

ORIGINAL PAPER

Мицелна съвместимост и агресивност на Български изолати от *Sclerotinia sclerotiorum*

Иван Киряков¹ • Керанка Жечева¹

¹Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево, 9521, Генерал Тошево

Автор за кореспонденция: Иван Киряков; e-mail: idkiryakov@abv.bg

Mycelial compatibility and aggressiveness of Bulgarian *Sclerotinia sclerotiorum* isolates.

Ivan Kiryakov¹ • Keranka Zhecheva¹

¹Dobrudzha Agricultural Institute – General Toshevo, 9521, General Toshevo, Bulgaria

Corresponding Author: Ivan Kiryakov; e-mail: idkiryakov@abv.bg

Received: July 2019 / Accepted: September 2019 /

Published: September 2019 © Author(s)

Abstract

Kiryakov, I. & K. Zhecheva (2019). Mycelial compatibility and aggressiveness of Bulgarian Sclerotinia sclerotiorum isolates. Field Crops Studies, XII(3), 9-22.

Mycelial compatibility and aggressiveness of 19 isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*, originating from common bean and sunflower were studied. The mycelial compatibility test was carried out on PDA medium with 80 µl/L red food colorant (Christmas Red – Saye Commerce LTD). The aggressiveness of isolates was established in greenhouse conditions by inoculation of four plants of GTB Blyan variety by the straw method for each isolate separately. An AUPDC was calculated, and isolates were grouped by cluster analysis. Based on their mycelial compatibility, the studied 19 isolates of *S. sclerotiorum* were divided into 7 mycelial compatible groups (MCGs), marked as MCBG1-MCBG7. Regardless of the small number of samples, the obtained results showed significant genetic variation in the pathogen population. All MCGs except MCBG7 was built from two or more isolates. The MCBG7 was made up of isolate, which was incompatible with the

other 18 isolates. Based on the AUPDC, the investigated isolates were grouped into two main clusters, where the second cluster was divided into two subclusters. Presence of link between the identified MCGs and the isolates aggressiveness was not established.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*, MCGs, Aggressiveness, Common bean, Sunflower

Въведение

Склеротинийното гниене е ключово заболяване при редица зеленчукови и полски култури в България, в това число обикновения фасул и слънчогледа. Болестта се причинява от аскомицетната, хомоталична, некотрофна фитопатогенна гъба *Sclerotinia sclerotiorum*. Гъбата се размножава по безполов и полов път (Schwartz and Steadman, 1989). Безполовото размножаване е свързано с формирането на склероции, които имат способността да се запазват в почвата в продължения на осем години (Adams and Ayers, 1979). Това именно прави патогена рисков при нарушаване на полския сеитбооборот. Половото размножаване е свързано с карпогенно развитие на склероциите и формиране на апотеции и аскоспори (Bolton et al., 2006). Макар и по-рядко наблюдаван, половият процес осигурява разпространението на патогена на значителни разстояния от първичния източник на инокулум. Успоредно с това, половият процес осигурява генетично разнообразие в популациите на патогена в резултат на рекомбинационните процеси. Поради хомотализмът при *S. sclerotiorum*, аскоспорите и склероциите осигуряват разпространението на клонови линии на патогена (Bolton et al., 2006).

Анастомозисът между две вегетативно клетки (клетки на мицела или конидиите), посредством анастомозни мостове е често наблюдавано явление при фитопатогенните гъби от клас Ascomycetes (Strom and Bushley, 2016). В резултат на този процес се формират дикариотни клетки, в които на по-късен етап е възможно да се наблюдават рекомбинации. Стабилността на дикарионите е свързана със значителен брой локуси (от 8 до 44), отговарящ за съвместимостта между двата индивида осъществили анастомозиса (Kamvar and Everhart, 2018). Инхибиране формирането на стабилен хетерокарион е резултат от експресия на гените в локус *het* (известен още като *vic*). Когато две несъвместими ядра се намират в една клетка, експресията на *het* гените води до нейното програмирано загиване (Strom and Bushley, 2016). Една от хипотезите за несъвместимостта е свързана със защитен механизъм на клетките за разпространение на паразитни гени или вируси (Strom and Bushley, 2016). Следователно, възможността за формиране на стабилен дикарион е механизъм за генетични промени в популациите, особено при гъбни видове,

при които половият процес е рядкост (Strom and Bushley, 2016; Kamvar and Everhart, 2018).

