٤ – قد تركز الشركات المنتجة للجيرمبلازم الجديد على الأصناف التى يلزمها معاملات خاصة بمواد تنتجها تلك الشركات.

٥ – قد ينتج صاحب حق الحماية للصنف الجديد كمية قليلة من البذور بهدف رفع أسعارها.

٦ – عدم إتاحة الجيرمبلازم الجديد المتميز للمؤسسات البحثية الحكومية إذا أرتات شركات القطاع الخاص المنتجة له ذلك

٧ – بطء انتشار زراعة الأصناف الجديدة المتميزة نظرًا لعدم السماح بتداولها بين المزارعين.

٨ – عدم قدرة الشركات الصغيرة الناشئة على المنافسة (عن King ١٩٩١، و Singh ١٩٩٣، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

هذا .. وقد أعطى المؤتمر الدولى للتباين البيولوجى International Convention on Biological Diversity (اختصارًا: ICBD) – الذى عقد فى عام ١٩٩٣ – أعطى للدول الموقعة عليه (أكثر من ١٧٠ دولة) الحق فى السيطرة على ثراوتها الوراثية، وكذلك فى الحصول على ما يكون قد نقل منها من قبل، والمشاركة فى الفوائد التى تحققت منها (عن Singh ١٩٩٣).

وبذا .. فإن وثيقة مؤتمر التباين البيولوجى تُسهم فى الحفاظ على الثروة النباتية لكوكب الأرض، وحمياتها، والمشاركة فيها، وتعد هى المعاهدة الدولية الأولى التى تهتم بالتطور المستدام sustainable development للثروة النباتية، حيث تتناول كلاً من الأنواع البرية والمزروعة (عن Chopra ٢٠٠٠).

وسائل التمييز بين الأصناف والتعرف عليها

لما كان تحديد صفات الصنف الجديد، والتمييز بينه وبين الأصناف القريبة منه يعد شرطًا أساسيًا للحصول على براءة تسجيل لهذا الصنف؛ لذا .. نشط البحث العلمى فى هذا المجال؛ نظرًا لأن الوصف المورفولوجى للأصناف الجديدة لم يعد كافيًا، واستخدمت عدة طرق أخرى؛ للتمييز بين الأصناف، نذكر منها ما يلى:

التمييز أو التقسيم على أسس كيميائية

من أمثلة الطرق الكيميائية (chemotaxonomy) التى استخدمت بنجاح، ما يلى:

١ – اختبار الفينول فى القمح.

٢ – اختبار الاستشعاع fluorescence فى الزوان ryegrass.

٣ – اختبارات الكروماتوجرافى للمواد الفلافونية flavonoid pattern فى الأغلفة البذرية الفاصوليا، وفى بادرات الفاصوليا والبطيخ والخيار، والفول الرومى والبسلة والسبانخ، وأزهار الفول الرومى. وكانت المحاولات ناجحة فى هذه المحاصيل، إلا أن الطرز الفلافونية لم تستخدم – منفردة – فى تمييز أصناف هذه المحاصيل (George ١٩٩٩).

٤ – استخدمت تقنية الـ Ion exchange (LE)-HPLC فى التمييز بين الأصناف من خلال تحديدها للـ protein profile فى بذور بعض المحاصيل، مثل البروكولى والقنبيط (Mennella وآخرون ١٩٩٦).

اختبار الفصل الكهربائى

يتم فى هذا الاختبار فصل مركبات مميزة للصنف فى جل يسرى به تيار كهربائى (اختبارات الـ Electrophoresis).

ومن الأمثلة الناجحة لتمييز الأصناف بهذه الطريقة ما يلى:

١ – اختبار الـ starch gel electrophoresis فى القمح.

٢ – استخدمت هذه الطريقة بنجاح كذلك فى تمييز أصناف الفراولة، ففى ولاية كاليفورنيا الأمريكية .. حصلت جميع الأصناف التى أنتجت منذ عام ١٩٦٨ على براءة تسجيل. وتمكن Bringhurst وآخرون (١٩٨١) من استخدام الـ starch-gel electro-phoresis فى التمييز بين عدد كبير من هذه الأصناف؛ حيث تبين اختلاف ١٤ صنفاً – من أصل ٢٢ صنفاً منها – فى الـ isoenzyme pattern لثلاثة إنزيمات هى: PGI، و LAP، و PGM.

