

ORIGINAL PAPER

Устойчивост на български сортове зрял фасул към група щамове на *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* и *X. fuscans* subsp. *fuscans*

Иван Киряков¹ • Димитър Генчев¹

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

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

Resistance of Bulgarian dry bean varieties to a set of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *X. fuscans* subsp. *fuscans* strains

Ivan Kiryakov¹ • Dimitar Genchev¹

¹ Dobrudzha Agricultural Institute - General Toshevo, General Toshevo, Bulgaria

Corresponding Autor: Ivan Kiryakov; E-mail: idkiryakov@abv.bg

Received: October 2018 / Accepted: November 2018 /

Published: December 2018 © Author(s)

Abstract

*Kiryakov, I. & Genchev, D. (2018). Resistance of Bulgarian dry bean varieties to a set of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and *X. fuscans* subsp. *fuscans* strains. Field Crops Studies, XI(2), 25-36.*

Common bacterial blight caused by phytopathogenic bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (*Xaph*) and *X. fuscans* subsp. *fuscans* (*Xff*) is a key disease of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L) in Bulgaria. The use of resistant varieties is considered to be the most effective and economically justifiable disease control tools. In recent years, three dry beans varieties have been bred in DAI - General Toshevo with moderate to high resistance to several highly aggressive strains of the pathogens used as markers in the breeding process. This publication presents data on the response of these varieties to 4 *Xaph* and 14 *Xff* strains. The disease reaction of 'Elixir', 'Beslet' and 'GTB Skitiya' varieties was studied under field conditions. The 'GTB Ustrem' variety was used as susceptible and the lines 'VAX

– 3’ and ‘VAX-4’ as resistant checks. The inoculation of the leaves was carried out in flowering by the multiple needle method. A bacterial suspension (108 cfu / ml) of 24 h cultures of the strains studied was used for the inoculum. The disease reaction was recorded 13 days after inoculation by 9-degree scale. The variety ‘GTB Ustrem’ used as a susceptible check showed a moderate resistance to one, susceptibility to 8 and a high susceptibility to 9 of the strains studied. The line ‘VAX -4’ was highly resistant to all strains and ‘VAX-3’ was highly resistant to 15 and resistant to 3 strains. The variety ‘Elixir’ shows a moderately resistant response to two of the strains studied. The variety ‘Beslet’ has high leaf resistance to 12 of the strains studied, with the response to the rest being resistant (4 strains) to moderately resistant (2 strains). The ‘GTB Skitiya’ variety was highly resistant to 8, resistant to 9 and moderately resistant to one of the strains tested. The presented results show a high efficacy of achieved resistance in ‘Beslet’ and ‘GTB Skitiya’ varieties in terms of aggressive and virulent diversity in *Xaph* and *Xff* populations.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, common bacterial blight, resistance

Въведение

Бактерийният пригор е ключово заболяване при отглеждане на фасул (*Phaseolus vulgaris* L.) в България. Болестта е разпространена повсеместно в страната, а нейното развитие през вегетацията се благоприятства от чести превалявания и температури над 25-26 С, особено след фенофаза бутонизация. В зависимост от климатичните условия, чувствителността на сортовете и вирулентното разнообразие на патогена загубите в добива, причинени от бактериения пригор могат да надхвърлят 40% (Singh and Miklas, 2015).

Доскоро се приемаше, че причинител на бактериения пригор е фитопатогенната бактерия *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) [*Xaph*] (Vauterin et al., 1995), чиято популация е разделена в две групи щамове на база възможността им да формират кафяв дифундиращ в хранителната среда пигмент. Изолати, притежаващи такава способност са отбелязвани като *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Vauterin et al., 1995). Редица изследвания свързани с 16S-23S ITS, RFLP анализ на плазмидна DNA и AFLP доказват, че нормалните и фускусните щамове на патогена принадлежат към различна таксономична група, поради което днес вторите се отбелязват като *X. fuscans* subsp. *fuscans* [*Xff*] (Gabriel et al., 1989; Xue and Goodwin 1994; Birch et al, 1997; Toth et al., 1998; Schaad et al., 2005; Bul et al., 2012). Независимо от липсата на разлики в симптомологията (Mkandawire et al., 2004; Duncan et al., 2011; Singh and Miklas, 2015) към настоящия момент се приема, че бактериения пригор по фасула се причинява от два различни таксономични вида.

