

BIOLOGICAL AND SEROLOGICAL CHARACTERISTICS OF ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS ISOLATED FROM ZUCCHINI (*Cucurbita pepo*), SQUASH (*C. maxima*), AND PUMPKIN (*C. moschata*)

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y SEROLÓGICAS DEL VIRUS MOSAICO AMARILLO DEL CALABACÍN AISLADO DE CALABACÍN (*Cucurbita pepo*), CALABAZA DE INVIERNO (*C. maxima*) Y CALABAZA (*C. moschata*)

Mehmet Ali Sevik

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Ondokuz Mayıs, Samsun, Turkey.(malis@omu.edu.tr)

ABSTRACT

Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) is one of the most economically important viruses of cucurbit crops, causing severe mosaic, blistering of leaf lamina, malformation, and knobbed fruits, and presents an important biological variability. The objective of this study was to determine the prevalence and incidence of ZYMV in major summer (*Cucurbita pepo*), and winter squashes (*C. maxima*, and *C. moschata*) growing areas of Turkey-Samsun. Field surveys were made in 2015-2016 cropping seasons in major cucurbit growing regions. In five regions, 225 symptomatic samples were collected. Samples from three different species of *Cucurbita* were tested by biological and serological method using ZYMV polyclonal antiserum. Serological test results revealed that 84 out of 225 samples contained ZYMV, 34 out of 70 zucchini (*C. pepo*) samples, 28 out of 90 squash (*C. maxima*) samples containing ZYMV, and 22 out of 65 pumpkin (*C. moschata*) samples had ZYMV in 2015-2016. Three ZYMV isolates were obtained from zucchini at Carsamba (ZYMV-CA), winter squash at Tekkekoy (ZYMV-TE), and pumpkin at Bafra (ZYMV-BA), and their biological variability was detected on different hosts, including cucurbit crops.

Key words: Biological and serological tests, summer squash, virus, winter squash, ZYMV.

INTRODUCTION

There are three economically important *Cucurbita* species, namely *C. pepo* (zucchini), *C. maxima* (squash), and *C.*

RESUMEN

El virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV) es uno de los virus de mayor importancia económica para los cultivos de cucurbitáceas, que causa mosaico severo, formación de ampollas en la lámina foliar, malformación y frutos nudosos, y presenta una importante variabilidad biológica. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia e incidencia del ZYMV en las principales áreas de cultivo de verano (*Cucurbita pepo*) y calabazas de invierno (*C. maxima* y *C. moschata*) en zonas de cultivo en Turquía-Samsun. Los estudios de campo se realizaron en las temporadas de cultivo de 2015-2016 en las principales regiones de cultivo de cucurbitáceas. En cinco regiones, se recolectaron 225 muestras sintomáticas. Las muestras de tres especies diferentes de *Cucurbita* se probaron mediante un método biológico y serológico utilizando el antisuero policlonal ZYMV. Los resultados de las pruebas serológicas revelaron que 84 de 225 muestras contenían ZYMV: 34 de 70 muestras de zucchini (*C. pepo*), 28 de 90 muestras de calabaza (*C. maxima*) y 22 de las 65 muestras de calabazas (*C. moschata*) en 2015-2016. Se obtuvieron tres aislados de ZYMV de calabacín en Carsamba (ZYMV-CA), calabaza de invierno en Tekkekoy (ZYMV-TE) y calabaza en Bafra (ZYMV-BA), y su variabilidad biológica se detectó en diferentes huéspedes, incluyendo los cultivos de cucurbitáceas.

Palabras clave: pruebas biológicas y serológicas, calabaza de verano, virus, calabaza de invierno, ZYMV.

INTRODUCCIÓN

Hay tres especies de *Cucurbita* de importancia económica, *C. pepo* (calabacín), *C. maxima* (calabaza) y *C. moschata* (calabaza), que tienen diferentes adaptaciones climáticas y

* Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: march, 2017. Aprobado: october, 2017.

