الاسم المختصر	التقنية
DAF	DNA Amplification Fingerprinting
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
SSRs	Short Sequence Repeats
SSRs	Simple Sequence Repeats أو
STRs	Short Tandem Repeats أو
TGGE	Temperate Gradient Gel Electroporesis
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region Markers
AP-PCR	Arbitrarily-Primed PCR
AS-PCR	Allele Specific PCR
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
SSCP	Single Strand Conformational Polymorphism
µsat	Microsatellite

أهمية المُعلّمات الوراثية لمربى النبات

لكل طراز من المعلمات الوراثية أهميته الخاصة فى مجال تربية النبات، كما أن لها استعمالات عامة، كما يأتى بيانه.

أهمية المعلّمات الأيزوإنزيمية

إن للمعلمات الأيزوإنزيمية (الأللوزيمات) استعمالات كثيرة فى مجال تربية النبات، كما يلى:

١ – وصف وتمييز مجاميع الأصول الوراثية والأصناف التجارية.

تستعمل المعلمات الأيزوزيمية – فى مجال مجاميع الأصول الوراثية – فيما يلى:

أ – وصف العشيرة أو الصنف.

ب – تحديد الاختلافات الوراثية بين الأفراد أو الأصناف.

جـ – تحديد العلاقة والقرابة الوراثية phylogenetic relationships داخل النوع

د – تحليل مسارات الهجرة للنوع من مراكز النشؤ.

هـ - تحديد السلالات المتكررة.

و - المساعدة فى تخطيط رحلات استكشاف الجيرمبلازم الجديدة.

هذا .. ويمكن تقسيم المحاصيل الزراعية الهامة حسب مدى التباينات فى الأللوزيمات التى أمكن التعرف عليها فى كل من مجاميع الجيرمبلازم وبين الأصناف إلى الفئات التالية:

أ - محاصيل ذات تباينات أللوزيمية كبيرة فى كل من مجاميع الجيرمبلازم وبين الأصناف، وتتضمن البصل، والكرنبيات، والتفاح، والعنب، والذرة.

ب - محاصيل ذات تباينات أللوزيمية كبيرة فى مجاميع الجيرمبلازم، ولكن بدرجة أقل بين الأصناف، وتتضمن: الكوسة، والفراولة، والشعير، والعدس، والبسلة، والقمح.

جـ - محاصيل ذات تباينات أللوزيمية كبيرة فى مجاميع الجيرمبلازم، ولكن بدرجة قليلة جدًا بين الأصناف، وتتضمن: الفلفل، والطماطم.

د - محاصيل ذات تباينات أللوزيمية قليلة نسبيًا فى كل من مجاميع الجيرمبلازم وبين الأصناف، وتتضمن: الفول السودانى، والشوفان، والبنجر، والباباظ، والقرطم، والكستناء، والحمضيات، والجوز، والزيتون، والأرز، والزبدية، والفاصوليا، ونخيل البلح، والكمثرى، والفجل، وقصب السكر، والراى، والسورجم، والبطاطس، والفاصوليا.

هـ - محاصيل ذات تباينات أللوزيمية قليلة نسبيًا فى مجاميع الجيرمبلازم، وقليلة جدًا بين الأصناف، وتتضمن: الخيار، والقاوون، والكريز، والبرقوق.

ولقد استعمل تحليل الأللوزيمات فى تعريف وتمييز عدد كبير من أصناف الكثير من المحاصيل الزراعية. ويتطلب الأمر للاستفادة من تلك التقنية لهذا الغرض توفر تباينات أللوزيمية كبيرة بين الأصناف، وهو الأمر الذى لم يتحقق فى محاصيل مثل الطماطم، والفلفل، والخيار.

٢ - التأكد من كون الأصناف الهجين هجينة بالفعل.

٣ - تعليم بعض الجينات التى تتحكم فى صفات بسيطة هامة (جدول ٩-١).

٤ – تحليل حالات التضاعف الثلاثى triploidy والتضاعف غير التام aneuploidy

٥ – تحليل تباينات مزارع الأنسجة somaclonal variation

٦ – تحليل أنساب الأصناف والسلالات، خاصة فى محاصيل الفاكهة

٧ - تحديد درجة الخلط الوراثى heterozygosity المسئولة عن قوة الهجين heterosis

٨ – تحديد مستوى التضاعف.

٩ – تحليل الصفات الكمية والتعرف على الجينات المسئولة عنها.

١٠ – وضع الخرائط الكروموسومية.

١١ – توفير فرصة أفضل لنجاح التهجينات البعيدة فى تحقيق أهدافها باختيار نباتات الجيل الثانى والأجيال التالية التى تحتوى – بالإضافة إلى الصفة التى يُراد نقلها من النوع البرى – على أكبر قدر من أيزوزيمات النوع المزروع (عن Weeden ١٩٨٩).

جدول (٩–١) المعلمات الأيروزيمية المستخدمة فى تحديد جينات تتحكم فى صفات هامة (عن Weeden ١٩٨٩)

المحصول	جين الأيزوزيم	الصفة المعلمة (والجين المسئول عنها)
الطماطم	Aps-1	المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور (Mi)
	Prx-2	العقم الذكرى (Ms)
	Prx-1	عدم التوافق الذاتى (S)
البسلة	Pgm-p	المقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا الأصفر (Mo)
	Idh	التخصص الفسيولوجى لسلالات الرايزوبيم (Sym-2)
	Adh-2	المقاومة لفيرس Pea enation mosaic (En)
	Est-S	المقاومة للسلالة رقم ١ من الفيوراريم (Fw)
التبغ	Prx-1	عدم التوافق
	Prx-7	عدم التوافق
الدرة	Acp-1	المحصول (صفة كمية)
	Acp-4	المحصول (صفة كمية)
الطماطم	Pgi-1	تحمل البرودة (صفة كمية)
الكوسة	Aldo-2	المقاومة لفيرس موزايك البطيخ رقم ٢ (صفة كمية)

أهمية تحليل الـ RFLP

يستخدم تحليل الـ RFLP فى مجال تربية النبات لتحقيق الأهداف التالية:

١ - تبيان العلاقات بين مختلف سلالات الأصول الوراثية.

