جامعة الفيوم
كلية العلوم
قسم النبات

"توصيف جزيئى للبلعمة الخلوية الذاتية في نبات الطماطم المعدل وراثيا خلال عملية نضج الثمار"

رسالة

مقدمة إلى قسم النبات – كليه العلوم

لاستيفاء متطلبات الحصول على درجة الدكتوراة في العلوم

تخصص فسيولوجيا النبات

مقدمه من

مروة عبد اللطيف أمين عبد الوهاب

كلية العلوم – جامعة الفيوم
المدرس المساعد بقسم النبات

٢٠١٦

"توصيف جزيئى للبلعمة الخلوية الذاتية في نبات الطماطم المعدل وراثيا خلال عملية نضج الثمار"

مقدمة من

مروة عبد اللطيف أمين عبد الوهاب

درجة الدكتوراة في النبات

(فسيولوجيا النبات)

لجنة الاشراف العلمي:

اٍشراف داخلي :

أ.د/ رفعت محمد علي (متوفى)

أستاذ علم الفسيولوجي – كلية العلوم – جامعة الفيوم

د/ محمد انور كرم

أستاذ الوراثة المساعد – كلية العلوم – جامعة الفيوم

اٍشراف خارجي :

أ.د/ افتار كريشان هندا (Prof. AvtarKrishanHanda).

أستاذ الوراثة الجزيئية – جامعة بيردو – الولايات المتحدة الأمريكية

قسم النبات

كلية العلوم

جامعة الفيوم

٢٠١٦

"توصيف جزيئى للبلعمة الخلوية الذاتية في نبات الطماطم المعدل وراثيا خلال عملية نضج الثمار"

مقدمة من

مروة عبد اللطيف أمين عبد الوهاب

درجة الدكتوراة في النبات

(فسيولوجيا النبات)

وقد تمت مناقشة الرسالة و الموافقة عليها

اللجنة

١ –أ.د/ افتار كريشان هندا (Prof. AvtarKrishanHanda).

أستاذ الوراثة الجزيئية – جامعة بيردو – الولايات المتحدة الأمريكية

٢– أ.د/ اوتارماتو(Prof. Autar K.Mattoo).

استاذ فسيولوجيا النبات–مركز البحوث الزراعية بوزارة الزراعة الامريكية–(USDA ARS)–ميرلاند– الولايات المتحدة الامريكية.

٣– أ.د/ نجلاء عبد المنعم أحمد عبد الله.

أستاذ الوراثة الجزيئية– كلية الزراعة– جامعة القاهرة

قسم النبات

كلية العلوم

جامعة الفيوم

٢٠١٦

الملخص العربي

تعتبر البلعمة أو الالتهامالذاتي(**الأتوفاج**)جزءاً أساسياً منتطور و نمومعظمالكائناتالحية وذلكمن خلال إعادة تدويرالموادالغذائيةوالحفاظعلىالتوازن الخلويخلالعمليات نمو و تطور الكائن الحيوحتى الآنلم يتم توصيفدورهاخلالعمليه نضج الثمار. و لتوصيف هذاالدور–الالتهام–قمنا بتحديدhomologstomatoالجيناتالأتوفاج و تشمل الجيناتالمسؤولةعنتنظيمعملية الأتوفاج ((TOR, PI٣K (VPS٣٤)،و جينات التحفيز (ATG١، ATG١٣، ATG١٧، ATG١٠١)و جينات تكوينحويصلات التنوية (ATG٢،ATG٦،ATG٩،ATG٢٧)جينات المسؤولة عن استطالة و إغلاق أجسام الالتهام الذاتي (ATG٣، ATG٥، ATG٧، ATG٨، ATG١٠، ATG١٢).

