

## المُعَلَّمات الوراثية والتربية الجزيئية

إن أبسط تعريف للمُعَلَّمات الوراثية أنها جينات تتحكم فى صفات يسهل التعرف عليها، وتستخدم فى الاستدلال على جينات أخرى يرغب المربى فى التعرف عليها.

### طرز المُعَلَّمات الوراثية

تعرف عدة طرز من المُعَلَّمات الوراثية، كما يلى:

### المُعَلَّمات المورفولوجية

إن الصفات المورفولوجية هى أقدم المُعَلَّمات الوراثية وأكثرها استعمالاً. وأهم ما يميزها بساطتها وسهولة استخدامها.

إن الطفرات الرئيسية تعطى تأثيراً واضحاً يسهل تمييزه على الشكل الظاهرى للفرد، وبذا .. فهى تخدم كمُعَلَّمات لأجزاء الكروموسومات التى توجد فيها تلك الجينات. وتعتمد الخرائط الارتباطية العادية على تلك المُعَلَّمات التى تُحدِّد مواقعها على امتداد طول الكروموسومات نسبة إلى بعضها البعض، وتقاس المسافات بينها بالسنتى مورجان cM. وعندما تُظهر أى صفة ارتباطاً بمثل تلك المُعَلَّمات المورفولوجية فإن الجينات التى تتحكم فيها يفترض أن تقع قريبة من مواقع المُعَلَّمات. وتعد محدودية أعداد تلك المُعَلَّمات هى وجه القصور الرئيسى الذى يقف حائلاً أمام الاعتماد عليها فى تحديد مواقع مختلف الجينات، وخاصة تلك التى تتحكم فى الصفات الكمية. هذا .. فضلاً عن وجود تأثيرات متعددة لبعض الجينات المُعَلَّمات تؤثر على نسبة الانعزالات، ومن ثم تؤثر فى تحديد مواقع الجينات.

## المُعَلَّمَات البروتينية

تستعمل البروتينات - التى هى نواتج الجينات - كمعلمات؛ فيما يعرف بالمعلمات البروتينية protein markers، علماً بأن الأليلات المختلفة للجين الواحد تُنتج بروتينات مختلفة ذات محتوى متباين من الأحماض الأمينية. ويدخل ضمن المعلمات البروتينية الأيزوزيمات isozymes باعتبارها بروتينات، وهى من أكثر المعلمات الوراثية التى استخدمت خلال الربع الأخير من القرن العشرين

يُشير المصطلح أيزوزيمات إلى الإنزيمات ذات النشاط الواحد، لكنها تختلف فى وزنها الجزيئى وبالقدرة على الحركة فى حقل كهربائى، حيث تستخدم أجهزة ال gel electrophoresis فى فصل الأيزوزيمات، بينما تستخدم ال polyacrylamide gels فى فصل بروتينات البذور ويحدث الاختلاف فى الحركة نتيجة للظفرات العاملة التى يترتب عليها بعض التغيرات فى الأحماض الأمينية لنفس الإنزيم، أى تكون الأيزوزيمات منتجات لأليلات مختلفة للجين الواحد، وليس لجينات مختلفة ويعرف النظام الذى تترتب فيه الإنزيمات المتحصل عليها من تركيب وراثى معين - بالفصل الكهربائى electrophoresis - باسم gene banding، وهو نظام خاص ومميز للمحتوى الأليلى. لهذا التركيب الوراثى. وتعد شرائط ترسيب الإنزيمات enzyme bands ممثلة للآليلات، وتنتج ال banding patterns لمختلف التركيب الوراثية من تعدد الآليلات polymorphism هذا إلا أن تلك الجينات - وهى مندلية بسيطة وذوات سيادة مشتركة - لا تتوزع اعتباطياً فى كل الهبة الكروموسومية.

هذا وتسمح طبيعة السيادة المشتركة codominance للمعلمات الأيزوزيمية بتمييز التركيب الوراثى الخليط عن الأصيل السائد والأصيل المتنحى وقد ترتبط تلك المعلمات الأيزوزيمية بأى صفة؛ الأمر الذى يمكن التعرف عليه بتحليل النسل المنعزل فى كل من المعلمات والصفة التى يُراد دراستها ومن أمثلة هذه الارتباطات تلك التى وجدت بين المقاومة لنيماطودا تعقد الجذور والجين Aps-1 المتحكم فى إنتاج الإنزيم acid phosphatase فى الطماطم (عن Bretting & Widrechner ١٩٩٥، و Chahal & Gosal

## معلومات الدنا، أو المعلومات الجزيئية

يقدر أن كل كروموسوم يحتوى على نحو  $10^8 - 10^9$  زوجاً من القواعد الآزوتية، إلا أن نحو ١٠٪ منها فقط هي التي تكون نشطة في عملية الـ coding، بما يعنى أن الجزء الأكبر من المادة الوراثية لا يلاحظ له تأثير واضح على الشكل المظهري للفرد ويمكن تحديد نقاط محدودة من الدنا - سواء أكانت نشطة في الـ coding، أم غير نشطة - كمعلومات.

ويعرف معلم الدنا DNA marker بأنه جزء صغير من الدنا تظهر به تتابعات متنوعة sequence polymorphism في أفراد مختلفة من النوع الواحد. تكثر تلك التباينات في التتابعات بدرجة كبيرة في مختلف الكائنات الحية، تزيد كثيراً عن درجة التغيرات في شحنات البروتينات (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

إن مبدأ المعلومات الوراثية الجزيئية يعتمد على استعمال جزء الدنا أو المعلم كنقطة مرجعية للمقطع الكروموسومى الذى يقع فيه ذلك الجين المعلم وما يجاوره، بما يسمح بإمكان متابعة ذلك المقطع من خلال المعالجات الوراثية المناسبة. وتتطلب تلك الطريقة توفر آليات أخرى للجين المعلم على المقاطع الكروموسومية الأخرى المثيلة (المناظرة) له، والتي يمكن تكرارها في أفراد أو سلالات أخرى ويمكن - حينئذ - تقييم علاقات تلك المقاطع الكروموسومية المعلمة بالتعبير عن صفات كمية معينة، بينما تسمح للمناطق الكروموسومية الأخرى في نفس الأفراد للعوامل البيئية المؤثرة في تلك الصفات لأن تتباين في تأثيراتها عشوائياً (عن Stuber ١٩٩٢).

ولقد أحدثت تقنية المعلومات الجزيئية molecular markers technology ثورة شاملة في مجال تربية النبات. وقد طورت عدة أنواع من تلك التقنيات لتسهيل تحليل الجينومات (الهيئات الوراثية) النباتية.

