مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۷، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۷
صفحه ۱۷۳-۱۶۳

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 2

بررسی آلودگی‌های منفرد و مخلوط ویروس موزاییک خیار با ویروس-های جنس پوتی‌ویروس در منطقه‌ی شمال‌غرب ایران

Survey on presence of *Cucumber mosaic virus* (CMV) in single and mixed infections with potyviruses in North-West of Iran

مهرداد صالح زاده*

Mehrdad Salehzadeh*

کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

M.S.c of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: mehrdadsalehzadeh@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲۰- تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۷)

چکیده

ویروس موزائیک خیار (CMV) *Cucumber mosaic virus* یکی از مهم‌ترین ویروس‌های کدوئیان و دارای دامنه میزبانی بسیار وسیعی می‌باشد. وجود آلودگی‌های مخلوط با سایر ویروس‌ها سبب کاهش و یا تشدید علائم و خسارت ناشی از این ویروس می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی آلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار با ویروسهای جنس پوتی-ویروس در گیاهان جمع‌آوری شده از خانواده‌های کدوییان (*Cucurbitaceae*) شامل خیار و کدو، بادمجانیان (*Solanaceae*) شامل گوجه‌فرنگی، فلفل و تاج‌ریزی، پنیرکان (*Malvaceae*) شامل ختمی و پنیرک می‌باشد. تعیین آلودگی مخلوط CMV با جنس پوتی‌ویروس، از لحاظ بوجود آمدن هم‌افزایی و خسارت مضاعف بین این ویروس‌ها در کشاورزی مهم است. به منظور تعیین اینکه ویروس‌های جنس پوتی‌ویروس بیشتر در چه نوع میزبان‌هایی با ویروس موزاییک خیار آلودگی مخلوط دارند و در کدام گیاهان این آلودگی مخلوط کمتر است مهم می‌باشد. برای این منظور، تعداد ۳۰۰ نمونه گیاهی مشکوک به آلودگی از خانواده‌های مذکور از منطقه‌ی شمال‌غرب کشور جمع‌آوری، نگهداری و از هر میزبان ۲۵ نمونه مربوط به جدایه‌های مختلف مورد بررسی واقع شد. نمونه ها دارای علایم موزاییک، پیسک، تاول‌های برجسته، بدشکلی، موزاییک زرد، کوتولگی بوته و نیز سایر علائم بیماری‌های ویروسی از جمله نخی‌شدن برگ بودند. به منظور بررسی اولیه‌ی وجود ویروس موزاییک خیار کارهای گلخانه‌ای با استفاده از میزبان های لکه‌موضعی و سیستمیک CMV همچنین کارهای آزمایشگاهی با استفاده یک جفت آغازگر اختصاصی منطبق بر ژن پروتئین پوششی CMV انجام شد. سپس، برای ردیابی آلودگی مخلوط با جنس پوتی‌ویروس از نمونه‌هایی که آلودگی آنها به ویروس موزاییک خیار محرز شده بود از آغازگرهای عمومی جنس پوتی‌ویروس استفاده شد و بیشترین آلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار با ویروس‌های جنس پوتی‌ویروس در کدو و گوجه فرنگی و کمترین اختلاط در ختمی، پنیرک، فلفل و خیار مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی

آلودگی مخلوط،
پوتی‌ویروس،
سینرژیسم،
ویروس موزاییک خیار

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

مقدمه

با توجه به اهمیت سبزی‌ها و مصارف متعدد آنها در تغذیه انسان، بررسی خسارت ناشی از ویروس‌ها در سبزیجات و نیز بررسی وضعیت شیوع بیماری‌های ویروسی مربوط به آنها در منطقه از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. سبزیجات از جمله گیاهان حساس به ویروس‌ها به شمار می‌روند که مورد حمله ویروس-های متنوع گیاهی قرار می‌گیرند (Rizos *et al*, 1992). یکی از مهمترین ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان و همچنین سایر سبزیجات کوکوموویروس‌ها می‌باشند و مخصوصا روی کدوئیان که یکی از محصولات عمده و مهم کشاورزی در ایران و شمال-غرب کشور هستند از نظر اقتصادی اهمیت فراوانی دارند (Kolivand *et al*, 2012). ویروس موزاییک خیار پراکندگی جهانی داشته و وسیع‌ترین دامنه میزبانی را در بین ویروس‌های گیاهی دارد، بطوریکه طیف وسیعی از گیاهان زراعی، باغی و زینتی را آلوده می‌کند (Gallitelli, 2000). تعداد گونه‌های میزبان CMV بیش از ۱۳۰۰ گونه گیاهی در بیش از ۱۰۰ خانواده از تک لپه‌ای‌ها و دو لپه‌ای‌ها شامل اکثر سبزیجات، گیاهان زینتی و گیاهان چوبی و نیمه چوبی بیان شده است (Duarte *et al*., 2013). ویروس موزاییک خیار علائم متنوعی را در میزبان‌های مختلف بروز می‌دهد و منجر به آلودگی سیستمیک در اکثر میزبان‌های گیاهی می‌شود اما ممکن است در تعدادی از محصولات از جمله یونجه بدون علائم باشد. اغلب کدوئیان به CMV حساس هستند (Zitter *et al*., 2009). آلودگی توام دو یا چند ویروس در گیاهان یک امر طبیعی است و ممکن است بر اپیدمی و تکامل ویروس‌ها تأثیرگذار باشد (Edwardson, 1966). در بعضی از موارد آلودگی مخلوط دو ویروس غیرمرتبط با هم منجر به تشدید علائم می‌شود، که این پدیده هم‌افزایی (synergism) نامیده می‌شود. آلودگی مخلوط ممکن است بر غلظت ویروس‌های آلوده کننده تأثیر بگذارد (Hull, 2013). هدف از این تحقیق بررسی آلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار با جنس پوتی‌ویروس در گیاهان جمع‌آوری شده از خانواده‌های مختلف سبزی‌صیفی، جالیزی بود (لازم به ذکر است چون جنس پوتی ویروس شامل گونه‌ها و گونه‌ها دارای سویه‌های متفاوتند، بررسی آلودگی مخلوط به طور اختصاصی برای هر گونه و سویه به دلیل حجم بالای کار در این تحقیق امکان‌پذیر نبود و بررسی صورت گرفته در حد جنس پوتی‌ویروس با پرایمرهای یونیورسال بود).

