

Устойчивост на диви видове слънчоглед към стъблено гниене причинявано от *Sclerotinia sclerotiorum*

Керанка Жечева*, Даниела Вълкова, Иван Киряков

Селскостопанска академия, Добруджански земеделски институт, 9520 Генерал Тошево

*E-mail: keri_07@abv.bg

Резюме

Sclerotinia sclerotiorum е ключов патоген при слънчогледа. В зависимост от органите които атакува, заболяването има три форми на проявление – базална, стъблена и питна. Установяването на източници на устойчивост е от първостепенно значение за успеха на селекционните програми при създаване на устойчивост към патогена. Целта на настоящото проучване е да се установи реакцията на 29 диви образци от *Helianthus* ssp. към стъблената форма *S. sclerotiorum* при полски условия. Образците са инокулирани по STRAW-метода с два изолата на патогена, във фенофаза цъфтеж. Реакцията на образците е отчетена по 9-бална скала, 14 дни след инокулиране, като бална оценка от 1.0 до 5.0 се приема за високо устойчив до средно устойчив фенотип. Девет от проучваните образци притежават средна устойчивост към изолат SS1914, а 16 - към изолат SS1941. Средно устойчиви към двата изолата са 9 образца, като 7 от тях са диви видове от *H. annuus* и по един от *H. petiolaris* и *H. praecox* ssp. *runyonii*. Изолат SS1914 е по-агресивен от изолат SS1941 към проучваните образци.

Ключови думи: склеротинийно гниене; устойчивост на стъблото; диви образци *Helianthus* spp.

Resistance of wild sunflower species to mild-stalk rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*

Keranka Zhecheva, Daniela Valkova*, Ivan Kiryakov

Agricultural Academy, Dobrudzha Agricultural Institute, 9520 General Toshevo, Bulgaria

*Corresponding author: keri_07@abv.bg

Citation

Zhecheva, K., Valkova, D., & Kiryakov, I. (2023). Resistance of wild sunflower species to mild-stalk rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 60(3) 77-81 (Bg).

Abstract

Sclerotinia sclerotiorum is a critical pathogen in sunflowers. Depending on the organs it attacks, the disease has three forms of manifestation - basal stalk rot, mid-stalk rot, and head rot. Identifying sources of resistance is paramount to the success of breeding programs in creating resistance to the pathogen. The aim of the present study was to determine the response of 29 wild specimens of *Helianthus* ssp. to the mid-stalk rot of *S. sclerotiorum* under field conditions. The accessions were inoculated by the STRAW-method with two pathogen isolates in the flowering growth stage. The response of the accessions was evaluated on a 9-degree scale, 14 days after inoculation, with a score of 1.0 to 5.0 being considered a highly resistant to moderately resistant phenotype, respectively. Nine of the studied accessions have moderately resistance to SS1914 isolate and 16 to SS1941 isolate. Moderately resistant to both isolates are 9 accessions, 7 of which are wild *H. annuus* and one each of *H. petiolaris* and *H. praecox* ssp. *runyonii*. Isolate SS1914 was more aggressive than isolate SS1941 to the studied accessions.

Key words: *S. sclerotiorum*; mid-stalk rot resistance; wild *Helianthus* spp.

ВЪВЕДЕНИЕ

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary е ключов патоген при слънчогледа, който при благоприятни за неговото развитие условия може да доведе до 100% загуби в добива (Sackston, 1992). Патогенът може да атакува всички части на слънчогледовото растение, поради което се наблюдават три форми на проявление – базална, стъблена и питна (Gulya et al., 1997; Harvecon et al., 2016; Qi et al., 2016) Тъй като химичният контрол е труден и неефективен, създаването на устойчиви генотипове към разпространеното в даден район агресивно разнообразие на патогена е от съществено значение за неговия контрол (Amouzadeh et al., 2013).

