وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المدرسة العليا للأساتذة-القبة القديمة-
قسم علوم الطبيعية

مذكرة التخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي

دراسة نظرية لمرض الورم التاجيCrown-gall المحدث بواسطة البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*

من إعداد:
-أبي اسماعيل عمر
-أبي اسماعيل اسماعيل

تحت إشراف:
الأستاذ:مسعود بوجنيبة.

اللجنة المشرفة:
- الأستاذ:عبد الكريم كاملي....(رئيسا)
- الأستاذ:مقران سليم.....(ممتحنا)
- الأستاذ:مسعود بوجنيبة.....(مشرفا)

جوان-2005

الفهرس

الصفحة

المقدمة.....4

الفصل الأول:الدراسة النظرية:

I.دراسة عامة حول مرض الورم التاجي.....6

1.التطور التاريخي لدراسة مرض الورم التاجي.....6

2.تعريف المرض.....7

3.أعراض المرض.....8

4.حدوث المرض.....8

4-1.أنواع الورم التاجي.....10

4-1-1.الورم الابتدائي.tumeur Primaire.....10

4-1-2.الورم الثانوي tumeur secondaire 10

4-2.ميزة الأورام الثانوية.....12

4-3.نقل العدوى المرضية إلى نبات غير مصاب بواسطة أورام ثانوية.....12

4-4.الهرمونات النباتية.....13

4-4-1.الأوكسينات Auxine 14

4-4-2.السيتوكينينات Cytokinins.....14

5.الدراسة النسيجية للورم التاجي.....15

6. تأثيرات المرض في النباتات والمحاصيل الزراعية 16

7.مقاومة المرض ميدانيا.....17

دراسة بيولوجية لبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*.....19

1.تصنيف البكتيريا.....19

2.الوسط الطبيعي لنمو البكتيريا.....19

3.مرفولوجية البكتيريا.....19

4.الصيغة الوراثية للبكتيريا.....21

4-1 .الجزء T- DNA.....21

4-2.الأجزاء الأخرى للبلازميد Ti.....23

4-2-1.منطقة الضراوة région de virilance (vir).....23
4-2-2.منطقة هدم الأوبينات région de catabolisme des opines(opc).....24
4-2-3.منطقة التضاعف Région de réplication (ORI).....24
4-2-4.منطقة الاقتران région de transfert conjugatif (tra).....24

III. دراسة الأساس الجزيئي لآلية الإصابة بالورم التاجي.....26
1- تعارف وارتباط الخلايا البكتيرية مع الخلايا النباتية.....26
1-1المورثات المتدخلة في ارتباط بكتيريا-نبات.....26
1-2 تنشيط بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*.....29
1-2-1-المركبات الفينولية.....30
1-2-2-السكريات الأحادية.....31
1-2-3-الأس الهيدروجيني الحامضيpH 32
2. نقل واندماج T-DNA.....32
2-1.تحضير T-DNA.....32
2-2.نقل المعقد-T.....34
3.الاندماج داخل جينوم النبات.....41
4.نشاط المورثات المنقولة داخل النبات المصاب.....45
IV. بكتيريا*A. tumefaciens* والهندسة الوراثية.....54
1.إدخال مورثات إلى الخلايا النباتية بواسطة البلازميدTi.....54
2.بعض الطرق المستعملة في التغلب على كبر حجم البلازميدTi.....56
2-1.طريقة استعمال بلازميدات البكتيريا *E-coli*.....56
2-2.طريقة نقل منطقة الضراوة vir 58
3.آفاق الهندسة الوراثية و البلازميد Ti 58
4.مميزات استعمال بلازميدTi في الهندسة الوراثية.....59
5.عقبة استعمال البلازميد Ti.....59
6.ميزة البلازميدTi عن الفيروسات الناقلة لجينات النبات.....59

الفصل الثاني:الدراسة الميدانية:

I. الوسيلة.....61
II. المنهجية.....61
III. الاستبيان وعرض النتائج.....62
المناقشة.....75

الفصل الثالث: توصيات و اقتراحات:

I. أهداف العمل التطبيقي المقترح.....77
II. البطاقة الفنية للعمل التطبيقي.....78
الخاتمة.....83
المراجع.....84

ملخص

يعتبر مرض الورم التاجي أحد أهم أمراض النبات دراسة من طرف العلماء، فهو مرض تحدثه بكتيريا *Agrobactrium tumefaciens* يصيب فقط نباتات ثنائية الفلقة، ويعود أساس إصابة ونشوء الورم في النبات العائل إلى بلازميد البكتيريياTi، وحاليا يستعمل هذا البلازميد بكثرة في نقل صفات جديدة إلى خلايا النبات هذا بعد حذف المنطقة المحفزة لنشوء الورم وإضافة المورثات المرغوب نقلها إلى النبات.

يحتوي البلازميد Tiعلى العديد من الجينات وقد تم التعرف على بعضها وتحديد وظائفها، ويمكن تقسيمه بشكل رئيسي إلى منطقتين هما:

I.المنطقة المنقولة إلى النبات:

وهي الجزء T-DNA،ويحتوي على الجينات التالية:

1- الحافتين اليمنى و اليسرى لـ T-DNA : تتكون كل حافة من 25زوج من القواعد، مسؤولة على نقلT-DNA إلى النبات.

2- opine synthétase:المورثة المسؤولة على إنتاج الأوبينات، وهي مركبات تنتج فقط من طرف خلايا النبات العائل المحولة transformé بواسطة البكتيريا،تستعمل هذه المركبات من طرف البكتيريا كمصدر للكربون و الأزوت.

3- مورثة مسؤولة على إنتاج الهرمون النباتي السيتوكينين.

4- مورثة مسؤولة على إنتاج الهرمون النباتي الأوكسين.

وانتاج هاذين الهرمونين يؤدي إلى خلل في نسبتهما في النبات، وكما نعلم أن نسبة الهرمونين في كل عضو من أعضاء النبات (جذر، ساق) ثابتة، أي بمعنى أن النسب التي تؤدي إلى نمو الجذر تختلف عن تلك النسبة التي تحفز نمو الساق، وبنفس الشيء هنا في حالة مرض الورم التاجي نجد نسبة الهرمونين محددة في قيمة تحفز نمو الأورام.

II.المنطقة غير منقولة إلى النبات:

وهي الجزء المتبقي من البلازميد Ti في الخلية البكتيرية ونجد فيها:

1-منطقة الضراوة région de virulence :تسمى هذه المنطقة أيضا بمنطقة قدرة البكتيريا على إصابة النبات ، وهي كذلك تتكون من عدة جينات vir.

2-توجد مورثات أخرى على البلازميد Ti تتحكم في عمليات حيوية أخرى مثل التزاوج الجنسي،مورثات تتحكم في هدم الأوبينات، مورثات التضاعف.