

## Slutrapport för projekt nummer H10333263

### Kartläggning av resistens mot svartpricksjuka i vete och interaktioner med odlingsmiljön

Annika Djurle, Inst. för skoglig mykologi och växtpatologi, SLU, Uppsala

#### Bakgrund

Svartpricksjuka, orsakad av *Zymoseptoria tritici* (f.d. *Mycosphaerella graminicola* med asexuellt stadium: *Septoria tritici*), är en av de stora sjukdomarna i vete och den bekämpas med hjälp av fungicider i stora delar av världen (Eyal, 1999). I Sverige är det numera den bladfläcksjukdom i vete som har störst utbredning och mot vilken huvuddelen av fungicidbehandlingar i samband med axgång riktas (Wiik, 2009). För att begränsa angreppen är odlaren hänvisad till fungicidbehandling, anpassning av såtid på hösten och måttlig kvävetillförsel under vår och sommar. Det finns inga kända resistenta sorter på marknaden, men skillnader i angreppsgrad mellan odlade sorter kan observeras. Parallellt med svartpricksjuka förekommer två andra bladfläcksjukdomar; vetets bladfläcksjuka, orsakad av *Pyrenophora tritici-repentis* (asexuellt stadium: *Drechslera tritici-repentis*) och *Parastagonospora nodorum* (f.d. *Phaeosphaeria nodorum* / *Stagonospora nodorum*) men de har i allmänhet haft mindre betydelse än svartpricksjuka under senare år.

Målet med projektet var att beskriva vetesorters resistens mot svartpricksjuka och hur odlingsområde, vilka vetesorter som odlas i området och lokala isolats eller populationers virulens och aggressivitet påverkar angrepp.

#### Material och metoder

För att undersöka samband mellan sort, isolat och odlingslokal valdes sex av de ordinarie sortförsöken ut. De fördelades mellan Skåne, Västergötland och Östergötland och försöksplatserna valdes i samråd med referensgruppen och efter kontakt med lokala rådgivare beträffande försökens status efter övervintring och angreppsrisk för svartpricksjuka. Tillsammans med referensgruppens medlemmar och ytterligare en växtförädlare prioriterades nio sorter: Harnesk, Olivin, Ellvis, Kranich, Loyal, Audi, Nimbus, Cumulus och Stigg. Avsikten var att koncentrera arbetet till fem sorter men att samla in material från, och angreppsgradera, alla nio. I mån av tid skulle då fler än de första fem sorterna kunna tas med i projektet. Från 2013 fanns inte Stigg med i försöken och från 2014 utgick sorten Harnesk. I sortförsöken fungicidbehandlas två av blocken och två lämnas obehandlade. All provtagning och alla graderingar utfördes i de obehandlade blocken.

Blad med angrepp av svartpricksjuka samlades in från vetesorterna i försöken på respektive försöksplats vid upp till tre tillfällen under säsongen och *Z. tritici* isolerades på laboratoriet. Målet var att samla in minst 15 blad per vetesort, men vid svaga eller mycket starka angrepp var det inte möjligt att hitta så många blad med tydligt definierade fläckar. Orsaken till upprepad insamling var dels en försäkringsåtgärd och dels kunde det visa sig att svampen under ett par generationer selekterats beroende på var den vuxit. Insamlingarna gjordes under 2011, 2012 och 2014.

Angrepp av svartpricksjuka graderades som andelen angripen yta på de tre översta bladen vid varje provtagningstidpunkt. Syftet var att undersöka om den inbördes rangordningen mellan angrepp i sorterna varierade mellan olika odlingsplatser. Förekomst av andra sjukdomar noterades också.

Den statistiska analysen gjordes i SAS (Statistical Analysis System) med procedurer som rangordnade sorter och identifierade samband mellan angrepp och sort och interaktioner mellan sort och odlingsplats.

Från blad med fläckar som hade synliga pyknider isolerades och renodlades *Z. tritici* på agar. Isolaten skulle dels användas för DNA-extraktion vid utprovning av markörer och dels för inokulering av blad. Parallellt med isolering, renodling och beredning av pyknider för analys utprovades och anpassades en extraktionsmetod för DNA och ett stort antal markörer provades för att finna ut vilka som fungerade bäst med det insamlade materialet.