Устойчивостта при слънчогледа към *Sclerotinia sclerotiorum* има количествен характер с преобладаване на адитивно генно действие, като контролът при различните растителни органи се осъществява от различни гени (Castaño et al., 1993; Bert et al., 2002; Van Becelaere & Miller, 2004; Davar et al., 2010; Talukder et al., 2014). Устойчивостта е силно повлияна от различни условия на околната среда като температура, влажност и валежи и други (Zubrzycki et al., 2017) Това налага установяване източници на устойчивост при всяка една форма на проявление на болестта и по-нататъшното им използване в селекционния процес за постигане на висока устойчивост. Успоредно с това, селекцията трябва да бъде насочена към високо агресивната част от популациите на *S. sclerotiorum*, характерна за отделните райони в които ще бъде внедрена устойчивата генетична плазма (Filippi et al., 2020).

Едногодишните, диви видове от *Helianthus* са ценен източник на устойчивост към редица патогени при културния слънчоглед (Encheva & Kiryakov, 2002), в това число и *S. sclerotiorum* (Valkova et al., 2022). В предишно наше проучване бяха установени няколко диви образци от *Helianthus annuus* притежаващи средна устойчивост към стъблената форма на *S. sclerotiorum* (Valkova et al., 2022).

Целта на настоящото проучване е да се установи реакцията на 29 диви образци от *Helianthus* ssp. към стъблената форма на *S. sclerotiorum*.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Устойчивостта на проучваните образци е установена при полски условия. В опита са включени 29 едногодишни диви образци *Helianthus* ssp. от колекцията на ДЗИ - гр. Генерал Тошево. Материалите бяха засяти ръчно в редове с дължина 2 m, междуредово разстояние 0.7 m и вътрередово разстояние 0.35 m. Заразяването е осъществено във фенофаза бутонизация-цъфтеж по Straw – метода (Davar et al., 2010; Amoozadeh et al., 2015; Valkova et al., 2022). За инокулум са използвани изолатите SS1914 и SS1941. За целта листната дръжка на листа от средните етажи е отрязана на разстояние 3 cm от стъблото. В раната е втъкана едностранно затворена сламка (6 x 25 mm), съдържаща агаров диск от тридневна култура на съответния изолат върху средата PDA. С всеки изолат са инокулирани по пет растения.

Реакцията на генотипите (SDS) е отчетена на 14 дни след инокулиране, по 9 бална скала (Valkova et al., 2022). На основа средната им оценка, генотипите са групирани както следва: 1– Високо устойчив (VR); 1.1-3.0 – Устойчив (R); 3.1-5.0 – Средно устойчив (MR); 5.1-7.0 – Чувствителен (S); над 7.0 – Високо чувствителен (VS).

Обработка на данните. Анализът на варианса (ANOVA) е проведен с програмен продукт IBM SPSS (Statistics 19).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на варианса за реакция на 29 образца слънчоглед показва статистически достоверно влияние на факторите Изолат и Генотип. Взаимодействието между двата фактора е доказано при ниска степен на достоверност (Таблица 1).

При проучваните 29 образци едногодишни диви видове слънчоглед не са установени устойчиви към изолат SS1914 генотипи (Фигура 1; Таблица 2). Средна устойчивост показват девет от проучваните образци. Шест от тях са отнесени към *H. annuus*, 2- *Helianthus petiolaris* и един - *H. praecox* ssp. *runyonii* (Таблица 2). Останалите образци реагират с чувствителна или високо чувствителна реакция.

Таблица 1. Анализът на варианса за реакцията на 29 едногодишни диви образци слънчоглед към два изолата на *S. sclerotiorum*

Table 1. Analysis of variance for the response of 29 annual wild sunflower samples to two isolates of *S. sclerotiorum*

Източник/Source	df	Mean Square	F	P
Изолат (I)/ Isolate (I)	1	16.897	7.045	0.008
Генотип (G)/ Genotype (G)	28	23.649	9.861	0.000
I x G	28	3.125	1.303	0.149
Грешка/Error	232	2.398		

