



دانشکده تولید گیاهی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
بیوتکنولوژی کشاورزی

مطالعه الگوی بیان برخی ژن‌های کاندید در پاسخ به بیماری سپتوریای برگ
گندم

پژوهش و نگارش:

نسیبه چنارانی

اساتید راهنما:

دکتر سیده ساناز رمضانپور

دکتر حسن سلطانلو

تابستان 1392

اللَّهُ الرَّحْمَنُ الرَّحِيمُ



دانشکده تولید گیاهی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
بیوتکنولوژی کشاورزی

مطالعه الگوی بیان برخی ژن های کاندید در پاسخ به بیماری سپتوریای برگ گندم

پژوهش و نگارش:

نسیبه چنارانی

اساتید راهنما:

دکتر سیده ساناز رمضانپور و دکتر حسن سلطانلو

اساتید مشاور:

دکتر احد یامچی و مهندس شعبان کیا

تابستان 1392

تعهد نامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت های علمی - پژوهشی و همچنین استفاده از اختیارات دانشگاه انجام می شود، بنابراین بمنظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

- 1) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع و کسب اجازه نمایند.
 - 2) در انتشار نتایج پایان نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
 - 3) انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.
- اینجانب **نسبیه چنارانی** دانشجوی رشته **بیوتکنولوژی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می شوم.

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

آموزگارانی که برایم زندگی؛ عشق و انسان بودن را معنا

کردند

برادرانم، همسفران مهربان

زندگی ام

و مهربان ترین دعاگوی هستی ام

روح پاک مادر بزرگم

سپاس پروردگارم را ...

که مرا از خاک آفرید و به آبادانی آن مامورم ساخت ... (سوره هود، 61)

میستایم گران قدرانی را که اندیشیدن را به من آموختند نه اندیشه ها را
آنان که تلاش برای آموختن و عشق و اندوختن راستین علم را به من آموختند:

سرکار خانم دکتر سیده ساناز رمضانپور (استاد راهنمای اول)

جناب آقای دکتر حسن سلطانلو (استاد راهنمای دوم)

جناب آقای دکتر احد یامچی (استاد مشاور)

جناب آقای مهندس شعبان کیا (استاد مشاور)

جناب آقای دکتر علی اصغر نصراله نژاد قمی (داور و نماینده محترم تحصیلات تکمیلی)

از آقای مهندس اسلامی مسئول محترم آزمایشگاه ژنتیک به جهت همکاری صمیمانه شان
سپاسگزارم.

از آقای مهندس داوود کیانی که در مراحل مختلف کار آزمایشگاه از هیچ کمکی دریغ
نکردند کمال تشکر را دارم.

از تمامی دوستانم به ویژه خانم ها پودینه، خانی، میرزایی، رحمانی، نوروزی و رحیمی و آقای
مهندس فتاحی که در روزهای سخت یاورم بودند متشکرم...

چکیده

یکی از مهمترین چارچ‌هایی که باعث ایجاد بیماری در گندم می‌شود بیماری سپتوریای برگگی گندم است. اساسی‌ترین استراتژی برای کنترل این بیماری یافتن منابع مقاوم و توسعه کشت ارقام مقاوم است و یکی از روش‌های دستیابی به هدف فوق بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف، می‌باشد.

مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر به بررسی نقش و میزان بیان برخی ژن‌های دخیل در فرایند مقاومت به بیماری پرداخته است و روشن‌گر نقاط ضعف و قوت گیاه و بیمارگر در مسیر بیماری بوده‌اند. در تحقیق حاضر، به منظور تکمیل این تحقیقات و در تایید بیان افتراقی برخی از ژن‌های جداسازی شده، الگوی بیان چهار ژن مهم در ایجاد مقاومت و یا انتقال سیگنال مقاومت به بیماری سپتوریای برگگی شامل ایزوسیترات دهیدروژناز، انگشت روی، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز کمی در زمان واقعی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که ایزوسیترات دهیدروژناز؛ آنزیم کلیدی چرخه‌ی کربس، تعداد رونوشت‌های بیشتری را در ژنوتیپ مقاوم نسبت به ژنوتیپ حساس تولید کرده است که تأیید کننده‌ی نتایج حاصل از بیان افتراقی در روش cDNA-AFLP است. همچنین بیشترین تعداد رونوشت‌ها مربوط به روز سوم بعد از آلودگی می‌باشد. تظاهر رونوشت‌های انگشت روی به عنوان یک عامل رونویسی، در ژنوتیپ مقاوم دارای افزایش بیشتری نسبت به ژنوتیپ حساس بود و در روز هفتم به بیشترین مقدار خود در ژنوتیپ مقاوم و در روز هفتم بعد از آلودگی به کمترین میزانش در ژنوتیپ حساس رسید. همچنین بیان دو ژن دخیل در تنش اکسیداتیو یعنی پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز در ژنوتیپ مقاوم بیشتر از ژنوتیپ حساس بود. انجام آزمون فعالیت آنزیمی در مورد پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز نیز تأیید کننده سطح بیشتر فعالیت آنها در ژنوتیپ مقاوم بود. مطالعات تکمیلی، ژن‌های دخیل و نحوه دقیق فرایندهای منجر به مقاومت به بیماری سپتوریای برگگی گندم را آشکار خواهد کرد که کمک بزرگی به متخصصین اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی جهت مقابله با تهدید همیشگی این گیاه زراعی ارزشمند خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: تظاهر ژن، انگشت روی، ایزوسیترات دهیدروژناز، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز

	فصل اول: مقدمه
2	1-1-مقدمه
3	2-1-فرضیات.....
3	3-1-اهداف
	فصل دوم: مرور منابع
5	1-2-گندم
5	1-1-2-گندم معمولی.....
6	2-2-لکه سپتوریایی برگ گندم.....
6	1-2-2-پراکنش بیماری
7	2-2-2-نشانه‌های بیماری
8	3-2-2-قارچ عامل بیماری
8	4-2-2-زیست شناسی عامل بیماری.....
10	5-2-2-مبارزه
10	3-2-3-ژن‌های مورد بررسی
10	1-3-2-انگشت روی.....
11	2-3-2-ایزوسیترات دهیدروژناز وابسته به نیکوتین آمید آدنن.....
13	4-2-گونه‌های فعال اکسیژن
14	1-4-2-اثرات مخرب انواع گونه‌های فعال اکسیژن
14	2-4-2-رادیکال سوپر اکسید
15	3-4-2-پراکسید هیدروژن
15	4-4-2-رادیکال هیدروکسیل
16	5-4-2-مکانیسم‌های دفاعی سلول در برابر انواع اکسیژن فعال
17	6-4-2-فعالیت پراکسی ردوکسین
17	7-4-2-اجرای تنفس نوری
17	8-4-2-آلترناتیو اکسیداز
18	9-4-2-فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز
18	5-2-تجزیه کمی RNA
19	1-5-2-اصول روش واکنش کمی چرخه‌ای پلیمرز در زمان واقعی.....
19	2-5-2-تئوری واکنش چرخه‌ای پلی‌مرز در زمان واقعی

21	6-2- مروری بر مطالعات گذشته	21
	فصل سوم: مواد و روش‌ها	
26	1-3- تهیه و تکثیر عامل بیماری سپتوریای برگ گندم	26
26	1-1-3- کشت، جداسازی و خالص سازی قارچ عامل بیماری	26
26	2-1-3- تهیه مایع تلقیح	26
27	2-2-3- کشت بذور و آلوده سازی گیاهچه‌ها با قارچ عامل بیماری	27
28	3-3- نمونه گیری از برگ‌های مایه زنی شده با قارچ عامل بیماری لکه برگ گندم	28
29	4-3- استخراج RNA	29
29	1-4-3- کوبیدن نمونه‌های برگی	29
29	2-4-3- جداسازی RNA	29
30	3-4-3- تعیین کیفیت RNA	30
30	4-4-3- تعیین کمیت RNA	30
31	5-3- تیمار DNase	31
31	1-5-3- ساخت cDNA	31
32	2-5-3- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استاندارد جهت تأیید ساخت cDNA	32
32	6-3- انجام واکنش کمی زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی	32
34	1-6-3- چرخه های حرارتی جهت واکنش زنجیره‌ای پلیمرز کمی	34
34	7-3- تجزیه داده‌های مولکولی	34
35	1-7-3- محاسبه‌ی تغییرات بیان ژن‌ها	35
35	8-3- اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی	35
35	1-8-3- استخراج عصاره برگ	35
35	2-8-3- تهیه بافر استخراج عصاره آنزیمی	35
35	3-8-3- اندازه گیری میزان پروتئین محلول	35
37	4-8-3- طرز تهیه معرف برادفورد	37
37	5-8-3- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز	37
37	6-8-3- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز	37
37	7-8-3- تهیه بافر فسفات	37

