

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دانشکده علوم زراعی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد (M.Sc.)
در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان

ردیابی و تعیین پراکنش ویروس موزائیک هندوانه (WMV) در
برخی مزارع جالیز استان گلستان

پژوهش و نگارش

سارا شعیبی

اساتید راهنما

دکتر سعید نصرالله نژاد و دکتر محمود معصومی

استاد مشاور

دکتر اسدالله احمدی خواه

شهریور 1388

تشکر و قدردانی

هرچند سپاس از شما عزیزان تنها در چند جمله نمی‌گنجد اما شاید نمایانگر احترامی باشد که برای یکاییک شما قائلم.

از اساتید راهنمای محترم دکتر سعید نصرالله نژاد و دکتر محمود معصومی بخاطر راهنمایی‌های ارزشمند و صبر و حوصله‌ای که در مدت انجام این تحقیق صرف نمودند، تشکر می‌نمایم.
قدردان دکتر اسدالله احمدی خواه، استاد مشاور گرامی هستم که مشارکت این پژوهش را بر عهده داشتند.

قدردان دکتر ساناز رمضان‌پور و دکتر محمدرضا کاووسی هستم که داوری این پایان نامه را به عهده گرفتند.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی دکتر حسین زارعی کمال تشکر را دارم.
از رئیس محترم بخش ویروس‌شناسی دانشگاه کشاورزی شیراز؛ دکتر کرامت‌الله ایزد پناه به خاطر ارائه خدمات و اجرای بخشی از طرح در این مکان، کمال تشکر را دارم. همچنین از مهندس سارا حیدری که همواره در کنار بنده و ناظر بر اجرای طرح بوده‌اند، سپاسگزارم.

از مدیر محترم گروه بیوتکنولوژی، دکتر محمد‌هادی پهلوانی و دیگر اساتید گروه، دکتر حسن سلطانلو و دکتر سعید نواب‌پور سپاسگزارم.

از آقای زاهدی؛ مسئول محترم آزمایشگاه بخش گیاه‌پزشکی گرگان که بنده را در انجام آزمایشات یاری کرده‌اند، متشکرم.

همچنین از همکلاسی های بیوتکنولوژی ۸۶ و دیگر دوستان مهربانم خانمها و آقایان: سردشتی،
پالوج، فرح بخش، قلیچ پور، قدیرزاده، پاشایی، چوبانی، علوی و... که در انجام این پژوهش به من
یاری رساندند تشکر می نمایم و از اینزد متعال موققیت و شادمانی آنها را خواستارم.
از پدر و مادر بزرگوارم که همواره پشتیبانم در مسیر زندگی هستند، سپاسگزارم.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه	2
بررسی منابع	6
بیماریهای ویروسی جالیز	6
1- خصوصیات گروه پوتی ویروس ها	6
1-1-1- ویروس موزائیک هندوانه	7
1-1-1-1- دامنه میزانی و علائم ویروس موزائیک هندوانه	9
1-1-1-2- وضعیت ویروس موزائیک هندوانه در ایران در مقایسه با سایر ویروسهای جالیزی	12
1-1-1-3- انتقال ویروس موزائیک هندوانه	15
1-1-1-4- تمایز سرولوژیکی جدایه های ویروس	16
1-1-1-5- تنوع و تکامل ویروس موزائیک هندوانه	17
1-1-1-6- مقاومت به ویروس	20
1-1-1-6- مقاومت به ویروس	21
مواد و روشها	27
1- مواد گیاهی مورد مطالعه	27
2- زمان و مکان تحقیق	27
3- جمع آوری نمونه ها وداده ها	27
4- اجرای طرح	28
آزمون الایزا	29

فهرست مطالب

عنوان	صفحة
آزمون PCR -2-4	31
cDNA و ساخت RNA استخراج -2-4	31
آزمون PCR -3-2-4	32
ترادف یابی توالی -3-4	34
تجزیه و تحلیل داده ه -4	35
نتایج	37
آزمون الایزا -1	37
تعیین پراکنش -2	40
آزمون RT-PCR -3	44
تنوع رنگی	51
بحث	54
پیشنهادات اجرایی و پژوهشی	67
فهرست منابع و مأخذ	59
منابع فارسی -1	59
منابع لاتین -2	61