DNA extraherades dels från renisolat av svampen och dels från enskilda pyknider som skurits ut ur bladvävnaden. DNA-extraktionen var det första steget för att kunna undersöka *Z. tritici*-populationens variation mellan sorter och odlingsplatser.

Ett stort antal markörer för mikrosatelliter har utvecklats för *Z. tritici* och flera av dem används frekvent i populationsstudier (Owen m.fl., 1998; Goodwin m.fl., 2007). För detta projekt valdes i första hand 11 st. mikrosatelliter från Goodwin m.fl. (2007). De har använts och fungerat väl i flera andra publicerade studier.

Markörerna testades med renisolat av *Z. tritici* från olika lokaler och sorter. Majoriteten av dessa härrörde från insamling i Östergötland och Västergötland 2011. De sex markörer som fungerade bäst valdes ut för det fortsatta arbetet. DNA-extraktionerna gjordes därefter direkt från pyknider tagna ur bladfläckar. Provtagningen begränsades till enskilda pyknider eftersom flera individer av svampen kan påträffas i samma fläck. Om flera individer förekommer i ett prov kan resultaten från olika markörer bli mycket svåra att jämföra.

För att undersöka den genetiska variationen hos *Z. tritici* gjordes PCR med de olika markörerna. Efter elektrofores skickades sedan de erhållna produkterna till Rudbecklaboratoriet vid Uppsala Universitet för storleksbestämning. Därefter analyserades resultaten med hjälp av programmen GeneMarker och GenAlEx.

Ett urval av prover undersöktes beträffande parningstyp (MAT-1 resp. MAT-2) med specifika primrar utvecklade för detta ändamål (Waalwijk m.fl., 2002; Zhan m.fl., 2002).

## Resultat

Utöver angrepp av svartpricksjuka förekom vetets bladfläcksjuka, brunfläcksjuka, gräsmjöldagg, brunrost och gulrost i försöken. Gulrostangreppen var tidvis så starka att de i flera sorter bromsade utbredningen av svartpricksjuka på bladen. Det försvårade angreppsgraderingen och medförde mycket snabb nedvissning av bladen.

Tabell 1 och 2 visar medelvärden av angrepp i respektive sort på olika lokaler och rankning av sorterna inom lokal för 2011 respektive 2012. Sorten med svagast angrepp rankades som nr 1.

**Tabell 1.** Angrepp av svartpricksjuka 2011 på bladnivå 3 omkring DC 73. Procent angripen bladyta, signifikansnivå inom lokal och rankning av angrepp inom lokal. Medelvärde av 2x10 blad per sort.

|       | Lokal   |           |         |        |          |        | Medel- |         |
|-------|---------|-----------|---------|--------|----------|--------|--------|---------|
|       | Sort    | Glyttinge | Marstad | Järpås | Grästorp | Sandby | värde  | Varians |
| %     | Harnesk | 0.6       | 27.1    | 25.8   | 6.9      | 3.3    | 12.5   |         |
|       | Olivin  | 0.3       | 9.5     | 23.7   | 6.0      | 4.1    | 8.4    |         |
|       | Ellvis  | 0.6       | 1.9     | 5.1    | 1.1      | 4.6    | 2.6    |         |
|       | Kranich | 0.4       | 2.5     | 6.1    | 1.8      | 6.7    | 3.1    |         |
|       | Loyal   | 1.5       | 24.5    | 22.7   | 9.3      | 9.6    | 13.3   |         |
|       | Audi    | 0.2       | 0.2     |        |          |        | 0.2    |         |
|       | Cumulus | 0.3       | 6.6     |        |          |        | 3.4    |         |
|       | Nimbus  | 0.2       | 21.9    | 9.9    | 4.1      | 3.6    | 7.9    |         |
|       | Stigg   | -         | 4.3     |        |          | 2.5    | 3.4    |         |
| Sign. |         | n.s.      | ***     | ***    | *        | **     |        |         |
| Rank  | Harnesk | 5         | 6       | 6      | 5        | 1      | 4.6    | 4.3     |
|       | Olivin  | 2         | 3       | 5      | 4        | 3      | 3.4    | 1.3     |
|       | Ellvis  | 4         | 1       | 1      | 1        | 4      | 2.2    | 2.7     |
|       | Kranich | 3         | 3       | 2      | 2        | 5      | 2.8    | 1.7     |
|       | Loyal   | 6         | 5       | 4      | 6        | 6      | 5.4    | 0.8     |
|       | Nimbus  | 1         | 4       | 3      | 3        | 2      | 2.6    | 1.3     |