38.....	8-8-3- تهیه محلول گایوکل 0/2 مولار
38	9-8-3- تهیه محلول پیروگالول 0/2 مولار
	فصل چهارم : نتایج و بحث
40	1-4- نتایج پیشرفت بیماری بعد از مایه زنی
41	2-4- نتایج حاصل از آزمون‌های مولکولی
41	1-2-4- کیفیت و کمیت RNA استخراج شده
42	3-4- ارزیابی اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده
42	4-4- نتایج حاصل از بررسی بیان ژن در زمان واقعی
43	1-4-4-1- منحنی‌های ذوب
44	2-4-4-2- بررسی الگوی بیان ژن انگشت روی
46.....	3-4-4-3- بررسی الگوی بیان ژن ایزوسیترات دهیدروژناز
49	4-4-4-4- بررسی الگوی بیان ژن پراکسیداز
51	5-4-4-5- بررسی الگوی بیان ژن پلی فنول اکسیداز
53	5-4- نتایج آزمون فعالیت آنزیمی
53	1-5-4-1- تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز.....
55	1-5-4-1- تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز.....
58.....	نتیجه گیری کلی.....
59.....	پیشنهادات اجرایی و پژوهشی.....
61.....	منابع

شکل‌ها

- شکل 2-1- علائم بیماری..... 7
- شکل 2-2- چرخه‌ی بیماری و گسترش آن 9
- شکل 2-3- انتقال الکترون در اندامک‌های سلول گیاهی و نحوه احیای اکسیژن اتمسفری 14
- شکل 3-1- رشد یکنواخت گندم‌های ژنوتیپ حساس تجن 27
- شکل 3-2- قرار دادن پوشش‌های پلاستیکی جهت حفظ رطوبت بعد از مایه زنی 28
- شکل 4-1- مقایسه‌ی علائم بیماری یک هفته بعد از آلودگی در ژنوتیپ حساس..... 40
- شکل 4-2- نمونه تصویر باندهای تشکیل شده مربوط به استخراج RNA 41
- شکل 4-3- تصویر الکتروفورز محصول PCR برخی نمونه‌های cDNA با آغازگرهای اختصاصی 42

صفحه	عنوان
32	جدول 3-1- چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.....
33	جدول 3-2- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش.....
34	جدول 3-3- چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی.....
42	جدول 3-4- مقادیر مورد نیاز مواد جهت تعیین معادله رگرسیونی میزان جذب و میزان پروتئین.....
42	جدول 1-4- مقادیر بدست آمده از بررسی کمی RNA.....