٢ - تعليم الجينات المفردة التى تتحكم فى الصفات الهامة.

٣ - تحليل الصفات الكمية ذات الأهمية الاقتصادية إلى جيناتها المفردة التى تتحكم فيها ومعرفة مواقعها الكروموسومية.

لقد أدى الربط بين الصفات الكمية وخريطة الـ RFLP إلى حدوث تقدم كبير فى التربية لتحسين تلك الصفات، وكانت الطماطم هى المحصول "الموديل" الذى أجريت عليه أولى الدراسات فى هذا المجال، والتى تضمنت المقاومة للحشرات، ومحتوى الثمار من المواد الصلبة الذائبة، وكفاءة استعمال مياه الرى (عن Briggs ١٩٩٢، و Helentjaris ١٩٩٢).

أهداف التربية الجزيئية

إن من بين أهداف التربية الجزيئية molecular breeding (التى تعتمد فى إجرائها على المعلمات الجزيئية)، ما يلى:

١ - توفير مُعَلّمات جزيئية للصفات المرغوب فيها، مثل المقاومة للأمراض، وتحمل الشد البيئى، والمحصول العالى، وامتصاص العناصر والاستفادة منها بكفاءة ... إلخ لأجل برامج تحسين المحاصيل.

٢ - تطوير أدوات للتعرف على سلالات مسببات الأمراض التى توجد بالنبات والتربة وتقدير كثافة تواجدها.

٣ - تطوير المحاصيل الزراعية من خلال إجراء تحويرات فى مسارات أيضية معينة سواء أكانت خاصة بالنمو والتطور، أم بتمثيل مركبات كيميائية معينة.

٤ - تطوير معلمات جزيئية للتعرف على نوعية المنتج، مثل لون الدقيق (الطحين)، وتركيب النشا والبروتين فى الحبوب.

٥ – المساعدة فى تحسين الاختبارات الحيوية الخاصة بالسلوك المحصولى وزيادة سرعتها (عن Tajı وآخرين ٢٠٠٢).

التعرف على الجينات المرغوب فيها ورسم الخرائط الكروموسومية الجزيئية

يستفيد مربى النبات من المُعلِّمات الجزيئية molecular markers فى التعرف على الجينات التى تتحكم فى صفات معينة، وهى الجينات التى لا تعطى تأثيرًا واضحًا ومميزًا بسهولة على الشكل المظهرى، فتلك الصفات تصعب ملاحظتها، ولا يكون فيها الشكل المظهرى الواضح للعيان ممثِّلاً تمثيلاً صادقًا للتركيب الوراثى للفرد.

ومن أمثلة تلك الصفات التى يفيد فيها استعمال المعلمات الجزيئية، ما يلى:

١ – صفات المقاومة للأمراض والحشرات التى لا تظهر إلاّ إذا تعرض الفرد للإصابة بالمسبب المرضى المعنى، أو بالحشرة المعنية.

٢ – صفة العقم الذكرى التى لا يمكن التعرف عليها قبل مرحلة الإزهار

٣ – صفات جودة الحبوب والثمار التى تبقى غير معروفة حتى نضج الحبوب أو الثمار.

٤ – الصفات الكمية، مثل المحصول، والتبكير، والتأقلم . والتى لا يمكن أبدًا إرجاعها إلى جينات محددة من مجرد دراسة الشكل المظهرى للفرد.

وفى جميع تلك الصفات وأمثالها يسعى المربى إلى انتخاب النباتات المرغوب فيها على أساس خاصية يسهل ملاحظتها أو بالاستعانة بالمعلمات التى ترتبط بالجينات التى تتحكم فى تلك الصفات وعلى الرغم من أن المربى يربط فى بعض الحالات بين الصفات المورفولوجية والجينات التى تتحكم فى صفات معقدة، إلا أن العدد المتوفر من تلك المعلمات المورفولوجية morphological markers محدود للغاية، بحيث لا يمكن الاعتماد عليها كدليل لكل جزء من دنا الفرد، وخاصة فيما يتعلق بالصفات الكمية، إلاّ أن الأمر يختلف بالنسبة للمعلمات الجزيئية.

إن رسم الخريطة الكروموسومية بالاعتماد على المعلمات الجزيئية – فيما يعرف بالخريطة الجزيئية – أصبح أمرًا ميسورًا بالنسبة لعديد من الأنواع النباتية؛ نظرًا لتوفر أعداد كبيرة جدًّا من المعلمات الجزيئية، مثل معلمات الدنا، التى تستخدم فى دراسات ارتباط كل منها بالصفات الاقتصادية الهامة. ونظرًا لأن تحديد تلك الخرائط والتعرف على الوضع النسبى لكل جين ومدى ارتباطه بالمعلمات الجزيئية يتطلب إجراء حسابات كثيرة للغاية؛ لذا .. فإنه يُعتمد لأجل تحقيق ذلك على برامج كمبيوتر خاصة، مثل برنامج MAPMAKER.

ويعد تحديد مواضع الجينات الاقتصادية الهامة بالنسبة إلى معلم وراثى معروف أمرًا ضروريًّا لعزل هذا الجين، وتحليله، وإكثاره، ونقله إلى أى تركيب وراثى مرغوب فيه.

رسم الخرائط الكروموسومية: المبدأ والطريقة

تقع الجينات على الكروموسومات فى صف طولى وفى أماكن ثابتة منها، بحيث يمكن تحديد مواقعها بالنسبة لبعضها البعض. وتعرف عملية تحديد تلك المواقع باسم رسم الخرائط الجينية، وهو أمر مهم فى عملية عزل الجينات وتداولها فى تقنيات الهندسة الوارثية. هذا .. وتشكل كل الجينات التى تقع على كروموسوم ما مجموعة ارتباطية، بحيث يقود التعرف على أى جين منها إلى تحديد الكروموسوم المعنى.

