

## ردیابی و تعیین پراکنش ویروس کوتولگی زرد جو در تعدادی از مزارع غلات استان همدان

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

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.  
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸)

### چکیده

بیماری کوتولگی زرد جو، یکی از شایع‌ترین و از نظر اقتصادی مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی غلات است که عامل آن ویروس کوتولگی زرد جو (**Barley yellow dwarf virus, BYDV**) و متعلق به خانواده لوتوویریده می‌باشد. این بیماری می‌تواند منجر به کاهش عملکرد ۸۰ درصدی در گندم شود. این ویروس در اکثر نقاط ایران پراکنش دارد. جهت ردیابی و شناسایی این ویروس، نمونه‌برداری از گیاهان گندم و جو دارای علائم زردی و کوتولگی از مزارع شهرستان‌های ملایر، نهاوند و تویسرکان در طول فصل رشد سال‌های ۱۳۹۹-۱۴۰۰ به عمل آمد. آزمون الیزای غیر مستقیم با استفاده از آنتی بادی اختصاصی **BYDV-PAV** انجام شد. نتایج آزمون الیزا نشان داد که ۸۰٪ نمونه‌های شهرستان ملایر، ۹۰٪ نمونه‌های شهرستان نهاوند و ۸۰٪ نمونه‌های شهرستان تویسرکان آلوده به **BYDV** بودند. همچنین، از نمونه‌های الیزای مثبت استخراج آران‌ای کل و آزمون **RT-PCR** با استفاده از آغازگرهای اختصاصی **BYDV-PAV** که سویه رایج این ویروس در اکثر مناطق کشور می‌باشد انجام شد. بررسی‌ها نشان داد که این ویروس در اغلب مناطق نمونه‌برداری شده وجود دارد. جهت تایید صحت نتایج، نمونه‌ی دارای علائم از شهرستان تویسرکان برای تعیین ترادف انتخاب شد. جدایه تویسرکان بیش از ۹۷٪ با جدایه‌های کهنوج، کرج، یزد و اراک شباهت دارد درحالی که با سایر جدایه‌های ایرانی این ویروس شباهت کمی (حدود ۸۵ درصد) دارد.

واژه‌های کلیدی: ویروس کوتولگی زرد جو، لوتوویریده، الیزای غیر مستقیم، **RT-PCR**، تعیین ترادف

## Detection and distribution of Barley yellow dwarf virus (BYDV) in some cereal fields of Hamedan province

Negar Radaee<sup>1</sup>, Arezou Pakdel<sup>1\*</sup>

1 and 2. M.Sc. student, Assistant professor, Plant protection Department, Faculty of Agriculture, Bu-ali sina university, Hamedan, Iran

(Received: May, 15, 2022 - Accepted: Jul, 19, 2022)

### ABSTRACT

Barley yellow dwarf disease is one of the most prevalent and economically important virus disease of cereals. Barley yellow dwarf virus, BYDV belongs to the family *Luteoviridae* is causal agent of barely yellow dwarf disease which can result up to 80% yield reduction in wheat. BYDV is present in most regions of Iran. For detection and study on distribution of BYDV, wheat and barley plants showing yellows and dwarfing symptoms were collected from fields of Malayer, Nahavand and Tuysarkan during growing season of 2020-2021. The samples were checked for BYDV infection using indirect-ELISA. The results showed presence of BYDV in most samples. Positive reactions to BYDV antibody in 80% of the Malayer samples, 90% of the Nahavand samples and 80% of the Tuysarkan samples were recorded. Also, total RNA extraction and RT-PCR were performed using specific BYDV-PAV primers; the most prevalent strain of BYDV in most regions of Iran. To verify the results, a sample with symptoms from Tuysarkan selected for sequencing. The BYDV isolate of Tuysarkan had 97% of homology with BYDV isolates were reported from Kahnouj, Karaj, Yazd and Arak, while it showed the least similarity with other Iranian isolates (about 85%).

**Key words:** BYDV, *Luteoviridae*, Indirect-ELISA, RT-PCR, sequencing

\* Corresponding author E-mail: pakdel.arezoo@gmail.com

### مقدمه

گندم (*Triticum aestivum L.*) محصول غذایی اصلی است که در سراسر جهان کشت می‌شود و ۲۰٪ کالری موردنیاز جمعیت جهانی را فراهم می‌کند. بیماری کوتولگی زرد جو توسط ویروس کوتولگی زرد جو (Barley yellow dwarf virus, BYDV) ایجاد می‌شود و بر محصول غلات و سایر گیاهان خانواده گندمیان در سراسر جهان تاثیر می‌گذارد (Wang *et al.*, 2018) از نظر توزیع جهانی و اهمیت اقتصادی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی غلات است. به ازای هر یک درصد افزایش میزان BYDV خسارت مزرعه‌ای ۱۳-۴۵ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است و می‌تواند منجر به کاهش عملکرد کلی ۸۰ درصدی در گندم شود (Van den Eynde *et al.*, 2020). عامل بیماری کوتولگی زرد جو (BYD) که در سال ۱۹۵۱ توسط اوسوالد و هوستون گزارش شده است (Oswald and Houston, 1951) and ویروسی از خانواده لوتئوویریده است که باعث کاهش شدید عملکرد به ویژه در یولاف می‌شود (Bisnieks *et al.*, 2004). این ویروس بیش از ۱۵۰ گونه گیاه یکساله و چند ساله از خانواده *Poaceae* را آلوده می‌کند. عادات تغذیه‌ای شته‌های ناقل تاثیر عمده‌ای بر دامنه میزبانی گونه‌های ویروس دارد (Domier, 2008). در ابتدا عوامل ایجاد کننده بیماری براساس ناقلین آنها به عنوان سویه‌های ویروس کوتولگی زرد جو در نظر گرفته می‌شدند لیکن بر اساس ویژگی‌های مولکولی به گونه‌های متمایز در دو جنس لوتئوویروس و پولروویروس، تقسیم شدند. ویروس کوتولگی زرد جو دارای پیکره‌های ایزومتریکی بدون غلاف متشکل از یک پروتئین اصلی و یک پروتئین کپسید فرعی هستند که یک مولکول منفرد RNA تک‌رشته‌ای مثبت در حدود ۵/۶ کیلو باز را می‌پوشاند (Domier, 2021). این ویروس‌ها محدود به آوندهای آبکشی بوده و توسط چندین شته غلات به روش پایا، گردشی و غیرتکثیری منتقل می‌شوند. چندین جنس متمایز در این گروه وجود دارد، سویه‌های BYDV-PAV، BYDV-MAV، BYDV-KerII، BYDV-KerIII در جنس

