سلم تصحيح امتحان مقرر الأمراض البكتيرية والفيروسية
السنة الرابعة وقاية نبات الفصل الثاني 2024 – 2025

1- جزء البكتريا

السؤال الأول (10 درجات):

اشرح طريقة التصنيف الرقمي لتميز المجموعات البكتيرية

1- جمع المعلومات ل 50 – 200 عزلة مختبرة تجاه 50 – 200 صفة

2- ترميز المعلومات: 1 = + , 2- = - أو 0 = - , 1 = +

- حساب نسبة التشابه

$$S = \frac{ns}{ns + nd}$$

ns = عدد الصفات المتماثلة عند العزلتين

nd = عدد الصفات المختلفة عند العزلتين

$$S(sm) = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

a = الصفات الموجبة عند العزلتين

b = صفات موجبة عند العزلة آ وسالبة عند العزلة ب

c = صفات موجبة عند العزلة ب وسالبة عند العزلة آ

d = الصفات السالبة عند العزلتين

4- رسم شجرة القرابة:

5 – تحديد الصفات المميزة لكل مجموعة

السؤال الثاني (7 درجات) :

عرف GC% وكيفية حسابها ودورها في تصنيف البكتريا

1- قياس النسبة المؤية للغوانين والستوزين G – C %

GC % = 2.44 (Tm – 69.4) (De LEY)

GC % = {Tm + [90.5 –Tm(ref)]} – 69.3 (Marmur and D0ty)

0.41

- - G - C % تتراوح عند الكتريا ما بين 25 – 75%
- البكتريا التابعة لنوع واحد تملك نسبة واحدة من G-C
- نوعين من البكتريا لهما نفس النسبة المؤية وترتيب القواعد فيها متماثل ينتميان لنفس النوع
- نوعين من البكتريا لهما نفس النسبة ليس بالضرورة أن يكونا قريبين تصنيفياً لأن تسلسل القواعد قد لا يكون متماثلاً

السؤال الثالث (10 درجات) : اشرح باختصار طرائق المكافحة الحيوية للأمراض البكتيرية واذكر أمثلة على ذلك.

ا-البكتريا المنافسة: تستطيع بعض أنواع البكتريا التكاثر بسرعة فتنافس الأنواع الأخرى الممرضة على المكان والغذاء مما يحد من انتشارها

ب- البكتريا المفرزة للمضادات الحيوية كبكتريا Agrobacterium Radiobacter سلالة K84 التي تفرز المضاد الحيوي Agrocin الذي يمنع بكتريا التدرن التاجي Agrobacterium tumefaciens من النمو والتكاثر.

ج- البكتريا المحسنة وراثياً كبكتريا Pseudomonas syringae pv. syringae التي تسبب الصقيع لاحتوائها على المورث + ice حيث يتم استبدال هذا المورث بمورث -ice الذي يمنع تجمد الماء وبالتالي يمنع حدوث الصقيع.

د- استخدام البكتريوفاج

السؤال الرابع (8 درجات) : اشرح طرق تأثير البكتريا على مركبات جدر الخلايا النياتية* الإنزيمات المحللة للبكتين (Endopolygalagcturonase – Endopolymethylgalacturonase – Pectinlase)

* الإنزيمات المحللة للسيليلوز وشبه السيليلوز (Cellulas – Hemicellulas)

* الإنزيمات المحللة لبروتينات وليبيدات الجدر الخلوية (Protease –Phosphatidase

سلم مقرر أمراض بكتيرية وفيروسية السنة الرابعة - شعبة وقاية النبات–الفصل الثاني– 2024-2025 قسم الأمراض الفيروسية

السؤال الخامس: 15علامة :عرّف ما يلي كل تعريف علامة: Virus– Viroid – Prion– ELISA - اختبار الانتشار المضاعف في الآغار.الفيروس: الفيروس مسبب مرضي معد يتكون من جزيء حمض نووي رناRNA أو دنا DNA، عادة محاط بغمد من البروتين، قد يحتوي في بعض الفيروسات على ليبيدات وسكريات. له القدرة على التضاعف داخل خلايا العائل الملائمة مستخدماً مكونات وبروتينات العائل المتخصصة.

