

**ПРОУЧВАНЕ РЕАКЦИЯТА
НА РЕКОМБИНАНТНИ ИНБРЕДНИ ЛИНИИ ГРАДИНСКИ ФАСУЛ
КЪМ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PHASEOLICOLA* (BURKH.)
DOWSON, ПРИЧИНИТЕЛ НА ОРЕОЛОВИЯ ПРИГОР ПО ФАСУЛА**

Светла Софкова, Иван Порязов

Институт по Зеленчукови Култури "Марица"-гр. Пловдив

Резюме

*Софкова, С., И. Порязов, 2004. Проучване реакцията на рекомбинантни инбредни линии градински фасул към *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson, причинител на ореоловия пригор по фасула.*

Установена е устойчивостта на 3 сорта и 25 рекомбинантни инбредни линии градински фасул към причинителя на ореоловия пригор *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson. при полски условия през 2002 г. и във вегетационна къща през 2003 г. Проучваните образци бяха инокулирани чрез множествоно убождане на листата и тройно убождане със спринцовка на бобовите. Реакцията беше отчетена на 14-я ден след заразяването по 9-степенна скала. От тестваните 28 образци градински фасул, с устойчивост при листата и бобовите към раси 1 и 6 на патогена са 15 линии.

Ключови думи: Градински Фасул, *Phaseolus vulgaris* L., Ореолов пригор, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, Устойчивост

Abstract

*Sofkova, S. & I. Poryazov, 2004. Study of the reaction of snap beans recombinant inbred lines to halo blight (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson.*

The resistance of 3 cultivars and 25 recombinant inbred lines of snap bean to races 1 and 6 of halo blight (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson) was studied on field in 2002 and in a greenhouse in 2003. Multiple needles on the leaves, and surgical syringe on the pods were used to inoculate the accessions with bacterial suspension. Disease reaction was recorded on the 14th day after the inoculation. It was scored on a 1 to 9 scale, where 1= symptomless and 9= maximum severity. Out of the 28 accessions, 15 were leaves and pod resistant to races 1 and 6 of the pathogen.

Key words: Snap Bean, *Phaseolus vulgaris* L., Halo blight, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, Resistance

УВОД

Градинският фасул е разпространен в почти всички страни на света, но най-много се отглежда в Европа и Северна Америка. У нас той е ценна зеленчукова