هذهالجينات التيأظهرتدرجةعاليةمنالتماثلمعجيناتالأتوفاج لدى النباتات الاخرى تشيرا إلىتحفظبشكلأثناءتطورالنبات. تم استخدام تقنيةRNAseqTranscriptome:لعينات منثمارالطماطمفيمرحلة (بدايةالتلوين,B) و مرحلة الطور الوردي (٨ أيامبعد مرحلة بداية التلوين,B٨) و ذلك من أجل دراسةدور جينات الأتوفاجأثناءعمليةنضجالثمار. وقد وجد زيادة في معدل التعبير الجينيلدى جيناتATG١٣b،APG٣،ATG٥a،ATG٧،ATG٨a،ATG٨b،ATG٨d،ATG٨f و ATG١٢Aمايشيرا إلىدور الأتوفاجاثناء عمليةنضجثمار الطماطم.

وقد تم استخدامWild Typeمنسلالات االطماطمOhio٨٢٤٥– طويلة العمر كخلفيةوراثيةلسلالات معدلة وراثيا سابقا: (*SlLoxB*) المخفض بها إنتاج الجاسمونيك، (HO٥٥٦) الغنية بعديدات الأمين و(SAMLOX)لتقييمأدوار الجاسمونيكو عديدات الأمينفيعمليةالاتوفاج خلال نضجالثمار. حيث وجد أن تخفيضمعدل إنتاج الجاسمونيك في السلاله يعمل علىتعزيز التعبير الجيني للجينات الاتوفاجو منها:ATG٦، ATG٧، ATG٨b، ATG٨c، ATG٨g، ATG٨f، PI٣K معانخفاضمستويات التعبير لدى جيناتATG٥a، ATG٨e، وATG١٣b. وكانتعزيزا إنتاجالأسبرميدين / السبرمينتأثيراً محدوداً على التعبير الجيني لجينات الاتوفاج حيث أظهرتزيادةفيATG٨bوانخفاضاًفيATG١٣b. أما بالنسبه لسلالة الطماطم المعدلة وراثياً بحيث تحمل جينات تعمل على تعزيز انتاجالأسبرميدين / السبرمينوانخفاضفيمعدل انتاج الجاسمونيك

فقدأظهرتأنماطممماثلةلHO٥٦٥ممايدلعلىالدورالمهيمنلعديدات الامفيتحديدنمطالتعبير الجينيعنجيناتالالتهامالذاتي.

ايضا تمت دراسة التغيراتفيأنماطالتعبير الجيني لجينات الاتوفاج في ثمار طماطم معدلة وراثيا سابقا (*rin*, *nor*, *Nr*) حيث تم تعطيب الجينات المسؤله عن نضج الثمرةو مقارنتها cv. Ailsa Craig كخلفية وراثية. وقد وجد ان كل من (*Nr, nor , rin*) يزداد لديها معدل التعبير الجيني لجيناتالالتهامالذاتيفيمرحلةB٨مقارنه بWT وذلك من أجل الحفاظعلىالتوازن الخلويأثناءتخزين الثمار مما يزيد من العمر الافتراضيللثمرة.

تنقسمهذهالدراسةإلىثلاثةفصول:

الفصلالأول:

مقدمة عامة تحمل اسم :

الالتهامالذاتيكعملية ضرورية لإعادةتدوير محتويات الخلية

الفصلالثاني:

تأثيرضعف انتاج الجاسمونيكو عديدات الأمينفي سلالات الطماطم المعدلة وراثيا علىعمليةالالتهامالذاتيأثناءنضجالثمار.

ويشملهذاالفصل:

١- تحديدHomologuesالاتوفاج في نبات الطماطم.

٢- انخفاض الجاسمونيكيعزز التعبير الجينيلجينات البلعمة الخلويةالذاتية.

٣- تأثير عديات الامينعلىمستويالتعبير الجينيلجينات البلعمة الخلويةالذاتية أثناءنضجالثمار.

٤- تغلب عديدات الأمين على التحفيز الناتج من إخماد جين (LOXB).