Причинителите на бактериения пригор са семенно преносими патогени,

поради което използването на здрав посевен материал е една от най-ефикасните мерки за техния контрол (Kiryakov, 1999). Липсата на достатъчно ефикасни химични средства обаче създава редица проблеми при семепроизводството на чист от бактериоза посевен материал. Поради това създаването и използването на устойчиви сортове се приема за най-ефикасното и икономически оправдано средство за контрол на болестта (Singh and Miklas, 2015).

Селекцията на устойчивост към бактериози при зрелия фасул в Добруджански земеделски институт стартира още при приемането на първата селекционна програма през 1954 г. (Stoyanov, 1996). В резултат на интензивно проучване на местни и интродуцирани форми фасул по отношение реакцията им към бактериен пригор, през 90-те години на изминалото столетие бяха установени значителен брой устойчиви образци (Kiryakov and Genchev, 2000; Kiryakov and Genchev, 2002), които бяха включени в селекционния процес. В резултат на това бяха създадени и вписани в сортовата листа на страната сортове 'Еликсир', 'Беслет' и 'ГТБ Скития', притежаващи средна до висока устойчивост към използваните като маркери щамове на патогените (Genchev et al., 2010^a; Genchev et al., 2010^b).

Изследванията върху генотипното, агресивното и вирулентно разнообразие в популациите на *Xaph* и *Xff* у нас и чужбина показват значителна динамика, както при всеки един от патогените така и между тях (Kiryakov, 2018). Докато през 70-те години на миналото столетие в България привес са имали щамове на *Xff*, то в края на 80-те години преобладават щамове на *Xaph*. Резултатите от проведено през 2001 г. обследване на посеви в Североизточна България (Kiryakov, 2018) показва тенденция към повишено разпространение на *Xff* (61.5% от изолатите) и по-слабо на *Xaph* (38.5%). Редица изследвания потвърждават наличието на тясна връзка между вирулентното вариране в популациите на двете бактерии и сортовата структура в отделни райони на света (Mkandawire et al., 2004; Mutlu et al., 2008; Duncan et al., 2011, Kiryakov, 2018). Наличието на значително агресивно и вирулентно вариране в популациите на *Xaph* и *Xff* налага проследяване нивото на постигната вече устойчивост към съществуващото разнообразие в двата таксономични вида. Поради това целта на настоящото проучване е да се установи степента на устойчивост на сортове зрял фасул към набор от щамове на *Xaph* и *Xff*.

Материал и методи

Изследването е проведено при полски условия през 2018 г. в Добруджански земеделски институт – Генерал Тошево.

Растителен материал. В изследването са включени сортове 'Еликсир', 'Беслет' и 'ГТБ Скития'. Като чувствителна контрола е използван сорт 'ГТБ

Устрем', а като устойчива линии 'VAX-3' и 'VAX-4'. Сортовете и линиите са засети в редове с дължина 1 m и междуредово разстояние 0.5 m, по 10 растения в ред. За всеки щам е използван отделен блок включващ тестираните сортове и контроли.

Бактерийни щамове. В изследването са включени 4 щамове от *Xaph* [отбелязани като XB.....] и 14 от *Xff* [отбелязани като XB.....F] (Фигура 1). Щамовете са изолирани от растителни проби събрани през 2017 г. За поддържане и размножаване на щамовете е използвана хранителната среда YDC (Schaad et al., 2001).