Skillnaderna i angreppsnivå mellan försöken 2011 var stor även för försök inom samma odlingsområde. De starkaste angreppen förekom i sorterna Harnesk, Olivin, Loyal och Nimbus. Rankningen mellan sorter begränsades till dem som hade värden överallt. Den varierade mellan olika lokaler och variansen för sorterna Ellvis och Harnesk var stor, sett över fem försök. Samstämmigheten i rankningen mellan sorter i två försök i samma odlingsområde var något bättre för dem i Västergötland (Järpås och Grästorp) än för dem i Östergötland (Glyttinge och Marstad).

Skillnaderna i angreppsnivå mellan försöken 2012 var också stor även för försök inom samma odlingsområde. De starkaste angreppen förekom i sorterna Harnesk, Kranich, Loyal och Nimbus. Rankningen mellan sorter begränsades till dem som hade värden överallt. Den varierade måttligt mellan olika lokaler. Sorten Ellvis hade den största variansen (1.7) sett över fem försök. Samstämmigheten i rankningen mellan sorter i två försök i samma odlingsområde var god med undantag för sorten Ellvis i Västergötland (Järpås och Grästorp).

Statistisk analys av angrepp i olika sorter i 24 försök över fyra år, tre odlingsområden och sju sorter (Olivin, Ellvis, Kranich, Loyal, Audi, Cumulus och Nimbus, (Harnesk utgick 2014)), kompletterade med försöksutförarens graderingar i några fall, visade signifikanta skillnader i angreppsnivåer mellan försök i ett område, mellan odlingsområden och mellan sorter under ett eller flera år. Däremot fanns det inga statistiskt signifikanta interaktioner mellan vetesort och odlingsplats ( $p=0.99$ ). Fig. 1 visar hur sorterna Olivin (2) Loyal (11) och Nimbus (18) utgör en grupp som karakteriseras av starkare angrepp av svartpricksjuka över alla år och områden. Kranich (8), Ellvis (7), Audi (11) och Cumulus (17) bildar tillsammans en grupp med svagare

**Tabell 2.** Angrepp av svartpricksjuka 2012 på bladnivå 2 omkring DC 77. Procent angripen bladyta, signifikansnivå inom lokal och rankning av angrepp inom lokal. Medelvärde av 2x10 blad per sort.