Редица изследвания показват, че популациите на *S. sclerotiorum* се характеризират със значително генетично разнообразие (Kull et al., 2004; El-Argawy, 2011; Aldrich-Wolfe et al., 2015; Kamvar and Everhart, 2018; Liua et al. 2018). Мицелната съвместивост, способността на два изолата да анастомозират и да формират стабилен дикарион е един от най-често използваните методи за проучване генетичното разнообразие в популацията на гъбите от клас Ascomycetes (Strom and Bushley, 2016). В резултат от прилагането на този метод, популациите на *S. sclerotiorum* са групирани в мицелно съвместими групи (MCGs), като броят им зависи от размера на изследването, районът и културата от които са събрани пробите (Kull et al., 2004; Ahmed et al., 2007; El-Argawy, 2011; Aldrich-Wolfe et al., 2015; Kamvar and Everhart, 2018; Liua et al. 2018). Проучвайки генетичното разнообразие в популациите на *S. sclerotiorum*, Aldrich-Wolfe et al. (2015) групират 145 изолата в 49 MCGs. Успоредно проведените DNA анализи (анализ на микросателитна DNA) показва наличието на положителна корелация между установените микросателитни хаплотипове и MCGs. За положителна корелация между MCGs и сателитните хаплотипове съобщава и Liua et al. (2018). Според Kamvar and Everhart (2018) групирането на изолатите в MCGs е сравнително евтин и лесно приложим метод за проучване генетичното разнообразие в популациите на *S. sclerotiorum*.

Проучване генетичното разнообразие в популациите на *S. sclerotiorum* е от съществено значение за предприемане на адекватни мерки за контрол на патогена и преди всичко разработването на селекционна стратегия по отношение устойчивостта към склеротинийното гниене. Направената литературна справка показва, че през последните 30 години в България липсват научни изследвания относно генетичното разнообразие в популациите на *S. sclerotiorum*. Поради това целта на настоящото проучване е да се установи: а) възможността за групиране на изолатите на *S. sclerotiorum* в MCGs; б) наличието на връзка между MCGs и агресивността на изолатите.

Материал и методи

В изследването са включени 19 изолата на *S. sclerotiorum*, изолирани от склероции събрани от четири експериментални и производствени полета в района на ДЗИ- Генерал Тошево през 2018 г. (Таблица 1). До момента на тяхното използване, склероциите са съхранени при 4°C.

Таблица 1. Произход на включените в изследването проби и брой изолати от проба

Table 1. Origin of samples included in the study and number of isolates from sample

Каталожен номер на пробата Catalog number	Произход Origin	Брой изолати Number of isolates
SS19.1	Фасул, експериментално поле в ДЗИ – Ген Тошево Common bean, experimental field in DAI - Gen Toshevo	5
SS19.2	Слънчоглед, селекционно поле в ДЗИ – Генерал Тошево Sunflower breeding field in DAI - Gen Toshevo	5
SS19.3	Слънчоглед, експериментално поле в ДЗИ – Генерал Тошево Sunflower, experimental field in DAI - Gen Toshevo	4
SS19.4	Слънчоглед, производствен посев в ДЗИ – Генерал Тошево Sunflower, commercial crops in DAI - Gen Toshevo	5

Изолати на *S. sclerotiorum*. На случаен принцип от всяка проба бяха взети по пет склероци. Склероциите бяха промити на течаща вода за 30 min и подсушени върху филтърна хартия, след което потопени в 75% етилов алкохол за 1-2 min и трикратно промити в стерилна дестилирана вода. След подсушаване, склероциите бяха поставени върху хранителната среда PDA (Merck) и инкубирани за 4-5 дни при температура 21 ± 1 °C. От периферията на колониите беше взет агаров диск с размер 8 mm и прехвърлен в нова хранителна среда. Получените склероции бяха събрани в стъклени шишета (5 ml) и съхранени при 4 °C.

Мицелни съвместими групи (MCGs). Съвместимостта на изолатите е установена по методиката описана от Schafer and Kohn (2006). В изследването бяха използвани три хранителни среди: PDA, PDA + 50 µl/L (PDAC+50)

и PDA + 80 µl/L червен оцветител (Christmas red – Слай Комерс ООД) за хранително вкусовата промишленост (PDAC+80). Всеки един от изолатите беше комбиниран (сдвоен) с останалите чрез поставяне на агаров диск с размер 8 mm, взет от периферията на 3 дневна култура върху PDA, на разстояние от 3 cm между изолатите в петриевото блюдо. Успоредно с това всеки един от изолатите беше комбиниран сам със себеси за установяване наличието на самосъвместимост. Блюдата бяха инкубирани в термостат при 21 ± 1 °C. Наличието на съвместима/несъвместима реакция между изолатите е отчетено след 5 и 7 дена. За съвместима реакция беше прието липсата на бразда в границата на контакт между изолатите.

