

آفات و بیماری‌های گیاهی  
جلد ۷۲، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۳

## شناسایی پاتوتیپ‌های قارچ عامل زنگ قهوه‌ای گندم *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* در استان‌های مازندران و گلستان

Identification of wheat leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*) pathotypes in  
Mazandaran and Golestan provinces

صفرعلی مهدیان<sup>۱</sup> و محمدعلی دهقان<sup>۲</sup>

۱- دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران

۲- مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان

(تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۲، تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۳)

### چکیده

قارچ عامل زنگ قهوه‌ای گندم *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* تنوع نژادی بالایی دارد و موجب بی‌تأثیر شدن ژن‌های مقاومت گندم می‌شود. به منظور شناسایی پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای، تعداد ۲۰ نمونه آلوده به زنگ قهوه‌ای از مزارع مختلف استان‌های مازندران و گلستان در سال ۱۳۸۲ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از خالص‌سازی و تکثیر اسپور، بیماری‌زا/ غیربیماری‌زا بولن هر یک از جدایه‌ها روی گیاهچه‌های ۱۲ لاین حامل ژن‌های مقاومت مختلف آزمایش شد و با سیستم بین‌المللی نام‌گذاری پاتوتیپ‌های قارچی، هشت پاتوتیپ شناسایی و کدگذاری شد. از بین پاتوتیپ‌های شناسایی شده پاتوتیپ 5.5.0.7 جمع‌آوری شده از منطقه ساری- مهدشت با غلبه بر هفت ژن مقاومت آلودگی بالایی ایجاد کرد و شدیدترین پاتوتیپ بود. پاتوتیپ‌های 5.0.0.5 و 4.1.4.4 جمع‌آوری شده از منطقه بین قائم‌شهر و ساری با غلبه بر چهار ژن مقاومت ضعیف‌ترین پاتوتیپ‌ها بودند. شایع‌ترین پاتوتیپ (4.1.4.5) با فراوانی ۴۰٪ در مناطق مختلف دو استان حضور داشت و با غلبه بر پنج

ژن مقاومت دارای بیماری‌زایی حد واسط بود. همچنین در نتیجه این تحقیق مشخص شد کلیه جدایه‌ها روی لاین حامل ژن Lr30 بیماری‌زا بودند ولی هیچ کدام از آنها روی لاین‌های حامل ژن‌های Lr2a و Lr9, 24, 26 بیماری‌زا نبودند.

واژه‌های کلیدی: گندم، زنگ قهوه‌ای، پاتوتیپ، ژن‌های مقاومت

#### مقدمه

قارچ عامل زنگ قهوه‌ای گندم *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* Eriks. روی گندم مناطق شمالی کشور در اغلب سال‌ها خسارت وارد می‌کند. وجود آب و هوای معتدل بهاری و رطوبت فراوان در طول فصل رشد گیاه در استان‌های مازندران و گلستان به خسارت بالای این بیماری کمک می‌کند. این شرایط محیطی برای ایجاد جوش‌های زنگ قهوه‌ای گندم، تولید اسپور فراوان و گسترش آن در مزارع گندم کاملاً مناسب است. در سال ۱۳۸۲ طی بازدیدهایی که از مناطق مختلف استان‌های مازندران و گلستان به عمل آمد بالاترین میزان آلودگی در مزارع دشت‌ناز و مهدشت ساری و با درجه کمتری در مزارع ایستگاه تحقیقات کشاورزی قراخیل مشاهده شد. آلودگی شدید گندم به زنگ قهوه‌ای یا به علت کشت ارقام تجاری حساس به این بیماری است یا ناشی از وجود پاتوتیپ‌های با بیماری‌زایی بالا می‌باشد. بهترین روش کنترل این بیماری کاشت ارقام مقاوم است. برای تولید رقم مقاوم به زنگ قهوه‌ای لازم است مشخص شود کدام ژن‌های مقاومت علیه نژادها (پاتوتیپ‌ها)ی موجود در منطقه تأثیر دارند تا آنها در ارقام مورد کشت منطقه استفاده شوند. برای این کار ابتدا پاتوتیپ‌های موجود در منطقه باید شناسایی شده و سپس ژن‌هایی که در مقابل این پاتوتیپ‌ها مقاومت بالایی دارند در ارقام تجاری بکار گرفته شوند.