يصف مصطلح تعدد الطرز (أو البولي مورفزم) polymorphism حالة تواجد طرزاً مختلفة من ذات المعلم الوراثى فى العشيرة الواحدة

وتعد الـ DNA polymorphisms أكثر التباينات الوراثية من حيث درجة توريثها،

وهي يمكن أن تستعمل في النباتات لثلاث هيئات وراثية (genomes)، وهي الخاصة بالنواة، والبلاستيدات الخضراء، والميتوكوندريات

وتتميز المعلومات الجزيئية molecular markers على المعلومات المظهرية morphological markers بما يلي (من Chahal & Gosal 2002):

المعلومات الجزيئية	المعلومات المورفولوجية
يمكن التمييز بين التراكيب الوراثية على مستوى النبات، والأنسجة، وحتى على المستوى الخلوي.	١ - لا يمكن التمييز بين الأشكال الظاهرية لمعظم المعلومات المورفولوجية إلا على مستوى النبات الكامل.
يتوفر عدد كبير نسبياً من الآليات - التي توجد طبيعياً - من المعلومات الجزيئية.	٢ - لا يتوفر الكثير من الآليات التمييزية للمعلومات المورفولوجية
لا ترتبط المعلومات الجزيئية - عادة - بأى تأثيرات غير مرغوب فيها.	٣ - ترتبط المعلومات المورفولوجية - عادة - بتأثيرات مظهرية غير مرغوب فيها.
تُظهر الآليات - عادة - سيادة مشتركة؛ مما يجعل بالإمكان التمييز بين كل التراكيب الوراثية الممكنة المعرلة.	٤ - تكون الآليات عادة سائدة أو متنحية؛ مما يجعل من الصعوبة انتخاب التراكيب الوراثية المتحية
تسمح حالات التفوق والتأثير المتعدد القليلة نسبياً بعدد غير محدود من المعلومات التي يمكن الاستفادة منها في العنصرية الانعزالية الواحدة لا ترتبط بمرحلة محددة من النمو.	٥ - تحد تأثيرات التفوق القوية من عدد المعلومات التي يمكن الاستفادة منها في العنصرية الانعزالية الواحدة
	٦ - ترتبط بمرحلة محددة من النمو.

### الشروط التي يجب توفرها في المعلومات الوراثية

إن أهم المتطلبات التي يجب توفرها في المعلومات الوراثية، ما يلي:

١ - يجب أن تكون متعددة الصور polymorphic، ويفضل أن تكون متعددة الصور بدرجة عالية highly polymorphic وإذا لم يتحقق هذا الشرط في المعلومات الوراثية فإنها لا يمكن أن تقوم - بكفاءة - بعدد من الوظائف المنوطة بها هذا مع العلم بأن المعلومات الوراثية المتعددة الصور بدرجة عالية توجد بها عديداً من الآليات في كل موقع.

٢ - يجب أن تكون المعلومات الوراثية ذوات درجات توريث عالية، بمعنى ألا يتأثر

## المُعَلِّمَاتُ الْوَرَاثِيَّةُ وَالْتَرْبِيَّةُ الْجَزِيئِيَّةُ

شكلها المظهرى كثيراً بالتباينات فى العوامل البيئية، أو بالتفاعلات بين التركيب الوراثى والبيئة. وما أن يتم التعرف على كيفية توريث تلك العلامات، فإنها يمكن أن تستعمل دونما حاجة إلى مكررات، كما يمكن تحديد درجة تماثلها مع العلامات الأخرى التى من نفس الطراز (مثلاً.. المورفولوجى، والإيزوزيمات ... إلخ)، وإنه لمن الضرورى ألا تُقارن سوى العلامات المتماثلة homologus، وهى التى ينشأ التشابه المظهرى فيها من التقارب الوراثى.

٣ - يجب أن تكون العلامات الوراثية بسيطة فى وراثتها، ويفضل أن يتحكم فيها جينات مندلية تكون آلياتها ذات سيادة مشتركة.

٤ - أن يتحكم فى الأشكال المظهرية المختلفة للمعلم الوراثى المثال من طراز معين جينات مختلفة تتوزع على الهيدة الكروموسومية بأكملها.

٥ - توجد أمور عملية أخرى يجب توفرها فى المعلم الوراثى المثال، مثل عدم تأثيره على بقاء النبات من عدمه (مثل طفرات الألبينو)، أو فى حيويته، وأن يتم التعرف عليه بسهولة ومبكراً فى حياة النبات، وألا يكون الاختبار مكلفاً أو ضاراً بالصحة العامة (عن Bretting & Widrechner ١٩٩٥).

تتوفر تلك الشروط فى عديد من العلامات الوراثية، مثل ال RFLPs (وهو أحد أنواع العلامات الجزئية)، مما يجعلها تتميز على العلامات المورفولوجية فى كثير من الأمور، وهى التى نعيد التأكيد عليها فيما يلى:

١ - يمكن عند استعمال العلامات الجزئية تحديد التركيب الوراثى على مستوى النبات، أو النسيج، أو حتى أحياناً على المستوى الخلوى، بينما لا يمكن تحديد التركيب الوراثى عند استعمال العلامات المورفولوجية إلا على مستوى النبات الكامل فقط، وغالباً ما يتطلب الأمر نباتاً مكتمل النمو.

٢ - تتوفر - غالباً - فى معظم الأنواع النباتية - آليات كثيرة متعددة لمعلم العلامات الجزئية؛ وبذا يمكن استعمال التباينات الطبيعية المتواجدة فى العشائر المتوفرة دونما حاجة إلى تطوير سلالات وراثية، مثلما يتطلب الأمر بالنسبة لكثير من العلامات الوراثية.

- ٣ - بينما تكون غالبية العلامات الأيزوزيمية وعلامات الـ RFLP ذات تأثير محايد على الشكل المظهري فإن العلامات المورفولوجية تُحدث - غالباً - تأثيرات كبيرة على الشكل المظهري، كثيراً ما تكون ضارة في عشائر التربية.
- ٤ - كثيراً ما تمنع تفاعلات السيادة والتنحى تمييز كل التراكيب الوراثية ذات الصلة بالصفات المورفولوجية، بينما تسلك جميع العلامات الجزئية سلوك السيادة المشتركة
- ٥ - تحدث تفاعلات كثيرة غير مرغوب فيها بين المواقع الجينية المتحكمة في العلامات المورفولوجية، يمكن أن تحد من عدد العلامات المنعزلة التي يمكن تقييمها في العشيرة المنعزلة الواحدة. هذا بينما نجد أن معظم العلامات الجزئية تبدو خالية من تأثيرات التفوق، بما يعنى إمكان متابعة أى عدد من العوامل الوراثية فى العشيرة الواحدة (عن Stuber ١٩٩٢).