Агресивност на изолатите. Агресивността на изолатите е установена чрез инокулиране на растения от сорт ГТБ Блян. Растенията са отгледани в почвено-торфена смес, в пластмасови съдове с вместимост 1 L, по 2 растения в съд, при оранжерийни условия. Във фенофаза бутонизация, растенията бяха заразени по метода на Petzoldt and Dickson (1996), по четири растения за изолат. За целта, главното стъбло на растенията беше отрязано на разстояние 3 cm от последния листен възел. Върху отреза беше поставена пластмасова, едностранно затворена сламка (6 x 25 mm) съдържаща агаров диск от 3 дневна култура на съответния изолат върху PDA. След инокулирането, растенията бяха поставени при температура 21-23/17-19 °C ден/нощ. Реакцията на растенията е отчетена 5 и 7 дни след инокулиране, като размер на петното в mm. За всеки изолат е изчислена Площ под кривата на развитие на болестта (AUDPC) по следната формула:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{N-1} \frac{(Y_i + Y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i),$$

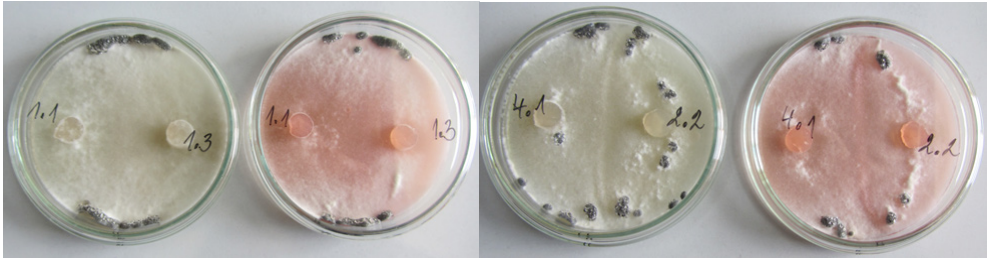
където y_i – размер на петното в началото на отчетния период, y_{i+1} – размер на петното в края на отчетния период, t_i – отчетен период.

Разликите между изолатите са установени с помощта на еднофакторен дисперсионен анализ, а за групиране на изолатите е приложен клъстерен анализ (SPSS Statistics 19).

Резултати и обсъждане

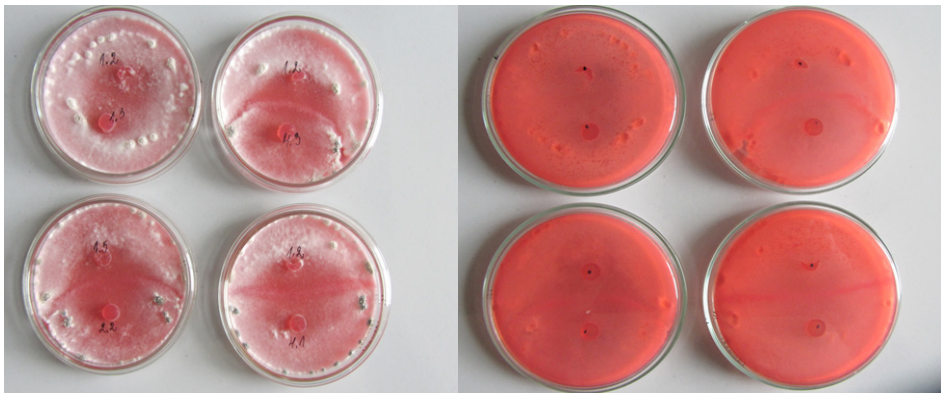
Влияние на хранителната среда и периода на инкубация върху визуализацията на съвместима/несъвместима реакция. Разработвайки методиката за определяне на мицелната съвместимост между изолатите на *S. sclerotiorum*, Schafer and Kohn (2006) посочват, че хранителната среда PDA с прибавка на 75 µl/L червен оцветител за храна McCormick е най-подходяща,

тъй като не потиска растежа на изолатите и дава възможност за по-добро визуализиране на реакцията при тяхното сдвояване. В нашето изследване използвахме оцветител на фирмата „Слай Комерс“ ООД, разпространен в търговската мрежа. С оглед установяване възможността за неговото използване бяха проведени тестове за съвместимост при част от изолатите върху средата PDA и PDA с прибавка съответно на 50 и 80 μL .



