آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۱، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۲
Archive of SID

تشخیص و پراکنش جغرافیایی آلودگی‌های ویروسی در گلخانه‌های خیار استان‌های تهران و البرز*

سیمین صالحی[۲،۱] و کاوه بنانج[۱]✉

۱- بخش تحقیقات ویروس‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران
۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

(تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۱؛ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۲)

چکیده

آلودگی‌های ویروسی از جمله عوامل مهم کاهش کمی و کیفی محصول کدوئیان در مزارع و گلخانه‌ها در دنیا و ایران می‌باشند. موزائیک و زردی برگ‌ها از شایع‌ترین علائم در بوته‌های آلوده می‌باشند. به منظور بررسی وضعیت آلودگی‌های‌های ویروسی در گلخانه‌های خیار در استان‌های تهران و البرز، تعداد ۲۱۹ نمونه برگ خیار دارای علائم موزائیک و زردی جمع‌آوری و آلودگی آنها به برخی از ویروس‌های شایع کدوئیان از طریق DAS-ELISA و RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشانگر آلودگی ۵۱٪ نمونه‌ها به ویروس‌ها از جنس‌ها و تیره‌های مختلف ویروسی در کلیه مناطق مورد بررسی بود. آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده با علائم زردی به برخی از ویروس‌های همراه و یا دخیل در عارضه زردی کدوئیان نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشانگر آلودگی برخی از نمونه‌ها به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV)، ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) و ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) بود. بیشترین میزان آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده مربوط به CABYV، CYSDV و ZYMV بود. این اولین گزارش از وجود آلودگی به CABYV و CYSDV در گلخانه‌های خیار در ایران می‌باشد. حدود ۱۹٪ نمونه‌های آلوده دارای آلودگی همزمان به دو و یا بیش از دو ویروس بودند. بیشترین آلودگی همزمان مربوط به آلودگی‌های دو تایی و ویروس CABYV از اجزای اصلی آلودگی‌های دو و سه گانه بود. نتایج بدست آمده از تعیین استرین جدایه‌های ایرانی (CABYV) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، نشانگر آلودگی نمونه‌های مورد بررسی به استرین (C) و عدم آلودگی آنها به استرین (R) بود. وجود استرین (C) ویروس زردی شته زاد کدوئیان برای اولین بار از کدوئیان در ایران گزارش می‌گردد. نتایج بدست آمده از بررسی آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها (WTGs) از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی، نشانگر عدم آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده به WTGs بود.

واژه‌های کلیدی: ویروس‌های کدوئیان، خیار، زردی، DAS-ELISA، RT-PCR.

Detection and geographical distribution of viral infections in cucumber greenhouses in Tehran and Alborz provinces

S. SALEHI[1,2] and K. BANANEJ[1]✉

1- Department of Plant Virus Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran
2- Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Abstract

Viral infection is one of the most important factor causing high yield losses of cucurbit crops in greenhouses and open fields grown condition. Mosaic and yellowing are the most prevalent symptoms in cucumber greenhouses in all over the world and Iran. Surveys were conducted from 2010 to 2011 in some cucumber greenhouses of Tehran and Alborz provinces and 219 leaf samples showing mosaic and yellowing symptoms were collected. The samples were tested for the presence of some prevalent cucurbit viruses by DAS-ELISA and RT-PCR. These results confirmed the presence of viral infection (~51%) in cucumber greenhouses and showed the infection of some samples to different viruses in different genus and families in all surveyed areas. Samples showing yellowing symptoms were also tested for the presence of viruses which involved or associated with yellowing symptom. DAS-ELISA and RT-PCR results confirmed the presence of CABYV, ZYMV, and CYSDV. This is the first report of CABYV and CYSDV from cucumber greenhouses in Iran. CABYV, CYSDV, and ZYMV were the most prevalent viruses in cucumber greenhouses. Mixed infections were found in ~19% of infected samples. Double infections were the most frequent of mixed infections and CABYV is the key role in double and triple infections. In order to CABYV strains identification (strain C and strain R), RT-PCR was carried out using specific primers. The samples were only infected with strain (C). Cucumber samples showing yellowing symptoms were also tested for whitefly-transmitted geminiviruses (WTGs) infection, using specific and degenerate primers in PCR. Despite of the presence of high population whiteflies and yellowing symptoms in many surveyed greenhouses, the samples were negative to WTGs infection.

Key words: Cucurbit viruses, Yellowing, DAS-ELISA, RT-PCR.

---

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان.

✉ **Corresponding author: k_bananej@yahoo.com**

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

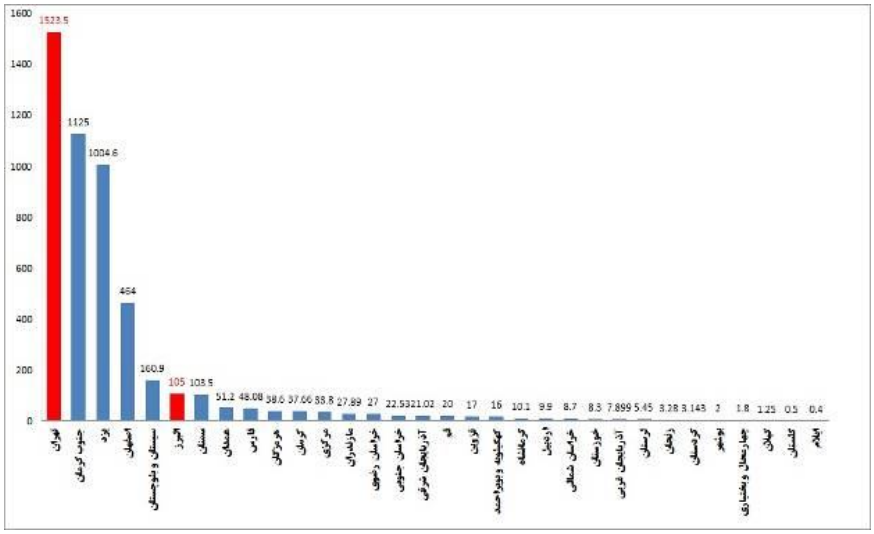
تیره کدوئیان (*Cucurbitaceae*) از جنس‌ها و گونه‌های متعددی تشکیل شده است. تعدادی از جنس و گونه‌های مهم این تیره عبارتند از: خیار (*Cucumis sativus L.*)، کدو مسمایی (*Cucurbita pepo*)، کدو حلوایی (*Cucurbita moschata*)، کدو تنبل (*Cucurbita maxima*)، خربزه (*Cucumis melo*) و هندوانه (*Citrullus lanatus*). کدوئیان در سراسر دنیا در شرایط مختلف آب و هوایی مختلف و برای اهداف متفاوت کشت می‌شوند. ایران با هشتاد هزار هکتار سطح زیر کشت خربزه (*C. melo* L.)، بعد از چین و ترکیه سومین تولید کننده خربزه در جهان می‌باشد (Anonymous, 1996; F. A. O., 2010). بر اساس اطلاعات مندرج در آمار نامه کشاورزی سال زراعی ۸۷-۸۶ سطح زیر کشت کدوئیان در ایران بالغ بر سیصد و سی هزار هکتار و میزان تولید حدود پنج میلیون تن بر آورد گردیده است. سطح زیر کشت محصول خیار (*C. sativus L.*) در تهران ۱۸۲۸ هکتار، خراسان رضوی ۱۷۶۱ هکتار و میزان تولید تهران ۷۳۵۱٦ تن، خراسان رضوی ٤٤۷۵۳ تن می‌باشد. در سال‌های اخیر، سرمایه گذاری در گلخانه‌ها در کشور با هدف تولید بیشتر و اشتغال زایی، توسعه و گسترش زیادی یافته و نشانگر اهمیت کشت محصولات گلخانه‌ای در کشور می‌باشد. در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ سطح زیر کشت خیار گلخانه‌ای در کل کشور ۴۹۱۰ هکتار و میزان تولید خیار گلخانه‌ای در کل کشور ۹۹۰ هزار تن بوده است. استان تهران با سطح زیر کشت ۱۵۲۴ هکتار (۳۱ درصد) و میزان تولید ۳۰۵ هزار تن (۳۱ درصد) رتبه اول را از نظر تولید خیار گلخانه‌ای به خود اختصاص داده است (Anonymous, 2009) (شکل شماره ۱ و ۲).

