

## НОВИ РАСИ НА АНТРАКНОЗАТА ПО ФАСУЛА В БЪЛГАРИЯ

Иван Киряков, Димитър Генчев

Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево,

### Резюме

Киряков, И., Д. Генчев, 2004. Нови раси на антракнозата по фасула в България.

*Colletotrichum lindemuthianum*, причинител на антракнозата по фасула, се характеризира със значително патогенно разнообразие в своите популации. Заразените семена са основният начин за разпространение на патогена на големи разстояния. Използването на семена с неизяснен произход и фитосанитарно състояние създава реална опасност от внасяне и разпространение в страната на нови, по-вирулентни щамове и раси на семенно-пренасящите се бактериални и гъбни патогени по фасула. В настоящата публикация са представени данни за влиянието на този процес върху патогенното разнообразие на антракнозата по фасула в България. В изследването бяха включени 18 моноспорови култури на *C. lindemuthianum*, изолирани от растителни и семенни проби, събрани от масови посеви и от търговската мрежа на страната. Вирулентността на изолатите беше установена на база реакцията на 12 сорта фасул, включени в стандартен диференциращ ключ. Резултатите от проучването показват, че изследваните изолати се групират в пет раси - 3, 6, 23, 73 и 79. Раса 6 е характерна за районите на Западни Родопи и Рила. Тази раса е установена и в семена, внесени от Украйна и разпространени в търговската мрежа. Раса 3 е установена в района на Южна Добруджа. Раси 73 и 79 са изолирани от семена, внесени от Украйна. Произходът на раса 23 не е установен, но може да се предполага, че семената, от които е изолирана, са внесени от чужбина.

**Ключови думи:** Антракноза по фасула, Раси, *Colletotrichum lindemuthianum*

### Abstract

Kiryakov, I., D. Genchev, 2004. New anthracnose races on bean in Bulgaria.

*Colletotrichum lindemuthianum*, the cause agent of anthracnose on bean is characterized with considerable pathogen variability in its populations. Infected seeds are the main means of pathogen spreading over large distances. The use of seeds with unknown origin presents a real danger of introducing and distributing new more virulent strains and races of seed-borne bacteria and fungal pathogens on bean. This publication gives data on the effect of this process on pathogen variability of bean anthracnose in Bulgaria. The investigation included 18 monospore cultures of *C. lindemuthianum* isolated from plant and seed samples collected from mass crops and from the commercial

distribution network in Bulgaria. The isolates virulence was determined on the basis of the response of 12 bean varieties included in a standard differentiation set. The results from the study showed that the investigated isolates were grouped in five races: 3, 6, 23, 73 and 79. Race 6 is typical for the regions of the West Rhodopi and Rila mountains. This race was identified in the region of South Dobroudja, as well. Races 73 and 79 were isolated in seeds imported from Ukraine. The origin of race 23 was not determined, but the seeds from which it was isolated were presumably imported.

**Key words:** Bean anthracnose, Races, *Colletotrichum lindemuthianum*

## УВОД

Антракнозата създава сериозни проблеми при производството на фасул в редица райони на света. Болестта се причинява от хемибиотрофната гъба *Colletotrichu lindemuthianum*. Развитие на болестта се благоприятства от хладни (16-22°C) и влажни условия през вегетацията. Гъбата напада надземните органи на фасулевото растение и при благоприятни за нейното развитие условия може да доведе до пълното им загиване. В тези случаи загубите, причинявани от антракнозата, могат да достигнат 100 %. Патогенът се съхранява под формата на спори или мицел в заразните растителни остатъци и инфектираните семена (Schwartz, 1991).

Поради спороличната ѝ проява в равнинните части на България, антракнозата има слабо влияние върху производството на зрял фасул в страната. Болестта е лимитиращ фактор при производството на фасул в планинските и полупланински райони, където условията през вегетацията са благоприятни за развитието на гъбата. Препоръчаните средства за борба с антракнозата по фасула включват използването на здрав посевен материал, унищожаване на растителните остатъци, спазване на 2-3 годишен сеитбооборот, третиране на семената и посевите с химични средства и използването на устойчиви сортове (Schwartz, 1991).

*C.lindenuthianum* се характеризира със значително вариране в патогенността на изолатите както във, така и между отделните популации на патогена. Вирулентното разнообразие на гъбата се определя на база реакцията на 12 образци фасул, включени в стандартен диференциращ ключ (Pastor-Corrales, 1991). Приемането на тази система за идентифициране на патогенното разнообразие на гъбата дава възможност за по-добра сравнимост на резултатите от различни изследвания. До този момент в света са установени над 100 раси на гъбата (Rodrigues-Guegga, et al., 2003).