Фигура 1. Съвместима (ляво) и несъвместима реакция между изолати на *S. sclerotiorum* върху средата PDA без и с оцветител Christmas red в концентрация 50 μL

Figure 1. Compatible (left) and incompatible reaction between *S. sclerotiorum* isolates on the PDA medium without and with Christmas red at a concentration of 50 μL



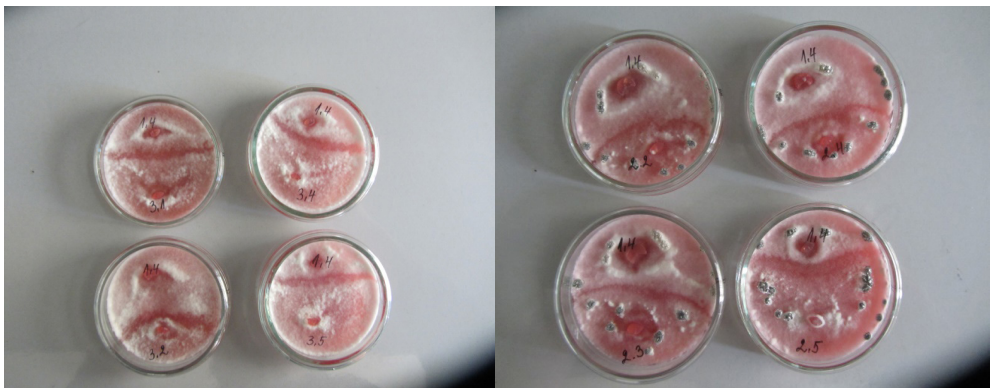
Фигура 2. Съвместима (ляво горе) и несъвместима реакция между изолати на *S. sclerotiorum* върху средата PDA с прибавка на оцветител Christmas red в концентрация 80 μL

Figure 2. Compatible (left up) and incompatible reaction between *S. sclerotiorum* isolates on PDA medium with addition of Christmas red at 80 μL

Резултатите от теста показват, че използваният оцветител не оказва влияние върху развитието на изолатите. На фигура 1 е представена съвместима и несъвместима реакция между изолати на гъбата върху PDA и PDA+50. При

тази концентрация на оцветителя разделителната линия (бразда) между несъвместимите изолати е значително по-ясно отчетлива от тази при средата без оцветител. Според Schafer and Kohn (2006) прибавката на оцветител към средата дава възможност за очертаване на червена линия от долната страна на блюдото в границата между двата изолата при несъвместима реакция. При използване на средата PDA+50 такава линия не беше наблюдавана или ако се наблюдаваше тя беше много слабо изразена. Повишаване количеството на оцветителя в средата на 80 μL дава възможност за по-ясно очертаване на разделителната линия, както и за добре изразена червена линия от долната страна на блюдата (Фигура 2).

На фигура 3 е представена несъвместима реакция между изолати на *S. sclerotiorum* съответно след 5 и 7 дни инкубация. Резултатите от изследването показват, че след 5 дни инкубиране на изолатите разграничителната линия е значително по-ясно изразена, но в колониите не се наблюдава формиране на склероции. На седмия ден разграничителната линия е по тънка, а в колониите се наблюдават формирани склероции, които са разположени от двете страни на разделителната линия. Успоредно с това на седмия ден от долната страна на блюдата се наблюдава по-ясно изразена червена линия (Фигура. 2). Тези резултати ни дават основание да препоръчаме отчитането на мицелната съвместимост да се осъществява на 5 и 7 ден. Според Schafer and Kohn (2006) отчитането на мицелната съвместимост трябва да се осъществява след 4 и 7 дневно инкубиране на изолатите.