ويعتمد تعيين جين جديد إلى مجموعة ارتباطية على علاقته – عند النقل – بأى من الجينات فى تلك المجموعة الارتباطية. ويدل انعدام الانعزال المستقل لجينين أو أكثر على وجودهما معًا على كروموسوم واحد، إلا أن العكس لا يكون دائمًا صحيحًا؛ لأن الجينات التى تقع على كروموسومات مختلفة، وتلك التى تقع متباعدة على نفس الكروموسوم (< ٥٠ سنتى مورجان cM) يمكن أن تُظهر انعزالاً حرًّا. وفى حالات كهذه يتعين استعمال جينات إضافية معلمة، أو سلالات خاصة (cytogenetic stocks) – مثل االسلالات ذات التعدد الكروموسومى غير التام aneuploids – فى عملية التحليل الوراثى.

يُشكل الموضع الحقيقي للجينات على امتداد الدنا (والتي تتحدد بالـ kbp) ما يعرف باسم الخريطة الفيزيائية physical map، بينما تُشير الخريطة الوراثية genetic map إلى الموقع النسبي للجينات الذى يتحدد من معدل الانعزالات الآليلية لجينين تنعزل الجينات الواقعة على كروموسوم ما عن طريق تكوين كيازما chiasmata يعنى تكوين كيازما واحدة بين جينين تكوين ٥٠٪ تراكيب انعزالية جديدة، ويُعطى طول الجزء الكروموسومى بينهما – فى المتوسط – القيمة ٥٠ سنتى مورجان وعمليًا فإن عدد التراكيب الانعزالية - وليس تكوين الكيازمات بين جينين – هو الذى يقرر المسافة الوراثية بينهما فمثلاً .. يعنى تكوين تراكيب انعزالية بنسبة ٢٠٪ وجود كيازمات بين الجنين بمعدل ٠,٤ (ناتج ٢٠/١٠٠)، والتى يحسب منها طول الجزء الكروموسومى بين الجينين هكذا

المسافة بين الجينين = ٠,٤ × ٥٠ = ٢٠ سنتى مورجان

يعنى ذلك أن معدل الانعزالات يمكن اتخاذه دليلاً مباشرًا على المسافة الوراثية بين الجينات التى تقع على كروموسوم ما، لكن ذلك الاستنتاج لا يكون دائمًا صحيحا، لأن معدل الانعزالات ذاتها ليس سوى انعكاس للكيازمات (أى لتبادل الأجزاء الكروموسومية) ومن الأمور المسلم بها أن ظهور كيازما فى جزء من الكروموسوم يعيق تكوين كيازما أخرى فى جزء آخر منه، فيما يعرف بظاهرة الإعاقة interference وفى واقع الأمر أن الإعاقة تكون كاملة فى المسافات الكروموسومية التى لا تزيد عن ١٥ سنتى مورجان، وذلك فى معظم الكائنات الحية، فمثلا لو كان لدينا ثلاثة جينات A، و B، و C – بهذا الترتيب على الكروموسوم الحامل لهم – فإن العبور بين A، و B يقلل من نسبة العبور الممكنة بين B، و C وبذا .. فإن معدل العبور فى الأجزاء المختلفة من الكروموسوم لا يمكن إضافتها إلى بعضها البعض لتشكل المسافة الإجمالية بالسنتى مورجان، بمعنى أن العلاقة البسيطة بين نسبة التراكيب العبورية والمسافة الكروموسومية بالسنتى مورجان (حيث يفترض أن ١٪ تراكيب عبورية تعنى ١ سنتى مورجان) لا يمكن تطبيقها بتلك البساطة وعمليًا .. تُحَوَّل نسبة التراكيب العبورية إلى

مسافة بالسنتى مورجان من خلال ما يعرف باسم mapping function، حسب المعادلة التالية:

$$p = \frac{1}{2}(1-e^{-\mu})$$

أو $$\mu = \log_e(1-2p)$$

حيث إن:

p = نسبة التراكيب العبورية.

μ = نسبة الكيازمات أو العبور.

e = الأساس للوغاريتم الطبيعى.

ونظرًا لأن الكيازما الواحدة تعنى ٥٠٪ تراكيب عبورية، ومن ثم ٥٠ سنتى مورجان، فإن ٥٠μ لقيمة معينة من p تعطى المسافة الوراثية بين الجينات. ويتطلب رسم خريطة كاملة لأى مجموعة عبورية تحليل الانعزالات لعدد كبير من الجينات. كما يتطلب رسم الخرائط الكروموسومية للمعلمات الجزيئية – التى تتواجد بوفرة – حسابات كثيرة جدًّا تجرى عادة باستعمال برامج حاسوب خاصة مثل الـ MAPMARKER، والـ JOIN MAP وغيرهما (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

رسم خرائط الجينات المتحكمة فى الصفات الكمية

إن رسم الخرائط الكروموسومية الكاملة للـ polygenes التى تتحكم فى الصفات الكمية أصبح أمرًا ممكنًا باستخدام المعلمات الجزيئية عن طريق ما يعرف بالـ Quantitative Trait Loci Mapping (اختصارًا: QTL mapping)؛ وبذا .. يمكن تداول تلك الجينات – ذات التأثير المحدود لكل منها على الصفة الكمية – كالجينات الرئيسية التى تتحكم فى الصفات البسيطة، بعدما كان أقصى ما يمكن معرفته – من خلال دراسات الوراثة الكمية – أخذ فكرة عامة عن عددها وطريقها فعلها الجينى؛ علمًا بأن الجينات التى تتحكم فى الصفة الواحدة تتوزع غالبًا على عدة كروموسومات، وربما تتوزع على كل الهيئة الكروموسومية للكائن الحىّ.

