Arabic Summary

يعتبر محصول الذرة ثالث محصول من محاصيل الحبوب المزروعة في العالم بعد القمح والأرز وعلى مدى العقود القليلة الماضية، كان الإنتاج السنوي للذرة مماثل للقمح والأرز، وأعلى بكثير من أرقام الإنتاج. حيث الملايين من الناس في المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية يعتمدون على الذرة كمصدر غذائي مشترك بين الإنسان والحيوان حيث يعد مصدرا هاما من مصادر البروتين والطاقة لتغذية البشر ولا شك أن رفع القيمه الغذائيه لهذا المحصول سواء كان علي مستوي المحصول الاخضر (الدراوه) كعلف للحيوان او الحبوب الكامله او المجروشه كعلف حيواني او داجني او دقيق كغذاء للانسان وذلك باكساب هذا المحصول المقدره علي انتاج حامض اميني اساسي وهو الحامض الاميني التربتوفان عن طريق التحول الوراثي بادخال احد الجينات الاساسيه لتخليق هذا الحامض الاميني للتركيب الوراثي لنبات الذره يؤدي الي الحصول علي سلاله جديده ذات قيمه غذائيه عاليه مفيده اقتصاديا

و تهدف هذه الدراسة إلى دراسة قابلية أصناف الذرة المنزرعة لانتاج الكالس الجنيني وكذلك القدرة علي التشكل لإنتاج نباتات جديدة، اجراء التحول الوراثى باستخدام البيولوجيا الجزيئية والتي تشمل على إدخال البلازميد إلي الكالس الجنيني بإستخدام جهاز قاذف الجيناتParticle bombardment ويحتوي البلازميد علي جين Anthranilate synthase المسئول عن التغذية الرجعية لتخليق الحمض الأميني التربتوفان والذي يعد من الأحماض الأمينية الهامة والتي تستخدمها الخلايا في تكوين مركبات دفاعية للنبات وكذلك الأوكسينات, حمض النيكوتينك. و الإستفادة من هذا الجين في إنتاج نباتات تحوي الجين المرغوب الذى يرفع من القيمة الغذائية للمحصول وبالتالى يتم انتاج سلالة ذرة جديدة تحتوى على صفة وراثية مفيدة لم تكن موجودة فى جينوم هذا النبات.

تم زراعة نوعى ذرة هجين فى مزرعة الكلية للحصول على الكيزان بعد 15 يوماً من التلقيح ثم زراعة الاجنة الناضجة وغير الناضجة فى معمل زراعة الانسجة النباتية بكلية الزراعة ساباباشا حامعة

الاسكندرية باستخدام بيئة N6 وبعد الحصول على الكالس تم تقدير مجموعة من الصفات المتعلقة بالكالس ونموة تمهيدا لقذف الجين المسئول على زيادة حامض التربتوفان فى الذرة.

البيانات التى تم تسجيلها:

1- عدد الكالس الحى والميت

2- الكشف عن نقل الجين الى الكالس

3- تقدير وجود المادة الوراثية المعزولة

4- تحليل نتائج تفاعل البلمرة المستمر

5- تقدير كمية التربتوفان فى الكالس الناتج

يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

مع استخدام بيئه N6 المحتويه علي 30جم سكروز, 2.76جم بروليين, 2ملجم 2,4, 1.0 D, 8 , 0.1caseinhydrolysate , myoinositolجم أجار عند درجه حموضه وقلويه 5.8. أظهرت النتائج نمو في الكالس لهجن الذره المستخدمه حيث اعطي الهجين الأول SC168 قيم اعلي من الهجين الثاني SC10

بالنسبه للهجين SC168 كانت أعلي في معدل الكالس الحي بقيمه 88.17 مقارنه بالهجين الآخر SC10 كانت 41علي الناحيه الآخري بالنسبه للكالس الميت سجل 26.67 SC10 مقارنه بال SC168 7.17

اظهرت النتائج أيضا أنه كل 40 يوم من القراءات أن مايقارب 50% من الكالس مات في صنف SC10 مقارنه بالهجين الآخر SC168 حيث كانت نسبة الموت تقريبا 10%

أقصي عدد للخلايا الحي في SC10 كان 28 كالس وبالنسبه لل SC168 كانت 26 كالس

بعد 80 يوم من الزراعه أظهرت النتائج ان معدل الحي يزداد بينما الكالس الميت يقل وعل سبيل المثال أعلي رقم سجل كانت 18.71في SC168 مقارنه بال 11.65 SC10