### تقنيات تداول الدنا واكثاره وأنواع العلامات الجزئية

نتناول بالذكر والشرح الموجز تحت هذا العنوان التقنيات التالية:

#### تقنية الـ Polymerase Chain Reaction

تعرف هذه التقنية - اختصاراً - باسم PCR، وهى تستخدم فى الإكثار غير المحدود لأى جزئ يتم عزله من الدنا (جين كامل أو جزءاً من جين)، باستعمال أجهزة خاصة صممت لهذا الغرض، يتم عن طريقها محاكاة عملية الاستنساخ الطبيعية للجينات.

ومن أهم مزايا ومحور صطه التقنية، ما يلى،

(المزايا)

يتحقق بال PCR المزايا التالية:

- ١ - يمكن بواسطتها إنتاج كميات كبيرة من جزيئات الدنا المتماثلة من كمية متناهية الصغر، هى التى تستخدم كبداية. وفى الواقع فإن الدنا المعزول من خلية مفردة (حتى ولو كان من بروتوبلاست نباتى) يكفى لاستمرار واستكمال العملية
- ٢ - تعد التقنية سريعة وبسيطة.

٣ - تعد التقنية شديدة الحساسية

٤ - لا يلزم أن يكون الدنا نقيًا لأجل إكثاره وتضخيمه، شريطة ألا تحتوى العينة

على شوائب يمكنها تثبيط الـ Taq polymerase

### (العيوب)

إن من أهم عيوب الـ PCR، ما يلي

١ - يجب أن تعرف تتابعات النيكلوتيدات - على الأقل - فى الأجزاء الحدودية

لجزيئى الدنا، بما يسمح للـ oligonucleotide primers بالالتحام وتمثيل الدنا وهذا

الشرط يقصر استعمال تقنية الـ PCR على الجينات التى تمت دراستها وتوصيفها - ولو

جزئيًا - بطرق الـ cloning

٢ - تعد الـ PCR تقنية شديدة الحساسية، وقد تعطى إشارات خاطئة، وهى التى

نتج - غالبًا - من ملوثات من الدنا تتواجد فى الجهاز من استعمال سابق له (عن

Chawla ٢٠٠٠).

### الأيزوزيمات (الأيروإنزيمات والأللويزيمات)

يُعنى بالمصطلح أيزوزيم isozyme (أو أيزوإنزيم isoenzyme) - فى معناه الواسع -

أى بروتينين يمكن تمييزهما عن بعضهما البعض، حيث يكون لكل منهما نشاط حركى

مختلف وإن كانا يقومان بتحفيز نفس التفاعل الكيمائى الحيوى. وتعد الأيزوإنزيمات

مجموعة من الجينات المتقاربة multigene family، قد تظهر بها اختلافات ثانوية فى

تتابع قواعدها الآزوتية

تستخدم عديد من التقنيات الكيمائية الحيوية فى تمييز الأيزوإنزيمات المختلفة، إلا

أن أكثر الطرق استعمالاً من قبل باحثى الوراثة وتربية النبات هى طريقة الفصل

الكهربائى الأفقى التى تعرف باسم horizontal starch gel electrophoresis، والتى

تفصل البروتينات - أساساً - على أساس الشحنة والحجم

وقد أظهرت الدراسات الكيمائية الحيوية والوراثية على طبيعة الأيزوزيمات عدة

طرز مختلفة من التباينات، حيث أمكن تمييز ما لا يقل عن سبعة أقسام مختلفة من

الأيزوزيمات، يهمنها منها قسم أو فئة الأيزوزيمات التي تنتج بفعل التعدد الآليلي allelic polymorphism على المستوى الجيني، والتي تعرف باسم اللوزيمات allozymes، والتي يكون من الممكن - غالباً - الربط بين أى منها وصفات معينة، مما يجعلها مفيدة كثيراً في مجال التربية.

ومن بين الوسائل الأخرى التي يمكن استعمالها في تحليل اللوزيمات، ما يلي:

١ - تقنية الـ polyacrylamide gel electrophoresis (أو PAGE).

٢ - تقنية الـ isoelectric focusing (أو IEF) على جل من الـ agrose أو الـ

polyacrylamide (عن Weeden ١٩٨٩).

### تقنية الـ Restriction Fragment Length Polymorphism

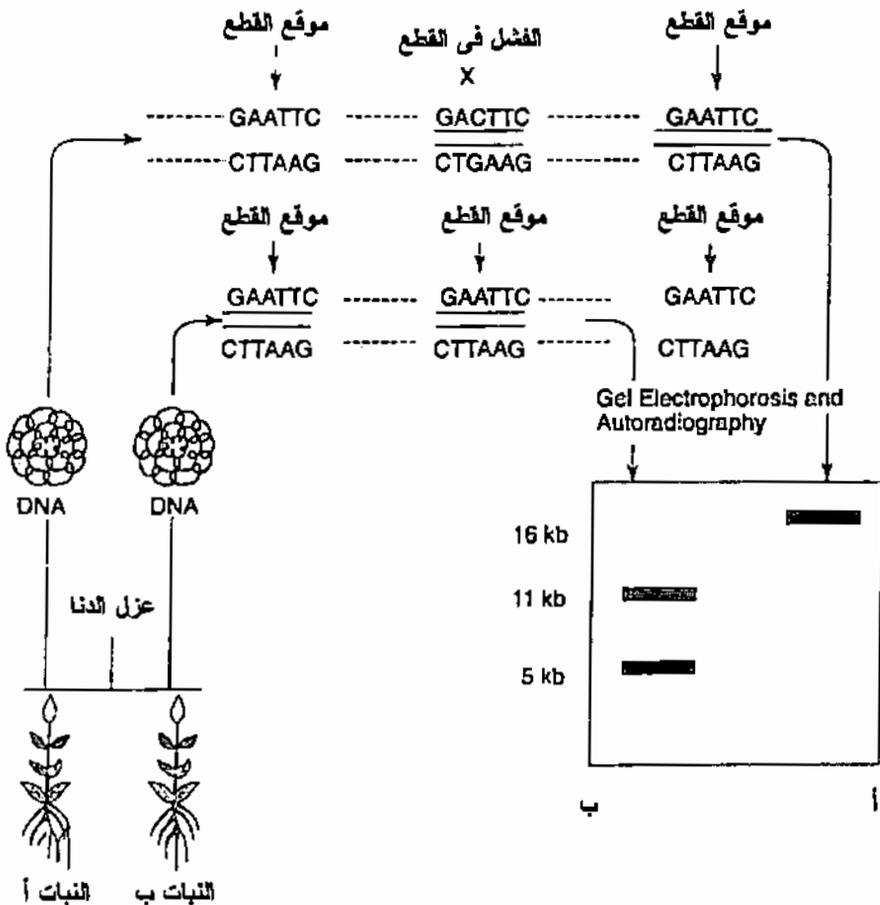
تعرف هذه التقنية - اختصاراً - باسم RFLP، وهي تعد أكثر التقنيات استعمالاً في عمل الخرائط الكروموسومية الجزيئية لمختلف الأنواع النباتية. وتعتمد تلك التقنية على الاستفادة من الاختلافات في تتابع النيكلوتيدات التي تقوم عندها الإنزيمات القاطعة restriction enzymes بقطع شريط الدنا. وتتضمن التقنية استخلاص الدنا، ثم هضمه بمجموعة مختارة من الإنزيمات القاطعة، وفصل القطع الناتجة بالـ electrophoresis، وسبر (أو جس) الـ blot بأجزاء معلومة من الدنا (فيما يعرف باسم Southern blots).

