بررسی اختلاف بیماری‌زائی جدایه‌های قارچ *Cercospora beticola* Sacc، عامل بیماری لکه برگی سرکوسپورائی چغندرقند و ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند نسبت به این بیماری

Differences pathogenicity of the fungus *Cercospora beticola* Sacc caused cercospora leaf spot disease in sugarbeets and evaluation of sugarbeet cultivars resistance to the disease

یاشار ریاضی[1*]، مژده ملکی[2] و داریوش شهریاری[3]

دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۱۲

چکیده

لکه‌برگی سرکوسپورایی *Cercospora beticola* Sacc، مهم‌ترین بیماری خسارت‌زای چغندرقند محسوب می‌شود. به کارگیری ارقام مقاوم بهترین روش کنترل این بیماری می‌باشد. بدین منظور جدایه‌های این قارچ از مناطق جنوب و شمال کشور از روی برگ‌های آلوده به بیماری جمع-آوری شده، پس از خالص‌سازی مورد شناسایی قرار گرفت. اثبات بیماری‌زایی روی ژنوتیپ (۱۹۱) حساس به بیماری با سوسپانسیون اسپور به غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر در گلخانه انجام شد. برای تعیین قدرت بیماری‌زایی جدایه-ها، مایه‌زنی قارچ *C. beticola* بر روی ژنوتیپ (۱۹۱) مانند روش اثبات بیماری‌زایی انجام گردید. شدت شاخص بیماری بعد از ظهور علائم، به روش KSW تعیین شد. ارزیابی واکنش ۳۰ ژنوتیپ چغندرقند نسبت به بیماری در ایستگاه تحقیقات قراخیل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی انجام شد. آماربرداری از شدت آلودگی درماه‌های تیر و مرداد صورت گرفت. همچنین به منظور امکان استفاده از قطعات جدا شده برگ جهت ارزیابی مقاومت در محیط سترون آزمایشگاهی، دیسک‌هایی به قطر ۱/۸ سانتی‌متر از برگ فوق تهیه و در ظروف مستطیل شکل در سطح آب آگار قرار گرفت و سپس با سوسپانسیون اسپور به غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر مه‌پاشی شدند. از کل نمونه‌برداری‌های مناطق مختلف جمعاً ۱۸ جدایه خالص *C. beticola* به دست آمد که همگی دارای قدرت بیماری‌زایی بالا بودند. در بررسی‌های مزرعه‌ای، پنج ژنوتیپ ۳۲۳۳۳، ۳۲۳۳۵، ۳۲۲۹۵، ۳۲۳۰۴ و ۳۲۳۱۹ در گروه نسبتاً حساس "MS" و بقیه در گروه حساس "S" یا خیلی حساس "VS" قرار گرفتند. در ارزیابی مقاومت قطعات جدا شده برگ در آزمایشگاه و ارزیابی مزرعه‌ای همبستگی بالایی (۹۱ درصد) به‌دست آمد. بهترین زمان یادداشت‌برداری از شدت بیماری در شرایط مطلوب آب و هوایی قائم‌شهر، تیرماه تا اواخر مرداد تعیین گردید.

واژگان کلیدی: لکه‌برگی چغندرقند، *Cercospora beticola*، ارزیابی مقاومت، ژنوتیپ‌های مختلف

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین – پیشوا گروه گیاهپزشکی، ورامین.

۲- استاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین – پیشوا گروه گیاهپژشکی، ورامین.

۳- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران.

مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@gmail.com

مقدمه

گونه‌های سرکوسپورا عموماً سبب بیماری لکه‌برگی و میوه‌ای روی دامنه وسیعی از گیاهان وحشی و زراعی در دنیا می‌شوند (Crous and Braun 2003; Groenewald *et al,*.2013; Amaradasa *et al.,* 2014; Bakhshi *et al.,* 2015). بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی با عامل *Cercospora beticola* Sacc. از مهم‌ترین بیماری‌های اندام‌های هوایی چغندرقند در سطح جهان محسوب می‌شود (Turgay *et al*., 2010; Taguchi *et al*., 2011). قارچ *C. beticola* با تولید کنیدیوم به روش غیرجنسی تکثیر یافته و مرحله جنسی آن شناخته نشده است (Weiland and Koch, 2004). این بیماری اولین بار در دنیا در سال ۱۸۷۶ و در ایران در سال ۱۳۲۶ توسط اسفندیاری گزارش شد (اعتباریان، ۱۳۸۷). قارچ عامل بیماری علاوه بر چغندرقند، سایر گونه‌های جنس *Beta*، اسفناج و برخی از علف‌های هرز نظیر سلمه، تاج خروس و ترشک را نیز آلوده می‌کند (اعتباریان، ۱۳۸۷؛ عباسی و محمودی، ۱۳۸۹).

