

## افزایش میزان تحمل خربزه به ویروس زردی شته زاد کدوئیان و ویروس کوتولگی زرد کدوئیان با استفاده از محرک‌های سیستم دفاعی

منصور صلاتی<sup>۱</sup>✉، کاوه بنانج<sup>۲</sup>، سارا قارونی کاردان<sup>۱</sup>، محمدرضا حسینی<sup>۱</sup>، زهرا غلام‌پور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران. <sup>۲</sup>بخش تحقیقات ویروس‌شناسی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. <sup>۳</sup>گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. ✉mansoursalati1@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۷ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰

### چکیده

خربزه (*Cucumis melo*) به‌عنوان یک محصول کشاورزی ارزشمند از نظر تغذیه‌ای و اقتصادی تلقی می‌شود. اما بیماری‌های ویروسی برای محصول خربزه تهدید جدی محسوب می‌شوند. تحقیق حاضر به بررسی اهمیت استفاده از محرک‌های سیستم دفاعی برای کاهش تأثیر ویروس‌ها بر عملکرد و کیفیت محصول خربزه می‌پردازد. در این تحقیق از الیسیتورها و مالچ پلی‌اتیلن به عنوان تحریک‌کننده سیستم دفاعی گیاهی برای افزایش میزان تحمل گیاه به ویروس استفاده شد. بدین منظور زمین کشاورزی در منطقه آبروان شهرستان مشهد آماده و تیمارها شامل استفاده از مالچ و الیسیتورها در مراحل مختلف رشد گیاهان خربزه بودند. نمونه‌برداری از برگ‌های بوته‌های دارای علائم ویروسی صورت گرفت و RNA از بافت برگ‌ها استخراج شد. سپس از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز دوگانه (dRT-PCR) برای شناسایی همزمان ویروس زردی شته زاد کدوئیان (*Cucurbit aphid-borne yellows virus, CABYV*) و ویروس کوتولگی زرد کدوئیان (*Cucurbit yellow stunting disorder virus, CYSDV*) استفاده شد. در انتها، آمارهای مربوط به درصد علائم ویروسی در بوته‌ها در سه خط وسط تیمارها تحلیل شد. نتایج نشان داد تیمار با الیسیتورها و مالچ پلی‌اتیلن به طور همزمان در دو مرحله گیاهچه‌ای و مرحله ۲ تا ۴ برگی خربزه توانست شدت علائم موزائیک و زردی در گیاهان خربزه را به طور معنی‌داری کاهش دهد. همچنین، این تیمار موجب افزایش عملکرد محصول در هر هکتار شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ترکیب استفاده از الیسیتورها و مالچ پلی‌اتیلن می‌تواند به عنوان یک استراتژی مؤثر در کاهش علائم ویروسی و افزایش عملکرد محصول در کاشت خربزه مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: الیسیتورها، پلی‌اتیلن، خربزه، مالچ، مدیریت

### Enhancing melon tolerance to *Cucurbit aphid-borne yellows virus* and *Cucurbit yellow stunting disorder virus* using defense activator

Mansour Salati<sup>1</sup>✉, Kaveh Bananej<sup>2</sup>, Sara Gharouni<sup>1</sup>, Mohamad Reaza Houseini<sup>1</sup>, Zahra Gholampour<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran. <sup>2</sup>Plant Virus Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. <sup>3</sup>Plant Protection Department, Faculty of Sciences, University of Ferdowsi, Mashhad, Iran. ✉Mansoursalati1@gmail.com

Received: 29 October 2023

Revised: 24 January 2024

Accepted: 30 January 2024

#### Abstract

Melon (*Cucumis melo*) is considered a valuable agricultural crop in terms of nutrition and economy. However, viral diseases pose a serious threat to melon production. This study investigates the importance of using defense activator to reduce the impact of viruses on melon yield and quality. Elicitors and polyethylene mulch were used as defense activator to increase plant tolerance to viruses. Agricultural plots in the Abravan region of Mashhad were prepared, and treatments included the use of mulch and elicitors at different stages of melon plant growth. Leaf samples were collected from symptomatic plants, and RNA was extracted from the leaf tissues. Duplex reverse transcription polymerase chain reaction (dRT-PCR) was used to simultaneously identify *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) and *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV). The percentage of viral symptoms in the plants across the treatment groups was analyzed. The results showed the presence of CABYV and CYSDV in different treatments. Treatment with elicitors and polyethylene mulch significantly reduced the severity of mosaic and yellowing symptoms in melon plants at the seedling and 2-4 leaf stages. Additionally, this treatment increased crop yield per hectare and prevented infection by CABYV and CYSDV. The findings suggest that the combination of elicitors and polyethylene mulch can be an effective strategy to reduce viral symptoms and increase crop yield in melon cultivation.

**Keywords:** Elicitors, Management, Melon, Mulch, Polyethylene

#### How to cite:

Salati M, Bananej K, Gharouni S, Houseini MR, Gholampou3 Z, 2024. Enhancing melon Tolerance to *Cucurbit aphid-borne yellows virus* and *Cucurbit yellow stunting disorder virus* using defense activator. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 13 (2): 167-177.

## مقدمه

کدوییان، متعلق به تیره *Cucurbitaceae*، یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی عمده کشت شده در ایران به شمار می‌روند. این محصول از نظر ارزش اقتصادی رتبه اول، از نظر عملکرد دوم و از نظر سطح زیرکشت رتبه سوم را دارد (Bananej & Vahdat 2008). خربزه یک گیاه مهم در کشاورزی است که از نظر تغذیه‌ای بسیار ارزشمند است و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به خوبی رشد می‌کند و منشاء آن ایران و آفریقا است (Ying et al. 2010; Schaefer & Renner 2011). در مناطق مختلف می‌توان انواع مختلفی از میوه خربزه را پیدا کرد که به طور قابل توجهی به شرایط محیطی و اقلیم مناطق کشت وابسته است (Sobhani 2011). در سال زراعی ۱۳۹۹، مساحت کل زیر کشت جالیز در استان خراسان رضوی ۳۱،۰۰۰ هکتار بود. از این میان، کشت خربزه با مساحت تقریبی ۲۴،۰۰۰ هکتار، به عنوان محصول برتر کشور، شناخته می‌شد (Anonymous 2020). مهم‌ترین توده‌های مورد کشت خربزه در استان شامل خاتونی، قصری، درگری، خاقانی، بندی، جعفرآبادی، چاه پالیز، عباس شوری، آناناسی و زمستانه می‌باشند (Sobhani & Hamidi 2015).