نمودارها

- نمودار 1-4- منحنی ذوب مربوط به آغازگر انگشت روی.....44
- نمودار 2-4- روند تغییرات بیان ژن انگشت روی در ژنوتیپ مقاوم..... 45
- نمودار 3-4- روند تغییرات بیان ژن انگشت روی در ژنوتیپ حساس تجن 46
- نمودار 4-4- روند تغییرات بیان ژن ایزوسیترات دهیدروژناز در ژنوتیپ مقاوم 48
- نمودار 5-4- روند تغییرات بیان ژن ایزوسیترات دهیدروژناز در ژنوتیپ حساس تجن 49
- نمودار 6-4- روند تغییرات بیان ژن پراکسیداز در ژنوتیپ مقاوم 50
- نمودار 7-4- روند تغییرات بیان ژن پراکسیداز در ژنوتیپ حساس تجن 51
- نمودار 8-4- روند تغییرات بیان ژن پلی فنول اکسیداز در ژنوتیپ مقاوم 52
- نمودار 9-4- روند تغییرات بیان ژن پلی فنول اکسیداز در ژنوتیپ حساس تجن 53
- نمودار 10-4- روند تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ مقاوم 54
- نمودار 11-4- روند تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ حساس تجن 54
- نمودار 12-4- روند تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در ژنوتیپ مقاوم 56
- نمودار 13-4- روند تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در ژنوتیپ حساس تجن 57

فصل اول

مقدمه

1-1- مقدمه

گندم گیاهی است تک‌لپه، یک‌ساله و روزبلند که به خانواده گرامینه¹ (پواسه) و جنس تریتیکوم تعلق دارد. مبداء گندم نان² را خاور نزدیک می‌دانند (رمضانپور و سلطانلو، 1389).

گندم نان به دلیل دارابودن ویژگی‌های ژنتیکی متفاوت، انعطاف‌پذیری فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌ها و داشتن ارقام مختلف، تقریباً در تمام دنیا کشت می‌گردد. و دارای بیشترین پراکندگی است که حدود 90 درصد اراضی کشت گندم را به خود اختصاص داده است (نورمحمدی، 1380). طبق آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال 2005 میلادی، تولید این غله در جهان 614 میلیون تن بوده است که از این مقدار 15 میلیون تن در ایران تولید شده است (کافی و همکاران، 1384). همچنین در سال 2009 طبق آمار رسمی سازمان خوار و بار جهانی تولید ایران 13/5 میلیون تن و تولید جهانی 681/9 میلیون تن بوده است که بیانگر اهمیت و جایگاه ایران در تولید این محصول استراتژیک می‌باشد.

یکی از مهمترین قارچ‌هایی که باعث ایجاد بیماری در گندم می‌شود جنس سپتوریا است. بیش از 2000 شبه گونه که اغلب به عنوان پارازیت گیاهی شناخته شده‌اند، در این جنس وجود دارند که حدود 100 شبه گونه آن روی غلات و گندمیان علفی ایجاد بیماری می‌کنند. از این تعداد دو شبه گونه از آن‌ها به نام‌های سپتوریای برگی گندم با عامل *Septoria tritici* و سپتوریای سنبله گندم³ با عامل *Stagonaspora nodorum* به عنوان عامل بیماری‌زا در گندم مهم‌تر از بقیه هستند. بیماری سپتوریای برگی گندم که در اکثر گندم‌زارهای دنیا ایجاد خسارت می‌کند با عناوین دیگری چون Leaf Spot blotch و Speckled leaf blotch (سوختگی خالدار برگ گندم) نیز معرفی شده است. (شارن، 1999).

بیماری سپتوریای برگی که تاکنون در بیش از 50 کشور جهان یافت شده است، در قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم میلادی توسط محققین در اروپا و آمریکای شمالی مشخص شد ولی باگسترش ارقام اصلاح شده‌ی پاکوتاه و باعملکرد بالا، گسترش یافت (کیا، 1386).

گسترش بیماری در ایران به دلیل کشت ارقام مکزیکی از سال 1344 افزایش یافت (ترابی، 1359). سپتوریای برگی نخستین بار در کشور در سال 1320 توسط پتراک و سپس در سال 1326 توسط اسفندیاری گزارش شد. در اثر آلودگی گندم به این بیماری، برگ‌ها خشک شده، میزان دانه‌بندی کاهش یافته و دانه‌ها به صورت چروکیده در می‌آیند که هنگام برداشت همراه کاه از بین می‌روند (به نقل از کاظمی، 1372).