култура с многогодишна история. Размерът на добивите се определя от редица фактори, между които съществено значение имат болестите: гъбни, бактериални и вирусни. Бактериалните болести са основен проблем при производството на фасул във всички райони, където се отглежда тази култура. Ореоловият пригор, чийто причинител е бактерията *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson, е икономически най-важната бактериална болест в страните с по-хладен и влажен климат (Zaumeyer & Thomas, 1957). Благоприятните метеорологични условия в нашата страна са довели до масовото ѝ разпространение, а ежегодното ѝ развитие води до снижаване на количеството и качеството на фасулевата продукция с 23-43%. Това налага необходимостта от търсене на ефикасни средства за борба с ореоловия пригор. Като подходящи агротехнически мероприятия се препоръчва използването на подходящи сеитбообращения, дълбоко заораване на растителните остатъци и здрави, чисти от бактериална инфекция семена, произведени при спазване на най-строг фитосанитарен контрол (Zaumeyer & Thomas, 1957; Webster et al., 1980; Schuster & Coyne, 1981; Schuster et al., 1983). Третирането на семената или на посевите с химични средства или антибиотици е слабо ефективно (Zaumeyer & Thomas, 1957; Webster et al., 1980; Schuster & Coyne, 1981). Ето защо създаването на устойчиви сортове и включването им в производството се приема като най-ефикасният метод за борба с бактериозите по фасула, в това число и с ореоловия пригор (Zaumeyer & Thomas, 1957; Webster et al., 1980; Schuster & Coyne, 1981). През последните 30 години проучванията на изследователите са насочени към издирване на източници на устойчивост, разработване на методи за инокулиране, установяване на генетичното вариране на патогена, установяване на механизмите на унаследяване и разработване на селекционни програми (Киряков, 1999). До сега са открити 9 раси на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson (Taylor et al., 1996), а у нас най-често срещани са раса 1 и 6 (Порязов, И., 1976). Намирането на източници на устойчивост е най-важната стъпка за всяка селекция за устойчивост към дадена болест. За първи път доминантни източници на устойчивост към раса 1 са открити в линии Red Mexican U.I. 3, Red Mexican U.I. 34, Red Mexican U.I. 35 (Schuster, 1950; Patel & Walker, 1965). В линии G.N. Nebraska #1 selection 27, G.N. #16, California Small White 59, FM 51, FM -1 Blue Lake, P.I. 150414, P.I. 203958 и OSU 10183 са открити гени за устойчивост към раса 1 и 6 (Walker & Patel, 1964; Patel & Walker, 1965; Baggett & Frazier, 1967; Coyne et al., 1967; Hill et al., 1972; Coyne & Schuster, 1974; Taylor et al., 1978). Hill et al. докладват през 1972 г., че линии P.I. 150414 и G.N. Nebraska #1 selection 27 съдържат еднакъв доминантен алел, определящ устойчивостта им към раса 1 и различни гени, контролиращи реакцията им към раса 6 (Hill et al.). През 1974 г. Hagedorn et al., създават линии Wis. HBR 40 и Wis. HBR 72, съчетаващи хоризонтална устойчивост към раса 1 и 6 на ореоловия пригор (Hagedorn et al., 1974). По-късно създадената линия Wis. BBSR 130 е устойчива към двете раси на ореоловия пригор, към бактериален пригор и към различни гъбни патогени (Hagedorn & Rand, 1977). Подобна устойчивост е установена и в линии USWA 67, USWA 68 (Hang et al., 1999), Montecarlo, Monterosa (Allavena et al., 1989), LRS92-1 (Saindon et al., 1993), Weihing G.N. (Coyne et al., 2000) и др.

У нас селекцията за устойчивост на градинския фасул към ореолов пригор се провежда главно в Института за зеленчукови култури "Марица"- гр. Пловдив, където са създадени първите сортове, устойчиви на ореолов пригор- Ореол, Перун, Фиеста и Верица (Порязов, 1985; 1989).. Продължение на тази селекция са

селекционни линии, комбиниращи качествата на създадени вече сортове с качествата на най-добрите сортове на европейската и американската селекция. Всяка от тези линии притежава уникално съчетание от признаци и свойства. Настоящото изследване е естествено продължение на досегашната селекционна дейност в ИЗК “Марица” и има за цел да установи степента на устойчивост на всяка от изследваните линии.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В изследването са включени 25 селекционни линии и 3 сорта от следните направления:

1. Сорта и селекционни линии, подходящи за ръчна беритба и консумация в непереработено състояние (Старозагорски чер, Никос, Пловдивски жълт, 213-27-1, 216-73-1, 216-77-1, 612-1, 620-1);

2. Сорта и селекционни линии, устойчиви на ореолов пригор и обикновена фасулева мозайка (BCMV), подходящи за механизизирано прибиране и консервиране (Ореол, 190а-5, 194-2, 550-1, 556-1, 559-1, 561-1, НАВ-437);

3. Селекционни линии, устойчиви на обикновена фасулева некротична мозайка (BCMNV) (768-775, 759-823, 194-827, 194-829, 216-73-11, 274-256-19);

4. Селекционни линии, устойчиви на бактериален пригор (174-2-2, 456, 468, 522, 523, 525, 534).

