

استخدام الواسمات الجزيئية في برامج التحسين الوراثي

جلادت محمد صالح جبرائيل¹

الخلاصة

إن طرق تربية وتحسين النبات نجحت في إيجاد العديد من الأصناف الزراعية ذات الإنتاجية العالية، إلا أن الزيادة السكانية الكبيرة في العالم والوطن العربي استدعت ضرورة إيجاد طرق وسائل جديدة في تربية وتحسين النباتات لتلبية الحاجة المتزايدة للغذاء. وتعد الواسمات الجزيئية واحدة من أهم مجالات التقانات الحيوية المستخدمة في برامج تربية وتحسين النباتات والحيوانات وكذلك التمييز بين الأصناف الزراعية المختلفة. ونظراً للأهمية الكبيرة لهذه الواسمات والتطوير السريع في مجال البيولوجيا الجزيئية فقد تم استحداث وإيجاد العديد من الأنواع من واسمات DNA. وقد تم تصنيفها إلى نوعين أساسيين وفقاً للتقانة المستخدمة في الكشف عنها وهي الواسمات المعتمدة على التهجين الجزيئي (Hybridization-based Markers) والواسمات المعتمدة على تقانة الـ PCR Polymerase Chain Reaction (PCR). ومن أهم الواسمات المعتمدة على تقانة التهجين الجزيئي وأكثرها انتشاراً هي واسمات الـ RFLPs Restriction Fragment Length Polymorphisms). أما بالنسبة إلى الواسمات المعتمدة على تقانة الـ PCR التي بدورها أحدثت ثورة في عالم البيولوجيا الجزيئية فقد تعددت أنواع الواسمات وفقاً لأهداف برامج التربية. ومن أكثر أنواع واسمات الـ DNA شيوعاً هي الـ RAPD Random Amplified Polymorphic DNA و الـ AFLP Amplified Fragment Length Polymorphism و الـ SSR Simple Sequence Repeats و الـ SNP Single Nucleotide Polymorphism). ومن خلال إيجاد برامج مشتركة يتم فيها الاستعانة بإدخال هذه الواسمات في برامج التربية والتحسين الوراثي في الوطن العربي يمكن أن تتفتح آفاق استثمارية كبيرة مع حماية حقوق جميع الأطراف ومنع الغش التجاري وبالتالي ضمان الاستثمار الأمثل في القطاع الزراعي.

الكلمات المفتاحية: الواسمات الجزيئية؛ واسمات الـ DNA؛ الواسم الوراثي؛ التهجين؛ التقانات الحيوية.

المقدمة

المتطورة شرعت العديد من القوانين ومنها الحقوق التجارية وبراءات الاختراع لمربي النبات في استنباط الأصناف الجديدة. مما تقدم أصبح التصور ممكناً بالأعداد الكبيرة للأصناف القديمة والمستنبطة حديثاً التي مثلت تنوعاً وراثياً كبيراً، لتصبح الحاجة إلى طرق حديثة كفيلة بضمان تمييز الحدود وتعيينها بين الأصناف أو الضروب لتكون هذه الحاجة خياراً لا يمكن التنازل عنه واعتباره ضمن أولويات التنمية الزراعية التي تضم مشاريع التربية والتحسين.

وبعد اكتشاف Watson & Crick (1953) لشكل المادة الوراثية، استثمر الباحثون هذا الاكتشاف الذي أفضى إلى تطور مذهل لنظريات وتطبيقات استنباط الأنواع الجديدة التي سهلت القول بأن الحواجز بين الأنواع قد سقطت وأصبح ممكناً تصور أي تركيبة وراثية تهدف إلى زيادة المناعة من الأمراض أو الإنتاجية أو القيمة الغذائية عن طريق التقانات الحيوية (Biotechnology).

تعرف التقانات الحيوية بأنها مجمل التقانات التي تتناول استخدام كائنات حية أو مكوناتها تحت الخلوية بغرض إنتاج أو تحويل أو تطوير منتجات ذات قيمة وفائدة للإنسان، وتتداخل علوم مختلفة لتحقيق ذلك منها: علم الأحياء الدقيقة والكيمياء الحيوية والوراثة والبيولوجيا الجزيئية والكيمياء والهندسة الكمية. تلعب مختلف التقانات الحيوية دوراً هاماً في تطوير القطاع الزراعي وتعتبر حالياً من أهم الوسائل المساعدة لتحسين إنتاج المحاصيل الزراعية والغذاء إذ أن لهذه التقانات إمكانات كبيرة جداً يمكن الاستعانة بها للتغلب على الكثير من العقبات التي تحول دون زيادة الإنتاج الزراعي بالإضافة إلى تقليص الهوة الكبيرة في الحاجة إلى الغذاء.

فعلى المستوى العالمي يلاحظ اتساع المساحات المزروعة بالنباتات المحورة وراثياً إذ ارتفعت المساحات المزروعة بشكل

إن طرق التربية والتحسين التقليدية نجحت في إيجاد العديد من الأصناف النباتية الجديدة والتي تتميز بصفات إنتاجية جيدة، إلا أن هذه الطرق التقليدية تقتصر على الأنواع التي يمكن التهجين فيما بينها وكذلك فإن استخدام هذه الطرق يتطلب فترة طويلة من الزمن قد تصل إلى 8-14 سنة بالإضافة لحاجتها إلى أيد عاملة كثيرة ومساحات شاسعة وبالتالي فإنها لا تليي الحاجة المتزايدة للغذاء.