Publicado como NOTA en *Agrociencia* 52: 1005-1011. 2018.

moschata (pumpkin), which have different climatic adaptations and are widely distributed in agricultural regions worldwide (Paris *et al.*, 2005). Zucchini, winter squash and pumpkin are three of the most important cucurbit vegetable crops in Turkey. The annual winter squash and pumpkin production in Turkey was 93 672 t in 2014. Samsun city, located at the central Black Sea region, has a 10.5 % share of Turkey production with 9 913 t (Turkstat, 2014).

Cucurbit species are susceptible to diseases that attack the roots, foliage, and fruit (Howard *et al.*, 1994) and about 39 different virus species cause cucurbit diseases (Ali *et al.*, 2012). *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), is a common viral pathogen, it reduces fruit quality and yield (Bonilha *et al.*, 2009), it is a potyvirus with flexuous, filamentous particles of single-stranded RNA, about 750 nm long, and one coat protein (Spadotti *et al.*, 2015). This virus is easily transmissible to a fairly wide range of hosts and is transmitted by 26 species of aphids in a non-persistent manner (Katis *et al.*, 2006).

There are few studies about the characteristics of the disease occurrence and the pathogenicity of the ZYMV on summer and winter squashes in Turkey, it is widely distributed in the country regions and has biological variability that causes devastating epidemics in a range of cucurbit crops. Therefore, the objective of this study was to determine occurrence, prevalence and biological characteristics of ZYMV on different squashes in major cucurbit producing areas of the Black Sea region of Turkey.

MATERIALS AND METHODS

Surveys

The most reported areas for high production of cucurbit crops in Samsun province were subjected to survey of infected plants with ZYMV. The surveyed plants were zucchini, winter squash and pumpkin. Symptomatic leaf and fruit samples were collected from districts: Bafra (28), Çarşamba (60), Tekkekoy (90), Terme (25), and Canik (22) (Table 1). The symptoms observed on the leaves, and fruit were recorded at the time of sample collection (Jossey and Babadoost, 2008). Collections were made from 2015 to 2016 during summer (70 samples) and winter seasons (155 samples) from each site. The collected samples were placed in plastic bags, returned to the laboratory on the same day and kept at 4 °C until used.

tienen amplia distribución en regiones agrícolas del mundo (Paris *et al.* 2005). El calabacín, la calabaza de invierno y la calabaza son tres de los cultivos de cucurbitáceas más importantes en Turquía. La producción anual de calabaza y calabaza de invierno en Turquía fue 93 672 t en 2014. La ciudad de Samsun, ubicada en la región central del Mar Negro, tiene una participación de 10.5 % en la producción total de Turquía (Turkstat, 2014).

Las especies de cucurbitáceas son susceptibles a enfermedades que atacan las raíces, el follaje y la fruta (Howard *et al.*, 1994) y alrededor de 39 especies diferentes de virus causan enfermedades de cucurbitáceas (Ali *et al.*, 2012). El *virus del mosaico amarillo del calabacín* (ZYMV) es un patógeno viral común que reduce la calidad y el rendimiento de la fruta (Bonilha *et al.*, 2009); es un potyvirus con partículas filamentosas y flexibles de ARN monocatenario, de alrededor de 750 nm de largo y una proteína en la cubierta (Spadotti *et al.*, 2015). Es fácilmente transmisible a una amplia gama de huéspedes y lo transmiten 26 especies de áfidos de manera no persistente (Katis *et al.*, 2006).

Existen pocos estudios sobre las características de la aparición de la enfermedad y la patogenicidad del ZYMV en las calabazas de verano e invierno en Turquía. Su distribución es amplia en las regiones y tiene una variabilidad biológica que causa epidemias devastadoras en una variedad de cultivos de cucurbitáceas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia, prevalencia y características biológicas de ZYMV en diferentes calabazas en las principales áreas productoras de cucurbitáceas de la región del Mar Negro en Turquía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudios

Las áreas más reportadas por la alta producción de cultivos de cucurbitáceas en la provincia de Samsun se sometieron a un estudio de plantas previamente infectadas con ZYMV. Las plantas analizadas fueron calabacín, calabaza de invierno y calabaza. Muestras de hojas y frutos sintomáticos se recolectaron en los distritos Bafra (28), Çarşamba (60), Tekkekoy (90), Terme (25) y Canik (22) (Cuadro 1). Los síntomas observados en las hojas y la fruta se registraron en el momento de la recolección de las muestras (Jossey y Babadoost, 2008).