لوتئوویروس و CYDV-RPS، CYDV-RPV و CYDV-RMV در جنس پولروویروس طبقه‌بندی شدند. در حالیکه BYDV-GPV و BYDV-SGV هنوز در هیچ یک از این دو جنس قرار نگرفته‌اند. علاوه بر این، یک واکنش سرولوژیکی مشابه بین BYDV-GAV و BYDV-MAV مشاهده شده است (Shen *et al.*, 2020). BYDV-PAV شایع‌ترین و فراوان‌ترین گونه ویروس در سراسر جهان است که احتمالاً به دلیل کارایی بالا و گسترش زیاد ناقل اصلی آن یعنی *Rhopalosiphum padi* می‌باشد (Aradottir & Crespo-Herrera, 2021). علائم آلودگی BYDV در گندم بسته به رقم و شرایط محیطی متفاوت است و مهم‌ترین آن‌ها تغییر رنگ برگ، کاهش رشد گیاه و عملکرد دانه است (Choudhury *et al.*, 2019). تغییر رنگ برگ‌ها به ویژه در نوک برگ‌ها می‌باشد که در نهایت کل برگ را دربرمی‌گیرد. برگ‌های جو اغلب زرد روشن، برگ‌های یولاف قرمز یا ارغوانی و برگ‌های گندم زرد یا قرمز می‌شوند. کلروز در گیاهان آلوده به این ویروس همراه با تجمع کربوهیدرات‌های محلول و کاهش غلظت نیتروژن، کلسیم و منیزیم در برگ‌های آلوده است (Choudhury *et al.*, 2017). آلودگی شدید در گندم باعث کاهش ۶۶ درصدی طول بوته، کاهش خوشه-دهی و رنگ زرد واضح ناشی از کلروز می‌شود. از طرفی ۴۵٪ کاهش در فتوسنتز در هر گیاه و یا ۲۵٪ کاهش فتوسنتز در مقایسه مقدار برابر بافت‌های گیاهی سالم و آلوده مشاهده شده است. این کاهش ۲۵ درصدی در فتوسنتز با کاهش ۶۵ درصدی در کلروپلاست‌ها و زرد شدن همراه است. ضمناً علائم زمانی گسترش می‌یابد که دما ۲۵ درجه سلسیوس و بالاتر باشد و دماهای پایین‌تر مانع آلودگی و پیشرفت علائم می‌شوند (Walls *et al.*, 2019). ویروس‌های غلات بسته به شرایط آب‌وهوایی و انتشار ناقلین باعث کاهش قابل توجهی در عملکرد محصول به ویژه در گندم و جو زمستانی می‌شوند (Kaddachi *et al.*, 2014). خسارت ویروس تا حد زیادی به جدایه ویروس، رقم، زمان آلودگی و محیط

نهبوند و تویسرکان از استان همدان و تعیین پراکنش این ویروس در این مناطق می باشد.

## مواد و روش ها

### جمع آوری نمونه

در بهار سال های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ از مزارع کشت گندم و جو مناطق مختلف شهرستان های ملایر، نهبوند و تویسرکان بازدید به عمل آمد و نمونه های گیاهان گندم و جو که دارای علائم زردی و کوتولگی بودند جمع آوری شدند. نمونه برداری به این صورت انجام شد که از هر شهرستان ۱۰ مزرعه به شرحی که در جدول ۱ آمده است مورد بررسی قرار گرفتند و از هر مزرعه ۴ نمونه دارای علائم بیماری بطور تصادفی انتخاب شدند در نهایت تعداد ۴۰ بوته گیاهی از هر شهرستان و به طور کلی ۱۲۰ نمونه گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه های دارای علائم جمع آوری و پس از بسته بندی در کیسه های پلاستیکی تا زمان انتقال به آزمایشگاه در یخدان نگهداری شدند. همچنین، به منظور ارزیابی های بعدی از نظر آلودگی به BYDV، نمونه ها در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

### ارزیابی آلودگی نمونه ها با استفاده از آزمون

#### الیزای غیرمستقیم (Indirect ELISA)

به منظور تشخیص نمونه های آلوده به BYDV آزمون الیزای غیرمستقیم طبق روش Converse و Martin انجام شد (Converse and martin, 1990). در این آزمون آنتی بادی اختصاصی BYDV تهیه شده از شرکت آگدیا (Agdia, Elkhart, In, USA) مورد استفاده قرار گرفت (CAB 26600/1000). برای انجام آزمون الیزا نمونه های برگ گیاهان در ۵ برابر حجم بافر نمونه عصاره گیری شد، سپس برای زلال سازی به آن کلروفرم اضافه شد و پس از سانتریفوژ، رانشین زلال سازی شده در دو تکرار در چاهک های میکروپلیت ریخته شد و یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس با بافر شستشو سه مرتبه شستشو انجام شد و در مرحله بعد آنتی بادی-

بستگی دارد. موثرترین و پایدارترین روش کنترل تا به امروز، استفاده از گیاهانی است که نسبت به مجموعه ای از ویروس مقاوم هستند، اما مقاومت غلات در برابر BYDV نادر و پیچیده است (Jarošová *et al.*, 2020). در ایران برای اولین بار وجود ویروس کوتولگی زرد جو توسط ایزدپناه و همکاران در مزارع گندم، جو و یولاف شیراز گزارش شده است. سروتیپ های گزارش شده شامل PAV، RPV، MAV می باشد (Izadpanah & Lister, 1991). در مطالعات راستگو و همکاران قسمتی از ژنوم یک جدایه BYDV-PAV تعیین ترادف شده است که با جدایه های آمریکا، فرانسه و ژاپن شباهت بسیار زیادی داشته و همچنین قطعه ای از جدایه RPV تعیین ترادف شده است که شباهت بسیار زیادی با CYDV-RPS داشته است (Rastgou *et al.*, 2005). همچنین در تحقیقات انجام شده توسط پاکدل و همکاران مشخص شده است که ویروس کوتولگی زرد جو در تمام مناطق مرکزی و جنوبی ایران توزیع شده است. سروتیپ های این ویروس در ۹ استان مورد بررسی قرار گرفته اند و مقایسه قسمت های از ژنوم BYDV-PAV در جدایه های مختلف نشان داده است که بر اساس ترادف قسمتی از ژن پیوسته خوانی همه جدایه ها در یک گروه قرار می گیرند اما بر اساس قسمتی از ORF1 به دو گروه تقسیم شده اند و یک گروه شامل جدایه های کرج، کهنوج، اراک و یزد به عنوان یک گونه مجزا پیشنهاد شده است (Pakdel *et al.*, 2010). در مجموع مطالعات انجام شده در ایران نشان می دهد که ویروس کوتولگی زرد جو در بیشتر نقاط کشور وجود دارد. با توجه به اطلاعات ارائه شده از طرح آمارگیری زراعت توسط مرکز آمار سازمان برنامه و بودجه ایران در سال ۱۳۹۷، استان همدان رتبه اول تولید جو و رتبه دوم تولید گندم در غرب کشور را دارد و به دلیل اینکه تا به حال هیچ مطالعه ای بر روی ویروس کوتولگی زرد جو در استان همدان انجام نشده است و عدم وجود اطلاع از آلودگی غلات این منطقه به این ویروس، هدف از انجام این تحقیق ردیابی ویروس کوتولگی زرد جو در مزارع کشت غلات در شهرستان های ملایر،

شستشو انجام شد. سپس سوبسترای آنزیم شامل بافر زمینه همراه با رنگ ۴-نیتروفنیل فسفات (4-nitrophenyl-phosphate) افزوده شد و میزان جذب چاهکها در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا ریدر مدل BioTek ELx808 ساخت کشور آمریکا ثبت گردید.

های رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ در بافر blocking به چاهکها افزوده شد و ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت و مانند مرحله قبل شستشو انجام شد، در مرحله بعد آنتی‌بادی ضد خرگوش متصل به آنزیم با رقت ۱ به ۲۵۰۰ در بافر blocking به چاهکها اضافه شد و پس از ۴ ساعت

جدول ۱. محل نمونه برداری از مزارع گندم و جو شهرستان های نهاوند، ملایر و تویسرکان

Table 1. Sampling location of barley and wheat fields in Malayer, Nahavand and Tuysarkan

Row number	City	Sampling location
۱	Malayer	Azandarian
۲		Jowkar
۳		Alfavut
۴		Pirmishan
۵		Qadimi
۶		Yengi kand
۷	Nahavand	Goldasteh
۸		Firuzan
۹		Leyli yadegar
۱۰		Hoseyn abad
۱۱	Tuysarkan	Faryazan
۱۲		Sutlaq
۱۳		Jafariyeh
۱۴		Mian Deh

#### واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با نسخه برداری معکوس (RT-PCR)

در مرحله اول مقدار دو میکرولیتر از آر‌ان‌ای کل استخراج شده همراه با دو میکرولیتر آغازگر معکوس و هشت و نیم میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط شد و به مدت ۴ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سلسیوس قرار گرفت و بلافاصله روی یخ قرار داده شد. سپس در مرحله دوم مخلوط واکنش RT شرکت سیناکلون (Cat. No.: M05431) در حجم ۲۳ میکرولیتری شامل دو و نیم میکرولیتر (10 mM) dNTPs، پنج میکرولیتر بافر پنج برابر RT، نیم میکرولیتر آنزیم M-MuLV و هشت و هفتاد و پنج صدم میکرولیتر آب دیونیزه و شش و بیست و پنج از نمونه مرحله ۱ به آن اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. جهت تکثیر سی‌دی‌ان‌ای حاصل از آزمون RT، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم‌های ۲۵ میکرولیتری شامل دوازده‌ونیم

از گیاه جو سالم کشت شده در گلخانه به عنوان شاهد (کنترل منفی) استفاده شد. در هر میکروپلیت الیزا دو چاهک به نمونه کنترل منفی و دو چاهک به نمونه کنترل مثبت اختصاص داده شد. نمونه‌ای که میزان جذب آن بزرگتر یا مساوی  $\bar{X} + 35D$  بود که در آن  $\bar{X}$  میانگین جذب و SD انحراف معیار چاهک‌های سالم است. و در مواردی سه برابر میانگین جذب گیاه سالم به‌عنوان مثبت در نظر گرفته شد. و نمونه‌های مثبت، به عنوان بافت آلوده در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase chain reaction, PCR) استفاده شد.

#### استخراج آر‌ان‌ای کل از گیاه

جهت استخراج آر‌ان‌ای کل از بافت‌های گیاهی آلوده؛ از کیت استخراج آر‌ان‌ای شرکت دنایست (Column RNA isolation kit) طبق پروتکل شرکت سازنده استفاده شد (Cat. No.: S-1020-1).

تایید صحت آلودگی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). برنامه PCR به شرح زیر انجام شد: پس از یک مرحله سه دقیقه‌ای واسرشت‌سازی اولیه (Initial denaturation)، در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، یک برنامه ۳۵ چرخه ای شامل مراحل واسرشت‌سازی (Denaturing)، اتصال (Annealing)، و توسعه (Extension) به ترتیب در دماهای ۹۴، ۵۸ و ۷۲ درجه سلسیوس هرکدام به مدت یک دقیقه و پس از آخرین چرخه مرحله Final extension به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد.

میکرولیتر مسترمیکس شرکت سیناکلون (Cat. No.: MM2062)، یک میکرولیتر از آغازگرهای پیشرو و معکوس (هرکدام به غلظت ۱۰ میکرو مولار)، سه میکرولیتر سی‌دی‌ان‌ای و هفت و نیم میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر انجام شد. با توجه به این که در مطالعات گذشته مشخص شده بود که BYDV-PAV بیشترین پراکنش را در اکثر نقاط کشور دارد برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز آغازگر اختصاصی BYDV-PAV که مربوط به ORF1 این ویروس می‌باشد (جفت آغازگر طراحی شده بر اساس ژنوم جدایه P-PAV با شماره دسترسی D11032) جهت

جدول ۲. آغازگرهای مورد استفاده در آزمون PCR جهت تکثیر ژنوم ویروس کوتولگی زرد جو

Table2. The Primers used to amplify BYDV-PAV genome by PCR

Name	Orientation	Sequence(5-3)	Annealing temperature (°C)
PAV-ORF1-F	Forward	GCCCATGACGCCTTTGTCAA	58
PAV-ORF1-R	Reverse	CGGTACAGAGCCCCTCTAA	

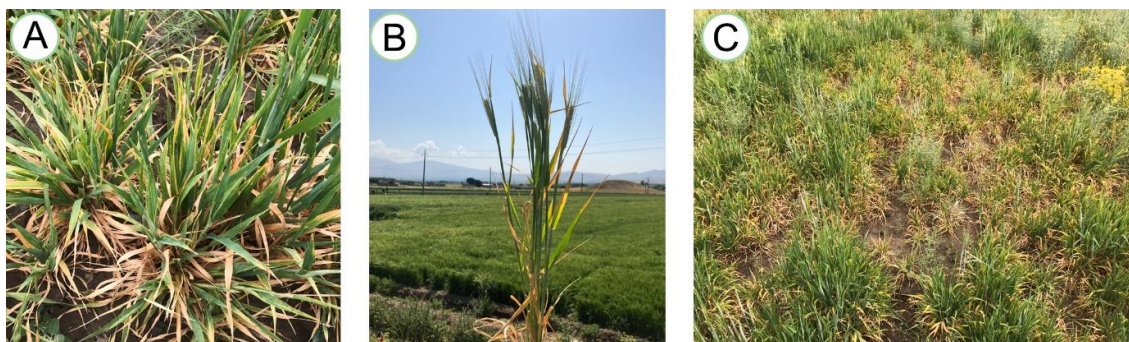
## نتایج

### خصوصیات فنوتیپی گیاهان آلوده به BYDV

زردی و کوتولگی بوته‌ها از علائم بارز گیاهان آلوده به ویروس کوتولگی زرد جو است. در طی نمونه‌برداری در بهار سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ از مزارع گندم و جو مناطق مختلف شهرستان ملایر شامل ازندریان، جوکار، روستاهای الفاوت، پیرمیشان، گلدسته، قدیمی و ینگه کند و شهرستان نهاوند شامل فیروزان، لیلی یادگار و حسین آباد و شهرستان تویسرکان شامل فریزان، سوتلق، جعفریه و میان‌ده گیاهان با علائم اصلی شامل زردی و کوتولگی (شکل ۱) مشاهده شد و این نمونه‌ها در آزمایش‌های سرولوژیکی و مولکولی استفاده شدند. در تعدادی از مزارع گندم و جو شهرستان‌های ملایر، نهاوند و تویسرکان علائم زردی به همراه کوتولگی شدید مشاهده شد، در حالی که در تعدادی از مزارع تنها علائم زردی بدون کوتولگی دیده شد و برگ‌ها از نوک شروع به زرد شدن کرده بودند، هم چنین در بعضی از مزارع علائم آلودگی به ویروس مشاهده نشد.