الفيروئيد:Viroid : الفيرويد، مسبب مرضي معد يتكون من جزئ حمض نووي رنا RNA ذات وزن جزيئي منخفض داخل الخلايا الحية الملائمة، تعتمد الفيروئيدات في تضاعفها على مكونات العائل مستخدمة آلية التخليق الحيوي وأنزيمات خلايا العائل الملائمة.

البريون:Prion : البريون مسبب مرضي يحوي بروتين ومقاوم للتغيرات المؤثرة على الأحماض النووية. لم يثبت وجود حمض النواة، تتكاثر البريونات داخل الخلايا ولا تزال آلية التكاثر غير معروفة .

ELISA: اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بإنزيم Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA): من أفضل الطرائق المصلية وأدقها وأكثرها شيوعاً وصفت بواسطة كلارك Clark وأدامز Adams في عام 1977، وأمكن بوساطتها الكشف عن تراكيز قليلة تقل عن 1 - 10 ميكروغرام، واستخدمت في التقدير الكمي للفيروسات، وتعتمد هذه الطريقة على القياس اللوني الناتج من تفاعل الإنزيم المرتبط بالمصل المضاد للفيروس، وعند تفاعله يعطي لوناً أصفر يرى بالعين المجردة، ويمكن ذلك باستخدام جهاز قارئ إليزا ELISA Reader على طول موجة 405 نانومترات، عند استخدام إنزيم الفوسفاتاز القلوي Alkaline Phosphatase الذي يتفاعل مع مادة بارا نتروفنيل فوسفات p-Nitrophenyl phosphate أو الكاشف اللوني، ويجرى الاختبار ضمن أطباق Microtiterplate من مادة البوليستيرين تحتوي 96 حفرة، ومنها الطريقة المباشرة Direct ELISA والطريقة غير المباشرة Indirect ELISA.

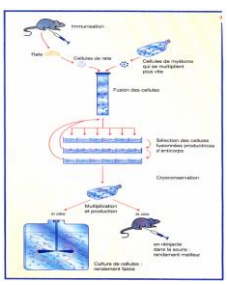
اختبار الانتشار في الآغار: Agar gel diffusion test: تحضر أطباق من الآغار وتجرى حفر يوضع فيها المستضدّ، وحفر أخرى توضع فيها الضادّات، حيث ينتشر كل منهما فيلتقيان بخطوط ترسيب كدليل الاختبار الإيجابي التفاعل، وتوضع عادة الضادّات في حفرة مركزية والعينات المراد اختبارها في الحفر المحيطية فتتكون هالات مكان الترسيب تختلف فيما بينها باختلاف سرعة التفاعل ودرجة القرابة المصلية.

