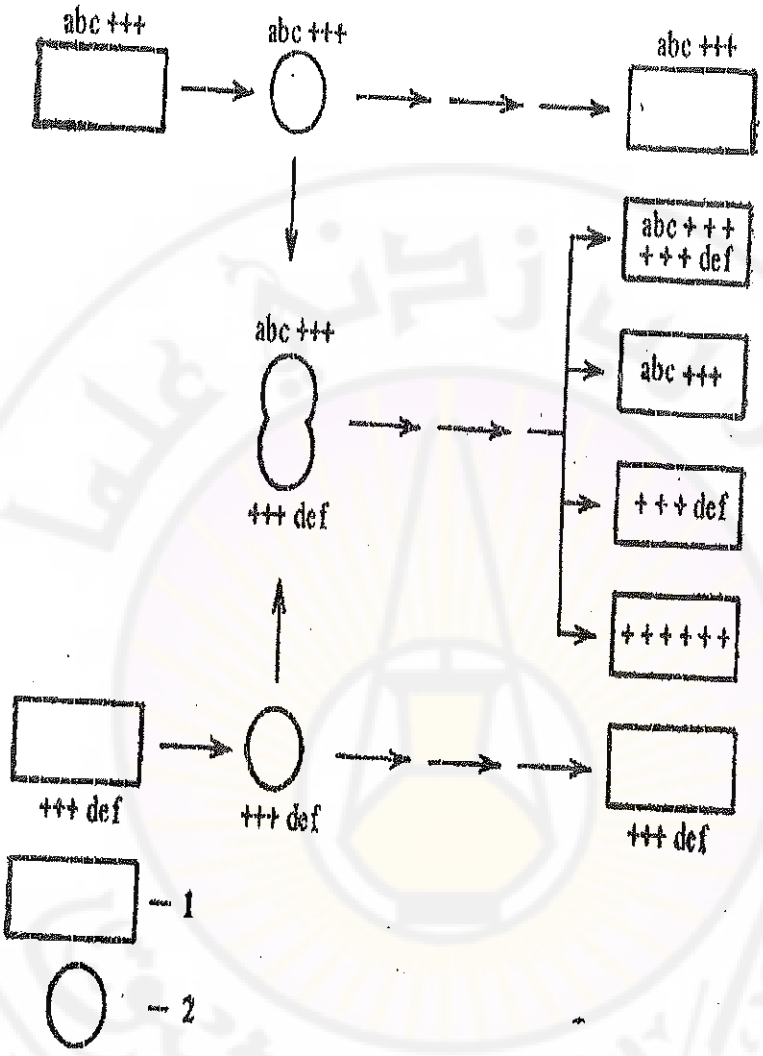
أسفل: رجوعها إلى جراثيم (يسار)، خروجها من البروتوبلاست (يمين) (X3000).

لكن نزع الغلاف الكامل عن الجرثوم يؤدي إلى تشكل بروتوبلاست حقيقي غير قادر على الرجوع إلى الشكل العصوي، لذلك ينمو، و يتكاثر، ويشكل مستعمرات جرثومية ثابتة (نمط L) . وبذلك فإن البروتوبلاست الحقيقي يحافظ على كامل خصائص الجرثوم الوظيفية و الوراثية؛ كما لو كان جرثوماً عصوياً مالكاً للغلاف.

٦-٢-١-٣ دمج البروتوبلاستات الجرثومية والاستفادة منها كطرائق وراثية:

لقد لوحظت ظاهرة التحام، أو اندماج البروتوبلاستات بين الجراثيم، مثل Bacillus , Proteus وغيرها . ويمكن أن يحصل هذا الاندماج بشكل طوعي Spontaneous fusigene بعد عملية إذابة، أو هضم Digestion غلاف الخلية الجرثومية، لكن هذه العملية تزداد بوجود مادة محفزة على الدمج هي مادة بولي إيتيلين غليكول Polyethylen glicole (PEG) التي تملك خاصية تقارب البروتوبلاست وتماسكها وإلصاقها، وبالتالي دمجها .إن جميع الطرائق المستعملة في دمج البروتوبلاست الجرثومية باستعمال (PEG) تكون واحدة تقريباً ، حيث تعتمد على وضع البروتوبلاستات والمحفز بنسبة(١:١) في خلاط مع الهز لمدة (٥) ثوانٍ ثم تثفل، فيتحقق التحام البروتوبلاست بشكل مجموعات.

ومن التطبيقات الوراثية في هذا المجال إمكانية الحصول على جراثيم كاملة التغذية Prototrophe (++++++) من دمج بروتوبلاستين لجرثومين كل منهما ناقص التغذية الأول(abc +++) والثاني (def+++) ،ولدى الدمج نحصل على جميع الاحتمالات الممكنة . وهذه العملية تتطلب الحصول على بروتوبلاست للجرثوم الأول وللجرثوم الثاني ثم وضع PEG وتحقيق دمجها ومن ثم يحصل العبور و التأشيب شكل (٦-٢٥). (لقد تبين وجود عوامل ومركبات أخرى تحث على دمج البروتوبلاست مثل نترات الصوديوم No_3Na وشوارد الكلسيوم Ca^{++} مثلاً) .


abc +++
abc +++
abc +++
abc +++
+++ def
abc +++
abc +++
+++ def
+++ def
+++ def

٦-٢-١-٤ البروتوبلاستات وجراثيم الريزوبيوم :

لقد أنجز الباحثون بنجاح عملية دمج البروتوبلاست بين سلالتين من جراثيم العقد الآزوتية المثبتة للآزوت Rhizobium meliloti والمعلمة بالأوكسوتروف (ناقصة التغذية) والبروتوتروف (كاملة التغذية) تجاه المضادات الحيوية ، وكذلك المعلمة بتأثير الأكلات الجرثومية عليها . فالسلالة الأبوية الأولى

(Cx – 19) تشكل بوجودها في جذور البرسيم عقداً طبيعية وتثبت الآزوت، والسلالة الأبوية الثانية (M 31) تشكل بوجودها في الجذور عقداً مشوهة، ولا تثبت الآزوت.

إن وضع مزيج البروتوبلاستات للسلالتين الأبويتين على وسط غذائي مختار أدنى مرتفع التركيز والمعالجة بمحلول PEG تركيز ٤٠% يؤدي بعد مرور (٧-٩) يوم إلى تشكيل مستعمرات ناعمة شفافة مائلة إلى اللون الأبيض. ومن التجارب الشاهدة تبين أن النماذج كاملة التغذية (البروتوتروفية) التي ظهرت على الأوساط المختارة هي الناتجة فقط عن تهجين السلالات ناقصة التغذية (الاكسوتروف) وذلك من خلال دمج البروتوبلاستات، كما في الجدول الآتي :

تواتر ظهور سلالات كاملة التغذية (بروتوتروف) لدى التحام بروتوبلاست لسلالتين من جراثيم الريزوبيوم R. meliloti هما (M_{31} , CXM1-9).

الاحتمالات	السلالات الأبوية		تواتر السلالات كاملة التغذية
	M_{31}	CXM 1-9	
١	ـــــ	بروتوبلاست	$٢,٥ \times ١٠^{-١٠}$
٢	بروتوبلاست	ـــــ	$١,٣ \times ١٠^{-١٠}$
٣	جرثوم	بروتوبلاست	٣×١٠^{-١٠}
٤	بروتوبلاست	جرثوم	$٢,٧ \times ١٠^{-١٠}$
٥	جرثوم	جرثوم	$٢,٩ \times ١٠^{-١٠}$
٦	بروتوبلاست	بروتوبلاست	$١٠^{-٤} - ١٠^{-٥}$

من الجدول السابق نجد ما يأتي:

- في الاحتمال الأول لا تتشكل نسبة عالية من البروتوتروف (كامل التغذية) لأنه من الممكن أن تكون السلالة الأبوية (CXM1-9) ناقصة التغذية (أكسوتروف) .
- في الاحتمال الثاني لا تشكل نسبة عالية من البروتوتروف؛ لأن السلالة الأبوية (M_{31}) هي بالأصل طافرة لذلك نسبة البروتوتروف أقل من سابقتها .
- في الاحتمال الثالث لا تنمو نسب عالية من البروتوتروف، لأن الجراثيم M_{31} محاطة بغلاف، فلا تصل إليها مورثة عدم التشوه من السلالة (CXM1-9) .

- في الاحتمال الرابع لا يتشكل بروتوتروف؛ لأن جراثيم السلالة الطبيعية (CXM1-9) محاطة بغلاف، فلا تصل إلى السلالة البروتوبلاستية M31 .
- في الاحتمال الخامس لا يمكن الوصول إلى كثرة من البروتوتروفات؛ لأن هذه العملية مرهونة بتزاوج جنسي بين جرثوم وجرثوم (عدم وجود بروتوبلاستات أصلاً).
- وأخيراً نجد أن الاحتمال السادس هو الذي يحقق هذه التجربة، ويرفع من نسبة تشكل جراثيم كاملة التغذية (بروتوتروفات) لأننا أمام عملية دمج بروتوبلاستين لكل من السلالتين الأبويتين، وبذلك تحققت نسبة عالية محصورة بين ١٠$^{-٤}$ و١٠$^{-٥}$ من البروتوتروفات المتشكلة.

٦-٢-١-٥ استخدام وفوائد دمج البروتوبلاستات في الجراثيم:

من المعروف أن بعض الجراثيم تحقق عملية التكاثر الجنسي (النسبي) بآلية التزاوج Conjugation فيما بينها . وهكذا نجد جراثيم معطية (F^+) أو (Hfr) يوجد فيها عامل الإخصاب (F) ، وجراثيم آخذة (F^-) ينعدم منها عامل الإخصاب ، وقد تنعدم ظاهرة التزاوج عند جراثيم أخرى . إن الجراثيم التي تحقق عملية التزاوج تحصل عندها ظاهرة التأشيب Recombination ، وبالتالي نحصل على جراثيم عبورية تفيدنا في رسم الخارطة الصبغية، وتحقيق بعض الأهداف الوراثية . أما الجراثيم الفاقدة لعملية التزاوج الجنسي فإن تقانة دمج البروتوبلاست فيما بينها تحقق الأهداف الوراثية المرجوة بحصول التأشيب؛ التي تلي عملية الدمج .

تنحصر آليات نقل الـDNA بين الجراثيم بعمليات التحول، التحول الانتقالي، والتزاوج، وهذه هي الطرق التقليدية حيث ينتقل الـ DNA من جرثوم لآخر . لكن دمج البروتوبلاست بين الجراثيم المختلفة يوسع بشكل كبير هذه العملية و يؤدي إلى تحقيق نتائج كثيرة، منها :

- نتيجة لدمج بروتوبلاستين لخليتين جرثوميتين يحصل دخول كامل محتوياتها من مادة نووية، و سيتوبلاسمية إلى خلية واحدة هي الخلية المندمجة .
- قد يتوحد بالطريقة التقليدية جنومان فقط في خلية واحدة ، بينما نلاحظ أحياناً في بعض حالات دمج البروتوبلاستات تعدد الجنومات في الخلية الواحدة (أشبه ما يكون بالتعدد البوليبلوئيدي) .
- الاندماج البروتوبلاستي يتحقق بين أي نوع من الجراثيم مع نوع مثيل له، أو مخالف له ، بينما التزاوج ونقل الـDNA لايتحقق إلا ضمن النوع الواحد ، والأكثر من ذلك يمكن دمج بروتوبلاست جرثوم مع بروتوبلاست خلية نباتية، أو مع بروتوبلاست خلايا بشرية ، وسنتعرف على حالات كثيرة لدى التعرض إلى البروتوبلاست في النباتات الراقية.

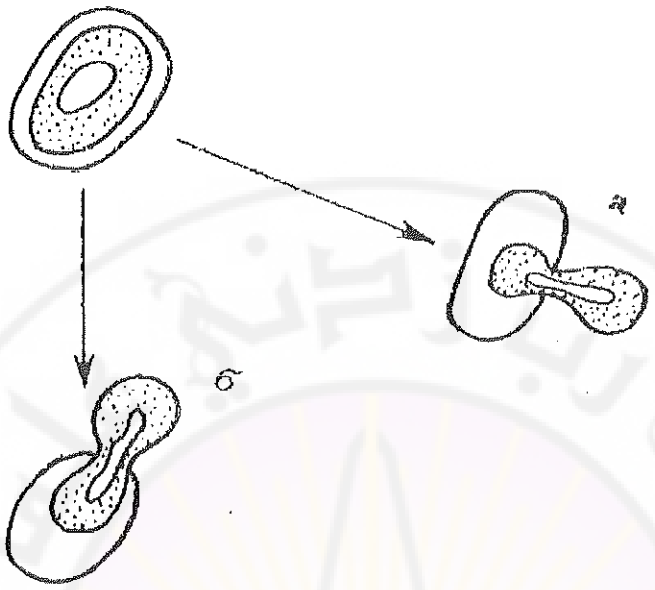
٦-٢-٢ البروتوبلاست في الفطريات :

تختلف الفطريات عن الجراثيم بكونها حقيقيات النوى Eukaryotes تتصف الخلية بوجود نواة حقيقية، وغلاف، وسيتوبلاسما، ونظام غشائي، وتكون النواة أحادية الصيغة الصبغية (1n) وتحمل صبغيات إفرادية . ومن الفطريات ماهو وحيد الخلية (خمائر) ومنها متعدد الخلايا (مشيجية).

٦-٢-٢-١ البروتوبلاست في الخمائر :

من أشهر الخمائر وحيدات الخلية نجد خميرة البيرة، أو الخبز Saccharomyses cervicea من الفطريات الزقية العارية Gymnoascomycete التي لا تشكل ثماراً زقية . ويتراوح ثخن غلاف خلية فطر الخميرة من (١٠٠-٢٥٠) نانومتر ، وقد تتعدد طبقاته حيث تصل إلى العشر . وعلى ما يبدو لا يمكن إزالة غلاف خلية الخميرة، وإنما يمكن إحداث ثقب فيه حيث يخرج البروتوبلاست من خلاله . وفعلاً تبين أن استعمال عصارة الجهاز الهضمي لحلزون العنب Helix pomatia تؤثر على غلاف الخلية نظراً لوجود نحو (٣٠) أنزيم منها، مثل : غلوكاناز ، ماناز، بروتيناز، ليباز...إلخ .

هذه العصارة تحدث ثقباً في غلاف الخلية تخرج من خلاله السيتوبلاسما متحولة إلى بروتوبلاست . هذه الثقوب إما أن تظهر على قطب الخلية، أو في المنطقة الاستوائية (شكل ٦-٢٦) . وتجدر الإشارة إلى عصارة الجهاز الهضمي لحلزون العنب هي ذات منشأ حيواني ، ويبحث العلماء على إيجاد أنزيمات ذات منشأ طبيعي .

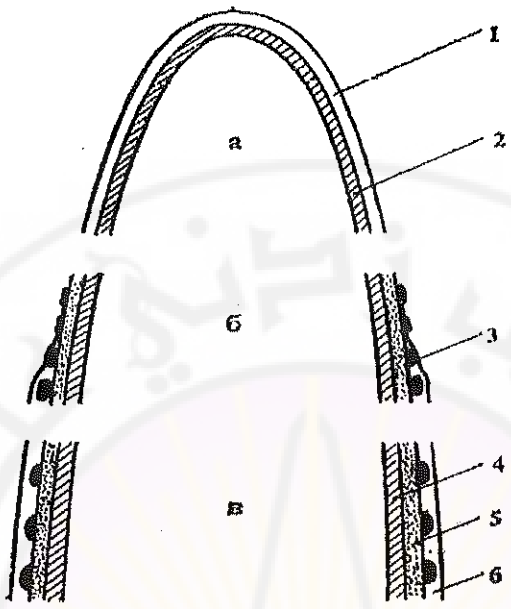


شكل (٦-٢٦): مخطط يوضح تحرر البروتوبلاست من خلايا الخميرة.لاحظ خروج البروتوبلاست إما من ثقب جانبي أو من ثقب علوي في الخلية الوحيدة للخميرة.

٦-٢-٢-٢ البروتوبلاست في الفطريات المشيجية:

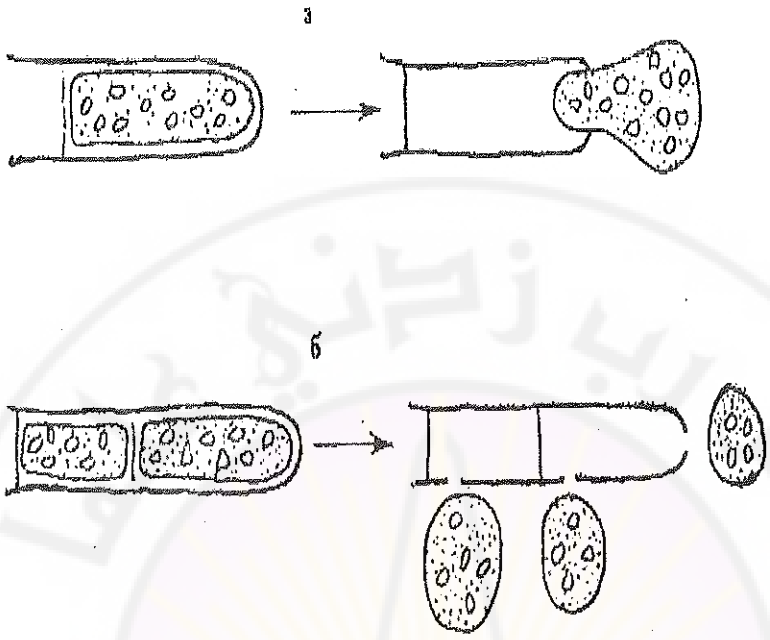
تتصف هذه الفطريات بوجود الخيوط Hypha متعدد النوى، حيث تشكل بمجملها المشيجة Mycillium. وبعض هذه الفطريات ما يكون خلوياً Cellular أي: الخيط الفطري مكون من خلايا لكل منها نواة واحدة ، وبعضها ما يتميز ببنية غير خلوية أو سينوسيتية Cenocytic أو أنبوبية، أي: أن الخيط يحمل سيتوبلاسما عديدة النوى، و دون حواجز .

إن الخيط الفطري الخلوي مختلف ببنيته من القمة حتى القاعدة . وهكذا تحاط القمة بغلاف رقيق، وبعد ذلك تزداد البنية تعقيداً وسماكة كلما اتجهنا نحو القاعدة، حيث تتعدد طبقاته (شكل ٦-٢٧).

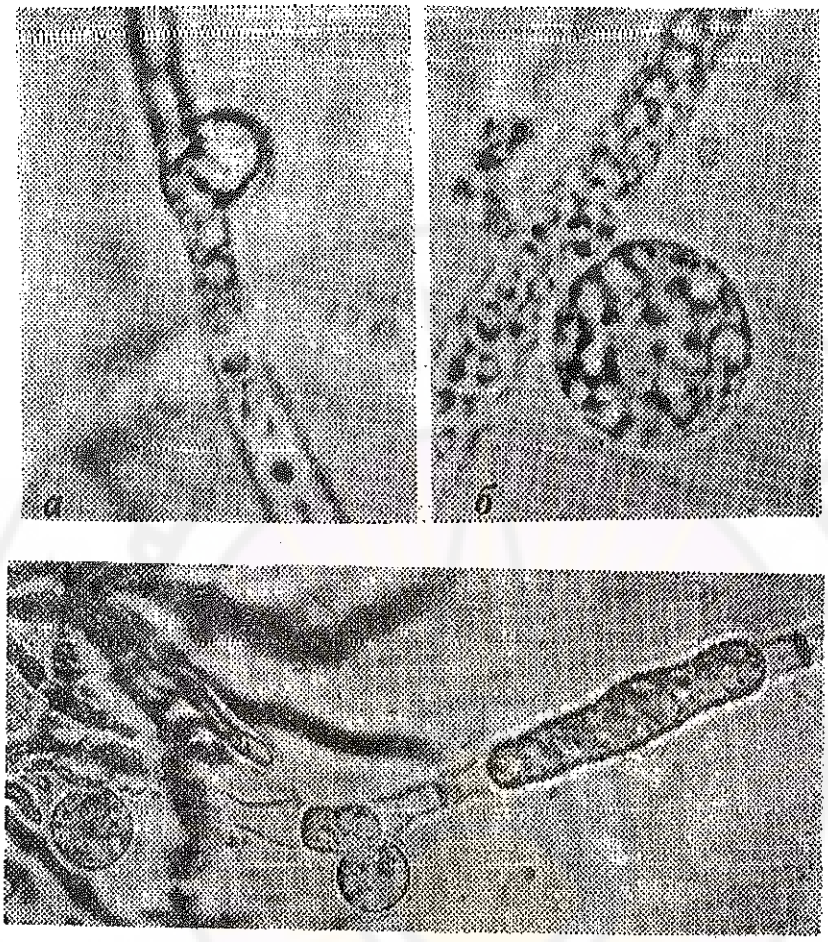


شكل (٦-٢٧) مخطط يوضح بنية خيط فطر النيروسبورا Neurospora crassa (القمة، الوسط، الأسفل) ١- بروتين، ٢- ليبفات كيتينية، ٣- شبكة غليكوبروتينية، ٤- بروتين كثيف، ٥- بروتين عديم الشكل (سهل الإنتزاع)، ٦- لامينارين عديم الشكل.

إن عصارة الجهاز الهضمي لحلزون العنب حققت بعض النتائج الايجابية في نزع بعض الغلف في بعض الفطريات المشيجية مثل النيروسبورا، والأسبيرجيلوس، حيث يتحرر البروتوبلاست من خلال ثقب يتشكل على جدار الخلية؛ لا سيما في جدار قمة الخيط الفطري كونها أكثر تحسساً تجاه أنزيمات الجهاز الهضمي للحلزون (شكل ٦-٢٨) و (شكل ٦-٢٩) .



شكل (٦-٢٨) مخطط يوضح شكل البروتوبلاست في الفطريات المشيجية
في الأعلى: تحرر البروتوبلاست من قمة الخيط الفطري.
في الأسفل: تحرر البروتوبلاست من القمة ومن الجانب.



شكل (٦-٢٩) صور توضح تحرر البروتوبلاست من خيط الفطر المشيجي Sclerotina (أعلى)، ومن قمة فطر Eremothecium (أسفل) (X400)

ونظراً لصعوبة الحصول على الأنزيمات ذات المنشأ الحيواني Lytic enzyme (الحالة) (ليزوزيم، وعصارة حلزون العنب) ، فقد تمكن الباحثون من الحصول على أنزيمات ذات منشأ جرثومي ، وبشكل عام لا بد من معرفة تركيب الغلاف الخلوي، وبنيته الدقيقة؛ للتمكن من اختيار العامل الحال له Litic factor و الشروط المناسبة لتحقيق هذه العملية .

٦-٢-٣ الاستفادة من بروتوبلاست الفطريات في المجالات الوراثية:

إن بعض الفطريات المشيجية لا تملك تكاثراً لاجنسياً بالأبواغ الكونيدية، وبعضها الآخر لا يملك تكاثراً جنسياً أو صعبة التكاثر . لذلك فالحصول على نسائل Klon صغيرة من الفطريات المشيجية تشكل أهمية خاصة جداً لدى الحصول منها على بروتوبلاست ، حيث تتحقق فيما بعد عملية الدمج (التهجين) فيما بينها، وذلك بهدف الإنتخاب ودراسة الوراثة في الفطريات .

يتحقق الحصول على مثل هذه "النسائل " بالتقطيع، أو التكسير المشيجي، كأن تسحق مع الحصى الكوارتزي . هذه الطريقة تسمح بالحصول على كميات كبيرة من الكسرات ثنائية، أو ثلاثية الخلايا (النوى) .أما الحصول على أجزاء صغيرة مكونة من خلية واحدة تحمل نواة واحدة قابلة للحياة؛ فهي تحصل بتواتر قليل جداً(٠,٠٣%فقط) وهي المطلوبة و المفضلة للدراسات الوراثية ، ومع ذلك تمكن الباحثون من الحصول على النسائل وحيدات الخلية (النوى) وعلى البروتوبلاست الناجمة عنها، كما في الفطر المشيجي الذي يعطي أبواغاً كونيدية، وهو Sclerotiana sclerotiorum.

تشكل عملية التحام البروتوبلاستات نموذجاً مريحاً ومناسباً جداً لنقل العضيات المختلفة (نواة، ميتوكوندري ، صانعات خضراء) أو نقل الفيروسات والبلاسميدات غير المنتقلة من خلية إلى أخرى . هذه العملية تسمى Transfusi وفيما يلي بعض الأمثلة :

مثال -١ - لقد تم عزل نواة منتقاة من بروتوبلاست مرتبطة بالأدينين في خميرة البيرة، ومن ثم حضانتها مع بروتوبلاست خميرة لسلالة أكسوتروفية (ناقصة التغذية) بالأوراسيل، و الليزين، و الهيستيدين، وذلك بمساعدة P. E.G ، وبذلك يتحقق نقل هذه النواة إلى البروتوبلاست الجديد .

مثال- ٢- لقد تم نقل صانعات خضراء من نبات السبانخ (نبات راق) إلى بروتوبلاست من فطر مشيجي، وهو النيروسبورا بمساعدة P.E.G وفعلاً تم جمع أكثر من (٤٠) صانعة خضراء وظيفية في بروتوبلاست فطري واحد ، وبذلك تحول الفطر من كائن غير ذاتي التغذية إلى ذاتي التغذية.

مثال ٣ : لقد تمكن البروتوبلاست الناجم عن خميرة البيرة من " امتصاص " عضيات قادرة على التركيب الضوئي من الطحلب الأخضر وحيد الخلية، وهو الكلوريلا Chlorella . هذه العضيات دخلت إلى فجوات البروتوبلاست، وكأنها قطع الغرانا Grana العائد للطحلب، والتي تعرف باسم تلاكوئيدات Thellakoids .

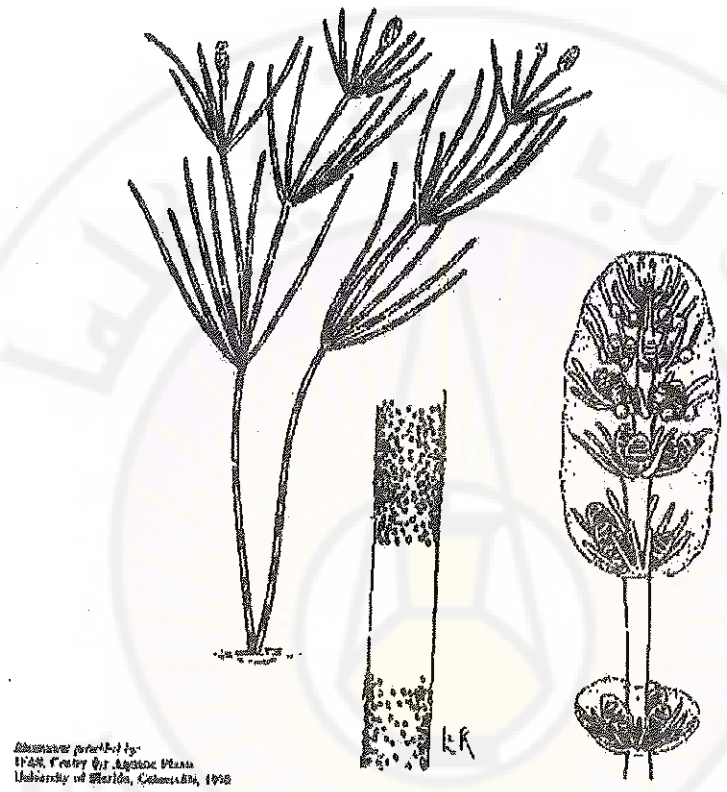
- لقد تبين أن بروتوبلاست فطر البنسيليوم Penicillium قادر على نقل " امتصاص " خلايا جرثومية كاملة .
- إن نقل البلاسميدات لدى اندماج، أو التحام البروتوبلاست تملك أهمية كبيرة في المجالات الصناعية ، لا سيما وأن البلاسميد يحمل معلومات وراثية مهمة، ومع ذلك إن تواتر حصول مثل هذه العملية قليل نسبياً .
- يعتقد أنه يمكن تصميم أشكال جديدة، أو غير عادية من الأحياء الدقيقة، وذلك من الأنسال الهجينة المتشكلة أثناء ظاهرة النقل Tranfusi ، وهذه الأشكال ستحل محل الطرائق التقليدية في نقل المادة الوراثية، وهي التحول، والتحول الانتقالي، والتزاوج .

إن دراسة بروتوبلاستات الأحياء الدقيقة بدأت منذ القدم ، لكنها تأسست على طرق جديدة في المجالات المورفولوجية ، الفيزيولوجية ، بيوكيمياء الخلية الجرثومية ...إلخ .

لقد فتحت طرائق التحام البروتوبلاستات باباً واسعاً أمام الهندسة الخلوية، هذه الهندسة تملك إمكانيات أكثر اتساعاً في تصميم أشكال جديدة مقارنة مع الهندسة الوراثية . ومع ذلك فإن كلا " الهندستين " الحيويتين (الخلوية والوراثية) تعملان معاً في خط واحد ويتمم كل منهما الآخر في مجالات " تصميم " المتعضيات الحية .

٦-٣ عزل البروتوبلاست من الطحالب الكارية :

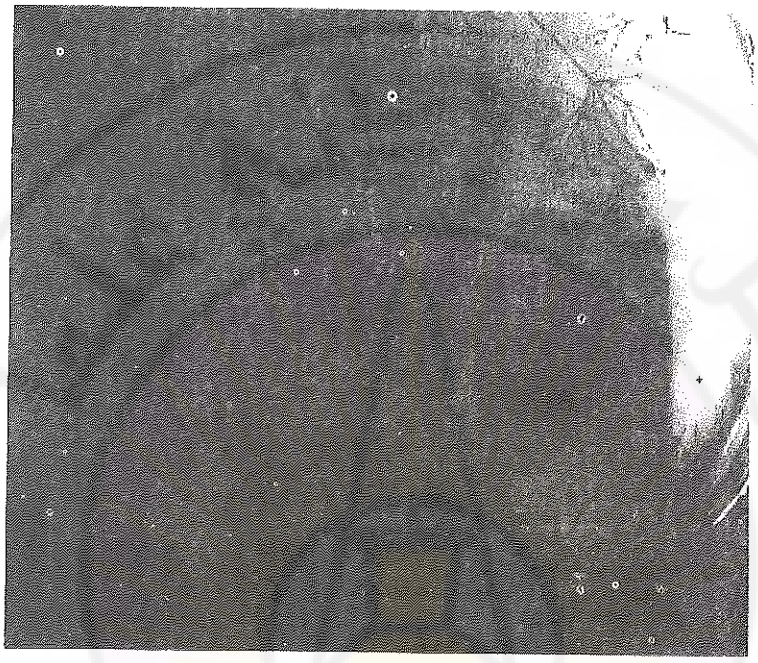
تتميز شعبة الطحالب الكارية Charophyta الخضراء بوجود أجناس متعضية راقية مثل طحلب الكارا Chara وطحلب نيتيلا Nitella وغيرها ، حيث تتميز عن باقي الطحالب وحيدات الخلية، أو الخيطية بوجود خلايا وأعضاء جنسية، وهي أقرب ببنيتها إلى الحزاريات من الطحالب (شكل ٦-٣٠) .



شكل ٦ ـ ٣٠ طحلب نيتيلا Nitella من الطحالب الكارية المتعضية الراقي

لقد تم عزل بروتوبلاست ضخم بالطرق الأنزيمية من طحلب نيتيلا النوع N.expansa حيث بدت هذه البروتوبلاستات محاطة بالغشاء السيتوبلاسمي، وتتوضع بداخلة جميع محتوى الخلية من صانعات خضراء، وبلاسما محيطية، وهي بحالة سليمة تماماً .

لقد تم تحقيق نمو البرعم القمي لهذا الطحلب، حيث بدا جاهزاً لعمليات عزل الغلاف أنزيميا شكل (٦-٣١) .

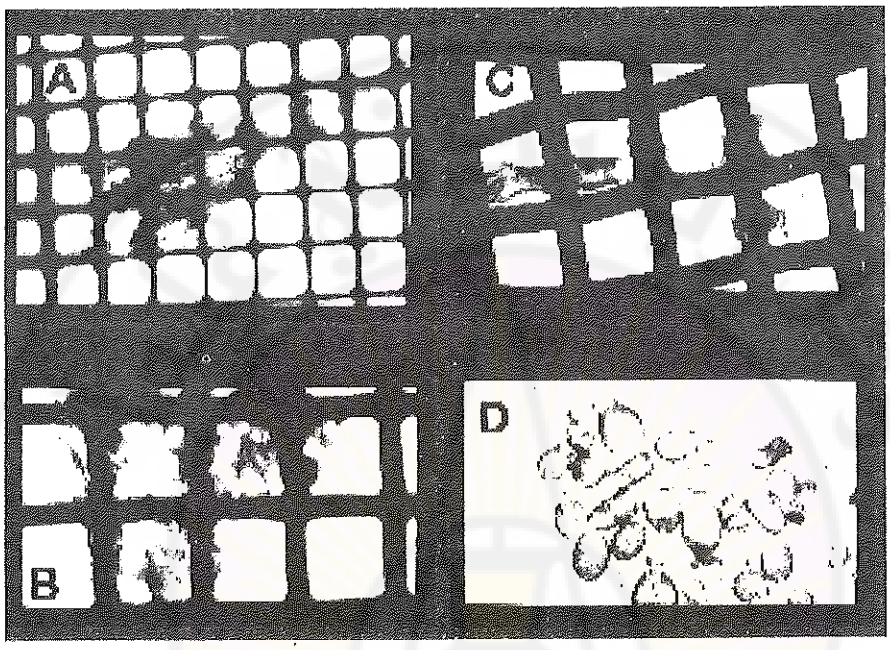


شكل ٦ ــ ٣١ المعالجة الأنزيمية لطحلب نيتيلا للحصول على البروتوبلاست

فقد وضعت النباتات في أوعية خاصة تضم محلول الوسط الأنزيمي ضمن شبكة مناسبة تعمل على تباعد النباتات وبالتالي تمنع من وجود أي جهد ميكانيكي مطبق عليها مثل الاهتزاز ، الفلترة ، والحركة المستمرة . لأن هذه العمليات قد تمنع العزل الجيد للبروتوبلاست.