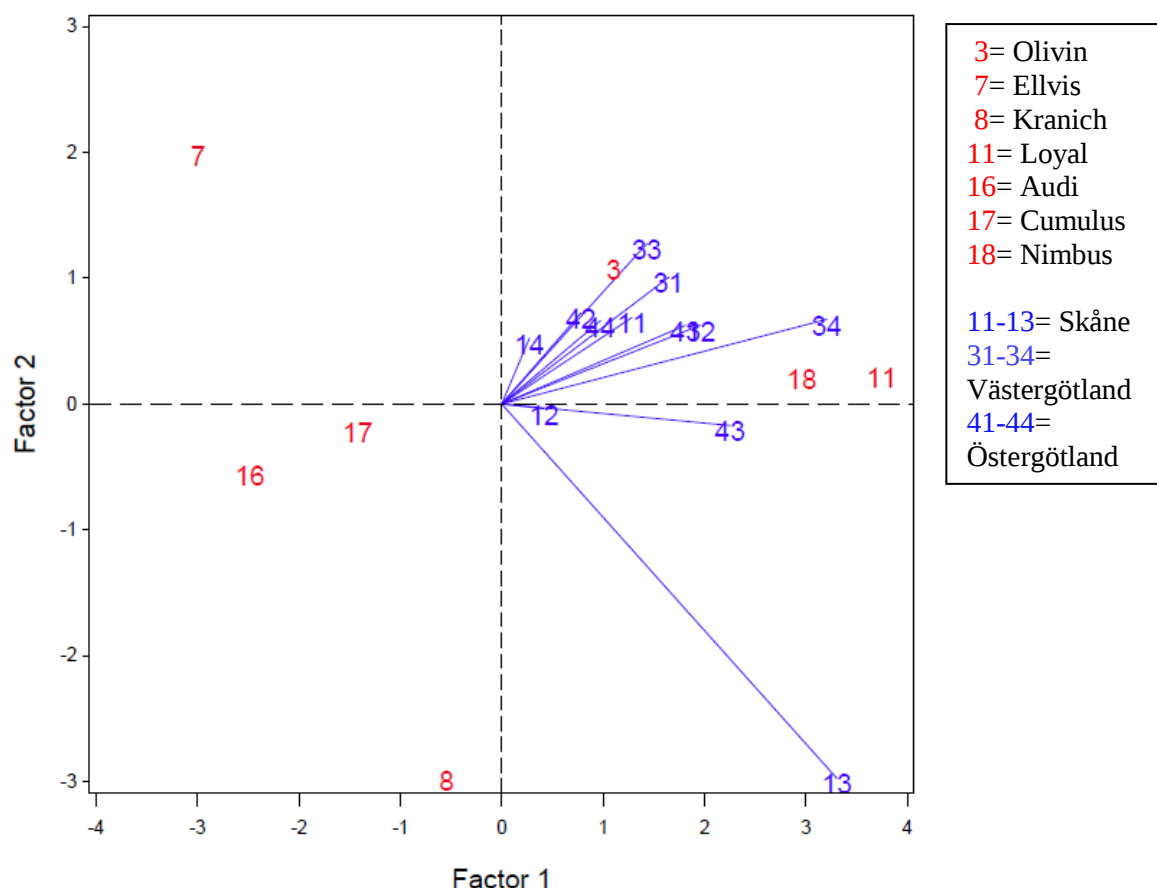
|       | Lokal<br>Sort | Vreta-<br>kloster | Lindevad | Järpås | Grästorp | Sandby | Klagstorp | Medel-<br>värde | Varsians |
|-------|---------------|-------------------|----------|--------|----------|--------|-----------|-----------------|----------|
| %     | Harnesk       | 16.7              | 5.7      | 25.0   | 3.7      | 2.9    | 1.6       | 6.6             |          |
|       | Olivin        | 14.4              | 1.3      | 25.0   | 2.2      | 2.2    | 0.7       | 4.0             |          |
|       | Ellvis        | 3.0               | 0        | 2.0    | 2.9      | 1.6    | 0.6       | 1.6             |          |
|       | Kranich       | 1.7               | 0.4      | 9.6    | 1.8      | 1.9    | -         | 4.0             |          |
|       | Loyal         | 6.2               | 2.0      | 20.6   | 2.0      | 2.2    | 1.1       | 4.4             |          |
|       | Audi          | -                 | 0        | 0.6    | 0.4      | 1.0    | -         | 0.4             |          |
|       | Cumulus       | -                 | 0.5      | 4.5    | 0.3      | -      | -         | 2.5             |          |
|       | Nimbus        | 11.8              | 2.5      | -      | 3.3      | 10.1   | -         | 7.1             |          |
|       | Stigg         | 0                 | 0        | 2.1    | 1.1      | -      | -         | 1.0             |          |
| Sign. |               | ***               | ***      | ***    | ***      | ***    | n.s.      |                 |          |
| Rank  | Harnesk       | 5                 | 5        | 4.5    | 5        | 5      | -         | 4.9             | 0.1      |
|       | Olivin        | 4                 | 3        | 4.5    | 3        | 4      | -         | 3.7             | 0.4      |
|       | Ellvis        | 2                 | 1        | 1      | 4        | 1      | -         | 1.8             | 1.7      |
|       | Kranich       | 1                 | 2        | 2      | 1        | 2      | -         | 1.6             | 0.3      |
|       | Loyal         | 3                 | 4        | 3      | 2        | 3      | -         | 3.0             | 0.5      |

angrepp sett över år och område. Harnesk skulle ha ingått i den första gruppen. Alla kombinationer av odlingsområde och år ligger väl samlade i figuren, med ett undantag (Skåne 2013). Det går därför inte att utläsa någon koppling mellan sort och område.

