

## الهندسة الوراثية

حصل تطور كبير في مجال الزراعة خلال الفترة الأخيرة، حيث استطاع العلماء انتاج نباتات تتميز بصفة المقاومة للفيروسات، ومبيدات الحشائش ..... الخ ، كما قاموا بتحويل الميكروبات التي تسبب حدوث الصقيع ( البرد) الطبيعي بحيث تصبح غير ضارة ولا تسبب اضرار للنباتات، كما استطاعوا نقل مبيدات افات طبيعية من ميكروب لآخر.

ولا شك ان علم الحياة الجزيئي والهندسة الوراثية سيحدثان تطورا هائلا في مجال الزراعة عن طريق امداد المزارعين بالبذور والنباتات التي تحمي ذاتها من الافات والاجهاد الطبيعي.

كما انها قد تؤدي الى تقليل كمية الكيماويات الموجودة بالبيئة وتطور مبيدات الحشرات العالية التخصص التي يمكنها ان تتحلل عضويا دون اضرار بالإنسان والحيوان.

## مفهوم الهندسة الوراثية

توجد العديد من الاصطلاحات تطلق على ما يسمى بالهندسة الوراثية مثل Genetic engineering ، تحويل الجين Gene manipulation ، او التحويل الوراثي Genetic modification او Recombinant DNA technology أي تقنية عزل جزيئات من ال DNA او إدخالها في DNA الخلية ، او يمكن ان يطلق عليها الوراثة الحديثة New genetic.

وهذه التقنيات تعتمد على ان المعلومات الوراثية مشفرة على جزيء ال DNA ومرتبطة في صورة جينات، وهناك ثلاثة مجالات رئيسية تظهر من خلالها أهمية التحويل الوراثي هي:

1. الأبحاث الأساسية في مجال بناء ووظيفة الجين

2. انتاج بروتينات مفيدة بطرق جديدة

3. تنمية الكائنات التي تم نقل جزء من ال DNA اليها

### كيفية انتاج النباتات المعدلة وراثيا

بكتريا اجروبيكتيريوم تيومييفاسنس *Agrobacterium tumefaciens* تستطيع نقل قطعة من البلازميد الخاص بها والذي يسمى (Tumor inducing) Ti الى كروموسوم الخلية النباتية، ونظرا لان هذا البلازميد مهندس وراثيا بطبيعته والذي يستطيع ادخال DNA الخاص به الى DNA بالخلية النباتية. فقد دفع ذلك العلماء الى افتراض إمكانية هذا البلازميد في حمل معلومات وراثية لخلية النبات.

والمعروف ان البلازميد Ti يسبب مرض التدرن التاجي Crown Gall للنباتات- مسببا شكل اورام على سيقان النباتات، وقبل استخدام البلازميد لهندسة النباتات، لا بد من التخلص من مقدرته على احداث الإصابة.

ولهندسة الخلية النباتية يجرى الاتي:

1. يزال من البلازميد الجينات المسببة للمرض، واطافة جين جديد، مقاوم لفيروس ما مثلا.
2. يتم إعادة البلازميد المضاف اليه الجين الجديد الى الخلية البكتيرية.
3. عند إضافة قطع من النسيج النباتي الى اطباق زراعية تحتوي على البكتيريا المهندسة، فان *Agrobacterium* تنقل الجين الجديد الى الكروموسوم النباتي طبيعيا.

**زراعة الانسجة:** ان نجاح تقنية نقل الجينات للخلايا النباتية يتوقف على مقدرة الخلية المهندسة الفردية على التطور الى نبات كامل، ومن المعروف ان كل خلية نباتية تحمل جميع المعلومات الوراثية اللازمة لتخليق فرد جديد، وهذا ما يطلق عليها Totipotent الا انه

عندما تشكل الخلية وحدة تكوين عضو ما مثل الورقة فان الكثير من الجينات تغلق، ومن ثم فان اهم نقطة في زراعة الانسجة هي كيفية استعادة الخلايا النباتية لحالتها النشطة وانفتاح الجينات في تتابع مناسب لانتاج نبات كامل.

