بسم الله الرحمن الرحیم

آسیب‌شناسی گیاهان
تکنیک‌ها و پروتکل‌ها

کریستف لاکوم

مترجمان:

دکتر فائزه‌السادات ابطحی　　دکتر مهرناز حاتمی

دکتر شیده موجرلو　　دکتر راضیه یزدانی

۱۳۵۰
انتشارات دانشگاه اراک

عنوان و نام پدیدآور	: آسیب‌شناسی گیاهان: تکنیک‌ها و پروتکل‌ها/سرویراستار [صحیح: ویراستار کریستوف لاکوم] ؛ مترجمان فائزه‌السادات ابطحی ... [و دیگران].
مشخصات نشر	: اراک: دانشگاه اراک، انتشارات، ۱۴۰۱.
مشخصات ظاهری	: ۴۲۰ ص.: مصور، جدول، نمودار.
فروست	: انتشارات دانشگاه اراک؛ شماره انتشار ۲۰۹/۲۲
شابک	: ۹۷۸-۶۲۲-۹۲۷۷۴۵-۰-۷
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیپا
یادداشت	: عنوان اصلی:.Plant pathology: techniques and protocols, 2nd.ed, 2015
یادداشت	: مترجمان فائزه‌السادات ابطحی، راضیه یزدانی، شیده موجرلو، مهرناز حاتمی.
یادداشت	: کتابنامه.
موضوع	: گیاهان -- بیماری‌ها و آفت‌ها -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	: Plant diseases -- Laboratory manuals
شناسه افزوده	: لاکوم، کریستوف
شناسه افزوده	: Lacomme, Christophe
شناسه افزوده	: ابطحی، فائزه‌السادات، ۱۳۶۳ -، مترجم
شناسه افزوده	: دانشگاه اراک. انتشارات. Arak University Press
رده‌بندی کنگره	: SB۷۳۲/۵۶
رده‌بندی دیویی	: ۶۳۲/۳
شماره کتابشناسی ملی	: ۸۹۸۱۱۴۱

این کتاب مشمول قانون حمایت از حقوق مؤلفان و مصنفان است. تکثیر کتاب به هر روش اعم از فتوکپی، ریسوگرافی، تهیه فایل‌های لوح فشرده، بازنویسی در وبلاگ‌ها، سایت‌ها، مجله‌ها و کتاب، بدون اجازه کتبی ناشر مجاز نیست و موجب پیگرد قانونی می‌شود و تمامی حقوق برای ناشر محفوظ است.

عنوان: آسیب‌شناسی گیاهان: تکنیک‌ها و پروتکل‌ها
ترجمه: دکتر فائزه‌السادات ابطحی، دکتر راضیه یزدانی، دکتر شیده موجرلو، دکتر مهرناز حاتمی.
ویراستار: دکتر راضیه منتظری
نوبت چاپ: اول
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱
شمارگان: ۱۰۰۰ نسخه
ناشر: انتشارات دانشگاه اراک
چاپ و صحافی: انتشارات دانشگاه اراک
«مسئولیت صحت مطالب کتاب با مؤلفان است»
قیمت: **۲۳۰۰۰۰۰ ریال**

اراک، میدان بسیج، بلوار کربلا، دانشگاه اراک، ساختمان کتابخانه مرکزی و مرکز اسناد، طبقه دوم، اتاق شماره ۲، انتشارات دانشگاه اراک
پست الکترونیک: press@araku.ac.ir - تارنما: https://press.araku.ac.ir

بسم الله الرحمن الرحیم

فهرست مطالب

فصل اول

چکیده ۱۹
۱- مقدمه ۱۹
۲- مواد ۲۲
۲-۱ جداسازی باکتری‌ها از بافت‌های گیاهی ۲۲
۲-۲ محیط انتخابی و محیط عمومی ۲۲
۲-۳ محیط کشت انتخابی ۲۳
۲-۴ پی‌سی‌آر معمولی ۲۴
۲-۵ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۲۴
۲-۶ استخراج نوکلئیک اسید با استفاده از پروتکل آزمایشگاه ۲۵
۲-۷ تشخیص کمی و تمایز ۲۵
۳- روش‌ها ۲۶
۳-۱ جداسازی از ساقه‌ها، غده‌ها و آب آبیاری ۲۶
۳-۱-۱ نمونه‌برداری از غده‌های سیب‌زمینی ۲۶
۳-۱-۲ نمونه‌برداری از گیاهان سیب‌زمینی ۲۶
۳-۱-۳ فراوری گیاهان و نمونه‌های ساقه ۲۷
۳-۱-۴ نمونه‌برداری و بررسی آب آبیاری ۲۷
۳-۲ تشخیص کیفی و تفکیک گونه‌های *PECTOBACTERIUM* و *DICKEYA* با استفاده از روش پی‌سی‌آر ۲۷
۳-۲-۱ کشت انتخابی ۲۸
۳-۲-۲ پی‌سی‌آر معمولی ۲۹
۳-۲-۳ تشخیص و تمایز کمی با استفاده از پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۳۰
۳-۲-۴ استخراج اسیدنوکلئیک ۳۱
۳-۲-۵ تهیه منحنی استاندارد ۳۲
۳-۲-۶ پی‌سی‌آر در زمان واقعی برای شناسایی و تشخیص کمی Pectobacterium atrosepticum و Dickeya solani ۳۲
۴- یادداشت‌ها ۳۴
منابع ۳۶

