



## موقعیت فیلوژنتیکی جدایه‌های همدان ویروس کوتولگی زرد جو با استفاده از ترادف ژن پلیمراز: اولین گزارش گونه BYDV-PAS در ایران

نگار ردایی<sup>۱</sup> و آرزو پاکدل<sup>۲\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۱)

### چکیده

ویروس کوتولگی زرد جو (barley yellow dwarf virus, BYDV) به طور قابل توجهی باعث کاهش محصول غلات و سایر گیاهان خانواده گندمیان در سراسر جهان می‌شود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که این ویروس در اکثر نقاط ایران پراکنش دارد. در بهار سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ نمونه‌های گیاهی دارای علائم بیماری، از مزارع گندم و جو شهرستان‌های استان همدان جمع‌آوری شدند. آزمون الیزای غیرمستقیم با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی BYDV انجام شد و نتایج نشان داد که درصد بالایی از نمونه‌های جمع‌آوری شده به BYDV آلوده بودند. پس از استخراج آران‌ای کل، آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی BYDV-PAV که سویه رایج این ویروس در اکثر مناطق کشور می‌باشد، انجام شد. نتایج آزمون RT-PCR، آلودگی به BYDV را تایید نمود. به منظور مقایسه مولکولی ژن پلیمراز و تبارزایی بر اساس این ژن، دو جدایه از شهرستان‌های اسدآباد و همدان انتخاب و ژن پلیمراز آنها تعیین ترادف شدند. مقایسه توالی‌های حاصل نشان داد که جدایه همدان بیشترین شباهت را با جدایه‌های کهنوج، کرج، یزد و اراک دارد (با شباهت حدود ۹۵٪ تا ۹۶٪). جدایه‌های مذکور به دلیل شباهت کم با سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن به عنوان یک گونه مجزا پیشنهاد شدند. جدایه اسدآباد بیشترین شباهت را با BYDV-PAS آمریکا و استونی داشت (با بیش از ۹۲٪ شباهت). نتایج حاصل از تبارزایی نشان داد که جدایه‌های ایرانی BYDV براساس ژن پلیمراز در سه گروه مجزا قرار گرفتند که نشان دهنده وجود تنوع بالا در ژن پلیمراز این ویروس است. تحقیق حاضر اولین گزارش از ردیابی گونه BYDV-PAS در ایران می‌باشد.

کلیدواژه: ترانویسی معکوس-واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، ژن پلیمراز، ویروس کوتولگی زرد جو

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a.pakdel@basu.ac.ir

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد.

۲. استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.



Research Article

## Phylogenetic position of Hamedan isolates of barley yellow dwarf virus using polymerase gene sequence: first report of BYDV-PAS species in Iran

N. Radaee<sup>1</sup> and A. Pakdel<sup>2\*</sup>

(Received: 18.09.2022; Accepted: 31.01.2023)

### Abstract

Barley yellow dwarf virus (BYDV) causes a significant yield reduction and crop loss in cereal and grasses worldwide. Studies revealed that barley yellow dwarf virus is present in most regions of Iran. Wheat and barley plants showing the infection symptoms were collected from cereal fields in Hamedan Province during the springs of 2020 and 2021. Samples were tested for BYDV infection by Indirect ELISA. Positive reactions to BYDV antibody in most samples were detected. After total RNA extraction, RT-PCR was performed to amplify polymerase gene using specific BYDV-PAV primers. BYDV-PAV is the most prevalent species of BYDVs in Iran. Results confirmed BYDV infection. For molecular and phylogenetic comparison, two samples from Hamedan and Asadabad were selected and their polymerase genes were sequenced. The sequencing results revealed that Hamedan isolate had maximum homology with Kahnouj, Karaj, Yazd and Arak isolates (with 95% - 96% identity). The isolates in this group proposed as a distinct species due to their low similarity with other isolates in GenBank. Asadabad isolate had maximum homology with Estonia and America BYDV-PAS with more than 92% homology. The results of phylogenetic analysis revealed that Iranian isolates of BYDV clustered in three distinct groups which shows the presence of a high diversity in the polymerase gene of this virus. This study is the first report of BYDV-PAS species in Iran.