Фигура 3. Несъвместима реакция между изолати на *S. sclerotiorum* след 5 (ляво) и 7 (дясно) дневно инкубиране

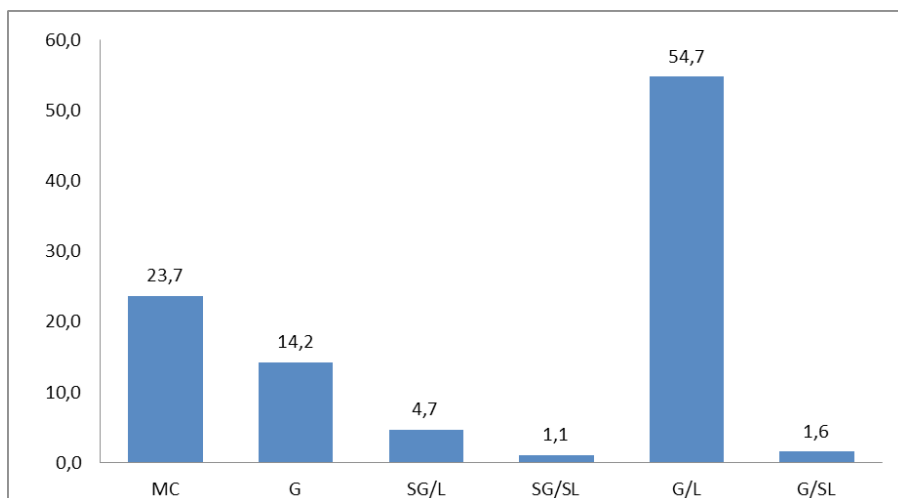
Figure 3. Incompatible reaction between *S. sclerotiorum* isolates after 5 (left) and 7 (right) day incubation

Мицелно съвместими групи (MCGs). При установяване мицелната съвместимост на изолатите са осъществени 190 комбинации, като са наблюдавани шест фенотипни изяви на взаимодействие между тестираните изолати. При 23.7% от комбинациите беше наблюдавана мицелна съвместимост (МС) изразяваща се в сливане на двете колонии (Фигура. 2). без формиране на бразда и отсъствие на червена линия от долната страна на блюдата (Фигура 4). Всички изолати включени в изследването показват самосъвместимост. Несъвместимата реакция е свързана със следните фенотипни изяви: наличие на добре изразена бразда в мястото на контакт и ясно изразена червена линия от долната страна на колонии (G/L = 54.7%); добре изразена бразда и слабо очертана червена линия (G/SL = 1.6%); слабо изразена бразда и добре очертана червена линия (SG/L= 4.7%); слабо изразена бразда и трудно забележима червена линия (SG/SL = 1.1%); добре изразена бразда и отсъствие на червена линия (G = 14.2%).

Установената съвместимост между изолатите ни дава основание да ги групираме в седем MCGs, като 6 от тях са изградени от повече от един изолат (Таблица 2). В научната литература няма стандартна номенклатура за номериране на MCGs, поради което приехме отбелязването им да става с последователни цифри като се използва абривиатурата MCBG. Група MCBG1 включва петте изолата от проба с произход от опитен участък с фасул за анализ на селекционните материали за устойчивост към склеротинийното гниене. Тъй като склероциите включени в изследването са резултат от заразяване на селекционните материали с един изолат на патогена, то очаквано всички изолати от този произход са самосъвместими. Това показва, че те са клонови линии на изходния изолат. Групи MCBG2 и MCBG3 включват петте изолата от проба събрана от селекционната градина на слънчогледа в ДЗИ – Генерал Тошево. Група MCBG2 обединява 4 изолата в това число и изолат SS19.2.4, които е съвместим и с SS19.2.5. Тъй като изолат SS19.2.5 е несъвместим с останалите три изолата от MCBG2, той заедно с SS19.2.4 формират отделна група - MCBG3. Включването на един и същ изолат в две и повече MCGs е установено и от Ahmed et al. (2007) при анализ на 16 изолата на *S. sclerotiorum* с произход нахут. Логичното обяснение за това е свързано с големия брой локуси определящи стабилността на формирания дикарион (Kamvar and Everhart, 2018).

Мицелна група MCBG4 включва четири изолата с произход слънчоглед (Таблица 2). Сходно на групи MCBG2 и MCBG3, следващите три групи са изградени от три или два изолата, като изолат SS19.4.4 от група MCBG5 е съвместим и с SS19.4.2, като формира нова група MCBG6. Изолат SS19.4.3 формира самостоятелна група - MCBG7, тъй като е несъвместим с останалите изолати включени в изследването. Последните три MCGs се формират от

изолати с произход слънчогледов производствен посев.



