جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية

سلم أسئلة جزء مقرر البيولوجية الجزيئية في وقاية النبات - السنة الخامسة – قسم وقاية النبات- الفصل الأول-العام الدراسي 2024 -2025

- أ. د. هدى قواص جزء علم الفيروسات 35 علامة السؤال الأول 21 درجة عرف ما يلي: الأفلاتوكسين -الأرجونوت Argonaute (AGO) -Dicer (DCL) -Microarray - Aptamers -أنزيمات القطع- الصمت الجيني. لكل تعريف 3 درجة

الأفلاتوكسين : نحو 20 مركب أيضي (1علامة) كنواتج ثانوية سامة ومسرطنة وتنتج من قبل نوعين من الفطريات *Aspergillus flavus* والرشاشيات الطفيلية *Aspergillus parasiticus*. (1علامة) ، تعد ملوثات للمواد الغذائية والأعلاف والمنتجات الزراعية(1علامة).

Aptamers: الأبتاميرات فئة جديدة من عديدات النوكليوتيد Oligonuceotides (1علامة) للمعالجة والتشخيص(1علامة). وهي دنا DNA أو رنا Oligonuceotides RNA لها انجذاب مرتفع ونوعية في التعرف على الجزيئات المستهدفة. ثابت التوازن (Kd) للارتباط أبتامير-بروتين 1 بيكو مولار إلى 1 نانو مولار (1علامة) يمكن للأبتامرات ربط الحمض النووي، البروتين، والمركبات العضوية الصغيرة.

أنزيمات القطع Restriction Enzyme: إنزيمات قاطعة للحمض النووي دنا DNA من إنزيمات إندونكلياز(1علامة) التي تستعمل لقطع الدنا DNA في مواقع محددة (1علامة) بوساطة تتابعات معرفة(1علامة).

Microarray: أداة مخبرية تستخدم للكشف عن التعبير(1علامة) الآلاف من الجينات في نفس الوقت، وتطبع في الشرائح genechips أو رقائق الحمض النووي (1علامة) (DNA chip or biochip او mRNA) المجهرية الآلاف من بقع صغيرة في مواقع محددة، مع كل بقعة تحتوي على تسلسل الحمض النووي DNA المعروف أو الجينات. ترتبط جزيئات الحمض النووي DNA على كل شريحة وتعمل كمسبر(1علامة) للكشف عن التعبير الجيني.

الصمت الجيني Gene silencing: يعبر عن المورثات الموقفة (1علامة) تحت الظروف الطبيعية للخلية، والتي من المفترض عملها تحت شروط محددة (1علامة) وفق آلية معينة ضمن هذه الخلية، تحمي آلية عمل الصمت الجيني جينـــــوم الكائن الحي من الفيروسات (المخزون الوراثي) وTransposons، يعتبر الصمت الجيني كجزء من الجهاز المناعي(نصف علامة) الذي يحمي جينوم الكائن من أي تغيير. وتهدف طرق عديدة تحريض عمل مورثات الصمت الجيني في النبات بواسطة PTGS. Post-transcriptional gene silencing (PTGS) أو RNA-mediated الصمت الجيني والنظام المشابه RNA-interference (RNAi) عند الحيوانات، و Quelling عند الفطريات، وتستخدم آليات الدفاع ضد الفيروسات Virus-Induced Gene Silencing (VIGS) وذلك عن طريق أنزيم DICERوتعريفه في الحيوانات (DCR) و DCR-LIKE (DCL) في النباتات و RISC والرنا الصغير والرنا الأصغري (نصف علامة) الـ RNA الفيروسي يقسّم بواسطة هذا النظام ما يؤدي إلى جعل الفيروس غير قادر على التضاعف والانتشار. الاشارة الصامتة متحركة أي بإمكانها الانتقال إلى أجزاء مختلفة من النبات وأغلب الفيروسات النباتية مشفرة " suppperssors "بالنسبة للجين الصامت لتقاوم نظام PTGS المضيف

Dicer هو بروتين (1علامة) من نمط Ribonuclease III يربط dsRNA أو يعيد طي RNA hairpin إلى قطع من 21-25 nt خلال (1علامة) التصنيع الحيوي لsiRNA و miRNA خلال الصمت الجيني. له 4 مسارات محافظة: مسار amino acid terminal helicase ومسارduals RNase III motifs ومسار dsRNA binding(1علامة) ومسار PAZ(PIWI/Argonaut/Zwille).

Argonaute بروتينات تربط رنا الصغيرSmall RNA بهدفه(1علامة) لتحقيق الصمت الجيني اشتق الاسم من طفرة الارابيدوبسس Ago1 (1علامة) التي لها أوراق محيطية والتي تشبة Octopus. (1علامة)

السؤال الثاني 14 درجة: عرف الهرمونات النباتية وحمض الصفصاف salicylic acid(SA) وحمض جاسمونيك jasmonic acid (JA) وحمض الأبسيسيك abscisic acid(ABA) و**اشرح دور كل منها في تنظيم تفاعلات المضيف- فيروس** تعريف كامل لكل هرمون 1.5 هلامة وعلاقته مع الإصابة الفيروسية 2 علامة كما وردت في المحاضرات، والأمثلة علامة أي **تناقض يزيل العلامة:** الهرمونات النباتية هي ضوابط في استجابات النبات للضغوط الحيوية وغير الحيوية(1علامة) وتتشارك وتتداخل في مختلف الشبكات المعقدة من خلالها تعدل استجابات(1علامة) لمحرضات أو محثات مختلفة أربعة هرمونات تنظم دفاع النبات تجاه مسببات الأمراض: حمض الصفصاف ، حمض جاسمونيك jasmonic acid (JA)، الإثيلين ethylene(ET)، وحمض الأبسيسيك abscisic acid(ABA) في النباتات القابلة للإصابة.**حمض الصفصاف (SA)** Salicylic acid هو مركب فينولي (1علامة) تصنعه النباتات ردا على مجموعة واسعة من مسببات الأمراض، وهو ضروري تأسيس مقاومة موضعية وجهازية(1علامة) . نشأت أهمية SA من دوره في المقاومة الوسيطة مقاومة R -gene والاستجابات المناعية القاعدية، من الارتباط الإيجابي بين الدفاع وسيط-SA والمتدخل RNAالصغير (siRNA) آليات التضاد للفيروسات. يتم تنشيط SA المصنع حيويا والإشارات بالتعرف على المؤثرات الفيروسية بواسطة منتجات جينات R، أي ظروف التفاعل غير متوافق. (1علامة) يؤدي تفعيل تفاعل غير المتوافقة في عدة استجابات للحد من انتشار الفيروس في موقع الإصابة، بما في ذلك تراكم أنواع الاكسجين التفاعلية reactive oxygen(ROS) (1علامة) والبروتينات المرتبطة بالإمراضية (PR) ، تحريض (حث) استجابة شديدة الحساسية (HR) وترسب الكالوس والأنسجة غير المنظمة ، والتغيرات في حجم وشكل البلاستيدات الخضراء، وتدهور النواة والنوية، وموت الخلايا المبرمج (PCD) (1علامة). SA مسؤولة أيضا عن تفعيل المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) في الأنسجة البعيدة، مما يقلل من آثار الهجمات الثانوية. يحتوي على المراجع أمثلة مدروسة من التفاعلات نبات- فيروس غير المتوافقة. على سبيل المثال، تؤدي الإصابة بفيروس موزاييك التبغ (TMV) في حال زيادة معنوية في SA في الأوراق الملقحة والجهازية في نباتات التبغ المقاومة. وفي دفاعات النبات وبالتالي زيادة ناتجة في حجم البقع، مما يسمح للفيروس لتتراكم بشكل كبير والانتقال جهازياً. ويتم ترميز جينات الأنزيمات المشاركة في إعادة ترتيب جدار الخلية وتصنيع المركبات الثانوية ينظم فقط في خطوط المقاومة.الطفرات في مسار SA تضعف دفاع النبات، مما يجعل النباتات عرضة للعدوى الفيروسية، حتى في وجود جينات R ذات الصلة. غياب الجينات R النوعية أيضا يجعل النباتات معرضة للإصابة. ويعرف مثل هذا التفاعل على أنها متوافقة،(1علامة). وتتميز بالردود الدفاعية الضعيفة للإصابة. الإفراط في التعبير عن الجينات الحيوي SA أو تطبيق SA أو نظائرها في كثير من الأحيان يحسن المناعة النباتية القاعدية عن طريق تأخير تأسيس المرض وظهور العدوى الفيروسية . كما يسيطر SA على المقاومة الشديدة (ER)، والتي تتميز بغياب البقع الميتة في النباتات ذات جينات R. نتائج هذه المقاومة في القضاء شبه التام على الفيروس دون أعراض