Полски изследвания. През вегетационния период на 2002 г. беше установена реакцията към раса 1 на причинителя на ореолов пригор при условията на полски опит. От всеки вариант бяха засети ръчно, на лехобразова повърхност, по два реда - един опитен и един охрана. Заразени и отчетени бяха по 10 растения от всеки вариант. За заразяване бяха използвани методите на множествените игли при листата (Andrus, 1948) и убождане със спринцовка при бобовете (Valladares-Sanchez et al., 1983). Листата бяха инокулирани във фаза “първи троен лист”, а бобовете - във фаза “начало на технологична зрелост”. Отчитанията бяха извършени на 7-ия и 14-ия ден след заразяването по 9-степенни скали, разработени от Генчев и Киряков, 1994 (1 - имунност; 9 - висока чувствителност). За инокулацията беше използвана бактериална суспензия, получена чрез промиване на една епруветка с бактериална култура в 0.5 l. дестилирана вода и приблизителна концентрация 10^8 cfu/ml.

Оранжерийни изследвания. През периода април - юни 2003 г. опитът беше изведен с раса 1 и 6 на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson във вегетационна къща върху хидропоник, по разработена от нас и прилагана в ИЗК “Марица” методика.

За инокулиране бяха използвани чисти бактериални култури – РВ 99.4.1/1 (раса 1) и РВ 99.27.1/6 (раса 6) от колекцията на ДЗИ “Добруджа” край Генерал Тошево, размножени в лабораторията по фитопатология на ИЗК “Марица”-Пловдив върху PDA.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Инокулацията на листата с раса 1 на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson на полето и в оранжерията предизвика очакваната реакция на чувствителните и устойчивите генотипи. Чувствителната реакция се

характеризира с оводняване на инокулираната зона и жълт, хлоротичен пръстен около нея. При имунната реакция точките на убождане остават сухи, тъмно кафяви и без хлоротичен пръстен. Степента на нападение при полския опит варираше от имунна (бал 1) до силно чувствителна (бал 8.8). При оранжерийните условия оценките варираха в същите граници (1- 8.4). Анализът на резултатите не показва съществено влияние на условията на средата при използваната методика, което ни дава основание да интерпретираме резултатите общо. В съответствие с приетата методика селекционните линии и сортове бяха групирани както следва (таблица 1):

Таблица 1. Степен на нападение на листата и бобовете при изкуствено заразяване на градински фасул с *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

№	Сорт/ Линия	Листа			Бобове		
		Раса 1, поле	Раса 1, оранжерия	Раса 6, оранжерия	Раса 1, поле	Раса 1, оранжерия	Раса 6, оранжерия
1	Старозаг. Чер	4,2	5,0	8,2	9,0	7,4	7,8
2	Никос	3,2	3,8	4,8	8,4	6,6	7,6
3	Пловд. жълт	7,4	7,0	5,0	7,2	7,4	7,8
4	213-27-1	3,0	2,4	5,0	3,9	2,4	3,7
5	216-73-1	1,4	1,4	6,4	1,8	1,7	2,3
6	216-77-1	1,6	1,2	7,2	1,8	2,2	4,2
7	612-1	3,0	2,8	5,0	4,2	3,0	6,8
8	620-1	1,0	1,0	5,0	4,0	3,0	2,2
9	Ореол	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
10	190а-5	6,8	4,4	1,0	3,0	7,6	2,0
11	194-2	5,0	3,4	3,8	2,4	2,8	2,2
12	550-1	5,0	4,4	3,6	3,5	3,0	2,4
13	556-1	6,8	3,6	3,2	3,4	6,1	3,8
14	559-1	3,8	3,2	4,0	2,8	3,7	4,4
15	561-1	3,8	3,8	5,0	2,6	3,8	1,7
16	НАВ-437	8,8	8,4	8,4	2,6	3,3	3,5
17	678-775	7,4	7,4	5,0	3,2	2,6	1,4
18	759-823	1,0	1,0	3,0	2,0	2,4	1,9
19	194-827	4,2	3,2	3,0	2,8	3,0	2,5
20	194-829	3,0	3,0	3,6	3,0	4,0	2,0
21	216-73-11	1,0	1,0	6,0	4,6	1,8	1,8
22	274-256-19	6,0	4,0	7,8	5,0	2,2	1,7
23	174-2-2	3,0	3,4	4,2	4,2	3,6	3,7
24	456	5,0	4,4	4,6	5,8	3,5	3,0
25	468	3,8	4,2	3,2	3,4	3,7	2,5
26	522	5,4	5,4	4,0	3,6	5,2	3,1
27	523	5,0	4,6	3,2	2,4	5,8	2,9
28	525	4,4	4,0	3,4	3,4	7,0	2,9
29	534	3,0	3,4	3,4	2,8	5,9	3,0
Средни стойности		4,1	3,6	4,5	3,7	3,9	3,3
Миним. стойности		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Максим. стойности		8,8	8,4	8,4	9,0	7,6	7,8