**Keywords:** Barley yellow dwarf virus, Polymerase gene, RT-PCR

---

\* Corresponding author's E-mail: a.pakdel@basu.ac.ir

1. M.Sc. student.

2. Assistant professor, Plant protection Department, Faculty of Agriculture, Bu-ali sina university, Hamedan, Iran.

## مقدمه

در ایران عامل زردی در غلات عمدتاً BYDVs و CYDVs می‌باشند و BYDV-PAV و ویروس غالب در کشور است (Afsharifar et al. 2004). در مطالعه انجام شده توسط پاکدل و همکاران مقایسه قسمت‌هایی از ژنوم گونه BYDV-PAV شناسایی شده در نه استان مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس ترادف نوکلئوتیدی بخشی از ناحیه پیوسته‌خوانی (ORF5) ژنوم این ویروس تنوع مشاهده نشد و همه جدایه‌ها در یک گروه قرار گرفتند. اما، بر اساس مقایسه ترادف نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای ORF1، این جدایه‌ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل جدایه‌های کهنوج، کرج، اراک و یزد که به دلیل شباهت کم با سایر جدایه‌های ایرانی و غیر ایرانی موجود در بانک ژن به عنوان یک گونه مجزا پیشنهاد شد. جدایه‌های بوشهر، رستاق، اسفندقه، عباس آباد، هرسین کرمانشاه، کمارج، ساوه و ایلام به همراه جدایه‌هایی از آمریکا، استرالیا و ژاپن در گروه دوم قرار گرفتند (Pakdel et al. 2010). در مطالعات گذشته گونه‌های مختلف BYDV از ایران گزارش شدند اما تاکنون گزارشی از ردیابی BYDV-PAS در ایران موجود نبود (Afsharifar et al. 2004).

هدف تحقیق حاضر مقایسه مولکولی ترادف نوکلئوتیدی ژن پلیمراز جدایه‌های BYDV ردیابی شده از استان همدان با ترادف نوکلئوتیدی ناحیه مشابه ژنوم سایر جدایه‌های ایرانی و غیرایرانی موجود در بانک ژن و همچنین بررسی احتمال ردیابی گونه BYDV-PAS بود.

## مواد و روش‌های بررسی

طی بازدیدهای به عمل آمده در بهار سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰، تعداد ۲۴۰ نمونه گیاهی حاوی علائم زردی و کوتولگی از مزارع گندم و جو شهرستان‌های استان همدان

ویروس‌های کوتولگی زرد (yellow dwarf viruses, YDVs) شامل گونه‌های مختلف ویروس کوتولگی زرد جو (barley yellow dwarf virus, BYDV) و ویروس کوتولگی زرد غلات (cereal yellow dwarf virus, CYDV) هستند که در اغلب مزارع غلات گسترش یافته‌اند. BYDV یکی از مهم‌ترین ویروس‌های ایجاد کننده بیماری در گیاهان خانواده گندمیان در سراسر جهان است (Peters et al. 2022). BYDV در جنس *Luteovirus* قرار دارد و دارای پیکره چندوجهی و ژنوم آن از نوع (+ssRNA) می‌باشد. در گذشته ویروس‌های جنس *Luteovirus* در خانواده *Luteoviridae* طبقه بندی می‌شدند (Domier 2008). در گزارش کمیته بین‌المللی طبقه بندی ویروس‌ها (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) در سال ۲۰۲۱، براساس شباهت توالی‌های RNA dependent RNA polymerase (RdRps) رمز گذاری شده توسط چارچوب‌های ژنی یک و دو (open reading frame, ORF1 and ORF2)، جنس *Luteovirus* در خانواده *Tombusviridae* طبقه بندی شد (ICTV 2021). براساس سازمان ژنوم و شباهت توالی‌های اسید آمینه‌ای، گونه‌های BYDV-MAV، BYDV-kerII، BYDV-kerIII، BYDV-PAS، BYDV-PAV و BYDV-GAV به جنس *Luteovirus* اختصاص داده شدند (Miller & lozier 2022). گونه BYDV-PAS، به دلیل تنوع قابل توجه در توالی CP، در سال ۲۰۰۲ از گونه BYDV-PAV جدا شد (Mayo 2002). روش‌های تشخیص سرولوژیکی قادر به تفکیک گونه‌های BYDV-PAV بود BYDV-PAS نیستند و از روش‌های مولکولی برای شناسایی آن‌ها استفاده می‌شود (Kundu 2008).