تورث الـ RFLPs بنظام السيادة المشتركة، كما تكثر بها الآليلات. ويمكن الوثوق في تماثل القطع ذات التحرك الكهربائي المتماثل إذا ما وضع المجس في موقع جيني معين ويؤخذ على هذه التقنية احتياجها إلى كميات كبيرة من الدنا لإجراء التحليل، وتكلفتها العالية. واحتياجها لوقت طويل، مما جعلها أقل صلاحية للاستخدام على نطاق واسع في برامج التربية (عن Bretting & Widrechner ١٩٩٥، و Taji وآخرين ٢٠٠٢).

يتم تحليل التباين عند مستوى الدنا بتقطيع الدنا الكامل للفرد باستعمال إنزيمات القطع restriction enzymes، وهي إنزيمات تتوفر في البكتيريا التي تستفيد منها كوسيلة للدفاع بها ضد الفيروسات. يتعرف كل restriction enzyme على موقع محدد من الدنا - يتكون - عادة - من ٤-٨ أزواج من القواعد، ينشط عندها في قطع خيطا

## المعلومات الوراثية والتربية الجزيئية

الدنا. توجد تلك المواقع في أماكن عديدة من جينوم الفرد الواحد، الأمر الذي يترتب عليه تقطيع أوصال الدنا - بإنزيم واحد - إلى عدد كبير من القطع، ويتوقف طول كل قطعة على المسافة بين مواقع التقطيع. ويمكن باستعمال الـ electrophoresis للدنا المصبوغ التعرف على قطع الدنا ذات الأطوال المختلفة (شكل ٩-١)، إلا أن عدد القطع يكون كبيراً جداً؛ الأمر الذي يجعل من الصعب ملاحظة كل قطعة على انفراد. ولهذا يتم خفض عدد القطع بالفريقة باستعمال مجسات تتجهن مع بعض القطع فقط؛ وهي التي تكملها وتتطابق معها، ويمكن التعرف عليها بالـ autoradiography.



شكل (٩-١): تمييز أجزاء من الدنا باستعمال تقنية الـ AFLP (عن Chahal & Gosal

٢٠٠٢).

وقد استخدم مصطلح RFLP لوصف هذا التباين الخاص بكل تركيب وراثي - والذي يظهر بال autoradiography - والذي يتحدد بأطوال قطع الدنا.

ويتحدد مدى ال polymorphism ، بال restriction enzyme المستعمل وترتيب القواعد في المجس؛ ولذا .. تستخدم عدة مجسات و restriction enzymes.

ويتم تقييم كل الأفراد في عشيرة منعزلة مثل الجيل الثاني لكل توليفة من الإنزيم والمجس. يقارن ال banding pattern بين الأفراد، ويعامل التباين - المتحصل عليه بإنزيم معين في كل قطعة دنا - ك RFLP واحد.

ويمكن الحصول على المجسات إما من ال cDNA library، وإما من ال genomic library (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

كانت ال RFLP أولى التقنيات استخداماً وانتشاراً في تحليل الاختلافات في الدنا النباتي، وتتوفر حالياً خرائط RFLP لعديد من الأنواع النباتية، كما يتوفر عديد من مجسات ال RFLP (أى RFLP probes) من دراسات الخرائط، بما يسمح باختيار مجموعة من المجسات لمسح وفحص الهيئة الوراثية بحثاً عن أى تغيرات فيها. توفر معلمات ال RFLP (أى RFLP markers) وسيلة فعالة لتحليل الهيئة الكروموسومية النباتية لتعرف أى تباينات وراثية جديدة، حتى ولو كان التغير في قاعدة آزوتية واحدة ويعيب هذه التقنية عدم توفر المجسات المناسبة لعدد كبير من الأنواع النباتية القليلة الأهمية (عن Henry ١٩٩٨).

### تقنية ال Random Amplified Polymorphic DNA

تعرف هذه التقنية - اختصاراً - باسم RAPD، وهى - كذلك - تسمح بمسح الهيئة الكروموسومية بحثاً عن أى تغيرات وراثية. تقود هذه الطريقة عند استعمالها إلى توليد معلمات جزيئية يمكن تحليلها بسهولة بطريقة الفصل الكهربائي على جل الأجاروز، ومع استعمال صبغة ال ethidium bromide. تتميز هذه الطريقة ببساطتها وعدم حاجتها المسبقة إلى مجسات مناسبة، ولذا .. فهى تعد من أكثر الطرق شيوعاً في تحليل تباينات المزارع.

## المُعلّمات الوراثةية والتربية الجزيئية

بينما يمكن باستعمال تقنية الـ RFLP التعرف على الآليلات المختلفة للجين بدقة كبيرة، فإن تقنية الـ RAPD تُفيد في التعرف على عدد أكبر من المواقع الجينية وتستعمل كمعلّمات لكل الهيئة الكروموسومية. وهي أسهل استعمالاً، ولا يلزم لتطبيقها أكثر من ١٠-١٥ نانوجراماً من الدنا (مقارنة بالحاجة إلى نحو ٢-١٠ ميكروجراماً من الدنا في حالة تطبيق تقنية الـ RFLP)، كما أنها لا تتطلب استعمال النظائر المشعة ويعتقد بأن تقنية الـ RAPD مناسبة - خاصة - لرسم خرائط جينات الصفات الكمية، كما يمكن استعمالها في التعرف على الهجن الجسمية، وفي تخطيط استراتيجيات تقييم وحفظ الأصول الوراثةية (Waugh & Powell ١٩٩٢)

تعتمد تقنية الـ RAPD على تقنية الـ PCR، حيث يستعمل primer مفرد قصير من النيكليوتيدات (a single short oligonucleotide primer) يمكنه الالتحام مع مواقع كثيرة يستعمل في تضخيم وإكثار تتابعات عشوائية من قالب template معقد من الدنا مثل جينوم النبات وفي معظم النباتات يتوقع من الـ primers التي تتراوح أطوالها بين ٩، و ١٠ نيكليوتيدات أن يتولد منها ٢-١٠ نواتج إكثار وتضخيم amplification products تكون الـ primers غالباً ذوات تتابعات عشوائية، وإن كانت منحاظه لتحتوي على ٥٠٪ على الأقل من الـ GC، وتفتقد إلى التكررات الداخلية يمكن فصل نواتج الإكثار والتضخيم بسهولة بتقنيات الفصل الكهربائي العادية وتميز بالأشعة فوق البنفسجية ينتج الـ polymorphism عن التغيرات التي تحدث إما في تتابع مواقع الالتحام بالـ primer (طفرات عاملية)، وإما عن التغيرات التي تحور الحجم أو تمنع تضخيم الدنا المعنى (حالات الفقد والإضافة والانقلاب). هذا وتورث نواتج التضخيم كمعلّمات سائدة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

## تقنيات أخرى

من بين التقنيات الأخرى - التي تعتمد على تقنية الـ PCR - وتستخدم في التعرف على المواقع الجينية المتعددة الطرز (الـ polymorphic)، ما يلي:

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 العُلمَات الوراثية لربى النبات

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

### أهمية العُلمَات الأيزوإنزيمية

إن للمُعلمَات الأيزوإنزيمية (الأللوإزمات) استعمالات كثيرة فى مجال تربية النبات، كما يلى:

- ١ - وصف وتمييز مجاميع الأصول الوراثية والأصناف التجارية .
- تستعمل العُلمَات الأيزوإنزيمية - فى مجال مجاميع الأصول الوراثية - فيما يلى :
  - أ - وصف العشيرة أو الصنف .
  - ب - تحديد الاختلافات الوراثية بين الأفراد أو الأصناف .
  - ج - تحديد العلاقة والقرباية 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.

صفا .. ويمكن تقسيم المحاصيل الزراعية الصامة حسب مدى التباينات فى الألوذيمات التى أمكن التعرف عليها فى كل من مجاميع الجيرمبلازم وبين الأصناف إلى الفئات التالية:

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

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

ج - محاصيل ذات تباينات ألوذيمية كبيرة فى مجاميع الجيرمبلازم، ولكن بدرجة قليلة جداً بين الأصناف، وتتضمن: الفلفل، والطماطم.

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

هـ - محاصيل ذات تباينات ألوذيمية قليلة نسبياً فى مجاميع الجيرمبلازم، وقليلة جداً بين الأصناف، وتتضمن: الخيار، والقاوون، والكريز، والبرقوق.

ولقد استعمل تحليل الألوذيمات فى تعريف وتمييز عدد كبير من أصناف الكثير من المحاصيل الزراعية. ويتطلب الأمر للاستفادة من تلك التقنية لهذا الغرض توفر تباينات ألوذيمية 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 الثلاثي triploidy والتضاعف غير التام aneuploidy
- ٥ - تحليل تباينات مزارع الأنسجة somaclonal variation
- ٦ - تحليل أنساب الأصناف والسلالات، خاصة في محاصيل الفاكهة
- ٧ - تحديد درجة الخلط الوراثي heterozygosity المسئولة عن قوة النهجين 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 في تحقيق أهدافها باختيار نباتات الجيل الثاني والأجيال التالية التي تحتوى - بالإضافة إلى الصفة التي يُراد نقلها من النوع البرى - على أكبر قدر من أيزوزيمات النوع المزروع (عن Weeden ١٩٨٩).

جدول (٩-١) العلامات الأيروجينية المستخدمة في تحديد جينات تحكم في صفات هامة (عن

Weeden ١٩٨٩)

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

## أهمية تحليل الـ RFLP

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

- ١ - تبيان العلاقات بين مختلف سلالات الأصول الوراثية.
- ٢ - تعليم الجينات المفردة التي تتحكم في الصفات الهامة.
- ٣ - تحليل الصفات الكمية ذات الأهمية الاقتصادية إلى جيناتها المفردة التي تتحكم فيها ومعرفة مواقعها الكروموسومية.

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

## أهداف التربية الجزيئية

إن من بين أهداف التربية الجزيئية molecular breeding (التي تعتمد في إجرائها على المعلّـمات الجزيئية)، ما يلي:

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

٢ - تطوير أدوات للتعرف على سلالات مسببات الأمراض التي توجد بالنبات والتربة وتقدير كثافة تواجدتها.

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

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

٥ - المساعدة في تحسين الاختبارات الحيوية الخاصة بالسلوك المحصول وزيادة سرعتها (عن Tajri وآخرين ٢٠٠٢).

## التعرف على الجينات المرغوب فيها ورسم الخرائط الكروموسومية الجزيئية

يستفيد مربي النبات من المعلومات الجزيئية molecular markers في التعرف على الجينات التي تتحكم في صفات معينة، وهي الجينات التي لا تعطى تأثيراً واضحاً ومميزاً بسهولة على الشكل الظهري؛ فتلك الصفات تصعب ملاحظتها، ولا يكون فيها الشكل الظهري الواضح للعيان ممثلاً تمثيلاً صادقاً للتركيب الوراثي للفرد.

ومن أمثلة تلك الصفات التي يفيد فيها استعمال المعلومات الجزيئية، ما يلي:

١ - صفات المقاومة للأمراض والحشرات التي لا تظهر إلا إذا تعرض الفرد للإصابة بالسبب المرضي المعنى، أو بالحشرة المعنية.

٢ - صفة العقم الذكري التي لا يمكن التعرف عليها قبل مرحلة الإزهار

٣ - صفات جودة الحبوب والثمار التي تبقى غير معروفة حتى نضج الحبوب أو الثمار.

٤ - الصفات الكمية، مثل المحصول، والتبكير، والتأقلم . والتي لا يمكن أبداً إرجاعها إلى جينات محددة من مجرد دراسة الشكل الظهري للفرد.

وفي جميع تلك الصفات وأمثالها يسعى المربي إلى انتخاب النباتات المرغوب فيها على أساس خاصية يسهل ملاحظتها أو بالاستعانة بالمعلومات التي ترتبط بالجينات التي تتحكم في تلك الصفات وعلى الرغم من أن المربي يربط في بعض الحالات بين الصفات المورفولوجية والجينات التي تتحكم في صفات معقدة، إلا أن العدد المتوفر من تلك المعلومات المورفولوجية morphological markers محدود للغاية؛ بحيث لا يمكن الاعتماد عليها كدليل لكل جزء من دنا الفرد، وخاصة فيما يتعلق بالصفات الكمية، إلا أن الأمر يختلف بالنسبة للمعلومات الجزيئية.