تبلغ مساحة الوطن العربي 1400 مليون هكتار ولا تتعدى المساحة المزروعة نسبة 67% من المساحة الكلية بالإضافة إلى أن الزيادة السكانية في الوطن العربي، حيث متوقع أن يصل التعداد السكاني إلى 500 مليون بحدود عام 2030 وهذا التعداد يحتاج إلى ضرورة تأمين الغذاء. أما عالمياً فتقدر منظمة الزراعة والأغذية العالمية من خلال البيانات المتوافرة لديها ضمن الفترة 1999/2001 بأن 842 مليون شخص كانوا يعانون من سوء التغذية المزمن و798 مليون من هذه الشعوب تعيش في الدول النامية و70% تعتمد على الزراعة في كسب معيشتهم، مشيرة إلى أن 560 مليون شخص تمثل الزراعة مصدر معيشتهم ولكن ما زالت الزراعة الفقيرة في الدول النامية. وعلى ضوء هذه الزيادة في السكان والتغيرات البيئية المستمرة تعددت المراكز البحثية والمرافق العلمية العامة والخاصة التي تستنبط الأصناف الجديدة التي تمتاز بزيادة الإنتاج أو المقاومة للأمراض عن طريق مختلف برامج التحسين الوراثي. ومن العوامل المهمة التي شجعت وحفزت الاستثمار في هذا المجال هو صدور العديد من القوانين والتشريعات، ففي الولايات المتحدة الأمريكية وعدد من البلدان

1. مركز الأبحاث العلمية، جامعة دهوك، العراق. فاكس: 7612349-62-964+، بريد

إلكتروني: jaladet@hotmail.com

واسمات الجزيئية

تمتاز هذه الواسمات بقدرتها العالية على إظهار التباين في توارث التتابعات المتماثلة للحمض النووي DNA بين الأفراد. وان أسباب ظهور هذه التباينات الطبيعية المترابطة تعود إلى العديد من الطفرات الوراثية التي أدت إلى تغيير زوج قاعدي واحد Base Substitution أو أنها تحدث بسبب الإضافة Insertion أو الحذف Deletion في تسلسل مواقع DNA المتماثل. وتتصف هذه الواسمات بالعديد من المميزات المهمة، كون DNA مادة مستقرة لا تتأثر بالبيئة وهي ذاتها في كل أجزاء الكائن الحي ومرحلة عمره بالإضافة إلى إن هذه المؤشرات تتوارث وفق قوانين مندل المعروفة وبالتالي يمكن متابعتها في الأجيال اللاحقة ومنذ المراحل المبكرة من النمو.

إن لواسمات الـ DNA دور كبير في تطور التقانات الحيوية لأنها وفرت طرق حديثة في الكشف والتمييز المبكر بين الكائنات المختلفة ومنها الأصناف الزراعية وإظهارها مدى التباين الوراثي الذي يسود هذه الكائنات. ومن خلالها تمكن الباحثون من تجاوز كل العقبات التي واجهت استخدام الواسمات الوراثية السابقة.

أنواع الواسمات الجزيئية

دفعت أهمية هذا النوع من الواسمات وطاقاتها الكامنة في دراسة التنوع الوراثي وتربية وتحسين النباتات والحيوان والكائنات الحية الأخرى بالباحثين إلى إيجاد أنواع عديدة والتي تتطور بشكل سريع جداً إذ يتم الكشف عن واسمات جديدة بين فترة وأخرى وبصورة مستمرة ونظراً لتعدد مجالات استخداماتها فقد تم تصنيفها إلى نوعين أساسيين وفقاً للتقانة المستخدمة في الكشف عنها وهي الواسمات المعتمدة على التهجين الجزيئي (Hybridization based Markers) والواسمات المعتمدة على تقانة الـ Polymerase Chain Reaction (PCR). ومن أهم الواسمات المعتمدة على تقانة التهجين الجزيئي وأكثرها انتشاراً هي واسمات الـ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) (Botstein et al., 1980)، والتي استخدمت في بناء الخرائط الجزيئية لمختلف الكائنات الحية وفي برامج تربية وتحسين المحاصيل الحقلية (Korzum, 2002). أما بالنسبة إلى الواسمات المعتمدة على تقانة الـ PCR التي بدورها أحدثت ثورة في عالم البيولوجيا الجزيئية فقد تعددت أنواع الواسمات وفقاً لأهداف برامج التربية. ومن أكثر أنواع واسمات الـ DNA شيوعاً هي الـ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) والـ Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) الـ Simple Sequence Repeats (SSR) الـ Single Nucleotide Polymorphism (SNP)، وهناك أنواع عديدة أخرى طورت واستخدمت في برامج التحسين الوراثي للمحاصيل الحقلية المختلفة. ويوضح جدول (1) مقارنة بين بعض أنواع واسمات الـ DNA الشائعة الاستعمال. ومن خلال هذه المقارنة يمكن القول بأن الواسمات الـ AFLP، الـ RFLP، الـ SSR تكون الواسمات المفضلة ولكن بما أن واسمات الـ RFLP تحتاج إلى كميات كبيرة من الـ DNA بالإضافة إلى أن الكشف عنها يتطلب