گیاه جو سالم کشت شده در گلخانه به عنوان نمونه کنترل منفی و از جدایه شهرکرد گونه BYDV-PAV به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

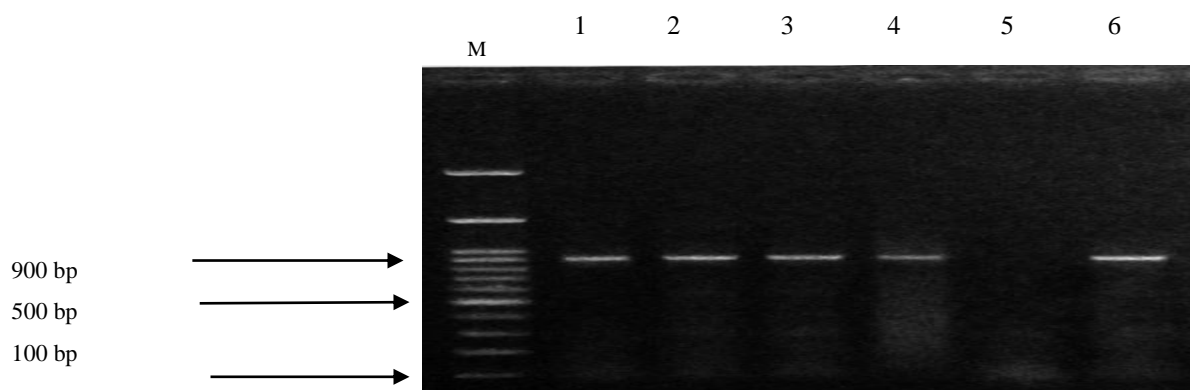
دو نمونه از شهرستان‌های اسدآباد و همدان انتخاب و قطعه تکثیر شده آنها برای تعیین ترادف به آزمایشگاه پزشکی ارمغان، گروه ژنتیک کدون ارسال شد. تعیین ترادف نوکلئوتیدی با استفاده از آغازگرهای پیشرو و معکوس در دو تکرار انجام شد. ترادف‌های بدست آمده با استفاده از برنامه Blast N با سایر ترادف‌های موجود در بانک ژن مقایسه شد. سپس هم‌ردیف‌سازی چندگانه (Multiple alignment) با سایر ترادف‌های موجود در بانک ژن شامل جدایه تویسرکان از استان همدان (Tsn-) (1400, Radaee & Pakdel 2022) ۱۲ جدایه ایرانی و ۱۲ جدایه غیرایرانی با استفاده از نرم افزار Geneious prime 2019 انجام شد و دندوگرام با روش Neighbor joining با استفاده از نرم افزار Mega 11 ترسیم شد.

## نتایج و بحث

علائم بارز ناشی از آلودگی به BYDV شامل زردی و کوتولگی شدید در اغلب مزارع گندم و جو شهرستان‌های استان همدان مشاهده شد. از مجموع نمونه‌های جمع‌آوری شده، حدود ۸۰٪ نمونه‌های شهرستان همدان، ۵۰٪ نمونه‌های شهرستان اسدآباد، ۵۰٪ نمونه‌های شهرستان بهار، ۹۰٪ نمونه‌های شهرستان کبودرآهنگ، ۹۰٪ نمونه‌های شهرستان فامنین و ۹۰٪ نمونه‌های شهرستان رزن در آزمون الایزا نسبت به آنتی‌بادی اختصاصی BYDV واکنش مثبت نشان دادند. در مواردی که گیاهان دارای علائم نسبت به آنتی‌بادی BYDV واکنش مثبت نشان ندادند به نظر می‌رسد این گیاهان به سایر ویروس‌های عامل کوتولگی زرد و یا ویروس‌هایی که علائم مشابه ایجاد می‌کنند مانند