ویروس‌های گیاهی از مهم‌ترین عوامل ایجاد خسارت و کاهش میزان محصولات کدوئیان در بسیاری از کشورهای دنیا (Abou-Jawdah *et al*. 2000a) به شمار می‌آیند. ویروس‌ها به لحاظ اهمیت و میزان خسارت وارده بعد از قارچ‌ها در رده دوم اهمیت قرار دارند (Sweiss *et al*. 2007). تاکنون بیش از ۳۵ ویروس گیاهی از جنس‌ها و تیره‌های مختلف ویروس‌های گیاهی از کدوئیان در سراسر دنیا گزارش شده است (Provvidenti, 1996). آلودگی‌های ابتدای فصل در مزارع خیار (*C. sativus* L.) و خربزه (*C. melo* L.) فرانسه، به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV) منجر به کاهش میزان محصول به میزان ۵۰ و ٤۰ درصد (به ترتیب) گردیده است (Dogimont *et al*. 1996). آلودگی به جدایه CABYV-N باعث کاهش میزان محصول تا حدود ۵۱ درصد در سه رقم خیار در فرانسه گردیده است (Lecoq *et al*. 1992). ویروس موزائیک زرد کدو (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) از شایع‌ترین ویروس‌ها در مزارع کدوئیان در لبنان می‌باشد که منجر به کاهش محصول کدو سبز به میزان ۶۴٪ و کاهش محصول در مزارع خربزه به میزان ۴۴٪ گردیده است (Abou-Jawdah *et al*. 2000b). در چند دهه اخیر، تعداد زیادی از ویروس‌های قابل انتقال توسط شته‌ها و سفید بالک‌ها از کدوئیان در شرایط مزرعه و یا گلخانه گزارش شده‌اند که غالباً منجر به بروز نشانه‌های زردی در سطوح وسیعی از مزارع کدوئیان گردیده‌اند (Wisler *et al*. 1998). گزارشی در زمینه شناسایی و تشخیص ویروس‌های کدوئیان در گلخانه‌های خیار تا قبل از سال ۱۳۸۳در ایران وجود ندارد. ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، ویروس موزائیک هندوانه (*Watermelon mosaic virus*, WMV)، ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*, CMV) و ویروس لکه پژمردگی گوجه فرنگی (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)، برای اولین بار از گلخانه‌های خیار در منطقه جیرفت گزارش شده‌اند (Shaabanian *et al*. 2004). ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، ویروس موزائیک هندوانه (WMV) و ویروس موزائیک خیار (CMV) از گلخانه‌های کدوئیان در استان‌های گیلان، مازندران، گلستان و خراسان گزارش شده‌اند

www.SID.ir

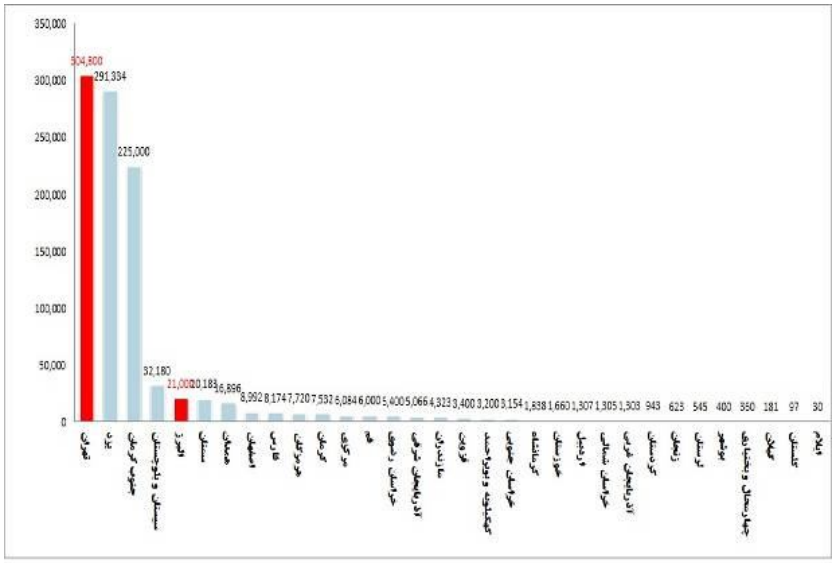
Archive of SID

(Samei *et al*. 2004). ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) (دو نمونه از ۱۰ نمونه جمع آوری شده)، ویروس موزائیک هندوانه (WMV) (یک نمونه از ۱۰ نمونه جمع آوری شده) از گلخانه‌های خیار ورامین، ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) (پنج نمونه از ۳۵ نمونه جمع آوری شده)، ویروس موزائیک خیار (CMV) (۹ نمونه از ۳۵ نمونه جمع آوری شده) از گلخانه‌های خیار کرج گزارش شده‌اند (Massumi *et al*. 2007). ویروس پالامپور پیچیدگی برگ گوجه فرنگی (*Tomato leaf curl Palampur virus*, ToLCPMV) از برخی گلخانه‌های خیار شهرستان تفت واقع در استان یزد گزارش شده است (Hessari *et al*. 2010).



شکل ۱- نمودار سطح زیر کشت (هکتار) خیار گلخانه ای در استان‌های مختلف کشور در سال زراعی ۸۹-۸۸

Fig. 1. The area under cucumber cultivation in greenhouse condition (hectare), in different provinces of Iran (2009-2010)



شکل ۲- نمودار تولید (تن) خیار گلخانه ای در استان‌های مختلف کشور در سال زراعی ۸۹-۸۸

Fig. 2. Cucumber production (tone) in greenhouse condition, in different provinces of Iran (2009-2010)

www.SID.ir

Archive of SID

روش بررسی

نمونه برداری: در طی سال‌های ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰، تعداد ۲۱۹ نمونه برگ خیار با نشانه‌هایی شبیه به آلودگی‌های ویروسی از قبیل موزائیک، زردی، شکنندگی، تردی، بد شکلی، تاولی شدن برگ‌ها، رگبرگ زردی و کوتولگی بوته‌ها (شکل ۳ تا ۵)، از برخی از گلخانه‌های خیار در استان تهران (۱۷۰ نمونه از ۱۰ منطقه: فرقلعه، حبیب آباد، طارند، جواد آباد، شعیب آباد، قاسم آباد، شریف آباد، آلوئک، کلین و عبدل آباد) و استان البرز (۴۹ نمونه از ۲ منطقه: چهارباغ و هشتگرد) جمع آوری گردید. مشخصات هر نمونه از قبیل نشانه‌های مشاهده شده، محل و تاریخ جمع‌آوری یادداشت و سپس نمونه‌های مورد نظر در شرایط دمای ۴°C تا هنگام انجام آزمایش‌های مربوطه نگهداری شدند.

تعیین آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده با استفاده از آزمون سرولوژیکی الایزا (Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay, DAS-ELISA):

آلودگی نمونه‌های برگ خیار جمع آوری شده (۲۱۹ نمونه) به ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، ویروس موزائیک هندوانه (WMV)، ویروس نقطه زرد کدو (*Zucchini yellow fleck virus* , ZYFV)، ویروس موزائیک کدو (*Squash mosaic virus*, SqMV)، ویروس زردی شته‌زاد کدوئیان (CABYV)، ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (*Cucurbit yellow stunting disorder virus,*CYSDV)، ویروس لکه حلقوی خربزه درختی (*Papaya ring-spot virus,* PRSV) و ویروس ارومیه خربزه (*Ourmia melon virus*, OuMV) از طریق آزمون سرولوژیکی الایزا (DAS-ELISA) (Clark and Adams, 1977) و استفاده از آنتی بادی‌های چند همسانه‌ای اختصاصی هر ویروس (اهدایی توسط دکتر هروه لکوک، فرانسه) مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاه سالم به عنوان شاهد منفی و از نمونه آلوده به ویروس به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. میزان جذب نور هر کدام از نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه (Microplate reader) مدل (Labsystems Multiskan MCC/340)، قرائت و ثبت گردید. نمونه‌های دارای جذب بیش از ۳ برابر متوسط میزان جذب گیاه سالم (شاهد منفی)، آلوده ارزیابی گردیدند.

شکل ۳- نشانه‌های زردی و تردی در برگ خیار گلخانه‌ای

Fig. 3. Yellowing and thickening symptoms on cucumber leaves in greenhouses

شکل ۴- نشانه‌های بد شکلی میوه در گلخانه‌های خیار

Fig. 4. Fruit malformation symptoms on cucumber in greenhouses

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۵- نشانه‌های بدشکلی و پیچیدگی برگ خیار گلخانه‌ای

Fig. 5. Malformation and leaf curling symptoms on cucumber leaves in greenhouses

تعیین آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به طریق نسخه برداری وارونه (reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR): آلودگی برخی از نمونه‌های دارای واکنش مثبت در آزمون سرولوژیکی الایزا از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز به طریق نسخه برداری وارونه (RT-PCR) و استفاده از آغاز گرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفت (جدول یک).

استخراج آر.ان. ای کل گیاهی (Total RNA): استخراج آر.ان.ای کل گیاهی با استفاده از محلول تجاری (TRI-Reagent) (Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) بر اساس روش توصیه شده توسط شرکت سازنده و همراه با ارائه برخی تغییرات به شرح زیر انجام گرفت:

۱- عصاره‌گیری: نیم تا یک گرم بافت برگ از نمونه‌های جمع آوری شده در ۵۰۰ تا ۷۰۰ میکرولیتر از محلول (TRI-Reagent) درهاون استریل (نگهداری شده در شرایط چهار درجه سلسیوس).

۲- انتقال عصاره‌های بدست آمده به داخل میکرو تیوب‌های استریل و نگهداری به مدت ده دقیقه در شرایط دمای اتاق.

۳- افزودن کلروفرم به هر کدام از تیوب‌ها (هم حجم) و سپس نگهداری در شرایط دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه.

۴- میان گریز در دمای چهار درجه سلسیوس با سرعت سیزده هزار دور در دقیقه به مدت پانزده دقیقه.

۵- انتقال فاز رونشین بدست آمده به تیوب‌های جدید.

۶- افزودن ایزوپروپانول (هم حجم) و نگهداری به مدت ۲-۱ ساعت در دمای منفی بیست درجه سلسیوس.

۷- میان گریز تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس با سرعت ۱۳ هزار دور در دقیقه .

۸- حذف رونشین و شستشوی رسوب بدست آمده با اتانول ۷۵ درصد.

۹- میان گریز به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه.

۱۰- حذف رونشین تا حد امکان و نگهداری تیوب‌ها در دمای اتاق (در زیر هود) به مدت ده دقیقه.

۱۱- افزودن ۳۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر به هر کدام از تیوب‌های حاوی رسوب، پس از اطمینان از خشک شدن نسبی رسوب‌های بدست آمده.

۱۲- نگهداری تیوب‌ها تا حل شدن کامل رسوب‌ها در دمای ٤ درجه سلسیوس و سپس نگهداری در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس (تا هنگام استفاده).

واکنش ساخت DNA مکمل (Complement-DNA, C-DNA): برای واکنش ترانویسی معکوس (reverse transcription) از آنزیم Fermentas (Melony Murine Leukemia Virus reverse transcriptase, M-MuLV) استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش RT: ابتدا مخلوط حاوی چهار میکرولیتر از آر. ان.ای استخراج شده، دو میکرولیتر مخلوط dNTPs ده میلی‌مولار و یک میکرولیتر آغازگر (reverse) (جدول ۱) به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس دو میکرولیتر بافر ۵ برابر (reaction buffer 5X)، یک میکرولیتر از آنزیم (M-MuLV) دویست واحد در میکرولیتر به مخلوط فوق اضافه و حجم آن با استفاده از آب مقطر دو بار تقطیر سترون به بیست میکرولیتر رسانده و به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس نگهداری شد.

cDNA بدست آمده از واکنش RT با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (polymerase chain reaction, PCR) تکثیر شد. مخلوط واکنش PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر (10X)، یک میکرولیتر MgCl2 ۵۰ میلی‌مولار، نیم میکرولیتر dNTPs ده میلی‌مولار، یک میکرولیتر از هر کدام آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق (جدول ۱)، نیم میکرولیتر از آنزیم (Taq DNA polymerase, 5U/µl) و ۲/۵ میکرولیتر cDNA بود که با افزودن آب مقطر دو بار تقطیر سترون حجم آن به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد.

تعیین استرین ویروس زردی شته زاد کدوئیان: با هدف تعیین استرین جدایه‌های ایرانی ویروس زردی شته زاد کدوئیان، نمونه‌های دارای واکنش مثبت در آزمون سورلوژیکی الایزا (DAS-ELISA) و (RT-PCR)، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای دو استرین C و R (Knierim *et al*. 2010) بررسی شد (جدول ۱).

تعیین آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها (Whitefly transmitted geminiviruses, WTGs) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR: تعیین آلودگی احتمالی برخی از نمونه‌های جمع آوری شده با نشانه‌های شبیه به آلودگی به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها (WTGs)، با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی (Rojas *et al*. 1993) (جدول ۲) و استخراج DNA مطابق روش (Bendahmane *et al*. 1995) انجام گردید.