بیماری‌های ویروسی بهره‌وری کشاورزی و امنیت غذایی در سراسر جهان را تهدید می‌کنند. آنها می‌توانند باعث کاهش قابل توجهی در کمیت و کیفیت محصولات شوند و بر معیشت کشاورزان تأثیر داشته باشند (Jones & Naidu 2019). خانواده کدوییان مستعد ابتلا به بیماری‌های ویروسی مختلف می‌باشند و تاکنون در سراسر جهان بیش از ۷۰ گونه ویروس گیاهی با ناقلین متعددی در کدوییان شناسایی شده است (Minicka 2020). در دهه‌های اخیر، بیماری زردی در سراسر جهان گزارش شده است. در ابتدا، این اختلالات به کمبود مواد غذایی نسبت داده می‌شد. با استفاده از ابزارهای تشخیص مناسب، نشان داده شد که این علائم عمدتاً توسط ویروس ایجاد می‌شوند (Kassem et al. 2007). تاکنون، ویروس‌های زیادی از جنس‌های متفاوت، همراه یا موثر در بروز علائم زردی کدوییان، از مناطق مختلف جهان گزارش شده‌اند. برخی از شایع‌ترین بیماری‌های ویروسی که روی کدوییان تأثیر می‌گذارند عبارتند از ویروس موزاییک خال سبز خیار (CGMMV)، ویروس موزاییک خیار (CMV)، ویروس موزاییک هندوانه ۱ (WMV-1)، ویروس موزاییک هندوانه ۲ (WMV-2)، ویروس موزاییک زرد کدو سبز (ZYMV) و ویروس موزاییک کدو حلواپی (SqMV) (Lecoq et al. 2001). پنج عامل ویروسی، شامل

ویروس شته زرد کدوییان (CABYV)، WMV، ZYMV، CMV و ویروس کوتولگی زرد کدوییان (CYSDV)، به طور اختصاصی از مزارع خربزه استان خراسان رضوی ردیابی شده‌اند (Salati 2008; Bananej & Vahdat 2016).

استراتژی‌های مدیریتی مختلفی برای ویروس‌های کدوییان وجود دارد، که از این بین می‌توان به استفاده از بذر عاری از آلودگی و گونه‌های مقاوم، برنامه‌های بهداشتی و مدیریت ناقلین اشاره کرد. روش‌های سنتی کنترل بیماری مانند استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی، از نظر اثربخشی و پایداری زیست محیطی محدودیت‌هایی دارند، به همین دلیل، استراتژی‌های جایگزین به منظور کاهش بیماری‌های ویروسی در محصولات، از جمله استفاده از مالچ پلی اتیلن و ایسیستورها مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Smith et al. 2019).

مالچ پلی‌اتیلن، یک مدیریت کشاورزی رایج است که شامل پوشاندن خاک اطراف گیاهان با لایه‌ای از پلاستیک می‌باشد. این تکنیک مزایای مختلفی از جمله مهار علف‌های هرز، حفظ رطوبت و بهبود دمای خاک دارد و با به حداقل رساندن تماس بین گیاه و خاک، از انتقال بیماری‌های قارچی جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، بازتابش نور از سطح مالچ‌های پلاستیکی می‌تواند با دور کردن ناقلین از میزبان زراعی باعث کاهش آلوده شدن گیاه زراعی در مراحل اولیه به ویروس‌های مربوطه گردد (Arogundade et al. 2019). همچنین، مالچ پلی‌اتیلن دو رنگ نقره-مشکی دارای کارایی بالایی در کاهش جمعیت سفیدبالک، تریپس و شته‌ها بوده و همچنین موجب کاهش آلودگی بیماری‌های ویروسی شامل CMV، WMV، CABYV، ZYMV و CYSDV شده است (Salati et al. 2015).

ایسیستورها موادی هستند که می‌توانند واکنش دفاعی را در گیاهان تحریک کنند و آنها را در برابر پاتوژن‌ها از جمله ویروس‌ها مقاوم‌تر کنند. آنها با تحریک تولید ترکیبات دفاعی مختلف مانند فیتوالکسین‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (PR) عمل می‌کنند (Meena et al. 2022). بر اساس منشأ، ایسیستورها را می‌توان به دو دسته زنده و غیر زنده تقسیم کرد. دسته اول توسط عوامل میکروبی، پاتوژن‌ها، گیاهان در پاسخ به انواع مختلف استرس آزاد می‌شوند (Ramirez-Estrada et al. 2016). آنها را می‌توان به دسته‌های زیر تقسیم بندی کرد: (الف) عصاره‌های گیاهی؛ (ب) هورمون‌ها؛ (ج) اسیدهای آمینه؛ (د) مشتقات میکروارگانیسم‌ها؛ (ه) قطعات دیواره سلولی. دسته غیر زنده منشأ بیولوژیکی ندارند و می‌توان آنها را به شیمیایی و فیزیکی تقسیم کرد. ایسیستورهای

چرخشی پایا است. باعث زردی و ضخیم شدن برگ در خربزه می‌شود (Lecoq et al. 1992). CYSDV (از جنس *Crinivirus* از خانواده *Closteroviridae*) به‌روشی نیمه پایا توسط چندین بیوتیپ از *Bemisia tabaci* Gennadius منتقل می‌شود (Celix et al. 1996). در خربزه، CYSDV باعث القا کلروز بین رگبرگی می‌شود. این تغییرات رنگی برای ناقلان مگس سفید، بسیار جذاب و جلب‌کننده است و از این رو نقش مهمی در انتقال و گسترش این ویروس در گیاه خربزه ایفا می‌کند (Kim & Lim 2011). CYSDV همچنین میزان عملکرد و کیفیت میوه را کاهش می‌دهد (Wintermantel et al. 2017). هر دو CABYV و CYSDV تهدیدهای مهمی برای خربزه در مناطق زیر کشت خربزه در ایالات متحده، خاورمیانه و اروپا هستند (Abrahamian & Abou-Jawdah 2014).

در مطالعات انجام شده در استان خراسان رضوی به عنوان رتبه نخست تولید خربزه در کشور، مهم‌ترین ویروس‌های شناسایی شده در بوته‌های خربزه شامل ویروس موزاییک زرد کدو (*Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV*)، CABYV، CYSDV و ویروس زردی رگبرگ خیار (*Cucumber vein yellowing virus, CVYV*) بودند. بین این ویروس‌ها، بیشترین فراوانی مربوط به دو ویروس CABYV و CYSDV بود (Salati et al. 2021). با توجه به تغییرات اقلیمی اخیر در کشور با گرم شدن هوا و تغییرهایی در بارندگی، جمعیت آفات مکنده که به عنوان عوامل اصلی انتقال برخی ویروس‌های گیاهی هستند، افزایش یافته است (Banihashemi 2016). همچنین، جلوگیری از آلوده شدن گیاه، به ویژه از مرحله گیاهچه‌ای، می‌تواند مانع خسارت‌های بیشتر شود. به منظور اجرای مدیریت تلفیقی علیه بیماری‌های ویروسی در کاشت خربزه، می‌توان علاوه بر کاهش میزان جمعیت آفات در کاشت خربزه، از ترکیبات تحریک کننده سیستم دفاعی گیاه، مقاومت بوته‌های خربزه نسبت به این بیماری‌ها را نیز افزایش داد. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر الیستورها و مالچ پلی‌اتیلن نقره-مشکی بر میزان ظهور علائم ویروس، درصد آلودگی و میزان عملکرد میوه خربزه آلوده به ویروس بوده است.