أخيرا بعد 120يوم من زراعه الكالس أوضحت النتائج أن المتوسط العام للخلايا كان 15.01في SC168 مقارنه بالهجين الآخر SC10 كان 9.86

من خلال التجربه بعد قذف الجين المسئول عن زياده الحامض الأميني التربتوفان في الكالس وتقدير محتوي هذا الحامض في الخلايا بعد القذف

اتضح ان هناك زياده معنويه في محتوي الحامض الأميني في الكالس وهذا ماتم الاستدلال عليه باستخدام تفاعل البلمره المستمر وتقدير محتوي التربتوفان إنزيم ال Anthranilate synthase هو الإنزيم الرئيسي في تكوين الحمض الأميني التربتوفان. ويعتبر التربتوفان واحد من الأحماض الأمينية الرئيسية والمصدر الرئيسي لحلقة الإندول اللا زمة لتخليق مركبات كثيرة ومهمة بما في ذلك الأوكسينات وحمض النيكوتينك والقلويدات والفيتوالكسينات.يحفزإنزيم ال Anthranilate synthase التفاعل الأول في المسار المتعدد الخطوات لتخليق التربتوفان عن طريق تحويل ال Chroismate إلي Anthranilate. يعد جهاز قاذف الجينات من إحدي الطرق التي تستخدم لإنتاج ذرة معدل وراثيا حيث تم إستخدام البلازميد pC2ASA2-NOS-ASB with (feedback anthranilate synthase)ASA2&ßوالذي يحمل جينات المسئولة عن زيادة الحمض الأميني التربتوفان تحت التحكم من البادئCaMV35S .وضع الكالس علي بيئة ذات إسموزية عالية لمدة أربعة ساعات قبل قذف الكالس بالبلازميدات المحملة علي حبيبات الذهب. تم إستخدام نوعان من ضغط الهيليوم 900 رطل/ بوصة^2 ,1100 رطل/ بوصة^2 . وتم القذف إما مرة أ ومرتان متتاليتان.ثم وضع الكالس علي بيئة

إختيارية تحتوي علي6MT 100ميكرومول من المثبط .تم أُستخدام ال PCR , Southern blotting لتحديد الجينات ومعرفة النباتات المحورة وراثيا و تم الحصول علي نباتات محورة وراثيا والتي أظهرت زيادة في الحمض الأميني التربتوفان من 12-16 ضعف مقارنة بالنباتات غير المحورة وراثيا.كذلك ووجد أن كفاءة قذف الكالس مرتان أعلي من قذفه مرة واحدة بالبلازميد في إنتاج نباتات محورة وراثيا .

لجنة الإشـراف

أ.د.حسام الدين فتحى الوكيل .....

استاذ الوراثة (_المتفرغ)– قسم النبات الزراعى–
كلية الزراعة – سابا باشا – جامعة الأسكندرية
(مشرفا رئيسيا)

د. منال مصطفى عبد الحميد .....

استاذ مساعد الوراثة – قسم أمراض النبات–
شعبة الوراثة– كلية الزراعة — جامعة دمنهور

د. نادر رجب عبدالسلام

مدرس الوراثة – قسم النبات الزراعى– كلية
الزراعة – سابا باشا – جامعة الأسكندرية .....

جامعة الأسكندرية
كلية الزراعة- سابا باشا

تحسين القيمة الغذائية للذره الشامية باستخدام طرق الهندسة الوراثية

مقدمة من

راندا شعبان محمد أحمد

للحصول علي درجة
الماجستير في العلوم الزراعية
(الوراثة)
قسم النبات الزراعى

لجنة الحكم علي الرسالة : **موافقــون**

أ.د. هاجر عبد العظيم عبد الرسول .....
استاذ الوراثة المتفرغ- كلية الزراعة الشاطبى-قسم الوراثة- جامعهة الاسكندرية **(ممتحناً خارجياً)**

أ.د. أحمد السيد خالد .....
استاذ الوراثة – قسم النبات الزراعى- كلية الزراعة – سابا باشا – جامعة الأسكندرية (ممتحناً داخلياً)

د. منال مصطفى عبد الرحمن .....
استاذ مساعد الوراثة – قسم أمراض النبات- كلية الزراعة – جامعة دمنهور (مشرفاً وممتحنا داخليا)

جامعة الإسكندرية
كلية الزراعة – سابا باشا
قسم النبات الزراعي

تحسين القيمة الغذائية لمحصول الذره الشامية باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية

رسالة علمية مقدمة استيفاءً لمتطلبات منح درجة
الماجستير في العلوم الزراعية
(تخصص الوراثة)
قسم النبات الزراعي

مقدمة

من

راندا شعبان محمد أحمد

2014