تاریخچه شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ *P. r. tritici* به سال ۱۹۲۳ بر می‌گردد و ابتدا Mains & Jackson (1923; 1926) به وجود نژادهای فیزیولوژیکی متفاوت در بین جمعیت قارچ *P. r. tritici* پی بردند. پس از آنها روش شناسایی نژادهای این قارچ هر از چند سال تغییر یافته و اصلاح شده است (Jhonston & Mains, 1932; Basile, 1957; Johnston & Browdor, 1966; Loegering et al., 1961; Young & Browder, 1965). لاین‌های تقریباً ایزوژن برای شناسایی نژادهای قارچ *P. r. tritici* ابتدا در کانادا (Samborski, 1968) و سپس در ایالات متحده

(Long et al., 1985) مورد استفاده قرار گرفته و پس از آن مورد قبول عامه واقع شدند. با این حال در کشورهای مختلف دنیا روش‌های نامگذاری متفاوتی برای شناسایی پاتوتیپ‌های قارچی بکار می‌رفت. فقدان یک سیستم نامگذاری واحد و مورد قبول عامه، ارتباط محققین برای توصیف نژادهای *P. r. tritici* را محدود کرده و مانع از تحقیقات کامل و اپیدمیولوژی می‌شد. در سال ۱۹۸۹ محققین آمریکای شمالی فرمول غیر بیماری‌زایی/بیماری‌زایی را به جای روش‌های قبلی توصیه نمودند تا به منظور ارتباط بیشتر محققین در مطالعات ژنتیکی و تکاملی زنگ قهوه‌ای گندم از آن استفاده شود (Long & Kolmer, 1989). این روش در کشورهای زیادی بکار گرفته شد و پاتوتیپ‌ها را با حروف انگلیسی A تا T نامگذاری می‌کرد. در سال ۱۹۹۶ برای کامل‌تر نمودن روش نام‌گذاری پاتوتیپ‌های قارچی مختلف یک سیستم عمومی توسط کمیته بین‌المللی کارشناسان بیماری‌های قارچی غلات پیشنهاد شد (Limpert & Muller, 1994). در این روش هر پاتوتیپ با یک کد عددی مشخص می‌شود و هر کد، میزان بیماری‌زایی پاتوتیپ را نیز نشان می‌دهد. در این سیستم ارقام متمایز کننده در گروه‌های سه‌تایی قرار می‌گیرند و هر یک از ارقام یک کد یک رقمی می‌گیرند که به ترتیب ۱، ۲ و ۴ می‌باشد. درجات بیماری‌زایی پاتوتیپ‌ها بین صفر تا هفت تغییر می‌کند. اگر تعداد ۱۲ رقم متمایز استفاده شود چهار گروه سه‌تایی تشکیل می‌شود و درجه بیماری‌زایی پاتوتیپ‌ها روی هر گروه با مجموع کدهای هر گروه مشخص می‌شود. بر این اساس این‌گونه نامگذاری را کدگذاری سه قلو یا سه‌تایی نامیده‌اند (Limpert & Muller, 1994; Limpert et al., 1994).

در ایران نژادهای زنگ قهوه‌ای گندم توسط (Bamdadian (1973 و (Mahdian et al., (1997) با روش قدیمی (Johnston & Browder (1966) تعیین شده است. همچنین (Mahdian et al., (1999) با روش (Long & Kolmer (1989) پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای گندم در ایران را تعیین کرده‌اند. (Torabi et al., (2001, 2002) ژنتیک بیماری‌زایی ۱۲ جدایه زنگ قهوه‌ای گندم را مشخص کردند و ژن‌های بیماری‌زایی *P. r. tritici* را روی ۲۸ لاین تقریباً ایزوژنیک تعیین نمودند. این تحقیق با استفاده از سیستم بین‌المللی نامگذاری پاتوتیپ‌های قارچی به تفکیک و شناسایی جدایه‌های قارچ *P. r. tritici* در استان‌های مازندران و گلستان پرداخته است.