Undersökningen av parningstyper visade att 26-44 % av proverna hörde till parningstyp MAT1-1 och 56-74 % till parningstyp MAT1-2. Båda parningstyperna kunde förekomma på samma blad och även i samma bladfläck.

Det visade sig vara mycket svårt att finna markörer som fungerade på allt insamlat växtmaterial. För de prover som användes vid det första urvalet markörer och för majoriteten av proverna insamlade vid Marstad 2011 fungerade de ursprungliga markörerna bra och det ledde till analyserbara resultat. För prover som samlats in på andra platser eller under andra år fungerade markörerna sämre och ibland inte alls. Detta ledde till ett omfattande arbete med felsökning inom alla arbetsmoment; provberedning, extraktion, spädningar, val av enzymer och deras koncentrationer, upprepning av tidigare provers analys, nya beställningar av markörer, inställningar av maskiner m.m. Prover skickades också för sekvensering för att få bekräftat att det var rätt svampart.

När nya markörer för mikrosatelliter (Owen m.fl., 1998) provades fungerade de bättre än de ursprungliga för en del prover från andra år och lokaler och inte alls för andra; både bland sådana som fungerat respektive inte fungerat tidigare. Utökad felsökning ledde till bekräftelse att proverna från Marstad 2011 och några prover från Västergötland 2011 var de enda som fungerade i sådan utsträckning att de kunde storleksbestämmas och analyseras.