وهكذا بعد مرور نحو (٣٠) دقيقة من تشكل البروتوبلاستات المتعددة الكبيرة والمعزولة بشكل جيد باتت تستعيد نشاطها السيتوبلاسمي الحركي

وأصبحت كروية تماماً أي: أنها قادرة على أداء نشاطها الفيزيولوجي للتطبيقات المقبلة شكل (٦-٣٢) .



شكل ٦ – ٣٢ خطوات المعالجة الأنزيمية لحلب نيتلا:

A- براعم قمية ضمن محلول الأنزيم المشتمل على ١% سللولاز ومواد أخرى Ph = 5,5

B- المنظر بعد مرور ساعة من الحضن.

C- المنظر بعد مرور ساعتين من الحضن ، حيث حطام غلف البروتوبلاست في القعر.

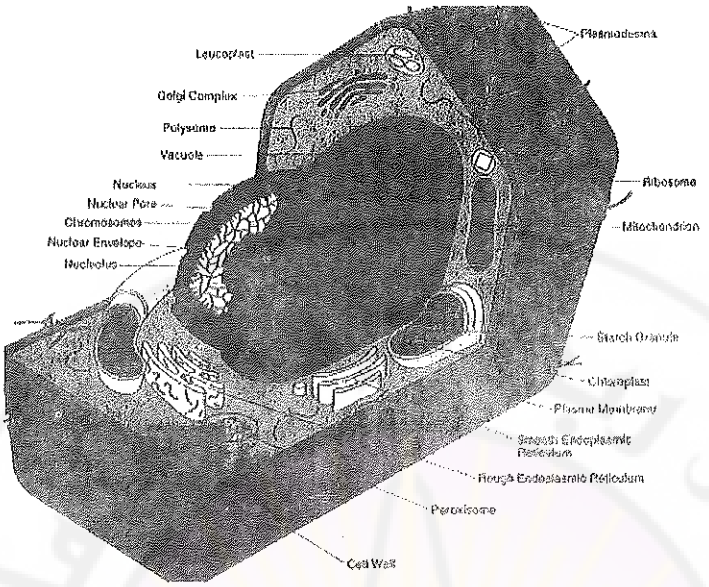
D- شكل البروتوبلاستات المعزولة والطازجة.

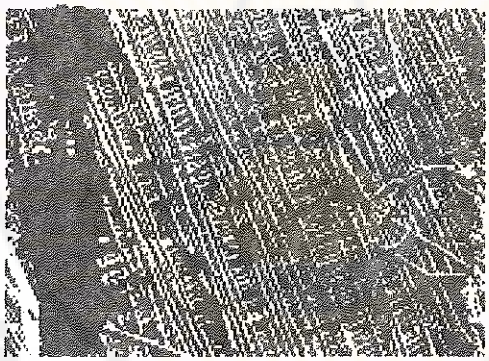
٦-٤ تقانة البروتوبلاست في النباتات الراقية :

لقد توسعت دراسات البروتوبلاست بشكل كبير في الأعوام الأخيرة لتصل إلى النباتات الراقية . وتتصف خلايا هذه النباتات بوجود غلاف سميك معقد البنية يحيط بالبروتوبلاست، ويضغط عليه، ويمنع عبور الماء الزائد؛ مما

يعمل على مقاومة انفجار الخلية (شكل ٦-٣٣). يتركب غلاف الخلية النباتية من مزيج السللوز Cellulose

والهيمي سللوز Hemicellulose والبكتين Pectin إضافة إلى وجود المواد الدسمة (الليبيدات) Lipids . يعد السللوز بوليمير من الغليكوز D-glucose، والهيمي سللوز هو بوليمير من احاديات السكاكر المختلفة يضم الكسيلان Xylans ، أما البكتين فهو متعدد السكاكر (بولي سكاريد) يحتوي على الغالاكتوز Galactose والآرابينوز Arabinose وحمض الغالاكتورين Galacturonic acid.



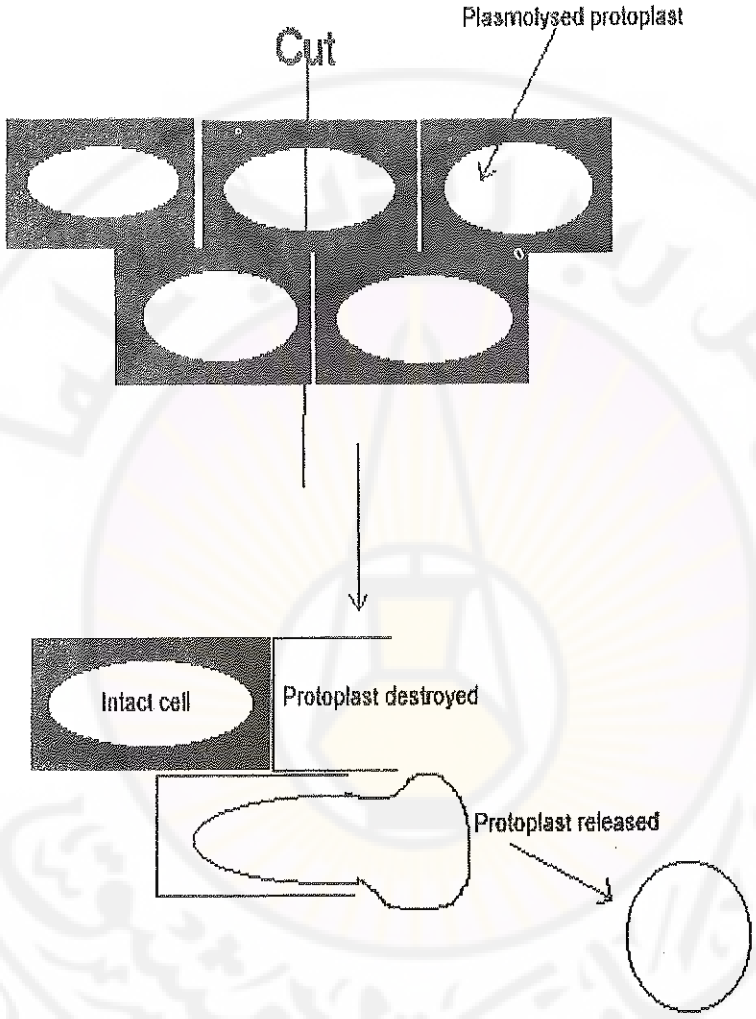


شكل ٦ – ٣٣ في الأعلى : مجسم لخلية نباتية يوضح الغلاف السميك الذي يحيط بمحتوياتها.
في الأسفل : صورة بالمجهر الماسح توضح بنية الغلاف المكونة من ألياف السيللوز وغيرها.

٦ – ٤ – ١ طرائق الحصول على بروتوبلاستات النباتات الراقية :

يتم عزل البروتوبلاستات في النباتات الراقية –أياً كانت طبيعتها– بإحدى طريقتين : آلية (ميكانيكية) وأنزيمية .

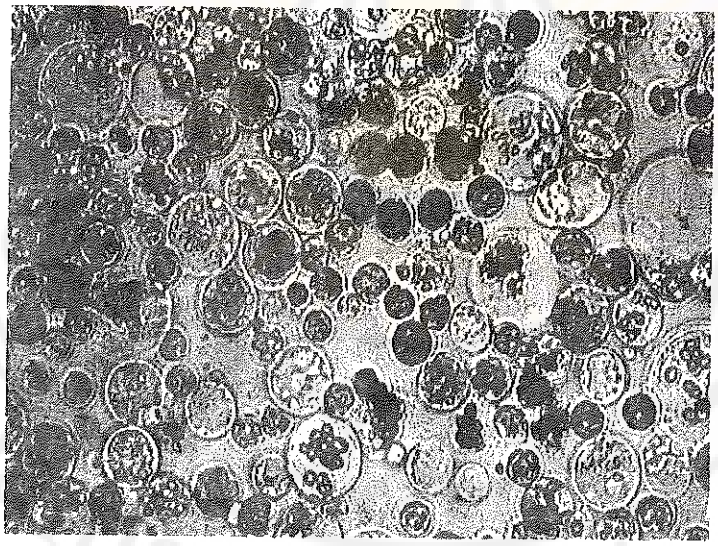
- تتحقق الطريقة الميكانيكية بأخذ العينة النباتية (ورقة ، جذر ، حب طلع ، برنشيم ساق ...إلخ) . ومن ثم هرسها باستخدام الحصى والرمال وغيرها . من فوائد هذه الطريقة عدم استعمال المواد الكيميائية (الأنزيمية) التي قد تؤثر على خصائص البروتوبلاست . ومن سلبياتها: ظهور تكتلات (كتل) من البروتوبلاستات من الصعب التعامل معها، والتحكم بها، وتكسيرها بشكل جيد بهدف الحصول على خلية مفردة واحدة، تعطي فيما بعد بروتوبلاست كامل الخصائص .
- تبدو الطريقة الأنزيمية أسهل التحقيق، حيث يتم الحصول بوساطتها على خلايا إفرادية، دون عملية تكسير أو تحطيم للنسج المعالجة، ويتم الإبقاء على البروتوبلاست الناتج بشكل حي ضمن ضغط حلولي، يتناسب مع الخلية المدروسة .
- لقد عمل بعض الباحثين على بلزمة Plasmalysed النسيج، ثم قطعه، حيث تمت إزالة البلزمة نتيجة لتمدد الخلايا وإطلاق البروتوبلاستات من الخلية المقطوعة . إن ممارسة هذه التقانة صعبة، وينتج عنها بروتوبلاست هزيلة، وإن مخطط حصول البروتوبلاستات بهذه الطريقة يوضح تشكل بروتوبلاستات مدمرة Destroed وخلايا سليمة Intact حيث ينطلق منها بروتوبلاستات سليمة شكل (٦-٣٤) .



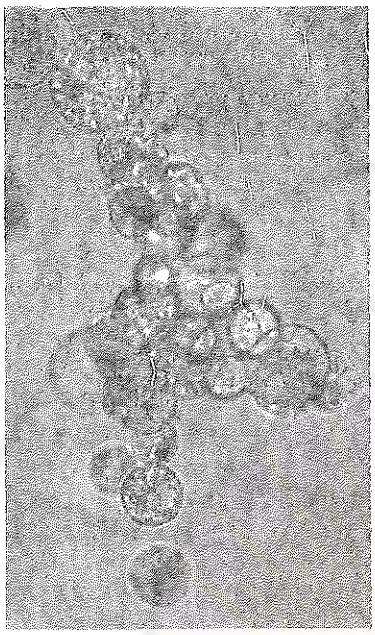
شكل ٦ – ٣٤ طريقة الحصول على بروتوبلاست ببلزمة النسيج ، ثم قطعه وتحرر البروتوبلاست من الخلايا السليمة

٦-٤-٢ مصادر بروتوبلاستات النباتات الراقية :

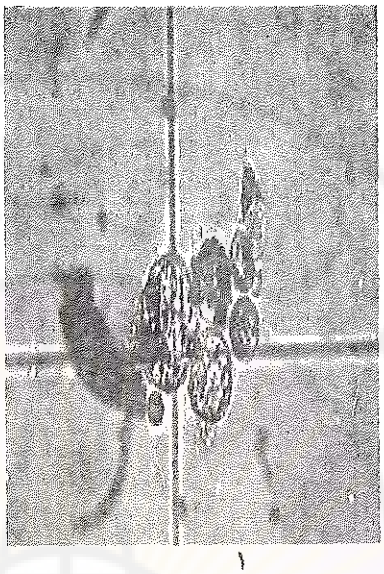
من أهم مصادر بروتوبلاستات النباتات الراقية الجذور، والعقد الجذرية، والأوراق، وحب الطلع، والخلايا المولدة لحب الطلع، والسوق الفتية، وطبقات حبات الألورون (السويداء) والبتلات، وغيرها . شكل (٦-٣٥) للساق والورقة وشكل (٦-٣٦) لأعضاء أخرى . تستخدم بشكل رئيس بشرة Epidermis الورقة النباتية للحصول على البروتوبلاست الورقي . وهكذا يتم تعقيم الورقة بالكحول ٧٠% بأن تغمس فيه لمدة دقيقة واحدة ، ثم تنقل إلى محلول هيبو كلوريت الصوديوم ٢% لمدة نصف ساعة، وتغسل بالماء من (١-٢) مرة لإزالة بقايا الكحول والهيبوكلوريت، وبعد ذلك تسلخ البشرة السفلية والعلوية، وتطبق عليها نقانات أنزيمية ضمن شروط معقمة ونظيفة جداً حتى نحصل على خلايا إفرادية، ونتأكد من إفراديتها تحت المجهر .



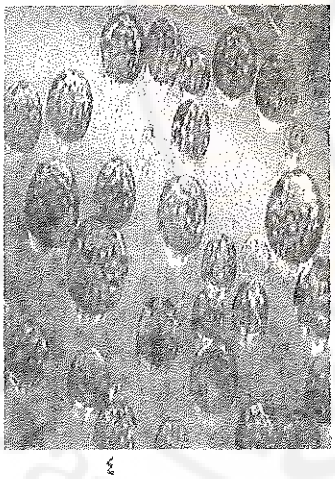
شكل ٦ ـ ٣٥ بروتوبلاستات معزولة من نسج خضراء من الورقة (الحجوم الصغيرة)، حيث تمتلئ بالصانعات الخضراء ، ومن نسج الساق (الحجوم الكبيرة) ، حيث الصانعات أقل.



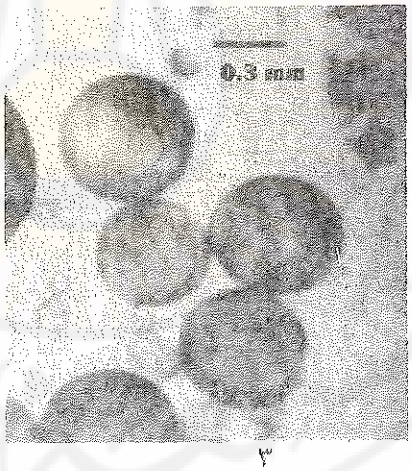
٢



١



٤



٣

شكل ٦ – ٢٦ بروتوبلاستات ناتجة عن نباتات مختلفة:
١ – من ورقة الملفوف . ٢ – من قلقات الرز
٣ – من جذور الجزر بالطريقة الأنزيمية . ٤ – من نبات ارابيدوبسيس.

٦-٤-٣ دمج البروتوبلاستات :

يتم تحفيز دمج البروتوبلاستات Protoplasts fussion في الخلايا الراقية بوجود مادة PEG بولي ايتيلين غليكول، وهي التي تعطي خاصية التماسك، وقابلية الالتصاق، وللبروتوبلاستات المتجاورة . وتوضع كمية متماثلة من المادة والبروتوبلاست المراد دمجه ، كأن يوضع (١) مل PEG تركيز ٥٦% مع (١) مل بروتوبلاست ، ويوضع هذا المزيج في خلاط لمدة (٥) ثوانٍ بشكل مستمر، ثم يترك المحلول حتى يستقر لمدة (١٠-١٥) دقيقة . وقد تستعمل بشكل أقل مادة نترات الصوديوم (كما شاهدنا في دمج بروتوبلاستات الأحياء الدقيقة) حيث تقوم بتحفيز الاقتران كيميائياً بين شوارد البروتوبلاست فيما بينها بوجود محلول ملحي من نترات الصوديوم ، حيث تحقق ذلك في البصل ، وكذلك في بروتوبلاستات القمح والذرة . وكذلك تم الدمج بنسبة (٢٠-٥٠) % بوجود شوارد الكلسيوم .

٦-٤-٣-١ الاندماج الطوعي بين البروتوبلاستات :

إن وجود بروتوبلاستات حرة طازجة وحديثة بجانب بعضها بعضاً يحفزها على الاندماج فيما بينها دون وجود محفز مثل PEG أو نترات الصوديوم، أو غيرها من المحفزات الكيميائية . هذا الاندماج يقود إلى نتائج هجينة غير متحكم بها، وقد تكون غير مرغوبة شكل (٦-٣٧) .



١ ٢

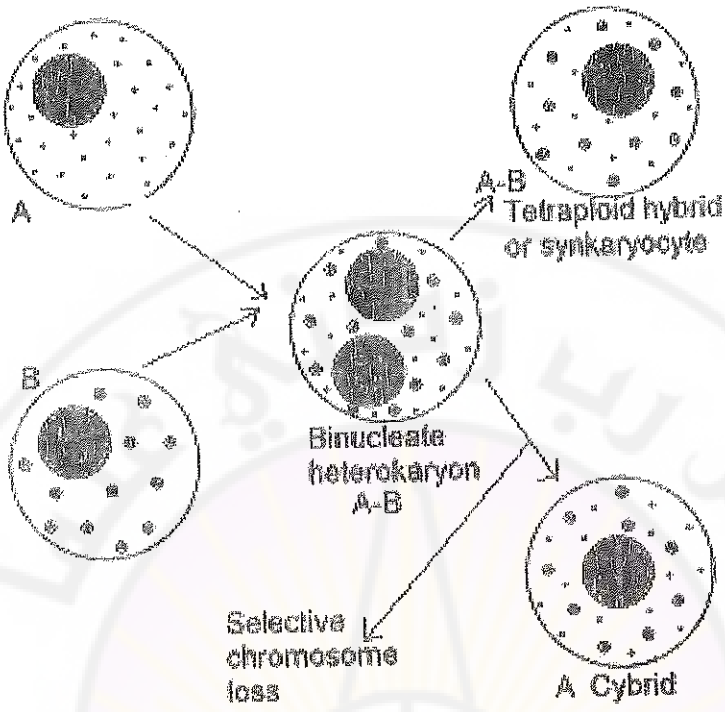
شكل ٦ – ٣٧ اندماج البروتوبلاستات:
١ – اندماج طوعي . ٢ – اندماج بفضل وجود شحنة سالبة على سطح البروتوبلاست

فمثلاً قد تزول العناصر السيتوبلاسمية نهائياً من الهجين الناتج، وتبقى نواة طبيعية أو أحادية أو ثلاثية (3n) . وقد لا تندمج نواة كل من البروتوبلاستين بينما تندمج عناصر السيتوبلاسما، ونادراً ما نحصل على هجين جسمي كامل .

إن ظاهرة الاندماج العفوي (الطوعي) للبروتوبلاستات غير مرغوبة، ويجب التخلص منها وهذا يحتاج إلى وقت طويل؛ لذلك يجب العمل منذ البداية على فحص البروتوبلاستات تحت المجهر، ومراقبة حصول عزل الغلاف بالكامل، ومراقبة مدى تفكك خلايا النسيج بعد المعالجة الإنزيمية ، وبالتالي كلما كان عزل البروتوبلاستات دقيقاً قلت ظاهرة الدمج الطوعي، وزادت درجة التحكم بنواتج التهجين المبرمج .

٦-٤-٣-٢ نواتج دمج البروتوبلاستات بوجود محفز :

لدى استعمال عامل محفز Fusogen بين البوتوبلاستات المتجاورة تتشكل خلية ذات نواتين مختلفتين (هيتروكاريون) Heterokaryon . يتبعها دمج واختلاط بروتوبلاسما الأنواع المندمجة خلال ساعات قليلة ، ثم يتشكل غلاف خلوي جديد حول الهجين الناتج، بعد ذلك تدخل الخلية الهجينة في انقسامات ينشأ عنها هجين جسمي Somtic chybrid . وقد تنقسم نواة بروتوبلاست كل نوع داخل الهجين دون أن تشترك صبغيات النواتين معاً في مغزل واحد، وينشأ عن ذلك وضع لخلايا غير متجانسة "شيمرا " Chymera، وبالمقابل قد يستمر البروتوبلاست بإعطاء خلايا متجانسة لعدة أجيال دون اندماج النواتين . وقد يحصل الاندماج النووي في طور الراحة؛ لكن هذا لا يترتب عليه إعطاء خلية هجينة قادرة على الاستمرار بالانقسام . وفي كثير من الحالات يتم استبعاد الصبغيات العائدة لأحد النوعين المندمجين، وذلك بعد عدة أشهر من الانقسام ، كما يتم استبعاد بعض عضيات الخلية مثل الصانعات الخضراء .وأخيراً قد يحمل الهجين الناتج نواة بروتوبلاست أحد النوعين المندمجين فقط وسيتوبلاسما بروتوبلاست النوع الآخر، أو سيتوبلاسما النوعين معاً، وهذا يسمى Cybrid وهو الذي يملك تطبيقات مهمة جداً في مجال تربية النبات . شكل (٦-٣٨) .



شكل ٦ ـ ٣٨ الاندماج بين بروتوبلاستين وتشكل السيبريد (الشرح في النص)

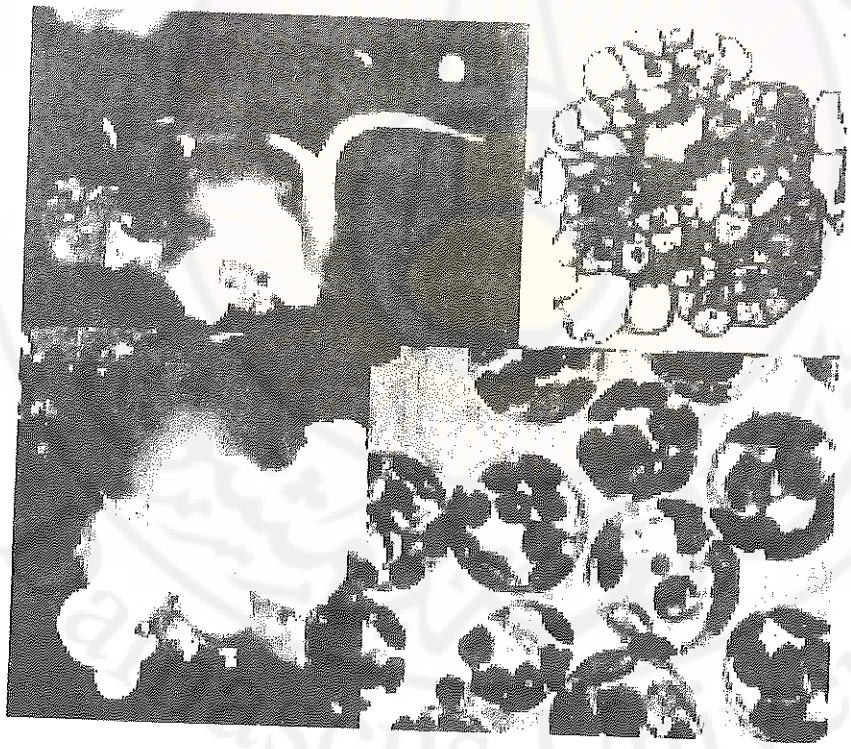
من ذلك نستنتج وجود ثلاثة أنماط من هجائن البروتوبلاست هي جسمية Somatic وجنسية Sexual وسيبريد Sybrid .

٦ ـ ٤ ـ ٤ زراعة البروتوسلات للوصول إلى نبات كامل :

بعد عزل البروتوسلات وتركه للدراسات المقبلة في مجال الهندسة الوراثية ، أو دمجه مع غيره بهدف إجراء برامج تربية النبات . وقبل تحقيق كل هذا ، وحرصاً على الاستفادة من هذه التقانة يجب التأكيد على زراعة البروتوبلاست؛ التي تتحقق بثلاث مراحل، وهي :

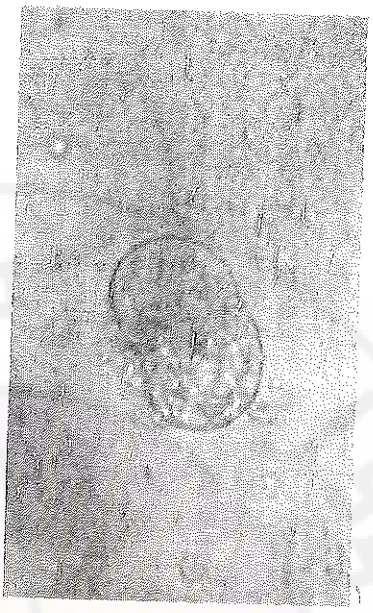
- نمو الغلاف الخلوي حول البروتوبلاست الناتج عن الدمج أو دونه (مفرد).
- تحقيق الانقسام الخلوي والتكاثر لإعطاء أعداد كثيرة من الخلايا (مثل الكالوس).
- تشكيل النبات الكامل من هذه الخلايا المتكاثرة .

وقد تمكن العلماء من تحقيق معادلة : (خلية ، بروتوبلاست ، كالوس ، نبات جديد) بزراعة البروتوبلاست على وسط مغذي مناسب، حيث تمت مراقبة تشكل النبات الجديد عند كل من القطن والعنب والخس حتى مرحلة الحصول على نباتات قطن مقاومة تجاه بعض الحشرات .شكل (٦-٣٩).

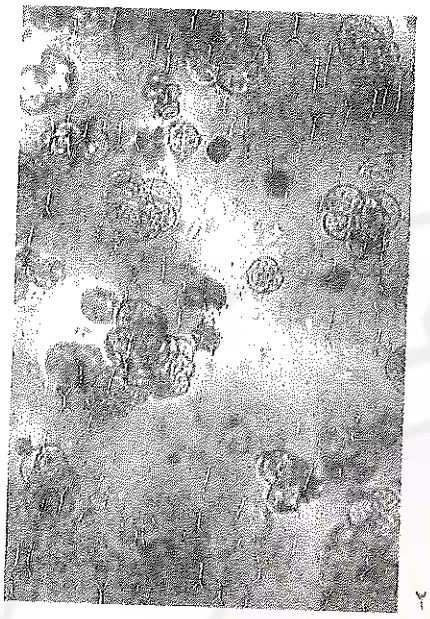


شكل ٦ ـ ٣٩ من النسيج (الخلية)، إلى البروتوبلاست، إلى الكالوس، إلى النبات النامي الفتي.

لقد بـدأت بروتوبلاسـتات ناجمـة عـن النـسيج المتوسـط للورقـة Mesophyle بتوليد غلاف خلية جديد بعد ساعات قليلة من نزعه ، وقد يحتاج لأيام عديدة لإكمال تركيب الغلاف حيث لوحظـت هـذه الظـاهرة بـالمجهر الضوئي ، كما تمت ملاحظتها باللون الأزرق بالفلورة وذلك عند نبـات الـرز. وعندما يملك البروتوبلاست إعادة توليد الغلاف الخلـوي Regeneration of protoplasts تعاني الخلية من الانقسام، وتشكيل الكالوس ، وهذا الأخير تـتم تربيته حتى الوصول إلى مرحلة تشكل الجنين، أو تشكل الأعضاء بعد مـرور (٣-٤) أسبوع من الوضع الصحيح للزراعة، شكل (٦-٤٠).



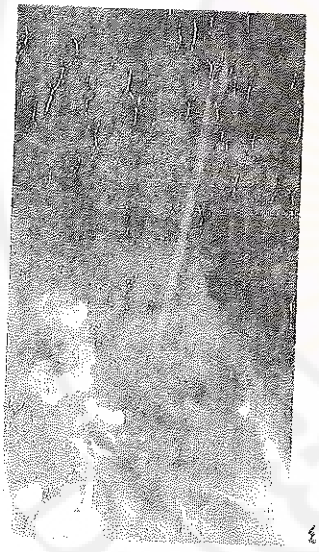
١



٢



٣



٤

شكل ٦ ـ ٤٠ تشكل نبات كامل من زراعة بروتوبلاست النسيج المتوسط لنبات الرز:
١ ـ الانقسام الأول للبروتوبلاست وتشكل الغلاف بعد مرور ٤ يوم.
٢ ـ نمو البروتوبلاستات وتكاثرها على الأغاروز.
٣ ـ تشكل كتلة عالمة من البروتوبلاستات المتكاثرة على الأغاروز.
٤ ـ ظهور نبات الرز الفتي على البروتوبلاست المزروع.

تتحقق الزراعة الأمثل على الآغار الصلب، حيث يوضع سائل البروتوبلاست عليه، وقد تضاف إلى الوسط عضيات مختلفة حسب متطلبات التجربة (نواة ، صانعات ، كوندريوم ، فيروسات ، DNA ...إلخ) .

٦-٤-٥ أمثلة تطبيقية حول نتائج التهجين الجسمي :

لقد تم استخدام تقانة اندماج البروتوبلاستات للحصول على هجائن جسمية بين أنواع نباتية عائدة لجنس واحد، أو بين أجناس نباتية مختلفة، حيث تم الحصول على نباتات خصبة وعالية الإنتاجية .

٦-٤-٥-١ في نبات الفاصولياء :

تشير بعض الأبحاث الأخيرة في العام ٢٠٠٧ إلى إيجاد طريقة تهجين جسمي بين الفاصولياء المزروعة Paseolus vulgarisL. (P.v.)ونوعين آخرين من الفاصولياء هما :Ph.coccinensL(p.c.) و Ph.polyanths(p.p.) ، حيث إن التهجين التقليدي بينهما أمر صعب التحقيق، وغالباً ما يتحقق إجهاض الأجنة في وقت مبكر . وقد تمكن الباحثون من حل هذه المشاكل بتقانة دمج البروتوبلاست بين هذه الأنواع من الفاصولياء . وقد تم الحصول على عدد كبير من خلايا الهيتروكاريون التي تحمل أنماط مورثية مختلفة من الفاصولياء؛ حيث استعملت في الدمج وسائل فيزيائية أو كيميائية باستعمال PEG .

لقد تم عزل بروتوبلاست الفاصولياء (P.C.) من الأوراق الخضراء الطازجة، بينما لم يتمكن الباحثون من عزله من الأوراق بالنسبة للنوعين (P.P.) و (P.V.) ، وإنما عزلت من المحور تحت الفلقي Hypocotyl .

تم دمج البروتوبلاستات الكروية مع بعضها، ولونت بالفلوروكروم(فلورة) ثم درست بالأشعة فوق البنفسجية. لقد تم الحصول على نتائج هامة من جراء دمج بروتوبلاستات أنواع الفاصولياء حيث وسعت الدراسات حول إيجاد طرائق بديلة للتهجين الجنسي العادي؛ نظراً لما يحمل من صعوبات كثيرة في بعض الأحياء؛ مما يسيء إلى إنتاجية النبات إضافة إلى أن هذه التقانة تقدم عمليات أسرع بكثير من الطريقة التقليدية، شكل (٦-٤١) .