Table 1. Occurrence of ZYMV on different Cucurbita species grown in Samsun in 2015-2016.

Cuadro 1. Presencia de ZYMV en tres especies de Cucurbita cultivadas en Samsun en 2015-2016.

Host	Samples tested/ infected		ZYMV	%
	2015	2016		
<i>Cucurbita pepo</i>	35/15	35/19	34	48.5
<i>C. maxima</i>	45/17	45/11	28	31.1
<i>C. moschata</i>	35/12	30/10	22	33.8
Total	115/44	110/40	225/84	37.3

Serological identification

A polyclonal antiserum kits for ZYMV (Bioreba) and Polystyrene 96 well plates (TPP) were used in this study. The double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) was used for the examination of samples. Samples for DAS-ELISA were prepared by grinding of leaf tissue in phosphate buffered saline, pH 7.4 with 2 % PVP and 0.2 % of bovine albumin (1:5 ratio). Plates were incubated during 2 h at 24 °C after pipetting the substrate buffer, and the absorbance values were read at 405 nm using a microplate reader and also confirmed visually after incubation for 2 h at room temperature. All samples tested in two replicate wells and with an absorbance value greater than three times that of a negative control, were rated as positive (Spadotti *et al.*, 2015).

Mechanical inoculation

Mechanical inoculation was performed on carborandum dusted cotyledon leaves at cotyledonary leaf stage. All inoculations were repeated three times. Six plants of each of cucurbit species were used for each treatment. Sap prepared from ELISA-positive zucchini (ZYMV-CA), squash (ZYMV-TE) and pumpkin (ZYMV-BA) samples and *C. pepo*, *C. maxima*, *C. moschata*, *Cucumis sativus*, and *Citrillus vulgaris* plants, using 0.01 M phosphate buffer (pH 7.0), was mechanically inoculated onto carborundum-dusted plants of each Cucurbit test plant (Hosseini *et al.*, 2007). Control plants were buffer inoculated. The leaves were then rinsed with water, and plants were maintained in a controlled climate room at 24 °C and 90 % relative humidity for observation. The inoculated plants were tested for ZYMV infections 30 d post inoculation using DAS-ELISA.

Las recolecciones se realizaron de 2015 al 2016, durante el verano (70 muestras) y en la temporada de invierno (155 muestras) en cada sitio. Las muestras recogidas se colocaron en bolsas de plástico, se llevaron al laboratorio el mismo día y se mantuvieron a 4 °C hasta un siguiente uso.

Identificación serológica

En este estudio se usaron kits de antisuero policlonal para ZYMV (Bioreba) y 96 placas de pocillos de poliestireno (TPP). La prueba inmunoabsorbente tipo emparejado ligado a enzimas de doble anticuerpo (DAS-ELISA) se usó para el examen de muestras. Las muestras para DAS-ELISA se prepararon moliendo el tejido foliar en una solución salina tamponada con fosfato, pH 7.4 con 2 % de PVP y 0.2 % de albúmina bovina (relación 1:5). Las placas se incubaron 2 h a 24 °C después de pipetear el tampón del sustrato, y los valores de absorbancia se leyeron a 405 nm usando un lector de microplacas y también se confirmaron visualmente después de la incubación de 2 h a temperatura ambiente.

Todas las muestras analizadas en dos pocillos replicados y con un valor de absorbancia mayor a tres veces el de un control negativo se calificaron como positivas (Spadotti *et al.*, 2015).