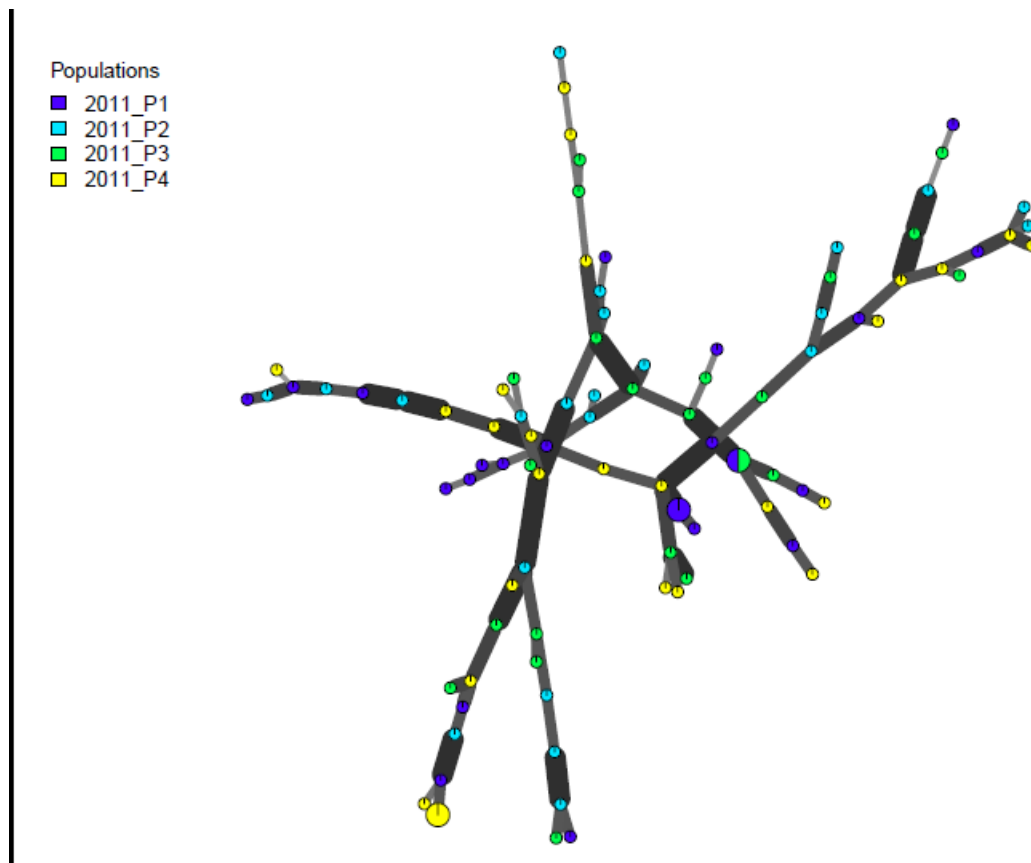


Figur 1. Interaktion mellan sorter (röd) och odlingsområde (blå) i sortförsök under 2011-2014. Se text för ytterligare förklaring.

Prover från Marstad i Östergötland 2011 får här utgöra exempel från de analyserbara resultaten. Proverna uppvisade mycket stor genetisk variation. Bland totalt 93 prover från fyra vetesorter (Olivin, Kranich, Loyal, Nimbus) fanns det 90 unika individer, dvs. det var endast 3 identiska individer som förekom mer än en gång. Motsvarande analys där sex sorter ingick (föregående fyra samt Harnesk och Ellvis) visar samma mönster med nästan lika många olika genotyper som det var prover totalt.

En AMOVA (Analysis of molecular variance) visade att variationen inom en sort var i samma storleksordning ( $MS=1.9$ ) som variationen mellan sorter ( $MS=2.1$ ). Den genetiska differentieringen mätt som  $G_{ST}$  var endast 0.02 - 0.19 med de sex markörer som användes. Det betyder att det var inga skillnader mellan svamppopulationerna på de olika vetesorterna. Ett värde närmare 1.0 skulle ha tytt på stor variation mellan populationerna, och i det här fallet här skilda svamppopulationer på olika sorter.

Det fanns inte heller någon struktur i materialet som kunde relateras till olika sorter (Fig. 2). Prover från fyra sorter, här representerade som P1 – P4 och med olika färger i figuren, fördelar sig jämnt över hela "trädet". Ju tjockare linjen mellan punkter är desto starkare är släktskapet mellan proverna. De tre prover som förekommer mer än en gång finns i ett fall i två olika sorter (blå+grön stor prick) och i de andra fallen i samma sort (blå resp. gul stor prick).



Figur 2. Genetisk diversitet hos *Z. tritici* i 93 prover från fyra vetesorter (Olivin-P1, Kranich-P2, Loyal-P3, Nimbus-P4). Marstad i Östergötland 2011.

Varken i exemplet ovan eller i de andra delar av materialet vilka gav begränsade möjligheter till analys, p.g.a. icke fungerande markörer, fanns det tecken på att några genotyper skulle förekomma mer frekvent i en sort än i en annan.

Inga resultat från inokulering av blad av olika vetesorter med isolat från andra sorter kunde analyseras.

## Diskussion

Resultaten från projektet visar att det förekommer genetiskt olika populationer av *Z. tritici* i olika delar av landet och kanske på en ännu mindre skala. Svampen har också en omfattande sexuell förökning vilket kan bidra till utvecklingen av lokala populationer. Hypotesen att olika isolat av *Z. tritici* har specialiserat sig på olika vetesorter har inte kunnat bekräftas på grund av svårigheter att finna mikrosatellit markörer som fungerade för tillräckligt stora delar av det material som samlats in.

Analys av graderingar i sortförsök kunde inte visa något samband mellan sort och odlingsplats. De skillnader som identifierades kan i första hand förknippas med naturlig variation, lokalt väder och odlingsfaktorer. Angrepp av en svamp kan också hämma angrepp av en annan. Eftersom flera sjukdomar fanns i försöken kan detta inte uteslutas men undersökningen var å andra sidan inte upplagd så att detta kunde belysas fullständigt. För att komma till ett definitivt svar på frågan om samband mellan angrepp i sorter och odlingsplats behöver fältdata kompletteras med information om den genetiska strukturen i *Z. tritici*.

populationen i fält. Detta kan inte göras utan att man först utvecklar nya markörer ur en större samling svenska isolat av *Z. tritici*.