Първите изследвания върху патогенното разнообразие на *C.lindenuthianum* в страната са проведени от Генчев (1982, 1987). Според автора в България са разпространени два патотипа на гъбата - раси  $\alpha$  и  $\beta_1$ . По-късно Киряков (2000) трансформира обозначението на раса  $\alpha$  в 81 на база реакцията на стандартния диференциращ ключ, приет през 1991 г. В същото изследване авторът идентифицира нова за страната раса и я обозначава като раса 2.

Сравнително слабото патотипно разнообразие на *C.lindenuthianum* в България може да се обясни с етиологията и епидемиологията на гъбата. Редица изследвания доказват наличието на съвместно еволюционно развитие на патогена и неговия гостоприемник (Sicard et al., 1997; Balardin & Kelly, 1998). Поради рядката проява на болестта у нас, а и поради чувствителността на основните за страната сортовете фасул към раса 81, възникването и разпространението на нови патотипове в

популацията на гъбата е затруднено. При тези условия основният път за появата на нови раси в производствените райони на страната е чрез внасянето на нови патотипове с посевния материал. Неблагоприятните условия за отглеждане на зрял фасул в страната през 2000-2002 г. доведоха до драстичен спад не само в производството на стокова продукция, но и на посевен материал. Това създаде реална опасност от използване на семена с неизяснен произход и фитосанитарно състояние за посев, а оттук - и до разпространението на нови за страната патотипове на основните бактериални и гъбни болести по фасула. В настоящата публикация са представени данни за влиянието на този процес върху патогенното разнообразие на антракнозата по фасула в България.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

**Растителен и семенен материал.** Растителните и семенни проби използвани в изследването бяха събрани през 2001 и 2003 г. (табл.1). По-голяма част от семенните проби бяха закупени от търговската мрежа на страната или предоставени от фирми, вносители на стокова продукция. Подборът на семенни проби беше съобразен както с фитосанитарното им състояние, така и с едрината на семената.

**Изолиране и съхраняване на културите.** За изолиране и съхраняване на чисти култури от гъбата беше използвана хранителната среда PDA. От всяка растителна или семенна проба бяха отделени 2-3 моноспорови изолата, чрез двукратно прехвърляне върху PDA по метода на серийното разреждане (табл.1).

**Патотипна характеристика на моноспоровите изолати.** За подготовка на инокулума бяха използвани моноспорови изолати, култивирани върху модифицираната средата на Mathur (dextrose, 8g/l; MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O, 2.5g/l; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 2.7 g/l; peptone, 2.4 g/l; yeast agar, 2.0 g/l; agar, 16 g/l) (Balardin & Kelly, 1998). Изолатите бяха отгледани при 18 ± 1°C на тъмно за 10 дни. Споровата маса беше смита със стерилна дестилирана вода и след прецеждане през стерилна марля суспензията беше доведена до концентрация 10<sup>6</sup> спори/ml.

Вирулентността на изолатите беше установена на база реакцията на 12 сорта фасул (табл.2), включени в стандартния ключ за антракнозата (Pastor-Corrales, 1991). Образците бяха отгледани в съдове с размер 45 x 30 x 8 cm, по 12 растения за сорт при 20-22°C. Седем дни след поникване растенията бяха пулверизирани със спорова суспензия и поставени във влажна камера за 72 h при 20-22/16-19°C дневна, респективно нощна температура. Реакцията на образците беше отчетена 7-10 дни след инокулиране по 9-бална скала (Генчев, Киряков, 1994).