مضطرب خلال السنوات الأخيرة من بضعة آلاف من الهكتارات خلال عام 1994 إلى 100 مليون هكتار عام 2006. ويرجع الاهتمام المتزايد بهذه الأصناف لما تتميز به من صفات كالمقاومة للأمراض والآفات الزراعية والإنتاجية العالية. وتعتبر الهند من الدول النامية الرائدة في انتشار أسواق التقانات الحيوية حيث تشير الإحصائيات أن النمو السنوي لعام 2006 بلغ 37.42% وأنها تتوقع استقطاب الاستثمارات العالمية ومن المؤمل أن تصل أسواق هذه التقانات في عام 2010 إلى 10 مليار دولار أميركي وأن تخلق بحدود مليون فرصة عمل (Mehta-Bhatt, 2007).

وبالرغم من الدور الكبير لهذه التقانات في التطوير والتحسين الوراثي للمحاصيل الاقتصادية والحيوانات والأسماك وغيرها والمجالات الاستثمارية الكبيرة الواعدة لها إلا أن استخدام هذه التقانات في الزراعة العربية لازالت على نطاق محدود جداً وذلك لعدة عوامل منها غياب التوعية بأهمية استغلالها وتشجيع الاستثمار في المجالات البحثية والتطبيقية لهذه التقانات.

ومن المجالات الأخرى للتقانات الحيوية هي الواسمات الجزيئية (Molecular Markers) التي تعتبر واحدة من أهم مجالات التقانات الحيوية وأكثرها انتشاراً في العالم وهي من الأدوات والوسائل المهمة التي يمكن استخدامها في برامج التربية والتحسين الوراثي للنباتات والحيوانات والتي بدورها تنوعت وتعددت والتي تلت المراحل الزمنية المختلفة لاستخدام الواسمات الوراثية.

الواسمات الوراثية

يعرف الواسم الوراثي (Genetic Marker) على أنه صفة مميزة تستخدم للاستدلال على موقع (locus) على الكروموسوم أو الجين وإن معرفة هذا الموقع يساعد في دراسة توارث صفة معينة قريبة جداً من الواسم، إذ تتوارث معها (Zaid et al., 1999). ومن أقدم الواسمات الوراثية التي استخدمت في برامج التربية هي الواسمات المظهرية (Morphological Markers) والقابلة للكشف بالعين المجردة. تستند هذه الواسمات بظهورها على العديد من العوامل الوراثية بالإضافة إلى تأثيرها الكبير بالظروف البيئية المحيطة لذا يصبح الاعتماد على مثل هذه الواسمات ضيقاً (Lookhart and Bitez, 1990). ومن الواسمات الوراثية الأخرى التي استخدمت كطرق تمييزية وتصنيفية هي تلك المعتمدة على المحتوى البروتيني والمتناظرات الإنزيمية (Tanksley and Drton, 1983). إن محور التحفظات على استخدام هذه الطرق تركزت على كونها غير كفاءة بدرجة كافية للكشف عن التباينات بشكل مستقر وشامل من جهة وقلة واسماتها وتحددها بنوعية النسيج والمرحلة العمرية من جهة أخرى بالإضافة إلى تأثيرها بالعوامل البيئية (Huebner et al., 1990).

إن التطور الكبير الذي حصل في البيولوجيا الجزيئية خلال العقدين الأخيرين تمخض عنه انبثاق نوع جديد من الواسمات الوراثية سميت بالواسمات الجزيئية أو بواسمات الـ DNA Mark-ers.

1990 و Lin et al., 1996)، لذا فعند التكهّن بوجود درجة عالية من التباينات الوراثية فمجال الاختيار يكون واسع ويمكن اختيار أي واسم لهذا الغرض. أما إذا كان المتوقع درجة قليلة من التباينات فيجب اختيار واسم بقوة تمييز عالية أيضاً ويمكن تقدير نسبة التباينات الموجودة بين الأفراد عند عدم وجود معلومات كامنة عن الكائنات قيد الدراسة وذلك بإجراء تجارب المسح الأولية (Pre-screen) وباستخدام واسمات بسيطة.

ثالثاً: مدى توفر المجسات Probes أو الابدائات Primers إذ أن هناك واسمات معينة تحتاج إلى بادئات متخصصة جداً كواسمات الـ SSR فلا يجوز اختيار هذه الواسمات لتطبيقها بدون وجود تلك البادئات في حين أن هناك مؤشرات أخرى كالـ RAPD أو الـ AP-PCR والـ DAF لا يحتاج إلى بادئات متخصصة ويمكن اختيارها لتطبيقها مع أي كائن.

رابعاً: هناك نقاط أخرى يجب أخذها بنظر الاعتبار عند اختيار واسم ما وهي التقيد بالوقت ومدى توفر الخبرة في تطبيق واسم معين ومدى توفر الأجهزة والمستلزمات لتنفيذ ذلك الواسم بالإضافة إلى كلفة تلك المواد.