نتیجه و بحث

آزمون سرولوژیکی الایزا (DAS-ELISA) و تعیین پراکنش: در این تحقیق آلودگی برخی از گلخانه‌های خیار در دو استان تهران و البرز به ویروس‌های مهم و شایع آلوده کننده کدوئیان از طریق آزمون سرولوژیکی الایزا (DAS-ELISA) بررسی شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق

Table. 1. List of primer used in this study

Primer	Sequence	Size (bp)	Ref.
ZYMV	5'-GGTTCATGTCCCACCAAGC-3' 5'-ATGTCGAGTATCACATTTCC-3'	550	Desbiez *et al*., 1996
WMV	5'-GAGACCTCAATGCATCAGGAG-3' 5'-GCCTGCTGTTCATACTTACC -3'.	570	Glasa *et al*., 2011
CABYV	5'-CGCGTGGTTGTGGTCAACCC-3' 5'-CCYGCAACCGAGGAAGATCC-3'	480	Guilley *et al*., 1994
CYSDV	5'-CATTCCTACCTGTTTAGCCA-3′ 5′-ATCCTTCGCAGTGAAAAACC-3′	460	Hamed *et al*., 2011
CABYV Strain-C	5'-GAYGGAACATTATTAGCGCAGAGA-3' 5'-AATCTATTGTKTGGACTCTTDGTAACGA-3'	530	Knierim *et al*., 2010
CABYV Strain-R	5'-ACCTAGCGAAATACGCTGAGCTA-3' 5'-AATCTATTGTKTGGACTCTTDGTAACGA-3'	370	Knierim *et al*., 2010

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج بدست آمده از آزمون سرولوژیکی الایزا نشانگر آلودگی ۱۱۱ نمونه جمع آوری شده از مجموع ۲۱۹ نمونه از دو استان تهران و البرز حداقل به یکی از ویروس‌های WMV، CABYV، CYSDV، OuMV، PRSV، ZYFV، ZYMV و SqMV بود. بیشترین میزان آلودگی مربوط به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) (۳۴ نمونه) و کمترین میزان آلودگی مربوط به ویروس موزائیک کدو (SqMV)، ویروس لکه حلقوی خربزه (PRSV) و ویروس ارومیه خربزه (OuMV) بود(جدول ۳).

استان تهران: نتایج بدست آمده از آزمون سرولوژیکی الایزا برای نمونه‌های جمع آوری شده از گلخانه‌های استان تهران (۱۷۰ نمونه، ورامین: ۱۰ منطقه: فرقلعه، حبیب آباد، طارند، جواد آباد، شعیب آباد، قاسم آباد، شریف آباد، آلوئک، کلین و عبدل آباد) نشانگر آلودگی برخی از نمونه‌های جمع آوری شده به ویروس‌های آلوده کدوئیان از قبیل ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV)، ویروس موزائیک هندوانه (WMV)، ویروس موزائیک کدو (SqMV)، ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، ویروس نقطه زرد کدو (ZYFV)، ویروس کوتولگی زردی کدوئیان (CYSDV)، ویروس ارومیه خربزه (OuMV) و ویروس لکه حلقوی خربزه (PRSV) بود. نتایج بدست آمده نشانگر پراکنش ویروس‌های فوق در تمام مناطق مورد بررسی در استان تهران بود (جدول ۳).

استان البرز: نتایج بدست آمده از آزمون سرولوژیکی الایزا برای نمونه‌های جمع آوری شده از گلخانه‌های استان البرز نشانگر آلودگی به ویروس‌های CYSDV، ZYFV، ZYMV، WMV و CABYV بود. آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده از استان البرز به ویروس‌های SqMV، PRSV و OuMV منفی ارزیابی گردید (جدول ۳).

جدول ۲- جفت آغازگر مورد استفاده در PCR نمونه‌های مشکوک به آلودگی به WTGs

Table 2. Primer used in this study to test the suspected cucumber leaf samples to whitefly transmitted geminiviruses (WTGs) infection

Primer	Sequence	Amplicon size	Ref.
PAL1v1978	5-GCATCTGCAGGCCCACATYGTCTTYCCNGT-3	1.1 kb	(Rogas *et al*. 1993)
PAR1c496	5-AATACTGCAGGGCTTYCTRTACATRGG-3		

جدول ۳- وضعیت میزان آلودگی و پراکنش جغرافیایی ویروس‌های مورد بررسی در گلخانه‌های خیار تهران و البرز

Table 3. Number of infected samples and geographical distribution of viral infections in cucumber greenhouses in Tehran and Alborz provinces

Virus name	Number of infected sample	Geographical distribution
CABYV	34	Tehran+Alborz
WMV	19	Tehran+Alborz
ZYFV	17	Tehran+Alborz
CYSDV	14	Tehran+Alborz
ZYMV	13	Tehran+Alborz
OuMV	5	Tehran
PRSV	5	Tehran
SqMV	4	Tehran
Total	**111**	

www.SID.ir

Archive of SID

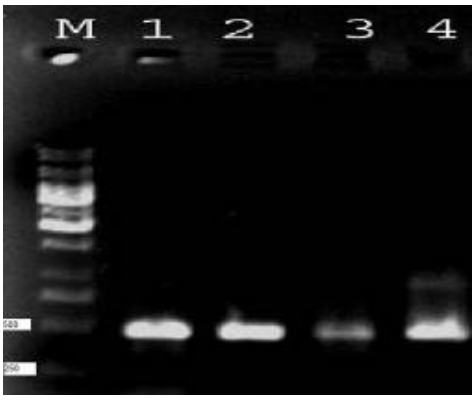
آلودگی‌های مخلوط (Mixed infections): نتایج بدست آمده نشانگر آلودگی مخلوط ۲۱ نمونه از ۱۱۱ نمونه آلوده به بیش از یک ویروس بود. بیشترین میزان آلودگی به ترتیب مربوط به آلودگی‌های دو گانه (۱۰ نمونه از ۲۱ نمونه) و سه گانه (۷ نمونه از ۲۱ نمونه) بود. ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) از اجزای اصلی آلودگی‌های دو و سه گانه بود. کمترین میزان آلودگی مربوط به آلودگی‌های ۴ و ۵ گانه بود(دو نمونه).

آزمون RT-PCR

ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV): آلودگی برخی از نمونه‌های دارای واکنش مثبت در آزمون سرولوژیکی (DAS-ELISA) به ویروس زردی شته زاد کدوئیان با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای ناحیه‌ای از ژن پروتئین پوششی (CABYV) و انجام RT-PCR بررسی شد.

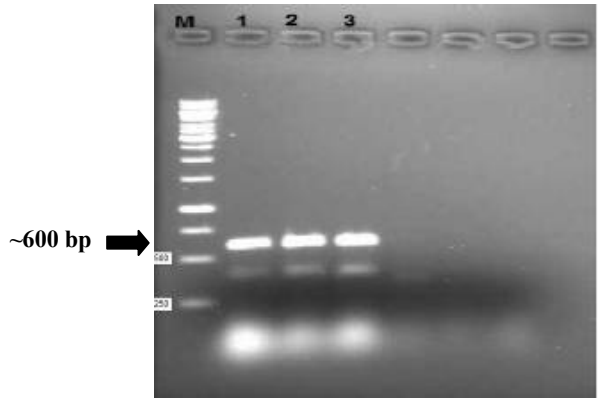
الکتروفورز محصول PCR نشانگر ازدیاد قطعه‌ای با اندازه حدود ۴۸۰ جفت باز (bp) مشابه با نمونه شاهد مثبت بود و نتایج به دست آمده از DAS-ELISA مبنی بر آلودگی برخی از نمونه‌ها به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) تائید گردید (شکل ۶).

ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV): نتایج DAS-ELISA نشانگر آلودگی برخی از نمونه‌ها به ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) بود. برخی از نمونه‌های آلوده به ZYMV بر اساس نتایج آزمون الایزا، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای ناحیه‌ای از ژن پروتئین پوششی (ZYMV) (Desbiez *et al*. 1996) و انجام (RT-PCR) بررسی شد. الکتروفورز محصول (PCR) نشانگر ازدیاد قطعه‌ای با اندازه حدود ۶۰۰ جفت باز مشابه با نمونه شاهد مثبت بود و نتایج به دست آمده از (DAS-ELISA) مبنی بر آلودگی برخی از نمونه‌ها به ویروس موزائیک زرد کدو تائید گردید (شکل ۷).



شکل ۶- الکتروفورز محصول (RT-PCR) در ژل آگاروز ۱٪؛ سمت چپ: مارکر DNA با فواصل ۲۵۰ جفت باز (GeneRuler,1Kb, Fermentas). راهک ۱: نمونه شاهد مثبت: جدایه فرانسوی (N) ویروس زردی شته زاد کدوئیان.(CABYV) و راهک‌های شماره ۲ ،۳ و ۴: نمونه‌های برگ خیار گلخانه‌ای آلوده به (CABYV). قطعه‌ای به اندازه حدود ۴۸۰ جفت باز تکثیر شده است.

Fig. 6. RT-PCR product electrophoresis on agarose gel 1%. Left to right: Lane M) DNA marker. Lane 1. Positive control, French isolate (N) of CABYV, Lane 2-4 CABYV infected cucumber samples from greenhouses. A ~ 480bp fragment was amplified in RT-PCR reaction.



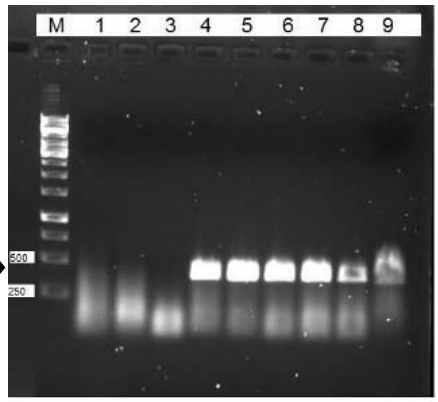
شکل ۷- الکتروفورز محصول (RT-PCR) در ژل آگاروز ۱٪ ؛ سمت چپ: مارکر DNA . با فواصل ۲۵۰ جفت باز (GeneRuler,1Kb, Fermentas)؛ راهک ۱: نمونه شاهد مثبت: جدایه گرگان ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) و راهک‌های شماره ۲ و۳ نمونه‌های برگ خیار گلخانه‌ای آلوده به (ZYMV). قطعه‌ای به اندازه حدود ۶۰۰ جفت باز تکثیر شده است.

Fig. 7. RT-PCR product electrophoresis on agarose gel 1%. Left to right: Lane M) DNA marker, Lane 2) Positive control, Gorgan isolate (N) of ZYMV, Lane 2-3 ZYMV infected cucumber samples from greenhouses. A ~600bp fragment was amplified in RT-PCR reaction.

www.SID.ir

Archive of SID

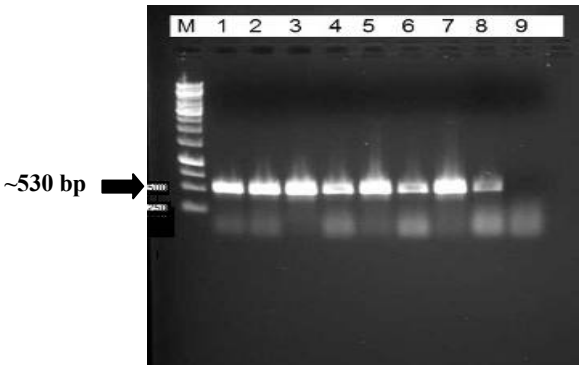
ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV): نتایج (DAS-ELISA) نشانگر آلودگی برخی از نمونه‌ها به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) بود. نمونه‌های آلوده به (CYSDV) بر اساس نتایج آزمون الایزا با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (CYSDV-F, R) (جدول یک) برای ناحیه‌ای از ژن HSP70 (Hamed *et al*. 2011) و انجام RT-PCR بررسی شد. الکتروفورز محصول (PCR) نشانگر ازدیاد قطعه‌ای با اندازه حدود ۴۶۰ جفت باز بود (شکل ۸).



شکل ۸- الکتروفورز محصول (RT-PCR) در ژل آگاروز ۱٪ ؛ سمت چپ : مارکرDNA .با فواصل ۲۵۰ جفت باز (GeneRuler,1Kb, Fermentas)؛ راهک‌های ۱ تا ۹ : نمونه‌های مشکوک به آلودگی به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) . قطعه ای به اندازه ۴۶۰ جفت باز تکثیر شده است.

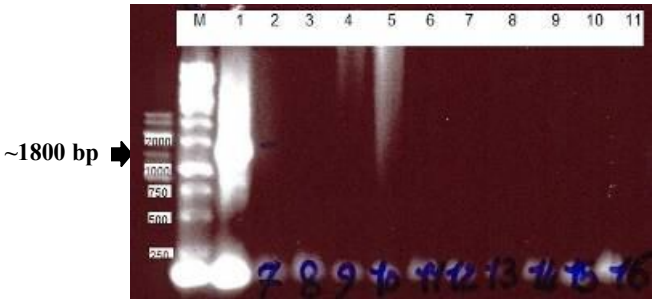
Fig. 8. RT-PCR product electrophoresis on agarose gel 1%. Left to right: Lane M) DNA marker, Lane 1-9 CYSDV suspected cucumber leaf samples from greenhouses in Iran. A~ 460bp fragment was amplified in RT-PCR reaction.

تعیین استرین جدایه‌های ایرانی ویروس زردی شته‌زاد کدوئیان (CABYV): در این تحقیق، برخی از نمونه‌های آلوده به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای دو استرین C و R (Knierim *et al*. 2010) و از طریق انجام RT-PCR مورد بررسی قرار گرفتند. الکتروفورز محصول RT-PCR، نشانگر ازدیاد قطعه‌ای با اندازه تقریبی ۵۳۰ جفت باز بود (شکل ۹). نتایج فوق نشانگر وجود آلودگی به استرین C ویروس زردی شته‌زاد کدوئیان در گلخانه‌های خیار استان‌های تهران و البرز بود. آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده به استرین R منفی ارزیابی گردید.



شکل ۹- الکتروفورز محصول (RT-PCR) در ژل آگاروز ۱٪ ؛ سمت چپ : مارکرDNA .با فواصل ۲۵۰ جفت باز(GeneRuler, 1Kb, Fermentas)؛ راهک‌های ۱ تا ۹ : نمونه‌های برگ خیار گلخانه ای آلوده به استرین (C) ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) . قطعه ای به اندازه ۵۳۰ جفت باز تکثیر شده است.

Fig. 9. RT-PCR product electrophoresis on agarose gel 1%. Left to right: Lane M) DNA marker, Lane 1-9 CABYV(strain C) infected cucumber leaf samples from greenhouses in Iran. A~ 530bp fragment was amplified in RT-PCR reaction.



