

## شناسایی ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان منطقه شیراز و حومه با استفاده از آزمون‌های سرولوژیک و مولکولی

زهرا ذوالانواری\*، ساسان قاسمی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه گیاه پزشکی، شیراز، ایران

علی پاک نیت

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، زرقان، فارس، ایران

### چکیده

به منظور بررسی و تعیین ویروس‌های خسارت‌زای مزارع کدوئیان در مزارع شیراز و حومه (کفترک، بابونک، تفیهان، داریون، بیدزرد، ظفرآباد، کوشک بیدک، صدرا و دوکوهک) ۵۷ نمونه از خانواده کدوئیان در تابستان سال ۱۳۹۱ جمع‌آوری گردید. برای تمامی نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از سه آنتی سرم محلی CMV، ZYMV و SqMV آزمون الایزای غیرمستقیم انجام گرفت. جهت تایید آزمون سرولوژیکی، بر روی تعدادی از نمونه‌ها آزمون مولکولی ترا نویسی معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (RT-PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوطه انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که مهم‌ترین ویروس‌های خسارت‌زا در این مناطق به ترتیب ویروس موزائیک خیار (CMV) با ۴۹/۱ درصد آلودگی، با علائم زردی و پیسه‌ای سبزرز، ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) با ۳۵/۱ درصد آلودگی با علائم پیسه‌ای سبز و بند کفشی و بد شکلی، ویروس موزائیک کدو (SqMV) با ۲۹/۸ درصد آلودگی که در نمونه طالبی آلوده به این ویروس تنها زردی در سطح برگ و نمونه کدو آلوده به این ویروس حالت پیسه‌ای در سطح برگ مشاهده شد. همچنین در برخی مکان‌ها، آلودگی همزمان به چند ویروس مشاهده گردید. ۹ نمونه دارای آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV با ۱۵/۸ درصد آلودگی که در آنها علائم پیسه‌ای، تاولی با تاول‌های بزرگ و بند کفشی و بد شکلی بسیار شدید برگ مشاهده شد. هفت نمونه دارای آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و ZYMV با ۱۲/۳ درصد آلودگی که علائم زردی، پیسه‌ای، بند کفشی و تاولی در نمونه‌های دارای آلودگی همزمان به این دو ویروس دیده شد. پنج نمونه دارای آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و SqMV با ۸/۷ درصد آلودگی که علائم آنبه صورت تاول‌های ریز سبزرز فراوان در سطح برگ بود. یک نمونه دارای آلودگی همزمان به دو ویروس ZYMV و SqMV با ۱/۷ درصد آلودگی بودند.

واژه های کلیدی: ویروس‌های کدوئیان، آلودگی همزمان

## مقدمه

بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های ویروسی از عوامل محدودکننده تولید کدوئیان در دنیا می‌باشند و خسارت ویروس‌های شته‌زاد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Ullman *et al.*, 1991). تاکنون بیش از ۳۵ ویروس در کدوئیان شناخته شده که تعدادی زیادی از آنها بیماری‌های مهمی را در کدوئیان ایجاد می‌کنند. بیماری‌های ویروسی هر ساله موجب خسارت شدیدی به کدوئیان می‌شوند (Provvidenti, 1996). استان فارس با سطح زیرکشت ۳۸۲۴۲ هکتار و با تولید ۱۳۲۴۶۱۰ تن محصولات جالیزی در سال ۱۳۹۱ بعد از استان‌های خراسان رضوی و کرمان در مقام سوم کشوری قرار داشته که از این میان سطح زیر کشت خیار مربوط به شهرستان شیراز و حومه (دهستان کفترک، دهستان قره باغ و دهستان دراک) در این سال در حدود ۷۰ هکتار، طالبی و گرمک ۱۰۰ هکتار، خربزه ۱۰ هکتار، کدو ۵۰ هکتار و مجموع سطح زیرکشت کدوئیان در این مناطق در حدود ۲۳۰ هکتار بوده است (Statistics letter of Fars agricultural bureau, 2012). ویروس موزائیک زرد کدو (*Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV*) از مهم‌ترین و خسارت‌زاترین ویروس‌های کدوئیان در سراسر دنیا می‌باشد (Lecoq *et al.*, 2001). این ویروس از نظر قدرت بیماری‌زایی و کاهش عملکرد در بین ویروس‌های کدوئیان بسیار مهم بوده، به نحوی که اگر بیماری در مراحل اولیه رشد گیاه رخ دهد، خسارت بسیار زیاد خواهد بود (Desbiez & lecoq, 1997). علائم بیماری ناشی از ویروس شامل موزائیک، کوتولگی شدید، بدشکلی و نخی شدن برگ‌ها، بدشکلی و تاوولی شدن میوه و نیز شکستگی رنگ برگ و میوه در بوته‌های آلوده می‌باشد. این بیماری از بیش از ۵۰ کشور دنیا گزارش شده است و خسارت زیادی به کشت محصولات از قبیل خیار، کدو، طالبی، خربزه و هندوانه وارد می‌کند (Desbiez & Lecoq, 1997).