Фигура 4. Фенотипна изява на взаимодействието между 19 изолата на *S. sclerotiorum* при тест за мицелна съвместимост (%). MC – сливане на колонии; G – бразда без червена линия; SG/L – слабо изразена бразда и червена линия; SG/SL – слабо изразена черта и червена линия; G/L – бразда и червена линия; G/SL – бразда и слабо изразена линия

Figure 4. Phenotypic expression of the interaction between the 19 *S. sclerotiorum* isolates in the mycelial compatibility assay (%). MC - no gap; G - gap without red line; SG / L - weak gap and red line; SG / SL - slightly pronounced gap and red line; G / L - gap and red line; G / SL - gap and weak line

Таблица 2. Мицелни съвместими групи (MCGs) при анализ на 19 изолата от *S. sclerotiorum*

Table 2. Mycelial Compatible Groups (MCGs) in an analysis of 19 *S. sclerotiorum* isolates

Група Group	Изола / Isolate				
MCBG1	19.1.1	19.1.2	19.1.3	19.1.4	19.1.5
MCBG2	19.2.1	19.2.2	19.2.3	19.2.4	
MCBG3	19.2.4	19.2.5			
MCBG4	19.3.1	19.3.2	19.3.4	19.3.5	
MCBG5	19.4.1	19.4.4	19.4.5		
MCBG6	19.4.2	19.4.4			
MCBG7	19.4.3				

Резултатите от проучване на мицелната съвместимост между 19 изолата на *S. sclerotiorum* показват наличието на генетично разнообразие в две от проучваните проби събрани от слънчогледови посеви, както и между четирите локации от които са събрани пробите. *S. sclerotiorum* е хомоталична гъба, поради което генетичното вариране в популациите може да се осъществява чрез рекомбинации при половото размножаване, мутационни и парасексуални процеси (Strom and Bushley, 2016; Kamvar and Everhart, 2018). Тъй като през последните 10 години, климатичните условия в района на ДЗИ – Генерал Тошево не благоприятстват карпогенното развитие на склероциите, може да се предположи, че наблюдаваното разнообразие е резултат на мутации или формиране на стабилни дикариони в процеса на анастомозис между изолатите. Малкият обем на пробите и незначителната дистанция между локациите, от които са събрани не ни дават основание да коментираме размерът на генетично вариране в популацията на патогена в проучвания район, но са показател за съществуването на такова и то в значителен размер.

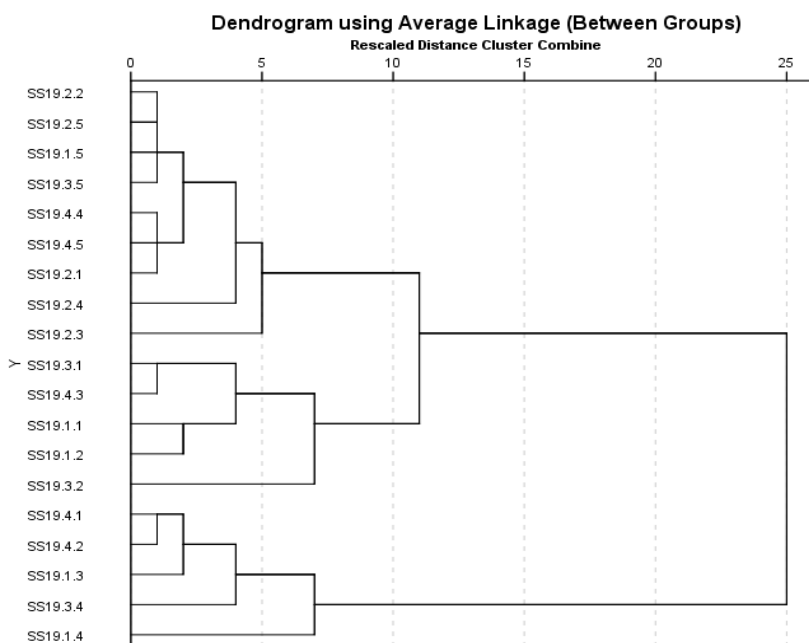
Агресивност на изолатите. На основа AUDPC проучваните 19 изолата се групират в два основни клъстера – А и В, като клъстер В от своя страна обединява два подклъстера (Фигура 5). Клъстер А включва 5 изолата от които два са с произход фасул, а останалите с произход слънчоглед. Тази група изолати е с най-високи стойности на AUDPC, като разликите между четири от тях не са статистически достоверни (Таблица 3). С най-висока агресивност от тази група се отличава изолат SS19.1.4, като разликите спрямо средните стойности на AUDPC на останалите изолати от клъстера са статистически доказани при $P \geq 0,05\%$. Двата изолата с произход фасул са отнесени към съвместима група MCBG1, а останалите към MCBG4, MCBG5 или MCBG6.