Имунни (бал 1): Ореол.

Устойчиви (бал 1.1-3.0): 759-823 и 194-827.

Проучване реакцията на рекомбинантни инбредни линии градински фасул към *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson, причинител на ореоловия пригор по фасула

Имунни (бал 1) със сухи, тъмно кафяви точки на инокулация: Ореол, 620-1, 759-823 и 216-73-11.

Устойчиви (бал 1.1-3.0) със сухи, тъмнокафяви петна с диаметър до 1 mm в площ до 5% от инокулираната зона: 213-27-1, 216-73-1, 216-77-1, 612-1, 194-829, 174-2-2 и 534.

Средноустойчиви (бал 3.1- 5.0) с диаметър на воднистите петна до 2 mm в площ до 15% от инокулираната зона: 194-2, 194-827, 550-1, 556-1, 559-1, 561-1, 456, 468, 523, 525 и Старозагорски чер.

Чувствителни (бал 5.1- 7.0) с диаметър на воднистите петна до 4 mm в площ до 30% от инокулираната зона: Пловдивски жълт и 522.

Силночувствителни (бал 7.1-9.0) с диаметър на воднистите петна над 4 mm в площ над 40 % от инокулираната зона : НАВ-437 и 678-775

Симптомите при инокулиране на листата с раса 6 на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson не се различават от тези след инокулиране с раса 1. Степента на нападение варира от имунна (бал 1) до силночувствителна (бал 8.4).

Силночувствителни (бал 7.1-9.0): НАВ-437, 274-256-19 и Старозагорски чер.

Към раса 1 и раса 6, а следователно и към всички известни раси на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh) Dowson, с устойчиви листа са сортът Ореол и линия 759-823, средноустойчиви са линиите 194-2, 194-827, 194-829, 550-1, 556-1, 559-1, 561-1, 456, 468, 523, 525, 534 и 174-2-2.

Симптомите върху бобовете след инокулация на полето и в оранжерията варираха от сухи точки на убождането (бал 1) до кръгли воднисти, нарастващи петна, отделящи бактериален ексудат (бал 9). Разпределението на линиите и сортовете в зависимост от степента на нападението след инокулиране с раса 1 е следното:

Имунни (бал 1) със сухи точки на убождане: Ореол

Устойчиви (бал 1.1-3.0) със сухи , тъмно кафяви петна с диаметър до 2 mm: 213-27-1, 216-73-1, 216-77-1, 612-1, 620-1, 194-2, 550-1, 759-823, 194-827, 274-256-19 и 216-73-11.

Средноустойчиви (бал 3.1-5.0) с полусухи с оводнена периферия петна, с диаметър до 3 mm: 556-1, 559-1, 561-1, НАВ-437, 678-775, 174-2-2, 456 и 468.

Чувствителни (бал 5.1-7.0) с воднисти петна с диаметър до 4 mm и бактериен ексудат: 522, 523, 525, 534.

Силночувствителни (бал 7.1-9.0) с воднисти петна с диаметър над 4 mm и бактериен ексудат: НАВ-437, Пловдивски жълт, Никос и Старозагорски чер.

Според реакцията си след инокулиране с раса 6 сортовете и линиите се групират както следва:

Имунни (бал 1): Ореол.

Устойчиви (бал 1.1-3.0): 216-73-1, 620-1, 194-2, 550-1, 561-1, 678-775, 759-823, 194-829, 216-73-11, 274-256-19, 456, 468, 522, 523, 525, 534 и 194-827.