وتشمل تقنية زراعة الانسجة على وضع الخلايا المهندسة ( المعدلة) او قطع من أجزاء نباتية خاصة على بيئة تحتوي على هرمونات خاصة ومغذيات تعمل على تشجيع تكوين كالس او نسيج غير متكشف، وبمجرد تكون الكالس ، تغير البيئة وتضاف هرمونات أخرى لتشجيع تكوين الأوراق والجذور . وفي النهاية تغرس النبيتات المتكونة في التربة وتترك لتنمو حتى تصل الى مرحلة النمو داخل البيوت الزجاجية.

ثم تزرع بذور هذه النباتات للحصول على افراد الجيل الثاني والتي تختبر للتأكد من وجود الجين الجديد بها، ومن الناحية العملية فان عادة ما تختبر هذه النباتات في الحقل وتحت الظروف الطبيعية للتأكد من أهميتها من الناحية الاقتصادية بعد ذلك يمكن ادخال هذه النباتات المعدلة مع أصناف الهجن الموجودة في تهجينات مختلفة، وبطرق التربية التقليدية ومن ثم يمكن بيع البذور للمزارعين اذا ما تم اقناعهم بان البذور الجديدة سوف تعطي محصول تجاري اعلى من محصول البذور العادية التي كانوا يستخدمونها.

## التربية لمقاومة الاجهاد البيئي Breeding for resistance to environmental stress

تتطلب جميع الكائنات الحية ظروف او احتياجات بيئية لا بد من توفرها حتى تتمكن من النمو والتناسل، واصطلاح الاجهاد Stress عادة ما يستخدم للدلالة على أي عامل غير

ملائم ( غير مفضل) لكي يحدث النمو والتناسل بصورة طبيعية ، واصطلاح مقاومة الاجهاد Stress resistance يستخدم للدلالة على المقدرة على الحياة في ظرف غير ملائم.

ومقاومة الاجهاد تختلف من نوع لآخر ومن فرد لآخر، وتجدر الإشارة هنا انه من الصعوبة تقدير الأهمية الاقتصادية للاجهاد البيئي على إنتاجية أشجار الفاكهة، فالجزء الأكبر من سطح الكرة الأرضية اما شديد البرودة او شديد الحرارة والجفاف بالنسبة لزراعة أشجار الفاكهة، حتى بداخل مناطق زراعة أشجار الفاكهة ، يبذل المزارع جهودا كبيرة لحماية أشجار الفاكهة من الصقيع وتحمل تكاليف باهضة لري اشجارهم، والملوحة بحد ذاتها هي عادة ما تتجم من اتباع طرق ري غير ملائمة وهي احد العوامل المحددة لزراعة وإنتاج الفاكهة، وزيادة الرطوبة الأرضية وهي بصفة عامة من العوامل الأقل أهمية مقارنة بعوامل الاجهاد البيئي الأخرى، الا ان الكثير من مناطق زراعة وإنتاج الفاكهة تعاني من الصرف السيئ والذي يعد في أي منها من عوامل الاجهاد الهامة، ما التلوث الجوي الذي ينتشر في المناطق الصناعية يعد من احدث عوامل الاجهاد البيئي نسيبا .

ونظرا للجهود التي بذلت لزيادة الإنتاج، فان معظم محاصيل الفاكهة انتشرت الى بيئات جديدة اكثر اجهادا والتي تتعدى نطاق التأقلم الأمثل، وعادة ما تغشل هذه المحاصيل في الحياة والإنتاج في مثل هذه البيئات الجديدة، ومن ثم فان التربية والانتخاب لتحسين الاقلمة ومقاومة الاجهاد اصبحا من اهم اهداف برامج تربية وتحسين الفاكهة.

ومقاومة النبات للاجهاد، عادة، معقدة وتشتمل على مدى واسع من الاستجابة ابتداء من النبات الكامل حتى المستوى الخلوي والجزيئي.