به منظور مبارزه با این بیماری از روش‌های مختلف زراعی، شیمیایی و ژنتیکی استفاده می‌شود که اساسی‌ترین استراتژی برای کنترل این بیماری یافتن منابع مقاومت و توسعه کشت ارقام مقاوم است. یکی از

¹. Gramineae

². Triticum aestivum

³. Septoria tritici blotch (STB)

روش‌های دستیابی به هدف فوق بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف، همچنین انتقال ژن مقاومت از گیاهان مقاوم به ژنوتیپ‌های حساس به بیماری می‌باشد (گرین و همکاران، 2001).
روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی¹ روشی پیچیده است که اختصاصی بودن، حساسیت و تکرارپذیری از مهمترین خصوصیات این روش است. این روش برای اندازه‌گیری غلظت‌های بسیار اندک mRNA که از مقادیر کمی نمونه بافتی استخراج می‌شود، به کار می‌رود و از آنجایی که نمی‌توان از RNA به عنوان الگویی در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استفاده نمود، اولین مرحله رونویسی معکوس RNA به cDNA و سپس تکثیر نمایی در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز می‌باشد (بوستین، 2000).

۲-۱- فرضیات

- الگوی بیان ژن‌ها با الگوی بیان افتراقی آن‌ها در روش cDNA-AFLP مطابقت نزدیکی دارد
- تظاهر رونوشت‌ها در ژنوتیپ مقاوم نسبت به ژنوتیپ حساس بیشتر است.

۳-۱- اهداف

- بررسی الگوی بیان ژن‌های مذکور جهت تعیین چگونگی پاسخ مقاومت.
- تأیید تظاهر افتراقی باندهای جداسازی شده در تحقیق قبلی به روش cDNA-AFLP.

¹.Quantitative Real-time PCR

فصل دوم

مرور منابع

حدود 350 هزار گونه گیاهی شناخته شده وجود دارد، اما تنها 24 گونه آن (یعنی هفت هزارم درصد از کل گونه‌های موجود) برای رفع احتیاجات انسان برای غذا و الیاف به عنوان گیاه زراعی استفاده می‌شوند (ویتور، 1980). نه تنها تعداد این گونه‌های مورد استفاده محدود است، بلکه سهم آن‌ها در مجموع تولید نیز به یک میزان نیست. گندم نان بی‌شک در بین گیاهان انگشت‌شماری که به عنوان منابع غذایی در سطح گسترده‌ای کشت می‌شوند نقش عمده‌ای ایفا می‌کند و احتمالاً محوری برای شروع کشاورزی بوده است (هارلان، 1981).

این گیاه اولین گیاهی است که انسان برای تأمین غذای خود شروع به کاشت و تکثیر آن نمود و حدس زده می‌شود که کشاورزی در دنیا با کاشت آن در 2300 سال پیش در منطقه خاورمیانه آغاز شده باشد. این گیاه از نظر سطح زیر کشت و تولید، مهمترین محصول زراعی ایران است. کشور ما ایران در سال 1383 از نظر تولید گندم به خود کفایی رسیده است (صدری، 1387). تقریباً یک ششم از کل زمین‌های زراعی جهان زیر کشت گندم است (کافی و همکاران، 1384).

2-1-1 گندم معمولی

تریتیکوم یک واژه لاتین به معنای گندم، و آئستیوم به معنی تابستان است. در زمان‌های قبل، این اسم علمی فقط به گندم بهاره اطلاق می‌شد، ولی پس از دهه‌ی 1950 به جای اسم‌های علمی قبلی مانند ولگاره و ساتیوم به کار گرفته شد.

گندم معمولی، هگزاپلوئید است ($2n=6x=42$) و در فرم‌های بهاره، پاییزه و در دو فصل یافت می‌شود. هر سنبلچه دارای پنج تا نه عدد گلچه و دو تا پنج عدد دانه است. پوشینه‌ها (گلوم‌ها) شل، آزاد و کوتاه‌تر از پوشینک‌ها هستند. پوشینک بیرونی ممکن است ریشک‌دار یا بدون آن باشد. میوه آن درشت، چاق و با رنگ‌ها و کیفیت‌های متفاوت است، ولی سختی دانه‌ها به اندازه‌ی گندم دوروم¹ نیست. ساقه‌ی این گونه گندم ماشواره‌ای (توخالی) است. ولی در بعضی از واریته‌ها می‌تواند توپر نیز باشد. برگ‌های گندم معمولی، از برگ‌های گندم دوروم و تورژیدیوم² باریک‌تر است.

