دليل تجديد المجموعات الوراثية:
المبادئ التوجيهية العامة

الفصل التمهيدي

M.E. Dulloo[1], J. Hanson[2], M.A. Jorge[1,2] and I. Thormann[1]
[1]Bioversity International, Rome, Italy
[2]International Livestock Research institute (ILRI), Addis Ababa, Ethiopia

مقدمة

تتمثل مهمة بنوك المصادر الوراثية في النباتية المحافظة على بذور سلالات المجموعات الوراثية المحفوظة لديها بحالتها الحيوية وجودتها المرتفعة لأطول فترة ممكنة، فالمجموعات الوراثية تتدهور عبر الزمن وتحتاج للتجديد حتى في أفضل ظروف الإدارة الجيدة لها. وتعتبر المحافظة على هذه المجموعات بجودتها وحالتها الحيوية ضمن المستويات المقبولة أمراً صعباً لكثير من البنوك بسبب ارتفاع التكاليف ونقص القدرات والخبرات الفنية لديها - خاصة عندما تصطدم بالإجراءات المعقدة للتجديد التي تتطلبها بعض الأنواع النباتية (FAO 1998). وقد أدى هذا إلى تطوير قواعد التجديد التي تركز على الأنواع الهامة، فتم الإشارة إليها في تقرير أحوال العالم لمنظمة الأغذية والزراعة (FAO) واستراتيجيات المحافظة على المحاصيل المطورة خلال السنوات القليلة الماضية بدعم من الميثاق العالمي لتنوع المحاصيل (الميثاق) بالتعاون مع مراكز المجموعة الاستشارية للبحوث الزراعية الدولية (CGIAR). لذلك يعطي الميثاق، في كثير من الحالات، الأولوية لتجديد هذه الأنواع المهددة حول أنحاء العالم.

على الرغم من توفر وسائل عامة لعمليات التجديد (Sackville Hamilton and Chorlton 1997)، لكنه لا بد من توفر المعرفة والخبرات المخصصة لبعض المحاصيل. وللأسف فإن هذه المعرفة تتوفر في بعض بنوك المصادر الوراثية المنتشرة حول العالم بما فيها مراكز المجموعة الاستشارية للبحوث الزراعية الدولية، ولكنه لم يتم حتى الآن محاولة تحديد وجمع ونشر أفضل الطرق المتبعة التي تفيد المشرفين على تجديد المجموعات الوراثية بشكل يمكنهم من الحفاظ على الوحدة الجينية والحصول على بذور بحيوية مرتفعة للسلالات المزروعة. لذلك طلب الميثاق من المركز الدولي للتنوع الحيوي (Bioversity) الذي ينوب عن النظام الموسع لبرنامج المصادر الوراثية (SGRP)، تطوير دليل تجديد 21 محصولاً غذائياً أساسياً (الموز، اللوبيا، ثمرة الخبز، المنيهوت، الحمص، جوز الهند، اللوبيا البلدية، الفول، الدخن الإصبعي، البسلة العشبية، الذرة، القلقاسيات، العدس، الدخن اللؤلؤي، الجلبان، البطاطا، الأرز، السورغوم، البطاطا الحلوة، القمح، اليام) التي تستهدفها مبادرة الميثاق للتجديد.

تعريف

يقصد بمصطلح "التجديد" في هذا الدليل إعادة تكوين عينات مشابهة جينياً للمجموعة الأصلية عندما تنخفض حيويتها أو يقل عددها. ويعتبر التجديد ضرورياً أيضا للسلالات الجديدة التي تتطلب فترات حفظ طويلة عندما لا تتوفر بكميات كافية والتي قد يتم اللجوء إليها لأغراض صحية للحد من الأمراض. ويتم تجديد المحاصيل المحفوظة حقلياً التي تتكاثر بالاستنساخ في نفس الموقع أو تُنقل إلى مكان آخر للحماية أو لتجنب الأمراض و الحشرات.

المبادئ التوجيهية العامة

ضمان الوحدة الجينية

يعتبر تجديد الأصول الوراثية عنصراً هاماً في إدارة بنك المصادر الوراثية، ويتضمن المخاطر الكبيرة على الوحدة الجينية للمجموعة الوراثية خلال مراحل الانتخاب أو التلقيح الخارجي أو الخلط الآلي. ويكون الخطر من فقدان الوحدة الجينية مرتفعاً عند تجديد أصول وراثية متغايرة الخواص الجينية في المحاصيل ذات التلقيح الخلطي. فالتجديد يهدف إلى الحفاظ على الهيكلية والتنوع الوراثي الأصلي للسلالات أو المجموعات (أنظر النصائح في الدليل العام للتجديد أدناه).