تطبيقات واسمات الـ DNA في تحسين النبات

تدخل في برامج التربية عادة أعداد كبيرة من النماذج التي يجب أن تخضع إلى التحليل وفي برامج أخرى نرى أن عدد هذه النماذج يكون قليلاً بحيث لا تتوفر الأرضية المناسبة لإنجاز مثل تلك التحليلات، إلا أن دخول تقانات مؤشرات الـ DNA الحديثة سهّلت وبشكل كبير مشكلة حجم العينات من خلال تطبيق أنظمة الـ PCR الخاصة بذلك أو تحويل كافة مراحل العمل آلياً (Auto-mation من استخراج الـ DNA إلى الكشف.. إلخ (Poulsen et al., 1996)، وتركزت جهود المربين في محاولة تطبيق هذه الواسمات على فحص وتثبيت الصفات المرغوبة في مفاصل العمل التالية:

1. **التأكد والتحقق من خطوط التربية:** إن فقدان علامات التأشير Label على النباتات الخاضعة للتحليل من المشاكل الشائعة في برامج تربية النبات وخصوصاً عند التعامل مع عدد كبير من الخطوط، مما يفرز ذلك حالات الإرباك في تشخيص النماذج، لذا فإن واسمات الـ DNA توفر حفظ العينات في كافة المراحل ويمكن الرجوع إليها في أي خطوة من ذلك (Henry, 1997). بالإضافة إلى إمكانية تعيين الهجين واختبار نقاوة خطوط التربية حيث يمكن تحديد طبيعة الهجين من الأفراد أو البذور ويمكن تحديدها باستخدام هذه الواسمات. وتكون ملائمة خصوصاً مع الأصناف التي تمتاز بالتلقيح الذاتي، أو الهجن الناتجة من اندماج بروتوبلاست خلايا الآباء المختلفة وراثياً (Xu et al., 1993). وكذلك فإن تولوث خطوط تربية النبات ينتج عادة من حدوث خلط لنماذج الحبوب إما أثناء الحصاد أو من النباتات ذات النضج المبكر المزروعة في نفس

خطوات كثيرة وقلّة مرونتها للتشغيل الآلي، لذا فإن واسمات الـ SSR و AFLP قد تعتبر الأكثر شيوعاً في تربية المحاصيل الحقلية (Korzum, 2002).

جدول 1. مقارنة بين بعض واسمات الـ DNA الشائعة الاستخدام

ت	المعالم	RFLP	RAPD	AFLP	SSR	SINP
1	كمية الـ DNA اللازمة (µg)	10	0.02	0.1-0.5	0.05	0.05
2	مواصفات الـ DNA	عالية	عالية	متوسط	متوسط	عالية
3	المعتمدة على تقنية PCR	لا تعتمد	تعتمد	تعتمد	تعتمد	تعتمد
4	قابلية الكشف على عدد المواقع المتباينة	3.0-1.0	50-15	100-20	3-1	1
5	مرونة الاستخدام	غير مرنة	مرنة	مرنة	مرنة	مرنة
6	نوع السيادة	مُشتركة	سائدة	سائدة	مُشتركة	مُشتركة
7	مرونة التشغيل الآلي	واظنة	متوسط	متوسط	عالية	عالية
8	قابلية تكرار النتائج	عالية	متوسط	عالية	عالية	عالية
9	تكاليف تطويرها	واظنة	واظنة	متوسط	عالية	عالية
10	تكاليف التحليل الواحد	عالية	واظنة	متوسط	واظنة	واظنة

أسس اختيار واسمات الـ DNA

ولتعدد أنواع الواسمات الجزيئية وتوسع مدى تطبيقاتها المختلفة في رسم الخرائط الجينية والتمييز والبصمة الوراثية وتحديد التباينات الوراثية وتحديد مواقع الجينات المطلوبة والعلاقات التطورية وغيرها، ولغرض اختيار الواسمات المثالية والتي تتناسب مع الأهداف التي صممت من أجلها والإمكانات والخبرات المتوفرة يتطلب الأمر الفهم الصحيح لهذه الواسمات وأنواعها من خلال معرفة بعض المعلومات الأولية قبل الشروع في اختيار نوع الواسم (Nybom, 2001) ومنها:

أولاً: نوع المعلومات المطلوبة ومدى قابلية الواسمات الوراثية لتحقيق هذا النوع من المعلومات. فإذا كان المطلوب معرفة العلاقة التطورية بين الأنواع المدروسة كالأنواع البرية والمنزوعة ولمعرفة التاريخ التطوري للأنواع يتم اللجوء إلى واسمات تعتمد على الكشف عن تتابعات معينة داخل الأنواع قيد الدراسة. أما إذا كان المطلوب إيجاد نوع العلاقة الوراثية بين الأفراد المدروسة فإغلب واسمات الـ DNA يمكن استخدامها لهذا الغرض وكذلك للتوصيف الوراثي لهجين الأفراد قيد الدراسة (Botton et al., 2005).