دانه‌ها ممکن است به رنگ‌های قرمز، سفید و حد واسط و همچنین با بافت‌های نرم و سخت و شیار-های عمیق یافت شوند. این گندم دارای صدها واریته‌ی مختلف در گوشه و کنار دنیا است و از پر محصول-ترین گونه‌ها به شمار می‌رود. گندم معمولی دارای تیپ‌ها، سنبله‌ها، دانه‌ها و خصوصیات متفاوت دیگر است که در شناسایی واریته‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (کاظمی، 1384).

¹Dorum

².Turgidum

2-2- لکه سپتوریایی برگ گندم¹

قارچ عامل بیماری سپتوریایی برگ گندم² که انگل برگ‌های گندم است برای اولین بار توسط دسمازیر (1842) در فرانسه گزارش و توصیف شده است. در سال 1893 کاوارا شرح کاملی از قارچ و بیماری‌زایی آن روی گندم داده و آن را عامل خسارت مهمی روی گندم دانسته است. وبر در سال 1922 درباره خصوصیات انگلی گونه‌های آن بررسی کرده و آن را فقط مخصوص گیاهان گندم و چاودار و *Poa pratensis* می‌داند.

بیماری سپتوریایی برگ گندم از کشورهای هم‌جوار و همسایه مانند پاکستان، افغانستان، عراق، ترکیه و روسیه گزارش شده است. در ایران به نظر می‌رسد از سال‌ها پیش در پاره‌ای از نقاط کشور از جمله ورامین، اهواز، و نیشابور مشاهده شده است. به طور کلی بررسی و مطالعه در مورد بیماری سپتوریوز گندم از سال 1970 به بعد با ورود ارقام گندم مکزیکی یا هیبریدهای حاصله آن‌ها به بازار وارد مرحله جدیدتری شد و طبیعتاً نکات تاریکی که در مورد این بیماری وجود داشت توسط محققین روشن گردید (به نقل از اخوت و زاد، 1384).

2-2-1 پراکنش بیماری

بر اساس گزارش‌های موجود بیماری سپتوریایی گندم در اروپا، آمریکا (شمالی، مرکزی، جنوبی)، آفریقا، آسیا (افغانستان، پاکستان، ایران، ترکیه، روسیه، عراق، هندوستان، ژاپن، کره، چین، فلسطین اشغالی) و یا به عبارت دیگر در سطح وسیعی از کره زمین گسترش دارد. در ایران بیماری مزبور در استان‌های خوزستان، کرمانشاه، آذربایجان، مازندران، گرگان، خراسان، کرمان، سیستان و بلوچستان و استان مرکزی گسترش دارد و همه ساله با شدت‌های متفاوت بروز می‌کند (اخوت و جواد زاد، 1384). در استان گلستان به جز نوار باریک جنوبی که در منطقه کوهپایه‌ای قرار دارد، در سایر نقاط استان دیده می‌شود (آقاجانی، 1386).

بیماری لکه برگ سپتوریایی گندم در مناطق مختلف ایران به خصوص استان‌های گلستان، خوزستان، کرمانشاه و اردبیل وجود دارد (ترابی، 1980). میزان خسارت این بیماری در استان گلستان در ارقام مختلف و در مراحل مختلف آلودگی 9/17 تا 28/95 درصد بر آورد شده است (کیا و ترابی، 2008).

2-2-2 نشانه‌های بیماری

زمان بروز اولین نشانه‌های بیماری برحسب نوع وارسته و شرایط آب و هوایی منطقه در سال‌های مختلف متفاوت بوده و به اشکال مختلف بروز می‌کند، گاهی به صورت لکه‌های کوچک گرد یا بیضی رنگ

¹. *Septoria* spp.

². *Septoria tritici*