ویروس موزائیک کدو (*Squash mosaic virus, SqMV*) و ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus, CMV*) از دیگر عوامل ویروسی حائز اهمیت در کدوئیان می‌باشند (Lovisolo, 1980). گزارش‌های موجود نشان می‌دهد که ویروس‌های غالب گونه‌های مختلف کدوئیان را دو ویروس *ZYMV* و *CMV* تشکیل می‌دهند (Rahimian & Izadpanah, 1978; Massumi *et al.*, 2007). پراکندگی ویروس‌های موزائیک خیار، موزائیک زرد کدو و موزائیک هندوانه در استان تهران تعیین و میزان وقوع آنها به ترتیب معادل ۲۵/۱، ۳۵/۶ و ۲۶/۱ درصد گزارش گردید. این در حالی است که آلودگی همزمان به هر سه ویروس در ۶/۴ درصد از نمونه‌ها تعیین شد (Hosseini Farhangi *et al.*, 2004). غلامعلی زاده و همکاران ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان را در استان گیلان ویروس‌های *ZYMV*، *CMV*، *Water melon mosaic virus, SqMV* و چند ویروس دیگر معرفی نمودند. میزان آلودگی‌های همزمان به این ویروس‌ها نسبتاً بالا بود (Gholamalizadeh *et al.*, 2008). فراوانی ویروس‌های

آلوده کننده کدوئیان در مزارع اطراف ارومیه شامل ویروس‌های موزائیک زرد کدو، موزائیک هندوانه موزائیک خیار، لکه حلقوی پایا و نقطه زرد کدو با روش سرولوژیکی (DAS-ELISA) تعیین شده است. در این بررسی ویروس موزائیک هندوانه به عنوان شایع ترین و ویروس‌های موزائیک زرد کدو، خربزه ارومیه، موزائیک خیار و ویروس لکه زرد کدو به ترتیب در رتبه بندی بعدی قرار گرفتند. در برخی نمونه‌ها آلودگی همزمان به دو یا چند ویروس دیده شد (Rastgou *et al.*, 2010). آلودگی به ZYMV و نیز آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و WMV-2 از منطقه کفترک توسط آذرفر و همکاران در سال ۱۳۹۱ گزارش شده است (Azarfar *et al.*, 2012). از آنجا که ویروس موزائیک زرد کدو، ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک کدو از مهمترین ویروس‌های کدوئیان در دنیا و ایران می باشند و از آنجا که در مورد آلودگی‌های همزمان به ویروس‌های مذکور در منطقه شیراز و حومه گزارشی وجود ندارد تحقیق حاضر زمینه مدیریت آنها را فراهم خواهد ساخت.

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری

نمونه‌های آلوده کدوئیان شامل کدو، خیار، طالبی و خربزه که دارای علائم موزائیک، بندکشی، تاولی و توته‌ای شدن برگ بودند، در تابستان سال ۱۳۹۱ از مزارع شیراز و حومه (کفترک، بابونک، تفیهان، بیدزرد، ظفرآباد، کوشک بیدک، داریان، صدرا و دوکوهک) به صورت تصادفی (از مزارع با آلودگی شدید ویروسی) در مناطق فوق جمع‌آوری گردیدند.

### آزمون الایزای غیر مستقیم

آلودگی نمونه‌های دارای علائم مربوط به سه ویروس موزائیک خیار، موزائیک زرد کدو و موزائیک کدو با آزمون الایزای غیر مستقیم بررسی شد. آنتی بادی‌های فوق به صورت محلی تهیه و توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس در اختیار قرار گرفتند. با توجه به اینکه سه ویروس فوق (CMV، ZYMV و SqMV) جزء ویروس‌های مهم کدوئیان در ایران و سایر نقاط جهان می باشند فقط از سه آنتی سرم CMV، ZYMV و SqMV استفاده گردید. آنتی بادی‌ها بر اساس رقت مورد توصیه (CMV با رقت ۱/۳۰۰ (حجم/حجم)، ZYMV با رقت ۱/۱۵۰۰ (حجم/حجم) و SqMV با رقت ۱/۱۰۰۰ (حجم/حجم)) مورد استفاده قرار گرفتند. آنتی بادی ضد خرگوش متصل به آنزیم (Antirabbit Ig G-E) را با رقت ۱/۲۵۰۰ (حجم/حجم) مورد مصرف قرار داد. آزمون الایزا با اصلاحاتی در روش کانورز و مارتین (۱۹۹۰) انجام پذیرفت.

**آزمون مولکولی RT-PCR**

از آنجایی که در آزمایشات سرولوژیک از آنتی سرم‌های محلی استفاده گردیده بود، جهت اطمینان بیشتر آزمون مولکولی ترانویسی معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام پذیرفت تا صحت‌ای بر نتایج آزمون سرولوژیک باشد. این آزمون بر روی تعدادی از نمونه‌ها انجام شد. بدین منظور آر ان ای نمونه‌های برگ‌گی به دو روش استخراج شد. در روش اول برای ZYMV و SqMV که در انتهای ۳' آر ان ای آنها ترادف تکرار شونده آدنین (پلی A) وجود دارد از کیت mRNA Capture ساخت شرکت Roche بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. در روش دوم برای CMV از روش استخراج آر ان ای کل بر اساس روش هابیلی و همکاران (۲۰۱۲) استفاده گردید. آر ان ای استخراج شده به روش اول در جدول یک آمده است.

**جدول ۱-** مواد استفاده شده در واکنش ترانویسی معکوس جهت استخراج آر ان ای با استفاده از کیت

**Table 1.** Material used in reverse transcription reaction by using mRNA Capture kit

Material components	Volume (μl)
dNTPs (10mM)	5
M-MuLV RT Buffer(10x)	5
Reverse Primer(10μM)	5
M-MuLV Reverse Transcriptase(200U/μl)	0.5-1
Deionized water	34-34.5

سپس ۵۰ میکرولیتر از مخلوط تهیه شده به لوله حاوی آر ان ای استخراج شده اضافه گردید. این واکنش به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۰، ۱۰ دقیقه در ۷۰ و ۱۰ دقیقه در چهار درجه سلسیوس انجام شد.

**واکنش ترانویسی معکوس با استفاده از آر ان ای کل**

در این روش از آنزیم M-MuLV (سینازن) مطابق روش پیشنهادی شرکت سازنده استفاده گردید. ۱۰/۵ میکرولیتر آر ان ای کل با دو میکرولیتر آغازگر معکوس ویروس مخلوط شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای درجه سلسیوس قرار داده شد. در این واکنش از آغازگرهای معکوس هر ویروس (جدول ۲) استفاده شد. به مخلوط فوق ۲ میکرو لیتر dNTPs (10mM)، ۲ میکرو لیتر M-MuLV RT Buffer (10x)، ۱ میکرو لیتر M-MuLV (200U/μl) Reverse Transcriptase و ۱۵ میکرو لیتر Dionozed water اضافه گردید. پس از آن ۲۰ میکرو لیتر مخلوط فوق به ۱۲/۵ میکرو لیتر آر ان ای کل اضافه شده یک ساعت در دمای ۴۲، ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ و ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد.

**آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)**

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مطابق چرخه دمایی ۴ درجه سلسیوس جهت واشرسته کردن

اولیه، چهل سیکل شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۴ درجه سلسیوس، ۴۵ ثانیه دمای تافتن (مطابق جدول ۲ برای هر جفت آغازگر) و یک دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس جهت بسط نهایی در نظر گرفته شد.

**جدول ۲-** ترادف آغازگرهای استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلیمرز

**Table 2 . Primers used in polymerase chain reaction**

Primer	Sequence	Annealing temperature(°C)	Expected pairbase	Reference
CMV cpF	5'-TTG AGT CGA GTC ATG GAC AAA TC-3'	48	650	Khoshkhati, &jafary, 2010
CMV cpR	5'-AAC ACG GAA TCA GAC TGG GAG-3'	48		
ZMYVF Nlb	5'-GGG GGA TCC CAT ACA TAG CTG AGACAG C-3'	48	790	Kunduetal.,1997
ZYMV R3-1M	5'-GGG GAA TTC CGG AGT CTA ATC TCG AGC-3'	48		
SqMV F	5'-GCA TGG TCC ACW CAG GT-3'	49		Besseraetal., 2011
SqMV R	5'-YTC RAA WCC VYT RTT KGG MCC ACA-3'	49	600-700	

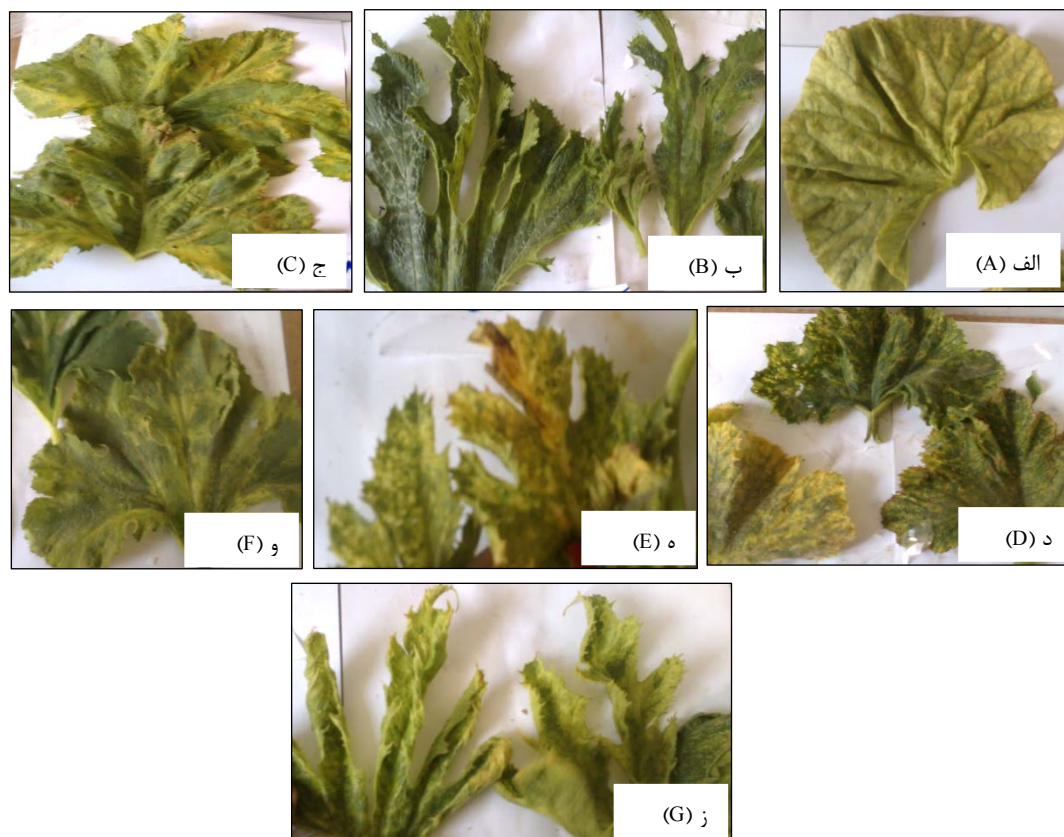
\*در این آغازگرها کدهای دژنره عبارتند از: M= C/A, Y= C/T, R= A/G, W= A/T, V= G/C, K= G/T

\*M= C/A, Y= C/T, R= A/G, W= A/T, V= G/C, K= G/T Degenerated codes include:

## نتایج

### علائم شناسی بیماری های ویروسی یافت شده بر روی میزبان های جمع آوری شده

در نمونه‌های کدو آلوده به CMV علائم به صورت زردی برگ و پیسه‌ای سبزرده مشاهده شد (شکل ۱- الف). نمونه‌های کدو آلوده به ZYMV با علائم پیسه‌ای سبز و بندکفشی همراه بود (شکل ۱- ب). در نمونه طالبی آلوده به SqMV تنها زردی در برگ مشاهده شد این در حالی است که در کدوی آلوده به این ویروس حالت پیسه‌ای در برگ را نشان می‌داد (شکل ۱- ج و ۱- د). علائم زردی، بندکفشی و تاولی در نمونه‌های دارای آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و ZYMV دیده شد. تشکیل حالت بندکفشی و تاولی در این نمونه‌ها چندان شدید نبود (شکل ۱- ه). علائم در نمونه‌های آلوده به دو ویروس CMV و SqMV به صورت تاول های ریز سبزرده فراوان در سطح برگ دیده شد (شکل ۱- و) و در نهایت در نمونه دارای آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV حالت پیسه‌ای، تاولی و بندکفشی بسیار شدید و تاول‌های بسیار بزرگ در سطح برگ مشاهده گردید (شکل ۱- ز). همان‌طور که مشاهده می‌شود علائم ZYMV به تنهایی و در آلودگی همزمان این ویروس با ویروس‌های CMV و SqMV مشابه نمونه دارای آلودگی تنها به آن ویروس بود. تشخیص هر یک از این ویروس‌ها بر اساس علائم به تنهایی بسیار دشوار خواهد بود.



شکل ۱- علائم بیماری ناشی از ویروس‌های CMV، ZYMV و SqMV در نمونه‌های جمع‌آوری شده در آلودگی‌های تنها و همزمان ۱-الف: کدو آلوده به CMV، ۱-ب: نمونه کدو آلوده به ZYMV، ۱-ج و ۱-د: به ترتیب نمونه طالبی و کدو آلوده به SqMV، ۱-ه: نمونه کدو دارای آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و ZYMV، ۱-و: نمونه کدو دارای آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و SqMV، ۱-ز: نمونه کدو دارای آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV.

**Figure 1.** Symptoms induced by CMV, ZYMV and SqMV with single and mixed infections. 1-A: infected Squash by CMV, 1-B: Infected Squash by ZYMV, 1-C and 1-D: Infected Squash and muskmelon by SqMV. 1-E: Infected squash with mixed infection by CMV and ZYMV, 1-F: Infected squash with mixed infection by two viruses CMV and SqMV. 1-G: Infected squash with mixed infection by three viruses CMV, ZYMV and SqMV.

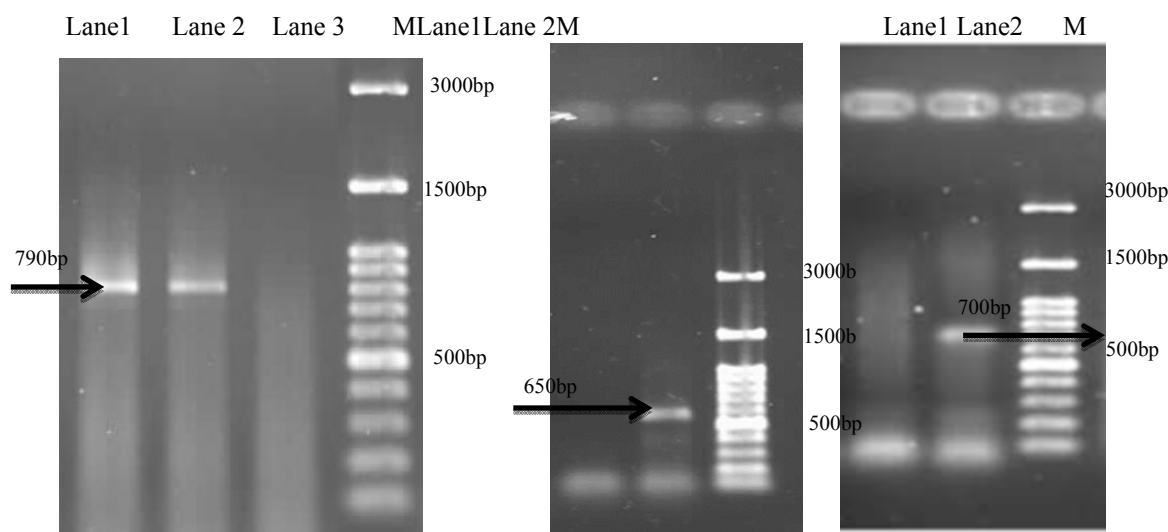
## جدول ۳- درصد آلودگی جمعیت کدوئیان به ویروس‌های مورد بررسی

Table 4. Percentage of infected cucurbits by investigated viral diseases

Percentage of infection	No. of infected specimens	Infecting viruses	Total samples
49.1	28	CMV	
35.1	20	ZYMV	
29.8	17	SqMV	
15.8	9	SqMV, ZYMV, CMV	57
12.3	7	CMV, ZYMV	
8.7	5	CMV, SqMV	
	1	ZYMV, SqMV	

نتایج آزمون سرولوژیکی الایزا نشان داد که مهمترین ویروس‌های خسارت‌زا در این مناطق را به ترتیب ویروس موزائیک خیار با ۴۹/۱۰ درصد، ویروس موزائیک زرد کدو با ۳۵/۱ درصد و ویروس موزائیک کدو با ۲۹/۸ درصد آلودگی تشکیل می‌دهند. همچنین در برخی نمونه‌ها، آلودگی‌های همزمان با چند ویروس مشاهده گردید. ۹ نمونه ۱۵/۸ درصد آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV، هفت نمونه ۱۲/۳ درصد آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و ZYMV، پنج نمونه ۸/۷ درصد آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و SqMV و یک نمونه ۱/۷ درصد آلودگی همزمان به دو ویروس ZYMV و SqMV را نشان دادند. براین اساس به ترتیب ویروس‌های CMV، ZYMV و SqMV بیشترین پراکنش در کدوئیان ناحیه شیراز و حومه را به خود اختصاص دادند.

پس از انجام آزمون الایزا به منظور تایید آن از آزمون مولکولی استفاده گردید. از نمونه کدو بیدزرد و کدو صدرا جهت صحت وجود ویروس ZYMV (شکل ۲- الف)، از نمونه کدو شیراز جهت صحت وجود ویروس CMV (شکل ۲- ب) و از نمونه کدو کفترک جهت صحت وجود ویروس SqMV (شکل ۲- ج) در آزمون مولکولی RT-PCR استفاده گردید.



شکل ۲- الف

شکل ۲- ب

شکل ۲- ج

**شکل ۲- الف:** نقوش الکتروفورزی محصول واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی ZYMV FN1b/ ZYMVR3-1M - ۱ کدو بیدزرد آلوده - ۲ کدو صدرا آلوده - ۳ نمونه کدو سالم شکل ۲-ب: نقوش الکتروفورزی محصول واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی CMV cpR/CMV cpF - ۱ نمونه گیاه سالم - ۲ نمونه کدو شیراز آلوده شکل ۲-ج: نقوش الکتروفورزی محصول واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر دژنره SqMV F / SqMV R - ۱ نمونه کدو سالم - ۲ کدو کفترک آلوده - M در کلیه عکس ها نشانگر مولکولی ۱۰۰-۳۰۰۰ جفت باز (شینازن)

**Figure A .** Agarose gel electrophoresis analysis of RT-PCR products amplified with ZYMV FN1b/ ZYMVR3-1M specific primer pair. Lane1:Bidzard's infected Squash,Lane2:Sadra's infected squash,Lane3:Non-infected sample Fig B:Agarose gel electrophoresis analysis of RT-PCR products amplified with CMV cpF/ CMV cpRspecific primer pair.Lane1:Non-infected sample,Lane2: Shiraz's infectedFig C:Agarose gel electrophoresis analysis of RT-PCR products amplified withpSqMV F / SqMV R degeneratedprimer pair. Lane1: :Non-infected sample Lane2:Kaftarak's infected squash 3:Non-infected sample M:In all figures is molecular ladder 100-3000 bp cinnagene cooperation.

## بحث و نتیجه گیری

همان طور که از نتایج آزمون الایزا و نتایج مولکولی استنباط می گردد در اکثر مناطق مورد بررسی حداقل یکی از ویروس های CMV، ZYMV و SqMV وجود داشته و در برخی مناطق از جمله کفترک، بیدزرد و شیراز، این ویروس ها به صورت همه گیر در آمده اند به طوریکه در اکثر نقاط به شدت در سطح مزرعه قابل مشاهده بود. به طور کلی علائم این سه ویروس بر روی کدوئیان مشابه بوده ولی طبق مطالب گفته شده علائم SqMV از بقیه خفیف تر بوده و با افزایش گرما علائم از بین می رود. در این مطالعه مشاهده شد که حالت بندکفشی در نمونه های جمع آوری شده در آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV بسیار شدید بوده (شکل ۱- ز)، در حالیکه در آلودگی منفرد به هر کدام از این ویروس ها، بیشتر حالت پیسه ای و



تاوولی مشاهده شد و حالت بندکفشی یا بسیار خفیف بوده و یا اصلا وجود نداشت شکل‌های (۱- الف، ۱- ب، ۱- ج و ۱- د). بر اساس مطالعات قبلی می‌توان چنین گفت که این سه ویروس اثر سینرژیستی بر یکدیگر داشته که با نتایج Zhang *et al.*, (2001) مطابقت دارد. همانطور که در شکل (۱- ز) مشاهده می‌گردد در مقایسه با شکل (۱- الف، ۱- ب، ۱- ج و ۱- د)، نمونه‌ها دارای علائم شدیدتری بوده و علاوه بر موزاییک، حالت شکاف در برگها، زردی شدید، تاوولی و پیسه‌ای نیز در آنها مشهود است.

بیشترین آلودگی همزمان به سه ویروس CMV، ZYMV و SqMV مربوط به منطقه دوکوهک و پس از آن به ترتیب مربوط به مناطق کفترک و صدرا و شیراز بوده است. بیشترین آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و ZYMV در منطقه بیدزرد و پس از آن در منطقه ظفرآباد و کوشک‌بیدک مشاهده گردید. همچنین وجود آلودگی همزمان به دو ویروس CMV و SqMV به ترتیب در مناطق شیراز، کفترک و تفیهان به اثبات رسید. مهمترین حشرات ناقل ویروس‌های CMV و ZYMV، شته‌ها به خصوص شته سبزینه (*Aphis gossypii*) و شته سبزه‌لو (*Myzus persicae*) می‌باشند (Raccha *et al.*, 1985) که از آفات مهم زراعی در ایران محسوب می‌گردند. با توجه به اینکه شته‌ها به سرعت تکثیر یافته و راندمان انتقال بالایی دارند، آلودگی به ویروس‌هایی که با این ناقلین منتقل می‌شوند طبق نتایج به دست آمده بیشتر مشاهده شد. اما آلودگی کمتری به ویروس SqMV که به وسیله سخت‌بال‌پوشان (بیشتر از تیره Chrysomelidae) منتقل می‌شود (Agrios, 2005) در مزارع مورد مطالعه مشاهده گردید. بهترین روش کاهش خسارت ویروس‌های کدوئیان استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل است که در این زمینه برخی از ارقام مقاوم خیار معرفی شده‌اند (Provvidenti, 1996). استفاده از حشره‌کش‌ها در جهت کنترل آلودگی‌های ایجاد شده توسط ویروس‌هایی که به صورت ناپایا منتقل می‌گردند موثر نیست، بنابراین ایجاد یا شناسایی منابع ژنتیکی مقاوم راه مناسبی جهت کنترل این گونه ویروس‌ها می‌باشد (Diaz *et al.*, 2003).

## منابع

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth edition. Florida: Dana Dreibelbis.
- Azarfar, A., Izadpanah, K., Afsharifar, A., & Massumi, A. 2012. Purification and the complete sequence of Zucchini mosaic virus Fars isolate. *Plant Pathology*, 48: 403-409.
- Beserra Junior, J. E. A., Andrade, E. C., Araújo Camarço, R. F. R., Nascimento, A. K. Q., & Lima, J. A. A. 2011. Sequence variability in the coat protein gene of Cowpea severe mosaic virus isolates from northeastern Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 36(2): 121-124.
- Converse, R. H. & Martin, R. R. 1990. ELISA methods for plant viruses. pp: 179-196. In: Hampton, R. O., Ball, E. M. and DeBoer, S. H. (Eds.) *Serological Methods for*

- Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens, A Laboratory Manual*. APS Press, USA.
- Desbiez, C. & Lecoq, H. 1997. Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathology*, 46:809-829.
- Diaz, J. A., Mallor, C., Soria, C., Camero, R., Garzo, E., Fereres, A., Alvarez, J. M., Gomez-Guillamon, M. L., Luis-Arteaga, M. & Moriones, E. 2003. Potential sources of resistance for melon to nonpersistently aphid-borne viruses. *Plant Diseases*, 87:960-964.
- Gholamalizadeh, R., Vahdat, A., Keshavarz, T., Elahinia, S. A., Sharaeen, N. & Bananej, K. 2008. Occurrence of Ourmia melon virus in the Guilan Province, Iran. *Acta Virology*, 5 :113-118.
- Habili, N., Arthur, K., Davies, R. & Randles, J. W. 2012. Detection of dual infection with Grapevine rupestris stem pitting-associated virus and Uncinulanecator in grapevines by single-tube RT-PCR. *17th Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG)*. October 7-14 2012, UC Davis, California, USA, pp 148-149.
- Hosseini Farhangi, S., Masahebi, Gh., KoochiHabibi, M. & Okhovat, M. 2004. Identity of Zucchini yellow mosaic virus characteristics in Squash fields of Tehran province. *Proceeding of the 16<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress*, Tabriz University, Tabriz, Iran, p. 265.
- Kundu, A. K. Ohshima, K. Sako, N. & Yaegashi, H. 1997. Nucleotide sequences of the cylindrical inclusion protein genes of two Japanese zucchini yellow mosaic virus isolates. *Acta Virologica*, 43:57-62.
- Khoshkhatti, N. & Jafary, H. 2010. Distribution of Cucumber mosaic virus (CMV) on cucurbit plants in Zanjan province. *Proceeding of the 19<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress*, Iranian Research Institute of Plant Protection, p. 680.
- Lecoq, H., Dafalla, G., Desbiez, C., Wipe-Schiebel, C., Dellecole, B., Lanina, T., Ullah, Z. & Gramet, R. 2001. Biological and molecular characterization of Moroccan Watermelon Mosaic Virus and a potyvirus isolates from eastern Sudan. *Plant Disease*, 85:547-552.
- Lovisol, O. 1980. Virus and viroid diseases of cucurbits. *Acta Horticulture*, 88:979-982.
- Massumi, H., Samei, A., Hosseini pour, A., Shaabani, M. & Rahimian, H. 2007. Occurrence, distribution, and relative incidence of seven viruses infecting greenhouse-grown cucurbits in Iran. *Plant Diseases*, 91:159-163.
- Provvidenti, R. 1996. Diseases caused by viruses , pp:37-45. In: Zitter, T. A., Hopkins, D. L. & Thomas, C. E. (Eds.) *Compendium of Cucurbit Diseases*, Minnesota, USA, APS press.
- Ghorbani S. 1998. Isolation of zucchini yellow mosaic virus in Tehran province. *Journal of Plant Pathology*, 24:25-34.
- Racah B., Gal-On A. & Eastop VF. 1985. The role of flying aphid vectors in the transmission of cucumber mosaic virus and potato virus Y to peppers in Israel. *Annals of Applied Biology*, 106:451-460.
- Rahimian, H. & Izadpanah, K. 1978. Identity and prevalence of mosaic inducing cucurbit viruses in Shiraz, Iran. *Phytopathology*, 92:305-312.

- Rastgou, M., Koohi Habibi, M., Izadpanah, K. & Masahebi, Gh. H. 2010. Frequency of cucurbit viruses around Urmia and first report of *Zucchini yellow fleck virus*. *Proceeding of the 19<sup>th</sup> Iran Plant Protection Congress*, Iranian Research Institute of Plant Protection, p. 755.
- Statistics Letter of Fars Agricultural Bureau. Horticultural and Crop Products. 2012. First edition.
- Ullman, D. E., Cho, J. J. & German TL. 1991. Occurrence and distribution of viruses in Hawaiian Islands. *Plant Diseases*, 75:367-370.
- Zhang, X. S., Holt, J. & Colvin, J. 2001. Synergism between plant viruses: A mathematical analysis of the epidemiological implications. *Plant Pathology*, 50:732-746.