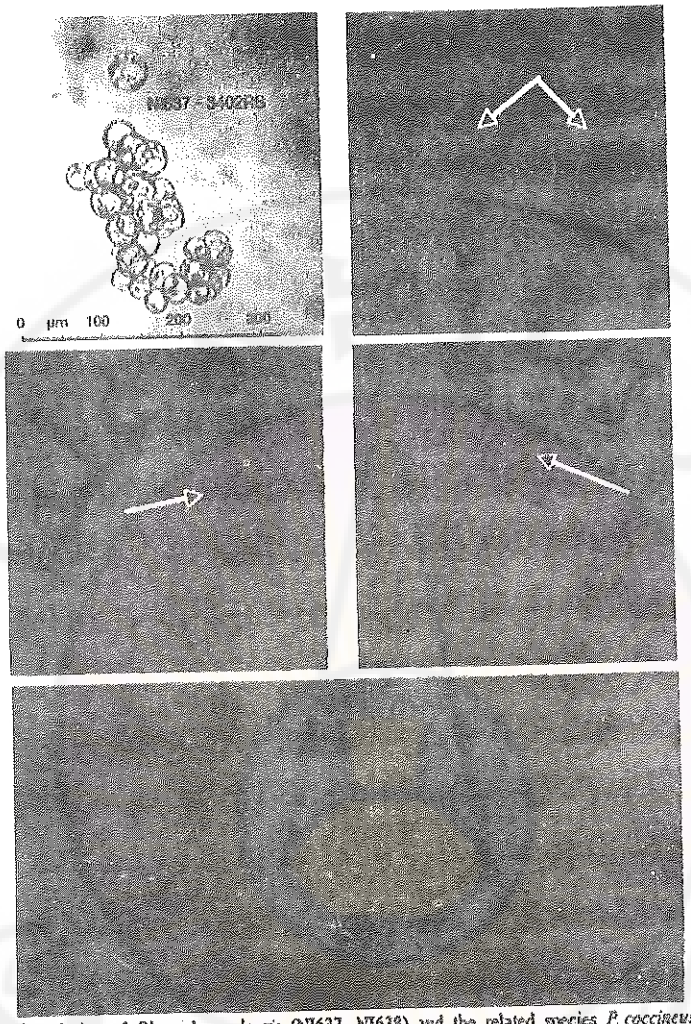


Figure 1. Protoplast fusion of *Phaseolus vulgaris* (NI637, NI638) and the related species *P. coccineus* (NI0016) and *P. polyanthus* (NI1015) — *Fusion de protoplastes de* Phaseolus vulgaris *(NI637, NI638) avec les espèces* P. coccineus *(NI0016) et* P. polyanthus *(NI1015) apparentées.*

A: freshly isolated NI637 protoplasts obtained with enzyme mixture 3402RS — *Protoplastes de NI637 nouvellement isolés obtenus avec le mélange enzymatique 3402RS* ; B: heterokaryons from a NI637 (+) NI0016 fusion showing dual labelling by the differential fluorochromes (arrowed); in medallion, a dividing heterokaryon-derived cell of the same combination of parental genotypes — *hétérokaryons d'une fusion NI637 (+) NI0016 montrant le marquage double par l'utilisation de fluorochromes différentiels (flèche) ; en médaillon, la division d'une cellule dérivée d'un hétérokaryon de la même combinaison de génotypes parentaux* ; C to E: results obtained following a NI637(+)NI1015 protoplast fusion — *résultats obtenus après la fusion de protoplastes NI637(+)NI1015* ; C: shows a multiple fusion (arrow) and several fusions of two protoplasts — *montre une fusion multiple (flèche) et différentes fusions de deux protoplastes* ; D: depicts three heterokaryons where one has regenerated a cell wall and entered mitosis (arrow) — *décrit trois hétérokaryons dont l'un qui a régénéré une membrane cellulaire entre en mitose (flèche)* and E: is a representative field after 10 days of culture with division of heterokaryon-derived cells — *est un champ représentatif de l'évolution après 10 jours de culture avec la division des cellules dérivées de l'hétérokaryon* ; A-E: were taken under transmission light — *ont été prises sous lumière de transmission.*

شكل ٦ – ٤١ دمج بروتوبلاستات نوعين من الفاصولياء للحصول على هجين جسمي ،كطريقة بديلة عن التهجين الجنسي التقليدي

٦-٤-٥-٢ هجين البرتقال والليمون :

من الأبحاث الأخيرة أيضاً تم إجاد هجين جسمي بين البرتقال الحلو Citrus-sinesis L والبرتقال الليمون C.limonia L حيث بدا هذا الهجين رباعي الصيغة الصبغية (2n=4x=36) وكانت الأوراق وسطية بمورفولوجيتها، إضافة إلى إثبات تقانة RAPD بأن العصابات مكملة لكلا الأبوين . إضافة إلى ذلك يمكن لهذا الهجين الجسمي أن يضم القدرة والاحتمالية لكلا الجنسين، وإمكانية منع الفساد السريع .

أما عن طريقة العمل فقد تم أخذ خلايا جنينية من البرتقال (C.s) حيث زرعت على وسط مغذي سائل في الظلام، وبدرجة ٢٧ مئوية لمدة (٢) أسبوع، وأخذت خلايا من بادرة الليمون (C.l) وزرعت على وسط مغذي خاص بوجود الضوء ولمدة (١٦) ساعة ، بعد ذلك تم عزل البروتوبلاست من معلقات الخلايا المزروعة (الكالوس المتشكل) ومن الأوراق ثم دمجت باستعمال المواد الكيميائية المحفزة، ولمدة (٧) يوم ، حتى الوصول إلى مرحلة النبات الذي يحمل من ٤-٥ أوراق ، عندها تم نقل هذا النبات إلى البيت الزجاجي للتأقلم .

لقد تم أخذ الجذور من الهجين الجسمي النامي (من البرتقال والليمون) وصنعت منه محضرات هرس بعد تلوينها بكاشف شيف، ودرست الصبغيات بالتكبير (١٢٥٠×) حيث أظهرت وجود العدد الصبغي المضاعف (الرباعي) الذي يوحد صبغيات كلا الجنسين . شكل (٦-٤٢).

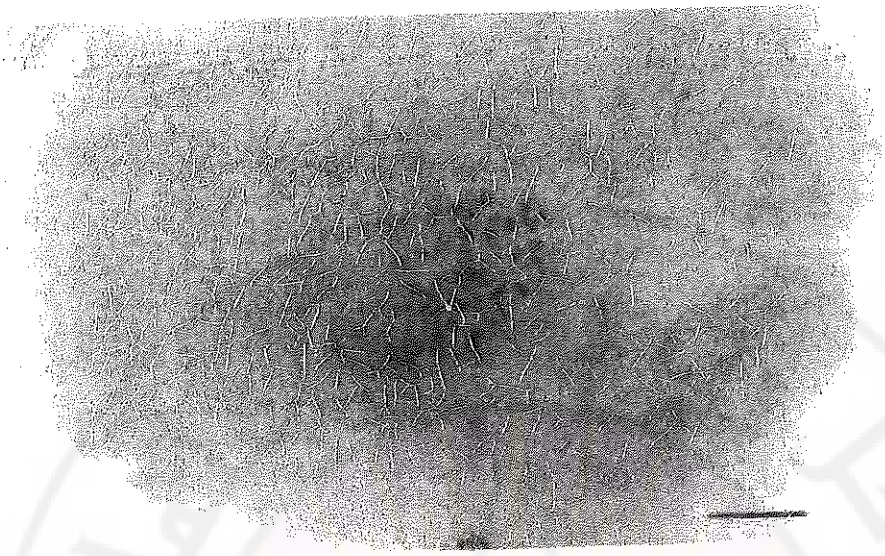


Figure 3 - Mitotic metaphase of a somatic hybrid plant showing 2n =4x = 36 (Bar = 1 µm).

شكل ٦ – ٤٢ صبغيات الهجين الجسمي بين البرتقال والليمون (رباعية العدد)
x1250

وقد لوحظ أن بعض الأجنة الصغيرة الناتجة عن زراعة البروتوبلاست المدموج ماتت، ولم تتطور إلى نبات كامل ، ومع ذلك فإن ٧٥% من الأجنة الناتجة عاشت، وأعطت نباتات طبيعية إعاشياً تمكنت من الحياة في البيت الزجاجي ضمن أصص صغيرة. شكل (٦-٤٣) .



Figure 1 - Regenerated somatic hybrid plant of Caipira sweet orange + Rangpur lime.

شكل ٦ ــ ٤٣ صورة للهجين الجسمي بين البرتقال والليمون

أما فيما يخص مورفولوجية الأوراق لجميع النباتات الناتجة، فكانت متوسطة بين مورفولوجية أوراق البرتقال والليمون ، وهكذا بدت أوراق النبات الهجين الجسمي حاملة لجناح كبير خاص بالمعلاق الورقي، وصفيحة ورقية سميكة، مقارنة مع أوراق كلا الأبوين . شكل (٦-٤٤) .

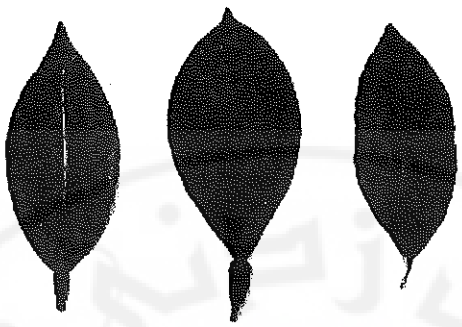


Figure 2 - Leaf morphology of *Citrus sinensis* (left), somatic hybrid (center), and *C. limonia* (right).

شكل ٦ – ٤٤ مورفولوجية أورق الليمون (يمين) والبرتقال (يسار) والهجين بينهما (في الوسط)

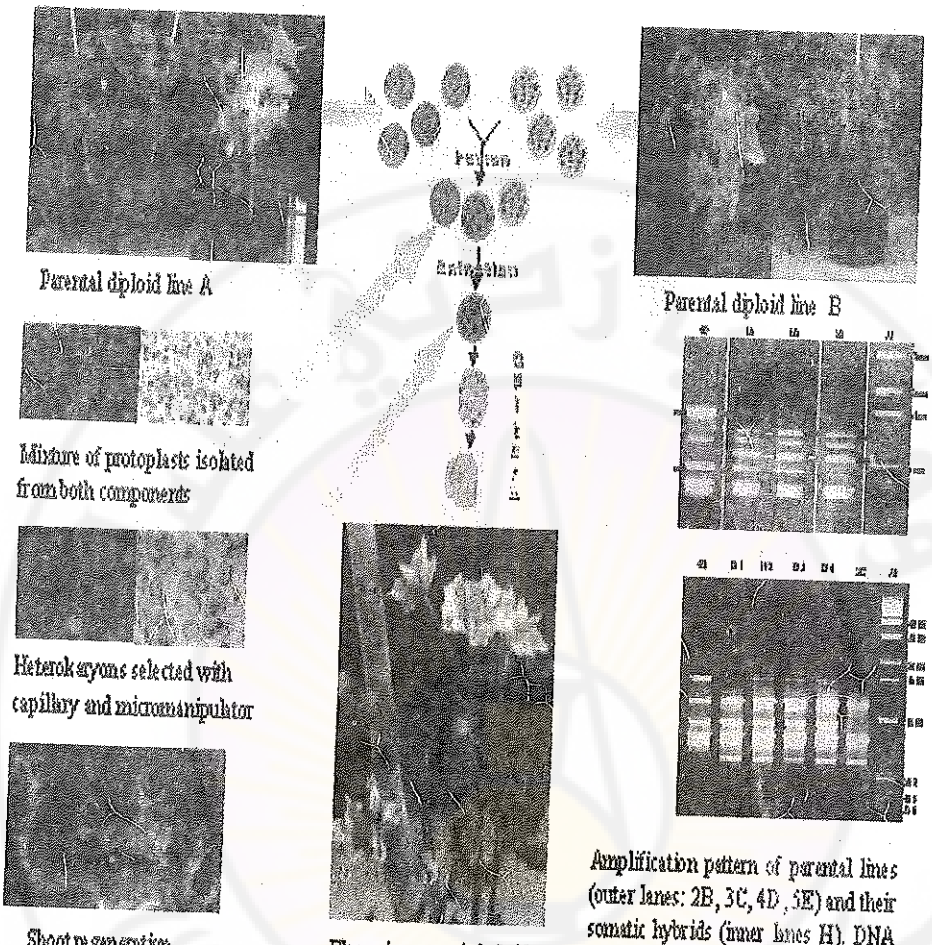
٦-٤-٥-٣-في نبات البطاطا:

يضم الجنس Solanum أكثر من (٩٠٠) نوع منها نبات البطاطا Solanum tuberosumL. ومنها (٢٣٥) نوع بشكل درنات ، ولقد جاء التحدي الكبير في مجال الهجائن الجسمية بين مختلف الأنواع؛ وانتخاب نباتات مفيدة في معظم الحالات.

وقد تم تطوير طرائق لعزل البروتوبلاست من سلالات ثنائية الصيغة (ديبلوئيدية) وتم دمجها بمساعدة PEG وانتخاب خلايا هيتروكاريون، حيث نميت في الأنبوب In vtro للوصول إلى نبات هجين (شكل٦-٤٥).

وبعد دراسة هذه الهجائن من النواحي الجزيئية والسيتوراثية والجنومية بوقت مبكر من تشكلها؛ تبين أنها هجائن رباعية (تترابلوئيد) وقد تم متابعتها حتى مرحلة الوصول إلى النبات الكامل .

ملاحظة : من أمثلة السلالات الثنائية المستعملة النوع Solanum tuberosum (2n=24) مع النوع S.chacoens 2n=24 .



Somatic hybrids of potato.

شكل ٦ ــ ٤٥ الهجائن الجنسية بين أنواع البطاطا
النوع الأبوي A وقد استخرج منه البروتوبلاست (الى اليسار)، والنوع الأبوي B وقد استخرج منه البروتوبلاست (إلى اليمين) ، والهجين الجسمي بينهما الناجم عن دمج بروتوبلاست الأبوين بوساطة POG
(لاحظ استخدام تقانة الرحلان الكهربائي ، ومراحل نمو البروتوبلاست لدى الزراعة)

كما تم تهجين البطاطا الرباعية S.tuberosum (2n=24) مع البندورة المغذية

S.lycopersicum esculentum 2n=24 وذلك عن طريق دمج البروتوبلاست، فكانت الهجائن الجسمية متفاوتة جداً بأعداد صبغياتها، أي:

$$24 \times 48 \longrightarrow (50 \longrightarrow 80)$$

لذلك بات من الضروري أثناء دمج البروتوبلاست التعرف على الخلايا الناتجة في مراحل مبكرة من الانقسامات، وانتخابها بطرق متعددة .

وبشكل عام فقد انتجت تقانة دمج بروبوبلاست الأنواع البعيدة (في مزارع البروتوبلاسات) أربعة أنواع من الهجائن :

- هجين يحوي كامل العدد الصبغي لكلا نوعي البروتوبلاست المندمجين Amphidiploid أي في مثال البطاطا والبندورة

$$24 + 48 \longrightarrow 72$$

- هجين خلطي عقيم اكتسب أشكال صبغية برية أضيفت إلى النوع المزروع، ويتكاثر أعاشيا مثل البطاطا .
- هجين يحتوي على جزء فقط من الأشكال الصبغية العائدة لأنواع أخرى، وهذه هي الحالة الأكثر شيوعاً في مثل هذه الهجائن الجسمية.
- هجين يحتوي نواة أحد الأنواع وسيتوبلاسما النوع الآخر، أو سيتوبلاسما كلا النوعين Cibrid .

٦-٤-٦- فوائد البروتوبلاست واستخدامه في دراسة أمراض النبات :

من أهم فوائد البروتوبلاست نجد الآتي :

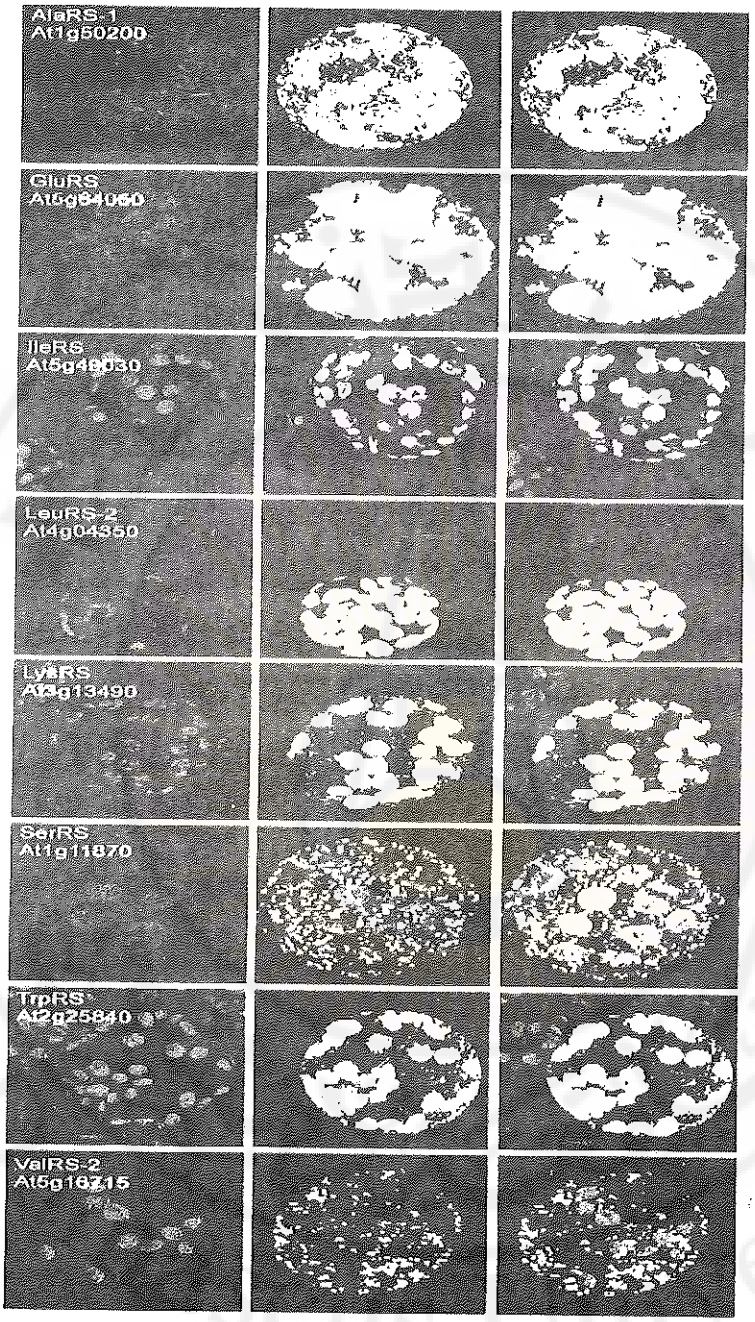
- القدرة على إنتاج نباتات كاملة بدءاً من خلية واحدة تشبه تماماً النبات؛ الذي نشأت منه .

- القدرة على اتحاده مع أنواع نباتية قريبة، أو بعيده (إنتاج هجائن صعبة الحصول عليها بالطريقة الجنسية المعروفة).

- إمكانية دراسته سيتولوجيا وفيزيولوجيا، واستخدامه كأصل للمعلومات (بنك) بهدف إجراء دراسات عن النباتات الأخرى .

- إمكانية دراسة الوراثة المرتبطة بالميتوكوندري والصانعات الخضراء؛ التي فيها يتم التحكم مورثياً بالكثير من الصفات النباتية المهمة مثل مقاومة الأمراض.

وقد أمكن الحصول على بروتوبلاست التبغ، حيث تم دمج صانعات خضراء وميتوكوندريا معه، وتم إظهار البروتين المفلور بالأخضر GFP Green flcurescence protein إشارة إلى الميتوكوندري، وإظهار البروتين المفلور بالأحمر RFP Red fleuresscence protein إشارة إلى الصانعات، ومن ثم دراستها بمجهر خاص شكل (٦-٤٦).



شكل ٦ ــ ٤٦ بروتوبلاست التبغ وقد أدخل إليه صانعات خضراء وميتوكوندريا وهجين بينهما باستعمال تقانة الألوان (الشرح في النص)

أما فيما يخص استخدام البروتوبلاست في دراسة أمراض النبات، فنجد منها الآتي :

٦-٤-٦-١- حقن البرتوبلاست بالفيروسات ودراسة تكاثرها وفيزيولوجيتها :

لقد أصبح بالإمكان الحصول على بروتوبلاست الكثير من النباتات، ومن ثم حقنها بالفيروسات التي تصيب النباتات الراقية. ويتم الحقن بدمج البروتوبلاست مع كمية قليلة من الفيروس بوجود المحفز (PEG)Fusogen ومن ثم هز المزيج بدرجة حرارة الغرفة من (١٠-٢٠) دقيقة وغسله بمحلول مغذي لإزالة زوائد المزيج ، وعادة يصاب البروتوبلاست بالفيروس حسب علاقته مع المضيف، وتتراوح الإصابة من ٧٠-٩٠ % .

يبدأ الفيروس بالتكاثر داخل البروتوبلاست بعد مرور ٢٤-٣٦ ساعة من بدء المزيج، وتتم المراقبة بالمجهر الإلكتروني، أو بوساطة اختبارات حيوية على المضيف؛ التي بدت عليه آثار الإصابة .

٦-٤-٦-٢- حقن البروتوبلاست بمواد وراثية :

تتم هذه العملية بوجود نواقل مهندسة وراثياً، والتي من أهمها البلاسميد Ti ،وبلاسميدات مأخوذة من جراثيم E.toli . ويمكن إدخال المادة الوراثية (نواة ، بلاسميد ، , RNA, DNA ، فيروس... الخ) إلى بروتوبلاست النبات الراقي، إما بالتحضين مع البروتوبلاست بوجود المحفز، أو بوساطة تغليف المادة الوراثية بكرات من الدهون الصناعية Liposome حيث يعمل البروتوبلاست على سحبها إلى داخله، وأخذ المادة الوراثة منها ، ويمكن أن يتحقق الحقن بوساطة قذف المادة الوراثية بمدفع وراثي خاص.

(سنتعرف على هذه التقانات لاحقاً).

٦-٤-٦-٣- نقل مورثة المقاومة R. بدمج البروتوبلاستات :

لدى مزج بروتوبلاستات متحصل عليها حديثاً من نباتات غير متوافقة جنسياً ، وخاصة منها الأنواع النباتية بعيدة القرابة ، وذلك بوجود محفز، أو بوجود ذبذبات قصيرة من تيار كهربائي مباشر فإن كثيراً من هذه البروتوبلاستات تندمج مع بعضها (سواء كانت عائدة، لنوع واحد، أو لأنواع أخرى). وهكذا تتشكل الهجائن الجسمية التي تظهر اختلافات واسعة جداً في جنوماتها الوراثية.

وقد تحمل بعض الهجائن كامل جنومي الأبوين مضافاً إليه بعض الصبغيات من أحد الأبوين؛ التي قد تحمل مورثات مقاومة R أو أكثر ضد أحد العوامل الممرضة ، وبهذا الشكل يتم نقلها إلى النبات الجديد الناتج عن بروتوبلاست الهجين .

٦-٥- زراعة المآبر وأعضاء التكاثر :

يلجأ الباحثون في الأيام الأخيرة إلى زراعة بعض أعضاء التكاثر، مثل: زراعة المآبر Anther culture أو حب الطلع Pollen grains أو الأبواغ الدقيقة Microspore culture (المرحلة التي تسبق تشكل حب الطلع)، أو زراعة المبيض Ovary culture ، وذلك على أوساط مغذية تحريضية مختلفة بهدف تشكل كالوس Callus ، وبالتالي تنامي أجنة مناسبة أحادية الصيغة الصبغية Haploids (1n) ، ومن ثم العمل على مضاعفتها بالكولشيسين للحصول على نباتات مضاعفة تحمل صفات النباتات المذكرة، كونها لا تتحقق بطريقة التكاثر الجنسي المعروف. إن هذه التقانات المحسنة والمعدلة أدت إلى زيادة الإنتاج للسلالات الثنائية أو المضاعفة والتي تعرف باسم Doubled haploids أو (Dhs)، وذلك بما يتناسب مع جميع الأنماط المورثية لا سيما

إنتاج أقماح تقاوم مرض صدأ الساق الأصفر (بزراعة المآبر)، وشعير متحمل للظروف البيئية القاسية كالجفاف والصقيع، وقد تبين أن نباتات Dhs ثابتة وراثياً عبر الأجيال، وذات أداء اقتصادي كبير .

٦-٥-١- الحصول على الهابلوئيدات بالطريقة التقليدية التهجينيه:

من الملاحظ أن النباتات الأحادية قد تظهر في بعض الحبوب Cereale بشكل طبيعي، ولكن بنسب منخفضة جداً، وهذا يقلل من احتمال استخدامها في مجال الحصول على سلالات مضاعفة Dhs في برامج التربية .

وقد تم استخدام طريقة التهجين العريض أو الواسع Wide hybridization للتهجين بين القمح والذرة من جهة، وبين الشعير المزروع، والشعير البصيلي البري من جهة أخرى بهدف الوصول إلى نباتات أحادية Haploids نتيجة لاستبعاد الصبغيات ، ومن ثم تحويل النباتات الأحادية إلى نباتات مضاعفة الصيغة بطريقة الكولشيسين .

٦-٥-١-١-التهجين بين الشعير البصيلي والشعير المزروع :

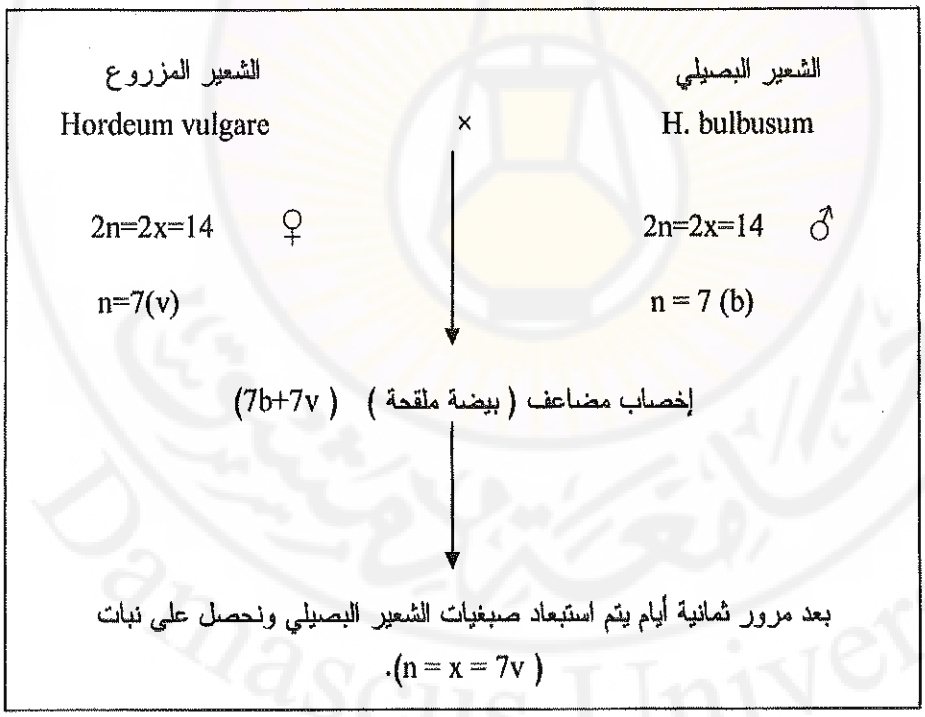
يتحقق هذا النمط من التهجين بين نوعين Interspecefic hybridisation عائدين لجنس واحد هو الشعير ، حيث يؤدي إلى نتائج مفيدة في الوصول إلى هابلوئيد عائد للشعير المزروع ،وقد تحقق هذا التهجين وفقاً لما يأتي :

يؤخذ الشعير المزروع كنبات مؤنث، حيث يهجن بحبات طلع الشعير البصيلي البري فنحصل على نبات مضاعف (بيضة ملقحة 2n) .

ومع بدء البيضة الملقحة بالانقسام الجنيني، وبعد مرور ثمانية أيام يلاحظ استبعاد صبغيات الشعير البصيلي البري (المذكر في هذه التجربة) وبقاء

صبغيات الشعير المزروع (المؤنث في التجربة). هـذا الاسـتبعاد النـوعي لصبغيات الشعير البري راجع إلى إخفاق صبغياته بالارتباط مع خيوط المغـزل لدى الانقسام الخيطي وبالتالي إخفاق هجرتها في الطـور الثالـث Anaphase إلى القطبين؛ مما يؤدي إلى فقدانها على اللوحة الاسـتوائية ، وبـذلك يتـشكل النبات الأحادي (2n = X=7) .

هذا الجنين الأحادي الناتج يتم إنقاذه على أوساط مغذية مناسبة ، ومن ثم معالجته بالكولشيسين، والحصول على نبات شـعير مـضاعف Dhs . هـذه الطريقة تعرف باسم الاستبعاد الـصبغي Chromosome elemination أو طريقة الشعير البصيلي Bulbusm method وهي طريقة فعالـة للحـصول على الشعير الأحادي، وفيما يأتي المخطط التهجيني لهذه الطريقة :



لقد تم تطبيق هذه الطريقة (الاستبعاد الصبغي) مع أنواع أخرى عائدة لأجناس مثل: القمح، والشوفان، وعشبه الماعز (إيجيلبس) وغيرها .

٦-٥-١-٢- التهجين بين جنسي القمح والذرة :

يتحقق هذا التهجين بين نوعين نباتيين تابعين لجنسين مختلفين Intergeneric Hibridisation ينتميان إلى فصيلة واحدة، وهما قمح الخبز الربيعي كنبات مؤنث Triticum aestivum والذرة الصفراء Zea mays كنبات مذكر للحصول على نبات هابلوئيد ثلاثي من القمح، وذلك بعد استبعاد صبغيات الذرة خلال الدارات الانقسامية الثلاث الحاصلة على البيضة الملقحة والمخطط هو الآتي :

Zea mys × Tr. aestivum (spring wheat)

2n=2x = 2o (zz) ♂ 2n=6x =42 (AABBDD) ♀

↓

بيضة ملقحة خصبة

{(10) Z + (21) ABD}
(2n =31)

بعد مرور بعض الزمن تستبعد صبغيات الذرة فنحصل على
جنين من القمح الثلاثي (2n=3x =21)

ثم يتم إنقاذ هذا الجنين على وسط مغذي ويزرع، ويعالج بالكولشيسين، فنحصل على قمح (Dhs) مضاعف .

بالنسبة لزراعة الأجنة على أوساط مغذية بعد إنقاذها يتطلب الأمر تعقيم هذه الأوساط؛ حرصاً لعدم تلوثها بالفطريات والجراثيم؛ التي قد تنمو عليها، وذلك إما بوضعها في المحم بشروط مدروسة جيداً، أو باستخدام مرشحات تعقيم خاصة بوضع الوسط المغذي بداخلها، وتوصل إلى مخليات هواء لمساعدة مرور الوسط من خلال المرشح ليتم تعقيمه في أوعية زجاجية.

يتم التضاعف الكيميائي بوساطة الكولشيسين Colchicine حيث تغمس المآبر، أو النباتات الفتية (In) والتي ظهر مجموعها الجذري، وبدت على مجموعها الخضري من ٣-٥ إشطاءات بالنسبة للقمح، حيث توضع في محلول الكولشيسين بتراكيز مختلفة (٠,٥ % أو أقل) ولمدة زمنية تتراوح من ٢٤-٤٨ ساعة، ثم تغسل بالماء. وقد يتم مزج الكولشيسين مع مادة اللانولين lanolin (٠,٤ %) لوضعه على البراعم الإبطية وغيرها .

٦-٥-٢- الحصول على الهابلوئيدات بزراعة المآبر والأبواغ الدقيقة :

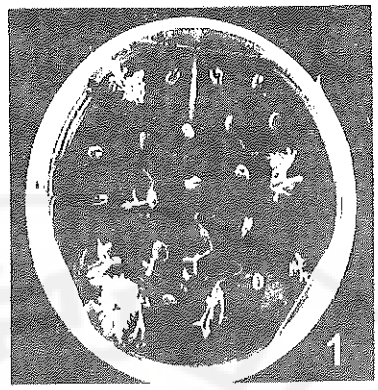
نظراً لصعوبة الطرق التهجينية واستبعاد الصبغيات في الحصول على النباتات الهابلوئيدية ومن ثم على النباتات المضاعفة Dhs ، فقد تم البحث عن طرائق بديلة أكثر سهولة ودقة، ولا تحتاج إلى وقت طويل، وهي زراعة المآبر Anther culture حيث تحققت بعد مرور ثلاث سنوات من نشر أول دراسة حول طريقة الشعير البصيلي .

تعتمد هذه الطريقة على زراعة المئبر الذي يتم أخذه من سنبلة، أو من زهرة، وذلك على الآغار، أو على وسط مغذي تحريضي صلب، أو وسائل

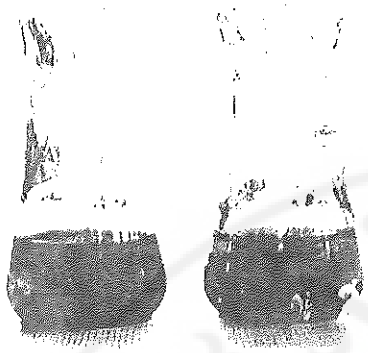
بهدف الحصول على خلايا جينية نشطة انقساميا (كالوس) Callus والتي ستتحول بدورها إلى نباتات خضراء أحادية الصيغة الصبغية ، ثم يتم تحويلها إلى نباتات ثنائية الصيغة Dhs .

وقد تستخرج حبات الطلع غير الناضجة (الابواغ الدقيقة) من المآبر بوسائل ميكانيكية، حيث تتم زراعتها ، وعادة يستخدم الفحم الفعال Activated charcoal لتكثيف الوسط المغذي الصلب، أو السائل بوجود تقانة خاصة .(شكل ٦-٤٧).

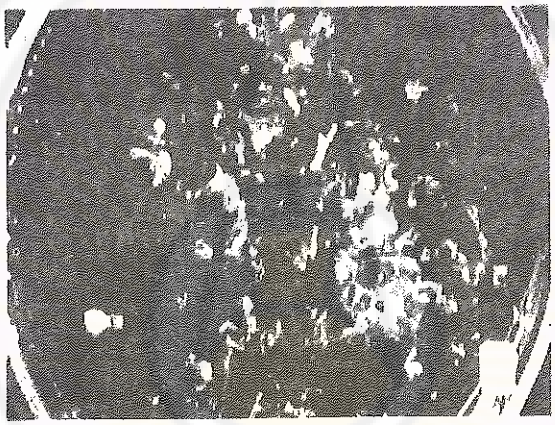
ومن المهم جداً معرفة المرحلة المناسبة لتطوير المآبر بهدف معرفة القياس والزمن الدقيق قبل زراعة المئبر بهدف الوصول إلى نبات هابلوئيدي كامل. وبشكل عام فإن عدد وقياسات المآبر غير محدد في كل برعم زهري من نباتات مغلفات البذور ، ولذلك يجب اختيارها وهي في مراحل متنوعة من تنامي حب الطلع داخل المئبر أثناء الانقسام المنصف ، وهذا الشئ تتم مراقبته تحت المجهر للوصول إلى الشكل الأنسب لدى الزراعة (شكل ٦-٤٨).



