الملخص العربي لرسالة الماجستير

للدكتور/ عاطف محمد محمد محمد

المدرس بقسم أمراض النبات – كلية الزراعة – جامعة الفيوم

عنوان الرسالة: إنتاج وتوصيف أولي لنباتات التبغ (*Nicotiana tabacum* CV *samsun*) المحولة وراثيا مع ثلاثة جينات مختارة مضادة للأكسدة (BI-GST/GPx، LeGST-T2، و LeTPX1).

Generation and initial characterization of tobacco plants *(Nicotiana tabacum CV samsun)* transformed with three selected antioxidant genes (BI-GST/GPx, LeGST-T2, and LeTPX1).

الخلاصة

أجرى هذا البحث في معامل وصوب معهد الدراسات الزراعية لدول حوض البحر المتوسط باليونان خلال اعوام ٢٠٠٠- ٢٠٠٢. كان الهدف الرئيسي من البحث انتاج نباتات معدلة وراثيا من خلال النقل الجيني لجينات ترفع المناعة تحت ظروف الاجهاد الحيوي والبيئي. جينات BI-GST/GPX (Bax-Inhibiting Glutathione S-Transferase/Peroxidase) و LeGST-T2 LeTPx1 (ثيوريدوكسين بيروكسيداز) تم نقلهم من خلال تقنية التحول الوراثي ببكتيريا الاجروباكتيريم تيوميفايشن *Agrobacterium tumefaciens* لفهم وظيفتهم بشكل أكبر في سياق طبيعي في نباتات التبغ المعدلة وراثيًا التي لديها فرط انتاجية في البروتينات. لتحقيق هذا الهدف، تم ادماج c-terminal لقالب القراءة المفتوحة open reading frame (ORFs) لكل من الجينات السابقة الذكر. تم استنساخ V5-epitope وتسلسل 6x Histidine في pROK2 الناقل البلازميدي البكتيري. تمت عدوي أقراص الأوراق المعقمة من *Nicotiana tabacum* cv. *Samsun* بالبكتيريا الحاملة للبلازميدات المختلفة، وتم اختيار وتنقية الاقراص النباتية التي تحولت بفعل النقل الجيني على بيئات MS callus مع هرمونات BAP و NAA المحفزة لتكوين البادرات والتجذيرفي وجود kanamycin (50µ) g/ml. بعد ذلك تم نقل وزرع النباتات المتجددة والتي بقيت حية في وجود kanamycin الي عبوات زجاجية جديدة خالية من المضاد الحيوي لتواصل نموها حتى النضج. لاختبار نجاح النقل ووجود وتعبير الجينات ، أجرينا تفاعلات PCR، southern blotting وأخيرا تم فحص انتاج البروتينات المترجمة عن الجينات المنقولة من خلال اجراء western blot باستخدام جسم مضاد ضد نهاية V5-epitope، وهو اختبار انتقائي للبروتين غير المتجانس.

في النهاية أظهرت نتائج PCR أن هناك نبتة واحدة انتجت البروتين LeGST-T2 (V5-6x) كما اشارالتحليل إلى وجود مجموعة أكبر من النباتات التي يحتمل أن تكون متحولة. تم جمع بذورالجيل الأول (F0) والسماح لها بالنمو على وسط MS-kanamycin، التي كشفت عن خمسة نباتات إضافية تظهر مقاومة KM بسبب تكامل واندماج بلازميد البكتيريا بها.

لوحظت إصابة فطرية شديدة من الفطر المسبب للبياض الدقيقي *Golovinomyces cichoracearum* var. *cichoracearum* علي النباتات الاصلية التي لم يجري لها نقل جيني بالجينات المضادة للأكسدة في حين لظهرت النباتات المعدلة وراثيا قدرة علي المقاومة والتحمل بشكل كبير. عند عمل تحليل جزيئي لوحظ زيادة كبيرة في انتاج مضادات الاكسدة المنتجة من الجينات المنقولة في حين كانت مستوياتها في النباتات غير المعدلة وراثيا منخفضة بشدة مما يدل علي قدرة وظيفية لهذه الجينات في رفع مناعة وتحمل النباتات.

رئيس مجلس القسم **عميد الكلية**

أ.د/محمد أحمدعلى حسن **أ.د/ محمود على عبد الفتاح**