Заразяване и отчитане на болестната реакция. Листата на проучваните сортове и линии са инокулиране по метода на многобройните игли с бактерийна суспензия (10^8 cfu/ml) във фенофаза цъфтеж (Kiryakov, 1999). За всеки генотип са заразени по два листа от 5 растения. Реакцията на листата е отчетена 13 дни след инокулиране по 9-бална скала както следва: 1-липсват симптоми; 3 - до 10% от листната повърхност в инокулираната зона обхванати от некроза (холо и/или плезионекроза); 5 – от 11 до 40% от зоната с воднисти петна и/или некроза; 7 – от 41 до 70% от зоната с воднисти петна и/или некроза; 9 – над 70% от зоната с воднисти петна и/или некроза.

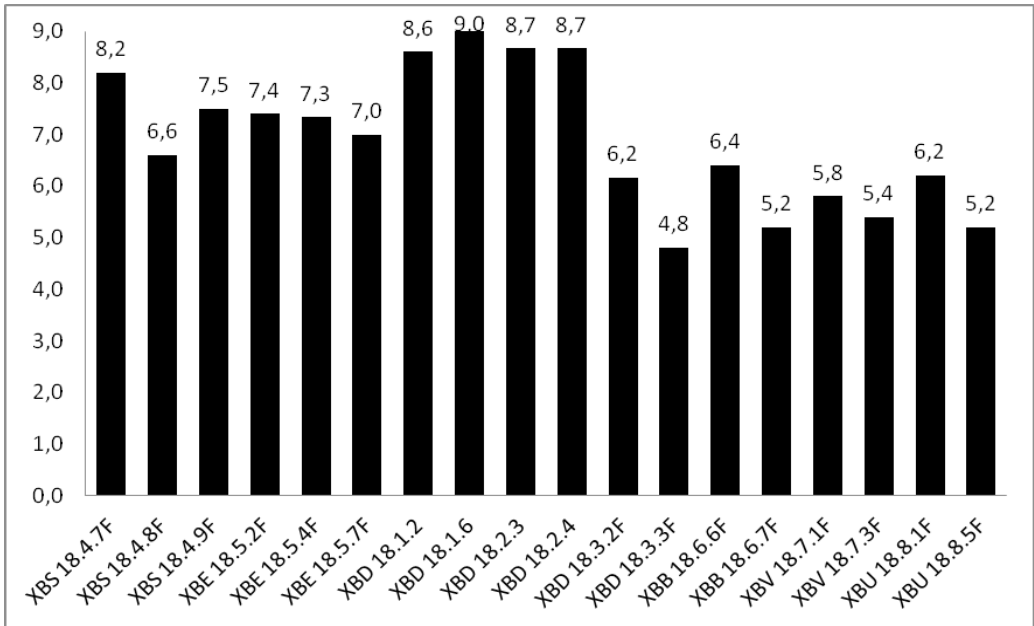
Ниво на устойчивост. На основа листна реакция за всяко от заразените растения (средно за растение) е изчислен среден индекс на нападение (MDI) по формулата $MDI = \frac{\sum(n \times ds)}{N}$, където n=брой растения, ds = бал на нападение (0-9), N=общ брой растения. Класирането на сортовете по степента им на устойчивост е както следва: 1 - Високо устойчив (HR); 1.1-3.0 - Устойчиви (R); 3.1-5.0 - Средно устойчиви (MR); 5.1-7.0 - Чувствителни (S); над 7.0 - Високо чувствителни (HS).

Резултати и обсъждане

Използваният като чувствителна контрола сорт 'ГТБ Устрем' реагира с високо чувствителна реакция на листата към включените в изследването 4 щамове на *Xaph* (Фигура 1). Реакцията на сорта към щамовете на *Xff* варира от средно устойчива при XBD 18.3.3F до високо чувствителна при XBS 18.4.7F.

Сорт 'ГТБ Устрем' е създаден чрез многократен индивидуален отбор в хибридна популация на кръстоска DG 98-53 (Genchev and Kiryakov, 2016). Сортът е показвал чувствителна реакция към два силно агресивни щамове на *Xaph*, използвани като маркери в селекционния процес. Средно устойчивата реакция на листата към щам XBD 18.3.3F показва наличието на частична щамова устойчивост, която вероятно е свързана с използването на сортове 'GN Star', 'GN Jules' и 'Ореол', като донори на устойчивост в селекционния процес. Сортове 'GN Star', 'GN Jules' и 'Ореол' притежават сравнително

висока устойчивост към бактериен пригор (Kiryakov and Genchev, 2000; Kiryakov and Genchev, 2002).



