Field Crops Studies (2021) XIV(2-3-4): 9-16
http://fcs.dai-gt.org/bg/

ISSN: 2535-1133 (Online)
ISSN: 1312-3882 (Print)

ORIGINAL PAPER

Агресивност на изолати от *Sclerotinia sclerotiorum* към *Phaseolus vulgaris* и *Helianthus annuus*

Керанка Жечева[1] • Иван Киряков[1]

[1]Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево, 9521, Генерал Тошево, България

Автор за кореспонденция: Керанка Жечева, E-mail: keri_07@abv.bg

Aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates to *Phaseolus vulgaris* and *Helianthus annuus*

Keranka Zhecheva[1] • Ivan Kiryakov[1]

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

Corresponding Author: Keranka Zhecheva, E-mail: keri_07@abv.bg

Received: August 2021 / Accepted: September 2021 /

Published: December 2021 © Author(s)

Abstract

Zhecheva, K. & Kiryakov, I. (2021). Aggressiveness of Sclerotinia sclerotiorum isolates to Phaseolus vulgaris and Helianthus annuus. Field Crops Studies, XIV(2-3-4), 9-16.

Under greenhouse conditions, the aggressiveness of 23 *Sclerotinia sclerotiorum* isolates to the common bean variety GTB Blyan and sunflower hybrid Deveda was studied. The straw method was used for inoculation of plants in 2nd trifoliate of common bean and 3rd pair of sunflower leaves. A three-day culture on PDA was used for inoculum of each isolate. The area under the disease progress curve (AUDPC) for each of the crops was calculated, as well as the average AUDPC (AAUDPC) for each isolate. ANOVA was used to establish the significance of the differences between the values of AUDPC. Sixteen of the 23 S. sclerotiorum isolates have higher AUDPC values at the sunflower hybrid Deveda compared to the common bean variety GTB Blyan. AUDPC values of 5 isolates are higher in the GTB Blyan variety, and the differences compared to the Deveda hybrid are

significant. Two of the isolates showed similar aggressiveness concerning the two crops, with differences in AUDPC values not significant. Significant variation in the aggressiveness of the isolates was found both in the same field and between the different origins.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*, Aggressiveness, *Helianthus annuus*, *Phaseolus vulgaris*.

Въведение

Хемибиотрофната гъба *Sclerotinia sclerotiorum* е ключов патоген при зърнено-бобовите култури и слънчогледа в България (Kiryakov and Zhecheva, 2019). Основните проблеми свързани с болестите причиняваниот патогена са: шрокия кръг от гостоприемници надхвърлящ 400 растителни вида (Saharan and Mehta, 2008); недостатъчната ефикасност на сеитбооборота, като средство за контрол, поради способноста на потогена да се запазва в почвата под формата на склероции за продължителен период от време (Adams and Ayers, 1979); невъзможността за химичен контрол при нападение на кореновата система или основата на стъблото; незадоволителната устойчивост на разпространените у нас сортове и хибриди към патогена. Запазването на гъбата е резултат от формиране на склероции, които в зависимост от климатичните условия могат да заразят гостоприемника директно в резултат на мицелогенно развитие или да формират апотеции с аскци и аскоспори при карпогенетично развитие (Schwartz and Steadman, 1989; Bolton et al., 2006). За условията на България, заразяването на обикновения фасул и слънчоглед е свързано преди всичко с мицелогенно развитие на склероциите.

Изполването на устойчиви сортове е най-ефикасното средство за контрол на *S. sclerotiorum* (Schwartz and Singh, 2013). Редица изследвания показват, че устойчивостта при *Phaseolus vulgaris* към патогена е свързана, както с архитектониката на храста, известна като „избягващ механизъм“ така и с анатомични и физиологични особености - „физиологична устойчивост“ (Singh and Schwartz, 2010; Schwartz and Singh, 2013). Независимо от механизма на защита, устойчивостта към патогена има количествен характер (Genchev and Kiryakov, 2002; Schwartz and Singh, 2013). Устойчивостта при *Helianthus annuus* към базалната и стъблена форма на *S. sclerotiorum* има количествен характер (Amouzaden et al, 2013;Amoozadeh et al., 2015).