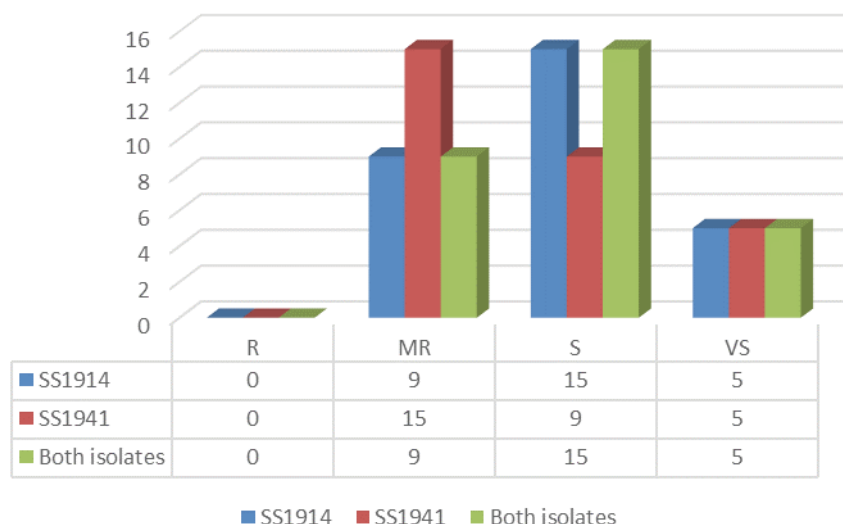
Таблица 2. Реакция на 29 едногодишни диви образци *Helianthus* ssp. след инокулация с 2 изолата на *S. sclerotiorum*

Table 2. Reaction of 29 annual wild specimens of *Helianthus* ssp. after inoculation with 2 isolates of *S. sclerotiorum*

Кат.№/Асс. №	Образци/Accession	Видове /Species*	Произход / Origine	Изолат/Isolate		Средно/ Averige
				SS1914	SS1941	
HA 1	E035-47p- Еал.д./3- H17	<i>H. annuus</i>	France	6.6	4.2	5.4
HA 2	E045-29E/2H17	<i>H. annuus</i>	France	3.8	3.4	3.6
HA 3	E093-EE/2H18	<i>H. annuus</i>	USA	9.0	8.0	8.5
HA 4	E081-13pЕанг.H18	<i>H. annuus</i>	Romania	5.8	4.8	5.3
HA 5	E092-40Еант./2H18	<i>H. annuus</i>	USA	3.8	3.6	3.7
HA 6	E118-8E/1H18	<i>H. annuus</i>	USA	4.6	4.6	4.6
HA 7	E119-23E/2H18	<i>H. annuus</i>	USA	4.2	3.8	4.0
HA 8	E121-45E/2H18	<i>H. annuus</i>	USA	5.6	3.0	4.3
HA 9	E127-44p-E13-H18	<i>H. annuus</i>	USA	8.0	4.8	6.4
HA 10	E153-29E/1H19	<i>H. annuus</i>	USA	3.8	3.8	3.8
HA 11	E152-47E/1H19	<i>H. annuus</i>	USA	3.4	3.4	3.4
HA 12	E174-132E/1H19	<i>H. annuus</i>	USA	6.6	4.6	5.6
HP 13	020Op18r	<i>H. petiolaris</i>	USA	6.8	4.8	5.8
HP 14	021Op	<i>H. petiolaris</i>	USA	4.2	4.0	4.1
HP 15	037	<i>H. petiolaris</i>	USA	5.0	5.4	5.2
HP 16	105	<i>H. petiolaris</i>	USA	6.8	7.6	7.2
HPP 17	142	<i>H. p. ssp. petiolaris</i>	USA	7.4	8.0	7.7
HD 18	050	<i>H. debilis</i>	USA	6.0	5.0	5.5
HD 19	104	<i>H. debilis</i>	USA	7.8	6.4	7.1
HDS 20	089	<i>H.d. ssp. silvestris</i>	USA	5.2	5.2	5.2
HDC 21	137	<i>H.d. ssp.cucumerifolius</i>	USA	6.4	6.8	6.6
HDT 22	141	<i>H.d. ssp. tardiflorus</i>	USA	6.4	7.0	6.7
HPr 23	143	<i>H. praecox</i>	USA	6.2	7.6	6.9
HPr 24	144	<i>H. praecox</i>	USA	7.2	7.6	7.4
HPrH 25	027	<i>H.p. ssp.hirtus</i>	USA	6.4	6.2	6.3
HPrPr 26	028	<i>H.p. ssp. praecox</i>	USA	5.6	6.4	6.0
HPrH 27	148	<i>H.p. ssp.hirtus</i>	USA	6.2	5.2	5.7
HPrR 28	149	<i>H.p. ssp.runyonii</i>	USA	3.2	3.2	3.2
HAg 29	E130	<i>H. agrophyllus</i>	USA	6.0	4.2	5.1
				5.79	5.26	