فهرست جداول

عنوان	صفحه
-------	------

جدول 3-1. تعداد نمونه و مزارع نمونه برداری شده در شش منطقه استان گلستان.....	28
جدول 3-2. شرایط و چرخه‌های حرارتی برنامه ریزی شده برای انجام PCR.....	32
جدول 3-3. آغازگرهای طراحی شده اختصاصی از ناحیه CP-UTR ویروس موزائیک هندوانه	34
جدول 4-1. تعداد و محل نمونه برداری از گیاهان جالبی با علائم موزائیک (مشکوک به WMV) در استان گلستان (ماههای تیر و مرداد 1387).....	41
جدول 4-2. تجزیه واریانس بررسی پراکنش ویروس در 6 منطقه استان گلستان در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل	42
جدول 4-3. مقایسه میانگین های 6 منطقه استان گلستان به روش LSD	43
جدول 4-4. شماره دسترسی، میزان و طول قطعات تعیین توالی شده سویه های WMV	45
جدول 4-5. تنوع ژنتیکی و نسبت جانشینی آمینواسیدی در جدایه های مختلف WMV در جمعیت‌ها و گروه‌های فیلوژنتیک	52

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل 2-1. ویروس رشتہ ای خمین پذیر موزائیک هندوانہ 9	
شکل 3-1. موقعیت CP در نقشه ژنومی WMV 33	
شکل 4-1. علامت بیماری ویروسی WMV روی میزبان‌های مختلف جالیز 38	
شکل 4-2. درصد آلدگی کدوئیان به ویروس WMV در استان گلستان 39	
شکل 4-3. هندوانہ سیاه آلدہ به WMV بدون علامت 40	
شکل 4-4. تعداد مزارع نمونه برداری شده و تعداد نمونه آلدہ در 6 منطقه از استان گلستان 42	
شکل 4-5. نتایج آزمون PCR در ژل آگارز با آغازگرهای 1055 جفت بازی 44	
شکل 4-6. نتایج آزمون PCR در ژل آگارز با آغازگرهای 500 و 110 جفت بازی 45	
شکل 4-7. درخت فیلوجنتیکی ترسیم شده به روش neighbour joining 48	
شکل 4-8. درخت فیلوجنتیکی ترسیم شده به روش maximum parsimony 51	

ردیابی و تعیین پراکنش ویروس موزائیک هندوانه (WMV) در برخی مزارع جالیز استان گلستان

چکیده

ویروس موزائیک هندوانه (Watermelon mosaic virus, WMV) یکی از پوتوی ویروس‌های مهم و گستردۀ در دنیا است که به کدوئیان خسارت وارد می‌کند. WMV دامنه میزانی نسبتاً وسیعی دارد و تمایز آن بر اساس دامنه میزانی از سایر ویروس‌های کدوئیان مشکل است. به منظور ردیابی و تعیین پراکنش این ویروس در مزارع استان گلستان 179 نمونه از کیاهان کدو، هندوانه، خربزه و خیار از شش منطقه استان گلستان جمع آوری و با آنتی سرم WMV در آزمون داس الایزا مورد بررسی قرار گرفت. تعداد 28 نمونه در واکنش داس الایزا مثبت و بقیه منفی بودند. در استان گلستان، خربزه بیشترین درصد آلدگی به WMV و خیار کمترین مقدار آلدگی را نشان داد. در این نمونه برداری در شهرستان کلاله آلدگی به WMV دیده نشد و با استفاده از نرم افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل، بقیه مناطق آلدگی یکنواختی نشان دادند. برای تعیین جایگاه تاکسونومیکی جدایه‌های گرگان در میان سایر جدایه‌های دنیا، چهار جدایه از کدو و هندوانه، به همراه دو جدایه از شیراز و مشهد هر کدام یک نمونه جدایه از کدوانتخاب شد. RNA ویروس با استفاده از RT-PCR برای آزمون Capture Kit استخراج و با یک جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده از ناحیه CP-UTR، تکثیر شد. محصول مستقیم تراالف یابی شد و تراالف بدست آمده شامل 964 نوکلئوتید همراه با 41 تراالف انتخاب شده از Gen Bank مقایسه شدند. همدیف سازی چندگانه و آنالیز فیلوژنتیک با نرم افزارهای Clustal X، DNAMAN، DNASTAR و MEGA3 و انجام و درخت فیلوژنتیک به روش‌های neighbor-joining و parsimony، maximum و Capture Kit ترسیم گردید. برای آنالیز انتخاب طبیعی و تعیین نسبت جانشینی نامترادف (dS) بر جانشینی مترادف (dN) از نرم افزار DnaSP استفاده شد. آنالیز فیلوژنتیک و محاسبه فاصله ژنتیکی و تنوع نشان داد که جدایه‌های WMV از تمام دنیا در 6 گروه قرار گرفته‌اند و جدایه‌های مشهد و گرگان از ایران همراه با جدایه‌های اسپانیا، استرالیا و فرانسه در یک گروه و جدایه شیراز همراه با جدایه‌های زاپن در گروه دیگر قرار گرفته‌اند. فاصله ژنتیکی بین گروه‌ها و داخل گروه‌ها نیز نتایج فوق را تائید کردند. محاسبه تنوع ژنتیکی (π) نشان داد که علی رغم تنوع وسیع این ویروس در دنیا میزان تنوع آن در یک منطقه مانند اروپا بسیار پائین است. محاسبه تنوع جمعیت‌های مختلف دنیا نشان دهنده افزایش میزان این تنوع از غرب به شرق است. در شرق آسیا بیشترین میزان تنوع میزان و مولکولی دیده شد.

