

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



PROPOSAL

پروپوزال

مركز آموزش
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی



مركز آموزش
روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی

کارگاه آنلاین
روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی



ISI
Scopus

مركز آموزش
آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترکیه های جستجو

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترکیه های جستجو

به نام خداوند مهربان

عنوان:

بررسی تنوع ژنتیکی پشه های آنوفل استغفسی (*Anophele stephensi* (Culicidae: Diptera) در استان سیستان و بلوچستان با استفاده از تکنیک PCR-RFLP (اولین پژوهش)

فاطمه^۱ دکتر ناهید نورجاه^۱ دکتر حسن وطندوست^۱ علیرضا چاووشین^۱ دکتر محمد علی عشاقی^۱ *فاطمه یعقوبی^۱ محترمی^۱

^۱ ص پ ۶۴۴۶- گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۱۴۱۵۵، تهران، ایران.

fayaghoobi@yahoo.com

چکیده:

پشه های آنوفل استغفسی یکی از مهمترین ناقلین مالاریا در مناطق جنوب و جنوب شرقی ایران بویژه در استان های سیستان - بلوچستان و هرمزگان می باشند. تاکنون مطالعاتی زیادی بر روی فرم های بیولوژیک بر اساس مرفولوژی تخم و خصوصیات کروموزومی در جمعیت های شهری و روستایی این گونه انجام شده، اما هنوز ساختار ژنتیکی جمعیت های مختلف و ارتباط آن با فرم های بیولوژیکی این آنوفل نامشخص باقی مانده است. این مطالعه به هدف بررسی تنوع ژنتیکی فرم های بیولوژیکی جمعیت های مختلف توپوگرافی و شهری - روستایی آنوفل استغفسی با استفاده از متد مولکولی PCR-RFLP در بین سوش های متفاوت و موثر در انتقال عامل بیماری مالاریا نوع سخت و بدخیم (*Plasmodium falciparum*) در منطقه بلوچستان ایران می باشد. در این مطالعه محصولات حاصل از تاثیر بیش از ۱۰ آنزیم هضم کننده مختلف بر روی ژن سیتوکروم اکسیداز ۱ و ۲ (COI-COI) ژنوم میتوکندری بطول نشان داد که اختلافات ژنتیکی در داخل جمعیت های این گونه وجود دارد و تشکیل ۲ هاپلو تایپ مشخص را می دهند که متمایز از خصوصیات مرفولوژیکی تخم و توپوگرافی منطقه است و حاصل یک جریان ژنتیکی مشخص در بین سوش های مختلف می باشد. این اولین مطالعه بر روی ژنتیک جمعیت های مختلف آنوفل استغفسی بر اساس فرم های بیولوژیکی آنها در مناطق انتشار این گونه در دنیا می باشد. مطالعات تکمیلی اکولوژیکی، سیتولوژیکی و مولکولی در سایر مناطق مالاریا خیز ایران جهت تعیین وضعیت دقیق تر این گونه در ایران ضروری بنظر میرسد. نتایج این مطالعه می تواند راهگشای مناسبی در ارائه راهکار ها و برنامه ریزی جهت مبارزه با ناقلین مالاریا باشد.

کلمات کلیدی: آنوفل استغفسی، ژنوم میتوکندری، ژن سیتوکروم اکسیداز یک و دو. آنزیم های قطع کننده ناقل مالاریا. کلیات:

پشه های آنوفل استغفسی یکی از مهمترین ناقلین مالاریا در مناطق خاورمیانه و شبه قاره هند می باشد. در ایران نیز این گونه یکی از مهمترین ناقلین مالاریا در مناطق جنوب و جنوب شرقی معرفی شده است (Zahar 1990). این گونه بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی تخم (طول و عرض و تعداد اطرافچه های هوایی موجود در تخم) به سه فرم بیولوژیکی (Type (Biotype), Intermediate و *Mysorensis* طبقه بندی شده که از نظر قدرت انتقال بیماری مالاریا، نوع Type form این گونه بعنوان یکی از ناقلین مهم مالاریا شناخته شده و این در حالی است که سایر فرم ها از ناقلین ضعیف محسوب می گردند. (Subbarao, etal 1987, Rao, etal 1938, Sweet & Rao 1937).

به منظور تفکیک فرم های بیولوژیکی و تعیین تنوع ژنتیکی در این گونه تا بحال از روش های مختلفی از جمله بررسی خصوصیات مرفولوژیکی تخم، میتونیک کروموزوم (Suguna, 1992)، پلی تن کروموزوم (Coluzzi, 1970)، هیدروکربن های جلد حشره بالغ (Anyanwu, 1997) تلاقی بین استرین های مختلف (Rutledge, 1970) و روش های بیولوژی مولکولی (Oshaghi, 1998) استفاده شده است. علیرغم مشاهده اختلاف در فرم های مختلف این گونه، نتایج آزمایشات مختلف محققین بر روی تلاقی بین سوش های این گونه نشان داده است که اگر چه تا حدودی نر عقیمی در نتایج حاصله مشاهده شده است ولی عموماً سوش های مختلف این گونه قادر به جفتگیری و تولید نتاج بارور می