شامل اسدآباد، بهار، رزن، فامنین، کبودرآهنگ و همدان جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور تشخیص آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده به BYDV، آزمون الایزا غیر مستقیم (Indirect-ELISA) به روش Converse و Martin، با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی BYDV شرکت Agdia (Agdia, Elkhart, In, USA) انجام شد (Converse & Martin 1990). در این آزمون، از گیاه جو سالم کشت شده در گلخانه به عنوان نمونه کنترل منفی و از جدایه شهرکرد BYDV-PAV به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای تایید صحت آلودگی نمونه‌ها و همچنین تکثیر قطعه مورد نظر از ژنوم ویروس از آزمون ترانویسی معکوس-واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (RT-PCR) استفاده شد. در این آزمون از نمونه‌هایی که در آزمون الایزا نسبت به آنتی‌بادی اختصاصی BYDV واکنش مثبت نشان داده بودند، استفاده شد.

استخراج آر ان ای کل از نمونه‌های گیاهی، با استفاده از کیت استخراج آر ان ای شرکت دنازیست به روش ستونی طبق پروتکل شرکت سازنده (Cat. No.: S-1020-1) انجام شد. با توجه به مطالعات گذشته مبنی بر این که گونه BYDV-PAV بیشترین پراکنش را در اکثر مناطق ایران دارد، برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از آغازگرهای اختصاصی این گونه شامل ORF1-F: GCCCATGACGCCTTTGTCAA و ORF1-R: CGGTACAGAGCCCCTCTAA (جفت آغازگر طراحی شده بر اساس ژنوم جدایه P-PAV با شماره دسترسی D11032 و دمای اتصال ۵۸ درجه سلسیوس) که قطعه‌ای به طول حدود ۹۰۰ جفت باز از ORF1 را تکثیر می‌نمایند، استفاده شد. ناحیه تکثیر شده بخشی از ژن پلیمرز ویروس است که حدود ۲۰ جفت باز انتهای آن در ناحیه همپوشان با ORF2 قرار دارد. در این آزمون نیز از



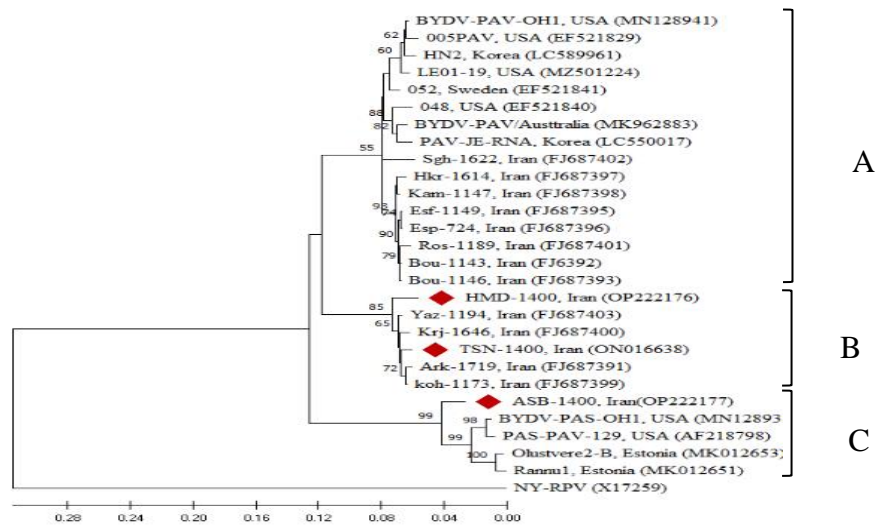
شکل ۱. نقوش الکتروفورزی دی‌ان‌ای‌های تکثیر شده (حدود ۹۰۰ جفت باز) از ORF1 نمونه‌های آلوده به ویروس کوتولگی زرد جو با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی PAV-ORF1-F/ PAV-ORF1-R در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR). ۱ و ۲ نمونه‌های شهرستان همدان، ۳ و ۴ نمونه‌های شهرستان اسدآباد، ۵ نمونه کنترل منفی (عصاره گیاه جو سالم) و ۶ نمونه کنترل مثبت (جدایه شهرکرد -BYDV- PAV). M: نشانگر با وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز (شرکت سیناکلون).