Подклъстер В1 включва 9 изолата, от които единият е с произход от фасул, а останалите от слънчоглед (Таблица 3, Фигура 5). Стойностите на AUDPC варират от 159,4 за изолат SS19.3.5 до 222,9 за SS19.2.4, като разликите между двата изолата са доказани при $P=0.05\%$. Между останалите изолати от групата не са установени достоверни разлики. Изолатите включени в подклъстера са отнесени към 6 от идентифицираните 7 MCGs.

Подклъстер В2 обединява пет изолата от които два са с произход фасул (Таблица 3, Фигура 5). Стойностите на AUDPC варират от 245,5 при изолат SS19.3.2 до 308,1 при SS19.3.1, като разликите между двата изолата са доказани при $P=0.05\%$. Между останалите изолати в групата не са установени статистически достоверни разлики. Изолатите включени в подклъсте В2 са отнесени към три от установените 7 MCGs.

Получените резултати показват липсата на връзка между между агресивността на изолатите и мицелната им съвместимост. Проучвайки 299 изолата от *S. sclerotiorum* отнесени към 42 MCGs, Kull et al. (2004) не установява

корелация между съвместимите групи и агресивността на изолатите. В настоящото проучване с най-висока агресивност се характеризира изолат SS19.1.4, който е получен от проба събрана от опитен участък за проучване устойчивостта на селекционни материали фасул.



Фигура 5. Дендрограма на Евклидовото разстояние между изолатите на основа AUDPC

Figure 5. Dendrogram of Euclidean distance between isolates based on AUDPC

Независимо от фактът, че изолатите от проба SS19.1 (Таблица 1) са клонови линии на един изолат, то между тях се наблюдават статистически достоверни разлики по отношение на агресивността (Таблица 3, Фигура 5). Влиянието на източника на инокулум върху агресивността на изолатите е установено при голям брой патосистеми (Montarry et al., 2006; Desprez – Loustau et al., 2009; Delmas et al., 2016). Според Delmas et al. (2016) изолатите на *Plasmopara viticola* произхождащи от сортове с хоризонтална устойчивост са значително по-агресивни от тези изолирани от чувствителни към мана сортове лоза. Устойчивостта при фасула към *S. sclerotiorum* има количествен, расово-неспецифичен характер (Singh and Schwartz, 2010). Наблюдаваните различия в агресивността на изолатите с произход фасул могат да се дължат на частичната устойчивост при някои от сортовете, от които са събрани склероциите. За потвърждаване на тази хипотеза са необходими по-нататъшни изследвания.

Таблица 3. Агресивност на 19 изолата от *S. Sclerotiorum*
Table 3. Aggressiveness of the 19 *S. sclerotiorum* isolates

Изолат/Isolate	AUDPC	Произход Origin	MCG	Клъстер Cluster
SS19.4.1	340,0*	слънчоглед	MCBG5	A
SS19.4.2	370,0*	слънчоглед	MCBG6	
SS19.3.4	373,1	слънчоглед	MCBG4	
SS19.1.3	352,5*	фасул	MCBG1	
SS19.1.4	433,1*	фасул	MCBG1	
SS19.2.2	177,0	слънчоглед	MCBG2	B1
SS19.2.5	170,6	слънчоглед	MCBG3	
SS19.1.5	183,3	фасул	MCBG1	
SS19.3.5	159,4*	слънчоглед	MCBG4	
SS19.4.4	197,3	слънчоглед	MCBG5;MCBG6	
SS19.4.5	200,6	слънчоглед	MCBG5	
SS19.2.1	205,0	слънчоглед	MCBG2	
SS19.2.4	222,9*	слънчоглед	MCBG2;MCBG3	
SS19.2.3	180,6	слънчоглед	MCBG2	B2
SS19.3.1	308,1*	слънчоглед	MCBG4	
SS19.4.3	302,5	слънчоглед	MCBG7	
SS19.1.1	265,6	фасул	MCBG1	
SS19.1.2	275,0	фасул	MCBG1	
SS19.3.2	245,5*	слънчоглед	MCBG4	

*Разлики установени в клъстера $GD_{5\%}=61.31$; $GD_{1\%}=81.65$; $GD_{0.1\%}=106.42$

*Differences identified in the cluster

Изводи

На основа мицелната им съвместимост, проучваните 19 изолата на *S. sclerotiorum* формират 7 мицелно съвместими групи (MCGs), отбелязани като MCBG1 - MCBG7. Независимо от малката извадка, получените резултати показват значително генетично вариране в популацията на патогена.