فصل دوم

چکیده ۳۹

۱- مقدمه ۳۹
۲- مواد ۴۱
۲-۱ آزمون نگهداری ۴۱
۲-۲ محیط کشت برای کشت‌دادن گونه‌های PHOMA ۴۱
۲-۲-۱ محیط جامد عصاره مالت (MEA) ۴۱
۲-۲-۲ محیط جامد دکستروز سیب‌زمینی (PDA) ۴۲
۲-۲-۳ تکنیک‌های ضدعفونی ۴۲
۲-۳ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۴۲
۲-۳-۱ استخراج اسیدنوکلئیک با استفاده از کیت ۴۲
۲-۳-۲ ردیابی و شناسایی با Plexor® ۴۲
۳- روش‌ها ۴۳
۳-۱ بررسی بصری ۴۳
۳-۲ آزمون نگهداری ۴۳
۳-۳ محیط کشت ۴۴
۳-۴ آزمون PLEXOR® ۴۴
۳-۴-۱ طراحی آغازگر ۴۵
۳-۴-۲ استخراج دی‌ان‌ای ۴۷
۳-۴-۳ سنجش Plexor™ در زمان واقعی ۴۷
۳-۴-۴ رقیق‌سازی الگوی استاندارد مرجع ۴۸
۳-۴-۵ تفسیر نتایج ۴۹
۴- یادداشت‌ها ۴۹
منابع ۵۰

فصل سوم

چکیده ۵۳
۱- مقدمه ۵۳
۲- مواد ۵۵
۳- روش‌ها ۵۶
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۵۶
۳-۲ پی‌سی‌آرها در زمان واقعی ۵۷
۳-۲-۱ تهیه منحنی استاندارد ۵۷
۳-۲-۲ پی‌سی‌آر در زمان واقعی برای R. collo-cygni و گونه‌های Rhynchosporium ۵۷
۴- یادداشت‌ها ۵۹
منابع ۶۰

فصل چهارم

چکیده ۶۳
۱- مقدمه ۶۳
۱-۱ اطلاعات بیمارگر ۶۳
۱-۲ پی‌سی‌آر چندگانه ۶۵
۱-۳ طراحی آغازگرهای اختصاصی جنس و گونه‌ها ۶۷
۱-۴ تعیین ویژگی‌های کاوشگر ۶۸
۱-۵ استخراج دی‌ان‌ای از گونه‌های *TILLETIA* ۷۲
۱-۶ تعیین همبستگی بین تعداد بیمارگر هدف و مقادیر CT ۷۲
۱-۷ منحنی استاندارد ۷۳
۲- مواد ۷۵
۲-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۷۵
۲-۲ تکثیر دی‌ان‌ای استخراجی ۷۶
۲-۳ پی‌سی‌آر چندگانه در زمان واقعی ۷۶
۳- روش‌ها ۷۷
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای از یک تک اسپور ۷۷
۳-۲ استخراج دی‌ان‌ای از یک رسوب ۷۷
۳-۳ ساخت مخلوط اصلی پی‌سی‌آر برای تکثیر ۷۸
۳-۴ تکثیر دی‌ان‌ای قبل از انجام پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۷۹
۳-۵ روش پی‌سی‌آر فلورسنت پنج‌تایی در زمان واقعی ۷۹
۳-۶ منحنی استاندارد ۸۲
۴- یادداشت‌ها ۸۳
منابع ۸۴

فصل پنجم

چکیده ۸۷
۱- مقدمه ۸۷
۲- مواد ۹۰
۲-۱ نمونه‌گیری، استخراج دی‌ان‌ای، پی‌سی‌آر در زمان واقعی و توالی‌یابی ۹۰
۲-۲ آماده‌سازی محیط برای کشت قارچ ۹۱
۳- روش ۹۲
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای از بافت آوند آبکش با استفاده از کیت MACHEREY- NAGEL PLANT II ۹۲

