بیماری‌های گیاهی / جلد ۵۸ / شماره ۴ / سال ۱۴۰۱: ۳۰۴-۳۰۱ DOI: 10.22034/ijpp.2023.2010064.424

CC BY

گزارش علمی کوتاه

شناسائی هندوانه به عنوان میزبان طبیعی جدید ویروس کوتولگی سبزرد نخود ایرانی در ایران

مریم اسماعیلی[۱] و جهانگیر حیدرنژاد[۲*]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۳)

در سال‌های اخیر، خسارت ویروس کوتولگی سبزرد نخود ایرانی (chickpea chlorotic dwarf virus, CpCDV)، از جنس *Mastrevirus* و خانوادهٔ *Geminiviridae*) در تعداد زیادی از گیاهان مانند هندوانه، بامیه و پنبه شدت گرفته و این ویروس از نقاط مختلف دنیا گزارش شده است (Kanakala and Kuria 2018). در تحقیق حاضر، آلودگی طبیعی هندوانه به CpCDV در مزارع مورد بررسی قرار گرفت. در سال ۱۳۹۷، ده نمونهٔ هندوانه با علائم سبزردی برگ‌ها، سفتی، تغییر رنگ با ایجاد رگه‌های سفید در داخل میوه، عدم تقارن و افزایش بذرهای عقیم در میوه (شکل ۱) از مزارع آلودهٔ هندوانه در بهبهان (استان خوزستان) جمع‌آوری شدند. دی ان ای کل نمونه‌ها به روش cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) از بافت برگ استخراج گردید و مولکول‌های دی ان ای حلقوی موجود در آن‌ها به روش تکثیر دایرهٔ غلتان (rolling circle amplification, RCA) با استفاده از آنزیم فی ۲۹ دی‌ان‌ای پلی‌مراز (TempliPhi, GE Healthcare, USA) غنی‌سازی گردید. از محصول RCA حاصل به عنوان رشتهٔ الگو به همراه جفت آغازگر CpCDV-752-F/CpCDV-1326-R (Askari *et al.* 2021) در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده گردید. این آزمون، منجر به تکثیر قطعهٔ قابل انتظار به اندازهٔ ۵۷۵ جفت باز برای هر ده نمونه گردید (شکل ۲) که آلودگی نمونه‌ها به CpCDV را اثبات نمود.

واژه‌های کلیدی: خانوادهٔ *Geminiviridae*، تکثیر دایرهٔ غلتان، سندروم سفت‌شدن میوه، CpCDV

---

* بخشی از یک طرح تحقیقاتی ارائه شده به دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jheydarnejad@uk.ac.ir

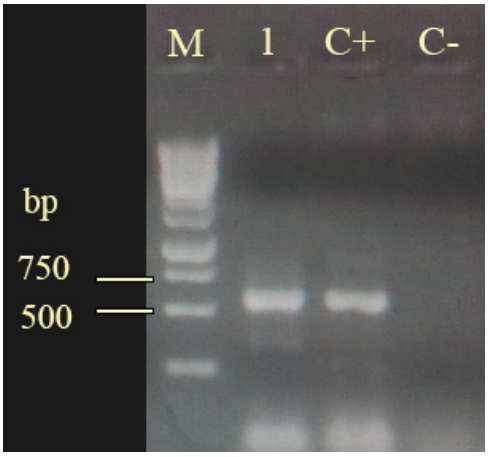
۱ دانش آموخته دورهٔ دکتری بیماری شناسی گیاهی، بخش گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲ استاد بخش گیاهپزشکی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تعیین ترادف نوکلوتیدی محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مربوط به نمونهٔ **W1**، آلودگی قطعی آن‌را بـه **CpCDV** تأییـد نمـود. ایـن ویروس دارای دامنهٔ میزبانی وسیعی است و تاکنون آلودگی ناشی از آن از گیاهان ۱۱ خانواده از جمله خانوادهٔ کدوئیان مانند خیار، کدو و هندوانه (**Kanakala and Kuria 2018; Zaagueri *et al.* 2017**) گزارش شده است. علائـم مشـاهده شـده در بوتـه‌های آلـودهٔ هندوانه در این مطالعه، شباهت زیادی به علائم نمونه‌های آلودهٔ همین گیاه دارد که قبلا تحت عنوان "سندروم سفت شـدن میـوهٔ هندوانـه (**hard fruit syndrome**)" از کشور تونس گزارش شده و ارتباط آن با علائم **CpCDV** اثبات گردیـده اسـت (**Zaagueri *et al.* 2017**). بررسی‌های این مطالعه نشان داد که شدت این بیماری در مزارع هندوانهٔ بهبهان (استان خوزستان) قابل توجه است. همچنین، علائم مشابه با این بیماری در برخی از مزارع هندوانه در دو استان کرمان و هرمزگان نیز مشاهده شده است. با توجـه بـه دامنـهٔ میزبـانی وسـیع ویروس مانند انواع گیاهان لگوم دانه‌ای، بامیه، گوجه‌فرنگی، اسفناج، فلفل و پنبه در کشورهای همسایه ایران و همچنین یافته‌های اخیر، بـه نظر می رسد که **CpCDV** دارای میزبان‌های بیشتر و گسترش وسیعی در ایران باشد. با این وجود، بـرای اثبـات ایـن موضـوع نیـاز بـه بررسی‌های بیشتری می باشد. این اولین گزارش از آلودگی هندوانه به **CpCDV** در ایران است.