## المُعَلَّمات الوراثية والتربوية الجزيئية

إن رسم الخريطة الكروموسومية بالاعتماد على العلامات الجزيئية - فيما يعرف بالخريطة الجزيئية - أصبح أمراً ميسوراً بالنسبة لعديد من الأنواع النباتية؛ نظراً لتوفر أعداد كبيرة جداً من العلامات الجزيئية، مثل معلمات الدنا، التي تستخدم في دراسات ارتباط كل منها بالصفات الاقتصادية الهامة. ونظراً لأن تحديد تلك الخرائط والتعرف على الوضع النسبي لكل جين ومدى ارتباطه بالعلامات 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 وراثي معروف أمراً ضرورياً لعزل هذا الجين، وتحليله، وإكثاره، ونقله إلى أى تركيب وراثي مرغوب فيه.

### رسم الخرائط الكروموسومية: (المبرأ والطريقة)

تقع الجينات على الكروموسومات في صف طولي وفي أماكن ثابتة منها، بحيث يمكن تحديد مواقعها بالنسبة لبعضها البعض. وتعرف عملية تحديد تلك المواقع باسم رسم الخرائط الجينية، وهو أمر مهم في عملية عزل الجينات وتداولها في تقنيات الهندسة الوراثية. هذا .. وتشكل كل الجينات التي 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 في تلك المجموعة الارتباطية. ويدل انعدام الانعزال المستقل لجينين أو أكثر على وجودهما معاً على كروموسوم واحد، إلا أن العكس لا يكون دائماً صحيحاً؛ لأن الجينات التي تقع على كروموسومات مختلفة، وتلك التي تقع متباعدة على نفس الكروموسوم ( $> 50$  سنتي مورجان cm) يمكن أن تُظهر انعزالاً حراً. وفي حالات كهذه يتعين استعمال جينات إضافية معلمة، أو سلالات خاصة (cytogenetic stocks) - مثل السلالات ذات التعدد الكروموسومي غير التام aneuploids - في عملية التحليل الوراثي.

يُشكل الموضع الحقيقي للجينات على امتداد الدنا (والتي تتحدد بال kbp) ما يعرف باسم الخريطة الفيزيائية physical map، بينما تُشير الخريطة الوراثية genetic map إلى الموقع النسبي للجينات الذي يتحدد من معدل الانعزالات الأليلية 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 وعملياً 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 الجينين بمعدل ٤ (٠.٤ ناتج)، والتي يحسب منها طول الجزء الكروموسومى بين الجينين هكذا

$$\text{المسافة بين الجينين} = ٤ \times ٥٠ = ٢٠ \text{ سنتى مورجان}$$

يعنى ذلك أن معدل الانعزالات يمكن اتخاذه دليلاً مباشراً على المسافة الوراثية بين الجينات التى تقع على كروموسوم ما، لكن ذلك الاستنتاج لا يكون دائماً صحيحاً، 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 الإعاقه interference وفى واقع الأمر أن الإعاقه تكون كاملة فى المسافات الكروموسومية التى لا تزيد عن ١٥ سنتى مورجان، وذلك فى معظم الكائنات الحية، فمثلاً 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 وعملياً .. تُحوّل نسبة التراكيب العبورية إلى

## المُعَلَّمات الوراثية والتربوية الجزيئية

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

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

$$\mu = \log_e(1 - 2p) \quad \text{أو}$$

حيث إن:

$p$  = نسبة التراكيب العبورية.

$\mu$  = نسبة الكيازيمات أو العبور.

$e$  = الأساس للوغاريتم الطبيعي.

ونظراً لأن الكيازما الواحدة تعني ٥٠٪ تراكيب عبورية، ومن ثم ٥٠ سنتي مورجان، فإن  $\mu ٥٠$  لقيمة معينة من  $p$  تعطي المسافة الوراثية بين الجينات. ويتطلب رسم خريطة كاملة لأي مجموعة عبورية تحليل الانعزالات لعدد كبير من الجينات. كما يتطلب رسم الخرائط الكروموسومية للمعلّمات الجزيئية - التي تتواجد بوفرة - حسابات كثيرة جداً تجرى عادة باستعمال برامج حاسوب خاصة مثل الـ MAPMARKER، والـ JOIN MAP وغيرهما (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

### رسم خرائط الجينات المتكّمة في الصفات الكمية

إن رسم الخرائط الكروموسومية الكاملة للـ polygenes التي تتحكم في الصفات الكمية أصبح أمراً ممكناً باستخدام المعلّمات الجزيئية عن طريق ما يعرف بالـ Quantitative Trait Loci Mapping (اختصاراً: QTL mapping)؛ وبذا .. يمكن تداول تلك الجينات - ذات التأثير المحدود لكل منها على الصفة الكمية - كالجينات الرئيسية التي تتحكم في الصفات البسيطة، بعدما كان أقصى ما يمكن معرفته - من خلال دراسات الوراثة الكمية - أخذ فكرة عامة عن عددها وطريقها فعلها الجيني؛ علماً بأن الجينات التي تتحكم في الصفة الواحدة تتوزع غالباً على عدة كروموسومات، وربما تتوزع على كل الهياكل الكروموسومية للكائن الحي.

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

في أي صفة كمية، وأيها ذات تأثير متعدد، وأيها أقوى تأثيراً على الصفة، وهل هي تتوزع عشوائياً في الهينة 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 الوراثي البيئي بطريقة أكثر دقة.

ومن خلال الـ marker-assisted selection يمكن إزراع الانتخاب في برامج التربية لتحسين الصفات الكمية وجعله أكثر فاعلية (Chahal & Gosal 2002).

إن العلامات الجزيئية ليست سوى أجزاء صغيرة محددة من الدنا، ولا تمثل أي جينات، ومن ثم فليس لها أي تأثير متعدد على الصفات المدروسة، وهي تتوفر بكثرة شديدة في أجزاء الهينة الكروموسومية. وغالبيتها ذات سيادة مشتركة ولا تتأثر مطلقاً بالعوامل البيئية؛ بحيث أن التركيب الوراثي لأي معلم يمكن تحديده دونما أي خطأ وبسبب تلك الخصائص مجتمعة فإن العلامات الجزيئية استعملت وتستعمل كثيراً في تحديد مواقع الجينات التي تتحكم في الصفات الكمية.