Inoculación mecánica

La inoculación mecánica se realizó en hojas de cotiledón espolvoreadas con carborandum en la etapa de la hoja cotiledonaria. Todas las inoculaciones se repitieron tres veces. Seis plantas de cada especie de cucurbitáceas se utilizaron para cada tratamiento. Savia preparada desde muestras de calabazas ELISA positivas (ZYMV-CA), calabazas de invierno (ZYMV-TE) y calabazas (ZYMV-BA) más plantas de *C. pepo*, *C. maxima*, *C. moschata*, *Cucumis sativus* y *Citrillus vulgaris*, usando 0.01 del tampón de fosfato M 0.01 (pH 7,0), se inoculó mecánicamente en plantas con polvo de carborundo de cada planta en prueba de Cucurbitáceas (Hosseini *et al.*, 2007).

Las plantas testigo se inocularon con tampón. Las hojas se enjuagaron con agua y las plantas se mantuvieron en una habitación climatizada a 24 °C y con una humedad relativa de 90 % para su observación. Las plantas inoculadas se probaron para infecciones por ZYMV durante 30 d después de la inoculación usando DAS-ELISA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas de la enfermedad de tipo viral más comúnmente observados en los campos fueron el mosaico, el moteado de las hojas y las malformaci-

RESULTS AND DISCUSSION

The virus-like disease symptoms most commonly observed in the fields were mosaic, and mottling of the leaves and fruit malformations with heavy yield losses. The virus disease incidence assessed by a visual search for virus-like symptoms was 37 % of cucurbit fields surveyed. A total of 225 symptomatic samples were examined from five different regions. DAS-ELISA results showed that 84 samples of zucchini, winter squash and pumpkin out of 225 cucurbit samples tested reacted positively with ZYMV. In *C. pepo*, *C. maxima*, and *C. moschata*, ZYMV was prevalent virus and was detected in 34 of 70, 28 of 90, and 22 of 65 samples, respectively (Table 1).

ZYMV was found in all the cucurbit growing regions surveyed. The highest virus incidence among the surveyed regions was recorded in Carsamba (56.6 %), followed by Bafra (35.7 %), Terme (32.0 %), Tekkekoy (31.1 %), and Canik (18.1 %) (Table 2).

ZYMV isolates (CA, TE, and BA) were mechanically inoculated in test plants for biological characterizations and symptom development was observed after 7 d inoculation. Reactions of tested cucurbit plants are summarized in Table 3.

All ZYMV isolates systemically infected *C. pepo*, *C. maxima*, *C. moschata*, and *C. sativus*. In contrast, ZYMV isolated from winter squash produced necrotic local lesions on *C. vulgaris* (Table 3). More than 39 different viruses are reported from the family *Cucurbitaceae*, but ZYMV is one of the most economically important viral diseases of plant this family (Bonilha *et al.*, 2009). This virus was first reported in Northern Italy by Lisa *et al.* (1981), and it is responsible for significant losses in yield and quality of cucurbitaceous vegetable worldwide (Spadotti *et al.*, 2015).

ones de la fruta, con grandes pérdidas en la cosecha. La incidencia de la enfermedad del virus evaluada mediante una búsqueda visual de síntomas similares al virus fue de 37 % de los campos de cucurbitáceas estudiados. Se examinó un total de 225 muestras sintomáticas de cinco regiones diferentes.

Los resultados de DAS-ELISA mostraron que 84 muestras de calabacín, calabaza de invierno y calabaza de 225 muestras de cucurbitáceas analizadas reaccionaron positivamente con ZYMV. En *C. pepo*, *C. maxima* y *C. moschata*, el virus prevalente fue ZYMV y se detectó en 34 de 70, 28 de 90 y 22 de 65 muestras, respectivamente (Cuadro 1).

ZYMV se encontró en todas las regiones de cultivo de cucurbitáceas registradas. La mayor incidencia de virus entre las regiones se registró en Carsamba (56.6 %), seguida de Bafra (35.7 %), Terme (32.0 %), Tekkekoy (31.1 %) y Canik (18.1 %) (Cuadro 2).