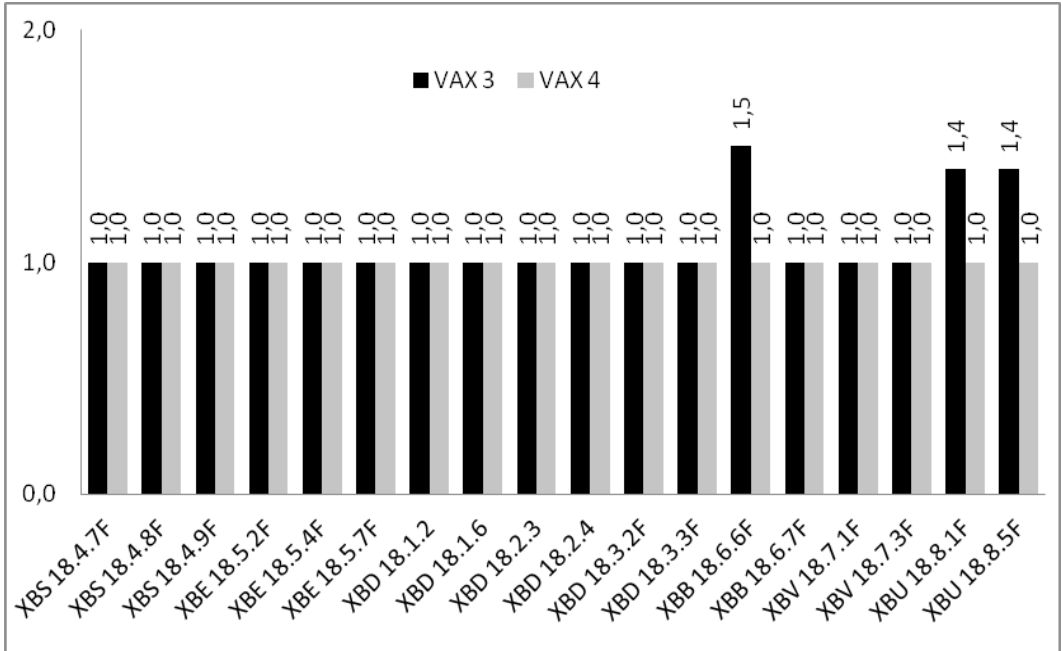
Фигура 1. Среден индекс на нападение на сорт ‘ГТБ Устрем’ при инокулиране на листата с 4 щамове на *X.a. pv. phaseoli* [XB] и 14 щамове на *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F]

Figure 1. Middle disease index of variety ‘GTB Ustrem’ after inoculation of the leaves with 4 *X.a. pv. phaseoli* [XB] and 14 *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F] strains

Използваната като устойчива контролна линия ‘VAX-4’ показва висока устойчивост към всички щамове включени в изследването (Фигура 2). Линия ‘VAX-3’ е високо устойчива към четирите изолата на *Xaph* и 11 щамове на *Xff*. Реакцията към три от изолатите на *Xff* е устойчива. Линии ‘VAX-3’ и ‘VAX-4’ са резултат от междувидова хибридизация *Phaseolus vulgaris* x *Ph. acutifolius* (Viteri et al., 2014). Наши предишни изследвания показват, че двете линии са напълно имунни към 8 щамове на *Xaph* и два щамове на *Xff* (Kiryakov and Genchev, 2003).