**Fig. 1. Electrophoresis patterns of amplified DNA  $\approx$  900 bp of ORF1 of BYDV-PAV using PAV-ORF1-F/ PAV-ORF1-R primer pair. 1-2: Hamedan samples, 3-4: Asadabad samples, 5: negative control (healthy barley extract), 6: positive control (Shahrekord isolate of BYDV-PAV), M: 100 bp DNA ladder (Sinaclon).**

آزمون PCR دی‌ان‌ای موردنظر را تکثیر نمودند انتخاب و هرکدام در دو تکرار تعیین ترادف نوکلئوتیدی شدند. ترادف‌های بدست آمده از این نمونه‌ها با سایر ترادف‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند. نتیجه مقایسات قطعه تعیین ترادف شده از شهرستان‌های اسدآباد، تویسرکان (Radaee & Pakdel 2022) و همدان با سایر جدایه‌های BYDV موجود در بانک ژن تایید نمود که ترادف نوکلئوتیدی قطعات دی‌ان‌ای تکثیر و تعیین ترادف شده از ORF1 (قسمتی از ژن پلیمرز شامل نوکلئوتیدهای ۲۷۴ تا ۱۱۷۶) شهرستان‌های تویسرکان و همدان بیشترین شباهت را با گونه BYDV-PAV و قطعه تعیین ترادف شده شهرستان اسدآباد بیشترین شباهت را با گونه BYDV-PAS داشت. نتایج حاصل از این تحقیق اولین گزارش از وجود گونه BYDV-PAS در ایران می‌باشد. توالی نوکلئوتیدی قطعه مورد نظر جدایه همدان با نام Hmd-1400 و شماره دسترسی OP222176 و جدایه اسدآباد با

ویروس کوتولگی گندم که قبلاً "آلودگی مزارع گندم و جو بسیاری از استان‌های کشور به آن گزارش شده است (Behjatnia et al. 2011) آلوده باشند و یا علائم مشاهده شده در اثر تنش‌های غیر زنده باشد. در واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر PAV-ORF-F و PAV-ORF1-R از نمونه‌های شهرستان‌های اسدآباد و همدان، قطعه‌ای به طول حدود ۹۰۰ جفت باز تکثیر شد (شکل ۱). اما از نمونه‌های شهرستان‌های بهار، رزن، فامنین و کبودرآهنگ علی‌رغم واکنش مثبت در آزمون الایزا، ضمن انجام واکنش PCR، قطعه موردنظر تکثیر نشد. با توجه به این که آنتی‌بادی مورد استفاده در آزمون الایزا قادر به شناسایی گونه‌های مختلف ویروس کوتولگی زرد جو می‌باشد، این امکان وجود دارد که گیاهان این مناطق به سایر گونه‌های BYDV آلوده باشند که تایید این فرضیه نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد.

دو نمونه از شهرستان‌های اسدآباد و همدان که در



شکل ۲. دندروگرام حاصل از مقایسه ترادف نوکلئوتیدی ORF1 جدایه‌های تویسرکان (TSN-1400)، همدان (HMD-1400) و اسدآباد (ASB-1400) با ناحیه مشابه ژنوم سایر جدایه‌های ایرانی و غیر ایرانی ویروس های کوتولگی زرد موجود در بانک ژن. جدایه NY-RPV (X17259) به عنوان out group در نظر گرفته شد. هر تاکسون شامل نام و شماره دسترس جدایه در بانک ژن می‌باشد.

**Fig. 2.** The dendrogram obtained from the comparison of the ORF1 nucleotide sequences of Tuyserkkan (TSN-1400), Hamadan (HMD-1400) and Asadabad (ASB-1400) isolates of BYDV with that of the same region of the genome of other Iranian and non-Iranian YDV isolates available in the GenBank NY-RPV (X17259) isolate was considered as outgroup. Each taxon includes name and accession number of isolate in the GenBank.