وهناك العديد من طرق المقاومة التي قد تتفاعل مع بعضها البعض، وتعقيد استجابة النبات عادة ما تحجب الطرق المتطورة وتجعل من الصعوبة استخدامها لقياس المقاومة للاجهاد بطريقة دقيقة، والتي تعيق دورها القيام بانتخاب دقيق وتقدير طرق توريث المقاومة للاجهاد ، ومعرفة ميكانيكية الحياة وطبيعة الضرر الذي يحدث للنبات من الأهمية بمكان لتطوير تقنيات القياس المناسبة. وتوجد مميزات عديدة لطرق التقنية المختلفة وفوائد كل منها والتي تعتمد على:

1. دقة اكتشاف المقاومة ما بين الشتلات او الأصناف الحساسة.

2. المقدرة على قياس العشائر الكبيرة.

3. خفض التكاليف واختصار الوقت.

والهدف هنا هو تلخيص المعلومات المتعلقة بالعمليات الفسيولوجية والمرتبطة بمقاومة الاجهاد البيئي.

- **الحرارة Temperature** : النهايات الدنيا والقصى لدرجات الحرارة- وبصفة خاصة درجات الحرارة المنخفضة - تمثل عامل محدد لبقاء النبات، ولا شك ان التحكم في الحرارة البيئية يعد من الأمور الصعبة، مقارنة بعوامل الاجهاد الأخرى مثل الماء والصرف والمواد السامة.

فالتاقلم على التغيرات المناخية الفصلية والقدرة على الحياة تحت ظروف مناخية غير متوقعة خاصة تلك التي تتعدى النهايتين العظمى والدنيا بالمنطقة المعتدلة يعتمد او يتوقف على سلسلة الاحداث المتتابعة، معظم طرز النباتات التي تاقلمت جيدا، استجابت لهذه العوامل البيئية وهذه الاستجابة انعكست في صورة نمو احسن وتطور افضل، ومن ثم فان التربية

لمقاومة اجهاد الحرارة، بمعنى الانتخاب لاستجابة افضل للمناخ يعد من اهم الإنجازات الجوهرية للكثير من برامج التربية والهدف هو تخفيف او تقليل مشاكل الإنتاج غير الثابت نتيجة للحرارة المرتفعة او المنخفضة بهدف زيادة مناطق انتاج الفاكهة.

### اجهاد الحرارة المنخفضة

اضرار الحرارة المنخفضة تعد واحدة من اهم العوامل التي تحد من انتاج محاصيل الفاكهة، فمعظم محاصيل الفاكهة الاستوائية مثل الموز لديها القليل من المقاومة او قد تكون معدومة التحمل للتجمد ( تتضرر كثيرا على درجات الحرارة المنخفضة) وتموت عند نقطة التجمد، وتحدث اضرار البرودة نتيجة لفقد مرونة الغشاء والتي يمكن ملاحظتها واكتشافها في المرحلة الانتقالية الأقل من الحرارة الحرجة للانواع الحساسة، وعند درجات الحرارة المنخفضة يحدث خلل كيمو حيوي يتمثل في تغير معدل تفاعل الانزيمات المرتبطة بالغشاء، تسرب الايونات، وفقد خصائصه، وعدم التوازن الكيمو حيوي هذا يحدث الضرر الخلوي، ومن ثم فان زراعة وإنتاج الفاكهة الاستوائية ينحصر أساسا في المناطق الخالية من الصقيع، الا ان هناك بعض الفواكه التحت الاستوائية مثل الموالح والافوكادو لديها المقدرة على تحمل البرودة حتى -9 لفترات قصيرة الا ان زراعة وإنتاج مثل هذه الفواكه تنحصر في المناطق ذات الجو المعتدل كما ان فواكه المناطق المعتدلة مثل التفاح ، العنب تعد اكثر تحملا للبرودة حيث يمكنها الحياة لفترة طويلة على درجة حرارة -20 وهناك القليل من محاصيل فاكهة المناطق المعتدلة منيعة تماما ضد اضرار التجمد.