Съществуващото значително разнообразие в популациите на гъбата по отношение на агресивността на изолатите създава трудности при подбора на родителски форми и проследяване на резистентността в хибридните поколения (Taylora et al., 2015; Kamvar et al., 2017; Yu et al., 2020). Редица автори посочват, че успеха на селекционния процес е тясно свързан с използването

ISSN: 2535-1133 (Online)
ISSN: 1312-3882 (Print)

на репрезентативни по отношение на агресивността за съответния район, маркерни изолати (Davara et al, 2012; Taylora et al, 2015; Kamvar et al., 2017).

Целта на настоящото проучване е да се установи агресивността на изолати от *S. sclerotiorum* към фасулевия сорт ГТБ Блян и слънчогледов хибрид Деведа с оглед подбор на маркерни изолати за селекцията на устойчивост при обикновения фасул и слънчоглед.

Материал и методи

В изследването са включени 23 изолата на *S. sclerotiorum* изолирани от проби, събрани от производствени полета на слънчоглед и рапица през 2019г. (Таблица 1). Изолатите получени от проби събрани от едно поле се приемат за един произход.

Изолати на *S. sclerotiorum*. За изолиране на патогена е използвана хранителната среда PDA. За целта, еденични склероции от събраните проби бяха поставени в стерилна дестилирана вода при стайна температура. След инкубиране за 2-4 h, склероциите бяха повърхностно стерилизирани с 0.6% NaClO за 3 min, последвано от двукратно промиване със стерилна дестилирана вода. Стерилизираните склероции са подсушени на ламинарен бокс, след което са поставени върху хранителната среда в Петриеви блюда. Блюдата бяха инкубирани в термостат при 20±1°C на тъмно за 3 дни.

Агресивност на изолатите. Агресивността на изолатите е установена чрез инокулиране на растения от фасулевия сорт ГТБ Блян и слънчогледовия хибрид Деведа. За целта, растенията бяха отгледани в терини с размери 45x30x10 cm съдържаща почвено-торфена смес (1:1) при температура 21-24/16-18°C съответно ден/нощ. Заразяването на растенията е осъществено по Straw – метода (Petzoldt, and Dickson, 1996; Kiryakov and Zhecheva, 2019), като фасулевите растения са инокулирани във фенофаза начало на формиране на 2-ри троен лист, а слънчогледовите – поява на 3-та двойка листа. За целта, главното стъбло на растението е отрязано на разстояние 2 cm от възела на примордиалните (несъщински) листа на фасулевите растения и първа двойка листа на слънчогледовите растения (Фигура 2). Върху отреза е поставена едностранно затворена пластмасова сламка (6 x 25 mm), съдържаща агаров диск с мицел, отрязан от периферията на 3 дневна култура на съответния изолат. С всеки изолат са инокулирани по 5 растения. След инокулиране, растенията са инкубирани при температура 20-21/16-18°C, съответно ден/нощ. Размерът на нападнатите тъкани от мястото на отреза е отчетен съответно на 5-ти и 7-ми ден след инокулиране, за фасула и 3-ти, и 5-ти ден, за слънчогледа, в mm.

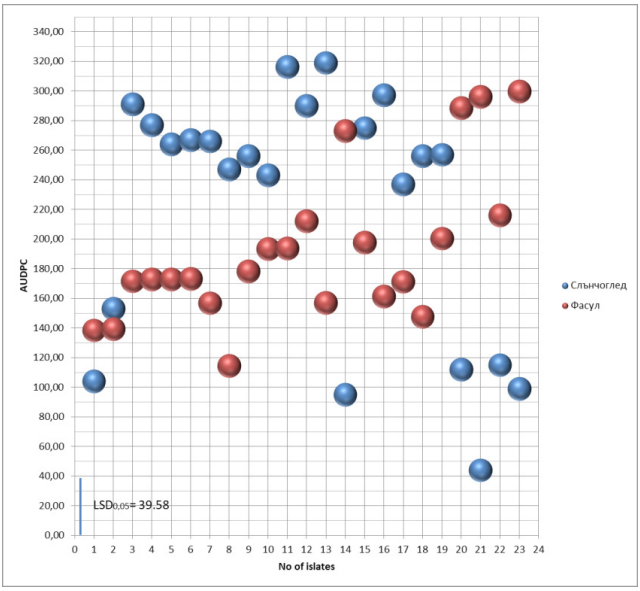
Обработка на данните. Агресивността на изолатите е определена на база стойностите на AUDPC (Simko and Piepho, 2012.). Анализът на