ثانياً: نسبة التباينات الوراثية المتوقعة بين الأفراد المدروسة وهذا يعتمد على كون الدراسة تتناول العلاقة بين الأنواع أو ضمن الأصناف أو بين الأفراد التابعة للصنف الواحد. فللكشف عن العلاقات القريبة جداً بين الأنواع يتم اختيار واسمات بقوة تمييز عالية حيث وجد أن نسبة التباينات المتوقعة بين الأنواع تعتمد على صفاتها الحيوية (حولي أو مستديم) والتوزيع الجغرافي (منتشر أو محدود الانتشار)، ونوع التلقيح (ذاتي أم خلطي) ونوع التكاثر (جنسي أم لا جنسي) إذ يمكن التكهّن بدرجة عالية من التباينات الوراثية بين الأنواع خلطية التلقيح والأنواع دائمة الخضرة (Shattuck-Eidens et al., 2005).

وخاصة في مراحل النمو المبكرة وبالتالي أدى إلى عدم تشجيع الاستثمار في التوسع في الإكثار مثل هذه المحاصيل. ومن الجوانب العلمية والتطبيقية وبالتأكيد الاستثمارية هي إيجاد واسمات من الـ DNA لاستخدامها كبصمة وراثية لتحديد الصنف أو الجنس وخاصة في المرحلة المبكرة للنمو (Jubrael et al., 2005).

2. **تقييم التباينات في الزراعة النسيجية:** تعد زراعة الأنسجة من صلب التطورات الحديثة للتقانات الحيوية وتلعب دوراً كبيراً في الإكثار السريع للنباتات المختلفة. إن التغيرات التي تحدث أثناء الزراعة النسيجية قد تكون مطلوبة من قبل المربي في بعض الحالات أو العكس في حالات أخرى، لذا يجب التحقق من أي تغيير وراثي ولو كان بسيطاً لتأثيره الكبير مستقبلاً. لذا يمكن استخدام البصمة الوراثية في التحقيق أو التأكد من الثبات الوراثي للنباتات الناتجة من الزراعة النسيجية وخاصة المعمرة منها النخيل وأشجار الفاكهة وإصدار وثيقة أو شهادة التطابق الوراثي مع الأصل (Ali et al., 2006 وLakshmanan et al., 2007 وLopes, 2006).

3. **ضمان جودة المنتج ومنع الغش التجاري:** إن مجالات استخدام البصمة الوراثية لا تقتصر على التحسين الوراثي للنبات فقط بل لها تطبيقات عديدة وكثيرة أخرى كترية وتحسين الحيوانات والأسماك. فمن المشاكل التجارية الكبيرة هي التحقق من نوعية اللحوم المنتجة أو المستوردة. ومن هذه المشاكل للحوم المستوردة والمُنتجة من حيوانات مُصابة بأمراض انتقالية ومشاكل اللحوم المحرمة شرعاً مثل لحوم الخنازير ومشاكل اللحوم ذات القيمة الغذائية والنوعية الرديئة (قيمة تسويقية غير جيدة). ومن خلال استخدام البصمة الوراثية الخاصة بكل نوع من أنواع لحوم الحيوانات يمكن ضمان جودة المنتج ومنع الغش التجاري وبالتالي حماية حقوق كل من المُستثمر والمُستهلك.

الاستنتاجات والتوصيات

بالرغم من الطاقات الكبيرة للتقانات الحيوية وبالتحديد الواسمات الجزيئية والاستثمارات الكبيرة في العالم إلا أن الفائدة التطبيقية لازالت قليلة جداً. إذ تشير الدراسات إلى أنه هناك أكثر من ألف بحث علمي منشور عالمياً يتناول موضوع استخدام الواسمات الجزيئية في تربية النبات إلا أن عدد قليل جداً منها قد أدخل في الواقع التطبيقي. ويُعزى السبب في ذلك إلى عوامل عديدة منها الكلفة العالية للواسمات الجزيئية وضعف العلاقة بين العلوم الأساسية والعلوم التطبيقية وبالتحديد بين مربي النبات وعلماء البيولوجيا الجزيئية وكذلك التراجع العالمي للاستثمارات في مجال تربية وتحسين النبات وتحويل معظم الموارد إلى الوراثة الجزيئية (Reece and Haribabu, 2007). ولغرض إمكانية الاستفادة الفعلية من الواسمات الجزيئية في برامج التربية والتحسين قدمت دراسة نشرها مركز

المكان، لهذا تكون واسمات الـ DNA فعالة في تحديد النقاوة أو مستوى الخلط الحاصل في خطوط التربية (Henry, 1997).

2. **التنبؤ بالهجين:** إن ما يعزز حدوث الهجين بين المحاصيل هي قوة الهجين Heterosis والتي لها علاقة بالبعد الوراثي بين الآباء المستخدمين في التهجين. وبما أن للمؤثرات المعتمدة على الـ DNA القدرة على تحديد البعد الوراثي بين الآباء المرشحين وبعض المعلومات المهمة عنهما، لذا يمكن استخدام هذه المعلومات في التنبؤ للهجين التي يمكن أن تنتج من التهجين المناسب لها (Zhang et al., 1995).