شکل ۱- علائم بوته‌های هندوانهٔ آلوده به ویروس کوتولگی سبزرد نخود ایرانی شامل سبزردی و کوچک شدن برگ‌ها (**a**)، ایجاد رگه‌های سفید در میوه‌های هندوانه، نامتقارن شدن (تغییر شکل) میوه همراه با افزایش دانه‌های عقیم (**b**). جمع آوری شده ار مزارع شهرستان بهبهان (استان خوزستان).

Figure 1. Symptoms of watermelon plants infected with chickpea chlorotic dwarf virus include leaf chlorosis and reduced leaf size (a) and the formation of whitish stripes in the watermelon, asymmetric shape (deformation) of fruits and increasing aborted seeds (b), collected from the fields of Behbahan city (Khuzestan Province).



شکل ۲ – نقوش الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مربوط به نمونهٔ هندوانهٔ آلوده در ژل آگاروز یک درصد. چاهک ۱، نمونه برگ هندوانه (جدایهٔ **W1**)؛ **C+**، شاهد مثبت (نمونهٔ نخود ایرانی آلوده به ویروس کوتولگی سبزرد نخود ایرانی)؛ **C-**، شاهد منفی (برگ هندوانهٔ سالم)؛ **M**، نشانگر دی ان ای یک کیلو باز (**Thermo Fisher Scientific, USA**).

Figure 2. Electrophoresis patterns of the PCR product of diseased watermelon sample in 1% agarose gel. Lane 1, leaf sample of the infected watermelon (isolate W1); C+, positive control (CpCDV infected chickpea); C-, negative sample (leaf sample of the healthy watermelon); M, 1 kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, USA).

Iran. J. Plant Path., Vol. 58, No. 4, 2022: 301-304

CC BY

DOI: 10.22034/ijpp.2023.2010064.424

Short Scientific Report

Identification of watermelon as a new natural host of chickpea chlorotic dwarf virus in Iran

Maryam Esmaeili[2] and Jahangir Heydarnejad[1]**

(Received: 26.08.2023; Accepted: 25.09.2023)

In recent years, yield losses due to chickpea chlorotic dwarf virus (CpCDV, *Mastrevirus*, *Geminiviridae*) infection have been intensified in a large number of plants such as watermelon, okra and cotton and the virus has been reported around the world (Kanakala and Kuria 2018). In the current study, natural infection of watermelon with CpCDV was investigated. Watermelon samples showing leaf chlorosis, hardness and discoloration of the flesh with whitish stripes, deformation and increasing seed abortion of fruits (Fig. 1) were collected from watermelon-growing farms in Behbahan (Khuzestan Province) in 2018. Total DNA of the samples was extracted from leaf tissue using the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method followed by the enrichment of the extracted circular DNA molecules by rolling circle amplification (RCA) method using phi 29 DNA polymerase (TempliPhi kit, GE Healthcare, USA). Polymerase chain reaction (PCR) tests using RCA product as DNA template and the primer pair CpCDV-752-F/CpCDV-1326-R (Askari *et al.* 2021) resulted in the amplification of an expected 575 bp DNA fragment (Fig. 2) indicating the infection of the all tested samples with CpCDV. The definitive infection of a PCR positive sample (W1) with CpCDV was confirmed by sequencing of PCR product. CpCDV has a broad host range and infects members of 11 plant families including several cucurbitaceous plants, such as cucumber, squash and watermelon (Kanakala and Kuria 2018; Zaagueri *et al.* 2017). The observed symptoms of the infected watermelon plants in this study were very similar to the symptoms of infected samples of the same plant, which was previously reported as "hard fruit syndrome" of watermelon in Tunisia, and the pathogenesis of the causal virus (CpCDV) was demonstrated (Zaagueri *et al.* 2017). The surveys of this study showed that the disease severity is remarkable in watermelon-growing farms in Behbahan and similar symptoms were also observed in some watermelon farms in Kerman and Hormozgan Provinces. Considering the wide host range of the virus, for example, several grain legumes, okra, tomato, spinach, pepper and cotton in neighboring countries of Iran and recent findings, it seems that CpCDV may has more natural hosts and a wide spread in Iran. However, further studied are required to confirm this hypothesis. This is the first report of the CpCDV infection of watermelon in Iran.

Keywords: *Geminiviridae*, Rolling circle amplification, Hard fruit syndrome, CpCDV

*A part of research project submitted to College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman
**Corresponding author's, E-mail address: jheydarnejad@uk.ac.ir
1 Graduated PhD student of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Professor of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

References

منابع

Askari F., Heydarnejad J., Vaziri S., Esmaeili M., Massumi H. 2021. Chickpea chlorotic dwarf virus: natural hosts and genome characterization of a virus isolate in eastern and southern Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 57(3): 203-216. https://doi.org/10.22034/ijpp.2021.535291.363

Kanakala S. and Kuria P. 2018. Chickpea chlorotic dwarf virus: An emerging monopartite dicot infecting mastrevirus. Viruses 11(1). https://doi.org/10.3390/v11010005

Zaagueri T., Miozzi L., Mnari-Hattab M., Noris E., Accotto G.P. and Vaira A.M. 2017. Deep Sequencing data and infectivity assays indicate that *Chickpea chlorotic dwarf virus* is the etiological agent of the "hard fruit syndrome" of watermelon. *Viruses* 9(11): 311. https://doi.org/10.3390/v9110311