### تعیین ترادف نوکلئوتیدی و مقایسه با ترادف‌های موجود در بانک ژن

جهت حصول اطمینان از صحت قطعات تکثیر شده در آزمون PCR یک نمونه (جدایه تویسرکان) که دارای علائم آلودگی شدید و قطعه‌ی تکثیر شده آن با آغازگرهای اختصاصی PAV-ORF1-F و PAV-ORF1-R، پس از ران در ژل آگاروز یک درصد به اندازه حدود ۹۰۰ جفت باز بود انتخاب شد. محصول PCR این نمونه جهت تعیین ترادف به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی ارمغان گروه ژنتیک کدون ارسال شد. تعیین ترادف نوکلئوتیدی در دو تکرار و با استفاده از آغازگرهای پیشرو و معکوس انجام شد. ترادف حاصله با استفاده از برنامه BLASTN با جدایه‌های مختلف BYDV-PAV موجود در بانک ژن مقایسه شد و ارتباط آن با BYDV-PAV تایید شد. هم‌ردیف‌سازی چندگانه (Multiple alignment) جدایه تویسرکان با سایر ترادف‌های موجود در بانک ژن و رسم دندروگرام با استفاده از نرم افزار Mega 7 انجام شد.



شکل ۱. گیاهان دارای علائم زردی و کوتولگی (A و B) و مزرعه دارای علائم زردی و کوتولگی در شهرستان ملایر (C)  
Figure 1. Yellowing and dwarfing symptoms in plants (A - B), field with yellowing and dwarfing symptoms in Malayer (C)

مذکور استفاده شد و از جفت آغازگر PAV-ORF1-F و PAV-ORF-R که قطعه ۱-ای با اندازه حدود ۹۰۰ جفت باز از ژنوم را تکثیر می کند استفاده شد. از هر شهرستان نمونه‌هایی که بیشترین جذب را در آزمون الیزا داشتند انتخاب شدند و در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به کار رفتند. نتایج آزمون PCR پس از ران نمودن محصول آزمون زنجیره ای پلیمرز در ژل آگاروز یک درصد در شکل ۲ نشان داده شده است. آلودگی نمونه‌هایی که در آزمون الیزا بعنوان مثبت در نظر گرفته شده بودند با استفاده از آزمون RT-PCR تایید شد.

### شناسایی بوته های آلوده به ویروس کوتولگی زرد جو با استفاده از آزمون الیزا و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

آلودگی به BYDV در تعدادی از مزارع گندم و جو شهرستان های ملایر، نهاوند و تویسرکان با استفاده از آزمون الیزا به اثبات رسید، به طوری که از مجموع نمونه‌های مورد آزمایش ملایر، نهاوند و تویسرکان به ترتیب ۸۰، ۹۰ و ۸۰ درصد از نمونه ها واکنش مثبت نشان دادند (جدول ۳). همچنین از آزمون RT-PCR برای تایید صحت آلودگی نمونه ها به ویروس کوتولگی زرد جو (BYDV-PAV) در مزارع شهرستان های

جدول ۳. تعداد نمونه‌های مورد بررسی در آزمون الیزا غیر مستقیم

Table 3. Number of tested samples in Indirect ELISA.

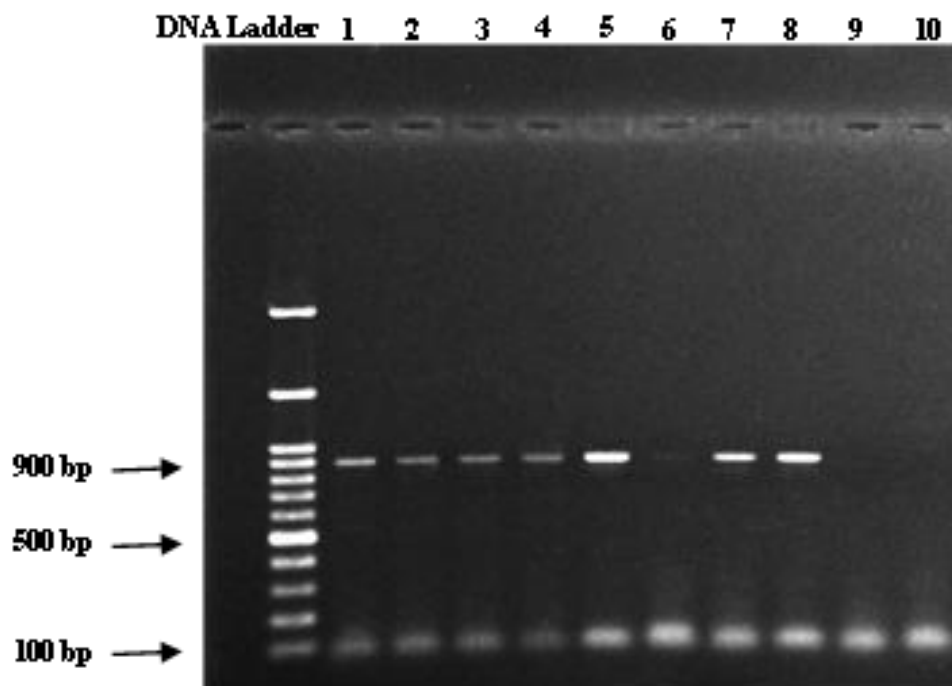
	No. tested plants	No. positive samples
Nahavand	40	36
Tuyserkan	40	32
Malayer	40	32

ترادف شده با جدایه‌های BYDV-PAV موجود در بانک ژن شباهت دارد. مقایسه ترادف نوکلئوتیدی این جدایه با جدایه های ایرانی در بانک ژن نشان داد که جدایه تویسرکان بیشترین شباهت را با جدایه‌های کهنوج، یزد، کرج و اراک دارد به طوری که این جدایه با جدایه‌های کهنوج و یزد هر کدام ۹۸/۳۴ درصد، با جدایه ی کرج ۹۷/۷۸ درصد و با جدایه ی اراک ۹۷/۳۴ درصد شباهت دارد. اما با سایر جدایه های

### تعیین ترادف نوکلئوتیدی

ترادف بدست آمده از جدایه تویسرکان با سایر ترادف های موجود در بانک ژن مقایسه شد. تعیین ترادف در دوتکرار با استفاده از پرایمر های پیشرو و معکوس انجام شد. توالی نوکلئوتیدی قطعه مورد نظر در پایگاه اطلاعاتی NCBI به شماره دسترسی ON016638 با نام جدایه Tsn-1400 ثبت گردید. نتیجه مقایسات انجام شده هر دو تکرار نشان داد که قطعه تعیین

ایلام شباهت کمی دارد (۸۴ تا ۸۵ درصد تشابه) (جدول ۴) ایرانی موجود در بانک ژن شامل جدایه های بوشهر، اسفندقه، کرمانشاه، ساوه، عباس آباد، رستاق، کمارج و



شکل ۲. نقوش الکتروفورزی حاصل از تکثیر ORF1 با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی PAV-ORF1-F/ PAV-ORF1-R. چاهک ۱ و ۲ نمونه های شهرستان ملایر، چاهک ۳ و ۴ نمونه های شهرستان نهاوند، چاهک ۵ نمونه کنترل مثبت و چاهک های ۶ و ۷ و ۸ نمونه های شهرستان تویسرکان، چاهک ۹ و ۱۰ کنترل منفی. نشانگر با وزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (شرکت سیناکلون).