١



٢



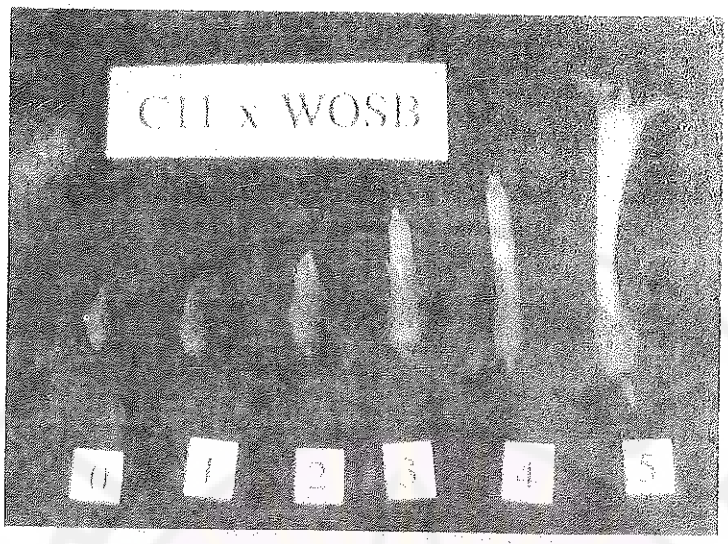
٣

شكل ٦ – ٤٧ زراعة المآبر على الأوساط المغذية

١ – مئبر ونبات هابلوئيدي على وسط صلب يتضمن فحم فعال.

٢ – مئبر ونبات هابلوئيدي على وسط سائل يتضمن فحم فعال.

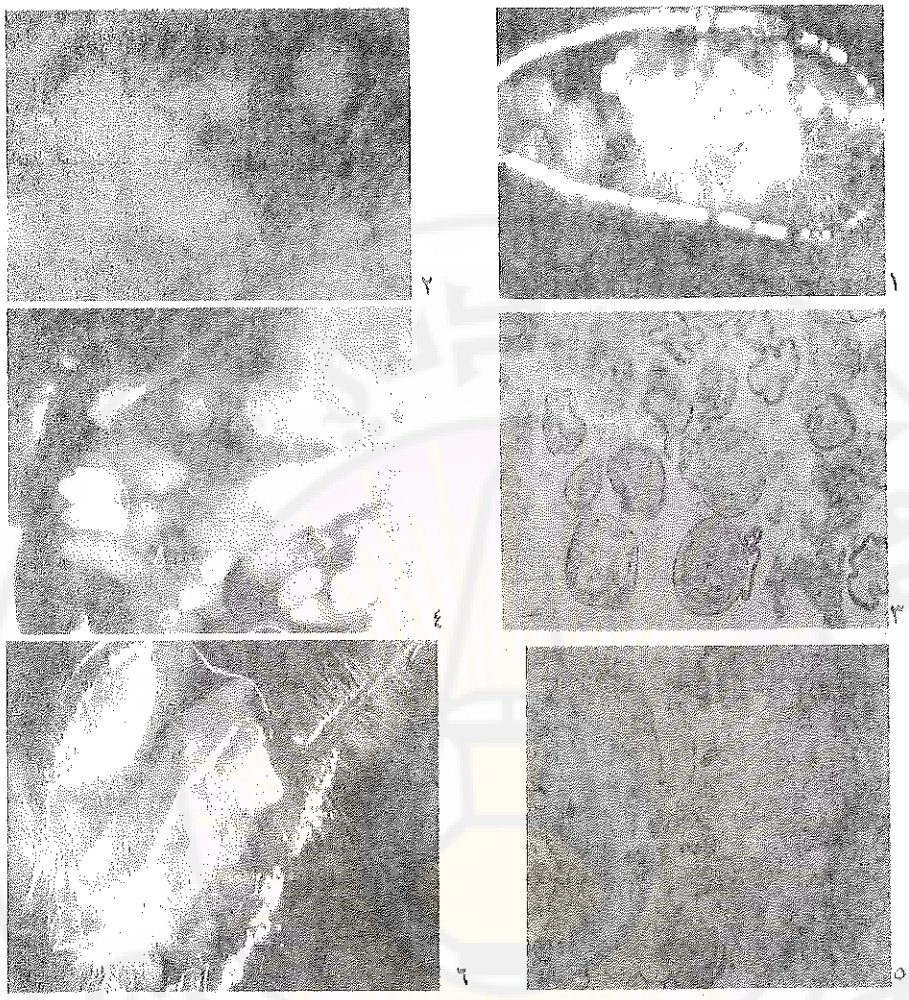
٣ - مئبر ونبات هابلوئيدي مع وسط من طبقتين سفلية صلبة تتضمن فحم فعال، وعلوية سائلة تتضمن منظم نمو.



شكل ٦ ــ ٤٨ أزهار التبغ في مراحل مختلفة لاستعمال مآبرها في الزراعة ، المرحلة ٢ هي المرحلة الأمثل من تنامي المئبر للزراعة.

لقد تم بنجاح متابعة زراعة مآبر التبغ ومراقبة النتائج خلال فترات زمنية متدرجة وهي ٧،١٤،٢١ يوماً، وذلك بالمجهر ،ومن ثم أمكن الوصول إلى نبات هابلوئيدي (1n) واضح شكل (٦-٤٩).

كما تم تطوير طريقة جديدة لزراعة الأبواغ الدقيقة Microspore culture، وعلى الرغم من أن الابواغ الدقيقة تدخل في مرحلة التمايز المبكر إلى الأعراس المذكرة (حب الطلع) إلا أنها تملك قدرة وراثية كامنة تمكنها من الانقسام وتشكيل الأجنة الجسمية . وهكذا يتم إزالة غلاف المئبر، واستخراج الأبواغ الدقيقة (في مرحلة الرباعيات Tetrads) وزراعتها على الوسط المغذي المناسب ، وقد نجحت زراعة قمح الخبز، والشعير، والبطاطا، والتبغ . ومع ذلك تحتاج هذه الطريقة إلى المزيد من الدراسات؛ بسبب وجود الكثير من العوامل المؤثرة فيها، وارتفاع نسبة النباتات البيضاء عديمة اليخضور .



شكل ٦ – ٤٩ المراحل المتتابعة لزراعة مأبر التبغ:

١- بعد الزراعة لمدة ٧ يوم ، جدار المنبر يتفجر وتبدو بداخله أجنة كروية من الأبواغ الدقيقة.

٢- أجنة متنامية بعد ١٤ يوم من الزراعة.

٣- مقطع عرضي في منبر بعد ١٤ يوم من الزراعة تبدو فيه الأجنة الكروية ذات الغلاف السميك.

٤- أجنة متطاولة (طوربيدية) في مرحلة متقدمة من الزراعة .

٥- مقطع عرضي في منبر بداخله الأشكال المتطاولة وتبدو فيها النسج الناقلة الوعائية.

٦- منبر التبغ وقد ظهر منه نبات هابلويدي مع جذر.

٦-٥-٣- الخطوات العملية لزراعة مآبر النجيليات :

يمكن تلخيص الخطوات العملية لزراعة مآبر بعض أنواع النجيليات مثل القمح والشعير كالآتي :

١- تحتوي مزيج ترابي معقم (تربة حمراء+تيموس+رمل بنسبة ١:٢:١ على التسلسل) تتم زراعة النباتات الأم ضمن أصص بدرجة حرارة ١٥-١٨° مئوية ويجب التحكم بظروف الزراعة للوصول إلى استجابة التشكل المئبري .

٢- تجمع السنابل المتكونة في المرحلة المناسبة من تنامي الأبواغ الدقيقة داخل المئبر، مع المراقبة تحت الجهر ، وتتميز بلونها الأخضر الداكن، والمبيض في الزهرة صغير، لا يُغطى بالأوبار القطنية المظهر، في هذه المرحلة تتشكل المراحل المختلفة قبل نضج الرباعيات ذات الخلايا أحادية النوى .

٣- تزرع المآبر على أوساط مغذية سائلة، وفي الظلام ،وذلك ضمن شروط مخبرية خاصة ،حتى يظهر الكالوس من المئبر .

٤- ينقل الكالوس المتشكل إلى أوساط مغذية صلبة في علبة بتري، وفي الضوء، حيث يظهر اللون الأخضر لدى نجاح العملية بمرور (٣٥) يوم تقريباً، والمعروف أن الوسط الصلب يحرض النمو الجذري والخضري، وتتشكل نباتات خضراء أحادية الصيغة .

٥- يمكن الاحتفاظ بنسائل Clones من النباتات الخضراء الأحادية بوساطة عملية التجزئة، ونقلها إلى أنابيب اختبار فيها أوساط مغذية، وبالدرجة ٤مئوية، مع إضاءة ضعيفة ولمدة (١٢) ساعة .

٦- يتم نقل النباتات الخضراء من أنابيب الاختبار إلى التربة، وهي بصيغة (1n) .

٧- تعالج بالكولشيسين لمضاعفتها، وتحويلها إلى (2n) أي: نباتات Dhs.

٦-٥-٤- العوامل المؤثرة على إنتاج Dhs :

تتأثر طريقة إنتاج النباتات المضاعفة Dhs انطلاقاً من النباتات أحاديـة الصيغة الصبغية بعدد من العوامل، أهمها :

- طبيعة النمط الورثي للنبات المستخدم كي يكون قادراً على إنتـاج أجنة أحادية وعلى تمايزها إلى نباتات كاملة، وذلك بقـدرتها علـى تشكيل الكالوس، ونموه إلى نباتات خضراء أو بيضاء .
- للصدمات الحرارية أثر مباشر في الحصول على أحاديات الـصيغة ويتم ذلك بتعريض النباتات لفترات برودة أو حرارة مرتفعة، حيـث تسبب اضطرابات في عملية انقسام البيضة غير المخصبة، والأبواغ الدقيقة في المآبر، والملاحظ أن الحرارة المنخفـضة [مـن ٣-٥] درجة مئوية تحافظ على حيوية الأبواغ الدقيقة لفترة أطول، وتمنـع توقف نمو الأبواغ أو موتها، وبالتالي تزيد من عددها .
- لمكونات الأوساط الغذائية المستعملة في زراعة المآبر أثراً بـارزاً على نجاح عملية زراعة المآبر .وتعد المواد الـسكرية، ومنظمـات النمو، ومواد التجميد (الآغار) والحموض الأمينية من أهـم هـذه المكونات ، إضافة إلى ذلك يجب تحديد قوام الوسط الغذائي (صلب أو سائل) وطرائق تعقيمه ودرجة أل PH العائدة له .
- لعل من أهم العوامل التي تقود إلى إخفاق عمليـة زراعـة المـآبر (وبخاصة في النجيليات) ظهور نسب عالية من النباتـات الـشاحبة عديمة اليخضور .فمثلاً تبين وجود (٦٠٠) نبات شعير أخضر ناتج عن زراعة المآبر من أصـل (٤٠٠٠) نبـات والنباتـات الباقيـة

شاحبة.وعلى ما يبدو تحتوي هذه النباتات الشاحبة على مناطق نقص Deletion كثيرة في الـ DNA العائدة للصانعات الخضراء (نحو ٧٠ %من الجنوم المورثي الصانعي مفقود) ، والمعروف إن DNA الصانعات الخضراء في النباتات الراقية حلقي بطول نحو (١٥٠) ، Kilobases Kb .

٦-٥-٥- المورثات المحرضة على إنتاج الهابلوئيد :

من الطرائق الأخرى لإنتاج نباتات أحادية الصيغة الصبغية، ومن ثم مضاعفتها Dhs ما تم تحقيقه في نبات الشعير دون الاعتماد على زراعة النسج النكاثرية، أو على طريقة التهجين الواسع (الاستبعاد الصبغي) وهي طريقة استعمال نباتات حاملة للمورثة(hap) المحرضة للصفة الأحادية Haploidy intiator gene hap. فقد لوحظ أن حوالي ٣٠-٤٠% من النباتات المتماثلة بالمورثة hap (hap/hap) تعطي نباتات أحادية الصيغة ، وقد تم اكتشاف هذه المورثة مصادفة لدى الدراسات الخلوية،

وتُنتج السلالات الطافرة الحاملة لهذه المورثة نحو ١١-١٤% نباتات أحادية من مجموع النسل الناتج عنها .

بتهجين نبات مؤنث متماثل بالمورثة hap/hap مع نبات مذكر من سلالة أخرى نجد أنة حوالي ٨%من النسل الناتج قد أعطى نباتات مؤنثة هابلوئيدية وبالتالي فإن الصنوي Allele (hap) ينشط فقط في النسيج العائد للأم .

ويمكن تفسير آلية عمل المورثة hap وفقاً لثلاث فرضيات، وهي :

- المورثة hap تعمل على منع حدوث إخصاب البيضة الملقحة لدى تلاقي العروسين المذكر والمؤنث .

- المورثة hap تحث على انقسام نواة الخلية البيضة قبل نضجها بشكل كامل، وبالتالي، فإن هذه النواة المؤنثة تنمو، وتتمايز إلى جنين أحادي .
- المورثة hap تسمح بتطوير الجنين الأحادي بشكل طبيعي .

ومع ذلك ما زالت آلية عمل هذه المورثة بحاجة إلى المزيد من الأبحاث، والدراسات.

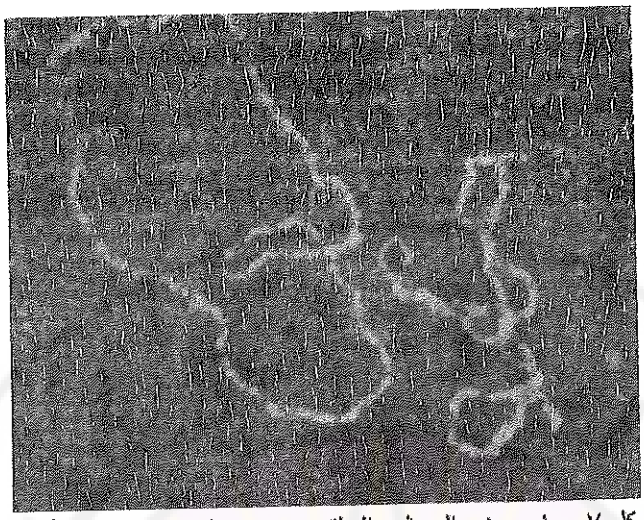
وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السابع
مبادئ الهندسة الوراثية وبرامج التربية النباتية

يشير مصطلح الهندسة الوراثية Engineering genetics إلى عدد من التقانات، التي تستخدم لتغيير النمط الوراثي للخلايا، وبالتالي للمتعضيات ، ونقل المورثات عبر الأنواع لإنتاج كائنات حية جديدة . وتتضمن هذه التقانات معالجات معقدة خاصة لعناصر وراثية وكيميائية ذات أهمية حيوية . من ذلك تعمل الهندسة الوراثية على إكساب الكائنات الحية صفات جديدة من الصعب إدخالها بوساطة الوسائل التقليدية الطبيعية . إن إدخال المورثات في كائنات حية بهدف تبديل صفات معينة فيها تشكل ما يسمى " مناولة " المورثات Manipulation أو التلاعب بها، وهذا ما حصل فعلاً في كثير من أبحاث الهندسة الوراثية على مختلف أنواع الأحياء الجرثومية، والنباتية، والحيوانية، وحتى البشرية . ومما لا شك فيه أن العصر القادم هو العصر " المُهندس " وراثياً، حيث ستدخل المورثات في حياتنا، وطعامنا، وبيئتنا ، وقد تعمل على علاج الكثير من الأمراض البشرية المستعصية ، حقاً إنه " قرن الهندسة الوراثية".

٧-١- البلاسميدات وتطبيقاتها في التربية النباتية :

لقد اكتشف العديد من البلاسميدات في الجراثيم والخمائر ، وهي عبارة عن جزيئات حلقية من الـ DNA صغيرة نسبياً إذا ما قورنت مع صبغي الجرثوم شكل (٧-١). وقد تبين أنها تحمل بعض المورثات (الاحتياطية) مثل مورثات المقومة، أو مورثات الإخصاب، وهي قليلة لا تتجاوز (١٠٠) مورثة، بينما نصادف في صبغي الجرثوم آلاف المورثات .



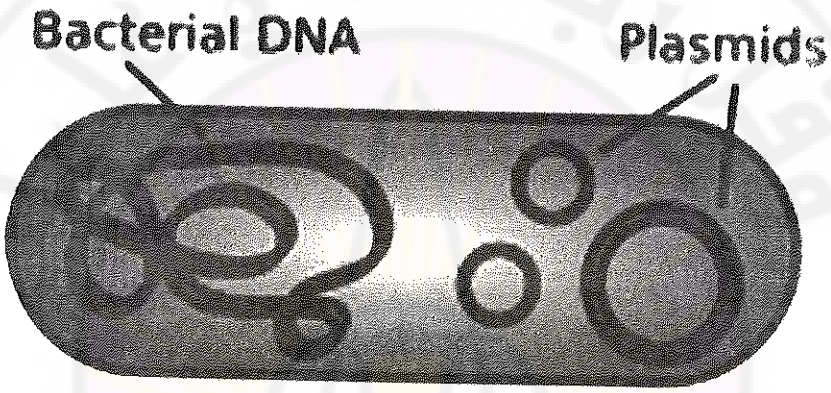
شكل ٧ – ١ صبغي الجرثوم الحلقي وبجانبه البلاسميد الحلقي أيضا.

يعتقد بعضهم أن البلاسميدات ماهي إلا شظايا من الصبغي الجرثومي (لذلك قد نصادف أكثر من بلاسميد في الخلية الجرثومية الواحدة) (شكل ٧-٢)، وقد تنعدم في بعض الجراثيم .وإذا كانت هذه الشظايا من الـ DNA منفصلة عن صبغي الجرثوم أطلق عليها اسم بلاسميدات Plasmids أما إذا كانت مرتبطة مع صبغي الجرثوم فتسمى إبيبسومات Episomes ، وقد تكون غير ضرورية لحياة الخلية. يتناسخ DNA البلاسميد بشكل مشابه تماماً لصبغي الجرثوم، وهو قطعة من الـ DNA يمكن عزله من الخلية الجرثومية بطرائق عديدة، تتضمن عادة ثلاث مراحل، وهي:

- مرحلة تنمية الجراثيم ضمن مزارع خاصة، حيث تتشكل أعداد كبيرة من الجراثيم، بحيث يضم الواحد منها نسخاً متعددة من البلاسميدات المرغوب في عزلها .
- مرحلة جمع الخلايا الجرثومية بفضل الطرد المركزي، أو التثفيل للوسط الزراعي السائل ، ومن حلها بمذيبات عضوية، أو بالحرارة

بهدف تحررها من الجراثيم . ويجب الحذر لدى تحرير البلاسميدات الكبيرة (أكبر من 10 kb – قاعدة أساسية) كيلا تتحطم جزيئات الـ DNA العائدة لها .

- مرحلة تنقية DNA البلاسميد، وهي ضرورية جداً، لاستعماله في الهندسة الوراثية كناقل للمورثات .



شكل ٧ ــ ٢ الصبغي الجرثومي الحلقي وبجانبه عدد من البلاسميدات.

٧-١-١ أنواع البلاسميدات :

يمكن أن نصنف البلاسميدات من خلال نموذجين رئيسيين هما :

الأول: من حيث الوظيفة أهمها : بلاسميد الإخصاب (F) ، وبلاسميد المقاومة (R) ، وبلاسميد تشفير الكوليسين (col(colicins وهي بروتينات تقتل الخلايا الحساسة من جراثيم E.coli وتلعب دوراً مهماً في مرضيتها ، البلاسميد الحاث على الورم التاجي (Ti) ، والبلاسميد الحاث على تشكل الجذور (Ri) .

الثاني: من حيث قدرة البلاسميد، أو عدم قدرته بالمساعدة على الانتقال أثناء التزاوج الجرثومي، ومنها : بلاسميدات التزاوج (F) وبلاسميدات غير

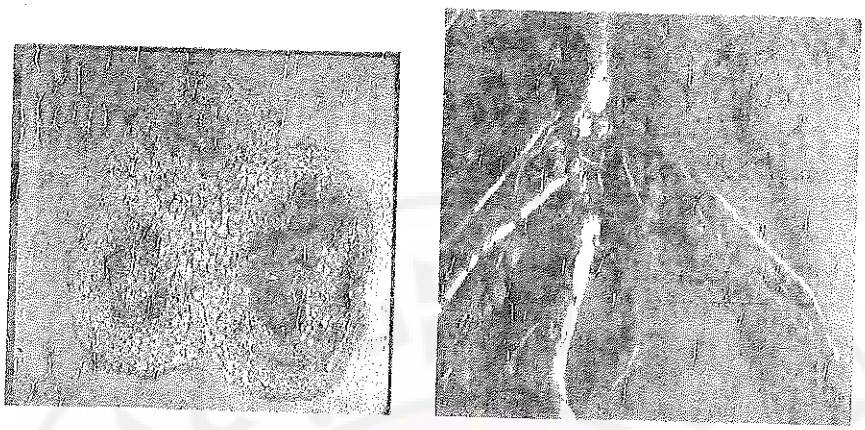
متزاوجة أو غير منتقلة (بعض R و Col) وهي تنتقل بوساطة التحول والتحول الانتقالي.

ويرى بعض الباحثين أن جزيئات الـ DNA الموجودة في الصانعات الخضراء، أو الميتوكوندري ما هي إلا بلاسميدات خاصة، ولها دور ما في خلايا النباتات الراقية .

لقد تعرفنا سابقاً على بلاسميدات الإخصاب (F) ، وتبقى لبلاسميدات (Col) خصوصية طبية وعلاجية؛ لذلك سنتعرف على باقي أنواع البلاسميدات.

٧-١-١-١ البلاسميد Ti:

يأتي رمز هذا البلاسميد من المصطلح Tumor inducing أي الحاث على الورم ، ويوجد في الجرثوم الزراعي المشهور آغروباكتريوم Agrobacterium tumefaciens وهو من الجراثيم التي تعيش في التربة، حيث يقضي بياتاً شتوياً إما رمي أو طفيلي عدة أشهر أو سنوات، ثم يهاجم النباتات فور زراعتها، حيث يدخل إليها عن طريق الجروح من الجذور، أو من مناطق أخرى . ومن جراثيم التربة الأخرى المرتبطة مع آغروباكتيريوم نجد جراثيم ريزوبيوم Rhizobium وأزوتوباكتر Azotobacter وكلوستيريديوم Clostridium المثبتة لآزوت الهواء، وبعضها (ريزوبيوم) يشكل عقداً في جذور النباتات البقولية، حيث تعمل على تثبيت الآزوت فيها، ويستفاد منها في إغناء الأرض المزروعة بالمركبات الآزوتية (شكل ٧-٣).



شكل ٧ ـ ٣ العقد الجذرية في جذور البقوليات لتثبيت الآزوت، ومقطع عرضي للجذر المصاب (لاحظ الجراثيم بجانب الحزم الناقلة)

إن جنس الأغروباكتيريوم غير متماثل من الناحية التصنيفية، فقد تم وضع معظم أنواعه مع الأجناس الحديثة العائدة لجراثيم التربة ، ومع ذلك يتفق معظم المصنفين على وضعه مع أنواع جنس الريزوبيوم Rhizobium ولذلك فإن تصنيف هذا الجرثوم هو التالي :

المملكة : جراثيم Bacteria

الشعبة : Proteobaeteria

الصف : Alpha proteobaeteria

الرتبة : Rhizobiales

الفصيلة : Rhizobiaceae

الجنس : Agrobacterium

النوعان المورثيان :

A.rhizogenes الحاث على تشكيل الجذور

A.tumefaciens الحاث على تشكيل الورم التاجي

ما هو الورم التاجي؟

لقد بدأت أبحاث الأورام التاجية Groun galles منذ عام ١٩٠٤م واستمرت حتى عام ١٩٧٠م دون أن يعرف سببها الحقيقي . وهي عبارة عن تدرنات تسبب نمو غير طبيعي في نسج النبات والأعشاب، وعلى الجذور، أو الأوراق، أو الساق، أو الفروع، أو البذور وقد تكون صغيرة الحجم لا تشاهد بالعين المجردة، وقد تكون كبيرة يصل حجمها إلى حجم البرتقالة (شكل ٧-٤ .

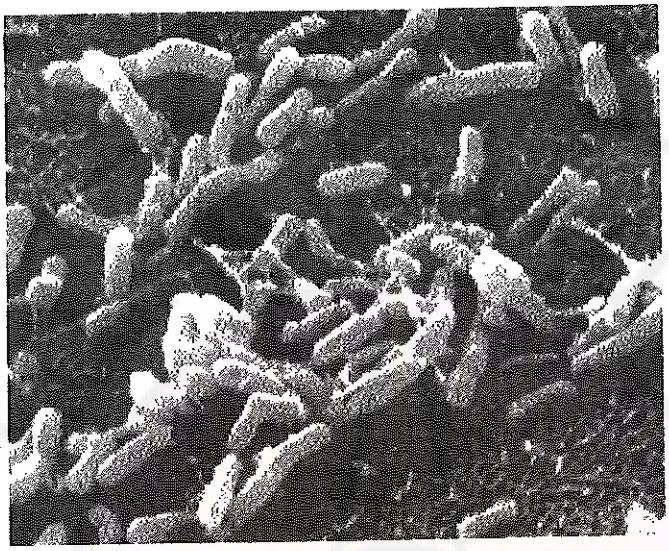
وتشير الدراسات إلى وجود تشابه كبير (من الناحية الآلية) بين الأورام السرطانية التي تصيب الإنسان ومثيلتها؛ التي تصيب النبات (الورم التاجي) ، وتنحصر هذه الآلية بوجود عامل حاث (جرثوم أو فيروس أو أي عامل آخر) يؤدي إلى إحداث اضطرابات في عملية تكاثر الخلايا وانقساماتها، فتتحول الخلية العادية إلى خلية شاذة تنقسم دون أي ضابط . إن هذا التضخم يعمل مع الزمن على سد الأوعية الناقلة الخشبية واللحائية، وبالتالي عرقلة نقل النسغ من خلالها،وبالتالي مرض النبات قد يصل إلى موته ، وهذه الأورام تصيب الأعشاب والأشجار المثمرة وبعض نباتات الزينة وغيرها، مثل : التفاح ، السفرجل ، الدراق ، الكرز ، المشمش ، العنب ، التوت ، البطاطا ، البندورة ، الأضاليا ، الورد ...إلخ.



شكل ٧ ـ ٤ ورم تاجي ضخم ناجم عن جراثيم آغروباكتيريوم

ماذا يعمل الجرثوم داخل النبات الراقي ؟

يدخل جرثوم آغروباكتيريوم إلى المضيف من الجروح أو الكسور، ويتواجد بين الخلايا، ويبدأ بإفراز حمض الأيندول الخلي، فيهيج خلايا المضيف ويحثها على الانقسام . هذا الجرثوم يملك الصبغي الحلقي الملتف العائد له، وبجانبه البلاسميد Ti أي مسبب الورم التاجي في المضيف (شكل ٧-٥).



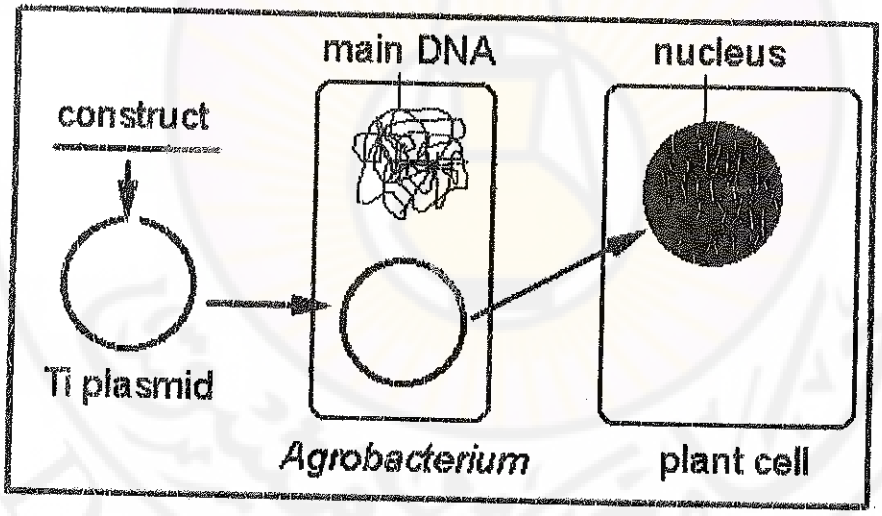
شكل ٧ ـ ٥ جراثيم آغروباكتيريوم

بعد ذلك تتحد قطعة من DNA البلاسميد (مسببه الورم) مع قطعة من DNA الخلية النباتية المصابة ، وتبدأ بتشفير أنزيمات (فيتوهرمونات) (شكل ٧-٦) تشجع على النمو غير المنتظم للخلايا، وبالتالي تحدث الأورام في أماكن الإصابة. وقد تبين أن المرض يستمر حتى ولو ماتت جراثيم آغروباكتيريوم؛ بسبب بقاء أثر الهرمونات النباتية داخل الخلايا والنسج .

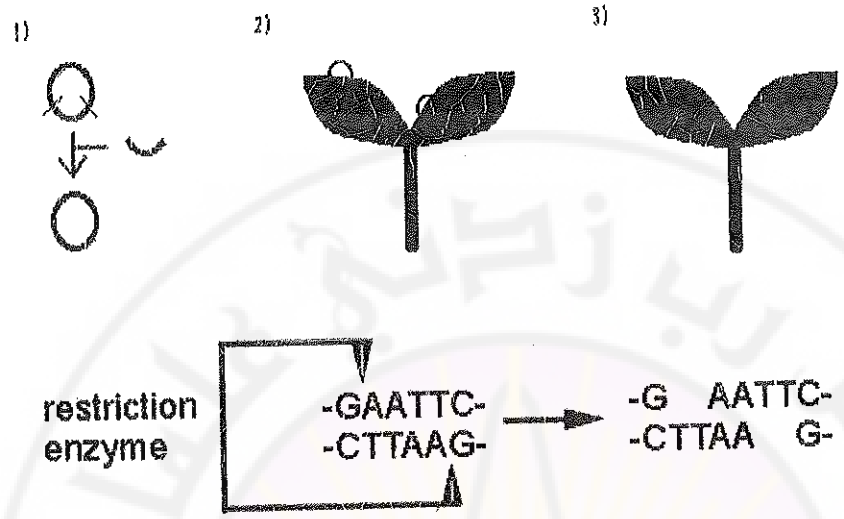
ما دور البلاسميد Ti في تربية النبات ؟

لعل أول نظام يهدف إلى هندسة (تربية) النباتات وراثياً هو نقل المورثة المرغوبة إليها باستعمال البلاسميد Ti الموجود في جراثيم آغروباكتيريوم . ولكي تكون هذه الجراثيم فعالة في نقل المورثات المرغوبة

يجب استئصال المورثات المسببة لمرض التدرن التاجي من البلاسميد، وإدخال المورثة المطلوبة، ودفعها إلى النبات المراد تبديل صفاته . وقد تمكن شيلتون M.D.CHILTON عام ١٩٨٣م من نزع هذه المورثات الممرضة من البلاسميد (تعرف بالمورثات الحاثة على التورم) دون المساس بآلية نقل الـ DNA التي يتمتع بها البلاسميد. ويسمى البلاسميد حامل المورثات المرغوبة باسم البلاسميد المؤشب Recombined plasmid، هذا البلاسميد يزرع في وسط نباتات صغيرة في الزجاج in vitro كي ينتقل الجزء المكون من التركيب الجديد T.DNA إلى الخلايا النباتية، ومن ثم يندمج إلى جينوم النبات بالكامل، حيث يعبر عن نفسه (شكل ٧-٧).



شكل ٧ ـ ٦ مخطط دخول بلاسميد اغروباكتيريوم المؤشب إلى الخلية النباتية وإحداث الإصابة.



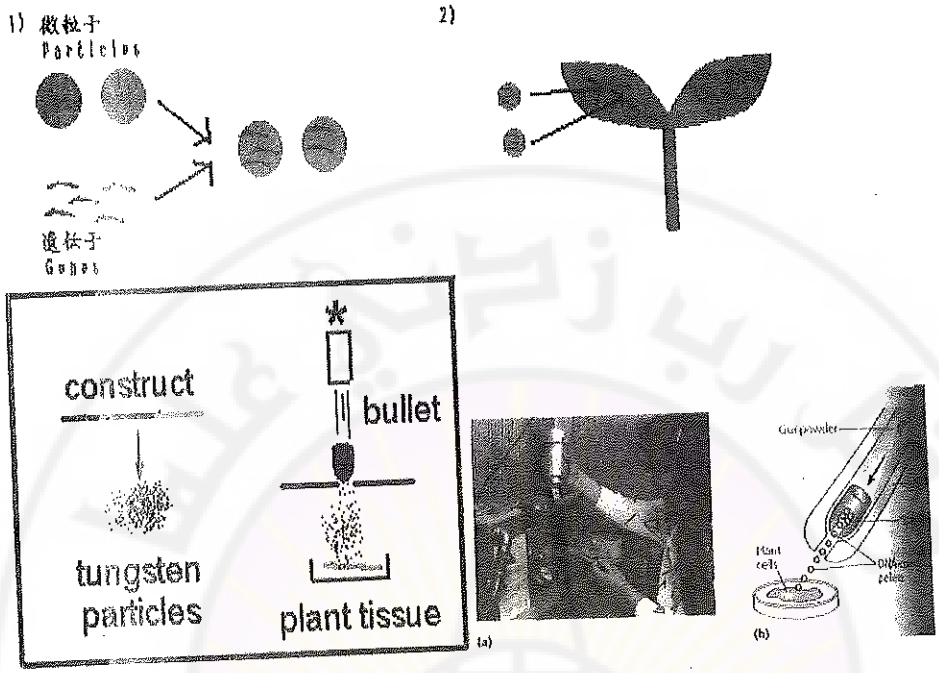
شكل ٧ – ٧ خطوات دخول البلاسميد Ti إلى الورقة النباتية:
١- قص المورثة (في البلاسميد) بالأنزيمة من اغروباكتيريوم وتبادلها مع مورثة أخرى (لاحظ مخطط القص الأنزيمي في الأسفل). ٢ – إلحاق الجرثوم مع المورثة الجديدة إلى
النبات الذي نريد إحداث التبدل عنده. ٣ – الجرثوم يتطفل على النبات ويتبادل معه بالمورثات.