Средноустойчиви (бал 3.1- 5.0): 213-72-1, 216-77-1, 556-1, 559-1, НАВ-437, 174-2-2.

Чувствителни (бал 5.1- 7.0): 612-1.

Силночувствителни (бал 7.1-9.0): Пловдивски жълт, Никос и Старозагорски чер.

Към раса 1 и раса 6 с устойчиви бобове са сортът Ореол и линиите 216-73-1, 216-73-11, 620-1, 194-2, 550-1, 759-823, 194-527, 274-256-19, а средно устойчиви са линиите 194-829, 556-1, 559-1, 561-1, 456, 523, 525, 534 и 174-2-2.

Обяснението за различната реакция на сортовете и линиите може да се търси в техния произход. Местните сортове Старозагорски чер, Никос и Пловдивски жълт очевидно не притежават гени за устойчивост на ореоловия пригор. Иmunната реакция на листата и бобовете към раса 1 и раса 6 на сорта Ореол се дължи на доминантния ген за устойчивост към раса 1 на Red Mexican U.I.- 3 и рецесивните гени за устойчивост към всички раси на P.I. 150414, пренесени в Ореол чрез Wis. HBR 72. Различната устойчивост на селекционните линии вероятно се дължи на различни комбинации на гените на P.I. 150414 с други малки гени.

Съпоставянето на реакцията на листата и на бобовете към раса 1 и раса 6 на *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* показва, че са създадени селекционни линии от различни селекционни направления, устойчиви на ореолов пригор. Това позволява в следващата селекционна програма устойчивостта към ореолов пригор да бъде комбинирана с устойчивост към бактериален пригор, обикновена фасулева мозайка, обикновена фасулева некротична мозайка, фасулев зърнояд и ценни стопански качества, свързани с пригодността за ръчно и механизирано прибиране, консумация в непреработено и преработено състояние, висок потенциал за добив и др.

ИЗВОДИ

Установено е различно ниво на устойчивост на листата и бобовете към *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* в изследваните рекомбинантни инбредни линии. Най-перспективни за използване в селекцията са 15 линии (620-1, 759-823, 194-2, 194-827, 194-829, 550-1, 556-1, 559-1, 561-1, 456, 468, 523, 525, 534, 174-2-2.) с устойчивост на листата и бобовете към раси 1 и 6 на патогена.

Благодарност: Изказваме благодарност на ст. н. с. д-р Иван Киряков от Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево за оказаната помощ и съдействие.

ЛИТЕРАТУРА

- Генчев, Д. и И. Киряков, 1994, Обикновен зрял фасул –ръководство. ДЗИ, “Добруджа”.
- Киряков, И., 1999. Проучвания върху бактериозите по зрелия фасул (*Phaseolus vulgaris* L.) в България и средствата за борба с тях. Дисертационен труд за присъждане на научна степен “Доктор”, ИПС “Добруджа” край Генерал Тошево .
- Порязов, И., 1976. Физиологични раси на *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson, причинител на ореоловия пригор. Растително защитна наука, 3: 44-49.
- Порязов, И., 1977. Селекция на устойчивост на бактериини болести при градински фасул. Селскостопанска наука, 15: 52-61.
- Порязов, И., 1985. Селекция на промишлени сортове зелен фасул, устойчиви на ореолов пригор и обикновена фасулева мозайка. Генетика и селекция, 5:409-416.
- Порязов, И., 1989. Нови сортове фасул – Верица, Фиеста и Перун. Растениевъдни науки, 10: 50-53
- Allavena A., A. Fada and G.P. Soressi, 1989. “Montecarlo” and “Monterosa”, “Borlotto” – type dry beans. HortScience. 24: 6, 1047-1048; 4 ref.
- Andrus, C.F., 1948. A method of testing beans for resistance to bacterial blights. Phytopathology, 38: 757-759.
- Baggett, J.R. and W.A. Frazier, 1967. Sources of resistance to halo blight in *Phaseolus vulgaris*. Plant Dis. Repr., 51: 661-665.