۳-۲ استخراج دی‌ان‌ای از فیتوفتورا از خاک با استفاده از سیستم PROMEGA WIZARD MAGNETIC DNA PURIFICATION SYSTEM FOR FOOD و KINGFISHER ML ROBOTIC WORKSTATION ۹۳
۳-۳ استخراج دی‌ان‌ای فیتوفتورا از کشت خالص با استفاده از کیت QIAGEN PLANT MINI ۹۴
۳-۴ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۹۴
۳-۴-۱ تهیه سری رقت برای منحنی کالیبراسیون ۹۵
۳-۴-۲ تنظیم واکنش‌های پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۹۵
۳-۴-۳ تجزیه و تحلیل نتایج ۹۶
۳-۵ تکثیر قارچ‌ها از بافت و توالی‌یابی تاییدی با استفاده از پی‌سی‌آر استاندارد ۱۰۰
۴- یادداشت‌ها ۱۰۰
منابع ۱۰۳

فصل ششم

چکیده ۱۰۵
۱- مقدمه ۱۰۵
۲- مواد ۱۰۹
۳- روش‌ها ۱۱۰
۳-۱ نمونه‌برداری ۱۱۰
۳-۲ آماده‌سازی نمونه ۱۱۰
۳-۳ اجرای LAMP در GENIE II ۱۱۱
۴- یادداشت‌ها ۱۱۱
منابع ۱۱۴

فصل هفتم

چکیده ۱۱۷
۱- مقدمه ۱۱۷
۱-۱ طراحی مقدماتی برای LAMP ۱۲۱
۱-۲ بهینه‌سازی LAMP ۱۲۱
۱-۳ تشخیص بصری محصولات LAMP ۱۲۱
۲- مواد ۱۲۳
۲-۱ مواد و لوازم تخصصی ۱۲۳
۲-۲ استخراج دی‌ان‌ای ۱۲۳
۲-۳ معرف برای واکنش LAMP ۱۲۳
۲-۴ معرف‌های الکتروفورز ۱۲۴
۳- روش‌ها ۱۲۴

۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای از بافت گیاه سیب‌زمینی (غده، ساقه، دمبرگ یا برگ‌ها) ۱۲۴
۳-۲ استخراج دی‌ان‌ای از پسیل ۱۲۵
۳-۳ سنجش LAMP ۱۲۶
۴- یادداشت‌ها ۱۲۷
منابع ۱۲۹

فصل هشتم

چکیده ۱۳۱
۱- مقدمه ۱۳۱
۲- مواد ۱۳۲
۳-روش‌ها ۱۳۳
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای و واکنش‌های ال‌ای‌ام‌پی در مزرعه ۱۳۳
۳-۲ تجزیه‌وتحلیل داده‌ها ۱۳۶
۴- یادداشت‌ها ۱۳۸
منابع ۱۴۲

فصل نهم

چکیده ۱۴۵
۱- مقدمه ۱۴۵
۲- مواد ۱۴۹
۲-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۱۵۰
۲-۲ ال‌ان‌ای پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۵۰
۳- روش‌ها ۱۵۱
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۱۵۱
۳-۲ ال‌ان‌ای پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۵۲
۴- یادداشت‌ها ۱۵۳
منابع ۱۵۴

فصل دهم

چکیده ۱۵۹
۱- مقدمه ۱۵۹
۲- مواد ۱۶۶
۲-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۱۶۶
۲-۲ پی‌سی‌آر ۱۶۶

۲-۳ الکتروفورز ژل آگارز ۱۶۷
۲-۴ نرم‌افزار برای مونتاژ و هم‌ردیف‌سازی توالی دی‌ان‌ای ۱۶۷
۲-۵ پایگاه آنلاین اطلاعات بارگذاری دی‌ان‌ای کیو بی ا ل ۱۶۷
۳- روش‌ها ۱۶۷
۳-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۱۶۷
۳-۲ پی‌سی‌آر آشیانه‌ای ۱۶۸
۳-۲-۱ اولین پی‌سی‌آر ۱۶۸
۳-۲-۲ پی‌سی‌آر دوم تکثیر ناحیه ۴۰۰ جفت بازی tuf با آغازگرهای tuf 400/ tuf 835 ۱۶۹
۳-۳ الکتروفورز ژل آگارز ۱۶۹
۳-۴ تعیین توالی ۱۷۰
۳-۵ تجزیه‌وتحلیل و مونتاژ توالی دی‌ان‌ای ۱۷۰
۳-۶ شناسایی آنلاین با استفاده از پایگاه بارکدگذاری دی‌ان‌ای کیو- بانک ۱۷۱
۴- یادداشت‌ها ۱۷۱
منابع ۱۷۲

فصل یازدهم

چکیده ۱۷۵
۱- مقدمه ۱۷۵
۲- مواد ۱۷۸
۲-۱ مواد شناور ۱۷۸
۲-۲ استخراج دی‌ان‌ای ۱۷۸
۲-۳ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۷۹
۲-۴ بازیابی مهره کاربید تنگستن ۱۸۰
۳- روش ۱۸۰
۳-۱ تولید شناور ۱۸۰
۳-۲ استخراج دی‌ان‌ای از مواد شناور ۱۸۱
۳-۲-۱ استخراج دی‌ان‌ای ۱۸۱
۳-۲-۲ بازیابی مهره تنگستن ۱۸۲
۳-۳ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۸۲
۳-۳-۱ سنجش تشخیص پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۸۳
۳-۳-۲ سنجش شناسایی پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۸۵
۳-۴ تفسیر نتایج ۱۸۷
۳-۴-۱ آزمون تشخیص ۱۸۷
۳-۴-۲ سنجش شناسایی ۱۸۸