پوتی‌ویروس‌ها در شرایط آب و هوایی مختلف دامنه وسیعی از گیاهان مانند گندمیان، حبوبات، کدوئیان، اسفناجیان و بادمجانیان را آلوده می‌کنند. آب‌وهوای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری بهترین شرایط آب‌وهوایی برای فعالیت این ویروس‌هاست (Holling and Brunt, 1981). پوتی‌ویروس‌ها به عنوان پاتوژن‌های طبیعی غالبا در طبیعت حضور و در کاهش بازدهی محصولات اثر دارند (Hasan, 2004.). پوتی‌ویروس‌ها در درجه اول با شته‌ها انتقال می‌یابند. چند گونه‌ی شته از ناقلین موثر پوتی‌ویروس‌ها می‌باشند. این شته‌ها از طریق پارتنوژنز تولیدمثل می‌کنند و بدین وسیله شته بدون وقفه تا موقعی که شرایط زندگی فراهم است زاد و ولد می-نماید. هر شته در طول ۲۰ روز قادر است ۶۰ تا ۱۰۰ تخم تولید کند. ازدیاد سریع شته‌ها و انتقال آسان ویروس توسط آنها از یکسو و دامنه میزبانی وسیع ویروس از طرف دیگر باعث بوقوع پیوستن اپیدمی‌های مخرب در سراسر دنیا شده است (Garcia-Arenal *et al*., 2000). در بررسی آلودگی همزمان پوتی‌ویروس‌ها و ویروس‌های متعلق به سایر جنس‌ها، یک افزایش قابل توجه در شدت علائم دیده شده است. در بیشتر این برهمکنش‌ها تجمع پوتی‌ویروس افزایش نمی‌یابد، اما تجمع سایر ویروس‌ها افزایش می‌یابد. به طور مثال در آلودگی همزمان کدوئیان به CMV و سایر پوتی‌ویروس‌های *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) و *Watermelon mosaic virus* (WMV) غلظتCMV افزایش یافت و غلظت پوتی‌ویروس‌ها ثابت ماند (Wang *et al*., 2002). هچنین بررسی آلودگی همزمان ویروس موزاییک خیار و ویروس پیسک فلفل (PepMoV) در گیاهان فلفل نشان داده که در گیاهان به تنهایی آلوده، تیتر CMV کاهش یافته اما در گیاهان آلوده به این دو ویروس تیتر افزایش یافته است. اما تیتر PepMoV هیچ تفاوتی نشان نداد و این موید این است که این برهم‌کنش موجب هم‌افزایی CMV و PepMoV بوده است (Morphy *et al*., 2006). آلودگی مخلوط ویروس موزاییک هندوانه (WMV) که یک پوتی‌ویروس است با ویروس نکروز هندوانه (WNV) اثر تشدید کننده‌ای را روی کدوئیان نشان داده است (Fintti *et al*.,