Сорт ‘Еликсир’ реагира с чувствителна реакция към един и с високо чувствителна към 3 от щамове на *Xaph* (Фигура 3). Сортът показва средна устойчивост към щамове XBD18.3.3F и XBB18.6.6F и чувствителност към останалите щамове на *Xff*. Сорт ‘Еликсир’ е създаден чрез многократен индивидуален отбор в хибридна популация на кръстоска между сорт ‘GN Star’

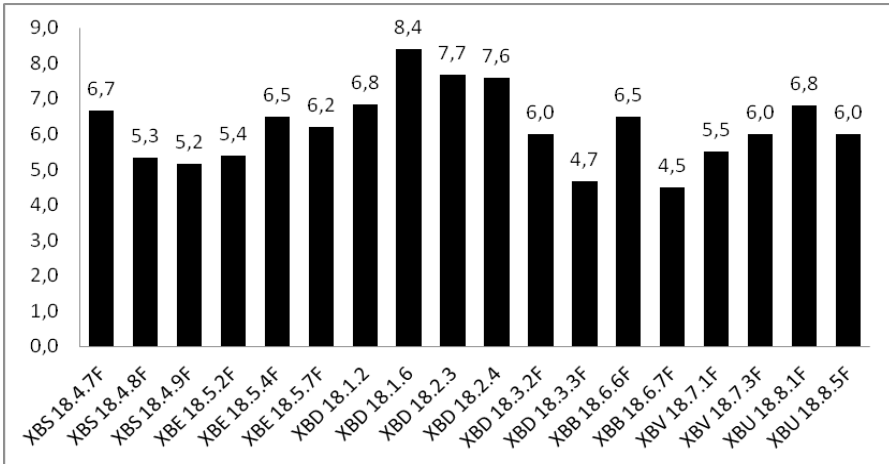
(донор на устойчивост) и местна форма с произход от с. Гърмен (Genchev et al., 2010^b). В процеса на селекция е показал средно устойчива реакция към използваните маркерни щамове на *Xaph*.



Фигура 2. Среден индекс на нападение на линии ‘VAX-3’ и ‘VAX-4’ при инокулиране на листата с 4 щамове на *X.a. pv. phaseoli* [XB] и 14 щамове на *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F]

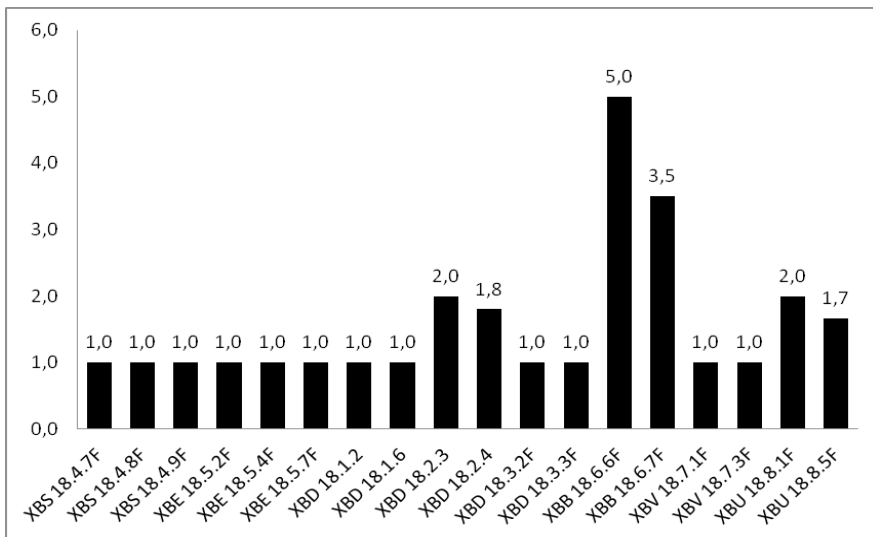
Figure 2. Middle disease index of lines ‘VAX-3’ and ‘VAX-4’ after inoculation of the leaves with 4 *X.a. pv. phaseoli* [XB] and 14 *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F] strains

Сорт ‘Беслет’ показва висока устойчивост при инокулиране с два от щамове на *Xaph* и 10 щамове на *Xff* (Фигура 4). Реакцията на листата към останалите два щамове на *Xaph*, като и към два щамове на *Xff* е устойчива. Сортът реагира с средно устойчива реакция към щамове XBB18.6.6F и XBB18.6.7F. Сорт ‘Беслет’ е създаден чрез многократен индивидуален отбор в хибридна популация на кръстоска DG 95-20 между ‘HR 45’ и ‘Абритус’ (Genchev et al., 2010^a). В процеса на селекция е показал устойчивост към маркерните щамове на *Xaph*. Устойчивостта на сорта е прехвърлена от линия ‘HR 45’, която в предишни изследвания показва висока до средна устойчивост към 90.5% от включените в изследването 107 щамове на двата патогена (Kiriyakov and Genchev, 2000).