Всички MCGs, с изключение на MCBG7, са изградени от два или повече изолата. MCBG7 е изградена от един изолата, който не е съвместим с останалите 18 изолата.

На основа AUPDC проучваните изолати се групират в два основни клъстера, като вторият клъстер е разделен на два подклъстера. Не е установена връзка между идентифицираните MCGs и агресивността на изолатите.

Литература

References

- Ahmed, N., Iqbal, M., Iqbaland U. & Rauf, A. (2007). Morphological variability and mycelial compatibility among the isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* associated with stem rot of chickpea. *Mycopath.* 5(1): 11-15.
- Aldrich-Wolfe, L., Travers, S. & Nelson, B.D., Jr (2015). Genetic Variation of *Sclerotinia sclerotiorum* from Multiple Crops in the North Central United States. *PLoS ONE* 10, (9): e0139188. doi:10.1371/ journal.pone.0139188
- Adams, P.B & Ayers, W.A. (1979) Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69: 896-898.
- Bolton, M.D, Thohmma, B.P.H.J. & Nelson, B.D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7(1), 1–16.
- Delmas, C.E.L., Fabre, F., Jolivet, J, Mazet, I. D., Cervera, S. R., Deliere L. & Delmotte, F. (2016). Adaptation of a plant pathogen to partial host resistance: selection for greater aggressiveness in grapevine downy mildew. *Evolutionary Applications*, 9:709-725.
- Desprez-Loustau, M.-L., Vitasse, Y., Delzon, S., Capdevielle, X., Marcais, B. & Kremer, A. (2009). Are plant pathogen populations adapted for encounter with their host? A case study of phenological synchrony between oak and an obligate fungal parasite along an altitudinal gradient. *J. Evol. Biol.* doi:10.1111/j.1420-9101.2009.01881
- El-Argawy, E. (2011). Mycelium compatibility groups and phenotypic variability among some Isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* the causal of stem and pod rot of beans. *Egypt. J. Phytopathol.*, Vol. 39. No. 2. pp. 59-73.
- Kamvar, Z. N. & Everhart, S. E. (2018). Something in the agar does not compute: On the discriminatory power of mycelial compatibility in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Peer J Preprints* | <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.26670v1>
- Kull, L. S., Pedersen, W. L., Palmquist, D. & Hartman, G. L. (2004). Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.*, 88: 325-332.
- Liua, J., Meng, Q., Zhang, Y., Xiang, H., Li, Y., Shi, F., Ma, L., Liu, C., Liu, Y., Su, B. & Li, Z. (2018). Mycelial compatibility group and genetic variation of sunflower *Sclerotinia sclerotiorum* in Northeast China. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102: 185-192.
- Montarry, J., Corbiere, R., Lesueur, S., Glais, I. & Andrivon, D. (2006). Does selection by resistant hosts trigger local adaptation in plant–pathogen systems? *J. Evol. Biol.*, 19, 522–531.
- Petzoldt, R. & Dickson, M.H. (1996). Straw test for resistance to white mold in
-

- beans. *Annu. Rpt. Bean improv. Coop.*, 39: 142-143.
- Singh, S. P. & Schwartz, H.F. (2010). Breeding common bean for resistance to diseases: A review. *Crop Sci.*, 50: 2199–2223.
- Strom N. B. & Bushley, K. E. (2016). Two genomes are better than one: history, genetics, and biotechnological applications of fungal heterokaryons. *Fungal Biol Biotechnol*, 3(4), 14 pp.
- Schafer, M. R. & Kohn, L. M. (2006). An optimized method for mycelial compatibility testing in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycologia*, 98(4), 593–597
- Schwartz, H. F. & Steadman J. R. (1989). White mold. In H. F. Schwartz & M. A. Pastor-Corrales (Eds.), *Bean production problems in the tropics* (pp. 211–230). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.