

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 القيمة الغذائية لهذا المحصول سواء كان علي مستوى المحصول الأخضر (الدراوه) كعلف للحيوان او الحبوب الكامله او المجروش كعلف حيواني او داجني او دقيق كغذاء للإنسان وذلك باكساب هذا المحصول المقدرة علي انتاج حامض اميني اساسي وهو الحامض الاميني التريبتوفان عن طريق التحول الوراثي بادخال احد الجينات الاساسيه لتخليق هذا الحامض الاميني للتركيب الوراثي لنبات الذرة يؤدي الي الحصول علي سلالة جديده ذات قيمه غذائيه عاليه مفيده اقتصاديا

و تهدف هذه الدراسة إلى دراسة قابلية أصناف الذرة المنزرعة لإنتاج الكالس الجنيني وكذلك القدرة علي التشكل لإنتاج نباتات جديدة، اجراء التحول الوراثي باستخدام البيولوجيا الجزيئية والتي تشمل على إدخال البلازميد إلي الكالس الجنيني باستخدام جهاز قاذف الجينات Particle bombardment ويحتوي البلازميد علي جين Anthranilate synthase المسئول عن التغذية الرجعية لتخليق الحمض الأميني التريبتوفان 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 الذي يرفع من القيمة الغذائية للمحصول وبالتالي يتم انتاج سلالة ذرة جديدة تحتوى على صفة وراثية مفيدة لم تكن موجودة في جينوم هذا النبات.

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

الاسكندرية باستخدام بيئة N6 وبعد الحصول على الكالس تم تقدير مجموعة من الصفات المتعلقة بالكالس ونموه تمهيدا لقذف الجين المسئول على زيادة حامض التريتوفان 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 التريتوفان فى الكالس الناتج

يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

مع استخدام بيئه N6 المحتويه علي 30جم سكروز , 2.76جم برولين , 2ملجم 2,4 , 1.0 D , 0.1caseinhydrolysate , 8 myoinositol , 0.1جم 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 الحى بقيمه 88.17 مقارنة بالهجين الآخر SC10 كانت 41علي الناحيه الأخرى بالنسبه للكالس الميت سجل SC10 26.67 مقارنة بال SC168 7.17

اظهرت النتائج أيضا أنه كل 40 يوم من القراءات أن مايقارب 50% من الكالس مات في

صنف SC10 مقارنة بالهجين الآخر SC168 حيث كانت نسبة الموت تقريبا 10%

أقصى عدد للخلايا الحي في SC10 كان 28 كالس وبالنسبة لل SC168 كانت 26 كالس

بعد 80 يوم من الزراعة أظهرت النتائج ان معدل الحي يزداد بينما الكالس الميت يقل وعمل سبيل

المثال أعلى رقم سجل كانت 18.71 في SC168 مقارنة بال 11.65 SC10

أخيرا بعد 120 يوم من زراعته الكالس أوضحت النتائج أن المتوسط العام للخلايا كان 15.01 في

SC168 مقارنة بالهجين الآخر SC10 كان 9.86

من خلال التجربه بعد قذف الجين المسئول عن زياده الحامض الأميني التريبتوفان في الكالس

وتقدير محتوى هذا الحامض في الخلايا بعد القذف

اتضح ان هناك زياده معنويه في محتوى الحامض الأميني في الكالس وهذا ماتم الاستدلال عليه

باستخدام تفاعل البلمره المستمر وتقدير محتوى التريبتوفان إنزيم ال Anthranilate synthase هو

الإنزيم الرئيسي في تكوين الحمض الأميني التريبتوفان. ويعتبر التريبتوفان واحد من الأحماض الأمينية

الرئيسية والمصدر الرئيسي لحلقة الإندول اللازمة لتخليق مركبات كثيرة ومهمة بما في ذلك الأوكسينات

وحمض النيكوتينك والقلويدات والفيثوالكسينات. يحفز إنزيم ال Anthranilate synthase التفاعل الأول

في المسار المتعدد الخطوات لتخليق التريبتوفان عن طريق تحويل ال Chroismate إلي

Anthranilate. يعد جهاز قاذف الجينات من إحدى الطرق التي تستخدم لإنتاج ذرة معدل وراثيا حيث

تم استخدام البلازميد (feedback anthranilate with pC2ASA2-NOS-ASB

ASA2&3 synthase) والذي يحمل جينات المسئولة عن زيادة الحمض الأميني التريبتوفان تحت التحكم

من البادئ CaMV35S. وضع الكالس علي بيئة ذات إسموزية عالية لمدة أربعة ساعات قبل قذف

الكالس بالبلازميدات المحملة علي حبيبات الذهب. تم استخدام نوعان من ضغط الهيليوم 900 رطل/

بوصة², 1100 رطل/ بوصة². وتم القذف إما مرة أ ومرتان متتاليتان. ثم وضع الكالس علي بيئة

إختياريّة تحتوي علي 6MT 100 ميكرومول من المثبط .تم إستخدام ال Southern , PCR blotting لتحديد الجينات ومعرفة النباتات المحورة وراثيا و تم الحصول علي نباتات محورة وراثيا والتي أظهرت زيادة في الحمض الأميني التريتوفان 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 الإشراف

أ.د. حسام الدين فتحى الوكيل

- استاذ الوراثة (_المتفرغ) - قسم النبات الزراعى -
كلية الزراعة - سابا باشا - جامعة الاسكندرية
(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 الاسكندرية



جامعة الإسكندرية
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
(الوراثية)
قسم النبات الزراعي

موافقون

.....

لجنة الحكم علي الرسالة :

أ.د. هاجر عبد العظيم عبد الرسول

استاذ الوراثة المتفرغ- كلية الزراعة الشاطبي- قسم الوراثة- جامعة
الاسكندرية (ممتحناً خارجياً)

.....

أ.د. أحمد السيد خالد

استاذ الوراثة - قسم النبات الزراعي - كلية الزراعة - سابا باشا - جامعة
الأسكندرية (ممتحناً داخلياً)

.....

د. منال مصطفى عبد الرحمن

استاذ مساعد الوراثة - قسم أمراض النبات - كلية الزراعة - جامعة
دمنهور (مشرفاً وممتحناً داخلياً)



جامعة الإسكندرية
كلية الزراعة - سابا باشا
قسم النبات الزراعي

تحسين القيمة الغذائية لمحصول الذرة 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