

## Изследване на агресивността на изолати от *Phomopsis/Diaporthe helianthi* Munt. – Cvet. et al. върху слънчоглед при полски условия

Мария Петрова\*, Нина Ненова, Валентина Енчева

Селскостопанска академия, Добруджански Земеделски институт - Генерал Тошево

\*E-mail: maria.petrovaa.1994@gmail.com

### Резюме

Фомопсисът или Сивите петна по слънчогледа с телеморф *Diaporthe helianthi* и анаморф *Phomopsis helianthi* е една от икономически важните болести по слънчогледа в световен мащаб. Загубите, причинявани от патогена достигат 40% от продуктивността, а в масленото съдържание - 15-20%. Използването на устойчиви хибриди се приема за най-ефективната мярка за контрол на болестта. Установеното агресивно вариране в популациите на патогена създава значителни трудности в селекционния процес. Поради това, целта на настоящото проучване е да се установи агресивността на изолати от *Diaporthe helianthi* с оглед по-нататъшното им използване като маркери в селекцията на устойчивост към гъбата. В изследването са включени 30 изолата на гъбата от четири агроекологични зони в България. Агресивността на изолатите е установена при полски условия, чрез изкуствено заразяване на хибрид Деведа и сорт Фаворит по Straw метода. Инокулирането е осъществено във фаза начало на цъфтеж, а резултатите са отчетени след 14 дни по 9 - бална скала. На основа балната оценка е изчислена площта под кривата на развитие (AUDPC) при всеки генотип, както и средната площ под кривата на развитие за двата генотипа (AAUDPC). Установено е високо достоверно влияние на генотипа и изолата, както и на тяхното взаимодействие ( $P < 0.0001$ ). Висока агресивност спрямо хибрид Деведа показват шест от проучваните изолати. Девет от проучваните изолати показват висока агресивност по отношение на сорт Фаворит. С най-висока агресивност спрямо проучваните генотипи се характеризират изолат 29 (21-211) (AAUDPC=52.0), следван от изолат 6 (21-6212), като разликите в стойностите не са достоверни. Вариране в агресивността на изолатите се наблюдава във всеки един от производствените райони, като агресивността на изолатите с произход Карнобат е под средната от всички проучвани.

**Ключови думи:** *Phomopsis helianthi*; *Diaporthe*; агресивност; генотип; изолати

## Study on aggressiveness to isolates of *Phomopsis/Diaporthe helianthi* Munt. – Cvet. et al. on sunflower under field conditions

Mariya Petrova\*, Nina Nenova, Valentina Encheva

Agricultural Academy, Dobrudzha Agricultural Institute- General Toshevo

\*E-mail: maria.petrovaa.1994@gmail.com

### Citation

Petrova, M., Nenova, N., & Encheva, V. (2023). Study on aggressiveness to isolates of *Phomopsis/Diaporthe helianthi* Munt. – Cvet. et al. on sunflower under field conditions. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 60(4) 53-58 (Bg).

### Abstract

*Phomopsis* or Sunflower gray spot with telemorph *Diaporthe helianthi* and anamorph *Phomopsis helianthi* is one of the economically important diseases of sunflowers worldwide. Losses caused by the pathogen reach 40%

of productivity, and in oil content - 15-20%. The use of resistant hybrids is considered the most effective measure to control the disease. The established aggressive variation in pathogen populations creates significant difficulties in the breeding process. Therefore, the aim of the present study was to determine the aggressiveness of *Diaporthe helianthi* isolates with a view to their further use as markers in the breeding of resistance to the fungus. The study included 30 isolates of the fungus from four agro-ecological areas in Bulgaria. The aggressiveness of the isolates was established under field conditions, by artificial inoculation of the Deveda hybrid and the Favorit variety using the Straw-method. The inoculation was carried out at the beginning of flowering, and the results were reported after 14 days on a 9-point scale. Based on the score, the Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) for each genotype was calculated, as well as the Average Area Under Disease Progress Curve for both genotypes (AAUDPC). A highly significant influence of genotype and isolate, as well as their interaction ( $P < 0.0001$ ), was found. Six of the studied isolates showed high aggressiveness towards the Deveda hybrid. Nine of the studied isolates showed high aggressiveness in relation to the Favorit variety. Isolate 29 (21-211) (AAUDPC=52.0), followed by isolate 6 (21-6212) are characterized by the highest aggressiveness compared to the studied genotypes, and the differences in values are not significant. Variation in the aggressiveness of the isolates was observed in each of the production areas, with the aggressiveness of the isolates of Karnobat origin being below the average of all studied.