۴- یادداشت‌ها ۱۸۸
منابع ۱۹۰

فصل دوازدهم

چکیده ۱۹۳
۱- مقدمه ۱۹۳
۲- مواد ۱۹۶
۲-۱ استخراج از خاک با استفاده از روش اوستنبرینک ۱۹۶
۲-۲- استخراج از خاک با استفاده از روش جایگزین. ۱۹۷
۲-۳ استخراج دی‌ان‌ای ۱۹۷
۲-۴ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۱۹۸
۳- روش‌ها ۱۹۹
۳-۱ استخراج از خاک با استفاده از روش اوستنبرینک ۱۹۹
۳-۲ استخراج از خاک با استفاده از روش جایگزین ۲۰۰
۳-۳ استخراج دی‌ان‌ای ۲۰۰
۳-۴ پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۲۰۱
۴- یادداشت‌ها ۲۰۱
منابع ۲۰۳

فصل سیزدهم

چکیده ۲۰۵
۱- مقدمه ۲۰۵
۲- مواد و تجهیزات ۲۰۸
۲-۱ نمونه‌ها و کنترل‌ها ۲۰۸
۲-۲ استخراج آران‌ای و پی‌سی‌آر در زمان واقعی. ۲۰۸
۲-۳ داس- الایزا تصاعدی ۲۰۹
۳- روش‌ها ۲۱۱
۳-۱ روش تشخیص آرتی‌پی‌سی‌آر در زمان واقعی ویروس‌ها ۲۱۱
۳-۱-۱ نمونه‌گیری از غده‌ها ۲۱۱
۳-۱-۲ استخراج آران‌ای ۲۱۲
۳-۱-۳ آرتی- پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۲۱۳
۳-۱-۴- تجزیه و تحلیل داده‌های آرتی- پی‌سی‌آر در زمان واقعی ۲۱۵
۳-۲ روش تشخیص داس- الایزا تصاعدی ویروس‌ها ۲۱۶
۳-۲-۱ نمونه‌گیری از غده‌های سیب‌زمینی ۲۱۶
۳-۲-۲ پوشش پلیت داس- الایزا ۲۱۷

۳-۲-۳ اضافه‌کردن آنتی‌بادی کانژوگیت ۲۱۸
۳-۲-۴ اضافه‌کردن سوبسترا ۲۱۸
۳-۲-۵ خواندن پلیت الایزا و مشخص‌کردن مثبت‌ها ۲۱۸
۳-۳ تجزیه‌وتحلیل ۲۱۹
۴- یادداشت‌ها ۲۲۰
منابع ۲۲۳

فصل چهاردهم

چکیده ۲۲۵
۱- مقدمه ۲۲۵
۲- مواد ۲۲۷
۲-۱ گرفتن ایمن ۲۲۷
۲-۲ رونویسی معکوس ۲۲۷
۲-۳ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۲۸
۲-۴ تجهیزات ۲۲۸
۳- روش‌ها ۲۲۸
۳-۱ گرفتن ایمن ۲۲۸
۳-۲ رونویسی معکوس (ام- امالوی آرتی، پرومگا) ۲۲۹
۳-۳ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (تک دی‌ان‌ای پلیمراز، جین اسکریپت) ۲۲۹
۳-۴ الکتروفورز ۲۳۱
۴- بحث ۲۳۱
۵- یادداشت‌ها ۲۳۲
منابع ۲۳۵

فصل پانزدهم

چکیده ۲۳۷
۱- مقدمه ۲۳۷
۲- مواد، محصولات و مواد شیمیایی ۲۳۹
۲-۱ کلیات ۲۳۹
۲-۲ آماده‌سازی نمونه ۲۳۹
۲-۳ گرفتن ایمن ۲۳۹
۲-۴ سنتز دی‌ان‌ای مکمل ۲۳۹
۲-۵ تولید توالی ویروسی تکثیرشده ۲۴۰
۲-۶ بسط آغازگر ۲۴۰