كذلك يمكن عن طريق الـ QTL mapping تحديد العدد الدقيق للجينات التى تتحكم

فى أى صفة كمية، وأيها ذات تأثير متعدد، وأيها أقوى تأثيرا على الصفة، وهل هى تتوزع عشوائيًا فى الهيئة الكروموسومية أم تتجمع فيما يعرف بالبقع (الكروموسومية) الساخنة hot spots، وكيف تُحدث كل منها تأثيرها .. بطريق مباشر، أم من خلال بعض المركبات، هذا بالإضافة إلى إمكانية الحصول على معلومات عن أسباب قوة الهجين،ودور كلا من السيادة الفائقة والتفوق فيها، وكذلك إمكان دراسة التفاعل الوراثى البيئى بطريقة أكثر دقة.

ومن خلال الـ marker-assisted selection يمكن إسراع الانتخاب فى برامج التربية لتحسين الصفات الكمية وجعله أكثر فاعلية (Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

إن المعلمات الجزيئية ليست سوى أجزاء صغيرة محددة من الدنا، ولا تمثل أى جينات؛ ومن ثم فليس لها أى تأثير متعدد على الصفات المدروسة، وهى تتوفر بكثرة شديدة فى أجزاء الهيئة الكروموسومية. وغالبيتها ذات سيادة مشتركة ولا تتأثر مطلقًا بالعوامل البيئية؛ بحيث أن التركيب الوراثى لأى معلم يمكن تحديده دونما أى خطأ وبسبب تلك الخصائص مجتمعة فإن المعلمات الجزيئية استعملت وتستعمل كثيرًا فى تحديد مواقع الجينات التى تتحكم فى الصفات الكمية.

ويتطلب رسم خرائط جينات الصفات الكمية QTL mapping، ما يلى:

١ - توفر خريطة كثيفة (مشبعة saturated) للمعلمات الجزيئية لتعريف وتحديد كل جزء صغير من الهيئة الكروموسومية

٢ - تكوين عشيرة مناسبة لرسم الخريطة الكروموسومية تكثر فيها الانعزالات للصفات الكمية، وذلك بتلقيح سلالات متباينة بشدة مورفولوجيا فى الصفة الكمية المعينة ومن السمات الضرورية فى تلك العشيرة أن يتوفر فيها حالة من عدم التوازن الارتباطى القوى عند المواقع المعلمة والآليات المتحكمة فى الصفات والمرتبطة بالمعلمات

ويمكن أن تستخدم لرسم خرائط الصفات الكمية عشائر الجيل الثانى، أو التلقيحات الرجعية، أو نباتات أحادية مضاعفة، أو سلالات انعزالية مرباة داخليًا.

إن من أكثر العشائر الوراثية استخدامًا فى رسم خرائط الجينات المتحكمة فى

الصفات الكمية الأجيال الانعزالية، وخاصة الجيل الثانى الناتج من التلقيح الذاتى لجيل أول حُصل عليه بتلقيح آباء أصيلة وراثيًا. كذلك استعمل جيل التلقيح الرجعى بين الجيل الأول وأحد الآباء لهذا الغرض. ويمكن اختيار سلالات الآباء على أساس تباينها الشديد فى الصفات الكمية موضع الدراسة، إلا أنه فى بعض المحاصيل - كالذرة - يتوفر - عادة - فى الجيل الثانى تباينًا وراثيًا واسعا على الرغم من احتمال تشابه سلالتى الآباء مورفولوجيًا. وبمتابعة انتقال كل مقطع كروموسومى بمعلمات معروفة، فإنه يمكن حصر كل الهيئة الكروموسومية - مقطعًا بمقطع - للمواقع الجينية المتحكمة فى الصفة الكمية والمزاملة للتباين فى أى صفة كمية مرغوب فيها كذلك فإن مدى إسهام كل مقطع كروموسومى فى التأثير على الصفة يمكن التعبير عنه كميًا بالطرق الإحصائية وباستعمال عدد كاف من المعلمات الوراثية الموزعة بتجانس على الهيئة الكروموسومية، مع وصف تأثير كل منها منفردًا وتفاعلاتها معا (عن Stuber ١٩٩٢).

هذا وتتميز عشائر الجيل الثانى بأن بها أقوى حالات عدم التوازن الارتباطى، كما أنها تتطلب عددًا أقل من النباتات لإجراء التحليل عما تتطلبه عشائر التلقيحات الرجعية. وعلى الرغم من أن عشائر الجيل الثانى والتلقيحات الرجعية تتميز بكونها أقوى فى حالات عدم التوازن الارتباطى عن السلالات النقية الانعزالية، فإن الأخيرة تتميز - نظرًا لكونها أصيلة وراثيًا - بإمكان إجراء عددًا أكبر من المكررات؛ بما يسمح بالحد من تأثير التفاعل بين التركيب الوراثى والبيئة على متوسطات قيم الصفات. ونظرًا لأن تلك السلالات تمثل عدة دورات من الانعزالات (التى تحدث أثناء التربية الداخلية للسلالات) .. فإنها تفيد فى التعرف على أجزاء صغيرة جدًا من الكروموسومات تكون قريبة جدًا من المعلمات الجزيئية. ويعنى ذلك أن الخرائط المستمدة من تلك السلالات تكون أكثر دقة عما فى الخرائط المستمدة من عشائر الجيل الثانى والتلقيحات الرجعية، هذا بينما نجد أن الخرائط المستمدة من السلالات الأحادية المضاعفة (وهى التى تكون ناتج انقسام اختزالى واحد) تكون أقلها وضوحًا.

ويستخدم فى تحليل خرائط الصفات الكمية إحدى طريقتين، هما:

- Single-marker analysis
- Interval mapping

وللإطلاع على التفاصيل الخاصة بهاتين الطريقتين، وبإجراء تحاليل رسم الخرائط الكروموسومية للصفات الكمية . يراجع Chahal & Gosal (٢٠٠٢).

وكما أسلفنا بيانه فإن عملية تربية النبات لتحسين الصفات الكمية تعتمد – حاليًا – على أساس الارتباط الوراثى المحسوب إحصائيًا بين معلمات الـ RFLP ومواقع الجينات التى تتحكم فى الصفات الكمية، ولقد طورت المبادئ التى تحدد تلك الارتباطات فى ثلاثة بحوث نشرت على الطماطم خلال الفترة من ١٩٨٧ إلى ١٩٩٣، إلاّ أنه فى مقال تناول تلك البحوث بالتشريح والنقد قدم Arunachalam & Chandrashekaran (١٩٩٣) ما يفيد بأن المفاهيم التى بنيت عليها التحاليل الإحصائية فيها لم تكن كافية أو ملائمة.