آباد (Esp-724)، رستاق (Ros-1189)، ساوه (Sgh-1622) همراه دو جدایه از کره جنوبی (PAV-JE-RNA, HN2)، چهار جدایه از آمریکا (BYDV-PAV-OH1, 048, 005PAV, LE01-19) در گروه A قرار گرفتند. دو جدایه از استان همدان شامل جدایه تویسرکان (Tsn-1400) و جدایه همدان (Hmd-1400) به همراه جدایه‌های کهنوج (Koh-1173)، کرج (Krj-1646)، اراک (Ark-1719) و یزد (Yaz-1194) در گروه B و جدایه اسدآباد (Asb-1400) به همراه دو جدایه از آمریکا شامل PAS-PAV-129 و BYDV-PAS-OH1 و دو جدایه از استونی شامل Rannu1 و Olustevere2-B در گروه C قرار گرفتند. لازم به ذکر است که هیچ یک از جدایه‌های

نام Asb-1400 و شماره دسترسی OP222177 در بانک ژن ثبت شدند. جدایه تویسرکان و جدایه همدان با جدایه‌های کهنوج، کرج، یزد و اراک، به ترتیب ۹۷٪ و ۹۶٪ تشابه داشتند درحالیکه این جدایه‌ها با سایر جدایه‌های ایرانی این ویروس بین ۷۵٪ تا ۸۵٪ تشابه داشتند. همچنین جدایه اسدآباد با BYDV-PAS آمریکا و استونی بیش از ۹۲٪ شباهت داشت و تشابه این جدایه با سایر جدایه‌های ایرانی موجود در بانک ژن در حدود ۷۸٪ تا ۷۹٪ تشابه بود. آنالیز فیلوژنتیکی حاصل از مقایسه ترادف نوکلئوتیدی و ترادف اسید آمینه‌ای ORF1 سه جدایه استان همدان با ترادف ۱۲ جدایه ایرانی و ۱۲ جدایه غیرایرانی موجود در بانک ژن نشان داد که جدایه‌های ایرانی به سه گروه تقسیم شدند (شکل ۲). دو جدایه از استان بوشهر (Bou-1146, Bou-1143)، و جدایه‌های اسفندقه کرمان (Esf-1149)، عباس

مرتبط با سیگنال‌های cis-acting است که در ویروس‌های با ژنوم RNA وجود دارند و (۴) مکانیسم تکثیر ویروس را تعیین می‌کند (Koonin et al. 2021). بر همین اساس دو جنس *Luteovirus* و *Polerovirus* در دو خانواده مجزا طبقه بندی شدند و خانواده *Luteoviridae* به طور کلی حذف شد (ICTV 2021). در تحقیق حاضر نیز مقایسه مولکولی جدایه‌ها بر اساس بخشی از ژن پلیمرز انجام شد و مشخص گردید که در بین جدایه‌های ایرانی و همچنین جدایه‌های همدان ویروس کوتولگی زرد جو تنوع بالایی وجود دارد. از طرفی استان همدان رتبه اول تولید جو و رتبه دوم تولید گندم در غرب کشور را به خود اختصاص داده است (آمارگیری زراعت سازمان برنامه و بودجه، ۱۳۹۷). نتایج این تحقیق نشان دهنده گسترش BYDV در استان همدان بود و می‌توان نتیجه‌گیری کرد که BYDV از عوامل اصلی ایجاد بیماری‌های زردی و کوتولگی و کاهش محصول غلات در استان همدان است.

### سپاسگزاری

از دانشگاه بوعلی سینا برای مهیا ساختن اجرای این طرح سپاسگزاری می‌گردد. این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است.

غیر ایرانی موجود در بانک ژن در گروه B قرار نگرفتند (شکل ۲). در سال ۲۰۱۵ یک جدایه از گروه A (جدایه اسفندقه کرمان) توسط پاکدل و همکاران به طور کامل تعیین ترادف شد (Pakdel et al. 2015). تعیین ترادف ژنوم کامل سایر جدایه‌های ایرانی ضروری است.

مطالعات گذشته در رابطه با تنوع ژنتیکی در بین جمعیت گونه‌های BYDV بر روی ژن‌های ناحیه ۳ ژنوم این ویروس‌ها متمرکز بودند (Bencharki et al. 1999, Chay et al. 1996). در مطالعات حال و همکاران سه ژن ویروسی ORF2، ORF3 و ORF4 به ترتیب مرتبط با رونویسی RdRps، پروتئین پوششی و پروتئین حرکتی مورد بررسی قرار گرفت که گونه‌های PAV و PAS با تفاوت توالی نوکلئوتیدی به ترتیب ۱۰٪ و ۲۲٪ در پروتئین پوششی و ژن پلیمرز از یکدیگر تمایز داده شدند. تنوع RdRps بین جدایه‌های یک گونه کم است اما در بین گونه‌های مختلف BYDV تنوع زیاد می‌باشد