## مواد و روش‌ها

### آماده سازی زمین و تیمارها

در زمین کشاورزی منطقه آبروان شهرستان مشهد، فرآیند آماده‌سازی مزرعه و اعمال توصیه‌های کودی انجام شد و در مرحله بعد، مالچ پلی‌اتیلن-نقره مشکی بر روی سطح زمین در

غیر زنده شیمیایی ترکیبات غیر آلی مانند نمک‌ها یا یون‌های فلزی و الیستورهای سنتز شده شیمیایی هستند. در حالی که محرک‌های فیزیکی غیر زنده شامل صدمات مکانیکی وارده به گیاه، تابش، خشکسالی، سرما و ... می‌باشند (Zehra et al. 2021). در نهایت، القای پاسخ‌های دفاعی ممکن است منجر به افزایش مقاومت گیاه شود (Thakur & Singh 2013). پژوهش‌های قبلی نشان داده است که تیمار گیاهان گوجه‌فرنگی و فلفل دلمه‌ای با عصاره‌های *Bougainvillea spectabilis* Willd و *Azadirachta indica* Juss و قدرت رشد نهال‌های آلوده به ویروس موزاییک تنباکو و ویروس موزاییک گوجه‌فرنگی می‌شود (Madhusudhan et al. 2011). توانایی میکروارگانیسم‌هایی مانند *Bacillus* spp و *Rhodopseudomonas palustris* با افزایش القای مقاومت سیستمیک در برابر TMV در گیاهان تنباکو گزارش شده است (Wang et al. 2009؛ Su et al. 2017). اثر بازدارندگی محلول کیتوزان در رفع لکه‌های موضعی در گیاهان لوبیای آلوده به ویروس موزاییک یونجه (*Alfafa mosaic virus, AIMV*) توسط Pospieszny & Atabekov (1989) به اثبات رسیده است.

اسید سالیسیلیک (SA) به‌عنوان ماده دخیل در انتقال سیگنال‌های مربوط به استرس‌های محیطی (زنده و غیر زنده) دارای نقش مهم و اساسی در القای مقاومت است. در مورد ویروس‌ها، اسید سالیسیلیک می‌تواند از سه مرحله اساسی در چرخه بیماری‌زایی آن شامل همانندسازی، حرکت سلول به سلول و حرکت در مسافت طولانی جلوگیری کند (Tahmasabi et al. 2010). کاربرد SA و دی‌کلروایزونیکوتینیک (INA) سبب کاهش میزان علائم ویروس Y در سبب زمینی گردیده است (Baebler et al. 2011). همچنین، استفاده از SA باعث ایجاد مقاومت در برابر CMV در گیاه توتون شده است و نیز از حرکت سلول به سلول و انتقال سیستمیک در گیاه کدو جلوگیری می‌نماید (Mayers et al. 2005). محلول پاشی تیمار الیستورهای کیتوزان با غلظت ۱۵۰۰ ppm به همراه SA با غلظت ۲۱۰ ppm روی خیار در شرایط گلخانه نشان دادند که شدت علائم بیماری ویروسی CMV ظاهر شده به میزان ۳۸/۴ درصد نسبت به شاهد آلوده، کاهش داشته است (Salati & Bananej 2016).

ویروس زردی شته‌زاد کدوئیان یکی از اعضای جنس *Poterovirus* در خانواده *Luteoviridae* است. انتقال آن توسط *Myzus persicae* Sulzer و *Aphis gossypii* Glover به صورت

برداری گیاهچه‌ها)، هیچگونه علائمی در تیمارها مشاهده نشد. این امر بدلیل فراوانی کم ویروس در تیمارهای آزمایش بوده است.

#### استخراج ژنوم ویروس

برای استخراج RNA از بافت برگ، از روش بهینه‌سازی شده CTAB-PVPP برای استخراج اسید نوکلئیک استفاده شد (Gholampour & Zakiaghl 2016). به منظور ارزیابی کیفیت RNA استخراج شده، از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد.

سنتر رشته مکمل (cDNA) و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز دوگانه در مرحله سنتر رشته مکمل (cDNA)، برای هر نمونه از آرانی کل با غلظت ۴۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر، چهار میکرولیتر از آن با دو میکرولیتر آغازگر هگزامر تصادفی (Randomhexamer) با غلظت ۱۰ پیکومول و چهار میکرولیتر آب دیونیزه ترکیب شد. سپس میکروتیوب‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گرم شدند و سپس یک دقیقه روی یخ قرار گرفتند. پس از این مرحله، دو میکرولیتر مخلوط dNTPs با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، چهار میکرولیتر بافر واکنش 5X و ۱ میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس (Reverse Transcriptase، RevertAid Fermentas، 1000 U) با غلظت پنج واحد در میکرولیتر به مخلوط اضافه شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند و پس از آن، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد در ترموسایکلر قرار گرفتند.

برای شناسایی همزمان دو ویروس CABYV و CYSDV بر اساس تکثیر بخشی از ژن پروتئین پوششی آنها، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دوگانه (( Duplex Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (dRT-PCR AMINSANTM 2X PCR MASTER MIX استفاده از کیت Boubourakas et al. (2006) به روش توصیف شده توسط استفاده شد. در یک میکروتیوب، ۱۰ میکرولیتر از Master mix، یک میکرولیتر آغازگر مستقیم اختصاصی، یک میکرولیتر آغازگر معکوس اختصاصی با توالی‌های مشخص و غلظت ۱۰ پیکومول (جدول ۱)، یک میکرولیتر MgCl<sub>2</sub>، سه میکرولیتر از cDNA و دو میکرولیتر آب مقطر استریل ترکیب شد. پروفایل دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل یک چرخه در دمای ۹۴ درجه به مدت پنج دقیقه و ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه در مرحله واسرشت سازی، ۵۷ درجه به مدت ۳۰ ثانیه