3. **ربط بعض الواسمات مع الصفات المهمة للنبات:** يهدف التعاون بين مربي النبات ومحلل المادة الوراثية على إيجاد مؤشر واضح ودقيق مرتبط بصفة معينة على جين ذلك النبات وذلك لتسهيل الكشف عنها أو تتبعها أثناء الأجيال. ومن هذه الصفات التي ترتبط مع جين مفرد معين مقاومة مرض معين كالتبقع أو الصدأ أو الأمراض النباتية الأخرى (Borovkova et al., 1995)، أو بعض الصفات الكمية لذلك النبات التي ترتبط مع مجموعة جينات أو الصفات المتداخلة كالإنتاجية والتحمل لبعض الظروف البيئية (Snowdon and Friedt, 2004).

4. **تسريع برنامج التربية:** بعد تفحص كل ما تقدم تستنتج أن الخطوات السابقة كانت تنجز بشكل أو بآخر بالطرق التقليدية إلا أن الوقت المستغرق لذلك كان طويلاً. فلو تفحصنا مراحل الحصول على صنف جديد الذي يستغرق ما بين (8-14) سنة ومقارنته مع برنامج آخر أدخلت فيه الواسمات الجزيئية لغرض الغرلة والانتقاء وتحديد الصفات المرغوبة التي توفر لنا أكثر من 75% من هذا الوقت (Henry, 1997).

5. **بناء الخرائط الوراثية:** جميع الخطوات السابقة تصب في النهاية في هدفاً عاماً هو بناء الخرائط الوراثية للعديد من النباتات التي لها شأن في غذاء الإنسان أو مصادره الطبية، وبنفس الوقت فإن الخرائط الوراثية تسهل إنجاز كافة المراحل السابقة في حالة اللجوء إليها مرة أخرى لتصميم أي برنامج تربية آخر، لذا فقد اعتمدت كافة أنظمة تآشير الـ DNA في إنجاز هذه المهمة (Henry, 1997).

البصمة الوراثية في الثبات الوراثي

تعتبر البصمة الوراثية (DNA Fingerprint) من الواسمات الجزيئية ذات الأهمية الكبيرة والتي يمكن استخدامها في التوسع بزراعة المحاصيل الاقتصادية الهامة ومن هذه الاستخدامات:

1. **الاختلافات البيئية والوراثية:** من المشاكل الأساسية التي تواجه التوسع في زراعة بعض النباتات كالنخيل وغيرها من أشجار الفاكهة هي الاختلافات الوراثية والبيئية الكبيرة جداً مما جعل صعوبة التمييز بين الأصناف والسلالات

بيولوجيا الأرز الجزيئية والتقانات الحيوية ما يسمى الشبكة الوطنية لتقانات الأرز الحيوية (NRBN) لتسهيل التعاون. الاجتماعات السنوية كانت فرصة للـ NRBN لتبادل الأفكار ومناقشة نتائج الأبحاث وإضافة إلى ذلك تهيئة الظروف اللازمة لفرق طوارئ مُتنقلة في استخدام الطرق الجزيئية على أبحاث الأرز.

ولغرض تحسين صنف من أصناف الأرز تعاونت اثنتان من الجامعات البحثية التي دعمت من قبل مؤسسة روكفلر، واحدة في مركز البيولوجيا الخلوية والجزيئية والأخرى في مديرية أبحاث الأرز في مشروع استخدام المؤشرات الجزيئية لمساعدة الاختيار في إيجاد صنف يتميز بالمقاومة ضد مرض لحة الأوراق البكتيرية (BLB) في زراعة الأرز الشائع.

وشمل المشروع إدخال ثلاثة جينات تمنح مقاومة ضد الـ BLB إلى خلفية جينات صنف الأرز (السمبا ماشوري) الذي تشيع زراعته في جنوب الهند. وأنها استفادت من خط الأرز SS1113 الذي تهيكلت فيه الجينات الثلاثة مسبقاً. وبحلول عام 2005 كانت المراحل الأولى من هذا المشروع قد أنجزت بنجاح وفي الوقت الذي كان يكتب عن مقاومة هذا المرض، كان صنف السامبا ماشوري تحت التجارب الميدانية.

ومن خلال المُقابلات التي أُجريت بين الطرفين كان بالإمكان توثيق العلاقة والصلة بين الطرفين بالإضافة إلى أن أعضاء كلا الفريقين أدرك الخبرات لكلا الجانبين وما يمكن توقعه من كلا المجموعتين. فالفريق في مركز البيولوجيا الخلوية الجزيئية لديه الخبرة في مجال التقانات الحيوية، أما الفريق من مديرية أبحاث الأرز له الإمكانية لتربية الأرز واختبارات وتثبيت المواقع الميدانية المُعدّة. عليه كان هناك تقسيماً طبيعياً للعمل بين المجموعتين مما يشابه تقارباً بين المختبر الذي يمثله البيولوجيون الجزيئيون والميدان متمثلاً بمربي النبات. إنَّ التقدّم الذي أحرزته هذه الجماعات يثبت أن استخدام الأساليب الجزيئية يؤدي إلى فوائد حقيقية عملية طالما أنها تعمل وتدار بشكل منظم.