بیماری در شمال اروپا، قسمت‌های شرقی آمریکای شمالی و ژاپن گسترش دارد. اپیدمی شدید آن از اتریش، جنوب فرانسه، آلمان، یونان، مجارستان، هندوستان، ایتالیا، رومانی، اسپانیا، ایالات متحده آمریکا، شوروی سابق و یوگسلاوی گزارش شده است (Cook and Scott, 1999). در ایران با توجه به تغییر شرایط آب و هوایی در سال‌های اخیر این بیماری علاوه بر خوزستان از کرانه‌های دریای خزر، اردبیل، آذربایجان غربی، خراسان شمالی، هرمزگان و فارس نیز گزارش شده است (ارشاد، ۱۳۷۴؛ اوراضی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۱). خسارت ناشی از بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی به محصول چغندرقند بین ۵۰-۴۲ درصد گزارش شده است (Verreet *et al*., 1996; Kaiser and Varrelmann, 2009; Taguchi *et al*., 2011). بیماری‌زائی *C. beticola* شدیداً وابسته به شرایط آب و هوایی است (Kaiser and Varrelmann, 2009). علائم به صورت لکه‌های مدور و محدود شده‌ای که اندازه آن‌ها به دو تا پنج میلی‌متر می‌رسد، روی برگ‌های مسن‌تر ظاهر می‌شوند. رنگ لکه‌ها خرمائی تا قهوه‌ای روشن با حاشیه قهوه‌ای تیره یا قرمز متمایل به ارغوانی است و با پیشرفت بیماری تک لکه‌ها به هم پیوسته و نواحی بزرگی از برگ‌ها قهوه‌ای و نکروتیک می‌شوند (اعتباریان، ۱۳۸۷, Turgay*et al*., 2010). دمای ۳۲-۲۷^{o}C در روز و دمای بالای ۱۶^{o}C در شب و رطوبت نسبی بیش از ۶۰ درصد حداقل به مدت ۱۵ تا ۱۸ ساعت در روز برای تولید کنیدی و آلودگی چغندرقند مناسب است (Skaracis and Biancardi, 2000; Lartey *et al*., 2005; Agrofit, 2013;). علاوه بر به‌کارگیری روش‌های زراعی نظیر تناوب، تاریخ کاشت مناسب و شخم عمیق که در راستای کاهش مایه تلقیح اولیه صورت می‌گیرد استفاده از ارقام مقاوم و کاربرد قارچ‌کش‌های مختلف از راه‌های اصلی مقابله با این بیماری هستند (Rossi *et al*., 2000; Taguchi *et al*., 2011). استفاده از ارقام مقاوم ساده‌ترین و در عین حال مطمئن‌ترین روش مهار بیماری بوده و به دلایل اقتصادی و زیست محیطی بر کنترل شیمیایی ارجحیت دارد (Miller *et al*., 1994; Koch and Jung, 2000; Kaiser and Varrelmann, 2009). اغلب پژوهشگران برای ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا به اپیدمی‌های طبیعی بیماری متکی بوده‌اند (Panella and Frese, 2000)، اما به تدریج روش‌هایی برای ایجاد آلودگی مصنوعی در مزرعه ابداع گردیده است. ارزیابی مقاومت تحت شرایط مزرعه عمدتاً با تعیین شدت علائم بیماری بر روی برگ‌ها به صورت مشاهده‌ای صورت گرفته است و به صورت نمره‌دهی عددی بیان می‌شود (Koch and Jung, 2000). با توجه به ماهیت مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی چغندرقند، انتخاب منابع مقاومت و ارزیابی واکنش ارقام تجاری فقط در جمعیت‌های بزرگ و تحت شرایط استاندارد موفقیت‌آمیز بوده است و در این راستا سهولت ارزیابی یک ضرورت به شمار می‌رود (Koch and Jung, 2000). به استثنای یک مورد مقاومت تک‌ژنی که به دلیل ناپایداری عملاً مورد استفاده به نژادگران قرار نگرفته است (Koch and Jung, 2000)، امروزه در تهیه ارقام مقاوم به بیماری از منابع با مقاومت چندژنی استفاده می‌گردد. در این نوع مقاومت که ماهیت کمی دارد، در بروز صفت مقاومت مجموعه ژن‌های موجود روی کروموزوم‌های مختلف ضروری می‌باشد (عباسی و محمودی، ۱۳۸۹).

در یک بررسی مشخص شده که بین ارقام مختلف چغندرقند رایج از نظر واکنش به بیماری لکه‌برگی و میزان محصول اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است. تمام ارقام در شرایط آب و هوایی بهار- تابستان نسبت به بیماری حساس بوده‌اند (Marcuzzo *et al*., 2015). هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت ارقام، لاین‌ها و ژرم پلاسم چغندرقند در ایران و شناسایی منابع ژنتیکی برای مقاومت نسبت به لکه‌برگی سرکوسپورائی جهت دستیابی به تولید پایدار و کاهش خطر غلبه بر مقاومت ارقام در اثر بروز تغییرات در بیمارگر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تعیین درصد آلودگی

بدین منظور در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ از مزارع مختلف چغندرقند در مناطق دزفول، اندیمشک، شوش و حاشیه مزارع در منطقه قراخیل قائم شهر و ساری بازدید به عمل آمد و بوته‌های چغندرقند با علایم بیماری به صورت لکه‌های حلقوی نکروزه به قطر تقریبی سه تا پنج میلی‌متر بر روی برگ‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن با حاشیه ارغوانی مایل به قرمز شناسایی شدند (برای تعیین درصد آلودگی روی قطرهای مزرعه در پنج نقطه در کادر یک مترمربعی بوته‌های آلوده به کل بوته‌های موجود تقسیم شدند) و از هر مزرعه چند برگ جمع‌آوری و پس از کدگذاری اقدام به جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری گردید.

جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری

برای جداسازی بیمارگر، ابتدا قطعه‌ای از برگ آلوده که اسپورهای قارچ *C. beticola* در سطح لکه‌های آن تشکیل شده بودند را با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده، سپس سوسپانسیون اسپور حاصل با رقت مناسب بر روی محیط WA (واتر-آگار) ۱/۵٪ پخش گردید. پس از جوانه‌زدن اسپورها، یک اسپور جوانه زده به محیط کشت عصاره گوجه فرنگی (Tomato Extract Agar) شامل ۲۰۰ میلی-لیتر عصاره گوجه فرنگی، ۳ گرم $CaCO_3$ و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب، منتقل گردید. به این ترتیب یک جدایه تک اسپور خالص به دست آمد (Kaiser and Varrelmann, 2009; Marcuzzo *et al*., 2015).