**Key words:** *Phomopsis*, isolates; aggressiveness; sunflower; *Diaporthe*

## ВЪВЕДЕНИЕ

Сивите петна по слънчогледа, с причинител фитопатогенната гъба *Phomopsis helianthi* (полова форма *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet. et al.) е сред основните заболявания по слънчогледа през последните три десетилетия. За пръв път патогенът е регистриран в провинция Войводина (Сърбия) и Румъния през 1980 г., когато са нанесени големи икономически щети на производството на слънчоглед в двете страни (Muntañola-Cvetkovic et al., 1989; Vranceanu et al., 1992). Болестта е широко разпространена в Европа, Австралия, Азия, Северна и Южна Америка (Gulya et al., 1997; Vigiúé et al., 1999a; Skoric et al., 2012; Zambelli et al., 2021). У нас заболяването е открито през 1984 г. (Mihailova). Патогенът е най-вредоносен при условия на продължителни по-високи температури и висока влажност. (Orrea et al., 2022). Загубите на добива са в резултат на по-малки писти и по-леко семе в тях. При по-силно нападение на растението или инфектиране в по-ранна фаза от развитието му се наблюдава пречупване на стъблото (Debaeke & Moinard, 2010).

Патогенът презимува върху растителните остатъци като мицел или перитеций, което прави добрата агротехника задължително условие за превенция и ограничаване на болестта (Debaeke & Estragnat, 2003; Encheva et al., 2003; Debaeke & Moinard, 2010). Независимо от това, създаването и внедряване в производството на устойчиви

геноטיפи се приема за най-ефикасният и екологосъобразен метод за контрол на патогена (Mathew et al., 2018). Постигането на задоволителна устойчивост при слънчогледа е тясно свързано с проучване агресивното вариране в популациите на гъбата. Редица изследвания показват, че реакцията на изходните и селекционни материали е тясно свързана с агресивността на изолатите (Herr et al., 1983; Vigiúé et al., 1999b; Mathew et al., 2018).

Целта на настоящото проучване е да се установи агресивността на изолати от *Phomopsis helianthi* в България с оглед по нататъшното им използване в селекцията на устойчивост към патогена.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучването включва 30 изолата, събирани от различни производствени райони на територията на страната (Табл. 1). Агресивността на изолатите е установена чрез заразяване на слънчогледов хибрид Деведа и сорт Фаворит при полски условия. Генотипите са засети в редове с дължина 2,40 m, междуредово разстояние - 0.7 m и вътрередово - 0.30 m. Заразяването е осъществено във фенофаза бутонизация по STAW метода (Encheva & Kiryakov, 2002; Petrova et al., 2021). За целта, листните дръжки на единични листа от средните етажи на растението са отрязани на разстояние 3 cm от листния въ-

**Таблица 1.** Площ под кривата на развитие (AUDPC) и средната площ под кривата на развитие (AAUDPC) при 30 изолата на *Phomopsis helianthi* след инокулиране на хибрид Деведа и сорт Фаворит  
**Table 1.** Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) and Average Area Under Disease Progress Curve (AAUDPC) of 30 isolates of *Phomopsis helianthi* after inoculation of Deveda hybrid and Favorid variety