- Coyne D.P., D.S. Nuland, D.T Lindgren, J.R. Steadman, D.W. Smith, J.Gonzales, J. Schild, J. Reiser, L. Sutton, C. Carlson, J. R. Stavely and P. Miklas., 2000.** “Wei hing” Great Northern disease- resistant dry bean. HortScience, 35: 2, 310-312; 11 ref.
- Coyne, D.P. and M.L. Schuster, 1974.** Breeding and genetic studies of tolerance to several bean (*Phaseolus vulgaris* L.) bacterial pathogens. Euphytica 23: 651-656.
- Coyne, D.P., M.L. Schuster and R. Fast, 1967.** Sources of tolerance and reaction of beans to races and strains of halo blight bacteria. Plant Dis. Repr. , 51: 20-24.
- Coyne, D.P., M.L. Schuster and L. Shaughnessy, 1966.** Inheritance of reaction to halo blight and common blight bacteria in a *Phaseolus vulgaris* variety cross. Plant Dis. Repr. 50: 29-32.
- Hang, A.N., M.J.Silbernagel and P.N Miklas, 1999.** Three virus- resistant snap bean germplasm lines, USWA-64, USWA-67 and USWA-68. Hort Science, 34: 2, 338; 3 ref.
- Hagedorn , D.J. and R.E. Rand, 1977.** Wisconsin (BBSR) 130 bean breeding line. HortSci. 12: 356.
- Hagedorn , D.J., J.C. Walker and R.E. Rand, 1974.** Wis. NBR 40 and Wis. HBR 72 bean germplasm. HortScience 9: 402.
- Hill, K., D.P. Coyne and M.L. Schuster, 1972.** Leaf, pod and systemic chlorosis reactions in *Phaseolus vulgaris* to halo blight controlled by different genes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97: 494-498
- Saindon, G., N.C. Nuahg, H.H. Mundel and G.A. Kemp, 1993.** Registration of an upright common bean germplasm line LRS92-1. Crop Science, 33: 2, 353; 1ref.
- Schuster, M.L., 1950.** A genetic study of halo blight reaction in *Ph. vulgaris*. Phytopath. 40: 604-612.
- Schuster, M.L. & D.P. Coyne, 1981.** Biology, epidemiology, genetics and breeding for resistance to bacterial pathogens of *Phaseolus vulgaris* L. Horticultural Reviews, 3: 29-58.
- Schuster, M.L., D.P. Coyne, T. Behre, and H. Leyna, 1983.** Source of *Phaseolus* species resistance and leaf and pod differential reactions to common blight. HortScience, 18: 901—103
- Taylor, J.D., D.M. Teverson, D.J. Allen and M.A. Pastor- Corrales, 1996.** Identification and origin of races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burkh.) Dowson from Africa and other bean growing areas. Plant Pathology, 45: 469-478.
- Taylor, J.D., N.L. Innes, C.L. Dudley and W.A. Griffiths, 1978.** Sources and inheritance of resistance to halo- blight of *Phaseolus* beans. Ann. Appl. Boil. 90: 101-110.
- Valladeres –Sanchez , N.E., D.P. Coyne, and R.F. Mumm, 1983.** Inheritance and associations of leaf, external, and internal pod reactions to common blight bacterium in *Phaseolus vulgaris* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 108: 272-278.
- Walker, J.C. and P.N. Patel, 1964.** Inheritance of resistance to halo blight of bean. Phyt. 54: 952 –954.
- Webster, D.M., S.M. Temple and H.F. Schwartz, 1980.** Selection for resistance to *Xanthomonas phaseoli* in dry beans. Crop Science, 20: 519-522.
- Zaumeyer, W. J. and H.R. Thomas, 1957.** A monographic study of bean diseases and methods for their control. Pp.74-84. U.S.D.A. Agr. Tech. Bull. # 868.