اثبات بیماری‌زایی

تهیه زاد مایه قارچ *Cercospora beticola*

به منظور دستیابی به بهترین روش تولید اسپور به روش مارکوزو از محیط‌های کشت عصاره گوجه فرنگی TEA و SBLEA (Sugarbeet Leaf Extract Agar) شامل عصاره ۲۵۰ گرم پهنک برگ چغندرقند در یک لیتر آب و ۲۰ گرم آگار و محیط کشت PCA (Potato Carrot Agar) شامل عصاره ۲۰ گرم سیب زمینی، ۲۰ گرم هویج و ۱۰ گرم آگار در یک لیتر آب، استفاده شد (Marcuzzo *et al*., 2015; Turgay *et al*., 2010). بر روی محیط کشت فوق، دیسک پنج میلی‌متری از جدایه‌های بیمارگر قرار داده شد و پس از دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قطعه‌ای کوچک از پرگنه‌های قارچ جدا گردیده و در سطح محیط کشت مالش داده شد تا مسیلیوم‌ها وکنیدیوفورها در تماس با محیط کشت قرار گیرند. سپس تشتک‌های پتری به‌مدت ۱۲ روز در تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی قرار داده شدند. سپس سطح پرگنه قارچ با استفاده از قلم مو و آب مقطر استریل شستشو داده شدند، سوسپانسیون حاصل پس از صاف کردن توسط لام گلبول شمار در غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر تنظیم گردید (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲؛Marcuzzo*et al.*, 2015; Turgay*et al*., 2010). جهت انجام آزمون بیماری‌زایی، بذور رقم ۱۹۱ حساس به بیماری به تعداد سه بذر در گلدان‌های حاوی خاک سترون (کود، خاک مزرعه و ماسه) کشت گردید. مایه‌زنی با جدایه‌های عامل بیماری به طور جداگانه در مرحله ظهور برگ پنجم انجام شد. سپس گلدان‌ها با پوشش پلاستیکی به منظور تامین رطوبت پوشانده شده و در دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در گلدان شاهد تنها آب مقطر

استریل محلول‌پاشی گردید. پس از ظهور علائم بیماری نمونه‌برداری صورت گرفت و مجدداً قارچ عامل بیماری جدا و خالص‌سازی گردید و خصوصیات مرفولوژیکی آن‌ها با صفات جدایه-های اولیه مطابقت داده شد.

ارزیابی اختلاف بیماری‌زایی جدایه‌های *C. beticola* و تعیین جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی بالا

قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها مطابق روش ذکر شده در قسمت اثبات بیماری‌زایی در شرایط گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت. براساس علائم حاصله، شدت شاخص بیماری طبق الگوی پیشنهادی توسط پانلا و فرز (۲۰۰۰) به شرح زیر محاسبه شد (جدول ۱).

جدول ۱- نوع آلودگی (درجه آلودگی) چغندرقند نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورائی براساس مقیاس KWS

Table 1. Infection type of sugarbeet (infection degree) to *Cercospora* leaf spot disease basis on KWS scale (Panella and Frese, 2000)

درجه آلودگی infection degree	توصیف علائم بیماری بر روی هرگیاه	Symptoms description on each plant
1	برگ ها کاملا سالم	Intact leaves
3	وجود لکه‌های آلودگی بر روی بر گ‌های خارجی	Infection spots visible on the external leaves
5	لکه‌ها به یکدیگر متصل شده و تشکیل نواحی مرده بر روی برگ‌ها	spots Connected each other and formation of dead regions on leaves.
7	خشک شدن بخش وسیعی از پهنک برگ‌های خارجی	dying large part of external lamina
9	از بین رفتن برگ‌های خارجی، آلودگی شدید برگ‌های داخلی به همراه تشکیل سریع برگ‌های جدید	destruction of the external leaves, severe infection of inner leaves with the rapid formation of new leaves

به گیاهانی که بر اساس مقیاس فوق حالات حد واسط آلودگی نشان دهند، نمرات زوج (۲، ۴، ۶، ۸) اختصاص داده شد. پس از ثبت علائم و شدت آلودگی، شاخص شدت بیماری DSI با استفاده از فرمول: $DSI = \frac{\sum i \times P_i}{i_{max} \times P_{total}} \times 100$ محاسبه شد. در این فرمول: i= نمره آلودگی، P_i= تعداد گیاهان با نمره i (مشابه)، i_{max}= بالاترین نمره آلودگی و P_{total}= تعداد کل گیاهان مایه‌زنی شده می‌باشد. این آزمایش بر اساس طرح آماری کاملاً تصادفی در گلخانه بیماری‌شناسی گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در ورامین و با ۱۹ تیمار و چهار تکرار برای هر تیمار انجام شد. تعداد تیمارها به تعداد جدایه‌های تهیه شده قارچ *C. beticola* بوده و یک تیمار شاهد بدون آلودگی نیز منظور شد. در پایان آزمایش، جدایه‌ای که بیش‌ترین شاخص شدت بیماری را داشت به عنوان جدایه برتر برای آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب شد.

ارزیابی مقاومت ارقام مختلف چغندرقند با استفاده از قطعات جدا شده برگ در آزمایشگاه

در این آزمایش بذر ۳۰ ژنوتیپ (رقم و لاین) چغندرقند از موسسه تحقیقات چغندرقند تهیه شد و در گلدان‌های حاوی خاک سترون کاشته شدند. پس از رویش گیاه، قطعاتی از پهنک برگ‌های تقریباً همسن و بالغ به صورت دیسک‌هایی به قطر ۱/۸ سانتی‌متر تهیه و در محیط سترون در تشتک پتری به قطر ۹ سانتی‌متر بر روی آب آگار ۱/۵٪ قرار گرفت. به منظور حذف گرد و خاک، برگ‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و قطعات برگ با استفاده از سوسپانسیون حاوی ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر به طور یکنواخت با مه‌پاش دستی مایه‌زنی و سپس در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰٪ قرار داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. بعد از هشت روز اقدام به شمارش تعداد لکه‌های آلوده در هر دیسک برگی شد و تعداد لکه در واحد سطح محاسبه گردید (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲).