مرئية. التطبيق الخارجي لـ SA على النباتات القابلة للإصابة يحسن مقاومته للفيروسات مختلفة. حمض الأبسيسيك Abscisic acid، وهو مركب sesquiterpene ناتج عن انقسام كاروتين-γ (1علامة) وينظم العديد من العمليات التطورية وو استجابات الضغوط على التكيف في النباتات. وينظم بقوة عدة مراحل النمو، بما في ذلك إنبات البذور ونضج الثمار، ويعتبر هذا الهرمون أساسيا (مفتاحياً) في تعديل استجابات النبات لكثير من الضغوط غير الحيوية بالإضافة إلى أدوار التضاد في مسارات هرمون الدفاع، مثل SAو JA/Et، يظهر ABA أدوار متعددة الأوجه ضد نفس العوامل المسببة للأمراض، وهذا يتوقف على مرحلة الإصابة(1علامة). يمكن ABA أن تنظم بشكل إيجابي دفاع النبات في المراحل المبكرة من الإصابة عن طريق وسيطة إغلاق الثغور ضد الغزاة، أو تحريض ترسب الكالوس (نصف علامة). إذا كان المسبب الممرض تهرب خط الدفاع الأول. ومع ذلك، إذا تفعلت في مراحل لاحقة، يمكن لـ ABA كبح ROS الحث و SA أو نقل إشارات JA،(نصف علامة) مما يلغي الدفاعات المتحكم بها من قبل هذين المسارين ABA يزيد ترسب callose ويحد حركة الفيروس.والأعراض وقلل عيارية الفيروس. يعزز نقص ABA وسيط-المقاومة بواسطة اثنين من جينات R. يؤثر ABA أيضا دفاعات النبات على مستوى آلية إسكات RNA(نصف علامة) ، الذي يعتبر نظام دفاع أوسع ضد الفيروسات بالمقارنة مع المقاومة R-جين المعين و يؤثر إسكات RNA على كل من تراكم الموضعي والحركة الجهازية (نصف علامة) من مجموعة واسعة من الفيروسات، ويكون مسببا في مقاومة غير-المضيف لبعض الفيروسات مثل PVX. يبدو ABA أن لها صلات مباشرة وغير مباشرة مع هذا النظام. على سبيل المثال، ABA يتحكم جزئيا بمستويات (AGO1)، والتي زادت بشكل معنوي في *aba1-5*. ينظم *miR168a* البروتين AGO1 والناجم بشكل خاص في الأنسجة المصابة، ويحتوي على عناصر مستجيب ABA في بدئها، وترتبط مستوياته بشكل إيجابي مع مستويات ABA. وبالإضافة إلى ذلك، الطفرات من الرنا الميكروي ميرناmiRNA ومسارات سيرنا (siRNA) هي فرط الحساسية hypersensitive لـ ABA خلال الإنبات ، تأثير ABA على الدفاع الفيروسي على مستويات عدة، بتفعيل mRNA، نشوء حيوي biogenesisسيرنا siRNA وميرنا miRNA، ومسارات الدفاع عن تنظيم الهرمونات، مثل SA وتعديل المقاومة للمرض عن طريق ABA هو عملية معقدة وبنماذج واضحة لكيفية تأثير ABA على مقاومة الأمراض. حمض جاسمونيك Jasmonic acidحمض JA من الأحماض الدهنية المؤكسجة (نصف علامة) تشارك في مقاومة مسببات الأمراض وغزو الحشرات . جنبا إلى جنب مع Et ، ينظم JA الناجم عن المقاومة الجهازية المستحثة(نصف علامة) (ISR)، الذي تحرض من قبل الميكروبات غير المسببة للأمراض، مثل rhizobacteria. وقد أظهرت الدراسة أن تحريض وسيط -rhizobacterium من قبل JA يقلل من أعراض عدوى فيروس CMV في *Col-0*. أيدت عدة دراسات لاحقة الأدوار الإيجابية للـJA في التفاعلات المتوافقة، ولكن في وضع مرحلة محددة. المثال الإصابة المشتركة بفيروسي PVY وPVX، أو الإصابة بفيروس PVY يحمل HC-Pro من potyvirus مثل PPV، الناجم عن الجينات oxylipin الحيوي في المراحل المبكرة من الإصابة PCD، وتسارع تطور الأعراض وتراكم عيارات الفيروسية في المراحل المبكرة من الإصابة. المعالجة بـ JA في المراحل المبكرة من الإصابة المزدوجة بـ PVY-PVX عززت المقاومة، ولكن المعالجة المتأخرة زادت القابلية(نصف علامة) ، و ذلك نتيجة لتأثير تضاد من JA على SA .