Figure 2. Electrophoresis patterns of amplified ORF1 using PAV-ORF1-F and PAV-ORF1-R primers pair. 1-2: Malayer's samples, 3-4: Nahavand's samples, 5: Positive control, 6-7-8: Tuyserkan's samples, 9-10: negative control, 100bp DNA ladder (Sinaclon).

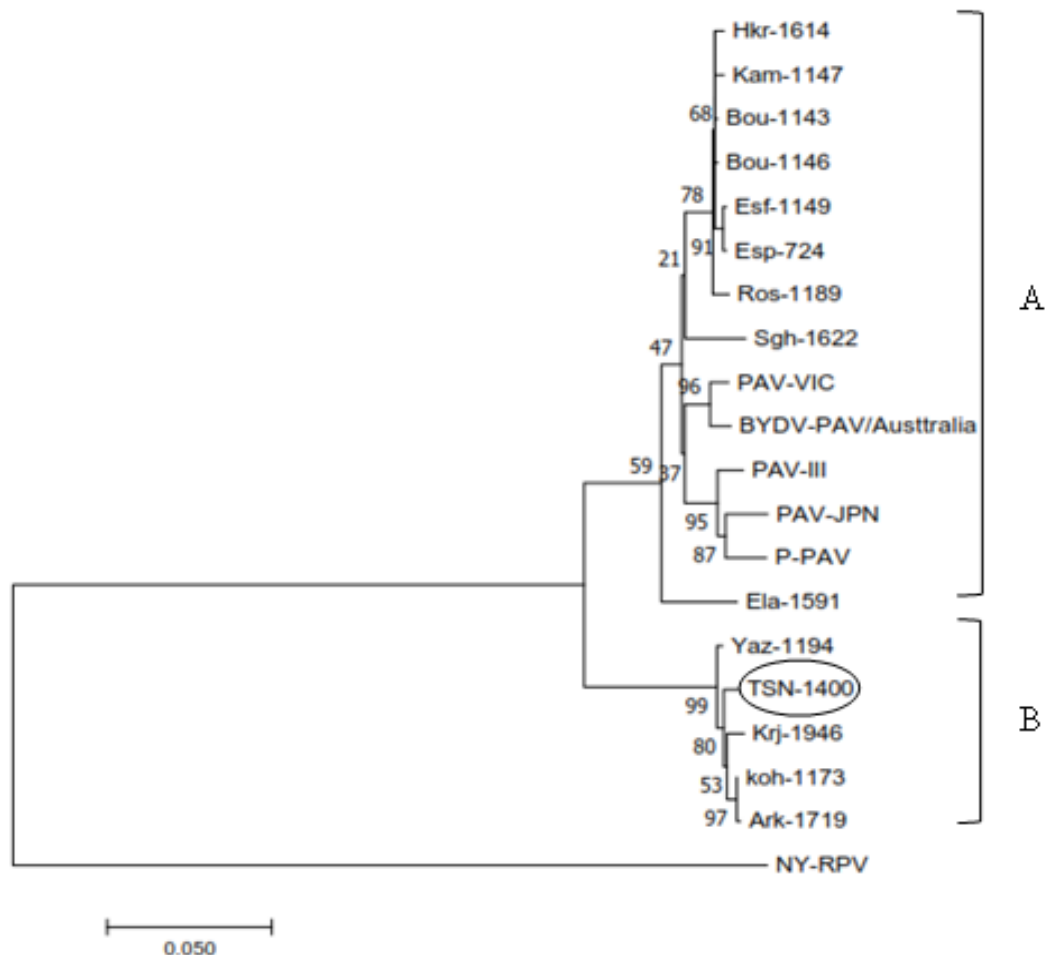
جدول ۳. درصد تشابه نوکلئوتیدی جدایه تویسرکان و ویروس کوتولگی زرد جو (TSN-1400) با سایر جدایه های ایرانی موجود در بانک ژن

Table 3. Nucleotide identity of the Tuyserkan isolate of Barely yellow dwarf virus (TSN-1400) with other Iranian isolates deposited in GenBank.

		% Identity											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
% Distance	A TSN-1400		98.34	98.34	97.79	97.34	85.16	85.05	84.94	84.83	84.83	84.83	84.39
	B koh-1173	0.02		98.67	98.34	99.00	85.49	85.38	85.27	85.16	85.16	85.16	84.72
	C Yaz-1194	0.02	0.01		98.12	97.67	86.05	85.94	85.83	85.71	85.49	85.71	85.27
	D Krj-1946	0.02	0.02	0.02		97.45	85.38	85.27	85.16	85.05	84.94	85.27	84.61
	E Ark-1719	0.03	0.01	0.02	0.03		85.27	85.16	85.05	84.83	84.94	84.94	84.50
	F Bou-1143	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15		99.22	99.56	98.12	95.02	99.22	98.56
	G Esf-1149	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15	0.01		99.22	98.01	94.91	99.56	98.23
	H Bou-1146	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15	0.00	0.01		98.12	95.02	99.22	98.56
	I Hkr-1614	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15	0.02	0.02	0.02		94.57	98.01	97.12
	J Sgh-1622	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.05	0.05	0.05	0.05		94.91	94.02
	K Esp-724	0.15	0.15	0.14	0.15	0.15	0.01	0.00	0.01	0.02	0.05		98.23
	L Ros-1189	0.16	0.15	0.15	0.15	0.16	0.01	0.02	0.01	0.03	0.06	0.02	

کهنوج و اراک در یک گروه (B) قرار می‌گیرند و سایر جدایه‌های ایرانی به همراه جدایه‌های غیرایرانی موجود در بانک ژن (جدول ۴) در گروه A قرار می‌گیرند (شکل ۳).

پس از ترسیم دندروگرام و مقایسه درصد تشابه ترادف نوکلئوتیدی ORF1 جدایه‌های ایرانی و غیر ایرانی ویروس کوتولگی زرد جو مشاهده شد که این جدایه‌ها در دو گروه A و B قرار می‌گیرند. به طوری که جدایه تویسرکان به همراه جدایه‌های یزد، کرج،



شکل ۳. دندروگرام حاصل از مقایسه ترادف نوکلئوتیدی ORF1 جدایه تویسرکان ویروس کوتولگی زرد جو (TSN-1400) با جدایه‌های ایرانی و غیر ایرانی موجود در بانک ژن. شماره دسترس جدایه‌های موجود در آنالیز شامل: Ark-1719 (FJ687391)، Esp-724 (FJ687396)، Esp-1149 (FJ687395)، Ela-1591 (FJ687394)، Bou-1146 (FJ687393)، Bou-1143 (FJ6392)، Ros-1189، Krj-1646 (FJ687400)، Koh-1173 (FJ687399)، Kam-1147 (FJ687398)، Hkr-1614 (FJ687397)، PAV-، PAV-VIC (X07653)، TSN-1400 (ON016638)، Yaz-1194 (FJ687403)، Sgh-1622 (FJ687402)، (FJ687401) BYDV-PAV/Australia (MK962883)، P-PAV (D11032)، PAV-JPN (D85783)، III (AF235167) جدایه NY-RPV (X17259) به عنوان Out group در نظر گرفته شد.