٣ – توصل Hussain وآخرون (١٩٨٦) إلى طريقة أمكن بواسطتها التمييز بين أصناف الفاصوليا. وتعتمد هذه الطريقة على فصل أنواع البروتينات التى توجد فى البذور بالـ

electrophoresis؛ حيث كانت الـ banding patterns ثابتة لكل صنف. وقد استخدم الباحثون جلاً خاصًا هو الـ SDS polyacryl-amide gel.

الطرز المتشابهة من الإنزيمات

إن الطرز المتشابهة من الإنزيمات (الأيزوزيمات) isozymes هى طرز جزيئية molecular forms مختلفة لإنزيم واحد، يُتحصل عليها من نسيجٍ ما للكائن الحىّ. وتنفصل هذه الطرز عادة عن بعضها إذا تعرضت لتيار كهربائى وهى فى جل؛ حيث ترحل خلال الجل بدرجات متفاوتة، ثم يمكن تحديد مواقعها، ورؤيتها؛ بوضع الجل فى محلول مناسب للمادة التى يعمل عليها الإنزيم substrate، ثم صبغ الناتج النهائى للتفاعل. وتؤدى هذه الطريقة إلى تكوين أحزمة bands مستقلة؛ يتحدد موقعها فى الجل لكل من شحنة الإنزيم المشابه isozyme، ووزنه الجزيئى. وغالبًا ما يستعمل فى الاختبار العصير الخلوى الطبيعى الذى ينتج من عصر النسيج النباتى.

ونظرًا لأن كل إنزيم يتحكم فى تكوينه جين معين بشكل مباشر؛ لذا .. فإن هذه الطريقة تعطى الدليل المباشر على وجود الجين، بدلاً من دراسة تأثيره الظاهرى، أو الفسيولوجى. وهى طريقة سهلة، وسريعة، ويمكن استخدامها فى تعرف وجود أى جين فى أطوار النمو المبكرة، حتى فى البذور ذاتها أحيانًا. ويعد تمييز الأصناف أحد الاستخدامات المهمة لاختبارات الإنزيمات الشبيهة isozymes.

ومن الاستخدامات المهمة الأخرى للإنزيمات الشبيهة أنها قد تكون شديدة الارتباط بجينات مهمة، وتنعزل معها دائمًا؛ وبذا .. يمكن التعرف على النباتات الحاملة لهذه الصفات؛ وذلك بالتعرف على الإنزيمات الشبيهة المرتبطة بها. ومن أمثلة ذلك الارتباط الشديد الذى وجد فى الطماطم بين الموقع الجينى الذى يتحكم فى الإنزيم acid phosphatase (الجين Aps-1)، وجين المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور Mi.

وقد اكتشفت المقاومة للنيماتودا فى إحدى سلالات النوع البرى *Lycopersicon peruvianum*، وكانت المقاومة مرتبطة – دائمًا – بحزام الـ *acid phosphatase* أما الهجن بين *L. peruvianum*، و *L. esculentum* فقد احتوت على الأحزمة الأبوية. وحزام آخر "هجين" يظهر دائمًا فى موضع وسطى بينها. ويمكن التعرف على التراكيب

الوراثية الثلاثة (المقاوم الأصيل، والقابل للإصابة الأصيل، والهجين) بسهولة باختبار الإنزيمات الشبيهة للعصير الخلوى الذى يمكن الحصول عليه من أى نسيج نباتى (الجذور، أو السيقان، أو الأوراق) فى أى مرحلة للنمو (Rick ١٩٨٢). ولمزيد من التفاصيل عن الإنزيمات الشبيهة، واختباراتها، واستخداماتها فى مجال الدراسات الوراثية وتربية النبات .. يراجع Jacobs (١٩٧٥ أ، و ١٩٧٥ ب).

وقد استخدمت تقنية فصل الأيزوزيمات وتحديد طرزها isozyme patterns فى تمييز أصناف محاصيل عديدة أخرى، منها: الأسبرجس (Lallemand وآخرون ١٩٩٤).