السؤال السادس(10 علامات): عرف PLASMODESMATA واشرح آلية حركة وانتقال الفيروسات النباتية بين الخلايا والعوامل المؤثرة عليها . التعريف" علامتين. الواصلات الخلوية هي قنوات ضيقة تتخلل الجدار الخلوي للخلايا النباتية وتعمل كجسور عبور لنقل المواد وتسهيل الاتصال بين الخلايا وكسلاسل من الأكتين والميوسين تغلف القناة المركزية DESMOTUBULE وتسمح بانتقال الماء والمغذيات المختلفة وجزيئات الإشارات والواصلات الخلوية حساسة لمستويات مختلفة من الكالسيوم ودرجة الحموضة والضوء.وتميل الواصلات الخلو(1علامة). ية إلى الإغلاق عندما يكون هناك اختلاف بالضغط ملحوظ بين الخلايا.موجهة لنمو وتطور النبات وربما لها دور في تمايز الخلايا.الأنابيب الدقيقة microtubule هي بوليمرات حيوية مكونة من وحدات بروتينية (1علامة). صغيرة كروية معروفة بأسمtubulin وهي اسطوانات مجوفة توجد في سيتوبلازم الخلايا حقيقية النوى تنفذ مهام متنوعة ابتداءاً بالنقل إلى الدعم الهيكلي حيث تعطي الخلية شكلها وتعد بمثابة سيور ناقلة تنقل العضيات الأخرى في جميع انحاء السيتوبلازم وتعتبر المكونات الأساسية للسياط والأهداب (1علامة). و تشارك في تشكيل خيوط المغزل أثناء انقسام الخلية : Movement proteinبروتينات الحركة الذي يوجد في الخلايا المصابة بالفيروسات وتساهم في انتقال الفيروسات بين الخلايا النباتية عبر الواصلات الخلوية ولها دور في مقاومة النبات للفيروسات.وتشفر الفيروسات النباتية نوع من البروتينات ضرورية لتشكيل معقد (حمض نووي- بروتين) (1علامة). الذي ينتقل عبر الواصلات الخلوية .ولبروتين الإنتقال الفيروسيالتأثير على الواصلات الخلوية لزيادة نفاذيتها فهي تعمل على زيادة حجمها ليمر المعقد (1علامة). وفي بعض الأحيان ليمر كامل الفريون، إن الآلية التي يزيد فيها بروتين الانتقال حجم الواصلات الخلوية هي قطع شعيرات الأكتين ، حيث تم اثبات أن قطع الهيكل الخلوي للأكتين بواسطة العقارات القاطعة للأكتين أو البروتينات التي تقيد الأكتين مثل الـprofilin أحدثت زيادة في حجم الواصلات الخلوية ، تبين من التجارب المنفذة أن بروتين الانتقال للفيروس CMV ثبط بلمرة الأكتين وأضعف شعيراته في المختبر. ربط سلسلة مفردة من الـRNA حيث يتم تشكيل المعقد (حمض نووي- بروتين) وتنتقل هذه المعقدات مستخدمة الشبكة الخلوية المرتبطة مع أسترات المتيل بكتين الموجودة في الجدار الخلوي للخلية . التأثير على عناصر الهيكل الخلوي (الأنابيب الدقيقة وأسترات المتيل بكتين) الموجودة في الجدار الخلوي للخلية علامة ونصنف الفيروسات بالاعتماد على هل المعطف البروتيني CP مطلوب للانتقال من خلية لأخرى يمكن تصنيفها إلى ثلاثة أنواع رئيسية : النمط الأول : المعطف البروتيني غير ضروري في الأنتقال مثل Tobamovirusو Carmovirus. النمط الثاني: المعطف البروتيني له دور مساعد لبروتين الأنتقال مثل Cucumovirusو Potyvirus. النمط الثالث: المعطف البروتيني يقوم بدور أساسي في الأنتقال هذه الفيروسات مثل Comovirus. علامة : يمر انتقال الفيروسات عبر الواصلات الخلوية بالمراحل التالية : المرحلة الأولى: تغليف بروتين الأنتقال للحمض النووي. المرحلة الثانية: التفاعل بين المعقد والهيكل الخلوي. المرحلة الثالثة: التأثير على الواصلات الخلوية، كتلة الجزيئات التي تمر بشكل طبيعي في الواصلات الخلوية (1علامة). 0.75 -1 كيلو دالتون . المرحلة الرابعة: التعرف على المستقبل في جدار الخلية هو البروتين p38 . 3 علامات: العوامل المؤثرة على بروتين الأنتقال - عملية الفسفرة : هي إضافة مجموعة فوسفات (PO_4^{-3}) للبروتين أو أي جزيء عضوي آخر وهذه العملية قد تعطل أو تنشط الأنزيمات. أثبتت الدراسات حدوث عملية فسفرة لبروتين الانتقال للفيروس TMV في نهايته الكربوكسيلية في الأحماض الأمينية (ser258, ser265,ser261,thr261) .تؤدي فسفرة هذا البروتين التي تنفذ بواسطة البروتين كيناز النوعي المرتبط بجدار الخلية والذي يتطلب عمله شاردة المغنزيوم Mg^{+2}إلى فقد قدرته على فتح الواصلات الخلوية .) طبيعة النوع تؤثر في عملية انتقال الفيروس حيث أن النوع Nicotianabenthamiana المعروف بحساسيته العالية اتجاه العوامل الممرضة تنتقل فيها البروتينات المفسفرة وغير المفسفرة (1علامة). عبر الواصلات الخلوية ، بالمقابل النوع Nicotianatabacum ينتقل فيه البروتينات غير المفسفرة فقط ، لذلك التعطيل بالفسفرة فعال مع النوع الثاني(1علامة). وغير فعال مع النوع الأول.) كما يتأثر بروتين الانتقال بدرجة الحموضة PH.