بررسی واکنش ارقام و لاین‌های چغندرقند به قارچ عامل بیماری در شرایط مزرعه‌ای

در این مرحله، ۳۰ ژنوتیپ (رقم و لاین) چغندرقند در فصل زراعی ۹۵ - ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی واقع در منطقه قائم‌شهر (ایستگاه تحقیقاتی قراخیل) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای هر کرت آزمایشی، سه خط کاشت به طول دو متر در نظـر گرفته شد و فاصله بین خطوط کاشت ۵۰ سانتی‌متر منظور گردید. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای توزیع یکنواخت آلودگی در سطح مزرعه آزمایشی، ژنوتیپ حساس ۱۹۱، در سه خط کاشت در اطراف مزرعه کشت گردید. مزرعه آزمایشی به طور مرتب در طی فصل مورد بازدید قرار گرفت. پس از سه ماه با ظهور علائم بیماری، وضعیت آلودگی بوته‌ها بررسی و شدت شاخص بیماری لکه‌برگی سرکوسپورائی در ارقام کشت شده در دو مرحله (هنگامی‌که درصد آلودگی در رقم حساس ۱۹۱ به ۵۰٪ و ۹۰٪ رسید) مطالعه شد. به منظور ارزیابی کمی واکنش ارقام از مقیاس متداول KWS (۹-۱) مطابق جدول (۱) استفاده شد (Panella and Frese, 2000). سپس شاخص شدت بیماری بر اساس فرمول شاخص شدت بیماری محاسبه شد. ارزیابی کمی واکنش ارقام بر اساس شاخص شدت بیماری انجام شد. داده‌های به‌دست آمده مربوط به هر یک از صفات تجزیه واریانس و میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن مقایسه شدند. برای انجام محاسبات از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

فراوانی آلودگی در مناطق مختلف نمونه‌برداری شده

از مناطق آلوده ۱۸ جدایه *C. beticola* بر روی محیط PDA جداسازی و خالص‌سازی گردید (جدول ۲). درصد آلودگی در مناطق جنوب کشور متفاوت بوده است در حالی‌که در شوش و دزفول ۸۷-۹۵ درصد بوده ولی در اندیمشک حداکثر ۲۸ درصد برآورد شده است. در منطقه شمال (ساری و قائم‌شهر) میزان آلودگی تا ۹۱ درصد گزارش گردید.

شناسایی جدایه‌های قارچ

توصیفـات مورفـولـوژیکـی از *Cercospora*s pp. بر اسـاس ساختـارهـای به‌دست آمده از مجمـوعـه گیـاهـان خشـک شـده (herbarium material) انجـام شـد. بر ایـن اسـاس مشخـصـات قـارچ بـر اساس مطـالعـات تـو-آنـون و همـکـاران (To-anun *et al.*, 2010) مورد بررسی قرار گرفت. استروما، *Stromata*ی دارای اندازه متوسط، درون اپیدرمی و زیر روزنه، قهوه‌ای رنگ، قطر ۲۷/۵-۳۷/۵ میکرومتر می‌باشد. کنیدیوفورها دارای کلاسترهای نسبتاً بزرگ ایجاد شده از استروما از طریق روزنه یا برون‌فشان، به شکل استوانه‌ای تا شدیداً خمیده، قهوه‌ای رنگ، به سمت قسمت نوک تیز کمرنگ شده، بدون انشعاب، بسیار متراکـم به ابعاد ۶-۵ × ۱۳۳-۵۰ میکرومتـر، سلـول تشکیـل‌دهنده پایه کنیـدیوفـور به‌صورت چند محـوری، یک‌پارچه، سرشاخه‌ای، ۷۵-۲۰ میکرومتر، کنیدی‌های تکی، سوزنی، شفاف، صاف، با دیواره نازک، مستقیم تا انحنادار، پایه بریده، دارای ۳-۱۲ دیواره جدا و شفاف، به ابعاد ۵-۲ ×۱۸۰-۲۷/۵ میکرومتر، سلول پایه ضخیم و تیره، با پهنای ۳-۲ میکرومتر مشاهده شد.

آزمون بیماری‌زائی جدایه‌های *C. beticola*

ظهور علائم بیماری ۳۵ روز بعد مشاهده شد. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد جدایه‌ها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار با هم دارند. در بررسی مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که جدایه‌های جنوب شامل شوش (Sho-11،Sho-14)، دزفول (Dez-15)، اندیمشک (And-37) و شمال شامل ساری (Sar-11) و قائم شهر (Ghe-5) با شدت شاخص بیماری بین ۹۸/۶۰ تا ۹۷/۲۰ در گروه آماری a قرار گرفتند. سپس دو جدایه از دزفول (Dez-3، Dez-14) با شدت شاخص بیماری بین ۹۶/۵۰ تا ۹۵/۸۰ در گروه آماری ab طبقه‌بندی شدند. در ادامه جدایه‌های مناطق جمع‌آوری چهار جدایه دزفول شامل (And-22، And-23، And-25 و And-28) با کم‌ترین مقدار شدت شاخص بیماری بین ۷۷/۷۰ تا ۷۹/۸۸

در گـروه آماری g قرار گرفتنـد (جدول ۳). در این بررسی اگرچه تفاوت آماری بین جدایه‌ها دیده می‌شـود ولی این اختـلاف بسیار ناچیز است به عبارت دیگر تمام جدایـه‌ها دارای قدرت بیماری‌زایی بالایی هستند.

جدول ۲- مناطق جمع‌آوری نمونه‌های چغندرقند آلوده به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴

Table 2.The collection sites of sugarbeet samples infected by *Cercospora* leaf spot in 1393 and 1394

ردیف	کد نمونه	شهرستان		منطقه		درصد آلودگی
No.	Accession No	City		Region		Infection-percentage
1	Sho-11	حمید آباد	Hamidabad	شوش	Shoosh	95
2	Sho-14	حمید آباد	Hamidabad	شوش	Shoosh	94
3	Dez-3	شهر امام	Shahremam	دزفول	Dezful	87
2	Dez-5	شهر امام	Shahremam	دزفول	Dezful	91
5	Dez-12	صفی آباد	Safiabad	دزفول	Dezful	93
6	Dez-13	صفی آباد	Safiabad	دزفول	Dezful	88
7	Dez-14	صفی آباد	Safiabad	دزفول	Dezful	89
8	Dez-15	صفی آباد	Safiabad	دزفول	Dezful	94
9	And-22	شهرک علی آباد	Aliabad town	اندیمشک	Andimeshk	25
10	And-23	شهرک علی آباد	Aliabad town	اندیمشک	Andimeshk	22
11	And-24	شهرک مدنی	Madani town	اندیمشک	Andimeshk	28
12	And-28	شهرک مدنی	Madani town	اندیمشک	Andimeshk	11
13	And-32	شهرک نوار	Navar town	اندیمشک	Andimeshk	14
14	And-35	آزادی	Azadi	اندیمشک	Andimeshk	18
15	And-37	آزادی	Azadi	اندیمشک	Andimeshk	24
16	Ghe-1	قراخیل	Gharakhyl	قائم شهر	Ghaemshahr	95
17	Ghe-5	قراخیل	Gharakhyl	قائم شهر	Ghaemshahr	91
18	Sar-11	فرح آباد	Farahabad	ساری	Sari	65