التطبيقات العملية فى مجال رسم الخرائط الكروموسومية الجزيئية

من بين أوائل الدراسات التى أجريت على رسم الخرائط الكروموسومية للصفات الكمية، دراسة أجريت على صفات حجم ثمرة الطماطم، ومحتواها من المواد الصلبة الذائبة ورقم الحموضة (الـ pH) بها أظهرت نتائج تلك الدراسة أنه باستخدام تقنيات رسم الخرائط الكروموسومية للصفات الكمية يمكن تحديد الجينات التى تتحكم فيها مثلما يكون عليه الحال فى الصفات المندلية. تم فى تلك الدراسة تحليل ٢٣٧ نباتًا من نسل تهجين رجعى بين الطماطم المزروعة *Lycopersicon esculentum* والنوع القريب *L chmielewskii* باستعمال ٧٠ موقع من الـ RFLP، وأمكن تحديد ٦ مواقع تتحكم فى حجم الثمرة، و ٥ مواقع للـ pH، و ٤ مواقع للمواد الصلبة.

وفى دراسات تالية أجرى التحليل على ٣٥٠ نباتًا من عشيرة جيل ثان لتلقيح أجرى بين الطماطم كأم، و *L. cheesmanii* كأب بالإضافة إلى بعض عائلات الجيل الثالث، وذلك فى ثلاثة أماكن. وفى تلك الدراسة أمكن التعرف على ٢٩ موقعًا جينيًا تتحكم فى كل من حجم الثمرة والـ pH ومحتوى المواد الصلبة الذائبة، منها ٤ مواقع جينية فقط أمكن تحديدها فى كل مواقع الدراسة. ويستفاد من ذلك أن دراسات تحديد مواقع الصفات الكمية التى تجرى فى موقع واحد لا تُظهر كل الجينات التى تتحكم فى تلك

الصفات. ولقد أظهرت تلك الدراسة وجود جينات رئيسية وأخرى ثانوية التأثير، كما أظهرت نوع الفعل الجينى (سائد - متنحى - إضافى) لكل موقع جينى. وكذلك تبين أن نسبة التباينات التى تحكمت فيها المواقع الجينية المكتشفة فى تلك الدراسة بلغت ٦٧٪ من التباينات الكلية فى صفة حجم الثمرة، و ٤٤٪ فى صفة المواد الصلبة الذائبة، و ٣٤٪ فى صفات pH الثمرة. أما بقية التباينات فى كل صفة فقد أرجعت إلى العوامل التالية

١ - أخطاء فى القياس.

٢ - مواقع كمية أخرى ذات تأثير صغير جدًا إلى درجة لم يمكن معها التعرف عليها بثقة فى عشيرة بهذا الحجم.

٣ - التفاعلات بين مواقع الجينات الكمية، حيث كانت تلك التفاعلات أضعف من أن يمكن التعرف عليها.

٤ - التفاعلات بين التراكيب الوراثية المفردة والبيئة (عن Young ١٩٩٦).

ولقد أمكن باستخدام مختلف طرق تقنيات الدنا تحديد مواقع أكثر من ١١٠٠ جينًا (حتى عام ١٩٩٥) على كروموسومات قمح الخبز (٤٢ كروموسوم)، كذلك حدثت تقدمات كبيرة مماثلة فى رسم الخرائط الوراثية الجزيئية فى محاصيل عديدة متنوعة، مثل: الذرة، والطماطم، والقطن، والأرز، والتبغ، والشعير، ولفت الزيت، ودوار الشمس (جدول ٩-٢)

ولاقى تحديد مواقع الجينات أكبر استعمال له فى مجال التربية لمقاومة الأمراض (جدول ٩-٣)، حيث أفاد - خاصة - فى تعريف مواقع أكثر من جين للمقاومة للمسبب المرضى الواحد، فيما يعرف باسم gene pyramiding، الأمر الذى يستحيل تحقيقه إلا فى وجود كافة سلالات المسبب المرضى التى تقاومها تلك الجينات (عن Law ١٩٩٥).

جدول (٩-٢): بعض الصفات الكمية التى تحدد جيناتها بالـ QTL analysis (عن Chopra ٢٠٠٠).

الحصول	الصفة	عدد المواقع الجينية للصفة	قدر الاختلافات المظهرية التى أمكن تفسيرها (%)
الذرة	ارتفاع النبات	٦	٧٣
	محصول الحبوب	٦	٦١
الطماطم	محتوى المواد الصلبة	٤	٤٤
	كتلة الثمرة (وزنها)	٦	٥٨
	pH الثمرة	٥	٤٨
الأرز	المقاومة للعصفة	١٠	٧٦
	موعد تكوين السنبلة	٥	٨٤
الفاصوليا العادية	المقاومة للفحة البكتيرية العادية	٧	٧٥
	عدد عقد الرايزوبيم الجذرية	٤	٥٠
فاصوليا المنج	وزن البذرة	٤	٥٠
	المقاومة للبياض الدقيقى	٣	٥٨
البسلة	المقاومة للفحة أسكوكيتا	٣	٧١
البطاطس	لون الشبس	٦	٥١
القطن	طول التيلة	٣	٣٠,٩
	استطالة التيلة	٢	٢١,١
فول الصويا	ارتفاع النبات	٢	٧٦,٧
	الرقاد	٣	٥٦,٤

كما أفادت المعلمات الجزيئية فى تحديد مواقع عديد من جينات المقاومة للحشرات، ومن أمثلة ذلك ما يلى (عن Duck & Evola ١٩٩٧).