Фигура 3. Среден индекс на нападение на сорт ‘Еликсир’ при инокулиране на листата с 4 щама на *X.a. pv. phaseoli* [XB] и 14 щама на *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F]

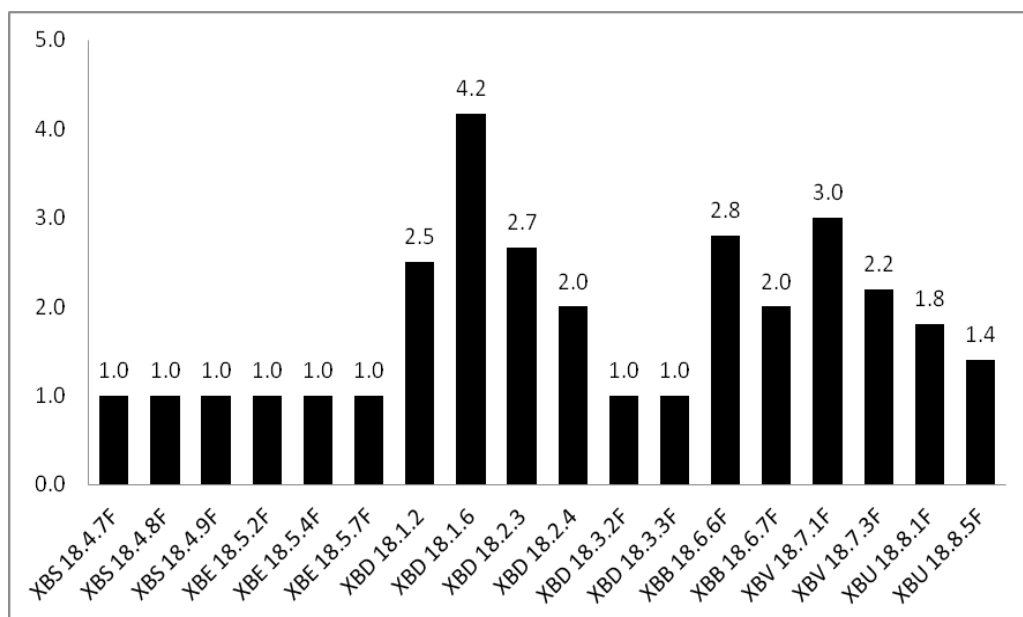
Figure 3. Middle disease index of variety ‘Elixir’ after inoculation of the leaves whit 4 *X.a. pv. phaseoli* [XB] and 14 *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F] strains



Фигура 4. Среден индекс на нападение на сорт ‘Беслет’ при инокулиране на листата с 4 щама на *X.a. pv. phaseoli* [XB] и 14 щама на *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F]

Figure 4. Middle disease index of variety ‘Beslet’ after inoculation of the leaves whit 4 *X.a. pv. phaseoli* [XB] and 14 *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F] strains

Сорт ‘ГТБ Скития’ реагира със средно устойчивост към щам ХВD18.1.6 и устойчивост към останалите три щамове на *Xaph*. Реакцията му към 8 от щамове на *Xff* е високо устойчива, а към останалите – устойчива (Фигура 5). Сорт ‘ГТБ Скития’ е създаден чрез многократен индивидуален отбор в хибридна популация на кръстоска DG 6-26. В педигрето на кръстоската участват линия ‘VAX-3’ и сортове ‘Ореол’, и ‘GN Star’.