۲-۷ واسرشته‌کردن محصولات پی‌سی‌آر نشان‌دار شده برای سی‌ای- اس‌اس‌سی‌پی ۲۴۰
۲-۸ الکتروفورز موئین برای آنالیز اسنپ شات™ ۲۴۰
۲-۹ الکتروفورز موئین برای آنالیز سی‌ای- اس‌اس‌سی‌پی ۲۴۱
۲-۱۰ بافرها ۲۴۲
۳- روش‌ها ۲۴۲
۳-۱ آماده‌سازی نمونه ۲۴۳
۳-۱-۱ خردکردن نمونه‌ها ۲۴۴
۳-۱-۲ گرفتن ایمن (IC) ۲۴۵
۳-۱-۳ تهیه دی‌ان‌ای مکمل ۲۴۵
۳-۲ آزمایش بازیابی اس‌ان‌پی چندگانه ۲۴۷
۳-۲-۱ طراحی جفت آغازگرها و آغازگرهای اسنپ شات ۲۴۷
۳-۲-۲ تولید توالی تکثیرشده از ژنوم ویروسی ۲۴۹
۳-۲-۳ روش بسط آغازگر ۲۴۹
۳-۲-۴ آنالیز آغازگرهای نشان‌دار شده با استفاده از الکتروفورز موئین ۲۵۰
۳-۲-۵ تجزیه‌وتحلیل داده‌ها ۲۵۱
۳-۳ آنالیزهای سی‌ای- اس‌اس‌سی‌پی ۲۵۲
۳-۳-۱ طراحی آغازگر و نواحی آنالیز شده ۲۵۲
۳-۳-۲ تکثیر پی‌سی‌آر با آغازگرهای نشان‌دار ۲۵۴
۳-۳-۳ تهیه محصولات پی‌سی‌آر نشان‌دار شده برای الکتروفورز سی‌ای ۲۵۴
۳-۳-۴ الکتروفورز- سی‌ای قطعات نشان‌دار ۲۵۵
۳-۳-۵ آنالیز داده‌ها ۲۵۵
۴- یادداشت‌ها ۲۵۶
منابع ۲۵۹

فصل شانزدهم

چکیده ۲۶۱
۱- مقدمه ۲۶۱
۲- مواد ۲۶۴
۲-۱ مواد، محصولات و مواد شیمیایی موردنیاز ۲۶۴
۲-۱-۱ ترکیبات عمومی ۲۶۴
۲-۱-۲ استخراج اسید نوکلئیک (ای‌آران، ای‌دی‌ان) ۲۶۵
۲-۱-۳ سنتز دی‌ان‌ای مکمل ۲۶۵
۲-۱-۴ تکثیر هم‌دمایی توالی ویروس ۲۶۵
۲-۱-۵ خالص‌سازی محصولات آرپی‌ای ۲۶۵
۲-۱-۶ تجزیه‌وتحلیل محصولات تکثیرشده ۲۶۶

۲-۲ بافرها و محلول‌های استاندارد ۲۶۶
۳- روش‌ها ۲۶۷
۳-۱ استخراج اسید نوکلئیک ۲۶۷
۳-۱-۱ گرفتن ایمن ۲۶۷
۳-۱-۲ استخراج دی‌ان‌ای از حشره ۲۶۸
۳-۱-۳ کیت‌های تجاری استخراج دی‌ان‌ای و آران‌ای ۲۶۹
۳-۲ رونویسی معکوس (آرتی) ۲۷۰
۳-۳ تکثیر هم‌دمایی ریکامبیناز پلیمراز (آرپی‌ای) ۲۷۱
۳-۳-۱ خالص‌سازی محصولات آرپی‌ای تکثیرشده ۲۷۲
۳-۴ تجزیه‌وتحلیل داده‌ها ۲۷۴
۳-۴-۱ طراحی و انتخاب مناسب‌ترین جفت آغازگر برای آزمایش آرپی‌ای ۲۷۴
۳-۴-۲ تأثیر مراحل خالص‌سازی آرپی‌ای ۲۷۵
۳-۴-۳ آزمایش آرپی‌ای برای تفکیک زیرگونه‌های پی‌وی‌وای ۲۷۶
۳-۴-۴ کاربرد آزمایش آرپی‌ای برای سایر گونه‌های ویروسی ۲۷۷
۴- یادداشت‌ها ۲۷۹
منابع ۲۸۱

فصل هفدهم

چکیده ۲۸۳
۱- مقدمه ۲۸۳
۲- مواد ۲۸۶
۳- روش‌ها ۲۸۸
۳-۱ استخراج آران‌ای ۲۸۸
۳-۲ استخراج آران‌ای ۲۸۹
۳-۳ استخراج دی‌ان‌ای کل ۲۹۰
۳-۴ رونویسی معکوس (RT) و واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (پی‌سی‌آر) ۲۹۲
۳-۴-۱ سنتز دی‌ان‌ای مکمل تک رشته‌ای ۲۹۲
۳-۴-۲ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (پی‌سی‌آر) ۲۹۲
۴- یادداشت‌ها ۲۹۳
منابع ۲۹۶