## روش بررسی

بیست نمونه زنگ قهوه‌ای گندم در سال ۱۳۸۲ از مناطق مختلف استان‌های مازندران و گلستان جمع‌آوری شد. برای بقاء نمونه‌ها و حذف قارچ‌های همراه، نمونه‌ها روی گیاهچه‌های ارقام حساس مانند بولانی و روشن که برای جلوگیری از رشد برگ دوم و افزایش اندازه جوش (Pustule) با هورمون مالیک هیدرازید آبیاری شده بودند، مایه‌زنی شدند. بعد از جداسازی قارچ، عمل خالص‌سازی یا تک‌جوش کردن از طریق انتقال اسپورهای یک جوش مجزا روی گیاهچه‌های رقم حساس انجام گرفت. اسپورهای حاصل از تک‌جوش، چند مرحله تکثیر شدند تا به مقدار کافی اسپور تهیه گردید. از هر نمونه یک جدایه تک‌جوش برای شناسایی خصوصیات هر پاتوتیپ، مورد آزمایش قرار گرفت. گیاهچه‌های ۱۲ لاین متمایز کننده تقریباً ایزوژن تاچر (Long & Kolmer, 1989) همراه رقم حساس بولانی (شاهد) با اسپور هر یک از جدایه‌ها مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی اسپورها با استفاده از قلم مو سوسپانسیون اسپور روی گیاهچه‌ها منتقل گردید. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و رطوبت بالای ۹۵ درصد و حرارت حدود ۱۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آن در حرارت بین ۱۷ الی ۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۷۰ درصد و نور طبیعی غیرمستقیم (حدود ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. ۱۲ الی ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی، تیپ‌های آلودگی ایجاد شده روی لاین‌های متمایز کننده بر اساس جدول رولفز و همکاران یادداشت برداری شد (Roelfs et al., 1992). فنوتیپ غیر بیماری‌زایی / بیماری‌زایی هر جدایه بر اساس آلودگی بالا (High = h) تیپ‌های آلودگی ۳-۴ یا پایین (Low = L) تیپ‌های آلودگی ۰-۲ روی لاین‌های متمایزکننده مشخص شد. برای اطمینان بیشتر از نتایج، هر جدایه دو بار روی لاین‌های متمایزکننده مایه‌زنی شد. لاین‌هایی که تیپ آلودگی روی آن‌ها حد واسط آلودگی بالا و پایین (بین H و L) بود بار سوم و چهارم نیز مایه‌زنی شدند تا گروه فنوتیپی آن‌ها دقیقاً تعیین گردد. با توجه به میزان فراوانی پاتوتیپ‌ها روی هر یک از ژن‌های مقاومت Lr، به آن‌ها درجه‌های ۰ تا ۱۰۰ داده شد. به ژنی که در مقابل کلیه پاتوتیپ‌ها حساسیت داشته درجه ۰ و ژنی که در مقابل کلیه پاتوتیپ‌ها مقاومت داشته درجه ۱۰۰ داده شد. بر این اساس میزان تأثیر هر یک از ژن‌ها در مقابل جدایه‌های جمع‌آوری شده به صورت نمودار تهیه شد.