ضمان الكفاءة

يجب مراعاة معدل إعادة إنتاج الأنواع والأصناف في مواقع التجديد لإنتاج كمية كافية من المنتجات النباتية. كما يجب حساب عدد البذور أو الشتلات أو أية عناصر زراعية أخرى لازمة للتجديد بدقة آخذين بعين الاعتبار العدد المطلوب للتجديد من النباتات، والإنبات، ومعدلات التأسيس الحقلي للسلالات، وكمية البذور اللازمة بعد التجديد ومدى ارتباط التوصيف والتقييم بالتجديد.

ضمان النوعية

يهدف تجديد المحاصيل إلى إنتاج كمية كافية من البذور أو الدرنات أو أطراف التكاثر الخضرية النباتية بحالة حيوية سليمة. لذلك يتوجب على بنوك المصادر الوراثية التأكد من خلو السلالات من الأمراض المنقولة بالبذور أو بالأطراف الخضرية وكذلك خلوها من الحشرات للحد من انتشار الأمراض والحشرات عند توزيع السلالات، بحيث تكون هذه المجموعة الوراثية مصدراً أساسياً نقياً لبرامج التربية والإكثار وغيرها من المشاريع.

الدليل العام لتجديد المجموعات الوراثية

نوع المجموعة

هناك نوعان من مجموعات بذور بنوك المصادر الوراثية المتعارف عليها لبذور المحاصيل وهما المجموعات الفعّالة والمجموعات الأساسية. ويفضل تجديد المجموعات الفعّالة من البذور الأصلية المأخوذة من المجموعات الأساسية. وفي جميع الأحوال فإنه من المقبول استخدام بذور من مجموعة فعّالة لأكثر من ثلاث دورات تجديد قبل العودة للبذور الأصلية (المجموعة الأساسية) (FAO/IPGRI 1994). ويجب أن يتم تجديد المجموعات الأساسية فقط من البذور الأصلية المتبقية من المجموعة الأساسية قدر الإمكان.

تُحفظ الأطراف المستخدمة للتكاثر في المحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ في مجموعات حقلية (Engels and Visser 2003). فمثلاً تحتاج بعض أنواع الأشجار المدارية لإعادة غرس كل 15 سنة أو أكثر في حين تتطلب أنواعاً أخرى استبدالها كل عدة أشهر. ومن المفيد أيضاً إنشاء مجموعة احتياطية مطابقة عندما لا يمكن الحصول على أي بذور من النباتات المزروعة بسبب ضعفها كما

هو الحال بالنسبة للمحاصيل المتكاثرة بالبذور. ويمكن حفظ المحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ في المخبر أو بالتبريد التي تطورت تقنياتها حديثاً لأجل محاصيل معينة ويمكن لهذه المحاصيل أن تستخدم كاحتياطي لبنوك المصادر الوراثية الحقلية.

وسوف لن يتطرق هذا الدليل إلى كيفية تجديد المجموعات المخبرية أو المحافظة عليها بالتبريد (يمكن الحصول على مزيد من المعلومات من Reed *et al.* (2004)).

متى يتم التجديد؟

التجديد عملية مكلفة ويجب تنفيذها كلما دعت الحاجة فقط لضمان المحافظة على السلالات بحيوية وكمية مناسبة وجودة ملائمة.

ويتم تجديد سلالات معظم بذور المحاصيل:

- عندما تنخفض حيوية البذور إلى 85% من النسبة الأولية للإنبات في المجموعات الفعّالة، المحددة من خلال أساليب مراقبة الحيوية (لمزيد من التفاصيل أنظر FAO/IPGRI 1994; Rao et al. 2006; ISTA 2008). ولا يجب أن تقل حيوية البذور الأولية عن 85% قبل التخزين بالرغم من أنّ بعض بنوك المصادر الوراثية تستخدم معدلاً أقل (أقل من 75%) خاصة بالنسبة للأنواع البريّة.
- عندما يقل عدد البذور الحيوية في كل سلالة عن 1500 بذرة للمجموعات الفعّالة أو الأساسية أو يقل عن 250 بذرة للأنواع النقية.

ويعتبر تجديد السلالات الضعيفة (ذات القدرة الضعيفة على النمو) أهم من تجديد السلالات ذات العدد القليل من البذور. وتكتسب السلالات في المجموعات الأساسية أهمية أكبر من السلالات في المجموعات الفعّالة.

ويتم تجديد للمحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ بالاعتماد على:

- نضج وفساد الأطراف النباتية المحفوظة.
- حالة الإصابة الحشرية والمرضية للمجموعة الحقلية.
- الحاجة لتغيير المجموعة بسبب مخاطر خارجية (جفاف، فيضانات، أعاصير).
- الحاجة لزيادة توفر مواد التكاثر.