варианса(ANOVA) е проведен с програмен продукт IBM SPSS (Statistics 19)

Резултати и обсъждане

Анализът на варианса за агресивността на 23 изолата от *S. sclerotiorum* показва достоверно влияние на фактора изолат (F= 10.809; P>0.001%), сорт/хибрид (F=46.256; P>0.001%), както и на взаимодействието между двата фактора (F=37.251; P>0.001%). От проучваните 23 изолата, най-ниска стойност на AUDPC при слънчогледов хибрид Деведа е установена при изолат S191931 (AUPDC=44,00), като разликите спрямо останалите изолати е статистически достоверна при LSD = 0.05% (Таблица 1, Фигура 1). Най-високи стойности на AUDPC са установени при изолати S191012 (AUPDC=319,00), S19531 (AUPDC=316,40) и S191212 (AUPDC=297,20) като разликите между тях на са достоверни.

Агресивността към фасулевия сорт ГТБ Блян е най-ниска при изолати S19512 (AUPDC=114,40), S19311 (AUPDC=138,40), S19312 (AUPDC=139,40) и S191232 (AUDPC=147,60), като разликите между стойностите на AUPDC не са достоверни (Таблица 1, Фигура 1).Най-висока агресивност към сорта показват изолати S191951 (AUPDC=99,80), S191931 (AUPDC=296,00),S191911 (AUPDC=288,40) иS191021 (AUPDC= 273,00). Разликите между последните изолати не са статистически доказани.



Фигура 1. Разпределение на 23 изолата от *S. sclerotiorum* в зависимос от AUDPC при фасулев сорт ГТБ Блян и слънчогледов хибрид Деведа
Figure 1. Distribution of 23 isolates of *S. sclerotiorum* depending on AUDPC in bean cultivar GTB Blyan and sunflower hybrid Deveda

ISSN: 2535-1133 (Online)
ISSN: 1312-3882 (Print)

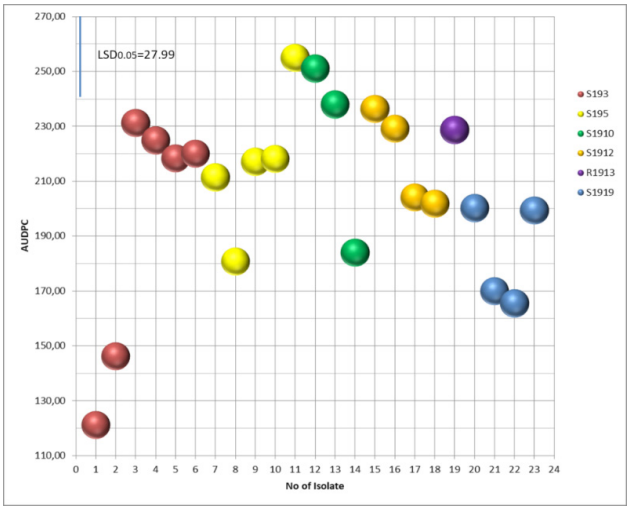
Таблица 1. Площ под кривата на развитие на болестта (AUDPC) на 23 изолата от *S. sclerotiorum* към фасулев сорт ГТБ Блян и слънчогледов хибрид Деведа

Table 1. The area under the disease progress curve (AUDPC) of 23 *S. sclerotiorum* isolates on common bean variety GTB Blyan and sunflower hybrid Deveda

№	Изолат Isolate	Произход Origin	AUDPC		AAUDPC[e]
			Деведа Deveda	ГТБ Блян GTB Blyan	
1	S19311	с.Дропла/Dropla[a]	104,00	138,40	121,20
2	S19312	с.Дропла/Dropla[a]	153,00	139,40	146,20
3	S19321	с.Дропла/Dropla[a]	291,00	171,60	231,30
4	S19322	с.Дропла/Dropla[a]	277,00	172,80	224,90
5	S19331	с.Дропла/Dropla[a]	264,00	172,80	218,40
6	S19332	с.Дропла/Dropla[a]	267,00	173,20	220,10
7	S19511	с.Царевец/Tzharevec[a]	266,00	156,80	211,40
8	S19512	с.Царевец/Tzharevec[a]	247,00	114,40	180,70
9	S19521	с.Царевец/Tzharevec[a]	256,00	178,20	217,10
10	S19522	с.Царевец/Tzharevec[a]	243,00	193,40	218,20
11	S19531	с.Царевец/Tzharevec[a]	316,40	193,60	255,00
12	S191011	Риш/Rish[b]	290,00	212,20	251,10
13	S191012	Риш/Rish[b]	319,00	157,00	238,00
14	S191021	Риш/Rish[b]	95,00	273,00	184,00
15	S191211	с.Вълчин/Valchin[c]	275,00	197,80	236,40
16	S191212	с.Вълчин/Valchin[c]	297,20	161,20	229,20
17	S191221	с.Вълчин/Valchin[c]	237,00	171,20	204,10
18	S191232	с.Вълчин/Valchin[c]	256,00	147,60	201,80
19	R19131	гр.Стралджа/Straldja[d]	257,00	200,40	228,70
20	S191911	с.Петлешково/Petleshkovo[a]	112,00	288,40	200,20
21	S191931	с.Петлешково/Petleshkovo	44,00	296,00	170,00
22	S191941	с.Петлешково/Petleshkovo[a]	115,00	216,00	165,50
23	S191951	с.Петлешково/Petleshkovo[a]	99,00	299,80	199,40
$LSD_{0,05\%}$			39,58		27,99

[a]Област Добрич (RegionDobrich);[b]Област Шумен(Region Shumen); [c]Област Бургас (RegionBurgas); [d] Област Ямбол (Region Yambol), [e]AAUDPC – средно за изолат (Average for isolate)

Изолти S19311 и S19312 запазват своята агресивност както към сорт ГТБ Блян, така и към хибрид Деведа (Таблица 1, Фигура 1). При пет от останалите изолати, стойностите на AUDPC са по-високи при фасулевия сорт в сравнение с хибрида, като разликите са статистически достоверни. Останалите 16 изолата показват доказано по-висока агресивност към слънчогледовия хибрид. Според Miorini et al. (2019) проучванитите 82 изолата на *S. sclerotiorum* показват по-висока агресивност към фасулевия сорт IAC Alvorada в сравнение със соевия сорт Dassel. В настоящото изследване болшенството изолати показват по-висока агресивност към слънчогледовия хибрид в сравнение с фасулевия сорт.



Фигура 2. Разпределение на 23 изолата от *S. sclerotiorum* в зависимост от AAUDPC, по произходи

Figure 2. Distribution of 23 isolates of *S. sclerotiorum* according to AAUDPC, by origin

Резултатите от проведеното проучване показват вариране в агесивността, както между отделните произходи, така и в един и същ произход (Таблица 1, Фигура 2). От проучваните шест изолата с произход с. Дропла - S193 (Обл. Добрич), четири показват стойности на AAUDPC от 220.10 до 231.30, като разликите между тях не са статистически достоверни. Два изолата, показват по-ниска агресивност, като разликите на спрямо останалите от този произход са достоверни. Сходни резултати се наблюдават и при трите изолата с произход Риш - S1910 (Обл. Шумен). Четирите изолата с произход от с. Петлешково – S1919, показват близки стойности на AAUDPC, като разликите между тях не са статистически достоверни.

Вариране в агресивността на изолатите по региони е установено и от Kamvar et al. (2017) при прилагане на STRAW – теста при соя и обикновен фасул. Сходна корелация между произхода на изолатите и тяхната

ISSN: 2535-1133 (Online)
ISSN: 1312-3882 (Print)

агресивност е установена и от Otto-Hanson et al. (2011). Според Ekins et al. (2007), агресивността на изолатите не съответства на произхода. Резултатите от настоящото проучване показват значително вариране в агресивността на изолатите, както в отделните произходи, така и между тях.

Изводи

Шестнадесет от проучваните 23 изолата на S. sclerotiorum показват по-високи стойности на AUDPC при заразяване на слънчогледов хибрид Деведа в сравнение с резултатите от инокулиране на фасулевия сорт ГТБ Блян. При пет от проучваните изолата стойностите на AUDPC при фасуления сорт са достоверно по-високи от тези при слънчогледовия хибрид. Два от изолатите показват сходна агресивност по отношение на двете култури, като разликите в стойностите на AUDPC не са достоверни.

