

**ПРОУЧВАНЕ ВЛИЯНИЕТО НА ДОЗАТА НА ИНОКУЛУМА  
ПРИ ПОЛСКО ИЗПИТВАНЕ УСТОЙЧИВОСТТА НА ОБРАЗЦИ ЛЕЩА  
КЪМ ПРИЧИНИТЕЛЯ НА ФУЗАРИЙНОТО УВЯХВАНЕ  
(*Fusarium oxysporum f. sp. lentis*)**

**Йорданка Станоева, Емил Пенчев, Иван Киряков**  
Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево

**Резюме**

Станоева, Й., Е. Пенчев, И. Киряков, 2006. Проучване влиянието на дозата на инокулума при полско изпитване устойчивостта на образци леща към причинителя на фузарийното увяхване (*Fusarium oxysporum f. sp. Lentis*)

През периода 2001-2004 г., при полски условия е проучено влиянието на шест дози на инокулум от *F.o. f.sp. lentis* върху индекса на нападение (ИН) на 10 сорта/линии леща. За подготовка на инокулума са използвани стерилни ечемични семена, заразени със спорова суспензия от три изолата на гъбата. Опитът е заложен по блоковия метод в три повторения. ИН е изчислен на база девет бална скала за нападението на растенията при всеки сорт/линия. Анализът на варианса за ИН на включените в изследването сортове/линии при 6 дози на инокулум, за периода 2001-2004 г. показва наличието на статистически доказано взаимодействие между годината x дозата и генотипа x годината. Резултатите от проведеното изследване показват, че дози на инокулума от 40 до 120 g/m не оказват влияние върху ИН на сортовете/линии леща от *F.o. f.sp. lentis*. Поради наблюдаваните доказани разлики между най-ниската (20 g/m) и най-висока (140 g/m) доза на инокулума и доза 100 g/m препоръчваме нейното използване при полски анализ на устойчивостта на лещата към фузарино увяхване

**Ключови думи:** Леща – Фузарино увяхване – Дози на инокулум – *F. o. f.sp. lentis*

**Използвани съкращения:** Индекс на нападение – ИН

**Abstract**

Stanoeva, Y., E. Penchev, I. Kiryakov, 2006. Study on the effect of inoculum dose in field testing of lentil accessions resistance to the cause agent of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum f.sp. Lentis*)

The effect of six *F. o. f. sp. lentis* inoculum doses on the attack index (AI) of 10 lentil varieties/lines was investigated under field conditions during 2001-2004. Sterile barley seeds infected with spore suspension from three isolates of the fungus were used to prepare the inoculum. The trial was performed in block design in three replications. AI was calculated according to a nine-degree scale for reading the attack on plants from each variety/line. The analysis on the AI variance of the varieties/lines included in the study at six inoculation doses during the period 2002-2004 revealed significant year x dose and

genotype x year interactions. The results from the investigation showed that inoculation doses from 40 to 120 g/m did not affect the AI of the lentil varieties/lines. On the basis of the observed significant differences between the lowest (20 g/m) and highest (140 g/m) inoculation doses and dose 100 g/m, we recommend its use for field analysis on lentil resistance to fusarium wilt.

Key words: Lentil – Fusarium wilt – Inoculum doses – *F. o. f.sp. lentis*

Abbreviations: Attack index - AI

## УВОД

Лещата е основна зърнено-бобова култура в редица райони на света. Най-важният биотичен фактор, оказващ влияние върху продуктивността и е фузарииното увяхване (*Fusarium oxysporum f. sp. lentis*).

Според Khare (1980) загубите причинени от болестта могат да достигнат до 50 %, а според Agrawal et al. (1993) при благоприятни условия (топла пролет, сухо и горещо лято) болестта може да причини пълно унищожение на посева.

Няма данни за съществуването на физиологични раси при патогена. Преживява в почвата като хламидоспори и може да остане жизнеспособен в продължение на 8-10 години (Fisher et al., 1982).

Средствата за борба с фузарииното увяхване включват използване на здрав посевен материал, оптимална дата на сеитба, ротация и третиране на семената с фунгициди. Селекцията на устойчивост е най-ефикасният метод за борба с болестта.