Los aislados de ZYMV (CA, TE y BA) se inocularon mecánicamente en plantas de ensayo para caracterizaciones biológicas y se observó el desarrollo de los síntomas 7 d después de realizar la inoculación. Las reacciones de las plantas de cucurbitáceas analizadas se resumen en el Cuadro 3.

Todos los aislados de ZYMV infectaron sistémicamente a *C. pepo*, *C. maxima*, *C. moschata* y *C. sativus*. En contraste, el ZYMV aislado de calabaza de invierno produjo lesiones locales necróticas en *C. vulgaris* (Cuadro 3). Más de 39 diferentes virus se reportan de la familia *Cucurbitaceae*, pero ZYMV es una de las enfermedades virales más importantes económicamente de esta familia de plantas (Bonilha *et al.*, 2009). Este virus se reportó por primera vez en el norte de Italia por Lisa *et al.* (1981), y es responsable de pérdidas significativas en el rendimiento y la calidad de las verduras cucurbitáceas en el mundo (Spadotti *et al.*, 2015).

Table 2. Occurrence of ZYMV in squash samples collected in 2015-2016.

Cuadro 2. Presencia de ZYMV en muestras de calabaza recolectadas en 2015-2016.

Regions	No. of fields surveyed	Samples tested/ infected		ZYMV	%
		2015	2016		
Bafra	10	15/6	13/4	10	35.7
Carsamba	20	30/18	30/16	34	56.6
Tekkekoy	30	45/12	45/16	28	31.1
Terme	8	13/5	12/3	8	32.0
Canik	7	12/3	10/1	4	18.1
Total	75	115/44	110/40	225/84	37.3

Table 3. Symptoms caused by ZYMV on test plants and ELISA positive samples.
Cuadro 3. Síntomas causados por ZYMV en plantas de prueba y muestras positivas de ELISA.

Species	Symptoms*/ DAS-ELISA**		
	ZYMV-CA	ZYMV-TE	ZYMV-BA
<i>C. pepo</i>	Mo, LM */ +**	Mo / +	Mo, LM / +
<i>C. maxima</i>	Mo, LD / +	Mo, LD / +	Mo / +
<i>C. moschata</i>	Mo / +	Mo / +	Mo / +
<i>C. sativus</i>	Mo / +	Mo / +	Mo / +
<i>C. vulgaris</i>	NS / -	NLL / +	NS / -

*Mo: mosaic, LM: leaf malformation, LD: leaf deformation, NLL: necrotic local lesion, and NS: non-symptoms. ** +: Virus detected in DAS-ELISA. ♦ * Mo: mosaico, LM: malformación de la hoja, LD: deformación de la hoja, NLL: lesión local necrótica y NS: sin síntomas. ** +: Virus detectado en DAS-ELISA.

In our study, 225 symptomatic leaf samples of cucurbits were collected in 2015-2016 and tested for the presence of ZYMV. Data showed that ZYMV was very common in the research areas (Table 1) and infected plants were found in all cultivated squashes assayed including zucchini, squash, and pumpkin. Yakoubi *et al.* (2008) studied population structure of ZYMV in Tunisia and DAS-ELISA tests showed that 92 samples of zucchini and squash out of 106 cucurbit samples tested reacted positively with a ZYMV polyclonal antiserum, which was found in all the cucurbit growing regions surveyed: Bizerte (54 positive samples out of 55 tested, Cap Bon (29/37) and Monastir (9/14).

In our study, the occurrence of ZYMV was 48.5, 33.8, and 31.1 % in zucchini, pumpkin, and squash, respectively (Table 1). Surveys conducted to identify viruses infecting pumpkin and squash in Illinois, USA, detected ZYMV in 18, 4, and 4 % of the samples tested in 2004, 2005, and 2006, respectively (Jossey and Babadoost, 2008). According to Prendeville *et al.* (2012), spread degree of the virus varies greatly among regions and years. In our study, incidence of ZYMV was 38.2 and 36.3 % in 2015 and 2016, respectively, and it was recorded at different commercial open-fields in five regions of Samsun (Table 2).