سلم تصحيح الامتحان النظري لمقرر البيولوجيا
الجزيئية في وقاية النبات / السنة الخامسة وقاية النبات
الفصل الأول للعام الدراسي 2024 / 2025
مدرس المقرر الدكتورة عايدة [illegible]

(٧ درجات)

السؤال الثالث: اذكر بالترتيب (بدون شرح) مراحل حدوث الإصابة بالبكتريا Agrobacterium tumefaciens

١- التعارف بين الخلية البكتيرية والخلية النباتية. ٢- نقل الإشارات. ٣- تحريض تعبير المورثات.
٤- تشكيل الـ T-DNA مفرد السلسلة. ٥- نقل معقد الـ T-DNA مفرد السلسلة من مستوى الخلية البكتيرية إلى مستوى سيتوبلازما الخلية النباتية عبر نظام الإفراز الرابع. ٦- نقل معقد الـ T-DNA مفرد السلسلة من مستوى سيتوبلازما الخلية النباتية إلى النواة. ٧- اندماج الـ T-DNA مع الجينوم النباتي والتعبير عنه.

(١٦ درجة)

السؤال الرابع: حدد وظيفة الجزيئات التالية:

- VirD2: أنزيم نكلياز، يقطع أحد سلسلتي الـ DNA في الجهة اليمنى لـ T-DNA وكذلك في الجهة اليسرى والحصول على البلازميد Ti أو Ri عند Agrobacterium لتشكيل الـ T-DNA مفرد السلسلة.
VirD2 التي تقطع الطرف اليميني تتوضع على النهاية 5' لـ T-DNA، وVirD2 التي تقطع الطرف اليساري ترتبط إلى النهاية 5' لـ DNA المتبقي مع البلازميد من أجل [illegible] ليتم إصلاح البلازميد.
VirD2 التي تتوضع على النهاية 5' لـ T-DNA مفرد السلسلة تعمل كموجه له وتحميه من أنزيمات النكلياز، كذلك البروتين VirD2 يحتوي على إشارة التوضع النووي NLS التي تساعد في عبور معقد الـ T-DNA إلى نواة الخلية النباتية.
- VirC1: بروتين يرتبط إلى منطقة الـ overdrive مما يساهم في زيادة كفاءة تشكيل الـ T-DNA مفرد السلسلة.
- overdrive: تتالي من النكليوتيدات تقع على يمين الـ Right border لـ T-DNA وهذا الموقع تتعرف عليه البروتين VirC1
- Left and right borders: تتالي من النكليوتيدات مكررة بشكل متعاكس بطول (25 bp) حيث يدل الـ right border على بداية الـ T-DNA والـ Left border على نهاية الـ T-DNA وفي هذا الموقع تقطع الأنزيم VirD2 لتشكيل الـ T-DNA مفرد السلسلة من البلازميد Ti أو Ri عند Agrobacterium.
وبغياب الـ Right and Left borders تفقد القدرة على النقل الوراثي للعدوى النباتية بواسطة Agrobacterium
- VirB2: بروتين يدخل في تكوين نظام الإفراز الرابع الذي يقوم بنقل البروتينات ومعقد الـ T-DNA من مستوى الخلية البكتيرية إلى مستوى الخلية النباتية.
- VirA: بروتين كيناز Kinase يتوضع على الغشاء السيتوبلازمي لـ Agrobacterium ويستقبل الإشارات الفينولية التي تفرزها الخلايا النباتية المجروحة وعند استقباله الإشارة يتغير شكله فيقوم بفسفرة البروتين VirG
- VirG: بروتين يلعب دور عامل نسخ في تحريض تعبير مورثات الشراسة المحمولة على البلازميد Ti أو Ri من أجل تشكيل T-DNA مفرد السلسلة ونقله إلى الخلية النباتية.
- VirE2: بروتين يرتبط إلى الـ DNA مفرد السلسلة ويغلف الـ T-DNA ليحميه من أنزيمات النكلياز كما أنه يحتوي إشارة توضع نووي كاملة والتي تساعد في عبور معقد الـ T-DNA إلى نواة الخلية النباتية.