№	Изолат/Isolate	Произход/Origine	AUDPC		AAUDPC
			Deveda/ Деведа	Favorid/ Фаворит	
1	Ph21-611	ДЗИ/DAI	10,83	6,50	8,67
2	Ph21-612	ДЗИ/DAI	58,50	23,83	41,17
3	Ph21-613	ДЗИ/DAI	23,83	6,50	15,17
4	Ph21-614	ДЗИ/DAI	39,00	52,00	45,50
5	Ph21-6211	ДЗИ/DAI	32,50	56,33	44,42
6	Ph21-6212	ДЗИ/DAI	6,50	34,67	20,58
7	Ph21-6213	ДЗИ/DAI	15,17	6,50	10,83
8	Ph21-6214	ДЗИ/DAI	34,67	21,67	28,17
9	Ph21-6221	ДЗИ/DAI	43,33	23,83	33,58
10	Ph21-6222	ДЗИ/DAI	28,17	36,83	32,50
11	Ph21-6223	ДЗИ/DAI	39,00	32,50	35,75
12	Ph21-6224	ДЗИ/DAI	49,83	6,50	28,17
13	Ph21-6231	ДЗИ/DAI	19,50	23,83	21,67
14	Ph21-6232	ДЗИ/DAI	6,50	6,50	6,50
15	Ph21-721	Карнобат/Karnobat	30,33	17,33	23,83
16	Ph21-722	Карнобат/Karnobat	15,17	30,33	22,75
17	Ph21-723	Карнобат/Karnobat	13,00	34,67	23,83
18	Ph21-724	Карнобат/Karnobat	13,00	6,50	9,75
19	Ph21-411	Русе/Ruse	56,33	26,00	41,17
20	Ph21-412	Русе/Ruse	6,50	6,50	6,50
21	Ph21-413	Русе/Ruse	49,83	32,50	41,17
22	Ph21-414	Русе/Ruse	6,50	6,50	6,50
23	Ph21-415	Русе/Ruse	6,50	6,50	6,50
24	Ph21-423	Русе/Ruse	13,00	41,17	27,08
25	Ph21-451	Русе/Ruse	36,83	26,00	31,42
26	Ph21-452	Русе/Ruse	15,17	23,83	19,50
27	Ph21-241	Ямбол/Yambol	6,50	6,50	6,50
28	Ph21-231	Ямбол/Yambol	41,17	23,83	32,50
29	Ph21-211	Ямбол/Yambol	54,17	49,83	52,00
30	Ph21-212	Ямбол/Yambol	10,83	10,83	10,83
Average for genotype/Ср. за генотипа			26,07	22,89	24,48
LSD 0,05 Genotype			1,70		
LSD 0,05 Isolate			6,57		
LSD 0,05 G x I			9,29		

зел. В отреза е въткната едностранно затворена пластмасова сламка (6 x 25 mm), съдържаща агаров диск с мицел, отрязан от периферията на 5-дневна култура на изолата, върху хранителната среда PDA. С всеки изолат са заразени по шест растения от съответния генотип. По две растения от генотип са заразени със свободен от инфекция агаров диск, като контрола. Реакцията на образците е отчетена 14 дни след инокулиране по следната 5 - бална скала: 1- липсват симптоми, 3- петна върху стъблото с големина до 5 cm 5- петна върху стъблото с големина над 5 cm, 7- петното обхваща съседните листни възли, 9- пречупване на стъблото. На основа балната оценка е изчислена площта под кривата на развитие (AUDPC) при всеки генотип (Simko & Piepho, 2012), както и средната площ под кривата на развитие (AAUDPC) за двата генотипа. Анализът на варианса за реакцията на двата генотипа към проучваните изолати е осъществен с помощта на програмен продукт IBM SPSS 19.0.