وقد تستعمل وسائل كثيرة (أثناء العمل مع الهندسة الوراثية) لنقل المورثات إلى النباتات، ومن أهم الناقلات نجد :

- الفاغميد Fagmid عبارة عن جزيئة هجينة بين البلاسميد وآكل الجراثيم، ، وطول القطعة من /٤/ إلى /١٠/ K.base (k.base= ألف أساس، أو شفع نيكليوتيدي Kilo- base).
- الكاسميد Casmid جزيئة هجينة بين البلاسميد وآكل الجراثيم، طول القطعة من /٣٥/ إلى /٤٠/ K.b.

- الفاج phage عبارة عن فيروس آكل جراثيم حلقي أو خيطي، طول القطعة /٢٠/ K.b.
- الياك Yac (yeast artificial chromosome) وهو الصبغي الاصطناعي للخميرة، طول القطعة من ١٥٠ -١٠٠٠ K.b.
- الباك Bac (Bacterial artificial chromosome) وهو الصبغي الاصطناعي للجراثيم .
- أما البلاسميد plasmid فهو صبغي حلقي خارج صبغي الجرثوم (كما شاهدنا) طول القطعة المحمولة معه نحو ٤٠٠٠ K.b.

وتجدر الاشارة إلى أن معظم الناقلات المذكورة يتم إدخالها إلى الخلايا النباتية بطرق حديثة، من أشهرها طريقة القذف أو التفجير باستعمال المدفع المورثي Gene gun إضافة إلى تقانة البروتوبلاست (التي تم ذكرها في فصل سابق) . وهكذا توضع المورثة المطلوبة في جسيمة مصنعة من الذهب متناهية في الصغر، وتقذف إلى الخلية النباتية بضغط شديد باستعمال " رصاصة " bullet أو متفجرة " blast حيث تصل إلى DNA الخلية النباتية، وتتأشب معها شكل (٧-٨).



شكل ٧ – ٨ استخدام تقانة " المدفع الوراثي " لنقل المورثات المرغوبة إلى النبات المراد تعديله:

في الأعلى: ١) إلحاق المورثة بذريرة مصنعة من الذهب . ٢) قذف الذريرة مع المورثة إلى النبات.

في الأسفل يسار: مخطط المدفع المورثي . ، يمين: مخطط وصورة المدفع قاذف المورثات.

٧-١-١-٢- البلاسميد Ri:

جاء مصطلح Ri من Root inducing أي: الحاث على تشكل الجذور ، ويوجد هذا البلاسميد في جرثوم آغروباكتيريوم من النوع A.rhizogenes . وهو من الجراثيم سلبية الغرام تدخل إلى النبات عن طريق الجروح، أو الخدوش بوساطة التربة، وهذه المناطق المجروحة تفرز مركبات، أو خلائط فينولية Phenolic compounds التي تملك أثراً جاذباً للجراثيم .

وبعد الدمج والتعبير في الكائن الحي in vivo تظهر الجذور بشدة، وهي مكسوة بالأوبار، وتشكل كتلة كبيرة من الجذور. إن هذه البلاسميدات Ti و

Ri أوَجدت طريقة مهمة لنقل المعلومات الوراثية من بدائيات النوى (الجراثيم) إلى حقيقيات النوى (النباتات الراقية) .

٧-١-١-٣- البلاسميد R:

يطلق على هذا البلاسميد اسم بلاسميد الثبات، أو المقاومة Resistance plasmid تجاه المضادات (الصادات) الحيوية، فالأصل في الجراثيم أنها تتحسس Sencetive تجاه المضادات الحيوية. ويعرف عند الكثير من الجراثيم الممرضة وخاصة منها تلك التي تسبب الإسهالات، مثل جراثيم : Hemophyllus , Pastteurella , Salmonella , Proteus .... وغيرها .

وقد لوحظ زيادة عدد الجراثيم الحاملة لبلاسميدات المقاومة تجاه المضادات المختلفة مثل: (بنسلين ، تتراسيكلين ، ستربتوماسين ، كانامايسين .....إلخ) بكثرة في السنوات الأخيرة، وهذا يشكل خطراً كبيراً على حياة المرضى، الذين لا يفيدهم استعمال هذه الأدوية المضادة للجراثيم، كونها تحمل مورثات المقاومة .

وتشير بعض الإحصائيات في اليابان إلى زيادة نسبة الجراثيم الحاملة لمختلف مورثات المقاومة (بلاسميد R) تجاه معظم المضادات الحيوية، وذلك خلال عشر سنوات ، وانتشار هذه الجراثيم بكثرة في مجاري الأنهار الملوثة، حيث وصلت نسبتها من ٥٠-٨٠ % ولعله من أهم أسباب انتشار هذه الظاهرة هو الاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية، الأمر الذي يحث الجراثيم على اكتساب المقاومة ضدها بفضل طفور المورثات.

ما هي عناصر الإدخال ؟

لقد تبين وجود قطع صغيرة من الـ DNA تتوضع على الصبغي الجرثومي، وعلى بلاسميد الاخصاب (F) أو على بلاسميد المقاومة (R) تعمل على دمج (أو إدخال) الصبغيات مع البلاسميدات، أو مع نواقل المورثات ، هذه القطع تسمى عناصر تتابعات الإدماج، أو الإدخال IS- elements Insertion sequences elements .

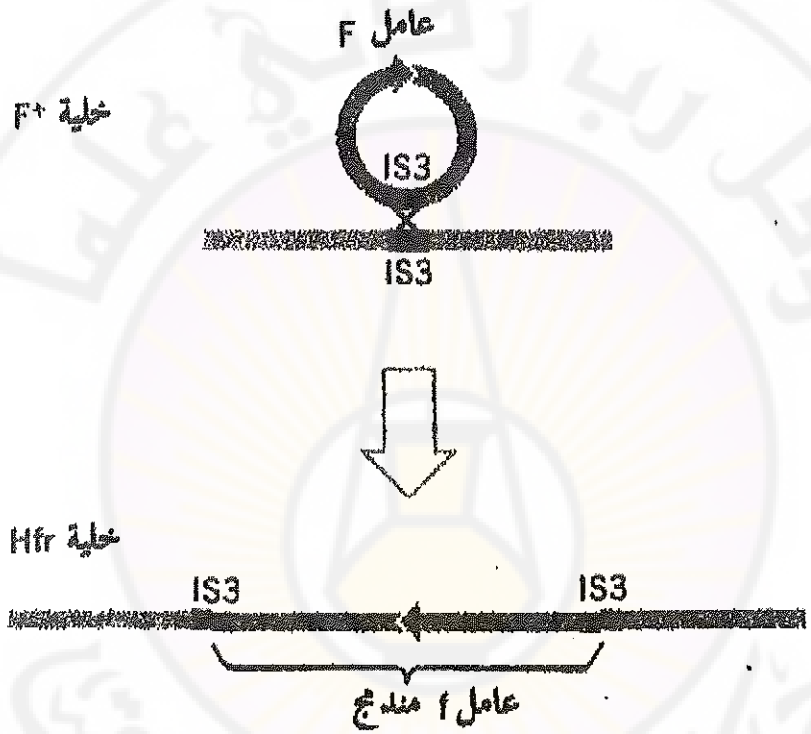
ولهذه العناصر القدرة على التحرك والانتقال على الصبغي من موقع لآخر، أو حتى الانتقال بين الصبغيات الأخرى . ونجد من عناصر الإدخال خمسة أنماط وهي :

- (IS_1) لا يتجاوز طولها ٧٦٨ شفع نيكليوتيدي (base pairs b.p.)
- IS_2 طوله ١٣٠٠ b.p.
- IS_3 طوله ١٢٠٠ b.p.
- IS_4 و IS_5 طوله ١٤٠٠ b.p.

جميع أنماط التتابعات توجد في خلايا بدائيات وحقيقيات النوى وتملك خاصية الاستئصال والدمج . ويملك صبغي جرثوم العصية المعوية E. coli K_{12} ثماني نسخ من (IS_1) ، وخمس نسخ من (IS_2) ، وثلاث نسخ من (IS_3) ، ونسخة واحدة فقط من (IS_4) . أما بلاسميد الإخصاب (F) في هذا الجرثوم فيملك نسخة واحدة من (IS_2) ، ونسختين من (IS_3) .

من وظائف عناصر Is تحول الجرثوم المعطي (F^+) إلى جرثوم معطي أيضاً (Hfr) وهكذا تسهم هذه العناصر بإدخال عامل الإخصاب F من (F^+) إلى (Hfr) حيث تتكامل معه، وهذا لا يتحقق إلا بعامل الإدخال، وهو (IS_3) الموجود منه في صبغي الجرثوم وصبغي البلاسميد (F)

(شكل ٧-٩)، وبالمقابل يملك صبغي جرثوم السالمونيلا Salmonella tyhimurium (IS_1) ولا يملك (IS_2) . إن عناصر الإدخال IS هي عناصر تتابعات بسيطة لا تحتوي على مورثات وظيفية محددة .

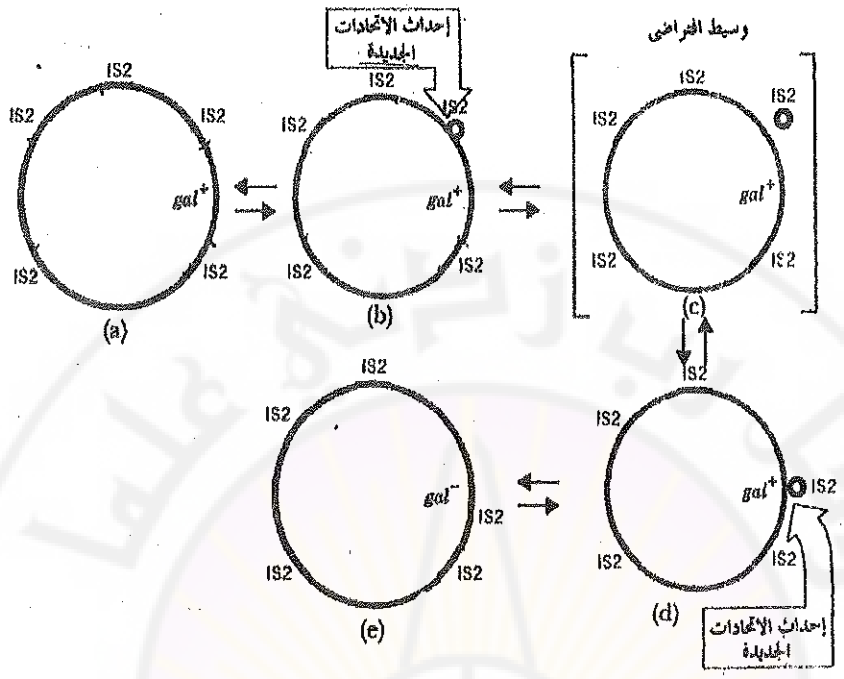


شكل (٧-٩)

تحول الجرثوم المعطي (F^+) إلى جرثوم معطي Hfr بوساطة عامل الإدخال Is_3 الموجود عند كل من البلاسميد F والصبغي الجرثومي بآن واحد.

ومن وظائف عناصر الإدخال IS الأخرى تحويل بعض المورثات من النمط البري إلى النمط الطافر . فمثلاً تتوزع على صبغي E.coli خمس نسخ

من عناصر (IS_1) في مناطق مختلفة منه ، وبفرض أن إحدى هذه النسخ (IS_1) انثنت نحو الخارج، ومن ثم انفصلت عن الصبغي، وتحركت باتجاه مورثة موجودة على هذا الصبغي، وهي مورثة تركيب الغالاكتوز (gal^+) . وباندماج (إدخال) النسخة (IS_1) مع مورثة (gal^+) فإن هذه المورثة ستفقد وظيفتها الأساسية، وتتحول إلى طفرة عدم إمكانية تركيب الغالاكتوز، أي: من الشكل (gal^-). إن الذي ساهم في طفور هذه المورثة هي عنصر الإدخال IS_1 والذي يعد في هذه الحالة (كمورثة) قافزة، انتقل من مكانه إلى مكان آخر، وبدل وظيفة المورثة ($gal^- \rightleftharpoons gal^+$) ، ويلاحظ أن لهذه العملية اتجاهاً عكسياً أي: أن المورثة الطافرة gal^- قادرة على الرجوع إلى الحالة الطبيعية gal^+ . شكل (٧-١٠).



شكل (٧-١٠) مخطط يوضح دور عناصر الإدخال في طفور المورثة gal^+ إلى gal^- :

(a)- صبغي جرثومي E.coli وعليه موقع المورثة gal^+ (b) تكور عنصر الإدخال IS_2 .

(c)- انفصال IS_2 وتشكل وسيط افتراضي.

(d)- توضع IS_2 فوق المورثة gal^+ .

(e)- تحول المورثة gal^+ إلى طفرة gal^- .

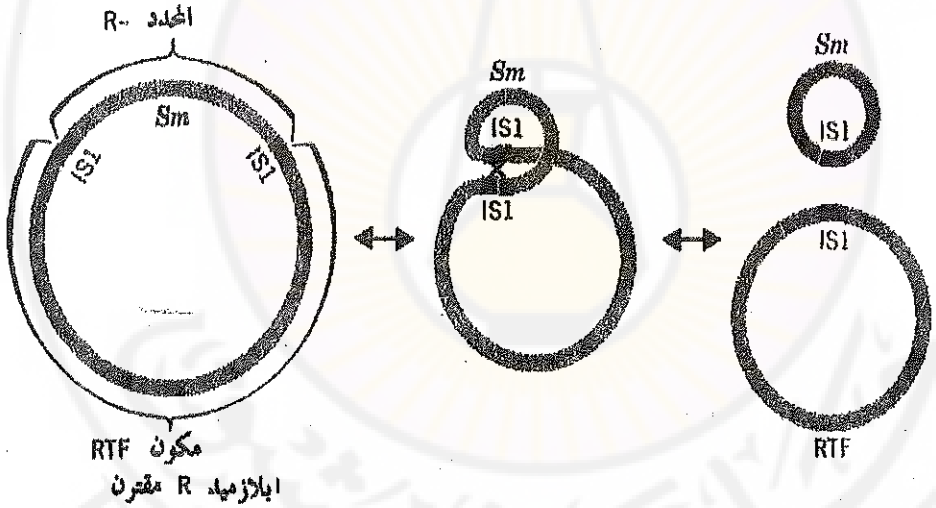
(لاحظ أن هذه العملية عكوسة)

ما دور عناصر الإدخال بالبلاسميد R ؟

يضم بلاسميد المقاومة R مكونين على الأقل : الأول يشكل حامل المورثات المنتقلة RTF (Resistance transfer factor) وهو يشفر للوظيفة التي تتطلب من البلاسميد نقل مورثات المقاومة (أشبه ما يكون بالحافلة حاملة الركاب) ، والثاني محدد المقاومة (Resistance determination)

RD يضم مورثة أو أكثر من مورثات المقاومة (R) (أشبه ما يكون بركاب الحافلة) .

وهكذا يمكن للبلاسميد R أن يكون من شكلين : بلاسميد R غير متزاوج Nonconjugative R plasmid بحيث يكون RD مستقلاً عن RTF ، وبلاسميد R متزاوج conjugative R plasmid ، حيث يتزاوج المكون RD مع المكون RTF بوساطة عامل الإدماج أو الإدخال IS_1 الموجود عند كل منهما. بهذا الشكل يحمل محدد المقاومة RD المورثة Sm (المقاومة تجاه الستربتومايسين مثلاً) ، ولدى تزاوج RD مع RTF يتشكل البلاسميد المتزاوج؛ الذي يضم عنصري إدماج من IS_1 بينهما مورثة Sm وجزء كبير هو RTF الذي يحمل هذه المورثة شكل (٧-١١).



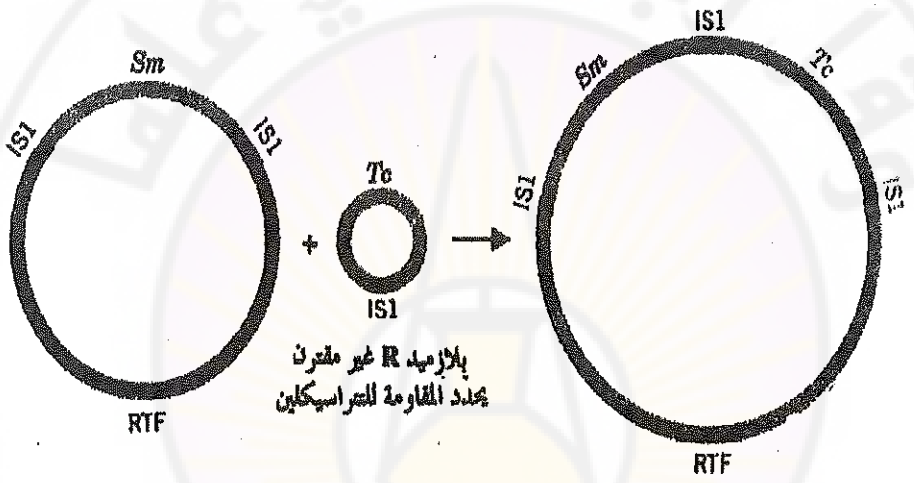
شكل (٧-١١) تشكيل بلاسميد المقاومة المتزاوج.

في اليمين: المكون الأول RD والمكون الثاني Rtf غير متزاوجين.

في الوسط: بدء تزاوج المكونين.

في اليسار: اكتمال تشكل البلاسميد المتزاوج Sm مورثة الستربتومايسين (تابع النص).

لا يقتصر هذا البلاسميد المتزاوج على حمل مورثة مقاومة واحدة ، فقد يعمد إلى ضم مورثة مقاومة ثانية مثل Tc (المقاومة تجاه التراسكلين مثلاً) الموجودة على حامل RD ويضم IS_1 أيضاً . وهكذا نحصل على بلاسميد R متزاوج يضم (٣) نسخ من (IS_1) ومورثتي مقاومة هما Sm و Tc وحامل RTF يوجد الجميع شكل (٧-١٢).



شكل (٧-١٢): مخطط يوضح تشكيل بلاسميد يضم مورثتي مقاومة للمضاد الحيوي , Tc . Sm

إلى اليسار: البلاسميد المتزاوج الذي يضم مورثة Sm + المكون RD حامل المورثة Tc.
إلى اليمين: البلاسميد المتزاوج الذي يضم المورثتين معاً.

وهكذا بالطريقة نفسها يتم دخول مورثات المقاومة بوساطة عناصر الإدماج IS ونحصل على بلاسميد (R) ضخم جداً قد يحمل العديد من مورثات مقاومة المضادات الحيوية ، وجميع مثل هذه البلاسميدات توجد في الجراثيم

الممرضة؛ التي لا يمكن لها أن تتأثر بالعديد من المضادات الحيوية، الأمر الذي يكسبها مقاومة واسعة، وثباتاً تجاه معظم المضادات .

بعض أسباب مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية :

تتجلى مقاومة الجراثيم الممرضة للمضادات الحيوية بوجود سببين رئيسين : **الأول:** بتشكل أنزيمات توقف عمل الأدوية (المضادات) أو تحدّ من نشاطها، **والثاني:** بتبديل نفوذية الجرثوم ، إضافة إلى اختلاف التركيز الفعال للدواء . وبشكل عام يمكن تغيير مقاومة الجراثيم الممرضة للمضادات الحيوية بثلاثة أشكال :

١- تبدل وراثي للجرثوم ينحصر بظهور طفرة صبغية، مثل: النقص، والانقلاب، والتكرار ... وغيرها (أو مورثية) وغالباً ما تظهر هذه الطفرات بتواتر قليل جداً ($١٠^{-٧}$ - $١٠^{-٩}$) لذلك لا تكتسب (من الناحية السريرية) أهمية تستحق الذكر .

٢- اكتساب بلاسميد المقاومة (R) عن طريقة التزاوج ، وهي مهمة من الناحية المرضية والوراثية؛ لأن هذا البلاسميد (كما شاهدنا) خطر على المرضى؛ الذي لن يفيدهم أي علاج عن طريق المضادات الحيوية .

ويكتسب الجرثوم بلاسميد المقاومة بطرق عديدة، فهو :

- يحدث طبيعياً في الجراثيم ذات الغلاف القاسي (سالبة الغرام) مثل E.coli فهي تستطيع أن تأخذ بلاسميد R من مصادر مختلفة .
- ينتشر هذا البلاسميد لدى تناول الأدوية والعقارات بنسبة عالية، وخاصة لدى سوء استخدامها، وعدم اتباع الأسس الطبية السليمة.

- ينتقل هذا البلاسميد - وبكثرة - عن طريق التزاوج بين الجراثيم داخل المرضي، وذلك بالطريقة التي سبق ذكرها .
- إن البلاسميد R مكون من DNA ضخم جداً، وبوزن جزئي مرتفع قد يصل إلى /٦٠/ مليون شفع نيكليوتيدي في حال التزاوج، بينما يكون بحدود /١٠/ مليون شفع قبل التزاوج .
- البلاسميد R غير مرتبط مع صبغي الجرثوم، وله القدرة على التضاعف والتناسخ المستقل، وبكثرة لذلك نصادف في الجرثوم الواحد أكثر من بلاسميد R ، وجميعها تعمل على تشكيل أنزيمات تفكك الصادات الحيوية.

١- اكتساب المورثات القافزة ترانسبوسون Transposons : وهي قطع من الـ DNA تنتقل بسهولة من مكان إلى آخر على الصبغي الجرثومي، أو على البلاسميد العائد له، أو من جرثوم لآخر، أو خارج الجرثوم (الوسط الخارجي) ، ولها القدرة على إحداث الطفرات في المورثات المحشورة بداخلها . إن المورثات القافزة بحد ذاتها صغيرة لا تتجاوز (١٥٠٠) شفع نيكليوتيدي، لكنها تصبح ضخمة عندما تنضم إليها عناصرها المتممة، مثل البلاسميد R . للمورثات القافزة أربعة أجزاء، وهي :

- نهايتان لزجتان (يمين ويسار) بسبب وجود سلسلة متتالية، ذات تكرار متعاكس (الواحدة عكس الأخرى) مسؤولة عن الاندماج.
- مورثة تشفير الأنزيم المسؤول عن عمليات القطع والربط، وهو أنزيم ترانسبوساز Transposase .
- مورثة القمع Represor المنظمة لعمل وتشكيل أنزيم ترانسبوساز.

- مورثة المقاومة R تعمل على تنشيط مكونات المورثات الطافرة.

ومن الأسباب الأخرى لانتشار مورثات المقاومة (R) نجد :

- عدم التقيد بإعطاء المضاد الحيوي المناسب للجرثوم المناسب ، وعدم إتمام تناول الجرعة بكاملها من قبل المريض ، وأخذ العقار بشكل غير مدروس، ودون وصفة .
- استعمال الصادات الحيوية في أغذية بعض الحيوانات للوقاية من إصابتها بالإنتانات، ودعم نموها ، وبذلك يتم انتخاب (اصطفاء) جراثيم مقاومة (تحمل بلاسميد R) وهكذا تنتقل إلى الإنسان بطرق مختلفة، لا سيما تناول الأطعمة الحيوانية المصابة .

٧-١-٢- البلاسميدات والهندسة الوراثية :

بعد عام ١٩٧٢ م عيد ميلاد الهندسة الوراثية حينما قامت مجموعة بيرغ (الولايات المتحدة الأمريكية) بإيجاد أول DNA مؤشب في أنبوب الاختبار in vitro وذلك بتوحيد مادة وراثية مكونة من ثلاثة مصادر، وهي : كامل جنوم فيروس حاث على السرطان Ankogene عند القرد ، وجزء من جنوم آكل الجراثيم لمبدأ (λ) ، ومورثات الأوبيرون Operon المسؤولة عن الغالاكتوز في جرثوم E.coli . هذه الجزيئية الهجينة من الـ DNA لم تدرس وظيفياً بسبب التخوف من نقل السرطان إلى أمعاء الإنسان .

وبعد عام ١٩٧٤/١٩٧٣ م المولد الحقيقي للهندسة الوراثية، تمكن كوين وبوير من الحصول على DNA هجين منشط وظيفياً، وقابل للنسخ .

وبشكل عام تتحقق الهندسة الوراثية بثلاث مراحل، وهي :

- قطع الـ DNA بعد أخذه من مصادر مختلفة بأنزيمة إيندونيكلياز .
- دمج قطع الـ DNA (السابقة) مع DNA موجه Vector*في الأنبوب وغالباً ما يكون بلاسميد .
- إدخال الـ DNA الهجين إلى الآخذ (غالباً جرثوم E.coli) ومن ثم إكثاره، والاستفادة منه .

وفعلاً تم الحصول على بلاسميدات هجينة ضخمة، وفي مخابر عديدة.

٧-١-٢-١- تجزئة الـ DNA :

لقد وُصفت ظاهرة تقطع الـ DNA للمرة الأولى في الخمسينيات عندما تكاثر الفيروس آكل الجراثيم (λ) المعتدل على جرثوم E.coli ، فقد لوحظ أن صبغي الفيروس يقطع صبغي الجرثوم إلى قطع صغيرة، يمكن تمييزها عن صبغي (λ) . وقد تبين أن سبب القطع هو أنزيمات يفرزها الفيروس (λ) عرفت فيما بعد باسم أنزيمات القطع أو التجزئة Restrictinas. ويعرف حالياً أكثر من /٥٠٠/ أنزيمة (مقص) ، بعضها يشكل نهايات لزجة Sticky حينما يتم القص بشكل متعرج، وهي قابلة للالتصاق (بتكامل النيكلوتيدات مع بعضها) ، وبعضها الآخر تشكل نهايات غير لزجة، فيما يتم القص بشكل رأسي مستقيم ، وبالنتيجة تتشكل من الـ DNA كسرات متنوعة جداً .

---

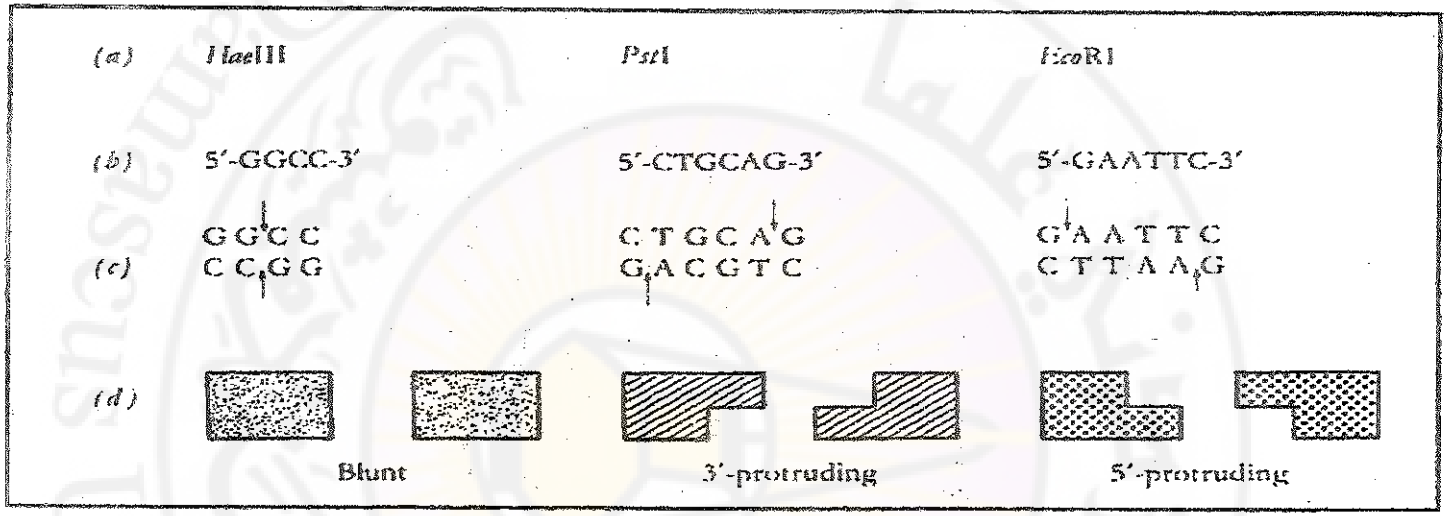
* Vector هو غالباً جزيءمن الـ DNA له القدرة على التضاعف في كل كائن حي مضيف، ويستطيع التأثير كجزيء حامل لهدف بناء DNA مؤشب (عادة بلاسميد مؤشب).

إن الأنزيمة القاطعة تتعرف على مكان القطع المفترض، حيث تستدل كل أنزيمة (مقص) على المكان المحدد من الـ DNA لقصة، ويحصل هذا التعرف بحسب تسلسل نيكليوتيدات الـ DNA ، ومن أشهر الأنزيمات المستعملة في الهندسة الوراثية ثلاث، وهي :

١- $E.COR_I$ وهو الذي يتشفر بالبلاسميد R (مورثة الثبات) الذي يوجد في جرثومة E.coli ويقطع عندما يجد ستاً من النيكلوتيدات من التسلسل (GAATTC) .

٢- $BamH_I$ اكتشف في جراثيم Bacillus amyloliquefacience ويقطع عندما يجد ستاً من النيكليوتيدات من التسلسل (GGATCC) إن كلا من الأنزيمين القاطعين يشكلان نهايات لزجة قابلة للالتصاق، أي أنهما قاطعان متعرجان .

٣- Hae III عزلت من جراثيم الهوميفيلوس Haemophilus aegyptium وكذلك Hpa_I من جراثيم هوميفيلوس بارا أنفلونزا Haemophilus parainfuenza الأول يقطع عندما يجد أربعاً من النيكليوتيدات وفق التسلسل GGCC والثاني يقطع عندما يجد ستاً من النيكليوتيدات وفق التسلسل (GTTAAC) وكلاهما يقطع بشكل رأسي مستقيم، ولا يشكل نهايات لزجة (شكل ٧-١٣).



شكل (٧-١٣): تمثيل لأنواع النهايات المتشكلة لدى تعريض قطعة من الـ DNA لأنزيمات قطع مختلفة:

a- اسم الأنزيمة (نوعها).

b- التتابعات التي تختارها كل أنزيمة.

c- أماكن القطع من التتابع (حيث الأسهم).

d- تمثيل تخطيطي للنهايات المتشكلة.

٧-١-٢-٢ الحصول على المورثات :

يتم عادة عزل المورثات بعدة طرق مختلفة، منها :

- العزل المباشر من مصادر مختلفة، حيث تطبق على DNA الأصل أنزيمات التجزئة أو القطع، ثم توضع في بلاسميدات (جزيئات موجهة) وتنقل إلى الجرثوم، فتتشكل جزيئة هجينة، حيث تتكاثر مع تكاثره، وتحمل المورثات المطلوبة المعلمة Marquer .
- طريقة التصنيع الكيميائي، حيث تمكن كوران ومساعدوه عام ١٩٦٩ م من تركيب مورثة الـ (RNA) الناقل (TRNA) للحمض الأميني آلانين في الخميرة بطول (٧٧) شفع نيكليوتيدي ، وهي مشفرة بالكامل دون تتابعات منظمة ، ولذلك لم يكن لها نشاط أنزيمي . بعد ذلك تمكنت هذه المجموعة من تصنيع أول مورثة نشيطة وظيفياً بطول (٢٠٠) شفع نيكليوتيدي، وهي مورثة التيروزين القامعة ل RNA الرسول في جرثوم .E.coli

٧-١-٢-٣- البلاسميد والحصول على الأنسولين :

من المعروف أن الأنسولين ما هو إلا هرمون تفرزه جزر لانغرهانس في البنكرياس؛ ليحافظ على ثبات السكر في الدم عند الإنسان ، وإذا نقصت كمية الأنسولين – كما هو الحال عند مرض السكري – فإن الإنسان يحتاج إليه مصنعاً لتعويض هذا النقص في جسمه .

ويتركب الأنسولين البشري من سلسلتين من الحموض الأمينية : السلسلة (A) تضم /٢١/ حمض أميني، وتنتهي بالوظيفة الحامضية (COOH-) ، والسلسلة (B) تضم /٣٠/ حمضاً أمينياً، تبدأ بالوظيفة الأمينية (NH_2-) وترتبط هاتان السلسلتان بجسور كبريتية؛ لذلك فهو متعدد ببتيد كبريتي .