- hrpL: عامل نسخ متحكم إيجابياً بمورثات hrp عند البكتريا الممرضة للنبات سالبة الغرام التي تمتلك نظام الإفراز الثالث مثل Pseudomonas.
- hrpR/S: عوامل نسخ تتحكم إيجابياً بتعبير مورثات hrp من خلال تحريض تعبير المورثة hrpL
- hrp Box (GGAACNA-N4-CCACNNNA): تسلسل من النكليوتيدات محفوظ موجود في [illegible] المحفزات النسخية [illegible] التي [illegible] الإفراز الثالث عند البكتريا الممرضة للنبات سالبة الغرام ويتعرف عليه عامل النسخ hrpL الذي يحرض تعبير مورثات نظام الإفراز الثالث.
- hrpR: [illegible] نظام الإفراز الثالث والتي تشفر عبرها البروتينات التي تحقنها البكتريا سالبة الغرام في سيتوبلازم الخلية النباتية (مثل Pseudomonas).
- hrpZ: [illegible] harpin عند البكتريا Pseudomonas تشفره إحدى مورثات hrp ويتم [illegible] نظام الإفراز الثالث إلى الخلية النباتية وتحرض فرط الحساسية (الموت الخلوي المبرمج) في الخلايا النباتية التي تستقبله.
- Acyl-homoserine lactone (AHL): إشارات التحريض الذاتي التي تتوسط الاتصالات البكتيرية - البكتيرية QS عند البكتريا سالبة الغرام.
- LuxR transcriptional activator proteins: عامل نسخ مستقبل لـ [illegible] هوموسيرين لاكتون AHL ثم يرتبط مع تسلسل النكليوتيدات Lux Box كمنشط [illegible] وتحريض تعبير المورثات التي تتحكم بميكانيزم الـ QS.
- Nuclear localisation signal (NLS): إشارة التوضع النووي الذي هو عبارة عن تسلسل من الأحماض الأمينية تحملها البروتينات التي تقوم بوظيفتها في النواة الخلية النباتية [illegible] هذه الإشارة للبروتينات الخلية النباتية [illegible] importin α و importin β بالتعرف ونقل البروتينات عبر ثقوب الغشاء النووي إلى داخل النواة.

(١٢ درجة)

السؤال الخامس: [illegible]:

آ- الـ DNA barcoding: هي طريقة تصنيفية تستخدم مؤشر جزيئي molecular marker قصير من الـ DNA [illegible] نوع [illegible] حيث سهلت هذه الطريقة توصيف عدد من الأنواع الجديدة، حيث تقارن قواعد بيانات مع الجينوم Blast تم تعريف البكتريا والسيوديوموناس والفطريات مثل الـ phytophthora والـ Fusarium ويتم تعريف أنواع الفطر [illegible] من خلال التسلسل المورثة TEF1α الخاصة بأنواع الـ Fusarium.

ب- [illegible] عند الفطريات التي تتحكم بمركبات الاستقلاب الثانوية عند النباتات. (٩)

تحتوي [illegible] الاستقلاب الثانوية عند النبات التي تمتلك [illegible] مركبات استقلاب ثانوية تنتج في [illegible] phytoalexins [illegible] phytoanticipins [illegible] التي تنتج بعد حدوث الإصابة بالممرضات [illegible] أو تغيير [illegible] الجزيئية [illegible].

الـ phytoanticipins مثل الصابونينات الـ avenacin والـ Tomatine. أهم الصابونينات الـ avenacin A1 [illegible] Gaeumannomyces graminis var. avenae الذي الفطر [illegible] avenacinase الذي يفكك الـ avenacin.
[illegible] الـ Tomatine [illegible] مضادة للعديد من الفطريات ويمكن الفطر Septoria lycopersici [illegible] الـ Tomatinase الذي يفكك الـ Tomatine.
- الـ phytoalexins التي تتشكل في النباتات بعد حدوث الإصابة [illegible] بعض الفطريات التي تستطيع تفكيكها، pisatin demethylase الذي ينتجه الفطر Nectria haematococca [illegible] pisatin [illegible] maackiain.