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

2012). گزارشهایی نیز در مورد افزایش تجمع پوتی‌ویروس‌ها در آلودگی مخلوط با سایر ویروس‌ها داده شده است. در سیب‌زمینی شیرین آلوده به پوتی ویروس *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) و کراینی‌ویروس *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) مشاهده شد که غلظت SPFMV افزایش یافته در حالی که غلظت SPCSV ثابت مانده است (Karyeija *et al.*, 2006). برهم‌کنش تشدید کننده بین ویروس سبزردی گوجه-فرنگی و ویروس پژمردگی لکه‌دار گوجه‌فرنگی منجر به شکستن مقاومت در گیاه گوجه‌فرنگی گردید (Garcia-Arenal *et al.*, 2006). بهترین هم‌افزایی ویروس‌های گیاهی توصیف شده در برهم‌کنش بین ویروس ایکس سیب‌زمینی (PVX) و ویروس وای سیب‌زمینی (PVY) در توتون می‌باشد (Srinivasan *et al.*, 2007). در آلودگی همزمان سویا با ویروس موزاییک سویا (پوتی‌ویروس) و ویروس موزاییک یونجه (آلفاموویروس)، شدت علائم و سطح تجمع هر یک از این دو ویروس در سویا بررسی گردیده و مشاهده شد، که تعامل AMV با SMV منجر به هم افزایی می‌شود (Malapi-Nelson *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای آلودگی همزمان ویروس موزاییک خیار (CMV)، پروتئین پوششی آن را که با ویروس موزاییک زرد زوکینی (ZYMV) (پوتی ویروس) بیان شده پایدار می‌کند (Kim, 2010). در آزمایشی که روی برهم‌کنش برخی ویروس‌ها مانند ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (TYLCV) از بگوموویروس‌ها، ویروس موزاییک خیار (CMV) با ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی و اثر آنها بر رشد و عملکرد گیاهان گوجه‌فرنگی انجام پذیرفته مشاهده شده که در علائم و شدت بیماری، اثرات هم‌افزایی بیشتر توسط مخلوط ToMV + TYLCV و ToMV + TYLCV + CMV ایجاد می‌شود، در حالی‌که ترکیبی از ToMV + CMV باعث ایجاد علائم خفیف شده است. تمامی این برهم‌کنش‌ها باعث کاهش اثرات ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده گردیده است (Mohamed, 2010). طبق مطالعات انجام شده آنچه در آلودگی چندگانه به ویروس‌ها سبب افزایش غلظت یا میزان انتقال یک ویروس می‌شود، وجود یک پروتئین کد شدهٔ فعال از ویروس دیگر است (Ding *et al.*, 2003). برهم‌کنش کاملاً خنثی بین ویروس‌ها، در حالت سوم، به این دلیل است که همانندسازی و انتقال هر ویروس مستقل از دیگری می‌باشد و هیچ افزایشی در غلظت دو ویروس وجود ندارد، در حالیکه شدت بیماری‌زایی مجموعه دو ویروس در گیاه ممکن است افزایش یابد (Zhang *et al.*, 2011). بررسی برهم‌کنش ویروس-های موزاییک خیار و موزاییک چغندر در گیاه چغندرقند در شرایط گلخانه نشان داد که غلظت ویروس موزاییک خیار در اغلب گیاهانی که با دو ویروس آلوده شده بودند نسبت به گیاهانی که تنها با CMV آلوده شده بودند افزایش یافته بود و غلظت ویروس موزاییک چغندر در گیاهان دارای آلودگی منفرد و دوگانه یکسان بود (Mali *et al.*, 2013). در مطالعه‌ی دیگرآلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار استرین‌های (Ls,Sny) که دارای آر ان ای ماهواره بودند (WL47-sat RNA, B5sat RNA) در آلودگی مخلوط با پوتی‌ویروس‌ها، میزان تجمع و بسته‌بندی ویروس موزاییک خیار کاهش یافت مگر زمانی که B5sat RNA در آلودگی مخلوط با Ls-CMV بود. همچنین زمانی که استرین های CMV در آلودگی مخلوط با ویروس موزاییک زرد کدو بودند، آر ان ای ماهواره نقش ممانعت کننده روی تجمع و بسته بندی ویروس موزاییک خیار داشت و تجمع آن در گیاه را کاهش داد (Wang *et al.*, 2001). طهماسبی و همکاران بر روی برهم-کنش ویروس موزاییک خیار و ویروس موزاییک زرد لوبیا به صورت همزمان در گیاهان لوبیا و باقلا پرداخته و نشان داده‌اند که برهم‌کنش CMV و BYMV وابسته به گونه‌های میزبان و مرحله رشد گیاه فرق می‌کند (Tahmasebi *et al.*, 2010). می‌توان گفت که تعیین آلودگی مخلوط CMV با سایر ویروس‌ها مخصوصا پوتی‌ویروس‌ها، از لحاظ بوجود آمدن هم‌افزایی بین این ویروس-ها مهم است (البته بررسی هم‌افزایی نیازمند شناسایی گونه‌ها و نژادهای جنس پوتی‌ویروس و برهم کنش‌های آنها با ویروس موزاییک خیار در میزبان‌های مختلف با روش‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای می‌باشد که در این تحقیق فقط به بررسی آلودگی‌های مخلوط این جنس با ویروس موزاییک خیار پرداخته شد و اثرات هم‌افزایی یا آنتاگونیستی بین دو ویروس مورد بررسی قرار نگرفت). همچنین به درک اینکه جنس پوتی‌ویروس بیشتر در چه نوع میزبان‌هایی با ویروس موزاییک خیار آلودگی مخلوط دارند و در کدام نوع گیاهان این آلودگی مخلوط کمتر است.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در طی فصل‌های بهار، تابستان و پاییز از برخی محصولات صیفی، سبزی و گیاهان میزبان ویروس موزاییک خیار در شمال‌غرب کشور شامل استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و اردبیل به منظور تهیه منبع ویروسی، در سال ۱۳۹٤ انجام گرفت (جدول ۲). نمونه‌ها بر اساس علائم مشاهده شده و معمول ویروس موزاییک خیار شامل موزاییک بر روی برگ و میوه، پیسک، تاول‌های برجسته روی میوه، بدشکلی میوه، موزاییک زرد، کوتولگی بوته و نیز سایر علائم بیماری‌های ویروسی از جمله نخی شدن در برگ گوجه‌فرنگی، باریک شدن و بد شکلی برگ و کلروز در طی فصل‌های بهار، تابستان و پاییز طبقه‌بندی و انتخاب شدند. از هر مزرعه نیز یک نمونه به ظاهر سالم به عنوان شاهد منفی برداشته شد که بعدا عاری بودن آن از CMV از طریق کارهای گلخانه‌ای و آزمایشگاهی محرز شد. در این پژوهش ۲۵ جدایه‌ی مشکوک به آلودگی از هر میزبان (مجموعا ۱۷۵ جدایه از کل نمونه‌های جمع‌آوری شده) که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده بود انتخاب گردید. به منظور در دست بودن منبع ویروسی در گیاه تازه قسمتی از نمونه‌های جمع‌آوری شده بر روی گیاه میزبان گلخانه‌ای مایه‌زنی شدند. سپس بخشی از آن نمونه گیاهی جهت مطالعات فوری به یخچال منتقل شد، بخشی نیز بر روی کلرید کلسیم آب‌گیری و خشک شده و بخش دیگری نیز در فریزر ۲۰- درجه سانتی-گراد به حالت منجمد نگهداری شدند. به منظور بررسی بیشتر علائم ناشی از ویروس موزاییک خیار بر روی میزبان‌های مختلف تشخیصی، از گیاهان تشخیصی متفاوت شامل سلمه‌تره *Chenopodium quinoa* Wild)، *C.amaranticolor*)، گل‌تکمه‌ای (*Gomphrena globousa*) به عنوان میزبان لکه-موضعی برای خالص‌سازی بیولوژیکی ویروس موزاییک خیار مورد استفاده قرار گرفتند (البته لازم به ذکر است برای خالص سازی تک لکه‌های ایجاد شده در گیاهان لکه موضعی چندین بار به گیاهان لکه موضعی عاری از ویروس پاساژ داده شد و برای دقت در خالص‌سازی از چندین میزبان لکه‌موضعی ویروس موزاییک خیار استفاده شد. همچنین تعداد لکه‌ها در مایه‌زنی‌های اولیه زیاد و اندازه‌ی لکه‌ها کوچکتر بود شاید دلیل آن وجود آلودگی مخلوط با سایر ویروس‌ها در مایه‌زنی‌های ابتدایی بوده است)(شکل ۱).

استخراج آران‌ای کل از نمونه‌های انتخاب شده (جدول۲) با استفاده از روش روحانی و همکاران با تغییرات انجام شد (Rowhani *et al*., 2003). در این روش ۰/۱ گرم از برگ آلوده در ۲ میلی لیتر بافر استخراج سرد استخراج شد. جهت انجام آر تی پی سی آر از یک جفت آغازگر اختصاصی ویروس موزاییک خیار که بر اساس بخشی از RNA3، مربوط به پروتئین پوششی، بر اساس توالی جدایه بومی (AY871070) طراحی‌شده بودند استفاده شد. توالی آغازگر مستقیم (CMVCP-F) 5'AGTGGATCCATGGAAAATCTGAATCAACCAG3' همچنین توالی آغازگر معکوس(CMVCP-R) عبارت بود از 5' AACTTCGAATTC(GT)ACTGGGAGCAA(CT)CC(AG)GACGTGGG 3' (جدول۱). با این آغازگرها قطعه‌ای به اندازه‌ی ٦٧٥ جفت باز انتظار می‌رفت تکثیر یابد (تمرکز ما در منطقه‌ی شمال‌غرب بر روی زیرگروه یک ویروس موزاییک خیار بود به دلیل اینکه زیرگروه دوم بیشتر در مناطق جنوب کشور مشاهده شده و تاکنون از وجود آن در شمال‌غرب کشور گزارشی در دسترس نیست). این واکنش در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر در ترموسایکلر مدل Quanta biotech Q-24 انجام گرفت. مرحله اول برای از بین رفتن ساختار ثانویه و اتصال اولیه آغازگرها با الگو انجام شد و مواد واکنش شامل ۱ میکرولیتر آر ان ای استخراج شده بهمراه ۱/۱ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه استریل و ۰/٤ میکرولیتر از محلول آغازگر معکوس (۵ pmol/µl) در میکروتیوب مخلوط شده و سپس در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