### ويطلب رسم خرائط جينات الصفات الكمية QTL mapping، ما يلي:

- ١ - توفر خريطة كثيفة (مشبعة saturated) للعلامات الجزيئية لتعريف وتحديد كل جزء صغير من الهينة الكروموسومية
- ٢ - تكوين عشيرة مناسبة لرسم الخريطة الكروموسومية تكثر فيها الانعزالات للصفات الكمية، وذلك بتلقيح سلالات متباينة بشدة مورفولوجياً في الصفة الكمية المعينة ومن السمات الضرورية في تلك العشيرة أن يتوفر فيها حالة من عدم التوازن الارتباطي القوي عند المواقع المعلمة والآليات المتحركة في الصفات والمرتبطة بالعلامات ويمكن أن تستخدم لرسم خرائط الصفات الكمية عشائر الجيل الثاني، أو التلقيحات الرجعية، أو نباتات أحادية مضاعفة، أو سلالات انعزالية مربية داخلياً.

إن من أكثر العشائر الوراثية استخداماً في رسم خرائط الجينات المتحركة في

## المُعَلَمَاتُ الْوَرَاثِيَّةُ وَالْتَرْبِيَّةُ الْجَزِيئِيَّةُ

الصفات الكمية الأجيال الانعزالية، وخاصة الجيل الثاني الناتج من التلقيح الذاتي لجيل أول حُصل عليه بتلقيح آباء أصيلة وراثياً. كذلك استعمل جيل التلقيح الرجعي بين الجيل الأول وأحد الآباء لهذا الغرض. ويمكن اختيار سلالات الآباء على أساس تباينها الشديد في الصفات الكمية موضع الدراسة، إلا أنه في بعض المحاصيل - كالذرة - يتوفر - عادة - في الجيل الثاني تبايناً وراثياً واسعاً على الرغم من احتمال تشابه سلالتي الآباء مورفولوجياً. وبمتابعة انتقال كل مقطع كروموسومي بمعلومات معروفة، فإنه يمكن حصر كل الهيئة الكروموسومية - مقطعاً بمقطع - للمواقع الجينية المتحكمة في الصفة الكمية والمزاملة للتباين في أي صفة كمية مرغوب فيها كذلك فإن مدى إسهام كل مقطع كروموسومي في التأثير على الصفة يمكن التعبير عنه كمياً بالطرق الإحصائية وباستعمال عدد كاف من المعلومات الوراثية الموزعة بتجانس على الهيئة الكروموسومية، مع وصف تأثير كل منها منفرداً وتفاعلاتها معا (عن Stuber 1992).

هذا وتتميز عشائر الجيل الثاني بأن بها أقوى حالات عدم التوازن الارتباطي، كما أنها تتطلب عدداً أقل من النباتات لإجراء التحليل عما تتطلبه عشائر التلقيحات الرجعية. وعلى الرغم من أن عشائر الجيل الثاني والتلقيحات الرجعية تتميز بكونها أقوى في حالات عدم التوازن الارتباطي عن السلالات النقية الانعزالية، فإن الأخيرة تتميز - نظراً لكونها أصيلة وراثياً - بإمكان إجراء عدداً أكبر من المكررات، بما يسمح بالحد من تأثير التفاعل بين التركيب الوراثي والبيئة على متوسطات قيم الصفات. ونظراً لأن تلك السلالات تمثل عدة دورات من الانعزالات (التي تحدث أثناء التربية الداخلية للسلالات) .. فإنها تفيد في التعرف على أجزاء صغيرة جداً من الكروموسومات تكون قريبة جداً من المعلومات الجزئية. ويعنى ذلك أن الخرائط المستمدة من تلك السلالات تكون أكثر دقة عما في الخرائط المستمدة من عشائر الجيل الثاني والتلقيحات الرجعية، هذا بينما نجد أن الخرائط المستمدة من السلالات الأحادية المضاعفة (وهي التي تكون ناتج انقسام اختزالي واحد) تكون أقلها وضوحاً.

ويستخدم في تحليل خرائط الصفات الكمية إحدى طريقتين، هما:

- Single-marker analysis
- Interval mapping

ولإطلاع 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 الوراثي المحسوب إحصائيًا بين معلمات الـ RFLP ومواقع الجينات التي تتحكم في الصفات الكمية، ولقد طورت المبادئ التي تحدد تلك الارتباطات في ثلاثة بحوث نشرت على الطماطم خلال الفترة من ١٩٨٧ إلى ١٩٩٣، إلا أنه في مقال تناول تلك البحوث بالتشريح والنقد قدم Arunachalam & Chandrashekar (١٩٩٣) ما يفيد بأن المفاهيم التي بنيت عليها التحاليل الإحصائية فيها لم تكن كافية أو ملائمة.

### التطبيقات العملية في مجال رسم الخرائط الكروموسومية (الجزيئية)

من بين أوائل الدراسات التي 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 التي تتحكم فيها مثلما يكون عليه الحال في الصفات المنديلية. تم في تلك الدراسة تحليل ٢٣٧ نبأًا من نسل تهجين رجعي بين الطماطم المزروعة *Lycopersicon esculentum* والنوع القريب *L. chmielewskii* باستعمال ٧٠ موقع من الـ RFLP، وأمكن تحديد ٦ مواقع تتحكم في حجم الثمرة، و ٥ مواقع للـ pH، و ٤ مواقع للمواد الصلبة.

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

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

١ - أخطاء في القياس.

٢ - مواقع كمية أخرى ذات تأثير صغير جداً إلى درجة لم يمكن معها التعرف عليها بثقة في 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 جيناً (حتى عام ١٩٩٥) على كروموسومات قمح الخبز (٤٢ كروموسوم)، كذلك حدثت تقدمات كبيرة مماثلة في رسم الخرائط الوراثية الجزئية في محاصيل عديدة متنوعة، مثل: الذرة، والطمطم، والقطن، والأرز، والتبغ، والشعير، ولفنت الزيت، ودوار الشمس (جدول ٩-٢).

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

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

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

كما أفادت المعلومات الجزيئية في تحديد مواقع عديد من جينات المقاومة للحشرات، ومن أمثلة ذلك ما يلي (عن Duck & Evola ١٩٩٧).

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

## المعلومات الوراثية والتربوية الجزيئية

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

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

## التطبيقات العملية في مجال تسهيل إجراء وزيادة كفاءة برامج التربية

يستفاد من المعلومات الجزيئية في مجال تربية النبات في الأمور التالية:

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

- ٢ - إسرار 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 المربي
- ٤ - تقدير مدى التقارب أو التباعد الوراثى بين التراكيب الوراثية (عن Tajri 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 الشد 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 جزيى الدنا، وبما يسهل على المربي - كثيراً - 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.
  - ج - الأهمية النسبية لكل جين فى التأثير على الصفةفيمكن عن طريق العلامات 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 إسرار 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 وأستخدمت 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 وراثه 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.