شکل ۱۰- الکتروفورز محصول (PCR) در ژل آگاروز ۱٪ ؛ سمت چپ M : مارکرDNA .با فواصل ۲۵۰ جفت باز (GeneRuler, 1Kb, Fermentas)؛ راهک ۱: شاهد مثبت: نمونه برگ هندوانه آلوده به ویروس کوتولگی سبزرد هندوانه (*Watermelon chlorotic stunt virus*, WmCSV)؛ راهک‌های ۲ تا ۱۱ : نمونه‌های برگ خیار گلخانه‌ای مشکوک به آلودگی به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها **(WTGs)** . قطعه‌ای تکثیر نشده است.

Fig. 10. PCR product electrophoresis on agarose gel 1%. Left to right: Lane M) DNA marker, Lane 1: watermelon leaf sample infected with WmCSV (positive control), Lane 2-11: suspected cucumber leaf samples to whitefly transmitted geminiviruses (WTGs) infection from greenhouses in Iran. No fragment was amplified in PCR reaction.

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با مگس سفید (WTGs):

علیرغم وجود جمعیت‌های زیادی از سفیدبالک‌ها در بسیاری از گلخانه‌ها، عدم آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها (WTGs) از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی به اثبات رسید (شکل ۱۰).

نشانه‌های موزائیک و زردی از اوایل دهه هشتاد میلادی تا کنون در بسیاری از مزارع کدوئیان در دنیا مشاهده گردیده است. در چند دهه اخیر، تعداد زیادی از ویروس‌های قابل انتقال با شته‌ها و سفید بالک‌ها از مزارع و گلخانه‌های کدوئیان گزارش شده‌اند که غالباً منجر به بروز نشانه‌های موزائیک و یا زردی در سطح وسیعی از مزارع کدوئیان گردیده‌اند. زردی کدوئیان از نشانه‌های شایع در بسیاری از مناطق عمده کشت کدوئیان در نقاط مختلف جهان می‌باشد. وجود آلودگی‌ها به صورت لکه‌ای و با فاصله از یکدیگر، وجود نشانه‌های زردی علیرغم استفاده از کودهای شیمیایی و وجود جمعیت‌های زیادی از سفید بالک‌ها و شته‌ها، دخالت ویروس‌ها در بروز نشانه‌های فوق را مطرح می‌نماید (Wisler *et al*. 1998). در سال‌های اخیر و هم زمان با توسعه و گسترش سریع کشت خیار گلخانه‌ای در ایران، نشانه‌های زردی و موزائیک در بسیاری از گلخانه‌های خیار کشور نیز قابل مشاهده می‌باشد. نشانه‌های موزائیک، زردی و ترد شدن برگ‌های میانی و پائینی بوته‌های خیار از شایع‌ترین نشانه‌ها در شرایط گلخانه و یا مزرعه در ایران می‌باشند.

تا قبل از انجام این تحقیق، ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، ویروس موزائیک هندوانه (WMV)، ویروس موزائیک خیار (CMV)، ویروس لکه پژمردگی گوجه فرنگی (TSWV) و ویروس پالامپور پیچیدگی برگ گوجه فرنگی (ToLCPMV) از گلخانه‌های خیار در ایران گزارش شده‌اند (Shaabanian *et al*. 2004; Samei *et al*. 2004; Massumi *et al*. 2007; Hessari *et al*. 2010). بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، وجود آلودگی به ویروس‌هایی از قبیل ZYMV، WMV، CABYV، PRSV، OuMV، CYSDV، SqMV و ZYFV در برخی از گلخانه‌های خیار در استان‌های تهران و البرز به اثبات رسیده است. این اولین گزارش از وجود آلودگی به ویروس‌های CABYV، CYSDV، ZYFV، SqMV، OuMV و PRSV در گلخانه‌های خیار در ایران می‌باشد. نتایج به دست آمده نشانگر آلودگی ۵۱ درصد نمونه‌های جمع‌آوری شده به ویروس‌های CABYV، WMV، ZYMV، ZYFV، SqMV، CYSDV، OuMV و PRSV می‌باشد. بیشترین میزان آلودگی مربوط به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) بود و در عین حال در اکثر مناطق مورد بررسی نیز ردیابی گردید (جدول ۳). بیشترین میزان آلودگی در مناطق چهار باغ (استان البرز)، آلوئک، عبدل آباد و کلین در ورامین مشاهده گردید. نتایج بدست آمده از آزمون سرولوژیکی الایزا (DAS-ELISA) نشانگر آلودگی مخلوط ۱۹ درصد نمونه‌ها به بیش از یک ویروس بود. زردی کدوئیان یکی از نشانه‌های شایع در بسیاری از مزارع و گلخانه‌های کدوئیان در دنیا و ایران می‌باشد. تا کنون ویروس‌های متعددی از جنس و گونه‌های مختلف ویروس‌های گیاهی همراه و یا دخیل در بروز نشانه‌های زردی کدوئیان از نقاط مختلف دنیا گزارش شده‌اند (Wisler *et al*. 1998). ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) یکی از ویروس‌های مهم و دخیل در عارضه زردی کدوئیان و از اعضای جنس پولروویروس (*Polerovirus*) در تیره لوتئوویریده (*Luteoviridae*) می‌باشد (Prufer *et al*. 1995; Mayo and D' Arcy, 1999). آلودگی‌های ابتدای فصل به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) در مزارع خیار و خربزه در فرانسه منجر به کاهش میزان محصول به ترتیب به میزان ۵۰ و ۴۰ درصد شده است (Dogimont *et al*. 1996). شته سیاه باقلا (*Aphis gossypii*) و شته سبز هلو (*Myzus persicae*) دو گونه شته ناقل ویروس زردی شته زاد کدوئیان (پایا- چرخشی) در شرایط مزرعه و آزمایشگاه می‌باشند (Lecoq *et al*. 1992). ویروس زردی شته زاد کدوئیان

www.SID.ir

Archive of SID

(CABYV) از نقاط مختلف دنیا از قبیل ایالات متحده آمریکا (Lemaire *et al*. 1993)، اسپانیا (Juarez *et al*. 2004)، یونان (Boubourakas *et al*. 2006)، ایتالیا (Tomassoli and Meneghini, 2007)، تونس (Mnari-Hattab *et al*. 2005)، مصر (Omar and Bagdady, 2012) چین (Xiang *et al*. 2008)، لبنان (Abou-Jawdah *et al*. 1997)، ترکیه (Yardimici and Ozgonen, 2007) و ایران (Bananej *et al*. 2006) گزارش شده است. ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) از مزارع خیار، کدو، خربزه و هندوانه در ۱۷ استان کشور: تهران، مرکزی، سمنان، خراسان، اصفهان، کرمان، مازندران، گلستان، آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، یزد، فارس، هرمزگان، سیستان و بلوچستان، کردستان، همدان و خوزستان گزارش شده است (Bananej and Vahdat, 2008). بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) از ویروس‌های شایع و همراه با نشانه‌های زردی در گلخانه‌های خیار در استان‌های تهران و البرز می‌باشد و در اکثر مناطق مورد بررسی ردیابی گردید. این اولین گزارش از وجود آلودگی به ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) به همراه نشانه‌های زردی در گلخانه‌های خیار در ایران می‌باشد. تا به حال استرین‌های (Common, C) و (Recombinant, R) ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) گزارش شده‌اند. استرین (R) ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) احتمالاً ناشی از وقوع نوترکیبی در ناحیه‌ای از ژنوم (Intergenic Region) بین استرین (C) ویروس زردی شته زاد کدوئیان و ویروس زردی شته زاد خربزه (*Melon aphid-borne yellows virus*, MABYV) حاصل شده است (Knierim *et al*. 2010). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشانگر وجود استرین (C) و عدم وجود استرین (R) در گلخانه‌های خیار مورد بررسی در این تحقیق بود. این اولین گزارش از وجود استرین (C) ویروس زردی شته زاد کدوئیان (CABYV) در ایران می‌باشد.

ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) به عنوان یکی دیگر از ویروس‌های مهم و دخیل در عارضه زردی کدوئیان از اعضای جنس (*Crinivirus*)، تیره کلاسترووریده (*Closteroviridae*) است که از نقاط مختلف دنیا گزارش شده است (Wisler *et al*. 1998). ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) اولین بار از امارات متحده عربی در سال ۱۹۸۲ میلادی گزارش (Hassan and Duffus, 1991) و از طریق سفید بالک (*Bemisia tabaci*) انتقال می‌یابد. در سال‌های اخیر از بسیاری از نقاط دنیا از قبیل مصر، فلسطین اشغالی، اردن، اسپانیا و ترکیه (Sese *et al*. 1994; Wisler *et al*. 1998; Cohen and Ben-Joseph, 2000; Sinclair and Crosby 2002)، پرتقال (Louro *et al*. 2000)، مراکش (Desbiez *et al*. 2000) و لبنان (Abou-Jawdah *et al*. 2000b) گزارش شده است. ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) اولین بار از مزارع خربزه استان بوشهر گزارش شده است (Keshavarz and Izadpanah, 2004). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشانگر وجود آلودگی به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) در برخی از گلخانه‌های خیار در استان‌های تهران و البرز بود. این اولین گزارش از آلودگی به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان در گلخانه‌های خیار در ایران می‌باشد. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق می توان فرضیه وجود آلودگی به ویروس کوتولگی زرد کدوئیان قبل از گزارش از استان جنوبی ایران (بوشهر) (Keshavarz and Izadpanah, 2004) و یا احتمال انتقال آلودگی از نواحی جنوبی به مناطق شمالی ایران از طریق نشاهای آلوده و یا انتقال سفید بالک‌های آلوده به همراه محصولات کدوئیان از مناطق جنوبی خصوصاً در نیمه دوم سال را مطرح نمود. با توجه به موارد فوق، رعایت مقررات قرنطینه داخلی توسط سازمان‌های اجرایی مسئول بیش از پیش ضروری می‌باشد.

در میان ویروس‌های همراه و یا دخیل در عارضه زردی کدوئیان، ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌ها (WTGs) نیز از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند. کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

میـزان محصول در اثر آلـودگی به ویروس‌های دوقلو قـابـل انتـقال با سفیـد بـالک‌هـا بـین ۲۰ تـا ۱۰۰ درصـد بـرآورد گردیـده اسـت (Brown and Bird, 1992). علیـرغم آلـودگی مزارع گـوجه فرنگی ورامین به ویروس پیچیـدگی بـرگ زرد گـوجـه فرنگـی (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) (Shahriary and Bananej 1997) و آلودگی برخی از گلخانه‌های خیار در استان یزد (تفت) به ویروس پالامپور پیچیدگی بـرگ گوجه فرنگی (ToLCPV) (Hessari *et al*. 2010)، نتایج بدسـت آمده از این تحقیق نشانگـر عـدم آلودگـی نمونـه‌هـای جمـع آوری شده به ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بالک‌هـا (WTGs) بـود. نتـایج فـوق مـی‌توانـد نشـانگر عـدم انتشـار ویروس‌های دوقلو قابل انتقال با سفید بـالک‌هـا (WTGs) بـه گلخانه‌های خیار مورد بررسی در این تحقیق باشد.

ویروس زردی شـته زاد کـدوئیان (CABYV) و ویـروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) از مهم‌تـرین ویـروس‌هـای دخیـل در عارضـه زردی کـدوئیان در نقـاط مختلـف دنیـا می‌باشند. در چند سال اخیر و هم زمان با توسعه و گسـترش کشت خیار گلخانه‌ای در بسیاری از مناطق کشور و همچنـین شیوع نشانه‌های زردی در مزارع کدوئیان و گلخانه‌های خیـار در ایران، نتایج بدست آمده از این تحقیـق مـی‌توانـد نشـانگر نقش ویروس زردی شته زاد کـدوئیان (CABYV) و ویـروس کوتولگی زرد کدوئیان (CYSDV) در نشانه‌های زردی مشاهده شده در گلخانه‌های خیار باشد. البته نباید این نکتـه را نادیـده انگاشت که تعدادی از نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیـق علیرغم دارا بـودن نشـانه‌هـای زردی شـبیه بـه آلـودگی‌هـای ویروسی، از نظر آلودگی به ویروس زردی شـته زاد کـدوئیان (CABYV) و ویـروس کوتـولگی کـدوئیان (CYSDV) منفـی ارزیابی گردیدند که این موضـوع مـی‌توانـد نشـانگر آلـودگی احتمالی نمونه‌های مذکور به سایر ویروس‌هـای همـراه و یـا دخیل در عارضه زردی کدوئیان باشد.

References

ABOU-JAWDAH, Y., H. SOBH and A. FAYYAD, 1997. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows luteovirus* in Lebanon. Plant Disease, 81: 1331.

ABOU-JAWDAH, Y., H. SOBH, S. EL-ZAMMAR, A. FAYAD and H. LECOQ, 2000a. Incidence and management of virus diseases of cucurbits in Lebanon. Crop Protection, 19: 217-224.

ABOU-JAWDAH, Y., H. SOBH, A. FAYAD, H. LECOQ, B. DELÉCOLLE and J. TRAD-FERRÉ, 2000b. *Cucurbit yellow stunting disorder virus*: A new threat to cucurbits in Lebanon. Journal of Plant Pathology, 82: 55-60.

ANONYMOUS, 1996. FAO Production Yearbook, Vol. 50. FAO Statistics series No. 135. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

ANONYMOUS, 2009. Agricultural statistics yearbook. Ministry of Jihad-E-Agriculture, Statistical and Information Technology Unit, Tehran, 137 pp. www.maj.ir

BANANEJ, K., C. DESBIEZ, C. WIPF-SCHEIBEL, I. VAHDAT, A. KHEYR-POUR, A. AHOONMANESH and H. LECOQ, 2006. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Iran causing yellows on four cucurbit crops. Plant Disease, 90: 426.

BANANEJ, K. and A. VAHDAT, 2008. Identification, distribution and incidence of viruses in field-grown cucurbit crops of Iran. Phytopathologia Mediterranea, 47: 247-257.

BENDAHMANE, M., H. J. SCHALK and B. GRONENBORN, 1995. Identification and characterization of *Wheat dwarf virus* from France using a rapid method for geminivirus DNA preparation. Phytopathology, 85: 1449–1455.

BOUBOURAKAS, I. N., A. D. AVGELIS, P. E. KYRIAKPOULOU and N. I. KATIS, 2006. Occurrence of yellowing viruses (*Beet pseudo-yellows virus*, *Cucurbit yellow stunting disorder virus and Cucurbit aphid-borne yellows virus*) affecting cucurbits in Greece. Plant Pathology, 55: 276-283.

www.SID.ir

Archive of SID

BROWN, J. K. and J. BIRD, 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. Plant Disease, 76: 220-225.