شد. سپس جهت اجتناب از تشکیل مجدد ساختارهای ثانویه میکروتیوب‌ها سریعا بر روی یخ منتقل شدند. آنگاه ۷/۵ میکرولیتر از ترکیب حاوی دو میکرولیتر بافر آرتی 5x ,۱ میلی مولار dNTP-۴۰ واحد RNasin۲۰۰ واحد (نیم میکرولیتر) آنزیم ترانسکریپتاز (Fermentas, M-MulvLithuania) به هر واکنش اضافه شد. پس از ریختن مخلوط تهیه شده به هر کدام از تیوبها، به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند و سپس مجدداً به دستگاه ترموسایکلر انتقال و تحت برنامه یک ساعت در ۴۲°C که دمای مورد نیاز برای فعالیت بهینه آنزیم نسخه‌بردار معکوس را فراهم می‌کند، قرار داده شدند. سپس در ۷۰ °C به مدت ۱۰ دقیقه به منظور غیر فعال نمودن آنزیم نسخه بردار معکوس و یک دقیقه در ۲۵°C قرار داده شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه شد که حاوی ۲ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۲ میلی مولار MgCl2، ۲/۵ پیکو مول آغازگر مستقیم و ۱/۲۵ واحد آنزیم *Taq*DNA polymerase (Fermentas Lithuania) بود. سپس ۲/۵ میکرولیتر از cDNA سنتز شده در واکنش آرتی به این ترکیب اضافه شد. در پی سی آر از پروفیل حرارتی یک چرخه ۹۴°C به مدت ۱ دقیقه، سی و پنج سیکل متشکل از ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۰°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲°C به مدت ۱ دقیقه، در نهایت یک سیکل ۷۲°C به مدت۵ دقیقه استفاده شد. به منظور ارزیابی نتایج حاصل از RT-PCR، الکتروفورز افقی در ژل آگارز ۱/۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید در بافر TBE الکتروفورز گردید. آن گاه ۴µl از فرآورده‌های RT-PCR با ۲µl رنگ بروموفنول بلو 6X و ۶µl آب مقطر دیونیزه مخلوط و در چاهک‌ها ریخته شدند. برای دانستن اندازه‌ی محصولات RT-PCR، از نشانگر وزن مولکولی (1 µg/µl) *Eco*RI DNA *Hind*III+ Lambda استفاده شد. جهت ردیابی ویروس-های جنس پوتی‌ویروس در نمونه‌هایی که آلودگی مثبت به (CMV)داشتند انجام آرتی- پی سی آر از جفت آغازگر عمومی جنس پوتی‌ویروس استفاده گردید. آغازگر مستقیم Nib2F 5' (GTTTGYGTIG AYGYTTYAAYAA)3' مطابق با توالی نوکلئوتیدی ۷۶۱۹-۷۶۴۱، و آغازگر معکوس 3R Nib 3'(TCIACIACIGTIGAIGGYTGNCC) 5'Nib (جدول ۱) مطابق با توالی نوکلئوتیدی ۷۹۴۵-۷۹۶۸ در ویروس وای سیب‌زمینی (که حالت حفاظت شده در جنس پوتی ویروس دارد) طراحی شده بودند (Zheng *et al*., 2008) که با این آغازگرها انتظار می‌رفت تکثیر قطعه‌ای به طول تقریبا ۳۵۰ جفت باز در واکنش پی‌سی‌آر قابل انتظار باشد.

واکنش سنتز رشته اول مکمل آر ان ای که دی ان ای مکمل (cDNA) نامیده می‌شود مطابق با همان مراحلی که در سنتز cDNA مربوط به قاب خواندنی پروتئین پوششی ویروس CMV ذکر شد (پرتکول روحانی و همکاران با تغییرات)، صورت پذیرفت. لازم به ذکر است غلظت محلول‌های مورد استفاده و حجم آنها در واکنش بر حسب میکرولیتر در حجم نهایی ۱۰میکرولیتر مواد واکنش شامل ۱ میکرولیتر آر ان ای استخراج شده بهمراه ۱/۱ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه استریل و ۰/۴ میکرولیتر از محلول آغازگر معکوس (۵pmol/µl) در میکروتیوب مخلوط شده و سپس در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس جهت اجتناب از تشکیل مجدد ساختارهای ثانویه میکروتیوب‌ها سریعا بر روی یخ منتقل شدند. آنگاه ۷/۵ میکرولیتر(ترکیب حاوی دو میکرولیتر بافر آرتی 5x۱۵میلی مولارdNTP ۴۰ واحد RNasin و۲۰۰ واحد (نیم میکرولیتر) آنزیم ترانسکریپتاز (Fermentas, M-MulvLithuania) به هر تیوب اضافه شد. الکتروفورز افقی در ژل آگارز ۱/۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید در بافر TBE الکتروفورز گردید. آن گاه ۴µl از فرآورده‌های RT-PCR با ۲µl رنگ بروموفنول بلو 6X و ۶µl آب مقطر دیونیزه مخلوط و در چاهک-ها ریخته شدند. برای دانستن اندازه‌ی محصولات RT-PCR، از نشانگر وزن مولکولی مارک (Gene Ruler 100bp DNA) استفاده شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

Table 1- Primers used in this study

ژن	توالی آغازگرها	محصول PCR
(CMV CP-F)	5'AGTGGATCCATGGAAAATCTGAATCAACCAG3'	٦٧٥
(CMV CP-R)	5'AACTTCGAATTC(GT)ACTGGGAGCAA(CT)CC(AG)GACGTGGG3'	٦٧٥
Nib2F	5'GTTTGYGTIG AYGYTTYAAYAA3'	٣٥٠
Nib3R	5'TCIACIACIGTIGAIGGYTGNCC3'	٣٥٠

نتایج و بحث

مشاهدات مزرعه‌ای نشان داد که تنوع زیادی از علائم بیماری ویروسی در منطقه به خوبی قابل مشاهده است. این تنوع علایم به احتمال زیاد ناشی از آلودگی مخلوط، جدایه‌ی ویروسی و نوع ارقام کشت‌شده در منطقه است. با بررسی‌هایی که بر روی میزبان-های مختلف لکه‌موضعی انجام شد دو نوع سلمه‌تره *Chenopodium amaranticolor, C. quinoa*، برای لکه‌گیری و مایه‌زنی بر روی میزبان تکثیری ویروس موزاییک خیار استفاده شدند. تعداد، شدت و نوع علائم در جدایه‌های مختلف بر روی میزبان‌های مختلف، متفاوت بود. جدایه‌هایی که در حدواسط و دارای لکه‌های متوسط قرار می‌گرفتند، از لکه‌های آنها بر روی مایه‌زنی میزبان‌های سیستمیک و تکثیری برای بررسی نوع علائم مورد استفاده قرار گرفتند (شکل۱). علاوه بر سلمه‌تره برخی از جدایه‌ها نیز بر روی گل تکمه‌ای (*Gomphrena globosa*) نیز مایه‌زنی شدند. لکه‌های ایجاد شده بر روی گل تکمه‌ای اندازه‌ی متوسط داشته و خیلی زود لکه‌های ایجاد شده نکروزه می‌شدند به همین دلیل از لکه‌های این گیاه برای خالص‌سازی سیستمیک سریع استفاده شد. بطور کلی علائم ویروس موزاییک خیار روی کدو بخوبی مشخص بود و نسبت به سایر میزبان‌های تکثیری ویروس شدیدتر و زودتر بروز کردند. اولین علائم بر روی خیار از روز هشتم به بعد قابل مشاهده بود هر چند علائم بر روی این میزبان تکثیری به اندازه کدو واضح نبود اما در برخی از موارد در مراحل ابتدایی آلودگی ویروس سبب از بین رفتن و مرگ بوته-های خیار شد. از نظر شدت علایم خیار بعد از کدو در جایگاه دوم در میان گیاهان مایه‌زنی شده قرار گرفت. برخی از جدایه-هایی که بر روی گوجه‌فرنگی مایه زنی شدند هیچ علائمی نشان ندادند اما در برخی دیگر حدود ۱۰ روز پس از مایه‌زنی موزاییک خفیف همراه با تغییر شکل برگ و تاول‌هایی بر روی برگ مشاهده شد و در مواردی نیز بدشکلی برگ در مراحل ابتدایی رشد گوجه‌فرنگی و باریک شدن و نخی شدن برگ‌های انتهایی دیده شد. علائم ویروسی بر روی توتون به مراتب دیرتر از سایر میزبان‌های تکثیری ویروس دیده شد (در حدود ۱۲ تا ۲۰ روز). علائم ایجاد شده نسبتاً ملایم بود فقط در موارد نادری علائم شدید در *N. tabacum* دیده شد که با باریکی برگ‌های انتهایی همراه بود. بطور کلی علائم ایجاد شده بر روی توتون شامل موزاییک خفیف بود که در اکثر جدایه‌ها دیده شد. کوتولگی بوته در *N. rustica* و در موارد کمی نیز کلروز و زردی برگ در توتون دیده شد. علائم ویروسی در گیاهان تکثیری گلخانه‌ای مخصوصا کدو مایه‌زنی شده با جدایه‌هایی که از مزرعه جمع آوری شده بودند خیلی شدید و در فاصله ٤ تا ٦ روز علائم اولیه دیده می‌شد و پس از مدتی علائم شدیدتر و بصورت سیستمیک درآمد و حتی پارگی برگ نیز در برخی از جدایه‌ها قابل مشاهده بود که به احتمال زیاد ناشی از آلودگی ویروس موزاییک خیار با سایر ویروس‌های آلوده کننده بود. اما پس از خالص‌سازی و مایه‌زنی لکه‌های خالص شده علائم به مراتب کمتر و ملایم‌تر بود البته در برخی از جدایه‌ها تغییری در علائم ایجاد نشد و حتی در موارد کمی خفیف‌تر نیز بود (شکل۱).

در این مطالعه از گیاهان محک برای ردیابی پوتی‌ویروس‌ها استفاده نشد چرا که هدف ابتدا شناسایی ویروس موزاییک خیار وسپس بررسی آلودگی مخلوط آن با پوتی‌ویروس‌ها بود. البته در کارهای گلخانه‌ای بعضا مشهود بود نمونه‌هایی که آلودگی مخلوط در آنها بعدا با کارهای آزمایشگاهی مشاهده شد در گیاهان لکه موضعی لکه‌های ریزتر و بیشتر و در گیاهان سیستمیک سریع تر

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

بروز می‌کردند. در این تحقیق آر ان آی کل جهت ردیابی آلودگی مخلوط جنس پوتی‌ویروس با ویروس موزاییک خیار از نمونه-هایی گرفته شد که آلودگی آنها به ویروس موزاییک خیار در آنها به روش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی مورد تایید قرارگرفته‌بود.

ردیابی ویروس موزاییک خیار

به منظور بررسی ویروس موزاییک خیار می‌بایست ویروس موزاییک خیار را از نمونه‌های جمع‌آوری شده با روش‌های گلخانه‌ای ردیابی می‌کردیم. ردیابی براساس ژن پروتئین پوششی ویروس موزاییک خیار انجام گرفت. علاوه بر نمونه‌های مثبت در تست‌های گلخانه‌ای از تعدادی نمونه که علائم بیماری ویروسی داشتند اما با تست‌های گلخانه‌ای وجود ویروس ردیابی نشده بود نیز در این آزمون استفاده شد. در این آزمون از شاهد منفی (گیاه سالم و بدون علائم) و شاهد مثبت (ژن پروتئین پوششی کلون شده در یک پلاسمید (Nematollahi *et al*., 2003) نیز استفاده شد. در نهایت با انجام این آزمون با استفاده از آغازگرهای منطبق بر توالی پروتئین پوششی روی نمونه‌های مشکوک به آلودگی با CMV قطعه‌ای به طول حدود ٦٧٥ جفت باز از نمونه شاهد مثبت و تعداد زیادی از جدایه های نماینده تکثیر یافت و مطابق با انتظار هیچ قطعه ای در شاهد منفی افزایش پیدا نکرد که نشان دهنده قابل اعتماد بودن نتایج آرتی پی سی آر بود (شکل ۲). شکل شماره ۲ ردیابیCMV با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی CMV را روی جدایه‌های مختلف مربوط به گوجه فرنگی که از شهرهای مختلف ناحیه شمال‌غرب ایران جمع‌آوری شده را نشان می‌دهد.

ردیابی آلودگی مخلوط نمونه‌های مثبت آلوده به ویروس موزاییک خیار با پوتی‌ویروس‌ها

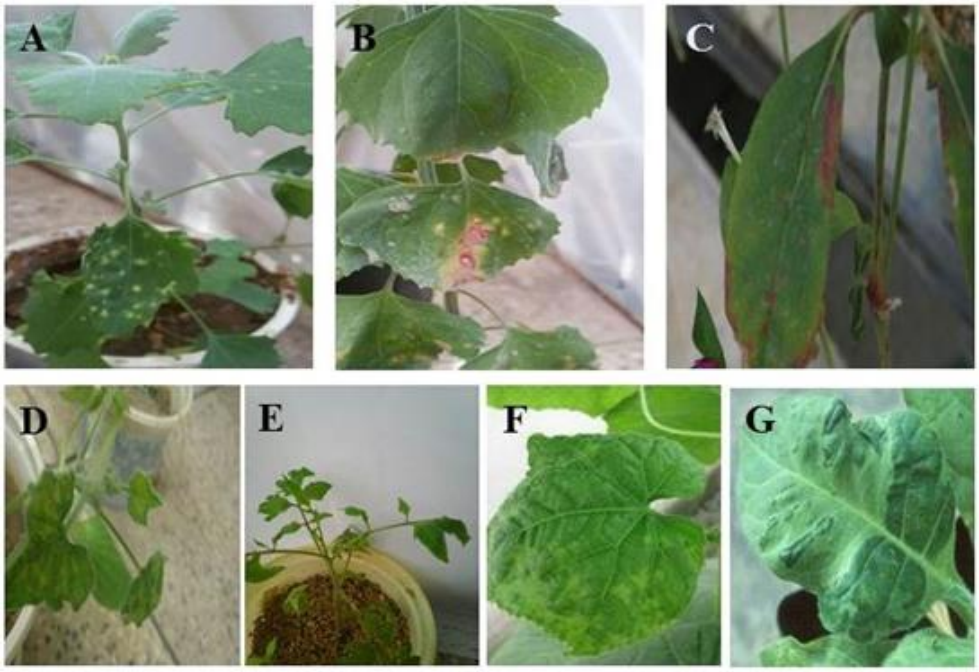
بعد از مطالعات گلخانه‌ای و استخراج آر ان ای کل از برگ‌های مشکوک و آلوده به ویروس موزاییک خیار و انجام پی‌سی‌آر و محرز شدن آلودگی به ویروس موزاییک خیار، انجام آرتی پی سی آر با جفت آغازگرهای عمومی پوتی‌ویروس‌ها برای ار ان ای کل نمونه‌های مثبت آلوده به ویروس موزاییک خیار که با روش روحانی و همکاران (پروتوکول در بالا ذکر شده) استخراج شده بود انجام شد. برای پی سی آر با جفت آغازگر Nib2F/Nib3R استفاده شد همچنین در این آزمون از شاهد منفی(گیاه سالم و بدون علائم) و شاهد مثبت (cDNA های پروژه‌ی خانم آیسان قاسم‌زاده و همکاران در مورد ردیابی پوتی ویروس‌های منطقه‌ی شمال‌غرب (Ghasemzadeh *et al*., 2002)) نیز استفاده شد. در نهایت با انجام این آزمون با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی پوتی‌ویروس‌ها روی نمونه‌های مثبت به آلودگی با CMV انجام شد و در نمونه‌های مثبت قطعه‌ای به طول حدود ۳٥۰ جفت باز تکثیر یافت(لازم به ذکر است از این ۱۷٥ نمونه ی مورد بررسی، آلودگی ۱۱٦ مورد به ویروس موزاییک خیار و از بین نمونه‌های آلوده به ویروس موزاییک خیار آلودگی ٤٤ مورد به ویروس‌های جنس پوتی ویروس مشاهده گردید). مطابق با انتظار هیچ قطعه‌ای در شاهد منفی تکثیر پیدا نکرد که نشان دهنده قابل اعتماد بودن نتایج آرتی پی سی آر بود.

تصویر نتایج الکتروفورز را نشان می‌دهد (شکل۳). شکل شماره سه آلودگی مخلوط در برخی جدایه‌های گوجه‌فرنگی را به ویروس موزاییک خیار و ویروس‌های جنس پوتی‌ویروس نشان می‌دهد.در چاهک شماره ی 9 جدایه‌ی TaTo1 آلودگی مخلوط نشان نداد.

تعداد کل جدایه‌های جمع‌آوری شده ۳۰۰ جدایه بوده که ۲٥ نمونه از هر میزبان مربوط به جدایه های مختلف به عنوان نماینده برای کارهای گلخانه‌ای و آزمایشگاهی انتخاب شدند. از ۲٥ جدایه‌ی نماینده برای هر میزبان، تعداد آلودگی‌های منفرد و مخلوط ویروس موزاییک خیار با پوتی ویروس‌ها بر اساس کارهای ملکولی و گلخانه‌ای (نتایج در جدول شماره۲) آمد. بیشترین آلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار با ویروس‌های جنس پوتی‌ویروس در خانواده‌ی سولاناسه مربوط بود به گیاه گوجه‌فرنگی و کمترین آلودگی به ویروس موزاییک خیار و پوتی ویروس‌ها در فلفل دیده شد.

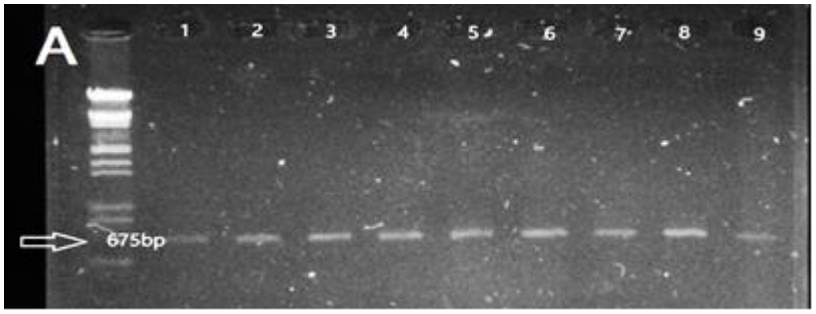
در خانواده‌ی کدوییان بیشترین آلودگی به ویروس موزاییک خیار همراه با پوتی‌ویروس‌ها در کدو(شاید دلیل آن عدم استفاده از ارقام مقاوم یا بذرزاد شدن ویروس موزاییک خیار و پوتی-ویروس‌ها در آن باشد که کشاورزان از میوه‌های آلوده‌ی فصل جاری برای سال بعد بذرگیری می‌کنند)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]



شکل ۱- علایم لکه موضعی و سیستمیک ایجاد شده حاصل از مایه‌زنی جدایه‌های ویروس موزاییک خیار بر روی میزبان‌های لکه موضعی و سیستمیک
A–لکه‌های کلروزه بر روی برگ سلمه‌تره *Chenopodium quinoa*: B لکه‌های کلروزه بر روی برگ سلمه‌تره گونه‌ی *C. amaranticolor*
C– لکه‌های کلروزه بر روی برگ گل تکمه‌ای *Gomphrena globusa* همچنین علایم سیستمیک شدید روی میزبان‌های سیستمیک D– کدو E– گوجه فرنگی F– خیار G– توتون حاصل از مایه‌زنی جدایه‌هایی که قبلا در گلخانه از آن‌ها علایم لکه‌موضعی گرفته شده بود به منظور خالص سازی جدایه ها.

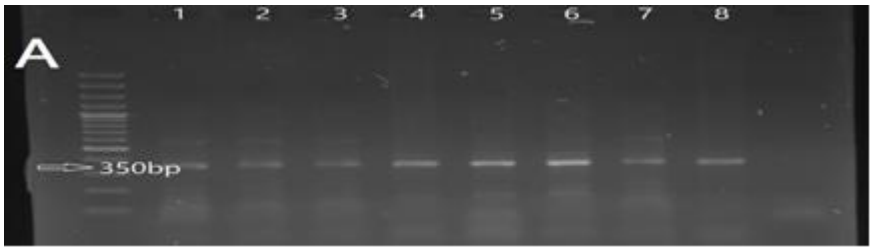
Figure 1- chlorotic and systemic spots on inoculated leaves with CMV isolates on systemic and local hosts.
A- chlorotic spots on *Chenopodium quinoa* B- chlorotic spots on *Chenopodium amaranticolor*
C- chlorotic spots on *Gomphrena globusa* and severe systemic symptoms on systemic hosts D- *Cucurbita pepo*
E- *Solanum lycopercicum* F- *Cucumis sativus* G-*Nicotiana tabacum* produced from inoculation of isolates that had shown symptoms of chlorotic spots in greenhouse in order to purifying isolates.



شکل ۲– ردیابی CMV با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی CMV نشان داد که از جدایه های آلوده قطعه ای به اندازه ی 675bp تکثیر شده است. از آگارز و نشانگر وزن مولکولی (*Eco*RI (1 µg/µl Lambda DNA *Hind* III+ استفاده شد. به ترتیب شماره چاهک‌های ۱ تا ۹ عبارت‌اند از جدایه‌های نمونه ی دی ان ای شاهد -MaTo1 -MaTo2 -TaTo8 -TaTo1 -BoTo3 -OuTo3 -ArTo1 -ShTo1

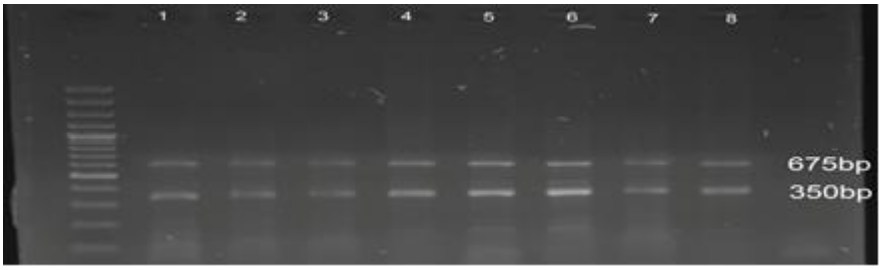
Figure 2- Detecting of CMV using coat protein specific primers revealed that the isolates have CMV with a 675bp length .using agarose and *Eco*RI (1 µg/µl Lambda DNA *Hind* III+ molecular weight marker. The number of wells are respectively a witness DNA sample- BoTo3-Outo3- ArTo1- ShTo8- MaTo1- MaTo2- TaTo8.TaTo1.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]



شکل ۳– ردیابی پوتی ویروس‌ها با استفاده از آغازگرهای عمومی جنس پوتی ویروس(Nib2F-(Nib3R نشان داد که از جدایه های آلوده قطعه ای بـه اندازه ی 675bp تکثیر شده است. از پودر آگارز و نشانگر وزن مولکولی مارکر (Gene Ruler 100bp DNA) استفاده شد. به ترتیب شماره چاهـک های ۱تا 8 عبارت‌اند از جدایه‌های نمونه ی دی ان ای شاهد-TaTo8-BoTo3-MaTo2-MaTo1-ShTo1-ArTo1-OuTo3

Figure 3- Detecting of Potyvirus genus using universal primers revealed that the isolates have potyvirus with a 675bp length. The number of wells are respectively a witness DNA sample- BoTo3-Outo3- ArTo1- ShTo8- MaTo1- MaTo2- TaTo8.



شکل ٤– :نتیجه واکنش مالتی پلکس پلی مراز روی ژل آگارز و نشانگر وزن مولکولی مارکر (Gene Ruler 100bp DNA) استفاده شد.

Figure 4 - Multiplex polymerase chain reaction results on agarose gel and Gene Ruler 100bp DNA molecular weight marker.

جدول۲- نتایج کلی بررسی آلودگی‌های منفرد و مخلوط ویروس موزاییک خیار با پوتی ویروس‌ها در منطقه‌ی شمال‌غرب ایران

Table 2- Overall Results for presence of single and mixed *Cucumber mosaic virus* (CMV) infections with potyviruses in North western of Iran

میزبان	تعداد نمونه ی مشکوک انتخاب شده	تعداد نمونه آلوده به CMV	تعداد نمونه ی آلوده به CMVهمراه با پوتی ویروس ها
خیار	۲۵	۱۹	٥
کدو	۲۵	۲۲	۱۳
گوجه فرنگی	۲۵	۲۰	۱٤
فلفل	۲۵	۱٦	٤
تاج ریزی	۲۵	۱٦	۸
ختمی	۲۵	۱٤	۰
پنیرک	۲۵	۹	۰

و کمترین آلودگی مخلوط در خیار محرز شد (احتمالا دلیل آن عدم استفاده از ارقام مقاوم وارداتی می‌باشد). علف‌های هرزی که از آنها ویروس موزاییک خیار و بعضا آلودگی مخلوط با پوتی‌ویروس گزارش شد (تاج‌ریزی: *Solanum nigrum*) اتفاقا در خانواده‌ای مشترک با گوجه‌فرنگی به نام *Solanaceae* قرار می‌گیرند.در این علف هرز پنجاه درصد نمونه هایی که در آنها وجود CMV ثابت شد آلودگی مخلوط با پوتی ویروس‌ها را نشان دادند که این علف‌هرز حاشیه ی مزارع ممکن است در آلودگی مزارع سهم مهمی داشته باشد.

در مورد خانواده‌ی پنیرک‌ها (پنیرک *Malva spp.*، ختمی) آلودگی به ویروس موزاییک خیار محرز ولی آلودگی‌به پوتی‌ویروس‌ها مشاهده نشد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

منابع

Ding, S. W., Shi, B. J., Li, W. X. and Symons, R. H. 2003. An interspecies hybrid RNA virus is significantly more virulent than either parental virus. *Proceedings of the National Academy of Science*, 93: 7470- 7474.

Duarte, L. M. L., Rivas, E. B., Alexandre, M. A. V., Harakava, R. and Veauvy, M. C. D. 2013. Genealogy of *Cucumber mosaic virus* isolated from ornamental species. *American Journal of Plant Sciences*, 4: 1081-1087.

Edwardson, J. R. 1966. Electron microscopy of cytoplasmic inclusion in cells infected with rod shaped viruses. Amer. *Journal of Botany*, 53: 359-364.

FINETTI-SIALER, T. Mascia, F, Cillo. 2012. Biological and molecular characterization of a recombinant isolate of *Watermelon mosaic virus* associated with a *Watermelon necrotic disease* in Italy. *European Journal of Plant Pathology*, Dordrecht, 132: 317-322.

Gallitelli, D. 2000. The ecology of *Cucucmber mosaic virus* and sustainable agriculture. *Virus Research*, 71: 9–21.

Garcia-Arenal, F., Escriu, F., Aranda, M. A., Alonso-Prados, J. L., Malpica, J. M. and Fraile, A. 2006. Molecular epidemiology of *Cucumber mosaic virus* and its satellite RNA. *Virus Research*, 71: 1–8.

Garcia-Arenal, F., Wang, J., Xu, W., Xiang, B. and Lin, H. 2000. Variation analysis of two *Cucumber mosaic viruses* and their associated satellite RNAs from sugar beet in China. *Virus Genes*, 33(3):293-298.

Ghasemzadeh, A., Sokhandan Bashir, N. and Masoudi, N. 2012. Sequencig part of *Watermelon Mosaic virus* genome and phylogenitical comparision of 5 isolate with other isolates from world. *Journal of Agriculture and food technology*, 2(6):93-101.

Hollings, M. and Brunt, A. 1981. Potyvirus group Description, CMI/ AAB Description of Plant viruses. No. 245.

Hasan, H. 2004. Generation of an infectious *Beet mosaic virus* (BtMV) full- length clone based on the complete nucleotide sequence of a German isolate. Doctoral Thesis. University of Hannover, Germany.

Hull, R. 2013. Characterization of synergy between *Cucumber mosaic virus* and potyviruses in cucurbit hosts. *Phytopathology*, 92: 51-58.

Karyeija, R. F., Kreuze, J. F., Gibson, R. W. and Valkonen, J. P. T. 2006. Synergistic interactions of a potyvirus and a phloem-limited Crinivirus in sweet potato plants. *Virology*, 269: 26-36.

KIM, M. K. 2010. Characteristics of *Cucumber mosaic virus* infecting zucchini in Korea. *Plant Pathology Journal*, Seoul, 26(2): 139-148.

Kolivand, D. and Sokhandan-Bashir, N and Mozaffari, J. 2012. .molecular detection of *Cucumber mosaic virus* non necrogenic satellite RNA in Tobacco plant. *Iranian Journal of Plant Protection Scince*, 43: 223-231.

Malapi-Nelson, M., Wen, R-H., Ownley, B. H. and Hajimorad, M. R. 2009. Co-infection of soybean with *Soybean mosaic virus* and *Alfalfa mosaic virus* results in disease synergism and alteration in accumulation level of both viruses. *Plant Disease*, 93: 1259-1264.

Mali, V. R, Subr, Z., and Kudela, O. 2013. Seed Transmission of Comovirus and Potyviruses in Fababean and Vetch Cultivars Introduced into Slovakia. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 38: 87-97.

Mohamed, E. F. 2010. Interaction between some viruses which attack tomato (*Lycopersicon esculentum*) Plants and their effect on growth and yield of tomato plants. *Journal of American Science*, 6(8): 311-320.

Murphy, J.F., Rhoads, R.E., Hunt, A.G., and Shaw, J.G. 1990. The VPg of tobacco etch virus RNA is the 49-kDa proteinase or the N-terminal 24 KDa part of the proteinase or the N-terminal 24 KDa part of the proteinase. *Virology*. 178: 285-288.

Nematollahi, S., Sokhandan Bashir, N. Torabi, E. 2008. *Cucumber mosaic virus* subgroup IA frequently occurs in the northwest Iran. *Acta Virologica*: 52(4): 237-42.

Rizos, H., Gunn, L.V., Pares, R. D. Gillings, M. R. 1992. Differentiation of *Cucumber mosaic virus* isolates using polymerase chain reaction. *Journal of General Virology*, 73: 2099-2103.

Rowhani, A., Maningas, M. A., Lile, L. S., Daubert, S. D., Golino, D. A. 2003. Development of a detection system for viruses of woody plants based on PCR analysis of immobilized virions. *Phytopathology*, 85: 347–35.

Srinivasan, R. and Alvarez, J. M. 2007. Effect of mixed viral infections (*Potato Virus Y - Potato leaf roll virus*) on biology and preference of vectors *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: *Aphididae*). *Journal of Economic Entomology*, 100(3): 646-655.

Tahmasebi, A., Dizadji A., Farhoudi, F., Koohi-Habibi, M. 2010. Interaction of Cucumber mosaic virus and Bean yellow mosaic virus in co-infected plants of bean and broad bean. Archives of phytopathology and plant protection, 46: 1081-1092.

Wang, Y., Gaba, V., Yang, J., Palukaitis, P. and Gal-on, A. 2001. Characterization of synergy between

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]

Cucumber mosaic virus and potyviruses in cucurbit hosts. *Phytopathology*, 92: 51-58.

Zhang, X. S., Holt, J. and Colvin, J. 2011. Synergism between plant viruses: A mathematical analysis of the epidemiological implication. *Plant Pathology*, 50: 732-746.

Zhang, L., Wayper, P. J., Gibbs, A. J. Fourment, M. Rodoni, B. C., and Gibbs, MX 2008. A cumulating variation at conserved sites in potyvirus genome is driven by species discovery and effects degenerate primer design. *PLoS ONE*. 3(2), e 1586.

Zitter, T. A. and Murphy, J. F. 2009. The ecology of *Cucucmber mosaic virus* and sustainable agriculture. *Virus Research*, 71: 9–21.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 2

Survey on presence of *Cucumber mosaic virus* (CMV) in single and mixed infections with potyviruses in North-West of Iran

Mehrdad Salehzadeh*

Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
*Corresponding Author: mehrdadsalehzadeh@gmail.com

Abstract:

Cucumber Mosaic Virus (CMV) is one of the most important viruses infecting Cucurbitaceae and has a wide host range. However, presence of mixed infections with other viruses increases symptoms and damages of viruses. The present study aimed to investigate the mixed infection of CMV with Potyvirus in plants collected from various plant families including Cucurbitaceae with cucumber and Cucurbit, *Solanaceae* with *tomato*, pepper and *Solanum nigrum* and Malvaceae with *Malva. sp* and *Althea sp*. Determining in which hosts Potyviruses are mix infected with CMV and in which plants this infection is negligible, is important. Thus, 300 plant samples suspected to be infected were collected and preserved from above-mentioned families from Northwestern of Iran for laboratory and greenhouse experiments with symptoms of Mosaic, deformity and mottling, shrub dwarfism, yellowing and other symptoms of viral plant diseases including (shoe – string in tomato) etc. from each host, 25 samples related to various isolates were scrutinized. In order to conduct primary research on the presence of CMV, systemic and local host of CMV were applied in greenhouse and a pair of CMV coat protein-specific primers were utilized in RT-PCR. Then, detecting mixed infection with Potyviruses was conducted using RT-PCR with universal primers of Potyvirus genus NIb2F/NIb3 in samples whose infection to CMV was proved. The most of mix infections were observed in tomato and cucurbit and the least of mix infections were observed in Malva, pepper and cucumber.

Keywords: Universal and specific primers, Mixed infection, Synergism, Cucumber Mosaic Virus

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-15]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.4.5]