**Таблица 1.** Произход на 18 моноспорови изолата на *C. lindemuthianum* и тяхната расова принадлежност.

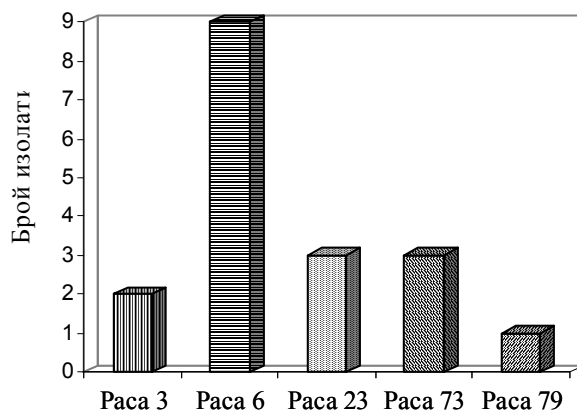
№ на пробата	Брой изолати	Година на изолиране	Растителен орган	Произход	Установени раси / брой изолати
01.5	3	2001	Семена	Неизвестен	23/3
03.1	3	2003	Семена	Украйна	6/1; 73/2
03.5	2	2003	Семена	Украйна	73/1; 79/1
03.6	2	2003	Семена	Украйна	6/2
03.8	3	2003	Бобове	Смолян	6/3
03.10	3	2003	Семена	Радоил	6/3
03.11	2	2003	Бобове	Тошево	3/2

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При обработване на събраната през 2001 г. семенна проба бяха изолирани три моноспорови изолата (табл. 1). Резултатите от проучване вирулентността на тези изолати показаха, че те преодоляват устойчивостта на сортове Michelite, Michigan Dark Red Kidney (MDRK), Perry Marrow и Widusa, което ги отнася към раса 23 (табл.2).

През 2003 г. бяха обработени две растителни и четири семенни проби, при което бяха отделени 15 моноспорови изолата (табл.1). Девет от тях (проби 03.1, 03.6, 03.8 и 03.10) преодоляват устойчивостта на сортове MDRK и Perry Marrow което е характерно за раса 6. (табл.2 и фиг.1). Изолатаите от проба 03.11 показват вирулентност към сортове Michelite и MDRK, въз основа на което са отнесени към раса 3. Два изолата от проби 03.1 и един изолат от проба 03.5 притежават вирулентност спрямо сортове Michelite, Cornell 49-242 и Mexico 222. Въз основа на вирулентната им изява тези изолати са отнесени към раса 73. Един изолат от проба 03.5 показва вирулентност както към сортовете преодолените от раса 73, така също и към MDRK и Perry Marrow. Този изолат е отнесен към раса 79.

Според Sicard et al. (1997) генетичното и патотипно разнообразие в популациите на *C. lindemuthianum* се определя от сортовете, отглеждани в даден географски район. От установените в това изследване пет патотипа на патогена единствено раса 6 е изолирана от образци, отглеждани масово в страната. Липсата на тази раса в равнинните части на България вероятно е свързана със специфичните условия на районите, в които тя е установена. Характерно за районите на Родопи и Рила е отглеждането на образци от *P. vulgaris* с едри семена и катерещ тип на храста, като и на образци от *P. coccineus*. Отглеждането на тези образци в равнинните райони е затруднено поради трайните засушавания през вегетацията и сравнително ниската атмосферна влажност. Изолатите от раса 3 са установени в проба фасул, отглеждан в малка ферма в района на гр. Генерал Тошево. За съжаление не е установен произхода на посевния материал, но може да се предполага, че това е сорт, внесен от друга страна.



Фиг. 1. Разпределение на 18 моноспорови изолата на *C. lindemuthianum* в зависимост от патотипната им характеристика

**Таблица 2.** Реакция на 12 сорта фасул включени в диференциацията ключ на антракнозата по фасула към пет раси на *C. lindemuthianum*, установени в България през 2001 и 2003 година.

Сорт	Генетична група	Бин. №	Со-гени	Раса				
				3	6	23	73	79
Michelite	MA*	1	-	+	-	+	+	+
MDRK*	A	2	1	+	+	+	-	+
Perry	A	4	-	-	+	+	-	+
Marrow								
Cornell 49-242	MA	8	2	-	-	-	+	+
Widusa	MA	16	-	-	-	+	-	-
Kaboon	A	32	-	-	-	-	-	-
Mexico 222	MA	64	3	-	-	-	+	+
PI 207262	MA	128	4 <sup>3</sup> ; 9	-	-	-	-	-
TO	MA	256	4	-	-	-	-	-
TU	MA	512	5	-	-	-	-	-
AB 136	MA	1024	6; 8	-	-	-	-	-
G 2333	MA	2048	4 <sup>2</sup> ; 5; 7	-	-	-	-	-

\* MA - Middle American; A- Andean

Заразените семена са основен източник на инфекция и механизъм на разпространение на *C. lindemuthianum*. Неблагоприятните климатични условия през последните години доведоха до драстичен спад в производството на посевен материал в България. По тази причина, а и поради финансови трудности, редица фермери прибегват към използване на несертифициран посевен материал със съмнително фитосанитарно качество. Нещо повече, привлечени от едрината на семената, все повече дребни фермери прибегват към използването на семена от търговската мрежа, главно от внос. Тази практика крие редица опасности по отношение фитосанитарното състояние на посевите. От установените в това изследване пет раси на антракнозата, четири са изолирани от семенни проби внесени в страната като стокова продукция. Три от тях - раси 23, 73 и 79 - са нови за България патотипове.