CLARK, M. F. and A. N. ADAMS, 1977. Characteristics of the microplate method of Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34: 475-83.

COHEN, S. and R. BEN-JOSEPH, 2000. The dynamics of viruses affecting cucurbits in Israel: 40 years since 1960. Acta Horticulture, 510: 321-325.

DESBIEZ, C, C. WIPF-SCHEIBEL, F. GRANIER, C. ROBAGLIA, T. DELAUNAY and H. LECOQ, 1996. Biological and molecular variability of *Zucchini yellow mosaic virus* in the island of Martinique. Plant Disease, 80: 203–207.

DESBIEZ, C., H. LECOQ, S. ABOULAMA and M. PETERSCHMITT, 2000. First report of *Cucurbit yellow stunting disorder virus* in Morocco. Plant Disease, 84: 596.

DOGIMONT, C., S. SLAMA, J. MARTIN, H. LECOQ and M. PITRAT, 1996. Sources of resistance to cucurbit aphid-borne yellows luteovirus in a melon germplasm collection. Plant Disease, 80: 1379-1382.

F.A.O. 2010. F. A. O. Statistical Databases. Published online.

GLASA, M., K. BANANEJ, L. PREDAJŇA and A. VAHDAT, 2011. Genetic diversity of *Watermelon mosaic virus* in Slovakia and Iran shows distinct pattern. Plant Disease, 95: 38-42.

GUILLEY, H., C. WIPF-SCHEIBEL, K. RICHARDS, H. LECOQ and G. JONARD, 1994. Nucleotide sequence of cucurbit aphid-borne yellows luteovirus. Virology 202: 1012–1017.

HAMED, K., M. MENZEL, G. DAFALLA, A. M. A. GADELSEED and S. WINTER, 2011. First Report of *Cucurbit chlorotic yellows virus* Infecting Muskmelon and Cucumber in Sudan. Plant Disease, Vol.95: 1321.

HASSAN A. A. and J. E. DUFFUS, 1991. A review of a yellowing and stunting disorder of cucurbits in the United Arab Emirates. Emirates Journal of Agricultural Sciences, 2: 1-16.

HESSARI, M., J. HEYDARNEJAD, N. KEYVANI, A. MOZAFFARI, H. MASSUMI and Z. LORI, 2010. New natural hosts and introduction of *Tomato leaf curl Palampur virus* to central Iran. Proceedings 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran, Iran, 675.

JUAREZ, M., V. TRUNIGER and M. A. ARANDA, 2004. First Report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Spain. Plant Disease, 88: 907.

KESHAVARZ, T. and K. IZADPANAH, 2004. Report of *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (Genus *Crinivirus*) in Iran. Proceeding of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Page 264, Tabriz-Iran.

KNIERIM, D., T. C. DENG, W. S. TSAI, S. K. GREEN and L. KENYON, 2010. Molecular identification of three distinct Polerovirus species and a recombinant *cucurbit aphid-borne yellows virus* strain infecting cucurbit crops in Taiwan. Plant Pathology, 59: 991-1002.

LECOQ, H., D. BOURDIN, C. WIPE-SCHEIBEL, M. BON, and H. LOT, 1992. A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus, *Cucurbit aphid-borne yellows virus*. Plant Pathology 41: 749–761.

LEMAIRE, O. J., W. D. GUBLER, J. VALENCIA, H. LECOQ and B. W. FALK, 1993. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows* luteovirus in the United States. Plant Disease, 77: 1169.

LOURO, D., M. VICENTE, M. A. M. VAIRA, G. P. ACCOTTO and G. NOLASCO, 2000. *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (Genus *Crinivirus*) Associated with the Yellowing Disease of Cucurbit Crops in Portugal. Plant Disease, 84: 1156.

MASSUMI, H., A. SAMEI, A. HOSSEINI POUR, M. SHABANIAN and H. RAHIMIAN, 2007. Occurrence, distribution, and relative incidence of seven viruses infecting greenhouse-grown cucurbits in Iran. Plant Disease, 91: 159-163.

MAYO, M. A. and C. J. D'ARCY, 1999. Family Luteoviridae: a reclassification of luteoviruses. In The

www.SID.ir

Archive of SID

Luteoviridae, pp. 15–22. Edited by H. G. Smith & H. Barker. Wallingford: CAB International.

MNARI-HATTAB, M., J. KUMMERT, S. ROUSSEL, K. EZZAIER, A. ZOUBA and M. H. JIJAKLI, 2005. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Tunisia causing yellows on five cucurbitaceous species. Plant Disease, 89: 776.

OMAR, A. and N. A. BAGDADY, 2012. *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Egypt. Phytoparasitica DOI 10.1007/s12600-011-0212-2

PROVVIDENTI R. 1996. Diseases caused by viruses. In: Compendium of Cucurbit Diseases. (T. A. Zitter, D. L. Hopkins, C. E. Thomas, ed.). American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA, 37-45.

PRUFER, D., C. WIPF-SCHEIBEL, K. RICHARDS, H. GUILLEY, H. LECOQ, and G. JONARD, 1995. Synthesis of a full-length infectious cDNA clone of cucurbit aphid-borne yellows virus and its use in gene exchange experiments with structural proteins from other luteoviruses. Virology, 214: 150–158.

ROJAS, M. R., R. L. GILBERTSON, D. R. RUSSEL and D. P. MAXWELL, 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. Plant Disease, 77: 340-347.

SAMEI, A., H. MASSUMI, A. HOSSEINI POUR and M. SHAABANIAN, 2004. Identification, distribution and incidence rate of some viruses infecting cucurbits in glasshouses in the north and north-east if Iran**.** Proceedings 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran**,** 263.

SESE, A. L, M. L. GOMEZ-GUILLAMON, and J. R. DIAZ-RUIZ, 1994. Appearance of a possible new melon yellowing disease in Spain. Cucurbit Genetics Coop. Rept, 17:72-73.

SHAABANIAN, M., H. MASSUMI, A. HEYDARNEJAD, A. HOSSEINI POUR and Z. AZAMI, 2004. Identification of cucumber infecting viruses in greenhouse and study of their wild natural hosts in Jiroft. Proceedings 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran, 259.

SHAHRIARY, D. and K. BANANEJ, 1997. Occurrence of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in tomato fields of Varamin. Appllied Entomology and Phytopathology, 65: 29.

SINCLAIR, J. W. and K. M. CROSBY, 2002. A Review of *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV) - a "New" Virus Affecting Melons in the Lower Rio Grande Valley. Subtropical Plant Science, 54: 54-58.

SWEISS, M., G. ANFOKA and Y. ABOU-JAWDAH, 2007. Molecular characterization of Jordanian isolates of *Cucurbit yellow stunting disorder virus*. Journal of Phytopathology, 155: 557-562.

TOMASSOLI, L. and M. MENEGHINI, 2007. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Italy. Plant Pathology 56: 720.

WISLER, G. C., J. E. DUFFUS, H. Y. LIU and R. H. LI, 1998. Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted closteroviruses. Plant Disease, 82: 270-280.

XIANG, H. Y., Q. X. SHANG, C. G. HAN, D. W. LI and J. L. YU, 2008. First report on the occurrence of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* on nine cucurbitaceous species in China. Plant Pathology, 57 (2), 390.

YARDIMICI, N. and H. OZGONEN, 2007. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* in Turkey. Australian Plant Disease Notes, 2: 59.

www.SID.ir