Количеството на инокулама е един от факторите, определящи интензивността на проявление на болестта (Сидорова, 1983). При лабораторни изследвания, степента на фузарииното увяхване при лещата се увеличава след увеличаване концентрацията на *F.o. f.sp. lentis* над  $10^3$  микроконидии/ml (Erskine & Bayaa, 1996). Линейна корелация между концентрацията на инокулама и степента на увяхване е установена и при карамфила (Ben-Yerphet et al., 1994). Според авторите, увяхване може да възникне при концентрация на *F. oxysporum f. sp. dianthi* не по-малко от 6 рpg/g почва, и разпространението на болестта е в пряка зависимост от количеството на инокулама. Ldnda et al. (2001) посочват, че количеството на хламидоспорите на *F. oxysporum f. sp. ciceris* за g/почва е различна при различните температури. Според Erskine and Bayaa (1996) липсва връзка между концентрацията на инокулама от *F.o. f. sp.lentis* и степента на увяхване при лещата.

Целта на настоящето изследване е да се установи влиянието на доза на инокулум от *Fusarium oxysporum f. sp.lentis* върху индекса на нападение на образци леща при полски условия.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Изследванията са проведени при полски условия в ДЗИ – Генерал Тошево през периода 2001 – 2004 година. В изследването са включени 11 сорта/линии леща и три моноспорови изолати на *F.o. f.sp. lentis* - *Fol B*, *Fol 99.3* и *Fol 97.4*. Изолатите са съхранени върху филтърна хартия при температура 4 - 5 °C (Correl et al., 1986).

За получаване на активно растящи култури, върху картофено-декстрозен агар (КДА) бяха поставени парченца от филтърната хартия с колонизираната върху нея гъба, и бяха инкубирани за 5 дни при 25°C и 12 h фотопериод. Изолатите бяха намножени в картофено-декстрозен бульон (КДБ). За целта от активно растящите колонии бяха изрязвани дискове с диаметър 0.5 cm, които поставяхме в КДБ (по два диска за 200 ml бульон). Колбите с инокулирания бульон бяха поставени на клатачен апарат и инкубирани за 5 дни при стайна температура. След инкубирането бульонът

беше прецеден през 4 слоя тензух. Като субстрат за размножаване на патогена бяха използвани стерилни семена от ечемик. Семената бяха киснати във вода в продължение на 24 h и поставени в колби, запълващи 2/3 от обема им, след което бяха стерилизирани за 1h при 1 atm. След стерилизацията, охладен, ечемикът беше поставян в найлонови торбички и инокулиран със спорова суспензия ( $1 \times 10^6$ , по 25 ml/kg ечемик), поотделно за всеки изолат. Торбичките бяха връзвани и ечемикът беше инокулиран на тъмно при 25°C, в продължение на 2 седмици. Преди сеитбата, ечемикът инокулиран с отделните изолати беше смесван в равни количества и внасян в редовете непосредствено преди сеитбата.

В изследването бяха използвани 6 дози на инокулум: 20 g/m, 40g/m, 80 g/m, 100 g/m, 120g/m и 140 g/m. Опитът беше заложен по блоковия метод в 3 повторения, при рандомизирано разпределение на вариантите. Разстоянията между отделните блокове беше 2 m, а между отделните редове вътре в блока 0.5 m. Като контрола за наличието на естествена инфекция в опитното поле бяха засети три блока, без внасяне на изкуствена инфекция.

Реакцията на отделните растения беше отчитана във фаза цъфтеж и наливане на бобовите, като за целта беше използвана следната 9-степенна скала (Вауа et al. 1995): 1 - липсват симптоми (имунни); 3 - пожълтяване само на най-долните листа (устойчиви); 5 - пожълтяване на 50 % от листата (средно устойчиви); 7 - пожълтяване на цялото растение, по-слабо на върхните листа, възможно е и частично изсъхване (чувствителни); 9 - цялото растение или отделни разклонения са увехнали и / или изсъхнали (високо чувствителни). За всеки сорт/линия е изчислен индекс на нападение по формулата на Mc Kinney (по Сидорова, 1983) :  $X=e(ab)100/NK$ , където  $e(ab)$  - сума от произведението на броя на болните растения (a) и съответстващата им степен на нападение (b); N - общ брой обследвани растения; K - най-високата степен на скалата.

Получените резултати са обработени с помощта на статистически пакет Биостат (Пенчев, 1997).

## РЕЗУЛТАТИ

Резултатите от дисперсионния анализ за индекса на нападение (ИН) на 10 сорта/линии леща при инокулиране с 6 дози на инокулума от *F.o. f.sp. lentis* през периода 2001-2004 г. са представени в таблица 1. Получените резултати показват статистическо доказано взаимодействие между годината на изпитване x генотипа, годината x дозата, както и доказаност на проучваните фактори.

**Таблица 1.** Анализ на варианса за индекса на нападение на 10 сорта/линии леща при инокулиране с 6 дози на инокулума през периода 2001 - 2004 г.