**H.d. ssp* - *Helianthus debilis* ssp; *H.p. ssp* - *Helianthus praecox* ssp

LSD_{0.05%} - 0.35 за изолат/ for isolate; 1.36 за генотип/for genotype и 1.92 за изолат x генотип /for isolate x genotype



Фигура 1. Разпределение на 29 образци слънчоглед в зависимост от реакцията им към два изолата на *Sclerotinia sclerotiorum* при полски условия

Figure 1. Distribution of 29 sunflower samples according to their response to two isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions

Нито един от проучваните образци не е устойчив към изолат SS1941 (Фиг. 1; Табл. 2). Средно устойчива реакция притежават шестнадесет образци, като единадесет от тях са отнесени към *H. annuus*, 2- *H. petiolaris* 1- *H. debilis*, 1- *H. praecox ssp.runyonii* и 1 – *H.agrophyllus*. От проучваните 29 образца слънчоглед 13 са реагирани с чувствителна и високо чувствителна реакция към този изолат.

От проучваните дванадесет образца отнесени към *H. annuus* средно устойчива реакция, общо към двата изолата, показват седем (Таблица 2). Образци с каталожен номер HA2, HA5, HA7, HA10 и HA11 запазват своята устойчивост и към двата изолата, като разликите в балните оценки не са достоверни. Независимо от средната оценка спрямо двата изолата (SDS=4.3), която отнася образец HA8 към средно устойчивите генотипи, реакцията му спрямо изолат SS1914 е чувствителна, като разликата между двата изолата е достоверна. От петте образца на *H. petiolaris* средна устойчивост към двата изолата притежава HP 14. Образец HP13 е средно устойчив само към изолат SS1941, а HP15 към SS1914. Всички проучвани образци *H. debilis* са чувствителни и към двата изолата. Средна устойчивост към двата изолата притежава образец HPPr28 (*H. praecox ssp. runyonii*), но останалите

гонотипи от този вид са чувствителни до високо чувствителни. Образец HA9 29 (*H. agrophyllus*) е чувствителен към SS1914 и средно устойчив към SS1941.

Резултатите от проучването показват по-висока агресивност на изолат SS1914 в сравнение с SS1941 (Табл. 2). Пръвният изолат е достоверно по-агресивен към образци с каталожен номер HA1, HA8, HA9, HA12 и HP13. Тези образци са средно устойчиви към изолат SS1941. Според Valkova et al. (2022), изолат SS1914 показва по-висока агресивност спрямо SS1941 при тестване стъблената реакция на хибридни комбинации и едногодишни диви видове слънчоглед.

ИЗВОДИ

Резултатите от проведеното проучване ни дават основание да направим следните изводи:

Средна устойчивост към изолат SS1914 притежават девет от проучваните образци, като шест принадлежат към *H. annuus*.

Средна устойчивост към изолат SS1941 притежават шестнадесет образци, като единадесет от тях са отнесени към *H. annuus*.

Средна устойчивост към двата изолата притежават девет образца, като седем са *H. annuus*,

а останалите два, съответно *Helianthus petiolaris* и *H.praecox* ssp.*runyonii*.

Изолат SS1914 показва по-висока агресивност от SS1941 спрямо проучваните образци.