لقد تمكن وينغ وباست من عزل الأنسولين لأول مرة عام ١٩٢٢ م ، بينما عرف سينجر عام ١٩٥٤ تركيبه الكيميائي ، وأمكن تصنيعه في الأيام الأخيرة بالهندسة الوراثية ليستفيد منه ملايين البشر في أنحاء العالم . وقد تم استغلال خصائص البلاسميدات للحصول على تضاعف المورثات المسؤولة عن تركيب الأنسولين، وزيادة عددها ، وهكذا صنعت مورثة الأنسولين من أكثر من /٤٠/ جزءاً سداسي المحتوى من النيكليوتيدات ، ثم تم ربطها بأنزيم الربط DNA- ligase للحصول على سلسلتين من متعددات النيكليوتيدات بطول (٢٧١) و (٢٨٦) شفع نيكليوتيدي، وحشرت داخل البلاسميد الموجه، وربطت مع DNA منظّم . إن هذه الجزيئة الهجينة أدت إلى نسخها، وبالتالي نسخ المورثة المحمولة معها، فشكلت طليعة الأنسولين، حيث عولج كيميائياً لتحويله إلى أنسولين نشيط . وتوضح الخطوات الآتية طريقة الحصول على الأنسولين البشري :

١- عزل مورثة أنسولين (i) التي تشفر الهرمون في البنكرياس (إما نقية، أو مع مورثات أخرى) ، أو مورثة طليعة أنسولين Proinsolin مفتوحة (ذات نهايتين لزجتين) .

٢- عزل بلاسميد موجه Vector (يحدد انقطاع واحد غير متداخل مع مورثات) من جرثوم E.coli وفتحه بأنزيم القطع ريستريكيتناز (إيندونيكلياز) في منطقة محددة .

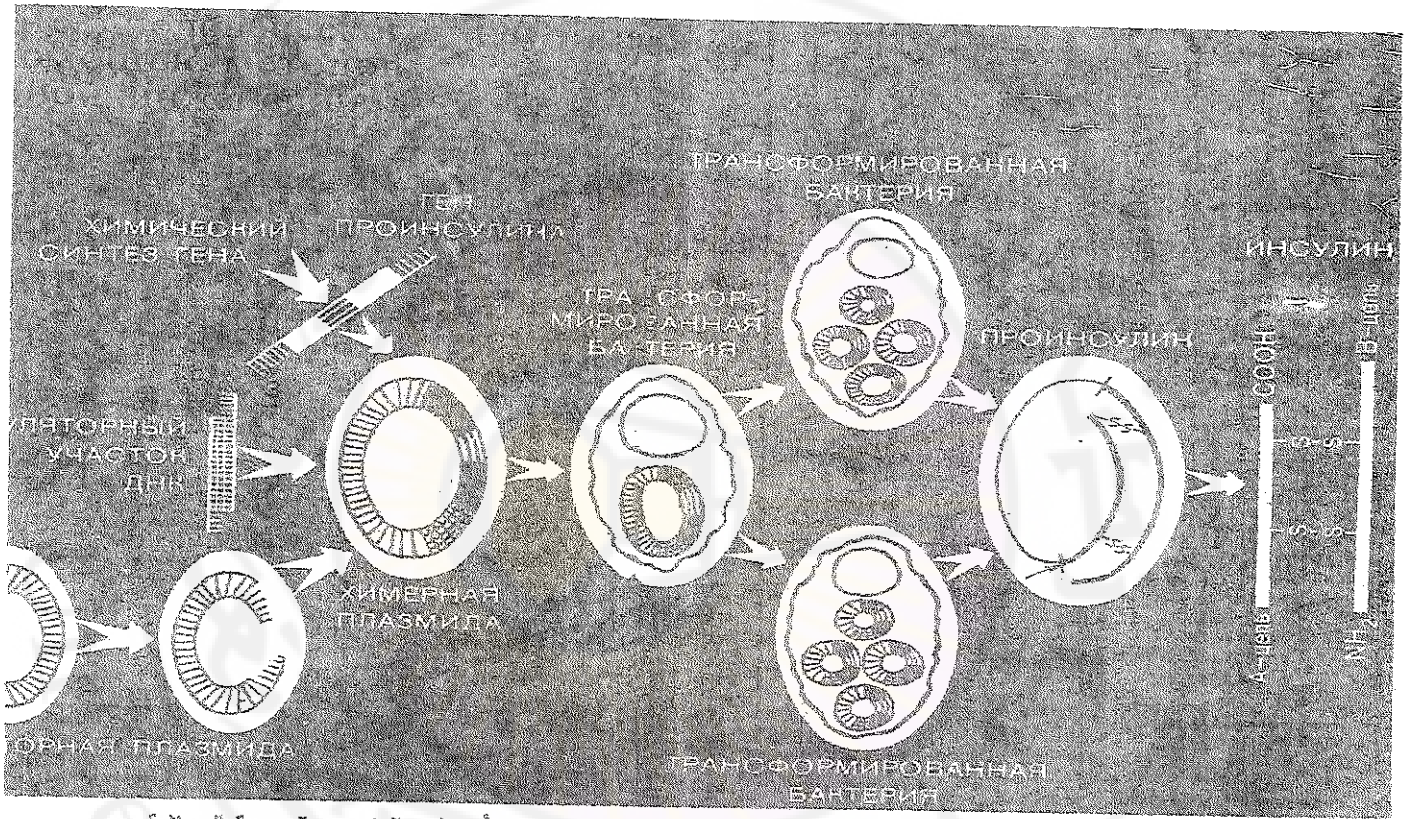
٣- دمج البلاسميد المفتوح مع مورثة الأنسولين المفتوحة مع قطعة منظمة من الـ DNA المفتوحة أيضاً، وذلك في أنبوب اختبار بوجود أنزيمة الربط DNA- ligase بهدف الحصول على جزيئة هجينة ضخمة، وذلك بفضل التكامل بين الأسس الآزوتية للنيكليوتيدات .



٤- إدخال البلاسميد الهجين إلى الجرثوم بعد معالجة خاصة بظـاهرة التحـول Transformation .

٥- تكاثر البلاسميد الهجين (تناسخ) داخل الجرثوم ، وبالتـالي زيـادة عـدد مورثة الأنسولين المحمولة على هذا البلاسميد، وذلك بعد حضن الجـراثيم، وتشكيل مستعمرات مراقبة جيداً .

٦- تشكل طليعة الأنسولين، ومن ثم تحويله إلى أنـسولين جـاهز للاسـتعمال (شكل ٧-١٤).



شكل (٧-١٤): مخطط يوضح خطوات الحصول على الأنسولين البشري بالهندسة الوراثية حسب الخطوات (من ١-٦).

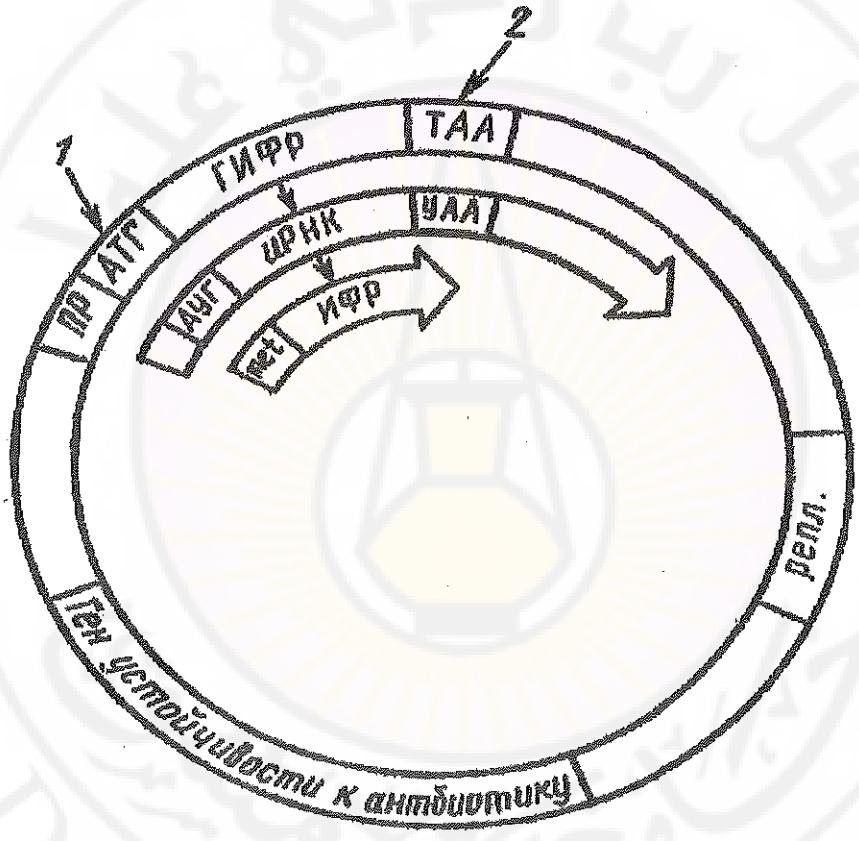
ملاحظة : إذا كانت مورثة الأنسولين (i) مرتبطة مع مورثات أخرى يجب عزلها، وانتخابها، والحذر من تضاعفها، والبعد عن التطبيق العشوائي؛ حفاظاً على الصحة العامة (على المهندس الوراثي الحذر دائماً لدى التعامل مع المورثات) .

٧-١-٢-٤- البلاسميد والحصول على الأينترفرون (مضاد الفيروسات):

الأينترفرون Interferone أو مضاد الفيروسات هو بروتين ينتجه الجهاز المناعي لبعض الحيوانات (وفي الإنسان) استجابة لعوامل خارجية، مثل الفيروسات والخلايا السرطانية، وينتمي إلى فئة Glycoproteins . وبشكل آخر تنحصر ظاهرة Interferentis (تشكل الأينترفرون) بأنه إذا أصيبت عضوية واحدة بعدة فيروسات؛ فإن أحدها يؤثر على خلايا هذه العضوية حاثاً إياها على إنتاج هذا البروتين؛ ليعمل على إيقاف انتشار ونشاط الفيروسات الأخرى . وحالياً يعد الأينترفرون مستحضراً طبياً علاجياً مهماً، يستخدم كمضاد للعدوى الفيروسية، ولعلاج بعض الأمراض، وحتى بعض الأورام الخبيثة ، ويتم إنتاجه بوساطة الهندسة الوراثية.

لقد تمكن أوفينشنكو ومساعدوه من الحصول على أحياء دقيقة قادرة على تصنيع الأينترفرون البشري، والذي بدا أكثر نشاطاً وفعالية . وبمثل هذه الأبحاث أمكن تصميم بلاسميدات مؤشبة قادرة على صناعة أينترفرون الإنسان في جراثيم E.coli . وهكذا يضم هذا البلاسميد (العملاق): مورثة الأينترفرون، والموقع (سايت site) البادئ (ATG)، والموقع الناهي لتركيب البروتين (TAA): والمحفز Promotore على التركيب، وقطعة DNA منظمة تضم مورثات المقاومة (R) ووحدة التضاعف Replicon (قطعة

من المورثة تحمل أصل التضاعف) مكان البلاسميد الموجه . وبإدخال هذا البلاسميد المؤشب إلى جرثوم E.coli يبدأ هذا الأخير بتصنيع عقار " الأينترفرون، حيث تشكل مورثته الـ RNA الرسول ، ثم يظهر الأينترفرون مع الميتيونين؛ الذي يترك هذا البروتين، وينهي التصنيع بكميات كبيرة شكل (٧-١٥).



شكل (٧-١٥): مخطط البلاسميد (من E.coli) المؤشب الذي يحمل المورثة المصنعة في الأنبوب In vitro لاينترفرون الإنسان.

١- موقع البادئ ATG.

٢- موقع الناهي TAA.

ملاحظة : لقد أثبتت بعض الدراسات أن تبديل جرثوم E.coli بـأنواع أخـرى يزيد من إنتاج الأينترفرون .

لقد تبين أن الأينترفرون المنقى، والمتحصل عليه من خلايا الجـراثيم قريـب جداً من أينترفرون دم الإنسان (المعطي)، وذلك من حيث خواصه الفيزيائيـة والكيميائية والبيولوجية . كما أمكن الحصول على جراثيم مهندسة وراثياً قـادرة على تركيب حتى (5) مكروغرام أينترفرون لكل (1) لتر من معلق الجـراثيم بفضل إدخال تتابعات إشارية تحث على تركيب RNA رسـول (M RNA) وبروتين في البلاسميد الموجه. هذا الرقم المرتفع (5 مكروغـرام / ل) أكثـر بـ (٥٠٠٠) مرة مما هو موجود في (١) ليتر في دم الإنسان .

٧-١-٢-٥ الأسس العامة لتصميم DNA مؤشب ودمجه مع خلايا آخذه :

فيما يخص جميع الطرائق المتنوعة والمتعلقة بأي عمل من أعمال الهندسـة الوراثية تبقى واحدة من حيث المبدأ، فهي تتضمن خمسة بنود :

- معالجة البلاسميد الموجه الحلقي بأنزيمة القطـع لتحويلهـا إلى شكل خيطي (فتح).
- مزج البلاسميد المفتوح مع كسره DNA جديدة (مورثـة مثلاً).
- إدخال الجزيئة المؤشبة Recombinant إلى خلية الآخـذ (جرثوم مثلاً).
- انتخاب الخلايا الجرثومية (المتحولة) على أوساط صنعية مختارة .
- تحليل القطع المتشكلة بطريقة الـرحلان الكهربـائي فـي الهلام الآغاري Gel – Electrophoresis .

لإثبات وجود الـ DNA المؤشب . وفي الشكل (٧-١٦) نعرض مثالاً حول تصميم جزيئات DNA مؤشبة بوجود مورثات الثبات (R) تجاه بعض المضادات الحيوية . وخطوات الشكل كالآتي :

١- يعد البلاسميد pBR322 من البلاسميدات الموجهة vector (أي قادر على التضاعف داخل المضيف وتشكيل DNA مؤشب (Recombinant DNA والحرف P يشير إلى بلاسميد والحروف BR تشير إلى أحرف الباحث؛ الذي عزله والأرقام تصنيف العزل . وهو ناقل جيد يحمل مورثات الثبات تجاه المضادات الحيوية . لقد استعمل هذا البلاسميد في المثال المذكور، وهو يحمل مورثتي الثبات تجاه الامبيسيلن (Ap^r) والتتراسيكلين (Tc^r) وهذه المورثة الأخيرة تتضمن موقع Site خاص لأنزيمة القطع وهي BamH, (السهم) .

٢،٣ - إن المعالجة بأنزيمة القطع أدت إلى تشكل بلاسميد خيطي (من الحلقي) يحمل نهايتين لزجتين Sticky ends.

٤ - جزيئة لمورثة ضرورية لإدخالها في البلاسميد PBR322 وهي مفتوحة تحمل نهايتين لزجتين أيضاً (5´ -GATCC , CCTAG- 5´).

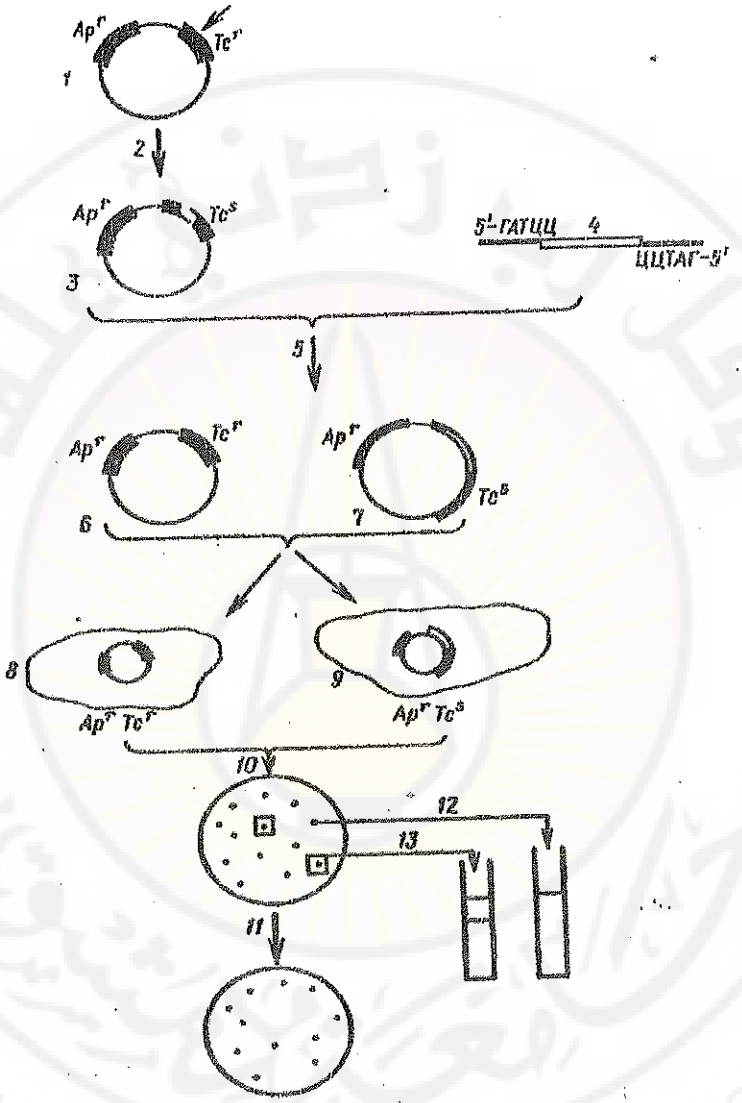
٥-إدخال المورثة الضرورية إلى البلاسميد، وربطها بوساطة أنزيم DNA-ligase للحصول على نموذجين من الجزيئات .

٦- البلاسميد الأصلي (الأبوي) PBR322 وهو حلقي .

٧-البلاسميد المؤشب بالمورثة النشطة (رقم ٤) وهي موجودة داخل المورثة (Tc^r) الأمر الذي يحول هذه الأخيرة إلى النمط غير الطافر (غير النشط) أي حساس تجاه المضاد تتراسيكلين (TC^s) .

٨،٩- إدخال البلاسميدين السابقين كل على حدة في جرثوم E.coli بواسطة التحول Transformation .

١٠-زراعة وانتقاء مستعمرات الجراثيم المتحولة على وسط يضم عقار الأمبيسيلين (تتشكل مستعمرات من كلا النمطين السابقين) .



شكل (٧-١٦): خطوات تصميم DN A مؤشب يضم مورثتين طافرتين من مورثات الثبات تجاه الصادات الحيوية.

(الشرح في النص)

١١-إعادة طباعة مستعمرات العلبة رقم (١٠) على العلبة رقم (١١)؛ والتي تحوي عقاري الأمبيسيلين والتتراسيكلين (تعيش المستعمرات الأبوية، وتموت المستعمرات المؤشبة) .

١٣،١٢- عزل الـ DNA البلاسميدي، ومعالجته بأنزيمة القطع والتحليل بالرحلان الكهربائي في الهلام الأغاري :

إن DNA المستعمرة الأبوية تعطي عصابة واحدة (سطح واحد).

إن DNA المستعمرة المؤشبة تعطي عصابتان (سطحان).

٧-٢ الكائنات المعدلة وراثياً :

يعطى لهذه الكائنات الرمز (GMOs) Gentically modified organisms، وتشمل النبات والحيوان والجرثوم التي أجريت على مادتها الوراثية (DNA) تعديلات وراثية؛ بهدف إكسابها خواص جديدة غير موجودة لديها أصلاً . وتسمى هذه الظاهرة أحياناً " التنقيل " المورثي Transgeny ، وهو أفضل من مصطلح الكائنات عبر المورثية؛ لأن الصفة الجديدة الداخلة إلى الكائن الحي " تنقل " نقلاً، ولا تعبر، أو تهاجر إليها .

لقد طرحت هذه التقانة نفسها بقوة في عالم الوراثة، وأثارت جدلاً كبيراً، حيث تخوف منه الكثير من العلماء والمستهلكين في أنحاء العالم كافة ، وبدأت الأغذية الناجمة عن الكائنات المعدلة وراثياً تنتشر في الأسواق منذ عام ١٩٩٤ م والجدل مازال قائماً والسؤال مطروحاً ، هل هذه الأغذية مفيدة أم مضرة بصحة الإنسان أم أنها محايدة ؟ ... وعلى الرغم من أن معظم سكان بريطانيا يستعملون الأغذية المعدلة إلى درجة اختلطت في التسويق المنتجات المعدلة (فول الصويا والذرة مثلاً) مع المنتجات غير المعدلة، وبات من الصعب تمييزها، لكن التخوف منها مازال قائماً إلى درجة أنهم يسمونها " أغذية الرعب

" ويرى بعضهم أن التلوث الوراثي للأغذية المعدلة أخطر من التلوث الإشعاعي والكيميائي؛ الذي يتزايد انتشارهما في كل مكان . وفيما يأتي نورد بعض الأمثلة عن المحاصيل المعدلة وراثياً :

- **البطاطا المعدلة** : لقد تم إدخال مورثة لإنتاج النشاء في البطاطا (المورثة مأخوذة من جراثيم E.coli) وذلك بهدف رفع محتوى النشاء بنسبة ٢٠% مقارنة مع غير المعدلة، ويستفاد حالياً من هذه البطاطا المعدلة في صناعة الرقائق والشرائح المستعملة " للقلي " ، لأن الزيت يحل محل الماء أثناء " القلي " (لقلة الماء، وكثرة النشاء فيها) ، إضافة إلى أن القيمة الغذائية لشرائح البطاطا المحورة أعلى من مثيلتها في غير المعدلة، وأكثر صحية لاحتوائها على زيت أقل، وتحتاج إلى طاقة أقل أثناء الطبخ ....وهكذا تمكنت شركة مونسانتو من تسويق هذا المنتج إلى الأسواق المحلية والعالمية.

- **القمح** : تم إنتاج قمح معدل وراثياً يستطيع تحمل الجفاف؛ بحيث يزرع بسهولة في بعض المناطق الصحراوية ، ومما لاشك فيه أن نشر مثل هذه الأقماح في الأسواق يحتاج إلى دراسة الأمان الحيوي ، وخاصة أن نواقل مورثات التحمل مأخوذة من بعض الجراثيم مثل E.coli وعصيات Bacillus subtilis، حيث يتم إدخالها إلى القمح، وتصبح مسؤولة عن تبدل الضغط الحلولي لخلاياه لدى تغير الظروف البيئة مثل الجفاف . تتراكم الأملاح بشدة في التربة نتيجة لسوء عمليات الصرف، أو استخدام مياه مالحة في ري النباتات ، إضافة إلى ارتفاع درجات الحرارة مما يزيد التبخر، وتراكم الأملاح في التربة . وقد لوحظ أن بعض النباتات الطبيعية التي تعيش في ظروف الملوحة تنشأ عندها مورثات طافرة مقاومة للملوحة، بحيث تتكيف مورفولوجياً وفيزيولوجياً وتشريحياً لمثل هذه الحياة. من هنا تم عزل مثل هذه المورثات، وتطويرها، ورفع قدرتها على التحمل، ومن ثم نقلها إلى نباتات أخرى (مثل

القمح وغيره) بحيث أصبحت هذه الأخيرة متحملة للملوحة . وفعلاً تم إنتاج القمح، والتبغ، والبندورة، ودخلت إلى الأسواق بزخم كبير ، وقد بدت أوراق وسوق البندورة مالحة، ولكن ثمارها طبيعية بفضل التعديل الوراثي شكل (شكل ٧-١٧).



شكل ٧ – ١٧ بندورة معدلة وراثيا متحملة للملوحة
(يتركز الملح في السوق والأوراق وليس في الثمار).

- **الذرة الصفراء** : يعد نبات الذرة من أكثر النباتات التي تناولها التعديل الوراثي؛ نظراً لأهميتها الاقتصادية من حيث إنتاجها للزيوت والغذاء . وعلى سبيل المثال لا الحصر تم إدخال مورثة مأخوذة من التبغ بوساطة جرثوم الأغروباكتريوم (ناقل) تعمل على تحمل التجمد الشديد ، وبذلك أمكن زراعة الذرة المعدلة في المناطق الباردة . ومن المعلوم أن انخفاض درجة الحرارة إلى

ما دون الصفر؛ تؤدي إلى تجمد الماء في فجوات الخلايا النباتية، فتتشكل بللورات تعمل على جرح الخلايا، وتدميرها، وبالتالي موتها وموت النبات . وقد تتعرض الذرة إلى حالات كثيرة من الصقيع المبكر في الخريف، أو الرياح الباردة في الربيع؛ مما يسبب أضراراً اقتصادية كبيرة تقضي على هذه المحاصيل المهمة؛ لذلك بإدخال مورثة NPK1 مأخوذة من نبات التبغ أصبحت الذرة متحملة لانخفاض درجة الحرارة؛ التي تصل إلى حد التجمد .

- **البندورة** : لعل أول ما تم تسويقه من الخضار المعدلة وراثياً هي البندورة ، والمعروف أن لهذا النبات جنوماً صغيراً، والتعامل معه سهل؛ لذلك قامت مجموعة من الشركات التي تمول مثل هذه المشاريع " بمنابلة " المورثات، والتلاعب بها ، حيث أخذت من جراثيم E.coli هذه المورثات، وأدخلتها في البندورة، وأنتجت أصنافاً كثيرة، ولأهداف متنوعة .

- **القطن** : لقد تم تعديل نبات القطن منذ عام ١٩٩٧ واستخدم القطن المعدل كمواد خام للصناعات المختلفة، وذلك بما يعادل ربع المحصول الأمريكي ، ويتم تكاثره بالبذور المعدلة، حيث تمكن من مقاومة الآفات الحشرية بأنواعها. ويستخدم مثل هذا القطن المعدل في صناعة الألبسة الداخلية، وغيرها من الصناعات النسيجية، وتهدف شركة " مونسانتو " لإدخال مورثة اللون الأزرق (والألوان الأخرى) إلى القطن Blue gene لتطوير نباتات تحمل مورثات غريبة عنها؛ تشفر لصبغة زرقاء من أجل صناعة " الجينز " ، وفعلاً تمكنت هذه الشركة عام ١٩٩٧ من تصنيع قماش أزرق من هذا القطن، بحيث لا يحتاج إلى صباغته، وقد أعطى لوناً ثابتاً . وتدّعي هذه الشركة أنها ستقدم للعالم محاصيل معدلة وراثياً لا تعد ولا تحصى ، وتعتقد أن هذا هو بزوغ فجر جديد سيخلص العالم من الفقر والجوع.

- **محاصيل أخرى** : لقد تم إنتاج مئات الأجناس النباتية، وعشرات الأنواع الحيوانية، وذلك بوساطة الهندسة الوراثية، والتعديل الوراثي ، وما زالت الأبحاث التي تتحقق عن طريق الشركات المنتجة مستمرة " بعطائها " ، وقذفها إلى الأسواق بكل ما هو معدل .

فالبقوليات والحبوب تحتوي على نسبة عالية من البروتين النباتي ، لكنه يفتقر إلى بعض الحموض الأمينية المهمة مثل ليسيتن وتريبتوفان؛ مما يسبب سوء التغذية لشعوب العالم الثالث الفقيرة المعتمدة على الحبوب؛ لذلك قدم " مهندسو الوراثة " حبوب وبقوليات تحمل هذه الحموض الأمينية الناقلة .

كذلك تم إنتاج بن خالٍ من الكافئين بالهندسة الوراثية ، وبندورة قادرة على تخفيض نسبة الكوليسترول في دم الإنسان ، وثمار جيدة تقاوم التلف، وتطيل عمر الثمرة ، وبندورة تحمل مورثة زيادة إنتاج الأصبغة الملونة High pigment gene ، وهكذا ترتفع فيها نسبة وتركيز الألوان الصباغية ...إلخ.

لقد أصبحنا اليوم نأكل ونستخدم ونحاط بأغذية ونباتات وكيميائيات وأدوية معدلة وراثياً ، وكأننا نعيش في عالم مجهول لنباتات محشوة بمورثات غريبة، وكلنا قلق على مصير غذائنا؛ الذي دخل وسيدخل إلى موائدنا شئنا أم أبينا ...

ولعل النظر إلى موضوع الأغذية المعدلة وراثياً ما هو إلا إشكالية تخطت فرص الحل؛ لأننا نعتقد جازمين أن هذا الإنجاز " الذي فاق الحدود " لا يمكن الرجوع عنه مهما كانت نتائجه ، ولا بد من النظر بواقعية إلى الموضوع من جميع الزوايا الإيجابية والسلبية ... ومن ذلك لا بد من عرض الإيجابيات والسلبيات في هذا المجال.

٧-٢-١ ايجابيات الأغذية المعدلة وراثياً :

قد لا تكون المقارنة بين إيجابيات وسلبيات الأغذية المعدلة صحيحة ودقيقة، نظراً لأن ما يذكر في هذا المجال ما هو إلا آراء وافتراضات قد تعبر قبل كل شيء عن رأي أصحابها، ولا تدخل بالمعنى الكامل ضمن الإثبات العلمي القطعي.

ومع ذلك فقد كثرت (في المقالات العلمية والبحثية) المداخلات حول هذا الموضوع ولعله من الواضح رجحان كفه السلبيات على كفه الإيجابيات لدى المقارنة، ومن أهم الإيجابيات نجد ما يأتي:

- يرى بعض العلماء أن كل الغذاء المنتج حالياً تم تعديله بشكل أو آخر. فمنذ آلاف السنين طور الإنسان زراعة الرز في المياه الوفيرة، وكذلك زراعة الشعير والقمح؛ لتتاح له تقديم الغذاء الكامل الملايين البشر ولحيواناته التي يعمل على تدجينها ، وما القمح الأمريكي طويل الساق المطور بوسائل التهجين إلا (تعديل) له كي يتماشى مع استخدام الآلة الزراعية لدى حصادة .....إلخ .إذاً الموضوع قديم، ولكن الطريقة مختلفة ، فاليوم يتم التعديل أيضاً باستخدام تقانات حديثة تتماشى مع العصر العلمي الذي نعيشه.
- من أهداف التربية إنتاج نباتات صالحة للطعام، وإنتاج جهاز خضري وفير ، وتحسين النكهة ، وإنتاج نباتات مقاومة للأوبئة، ، وتحسين ألوان النباتات وأشكالها ....إلخ وهذا يتحقق بجميع وسائل التحسين الصناعي Artificially improved فالتربية التقليدية بالتهجين التصالبي Cross breeding لا يمكن إجراؤها على الإنسان، وعلى الكثير من النباتات ،ولكي يمكن تحقيق ذلك بوساطة التعديل الوراثي Genetic exchange.
- إن الكثير من النباتات لا يمكن أن تتكاثر بالطرق الجنسية ، وبالتالي فإن إكثارها يتطلب جهداً ومالاً ، انطلاقاً من ذلك قدمت الهندسة الوراثية في

مجال تعديل النباتات حلولاً فورية لكثير من حالات " الاستعصاء " ؛ التي واجهت (وما زالت تواجه) النباتات .

- تعتمد التربية التقليدية على نقل " الأطقم " الوراثية بأكملها إلى الهجائن؛ مما يؤدي إلى انتقال المورثات المرغوبة وغير المرغوبة، وفرز وانتخاب أنواع جديدة واحدات طفرات ببطء شديد وبنسب قليلة ، بينما يُقدم التعديل الوراثي المورثات المرغوبة فقط، ويستبعد المورثات غير المرغوبة بدقة شديدة، وبزمن قليل، وبذلك تنقل من كائن معطي (جرثوم مثلاً) مورثة مرغوبة إلى كائن آخر (نبات، أو حيوان) .
- لقد استفاد الإنسان من تقانة التعديل الوراثي استفادة عظمى في مجال تحديث أنواع نباتية وحيوانية إلى درجة الوصول لأكبر عائد اقتصادي ممكن ، إضافة إلى تسخير أنواع من الجراثيم لتطهير الماء والهواء من الملوثات؛ التي أرهقت كاهل البشرية.
- لقد عملت الهندسة الوراثية في مجال تحوير الأحياء على تطوير وسائل العلاج، وتصنيع الأدوية، وبذلك قدمت للمجال الطبي الكثير من الفوائد، وغيرها .

٧-٢-٢ أضرار وسلبيات الأغذية المعدلة وراثياً :

١- قد تدخل بروتينات جديدة نتيجة تبادل المورثات في الأغذية المعدلة، وتسبب مرض الحساسية Allergenicity أو التوتر عند الإنسان . وعلى سبيل المثال يحوي الكاجو وبعض المكسرات مكونات بروتينية ذات قيمة غذائية عالية ، وقد تم التعرف على بعض المورثات المشفرة لهذه المكونات، ونقلها بالهندسة الوراثية إلى نباتات غذائية مختلفة . وهناك أشخاص يصابون بالتحسس لدى تناولهم لهذه المكسرات، ولا يتحسسون من الأغذية الأخرى ،

لكنهم أصبحوا يتحسسون حينما تم تعديلها بالمورثات المذكورة . وقد أنتجت شركة بيونير (متخصصة بتطوير البذور) عام ١٩٩٦ بذور الصويا المعدلة التي تحمل مورثة مأخوذة من البندق بهدف زيادة البروتين في المحصول المستعمل للعلف ، ومع ذلك انتقل مرض التحسس إلى الأشخاص الحساسين .

٢- لدى دراسة /٢٠/ طعام مهندس وراثياً (معدل) تبين أن /٤/ أطعمة منها تسبب الحساسية . وقد تلوثت مورثياً نباتات مزروعة بشكل عضوي (دون أسمدة كيميائية وبذورها غير معدلة) وهذا بسبب انتقال حب الطلع من النباتات المعدلة إليها.