Според Balardin & Kelly (1998) расите, изолирани от образци фасул, включени в генетична група Middle American (MA), притежават вирулентност както спрямо тази група, така също и спрямо сортовете от група Andean (A). Расите, изолирани от образци, включени в група Andean, са вирулентни само към сортовете от тази група. От установените патотипове само раса 6 притежава вирулентна характеристика на изолатите от група Andean (табл. 2). Изолатите от тази раса преодоляват устойчивостта на ген *Co-1*, представен в образец MDRK. Подобна вирулентност показват изолатите на раса 2, която е установена в района на гр. Сандански (Киряков, 2000). Очевидно е, че установените в България раси, притежаващи вирулентност само към генотипите от група Andean, са разпространени основно в планинските райони на страната, което е свързано с специфичните изисквания на тези образци към климатичните условия. Останалите четири раси, установени в това изследване, се характеризират с висока вирулентност към сортове от двете генетични групи на фасула. Важно е да се посочи, че установената по-рано раса 81 се характеризира с вирулентност

единствено към сортовете от група Middle American.

Използването на устойчиви сортове е най-ефикасното и икономически оправдано средство за борба с антракнозата по фасула. Съчетаването на расовоспецифични гени от двете генетични групи на *P. vulgaris* (Andean и Middle American) е основна стратегия на селекционните програми, включващи създаване на устойчиви към антракнозата сортове фасул (Young & Kelly, 1997). В този смисъл съчетаването на гени *Co-1* и *Co-2* в един генотип ще даде възможност за едновременен контрол на разпространените в страната раси 2, 3, 6 и 81. Установеният в това изследване процес на внасяне на нови патотипове в страната налага включването и на други гени на устойчивост, които да дадат възможност за ограничаване на тяхното разпространение. Подходящи за нашата селекционна програма са гени *Co-5* и *Co-6*, както и алелите на *Co-4*.

### ИЗВОДИ

- Установени са пет, нови за България раси на *C. lindemuthianum* - раси 3, 6, 23, 73 и 79. Раса 6 е разпространена в районите на Западни Родопи и Рила. Раса 3 е идентифицирана в района на Южна Добруджа. Останалите три раси, както и раса 6, са изолирани от семена, внесени в страната като стокова продукция.
- Използването на семена с неизяснен произход и фитосанитарно състояние е една от основните причини за увеличаване на патогенното разнообразие в популациите на *C. lindemuthianum* в България.

### ЛИТЕРАТУРА

- Генчев, Д., 1982. Физиологична специализация на антракнозата по фасула и източници на устойчивост. Доклад на Втория Национален Симпозиум по Имунитет . Пловдив, т.3: 139-145.
- Генчев, Д., 1987. Проучвания върху антракнозата по фасула в България във връзка със селекцията на устойчиви сортове. Дисертация за присъждане на научна степен “Кандидат на селскостопанските науки”.
- Киряков, И., 2000. Расово разнообразие на *Colletotrichum lindemuthianum* в България. Растениевъдни науки, 37:248-251.
- Balardin, R.S., and J.D.Kelly, 1998. Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* races and gene pool in *Phaseolus vulgaris*. J.Amer.Soc.Hort.Sci. 123:1038-1047.
- Rodriguez-Guerra, R., M-t., Ramirez-Rueda, O.Martinez dela Vega, and J. Simpson, 2003. Variation in genotype, pathotype and anastomosis groups of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Mexico. Plant Pathology 52: 228-235.
- Sicard, D., Y.Michalakis, M. Dron, and C. Neeman, 1997. Genetic diversity and pathogenic variation of *Colletotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host, *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 87:870-813.
- Pastor-Corrales, M.A., 1991. Estandarizacion de variedades diferenciales y designacion de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. Phytopathology 81: 694.
- Schwartz, H.F., 1991. Anthracnose. In Compendium of Bean Diseases. Edited by R.Hall. APS Pres, 16-17.
- Young, R.A., and J.D.Kelly, 1997. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. Crop Science 37: 940-946.