الفصلالثالث

البلعمة الخلوية،جزءلايتجزأمنعمليةالنضوجلثمار الطماطم.

ويشملهذاالفصل:

١- التغيراتفيالتعبيرالجينيلجينات الأتوفاجأثناءنضجالثمار.

٢- تأثير تعطيب جينات المسؤولة عن نضج الثمار *Nr, nor, rin*)علىالتعبيرالجينيلجينات الأتوفاجخلال عملية نضج الثمار.

الاستنتاجات:

الفصل ٢ :

١. تحديد ٢٢ جينا من جينات الاتوفاجفي ثمار الطماطم وشملتاثنين منATG١٣وATG١٠١ومنالتحفيزATG٦،PI٣Kو من توصيل الاغشيةAPG٩،ATG٢وATG٢٧وسبعةATG٨و اثنين منATG٥،وATG١١. جيناتATG٣، ATG٧، ATG١٠ وATG١٢تم توصيفها أيضا. بينما جيناتATG١، ATG٤، ATG١٤، ATG١٥، ATG١٦،ATG١٧، ATG١٨، ATG٢٠، ATG ٢٣وVSP١٥ كانت غائبةفيجينومالطماطم.
٢. هناك احتمالان لتفسير غياب هذه الجينات إما انهاليستمطلوبة / او ليست ضروريةلعملية البلعمة الخلويةفيثمرةالطماطم. اماالاحتمالالاخرهوانهاليسلها متماثلات في الخميرة.
٣. انخفاضإنتاجحامض الجاسمونيك له تأثيرعلىالتعبير الجيني لعمليه الاتوفاجأثناءنضجالثمار. حيث تزدادمستوياتالتعبير الجيني لسلاله *SlLOXB*بشكلملحوظبالمقارنةمعWT.

٤- أدت زيادةمستوياتإنتاجالأسبرميدين / السبرمينأثناءنضجثمار سلالة (HO٥٥٦)الى زيادة في معدل التعبير الجيني لجينات
الاتوفاجATGsمماثلةلتلكالتيلوحظتفيإنضاجثمار سلالة*SlLOXB*. على الرغم من اظهار (HO٥٥٦)انخفاضكبيرفي التعبير الجيني لجينات اتوفاجأخرىاشارة

إلىأنثمار سلالة*SlLOXB*والثمار المعززه بعديدات الأمين لها تنظيم مختلف في التعبير الجيني للأتوفاج.

٥- أوضح استخدام سلالة (LOXSAM)الناتجة من التهجين بين (HO٥٥٦) و *SlLOXB*هيمنة عديدات الأمين عن التعبير الجيني لجينات الاتوفاج.

الفصل الثالث:

١- التعبير الجيني لجينات الالتهام الذاتي أكثر في بداية نضج عن المراحل الأخيرة من عملية إنضاج الثمار تشير النتائج إلى دورها المحدود للعملية الالتهام الذاتي أثناء نضج الثمار. ومع ذلك، فإن عملية الالتهام الذاتي.

٢- أظهرت نتائج سلالة (*Nr*)نشاط لجينات الاتوفاج والتي من المرجحأ لها دوراً في الحفاظ على التوازن الخلوي.

٣- جينnor له تأثير محدود على عملية الالتهام الذاتي خلال مراحل النضج في وقت مبكر ولكن ينظم ذلك خلال مراحل لاحقة من النضج.

٤- تنظيم عملية البلعمة الخلوية أثناء شيخوخة ثمار (*rin*) مماثلة لتلك التي تم الحصول عليها في ثمار (*nor*).

٥- وبناء على مستويات الحالة المستقرة لجيناتATGتشير النتائج إلى أن جينات الأتوفاجاكثر نشاطا أثناء نضج الثمار ومع ذلك هناك حاجة إلى اجراء المزيد من الابحاث لاستخلاص استنتاجات محددة بشأن دور الأتوفاج في عملية نضج ثمار الطماطم.