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند در شرایط مزرعه و قطعات برگ جدا شده در آزمایشگاه

در این آزمایش مقاومت ۳۰ ژنوتیپ چغندرقند در مقابل قارچ عامل لکه برگی سرکوسپورایی *C. beticola* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله از تجزیه واریانس شاخص شدت بیماری ارقام در دو مرحله زمانی با فاصله یک‌ماه (اول تیر و اول مرداد) نشان داد که بین این ارقام از نظر شدت شاخص بیماری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت (جدول ۴).

در ارزیابی توسعه بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی *C. beticola* روی ۳۰ ژنوتیپ چغندرقند براساس مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری در دو مرحله یاداشت‌برداری، اول تیرماه (همزمان با توسعه بیماری) و اول مرداد (مصادف با پیشـرفت و افزایش حداکثری بیماری) نشان می‌دهد که در تیرماه تنها در پنج رقم ۸۹-۳۱۳۷۲، ۸۹-۳۱۳۷۳ F-۲۰۷۳۴، ۳۲۶۰۱ و۱۹۱ شدت بیماری بیش از ۵۰٪ بوده است در حالی‌که در مرحله دوم یاداشت‌برداری (در اوایل مرداد ماه) در ۲۳ رقم شدت بیماری به بیش از ۵۰٪ رسید. این نتیجه بیانگر گسترش بیماری در مدت زمان کوتاه (یک ماه) در شرایط مساعد محیطی است. همچنین در بررسی تعیین میزان همبستگی بین شدت آلودگی در مزرعه با دیسک‌های برگ چغندرقند در آزمایشگاه مشخص شد همبستگی شدت آلودگی روی دیسک‌های برگ در آزمایشگاه با شدت آلودگی در مزرعه بسیار زیاد (با ضریب ۰/۹۱۳) است (جداول ۵ و ۶). در مرحله ارزیابی مقاومت ۳۰ ژنوتیپ

چغندرقند به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در شرایط مزرعه در سال ۱۳۹۵ رقم مقاوم با شدت آلودگی کم‌تر از ۲۵ درصد مشاهده نشد. در حالی‌که در پنج ژنوتیپ ۳۲۳۳۳، ۳۲۳۳۵، ۳۲۲۹۵، ۳۲۳۰۴ و ۳۲۳۱۹ واکنش حساسیت متوسط (متحمل) با شدت آلودگی بین ۲۵-۵۰ ثبت شد. در بقیه ارقام (۲۵ رقم دیگر برابر با ۸۳/۳٪ کل ژنوتیپ‌های مورد آزمایش) واکنش حساس یا خیلی حساس به بیماری مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری جدایه‌های *C. beticola* روی چغندرقند، ژنوتیپ حساس ۱۹۱

Table 4. Mean comparison of disease severity index of the *C. beticola* isolates on sugarbeet, the susceptible genotype 191

شماره Number	نام جدایه isolates	شاخص شدت بیماری (درصد) Disease severity index
1	Sho-11	98.60a
2	Sho-14	97.20a
3	Dez-3	96.50ab
4	Dez-5	88.85d
5	Dez-12	81.28fg
6	Dez-13	87.45de
7	Dez-14	95.80ab
8	Dez-15	98.60a
9	And-22	78.42g
10	And-23	79.88g
11	And-24	84.70ef
12	And-25	79.15g
13	And-28	77.70g
14	And-32	89.50cd
15	And-37	97.20a
16	Sar-11	98.60a
17	Ghe-5	97.20a
18	Ghe-1	93.00bc
19	Control (شاهد)	11.10h

میانگین‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Mean with similar letters are not significantly different at 1% probability level

جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص شدت بیماری در ارقام چغندرقند در دو مرحله (۷۰ و ۱۰۰ روز بعد ازکاشت) نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی *C. beticola*

Table 4. Variation analysis of disease severity index to *Cercospora* leaf spot *C. beticola* on sugarbeet cultivars in two stage (70 and 100 days after sowing)

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	MS ۷۰ روز بعد از کاشت 70 days after sowing	میانگین مربعات ۱۰۰ روز بعد از کاشت 100 days after sowing
Replication	تکرار	2	7.203^{ns}	11.094^{ns}
Treatment	تیمار	29	693.97**	752.49**
Error	اشتباه	58	2.45	15.23
CV	ضریب تغییرات		9.93	11.01

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند تحت شرایط مزرعه (ایستگاه قراخیل) و آزمایشگاه

Table 5. Mean comparison of *Cercospora* leaf spot disease severity index on different sugarbeet genotypes under field (Gharakhyle station) and laboratory conditions