	SS	MS	df	F оп	F теор.		
					0.05	0.01	0.001
Total	302898	421.28	719	-	-	-	-
Repeats	3490.25	1745.125	2	-	-	-	-
Година	178779	59593	3	779.06***	2.6	3.8	5.6
Доза	1912.75	382.55	5	5.00***	2.2	3.1	4.2
Сорт	49987.5	5554.16	9	72.61***	1.9	2.5	3.3
Год x Д	3987	265.79	15	3.47***	1.7	2.1	2.7
Год x С	17262.25	639.34	27	8.35***	1.4	1.7	2.1
Д x С	1948.25	43.29	45	0.56	1.4	1.6	2.0
Год. x Д x С	8967.5	66.42	135	0.86	1.3	1.4	1.6
Грешка	36563.5	76.49	478				

**Проучване влиянието на дозата на инокулума при полско изпитване устойчивостта на образци леща към причинителя на фузарииното увяхване (*Fusarium oxysporum f. sp. Lentis*)**

В таблица 2 са представени данните за средния ИН на 10 сорта /линии при различните дози на инокулиране. Най-нисък ИН средно за изпитваните сортове/линии и дози се наблюдава през 2002 г. (35.03), а най-висок през 2003 г. (75.09) и 2001 г. (70.77).

**Таблица 2.** Среден индекс на нападение на 10 сорта/линии леща при инокулиране с различни дози на инокулум за периода 2001-2004 г.

Година	Доза						Ср. За годината
	20 g/m	40 g/m	80 g/m	100 g/m	120 g/m	140 g/m	
2001	69.82	69.87	71.88	74.30	68.56	70.19	70.77
2002	34.19	38.82	36.89	34.64	34.17	31.46	35.03
2003	65.69	73.46	75.63	78.27	81.39	76.09	75.09
2004	54.51	55.71	55.41	56.12	56.42	55.08	55.52
Ср. за дозата	56.03	59.46	59.95	60.83	60.14	58.20	

GD<sub>5%</sub>= 1.80; GD<sub>1%</sub>= 2.37; GD<sub>0.1%</sub>=3.03 – за сравняване между годините

GD<sub>5%</sub>= 2.21; GD<sub>1%</sub>= 2.91; GD<sub>0.1%</sub>=3.72 - за сравняване между дозите

GD<sub>5%</sub>= 4.43; GD<sub>1%</sub>= 5.82; GD<sub>0.1%</sub>=7.44 - за сравняване ИН между различните дози през отделните години

GD<sub>5%</sub>=7.00; GD<sub>1%</sub>=9.20; GD<sub>0.1%</sub>=11.74 - за сравняване между ИН на сортовете/линиите при различните дози на инокулум

Средно за 10-те сорта/линии най-висок ИН се наблюдава при доза 100 g/m, а най-нисък при доза 20 g/m. Разликите между двете дози са статистически доказани при P=0.001%. Статистически доказани разлики се наблюдават и между доза 20 g/m и останалите дози. Не се наблюдават разлики в ИН между най-ниската доза и доза 140 g/m.

**Таблица 3.** Среден индекс на нападение на 10 сорта/линии леща при изкуствено инокулиране с *F.o. f.sp. lentis* през периода 2001-2004 г.

Сорт	ИН				Средно за сорта
	2001	2002	2003	2004	
Наслада	59.29	27.74	65.37	41.43	48.46
Надежда	63.53	27.26	70.83	49.24	52.72
Станка 2	63.21	28.37	75.09	49.67	54.09
Елица	60.23	28.26	75.58	52.46	54.13
Яница	67.44	27.63	76.17	52.6	55.96
Зорница	66.73	29.31	77.72	51.2	56.24
Станка 1	69.38	31.99	77.86	54.09	58.33
Таджикская 95	80.19	31.66	74.62	67.14	63.40
Обр. Чифлик 7	82.29	54.2	82.99	64.9	71.10
ILL 4605	95.42	63.88	74.65	72.5	76.61

GD<sub>5%</sub>= 2.86; GD<sub>1%</sub>= 3.76; GD<sub>0.1%</sub>=4.80 – за сравняване средния ИН между сортовете

GD<sub>5%</sub>= 5.72; GD<sub>1%</sub>= 7.52; GD<sub>0.1%</sub>=9.61 – за сравняване ИН на сортовете/линиите

през отделните години

В таблица 3 са представени данните за средния ИН на 10 сорта/линии леща за периода 2001-2004 г. С най-нисък ИН, средно за четирите години на изпитване е сорт “Наслада” (48,46) следван от “Надежда” (52,72), “Станка 2” (54,09) и “Елица” (54,13). С най-висок ИН, средно за изпитвания период е линия “ILL 4605” (76.61), следвана от “Образцов чифлик 7” (71.10), “Таджикская 95” (63.40) и “Станка 1” (58.33) .

## ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проведеното изследване показват, че средно за изпитваните генотипове и години най-нисък ИН от *F.o. f.sp. lentis* се наблюдава при доза 20 g/m (56.03), а най-висок при доза 100 g/m (60.83), като разликите между тях са статистически доказани при  $P=0.001$  (табл. 2). При останалите дози не се наблюдават статистически доказани разлики. Доза 20 g/m няма доказана разлика единствено с доза 140 g/m. С доза 40 g/m разликата е доказана при  $P=0.01$ , а с доза 80 и 120 g/m при  $P=0.001$ . Доза 100 g/m има доказана разлика при  $P=0.05$  с доза 140 g/m, но няма доказани разлики с дози 40, 80 и 120 g/m. Липсата на доказани разлики между дози от 40 до 140 g/m (с изключение между 100 и 140 g/m) потвърждава становището на Erskine and Bayaa (1996), според което при полски условия може да се наблюдава висока степен на нападение при ниска концентрация на инокулума, както и обратно, ниска степен на нападение при висока концентрация на инокулума.

Анализът на варианса за ИН при сортовете/линиите включени в това изследване показва статистически доказано влияние на условията на годината върху реакцията на генотиповете. Като цяло средния ИН при всички сортове/линии е най-нисък през 2002 г., а най-висок през 2003 г. (табл. 2). Тези резултати потвърждават необходимостта от изпитване на изходните и селекционни материали при различни метеорологични условия, независимо от използването на изкуствена зараза.

С най-нисък ИН средно за периода 2001 - 2004 година е сорт "Наслада", следван от "Надежда", "Станка 2" и "Елица", като разликата между първите два сорта е статистически доказана при  $P=0.01$  (табл. 3). Разликите между "Наслада" и всички останали образци е доказана при  $P=0.001$ . С най-висок среден ИН е линия "ILL 4605", следвана от сорта "Образцов чифлик 7", "Таджикская 95", "Станка 1". Всички образци имат статистически доказани разлики с линия "ILL 4605" и сорта "Образцов чифлик 7" при  $P=0.001$ . Няма доказана разлика между "Станка 1" и "Зорница", както и между "Станка 2", "Елица", "Яница" и "Зорница". "Надежда" има доказана разлика с "Яница" и "Зорница" при  $P=0.05$  и няма доказани разлики със "Станка 2" и "Елица".

Резултатите от проведеното изследване показват, че дози на инокулума от 40 до 120 g/m не оказват влияние върху ИН на сортовете/линии леща от *F.o. f.sp. lentis*. Поради наблюдаваните доказани разлики между най-ниската и най-висока доза на инокулума и доза 100 g/m препоръчваме нейното използване при полски анализ на устойчивостта на лещата към фузариено увяхване.

## ЛИТЕРАТУРА

- Пенчев, Е., 1997. Оценка на продуктивността и показателите на качеството при пшеницата с математически модели. Дисертационен труд за присъждане на научна степен "Доктор"-Добрич, ИПС.
- Сидорова, С.Ф., 1993. Вертицилезное и фузариозное увядание однолетних сельскохозяйственных культур. Москва, "Колос".
- Agrawal, S.C., K.Singh, and S. S Lal., 1993. Plant protection of lentil in India. In: Lentil in South Asia (W. Erskine and M.C.Saxena, eds.) ICARDA, Syria, 147-165.
- Bayaa, B., W.Erskine, and A.Hamdi, 1995. Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. Genetic Resources and Crop Evolution, 42: 231-235.
- Ben-Yephet, Y., M.Reuven, and A.Genizi, 1994. Effects of inoculum depth and density on fusarium wilt in carnations. Phytopathology 84: 1393-1398.
- Correl, J.C., J.E Puhalla, and R.W. Schnider, 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. Phytopa-

thology 76: 396-400.

- Erskine, W. and Bayaa, B. 1996.** Yield loss incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. *Phytopathology meddit.*, 35, 24-32.
- Fisher, N.L., L.W. Burgess, T.A. Toussoun, and P.E. Nelson, 1982.** Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of fusarium species. *Phytopathology* 72: 151-153.
- Khare, M.N., 1980.** Wilt of Lentil. Jabalpur, India: Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya
- Landa, B.B., J.A.Navas-Cortes, A. Hervas, and R.M.Jimenez-Diaz, 2001.** Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris* on suppression of fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. *Phytopathology* 91: 807-816.