کلمات کلیدی: WMV، داس الایزا، CP-UTR، آنالیز فیلوژنتیک، تنوع ژنتیکی

فَصْلُ اول

مقدمة

مقدمه

صیفی‌ها گروه بسیار متنوعی از گونه‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند که در سراسر جهان در شرایط مختلف و با هدف‌های گوناگون پرورش داده می‌شوند. انواع زراعی مهم شامل خیار، خربزه (گرمک)، خربزه قندک وغیره، هندوانه و کدو هستند (امیر اصلاحی(م)، 1384). تیره کدوئیان شامل 100 جنس وحدود 1000 گونه است. برگهای این گیاهان، ساده، متراقب، دارای دمبرگ دراز و پهنک کامل یا لوب دار و در هر حال فاقد استیپول است. گلهای آنها منظم، یکپایه، مرکب از قطعات 5 تایی، منفرد یا مجتمع به صورت گرزن است (باتس وهمکاران، 1990). نباتات خانواده کدوئیان خزنده وساکن نواحی گرم و بنابراین حساس به سرما می‌باشند. هرچند که قسمت مورد استفاده گیاهان خانواده کدوئیان میوه آن می‌باشد معهذا این گیاهان را جزو سبزیها قرار داده‌اند (شیبانی، 1364) (ضمیمه الف؛ جدول الف-1). میوه‌های صیفی‌ها ارزش غذایی نسبتاً اندکی دارند^۱ و مهمترین اجزای تشکیل دهنده آنها ویتامینها و مواد معدنی هستند. کوکوریتاسین‌ها که بیش از 20 شکل دارند، در ریشه‌ها، برگها و میوه‌های گیاهان صیفی یافت می‌شوند. این ترکیبات بسیار سمی‌اند و به خیار، خربزه و کدو طعم تند می‌دهند. این ترکیبات در حفاظت از صیفی‌ها در برابر حشرات و علفخوارها، اهمیت زیادی دارند (امیر اصلاحی(م)، 1384).

در ایران نیز سالانه بالغ بر چندین هزار هکتار به کشت انواع گیاهان جالیزی اختصاص می‌یابد. به این ترتیب استان گلستان نیز به علت شرایط جغرافیایی مناسب از سطح زیر کشت انواع گیاهان جالیزی برخوردار است (سالنامه آماری استان گلستان، 1385).