تیمارهای مورد نیاز قرار گرفت. این مالچ از دو رنگ سیاه و نقره‌ای یا آلومینیومی تشکیل شده بود که رنگ سیاه به سمت زمین و رویه‌ی نقره آن به سمت رو یا بالا مورد استفاده قرار گرفت. میزان درصد ماده ضد وی وی در این مالچ ۱/۵ درصد و عرض پلاستیک ۱۱۰ سانتیمتر بود. پس از کشیدن مالچ در سطح زمین و انتقال گیاهچه‌های خریزه توده خاتونی صورت گرفت. طرح آزمایشی شامل بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار یا بلوک بود. فواصل بین ردیف‌های کاشت سه متر و فواصل بین بوته‌های خریزه ۷۰ سانتیمتر بود. هر خط ۱۰ متر طول داشت و هر تیمار شامل پنج خط بود. فواصل بین بلوک‌ها یک متر بود و در طول تمام مراحل، از ابتدا تا انتها، هیچگونه سم‌پاشی و کنترلی برای مبارزه با آفات مکنده انجام نشد. محلول پاشی اندام هوایی گیاه خریزه با الیستورها شامل کیتوزان (سیگما) با غلظت ۱۵۰۰ ppm و اسید سالیسیلیک (سیگما) با غلظت ۲۱۰ ppm انجام پذیرفت که بصورت همزمان مورد استفاده قرار گرفتند. کیتوزان در اسید استیک یک دهم درصد با کمی حرارت و هم‌دن حل گردید و سپس pH محلول روی ۵/۶ با کمک NaOH ۵ نرمال تنظیم شد. اسید سالیسیلیک به نسبت ۲۱۰ ppm به محلول کیتوزان اضافه و در نهایت با اضافه کردن آب مقطر به حجم نهایی مورد نظر رسانیده و محلول پاشی اندام‌های هوایی صورت پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل: ۱. تیمار بدون مالچ و بدون محلول پاشی الیستورها. ۲. تیمار مالچ تنها بدون استفاده از الیستورها. ۳. تیمار بدون مالچ و محلول پاشی الیستورها تنها در مرحله دو تا چهار برگی اصلی. ۴. تیمار مالچ و الیستورها در مرحله دو تا چهار برگی اصلی. ۵. تیمار مالچ و الیستورها در مرحله انتقال نشاء و مرحله دو تا چهار برگی اصلی. این تیمارها برای آزمایش و بررسی اثرات مختلف مالچ و محلول پاشی الیستورها در مراحل مختلف رشد گیاهان خریزه به کار گرفته شدند.

#### نمونه برداری

نمونه برداری برگی از مراحل گیاهچه‌ای، شروع گلدهی و قبل از برداشت چین اول بوته‌های دارای علائم، در سه ردیف وسط هر تیمار، پس از حذف نیم متر از حاشیه ردیف‌های کاشت مزرعه صورت گرفت. سپس نمونه‌ها با ثبت مشخصات، در شرایط سرما به آزمایشگاه منتقل و در یخچال نگهداری شدند.

لازم به ذکر است که در مرحله نخست نمونه برداری (نمونه

بسط نهایی با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad MJ Mini Thermal Cycler, USA) انجام شد.

در مرحله اتصال و ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه در مرحله بسط و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه به مدت پنج دقیقه در مرحله

**جدول ۱.** آغازگرهای مستقیم و معکوس اختصاصی دو ویروس Cucurbit yellow stunting disorder virus و Cucurbit aphid-borne yellows virus

**Table 1.** Specific forward and reverse primers for *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Cucurbit aphid-borne yellows virus*.

Name of the primer	Sequence	position on the genome	Product Length (bp)	References
CYSDV 1	5'_ATGGACATGCGTAACTGTTAGTT-3'	1405-1769	364	Boubourakas et al. 2006
CYSDV 2	5'-ATAGCTGCTGCAGATGGTTC-3'			
CABYV 1	5'-GAACACTAGCCAAGCACACAC-3'	3321-3805	484	
CABYV 2	5'-GGTAGGCCTTGAATATTCCAG-3'			

روی مجموع ۴۵۷ گیاه در کل آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت. برای مقایسه میانگین از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

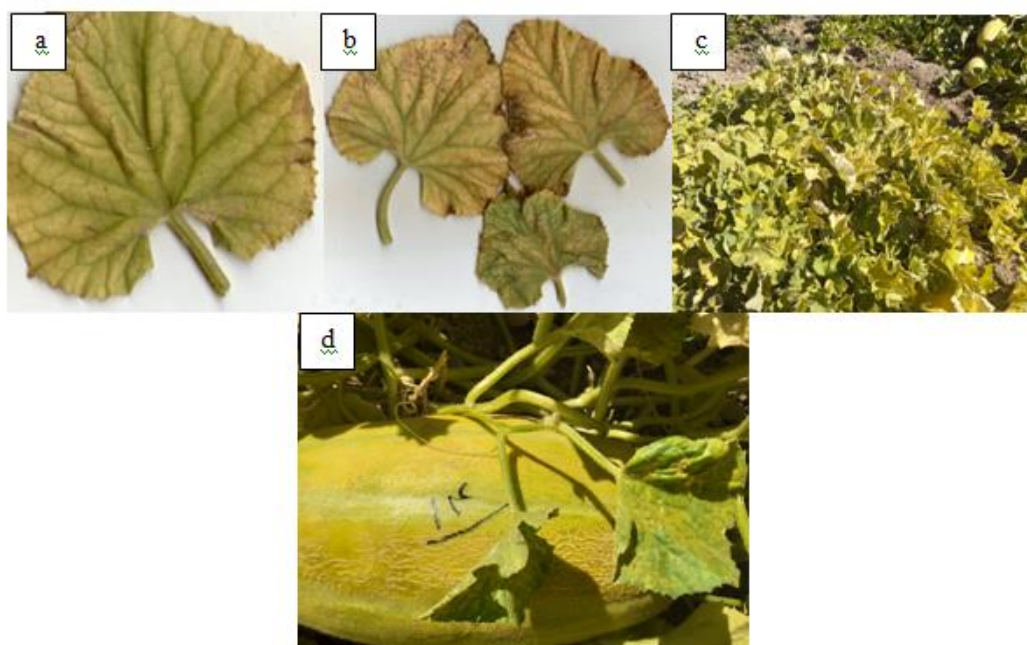
محصول PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی دو میکرولیتر از Green viewer (پارس توس-ایران) الکتروفورز و در نهایت در دستگاه ژل داک (Alphaimager Mini ProteinSimple, USA) عکس‌برداری شد.

### نتایج

نتایج نمونه برداری و تاثیر تیمارها در علائم ویروسی علائم مربوط به زردی و موزائیک نقطه‌ای حاصل از دو عامل ویروسی مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است.

### آنالیزهای آماری

تحلیل داده‌های آزمایش بر روی بوته‌های سه خط وسط تیمار پس از حذف نیم متر ابتدا و انتهای هر خط بر اساس میانگین درصد علائم ظاهر شده به ویروس‌های CABYV و CYSDV در بوته‌های هر تیمار محاسبه و سپس آنالیز داده‌ها



**شکل ۱.** علائم ظاهری ناشی از آلودگی طبیعی بوته‌های خربزه با ویروس کوتولگی زرد کدوئیان. (a, b, c) علائم زردی ظاهر شده در بوته‌ها ناشی از *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV). (d) علائم موزائیک نقطه‌ای در برگ خربزه ناشی از CABYV.