فصل هجدهم

چکیده ۳۰۱
۱- مقدمه ۳۰۱
۲- مواد ۳۰۲

۲-۱ خالص‌سازی ذرات ویروسی ۳۰۲
۲-۲ استخراج نوکلئیک اسید ویروسی ۳۰۳
۲-۳ تکثیر رونویسی معکوس-واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (آرتی- پی‌سی‌آر) تصادفی نوکلئیک اسیدهای ویروسی خالص‌شده ۳۰۴
۲-۴ همسانه‌سازی و تعیین توالی ۳۰۴
۳- روش‌ها ۳۰۵
۳-۱ خالص‌سازی ذرات ویروسی ۳۰۵
۳-۲ استخراج اسید نوکلئیک ویروسی ۳۰۶
۳-۳ تکثیر رونویسی معکوس-واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (آرتی- پی‌سی‌آر) تصادفی نوکلئیک اسیدهای ویروسی خالص شده ۳۰۶
۳-۴ همسانه‌سازی و تعیین توالی ۳۰۷
۳-۵ آنالیز داده‌های تعیین توالی ۳۰۹
۴- یادداشت‌ها ۳۱۰
منابع ۳۱۱

فصل نوزدهم

چکیده ۳۱۳
۱- مقدمه ۳۱۳
۱-۱ روش‌های شناسایی ویروئیدها ۳۱۵
۲- مواد ۳۱۷
۲-۱ روش استخراج آران‌ای‌های کوچک ۳۱۷
۲-۲ بارگذاری نمونه‌ها داخل غشاء ۳۱۸
۲-۳ کاوشگر آران‌ای نشان‌دار شده به دیگوکسیژنین ۳۱۸
۲-۴ توسعه عکس پرتونگاری ۳۱۹
۳- روش‌ها ۳۱۹
۳-۱ نمونه‌برداری مواد گیاهی ۳۱۹
۳-۲ روش استخراج آران‌ای کوچک ۳۲۰
۳-۳ بارگذاری کردن نمونه داخل غشاء ۳۲۱
۳-۴ آماده‌سازی و هیبریداسیون با کاوشگر آران‌ای نشان‌دار شده به DIG ۳۲۲
۳-۴-۱ آماده‌سازی کاوشگر دیگوکسیژنین ویروئید غده دوکی سیب‌زمینی ۳۲۲
۳-۴-۲ هیبریداسیون ۳۲۲
۳-۵ توسعه پرتونگار ۳۲۴
۳-۶ تفسیر نتایج ۳۲۵
۳-۷ رفع اشکال ۳۲۶

۴- یادداشت‌ها ۳۲۶
منابع ۳۲۷

فصل بیستم

چکیده ۳۳۱
۱- مقدمه ۳۳۱
۲- مواد ۳۳۲
۳- روش‌ها ۳۳۴
۳-۱ تکثیر هدف و خالص‌سازی ۳۳۴
۳-۲ خالص‌سازی نمونه با استفاده از ستون خالص‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز *QIAQUICK* ۳۳۵
۳-۳ هیبریداسیون آرایه ۳۳۵
۳-۴ شستشوی آرایه ۳۳۵
۳-۵ توسعه سیگنال و اسکن ۳۳۶
۳-۶ تفسیر نتایج ۳۳۶
۴- یادداشت‌ها ۳۳۷
منابع ۳۴۲

فصل بیست‌ویکم

چکیده ۳۴۵
۱- مقدمه ۳۴۵
۱-۱ آزمون سرلوژیکی مگ پلکس لومینکس ۳۴۶
۱-۲ آزمون مولکولی *LUMINEX xTAG* ۳۴۸
۱-۳ آنالیز و اندازه‌گیری داده‌ها ۳۵۰
۲- مواد ۳۵۰
۲-۱ آزمون سرولوژی چندگانه *xMAP* ۳۵۰
۲-۲ آزمون مولکولی چندگانه xTAG ۳۵۲
۳- روش‌ها ۳۵۳
۳-۱ آزمون سرلوژیکی چندگانه xMAP ۳۵۳
۳-۱-۱ آماده‌سازی نمونه ۳۵۳
۳-۱-۲ آزمون xMAP ۳۵۳
۳-۱-۳- اندازه‌گیری آزمون xMAP ۳۵۵
۳-۲ آزمون مولکولی چندگانه xTAG ۳۵۵
۳-۲-۱ آماده‌سازی نمونه ۳۵۵
۳-۲-۲ سنجش xTAG ۳۵۶