الحشرة التى يتوفر لها جين المقاومة	الحصول
green leafhopper	الأرز
Russian wheat aphid	الشعير
bruchid	فاصوليا المنج
gall midge	الأرز
trichome-mediated resistance	البطاطس
European corn borer	الذرة

جدول (٩-٣): بعض الأمثلة لمعلمات جزيئية ترتبط بصفات المقاومة للأمراض والآفات فى بعض المحاصيل الزراعية (عن Chawla ٢٠٠٠).

المحصول		الآفة أو المسبب المرضى	جين المقاومة	الملعم الجزيئى
الأرز	Rice	*Pyricularia oryza*	Pi2(t), Pi-4(f)	RFLP
			Pi-10(t)	RAPD
		Xanthomonas oryzae	Xa21	RAPD
			Xa3, Xa4, Xa10	RFLP & RAPD
		Orseolia oryzae	Gm2, Gm4t	RAPD
القمح	Wheat	*Puccinia recondita*	Lr9, Lr24	RFLP & RAPD
		Erysiphe graminis	Pm1, Pm2, Pm3	RFLP
		Hessian fly	H21	RAPD
الذرة	Maize	Leaf blight	rhm	RFLP
الشعير	Barley	Stem rust	Rpg 1	RFLP
		Barley yellow mosaic	ym4	RFLP
		Rhyncosporium secalis		RFLP
		and barley mild mosaic virus		
		Erysiphe graminis		RFLP
لفت الزيت	*Brassica napus*	*Leptosphaeria maculans*		RFLP
البسلة	Pea	*Erysiphe polygoni*		RFLP
فاصوليا المنج	Mungbean	Bruchid *Callosobruchus*		RFLP
الطماطم	Tomato	*Fusarium oxysporum*		RFLP
		Cladosporium fulvum		RFLP
البطاطس	Potato	Cyst nematode		RFLP

التطبيقات العملية فى مجال تسهيل إجراء وزيادة كفاءة برامج التربية

يستفاد من المعلمات الجزيئية فى مجال تربية النبات فى الأمور التالية:

١ - الانتخاب المبنى على الارتباط بين الصفات المراد الانتخاب لها ومعلمات جزيئية خاصة، وهو ما يعرف باسم marker-assisted selection.

٢ – إسراع عملية التلقيح الرجعى – وخاصة عند الرغبة فى نقل الجينات من نوع لآخر – بالاعتماد على ارتباط الصفات التى يُراد نقلها بمعلمات جزيئية.

٣ – عمل بصمات وراثية (بصمة الدنا) لمختلف السلالات والأصناف النباتية، بما يفيد فى حفظ حقوق المربى

٤ – تقدير مدى التقارب أو التباعد الوراثى بين التراكيب الوراثية (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢) والتعرف على التباينات الوراثية فى الصفات المرغوب فيها.

٥ – اختبار نقاوة السلالات، والهجن، ولوطات البذور، وتحديد هويتها

٦ – اختيار الآباء المناسبة للهجن فى برامج التربية لإنتاج الأصناف الهجين، وعشائر الأساس لبرامج الانتخاب

٧ – انتخاب التراكيب الوراثية المتميزة المقاومة أو القادرة على تحمل ظروف الشدّ البيئى أو المرضى أو الحشرى .. إلخ

٨ – إجراء الانتخاب المبكر للصفات ذات درجات التوريث المنخفضة (عن Swarp & Swarp ١٩٩٣)

٩ - تحديد التراكيب الوراثية التى تحتوى على جين استعادة الخصوبة (عن Chawla ٢٠٠٠).

١٠ – عمل خرائط وراثية ذات كثافة عالية high density maps (مشبعة saturated) للمحاصيل الزراعية يمكن أن تسمح بتقييم كل جزء من الكروموسوم على مستوى جزئ الدنا، وبما يسهل على المربى – كثيرًا – مهمة التربية لتحسين الصفات الكمية، وذلك بتزويده بمعلومات عما يلى:

أ – عدد العوامل الوراثية المؤثرة فى الصفة الكمية المعنية.

ب – المواقع الكروموسومية لتلك الجينات، الأمر الذى يستحيل تحقيقه بالطرق الكلاسيكية.

جـ – الأهمية النسبية لكل جين فى التأثير على الصفة

فيمكن عن طريق المعلمات الجزيئية 'molecular 'tags – للجينات المتحكمة فى الصفات الكمية quantitative trait loci – تتبع الجينات فى الأجيال الانعزالية، مع المساعدة فى إجراء الانتخاب للجينات المعنية.

د – الانتخاب المبكر للانعزالات فائقة الحدود لأجل إسراع عملية تطوير الأصناف الجديدة وزيادة كفاءة عملية الانتخاب، ويعد هذا الأمر غاية فى الأهمية خاصة – بالنسبة للصفات الكمية

هـ – نقل الجينات من الجيرمبلازم البرى بقصر عملية النقل على أجزاء صغيرة من الكروموسومات تحتوى على الجينات المرغوب فيها بدلا من اللجوء إلى التهجينات النوعية

و – تحقيق ما يعرف باسم تجميع الجينات المتماثلة فى تأثيرها gene pyramiding فى تركيب وراثى واحد؛ الأمر الذى يصعب تحقيقه بالاعتماد على التحليل المظهرى.

١١ – عزل الجينات وإكثارها، ونقلها إلى التراكيب الوراثية المرغوب فيها.

١٢ – مقارنة الخرائط الجزيئية للأنواع النباتية المختلفة لأجل التعرف على العلاقة التطورية بينها (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

١٣ – تحسين الصفات النوعية:

عرفت واستخدمت ارتباطات بين معلمات جزيئية وصفات نوعية هامة، مثل الارتباطات التى وجدت بين معلمات RFLP والجين Fan الخاص بمحتوى حامض اللينولينك فى فول الصويا، وتلك التى وجدت بين معلمات الـ RAPD والتحكم فى تكوين الأجنة الجسمية فى البرسيم الحجازى (عن Chawla ٢٠٠٠)

١٤ – تحسين الصفات الكمية:

على الرغم من كثرة الدراسات التى أجريت على وراثة الصفات الكمية بالاعتماد على التحاليل الوراثية الكمية، فإن مربى النبات لا يتحصل من تلك الدراسات على معلومات عن:

أ – عدد العوامل الوراثية التى تتحكم فى تلك الصفات.