در میان بیماریهایی که بر گیاهان صیفی اثر می‌گذارند، بیماریهای ویروسی ویرانگرتر و کنترل آنها دشوارتر است. شیوع و شدت این بیماری‌ها متفاوت است و به روابط پیچیده بین عوامل بماریزا، میزبانها،

ویروس موزائیک هندوانه از جمله ویروسهای مهم جالیز است که گسترش جهانی دارد واز بسیاری از مناطق دنیا گزارش شده است. طبق گزارشات پورسیفول و همکاران در سال 1984، شیوع WMV در کشورهای استرالیا، چکسلواکی، شیلی (اوگر و همکاران، 1974)، فرانسه، هانگری، ایران (ابراهیم-نسبت، 1974)، اسرائیل، ایتالیا (لیزا و همکاران، 1981)، ژاپن (یاشیدا و همکاران، 1980)، مکزیک (میلنی و همکاران، 1969)، نیوزلند، آمریکا (وب و اسکوت، 1965؛ میلنی و همکاران، 1969)، ونزوئلا (لاسترا، 1968) و یوگسلاوی دیده شده است.

شناسایی عوامل بیماریزای ویروسی و در صورت امکان شناسایی راهکارهای مناسب به منظور به حداقل رساندن تأثیر آنها بر کمیت و کیفیت کشت صیفی اهمیت دارد. WMV اکثر گیاهان خانواده کدوئیان آلوده می‌کند. نزادها و جدایه‌های مختلفی از این ویروس در طبیعت وجود دارد. این ویروس به عنوان یک پاتوژن مهم در مناطق مدیترانه‌ای و معتدل شناخته شده است و تنوع بیولوژیکی آن بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته است (پورسیفول وهیبت، 1979؛ پورسیفول و همکاران، 1984). اما تمایز سویه‌ها و جدایه‌های آن بویژه آنالیزهای تنوع و تکامل آن بطور جدی و دقیق با گسترش ابزارهای مولکولی در دو دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این بررسی‌ها در مقیاس‌های جهانی و یا قاره‌ای و حتی ناحیه‌ای می‌تواند راهگشایی درک تکامل و توسعه پاتوژن، و نهایتاً ارائه راهکار مناسب برای کنترل آن باشد (مورنو و همکاران، 2004).

به دلیل اهمیت کشت جالیز در استان گلستان و آلدگی‌های گستردگی ویروسی در این گیاهان، شناخت دقیق وضعیت ویروس در منطقه می‌تواند در بکارگیری راهکارهای مناسب کنترل و مدیریت این ویروس موثر باشد.

علی‌رغم گزارش‌های قبلی از وجود ویروس در این منطقه، موقعیت تاکسونومیکی جدایه‌های آن در بین سایر جدایه‌های WMV به خوبی روشن نشده است. لذا ردبایی WMV در استان در روی گیاهان جالیزی و تعیین پراکنش آن و سپس تعیین ترادف نوکلئوتیدی و تعیین موقعیت تاکسونومیکی آن هدف این تحقیق قرار گرفت. بعلاوه اینکه ترادف نوکلئوتیدی دو جدایه از مشهد و شیراز نیز انجام و در مقایسه‌های فیلوجنتیکی با سایر جدایه‌های این ویروس در دنیا قرار گرفت.

فصل دوم

بررسی منابع

بررسی منابع

بیماریهای ویروسی جالیز

در پهناى جهان بیش از 50 ویروس و چهار ویروئید شماری از اعضای خانواده کدوئیان را آلوده می‌کند. کمتر از نصف این ویروسها پاتوزنها رایج کدوئیان و به لحاظ اقتصادی مهم می‌باشد (کوچارک و پورسیفول، 2001). 26 ویروس به طور مکانیکی بوسیله شیره گیاهان آلوده قابل انتقال و 9 ویروس (موزائیک خیار، موزائیک ماتلی سبز خیار، لکه برگی خیار، لکه نکروزی خربزه، موزائیک کدو، موزائیک تلفیریا، لکه حلقوی توتون، موزائیک خیار وحشی و موزائیک زرد زوکینی) بذرزد هستند (امیر اصلاحی(م)، 1384) (ضمیمه الف؛ جدول الف-2).