ZYMV-infected plants exhibit severe leaf mosaic, yellowing and eventually shoestring symptoms in the leaves. The fruits are stunted, twisted and

En nuestro estudio se recolectaron 225 muestras de hojas sintomáticas de cucurbitáceas en 2015-2016 y se analizaron para detectar la presencia de ZYMV. Los datos mostraron que ZYMV era muy común en las áreas de investigación (Cuadro 1) y se encontraron plantas infectadas en todas las calabazas cultivadas y utilizadas en las pruebas, incluyendo calabacín, calabaza de invierno y calabaza.

Yakoubi *et al.* (2008) estudiaron la estructura poblacional de ZYMV en Túnez, y las pruebas DAS-ELISA mostraron que 92 muestras de calabacín y calabaza de invierno de 106 muestras de cucurbitáceas reaccionaron positivamente con un antisuero policlonal ZYMV, que se encontró en todas las regiones de cultivo de las cucurbitáceas registradas: Bizerte (54 muestras positivas de 55 probadas, Cap Bon (29/37) y Monastir (9/14)).

En nuestro estudio, la presencia de ZYMV fue 48.5, 33.8 y 31.1 % en calabacín, calabaza y calabaza de invierno, respectivamente (Cuadro 1). Los estudios realizados para identificar virus que infectan calabaza y calabaza de invierno en Illinois, EUA, detectaron ZYMV en 18, 4 y 4 % de las muestras analizadas en 2004, 2005 y 2006, respectivamente (Jossey y Babadoost, 2008).

De acuerdo con Prendeville *et al.* (2012), el grado de propagación del virus varía mucho entre regiones y años. En nuestro estudio, la incidencia de ZYMV fue 38.2 % y 36.3% en 2015 y 2016, respectivamente, y se registró en diferentes campos abiertos comerciales en cinco regiones de Samsun (Cuadro 2).

Las plantas infectadas con ZYMV exhiben un mosaico foliar severo, amarilleamiento y aspecto nada alentador en las hojas. Los frutos están atrofiados, retorcidos y deformados, lo que resulta en un rendimiento reducido por lo cual las plantas no se puedan comercializar, en especial el calabacín (Spadotti *et al.*, 2015).

En nuestro estudio se observaron síntomas típicos de mosaico y moteado en las hojas infectadas con ZYMV, y malformaciones de frutos en calabazas de verano e invierno infectadas naturalmente con ZYMV, lo cual coincide con los resultados reportados por Lecoq *et al.* (2009).

Para las caracterizaciones biológicas de ZYMV, se inocularon mecánicamente los aislados en plantas de cucurbitáceas y el desarrollo de síntomas se observó después de 7 días de la inoculación. Las plantas de sandía exhibieron manchas necróticas 1 semana después

deformed, resulting in reduced yield and the plants unmarketable; especially zucchini squash (Spadotti *et al.*, 2015). In our study, typical ZYMV infected symptoms of leaves mosaic and mottling, and fruit malformations were observed from summer and winter squashes naturally infected with ZYMV, which agrees with results reported by Lecoq *et al.* (2009).

For biological characterizations of ZYMV, isolates were mechanically inoculated onto cucurbit plants and symptom development was observed after 7 d inoculation. Watermelon plants exhibited necrotic spots 1 week post-inoculation, whereas mosaic with leaf deformation were observed in all inoculated zucchini, winter squash, pumpkin, and cucumber plants 7 d post-inoculation; besides, there was biological variability among isolates. Because of its aggressiveness and virulence, ZYMV is a serious threat to cucurbit production worldwide (Singh *et al.*, 2003).

In our study ZYMV-CA was more aggressive in cucurbits, but TE and BA isolates could not infect watermelon plants, induced milder symptoms in winter squash, pumpkin, and cucumber plants. Similarly, ZYMV isolates were analyzed in 11 isolates sampled from cucumber, squash and zucchini between 2001 and 2006 in Slovakia and Czech Republic; most of isolates showed typical mosaic symptoms on zucchini genotypes, and SE04T isolate was unique in failing to produce symptoms, although virus presence was detected by DAS-ELISA in all tested cucurbit genotypes (Glasa *et al.*, 2007).