شماره	ارقام	در مزرعه Field		تراکم لکه در ۱/۸ سانتی‌متر مربع دیسک برگ در آزمایشگاه
		درصد شدت بیماری Disease severity percentage		
Number	Cultivars	۷۰ روز بعد از کاشت 70 day after sowing	۱۰۰ روز بعد از کاشت 100 day after sowing	leaf disk Spot density/1.8cm^2
1	32331	12.30 o	27.00l	2.233 r
2	32332	20.37 m	67.83ghi	6.567 def
3	32333	13.57 no	37.00l	2.170 r
4	32334	51.80 d	94.97a	8.637 a
5	32335	24.63 l	62.90hij	5.240 hijk
6	FC-607	13.63 no	60.43ij	5.417 hij
7	25447-79	15.47 no	49.33k	.810 pqr
8	25448-79	40.67 gh	86.33 abcde	7.820 ab
9	32295	20.37 m	49.33 k	3.377 nop
10	32302	32.03 k	66.60 ghi	4.827 ijkl
11	32304	35.73 tj	66.60 ghi	5.630 ghi
12	32306	38.20 hi	78.93 def	7.360 bcd
13	32308	42.53 fg	80.17 def	7.603 bc
14	32309	16.23 n	55.50 jk	3.690 mno
15	32312	20.37 m	48.10 k	3.100 opq
16	32314	48.10 e	77.70 ef	6.627 def
17	32319	31.43 k	65.37 ghi	4.400 klm
18	32601	57.37 b	93.13 ab	8.473 a
19	32607	22.17 lm	54.27 jk	2.333 qr
20	32620	33.27 jk	59.20 ij	4.000 lmn
21	32684	25.27 l	66.60 ghi	4.563 jkl
22	FC-703	37.13 hi	67.83 ghi	4.387 klm
23	FC-701	30.80 k	66.60 ghi	4.657 jkl
24	31372-89	55.53 bc	87.57 abcd	6.083 fgh
25	31373-89	61.07 a	86.33 abcde	6.320 efg
26	F-20734	61.40 a	90.03 abc	6.773 cdef
27	F-20694	48.10 e	82.63 cde	6.983 bcde
28	F-20676	45.60 ef	71.53 fgh	6.033 fgh
29	HM-1990	36.97 i	72.77 fg	6.003 fgh
30	191	53.67 cd	83.87 bcde	6.347 efg

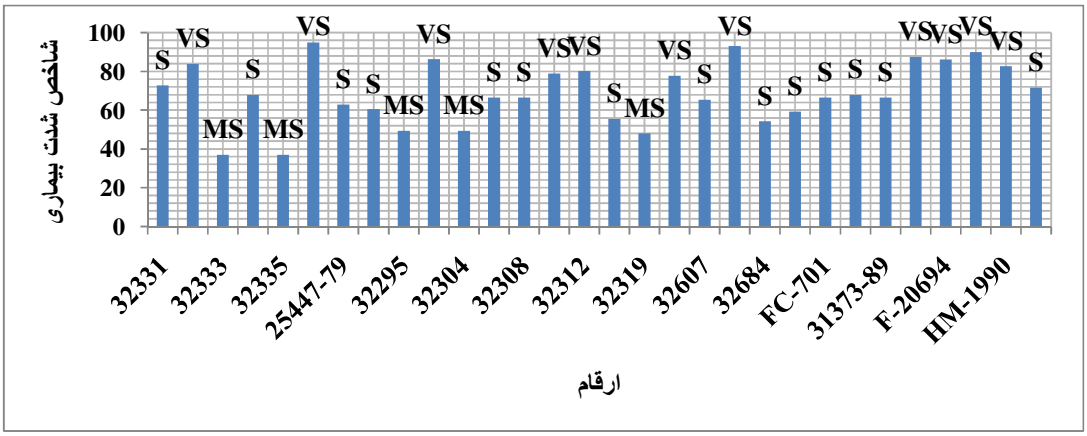
میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Mean with similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level

جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده بین روش‌های ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا در شرایط مزرعه و آزمایشگاه

Table 6. Simple correlation coefficients between evaluation methods of resistance to *Cercospora beticola* under field and laboratory conditions

	مزرعه Field		تراکم لکه در۱/۸سانتی متر مربع دیسک برگ در آزمایشگاه
	درصد شدت بیماری Disease severity percentage		
	۱۰۰ روز بعد از کاشت 100 day after sowing	۷۰ روز بعد از کاشت 70 day after sowing	leaf disk Spot density/1.8cm^2
۷۰ روز بعد از کاشت	0.885	1	0.752
۱۰۰ روز بعد از کاشت	1	0.885	0.913
تراکم لکه در ۱/۸ سانتی‌متر مربع دیسک برگ در آزمایشگاه	0.913	0.752	1



شکل ۱- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری و واکنش ارقام مختلف چغندرقند نسبت به قارچ *C.beticola*

Shape 1. Mean Comparison of disease severity index and different cultivars response of the sugarbeet to fungi *C.beticola*

بحث

بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی که در اثر *Cercospora beticola* ایجاد می‌شود در مناطق گرم و مرطوب شایع است. انتشار جغرافیایی بیماری در تمامی مناطق کشت چغندرقند در دنیا است. گسترش بیماری در ایران در مناطق خوزستان و کرانه‌های دریای خزر، مغان و بندرعباس و کازرون می‌باشد (Ershad, 2009). بررسی حاضر نیز وجود و گسترش بیماری لکه‌برگی سکوسپورایی را در مناطق جنوب کشور شامل دزفول، اندیمشک، شوش و مناطق قائم‌شهر و ساری در شمال کشور را با بیش از ۹۵ درصد آلودگی تایید می‌کند.

در تفکیک جدایه‌ها از نظر قدرت بیماری‌زایی، اگرچه آنالیز واریانس داده‌های حاصله تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌ها را در سطح ۱٪ نشان می‌دهد ولی تفاوت‌ها از نظر شاخص شدت بیماری بسیار ناچیز و تمام جدایه‌ها دارای قدرت بالای آلودگی بر روی رقم حساس ۱۹۱ بودند. در این خصوص مطالعات به طور انحصاری متکی به اطلاعات مرفولوژیک بوده و سوابق بسیار محدود از اطلاعات DNA و کشت‌ها وجود دارد (Nguanhom *et al.*, 2015).