باشند (Rutledge, 1970). بنابراین وضعیت این گونه از نظر کمپلکس یا سیپلینگ بودن هنوز مورد سوال است. مطالعات اخیر بر روی DNA میتوکندری به دلیل نداشتن نوترکیبی، تکامل سریع و وراثت مادری به عنوان یک مارکر ژنتیکی بسیار مهم برای مطالعه تنوع ژنتیکی حشرات بخصوص در میان گونه های ناقل مالاریا صورت گرفته است (Loxdale, 1998). این پژوهش برای اولین بار در منطقه آندمیک مالاریا در جنوب شرقی ایران، بر اساس روشهای بیولوژی مولکولی مبتنی بر فرم های بیولوژیک مختلف انجام شده است. نتایج حاصل از این مطالعه علاوه بر پیشگامی در استفاده از بیولوژی مولکولی در مطالعات حشره شناسی پزشکی، در مطالعات اپیدمیولوژیک و برنامه کنترل بیماری مالاریا در مناطق جنوبی مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

مواد و روشها:

نمونه های لارو و بالغ آنوفل از مناطق تحت مطالعه در مناطق جنوب و جنوب شرق ایران با روشهای استاندارد حشره شناسی جمع آوری شده و با استفاده از کلیدهای استاندارد نسبت به تعیین گونه آنها اقدام شد و نمونه های آنوفل استنفسی بر اساس فرمهای مختلف بیولوژیک با استفاده از خصوصیات مرفولوژیک جداسازی شده و DNA نمونه ها با استفاده از روش استخراج فنل - کلروفرم (Ballinger, 1992) استخراج شده و تا حد امکان تخلیص شد. سپس با استفاده از تکنیک PCR قطعه ای بطول ۱۵۱۲bp از ژن های سیتو کروم اکسیداز ۱ و ۲ (COI, COII) ژنوم میتوکندری (mtDNA) با کمک پرایمرهای از پیش طراحی شده COII® , COI(f) تکثیر شده و حدود ۱۰۰ml از محصول حاصل که کیفیت آن مناسب بود جهت تخلیص و تعیین توالی (sequencing) به شرکت آلمانی توسط نمایندگی آن در ایران سپرده شد. با استفاده از نرم افزار Nebcutter محل های برش آنزیم بر روی توالی حاصله مورد بررسی قرار گرفت و با تعیین آنزیمهای مناسب و موثر جهت انجام تکنیک RFLP بر روی محصولات PCR، از آنزیمهای قطع کننده (از پیش شناسایی شده) که قادر به تفکیک تنوع ژنتیکی در فرمهای بیولوژیکی جمعیت های متنوع میباشد استفاده شد.

نتایج:

نتایج حاصل از تکنیک RFLP بر روی جمعیت ها و فرمهای مختلف بیولوژیک این گونه نشان داد که از بین ۱۰ آنزیم مختلف تنها آنزیم *Dra I* قادر به تفکیک ۲ هاپلوتايب در بین جمعیت های مختلف فرم *Mysorensis* منطقه بلوچستان می باشد. در سایر فرمهای بیولوژیک و جمعیت های مورد مطالعه هیچ گونه پلی مورفیسم طولی ناشی از هضم آنزیمی مشاهده نشد. تعیین توالی حدود ۸۰۰bp از بخش ۳' ژن CO I و حدود ۶۰۰bp از بخش ۵' ژن CO II ژنوم میتوکندری mtDNA ۱۰۰ نمونه از جمعیتها و فرمهای مختلف بیولوژیک این گونه انجام شد. مقایسه (Alignment) توالی های حاصله نشان دادند که تمام جمعیتها و فرمهای بیولوژیک در دو بخش مطالعه شده COI و CO II مجموعاً "بطول ۱۳۵۰bp کاملاً" یکسان و مشابه می باشند و با نتایج حاصل از PCR-RFLP کاملاً هماهنگی دارد. نتایج فوق نشان می دهد که علیرغم وجود فرمهای بیولوژیک و نقش متفاوت آنها در انتقال بیماری، آنوفل استنفسی هنوز یک گونه واحد می باشد و یک جریان ژنی (Gene flow) بین جمعیتها و فرمهای مختلف آن وجود دارد به نحوی که از نظر ژنتیکی شباهت بسیار زیادی بین آن ایجاد می نماید.

1. Suguna.S.G .(1992) Y-Chromosome dimorphism in the malaria vector *Anopheles stephensi* from south India,*Medical and Veterinary Entomology*6:84-86
2. Sweet,W.C. and Rao,B.a.(1937)Races of *Anopheles stephensi* Liston,1901 .*Indian Medicine Gazzete*.72:665-674.
3. Subbarao.S,K., Vasantha .T., Adak and Sharma V.P., (1987) Seasonal prevalence of sibling species A and B of the taxon *Anopheles culicifacies* sibling species A and B to DDT and HCH in India ,Implications in malaria control .*Medical and Veterinary Entomology*2:219-223.
4. Coluzzi,M . Cancrini, G and Di Deco,M.(1970) The polytene chromosomes of *Anopheles superpictus* and relationship with *Anopheles stephensi* , *Parasitology*, 12: 101-111
5. Oshaghi,M.A.(1998) The use of Mitochondrial DNA in the Molecular systematic of malaria vectors .PhD thesis ,The School of Tropical Medicine ,University of Liverpool.
6. Rao.B.A., Sweet.W.C and Subbarao .A.M.(1938) Ova measurement of *An.stephensi* type and *An.stephensi* var.*mysorensis* , *Journal of the malaria Institute of India*, 1(3):261-266.
7. Rutledge .L.C., Ward .R.D., Bickly .W.E.(1970) Experimental hybridization of geographic strains of *An.stephensi*.*Annals .Entomology Society American*,63(4):1024-1030

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



PROPOSAL
پروپوزال

پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی



روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین
روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی



ISI
Scopus

آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو