



## بررسی اهمیت و خصوصیات مولکولی ویروس موزاییک خیار در گیاهان جالیزی منطقه کوار

فاطمه باقری، کاوس ایازپور\*

گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

ayazpour@jia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶

### چکیده

ویروس موزاییک خیار (*Cucumber Mosaic Virus, CMV*) از مهم‌ترین ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان در ایران و جهان می‌باشد. به منظور بررسی پراکندگی و اهمیت CMV در منطقه کوار در استان فارس، طی بهار و تابستان ۱۳۹۴، از مزارع مختلف کدوئیان (شامل: هندوانه، خربزه و کدو) نمونه برداری شد. در مجموع ۸۵ نمونه گیاهی با علائم: موزائیک و زردی برگ‌ها، لکه‌های نکروتیک روی رگبرگ‌ها و کوتولگی، جمع‌آوری شد. بررسی تکمیلی نمونه‌ها با کمک آزمون‌های الیزای ساندویچ دو طرفه آنتی بادی (DAS-ELISA) و واکنش زنجیره ای پلی مرز با نسخه برداری معکوس (RT-PCR) انجام گردید. در بررسی نمونه‌های مشکوک با آزمون DAS-ELISA، تعداد ۴۰ نمونه خربزه، آلوده به ویروس تشخیص داده شدند. به منظور ردیابی ویروس با استفاده از آزمون RT-PCR، از جفت آغازگرهای P1 و P2 که ژنوم پوشش پروتئینی ویروس را تشکیل می‌کردند، و قطعه‌ای به طول تقریبی ۹۵۰ جفت باز را تشکیل می‌دادند، استفاده شد. در ۳۰ مورد از نمونه‌ها (۲۰ مورد مثبت و ۱۰ مورد منفی) واکنش زنجیره ای پلی مرز انجام و نتایج آزمون الیزا تایید شد. محصول PCR سه جدایه به طور تصادفی انتخاب و پس از خالص سازی باند مورد نظر، ترادف یابی گردید. برای مقایسه و آنالیز فیلوژنتیکی توالی‌های به دست آمده در این پژوهش با سایر نقاط دنیا، از ۱۹ توالی ثبت شده در بانک ژن استفاده گردید. درخت فیلوژنتیکی با کمک نرم افزار MEGA6 و به روش Neighbor-Joining ترسیم گردید. توالی‌ها در دو گروه جداگانه قرار گرفتند که نمونه‌های ایرانی همگی در یک گروه بودند. نتایج این تحقیق بیانگر آلودگی چشمگیر مزارع خربزه به ویروس موزائیک خیار در منطقه کوار و احتمالاً خسارت قابل ملاحظه این ویروس بود.

**واژه‌های کلیدی:** ویروس موزاییک خیار، ساندویچ دو طرفه الیزا، مگا۶، آنالیز فیلوژنتیکی.

### مقدمه

ویروس موزاییک خیار یکی از شایع ترین ویروس‌های گیاهی و یکی از فاکتورهای مهم کاهش محصول در کدوئیان است. دامنه میزبانی مجموع جدایه‌های CMV بیش از ۱۳۰۰ گونه از ۵۰۰ جنس از ۱۰۰ خانواده گیاهان دولپه ای و تک لپه ای می‌باشد (Tomlinson, 1987).

ژنوم ویروس موزاییک خیار (CMV) چند بخشی است و از سه قطعه آر.ان.ای تک رشته‌ای با قطبیت مثبت و دو آر.ان.ای زیرژنومی تشکیل شده است. هر رشته آر.ان.ای دارای یک ساختار کلاه مانند (Cap like) در انتهای ۵' و یک ساختار شبه tRNA در انتهای ۳' می باشد (Gorbalenya et al., 1989).

ویروس موزاییک خیار دامنه میزبانی بسیار وسیعی دارد و توسط بیش از ۸۰ گونه شته به صورت ناپایا منتقل می شود. گیاهان دارویی مانند پونه و نعنا از میزبان‌های این ویروس هستند. این ویروس در اغلب مناطق آب و هوایی به صورت بومی وجود داشته و در برخی از مناطق سبب واگیری‌های شدید در محصولات می مانند سبزی‌ها، میوه‌ها و علوفه می شود (Rahimian & Izadpanah, 1987).

تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های ویروس موزاییک خیار بسیار بالاست و جدایه‌ها با توجه به داده‌های مولکولی و میزان تشابه در RNA های آن‌ها، در سه زیرگروه IA، IB و II قرار می گیرند. جدایه‌های زیرگروه یک دارای ۹۱ تا ۹۹ درصد و جدایه‌های زیرگروه دو دارای ۷۶ تا ۸۴ درصد مشابهت با یکدیگر هستند. به طور کلی جدایه‌های متعلق به زیرگروه یک نسبت به جدایه‌های زیرگروه دو پراکندگی بیشتری در گیاهان دارند، به صورتی که در برخی از موارد ۸۰ درصد تمامی جدایه‌های ردیابی شده متعلق به زیرگروه یک هستند و در این بین فراوانی زیرگروه IA نسبت به IB بیشتر است (Conde et al., 2010).

این ویروس در ۲۰ گونه گیاهی توسط بذر منتقل می شود؛ اما بر اساس مطالعات انجام شده، در صد انتقال از طریق بذر، حتی در بین ارقام مختلف یک گونه متغیر می باشد (Yang et al., 1997)، همچنین این ویروس توسط بیش از ۱۰ گونه سس قابل انتقال است. در طبیعت این ویروس توسط شته به طریق ناپایا منتقل می شود و کلیه‌ی سنین پورگی شته‌ها پس از ۵ تا ۱۰ ثانیه تغذیه، دارای استعداد آلوده‌کنندگی می شوند. CMV می تواند توسط ۸۶ گونه از شته‌ها منتقل شود. مهم ترین گونه‌های شته ناقل در دنیا و ایران، شته سبز هلو (*Myzus persicae*) و شته جالیز (*Aphis gossypii*) است (Ali et al., 2012).

علائم ویروس موزاییک خیار به صورت موزاییک، کلروز عمومی، کوتولگی، نخ‌شدن برگ‌ها و کلروز یا نکروز موضعی (که بسته به استرین ویروس متفاوت است) می باشد. برخی از جدایه‌های CMV می توانند کلروز روشن روی برخی از گونه‌های تنباکو ایجاد نمایند و گاهی اوقات سبب خشکاندن زود هنگام برگ‌ها می شوند (Palukaitis & Roosinck, 1996). میوه‌های آلوده ناصاف و نامنظم دارای لکه‌های زرد خواهند بود و این امر موجب کاهش بازارپسندی آن‌ها می شود. رشد میزبان در اثر بیماری کاهش یافته و محصول کمتری تولید می کند. (Yu et al., 2005).

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه‌ها

به منظور بررسی ویروس موزاییک خیار، در فصول بهار و تابستان ۱۳۹۴ نمونه‌برداری از مزارع مختلف از قبیل: هندوانه، کدو و خربزه در مناطق مختلف کوار انجام گرفت.

نمونه‌برداری از برگ گیاهان مذکور با توجه به علائم ایجاد شده ناشی از ویروس موزاییک خیار شامل: موزاییک برگ، کوتولگی گیاه، زردی، بد شکلی برگ و میوه گیاهان، کاهش رشد گیاه، ابلقی و کم رشدی صورت گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در درون کیسه‌های پلاستیکی و بر روی یخ و به صورت خنک و تازه به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمون الیزا تا حداکثر یک هفته در یخچال و برای مدت‌های طولانی‌تر و بررسی‌های مولکولی در صورت گرفتن جواب مثبت از آزمون الیزا در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در مجموع تعداد کل نمونه‌های جمع‌آوری شده برای بررسی در روش الیزا ۸۵ نمونه بود.

### آزمون الیزا به صورت ساندویچ دوطرفه پادتن (DAS-ELISA)

جهت بررسی حضور ویروس (CMV) در نمونه‌های جمع‌آوری شده، و مشخص نمودن نمونه‌های آلوده و نیز تعیین اهمیت ویروس در مزارع، گوجه‌فرنگی، کدو، خیار و خربزه و انتخاب نمونه‌ها برای انجام آزمون‌های بعد، از آزمون سرولوژیک الیزای مستقیم استفاده شد. آزمون سرولوژیکی الیزای مستقیم از نوع ساندویچ دولایه پادتن (DAS-ELISA) و مطابق روش Clark & Adams (1977) انجام گرفت. برای ردیابی ویروس با روش مذکور، از محصولات و آنتی‌بادی چندهمسانه‌ای موجود در کیت تجاری (CMV reagent set) Bioreba, Swiss استفاده شد.

پس از انجام آزمون، تغییر رنگ چاهک‌ها توسط دستگاه الیزا خوان (Mukora) بررسی و میزان چگالی نوری (OD) هر چاهک در طول موج ۴۰۵ نانومتر به دست آمد. نمونه‌های دارای چگالی نوری دو برابر چگالی نوری کنترل منفی، به عنوان مثبت (آلوده به ویروس) در نظر گرفته شد.

### آزمون RT-PCR

#### استخراج RNA کل از بافت گیاهی (total RNA)

جهت بررسی‌های مولکولی و انجام آزمون RT-PCR استخراج RNA کل از برگ‌های آلوده ۳۰ نمونه توسط کیت تجاری Total RNA Purification Kit (Jena Biosciences co., Germany) انجام گردید.

ساخت cDNA با استفاده از آنزیم نسخه‌بردار معکوس

به منظور ساخت cDNA، ابتدا ۹ میکرولیتر RNA کل و ۱ میکرولیتر پرایمر معکوس مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار گرفته و سپس بلافاصله روی یخ انتقال یافت. بعد از آن دیگر ترکیبات واکنش شامل ۲ میکرولیتر 10X buffer، ۲ میکرولیتر از dNTPs، ۱ میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس و ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه و حجم نهایی آن به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. مخلوط واکنش ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سلسیوس قرار گرفت. به منظور توقف واکنش نمونه‌ها ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار گرفت. cDNA به دست آمده برای استفاده بعدی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. آغازگرهای مورد استفاده عبارت بودند از: آغازگر پیش‌رو P1: 5' CAACTCCAGATGGAACAATTG3' و آغازگر معکوس P2: 5' CCATTCATCACAGTTGGC3' (Ayazpour & Sajedi, 2020).

#### واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)

برای انجام واکنش PCR، از master mix تهیه شده از شرکت Bioneer کره جنوبی استفاده شد. ترکیبات موجود در حجم کل ۲۵ میکرولیتری عبارت بود از: ۱۲ میکرولیتر Master mix، ۳ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای P1 و P2، ۲ میکرولیتر dNTPs و ۶ میکرولیتر آب مقطر استریل. برنامه دمایی واکنش شامل: واسرشت سازی اولیه به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه. در نهایت به منظور تکمیل رشته‌های ناقص به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Ayazpour & Sajedi, 2020).

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور بررسی فیلوژنتیکی ویروس موزائیک خیار در منطقه کوار، محصولات PCR جدا شده‌های منتخب جهت توالی‌یابی به شرکت پیشگام بیوتکنولوژی ایران ارسال شد. توالی نوکلئوتیدی DNA تکثیر شده از دو طرف خوانده شد. توالی‌های به دست آمده با نمونه

های بانک ژن جهانی (NCBI) بلاست شدند. برای مقایسه فیلوژنتیکی جدایه‌های ویروس موزائیک خیار منطقه کوآر با جدایه‌های دنیا، از توالی‌های ناحیه CP تعداد ۱۹ جدایه ثبت شده در سایت NCBI و موجود در GenBank که دارای تشابه بالایی با جدایه‌های CMV کوآر بودند استفاده گردید. درخت تکاملی با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 و روش Neighbor-Joining ترسیم گردید.