٣- انتشرت بعض الوجبات السريعة تتضمن ذرة معدلة وراثياً اسمها (ستارلينك) عائدة لشركة كرافت الشهيرة ، وعندما بدأ البشر بتناولها بكثرة تبين وجود آثار من بروتين جرثومي في الأمعاء لا يمكن هضمه في جهاز الهضم ، وقد تسبب في حساسية شديدة .

٤- تنتج بعض النباتات المعدلة هورمونات عامل النمو Growth factor ، وهي نشيطة جداً تعمل بتراكيز منخفضة للغاية . وعند شم هذه النباتات، أو لمسها، أو وصول بعضها إلى الجهاز الهضمي تسبب أضرار بالغة للإنسان؛ لذلك يعمد الباحثون في هذا المجال إلى ارتداء ألبسة واقية تكاد تشبه ألبسة رواد الفضاء.

٥- إن تواجد النباتات المعدلة بجوار غير المعدلة قد يؤدي إلى التهجين بينهما، وبالتالي انتقال بعض الصفات (أو المورثات) غير المرغوبة، ، كأن تكتسب الأعشاب الضارة الطبيعية مورثة مقاومة المبيدات الحشرية، أو العشبية من النباتات المعدلة .(المعارضون أكدوا حصول ذلك في جميع النباتات).

٦- إحداث اختلال التوازن البيئي والتنوع الحيوي الطبيعي بسبب طغيان الكائنات المعدلة، كونها متميزة بصفات مرغوبة وثابتة، وهذا يؤدي إلى تراجع الأصول الوراثية الطبيعية .

٧- هناك تخوف كبير من دخول البلاسميدات الجرثومية إلى أمعاء الإنسان عن طريق الطعام المعدل وراثياً ، وهذه البلاسميدات تحمل العديد من مورثات مقاومة الصادات الحيوية ، وبالتالي لن يتمكن الإنسان من القضاء عليها . وقد أثبتت الإحصائيات أن الإنسان يتناول يومياً نحو مليون وربع جرثوم مقوم لمختلف أنواع الصادات الحيوية، وخاصة عن طريق الخضار الطازجة (السلطات) والفواكه وغيرها.

٨- من المخاوف الشديدة المرتبطة بالأغذية والنباتات المعدلة، وراثياً هو إمكانية دخول المورثات المعدلة ، لا عن طريق الطعام فحسب ، وإنما عن طريق استنشاق حب طلع هذه النباتات المعدلة أو تناول لحوم الحيوانات التي استنشقت هذه الحبات، وهكذا سنكون محاصرين بمورثات " الرعب " من كل جانب شئنا أم أبينا.

٩- إن نشر الكائنات المعدلة وراثياً في البيئة قد يصبح من المستحيل التخلص منها؛ لأنها تصبح جزءاً من البيئة التي تعيش فيها ، والمخاطر تكون أشد لدى تعديل الكائنات الدقيقة نظراً لارتفاع نسبة الطفور، وتحرير المخلوقات الوراثية بطريقة أسرع وأسهل من الكائنات الراقية .

١٠-إن تعديل الأحياء وراثياً قد لا يأخذ بعين الاعتبار الجانب الأخلاقي من حيث : طبيعة المورثات المنقولة ومصدرها ، والرفق بالحيوان لدى تعديله وراثياً، حيث سيكون الهدف الأول زيادة الإنتاج والربح دون النظر إلى معاناة الحيوان، والحفاظ على صحته .

١١- إن أبحاث التعديل الوراثي تحاط بالسرية التامة، والتكتم على ماهية التقانات المستخدمة، ومصادر المورثات، ووسائل حفظها بعد التعديل ...إلخ، وبذلك تبقى الدول المتقدمة هي السائدة في هذا المجال، وخاصة حينما تطفى عليها الشركات الكبيرة ، ومن ذلك نجد أن كثيراً من الأغذية المعدلة وراثياً تصدر إلى الدول الفقيرة دون أن يكون لها بطاقات تعريف، وهذا مخالف أصلاً للمبادئ الأساسية في الاستيراد والتصدير الدوليين . ومن الأمور التي تنذر بانعدام الأساليب العلمية الصحيحة استخدام تقانة Terminator : وهي التجارب التي تتحقق على النباتات لتصبح بذورها، أو حبوبها عقيمة، فلا تنتش إلا في المرة الأولى من زراعتها، وبالتالي لا تنتش لدى زراعتها للمرة الثانية، وهكذا كله يفضل إدخال مورثات العقم إليها ، وما على المزارعين إلا شراء هذه الحبوب أو البذور في كل عام دون التمكن من إكثارها، وغيرها كثير.

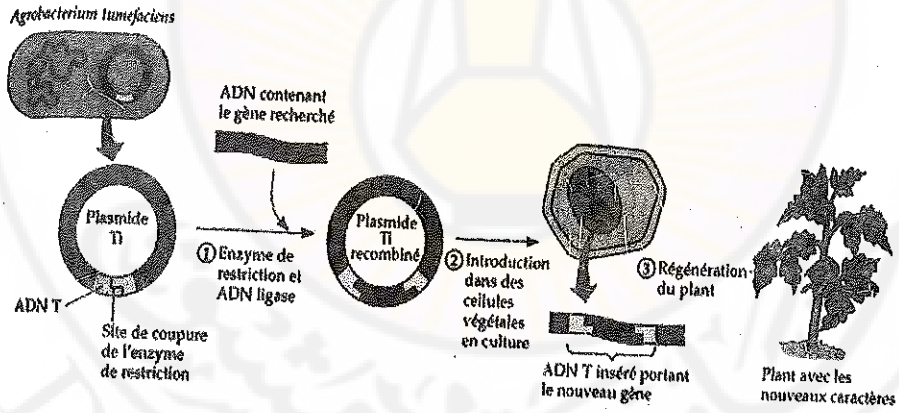
إن إنتاج النباتات المعدلة وراثياً يتحقق على مستوى واسع جداً، وهو في تزايد مستمر، وسيكون له انعكاسات خطيرة على التنوع الحيوي، وعلى التوازن البيئي . وتبقى بعض الحيوانات بعيدة عن النباتات المعدلة بغريزتها ، حيث تبين أن الجرذان – مثلاً – لا تقترب من هذه النباتات على الإطلاق علماً بأنها شديدة الشراهة تجاه النباتات والأعشاب ، كما أن العلماء العاملين في مجال التعديل الوراثي يخشون تناول مثل هذه الأغذية، ويبقى المستهلك البسيط هو الضحية الأولى في هذا المجال .

٧-٢-٣ التقانة المستخدمة في التعديل الوراثي :

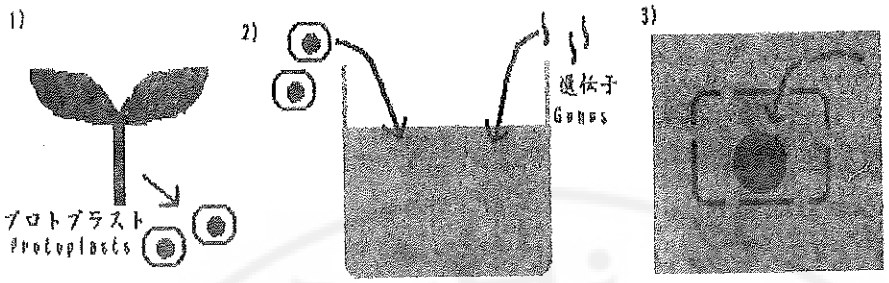
إن المخطط العام لاستخدام تقانة التعديل الوراثي للأحياء تنحصر في ثلاثة بنود:

- تحضير الـ DNA (المورثة) المراد إدخالها إلى الكائن؛ الذي سيتم تعديله، وتأمين الشروط المناسبة؛ كي يتمكن من التعبير عن نفسه .
- استخدام أحد النواقل المذكورة سابقاً (بلاسميد ، مدفع مورثي ، آكل جرثوم ، بلاسميد + آكل ، آغروباكتيريوم ...إلخ) بهدف ربط المورثة معه ونقلها.
- تحوير الكائن بعد دخول المورثة إليه، وذلك بالتناسخ والترجمة وإظهار الصفة، وغالباً ما تستخدم في هذا المجال أنزيمة قطع (مقص) وأنزيمة دمج Ligase للوصول إلى هذه الأهداف الكبيرة شكل (٧-١٨).

وقد يتم اللجوء إلى استعمال بروتوبلاست الكائن المراد تعديله وراثياً ، ومن ثم إحداث ثقب فيه عن طريق صدمة كهربائية (ثقوب كهربائية Electro-poration) وبعد ذلك إدخال المورثة المرغوبة عبر هذا الثقب، وزراعته شكل (٧-١٩).



شكل ٧ ـ ١٨ مخطط يوضح خطوات التقانة المستعملة في التعديل الوراثي للوصول إلى نبات معدل.



شكل ٧ – ١٩ استخدام البروتوبلاست في التعديل الوراثي :
١) عزل البروتوبلاست. ٢) وضع البروتوبلاست في محلول وتعريضه لصدمة كهربائية.
٣) تشكل ثقوب في البروتوبلاست بسبب الصدمة، وإدخال المورثة من خلاله ،
وبعد ذلك القذف إلى النبات .

٧-٣ أهم منجزات الهندسة الوراثية في تربية النبات وخدمة الإنسان:

لقد تبين لنا واضحاً أن الهندسة الوراثية تعني تطبيقات علم الوراثة في مجالات الحياة المختلفة ، وهي كأي علم حديث سلاح ذو حدين : فكما استخدمها الإنسان في العلاج، والزراعة، والصناعة، والتربية ...إلخ؛ أصبح يستخدمها في حرب الجراثيم، ويحقنها في الحشرات لتدمر الحياة، وكأنها أخطر من الطائرات المقاتلة، ولكن بأسلوب علمي آخر ، وإدخال الـ DNA المرغوب يتم بشكل كبير عن طريق استخدام الجراثيم ، فالجرثوم في الواقع هو أول " مهندس " وراثي تعلم منه الإنسان مبادئ وأصول هذا العلم الحديث . وتهدف الهندسة الوراثية إلى تحديد تركيب، ووظيفة المورثة المرغوبة ، وإنتاج مركبات علاجية مناسبة ، وتحسين النبات والحيوان على أرضية علمية راقية وذلك بإدخال DNA مؤشب إلى الخلايا بهدف التعبير عن نفسه . وفيما يأتي بعض إنجازات الهندسة في تربية النبات :

١- تم إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية بهدف تحسين الإنتاج النباتي من خلال اعتماد تقانة نقل المورثات المسؤولة عن مقاومة الفيروسات إلى النباتات المختارة لتحصينها ضد الإصابة بالفيروسات ، وقد تمكن الباحث بيتش وزملاؤه عام ١٩٩٠ م من عزل المورثة المسؤولة عن تركيب الغلاف البروتيني لفيروس فسفساء التبغ T.M.V ومن ثم نقلها إلى العديد من النباتات مثل البندورة، حيث عملت داخل خلايا البندورة على تركيب بروتين الغلاف، وبدت مقاومة تجاه الإصابة الفيروسية .

٢- تمكن العلماء من إنتاج المورثات المسؤولة عن تركيب بروتين من جراثيم العصيات نوع Bacillus thuringiensis ونقل هذه المورثات إلى هذه نباتات راقية، مثل: البندورة، والبطاطا، والقطن ...إلخ . إن هذه المورثات المعروفة باسم Bt تعطي البروتين المقاوم للحشرات؛ التي تتطفل على هذه النباتات (وهي في مرحلة اليرقة) ، وتعطل وظيفة أمعائها فتقتلها ، وبالتالي نخفض من استعمال المبيدات الحشرية إلى نحو ٦٠% (مكافحة وراثية) . وقد طبقت هذه التقانة على حشرات خطيرة كالبعوض الناقل للملاريا .

٣- تمكن الباحثون من إدخال مورثات تأخير نضج الثمار ، وهذه المورثات تنتج الإيتيلين، وبعض الأنزيمات المسؤولة عن تشفير بروتينات ترتبط مع الـ RNA الخاص بالنضج . إن هذه الميزة تعالج موضوع رخاوة الثمار المبكرة.

٤- تمكن الباحثون في مؤسسة روكفلر من اكتشاف مورثة " القزمنة "، حيث استعملت في تربية الأقماح بالهندسة الوراثية ، وتم الحصول على أنواع جديدة تحمل نفس كمية الأوراق نفسها لكنها قصيرة ، وحينما تتعرض

للأسمدة الكيميائية (الآزوتية) فإنها تنمو بشكل جيد، وتبقى منتصبة لا تتعرض للضجعان والهبوط، كما هو الحال في الأقماح طويلة السوق .

٥- تمكن الباحثون من هندسة نباتات تتمكن من تثبيت آزوت الهواء، وذلك بحشر مورثة " nife " الموجودة في جرثوم Azotobacter المثبتة للآزوت والموجودة في جذور البقوليات .

٦- أمكن عن طريقة تقنيات الهندسة الوراثية من إنتاج أول شجرة مطاط قادرة على إنتاج بروتينات بشرية لأغراض علاجية ، ومن المتوقع أن تعمل هذه الشجرة كمفاعل حيوي لإعطاء الدواء والكيميائيات الصناعية بكميات كبيرة.

٧- تمكن الباحثون من هندسة أشجار تفاح بلا بذور ، وقد اعتبر هذا الموضوع نصر كبير في مجال استخدامات الهندسة الوراثية .

٨- من إنجازات الهندسة الوراثية تعديل نبات الخردل الهندي وراثياً من أجل تنقية التربة الزراعية من أحد أخطر العناصر المعدنية السامة فيها، وهو عنصر السيلينيوم؛ الذي يتسبب في إصابة الإنسان بالسرطان، وبأمراض أخرى.

٩- أمكن إنتاج سلالات نباتية جديدة مقاومة للجفاف، وأخرى مقاومة للملوحة ، وكذلك للتجمد، ومنها محاصيل اقتصادية أساسية، مثل: الرز، والقمح ، وهذه تشكل مساهمة جيدة في التخلص " بالهندسة الوراثية " من أهم المشكلات البيئية؛ التي تواجه العالم، وهي مشكلات التصحر والتملح .

ومع ذلك تبقى هذه الأمثلة قليلة جداً أمام ما هو منجز، وما سيتم إنجازه مستقبلاً، ومما علينا إلا أن نراقب الأبحاث والإنجازات القادمة بعين الرضا والفرح من جهة، وبعين الخوف والقلق من جهة أخرى .

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثامن

الانتخاب والتحسين الوراثي – حاضره ومستقبله

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

مازالت أخبار استخدام تقانات الهندسة الوراثية في الانتخاب والتحسين الوراثي على أنواع الكائنات الحية كافة، بما فيها الإنسان تترامى على أسماعنا صباحاً مساءً ، من خلال مجلات البحوث العلمية، وعبر وسائل الإعلام المقروءة، والمسموعة، والمرئية، وكذلك المنتشرة بكثافة على شبكة الأنترنت .

ومن نتائج استخدام هذه التقانات ما هو محقق فعلاً ، بصرف النظر عن خيره وشرّه، وصلاحه وفساده ، وربحه وخسارته ، ومنها ما زال يقبع في مخيلة الباحثين أحلاماً قد تترجم يوماً ما إلى تجارب وراثية جريئة، لا يمكن التنبؤ بنهاياتها وغاياتها. وإننا سنستعرض في هذا الفصل بعضاً من هذه الأخبار المحققة وغير المحققة .

٨-١ حقائق وراثية على أرض الواقع :

٨-١-١ الزراعة بالماء الممغنط والزراعة العضوية :

قد لا يرتبط هذه الموضوع باستخدام تقانات الهندسة الوراثية ، ولكنه يلقي الضوء على تقانات مهمة في مجال التحسين، والتربية النباتية .

١- لقد تبين أن المغناطيس يؤثر على الماء، ويتأثر به ربطاً مع الطاقة الكهربائية، حيث تختل الشحنات الكهربائية بالماء الممغنط . تتحقق مغنطة الماء بغمس المغناطيس فيه، ولكن بوسائل علمية وتقنية مدروسة كيلا تزول مغنطة الماء . وإن الري بوساطة الماء الممغنط يؤدي إلى تجميع وتكثيف الإلكترونات سالبة الشحنة؛ التي تتدفق مع المياه الممغنطة، وتوفر ظروفاً مناسبة للزراعة . وبشكل عام نجد أن للأنظمة المغناطيسية دوراً في الزراعة، أهمها :

- زيادة ذوبان الأسمدة بصورة شبه كاملة، فلا تتراكم في التربة .

- زيادة سرعة إنتاش البذور، وجعلها مقاومة للأمراض؛ مما يخفف استخدام المبيدات .
- زيادة الإنتاج النباتي دون استعمال السماد الكيميائي في الكثير من الحالات.
- زيادة القيمة الغذائية للمحاصيل الزراعية المروية بالماء الممغنط.

وقد تبين أن الماء الممغنط مفيد للإنسان أيضاً، فهو يؤثر على حركة الأمعاء، فاتح للشهية ، مانع لتجلط الدم ، وقد أشارت بعض الدراسات في نيويورك إلى إمكانية علاج بعض الحالات السرطانية بالماء الممغنط. والمثير في الموضوع استخدام المغناطيس في بعض الحياة اليومية للإنسان، مثل: المشط الممغنط (لعلاج الصداع) ، والقمع الممغنط لنقل الماء والسوائل من خلاله ، والقلم الممغنط لتعليم الصغار الكتابة على السطر، وغيرها كثير .

٢- ومن الوسائل المفيدة للتحسين الزراعي تشكيل السماد العضوي الآمن، أو الكومبوس؛ الذي يتم إنتاجه من مزج بقايا النباتات غير الصالحة للطعام، مثل: قشور الأرز مع منتجات حيوانية ، ورائحة هذا المزيج مقبولة (غير منفرة) تشبه رائحة الأرض عندما يهطل عليها المطر .

وتوجد الآن مجموعة من الشركات التي تنتج الكومبوس، وتحمل شعاراً نبيلاً، يقول: " كل ما يخرج من الأرض، ولا يأكله الحيوان والإنسان لا يجوز حرقه، ويجب أن يعود إلى الأرض " ولهذه الشركات معامل ضخمة تستعمل فيها تقانات تحول مخلفات الأرض الهائلة إلى كومبوس لتحويل الزراعة العادية إلى زراعة عضوية . إن الهدف من هذه التقانة إعادة التوازن الطبيعي لرفع خصوبة الأرض، والإقلال من استعمال الأسمدة الكيميائية ...وبذلك فالتقانة آمنة

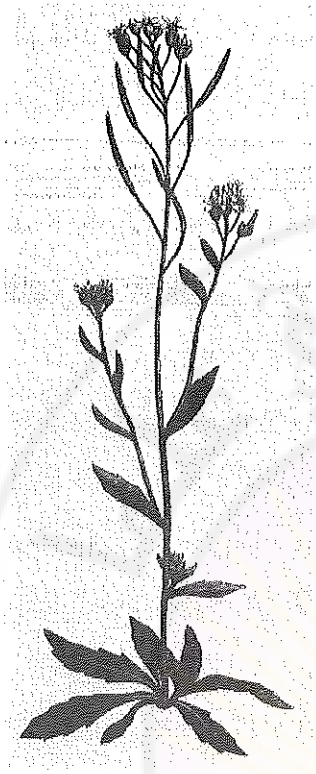
مفيدة للنباتات وللإنسان، وليست كتقانة الهندسة الوراثية؛ التي قد لا تخلو من الأخطار المحدقة بالأحياء، وبالبيئة المحيطة بها .

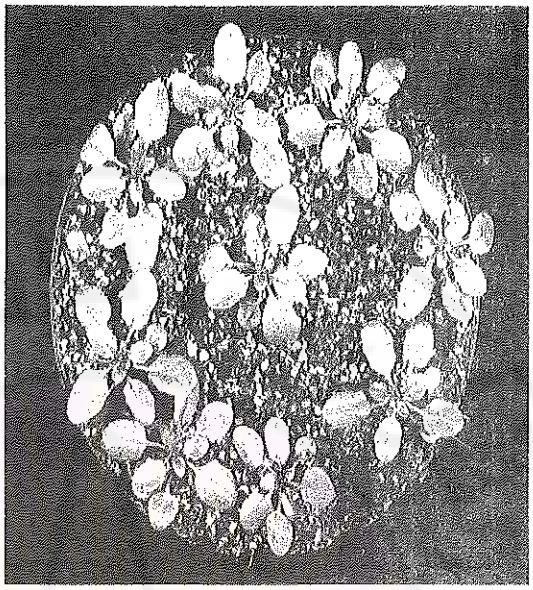
٨-١-٢ النبات الأعجوبة آرابيدوبسيس تاليانا :

يقال بأن أيامنا الحاضرة تشكل ثلاثة عصور : عصر الجنوم Genome ، وعصر البروتيوم Protium وعصر الاستقلاب Metapolium ومن عصر الذخيرة الوراثية أو الجنوم اكتشف نبات آرابيدوبسيس تاليانا Arabidopsis thaliana الذي يعد من أعظم الاكتشافات المرتبطة بأهمية هذا النبات الوراثية والتطبيقية والهندسة الوراثية، وغيرها كثير (شكل ٨-١).

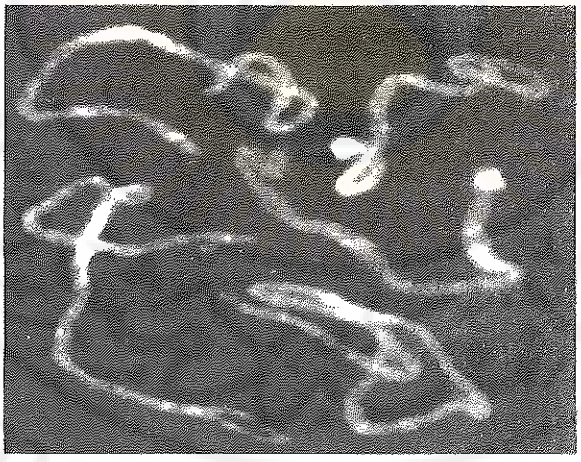
ينتمي هذا العشب الضار إلى الفصيلة الملفوفية Brassicaceae وهو نبات حولي أزهاره بيضاء ثماره خردلة، تضم الواحدة نحو /٣٠/ بذرة ، التلقيح ذاتي؛ مما يسمح بتكدس الطفرات المتنحية عنده بكثرة .

العدد الصبغي للنبات 2n=10 وتضم نحو /٧٠/ ألف شفع نيكليوتيدي، أي: أقل من جنوم الذرة بست مرات، وقد تم رسم الخارطة الصبغية بالكامل، ويرى بعضهم أن الخارطة الصبغية للنباتات (وبخاصة لمثل هذا النوع) أهم من الخارطة الصبغية للإنسان؛ لأنها تشكل الأساس البيئي لكل العالم الحي شكل (٨-٢).





شكل ٨ ـ ١ نبات ارابيدوبسيس من الفصيلة الملفوفية ، تلاحظ المستنبتات الفتية لمنظر من الأعلى



شكل ٨ ـ ٢ صبغيات نبات
ارابيدوبسيس $2n = 10$
(يلاحظ العدد الفردي $n = 5$)

حلقة حياة آرابيدوبسيس قصيرة تمتد من ٦-٨ أسبوع، ينمو في كل مكـــان، وفي جميع البيئات. تنوعت الدراسات حوله، حيث وصل عدد المواضيع حتـــى عام ٢٠٠٠ نحو (١٧٠٠) نشرة ، وتم عقد (٢٦) مـــؤتمراً علميـــاً دوليـــاً، ونافس كل من الذرة والتبغ بكثرة الأبحاث الوراثية، حيث بقي وحده الحائز على الجائزة الأولى ومن السهل كشف الطفرات المرتبطة به (شكل ٨-٣) .



شكل ٨ ــ ٣ الأشكال الطافرة لـ ارابيدوبسيس
(لاحظ تتابعات الـ DNA في خلفية الصورة إشارة للطفرات.

ويعد بحق كما يصفونه " فـــأر التجـــارب الحقليـــة " .الآربيدوبـــسيس صـــانع المعجزات، منها :

١- **إنتاج البلاستيك** : يتم إنتاج البلاستيك الحالي من النفط، وذلك نتيجة لتجمع " مونوميرات " وتحولها إلى " بوليميرات " وهو ضار بالبيئة . وفي الأيام الأخيرة تم إنتاج البلاستيك من النباتات مثل فول الصويا، وبعض الحبوب؛ وذلك بالهندسة الوراثية . فقد تم عزل مورثة إنتاج البلاستيك من نبات آرابيدوبسيس، ونسخها، وتحويلها إلى مصانع حية لإنتاج البلاستيك بعد حشرها في النباتات الأخرى .

ويعد البلاستيك المنتج بهذه التقانة نقياً صحياً، والنباتات " أكثر مهارة " من النفط المنتج له. وقد تبين أن البلاستيك " المهندس " من آرابيدوبسيس يستعمل طبياً في صمامات القلب ، كما ويدخل في بعض مكونات الطائرات النفاثة .

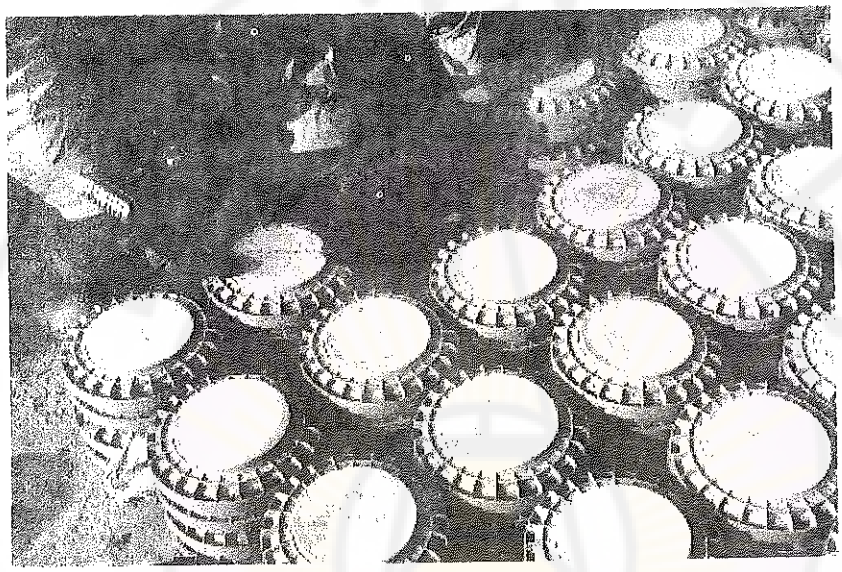
٢-**كشف الألغام** :

من أخطر ما يهدد حياة الإنسان وجود الألغام المغروسة في التربة؛ نتيجة للحروب القديمة والحديثة، والتي يضعها المحاربون والمدافعون في أماكن غير معروفة من الأراضي والحقول (شكل٨-٤). وقد ذهب ضحية هذه الألغام آلاف الأشخاص الأبرياء بسبب انفجارها تحت أقدامهم؛ ولذلك بات من المهم جداً إيجاد تقانة ملموسة للكشف عن هذه الألغام بعيداً عن التقانات العسكرية الخاصة والنوعية.

من المعلوم أن مادة (T.N.T) هي المادة المتفجرة والفعالة في الألغام ، وتبين أن جرثوم آغروباكتيريوم يفرز هرموناً خاصاً يؤدي إلى إصابة النبات ، وأن هذا الهرمون النباتي يشبه بتركيبه مادة (T.N.T) .

لقد تم عزل المورثة المسؤولة عن تركيب هذا الهرمون من الجرثوم، وإدخالها إلى نبات آرابيدوبسيس . إن بذور هذا النبات (حامل المورثة) تنتش وتعطي بادرة ثم أوراق صغيرة تتحول بعد /١٠/ أيام إلى اللون الأحمر في حال وجود أحد الألغام تحتها . لقد تم إنتاج ملايين البذور المعدلة وراثياً من نبات

آرابيدوبسيس، والحاملة لمورثة التعرف على (T.N.T) ، ويقوم الباحثون برش مثل هذه البذور بالطائرات على الأراضي المشكوك بوجود الألغام فيها، وبعد مرور /١٠/ أيام من رش البذور المعدلة ترسم خارطة ألوان النباتات الناتجة، ويحدد اللون الأحمر الذي يشير إلى وجود الألغام تحتها حيث يتم استئصالها .



شكل ٨ – ٤ صور للألغام الخطيرة التي يستطيع نبات ارابيدوبسيس المهندس وراثيا أن يكشفها.

٣-السفر إلى المريخ :

لقد تم تصميم " الرعيل الأول " من رواد الفضاء " الهلاميون " بعناية فائقة بهدف الذهاب إلى المريخ . وهذه المجموعة تتوهج في الظلام، وتعطي ضوءاً أخضر ناعماً لدى تعرضها للمؤثرات الخارجية؛ بحيث يمكن نقل التوهج بهيئة شفرات وراثية خاصة . وقد تم الإعلان عن أول كائن حي نباتي سيستكشف المريخ هو ذاك النبات الذي يعيش في الصحراء، أو الرمال، أو المراعي، أو على قارعة الطرقات ...إنه الآرابيدوبسيس تاليانا.

لقد ظهرت فعلاً نتائج مزيج من نباتات هلامية Jelly plants مكونة من الرشاد، وسمكة قنديل البحر Jelly fish وآرابيدوبسيس تاليانا . وقد تمكن هؤلاء " الرواد المتوهجون " عام ١٩٩٩م من الركوب على متن مكوك الفضاء، وتوهجت جذور آرابيدوبسيس في بعض المناطق التي انخفضت فيها نسبة الأوكسجين (شكل ٨-٥)، ومن المفترض أن يتم إرساله إلى المريخ عام ٢٠٠٨ م الحالي.



شكل ٨ ـ ٥ صورة للنباتات المتوهجة والمرشحة للسفر إلى المريخ ، ويدخل فيها نبات ارابيدوبسيس.

٨-١-٣ التخلص من النفايات والبقايا العضوية :

لقد تم إطلاق جراثيم معدلة وراثياً تنتج مواد محللة للمخلفات العضوية في الطبيعة، وفي البحار الملوثة، وفي أقنية المصارف الصحية التي تسدها هذه المخلفات فيتم إتلافها وفتحها . ومن هذه الجراثيم ما يقضي على بقع النفط الكبيرة التي تتسرب من الناقلات في البحار، أو التي تنجم عن الحروب الدولية وغيرها . وهذه الجراثيم المعدلة تتغذى على هذه المادة بتفتيتها، والقضاء عليها؛

نظراً لتكاثرها الفلكي الهائل . ويتم التفكير حالياً باستخدام تقانة الجراثيم المفرزة للمواد المحللة في عمليات الغسيل المنزلي، أو في الفنادق، والمطاعم؛ للتخلص من الدهون والمخلفات الأخرى (جراثيم كانسة) .

إضافة إلى ذلك فإن دور هذه الجراثيم السعدلة " الكانسة " يتجلى بإزالة آثار " الجثث " التي يمكن أن تنتشر بكثرة نتيجة للكوارث الطبيعية، وبالتالي التخلص من كوارث لا تحمد عقباها. وفعلاً فقد تمكن العلماء من أخذ المورثات الموجودة عند الأحياء الدقيقة التي لها خاصية الرمية Saprophyte على الكائنات الميتة ، ومن ثم هندستها، وإدخالها في جراثيم تم تعديلها، لتكتسب هذه الخاصية المهمة، وذلك من خلال التحكم بأنزيمات تحقق عمليات التفتيت والالتهام .

وقد أمكن استنساخ هذه المورثات بالملايين، واستخدامها في مجال " كنس " الفضلات ، ويتم التفكير الآن بمحاولة " كنس " فضلات الخلية البشرية ، أو إدخالها إلى الخلايا العروسية ، أو إلى جنوم النواة الجسمية؛ التي تم إجبارها على الارتداد عن التمايز، وذلك كله إما لتأخير الشيخوخة، أو لإجراء أبحاث الاستنساخ.

ولا يجوز أن تتم هذه العمليات " الخطيرة " إلا ضمن مراقبة صارمة لضمان عدم مساس هذه المورثات بالبيئة السليمة للخلايا الحية؛ التي تعيش فيها.

٨-١-٤ الحشرات المتوهجة والبعوض المسالم :

١- لقد تمكن العلماء من إنتاج أول حشرة معدلة وراثياً من نوع العث Moth ؛ وذلك بإدخال مورثة التوهج الفلوريسانسي الأخضر المأخوذة من قنديل البحر . هذه المورثة تتوهج في الظلام، وتستهدف نوعاً خطيراً من الحشرات الأخرى الضارة؛ التي تصيب نبات القطن، وتسمى بالدودة الوردية،

وتسبب خسائر فادحة في هذا النبات الاقتصادي المهم، وقد تتسبب في القضاء على كامل محصول الحقل الذي تنتشر فيه.

٢- لقد تمكن الباحثون من إنتاج بعوض معدل وراثياً، يختلف عن البعوض العادي بكونه مسالماً، ولا يمكنه نقل مرض الملاريا الخطير إلى الإنسان . ومازالت هذه الدراسات بعيدة عن الضجة الإعلامية الكبيرة كيلا تصاب بردة فعل مثل ما حصل بالنسبة للنباتات المعدلة وراثياً . وتجرى الآن أبحاث على هذه الحشرات (التي تخطت تجارب المخبر) خارج المخبر تمهيداً لعرض هذه المغامرة الجريئة والخطيرة . ومن المحتمل أن تنتج في المستقبل عمليات تهجين بين البعوض العادي والبعوض المسالم؛ للوصول تدريجياً إلى بعوض لا ينقل الملاريا.