**Figure 1.** Symptoms caused by natural infection of melon plants *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV). a, b, c) Yellowing symptoms observed in plants due to the CYSDV, d) Spot mosaic symptoms on melon leaves caused by the CABYV.

میانگین درصد علائم ظاهر شده به دو عامل ویروسی

CABYV و CYSDV در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. میانگین درصد علائم به دو ویروس *Cucurbit yellow stunting disorder virus* و *Cucurbit aphid-borne yellows virus*

**Table 2.** Mean percentages of symptoms for *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Cucurbit aphid-borne yellows virus*.

Treatment number	Treatment	Percent of Spot mosaic (CABYV)	Percent of Yellowing (CYSDV)
1	- Malch – Elicitor1 (Control)	24.86 <sup>a</sup>	55.43 <sup>a</sup>
2	+ Malch – Elicitor	14.45 <sup>a</sup>	34.45 <sup>ab</sup>
3	- Malch + Elicitor 2-4 leaves	18.26 <sup>a</sup>	37.1 <sup>ab</sup>
4	+ Malch + Elicitor 2-4 leaves	5.11 <sup>b</sup>	31.26 <sup>b</sup>
5	+ Malch + Elicitor in two stages <sup>2</sup>	3.86 <sup>b</sup>	24.83 <sup>b</sup>

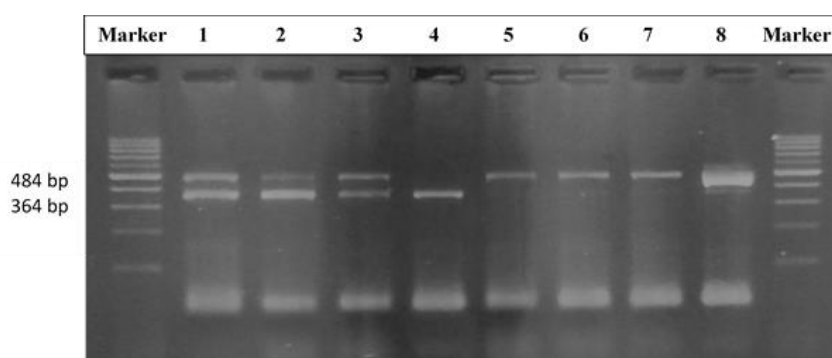
Different letters in the column indicate significant differences in LSD test at 0.05 level.

<sup>1</sup>The symbols (+) and (-) respectively indicate the use and non-use of elicitor.

<sup>2</sup>The two stages of elicitor application include the transplant and 2-4 real-leaves stage application.

ویروس‌ها در غلظت‌های بسیار پایین در بافت‌های گیاهی باشد. آلودگی مزرعه به ویروس CYSDV وابسته به فعالیت سفیدبالک‌های ناقل است. در غیاب مبارزه شیمیایی با این حشرات ناقل در قطعه آزمایشی، جمعیت آنها با گرم شدن هوا (از میانه فصل تا شروع برداشت میوه) به تدریج افزایش می‌یابد. این واقعیت منجر به گسترش ناگهانی آلودگی در مزرعه می‌شود. عدم کارایی مالچ در مقابل ویروس CYSDV می‌تواند به دلیل پوشاندگی سطح مفید بازتابش نور UV از سطح مالچ به علت رشد بوته‌های خریزه باشد. این پدیده باعث می‌شود که مالچ نتواند به طور کافی در دورکنندگی حشرات ناقل به کار برود و بدین ترتیب آلودگی به ویروس‌ها کاهش پیدا کند.

با توجه به نتایج، بیشترین درصد علائم موزائیک نقطه‌ای در تیمار شاهد با ۲۴/۸۶ درصد مشاهده شد. کمترین درصد علائم در تیمار ۵ با ۳/۸۶ درصد بود، که با تیمار ۴ با ۵/۱۱ درصد در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت. در مورد میزان درصد زردی بوته‌ها نیز تقریباً همین نتیجه به دست آمد. بطوریکه زردی در تیمار شاهد با ۵۵/۴۳ درصد بیشترین شدت را داشت و تیمار ۵ با ۲۴/۸۳ درصد بوته‌ها کمترین شدت علائم را داشت، اما این اختلاف در سطح ۵ درصد با تیمارهای ۴، ۳ و ۲ معنی‌دار نبود و در نتیجه تیمارهای مورد استفاده، آستانه تحمل گیاهان تیمار شده به آلودگی‌های ویروسی را در حالت ترکیبی افزایش داده‌اند. این عدم اختلاف معنی‌دار در نتایج ممکن است به دلیل قدرت بالای روش PCR در ردیابی



شکل ۲. الکتروفورز محصول dRT-PCR در ژل آگارز یک درصد با آغازگر اختصاصی ویروس CABY و ویروس CYSD. Marker: نشانگر مولکولی (100bp, Fermentas)، راهک‌های ۱، ۲، ۳ و ۸: محصول حاصل از تکثیر هر دو ویروس، راهک ۴: نمونه آلوده به CYSDV به تنهایی، راهک‌های ۵، ۶ و ۷: نمونه‌های آلوده به CABYV به تنهایی.

**Figure 2.** Electrophoresis of the dRT-PCR product on a 1% agarose gel using specific primers for CABYV and CYSDV. A. Molecular marker (100bp, Fermentas), Lanes 1, 2, 3, and 8: Represent samples infected with both viruses, Lane 4: Represent sample infected with CYSDV alone, Lanes 5, 6 and 7: Represent samples infected with CABYV alone.

**جدول ۳.** میانگین درصد آلودگی به دو ویروس *Cucurbit yellow stunting disorder virus* و *Cucurbit aphid-borne yellows virus*  
**Table 3.** Mean percentages of infection by *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Cucurbit aphid-borne yellows virus*.

Treatment number	Treatment	Mean Percent of CABYV Infection	Mean Percent of CYSDV Infection
1	- Malch – Elicitor <sup>1</sup> (Control)	30.2 <sup>a</sup>	19.63 <sup>a</sup>
2	+ Malch - Elicitor	31.36 <sup>a</sup>	17.56 <sup>a</sup>
3	- Malch + Elicitor 2-4 leaves	28.05 <sup>ab</sup>	17.4 <sup>a</sup>
4	+ Malch + Elicitor 2-4 leaves	23.6 <sup>b</sup>	15.03 <sup>a</sup>
5	+ Malch + Elicitor in two stages <sup>2</sup>	23.46 <sup>b</sup>	15.48 <sup>a</sup>

Different letters in the column indicate significant differences in LSD test at 0.05 level.

<sup>1</sup>The symbols (+) and (-) respectively indicate the use and non-use of elicitor.

<sup>2</sup>The two stages of elicitor application include the transplant and 2-4 real-leaves stage application.

مورد ویروس CYSDV، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، اما تیمار شاهد بیشترین درصد آلودگی و تیمار ۴ کمترین درصد آلودگی را نشان داد. عملکرد محصول به عنوان نتیجه‌ی ترکیب عوامل مختلف در فرآیند تولید در هکتار در جدول ۴ نشان داده شده است. تیمار شاهد حاوی کمترین مقدار محصول در هر هکتار با ۲۰۶۰۲ کیلوگرم بوده و میان تیمارهای ۲، ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری ندارد. تیمار ۵ دارای بالاترین مقدار محصول در هر هکتار بوده است. مالچ به همراه دو مرحله‌ی اعمال الیسیتورها توانسته حدود ۳۵ درصد افزایش در عملکرد در هر هکتار نسبت به تیمار شاهد داشته باشد.

نتایج واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز دوگانه در واکنش dRT-PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی CYSDV 1 و CYSDV 2 قطع‌ه‌ای به طول ۳۶۴ جفت باز و آغازگر اختصاصی CABYV 1 و CABYV 2 قطع‌ه‌ای به طول ۴۸۴ جفت باز تکثیر شد. نتیجه این تکثیر بر روی ژل آگارز یک درصد در شکل ۲ مشاهده می‌شود. نتایج میانگین درصد آلودگی تیمارها در جدول ۳ ذکر شده است.

نتایج نشان دادند که ویروس CABYV بیشترین درصد آلودگی را در تیمار ۲ و سپس در تیمار شاهد دارد، در حالی که تیمار ۵ کمترین میزان آلودگی را نشان می‌دهد. تیمارهای ۴ و ۳ نیز بدون اختلاف معنی‌داری در یک گروه قرار گرفتند. در

**جدول ۴.** میانگین عملکرد تیمارها در میزان محصول در هکتار

**Table 4.** Mean crop yield of treatments in kilograms per hectare

Treatment number	Treatment	Crop Yield (kg per hectare)
1	- Malch – Elicitor <sup>1</sup> (Control)	20602 <sup>b</sup>
2	+ Malch – Elicitor	22643 <sup>b</sup>
3	- Malch + Elicitor 2-4 leaves	22085 <sup>b</sup>
4	+ Malch + Elicitor 2-4 leaves	23506 <sup>ab</sup>
5	+ Malch + Elicitor in two stages <sup>2</sup>	27880 <sup>a</sup>

Different letters in the column indicate significant differences in LSD test at 0.05 level.

<sup>1</sup>The symbols (+) and (-) respectively indicate the use and non-use of elicitor.

<sup>2</sup>The two stages of elicitor application include the transplant and 2-4 real-leaves stage application.

بین رگرگی می‌شود و همچنین مقادیر Brix (شیرینی) خربزه‌های برداشت‌شده از گیاهان آلوده را کاهش می‌دهد و آنها را غیرقابل فروش می‌کند (López-Sesé & Gómez-Guillamón 2000). ویروس‌های CABYV و CYSDV فوق‌العاده خسارت‌زا در کدوئیان منطقه خاورمیانه به شمار می‌رود و به دلیل گسترش سریع خود، از ویروس‌های مهم کدوئیان

## بحث

ویروس‌ها سیگنال‌دهی هورمون‌های گیاهی را مختل می‌کنند، تغییر شکل در سلول‌ها ایجاد می‌کنند و تولید و حرکت کربوهیدرات‌ها را تغییر می‌دهند که منجر به تغییرات مضر در فیزیولوژی برگ و طعم میوه می‌شود (Abou-Jawdah et al. 2000). به عنوان مثال، آلودگی توسط CYSDV باعث کلروز

جمله فوزاریوم، فایتوفتورا، سفیدک‌های داخلی و سطحی، ریزوکتونیا، اسکروتینیا، بوتریتیس، پنی‌سیلیوم و زنگ‌ها تأیید شده و قابل توصیه است (Hassan & Chang 2017).

اختلالات فیزیولوژیکی، تغذیه‌ای یا آسیب‌های ناشی از مواد شیمیایی کشاورزی اغلب به اشتباه به عنوان علائم ویروس‌ها در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین، به روش‌های دقیق و کارآمدی برای تشخیص ویروس‌ها نیاز داریم. این تشخیص‌های دقیق برای تفکیک علائم بیماری‌های ویروسی که ظاهر مشابهی دارند و همچنین برای شناسایی ویروس‌ها در میزبان‌های علفی بدون علامت که می‌توانند به عنوان مخزن بیماری عمل کنند، ضروری است. از نظر سرولوژیکی، تشخیص گونه‌های ویروسی در جنس‌های *Polerovirus* و *Crinivirus* با استفاده از آنتی‌سرم‌های پلی‌کلونال و اکثر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به دلیل واکنش‌های متقابل با گونه‌های غیرهدف و همچنین به علت غلظت نسبتاً پایین و محدود بودن به آوند آبکش، دشوار است (Jacquemond *et al.* 2009; Moukahel *et al.* 2021).

علاوه بر این، دسترسی به آنتی‌بادی برای بسیاری از گونه‌های این خانواده آسان نیست. بنابراین، نیازمند یک روش حساس برای تشخیص و شناسایی هستیم. تست‌های مولکولی مانند RT-PCR معمولاً حساس‌تر از تست‌های سرولوژیکی هستند و می‌توانند ویروس‌های گیاهی را در غلظت‌های پایین‌تر شناسایی کنند. با این حال، اجرای این روش‌ها زمان‌بر است. Real-time qPCR یک روش بسیار دقیق و حساس برای برآورد تیتراژ ویروس است. این روش در ارزیابی برخی از روش‌های کنترل بیماری، از جمله بررسی تعامل بین ویروس‌ها در عفونت‌های همزمان، تخمین همبستگی بین تجمع ویروس و انتقال آن توسط حشرات ناقل، و ارزیابی سطح مقاومت به تجمع ویروس در برنامه‌های اصلاح نباتات کاربرد دارد (Rubio *et al.* 2020).

بدین منظور پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، کاهش دقیق تیتراژ ویروس‌ها در افزایش سطح تحمل گیاهان تیمار شده با روش Real-time PCR انجام شود. برای اطمینان از عدم وجود سایر ویروس‌های آلوده‌کننده کدوئیان در شرایط مزرعه‌ای که نمونه‌برداری انجام شده است، استفاده از توری‌های ضد حشره می‌تواند یک راهکار باشد. کنترل فیزیکی یکی از رویکردهای اصلی حفاظت از گیاهان در برابر حشرات است (Thakur *et al.* 2021). این توری‌ها مانع از ورود حشرات ناقل ویروس‌های دیگر به محیط تحقیق می‌شوند. همچنین، آلوده‌سازی میزبان‌ها با ناقلین حاوی ویروس‌ها (Nassaj Hosseini *et al.* 2013) می‌تواند به تعیین دقیق‌تر نقش ویروس‌های مورد نظر در ایجاد

محسوب می‌شوند (Lecoq & Katis 2014). به علت آلودگی گیاهان تیره کدوئیان به ویروس، کاهش شدیدی در تعداد، وزن و اندازه میوه رخ می‌دهد، به طوری که کاهش محصول تا ۳۰ تا ۴۰ درصد گزارش شده است (López-Sesé & Gómez-). به‌رغم اهمیت آشکار شدت علائم ویروسی در کاهش عملکرد و انتشار ویروس، روش‌های کاهش علائم و افزایش تحمل گیاهان به عفونت‌های ویروسی به ندرت به عنوان بخشی از مدیریت یکپارچه برای کنترل بیماری‌ها مدنظر قرار می‌گیرند.