*Z. tritici* är en heterotallisk svamp. Det innebär att sexuell förökning bara kan ske om två individer av svampen med olika parningstyp MAT1-1 respektive MAT1-2 möts. Annars sker bara asexuell förökning. Förekomsten av båda parningstyperna MAT1-1 och MAT1-2 och proportionerna dem emellan visar att det finns goda förutsättningar för sexuell förökning av *Z. tritici*. Att så också sker visas av den mycket stora genetiska diversiteten i de undersökta proverna. De populationer som fanns i fälten är resultat av sexuell förökning som kan ha skett året innan och sedan har ascosporer spridits med vind och infekterat veteplantor under hösten eller övervintrat och infekterat följande vår. Det är inte ovanligt att upptäcka angrepp under senhösten och vintern så höstinfektionerna har stor betydelse för svampens etablering i fält. Den sexuella förökningen innebär stora möjligheter för att lokalt anpassade virulenta och aggressiva genotyper selekteras fram på kort tid. Det ökar risken för utveckling av resistens mot fungicider och eroderande resistens hos resistent eller mindre mottagliga sorter.

Släktskap mellan olika isolat och isolatpopulationers storlek undersöks med markörer (s.k. mikrosatelliter). De använda markörerna, som var utvecklade i England och USA (Owen m.fl., 1998; Goodwin m.fl., 2007), har använts och fungerat upprepade gånger i utländska studier. I litteraturen finns det flera exempel på förekomst av lokala populationer som har identifierats med hjälp av dessa markörer (El Chartouni m.fl., 2011; Gurung m.fl., 2011). I den svenska studien har de däremot fungerat mycket olika från fall till fall. Just detta; att de inte fungerade överallt, visar att *Z. tritici* har utvecklat lokala populationer i Sverige. Sannolikt förändras de också från år till år på grund av omfattande sexuell reproduktion. Hur stora skillnaderna är och hur stora förändringarna är mellan år kan inte utläsas av här på grund av stora luckor i resultaten från arbetet med markörerna. Ju större skillnaderna mellan populationerna är och ju större förändringarna är från år till år desto viktigare skulle det vara att bevaka effekterna av fungicidbehandlingar och hur olika sorter angrips. Om olika genotyper av patogenen infekterar olika vetesorter på en plats, så skulle det kunna detekteras med de genetiska markörerna. Det skulle vara bevis för en stark interaktion mellan isolat och sort och att svampen kan anpassa sig till olika sorter. I sin tur skulle det ge ledtrådar om hur hållbara olika typer av resistens kunde vara i praktiken. För att kunna besvara ovanstående frågor behöver man utveckla markörer som baseras på isolat från olika platser i landet.

## Slutsatser och råd

Slutsatser från detta projekt är att

- 1) båda parningstyperna av *Z. tritici* förekommer i sådan frekvens att sexuell reproduktion av svampen är möjlig
- 2) det är en mycket stor genetisk variation i *Z. tritici* inom ett fält och det tyder på omfattande sexuell reproduktion i svampens livscykel
- 3) den genetiska variationen kan inte översättas till specialisering av olika isolat på olika sorter.
- 4) det tycks finnas lokala populationer av *Z. tritici* i landet. Detta baseras på att flera primärer har fungerat väl för prover från ett område och år men inte för de övriga.
- 5) för vidare studier av populationer av *Z. tritici* och hur de sammanhänger med utvecklingen av svartpricksjuka är det nödvändigt att utveckla markörer som härrör ur svenska isolat av svampen. Markörer som utvecklats i andra länder, och som visat sig fungera med prover från andra geografiska områden än där de utvecklats fungerar inte tillräckligt bra för populationsstudier med "svensk" *Z. tritici*.

6) om variationen i angrepp mellan lokaler beror på annat än miljö- och odlingsfaktorer så har det inte kunnat fastställas genom denna studie.