In aphid transmission under natural conditions, the emergence and spread of aggressive variants might be enhanced by aphid preference for symptom-expressing plants (Ferreter *et al.*, 1999). The virus detected in our study was spread efficiently by aphids, seeds, and mechanical inoculation (Yakoubi *et al.*, 2008). ZYMV is transmissible by aphids in a non-persistent manner, that is, rapid transmission in several minutes without any long-time acquisition and inoculation feeding. Our results confirmed the presence of ZYMV in the Middle Black Sea region and showed that the virus is widespread in Cucurbit species. The virus was detected in all zucchini, winter

de la inoculación, y se observaron mosaicos con deformación de las hojas en todas las plantas inoculadas de calabacín, calabaza de invierno, calabaza y pepino 7 d después de la inoculación; además, hubo variabilidad biológica entre los aislados. Por su agresividad y virulencia, ZYMV es una grave amenaza para la producción de cucurbitáceas en el mundo (Singh *et al.*, 2003).

En nuestro estudio ZYMV-CA fue más agresivo en cucurbitáceas, pero los aislados de TE y BA no pudieron infectar a las plantas de sandía, y provocaron síntomas más leves en las plantas de calabaza de invierno, calabaza y pepino.

De forma similar, se analizaron los aislados de ZYMV en 11 muestras de aislados de pepino, calabaza de invierno y calabacín entre 2001 y 2006 en Eslovaquia y la República Checa; la mayoría de los aislados mostró síntomas típicos de mosaico en los genotipos de calabacín, y el aislado SE04T fue el único que no produjo síntomas, aunque la detección del virus se detectó mediante DAS-ELISA en todos los genotipos de cucurbitáceas analizados (Glasa *et al.*, 2007).

En la transmisión de áfidos en condiciones naturales, la aparición y propagación de variantes agresivas podría aumentar mediante los áfidos que prefieren plantas que manifiestan síntomas (Ferreter *et al.*, 1999). El virus detectado en nuestro estudio se propagó de manera eficiente por la acción de áfidos, semillas e inoculación mecánica (Yakoubi *et al.*, 2008).

El ZYMV es transmisible por los áfidos de manera no persistente, es decir, por una transmisión rápida de algunos minutos sin adquisición prolongada y alimentación por inoculación. Nuestros resultados confirmaron la presencia de ZYMV en la región del Mar Negro medio y revelaron que el virus está muy extendido en las especies de Cucurbitáceas. El virus se detectó en todos los campos de calabacines, calabazas de invierno y calabazas, pero hubo una mayor incidencia de infección por el virus en algunas regiones, en comparación con otras. Al parecer, en un área, la presencia de una fuente de inóculo, especialmente de semillas infectadas, fue más importante para la infección por virus que la ubicación de los campos (Golaraghi *et al.*, 2004).

squash, and pumpkin fields, but there were higher incidences of virus infection in some regions, as compared to others. It seems that in an area, presence of an inoculum source, especially infected seeds, was more important for incidence of virus infection than location of fields (Golnaraghi *et al.*, 2004).

CONCLUSIONS

ZYMV is spread in cucurbits and most of the commonly grown squash cultivars are infected. Widespread occurrence of ZYMV in major summer and winter squash growing areas of the Black Sea region of Turkey would implicate its higher impact on cucurbit production throughout the country. We report biological characteristics of ZYMV isolates from cucurbits, which might provide better understanding of ZYMV epidemiology.