در این مطالعه، استفاده از مالچ به همراه الیسیتورها در دو مرحله، باعث افزایش حدود ۳۵ درصدی عملکرد محصول در هر هکتار نسبت به تیمار شاهد شد. این افزایش ممکن است به دلیل کاهش آلودگی به ویروس‌های CABYV و CYSDV باشد که در این تحقیق نشان داده شده است. همچنین، مالچ مورد استفاده به دلیل رنگ نقره‌ای، می‌تواند در دور کردن آفات و ناقلین ویروس‌ها از بوته‌ها نقش مستقیم داشته باشد. نقش مؤثر الیسیتور در افزایش عملکرد محصولات سویا و گوجه‌فرنگی در مطالعات گذشته ثابت شده است (Hasanah & Sembiring 2018; Suarez-Fernandez *et al.* 2020).

همچنین، مطالعات گذشته نشان داده است که مالچ نقش مؤثری در دور کردن آفات و مدیریت بیماری‌های ویروسی در اوایل فصل رشد خریزه دارد (Salati & Bananej 2021).

در این تحقیق، تیمار با الیسیتورها در دو مرحله با همراهی مالچ، توانست درصد علائم موزائیک و زردی در بوته‌های خریزه را به ترتیب به میزان ۵/۸۴ درصد و ۲/۵۵ درصد نسبت به شاهد کاهش دهد. این نتایج با مطالعات مطالعات Salati & Bananej (2016) در خصوص کاهش علائم CMV در گیاهان خیار که حدود ۳۸ درصد کاهش نسبت به گیاهان شاهد نشان داده است، همخوانی دارد. مکانیسم عمل الیسیتورها در فعال‌سازی فرآیند مقاومت در سلول‌های گیاهی به وسیله فعال‌سازی ژن‌های ایجادکننده مقاومت همراه می‌باشد (Badawy *et al.* 2015).

در خصوص محلول پاشی برگی در گوجه‌فرنگی با کیتوزان قبل از آلوده شدن به ویروس CMV ثابت شده است که نقش بسیار زیادی در بالابردن سطح مقاومت میزبان با مکانیسم‌های مختلف از جمله افزایش ترکیبات فنلی سلول و بیان ژن‌های مقاومت داشته است (Rendina *et al.* 2019). ترکیبات الیسیتور مانند کیتوزان و سالیسیلیک اسید به عنوان محرک‌های زیستی عمومی عمل می‌کنند. اثر بازدارندگی این ترکیبات علیه قارچ‌های مختلف از



ویروس‌های مورد بررسی است و نه ویروس‌های دیگر، کمک کنند.

بیماری کمک کند. این روش‌ها به همراه روش‌های تشخیصی دقیق مانند PCR و ELISA برای شناسایی ویروس‌های خاص، می‌توانند به تضمین اینکه نتایج حاصل از تحقیق تنها به دلیل

## References

- Abou-Jawdah Y, Sobh H, Fayad A, Lecoq H, Delécolle B, et al., 2000. *Cucurbit yellow stunting disorder virus*-a new threat to cucurbits in Lebanon. *Journal of Plant Pathology* 1: 55-60.
- Abrahamian PE, Abou-Jawdah Y, 2014. Whitefly-transmitted criniviruses of cucurbits: current status and future prospects. *Virus Disease* 25: 26-38.
- Arogundade O, Salawu A, Osijo A, Kareem KT, 2019. Influence of mulching on virus disease incidence, growth and yield of sweet pepper (*Capsicum annum*). *Poljoprivreda* 25(2): 38-44.
- Badawy E.I, Rabea E.I, I.A. Ismail R, 2015. Antimicrobial activity of different molecular weight chitosans produced from shrimp shells against different plant pathogens. *Current Bioactive Compounds* 11(4): 264-73.
- Baebler Š, Stare K, Kovač M, Blejec A, Prezelj N, et al., 2011. Dynamics of responses in compatible potato-Potato virus Y interaction are modulated by salicylic acid. *PLoS One* 6(12): e29009.
- Bananej K, Vahdat A, 2008. Identification, distribution and incidence of viruses in field-grown cucurbit crops of Iran. *Phytopathologia Mediterranea* 47(3): 247-57.
- Banihashemi Z, 2016. Climate Changes and Plant Diseases. *Strategic Research Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 1(2): 165-172.
- Boubourakas IN, Avgelis AD, Kyriakopoulou PE, Katis NI, 2006. Occurrence of yellowing viruses (*Beet pseudo-yellowing virus*, *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Cucurbit aphid-borne yellows virus*) affecting cucurbits in Greece. *Journal of Plant Pathology* 55(2): 276-83.
- Celix A, Lopez-Sese A, Almarza N, Gomez-Guillamon ML, Rodriguez-Cerezo E, 1996. Characterization of *cucurbit yellow stunting disorder virus*, a *Bemisia tabaci*-transmitted Closterovirus. *Phytopathology* 86(12): 1370-6.
- Gholampour Z, Zakiaghl M, 2016. Comparison of RNA Extraction Methods for the Identification of Grapevine fan leaf virus. *Journal of Plant Protection* 30(1): 127-33.
- Hasanah Y, Sembiring M, 2018. Effect of foliar application of chitosan and salicylic acid on the growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) varieties. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, February 1, Medan, Indonesia. P. 122.
- Hassan O, Chang T, 2017. Chitosan for eco-friendly control of plant disease. *Asian Journal of Plant Pathology* 11(2): 53-70.
- Jacquemond M, Verdin E, Dalmon A, Guilbaud L, Gognalons P, 2009. Serological and molecular detection of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in tomato. *Plant Pathology*. 58(2): 210-20.
- Jones RA, Naidu RA, 2019. Global dimensions of plant virus diseases: Current status and future perspectives. *The Annual Review of Virology* 6: 387-409.
- Kassem MA, Sempere RN, Juárez M, Aranda MA, Truniger V, 2007. *Cucurbit aphid-borne yellows virus* is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain. *Plant Disease*, 91: 232-238.
- Kim S, Lim UT, 2011. Evaluation of a modified sticky card to attract *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and a behavioural study on their visual response. *Crop Protection* 30(4): 508-11.
- Lecoq H, Bourdin D, Wipe-scheibel C, Bon M, Lot H, 1992. A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus, *Cucurbit aphid-borne yellows virus*. *Journal of Plant Pathology* 41: 761-749.
- Lecoq H, Dafalla G, Desbiez C, Wipf-Scheibel C, Delécolle B, et al., 2001. Biological and molecular characterization of Moroccan *watermelon mosaic virus* and a potyvirus isolate from Eastern Sudan. *Plant Disease* 85(5): 547-52.
- Lecoq H, Katis N, 2014. Control of cucurbit viruses. In *Advances in Virus Research* 90: 255-296
- López-Sesé AI; Gómez-Guillamón ML, 2000. Resistance to *Cucurbit yellowing stunting disorder virus* (CYSDV) in *Cucumis melo* L. *HortScience* 35: 110-113.
- Madhusudhan KN, Vinayarani G, Deepak SA, Niranjana SR, Prakash HS, et al., 2011. Antiviral activity of plant extracts and other inducers against tobamoviruses infection in bell pepper and tomato plants. *International Journal of Plant Pathology* 2: 35-42.