نتایج ارزیابی مقاومت ۳۰ رقم چغندرقند دریافت شده از موسسه تحقیقات چغندرقند نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در شرایط مزرعه (ایستگاه قراخیل قائم‌شهر) نشان داد که در اوایل تیر و همزمان با شروع آلودگی فقط در پنج ژنوتیپ چغندرقند شدت آلودگی بالای ۵۰ درصد بود، در حالی‌که در اوایل مردادماه تعداد بوته‌های آلوده با بیش از ۵۰ درصد آلودگی به ۲۵ رقم رسید. این نتیجه نشان می‌دهد، آماربرداری‌هایی که منحصراً در اوایل فصل انجام می‌شود قابل اعتماد نمی‌باشد. در واقع در ابتدای فصل بروز آلودگی در مزرعه از کانون‌های مختلف آغاز شده و لذا

توزیع آلودگی در سطح مزرعه یکنواخت نیست اما با پیشرفت آلودگی تدریجاً توزیع آلودگی در مزرعه یکنواخت شده و اختلاف سطح مقاومت ارقام رفته رفته به نحو بارزی نمایان می‌شود (Rossi *et al.*, 2000). از این‌رو آماربرداری‌ها باید چندین مرحله و در طی فصل انجام شود و همچنین داده‌های مربوط به هر بار یادداشت‌برداری باید مستقل از هم مورد تجزیه آماری قرار گیرد. نتایج این تحقیق با یافته‌های عباسی و همکاران (۱۳۸۱) و محمودی و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت دارد. در بررسی واکنش ۳۰ ژنوتیپ چغندرقند نسبت به قارچ *C. beticola* در شرایط مزرعه، ۲۵ ژنوتیپ یعنی بیش از ۸۰ درصد کل ژنوتیپ‌های مورد آزمایش حساس به بیماری بودند و این نتایج با یافته‌های محمودی و همکاران (۱۳۹۰) و عباسی و همکاران (۱۳۸۱) مطابقت دارد. در تحقیقات آنان نیز بیش از ۵۰ درصد ارقام مورد آزمایش حساس به بیماری گزارش شده در حالی‌که ارقام مقاوم یا نسبتاً حساس محدود بوده است. در آخرین بخش از مطالعات، نتایج مقایسه ارزیابی مقاومت ژنوتیپ و ارقام چغندرقند به *C. beticola* در آزمایشگاه با شرایط مزرعه نشان داد همبستگی بالایی بین ارزیابی مقاومت از طریق قطعات جدا شده برگ و ارزیابی مزرعه‌ای وجود دارد به گونه‌ای که درجه همبستگی ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت با هر یک از مراحل ارزیابی ۹۱ درصد بوده است. با استفاده از این روش در مدت کوتاهی می‌توان تعداد زیادی از گیاهان را مورد ارزیابی قرار داد. در این روش ارزیابی هیچ‌گونه محدودیتی در تعداد تکرارهای آزمایش وجود نداشته و شرایط انجام آزمایش مستقل از شرایط محیطی و کاملاً قابل کنترل می‌باشد. از طرفی در این ارزیابی هیچ گونه تنشی به گیاه مورد بررسی وارد نمی‌شود، بنابراین چنانچه حفظ تک بوته‌های آزمایش شده به دلیل جایگاه ویژه آن‌ها در دستور کار باشد این روش ارزیابی قویاً قابل توصیه می‌باشد. تنها محدودیت این روش حفظ شادابی دیسک‌های برگی طی مدت انجام آزمایش بوده که لازم است در این زمینه مطالعات بیش‌تری صورت پذیرد. در این خصوص به نظر می‌رسد با افزودن ترکیباتی نظیر کینتین که موجب به تعویق انداختن پیری در برگ‌ها می‌شوند این روش را می‌توان بهبود بخشید (Browne and Cooke, 2004). همچنین گزارش‌های متعددی در خصوص استفاده موفق از برگ بریده جهت ارزیابی مقاومت در سایر بیماری‌های گیاهی نیز وجود دارد (Browne and Cooke, 2004; Daayf and Platt, 2003). به هر حال نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت با استفاده از دیسک‌های برگی روشی معتبر، آسان و سریع بوده و برخلاف آزمایش‌های مزرعه‌ای که مستلزم صرف وقت، هزینه و امکانات زیاد است به سهولت و با هزینه اندک قابل اجرا است.

منابع References

ارشاد، ج. ۱۳۷۴. قارچ‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی ۸۴۷ صفحه.

اعتباریان، ح. ۱۳۸۷ (چاپ چهارم). بیماری‌های سبزی و صیفی و روش‌های مبارزه با آن‌ها. انتشارات دانشگاه تهران. ۶۰۰ صفحه.

اوراضی‌زاده، م.، صادقیان، ی. و مصباح، م. ۱۳۸۱. تعیین پارامترهای ژنتیکی مقاومت به عامل بیماری لکه‌برگی چغندرقند. چغندرقند ۱۸: ۲۷-۱۵.

عباسی، س.، علیزاده، ع.، مصباح، م. و بنی‌هاشمی، م. ۱۳۸۲. ارزیابی مقاومت به *Cercosporabeticola* در چغندرقند با استفاده از قطعات جدا شده برگ. مجله چغندرقند ۱۹(۱): ۲۴-۳۶.

عباسی، س.، مصباح، م. و محمودی، س. ب. ۱۳۸۱. بهینه سازی ارزیابی مزرعه‌ای مقاومت ارقام چغندرقند نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی. مجله چغندرقند ۱۸(۱): ۸۱-۹۲.

عباسی، س. و محمودی، س. ب. ۱۳۸۹. واکنش ارقام چغندرقند به جدایه‌های قارچ عامل بیماری لکه گرد برگ. مجله علوم کشاورزی ۳۳(۱): ۶۹-۷۷.

محمودی، س. ب.، شریفی، ح. و خدادادی، ش. ۱۳۹۰. ارزیابی مقاومت ارقام تجاری چغندرقند در برابر بیماری لکه برگی سرکوسپورایی در شرایط مزرعه. مجله گیاهپزشکی ۳۴(۲): ۲۴-۳۲.

Agrofit. **2013**. Disponivel em: http://agrofit agricultura. Gov. br/ agrofit_cons/ principal_ agrofit_cons. Acessado em 24 de abril de 2013.