LITERATURE CITED

- Ali A., O. Mohammad, and A. Khattab. 2012. Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. *Plant Dis.* 96: 243–248.
- Bonilha E., R. Gioria, R. F. Kobori, P. T. D. Vecchia, S. M. D. S. Piedade, and J. A. M. Rezende. 2009. Yield of varieties of *Cucurbita pepo* preimmunized with mild strains of *Papaya ringspot virus* - type W and *Zucchini yellow mosaic virus*. *Scientia Agr.* 66: 419–424.
- Fereres A., G. E. Kampmeier, and M. E. Irwin. 1999. Aphid attraction and preference for soybean and pepper plants infected with Potyviridae. *Ann. Entomol. Soc. America* 92: 542–548.
- Glasa M., J. Svoboda, and S. Novakova. 2007. Analysis of the molecular and biological variability of *Zucchini yellow mosaic virus* isolates from Slovakia and Czech Republic. *Virus Genes* 35: 415–21.
- Golnaraghi A. R., N. Shahraeen, R. Pourrahim, S. H. Farzadfar, and A. Ghasemi. 2004. Occurrence and relative incidence of viruses infecting soybeans in Iran. *Plant Dis.* 88: 1069–1074.
- Hosseini S., G. H. Mosahebi, M. Koochi Habibi, and S. M. Okhovvat. 2007. Characterization of the *Zucchini yellow mosaic virus* from squash in Tehran province. *J. Agr. Sci. Tech.* 9: 137–143.
- Jossey S., and M. Babadoost. 2008. Occurrence and distribution of pumpkin and squash viruses in Illinois. *Plant Dis.* 92: 61–68.
- Katis N. I., J. A. Tsitsipis, D. P. Lykouressis, A. Papapanayotou, J. T. Margaritopoulos, G. M. Kokinis, D. Ch. Perdakis, and I. N. Manoussopoulos. 2006. Transmission of *Zucchini yellow mosaic virus* by colonizing and non-colonizing aphids in Greece and new aphid species vectors of the virus. *J. Phytopath.* 154: 293–302.
- Lecoq H., C. Wipf-Scheibel, C. Chandeysson, A. LeVan, F. Fabre, and C. Desbiez. 2009. Molecular epidemiology of *Zucchini yellow mosaic virus* in France: An historical overview. *Virus Res.* 141: 190–200.
- Lisa V., G. Boccardo, G. D'agostino, G. Dellavalle, and M. D'aquilio. 1981. Characterization of a potyvirus that causes *Zucchini yellow mosaic*. *Phytopath.* 71: 667–672.
- Paris H. S., and R. N. Brown. 2005. The genes of pumpkin and squash. *HortSci.* 40: 1620–1630.
- Prendeville H. R., X. Ye, T. J. Morris, and D. Pilson. 2012. Virus infections in wild plant populations are both frequent and often unapparent. *Am. J. Botany.* 99: 1033–1042.
- Singh S. J., R. A. J. Verma, Y. S. Ahlawat, R. K. Singh, S. Prakash, and R. P. Pant. 2003. Natural occurrence of a yellow mosaic disease on zucchini in India caused by a Potyvirus. *Indian Phytopath.* 56: 174–179.
- Spadotti D. M. de A., D. T. Wassano, J. A. M. Rezende, L. E. A. Camargo, and A. K. Inoue-Nagata. 2015. Biological and molecular characterization of Brazilian isolates of *Zucchini yellow mosaic virus*. *Scientia Agr.* 72: 187–191.
- Turkstat. 2014. Agricultural Structure. Turkish Statistical Institute. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Access: May 2014).
- Yakoubi S., C. Desbiez, H. Fakhfakh, C. Wipf-Scheibel, F. Fabre, M. Pitrat, M. Marrakchi, and H. Lecoq. 2008. Molecular, biological and serological variability of *Zucchini yellow mosaic virus* in Tunisia. *Plant Path.* 57: 1146–1154.

CONCLUSIONES

El ZYMV se disemina en las cucurbitáceas y casi todos los cultivares de calabaza de invierno que se cultivan están infectados. La presencia generalizada de ZYMV en las principales zonas productoras de calabaza de verano e invierno en la región del Mar Negro de Turquía puede tener un mayor impacto en la producción de cucurbitáceas en todo el país. Reportamos las características biológicas de aislados de ZYMV de las cucurbitáceas, lo que podría proporcionar una mejor comprensión de la epidemiología del ZYMV.

—Fin de la versión en Español—

-----*-----