Фигура 5. Среден индекс на нападение на сорт ГТБ ‘Скития’ при инокулиране на листата с 4 щамове на *X.a. pv. phaseoli* [XB] и 14 щамове на *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F]

Figure 5. Middle disease index of variety ‘GTB Skitya’ after inoculation of the leaves with 4 *X.a. pv. phaseoli* [XB] and 14 *X.f. subsp. fuscans* [XB.....F] strains

Устойчивостта към бактериения пригор при фасула има количествен характер на наследяване (Singh and Miklas, 2015), като генетичния контрол зависи от източника на устойчивост, посоката на кръстосване и използваните в селекционния процес маркерни щамове (Genchev and Kiryakov, 2001). Резултатите от настоящото изследване показват, че устойчивостта при проучваните сортове е с щамово-специфичен характер. Наблюдаваната средна устойчивост при сорт ‘Еликсир’ към щамове ХВВ18.6.6F и ХВВ18.6.7F, и чувствителността му към останалите щамове на *Xff* потвърждават нашето становище за наличието на макар и частична щамова устойчивост. В потвърждение на това твърдение е и реакцията на сорт ‘ГТБ Устрем’ към

щам XBD 18.3.F в сравнение с останалите щамове включени в изследването. Частичната устойчивост при сорт 'ГТБ Устрем' вероятно се дължи на използването на сортове 'GN Star', 'GN Jules' и 'Ореол' като донори на устойчивост в селекционния процес.

Изводи

Сортове 'Беслет' и 'ГТБ Скития' притежават висока до средна устойчивост към включените в изследването 18 щамове на причинителите на бактериен пригор по фасула. Независимо от чувствителността си към 17 от проучваните щамове сорт 'ГТБ Устрем' притежава частична устойчивост към един от щамове на Xff. Различията между средния индекс на нападение при отделните щамове, при един и същ генотип е показател за наличието на щамово-специфична устойчивост в проучваните сортове. Представените резултати показват висока ефикасност на постигната устойчивост в сортове 'Беслет' и 'ГТБ Скития' по отношение агресивното и вирулентно разнообразие в популациите на *Xaph* и *Xff*.

Литература

References

- Birch, P.R.J., Hyman, L.J., Taylor, R., Opio, A.F., Bragard, C. & Toth, I. K. (1997). RAPD PCR-based differentiation of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*. Eur. J. Plant Pathol. 103, 809-814.
- Bull, C.T., de Boer, S.H., Denny, T.P, Firrao, G., Fischer-Le Sau, M., Saddler, G., Scortichini, M., Stead, D.E. & Takikawa, Y. (2012). List of New names of plant pathogenic bacteria (2008–2010). J. Plant Pathol., 94, 21–27.
- Duncan, R. W., Singh, S. P. & Gilbertson, R. L. (2011). Interaction of common bacterial blight bacteria with disease resistance quantitative trait loci in common bean. Phytopathology, 101, 425-435.
- Gabriel, D. W., Kingsley, M.T., Hunter, J.E. & Gottwald, T. (1989). Reinstatement of *Xanthomonas citri* (ex Hasse) and *X. phaseoli* (ex Smith) to species and reclassification of all *X. campestris* pv. *citri* strains. Int. J. Syst. Bacteriol., 39, 14-22.
- Genchev, D. & Kiryakov, I. (2001). Genetic control of the reaction to common bacterial blight *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye in HR 45 and NAB 69 dry beans lines, *Phaseolus vulgaris* L. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 7; 15-21.
- Genchev, D. & Kiryakov, I. (2016). 'GTB-Ustrem' – A new dry bean variety (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crops Studies 10(1):145-155. (BG)