## نتیجه و بحث

در اثر مایه‌زنی ۲۰ جدایه زنگ قهوه‌ای روی لاین‌های متمایزکننده پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای هشت پاتوتیپ مختلف (5.0.0.5 - 5.0.0.7 - 5.1.0.7 - 1.5.0.7 - 4.1.4.4 - 4.1.4.5 - 5.5.0.7 - 4.5.4.5 - تعیین شدند (جدول ۱). هیچ یک از جدایه‌ها روی چهار لاین حامل ژن‌های Lr9, 24, Lr2a و 26 بیماری‌زا نبودند (جدول ۱). در اثر مایه‌زنی جدایه‌های مختلف روی لاین‌های حامل Lr9 و Lr24 واکنش مقاومت با تیپ آلودگی مصون (0) و تقریباً مصون (±)، روی لاین Lr26 واکنش مقاومت با تیپ آلودگی 1-2 و روی لاین Lr2a واکنش مقاومت با تیپ آلودگی 2+ حاصل شد. کلیه جدایه‌ها روی لاین حامل ژن Lr30 بیماری‌زا بودند (جدول ۱). با مایه‌زنی جدایه‌های مختلف روی این لاین تیپ آلودگی نیمه‌حساس (3) و حساس (4) به وجود آمد. روی هفت لاین باقی‌مانده حالت‌های غیربیماری‌زا و بیماری‌زا وجود داشت (جدول ۱). از بین لاین‌های اخیر بیماری‌زایی روی لاین‌های حامل ژن‌های Lr11 و Lr2c, 3, 3ka بیش از ۵۰ درصد و روی لاین‌های حامل ژن‌های Lr1, 16 و Lr17 کمتر از ۵۰ درصد بود. به عبارت دیگر از نظر مقاومت لاین‌های حامل ژن‌های Lr11 و Lr2c, 3, 3ka در مقابل پاتوتیپ‌های موجود در منطقه اثر کمی داشتند (بعضی از آن‌ها فقط در مقابل یک جدایه مقاومت داشتند) و لاین‌های حامل ژن‌های Lr1, 16 و Lr17 در مقابل پاتوتیپ‌های موجود در منطقه مقاومت قابل قبول داشتند و در مقابل اکثر جدایه‌ها مقاومت نشان دادند. از بین این ژن‌ها، ژن Lr16 مقاوم‌ترین و ژن‌های Lr11 و Lr2c حساس‌ترین ژن در مقابل پاتوتیپ‌های منطقه بودند. میزان مقاومت هر یک از این ژن‌ها در مقابل جدایه‌های مورد آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.

مهم‌ترین خصوصیتی که سبب جداسازی و شناسایی پاتوتیپ‌ها از هم می‌شود بروز پدیده مقاومت یا حساسیت ژن‌های میزبان در مقابل ژن‌های مربوط به بیماری‌زایی پاتوژن، یا رابطه ژن در مقابل ژن (gene for gene) است. پدیده مقاومت در میزبان و غیربیماری‌زایی در پاتوژن در اکثر موارد به صورت غالب گزارش شده است ولی استثناء نیز وجود دارد (McIntosh *et al.*, 1995; Kolmer & Dyck, 1994). بر این اساس یافته‌های این تحقیق را می‌توان در سه گروه قرار داد.

جدول ۱- عکس العمل ۱۲ لاین تقریباً ایزوژن در مقابل جدایه‌های *Puccinia recondita* f. sp.

*tritici* و کد سه تایی پاتوتیپ‌ها در استان‌های مازندران و گلستان

Table 1- Reaction of 12 near isogenic lines of wheat to different isolates of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and tripletcode of pathotypes in Mazandaran and Golestan provinces

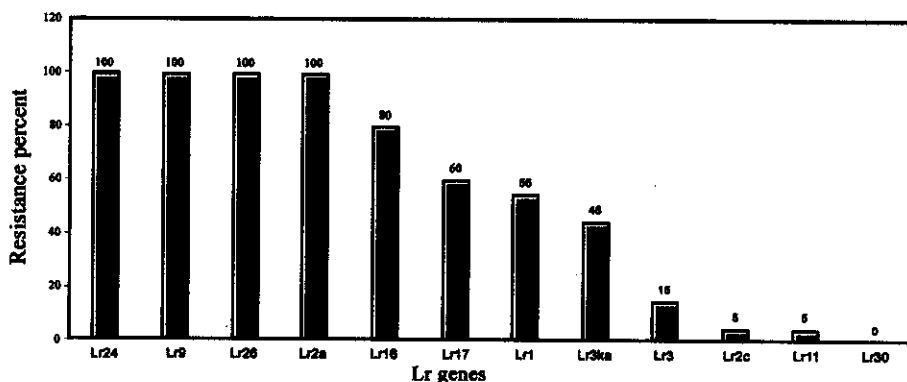
شماره جدایه Iso. No.	محل جمع‌آوری Place of collection	Lr Genes												کد سه تایی Tripletcode
		1	2a	2c	3	9	16	24	26	3ka	11	17	30	
1	Ghaemshahr-Gh.	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
2	Ghaemshahr-Gh.	L	L	H	H	L	H	L	L	H	H	L	H	4.5.4.5
3	Ghaemshahr	L	L	H	H	L	L	L	L	H	L	L	H	4.1.4.4
4	Ghaemshahr	H	L	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	5.0.0.7
5	Sari	H	L	H	L	L	L	L	L	L	H	L	H	5.0.0.5
6	Ghaemshahr-Gh.	H	L	H	L	L	L	L	L	L	H	H	H	5.0.0.7
7	Gorgan-Aragh.M.	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
8	Sari-Mahdasht	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
9	Sari-Dashtenaz	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
10	Sari-Dashtenaz	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
11	Sari	L	L	H	H	L	H	L	L	H	H	L	H	4.5.4.5
12	Mineodasht	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	5.1.0.7
13	Gorgan-Aragh.M.	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
14	Gorgan-Aragh.M.	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
15	Sari-Mahdasht	H	L	H	H	L	H	L	L	L	H	H	H	5.5.0.7
16	Sari-Mahdasht	H	L	L	H	L	H	L	L	L	H	H	H	1.5.0.7
17	Gorgan-Masra. N.	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	5.1.0.7
18	Gorgan	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	5.1.0.7
19	Kordkooy	L	L	H	H	L	L	L	L	H	H	L	H	4.1.4.5
20	Bandargaz	H	L	H	H	L	L	L	L	L	H	H	H	5.1.0.7