Figure 3. Position of the Tuyserkan isolate of BYDV-PAV (ON016638) in dendrogram with other Iranian and non-Iranian isolates of the virus from GenBank based on the ORF1 nucleic acid sequences. BYDV-PAV isolates and GenBank accession numbers of sequences used in the analysis were: Ark-1719 (FJ687391), Bou-1143 (FJ6392), Bou-1146 (FJ687393), Ela-1591 (FJ687394), Esp-1149 (FJ687395), Esp-724 (FJ687396), Hkr-1614 (FJ687397), Kam-1147 (FJ 687398), Koh-1173 (FJ687399), Krj-1646 (FJ687400), Ros-1189 (FJ687401), Sgh-1622 (FJ687402), Yaz-1194 (FJ687403), PAV-VIC (X07653), PAV-III (AF235167), PAV-JPN (D85783), P-PAV (D11032), BYDV-PAV/Australia (MK962883) the NY-RPV (X17259) isolate used as an out group.



جدول ۴. جدایه‌های ایرانی و غیرایرانی مورد استفاده در مقایسه ترادف نوکلئوتیدی

Table 4. Iranian and non-Iranian isolates used in the analysis.

Name	Region	Accession number
Tsn-1400	Tuyserkhan	ON016638
Ark-1719	Arak	(FJ687391)
Bou-1143	Boushehr	(FJ6392)
Bou-1146	Boushehr	(FJ687393)
Ela-1591	Ilam	(FJ687394)
Esf-1149	Esfandaghe	(FJ687395)
Esp-724	Abas abad	(FJ687396)
Hkr-1614	Kermanshah	(FJ687397)
Kam-1147	Kamaraj	(FJ 687398)
Koh-1173	Kahnouj	(FJ687399)
Krj-1646	Karaj	(FJ687400)
Ros-1189	Rostagh	(FJ687401)
Sgh-1622	Saveh	(D11032)
Yaz-1194	Yazd	(FJ687403)
PAV-VIC	Australia	(X07653)
PAV-III	United states	(AF235167)
BYDV-PAV/Australia	Australia	(MK962883)
PAV-JPN	Japan	(D85783)
P-PAV	United states	(D11032)
NY-RPV (out group)	New York	(X17259)

## بحث

دارد که بوته‌های گندم و جو در آن دارای علائم زردی و کوتولگی باشند اما آلوده به BYDV نباشند. علاوه بر این که نتایج الیزا نشان‌دهنده گسترش وسیع این ویروس در این شهرستان‌ها می‌باشد؛ نتایج حاصل از آزمون PCR نیز نتایج الیزا را تایید نمود که این یافته با نتایج مطالعات سال‌های گذشته توسط ایزدپناه و همکاران (۱۹۹۱) و همچنین پاکدل و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد. در بعضی از نمونه‌های با علائم شدید کوتولگی، در آزمون PCR آلودگی به BYDV-PAV به اثبات نرسید. با توجه به این که آنتی بادی مورد استفاده در الیزا قادر به شناسایی گونه‌های مختلف این ویروس می‌باشد، این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده آلودگی این گیاهان به سایر گونه‌های BYDV باشد که تایید این فرضیه نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد. همچنین با اینکه تمام نمونه‌های جمع آوری شده حاوی علائم زردی و کوتولگی بودند اما در تعدادی از نمونه‌ها آلودگی به BYDV ردیابی نشد که نشان دهنده احتمال کمبود برخی مواد غذایی از جمله کمبود ازت و یا آلودگی به سایر ویروس‌ها می‌باشد (Lotfipour *et al.*, 2012). ویروس کوتولگی زرد جو در تعدادی از مناطق نمونه‌برداری شده این شهرستان-ها ردیابی نگردید که می‌تواند به دلایل زیادی از جمله

تحقیق حاضر به ردیابی ویروس کوتولگی زرد جو در مزارع گندم و جو شهرستان‌های ملایر، نهاوند و توپسرکان برای اولین بار پرداخته است. بر اساس اطلاعات آماری زراعتی در سال ۱۳۹۷ در ایران حدود ۵۷ درصد از اراضی زراعی کشور به کشت گندم و حدود ۱۵ درصد به کشت جو اختصاص یافته است که سطح کاشت گندم بیش از ۶/۵ میلیون هکتار و سطح کاشت جو حدود ۱/۸ میلیون هکتار بوده است که از این مقدار حدود ۳۶۵ هزار هکتار گندم و ۵۴ هزار هکتار جو مربوط به استان همدان بوده است و همدان رتبه اول تولید جو و رتبه دوم تولید گندم در غرب کشور را دارد (طرح آمارگیری زراعت سازمان برنامه و بودجه، ۱۳۹۷). در تعداد قابل توجهی از نمونه‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق آلودگی به ویروس کوتولگی زرد جو تایید گردید و نتایج نشان داد که در مزارع گندم و جو شهرستان‌های ملایر، نهاوند و توپسرکان ویروس کوتولگی زرد جو دارای پراکندگی وسیع است و می‌توان نتیجه‌گیری کرد که BYDV از عوامل اصلی ایجاد کننده علائم زردی و کوتولگی و خسارت به مزارع گندم و جو شهرستان‌های ملایر، نهاوند و توپسرکان است. همچنین مزارع کمی وجود

از خانواده لوتئوویریده ناشی می‌شود. BYD بافت‌های گیاهی یک منطقه جغرافیایی بزرگ را در طول سه سال آلوده می‌کند (Adhikari *et al.*, 2019). تولید ارقام مقاوم مهم‌ترین استراتژی برای مدیریت پایدار بیماری‌ها در غلات است (Adhikari *et al.*, 2019).

چندین ژن اصلی برای مقاومت به BYD در جو گزارش شده است از جمله؛ Ryd1, Ryd2, Ryd3 و Ryd4. از میان این ژن‌ها، Ryd3 و Ryd4 به طور گسترده در برنامه‌های تولید ارقام مقاوم استفاده می‌شوند. Ryd3 نسبت به BYDV - MAV و BYDV - PAV مقاومت ایجاد می‌کند، در حالی که Ryd4 مقاومت را تنها نسبت به BYDV - PAV ایجاد می‌کند (Adhikari *et al.*, 2020). جایگاه صفت کمی (Quantitative trait loci, QTL) برای مقاومت در یولاف نیز گزارش شده است، اگرچه این QTL تنها در برابر گونه‌های BYDV - PAV موثر هستند. همچنین، در گندم، سه ژن مقاومت Bdv1, Bdv2 و Bdv3 گزارش شده‌اند که در برابر تمام گونه‌های B / CYDV تاثیرگذار نیستند. Bdv1 تنها در برابر BYDV-MAV، Bdv2 در برابر BYDV - PAV، BYDV-GPV و BYDV-GAV، Bdv3 در برابر CYDV-RPV موثر است در حالی که در برابر BYDV-MAV و BYDV-PAV نسبتاً موثر است. از آنجا که تنها مقاومت در برابر گونه‌های خاص BYDV تاثیرگذار است، شناسایی گونه‌های شایع در منطقه برای انتخاب ژن‌های مقاومت موثر و یا QTL حیاتی است (Adhikari *et al.*, 2020). برخی از اعضای خانواده *Luteoviridae* در کمپلکس‌هایی با دیگر اعضای خانواده و یا با ویروس‌های گیاهی دیگر رخ می‌دهند. به‌عنوان مثال ویروس کوتولگی زرد جو (BYDV) و ویروس کوتولگی زرد غلات (*Cereal yellow dwarf virus-CYDV*) اغلب غلات را با هم آلوده می‌کنند (Domier & D'Arcy, 2008).