## مقاومة البرودة في محاصيل الفاكهة

كما هو معروف ان الكثير من النباتات لا تنظم درجة حرارتها ، وعلى ذلك فدرجات حرارتها تتغير بتغير درجة حرارة البيئة المحيطة، ومن ثم فان بقاء النباتات حية تحت درجات التجمد يتطلب تطوير او وجود نظم او ميكانيكيات خاصة لمنع او مقاومة تكون الثلج داخل انسجتها.

وهناك طريقتين او نظامين لتفادي الضرر الذي يحدث نتيجة الثلج المتكون داخل الانسجة نتيجة الصقيع وهما خفض نقطة التجمد، وتحمل البرودة الزائدة فهناك القليل من الأنواع ذات الأهمية الزراعية نجد ان نقطة التجمد بها تحدث عند -4م ، ومعظم الأنواع يتحمل درجات حرارة منخفضة في مدى يتراوح بين 10 الى -2 م ومن ثم فان هذه لا تعد طريقة هامة لبقاء معظم محاصيل الفاكهة حية، الا انها قد تعد من الأهمية بمكان لبعض المحاصيل تحت استوائية مثل الزيتون.

وتدل الأبحاث على ان بعض الأنواع الخشبية بما فيها الكثير من فواكه المناطق المعتدلة لديها القدرة على إبقاء الماء في حالة باردة جدا دوت تجمد في بعض انسجتها كما في بادئات الازهار في العنب لحد -47م، والمعروف ان الماء النقي أي الخالي من ذرات التراب والبكتريا يمكنه البقاء على حالته السائلة حتى -38م، الا انها اقل من ذلك في الماء الخليطين لذوبان بعض الذائبات به، وتجنب التجمد، يبدو انه يحدث في مثل هذه الانسجة حتى نقطة التكوين الطبيعي ( التلقائي) للأنوية، وهذه الظاهرة اطلق عليها اسم البرودة او التبريد الزائد Deep supercooling والتجمد الذي يحدث عند هذه الدرجة يحدث بصفة فجائية ويكون ذا اثر مميت، والدرجة التي يحدث عندها التبريد الزائد قد تقيد في تقدير مدى

إمكانية الاتجاه شمالا لزيادة رقعة الإنتاج للكثير من الفواكه المتساقطة الأوراق، وعند تجمد النسيج النباتي يتكون الثلج اما بداخل الخلية او خارج الجدار الخلوية.

والنوع الأول- تكون الثلج داخل الخلية- يخل بوحدة الخلية ويودي الى موتها وهذا النوع يحدث في النباتات الرهيفة التي تفنقد القدرة على التحمل، كما يحدث في النباتات التي لديها هذه القدرة ولكن قبل تطورها كما يعتقد أيضا انه يسبب اضرار لانسجة النباتات التي تتحمل البرودة الزائدة عندما تنخفض درجات الحرارة الى اقل من الدرجة التي يمكن ان تحيا عليها.

والنباتات التي تقاوم التجمد تستطيع تحمل تكوين الثلج خارج الجدر الخلوية extracellular freezing وفي مثل هذه النباتات يمكن لها ان تستعيد حالتها الأولى مرة أخرى دون حدوث اضرار ، والكثير من الانسجة النباتية باستثناء تلك التي تتحمل البرودة الزائدة تتحمل تكون الثلج خارج الجدر الخلوية. وبعض انسجة أنواع الفاكهة يمكنها الحياة حتى عند درجة حرارة النيتروجين السائل -196م وذلك اذا تم اقلمتها تماما، ومن هذه الانسجة قلف وبراعم التفاح، ومع ذلك فالكثير من الانسجة لا يمكنها التحمل حتى هذا المدى، ويحدث لها ضرر خلال حدوث التجمد الخارجي والسبب في حدوث الضرر خلال تكوين الثلج خارج الجدر الخلوية غير مفهوم على وجه الدقة الا انه يعتقد انه حدث كنتيجة لتغيرات كيميائية تحدث نتيجة سحب الماء او الضرر الميكانيكي الذي يحدثه الثلج بالخلية، ويختلف ضرر التجمد باختلاف الموسم، نوع اجهاد التجمد والجزء النباتي، وانخفاض درجات الحرارة خلال فترة سقوط البرد Snow دون تغطية سطح التربة يمكن ان يودي الى قتل أجزاء من الجذور والساق (التاج) الموجودة اسفل مستوى سطح التربة، والبراعم الزهرية خاصة للكثير من الأنواع التابعة للجنس Prunus ( الفواكه ذات النواة الحجرية) تكون حساسة لدرجات الحرارة