حجم العيّنة

يجب اختيار العيّنة المأخوذة من سلالات البذور للتجديد عشوائيا بشكل يمثل التنوّع داخل السلالة أو المجموعة ويوفر احتمال أكبر للمحافظة على الجينات عند ضعف تكرر الصبغيات في الأنواع الأصلية، فقد حدد Crossa et al. (1993) مجال من 90 إلى 210 بذرة لتكرّر صبغي من 0.003 إلى 0.05 وعدد مواضع على المورثات تمتد من 10 إلى 150، مع نسبة احتمال 90-95%. وتحتاج الأنواع ذات التلقيح الخلطي إلى نباتات أكثر من الأنواع ذات التلقيح الذاتي للمحافظة على التنوّع الجيني داخل المجموعة [لمزيد من التفاصيل، انظر Crossa (1993)]. لكن الأمر ليس دائما على هذا النحو ويمكن أن يرتبط بدرجة الاختلاف داخل السلالة في المجموعات الفرعيّة للأنواع ذاتية التلقيح.

يمكن تقدير العدد الأدنى للبذور لأجل التجديد من الحجم المعياري للعيّنة المستخدمة في التجديد وكذلك من القدرة الحيوية للعيّنة حسب العمليات الحسابية التالية:

عدد البذور اللازمة للتجديد = المجموعة النباتية المرغوب تجديدها / (النسبة المئوية للإنبات[1] × النسبة المئوية للتأسيس الحقلي المتوقع[2])

.(Rao et al. 2006)

وبما أن النباتات تكون عادة متطابقة جينيا داخل السلالة في حالة المحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ، فإن اختيار حجم العيّنة يجب أن يرتبط بنسبة احتمال بقاء النبتة حية في الحقل وضمان بقاء بعض النبتات حية على الأقل ليتم حصادها مما يمكّن من تجديد السلالة مرة أخرى. لذلك نحتاج في أحوال كثيرة إلى عدد قليل من النباتات يتراوح بين 5 و 10 نبتات لكل سلالة، أو أكثر إذا كانت أطراف التكاثر ضرورية لأهداف أخرى.

تجهيز البذور / المادة النباتية

لا بد من إخراج حاويات البذور المخزنة في بنك المصادر الوراثية النباتية قبل بدء عملية التجديد وإبقاءها ليلة كاملة في درجة حرارة الغرفة العادية حتى تعتدل حرارتها قبل فتحها، وذلك لتفادي تعرضها السريع للرطوبة.

أما بالنسبة للمحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ، فإنه يمكن أن يتطلب الأمر استخدام أجزاء مختلفة من النبتة من أجل عملية التجديد، سواء أكانت الجذور الدرنية أو العروق أو السيقان أو الأشطاء أو أية أجزاء أخرى من النبتة. وهناك طرق تطبيقيّة خاصة لكل من هذه الأطراف النباتيّة من أجل الانتقاء والقطع والتعقيم والتخزين قصير الأمد أو التكييف الأولي قبل الغرس.

الحفاظ على حجم فعال للمجموعة

يعتبر أحد أهم أهداف التجديد المحافظة على حجم فعّال لمجموعة بذور السلالة (N_e). وقد طور الخبراء طرق لحساب الاختلاف في حجم المجموعة الفعّال (N_e) لكل من:

(1) مجموعة الأصول الوراثية وتجديد الأنواع الخنثوية ذات الصبغيات المضاعفة Crossa and Vencovsky (1994)

(2) الأنواع ذات التلقيح الخلطي Crossa and Vencovsky (1997)

(3) الأنواع المختلطة ذاتيا والمختلطة عشوائيا Vencovsky and Crossa (1999)

ويرى Crossa and Vencovsly (1994) and Vencovsky and Crossa (1999) أن أفضل إستراتيجية للحفاظ على حجم فعّال مرتفع للمجموعة (N_e) هو أخذ عدد متماثل من البذور من أكبر عدد ممكن من النباتات الأمهات. كما أن تجميع بذور الأنواع ذاتية التلقيح أصعب من تجميع الأنواع خلطية التلقيح. وإذا كان هناك اختلافات بين نباتات السلالة الواحدة في الإزهار والنضج، فإنه من الأفضل حصاد نباتات فردية وخلط نسب متساوية من البذور من نباتات أمهات مختلفة لتفادي التأثيرات المورثيّة.