ومن خلال ما تقدّم في هذه المقالة المُتواضعة حول الطاقات الكامنة للواسمات الجزيئية وتطبيقاتها في تربية وتحسين النباتات والحيوانات وكذلك من خلال التحليل والاستفادة من المثل الحيوي في إيجاد العلاقة بين علماء البيولوجيا الجزيئية ومربي النبات في مؤسسة روكفلر الهندية في إيجاد أصناف زراعية ذات صفات حقلية مُهمّة، يمكن الاستنتاج إلى العديد من النتائج منها هل من الممكن إيجاد مثل هذه العلاقة في القطاع الزراعي في الوطن العربي؟ وهل يمكن للمؤسسات الرسمية وغير الرسمية المسؤولة عن القطاع الزراعي في تبني مثل هذه البرامج والاستثمار فيها؟ وهل يمكن للهيئة العربية للاستثمار والإنماء الزراعي القيام بالدور الذي قامت به مؤسسة روكفلر الهندية لتطوير وتنمية الاستثمار في القطاع الزراعي في الوطن العربي لتلبية الحاجة المتزايدة للغذاء.

الأبحاث العلمية للعلوم والتقانة الحيوية (BBSRC) بجامعة Exeter في بريطانيا وخلصت هذه الدراسة إلى بعض التوصيات ومنها:

1. يجب إيجاد صلة وثيقة بين مكتشفي الواسمات الجزيئية ومربي النبات في جميع أنحاء العالم لضمان ارتباط الواسمات المكتشفة ببعض الصفات الحقلية المهمة وذات قيمة متميزة لبرامج التربية.
2. إنَّ التراجُع في دعم برامج التربية وتحويل الموارد المالية إلى علم الوراثة الجزيئية أدى إلى قلة الاستفادة من الطاقات الكامنة للواسمات الجزيئية المكتشفة لعدم وجود أعداد كافية من مربي النبات. لذا من الضروري زيادة الاستثمار ودعم مربي النبات.
3. إنشاء مراكز بحثية متخصصة عالمية أو إقليمية تخدم برامج التربية عالمياً أو محلياً وذلك لاسترداد الكلف العالية للواسمات الجزيئية والتي تحتاج إلى الخبرة والإدارة العلمية وارتفاع تكاليف الأجهزة.
4. نظراً لتنوع الظروف والحقول الزراعية المزروعة من قبل مزارعين فقراء، فإنَّ أهداف أي برنامج تربية يجب أن يكون مُلمّاً بالمزايا التي يُضللها هؤلاء المزارعين من خلال الاتصال المُباشر بين الطرفين والذي بدوره يمكن تسهيل الاتصال المُباشر إذا كانت محطات التربية قريبة من مزارع الفلاحين.
5. زيادة الاستثمار في المشاريع المشتركة بين مربي النبات وعلماء الواسمات الجزيئية وإيجاد تمويل إضافي لتدريب الكوادر وتوفير المستلزمات اللازمة لتمكين استخدام الواسمات الجزيئية في عمليات الانتخاب في البرامج المحلية لتربية النبات وفي هذا المجال قدمت هذه الدراسة مثلاً لإحدى المؤسسات الهندية (روكفلر الهندية) التي نجحت بشكل كبير في الأخذ بنظر الاعتبار إمكانية تنفيذ مشروع تم فيه تطبيق الواسمات الجزيئية في برنامج تربية وتحسين إحدى أصناف الأرز الشائعة في جنوب الهند. وقد تضمن هذا المشروع مثلاً حياً حول التعاون المُثمر بين علماء البيولوجيا الجزيئية ومربي النبات. ونعتقد من الضروري عرض تجربة هذه المؤسسة التي يمكن تطبيقها في القطاع الزراعي في الوطن العربي.

مؤسسة روكفلر في الهند

وكجزء من برنامج روكفلر الدولي لتقانة الأرز الحيوية أصبح مربي الأرز مُلمّين بالتقانة الجزيئية من خلال مجموعة من الفرض التدريبية، بما في ذلك طلبه الدراسات العليا. وكذلك فإنَّ مربي الأرز والبيولوجيين الجزيئيين تلقوا تدريبات في مُختبرات مُتقدّمة في المملكة المتحدة والولايات المتحدة وعلى الصعيد الدولي في معهد أبحاث الأرز الدولي في الفلبين. وقد شكّل العلماء المشاركون في