- Mayers CN, Lee KC, Moore CA, Wong SM, Carr JP, 2005. Salicylic acid-induced resistance to *Cucumber mosaic virus* in squash and *Arabidopsis thaliana*: Contrasting mechanism of induction and antiviral action. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18: 428–434.
- Meena M, Yadav G, Sonigra P, Nagda A, Mehta T, *et al.*, 2022. Role of elicitors to initiate the induction of systemic resistance in plants to biotic stress. *Plant Stress* 5: 100103.
- Minicka J, Zarzyńska-Nowak A, Budzyńska D, Borodynko-Filas N, Hasiów-Jaroszewska B, 2020. High-throughput sequencing facilitates discovery of new plant viruses in Poland. *Plants* 9(7): 820.
- Ministry of Agriculture Jihad, 2020. Statistical yearbook of Jihad-Agriculture. <https://www.maj.ir>. [Accessed on 29 October 2023].
- Moukahel A, Kumari S, Hamed A, Sharman M, Kemal S. 2021. Distribution and identification of luteovirids affecting chickpea in Sudan. *Phytopathologia Mediterranea* 60(2): 199–214.
- Nassaj Hosseini SM, Shams Bakhsh M, Salmanian AH, Yeh SD, 2013. Expression and purification of movement protein of *Cucumber green mottle mosaic virus* using a plant-virus expression system. *Agricultural Biotechnology Journal* 5(3): 143–161.
- Pospieszny H, Atabekov JP, 1989. Effect of chitosan on the hypersensitive reaction of bean to *Alfalfa mosaic virus* (ALMV). *Plant Science* 62: 29–31.
- Ramirez-Estrada K, Vidal-Limon H, Hidalgo D, Moyano E, Golenioswki M, *et al.*, 2016. Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high added value compounds in plant cell factories. *Molecules* 21:182.
- Rendina N, Nuzzaci M, Scopa A, Guypers A, Adriano S, 2019. Chitosan-elicited defense responses in *Cucumber mosaic virus* (CMV)-infected tomato plants. *Journal of Plant Physiology* 234: 9–17.
- Rubio L, Galipienso L, Ferriol I, 2020. Detection of plant viruses and disease management: Relevance of genetic diversity and evolution. *Frontiers in Plant Science* 11:1092.
- Salati M, Bananej K, 2016. Evaluation of the effect of spraying chitosan and salicylic acid in reducing the intensity of infection of two important cucumber viral diseases. Agriculture Research, Education and Promotion Organization. *Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources Research and Training Center*. 49534.
- Salati M, Bananej K, 2021. Feasibility Study on Application of Different Polyethylene Mulch types to Control of Important Virus Diseases and Sucking pests in Melon. *Applied Field Crops Research* 34(2): 99–119.
- Salati M, Bananej K, Torabi H, 2015. The effectiveness of various types of polyethylene coatings in reducing the contamination of important viral diseases and weeds in melons, Agricultural Research, Education and Promotion Organization. *Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources Research and Training Center*. 49008.
- Schaefer H, Renner SS, 2011. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). *Taxon* 60(1): 122–38.
- Smith HA; Nagle CA; MacVean CM; Vallad GE; van Santen E; *et al.*, 2019. Comparing host plant resistance, repellent mulches, and at-plant insecticides for management of *Bemisia tabaci* MEAM1 (Hemiptera: Aleyrodidae) and *Tomato yellow leaf curl virus*. *Journal of Economic Entomology* 112: 236–243.
- Sobhani AR, Hmidi H, 2015. Melon breeding and production management. 1<sup>th</sup> edition, Tak press. 226 pp.
- Sobhani AR. 2011. Khorasan Razavi native melons breeding. *First National Conference of Melon*, October 4, Torbat Jam, Iran. P. 605.
- Su P, Tan X, Li C, Zhang D, Cheng J, *et al.*, 2017. Photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris* GJ-22 induces systemic resistance against viruses. *Microbial Biotechnology* 10(3): 612–624.
- Suarez-Fernandez M, Marthuada-Egea FC, Federico LM, Arnao MB, Cabrera-Edcribano F, *et al.*, 2020. Chitosan induces plant hormones and defenses in tomato root exudates. *Frontiers in Plant Science* 11: 1–15.
- Tahmasabi A, Zanganeh M, Tahmasabi A, Dizji A, Kohi Habibi M, 2010. The role of salicylic acid in resistance to plant viruses. *Genetics* 4: 2203–2212.
- Thakur K, Sharma A, Sharma K. 2021. Management of agricultural insect pests with physical control methods. *The Pharma Innovation Journal* 10: 306–14.
- Thakur M, Singh SB, 2013. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *International Scholarly Research Notices Biochemistry* 762412
- Wang S, Wu H, Qiao J, Ma L, Liu J, Xia Y, Gao X, 2009. Molecular mechanism of plant growth promotion and induced systemic resistance to

- tobacco mosaic virus* by *Bacillus* spp. *Journal of Microbiology & Biotechnology* 19(10): 1250–8.
- Wintermantel WM, Gilbertson RL, Natwick ET, McCreight JD, 2017. Emergence and epidemiology of *Cucurbit yellow stunting disorder virus* in the American Desert Southwest, and development of host plant resistance in melon. *Virus Research* 241: 213–219.
- Ying SI, Dane F, Rashotte A, Kang K, Narendra K, 2010. Cloning and expression analysis of the Ccrboh gene encoding respiratory burst oxidase in *Citrullus colocynthis* and grafting onto *Citrullus lanatus* watermelon. *Journal of Experimental Botany* 6: 1635–1642.
- Zehra A, Raytekar NA, Meena M, Swapnil P, 2021. Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: a review. *Current Research in Microbial Sciences* 2: 100054.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)