För en veteodlare pekar resultaten från detta projekt på vikten av att välja en vetesort som inte är starkt mottaglig för angrepp av svartpricksjuka. Det finns dessvärre inga resistenta sorter som kan rekommenderas idag. Sortvalet påverkas också av andra parametrar som är relaterade till odlingen (vinterhårdighet, avkastning etc.) och till resistens eller känslighet för andra skadegörare som är viktiga att ta hänsyn till i enskilda situationer.

Då höstvetegrödor kan infekteras av *Z. tritici* redan under hösten kan man överväga åtgärder som försvårar att de sker. På halmrester i fält finns det sannolikt sporhus med sexuellt bildade sporer (ascosporer) om svartpricksjuka har förekommit i odlingen under sommaren. Ascosporerna kan, till skillnad från de asexuella sporena, spridas med vinden och infektera nyss uppkommen höstvete på både korta och långa avstånd från fältet. Noggrann nedbrukning av halm eller plöjning efter skörd skulle försvåra denna spridning. Om tidig höstvetesådd dessutom kunde undvikas skulle det ytterligare försvåra för ascosporer av *Z. tritici* att infektera. Längre tidsintervall mellan höstvetegrödor skulle minska möjligheterna för infektion från svamp som överlevt på växtrester.

Det är dessutom mycket viktigt att bevaka resultatet av fungicidbehandlingar som utförs mot svartpricksjuka och följa upp orsaken om man ser en svag effekt. En svamp som har stor förmåga till förändring kan utveckla resistens mot fungicider. Sådan finns redan idag och det är därför viktigt att man följer de råd om strategier för att bromsa utveckling och spridning av fungicidresistens som ges av landets växtskydds- och växtodlingsrådgivare.

De ovan nämnda åtgärderna ingår i principerna för tillämpning av integrerat växtskydd.

### **Publikationer**

A. Djurle & M. Grudzinska-Sterno. 2013. Genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola* on wheat and its interaction with cultivar and environment. 11th International Epidemiology workshop, Beijing, augusti 2013.

### **Resultatförmedling till näringen**

Projektet presenteras vid en IPM workshop på SLU i februari 2011 där ett stort antal rådgivare medverkade.

Delresultat har presenterats vid ett möte med Ämneskommittén för växtskydd i augusti 2012 och korta lägesrapporter har lämnats vid motsvarande möten därefter.

Till ett möte i april 2015 var en ny presentation planerad, men fick ställas in p.g.a. sjukdom.

En sammanfattning av föredraget lades in i mötesprotokollet och det kommer att publiceras på FältForsks hemsida.

På institutionens hemsida har det tidigare funnits en presentation av projektet.

<http://www.slu.se/sv/institutioner/skoglig-mykologi-vaxtpatologi>

### **Litteraturreferenser**

El Chartouni, L., et al. (2011). "Genetic diversity and population structure in French populations of *Mycosphaerella graminicola*." *Mycologia* 103(4): 764-774.

Eyal, Z. (1999). "The septoria tritici and stagonospora nodorum blotch diseases of wheat." *European Journal of Plant Pathology* 105(7): 629-641.

- Goodwin, S. B., et al. (2007). "Identification and genetic mapping of highly polymorphic microsatellite loci from an EST database of the septoria tritici blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*." *Fungal Genetics and Biology* 44(5): 398-414.
- Gurung, S., et al. (2011). "Genetic Differentiation at Microsatellite Loci Among Populations of *Mycosphaerella graminicola* from California, Indiana, Kansas, and North Dakota." *Phytopathology* 101(10): 1251-1259.
- Owen, P. G., et al. (1998). "Isolation and characterization of microsatellite loci in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*." *Molecular Ecology* 7(11): 1611-1612.
- Waalwijk, C., et al. (2002). "Isolation and Characterization of the Mating-Type Idiomorphs from the Wheat Septoria Leaf Blotch Fungus *Mycosphaerella graminicola*." *Fungal Genetics and Biology* 35: 277-286.
- Wiik, L. (2009). "Yield and disease control in winter wheat in southern Sweden during 1977-2005." *Crop protection* 28(1): 82-89.