- Genchev, D., Kiryakov, I. & Beleva, M. (2010^a). Beslet – a new dry bean variety (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Science, 47, 272-281. (BG)
- Genchev, D., Kiryakov, I. & Beleva, M. (2010^b). Elixir – a new dry bean variety (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Science, 47, 363-372. (BG)
- Kiryakov, I. (1999). Studies on the bacterial diseases on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Bulgaria and the means of their control. PhD Thesis. DAI, General Toshevo, Bulgaria. (Bg)
- Kiryakov, I. (2018). Overview on pathogen diversity in the bacterial diseases populations of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Bulgaria. Bulgarian Journal of Crop Science, 55(1), 03-13. (Bg)
- Kiryakov, I., & Genchev, D. (2000). Resistance of bean cultivars and lines to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 6; 525-528.
- Kiryakov, I. & Genchev, D. (2002). Sources of resistance to the main diseases of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Bulgaria from the collection of the Dobroudja Agricultural Institute. In: Breeding and Agrotechnics of field crops. Jubilee session, 1st June 2001, Dobrich. 1q 251-260. (BG)
- Kiryakov, I., & Genchev, D. (2003). Leaf and pod reaction of VAX lines to Bulgarian *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* strains. Ann. Report of the Bean Improvement Cooperative, 46: 197-198
- Mkandawire, A.B.C., Mabagala, R.B., Guzmán, P., Gepts, P. & Gilbertson, R. L. (2004). Genetic diversity and pathogenic variation of common blight bacteria (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*) suggests pathogen coevolution with the common bean. Phytopathology 94, 593-603.
- Mutlu, N., Vidaver, A.K., Coyne, D.P., Steadman, J.R., Lambrecht, P.A. & Reiser, J. (2008). Differential pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. fuscans* subsp. *fuscans* strains on bean genotypes with common blight resistance. Plant Dis. 92, 546-554
- Schaad, N.W., Jones, J.L. & Lacy, G.H. (2001). *Xanthomonas*. In: Edi. Schaad, N.W., J.L. Jones, and W.Chun. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, Third Edition, APS Pres.
- Schaad, N.W., Postnikova, E., Lacy, G.H., Sechlera, A., Agarkovac, I., Stromberg, P.E., Stromberg, V.K. & Vidaver, A. K. (2005). Reclassification of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (ex Hasse 1915) Dye 1978 forms A, B/C/D, and E as *X. smithii* subsp. *citri* (ex Hasse) sp. nov. nom. rev. comb. nov., *X. fuscans* subsp. *aurantifolii* (ex Gabriel 1989) sp. nov. nom. rev. comb. nov., and *X. alfalfae* subsp. *citrumelo* (ex Riker and Jones) Gabriel et al., 1989 sp. nov. nom. rev. comb. nov.; *X. campestris* pv. *malvacearum* (ex Smith 1901) Dye 1978 as *X. smithii* subsp. *smithii* nov. comb. nov. nom. nov.; *X. campestris* pv. *alfalfae* (ex

-
- Riker and Jones, 1935) Dye 1978 as *X. alfalfae* subsp. *alfalfae* (ex Riker et al., 1935) sp. nov. nom. rev.; and “var. *fuscans*” of *X. campestris* pv. *phaseoli* (ex Smith, 1987) Dye 1978 as *X. fuscans* subsp. *fuscans* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 28, 494–518
- Singh, S. P. & Miklas, P. N. (2015). Breeding common bean for resistance to common blight: A Review. Crop Sci., 55, 971–984
- Stoyanova, Y. (1996). Selekcija na zarneno-bobovi kulturi. In: 50 godini Institut po pshenicata I slanchogleda kray General Toshevo, 1941-1991.
- Toth, I.K., Hyman, L.J., Taylor, R. & Birch, P.R.J. (1998). PCR-based detection of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* in plant material and its differentiation from *X. c.* pv. *phaseoli*. J. Appl. Microbiol, 85, 327-336
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K. & Swings, J. (1995). Reclassification of *Xanthomonas*. Int J Syst Bacteriol, 45, 472–489.
- Viteri, D.M., Terán, H., Asensio-S.-Manzanera, M.C., Asensio, C., Porsch, T. G., Miklas, P.N. & Singh, S. P. (2014). Progress in Breeding Andean Common Bean for Resistance to Common Bacterial Blight. Crop Sci. 54:2084–2092
- Xue, B.G. & Goodwin, P.H. (1994). Amplified DNA polymorphisms of putative component regulatory genes of several *Xanthomonas campestris* pathovars. Can. J. Plant Pathol., 16, 1-7.