Установено е значително вариране в агресивността на изолатите както в едно поле, така и между отделните произходи.

Литература
References

Adams, P.B & Ayers, W.A. (1979). Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69: 896-898.

Amoozadeh, M., Darvishzadeh, R., Davar, R., Abdollahi Mandoulakani B.,. Haddadi, P. & Basirnia, A. (2015). Quantitative Trait Loci Associated with Isolate Specific and Isolate Non-Specific Partial Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. *J. Agr. Sci. Tech.*, 17: 213-226.

Amouzadeh, M., Darvishzadeh, R., Haddadi, P., Mandoulakani, A. B. & Danesh, R. Y. (2013). Genetic analysis of partial resistance to basal steam rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) in sunflower. Genetika, 45,(3), 737-748, DOI: 10.2298/GENSR1303737A

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

Davara, R., Darvishzadehb, R. & Jahanbakhsh-Godehkahriz, S. (2012). Analysis of aggressiveness among isolates of Sclerotinia sclerotiorum from sunflower. *2nd World Conference on Information Technology (WCIT-2011), AWER Procedia Information Technology & Computer Science (2012)*, 543-546.

Ekins, M. G., Aitken, E.A.B. & Goulter, K. C. (2007). Aggressiveness among isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from sunflower. *Australasian Plant Pathology*, 36, 580– 586.

Genchev, D. & Kiryakov, I. (2002). Inheritance of resistance to white mold disease

(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) in breeding line A 195 of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 8: 181-187 (Bg).

Kamvar, Z. N., Amaradasa, B. S., Jhala, R., McCoy, S., Steadman, J.R. & Everhart, S. E. (2017). Population structure and phenotypic variation of *Sclerotinia sclerotiorum* from dry bean (*Phaseolus vulgaris*) in the United States. *Peer J*, DOI 10.7717/peerj.4152

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

Miorini, T.J.J., Higgins, R.S Raetano, C.G., Steadman J.R. & Everhart. S.E. (2019). Differential aggressiveness of Sclerotinia sclerotiorum isolates from North and South America and partial host resistance in Brazilian soybean and dry bean cultivars. *Tropical Plant Pathology*, 44:73–81.

Otto-Hanson, L., Steadman, J. R., Higgins, R., & Eskridge, K. M. (2011) Variation in Sclerotinia sclerotiorum bean isolates from multisite resistance screening locations. *Plant Disease*, 95(11), 1370-1377. DOI: 10.1094/PDIS-11-10-0865

Saharan, G. S. & Mehta, N. (2008). Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. e-ISBN 978-1-4020-8408-9, Springer Science+Business Media B.V.

Schwartz, H. F. & Singh, S. P. (2013). Breeding Common Bean for Resistance to White Mold: A Review. *Crop science*, 53, 1832 – 1844.

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.

Simko, I. & Piepho, H.-P. (2012). The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. *Phytopathology*, 102: 381-389.

Singh, S.P. & Schwartz, H.F. (2010). Breeding Common Bean for Resistance to Diseases: A Review. *Crop Sci.*, 50: 2199–2223.

Taylora, A., Coventryb, E., Jonesa, J. E. & Clarksona, J. P. (2015). Resistance to a highly aggressive isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* in a *Brassica napus* diversity set. *Plant Pathology*, 64, 932–940, Doi: 10.1111/ppa.12327

Yu, Y., Cai, J., Ma, L., Huang, Z.,Wang, Y., Fang, A., Yang, Y., Qing, L. & Bi., C. (2020). Population structure and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* from rapeseed (*Brassica napus*) in Chongqing City. *Plant Disease*, 104:1201-1206, doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1401-RE

Zhian, N., Kamvar, Z. N., Amaradasa, B., Jhala, R., McCoy, S., Steadmn, J. R. & Everhart, S. E. (2017). Population structure and phenotypic variation of *Sclerotinia sclerotiorum* from dry bean (*Phaseolus vulgaris*) in the United States. *Peer J*, 5:e4152; DOI 10.7717/peerj.4152