Образци НА 2 (E045-29E/2H17), НА 5 (E092-40Eант./2H18), НА 6 (E118-8E/1H18), НА 7 (E119-23E/2H18), НА 10 (E153-29E/1H19), НА 11 (E152-47E/1H19), НР 14(021Op) и НРrR 28(149) могат да бъдат включени като донори в селекционния процес за устойчивост към стъблената форма на *Sclerotinia sclerotiorum*, тъй като запазват своята устойчивост и към двата изолата.

ЛИТЕРАТУРА

- Amouzadeh, M., Darvishzadeh, R., Haddadi, P., Aabdollahi Mandoulakani, B., & Rezaee Danesh, Y.** (2013). Genetic analysis of partial resistance to basal stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) in sunflower. *Genetika*, 45, 737–748.
- Amouzadeh, 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.
- Bert, P. F., Jouan, I., Tourvieille de Labrouhe, D., Serre, F., Nicolas, P., & Vear, F.** (2002). Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus L.*). 1. QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Diaporthe helianthi*. -*Theor. Appl. Genet.* 105: 985–993. DOI 10.1007/s00122-002-1004-3.
- Castaño, F., Vear, F., & de Labrouhe, D. T.** (1993). Resistance of sunflower inbred lines to various forms of attack by *Sclerotinia sclerotiorum* and relations with some morphological characters. *Euphytica*, 68(1-2), 85-98.
- Davar, R., Darvishzadeh, R., Majd, A., Ghosta, Y., & Sarrafi, A.** (2010). QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathologia Mediterranea*, 49(3), 330-341.
- Encheva, V., & Kiryakov, I.** (2002). A method for evaluation of sunflower resistance to *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt.Cvet. et al. (2002). (Dobroudja Agricultural Institute, 9520 General Toshevo (Bulgaria); National Centre for Agrarian Sciences, Sofia (Bulgaria) (Bg).
- Filippi, C. V., Zubrzycki, J. E., Di Rienzo, J. A., Quiroz, F. J., Puebla, A. F., Alvarez, D., ... & Lia, V. V.** (2020). Unveiling the genetic basis of *Sclerotinia* head rot resistance in sunflower. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-13.
- Gulya, T. J., Rashid, K., & Masirevic, S.** (1997). Sunflower diseases. In: Schneiter AA (ed). *Sunflower technology and production*. Soil Science Society of America Inc., Madison, WI, pp. 263–379.
- Harveson, R. M., Markell, S. G., Block, C. C., & Gulya, T. J.** (2016). *Compendium of Sunflower Diseases and Pests*. APS Press, St. Paul, MN.
- Talukder, Z. I., Hulke, B. S., Qi, L., Scheffler, B. E., Pegadaraju, V., McPhee, K., & Gulya, T. J.** (2014). Candidate gene association mapping of *Sclerotinia* stalk rot resistance in sunflower (*Helianthus annuus L.*) uncovers the importance of COI1 homologs. *Theoretical and Applied Genetics*, 127, 193-209.
- Zubrzycki, J. E., Maringolo, C. A., Filippi, C. V., Quiróz, F. J., Nishinakamasu, V., Puebla, A. F., ... & Paniego, N. B.** (2017). Main and epistatic QTL analyses for *Sclerotinia* head rot resistance in sunflower. *PloS one*, 12(12), e0189859.
- Qi, L., Long, Y., Talukder, Z. I., Seiler, G. J., Block, C. C., & Gulya, T. J.** (2016). Genotyping-by-sequencing uncovers the introgression alien segments associated with *Sclerotinia* basal stalk rot resistance from wild species -I. *Helianthus argophyllus* and *H. petiolaris*. *Frontiers in genetics*, 7, p. 219.
- Sackston, W. E.** (1992). On a treadmill: breeding sunflowers for resistance to disease. *Annual review of phytopathology*, 30(1), 529-551.
- Valkova, D., Jecheva, K., & Kiryakov, I.** (2022). Response of sunflower genotypes to mid-stalk rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 28(1), 110-116.
- Van Becelaere, G. & Miller, J. F.** (2004). Methods of inoculation of sunflower heads with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Helia*, 27(41), 137-142.