در این مطالعه به دلیل اینکه بیشتر نمونه‌های استفاده شده دارای علائم زردی و کوتولگی بودند باید نمونه‌های بیشتری با علائم گفته شده بررسی شود و در مورد وقوع ویروس کوتولگی زرد جو و ویروس

مقاومت ارقام کشت شده در این مناطق، عدم فعالیت شته‌های ناقل ویروس، نبودن منبع آلودگی اولیه و یا تغییرات اکولوژیکی باشد. تقریباً تمام گونه‌های گیاهی توسط تعدادی از ویروس‌ها آلوده می‌شود. اگرچه مطالعات زیادی برای شناسایی و مدیریت این ویروس‌ها انجام شده‌است، تا به امروز تنها تعداد کمی برآورد از خسارات ناشی از بیماری‌های ویروسی در گیاهان وجود دارد. تا زمانی که برآوردهای واقعی و دقیق در ارتباط با تاثیر اقتصادی به دلیل نوسانات بیماری‌های ویروسی گیاهی انجام شود، اجرای طرح‌های مدیریت بیماری با هدف کنترل اقتصادی ممکن نخواهد بود (Patil, 2020). نتایج حاضر که مناطق آلوده را مشخص نمودند می‌تواند در آینده به ارائه راهکارهای مدیریتی و ارائه ژن‌های مقاومت در ارقام مقاوم کمک نمایند. همین طور می‌تواند برای ارزیابی میزان خسارت و تکمیل اطلاعات در این زمینه کمک کند. ویروس‌های گیاهی می‌توانند از طریق نرخ بالای جهش تکامل یابند و همچنین فنوتیپ گیاه میزبان را به خاطر سازگاری و پایداری آن تحت تاثیر قرار دهند.

تعامل ویروس‌های گیاهی با ناقلین و میزبان‌های آن‌ها و ظهور گونه‌های جدید ویروس نیاز به مطالعه دارد. ویروس‌های گیاهی عوامل مهمی هستند که جامعه اکولوژیکی را از طریق تعامل با قارچ‌ها و بندپایان تحت تاثیر قرار می‌دهند. بنابراین، به منظور مطالعه تعاملات اکولوژیکی ویروس‌های گیاهی، مطالعه ژنوم آن در مقیاس بزرگ ضروری است (Riyaz *et al.*, 2021). امروزه BYD در بیشتر مناطق جهان گزارش شده است و به صورت دوره‌ای باعث اپیدمی می‌شود (Walls *et al.*, 2019) که معمولاً با دینامیک جمعیت ناقل در ارتباط است و تحت شرایط بهینه، جمعیت ویروس‌ها به سطوح اپیدمی افزایش خواهد یافت و موجب بیماری در گیاهان زراعی و میزبان‌های غیر زراعی می‌شود (Walls *et al.*, 2019). شناسایی گونه‌های ویروس در مناطق مرتبط با BYD برای دستیابی به ژن‌های مقاومت موثر خاص، حیاتی است. کوتولگی زرد جو (BYD)، از ده گونه مختلف ویروس

موجود در گروه B (کهنوج، اراک، یزد، کرج) به عنوان یک گونه مجزا پیشنهاد شده‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد جدایه توپسرکان با اعضای گروه B، ۹۸/۳ تا ۹۷/۳ درصد شباهت دارد که درصد تشابه بالایی در سطح نوکلئوتید است و با اعضای گروه A، ۸۵/۱ تا ۸۴/۳ درصد تشابه دارد، بنابراین جدایه توپسرکان می‌تواند به همراه جدایه‌های اراک، یزد، کهنوج و کرج در گروه B قرار گیرد و به عنوان عضو جدیدی در گروه B معرفی گردد (جدول ۳ و شکل ۳). بررسی‌های مولکولی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه-ای بین جدایه‌های مناطق مختلف کشور وجود دارد به صورتی که این جدایه‌ها در دو گروه مجزا قرار می‌گیرند. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که جدایه توپسرکان تشابه کمی با جدایه‌های گروه A دارد و با توجه به اینکه استان همدان یکی از مناطق عمده کشت گندم و جو در غرب کشور است این تنوع بوجود آمده می‌تواند در اثر تکامل بین ویروس و میزبان باشد. در سال ۲۰۱۵ یک جدایه از گروه A (جدایه اسفندقه کرمان) توسط پاکدل و همکاران به طور کامل تعیین ترادف شده است (Pakdel et al., 2015). با توجه به نتایج بدست آمده جهت تکمیل تحقیقاتی که تاکنون انجام شده است بررسی و مقایسه ترادف کامل ژنوم جدایه‌های گروه B که در ژن پلیمرز در سطح اسیدآمین به بیش از ۱۰ درصد با سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن تفاوت دارند، لازم به نظر می‌رسد.

### نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر بررسی آلودگی مزارع گندم و جو شهرستان‌های ملایر، نهاوند و توپسرکان به ویروس کوتولگی زرد جو برای اولین بار صورت گرفت و نتایج نشان داد که مزارع گندم و جو این شهرستان‌ها به این ویروس آلوده می‌باشد و به دلیل اینکه جدایه توپسرکان با جدایه‌های گروه B دارای درصد شباهت بیشتری است با این جدایه‌ها در یک گروه قرار می‌گیرد. داشتن اطلاعات از شته‌های ناقل ویروس، ارقام حساس به ویروس کوتولگی زرد جو و شرایط اقلیمی

کوتولگی گندم آنالیزهای آماری بیشتری انجام شود تا مشخص شود که در مناطق مختلف استان همدان کدام ویروس غالب بوده و یا حتی در بعضی از مزارع با آلودگی شدید ممکن است آلودگی مخلوط ویروس کوتولگی زرد جو همراه با ویروس کوتولگی زرد غلات CYDV (Wheat dwarf virus-WDV) و یا ویروس کوتولگی گندم (Wheat dwarf virus-WDV) وجود داشته باشد. بررسی ارقام مختلف گندم و جو آلوده به ویروس کوتولگی زرد جو از نظر عملکرد دانه، فتوسنتز و فاکتورهای دیگر و همچنین تعیین راندمان انتقال ویروس توسط شته‌های ناقل و مطالعات بیشتری در رابطه با اپیدمیولوژی ویروس کوتولگی زرد جو نیز باید انجام شود. نتیجه مقایسات قطعه تعیین ترادف شده (قسمتی از ژن پلیمرز شامل نوکلئوتیدهای ۲۷۴ تا ۱۱۷۶) از توپسرکان با سایر جدایه‌های BYDV-PAV موجود در بانک ژن تایید نمود که نمونه‌ی تعیین ترادف شده مربوط به ویروس BYDV-PAV است. مطالعات پاکدل و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر اساس قسمتی از ترادف ژن پلیمرز (ORF1) روی ۱۳ جدایه از مناطق مرکزی و جنوبی کشور به همراه چند جدایه از بانک ژن شامل دو جدایه از آمریکا، یک جدایه از ژاپن، یک جدایه از استرالیا نشان داده است که جدایه‌های BYDV-PAV در دو گروه کاملاً مجزا قرار دارند که گروه A شامل جدایه‌های اسفندقه، رستاق، بوشهر، عباس آباد، هرسین کرمانشاه، کمارج، ساوه، ایلام، PAV-P-PAV، VIC، PAV-JPN، PAV-III، PAS PAV-129 و گروه B شامل جدایه‌های اراک، یزد، کهنوج و کرج می‌باشد. جدایه‌های گروه B نه تنها با جدایه‌های غیر-ایرانی بلکه با جدایه‌های ایرانی گروه A هم متفاوت بودند.