ب – مواقع الجينات على الكروموسومات.

جـ – مقدار الإسهام النسبى لكل من تلك الجينات فى التأثير على الصفة

وتوفر تقنيات المعلمات الوراثية الجزيئية فهما أفضل لجميع تلك الأمور، كما أنها تعطى المربى أداة قوية لرسم الخريطة الكروموسومية ولإحكام التعامل مع كل من الجينات المفردة التى تتحكم فى تلك الصفات الكمية، كما أنها توفر فهمًا لظواهر التفوق

epistasis، والتأثيرات المتعددة للجين pleiotropy، والأساس الوراثى لقوة الهجين heterosis ومن خلال تلك المزايا التى توفرها تقنيات المعلمات الوراثية الجزيئية للمربى فإنها يمكن أن تساعده بقوة فى تحقيق عملية الانتخاب للصفات المرغوبة بكفاءة عالية (Stuber ١٩٩٢)

١٥ – التربية لمقاومة الأمراض:

على الرغم من التقدم الهائل الذى حدث فى مجال التربية لمقاومة الأمراض والآفات، فإن مصاعب كثيرة تكتنف عملية الانتخاب للمقاومة، التى تتطلب إما إجراء عدوى صناعية، وإما الاعتماد على الأوبئة الطبيعية (أى ضرورة التعامل مع مسببات الأمراض ذاتها فى برامج التربية)، وما يرتبط بذلك من مشاكل جمة ليس أقلها ضرورة وصول المسبب المرضى أو الآفة لجميع النباتات المختبرة حتى لا تحدث حالات إفلات من الإصابة، وضرورة عدم زيادة مستوى المسبب المرضى أو الآفة عن الحد الذى يؤدى إلى كسر المقاومة، مع التنبيه إلى ما يمكن أن تحدثه العوامل البيئية من تأثيرات على أى من العائل أو المسبب المرضى. هذا إلى جانب أن الانتخاب للمقاومة بطرق التربية العادية يصعب معه – إن لم يستحيل أحيانًا – الاختبار للمقاومة لعدد من مسببات الأمراض أو الآفات فى آن واحد.

أما الاعتماد على الانتخاب الذى يجرى بمساعدة المعلمات الوراثية الجزيئية الشديدة الارتباط بجينات المقاومة المرغوب فيها فإنه يسمح بإجراء الانتخاب للمقاومة لعدة مسببات مرضية أو آفات فى آن واحد دونما حاجة لإجراء أى عدوى صناعية، أو الحاجة إلى نقل المسبب المرضى من مكان لآخر (الأمر الذى قد تمنعه قوانين الحجر الزراعى)، ولا يحتاج الأمر إلاّ إلى جزء يسير من النسيج النباتى من كل نبات يُراد اختباره، أما اختبارات المقاومة بالعدوى الصناعية فإنه يمكن تأجيلها إلى الأجيال المتأخرة من برنامج التربية ويعطى جدولا (٩–٤)، و (٩–٥) أمثلة على معلمات جزيئية ترتبط بصفات المقاومة لبعض الأمراض أو الآفات فى النباتات (عن Kelly ١٩٩٥، و Chawla ٢٠٠٠)، كما يعطى Michelmore (١٩٩٥) مزيدًا من الأمثلة على حالات مقاومة كمية للأمراض فى عدد من المحاصيل الحقلية ومحاصيل الخضر.

جدول (٩-٤): أمثلة لبعض جينات المقاومة للأمراض والآفات التي ترتبط بمعلمات جزيئية متنوعة (عن Michelmore ١٩٩٥).

المحصول		الآفة أو المسبب المرضي	جين المقاومة	المعلم الجزيئي
الطماطم	Tomato	*Meloidogyne incognita*	*Mi*	RAPD
			Mi3	RAPD, RFLP
		Leveillula taurica	*Lv*	RAPD, RFLP
		Oidium lycopersicon	*Ol1*	RAPD, RFLP
		Verticillium dahliae	*Ve*	RAPD
		Yellow leaf curl virus	*Tyl*	RFLP
البطاطس	Potato	*Globodera rostochiensis*	*H1*	RFLP
		Phytophthora infestans	*R1 & R3*	RFLP
الخس	Lettuce	*Bremia lactucae*	*Dm17 & 18*	RAPD, SCAR
			Dm8 & 10	RAPD, SCAR
		Plasmopara lactucae-radicis	*Plr*	RAPD, RFLP
		Turnip mosaic virus	*Tu*	RAPD, RFLP
فول الصويا	Soybean	Soybean mosaic virus	*Rsv*	µsat., RFLP
الفاصوليا	Common bean	*Uromyces appendiculatus*	*Up2*	RAPD
		Common bean mosaic virus	*I*	RAPD
البسلة	Pea	Pea seed-borne mosaic virus	*Sbm-1*	RFLP, RAPD
		Pea common mosaic virus	*mo*	RFLP,
		Erysiphe polygoni	*er*	RAPD,
		Fusarium oxysporum	*Fw*	& µsat
الذرة	Maize	*Bipolaris maydis*	*rhm*	RFLP
الشعير	Barley	*Rhynchosporium secalis*	*Rh*	RAPD
		Erysiphe graminis f. sp. hordei	*Ml(La)*	RFLP
		Barley yellow mosaic virus	*ym4*	RFLP
الشوفان	Oats	*Puccinia graminis*	*Pg3*	RAPD
		Puccinia coronata	*Pc68*	RAPD
القمح	Wheat	*Heterodera avenae*	*Cre*	RFLP
		Puccinia recondita	*Lr9*	RAPD

جدول (٩-٥): قائمة جزئية ببعض المواقع الجينية التى حددت لبعض حالات المقاومة للأمراض (QTL)، باستخدام تقنية الـ RFLP (عن Young ١٩٩٦)

