

ردیابی اختصاصی *Phytophthora inundata* از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ساده و تودرتو*

SPECIES-SPECIFIC DETECTION OF *Phytophthora inundata* BY SIMPLE AND NESTED-PCR

رضا مستوفی زاده قلمفرسا^{*۱}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۴/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۱۲)

چکیده

گونه *Phytophthora inundata* به تازگی توصیف شده و به علت خصوصیات ریخت‌شناختی و حداکثر دمای رشد غیرعادی، شناسایی آن دشوار است. این گونه با سایر گونه‌های بیمارگر گیاهی جنس *Phytophthora* که بدون پایبل و گرم‌پسند هستند، اشتباه می‌شود. در این بررسی برای شناسایی *P. inundata* شیوه‌ای براساس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ساده و تودرتو ابداع شد. بدین منظور مجموعه‌ای از جدایه‌ها مربوط به میزبان‌های مختلف که نماینده تنوع موجود در توالی نواحی رمزگذار و فاقد رمز این گونه بودند، مورد بررسی قرار گرفت. براساس توالی‌های جداکننده نسخه‌برداری شده داخلی یک و دو و ژن ۵/۸ اس مربوط به دی‌ان‌ای ریبوزومی (آی‌تی‌اس)، ژن پروتئین مقاوم به شوک حرارتی ۹۰، ژن‌های پروتئین پیوسته تریوزفسفات ایزومراز/گلیسرآلدئید سه فسفات دی هیدروژناز و هم‌چنین ژن پروتئین ۶۰ اس ریبوزومی ال ۱۰، برای گونه مذکور ده عدد آغازگر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی طراحی گردید. برای ایجاد بیشترین اختصاصیت و کارایی، دمای جفت‌شدگی و زمان گسترش برای هر جفت آغازگر بهینه‌سازی گردید. برای ارزیابی آغازگرها از ۲۸ گونه دیگر فیتوفتورا که از نظر ریخت‌شناختی و مولکولی تأیید شده بودند، استفاده شد. در اغلب موارد هیچ‌یک از مجموعه آغازگرها قادر به فزون‌سازی دی‌ان‌ای خالص‌سازی شده از گونه‌های *Phytophthora* غیرخودی نبودند. واکاوی‌ها نشان داد که بهترین نامزد برای شناسایی جدایه‌های *P. inundata* مجموعه ITS-II می‌باشد که از ترکیب آغازگرهای ITS-IF1 و ITS-IF2 تشکیل شده است. دمای جفت‌شدگی بهینه برای این مجموعه ۶۹ درجه سانتی‌گراد و بهترین زمان گسترش ۴۰ ثانیه می‌باشد. به نظر می‌رسد استفاده از واکنش زنجیره‌ای تودرتو با استفاده از مجموعه ITS-II به همراه آغازگرهای عمومی ITS4 و ITS6 به عنوان آغازگرهای خارجی حداقل ۵۰ برابر حساس‌تر از روش سنتی است.

واژه‌های کلیدی: *Oomycota Phytophthora inundata*. توالی‌های جداکننده نسخه‌برداری شده داخلی (ITS)، شناسایی، ردیابی

جهت ملاحظه متن کامل مقاله به صفحات (80-69) متن انگلیسی مراجعه شود.

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rmostofi@shirazu.ac.ir
۱. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز