دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا: ۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال ۱۲، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۴۰۲
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 12(2), 2023

Research Article

The reaction of four pumpkin varieties to cucumber mosaic virus by analyzing the expression of PAL and PR2 genes

Mahsa Jahandideh[1], Sevil Nematollahi✉[2] , Farshad Rakhshandehroo[1]
1. Department of Plant Protection, College of Agricultural Sciences and Food Industries, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Department of Plant Protection, Islamic Azad University Tabriz Branch, Tabriz, Iran.

Received: 2023.06.12 Accepted: 2023.08.30

Jahandideh M, Nematollahi S, Rakhshandehroo F (2023) The reaction of four pumpkin varieties to cucumber mosaic virus by analyzing the expression of PAL and PR2 genes. Plant Pathology Science 12(2):11- 26. DOI: https://doi.org/10.2982/PPS.12.2.11

Introduction: Cucumber mosaic virus (CMV) is one of the most important pathogenic cucurbit viruses. Identifying and growing resistant or tolerant varieties is the best method for disease control. The present study was conducted to investigate the response of four pumpkin varieties to CMV by assessing the expression of genes involved in resistance (PAL, PR2). **Materials and Methods:** Forty samples of pumpkin leaves with suspected disease were collected from the farms in northwestern Iran and analyzed using the TAS-ELISA test. To study the response of the four pumpkin varieties Asma, Pars, Prof and PS grown in this region, a CMV isolate was inoculated into the plants in a greenhouse experiment after its biological purification. TAS-ELISA and semi-quantitative (Sq) RT-PCR tests were used to examine the virus concentration in pumpkin varieties. The disease severity index was evaluated 30 days after inoculation. The expression level of PAL and PR2 genes was also checked by quantitative real-time PCR technique. **Results:** Of the 40 samples, 16 samples were infected with CMV. The study of virus titer revealed that the virus concentration and disease severity index were higher in Pars and Proof varieties than in PS and Asma varieties. The expression of PAL and PR2 genes was increased in all varieties compared to control but was higher in PS cultivar followed by Asma. **Conclusion:** PS and Asma varieties have higher CMV tolerance and their wider cultivation is recommended for disease control.

Keywords: CMV, sq-RT-PCR, TAS-ELISA

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

✉ corresponding author: nematollahi2001@yahoo.com

مقاله پژوهشی

واکنش چهاررقم کدو به ویروس موزاییک خیار با آنالیز بیان ژن‌های PAL و PR2

مهسا جهان‌دیده[۱]، سویل نعمت اللهی[۲]✉، فرشاد رخشنده‌رو[۱]
۱-گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ، ۲ -گروه گیاه‌پزشکی، ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ، تبریز

دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۸

جهان‌دیده م، نعمت‌اللهی س، رخشنده‌رو ف (۱۴۰۲) واکنش چهاررقم کدو به ویروس موزاییک خیار با آنالیز بیان ژن‌های **PAL** و **PR2** . دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۲(۲): ۲۶-۱۱.
DOI: https://doi.org/10.2982/PPS.12.2.11

مقدمه: ویروس موزائیک خیار (Cucumber mosaic virus, CMV) یکی از مهمترین ویروسهای بیمارگر کدو است. شناسایی و کشت رقمهای مقاوم یا متحمل بهترین روش مدیریت بیماری است. پژوهش حاضر به منظور بررسی واکنش چهار رقم کدو نسبت به CMV با ارزیابی بیان ژنهای دخیل در مقاومت (PAL, PR2) انجام پذیرفت. **مواد و روش‌ها**: چهل نمونه برگ کدوی مشکوک به بیماری از مزرعه‌های شمال غربی ایران جمع‌آوری و توسط آزمون TAS-ELISA بررسی شدند. یک جدایه CMV پس از خالصسازی بیولوژیکی برای بررسی واکنش چهار رقم کدوی تحت کشت در این منطقه به اسامی : اسما، پارس، پروف و PS در آزمایشی گلخانه ای به گیاهان مایه زنی شد. با آزمون‌های TAS-ELISA و semi quantitative(Sq)-RT-PCR غلظت ویروس در رقمهای کدو بررسی و شاخص شدت بیماری تا ۳۰ روز پس از مایه زنی ارزیابی شد. میزان بیان ژن های PAL و PR2 نیز با تکنیک Quantitative Real time PCR بررسی شد. **یافته‌ها**: شانزده نمونه از مجموع ۴۰ نمونه آلوده به CMV بودند. بررسی تیتر ویروس نشان داد که غلظت ویروس و شاخص شدت بیماری در دو رقم پارس و پروف نسبت به رقمهای PS و اسما بالاتر بود. بیان ژنهای PAL و PR2 در همه رقمها نسبت به شاهد افزایش داشت ولی در رقم PS و پس از آن اسما بیشتر بود. **نتیجه‌گیری**: رقم‌های PS و اسما از تحمل بالاتری نسبت به CMV برخوردار هستند و کشت وسیعتر آنها برای مدیریت مفید است.

واژه‌های کلیدی: CMV، Sq-RT-PCR ، TAS-ELISA

Introduction مقدمه

ویروس موزاییک خیار (*Cucumber mosaic virus*= CMV) عضو شاخص جنس *Cucumovirus* و از خانواده *Bromoviridae* یکی از مهمترین ویروس های آلوده کننده گیاهی است. ژنوم CMV شامل سه قطعه RNA تک رشته ای با قطبیت مثبت و دو RNA زیر ژنومی می باشد. پروتئین پوششی ویروس از RNA زیرژنومی تولید می شود و نقش عمده ای در بروز علایم و همچنین انتقال ویروس دارد.CMV توسط بیش از ۸۰ گونه شته از گیاهی به گیاه دیگر قابل انتقال است (Palukaitis and Garcia- Arenal 2003). دامنه میزبانی مجموع جدایه‌های این ویروس تاکنون بیش از ۱۳۰۰ گونه از پانصد جنس از یکصد خانواده گیاهان دو لپه‌ای و تک لپه‌ای می باشد. CMV از مهمترین ویروس‌های بیماری زا در سبزیجات می‌باشد که به شدت موجب کاهش

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

عملکرد و کیفیت محصولات زراعی می‌شود و از نظر اقتصادی حائز اهمیت بسیار زیادی می‌باشد (Gallitelli 2000). خسارت بیماری حاصل از CMV در ایران بسیار زیاد می‌باشد (Arafati et al. 2013, Pourrahim et al. 2002, Nematollahi et al. 2012, Sokhandan et al. 2008). CMV علاوه بر مزرعه در گلخانه نیز به گیاهان حمله نموده و آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث آسیب شدید به آنها می‌شود. در ایران این ویروس از میزبان‌های زراعی مانند: لوبیا، گوجه‌فرنگی، کدو، شلغم، بادنجان، نخود، سویا، نعنا و بادام زمینی و گیاهان زینتی مانند گلایول، ختمی و لیلیوم و درختان میوه مانند موز و زیتون گزارش شده است (Abtahi et al. 2021). CMV در هر منطقه جغرافیایی نژادهای متفاوت از لحاظ بیماری زایی را دارد که از نظر ژنتیکی و روابط سرولوژیکی از یکدیگر متمایز می‌باشند (Phan et al. 2014). مدیریت CMV به مانند سایر بیماری‌های ویروسی از طریق کنترل جمعیت حشره ناقل با استفاده از حشره‌کش‌ها، استفاده از مواد گیاهی عاری از ویروس، استفاده از رقمها مقاوم، انتقال ژن‌های مقاومت از گیاهان مقاوم به حساس انجام می‌شود (Lin et al. 2003). بررسی بیان ژن های مختلف دخیل در مقاومت گیاه در برابر ویروس ها می تواند علاوه بر فهم مکانیسم های مقاومت ویروس ها در برابر گیاهان در یافتن روشهای مقاوم سازی گیاه و غربال گیاهان مقاوم به ویروسها نیز بکار رود (Abdelkhalek et al. 2019). مقاومت به بیماری در گیاهان با فعال شدن مجموعه وسیعی از پاسخهای دفاعی همراه است که برای جلوگیری از آلودگی با بیمارگر استفاده می شود. واکنش های گیاهان به حمله بیمارگرها بسیار پیچیده است و شامل تحریک ژن های بسیاری است‌که پروتئین‌های متنوعی را کد می‌کنند (Jwa et al. 2006). تعامل بین بیمارگر- میزبان، گیاه را وادار به ایجاد برخی تغییرات در متابولیسم سلول می‌کند که عمدتاً شامل تغییر در فعالیت آنزیمهای سلول است. PAL اولین و کلیدی ترین آنزیم مسیر فنیل پروپانوئیدی است که منجر به بیوسنتز فیتوالکسینها، سنتز چندین ترکیب ثانویه مرتبط با دفاع، مانند فنول ها و لیگنین است که در فعالیت متابولیکی بسیاری از گیاهان نقش دارد (Stotz et al. 2009). پروتئینهای PR شامل مجموعه پروتئین های القا شده توسط میکروبهاست که عموما به طور ترکیبی در اغلب آلودگی ها افزایش می یابد. این پروتئین ها در واکنش فوق حساسیت در برابر بیمارگرهای مختلف از جمله ویروس ها تولید می شوند. البته نشان داده شده است که در برهمکنش های سازگار بیمارگر و میزبان نیز تولید می شوند و می توان گفت که چنین ترکیباتی در گیاهان مقاوم سریع تر و بیشتر تولید می شوند. اختلاف در سطح بیان ایـن پروتئین ها با میزان حساسیت رقمها مختلف در برابر یک بیمارگر متفاوت است (Xu et al., 2013). دیده شده که افزایش بیان PAL با افزایش PR و آن هم در بروز مقاومت نقش دارند (Fitzgerald et al. 2004). گروهی از پروتئین های PR به نام PR2 می باشند. در آلودگی های ویروسی و مقاومت های القا شده در چنین گیاهانی افزایش قابل توجهی در سطح بیان PR2 دیده شده است (Oide et al. 2013, Otulak-Kozieł et al. 2018). در گذشته تحقیقاتی در مورد رقمها مقاوم به ویروس در کشور انجام شده است. در این راستا ارزیابی و معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم به ویروس در سیب‌زمینی با

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

استفاده از آزمون الایزا (Peyman et al. 2004) ،ارزیابی مقاومت رقمها طالبی و خربزه (Arzani and Ahoonmanesh, 2000)، تحقیق حاضر به منظور بررسی پاسخ رقمهای رایج کدو (*Cucurbita pepo* L.) در مناطق شمال غرب ایران در برابر جدایه جمع‌آوری شده CMV از منطقه انجام گردید.

مواد و روش‌ها Materials and Methods

شناسایی و تهیه منبع CMV : جهت ردیابی منبع آلوده به CMV، مناسب برای انجام تحقیق، ابتدا از برگ‌های جوان علائم دار بوته‌های آلوده به CMV در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ تعداد ۴۰ نمونه گیاهی با علایم مشکوک به آلودگی با CMV از شهرهای مراغه (۱۵ نمونه)، پیرانشهر (۱۲ نمونه) و بناب (۱۳ نمونه) جمع‌آوری شد و توسط آزمون الایزا (TAS-ELISA) مورد سنجش قرار گرفت (Clark and Adams 1977). برای انجام این آزمون از آنتی‌سرم اولیه چندهمسانه‌ای تولید شده در بخش تحقیقات ویروس شناسی دانشگاه شیراز و همچنین آنتی‌سرم متصل به آنزیم (کانجوگیت) چند همسانه‌ای (Bioreba-Switzerland) استفاده شد. از جدایه CMV جدا شده از شهر مراغه در مراحل بعدی پژوهش استفاده شد و جهت ادامه تحقیق مورد خالص سازی زیستی قرار گرفت. خالص سازی ویروس با استفاده از مایه زنی مکانیکی گیاه محک تک لکه توتون *Nicotiana rustica* در مرحله چهار برگی انجام شد. برای این منظور تا ۷ روز پس از مایه زنی توتون از لکه‌های موضعی به وجود آمده با تیغ استریل جداسازی شده و با مقدار برابر از بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ عصاره‌گیری انجام پذیرفت و بر روی گیاهچه کدو در مرحله دو برگی درگلخانه مایه زنی مکانیکی انجام پذیرفت. مایه زنی‌ها با دو بار تکرار انجام شد.

آلوده‌سازی رقم‌های مختلف : در این پژوهش میزان تحمل رقمها مختلف کدوی رایج در مناطقی از استان‌های آذربایجان غربی و شرقی شامل پروف (Proof USAagreeseed)، PS (Petoseed italy) ، اسما (CLAUSE FRANCE) و پارس (PARS USAGREESEED) نسبت به آلودگی به CMV جدا شده از شهر مراغه مورد بررسی قرار گرفت. همچنین گیاهان شاهد با بافر مایه زنی شدند. برای این منظور بذور کدو در گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متری کشت شدند. محتویات گلدان شامل خاک استریل حاصل خیز مزرعه، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت ۱:۱:۱ بود که در دمای ۱۸-۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۳۰ تا ۴۰ و دوره روشنایی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. مایه‌زنی مکانیکی ویروس پس از گذشت شش تا هفت روز بعد ازکاشت و در مرحله ۲ برگی (بر روی برگ‌های کوتیلدونی کدو) با استفاده از پودر کاربوراندوم و توسط بافر عصاره گیری شامل فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ انجام شد(Yang et al. 1992). برای این منظور از منبع CMV جمع آوری شده از مراغه به نسبت یک به ده (یک گرم بافت گیاه در ده میلی‌لیتر بافر عصاره گیری) عصاره گیری شد.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

ارزیابی شاخص شدت بیماریزایی (Disease severity index=DSI) : در این پژوهش DSI جهت ارزیابی میزان تحمل رقمهای انتخابی کدو به آلودگی CMV محاسبه گردید. برای محاسبه شاخص بیماری مایه زنی گیاهان در شش تکرار (یک بوته در گلدان) انجام شد و علایم آلودگی به CMV تا ۳۰ روز پس از مایه‌زنی (۷، ۱۴، ۲۱ و ۳۰) روز پس از مایه زنی رتبه دهی شد. رتبه دهی بر اساس علایم (۰= بدون علایم، ۱= موزائیک خفیف یا پیسک خفیف، ۲= موزائیک سیستمیک مشخص بدون تغییر شکل گیاه، ۳= موزائیک مشخص و تغییرشکل برگ و کوتولگی، ۴= موزائیک مشخص و نکروز کلی تا ۵۰٪ و ۵= نکروز بالای ۵۰٪ و منتهی شونده به مرگ گیاه) در گیاهان مایه زنی شده مورد یادداشت برداری قرار گرفت. شاخص بیماری براساس فرمول زنگ و همکاران (Zeng et al. 2007) محاسبه گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

آزمون سرولوژیکی الایزا: جهت ارزیابی تیتر CMV در رقمها مختلف به منظور ارزیابی مقاومت آنها و همچنین جهت ردیابی ویروس در نمونه‌های کدوی جمع آوری شده از مزارع از آزمون TAS-ELISA استفاده شد. برای این منظور از بافت برگ به نسبت یک به ۱۰ (یک گرم برگ به ازای یک سی سی بافر) پس از عصاره گیری به چاهک ها افزوده شد. بعد از اضافه نمودن بافر زمینه دارای ماده پارانیتروفنیل فسفات (Sanofi, French) درون چاهک‌ها، خوانش بشقابک الایزا توسط دستگاه الایزا خوان مدل ELX 800-Biotek در طول موج ۴۰۵ نانومتر هر نیم ساعت یکبار انجام شد. برای هر کدام از نمونه ها سه چاهک بصورت سه تکرار لحاظ شدند. با استفاده از فرمول $n = \bar{X} + 3SD$ مقایسه میزان جذب نمونه‌ها صورت پذیرفت. در این فرمول $\bar{X}$ میانگین جذب نمونه‌های سالم و غیرآلوده بوده و جذب نمونه‌هایی که بزرگ تر یا برابر عدد n بود معادل آلوده در نظر گرفته شد (Converse et al. 1990). تیتر ویروس در رقمها کدوی مایه زنی شده با CMV در ۴ تکرار جداگانه مورد سنجش قرار گرفت. برگ های میانی با موقعیت یکسان ۳۰ روز پس از مایه زنی برداشت شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

استخراج RNA و ساخت cDNA : برای تایید آلودگی نمونه های مثبت در الایزا و نیز بررسی میزان تکثیر ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک خیار در رقمها کدوی مایه زنی شده با CMV از آزمون RT-PCR نیمه کمی و نیز بررسی بیان ژنهای PAL وPR2 با real- time PCR استخراج RNA از نمونه های برگی با استفاده از محلول استخراج RNA (RNX-plus CinnaGen)بر اساس دستور العمل شرکت سازنده کیت انجام شد. RNA های استخراج شده با آنزیم DNaseI (Fermentas) جهت حذف آلودگی DNA تیمار گردیدند. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با دستگاه طیف سنجی و الکتروفورز در ژل آگارز تعیین گردید. برای ساخت cDNA یک میکروگرم از هر نمونه RNA در واکنش نسخه برداری معکوس با استفاده از آغازگر Olio(dT) 18، آب تیمار شده با DEPC ، بافر آنزیم، مخلوط نوکلئوتیدها، آنزیم بازدارنده ریبونوکلئاز و آنزیم رونوشت بردار معکوس M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas) به روش پیشنهادی شرکت

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

فرمنتاز استفاده شد. به منظور تایید cDNA های سنتز شده، آزمون PCR با جفت آغازگر Actin و جفت آغازگر ژن انجام شد. مشاهده قطعات در ژل آگارز ۱,۲ درصد انجام شد.

آزمون Semi-quantitative RT-PCR : برای بررسی میزان تکثیر ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک خیار در رقمها کدوی مایه زنی شده با CMV از آزمون RT-PCR نیمه‌کمی مطابق روش مارون و همکاران (Marone et al. 2001) استفاده شد. برای این منظور از RNA برداشت شده در ۷۲ ساعت پس از آلودگی استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به صورت مولتی پلکس برای تکثیر ژن CP ویروس و ژن 18S گیاه کدو به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. ۰,۲۵ میکرولیتر از هر آغازگر ۱۵µl /pmol (مشخصات آغازگرها در جدول ۱ آمده است) در حجم نهایی ۱۲,۵ میکرولیتر استفاده شد. دمای اتصال ۵۰ درجه سلسیوس بود و واکنش PCR در چرخه های ۱۵، ۲۰ ،۲۵و۳۰ متوقف و شش میکرولیتر از فرآورده در ژل آگارز ۱,۲ درصد الکتروفورز شد. PCR به روش معمول نیز با آغازگرهای CP برای تایید آلودگی نمونه های مثبت در الایزا به روش شرح داده شده (Nematollahi et al. 2012) انجام شد و قطعه ای به اندازه در حدود ۸۸۰ جفت باز در ژل آگارز ۱,۲ درصد مشاهده شد.

آنالیز بیان ژن PR2 , PAL روش سنجش کمی در زمان واقعی: با توجه به لزوم درک واکنش‌های سریع اولیه در رقمها مختلف در پاسخ به آلودگی ویروسی در بازه زمانی صفر (شاهد)، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ساعت بعد از آلوده سازی از برگ گیاهان جمع آوری شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفته و به فریزر د80- درجه سلسیوس منتقل شد. بررسی سطح بیان ژن های مورد مطالعه در گیاهان شاهد و مایه زنی شده در زمان های مختلف با استفاده از تکنیک QPCR و با دستگاه StepOnePlus Real- Time PCR (Applied biosystems) انجام شد. از شناسگر SYBER green در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر استفاده شد. از آغازگر اکتین به عنوان کتنرل داخلی برای مقایسه سطح بیان ژن ها استفاده شد (جدول ۱). مخلوط واکنش شامل ۷/۵ میکرولیتر Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) ، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (µl 10 pmol/) ، ۲ میکرویتر cDNA ، ۴/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر بود. چرخه دمایی به صورت واسرشت اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و سپس واسرشت سازی ۹۴ درجه سلسیوس ۱۵ ثانیه و سپس اتصال و گسترش ۶۰ دقیقه ای (طبق دستورالعمل توصیه شده شرکت سازنده) با ۴۰ مرتبه تکرار انجام شد. واکنش دو بار تکرار شد. طرح مورد استفاده آزمایش کاملا تصادفی با سه تکرار بود. آنالیز نتایج با فرمول یوان و همکاران انجام شد (Yuan et al., 2006). ترسیم نمودارها با نرم افزار Microsoft excel و تحلیل دادهها با SPSS statistics 22 انجام گرفت.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش.

Table 1- Specifications of primers used in this research.

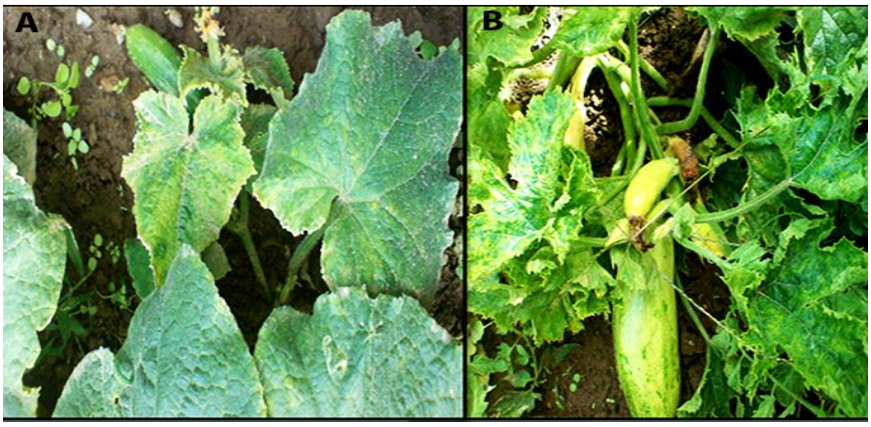
Primer Name	Nucleotide sequence (5-3)	Amplicon size (bp)	Reference
CMV-CPf	5-GCCGTAAGCTGGATGGAC-3	876	(Rizos et al., 1992)
CMV-CPr	5'-GCTTCTCCGCGAG-3'	876	
18s1	5-AACGGCTACCACATCCAAG-3	500	(Rakhshandehroo et al., 2009)
18s2	5-TCATTACTCCGATCCCGAA-3	500	
PAL	F: 5'-CCGATGCGAGTTGTAACAGA -3' R: 5'-TGGTCAGAGACGACAGATCG -3	168	(Heydarnejhad et al., 2015)
PR2	F: 5'-AAGATTGTTCTGAGAAGAGATCGATCGA-3' R: 5'-GCTACGCGAAAATAGGTCTGGTAAACTT-3	200	(Heydarnejhad et al., 2015)
Actin	F: 5' -GAGTATGATGAGTCGGGTCCAG -3' R: 5'-ACACCAACAATCCCAAACAGAG -3	143	(Heydarnejhad et al., 2015)

یافته‌ها

Results

شناسایی ویروس موزائیک خیار

آلودگی CMV در نمونه‌ها با استفاده از TAS-ELISA و همچنین RT-PCR تایید شد. تمامی نمونه‌هایی که با آنتی سرم اختصاصی CMV در الایزا واکنش مثبت نشان داده بودند در RT-PCR با آغازگر اختصاصی نیز واکنش داده و باند مورد انتظار به اندازه حدود ۸۸۰ جفت باز برای آنها تکثیر گردید. در مجموع تعداد ۱۸ نمونه از ۴۰ نمونه کدو به ترتیب در شهرهای پیرانشهر(۹ نمونه آلوده از ۱۲ نمونه جمع شده)، مراغه (۵ نمونه آلوده از ۱۵ نمونه جمع شده) و بناب (۴ نمونه آلوده از ۱۳ نمونه جمع شده) به CMV آلوده بودند.



شکل ۱- علایم آلودگی به CMV در نمونه‌های کدو رقم پروف در مزرعه.(A) موزاییک در برگ‌های کدو رقم پروف در مزرعه‌ای در مراغه (B) تاولی شدن، زردی میوه و بدشکلی در برگ‌های کدو در مزرعه ای در پیرانشهر ؛

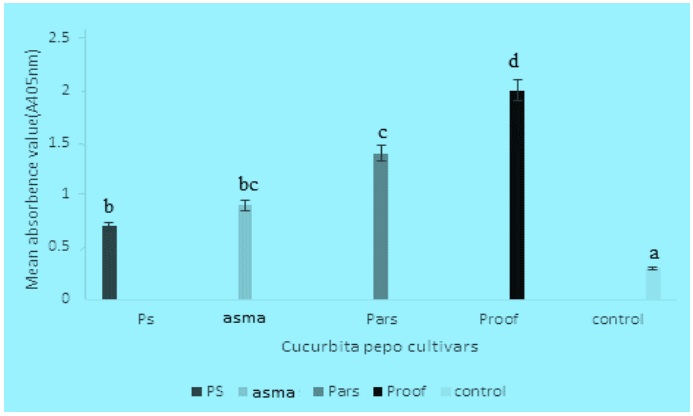
Figure 1. Symptoms of CMV infection in samples of Proof varieties in the field. A. Mosaic symptoms on leaves of Proof varieties in the field of maragheh . B. blistering and yellowing of cucurbits fruit.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

ارزیابی میزان تحمل رقمهای انتخابی کدو به آلودگی CMV

سنجش تیتر CMV با استفاده از الایزا: تیتر پروتئین CMV در نمونه‌های کدوی مورد ارزیابی با استفاده از آزمون ELISA مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد رقم پروف تا ۳۰ روز پس از مایه زنی، تیتر ویروس را به بیشترین میزان در خود داشته است و از بیشترین حساسیت به آن در مقایسه با سایر رقمها برخوردار است (شکل ۲). همچنین مشخص شد تیتر CMV در رقمهاPS و اسما تا سه برابر در مقایسه با رقمها حساس پروف کاهش داشته است و لذا این رقمها ازبیشترین میزان تحمل به آلودگی CMV برخوردار بوده‌اند (شکل ۲).



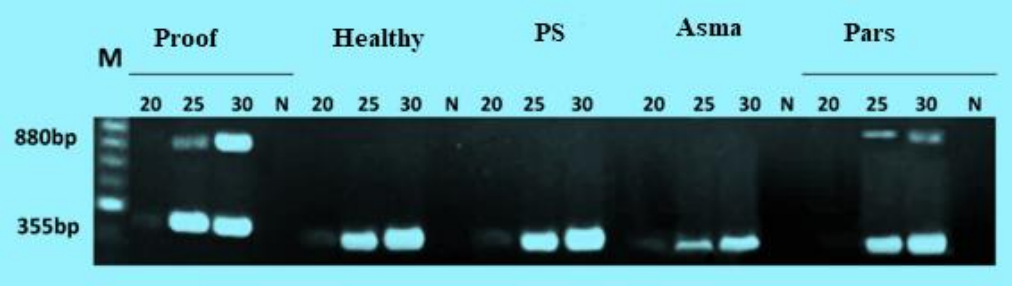
شکل ۲- نتایج حاصل از ELISA جهت سنجش میزان تیتر پروتئین CMV در رقمها کدوی رایج در استان های آذربایجان غربی و شرقی. حروف نامشابه اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد دارند. مقدار خطای استاندارد برآورد شده هر تیمار با خطوط عمودی روی هر ستون نشان داده شده است.

Figure 2. The results of ELISA to measure protein titer in common zucchini varieties in East and west Azarbaijan provinces. Dissimilar letters have a significant difference at the ۱% level. The estimated standard error value of each treatment is indicated by vertical lines on each column.

ارزیابی میزان نسخه‌های ژنی CMV با استفاده از RT-PCR نیمه‌کمی

به منظور مقایسه میزان تحمل رقمها کدو (پروف، PS،اسما،پارس) از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نیمه کمی نیز استفاده شد. جهت نرمال‌سازی واکنش از میزان یکسان RNA (۱ میکروگرم) نمونه‌ها استفاده شد. تکثیر ژن CMV-CP فقط در نمونه‌های مربوط به رقمها پروف و پارس انجام پذیرفت (شکل ۳). نتایج این آزمون بیانگر عدم تکثیر CMV در رقمها اسما و PS به مانند شاهد سالم بود که این نتیجه هم راستا با نتایج حاصل از آزمون الایزا بود. در مجموع نتایج آزمون های ELISA و RT-PCR نیمه کمی برای ارزیابی سطح آلودگی CMV در رقمها مورد بررسی بیانگر کاهش رونویسی و ترجمه پروتئین های CMV در رقمها PS و اسما بود. در حالیکه در همین مدت زمان تیتر ویروس در رقمها پارس و پروف بالا بود (اشکال ۲ و ۳).

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

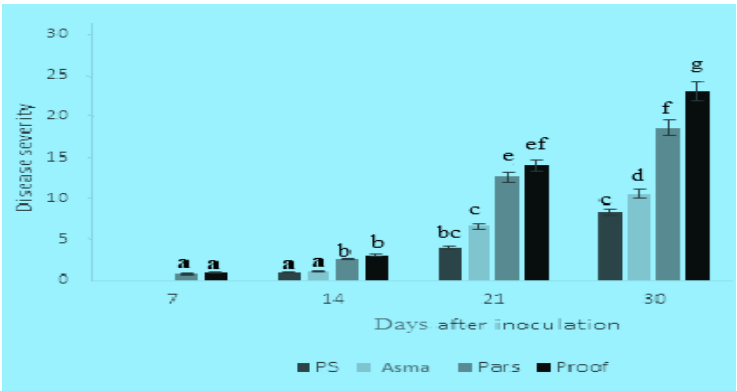


شـکل ۳- نتایج حاصـل از آزمون پی سی آر نیمه کمی (Semi-quantitative RT-PCR) .اعداد بیانگر تعداد چرخه های پی سـی آر می باشـند. M: مارکر وزن مولکولی 100bp (Fermentas, Germany)؛ N: نمونه شـاهد که در آن به جای cDNA از آب مقطر در PCR اسـتفاده شـده اسـت. Healthy: نمونه شـاهد سالم که از آر.ان.ای آن جهت ساخت cDNA برای RT-PCR استفاده شد.

Figure 3. The results of the Semi-quantitative RT-PCR test.The numbers indicate the number of PCR cycles. M:100 bp Molecular weight marker (Fermentas, Germany). N: Control sample in which distilled water was used instead of cDNA in PCR. Healthy: A healthy control sample whose RNA was used to make cDNA for RT-PCR.

ارزیابی شاخص شدت بیماری DSI در رقمهای کدو

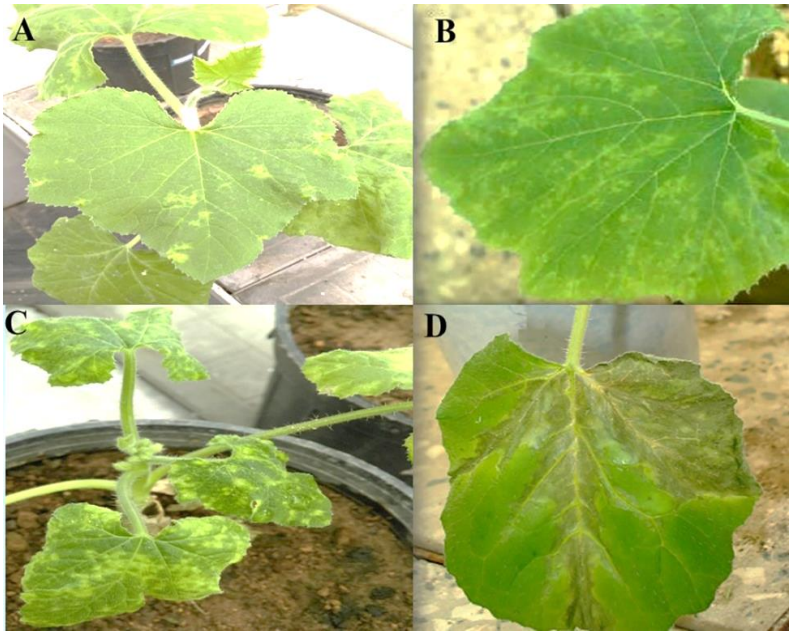
نتایج بررسی شاخص بیماری زایی CMV در گیاهچه های رقمها کدو نشان داد از زمان ۷ تا ۳۰ روز پس از مایه زنی، شاخص بیماری زایی ویروس به میزان دو برابر در رقمها متحمل PS و اسما در مقایسه با رقمها حساس پروف و پارس تغییر معنی دار کمی پیدا کرده است (شکل ۴). کمترین تغییر در شاخص بیماری زایی در رقم مقاوم PS مشاهده شد و حساس ترین رقم از نظر بروز علایم رقم پروف بود. بروز علایم آلودگی به CMV تا ۳۰ روز پس از مایه زنی در رقمها کدوی مورد آزمون معیار این سنجش بود. این نتایج هم راستا با نتایج حاصل از آزمون های ELISA و RT-PCR نیمه کمی برای رقمها مورد آزمون بود (شکل ۵).



شـکل ۴- ارزیابی شـاخص DSI برای رقمها کدو تا ۳۰ روز پس از مایه زنی با CMV. حروف نامشـابه اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد دارند. مقدار خطای استاندارد برآورد شده هر تیمار با خطوط عمودی روی هر ستون نشان داده شده است.

Figure 4. The results of evaluating the DSI index for zucchini varieties up to 30 days after inoculation with CMV. Dissimilar letters have a significant difference at the ۱% level. The estimated standard error value of each treatment is indicated by vertical lines on each column.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]



شکل ۵- علایم حاصل از مایه زنی مکانیکی CMV در نمونه های کدوی مورد آزمون ۱۴ روز پس از مایه زنی. (A) موزاییک خفیف در برگ رقم PS (B) موزاییک خفیف در برگ رقم اسما (C) موزاییک شدید و بدشکلی در گیاهچه کدو رقم پارس (D) نکروز سیستمیک و پژمردگی در برگ رقم پروف

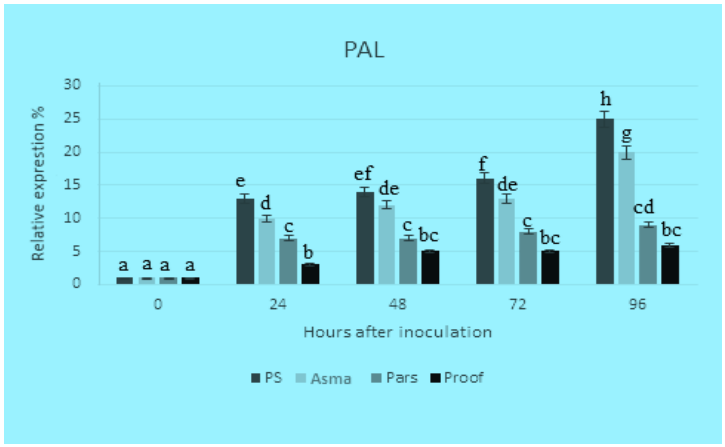
Figure 5. Symptoms from mechanical inoculation of CMV in tested zucchini samples up to 14 days after inoculation. (A) mild mosaic in PS variety leaf (B) Mild mosaic in Asma variate leaf (C) Sever mosaic and seedlings deformation of Pars variate (D) Systemic necrosis and leaf wilting of Proof variate

با در نظر گرفتن نتایج مربوط به شاخص شدت بیماری مشخص می شود در رقم پروف بعد از ۳۰ روز شاخص بیماری از رقمها دیگر بالاتر بود رقم پارس و پس از آن رقمها اسما و PS از لحاظ شاخص بیماری به ترتیب در مراتب پایین تری قرار داشتند که می تواند موید مهار بیماری حاصل از آلودگی CMV در این رقم ها باشد . با در کنار هم قرار دادن مجموع نتایج نتیجه گیری می شود رقم PS و اسما تحمل نسبی بالایی به ویروس داشته است. رقم پارس و سپس پروف نیز به ویروس حساس تر می باشند.

نتایج ارزیابی بیان ژنهای PAL , PR2

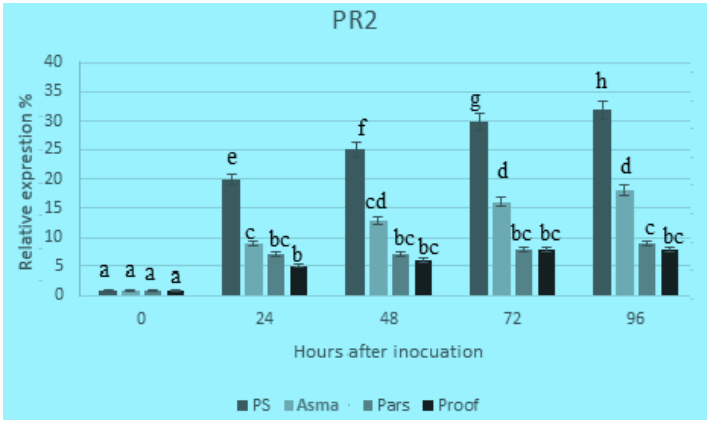
آنالیز بیان ژن های PAL و PR2 با استفاده از روش سنجش کمی در زمان واقعی نشان داد که بیان هر دو ژن در رقمها مختلف تفاوت معنی داری داشته و بیان آنها پس از آلودگی ویروسی افزایش یافته است. در مورد بیان ژن PAL در همه رقمها تا ۹۶ ساعت پس از تلقیح سیر صعودی در بیان ژن مشاهده شد. در ۹۶ ساعت پس از الودگی در رقم PS حدود ۲۵ درصد نسبت به شاهد افزایش دیده شد. در همین زمان در رقم اسما ۲۰ درصد افزایش بیان نسبت به شاهد وجود داشت. در رقم پروف و پارس این میزان بیان کمتر از ۱۰ درصد افزایش داشت(شکل ۶). در مورد ژن PR2 نیز روند مشابهی وجود داشت. بیشترین میزان بیان در ر رقم PS و پس از آن به ترتیب در رقم اسما دیده شد.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]



شکل ۶- تغییرات بیان ژن PAL در رقمها مختلف کدوی آلوده به ویروس موزاییک خیار در زمان های مختلف. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ است. مقدار خطای استاندارد برآورد شده هر تیمار با خطوط عمودی روی هر ستون نشان داده شده است.

Figure 6- Changes of gene expression of PAL in cucurbit variates infected by Cucumber mosaic virus in a time courses assay. Identical letters indicate no significant difference using Duncan's test at the 1% level. The estimated standard error value of each treatment is indicated by vertical lines on each column.



شکل ۷- تغییرات بیان ژن PR2 در رقمها مختلف کدو آلوده به ویروس موزاییک خیار در زمان های مختلف. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ است. مقدار خطای استاندارد برآورد شده هر تیمار با خطوط عمودی روی هر ستون نشان داده شده است.

Figure 7- Changes of gene expression of PR2 in cucurbit varieties infected by Cucumber mosaic virus in a time courses assay. Identical letters indicate no significant difference using Duncan's test at the 1% level. The estimated standard error value of each treatment is indicated by vertical lines on each column.

Discussion بحث

ویروس موزاییک خیار یکی از شایع ترین و مهمترین ویروس های گیاهی در بسیاری از گونه های گیاهی از جمله کدوئیان می باشد که در ایران هم از جدایه های متنوعی برخوردار است . این ویروس در مزارع مختلف واقع در مناطق شمال غرب ایران در کدوئیان از پراکندگی بالایی برخوردار است(Nematollahi et al. 2016). از جمله راههای مؤثر برای کنترل بیماری های ویروسی به کارگیری رقمها مقاوم میباشد. در تولید رقمها

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

مقاوم باید عکس العمل رقمها را به هر یک از ویروس ها به طور جداگانه ارزیابی و سپس براساس مناطق شیوع هر ویروس رقمها مقاوم به آن ویروس را معرفی کرد. بررسی ژن های دخیل در مقاومت رقمها می تواند در مسیر انتخاب و بکار گیری رقمها مقاوم بسیار کار ساز باشد. با اینکه ویروس موزاییک خیار از مناطق مختلف ایران گزارش شده است تحقیقات زیادی در مورد مقاومت رقمها صورت نگرفته است. در تحقیق حاضر حضور ویروس در نمونه های کدو از اکثر مزارع نمونه برداری شده از مناطق شمال غرب ایران مشاهده شد. نتایج تحقیقات قبلی بیان گر حضور ویروس در مزارع مختلف شمال غرب می باشد (Sokhandan et al. 2008). نتایج آزمون های ELISA و RT-PCR نیمه کمی برای ارزیابی سطح آلودگی CMV در رقمها مورد بررسی بیان گر کاهش رونویسی و ترجمه پروتئین های CMV در رقمها PS و اسما بود. در همین مدت زمان تیتر ویروس در گیاه در رقمها پارس و پروف بالا بود (اشکال ۲ و ۳). همچنین نتایج مربوط به شاخص شدت بیماری نیز مشخص کرد که در رقم پروف بعد از ۳۰ روز شاخص بیماری از رقمها دیگر بالاتر بود. رقم پارس و و رقمها اسما و PS از لحاظ شاخص بیماری به ترتیب در مراتب پایین تری قرار داشتند که می تواند موید مهار بیماری حاصل از آلودگی CMV در این رقم ها باشد. با در کنار هم قرار دادن مجموع نتایج نتیجه گیری می شود رقم PS و اسما تحمل نسبی بالایی به ویروس داشته است. رقم پارس و سپس پروف نیز به ویروس حساس تر می باشند. معمولا از الایزا و بررسی علایم برای سنجش و غربال رقمها مقاوم و حساس به ویروس ها استفاده می شود. پیمان و همکاران (۱۳۸۳) با الایزا ژنوتیپ های مقاوم سیب زمینی در برابر ویروس PVY و PVX را معرفی کردند (Peyman et al. 2004). در یک بررسی پژوهشگران ژن های مختلف غالب و مغلوب را در انواع رقمها فلفل شناسایی نموده اند که مسئول مقاومت به CMV بوده اند (Li et al. 2020). با بررسی واکنش رقمها در برابر CMV رقم های طالبی گالیکوم، خوراسگانی تاشکندی و لطیفه-۱دربرابر CMV در شرایط مزرعه ونیزگلخانه مقاوم، رقم های دیگر طالبی از قبیل لنجان، شهد شیراز ورقم های خربزه آردیان و لطیفه متحمل یا نسبتا مقاوم در ایران گزارش شده اند(Arzani and Ahoonmanesh 2000). در تحقیقی که به تازگی انجام شد واکنش چهل ژنوتیپ کدوییان به ویروس موزاییک خیار مورد بررسی قرار گرفت . این محققین بر مبنای آزمون ELISA و ارزیابی شاخص شدت بیماری، رقمها کدوئیان مورد بررسی از نظر پاسخ به آلودگی CMV در ۵ کلاس: کاملا مقاوم، مقاوم، نسبتا مقاوم، کاملا حساس و حساس قرار دادند و رقمها مختلفی از کدوی مقاوم را ارائه نمودند (Chahook et al. 2021). بررسی ژن های دخیل در مقاومت علاوه بر فهم مولکولی مکانیسم مقاومت می تواند در غربال رقمها مقاوم و حساس بکار رود. تفاوت اصلی گیاهان متحمل، حساس و مقاوم منوط به شناسایی به موقع بیمارگر توسط میزبان و فعال‌سازی سریع و مؤثر مکانیسم های دفاعی گیاه است. تمام این مسیرها وابسته به رابطه ژن های مرتبط با مقاومت در گیاهان است که در پاسخ به بیمارگر فعال یا خاموش می شوند و درنتیجه بیان آنها افزایش یا کاهش می یابد. بنابراین تجزیه الگوی بیان ژن ها می تواند در تفکیک ارقام مقاوم، متحمل و حساس از یکدیگر مناسب باشد (Cueto-Ginzo et al. 2016). بررسی بیان ژن PAL در این تحقیق نشان داد که بیان این ژن از ساعات اولیه تلقیح ویروس در همه رقمها افزایش یافت. در رقمها پارس و پروف تا ۹۶ ساعت پس ازآلودگی تغییر ۱۰ درصدی نسبت به قبل از تلقیح با ویروس دیده شد. در حالیکه بیان این ژن در دو رقم PS واسما در حدود بیش از دوبرابر رقمها قبلی افزایش بیان داشت. فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL) آنزیمی کلیدی در متابولیسم فنل

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

پروپانویید است. می توان گفت این مرحله یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در دفاع گیاهی به شمار می آید. فنیل آلانین آمونیالیاز فرایند دی آمینی شدن و تبدیل ال-فینیل آلانین به ترانس-سینامیک اسید را کاتالیز می کند. این تبدیل ، اولین مرحله مسیر فنیل پروپانوئید می باشد که پیش سازهای مواد فنولی ، لیگنین و فیتوآلکسین ها را فراهم می کند (Vidhyasekaran 2002). مشخص شده افزایش مقدار mRNA ژن PAL مبنای افزایش فعالیت آن می باشد. عدم فعالیت ژن فنیل آلانین آمونیالیاز که برای سنتز سالیسیلیک اسید نیاز است موجب کاهش مقاومت شده است. PAL در بالادست بیوسنتز SA عمل می کند. بنابراین PAL نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارد (Vidhyasekaran 2002, Stotz et al. 2009). پروتیئن های مسئول مقاومت به بیماری های گیاهی که بویژه در مسیر فعالیت سالسیلیک اسید (SA)تولید می شوند نقش عمده در مقاومت گیاه را دارند .(Buchanan 2000, Heydarnejhad, et al. 2015) پروتئین های گیاهی که در شرایط بیماری زا فعال می شوند به عنوان پروتئین های مرتبط با بیماری زایی (PRs) شناخته می شوند. انواع PR ترکیبات ضد بیماری موثری هستند و آلودگی با باکتری ها، ویروس ها، قارچ ها یا ویروئیدها ممکن است باعث تولید PRs در گیاهان شود (Elsharkawy et al. 2012, Heydarnejhad et al. 2015).

بیان ژن PR2 در این تحقیق درمورد رقم PS در ساعات اولیه پس از آلودگی رو به افزایش گذاشته است. در رقم اسما نیز بیان این ژن نسبت به دو رقم پارس و پروف بیشتر بوده است. هرچند در رقمها پارس و پروف نیز نسبت به شاهد افزایش بیان دیده می شود ولی می توان نتیجه گرفت در رقم PS و پس از آن اسما افزایش بیان قابل توجه است. با توجه به اینکه این ژن در مقاومت نقش دارد می توان واکنش این رقمها را با فعال شدن این ژن مرتبط دانست. میزان بیان بالای ژن‌های دخیل در مقاومت در رقمها مقاوم نسبت به رقمها حساس در برابر بیمارگرهای باکتریایی و قارچی در بررسی های گذشته نیز به اثبات رسیده است (Nisha et al. 2012). نقش ضد ویروسی پروتئین های PR قبلا نیز نشان داده شده است. درالقای مقاومت در گیاه گوجه فرنگی آلوده به ویروس موزاییک گوجه فرنگی بیان ژنهای Peroxidase , PAL و PR افزایش نشان داد (Abdelkhalek, 2019). در تحقیقات دیگر نیز القای مقاوت و افزایش بیان ژن PR2 در آلودگی های ویروسی در گیاه آرابیدیوپسیس (Oide et al., 2013) ، توتون (Sindelarova and Sindelar 2005) ، پیاز(ElMorsi et al., 2015) ، سیب زمینی (Otulak-Koziel et al., 2018) ، گوجه فرنگی (Abdelkhalek,. 2019) دیده شده است. بنابراین در کل نتیجه می شود که بیان ژن PAL و PR2 در رقمها PS و سپس اسما افزایش بیان بیشتری نسبت به رقمها پارس و پروف داشته است. نتایج الایزا و PCR نیمه کمی برای بررسی غلظت ویروس نیز نشان دهنده این مطلب بود که تیتر ویروس در رقمها پارس و پروف بیشتر بود و چون از جدایه جمع آوری شده از شمال غرب در تحقیق استفاده شده است می توان نتیجه گرفت که دو رقم PSو اسما از تحمل بالاتری نسبت به CMV برخوردارند. نتایج این تحقیق می تواند در جهت افزایش تولید محصول و مدیریت مبارزه با CMV مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با انجام تحقیقات تکمیلی در راستای شناسایی کامل ژن های دخیل در مقاومت گیاه کدو در برابر CMV در جهت تولید گیاهان مطلوب تراریخت موثر باشد.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

Conclusion نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده می توان اشاره کرد که بیان ژن PAL و PR2 در رقمها PS و سپس اسما افزایش بیان بیشتری نسبت به رقمها پارس و پروف داشته است . نتایج الایزا و PCR نیمه کمی برای بررسی غلظلت ویروس و ارزیابی شدت بیماری نیز موید این مطلب بود که تیتر ویروس در رقمها پارس و پروف بیشتر بود . و چون از جدایه جمع آوری شده از شمال غرب در تحقیق استفاده شده است می توان نتیجه گرفت دو رقم PSو اسما از تحمل بالاتری نسبت به CMV برخوردارند.

References منابع

Abdelkhalek A(2019). Expression of tomato pathogenesis related genes in response to tobacco mosaic virus. Journal of Animal Plant Science 29:1596–1602.

Abtahi FS, Hatami M, Salehi-Arjmand H, Mahdieh M, Yazdani R(2021) Detection and phylogenetic analysis of new Iranian isolates of Cucumber mosaic virus on Achillea species. Journal of Crop Protection 10 (2): 309-317.

Arafati N, Farzadfar S, Pourrahim R(2013) Characterization of coat protein gene of Cucumber mosaic virus isolates in Iran. Iranian Journal of Biotechnology 11(2): 109-114.

Arzani A, Ahoonmanesh A (2000) Study of resistance to Cucumber mosaic virus,Watermelon mosaic virus and Zucchini yellow mosaic virus in melon varieties. Iranian Agricultural Research 19:129-144.

Ashfaq M, Iqbal S, Mukhtar T, Shah H (2014) Screening for resistance to Cucumber mosaic cucumovirus in Chilli Pepper. Journal of Animal Plant Science 24:791-795.

Buchanan BB (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists Rockville, Maryland, Pp: 610-628.

Chahook M, Seyyed Z, Masoomi H, Heydarnejhad J, Hosinipoor A (2021) Reaction of 40 genotypes of zucchini to cucumber mosaic virus. Knowledge of plant pathology 11 (1): 49-59. (In Persian).

Clark MF, Adams AN (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34:475-483.

Converse RH, Martin RR (1990). ELISA methods for plant viruses. In: R., Hampton, E., Ball and S. De Boer (Eds.). Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens. A laboratory manual. APS Press. 389 pp

Cueto-Ginzo I, Serrano L, Sin E, Rodríguez R., Morales J, Lade S, Medina V, Achon M (2016). Exogenous salicylic acid treatment delays initial infection and counteracts alterations induced by Maize dwarf mosaic virus in the maize proteome. Physiological and Molecular Plant Pathology 96: 47-59.

ElMorsi, A., Abdelkhalek, A., Alshehaby, O. and Hafez, E.E. 2015. Pathogenesis-related genes as tools for discovering the response of onion defence system against Iris yellow spot virus infection. Botan. 93: 735–744.

Elsharkawy MM, Shimizu M, Takahashi H, Hyakumachi M (2012). The plant growth-promoting fungus Fusarium equiseti and the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

mosseae induce systemic resistance against Cucumber mosaic virus in cucumber plants. Plant and Soil 361:397−409.

Fitzgerald HA, Chern MS, Navarre R, Ronald PC (2004) Overexpression of (At) NPR1 in rice leads to a BTH-and environment-induced lesionmimic/cell death phenotype. Molecular Plant Microbe Interaction 17(2): 140-151.

Gallitelli D (2000) The ecology of cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus* Research 71: 9-21.

Heydarnejhad A, Babayizad V, Rahimian H (2015). Studying the role of PAL and PR2 genes in rice plant resistance against bacteria *Acidovorax avenae sub sp. Avenae* . Biotechnology of Agriculture 7(4):67-81. (In Persian).

Jwa NS, Agrawal GK, Tamogami S, Yonekura M, Han O, Iwahashi H, Rakwal R (2006) Role of defense/stress-related marker genes, proteins and secondary metabolites in defining rice selfdefense mechanisms. Plant Physiology Biochemistry 44: 261- 273

Li N, Yu C, Yin Y, Gao S, Wang F, Jiao C,Yao M (2020) Pepper Crop Improvement Against Cucumber Mosaic Virus (CMV). Front Plant Science 11: 598-798.

Lin H, Rubio L, Smythe A, Jiminez M, Falk WB (2003) Genetic diversity and biological variation among California isolates of cucumber mosaic virus. Journal of General Virology 84:249-258.

Marone M, Mozzetti S, Ritis D, Pierelli L, Scambia G (2001). Semiquantitative RT-PCR analysis to assess the expression levels of multiple transcripts from the same sample. Biological Procedures 3:19-25.

Martín-Hernández AM, Picó B, 2021. Natural resistances to viruses in cucurbits. Agronomy 11(23): 1-29.

Mirhosseini-chahooki SZ, Massumi H, Heydanejada J, Hosseinipour A, Abdoshahi R, Maddahian M, 2022. The reaction of forty cucurbits genotypes against Cucumber mosaic virus. *Plant Pathology Science* 11(1): 48-59.

Nematollahi S, Sokhandan BN, Rakhshandehroo F, Zamanizadeh HR (2012) Phylogenetic analysis of new isolates of *Cucumber mosaic virus* from Iran on the basis of different genomic regions. The Plant Pathology Journal 28(4):381-389.

Nematollahi S, Sokhandan BN, Rakhshandehroo F, Zamanizadeh HR (2016) Investigating the biological and molecular characteristics of several isolates of Cucumber mosaic virus from northwestern Iran. Journal of Applied Research in Plant Protection 6 (3): 97-108. (In Persian).

Nisha S, Revathi K, Chandrasekaran R, Kirubakaran SA, Sathish-Narayanan S, Stout M J, Senthil-Nathan S (2012). Effect of plant compounds on induced activities of defenserelated enzymes and pathogenesis related protein in bacterial blight disease susceptible rice plant. Physiological and Molecular Plant Pathology 80: 1-9.

Nourbakhsh shourabi F, Shamsbakhsh M (2019). Cucumber mosaic virus and cauliflower mosaic virus contamination on rapeseed resistance to turnip mosaic virus. *Knowledge of herbal medicine. Iran*, 50 (1), 119-127. (In Persian)

Oide S, Bejai S, Staal J, Guan N, Kaliff M, Dixelius CA, (2013) novel role of PR 2 in abscisic acid (ABA) mediated, pathogen-induced callose deposition in Arabidopsis thaliana. New Phytologist 200: 1187–1199.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]

Otulak-Kozieł K, Kozieł E, Lockhart B (2018) Plant cell wall dynamics in compatible and incompatible potato response to infection caused by potato virus Y (PVYNTN). International Journal of Molecular Science 19: 862-868.

Palukaitis P, Garcia-Arenal F(2003) Cucumoviruses. Advance Virus Research 62: 241-23.

Peltonen S, Karjalainen R (1995). Phenylalanine ammonia-lyase activity in barley after infection withBipolaris sorokinianaor treatment with its puri®ed xylanase. Journal of Phytopathology 143: 239-245.

Peyman M,Ghannadha MR, Majidi E, Zarbakhsh A, Darvish F, Hasanabadi H (2004) Evaluation and introduction of virus resistant genotypes in potato. Iranatonal Journal of Agricultural Science 35(4): 809-815. (In Persian).

Phan MS, Seo J, Choi HS, Lee SH, Kim KH (2014) Pseudore combination between two distinct strains of Cucumber mosaic virus results in enhancement of symptom sseverity. The Plant Pathology Journal 30:316-322.

Pourrahim R., Farzadfar Sh,.Golnaraghi A R (2002) Basics of plant virology. Saman Pishegar. Press, 474 p. (In Persian).

Rakhshandehroo F, Takeshita M, Squires J, Palukaitis P (2009) The Influence of RNA-Dependent RNA Polymerase 1 on Potato virus Y Infection and on Other Antiviral Response Genes. Molecular Plant-Microbe Interaction 22: 1312-1318.

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

Samiei A, Masoumi H, Shabaniyan M, Hosinpoor A, Heidarneghad J (2007). Evaluation of the response of different varieties of zucchini to 6 important viruses in field and greenhouse conditions. The Journal of Agriculture and Natural Resources Sciences 15:23-30. (In Persian).

Sindelarova M and Sindelar L (2005). Isolation of pathogenesis-related proteins from TMV-infected tobacco and their influence on infectivity of TMV. Plant Prot. Sci. 41: 52–57.

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

Stotz HU, Thomson JG, Wang Y(2009) Plant defensins Defense, development and application. Plant Signaling & Behavior 4: 1010-1012.

Vidhyasekaran P (2002) Bacterial disease resistance in plants: molecular biology and biotechnological applications. Routledge. 322p.

Xu H, Park NI, Li X, Kim YK, Lee SY, Park SU (2010) Molecular cloning and characterization of phenylalanine ammonia-lyase, cinnamate 4hydroxylase and genes involved in flavone biosynthesis in Scutellaria baicalensis. Biotechmology 101(24): 9715-9722.

Yang Y, Yan S, Wang H, Chen Z (1992) Screening and application of differential host of CMV strain on pepper. Virologica Sinica 7: 317-327.

Yuan J, Reed A, Chen F, Stewart C (2006). Statistical analysis of real time PCR data. BMC Bioinformatics 7: 85-90.

Zeng R, Liao Q, Feng J, Li D, Chen J (2007). Synergy between Cucumber Mosaic Virus and Zucchini Yellow Mosaic Virus on Cucurbitaceae hosts tested by Real-time Reverse Transcription-Polymerase chain reaction. Acta Biochimica et Biophysica Sinica 39(6): 431-437.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.61186/pps.12.2.11]