L : Low Infection Type

H : High Infection Type

L = تیپ آلودگی پایین

H = تیپ آلودگی بالا



شکل ۱- ترتیب میزان مقاومت ژن‌های Lr در مقابل پاتوتیپ‌های تعیین‌شده *P. recondita* f. sp. tritici  
 Fig. 1- Arrangement of resistance of 12 Lr genes to identified pathotypes of *P. recondita* f. sp. tritici

گروه اول ژن‌های مقاومتی که روی آن‌ها هیچگونه بیماری‌زایی یافت نشد: احتمالاً این ژن‌ها در میزان به صورت مقاومت غالب (RR) بوده و در جدایه‌های قارچ به صورت غیربیماری‌زایی غالب (AA) تفسیر می‌شود (RR:AA). در این بررسی چهار ژن مقاومت Lr2a، Lr9، Lr24، Lr26 دارای این ویژگی بودند. بر اساس گزارش‌های موجود بیماری‌زایی روی ژن مقاومت Lr9 در بعضی از کشورهای جهان وجود دارد (McIntosh et al., 1995; Roelfs et al., 1992). ولی پاتوتیپ‌های ایران هیچگونه بیماری‌زایی روی این ژن نداشته‌اند (Mahdian et al., 1999). بیماری‌زایی روی Lr24 از مناطق آمریکای شمالی و جنوبی و آفریقای جنوبی گزارش شده است. پاتوتیپ‌های ایران قادر به بیماری‌زایی روی این ژن نبوده‌اند (Mahdian et al., 1999). این ژن از گونه *Thinopyrum ponticum* = *Agropyron elongatum* به گندم نان منتقل شده است و با ژن Sr24 (زن مقاومت به زنگ سیاه گندم *Puccinia graminis* f. sp. tritici) پیوسته (Linked) روی کروموزوم 3DL در یک مقر ژنی قرار دارد. بیماری‌زایی روی ژن Sr24 نیز در سطح جهان غیرمعمول است (McIntosh et al., 1995; Roelfs et al., 1992). در برنامه اصلاح و ایجاد مقاومت علیه پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای و زنگ سیاه گندم استفاده از ژن Lr24 که دربرگیرنده ژن

مقاومت به زنگ سیاه (Sr24) نیز می‌باشد می‌تواند مقاومت خوبی علیه این بیماری‌ها ایجاد نماید.