وبالمقابل فقد ظهرت سلالة جديدة من جراثيم السل أثارت مخاوف منظمة الصحة العالمية . هذه السلالة تقاوم كل علاج معروف حتى الآن. وبذلك فقد دخلت المخابر العلمية في معركة حقيقية مع هذه السلالة ، وربما لن تكون النجدة إلا من خلال الهندسة الوراثية.

٨-١-٥ بنوك المورثات :

على اعتبار أن للمورثات أهمية كبيرة في حياة الإنسان ، ودوراً واضحاً في مختلف مجالات العمل بتقانات الهندسة الوراثية (الهندسة المورثية)، فقد تم إنشاء بنوك خاصة، يتم فيها حفظ المورثات لحين استخدامها في مجال البحث العلمي ، أو طلبها من قبل " الزبون " الراغب بها.

والمعروف أن للبنوك أنواعاً، منها ما هو غير حيوي (أموال ، معلومات ، فضائية لجمع عينات فيها مثل صخور القمر، وغيرها) ، ومنها ما هو حيوي، وتقسم البنوك الحيوية إلى قسمين :

مادة حيوية منقرضة (DNA أحياء قديمة) ، ومادة حيوية معاصرة، ومنهـا : قرنية العين ، جلود للترقيع ، أنزيمات نادرة ، هورمونات ، أعـواس، وأخيـراً بنوك المورثات، وهي من أخطرها، وأكثرها أهمية. تحفظ المورثات في بنوك خاصة ضمن الآزوت السائل (-١٨٦°) وتتم إدارتها ورعايتها ضـمن أنظمـة كومبوترية ذات تحكم الكتروني كامل . وهذه العملية العلمية الحصينة تتم ضمن مؤسسات خاصة وسرية؛ لأنها تضم أهم وأخطر المعلومـات البـشرية علـى الإطلاق، وهي المورثات التي ترسم سلوك إنسان بالكامل، وتركيبه، وتهدف إلى تحقيق أحلامه وآماله، منها: التخلص من بعض الأمراض البشرية المعندة.

٨-٢- تصورات وراثية مازالت أحلاماً، أو في طريق الإنجاز:

٨-٢-١- العلاج بالمورثات:

بعد الانتهاء من رسم خارطة الجنوم البشري أصـبحت المواقـع المورثيـة معروفة المواقع على الصبغيات بدقة كاملة ، وبدأ العلماء يفكـرون بالمورثـات المعيبة التي تتسبب في بعض الأمراض الوراثية المستعصية والخطيرة . ومـن هنا جاءت فكرة العلاج بالمورثات، وهي مرحلة متقدمة جداً في تقانـة العـلاج الطبيعي إن تحققت .

١- فقد يكون العلاج المقترح محققاً "بالجراحة المورثية " بأشـعة الليـزر ذات الأقطار الإشعاعية الدقيقة جداً ، وهكذا تحدد المورثات المطلوبـة للعلاج، ويتم استئصالها كي يستعيد الجنـوم المعنـي حالـة توازنـه الطبيعي.

٢- ويمكن التفكير في حال إخفاق استئصال المورثة "المعطوبة " بإدخـال مورثة سليمة (إما طبيعية أو مستنسخة) إلى المكان نفسه، و طريقـة الاستئصال نفسها بعد إجراء تجارب أولية على خلايا تجريبية؛ للتحكم

بسلوك هذه المورثات المراد إدخالها خوفاً من الآثار المدمرة؛ التي قد يحدثها هذا الإدخال في الجنوم الوراثي الكامل للنبات (تذكر أن المورثة هذه DNA قابلة للاستنساخ و التعبير عن الوظيفة في أي مكان توضع فيه ، وقد يحصل مثل هذا الخطر المحدق لدى وجود خطأ ما في استنساخ المورثة السليمة المعالجة . وتزداد الخطورة كلما كان إقحام المورثة في المراحل الأولى من الكائن الحي ، ولا سيما في المراحل الجنينية المبكرة .

٣- وقد ذهب تفكير العلماء الحالمين بالعلاج المورثي إلى درجة استنساخ الجنوم المعيب، والقيام بتعديله وراثياً إلى جنوم سليم، ثم استبداله داخل الكائن الحي بعد التعديل (إخراج محرك سيارة ، تصليحها، إعادتها).

٤- ولعل أفضل وسائل العلاج إدخال المورثات السليمة إلى الخلية الجنينية الأولى، وهي البيضة الملقحة Zygote بعد معرفة وجود عيوب وراثية فيها، وكذلك إدخال مورثات "كانسه" لتحليل المواد التالفة فيها ومن ثم متابعة مسيرتها الانقسامية.

٥- ولابد في هذا المجال من التعرف على بعض أبحاث علاج السرطان بالمورثات، وعلاج حالات شيخوخة الخلايا.

لقد أدرك العلماء أن الصبغيات تحمل في أطرافها مكونات خاصة توفر لها الثبات و الاستقرار، تسمى التلومترات Telomeres ، وهي تعمل كقطعة البلاستيك؛ التي توجد في كل من طرفي رباط الحذاء. وتأتي أهمية التلومير من أنه يقوم بحماية الجسم الأساسي للصبغي؛ الذي يحمل المورثات من أن يهترئ فتتلاشى المورثات، إضافة إلى ذلك لا يمكن لهذه النهايات الصبغية أن تلتحم مع بعضها بعضاً . ويختلف تتابع النيكلوتيدات في التلوميرات من كائن لآخر، فمثلاً يكون التتابع في وحيد الخلية المهدب Tetrahymena من الشكل TTGGGG.

(مكرر عدداً من المرات) وعند الإنسان من الشكل TTAGGG إن انقسام الخلية يؤدي إلى تضاعف صبغياتها، وبالتالي انشطار جزئية الـDNA في كل انقسام ،وإثر ذلك تتلقى الخلايا البنات الطاقم الصبغي و المورثي نفسه.

لكن واطسون (مدير مخبر غولدسبرغ لمكافحة السرطان بالمورثات) وتلاميذه لاحظوا أن انشطار الصبغي يؤدي إلى تآكل التلوميرات مع كل انقسام، وهذا التآكل قد يصل إلى المرحلة الحرجة التي يزول منها التلوميز بكامله، وبالتالي يأتي على تآكل المورثات المجاورة له . بالمقابل لوحظ أن الأنواع وحيدة الخلية التي تتعرض صبغياتها لهذا التقاصر والتآكل تقف عند حد، وتعود إلى إصلاحه، وكذلك الحال عند الخلايا المولدة (المنشئة) للأعراس . ثم تبين وجود أنزيمة في هذه الخلايا اسمها Telomerase قادرة على تركيب التتابعات المتآكلة في هذه الخلايا ، بينما لا تتمكن من ذلك في الخلايا الجسمية العادية .

لقد كان يعتقد سابقاً أن خلايا الإنسان الجسمية تتضاعف حين الانقسام بلا نهاية ، ولكن تبين أنها لا تشكل عملية تضاعف الـ DNA فيها مقارنة مع الخلايا التكاثرية إلا جزءاً يسيراً. فالأشخاص حديثو الولادة يحققون انقساماً من (٨٠-٩٠) مرة مقارنة مع كبار السن من (٢٠-٣٠) مرة، وذلك في المزرعة الخلوية .

لقد تم إثبات أن التلوميرات في خلايا الأورام السرطانية البشرية أقصر من تلوميرات خلايا النسج السليمة المحيطة بها . وجاء تفسير ذلك بأن الخلايا السرطانية تقوم بتركيب أنزيمه تلوميراز نتيجة للانقسامات العشوائية؛ مما يؤدي إلى ثبات التلوميرات عندها، وبالتالي استمرارية انقساماتها بلا نهائية.

إن تصنيع أنزيمة التلوميراز يحصل بصورة طبيعية بوساطة الخلايا التكاثرية في جسم الجنين المتنامي ، ومع اكتمال نموه تبدأ عملية قمع تشكل التيلوميراز في معظم الخلايا الجسمية فتتقاصر، و تتآكل تلوميراتها إلى الحد الحرج

فتموت. ولكن إذا حصلت طفرة سرطانية تتابع انقساماتها، وتتشكل أنزيمة تلوميراز، وتبقى منقسمة إلى ما لانهاية ، وبشكل عام :

- التلوميراز موجود ←— التلومير كامل وكبير ←— الخلية تعيش، و تنقسم باستمرار.
- التلوميراز مفقود ←— التلومير صغير يتآكل ←— الخلية تهرم، و تموت.
- التلوميراز يوجد في الخلايا السرطانية، و الخلايا التناسلية، و ينعدم في الخلايا الجسمية .

من هنا بدأت أفكار مكافحة السرطان بالمورثات عن طريق " سحب " أنزيمة التلوميراز، من الخلية السرطانية، وربما لهذه الأنزيمة مورثة مسؤولة عن تركيبه وبالتالي جرى التفكير بإزالة هذه المورثة من الخلايا السرطانية بهدف تآكل التلومير فيها، ومن ثم موتها.

بالمقابل جرى التفكير بإضافة هذه المورثة إلى الخلايا الجسمية؛ كي تستمر في انقساماتها، وتبدأ عملية إطالة عمر الخلايا الجسمية بهذه الطريقة .

إضافة إلى ذلك بدأ العلماء يفكرون باستخدام أنزيمة التلوميراز كعقار مضاد للسرطان ، حيث تسمح بانكماش التلوميرات، ومن ثم اختفائها كلياً من الخلايا السرطانية ، بينما تعمل الأدوية السرطانية الحالية على إلحاق الضرر الوظيفي بالخلايا الأخرى .

٨-٢-٢ انقسامات حسب الطلب :

١- من المعلوم أن الفيروسات أحياء تبدو بشكل أشباه بلورات خارج المضيف، وبذلك فهي لا تنقسم ، ويحصل تضاعف المادة الوراثية (RNA أو DNA) داخل المضيف فقط . ومن المعلوم أيضاً أن جميع الأحياء تنقسم بإشراف مورثات منظمة لهذا الانقسام . ومن الفيروس جاءت فكرة حذف

الانقسام من حلقة حياة النباتات الراقية، وبذلك يتضاعف حجم كل خليـة دون أن يزداد عدد الخلايا ، وهكذا إذا تحقق هذا الحلم سيتم إدخـال مورثـات موقفـة للانقسام الخلوي إلى خلايا الثمار مثلاً من خـلال تقانـات عاليـة المـستوى؛ لضمان تعبيرها ونشاطها، وبذلك يمكن الحصول على ثمـار كبيـرة الحجـم . ويمكن التفكير أيضاً بالتحكم بمورثات الانقـسام، وجعلـه سـريعاً، ومتكـرراً، ومستمراً؛ ليؤمن أكبر كمية من المواد العلفية . وذهب العلماء الحالمون لأكثـر من ذلك، حيث فكروا بتثبيط الانقسام الطولي وتنشيط الانقسام العرضي لإنتـاج نباتات قصيرة، مع زيادة في الحجم، مثل الفاكهة أشجارها قـصيرة، وثمارهـا كبيرة الحجم، سهلة القطاف . وقد يتم التفكير بإدخـال أطقـم مورثيـة كاملـة، وليست مورثة واحدة ، ولكل منها وظيفة (إيجاد كائن معدل متعدد الوظائف).

ومن الممكن أيضاً التفكير بتسريع معـدل الانقـسام عـن طريـق الـتحكم بالمورثات المسؤولة؛ للوصول إلى أقصى نقطة في منحني النمو ، وبذلك تنـتج أعضاء خلال فترات زمنية وجيزة بفضل إجبار الخلايـا علـى الـدخول فـي انقسامات متكررة؛ لتعطي العضو المطلوب، من ذلك ستتطور هـذه الأبحـاث (المحتملة) إلى إنتاج أعضاء بشرية مثل البنكرياس، والكبـد، وربمـا القلـب (ليس بالاستنساخ) وإنما بأخذ خلية واحدة من هذه الأعضاء، وإجبارها علـى الدخول في انقسامات متكررة للوصول إلى العضو المأخوذ منه بهدف معالجـة أمراض بشرية، مثل: السكري، والتليف الكبدي، والفشل الكلوي ... ولن تعـاني هذه الأعضاء أثناء زراعتها في الجسم أي مقاومة مناعية؛ لأنها مـأخوذة مـن جسم المريض.

٢- إن الحالة المعاكسة لإدخال مورثات الانقسام (تنشيطاً وتثبيطاً) هي حالـة التفكير بإجبار مورثات الفيروسات على التبلور (الكمون) داخل المضيف .

والآمال موجودة بإدخال مورثات مضادة تعمل على إجبار مورثـات الفيـروس داخل المضيف على تشكيل أشباه بلورات، وبالتالي منع تناسخ مادتـه الوراثيـة وتكاثرها . هذه التقانة إن تحققت ستعالج بعض الأمراض الفيروسية مثل الإيدز، حيث يتم إجبار الفيروس المسؤول عن هذا المرض على أن لاينشط داخل خلايا الإنسان، ويبقى في حالة الكمون .

٨-٢-٣ كشف أحياء الماضي :

من الأحلام التي تراود علماء التلاعـب بالمورثـات استنـساخ الفراعنـة، والديناصورات، وبعض الأحياء القديمة المنقرضة منذ آلاف الـسنين؛ لأهـداف مختلفة . فقد أكد الباحث جيفري براون أن الديناصورات قادمة إلينا في يوم من الأيام، وإن كل واحد سيستنسخ من خلية واحدة من ديناصور منقرض وقد طمأن هذا " الحالم " البشر بأن الديناصور القادم لن يكون متوحـشاً، لكنـه سيتـصف بالهدوء والوداعة واللطف، ويستطيع التعايش مع بني البشر بكل محبة وتعـاون بفضل التلاعب بمورثاته " الشريرة" .

والأكثر من ذلك فإن العلماء " الديناصوريون " يحلمون بأخذ بعض مورثات الديناصورات القادمة، والاستفادة من خصائـصها لخدمـة بعـض الفقاريـات، وخاصة منها مورثات العملقة ، وقوة الجسم ، والنظر الحاد ... ولكن ماذا لـو تطور الأمر ووصلت هذه المورثات إلى الإنسان أثنـاء هروبهـا مـن مخـابر الاستنساخ.

أما الفئة الثانية من علماء عرب وأجانب فقد فكرت باستنـساخ الفراعنـة ، وعلى ما يبدو فإن المادة الوراثية (DNA) قد أخذت من أموات مصر القدماء الذين رسموا تاريخ وحضارة هذا البلد، ونقلت إلى أنابيب الاختبار فـي مخـابر أوربة وأمريكا لاستنساخ بعضاً منها كبداية لعملية كبيرة يخطط لها .

ومن الأهداف المعلنة لهذه العملية إقامة قرية فرعونية لدراسة قـوة هـؤلاء الأشخاص في بناء الأهرامات، وإرجـاع الماضـي لمعرفـة طريقـة حيـاتهم وأسلوبهم الاجتماعي والعلمي والاقتصادي لإبراز هذه الحضارة العريقة .

ويكمن الخطر كل الخطر في أن تتطور هذه الأحلام إلى حقيقة، وعندها قـد تقترب قدرات المنقرضات المستنسخة من قدرات البـشر، أو تفوقهـا وخاصـة الديناصورات، وعندها قد تحكمنا حيوانات مروضة . ويفكر العلماء بمـا هـو أخطر من ذلك، وهو استنساخ أشخاص جبابرة للقيام بأعمال خارقة، ربما كانت آلات بشرية حربية سوف تأتي بالدمار على الأرض، فلا تبقى ولا تذر.

٨-٢-٤ النباتات المضيئة :

من المعلوم أن بعض الأسماك تكون مضيئة في قعـر البحـار، وإن إنتـاج الضوء يتحقق عن طريق تفاعل بيوكيميائي من الشكل :

لوسيفيراز + أكسجين ⟵ إضاءة، وهذا ما يحدث بشكل طبيعـي . ويفكـر العلماء بإنتاج نباتات تصدر فوتونات مضيئة متعددة الألوان، هادئـة، لا تثيـر الأعصاب، وتبعث على الطمأنينة لدى النظر إليها . ويتوقع أن تعزل المورثـة المسببة للإضاءة من الأسماك المعنية، وتوضع في بلاسميد جرثـومي بهـدف إكثارها بالحصول على نسخ كثيرة بالتنسيل Cloning ، وأخيراً تنقل إلى بـذور النبات المراد معالجته كي يصبح مضيئاً إما بوساطة المدفع المورثي، أو بتقانـة البروتوبلاست ، وهذه الإضاءة تبقى موجودة دون طاقة تتحقق بفضل ذبـذبات متقطعة .

٨-٢-٥ جنوميا الجريمة :

يرى العلماء أن نزعة الجريمة عند بعض البشر مرتبطة باستعداد وراثي لديهم لارتكابها ، ومن هنا بدأ تصنيف البشر (على حسب أهواء المصنفين) إلى قسمين : أناس لديهم نزعات شريرة يجب التحقيق معهم، ومحاكمتهم قبل ارتكاب الجريمة ، وأناس من ذوي الذكاء والحس المرهف وهم " خيرون " لا يوجد عندهم استعداد وراثي لارتكاب الجرائم، ويجب رعايتهم؛ لأن الجنوم عندهم مميز .

وبكل سهولة يمكن إجراء البصمة الوراثية (من خصلة شعر، أو من خلايا الفم ...إلخ) وتحديد السلوك الوراثي عند أي شخص مشكوك فيه، وتحديد هل جنومه حميد أو عدواني ...

وقد أوجد الباحثون الجنائيون بالتعاون مع الباحثين الوراثيين جهازاً لدراسة الحركات المورثية الفجائية، وقياس أثرها على التعبير المورثي باستخدام " موجات مورثية "، وفعلاً تم تطبيق آثار هذا الجهاز على /١٠٠٠/ شخص في أمريكا حيث تبين وجود استعداد وراثي لدى بعضهم على ارتكاب الجريمة ..؟! ولا ندري هل للتوتر الشخصي أثناء تعرضه لمثل هذا الجهاز المورثي أثر على تبدل " موجاته المورثية من موجات خيرة حميدة إلى موجات شريرة مجرمة.؟!"

٨-٢-٦ المورثات والرياضة :

لقد تبين أيضاً من خلال أبحاث الجنوم البشري وجود مورثات يؤدي تعبيرها إلى عمليات خاصة في " النقل العصبي " ،وقد يؤثر ذلك على الموهبة الرياضية التي يمكن أن يمتلكها بعض الرياضيين . وبذلك فإن التعبير المورثي الذي يمتلكه لاعب كرة السلة الموهوب يختلف عن التعبير المورثي الذي يمتلكه

لاعب كرة القدم الموهوب ، وهذا يختلف عن التعبير الورثي؛ الذي يمتلكه لاعب الكرة الطائرة ...إلخ.

ولذلك راح علماء الوراثة يحلمون بالحصول على مورثات هؤلاء الموهوبين، وحفظها في بنوك المورثات بهدف هندستها، وإدخالها إلى الراغبين بشرائها وامتلاكها.

وعندها يمكن تجهيز لاعب رياضي حسب الطلب والرغبة (طول ، قوة ، تحمل، مهارة . أخذ القرار السريع والصحيح في الملعب ...) وكلما اكتسب الإنسان مورثات " رياضية " أكثر اكتسب بطولات رياضية أكثر .

وهكذا يمكن " خرطنة المورثات " الرياضية بعد عزلها، حيث تحفظ في البنوك، ثم تستعمل النواقل الوراثية المعروفة من جراثيم وغيرها لإدخالها إلى الراغبين بالحصول عليها . وتجدر الإشارة إلى أن هذه المورثات من النموذج التراكمي؛ التي تخضع للصفات الكمية .

٨-٢-٧ المورثات والاقتصاد :

قام فريق ألماني بهندسة جرثوم وراثي يستطيع التعرف على المعادن الثمينة في الأرض، ومنها الذهب ، كما أمكن تصميم جراثيم تبطل مفعول الألغام والمتفجرات، وتمتص الغبار الذري الناجم عن كوارث المفاعلات النووية، وتمنع الكوارث . كما يفكر العلماء بتوسيع أبحاث الحصول على جراثيم تحتوي على مورثات قادرة على العيش في طبقة الأوزون، وتحلل المواد المسببة في تآكلها (تتغذى على هذه المواد) وبالتالي تخفف من ثقب الأوزون .

إن عالم الغد سيكشف اللثام على أن المورثة ستصبح أغلى من الذهب، وستصبح " بورصة " المورثات هي الأولى في العالم؛ لذلك ستوضع قائمة تفصيلية " وربما نشرة يومية " توضح أسعار بعض العمليات الوراثية، مثل :

- كم تكلف عملية تطعيم (تأشيب) الـ DNA.
- كم تكلف تقانة العلاج المورثي مع تفاصيل نوعية للعلاج .
- ما عائدات ربح عملية قص المورثات بأنزيمة القطع.
- كم تكلف تقانة قذف الـ DNA بالمدفع المورثي ...وغيرها.

وتبقى الوراثة الإنتاجية، وتطبيقات الهندسة الوراثية سلاحاً ذا حدين قد تستخدم في الشر والخير ، كل الخير، وحينما تستخدم لرفاهية بني البشر .

المصطلحات العلمية وترجمتها

A

Activated charcoal	فحم فعال
Albumen	سويداء (n٣)
Allergenicity	الحساسية
Amphidiploid	هجين مزدوج
Anaphase	طور الصعود
Andromonoecious	أحادية المسكن مذكرة
Ankogene	حاث سرطاني
Anther culture	زراعة المآبر
Antibiotics	صادات حيوية
Apical meristem	مرستيم قمي
Apogamy	لا إلقاح
Apomixis	لاإخصاب(تدهور الشقية)
Apospory (Ameiosis)	لا تبوغ (لا تنصيف)
Artificial selection	الإنتخاب الصنعي
Asexual	لا جنسي
Autoalloctoploid	هجين خلطي ذاتي ثماني
Autopolyploidy	تعدد صبغي ذاتي
Autosome	صبغيات جسمية
Autosyndes	فوق التزاوج

B

Bacterial artificial chromosome (Bac)	صبغي صناعي للجرثوم
Bacteriophage	آكل الجراثيم
Beardless	بدون حسك
Biostatistic	علم الإحصاء الحيوي
Biotechnology	تقانات حيوية

Bivalents	أشفاع ثنائية
Blue gene	مورثة الأزرق
Breeding	التربية
Browning	تشكل اللون البني
Bulbusum method	طريقة الشعير البصيلي

C

Callus	كالوس (ثفنة)
Callus tissue	نسيج ثفني
Casmid	كاسميد (بلاسميد + آكل)
Celle culture	زراعة الخلايا
Cellular	خلوي
Cellulose	سللوز
Cenocytic	سينوسيتي (أنبوبي)
Chromosome elemination	الاستبعاد الصبغي
Colchicine	كولشيسين
Conjugation	التزاوج
Conjugative R plasmid	بلاسميد متزاوج
Crass breeding	التربية التهجينية
Cross sterility	العقم الهجيني
Culture media	أوساط زراعية
Cybrid	هجين سيبريد
Cytology	علم الخلية

D

Deletion	نقص
Digestion	هضم (إذابة)
Dioecious	ثنائي المسكن
DNA - ligase	أنزيمة الربط (ليغاز)
Doubled haploids (Dhs)	هابلوئيدات مضاعفة

E

Emasculation	إخصاء (نزع الأسدية)
Endosperm	ايندوسبرم (n١)
Engineering genetics	الهندسة الوراثية
Epidermis	بشرة
Episomes	ايبيسومات (جسم إضافي)

F

Fagmid	فاغميد (بلاسميد + آكل)
Fertility	إخصاب
Fusogen	محفز

G

Galactose	غالاكتوز
Galacturonic acid	حمض الغالاكتوروني
Gametocides	مبيدات الأعراس
Gamma ray	أشعة غاما
Gel - electrophoresis	الرحلان في الهلام
Gene gum	المدفع الوراثي
Gene revolution	ثورة المورثات
Genetic exchange	التعديل الوراثي
Geneticaly modifed organisms (GMOs)	الكائنات المعدلة وراثيا
Genetics	علم الوراثة
Genome	جنوم (ذخيرة وراثية)
Genotype	نمطمورثي
Grana	غرانا (حبحبة)
Green revolution	الثورة الخضراء
Gymnomonoecious	أحاديةالمسكن مؤنثة

H

Haploid	هابلوئيد (أحادي الصيغة)
Haploidy intiator gene, hap	مورثة محرضة على الهابلوئيد
Hemicellulose	هيمي سللوز
Heterokaryon	غير متماثل النوى (هيتروكاريون)
Heterozygous	غير متماثل الأعراس
High pigment gene	مورثة الصبغ المرتفع
Homeologous	شبه متماثل
Homologous	متماثل
Homozygous	متماثل الأعراس
Horizontal resistance	المقاومة الأفقية
Hybred vigor = Heterosis	قوة الهجين
Hybridization	التهجين
Hypha	خيط فطري

I

In vitro	في الأنبوب
In vivo	في الحي
Inbred - line	سلالة تربية داخلية
Inbreeding	داخلي التربية (مغلق)
Incompatibility	عدم التوافق
Induced mutation	طفرات محرضة
Insertion sequences elements (Is- elements)	عناصر الإدماج
Interferone	انترفرون (مضاد الفيروس)
Intergeneric hibridization	تهجين بين جنسين
Interspecefic hybridization	تهجين بين نوعين

J

Jelly plants	نباتات هلامية

L

Laceration	تفتيت
Lipids	ليبيدات (دسم)
Liquid medium	وسط سائل

M

Male sterility	عقم ذكري
Manipulation	منابلة المورثات (التلاعب بالمورثات)
Mass selection	الإنتخاب الكتلي (الإجمالي)
Mesophyll	نسيج متوسط (ميزوفيل)
Microorganisms	أحياء دقيقة
Microspore culture	زراعة الأبواغ الدقيقة
Microspores	أبواغ دقيقة
Mitosis	انقسام خيطي
Molecular breeding	تربية جزيئية
Molecular genetics	وراثة جزيئية
Monoecious	أحادي المسكن
Monogenic	وحيد المورثة
Morpholagical strerility	عقم مورفولوجي
Multiple alleles	صنويات متعددة
Mutation	طفرة
Mycillium	مشيجة (الفطر)

N

Natural selection	الإنتخاب الطبيعي
Nicotinic acid	حمض النيكوتين
Nonconjugation R plasmid	بلاسميد غير متزاوج الصبغي الجرثومي
Nucleoid	(نيكليوئيد)

O

Octotriticale	قمح جوداري ثماني
Outbreeding	خارجي التربية (مفتوح)
Ovary culture	زراعة المبيض

P

Pallen grains	حب الطلع
Parthenogenesis	التطور البكري
Pase pairs (b.p.)	شفع نيكليوتيدي
Pectin	بكتين
Phenotype	نمط شكلي
Phloem	لحاء
Physiology	علم الوظائف
Plant dicease	علم أمراض النبات
Plasma membrane	الغشاء السيتوبلاسمي
Plasmid	بلاسميد
Plasmolyzed	بلزمة
Polyethylen glicol (PEG)	بولي ايتيلين غليكول (PEG)
Polygenic	عديد المورثات
Polymorphic	تعدد شكلي
Polyploidy	تعدد الصيغة الصبغية
Population	مجتمع

Positional sterility	عقم بعدم تفتح المآبر
Prokaryotes	بدائيات النوى
Promotore	محفز
Protoplast	بروتوبلاست
Prototroph	كامل التغذية
Pure line	سلالة نقية

Q

Qualitative	نوعية
Quantitative	كمية

R

Receptor molecule	جزيئ مستقبل
Recombination	التأشيب
Regeneration	توليد
Regression	تدهور (كساد)
Resictance determination (RD)	محدد المقاومة
Resictance transfer factor (Rtf)	حامل المورثات المنتقلة
Resistance genes	مورثات المقاومة
Resistance plasmid	بلاسميد المقاومة
Restorer gene	مورثة الإنعاش
Restrictinas	أنزيم القطع (التجزئة)
Root inducing	حاث الجذور

S

Saprophyte	رمية
Secale cereal	الجودار
Selction	الإنتخاب
Selector	المربي (المنتخب)
Sexual	جنسي

Sexual compatibility	توافق جنسي
Soil medium	وسط صلب
Somatic celles	خلايا جسمية
Somatic hybrid	هجين جسمي
Sphaeroplast	سفيروبلاست
Spontaneous fusigen	اندماج طوعي
Stamenal sterility	عقم سدوي (ذكري)
Sterility	العقم
Stiky end	نهاية لزجة
Strain	سلالة (أرومة)
Systematic	علم التصنيف
Sytoplasmic sterility	عقم سيتوبلاسمي

T

Telomerase	أنزيمة تلوميراز
Telomeres	نهايات (تلوميرات)
Tetrads	رباعيات (الأبواغ)
Thellakoids	تلاكوئيدات
Tissue culture	زراعة النسج
Transposase	أنزيمة ترانسبوساز
Transformation	التحول
Transfusi	نقل (ترانسفوزي)
Transgeny	تنقيل مورثي
Transposon genes	مورثات قافزة
Trimonoecious	أحادية المسكن مذكرة ومؤنثة
Triploid	ثلاثي الصيغة
Triticale	قمح جوداري
Trivalents	ثلاثيات
True resistance	المقاومة الحقيقية
Tumor inducing	حث الورم

V

Vegetative	إعاشي (خضري)
Vertical resistance	المقاومة العمودية
Virtrification	الشفافية

W

Wide hybridization	التهجين الواسع

X

Xenia	كسينيا (التلقاح)
Xylan	كسيلان
Xylem	خشب

Y

Yeast artificial chromosome (yac)	صبغي صناعي للخميرة

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المراجع الأجنبية

1- Anthony J.F. etal. (1999) Modern. Genetic analysis

2- Alichanian C .E.(1985). General Genetics. Moscow

3- Boroevitsh (1984) . Prinsipls and methods of plant selection – Moscow

4- Campbell R. (2005) Biology , seventh Edititon.

5- Fernando J., Mendes – da- Gloria (2000). Somatic hybrid with potential for usevs rootstock in the Brazilain citrus industry. Genet . Mol. Biolo. V. 23 N.3

6- Lobachev . M. E. (1979) Genetics and principles of selection . Moscow .

7- Muller . R. E.(2001) Elements of medical Genetics

8- Pascal Geerts (2008).Protoplast fusion technology for somatic hybridization in phaseolus . Biotechnology , Agronomie , Société, et environment V .12.

9- Petrov D . V. (1976) Genetics and principles of selection . Moscow.

10- Protoplast fusion and plant somatic hybrid. Plant transformation and cell Engineering lab. www.ihar.edu.pl/Z /kit/hybrids.php4

11- Robert H.tomarin (2002) Principles of Genetics

12- www.geocities.com/maririn 77 en/ heulth/bio.htm

إضافة إلى الكثير من المواقع البيولوجية المتنوعة

Damascus University

المراجـــع العربية

١- الكبب حسام الدين (١٩٩٢). علم الأحياء الدقيقة الطبية وعلم المناعة.
٢- البرغوثي إيهاب (١٩٩٧). زراعة الأنسجة النباتية، دار الفكر عمان.
٣- الجمل عبد الباسط (٢٠٠٠). الهندسة الوراثية للشباب، مصر، القاهرة.
٤- الجمل عبد الباسط (٢٠٠٣). ثورة الهندسة الوراثية.
٥- المسلم عبد الباسط. السعيد وليد (٢٠٠٠). علم الوراثة النباتية. منشورات جامعة حلب.
٦- النجار حليم (١٩٩٤). علم الوراثة وهندستها.
٧- ترجمة أبو عرقوب محمد موسى (١٩٩٤). أمراض النبات، مصر، القاهرة.
٨- ترجمة حسن شوقي أحمد شوقي وآخرون (١٩٧٨). مبادئ علم الوراثة، مصر، القاهرة.
٩- ترجمة مستجير أحمد (٢٠٠٠). طعامنا المهندس وراثياً كيف يصل إلى موائدنا، القاهرة.
١٠- ترجمة ابراهيم مصطفى فهمي (١٩٩٥). مستقبلنا الوراثي – علم التكنولوجيا الوراثية وأخلاقياته.
١١- ترجمة أحمد شوقي حسن (١٩٩٣). مبادئ علم الوراثة، القاهرة.
١٢- ترجمة ميشيل خوري (١٩٩٥). عبقرية الحياة.
١٣- حسن أحمد عبد المنعم (١٩٩١). أساسيات تربية النبات، مصر، القاهرة.
١٤- عياش غسان(١٩٨٠). الوراثة النباتية (الجزء النظري). منشورات جامعة دمشق.
١٥- عياش غسان. سليمان محمد (٢٠٠٨). الوراثة النباتية (الجزء النظري). منشورات جامعة دمشق.
١٦- مغارج محمد عبد المحسن (١٩٩٩). مقدمة في الهندسة الوراثية.

المدقق اللغوي

الدكتور خالد الحلبوني

حقوق الطبع والترجمة والنشر محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات بجامعة دمشق