ج - 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 وإحكام التعامل مع كل من الجينات المفردة التى تتحكم فى تلك الصفات الكمية، كما أنها توفر فهماً لظواهر التفوق

epistasis، والتأثيرات المتعددة للجين pleiotropy، والأساس الوراثي لقوة المهجين heterosis ومن خلال تلك المزايا التي توفرها تقنيات العلامات الوراثية الجزيئية للمربي فإنها يمكن أن تساعد بقوة في تحقيق عملية الانتخاب للصفات المرغوبة بكفاءة عالية (Stuber 1992)

### ١٥ - التربية لمقاومة الأمراض:

على الرغم من التقدم الهائل الذي حدث في مجال التربية لمقاومة الأمراض والآفات، فإن مصاعب كثيرة تكتنف عملية الانتخاب للمقاومة، التي 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 يؤدي 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 أحياناً - الاختبار للمقاومة لعدد من مسببات الأمراض أو الآفات فى آن واحد.

أما الاعتماد على الانتخاب الذى يجرى بمساعدة العلامات 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 إلا 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 جدولاً (٩-٤)، و (٩-٥) أمثلة على معلمات جزيئية ترتبط بصفات المقاومة لبعض الأمراض أو الآفات فى النباتات (عن Kelly 1995، و Chawla 2000)، كما يعطى Michelmores (1995) مزيداً من الأمثلة على حالات مقاومة كمية للأمراض فى عدد من المحاصيل الحقلية ومحاصيل الخضر.

## المعلّات الوراثية والتربوية الجزيئية

جدول (٩-٤): أمثلة لبعض جينات المقاومة للأمراض والآفات التي تربط بمعلّات جزيئية متنوعة (عن Michelmores ١٩٩٥).

المعلّم الجزيئي	جين المقاومة	الآفة أو المسبب المرضي	الحصول	
RAPD	<i>Mi</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tomato	الطماطم
RAPD, RFLP	<i>Mi3</i>			
RAPD, RFLP	<i>Lv</i>	<i>Leveillula taurica</i>		
RAPD, RFLP	<i>Oll</i>	<i>Oidium lycopersicon</i>		
RAPD	<i>Ve</i>	<i>Verticillium dahliae</i>		
RFLP	<i>Tyl</i>	Yellow leaf curl virus		
RFLP	<i>H1</i>	<i>Globodera rostochiensis</i>	Potato	البطاطس
RFLP	<i>R1 &amp; R3</i>	<i>Phytophthora infestans</i>		
RAPD, SCAR	<i>Dm17 &amp; 18</i>	<i>Bremia lactucas</i>	Lettuce	الخس
RAPD, SCAR	<i>Dm8 &amp; 10</i>			
RAPD, RFLP	<i>Plr</i>	<i>Plasmopara lactucae-radicis</i>		
RAPD, RFLP	<i>Tu</i>	Turnip mosaic virus		
µsat., RFLP	<i>Rsv</i>	Soybean mosaic virus	Soybean	فول الصويا
RAPD	<i>Up2</i>	<i>Uromyces appendiculatus</i>	Common	الفاصوليا
RAPD	<i>I</i>	Common bean mosaic virus	bean	
RFLP, RAPD	<i>Sbm-1</i>	Pea seed-borne mosaic virus	Pea	البسلة
RFLP,	<i>mo</i>	Pea common mosaic virus		
RAPD,	<i>er</i>	<i>Erysiphe polygoni</i>		
& µsat	<i>Fw</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>		
RFLP	<i>rhm</i>	<i>Bipolaris maydis</i>	Maize	الذرة
RAPD	<i>Rh</i>	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Barley	الشعير
RFLP	<i>M1(La)</i>	<i>Erysiphe graminis f. sp. hordei</i>		
RFLP	<i>ym4</i>	Barley yellow mosaic virus		
RAPD	<i>Pg3</i>	<i>Puccinia graminis</i>	Oats	الشوفان
RAPD	<i>Pc68</i>	<i>Puccinia coronata</i>		
RFLP	<i>Crc</i>	<i>Heterodera avenae</i>	Wheat	القمح
RAPD	<i>Lr9</i>	<i>Puccinia recondita</i>		

ملاحظات	من البيانات الكلية (%)	أمكن تحديدها	عدد ال QTLs التي نسبة ما تحكم فيه تلك الجينات	المرض والسبب المرضي	الشعير: البياض الدقيقي
وجد أن أحد الجينات كان قريباً من الموقع المسئول عن عدة عقد الريبوسيم	٧٥	٧	٢	<i>Erysiphe graminis</i>	البياض الدقيقي
	٥٨	١٠<	٣	الفاصوليا العادية: الفحة البكتيرية <i>Xanthomonas campestris</i>	الفحة البكتيرية
	٧١	٣	٣	<i>Cercospora zeae-maydis</i>	الذرة: تبقع الأوراق الرمادي
	١٤	٢	٢	<i>Ascochyta pisi</i>	البسلة: لفحة أسكوكيتا
لم يظهر دليل على التفاعل بين الجينات				<i>Globodera rostochiensis</i>	البطاطس: الديدانوتوا التحويلة
كانت كل الجينات خاصة بسلالات معينة			١١	<i>Phytophthora infestans</i>	البطاطس: التوتة المتأخرة
	٧٦	١٠	١٠	<i>Pyricularia oryzae</i>	الأرز: العصفه
	٨٢	٢	٢	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	الطماطم: الذبول البكتيري
وجد أن أحد الجينات كان قريباً جداً للجين MI المسئول عن المقاومة لديدانوتوا تعقد الجذور	---	٣	٣	الطماطم: فيروس تجمع واصفرار أوراق الطماطم TYLCV	الطماطم

## المُعَلِّمَاتُ الوَرَاثِيَّةُ وَالتَّرْبِيَّةُ الجَزِيئِيَّةُ

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

### ١٦ - التربية لمقاومة الحشرات:

تحقق العلامات الجزيئية عديداً من المزايا في التربية لمقاومة الحشرات، كما يلي:

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

٢ - يمكن استعمالها - بمجرد تحديدها - في الاختيار للمقاومة في غياب الحشرة.

٣ - تفيد كثيراً في الانتخاب للمقاومة الأفقية التي يتحكم فيها عديد من الجينات

(عن Duck & Evola ١٩٩٧).

## محددات الاعتماد على المعلومات الجزيئية فى تربية النبات

إن من أهم محددات استعمال المعلومات 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 جداً، وخاصة فى الأنواع الذاتية التلقيح، بما فى ذلك القمح

## مصادر إضافية

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

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