بیماری‌زایی روی Lr26 و Lr2a در مناطق مختلف جهان وجود دارد. در ایران بیماری‌زایی روی این دو ژن قبلاً گزارش شده است اما در گروه ژن‌هایی قرار داشته‌اند که در مقابل پاتوتیپ‌های موجود در ایران دارای مقاومت بالایی هستند (Mahdian et al., 1999). ژن Lr26 با ژن Sr31 و ژن Yr9 (ژن مقاومت به زنگ زرد (نواری) گندم (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) به صورت پیوسته (Linked) روی کروموزوم 1B در یک مقر ژنی قرار دارند (McIntosh et al., 1995). گروه دوم ژن‌های مقاومتی که روی آن‌ها کلیه جدایه‌ها بیماری‌زا بوده‌اند: این ژن‌ها در ترکیب‌های مختلف میزبان- پاتوژن به صورت RR:aa و rr:aa می‌توانند حضور داشته باشند. در این بررسی ژن مقاومت Lr30 دارای این ویژگی بوده است. بر اساس گزارش‌های موجود (McIntosh et al., 1995; Kolmer & Dyck, 1994) این ژن به صورت مغلوب به ارث می‌رسد بنابراین تفسیر آن به صورت یکی از ترکیب‌های rr:AA یا rr:aa صحیح است که هر دو حالت منجر به حساسیت می‌شود. استفاده از این ژن به منظور مقاومت علیه جدایه‌های زنگ قهوه‌ای در شمال ایران توصیه نمی‌شود.

گروه سوم ژن‌هایی که روی آن‌ها هم جدایه‌های غیربیماری‌زا و هم جدایه‌های بیماری‌زا وجود داشت: بیماری‌زایی روی این ژن‌ها در نقاط مختلف جهان کم و بیش وجود دارد (McIntosh et al., 1995). با توجه به اینکه در اثر مایه‌زنی جدایه‌های جمع‌آوری شده روی این ژن‌ها، نمایش خوبی از فنوتیپ غیر بیماری‌زایی/ بیماری‌زایی ظاهر شد بنابراین برای جداسازی و شناسایی جدایه‌های منطقه اهمیت زیادی داشتند.

در نتیجه این تحقیق مشخص شد که از بین پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای گندم در استان‌های مازندران و گلستان قوی‌ترین پاتوتیپ (5.5.0.7) از منطقه ساری روی هفت ژن بیماری‌زا بوده و ضعیف‌ترین آن‌ها (4.1.4.4 و 5.0.0.5) از منطقه بین قائم‌شهر- ساری روی چهار ژن بیماری‌زا بوده است. با این مشخصات اگر برنامه ایجاد مقاومت علیه قوی‌ترین پاتوتیپ‌های منطقه مد نظر باشد، محدود به انتخاب ژن‌های گروه اول و Lr16 با اهمیت کمتری است. اما برای ایجاد مقاومت علیه ضعیف‌ترین پاتوتیپ تا هشت ژن Lr دامنه انتخاب وجود دارد. بطور کلی بالا بودن توان بیماری‌زایی پاتوتیپ‌ها روی ژن‌های مقاومت Lr، کاربری این ژن‌ها در برنامه اصلاح



و ایجاد مقاومت در گندم را با مشکل روبرو می‌کند. در برنامه اصلاح و تهیه رقم مقاوم لازم است رقمی تهیه شود که در مقابل قوی‌ترین پاتوتیپ‌ها مقاومت نشان دهد. از بین پاتوتیپ‌های شناسایی شده، پاتوتیپ 4.1.4.5 بیشترین فراوانی (۴۰ درصد) را داشت و چهار پاتوتیپ 5.5.0.7، 5.0.0.5، 4.1.4.4 و 1.5.0.7 دارای فراوانی کم (۵ درصد) بودند که نشانه تنوع نژادهای این قارچ در منطقه است.

#### سپاسگزاری

نگارندگان از کمک‌های مالی شورای پژوهشی دانشگاه مازندران در قالب طرح مصوب به شماره ۱۴/۱۴۳۵ و از زحمات بی‌دریغ آقایان وحید رضائیان، عبدالکریم نظری و سیفا. روحانی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

---

نشانی نگارندگان: صفرعلی مهدیان، ساری، کیلومتر ۹ بلوار خزرآباد، ص.پ. ۵۷۸، دانشکده کشاورزی ساری، گروه گیاه‌پزشکی، مازندران، ایران؛ محمدعلی دهقان، گرگان، جاده کمربندی، مقابل پمپ بنزین، مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان، بخش اصلاح بذر.