۳-۲-۳ اندازه‌گیری آزمون xTAG *۳۶۰*
۴- یادداشت‌ها ۳۶۱
منابع ۳۶۳

فصل بیست‌ودوم

چکیده ۳۶۵
۱- مقدمه ۳۶۵
۲- مواد ۳۶۷
۲-۱ ترکیبات موردنیاز استخراج اسید نوکلئیک از بافت گیاهان غیراسیدی ۳۶۷
۲-۲ ترکیبات موردنیاز استخراج اسید نوکلئیک از بافت گیاهان اسیدی ۳۶۹
۲-۳ اجزای غنی‌سازی آران‌ای دورشته‌ای ۳۶۹
۲-۴ اجزای رونویسی معکوس، الیگونوکلئوتیدهای دجنره واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، کنترل کیفیت دی‌ان‌ای ۳۷۰
۳- روش‌ها ۳۷۰
۳-۱ استخراج اسید نوکلئیک از بافت گیاهان غیراسیدی ۳۷۰
۳-۲ استخراج اسید نوکلئیک از بافت گیاهان اسیدی ۳۷۲
۳-۳ غنی‌سازی آران‌ای دورشته‌ای ۳۷۳
۳-۴ رونویسی معکوس، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با الیگونوکلئوتیدهای دجنره، کنترل کیفیت دی‌ان‌ای ۳۷۴
۳-۵ نسل جدید توالی‌یابی و آنالیز داده‌ها با استفاده از VIRFIND ۳۷۶
۴- یادداشت‌ها ۳۷۸
منابع ۳۷۹

فصل بیست‌وسوم

چکیده ۳۸۱
۱- مقدمه ۳۸۱
۲- مواد ۳۸۶
۲-۱ استخراج آران‌ای دورشته‌ای ۳۸۶
۲-۲ ساخت کتابخانه و توالی‌یابی ۳۸۷
۲-۳ بیوانفورماتیک ۳۸۷
۳- روش‌ها ۳۸۷
۳-۱ آماده‌سازی نمونه ۳۸۷
۳-۲ استخراج آران‌ای دورشته‌ای ۳۸۸
۳-۳ ساخت کتابخانه NGS و توالی‌یابی ۳۹۱
۳-۴ آنالیز داده‌های بیوانفورماتیک ۳۹۲
۳-۴-۱ مرتب‌کردن داده‌های خام *۳۹۳*

۳-۴-۲ *مونتاژ de novo* ۳۹۴
۳-۴-۳- *ترسیم خوانش* ۳۹۴
۴- یادداشت‌ها ۳۹۵
منابع ۳۹۸

فصل بیست‌وچهارم

چکیده ۴۰۱
۱- مقدمه ۴۰۱
۲- مواد ۴۰۴
۲-۱ نمونه‌ها و کنترل‌ها ۴۰۴
۲-۲ معرف‌های دی دی پی‌سی‌آر ۴۰۵
۲-۳ تجهیرات ۴۰۵
۳- روش‌ها ۴۰۵
۳-۱ آماده‌سازی مخلوط واکنش ۴۰۶
۳-۲ تولید قطره ۴۰۷
۳-۳ تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۴۰۸
۳-۴ خوانش قطره و آنالیز نتایج ۴۰۹
۳-۵ مطالعه موردی، مقدار پاتوژن قرنطینه *E.AMILOVORA* ۴۰۹
۴- یادداشت‌ها ۴۱۲
منابع ۴۱۹