ولا يعتبر حجم المجموعة بذات الأهمية في المحاصيل المتكاثرة بالاستنساخ لأن نباتات السلالة تكون متطابقة جينيا دائماً. لكن بالرغم من ذلك يحتوي العديد من هذه المحاصيل على مستوى كبير من اللواقح مختلفة الصبغيات بسبب بعض مستويات التلقيح الخارجي الطبيعي واستمراريتها من خلال العناصر الخضرية اللاحقة، والذي يمكن أن ينعكس كاختلاف بين نباتات المجموعة (Vasil et al. 1994; Lebot and Aradhya 1992). لذلك يُنصح باستخدام 5 إلى 10 نبتات في كل مجموعة. وعندما يتم إثبات أن النباتات متطابقة جينيا، فإنه من الضروري عندها انتقاء مواد من عدد قليل من نباتات الأمهات السليمة والقويّة بدلاً من أن

[1] يتم التعبير عن النسبة المئوية للإنبات والتأسيس الحقلي برقم عشري، فيعبر مثلاً عن نسبة 95% بالرقم العشري 0.95

[2] تكون النسبة المئوية للتأسيس الحقلي بشكل عام أقل بحوالي 5% من النسبة المئوية للإنبات في الظروف القاسية وحوالي 1% في الظروف الملائمة

يتم الانتقاء من عدد كبير من النباتات الرديئة. لذلك سيتوقف عدد النباتات المغروسة على مستوى اللواقح مختلفة الصبغيات، والتنوّع الضمني-النوعي بالإضافة إلى تكلفة الحفظ واحتياجات الوصف والتقييم.

اختيار البيئة

يجب تجديد سلالات المجموعات الوراثية في نفس المنطقة البيئية التي نشأت فيها قدر الإمكان. كما يمكن اختيار موقع يكون فيه ضغط الانتقاء على البنيات الوراثيّة أو المجموعات منخفض إلى الحد الأدنى. وإذا لم تتوفر المواقع المناسبة، يُنصح بالتعاون مع مؤسسات أخرى يمكنها توفير مواقع مناسبة أو مرافق لعمليات التجديد. ويجب توخي الحذر أثناء عملية التجديد وعند معاملة البذور أو أطراف التكاثر النباتية لتفادي العدوى من التربة المتاخمة، والحد من تدفق المورّثة وإعاقة أي إدخال غير متعمّد للمورّثات المتغيرة جينيا. ويجب إزالة النباتات الدخيلة والتي لا تنتمي إلى المجموعة، كما لا يجب أن تزرع السلالات في الحقول التي زرع بها نفس المحصول سابقاً للتقليل من مخاطر النباتات الدخيلة وزيادة احتمال إصابة التربة بالحشرات والأمراض.

كما يجب أن تكون أحواض التجديد متجانسة قدر الإمكان والحقول ذات نظام صرف جيد بالإضافة إلى توفر نظام ري مناسب حتى في المحاصيل البعلية التي تعتمد على مياه الأمطار لتجنب مخاطر الانتخاب التي تنشأ بسبب الجفاف وللحصول على غلة جيدة. وينصح أيضاً باختبار العناصر المغذية في التربة لتحديد الأسمدة اللازمة.

العزل

يعتبر نظام تكاثر المحصول هاماً للغاية، فبالنسبة للأنواع ذات التلقيح الخلطي، تُستخدم مسافات عزل مناسبة، وعزل مؤقت، والتغطية بالأكياس، والأقفاص وغيرها من التقنيات المناسبة. وبما أن درجة التلقيح الخلطي للعديد من الأنواع مرتبط بالموقع، فإن تقييم معدل التلقيح الخلطي في المكان الذي تم فيه تجديد النباتات يعد طريقة جيدة لاستخدام التقنية المناسبة للتهجين.

إدارة المحصول

يجب التأكد من خلو مساكب التجديد من البذور والنباتات الغريبة. كما لا بد من التخلص من الأعشاب الطفيلية بانتظام للحد من منافستها للنباتات المزروعة. ويجب التخلّص من حشرات وأمراض التربة والأعشاب الضارة باستعمال العلاج المناسب خلال تجهيز مساكب التجديد، ويتم ذلك بالرش بمبيدات الأعشاب الضارة، وتسميد التربة، والحرث ثم الرش مباشرة بمبيدات الأعشاب أو الحرث العميق لقتل الأعشاب الضارة النامية أو كلاهما.