۱- خصوصیات گروه پوتی ویروس‌ها^۱

پوتی ویروس‌ها گروه بزرگی از ویروس‌های گیاهی می‌باشند که از نظر اقتصادی مهم و دارای دامنه میزبانی وسیعی هستند. این گروه تنها گروه شناخته شده ویروسی می‌باشد که فقط از استراتژی پلی پروتئین استفاده می‌کنند. این پروتئین‌ها عبارتند از: (1) اندامک ویژه سیتوپلاسمی و فرفره‌ای شکل پروتئینی با وزن مولکولی تقریباً 70 کیلو دالتون که احتمالاً در همانندسازی RNA دخالت دارد. (2) اندامک ویژه سیتوپلاسمی و بدون شکل معین پروتئین که احتمالاً یک پروتئین کد شده ویروسی بوده و

1.Potyvirus

زیرگروه 1: باعث تولید اندامک‌های لوله‌ای^۲ می‌شوند که بصورت لوله‌ها یا پیچک‌هایی دیده می‌شوند، مثل PRSV-W و BCMV.

زیرگروه 2: باعث تولید لایه‌های مجتمع^۳ می‌شوند، مثل BYMV.

زیرگروه 3: باعث تولید هردو نوع اندامک فوق می‌شوند، مثل WMV.

پلی پروتئین دراثر آنژیمهای پروتئولیتیک به 5-6 پلی پیتید شامل پروتئین‌های ساختمانی(CP) و غیر ساختمانی(از قبیل فاکتور کمک کننده و پروتئازها) تبدیل می‌شود.

پوتی ویروس‌ها، ویروسهایی با ذرات میله‌ای شکل هستند که اعضای آن بسته به نوع ناقل در سه زیرگروه قرار دارند. خانواده پوتی ویریده بر اساس تقسیم بندی واکی(1991) در زیرگروه یک که شته‌ها ناقل آن می‌باشند، قرار می‌گیرد. در این زیرگروه ذرات ویروس میله‌ای قابل انعطاف به طول 680-900 نانومتر و عرض 11نانومتر و ژنوم حاوی RNA تک رشته‌ای است که حدوداً 10 kb طول دارد و توسط حدوداً 2000 کپی از واحد پوشش پروتئینی(CP) احاطه شده است (جعفرپور(م)، 1382؛ سیلوبو وهمکاران، 2001). برخی از اعضای گروه دارای پروتئین‌های کمکی برای انتقال توسط حشرات می‌باشند. این ویروسها به طریق مایه زنی عصاره و به وسیله شته‌ها به روش ناپایا منتقل می‌شوند. برخی از اعضای گروه از طریق بذر هم منتقل می‌شوند (جعفرپور(م)، 1382).

1.Tubular inclusions

2.laminated aggregates

۱-۱- ویروس موزائیک هندوانه^۴

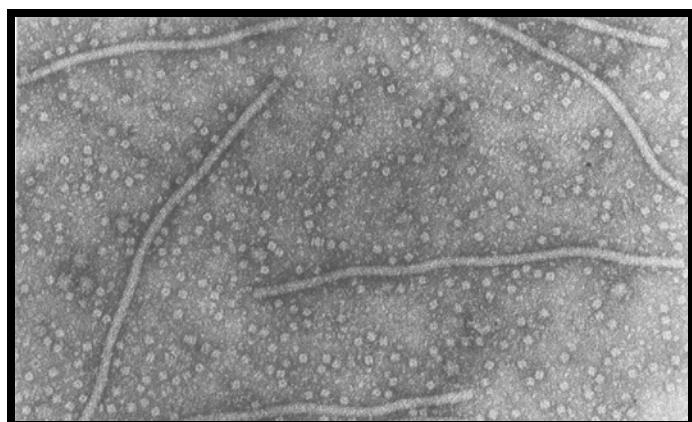
ویروس موزائیک هندوانه نخستین بار در سال 1965 توسط وب و اسکوت توصیف شد (پورسیفول و همکاران، 1984) و جزء اولین پوتیویروس‌های کشف شده‌است که کدوئیان را آلوده می‌کند (وب و اسکوت، 1965). اولین گزارش در ایران توسط ایزدپناه (1361) در منطقه فارس و توسط وایده من ومصطفوی (1351) در اصفهان و ورامین ارائه شده‌است. این ویروس اولین بار از روی *Citrulus lanatus* گزارش شده‌است (برودرود و همکاران، 1980).

WMV از تیره پوتی ویریده، بزرگترین گروه ویروس‌های گیاهی و از جنس پوتی ویروس می‌باشد که اجزای آن میله‌ای شکل خمث پذیر به طول حدود 760 نانومتر و عرض 11 نانومتر دارای یک RNA تک رشته‌ای است (شکل ۱-۲). این ویروس اندامک‌های درون باخته‌ای استوانه‌ای (فرفره‌ای و مارپیچ) در سیتوپلاسم باخته‌های آلوده ایجاد می‌کند. این ویروس از طریق مکانیکی با شیره سلولی گیاه آلوده مایه‌زنی می‌شود و در طبیعت توسط گونه‌های مختلف شته‌های باقلاء، هلو و پنبه پراکنش و انتقال می‌یابد. ویروس موزائیک هندوانه توسط وب و اسکوت (1965) و براساس رابطه سرولوژیکی و اختلاف در دامنه میزانی، به دو گروه نزدی تقطیع شد. اما میلنی و گرگن (1969) نتیجه گرفتند که اعضای گروه ۱ و ۲ رابطه سرولوژیکی نزدیکی به یکدیگر دارند و باید به عنوان نزدیهای یک ویروس تلقی شوند. با این حال، بیشتر کارهای اخیر روی سویه‌هایی از مناطق امریکا، اروپا، استرالیا و مدیترانه نشان داد که تفاوت‌های قابل توجهی میان دو گروه به لحاظ سرولوژیکی، دامنه میزانی و سیتولوژیکی وجود دارد (ادواردسون، 1974؛ کریستی و ادواردسون، 1977، پورسیفول و هیبت، 1979). امروزه ویروس موزائیک هندوانه-2 به عنوان ویروس موزائیک هندوانه شناخته می‌شود و ویروس موزائیک هندوانه-1 به عنوان یک نزد (تیپ W) ویروس لکه حلقوی پاپایا^۵ نامیده می‌شود.

1.Watermelon mosaic virus

2..Papaya ringspot virus

WMV از لحاظ سرم شناختی، خویشاوندی دوری با ویروس موزائیک زرد لوبيا^۶، ویروس رگبرگ زردشبدار^۷، ویروس موزائیک سویا^۸، ویروس موزائیک زرد زوکینی^۹ و چند ویروس دیگر دارد. WMV می‌تواند بیش از 160 گونه گیاهی را آلوده کند. این ویروس چندین واریانت دارد که از روی شدت علائم ایجاد شده در میزبانهای حساس قابل شناسایی هستند (امیر اصلاحی(م)، 1384؛ جهان آرا، 1387؛ پروویدنتی و یماتو، 1973؛ لیزا و دلاول، 1981).



شکل 2-1. ویروس رشته ای خمث پذیر موزائیک هندوانه

-
- | | |
|--|---|
| 1.Bean yellow mosaic virus
3. Soybean mosaic virus
5.Euphorbiaceae | 2.Trifolium yellow vein virus
4.Zucchini yellow mosaic virus |
|--|---|

۱-۱-۱- دامنه میزبانی و علائم ویروس موزائیک هندوانه

بیش از 160 گونه دو لپهای در 23 خانواده به WMV حساس هستند (ادواردسن، 1974). برخی از این میزبانها شامل یونجه، شبدر و سایر گیاهان خانواده بقولات و همچنین گیاهان خانواده یوفوربیاسه^{۱۰} میباشند (اعتباریان، 1376). WMV در مناطق معتدل و نیز حاره معتدل واژ بیشتر کشورهایی که کدو در آنجا کاشته میشود، گزارش شده است. WMV باعث کاهش محصولات کشاورزی به ویژه کدویان میشود و در مقایسه با سایر پوتی ویروس‌ها دارای دامنه میزبانی وسیع میباشد (شوکلا و همکاران، 1994). این ویروس برخی اوقات خانواده‌های غلات (اینوی، 1964)، پنیرک، اسفناجیان (پورسیفول و همکاران، 1984)، ارکیده‌ها: وانیل (گارا و همکاران، 1997. گریسونی و همکاران، 2004؛ وانگ و همکاران، 1993) و *Habenaria radiate* (گارا و همکاران، 1997) را آلوده میکند. علاوه بر آن، WMV به طور طبیعی بسیاری از علفهای هرز را آلوده میکند بطوریکه آنها میتوانند در تمام طول سال میزبان این ویروس باشند (لکوک، 1992). ویروس توسط علف هرز *Cuscuta pentagona* انتقال نمییابد (استاکیک و نیکالیک، 1966).