تقنيات الدنا

كثر استخدام تقنيات الدنا (الـ DNA) فى تحديد البصمة الوراثية للأصناف، ومن بين التقنيات التى استخدمت فى هذا المجال ما يلى:

تقنية الـ RAPD:

استخدمت تقنية الـ random amplified polymorphic DNA (اختصارًا: RAPD) فى تمييز أصناف محاصيل عديدة، منها: البطاطس (Mori وآخرون ١٩٩٣)، والكرنب (Cansian & Echeverrigaray ٢٠٠٠)، والفلفل (Ilba ٢٠٠٣)، والقنبيط (Boury وآخرون ١٩٩٢).

تقنية الـ AFLP

استخدمت تقنية الـ amplified fragment length polymorphism (اختصارًا: AFLP) فى تمييز أصناف بعض المحاصيل، منها الثوم (Garcia-Lampasona وآخرون ٢٠٠٣).

تقنية الـ PCR-DAF

استخدمت تقنية الـ polymerase chain reaction (PCR)-based DNA amplification fingerprinting (DAF) فى تمييز أصناف البطاطا (Prakash وآخرون ١٩٩٦).

إكثار تقاوى الأصناف الجديدة

تمر البذور بأربع مراحل أثناء إكثارها قبل أن يقتنيها المزارعون، وهى كما يلى:

١ – بذور المربى Breeder Seed:

إن بذور المربى هى كمية صغيرة من البذور، يشعر المربى أنها تمثل الصنف الجديد تمثيلاً صادقًا. وتتوقف الكمية المناسبة من بذور المربى على حجم بذور النوع المحصولى، وتتراوح من كيلو جرام واحد، أو أقل إلى عدة أجولة، وتبلغ فى حالة الحبوب الصغيرة – مثلاً – من ٤٠٠–٥٠٠ كجم. تسلم هذه البذور إلى هيئة خاصة لإكثارها. وتقع على المربى مسئولية المحافظة على بذور المربى مادام الصنف مستخدمًا فى الزراعة.

٢ – بذور الأساس Foundation Seed:

تزرع بذور المربى فى حقل لا يتوقع أن تظهر به نباتات من نفس النوع Volunteer Plants، ويحافظ عليه خاليًا من الحشائش، مع المرور فيه عدة مرات خلال الموسم؛ للتخلص من النباتات غير المطابقة لصفات الصنف. ويطلق على البذور الناتجة اسم بذور الأساس. وقد تنتج بذور الأساس من بذور أساس مماثلة سبق إنتاجها، أو تنتج – سنويًا – من بذور المربى. وقد تستعمل بذور الأساس فى إنتاج البذور المعتمدة مباشرة، أو فى إنتاج البذور المسجلة.

٣ – البذور المسجلة Registered Seed:

تنتج البذور المسجلة بالإكثار المباشر لبذور الأساس. ويقوم المزارعون – عادة – بعملية الإكثار بعد التعاقد مع شركات البذور، ويلزم إجراء بعض الفحوص والاختبارات الحقلية والمعملية؛ للتأكد من نقاوة الصنف، وخلوه من الأمراض الهامة. وقد تنتج البذور المسجلة من بذور مسجلة مماثلة منتجة فى سنوات سابقة، أو يتم إنتاجها – سنويًا – من بذور الأساس.

٤ – البذور المعتمدة Certified Seed:

تنتج البذور المعتمدة بالإكثار المباشر لبذور الأساس، أو البذور المعتمدة، ويكون إنتاجها تحت ظروف خاصة من الزراعة والعزل، وتخضع لاختبارات حقلية ومعملية خاصة، وللقوانين المنظمة لإنتاج البذور.

هذا .. ويمكن إدخال الهجن كذلك فى برنامج تصديق البذور؛ بإدخال الآباء للاعتماد إلا أن معظم شركات البذور تقوم بهذه المهمة بمعرفتها.

يتبين من خطوات إكثار التقاوى أنه يمر حوالى ٤ سنوات بين إنتاج الصنف الجديد، وإنتاج كميات من تقاويه، تكفى للتوزيع على المزارعين (عن Briggs & Knowles ١٩٦٧).