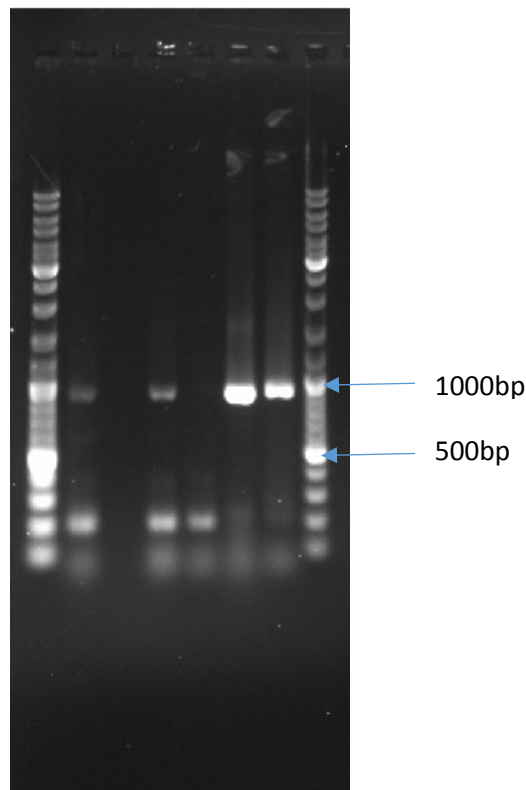
## نتایج و بحث

### نتایج آزمون الیزا

از مجموع ۸۵ نمونه جمع آوری شده، ۵۰ نمونه مربوط به خربزه، ۲۵ نمونه کدو و ۱۰ نمونه هندوانه (با توجه به سطح زیر کشت و گیاهان دارای علائم) بود. میزان آلودگی به ویروس موزائیک خیار در خربزه ۸۰٪ (۴۰ نمونه از مجموع ۵۰ نمونه) و در کدو و هندوانه صفر بود.

### نتایج آزمون RT-PCR و تشخیص مولکولی ویروس

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از جفت آغازگرهای P1 و P2 روی تمام نمونه‌هایی که در آزمون الیزا مثبت تشخیص داده شدند، انجام گردید. نتایج آزمون RT-PCR نیز آلودگی نمونه‌ها به ویروس موزائیک خیار را تأیید کرد. انجام آزمون مذکور به سنتز قطعه‌ای به طول تقریبی ۹۵۰ bp از پروتئین پوششی (CP) ویروس موزائیک خیارگردید (شکل یک). بر پایه نتایج حاصل از توالی‌یابی ناحیه پوشش پروتئینی و مقایسه‌ی توالی این ناحیه با توالی‌های ثبت شده در سایت NCBI تشابه ۹۹ درصد با CMV نشان داد.

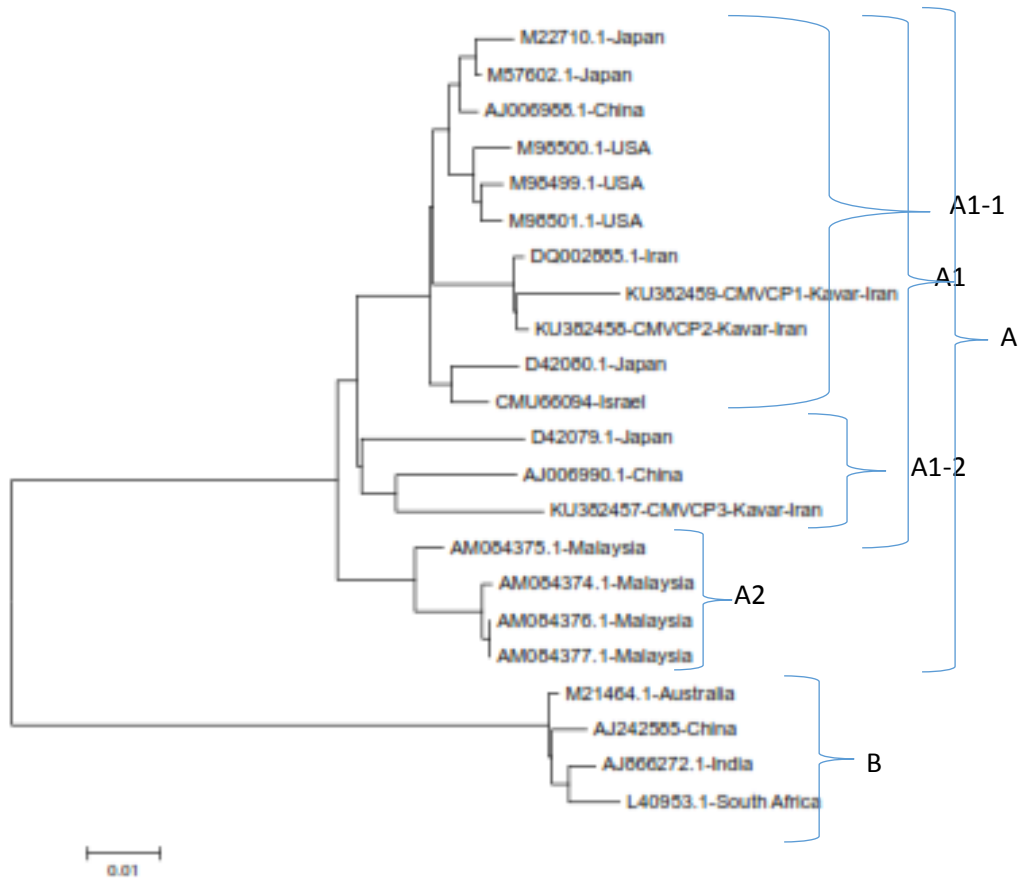


شکل ۱- نقوش الکتروفورزی حاصل از آزمون RT-PCR با استفاده از جفت آغازگرهای P1 و P2. لاین‌های وسط نمونه‌های گیاهی و دوطرف مارکر قرار دارد (مارکر ۱۰۰ جفت بازی).

Figure 1. Electrophoresis patterns of RT-PCR method products, using P1 and P2 Primers. Mid-lines collected samples and Right and Left lines 100bp Lader

آنالیز و مقایسه فیلوژنتیکی جدایه ویروس موزائیک خیار کوار با سایر جدایه های دنیا

توالی سه جدایه‌ی منتخب، شامل CKBA1، CKBA2 و CKBA3 در بانک ژن جهانی با رس شماره‌های KU382457، KU382458 و KU382459 ثبت شدند. مقایسه فیلوژنتیکی توالی‌های ناحیه CP این سه جدایه با ۱۹ جدایه جهانی CMV با هم‌ردیف‌سازی چندگانه DNA با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 انجام و درخت فیلوژنتیکی به روش Neighbor joining در محیط MEGA6 ترسیم گردید (شکل ۲). به منظور راحتی مقایسه در کنار کد (Accession Number) هر جدایه، کشور محل جداسازی آن نیز آورده شده است.



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده به روش Neighbor Joining در نرم‌افزار MEGA6 بدست آمده از مقایسه توالی‌های ناحیه CP جدایه های ویروس CMV از کوار با چند جدایه از نقاط دیگر جهان

Figure 2. Phylogenetic tree drawn by Neighbor-joining method using MEGA6 software obtained from comparison of the coat protein genes of CMV isolates from Kavar with some isolates from other parts of the world.

بر اساس درخت تکاملی ترسیم گردیده، جدایه‌های مورد بررسی در دو گروه جداگانه قرار گرفته‌اند که تحت عنوان A و B نامگذاری شده‌اند (شکل ۲).

نمونه های کوار و نیز یک نمونه دیگر از ایران که از بانک ژن انتخاب شده بود همگی در گره A قرار گرفتند. گروه A خود به دو زیر گروه A1 و A2 تقسیم شده است که جدایه های ایرانی در زیر گروه A1 قرار دارند. زیر گروه A1 نیز به دو دسته تقسیم می شود که تحت عنوان A1-1 و A1-2 نامگذاری شده‌اند. دو جدایه از کوار و نیز جدایه ایرانی به همراه جدایه هایی از ژاپن، چین، امریکا و اسرائیل در دسته A1-1 قرار دارند. جدایه سوم کوار با رس شماره KU302457 با جدایه‌ای از چین در دسته A1-2 قرار گرفته‌اند. زیرگروه A2 شامل جدایه هایی از مالزی است و گروه B شامل جدایه‌هایی از استرالیا، چین، هند و آفریقای جنوبی است.

در این مطالعه، در نمونه های جمع آوری شده آلوده به CMV، بیشتر حالت پیسه ای و تاوولی مشاهده شد و حالت بند کفشی یا بسیار خفیف بوده و یا اصلا وجود نداشت. این علائم مشاهده شده با نتیجه بررسی های (Palukaitis & Roosinck 1996) مطابقت داشت. هرچند همانند نتایج آنها، گیاهان آلوده رشد کمتری داشته و محصول کمتری نیز تولید کرده بودند، ولی برخلاف نتایج ایشان، میوه های خربزه در گیاهان آلوده علائمی نداشتند.

از دیگر علائم ایجاد شده توسط CMV بر روی خربزه در شهرستان کوار می توان به رگبرگ نواری و بد شکلی برگ اشاره کرد. این علائم مشاهده شده با نتیجه بررسی های (Samei et al. 2008) مطابقت داشت.

از دیگر علائم ایجاد شده توسط CMV بر روی خربزه، در مزارع خربزه شهرستان کوار می توان به رگبرگ نواری و بد شکلی برگ اشاره کرد. این علائم مشاهده شده با نتیجه بررسی های (Samiei et al. 2008) مطابقت داشت.

تفاوت، تنوع و گستردگی علائم آلودگی به CMV می تواند از عوامل زیادی ناشی شده باشد. یکی از این عوامل آلودگی هم زمان و مخلوط این ویروس با سایر ویروس ها می باشد که در برخی از موارد سبب تشدید علائم و یا کاهش آن می شود (Sokhandan et al., 2008).

به منظور شناسایی و بررسی میزان پراکندگی و حساسیت ارقام مختلف کدوئیان و گوجه فرنگی کشت شده در مزارع و گلخانه های کشور نسبت به CMV، شعبانیان و همکاران (Shaabani et al., 2005) از مزارع و گلخانه های گوجه فرنگی و کدوئیان در تعدادی از استان های کشور بازدید و نمونه برداری به عمل آوردند. نمونه ها ابتدا از نظر آلودگی به ویروس موزاییک خیار (CMV) با استفاده از آزمون آلایزا و آنتی سرم CMV مورد بررسی قرار گرفتند. تعدادی از نمونه های آلوده نیز در آزمون PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی CMV بررسی شدند. میزان آلودگی مزارع و گلخانه های کدوئیان نسبت به ویروس CMV به ترتیب برابر با ۳۵/۱ و ۲۱/۴ درصد تعیین گردید. علائم در بوته های آلوده شامل موزاییک، ابلقی، زردی، بند کفشی و بد شکلی برگ و میوه گیاهان بود. در آزمون PCR از نمونه های آلوده قطعه ای به طول ۹۵۰ bp ساخته شد که مربوط به ژن پروتئین پوششی این ویروس بود. در تحقیق حاضر، از مجموع ۸۵ نمونه جمع آوری شده از ارقام مختلف خربزه، هندوانه و کدو از شهرستان کوار، ۴۰ نمونه در آزمون DAS-ELISA آلودگی به ویروس CMV را نشان دادند، یعنی در مجموع ۴۷٪ آلودگی به CMV وجود دارد که بیشتر از نتایج Shaabani et al. (2005) می باشد. بیشترین درصد آلودگی به CMV مربوط به خربزه با حدود ۸۰٪ بود. در هندوانه و کدو آلودگی به این ویروس مشاهده نگردید.

به منظور شناسایی سریع و دقیق ویروس، علاوه بر روش سرولوژی، از روش واکنش نسخه برداری معکوس مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمرز استفاده گردید. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی، از سه جدایه CMV مورد مطالعه در این تحقیق در آزمون RT-PCR قطعه ای به طول حدود ۹۵۰ جفت باز تکثیر گردید که با نتایج به دست آمده از تحقیقات (Shaabani et al. 2005) مطابقت داشت.

در این تحقیق آنالیز فیلوژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ناحیه پوشش پروتئینی سه جدایه ویروس موزاییک خیار به دست آمده در منطقه کوار با توالی های ناحیه پوشش پروتئینی ۱۹ جدایه این ویروس از مناطق مختلف دنیا و ایران که در GenBank ثبت شده بودند، به وسیله نرم افزار MEGA6 انجام گرفت. برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی این سه جدایه با ۱۹ جدایه از سراسر دنیا و ایران از روش Neighbor-joining استفاده شد. نتایج آنالیز فیلوژنتیکی (شکل ۲) نشان داد که جدایه های ایران با جدایه هایی از ژاپن، چین و امریکا و اسرائیل قرابت زیاد دارند. این نتایج با تحقیقات (Ayazpour & Sajedi 2020) مطابقت دارد. ولی جدایه های کوار از جدایه های مالزی کاملا جدا می گردند. همچنین جدایه هایی از استرالیا، چین، هند و آفریقای جنوبی کاملا از نمونه های ایرانی جدا گشته و در

دسته جداگانه ای قرار دارند (شکل ۲). این امر می تواند مربوط به تکامل ژنتیکی ویروس در مناطق مختلف باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که ویروس موزائیک خیار در مزارع خربزه منطقه کوار از اهمیت بالایی برخوردار است و درصد بالایی از علائم آلودگی در گیاهان مربوط به این ویروس است. از این رو به بررسی و مدیریت بیشتر این ویروس در مزارع خربزه نیاز جدی می باشد.

## منابع

- Ali, A., Mohammad, O. & Khattab, A. 2012. Distribution of viruses infecting crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in okahima. *Plant Disease*, 96:243-248.
- Ayazpour, K. & Sajedi, S.Z. 2020. Evaluation of the Importance and Molecular Properties of Cucumber Mosaic Virus in Cucurbit fields of Jahrom area, Iran. *Journal of Microbial World*, 13(2) inpress.
- Clark, M.F. & Adams, A.M. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Conde, B., Smith, S. & Connelly M. 2010. Mosaic viruses of cucurbit crops. *Agnotes*, no: 173. [https://dpiir.nt.gov.au/\\_data/assets/pdf\\_file/0004/233626/847.pdf](https://dpiir.nt.gov.au/_data/assets/pdf_file/0004/233626/847.pdf)
- Gorbalenya, A.E., Koonin, E.V., Donchenko, A.P. & Blinov, V.M. 1989. Two related superfamilies of putative helicases involved in replication, recombination, repair and expression of DNA and RNA genomes. *Nucleic Acids Research*, 17:4713-4730.
- Palukaitis, P. & Roosinck M.J. 1996. Spontaneous change of benign satellite RNA of cucumber mosaic virus to a pathogenic variant. *Nature Biotechnology*, 14: 1264-1268.
- Rahimian, H. & Izadpanah, K. 1987. Identity and prevalence of mosaic inducing cucurbit viruses in Shiraz, Iran. *Phytopathology*, 92: 305-312.
- Samei, A., Massumi, H., Shaabani, M., Hosseini, A. & Heydarnejad, J. 2008. Evaluation of some cucurbit cultivars grown in the fields and greenhouses to six important viruses. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*, 15: 1-8 (In Persian).
- Shaabani, M., Massumi, H., Salajeghe, S., Hosseini, A., Heydarnejad, J. & Sheibani, S. 2005. Serological and molecular detection and determination of Cucumber mosaic virus in some parts of Iran. *The 4<sup>th</sup> national Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran*, Aug. 2005, Kerman, Iran.
- Sokhandan, B.N., Nematollahi, S. & Torabi, E. 2008. *Cucumber mosaic virus* subgroup IA frequently occurs in the northwest Iran. *Acta Virologica*, 52: 237-242.
- Tomlinson, J.A. 1987. Epidemiology and control of virus diseases of vegetables. *Annals of Applied Biology*, 110: 661-681.
- Yang, Y., Kim, K.S. & Anderson, E.J. 1997. Seed transmission of cucumber mosaic virus in spinach. *Phytopathology*, 87:924-931.
- Yu, C., Wu, j. & Zhou, X. 2005. Detection and subgrouping of *cucumber mosaic virus* isolated by TAS-ELISA and immunocapture RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 123: 155-161.



## Evaluation of importance and molecular characterization of Cucumber Mosaic Virus in Cucurbits Fields of Kavar area

**Fatameh Bagheri, Kavous Ayazpour\***

*Department of Plant Pathology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran,*

(\*) [ayazpour@jia.ac.ir](mailto:ayazpour@jia.ac.ir)

### **Abstract**

*Cucumber mosaic virus* [CMV] is one of the most important viruses infecting cucurbits worldwide. To study CMV infections in cucurbit fields of Kavar region in Fars province, samples were collected from watermelon, melon and squash plants showing symptoms of mosaic, yellowing, necrotic spots and stunting. A total of 85 samples were collected during spring and summer 2014. The infection of samples was examined using DAS-ELISA and RT-PCR. The serological method confirmed the infection of 40 samples with CMV. The coat protein gene of the virus was amplified by RT-PCR, using primers P1 and P2, which confirmed the results of DAS-ELISA. The amplified genes of three isolates were sequenced and compared with 19 corresponding sequences from Genbank. Phylogenetic analysis was performed using MEGA6, by Neighbor-joining method. Sequenced were divided to two separate groups, and all Iranian sequences were placed in group A. The results of this study showed a significant infection with CMV in melon fields of Kavar region which may cause significant yield losses.

**Keywords:** *Cucumber mosaic virus*, DAS-ELISA, MEGA6, phylogenetic analysis.