المنخفضة خلال الشتاء، يمكن القول ان جميع البراعم الثمرية تقريبا حساسة لبرودة الربيع وذلك بعد بداية نشاطها ونموها فهي تصبح معرضة للبرد الذي يحدث في أواخر الربيع ولا شك ان معرفة نوع الضرر والاجهاد الذي يحدثه له الأهمية في تحديد الاختبارات الملائمة لقياس تحمل البرودة.

الا ان العقبة الرئيسية التي تقف حائلا امام احداث تطور سريع في برامج التربية لانتاج نباتات مقاومة للاجهاد هي عدم الالمام الكافي بالعوامل المحددة داخل محصول معين ومنطقة بعينها والعمل المشترك مع برنامج الاجهاد الفسيولوجي والمعرفة الدقيقة للأسباب الحقيقية التي تؤدي الى خسارة المزارعين تعد أساسا للتغلب على تلك المشكلة، على سبيل المثال عند انتاج بعض أصناف التفاح لكي تتحمل برودة منتصف الشتاء مثل الصنف جولدن دليشس فانه يجب ان نضع في الاعتبار انه في المنطقة الشمالية من الولايات المتحدة الامريكية قد تتعرض الأشجار للموت اذا حدث انخفاض سريع في درجات الحرارة عما هو مخطط له او عما هو محدد في برنامج التربية لتحمل هذا الصنف.

وخلال فترة النمو النشط نجد ان النباتات يكون لها القدرة على تحمل البرد ولكن في الربيع عند توقف النمو يدخل النبات في دور الراحة ويزداد تحمله للبرودة وكما هو معروف ان كلمة راحة Rest تعني الحالة الفسيولوجية التي فيها لن يستطيع النبات النمو حتى لو توفرت جميع الظروف الخارجية الملائمة ولكن دور الراحة لا بد من تعريض النبات لفترة برودة تختلف من صنف لآخر ومن نوع لنوع اخر.

واكتساب تحمل البرودة يطلق عليه تاقلم acclimation وفقدانها يسمى نزع التاقلم او عدم التاقلم وكلا الحالتين التاقلم او عدمه كل منهما خطوات نشطة تبدأ بتأثير بعض المؤثرات

البيئية . ان بدايات التأقلم والراحة تبدأ بقصر النهار ، التغيير في نوعية الضوء ، وانخفاض درجة الحرارة، وفي الأنواع المتساقطة المتحملة نجد ان العمليات النشطة والتي من بينها التأقلم يناسبها درجات حرارة النهار الدافئة والماء الكافي، يبدو ان عدم التأقلم او فقده صفة غير عكسية طالما بدأ النبات في استعادة النمو في الربيع ، وعند اتباع الطرق المختلفة لاختيار العينات لاجراء اختبارات تحمل البرودة عليها، يجب ان نضع في الاعتبار التباين او التذبذب في تحمل البرودة وعليه يجب مقارنة الأصناف باجراء الاختبارات في نفس الموسم ونفس التاريخ.

وغالبا يختار المربي الوقت الذي يجري فيه اختبارات التجمد التي تلائم كل صنف، والوقت المناسب للاختبار يختلف من نوع لآخر .