المحصول والمسبب المرضى	عدد الـ QTLs التى أمكن تحديدها	نسبة ما تتحكم فيه تلك الجينات من التباينات الكلية (%)	ملاحظات
الشعير: البياض الدقيقى *Erysiphe graminis*	٢	٢٠	
الفاصوليا العادية: اللفحة البكتيرية *Xanthomonas campestris*	٧	٧٥	وجد أن أحد الجينات كان قريبًا من الموقع المسئول عن عدد عقد الرايزوبيم
الذرة: تبقع الأوراق الرمادى *Cercospora zeae-maydis*	<١٠	٥٨	
البسلة: لفحة أسكوكيتا *Ascochyta pisi*	٣	٧١	
البطاطس. النيماتودا المتحوصلة *Globodera rostochiensis*	٢	١٤	لم يظهر دليل على التفاعل بين الجينات
البطاطس: النندوة المتأخرة *Phytophthora infestans*	١١		كانت كل الجينات خاصة بسلالات معينة
الأرز: العصفة *Pyricularia oryzae*	١٠	٧٦	
الطماطم الذبول البكتيرى *Pseudomonas solanacearum*	٣	٨٢	
الطماطم. فيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم TYLCV	٣	—	وجد أن أحد الجينات كان قريبًا جدًّا للجين Mi المسئول عن المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور

ومن المزايا الهامة التى يمكن أن تحققها المعلمات الجزيئية فى مجال المقاومة للأمراض إحداث زيادة تدريجية فى أعداد الجينات الرئيسية والثانوية فى الأصناف التجارية؛ لأجل تطوير مقاومة قادرة على البقاء durable resistance، وهى العملية التى تعرف باسم "التهرم" أو "الإهرام" pyramiding. ومن المعروف أن مسببات الأمراض والآفات يمكنها التغلب على المقاومة التى يتحكم فيها جينات مفردة، ولكن عملية "إهرام" جينات المقاومة فى الصنف الواحد يجعل من الصعب على الآفة أو المسبب المرضى كسر المقاومة. وجدير بالذكر أن ذلك الأمر يتم بطرق التربية العادية بصورة غير مباشرة عن طريق اللجوء إلى الأصناف المتعددة السلالات التى تحتوى كل سلالة منها على أحد جينات المقاومة الخاصة بإحدى السلالات. أما "إهرام" جينات المقاومة - لنفس المسبب المرضى أو الآفة - فى الصنف الواحد فهو أمر يصعب تحقيقه بطرق التربية العادية نظرًا لصعوبة التعرف على جينات المقاومة الإضافية فى النبات اعتمادًا على تفاعل النبات مع المسبب المرضى أو الآفة فقط. أما عند اللجوء إلى الانتخاب المعتمد على المعلمات الجزيئية فإنه يمكن تتبع انعزالات جينات المقاومة الجديدة المضافة حتى فى وجود الجينات الأصلية؛ ومن ثم يمكن نقل عدة جينات للمقاومة من مصادر مختلفة إلى تركيب وراثى واحد. ومن الأمثلة الهامة التى استخدمت فيها تلك التقنية "إهرام" جينات المقاومة للفحة البكتيرية: Xa1، و Xa3، و Xa4، و Xa5، و Xa10 فى الأرز.

١٦ - التربية لمقاومة الحشرات:

تحقق المعلمات الجزيئية عديدًا من المزايا فى التربية لمقاومة الحشرات، كما يلى:

١ - يمكن استعمالها فى تحديد عدد الجينات المسئولة عن المقاومة، ومدى إسهام كل منها فى الصفة.

٢ - يمكن استعمالها - بمجرد تحديدها - فى الاختبار للمقاومة فى غياب الحشرة.

٣ - تفيد كثيرًا فى الانتخاب للمقاومة الأفقية التى يتحكم فيها عديد من الجينات (عن Duck & Evola ١٩٩٧).

محددات الاعتماد على المعلمات الجزيئية فى تربية النبات

إن من أهم محددات استعمال المعلمات الجزيئية فى تربية النبات ما يلى

١ – احتياجها لوقت وجهد كبيرين لأجل إجراء التحليل الوراثى، وما يعنيه ذلك من تكلفة عالية.

٢ – عدم وجود تعدد آليلى polymorphism فى بعض المحاصيل، الأمر الذى يستلزم اللجوء إلى التلقيحات البعيدة جدًا، وخاصة فى الأنواع الذاتية التلقيح، بما فى ذلك القمح

مصادر إضافية

لمزيد من المعلومات حول المعلمات الوراثية وتطبيقاتها فى مجال تربية النبات يراجع ما يلى

المرجع	الموضوع
Weeden (١٩٨٩)	تطبيقات الأيزوإنزيمات فى تربية النبات
Helentjaris (١٩٩٢)	استخدام تحليل الـ RFLP فى دراسة الصفات النباتية الهامة
Stuber (١٩٩٢)	استخدام المعلمات الوراثية الكيميائية الحيوية والجزيئية فى تربية النبات
Bretting & Widrlechner (١٩٩٥)	المعلمات الوراثية وتطبيقاتها فى حفظ جيرملازم المحاصيل البستانية
Kelly (١٩٩٥)	استخدامات الـ RAPD فى التربية لمقاومة الأمراض التى يتحكم فيها جين رئيسى.
Michelmore (١٩٩٥)	استخدام المعلمات الوراثية الجزيئية فى مجال التربية لمقاومة الأمراض.
Lee (١٩٩٥)	استخدام معلمات الدنا فى برامج تربية النبات
Staub وآخرون (١٩٩٦)	استخدامات المعلمات الوراثية الجزيئية فى تربية النبات.
Young (١٩٩٦)	رسم خرائط جينات الصفات الكمية، وخاصة صفات المقاومة للأمراض
Kelly & Miklas (١٩٩٩)	استخدام المعلمات الجزيئية فى الانتخاب للصفات الهامة فى الفاصوليا
Charcosset & Moreau (٢٠٠٤)	استخدام المعلمات الجزيئية فى تربية الأصناف الجديده وتقييم التباينات الوراثية