این جدایه‌ها تنها ۷۷/۷-۸۶/۵ درصد شباهت در سطح اسید آمینه و ۸۴/۲-۸۶ درصد شباهت در سطح نوکلئوتید با جدایه‌های گروه A داشتند و بر اساس گزارش ICTV مبنی بر این‌که بیش از ۱۰ درصد تفاوت در سطح اسیدآمین در هر ژن ویروس خانواده لوتوویریده می‌تواند جدایه را برای تعیین گونه واجد شرایط کند (Bisnieks et al., 2004)، چهار جدایه

### سپاسگزاری

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

مناسب به درک بهتر اپیدمیولوژی و پیش‌آگاهی گسترش گونه‌های ویروس کمک می‌کند. این مطالعات برای مدیریت بهتر این ویروس‌ها مفید می‌باشد و در اتخاذ روش‌های مناسب کنترل بیماری کمک می‌نماید.

### REFERENCES

1. Adhikari, A., Lockhart, B. E., Ganiger, M., Byamukama, E., Tande, C., Smith, M. J. & Dill-Macky, R. (2020). Barley yellow dwarf virus-PAV is the dominant species causing Barley yellow dwarf disease in South Dakota and Minnesota. *Crop Protection*, 134, 105171.
2. Adhikari, A., Steffenson, B. J., Smith, M. J. & Dill-Macky, R. (2019). Genome-wide association mapping of seedling net form net blotch resistance in an Ethiopian and Eritrean barley collection. *Crop Science*, 59(4), 1625-1638.
3. Aradottir, G. I. & Crespo-Herrera, L. (2021). Host plant resistance in wheat to barley yellow dwarf viruses and their aphid vectors: a review. *Current Opinion in Insect Science*, 45, 59-68.
4. Bisnieks, M., Kvarnheden, A., Sigvald, R. & Valkonen, J. (2004). Molecular diversity of the coat protein-encoding region of Barley yellow dwarf virus-PAV and Barley yellow dwarf virus-MAV from Latvia and Sweden. *Archives of virology*, 149(4), 843-853.
5. Choudhury, S., Hu, H., Meinke, H., Shabala, S., Westmore, G., Larkin, P. & Zhou, M. (2017). Barley yellow dwarf viruses: infection mechanisms and breeding strategies. *Euphytica*, 213(8), 1-22.
6. Choudhury, S., Larkin, P., Meinke, H., Hasanuzzaman, M., Johnson, P. & Zhou, M. (2019). Barley yellow dwarf virus infection affects physiology, morphology, grain yield and flour pasting properties of wheat. *Crop and Pasture Science*, 70(1), 16-25.
7. Converse, R. & Martin, R. (1990). ELISA methods for plant viruses. *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens, a Laboratory Manual*, 179-196.
8. Domier, L. & D'Arcy, C. (2008). Luteoviruses. In *Encyclopedia of virology* (pp. 231-238). Elsevier Ltd.
9. Domier, L. L. (2008). Barley yellow dwarf viruses. In *Encyclopedia of virology* (pp. 279-286). Elsevier Ltd.
10. Domier, L. L. (2021). Barley Yellow Dwarf Viruses (Luteoviridae). In *Encyclopedia of Virology* (4th ed.) (pp. 81-97). Elsevier Ltd.
11. Izadpanah, K. & Lister, R. (1991). Identification of barley yellow dwarf virus serotypes in Iran. *Proceedings of the 10th Plant Protection Congress of Iran 1-5 Sept. 1991, Kerman (Iran Islamic Republic)*. (In Farsi)
12. Jarošová, J., Singh, K., Chrpová, J. & Kundu, J. K. (2020). Analysis of small RNAs of barley genotypes associated with resistance to Barley Yellow Dwarf Virus. *Plants*, 9(1), 60.
13. Kaddachi, I., Souiden, Y., Achouri, D. & Chéour, F. (2014). Barley yellow dwarf virus (BYDV): characteristics, hosts, vectors, disease symptoms and diagnosis. *International Journal of Phytopathology*, 3(3), 155-160.
14. Lotfipour, M., Behjatnia, A., Afsharifar, A. & Izadpanah, k. (2012). Distribution and partial biological characterization of wheat and barley strains of wheat dwarf virus in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 49(1), 17-31. (In farsi)
15. Oswald, J. W. & Houston, B. (1951). A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. *Plant Disease Reporter*, 11, 471-475.
16. Pakdel, A., Afsharifar, A., & Niazi, A. (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 farsi)
17. Pakdel, A., Afsharifar, A., Niazi, A., Almasi, R. & 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.
18. Patil, B. L. (2020). Plant viral diseases: Economic implications. In *Encyclopedia of virology* (4th ed.). (pp. 81-97). Elsevier Ltd.
  19. Plan and budget organization, statistical center of Iran, statistical yearbook 2018-2019, from <https://www.amar.org.ir/Portals/0/News/1398/zraat97>.
  20. Rastgou, M., Khatabi, B., Kvarnheden, A., & Izadpanah, K. (2005). Relationships of Barley yellow dwarf virus-PAV and Cereal yellow dwarf virus-RPV from Iran with viruses of the family Luteoviridae. *European Journal of Plant Pathology*, 113(3), 321-326.
  21. Riyaz, S. M., Jesse, D. M. I. & Kathiravan, K. (2021). Plant virus: Diversity and ecology. In *Plant Virus-Host Interaction* (pp. 319-328). Elsevier.
  22. Shen, C., Wei, C., Li, J., Zhang, X., Zhong, Q., Li, Y., Bai, B. & Wu, Y. (2020). Barley yellow dwarf virus-GAV-derived vsiRNAs are involved in the production of wheat leaf yellowing symptoms by targeting chlorophyll synthase. *Virology Journal*, 17(1), 1-14.
  23. Van den Eynde, R., Van Leeuwen, T. & Haesaert, G. (2020). Identifying drivers of spatio-temporal dynamics in barley yellow dwarf virus epidemiology as a critical factor in disease control. *Pest management science*, 76(8), 2548-2556.
  24. Walls, J., Rajotte, E. & Rosa, C. (2019). The past, present, and future of barley yellow dwarf management. *Agriculture*, 9(1), 23.
  25. Wang, X., Rong, W., Liu, Y., Wang, X. & Zhang, Z. (2018). Investigation of the mechanism of adult-stage resistance to barley yellow dwarf virus associated with a wheat-Thinopyrum intermedium translocation. *The Crop Journal*, 6(4), 394-405.