- warne, B. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Elec. J. Bio.*, ISSN, 0717.
- Lin, A. W.; Usera, M. A.; Barrett, T. J. and Goldsby, R. A. 1996. Application of Random Amplified Polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. *J. Clin. Microbiol.*, 50, 870.
- Lookhart, G. L. and Bietz, J. A. 1990. Practical wheat identification in the united states. *Cereal Foods World*, 35, 404.
- Lopes, T.; Pinto, G.; Loureiro, J.; Costa, A. and Santos, C. 2006. Determination of genetic stability in long-term somatic embryogenic cultures and derived plantlets of cork oak using microsatellite markers. *Tree Physiol.*, 26, 1145.
- Mehta-Bhatt, P. 2007. Exploring the potentials of Biotechnology for Development. The 3rd Biotechnology Workshop.
- Nybohm, H. 2001. DNA markers for different aspects of plan breeding research and its applications. *ISHS Acta Hort.*, 560.
- Poulsen, D. M. E.; Ko, H. L.; Vander Meer, J. G.; Vande putte, P. M. and Heary, R. J. 1996. Fast resolution of identification problems in seed production and plant breeding using molecular markers. *Aus. J. Exper. Agr.*, 36, 571.
- Reece, D. J. and Haribabu, E. 2007. Genes to feed the world: the weakest link?. *J. Footpad.*, 32, 459.
- Shattuck-Eidens, D. M.; Bell, N.; Neuhausen, S. L. and Hlentjaris, T. 1990. DNA sequence Variation within maize and melon: observation from polymerase chain reaction amplification and direct sequencing- *Genetics*, 126, 207.
- Snowdon, R. J. and Friedt, W. 2004. Molecular markers in Brassica oilseed breeding: current status and future possibilities. *Plant Breed.*, 123,1.
- Tanksley, S. D. and Drton, T. J. 1983. *Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Parts A and b Elsevier. Amsterdam.*
- Watson, J. D. and Crick, F. H. C. 1953. Molecular

References

- Ali, T. A.; Jubrael, J. M. and Jasim, A. M. 2006. The use of RAPD in the detection of genetic stability of Regenera TED plantlets of Barhee palm in Iraq. *Amr. Acta Horti. J.*, 736: III International date palm conference.
- Borovkova, I. G.; Steffenson, D. B. J.; Jin, Y.; Rasmussen, J. B.; Kilian, A.; Kleinhofs, A.; Rossnagel, B. G. and Kao, K. N. 1995. Identification of molecular markers linked to the stem rust resistance gene rpg 4 in barley. *Phytopath.*, 85,181.
- Botstein, D.; White, R. L.; Skolnick, M. and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, 32, 314.
- Botton, A.; Barcaccia, G.; Cappellozza, S.; Da Tos, R.; Bonghi, C. and Ramina, A. 2005. DNA fingerprinting sheds light on the origin of introduced mulberry (*Morus* spp.) accessions in Italy. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52,181.
- He, S.; Ohm, H. and Mackenize, S. 1992. Detection of DNA sequence polymorphisms amongst wheat varieties. *Theor. Appl. Genet.*, 84, 573.
- Henry, R. J. 1997. *Practical Applications of Plant Molecular Biology*. London, Chapman & Hall.
- Huebner, F. R.; Kaczowski, J. and Bietz, J. A. 1990. Quantitative variation of wheat proteins from grain at different stages of maturity and from different spike locations *Cereal. Chem.*, 67, 464.
- Jubrael, J. M. S.; Ibraheem, S. A. and Abed, H. A. 1995. Cloning of barley genomic DNA fragments into Hind III site of the plasmid. PGEM-7ZF [-] proceedings of the Regional Symposium on integrated crop-livestock systems in the dry areas of the West Asia and North Africa. P. 113. Amman- Jordan
- Korzun, V. 2002. Molecular Markers and their applications in cereals breeding. *Cell Molec. Biol. Lett.*, 2B, 811.
- Lakshmanan, V.; Venkataramareddy, S. R. and Neel-

- W. 1999. Glossary of biotechnology and genetic engineering. FAO Research and Technology paper 7. Food Agri. Org. UN., Rome, Italy.
- Zhang, Q.; Gao, Y. J.; Saghai-Marooof, M. A.; Yang, S. H. and Li, J. X. 1995. Molecular diversity and hybrid performance in rice. *Molec. Breed.*, 1, 133.
- structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 71, 737.
- Xu, Y.; Clark, M. S. and Pehu, E. 1993. Use of RAPD markers to screen somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Plant Cell Reports*, 12, 107.
- Zaid, A.; Hughes, H. G.; Porceddu, E. and Nicholas, F.

Use of Molecular Markers in Genetic Improvement Programs

Jaladet M. Saleh Jubrael ¹

Summary

Classical methods of improving plant breeding have successfully introduced a large number of high yielding varieties, but the demand for food is still great due to the high increase of population in the world and in the Arab countries. New methods for improving plant breeding have been introduced to meet this demand. DNA markers technique is considered to be one of the major biological technologies being introduced for improving plant and animal breeding programs, and differentiating between different agricultural varieties.

Lately, DNA markers technology is becoming very important due to the accelerating development in molecular biology, and introduction of many types of DNA markers. They have been classified in two major types based on the technology used to trace these markers: Hybridization Based Markers and Polymerase Chain Reaction (PCR).

Restriction Fragment Length Polymorphism is one of the most common Hybridization Based Markers that have extensively used in plant breeding programs.

Polymerase Chain Reaction technology is considered as a revolutionary technology in the molecular biology. Depending on the objectives of the genetic program, many DNA markers in this technology have been introduced. The most common are: Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Single Nucleotide Polymorphism (SNP), and Simple Sequence Repeats (SSR).

Adopting integrated programs for the introduction of these markers in breeding and genetic improvement in Arab countries, will pave the way for more investment, provide intellectual property rights for all parties, and prevent the illegal trading and cheating, which will create secure environment for agricultural investment.

1. Scientific Research Center, University of Dohuk, Iraq. Fax: +964 62 7612349, E-mail: jaladet@hotmail.com