پیشگفتار مؤلف

بیمارگرها تهدیدی برای گیاهان در جوامع طبیعی (مثل جنگل‌ها، علفزارها)، محصولات باغبانی و یا محصولات کشاورزی هستند. خطر گسترش بیمارگر با افزایش فعالیت انسان و جهانی‌شدن تجارت افزایش‌یافته است. علاوه بر این، عواملی مانند تغییرات محیطی (نوسانات آب و هوایی محلی یا جهانی) و تغییر در قوانین آفت‌کش‌ها، بر استقرار بیمارگرها و ناقلین آن‌ها در زیستگاه‌های مختلف و فشارهای انتخابی، که منجر به ظهور پاتوتایپ‌های جدید و انواع مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود؛ تاثیر می‌گذارد. آسیب‌های ناشی از بیمارگرهای در حال ظهور، ظهور مجدد یا بومی بسیار مهم هستند. کنوانسیون بین‌المللی حفاظت از گیاهان، سازمان‌های منطقه‌ای و ملی حفاظت از گیاهان، برای جلوگیری از گسترش پاتوژن‌های کنترل‌شده (به‌ویژه بیمارگرهای قرنطینه) بین کشورها به منظور حفاظت از سیستم‌های کشاورزی و طبیعی گیاهان، اقدامات بهداشتی گیاهی را توسعه داده‌اند. امنیت زیستی گیاهان به شدت به ردیابی و تشخیص زود هنگام عامل بیماری‌زا بستگی دارد. به غیر از روش های شناسایی مبتنی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، روش‌های تشخیصی را می‌توان به سه دسته اصلی تقسیم کرد: روش‌های زیست سنجی، روش‌های سرولوژیکی و مولکولی و گاهی اوقات ترکیبی از این روش‌ها مورد استفاده قرار خواهد گرفت. از اواخر دهه ۱۹۷۰، روش سرولوژیکی ELISA با استفاده از آنتی‌بادی پلی کلونال و به خصوص آنتی‌بادی مونوکلونال، به‌دلیل مقرون‌به‌صرفه بودن و ظرفیت آن برای ردیابی و تشخیص قابل‌اطمینان تعداد زیاد نمونه، روش انتخابی بیشتر آزمایشگاه‌های تشخیصی بوده است. با این حال، در طول دهه گذشته، تعداد رو به افزایشی از سنجش‌های مبتنی بر دی‌ان‌ای یا آران‌ای به‌ویژه سنجش‌های مبتنی بر روش پی‌سی‌آر ، به دلیل حساسیت و اختصاصیت بالا، سهولت نسبی در پیش‌برد آزمایش‌ها، قابلیت ردیابی همزمان چند هدف، نیاز آن‌ها به حداقل مقادیر هدف و توانایی آن‌ها در انجام آزمایش‌هایی با توان عملیاتی بالا[۱]، به طور معمول در آزمایشگاه‌های تشخیصی مورد استفاده قرار می‌گیرند. افزون بر این، تعیین توالی به‌طور قابل‌توجهی به افزایش اطلاعات درباره ژنوم گیاهان و میکروب‌ها کمک کرده است و در حال حاضر به طور گسترده به‌عنوان روش‌های مستقل و یا همراه با دیگر روش های تشخیص به کار می‌رود. تکنیک‌هایی مانند پی‌سی‌آر معمولی، پی‌سی‌آر در زمان واقعی و ریز ارائه‌های تشخیصی روش‌های تطبیق‌پذیری هستند که می‌توان از آنها به‌عنوان یک روش ردیابی– تشخیصی عمومی یا اختصاصی گونه استفاده شوند. با این حال، یکی از اشکالات آن‌ها اتکا به دانش قبلی از ژنوم بیمارگر یا بیمارگرهای هدف است. تکامل سریع بیوانفورماتیک و محاسبات کامپیوتری

۱- High-Throughput Testing

برای تحلیل تعداد بسیار زیادی از داده‌های پیچیده، تعیین توالی نسل بعدی[1]، پلتفرم‌های تعیین توالی با توان عملیاتی بالا که با عنوان deep sequencing هم شناخته می‌شوند؛ را ایجاد کرد که به‌عنوان یک روش ردیابی و تشخیص در دسترس قرار دارد. استفاده از این روش‌های متاژنومیک روی نمونه‌های آلوده، امکان شناسایی بیمارگرهایی که هنوز به‌طور کامل مشخص یا توصیف نشده‌اند؛ را فراهم می‌کند. مهم‌تر اینکه پیشرفت‌های اخیر در تشخیص عوامل بیماری‌زای گیاهی، سیستم‌های تشخیصی دستی قابل‌استفاده در مزرعه، که به دستگاه سیکل حرارتی[2] نیاز ندارند، را ارائه داده است. این امر شناسایی سریع عوامل بیماری‌زا در محل را ممکن می‌سازد، در نتیجه نیاز به تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی را رد می‌کند. توسعه هر گونه سنجش تشخیصی نیازمند اعتبارسنجی کامل است تا از حساسیت، اختصاصیت و تکرارپذیری آن و همچنین مناسب بودن روش برای هدف آزمایش اطمینان حاصل شود. ویرایش جدید کتاب تکنیک‌ها و پروتکل‌های آسیب شناسی گیاهان، روش‌های تشخیصی را شامل می‌شود که در حال حاضر در آزمایشگاه‌ها برای طیف گسترده‌ای از گونه‌ها و ماتریس‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این روش‌ها شامل روش‌های سرولوژیکی و مولکولی هستند که دارای یکی یا تعدادی از خصوصیات زیر هستند: مناسب بودن برای آزمایش‌ها با توان عملیاتی بالا، تشخیص گروهی از بیمارگرها یا بیمارگرهای ناشناخته، ردیابی و شناسایی بیمارگرهای اختصاصی و حساسیت بالا. کیفیت و کمیت روش‌های توصیف‌شده به اندازه روش‌های تشخیصی پیشرفته، توسعه یافته‌اند. فصل‌های این کتاب گروهی از بیماری شناسان گیاهی و زیست‌شناسان مولکولی را مخاطب قرار داده است که اطلاعاتی در مورد چگونگی انجام آزمون‌ها در آزمایشگاه‌های خود دریافت خواهند کرد. همچنین اطلاعات زمینه‌ای در مورد بسیاری از بیمارگرهای بومی، غیربومی یا نوظهور که دارای چرخه‌های زندگی متفاوتی هستند و باعث ایجاد بیماری‌های مهمی در طیف گسترده‌ای از میزبان‌ها می‌شوند؛ ارائه شده است.

کریستوف لاکوم
ادینبورگ، بریتانیا

1- Next-Generation
۲- Thermal Cycling