(Hall et al. 2006). بر اساس مطالعات اخیر کمیته بین‌المللی طبقه بندی ویروس‌ها ژن کد کننده RdRp را به عنوان فاکتور اصلی برای طبقه بندی ویروس‌های با ژنوم RNA مورد قبول اعلام نموده است. به این دلیل که (۱) همه ویروس‌های با ژنوم RNA این پروتئین را کد می‌کنند (۲) در فرآیند همانندسازی ژنوم نقش اساسی دارد (۳)

## References

## منابع

- Afsharifar A. Masumi M. Sadeghi M. S. Yassaie M. Esmailzadeh A. and Izadpanah K. 2004. Barley yellow dwarf virus and Cereal yellow dwarf viruses in Iran. Proc. 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. 76 (Abst., in Persian and English)
- Behjatnia S. A. A. Afsharifar A. R. Tahan V. Amid motlagh M. H. Eini Gandomani O. Niazi A. and Izadpanah K. 2011. Widespread occurrence and molecular characterization of wheat dwarf virus in Iran. Australian Plant Pathology 40: 12-19
- Bencharki B. Mutterer J. Yamani M. E. Ziegler-Graff V. Zaoui D. and Jonard G. 1999. Severity of infection of Moroccan barley yellow dwarf virus PAV isolates correlates with variability in their coat protein sequences. Annals of Applied Biology 134(1): 89-99
- Chay C. A. Smith D. M. Vaughan R. and Gray S. M. 1996. Diversity among isolates within the PAV serotype of

- barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 86(4): 370-377
- Converse R. H. and Martin R. R. 1990. ELISA methods for plant viruses. pp.179-196. In: R. Hampton, E. Ball and S. De Boer (Eds). *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens*. A Laboratory Manual. APS Press
- Domier L. L. 2008. Barley yellow dwarf viruses. In *Encyclopedia of Virology* pp. 279-286. Elsevier Ltd
- Hall G. 2006. Selective constraint and genetic differentiation in geographically distant barley yellow dwarf virus populations. *Journal of General Virology* 87(10): 3067-3075
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) 2021. *Virus taxonomy: 2021 release*. <https://ictv.global/taxonomy/>. Accessed March 2022
- Koonin E. V. Dolja V. V. Krupovic M. and Kuhn J. H. 2021. Viruses defined by the position of the virosphere within the replicator space. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 85(4): e00193-20
- Kundu J. K. 2008. First report of barley yellow dwarf virus-PAS in wheat and barley grown in the Czech Republic. *Plant Disease* 92(11): 1587-1587
- Mayo M. A. 2002. ICTV at the Paris ICV: results of the plenary session and the binomial ballot. *Archives of Virology* 147(11): 2254-2260
- Miller W. A. and Lozier Z. 2022. Yellow dwarf viruses of cereals: taxonomy and molecular mechanisms. *Annual Review of Phytopathology* 60: 6.1–6.21
- Pakdel A. Afsharifar A. Niazi A. Almasi R. and Izadpanah K. 2010. Distribution of cereal luteoviruses and molecular diversity of BYDV-PAV isolates in central and southern Iran: proposal of a new species in the genus luteovirus. *Journal of Phytopathology* 158(5): 357-364.
- Pakdel A. Afsharifar A. and Niazi A. and Izadpanah K. 2015. Molecular characterization of the complete genome of a barley yellow dwarf virus-PAV isolate from Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 51(2): 163-176 (In Persian with English Summary)
- Peters J. S. Aguirre B. A. DiPaola, A. and Power A. G. 2022. Ecology of yellow dwarf viruses in crops and grasslands: interactions in the context of climate change. *Annual Review of Phytopathology* 60: 283-305
- Plan and budget organization, statistical center of Iran, statistical yearbook 2018-2019. <https://www.amar.org.ir/Portals/0/News/1398/zraat97>
- Radaee N. and Pakdel A. 2022. Detection and distribution of Barley yellow dwarf virus (BYDV) in some cereal fields of Hamedan province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*. doi: 10.22059/IJPPS.2022.342150.1007006.