میزبانهای معمول این ویروس؛ خیار، خربزه، کدوی مسمایی، هندوانه و برخی لگوم‌ها میباشد. بیشتر از 9 خانواده نسبت به این ویروس حساس‌اند. برخی از گونه‌های میزبانی حساس و نشانه‌های بیماری در آنها عبارتند از:

رنگ پریدگی موضعی. *Chenopodium amaranticolor*

موسیقیک سیستمیک و گاهی اوقات بدشکلی برگ.

لکه‌های موضعی نکروتیک و ابلقی در برگها همراه با آلودگی سیستمیک.

موسیقیک متوسط و بدشکلی برگها همراه با آلودگی سیستمیک (برودرود و همکاران، 1980).

آلدگی سیستمیک (*Luffa acutangulata*) (جهان آرام، 1387). این گونه به بیشتر سویه‌های موزائیک هندوانه حساس نمی‌باشد (میلنی و همکاران، 1969).

گونه‌های میزبانی غیرحساس به WMV عبارتند از: *Pisum sativum* cv. Little Marvel, *Nicotiana glutinosa* (ضمیمه الف؛ جدول الف-3).

علائم WMV روی برگ‌های کدوئیان شامل موزائیک سبز، چین و چروک شدن برگ، سبزشدن دسته‌های رگبندی، حلقه‌های کلروتیک و بدشکلی است. این علائم اغلب در برخی از کدوسمایی‌ها و کدوحلوایی‌ها مشخص هستند اما برگ‌های آلدوده تا رسیدن به اندازه طبیعی به رشد خود ادامه می‌دهند، میوه‌ها بدشکل نمی‌شوند اما مقداری از رنگ آمیزی آنها به ویژه در میوه‌های زردرنگ به شدت دچار لکه‌های سبز می‌شود (امیر اصلاحی، 1384). علائم بیماری به میزان، زمان آلدگی (اعتباریان، 1376) و سن گیاه نیز بستگی دارد. گیاهان پیر آلدگی کمری نشان می‌دهند. اولین علائم بیماری 4-18 روز و یا بیشتر از 12 روز پس از آلدگی ظاهر می‌شوند. انتقال ویروس با شیره گیاهی و شته، علائم را بعد از 7-12 روز نشان خواهد داد. گاهی گیاهان آلدوده هیچگونه علائم بیماری را نشان نمی‌دهند، اما این امکان وجود دارد که مدت آلدگی برای ویروس کامل نباشد یا در بعضی شرایط علائم مخفی شوند. گاهی نیز علائم ممکن است در یک بخش گیاه ظاهر اما در دیگر بخشها ظهر نیابند (کوچارک و پورسیفول، 2001).

این ویروس روی اکثر کدوئیان علائم موزائیک و ابلقی ایجاد می‌کند. علائم اولیه ویروس رنگ پریدگی سطحی، کوچکی میوه و چروکیدگی است. آلدگی ثانویه توسط حمله سایر میکرووارگانیسم‌ها ممکن است اتفاق افتد و باعث پوسیدگی نرم شوند (ادواردسون، 2005).

علائم بیماری روی هندوانه و طالبی شامل کوتولگی شدید یا متوسط گیاه می‌باشد. بدشکلی برگ، تاول، لکه‌های سبز روشن در زمینه برگ و کلروز حاشیه آن از علائم مشخص بیماری است. اگر گیاهان جوان طالبی به بیماری مبتلا شوند، بوته‌ها کوچک باقی می‌مانند و تعداد میوه کمی تولید می‌کنند (اعتباریان، 1376). آلدگی ویروس در ابتدا با کلروز رگبرگ در 2-3 برگ هندوانه نمایان می‌شود. سپس کلروز