Amaradasa, B. S., Madrid, H., Groenewald, J. Z., Crous, P.W. and Amundsen, K. **2014**. *Porocercospora seminalis* gen. et comb. nov. the causal organism of buffalograss false smut. Mycologia 106: 77–85.

Bakhshi, M., Arzanlou, M., Babai-ahari, A., Groenewald, J. Z., Braun, U. and Crous, P. W. **2015**. Is morphology in *Cercospora* a reliable reflection of generic affinity? Phytotaxa 213 (1): 22–34.

Browne, R. A. and Cooke, B. M. 2004. Development and evaluation of an in vitro detached leaf assay for pre-screening resistance to *Fusarium* head blight in wheat. European Journal of Plant Pathology 110: 91-102.

Cooke, D. A. and Scott, R. K. **1999**. The sugarbeet crop, science into practice. Biologia 4: 54-59.

Crous, P. W. and Braun, U. 2003. *Mycosphaerella* and its *anamorphs*. 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. [CBS Biodiversity Series no. 1.] CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht.

Daayf, F. and Platt, H. W. 2003. Differential pathogenicity on potato and tomato of *Phytophthora infestans US-8* and *US-11* strains isolated from potato and tomato. Canadean Journal of Plant Pathology 25: 150-154.

Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. Department of Botany. Iranian research institute of plant protection. Tehran. 531pp.

Groenewald, J. Z., Nakashima, C., Nishikawa, J., Shin, H. D., Park, J.-H., Jama, A. N., Groenewald, M., Braun, U. and Crous, P. W. 2013. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. Studies in Mycology 75: 115–170.

Holtschulte, B. 2000. *Cercospora beticola* world-wide distribution and incidence. pp.5-16. In: Asher, M. I. C., Holtschulte, B. Richard, M. M. Rosso, F. Steinrucken, G. and Beckers, R. (eds.) *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influences and Control Measures in Sugarbeet IIR International Institute for Beet Research, Belgium.

Kaiser, U. and Varrelmann, M. 2009. Development of a field biotest using artificial inoculation to evaluate resistance and yield effects in sugarbeet cultivars against *Cercospora beticola*. European. Journal of Plant Pathology 124: 269–281.

Koch, G. and Jung, C. 2000. Genetic localization of *Cercospora* resistance genes. Advances Sugarbeet Research IIRB 2: 197–210.

Lartey, R. T., Caesar–TonThat, T. C., Shelver, W. L., Sol, N. I. and Bergman, J. W. **2005.** Safflower: A new host of *Cercospora beticola*. Plant Disease 89: 797-801.

Marcuzzo, L. L., Duarte, T. S., Hilleshein, P. P. and Scheidt, B. 2015. Reaction of beet genotypes to the Beet Leaf Spot in the upper Valley of Itajaí, Santa Catarina state, Brazil. Horticulture Brasileira 33: 106-109.

Miller, J., Rekoske, M. and Quinn, A. 1994. Genetic resistance, fungicide protection and variety approval policies for controlling yield losses from *Cercospora* leaf spot infection. Journal of Sugarbeet Research 31: 7–12.

Nguanhom, J., Cheewangkoon, R., Groenewald, J. Z., Braun, U., To-Anun, C. & Crous, P. W. 2015. Taxonomy and phylogeny of *Cercospora* spp. from Northern Thailand. Phytotaxa 233(1):27-48.

Panella, L. and Frese, L. 2000. *Cercospora* resistance in *Beta* species and the development of resistant sugarbeet lines. Pp. 163-176. In: Ashler, M. I. C. Holtschulte, B. Richard Molard, M. Rosso, F. Sterinrucken, G. and Beckers, R. (eds.) *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugarbeet, Vol 2.

Rossi, V., Battilani, P., Chiusa, G., Giosue, S., Languasco, L. and Racca, P. 2000. Components of rate-reducing resistance to *Cercospora* leaf spot in sugarbeet: conidiation length, spore yield. Journal of Plant Pathology 82: 125 –131

Shane, W. W. and Teng, P. S. 1992. Impact of *Cercospora* leaf spot on root weight, sugar yield, and purity of *Beta vulgaris*. Plant Disease 76:812- 820.

Skaracis, G. N. and Biancardi, E. **2000**. Breeding for *Cercospora* resistance in sugarbeet. Advances Sugarbeet Research IIRB 2:177–196.

Solel, Z. and Wahl, I. 1971. Pathogenic specialization of *Cercospora beticola*. Phytopathology 61: 1081–1083.

Smith, G. A. and Ruppel, E.G. 1974. Heritability of resistance to *Cercospora beticola* leaf spot in sugarbeet. Crop Science 14:113–115.

Taguchi, K., Kubo, T., Takahashi, H. and Abe, H. **2011.** Identification and Precise Mapping of Resistant QTLs of Cercospora Leaf Spot Resistance in Sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). G3 (Bethesda). 1: 283-291.

To-anun, C., Hidayat, I. and Meeboon, J. **2010**. *Cercospora christellae*, a new cercosporoid fungus associated with weed *Christella parasitica* from northern Thailand. Journal of Agricultural Technology 6: 331–339.

To-anun, C., Hidayat, I. and Meeboon, J. 2011. Genus *Cercospora* in Thailand: taxonomy and phylogeny (with a dichotomous key to species). Plant Pathology and Quarantine 1: 11–87.

Turgay, E., Bak, M., Ozeren, P., Kat rciog, Y. and Maden, S. 2010. Detection of Pathotypes and Genetic Diversity of *Cercospora beticola.* Plant Pathology Journal 26: 306-312.

Verreet, J. A., Wolf, P. and Weis, F. J. 1996. Bekampfungsschwellen als Grundlage fur eine integrierte Bekampfung von Cercospora beticola – Das IPS Modell Zuckerrrube. Proceedings of the IIRB 59: 55–69.

Weiland, J. and Koch, G. 2004. Pathogen profile sugarbeet leaf spot disease (*Cercospors beticola* Sacc.). Molecular Plant Pathology 5(3): 157-166.