السؤال السابع (10علامات): عرف الضادات والمستضدات واذكر خواص IgG واشرح مراحل إنتاج أمصال وحيدة النسيلة (يمكن التعبير عنها بالرسم والمواد والتسميات الدقيقة لكل مرحلة). . 1.5 ع المستضدّات Antigens: يعرف بأنها المادة التي لها القدرة على تنبيه عملية تكوين الضادّات Antibodies في دم الحيوانات ذات الدم الحار القادرة على التفاعل أو الاتحاد مع هذه الأجسام عند دمجها خارج جسم الحيوان، وتدعى خاصية المستضدّ أو القدرة على تحريض تكوين الأجسام المضادة في دم الحيوان بالقدرة المناعية Immunogenicity، أما الخاصية الثانية فهي قدرة المستضدّات على الارتباط مع الضادّات ويدعى القدرة المستضدّية Antigenicity للمادة، وتكون الجزيئات الكبيرة أكثر قدرة مناعية من الجزيئات الصغيرة ولأن الفيروسات النباتية جسيمات كبيرة تحتوي على البروتين فإنها تعدّ ذات قدرة عالية على تحريض تكوين الضادّات.

1.5 ع الضادّات Antibodies:عبارة عن غلوبولينات مناعية لها القدرة على الارتباط مع المستضدّ المسبب في ظهوره ويعد أحد ردود فعل دم حيوانات تجاه دخول جسم غريب له صفة المستضدّ، وتقوم بإفراز الضادّات خلايا البلاسما الموجودة في الخلايا اللمفاوية B ويتكون من سلسلتين عديد ببتيد خفيفتين وسلسلتين عديد الببتيد ثقيلتين تلتحمان مع بعضهما برابطة ثنائي الكبريت، وتتكون كل سلسلة من منطقتين إحداهما ثابتة والأخرى متغيرة ولكل جزيء منها موضعان للاتصال بالمستضدّ كذلك بالنسبة لغلوبولينات غاما المناعية IgG، ويوجد خمسة أنواع من الغلوبولينات المناعية G وM وA وE وD .

نوع الغلوبولينات المناعية	الوزن الجزيئي	نصف الحياة، يوم	mg/100ml	الوظيفة البيولوجية
IgG 1 ع	160.000	22 – 18	1800 – 900	Fix complement cross placenta Hetero cytorophic antibody



1 ع وقد أمكن بأخذ الخلايا اللمفاوية Lymphocytes B من فأر بعد حقنه وخلط هذه الخلايا مع خلايا فأر ثم انتخاب خلايا فردية معينة، الحصول على ضادّات من نوع واحد، وتكون من خلية لمفاوية واحدة دعيت بضادّات وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies ساهم إنتاجها في اكتشاف وتشخيص الفيروسات، ويتم إنتاجها عادة بعد حقن الفأر بالمستضدّ (الفيروس)، ثم تؤخذ خلايا الطحال Spleen cell 1 ع من الفأر المحصن وتُدمج Fusion مع خلايا الميلوما Myeloma cell المزروعة، 1 ع ويتم التهجين بوجود مادة البولي اثيلين غليكول Polyethylene glycol ويتم فصل كل نسيلة على حدة في وسط منتقى (وسط HAT mediun وهي Hypoxanthion وAminopterin وThymidine) لانتخاب الهجن Selection of hybrids 1 ع وتكرر العملية لعدة أسابيع للحصول على خلايا مهجنة Hypridomas cell 1 ع تنتج الضادّات وتختبر ليتم التأكد من تخصص النسيلة المنتجة ويتم إكثارها وحفظها .

1 ع وتعدّ من الطرائق القياسية ذات التخصص العالي والنوعية والحساسية والتوافق العالي مع الفيروس المنتج له وبذلك تكون نموذجية في كشف ضادّات خارجية نوعية، ولكنها طريقة مكلفة وتحتاج إلى وقت وجهد، وتعدّ من أفضل الوسائل لدراسة خواص الفيروسات وتشخيصها.