مراقبة هوية السلالات

استخدم بطاقة من النوع الذي يدوم طويلاً وحبراً لا يزول بسهولة واحتفظ بخرائط الحقل لكل سلالة بمفردها من أجل مراقبة هوية السلالة خلال الموسم الزراعي. كما يُنصح بالنسبة لمحاصيل البذور الاحتفاظ بعيّنة من البذور الأصلية كدليل في كيس بلاستيكي صغير في مكان جاف بدرجة حرارة 15 درجة مئوية وذلك لمطابقة البذور المحصودة للسلالة المجددة مع عيّنة البذور لإثبات أن السلالة مطابقة للنوع. ويمكن إثبات البذور المجددة أو أطراف التكاثر بمقارنتها مع المعلومات الأساسية الخاصة بالسلالة، إن وجدت.

الحصاد

يتم الحصاد بصفة عامة عند بلوغ النبتة النضج التام (أي بعد نقطة النضج الفيزيولوجي)، عندما تنضج أغلب البذور وتكون قابلة للتجفيف ويمكن فرطها من دون أن تتضرر كثيراً وقبل أن تتلف وتتبدد طبيعياً [لمزيد من التفاصيل أنظر Rao et al. (2006)].

يمثل النضج الفزيولوجي للنبتة الأم للمحاصيل التي تتكاثر بالاستنساخ، أهم خاصيّة لمجموعة أطراف التكاثر للحصول على تجديد ناجح أو الحفظ قصير الأمد. ولا يمثل نضج الأجزاء الصالحة للأكل من النبتة أهمية دائماً عندما لا تتطابق مع الجزء الذي تم إكثاره.

الحشرات والأمراض الشائعة

يوفر الدليل قائمة بأسماء الحشرات والأمراض الشائعة لكل محصول لكنه لا يتطرق إلى كافة العوارض أو أساليب مكافحتها. ويجب أن يتم فحص المحاصيل خلال التجديد (بما في ذلك أثناء الحصاد وما بعد الحصاد) بواسطة الجهات المختصة لحماية النباتات، خاصة من أجل الأمراض المنقولة بالبذور أو المنقولة خضرياً، لتحقيق أعلى معايير السلامة والحيوية للعناصر المجدّدة.

المراجع والقراءات الإضافية

Crossa J. 1995. Sample size and effective population size in seed regeneration of monoecious plants. In: Engels JMM, Ramanatha RR, editors. Regeneration of seed crops and their wild relatives. Proceedings of a consultation Meeting 4-7 December 1995, ICRISAT, Hyderabad, India. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp.140–143.

Crossa J, Hernandez CM, Bretting P, Eberhart SA, Taba S. 1993. Practical considerations for maintaining germplasm in maize. Theoretical and Applied Genetics 86: 673–678.

Crossa J, Vencovsky R. 1994. Implications of the variance effective population size on the genetic conservation of monoecious species. Theoretical and Applied Genetics 89:936–942.

Crossa J, Vencovsky R. 1997. Variance Effective Population Size for Two-Stage Sampling of Monoecious Species. Crop Science 37:14–26.

Engels JMM, Visser L, editors. 2003. A guide to effective management of germplasm collections. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy.

FAO/IPGRI. 1994. Genebank standards. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome / International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

FAO. 1998. The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Hanson J. 1985. Practical Manuals for Genebanks: Procedures for Handling Seeds in Genebanks. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.

ISTA. 2008 International rules for seed testing. International Seed Testing Association. ISTA Secretariat, CH-Switzerland.

Lebot V, Aradhya KM. 1992. Collecting and evaluating taro *Colocasia esculenta* for isozyme variation. FAO/IBPGR Plant Genetic Resources Newsletter 90:47–49.

Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Nowell D and Larinde M. 2006. Manual of seed handling in genebanks. Handbook for Genebanks No.8. Bioversity International, Rome, Italy.

Reed BM, Engelmann F, Dulloo ME, Engels JMM. 2004. Technical guidelines for the management of field and *in vitro* germplasm collections. Handbook for Genebanks No 7. International Plant Genetics Resources Institute, Rome, Italy.

Sackville Hamilton NR, Chorlton KH. 1997. Regeneration of accessions in seed collections: a decision guide. Handbook for Genebanks No.5. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Soest LJM van. 1990. Plant Genetic Resources: Safe for the future in genebanks. Impact of Science on Society 158: 107–120.

Vasil IK, Thorpe TA, editors. 1994. Plant Cell and Tissue Culture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht and Boston (Massachusetts). 604pp.

Vencovsky R, Crossa J. 1999. Variance Effective Population Size under Mixed Self and Random Mating with Applications to Genetic Conservation of Species. Crop Science 39:1282–1294.

الاقتباس

Dulloo M.E., Hanson J., Jorge M.A., and Thormann I. 2008.

دليل تجديد المجموعات الوراثية: المبادئ التوجيهية العامة.

In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 7 pp.