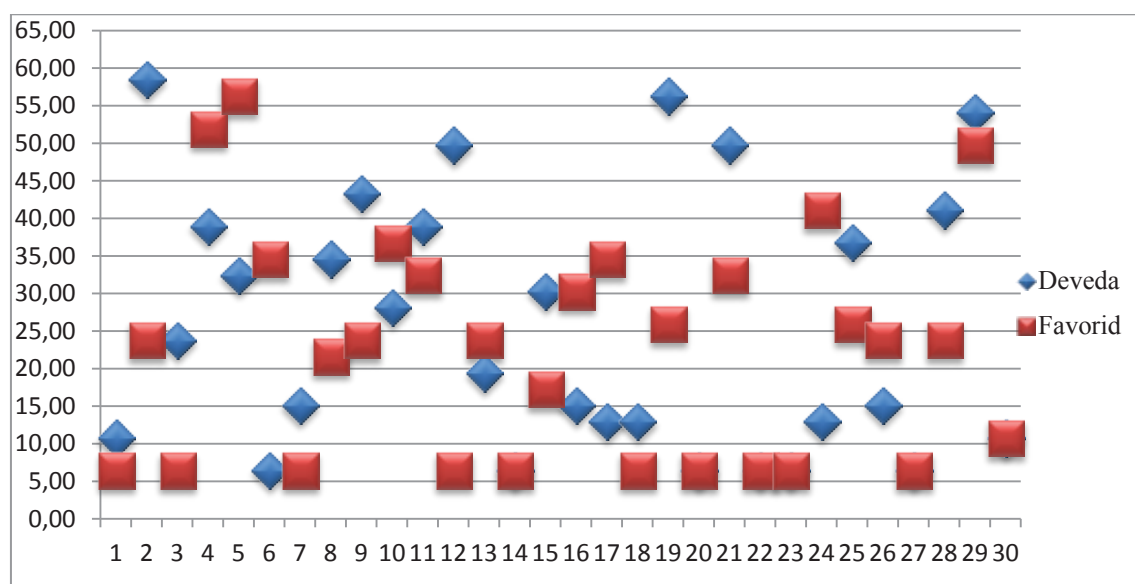
## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на варианса за реакцията на хибрид Деведа и сорт Фаворит спрямо 30 изолата

на *Phomopsis helianthi* показва висока достоверност на самостоятелното и съвместно действие на проучваните фактори ( $P < 0.0001$ ). Най-високи стойности на AUDPC по отношение на хибрид Деведа показва изолат Ph21-612, следван от изолати Ph21-411, Ph21-6224, Ph21-413, като разликите между тях не са достоверни (Табл. 1, Фиг. 1). Ниски стойности на AUDPC спрямо хибрида показват Ph21-6212, Ph21-6232, Ph-21241, Ph21-412, Ph21-414, Ph21-415 (AUDPC = 6.50), като разликите между тях не са доказани. Не са установени достоверни разлики и между тези изолати, и изолати Ph21-452, Ph21-611, Ph21-6213, Ph21-722, Ph21-723, Ph21-724, Ph21-423, Ph21-212.

По отношение на сорт Фаворит, най-високи стойности на AUDPC показва изолат Ph21-6211, следван от изолати Ph21-614, Ph21-211, като разликите между тях не са достоверни. (Таб. 1, Фиг. 1). Ниски стойности показват 10 от изолатите: Ph21-611, Ph21.6.1/3, Ph21.6.2.1/3, Ph21.6.2.2/4, Ph21.6.2.3/2, Ph21.7.2/4, Ph21.4.1/2, Ph21.4.1/4, Ph21.4.1/5, Ph21.2.4/1 (AUDPC = 6.50). При сравняване с останалите изолати, резултатите показват, че само при един от тях Ph21-212 не е установена достоверна разлика, спрямо тези с най-ниска стойност.

Най-висока агресивност спрямо двата генотипа е установена при изолат Ph21-211



Фигура 1. Разпределение на 30 изолата на *P. helianthi* на основа стойностите на AUDPC при инокулиране на хибрид Деведа и сорт Фаворит

Figure 1. Distribution of 30 isolates of *P. helianthi* based on AUDPC values inoculating Deveda hybrid and Favorid variety

(AAUDPC=52.00), следван от изолат Ph21-614 (45.50), като разликите между изолатите не са достоверни при  $LSD_{0.05}$  (Табл. 1, Фиг. 2). Не се наблюдават доказани разлики в стойностите на изолат Ph21-6211 и изолат Ph21.-614. С най-ниска агресивност се характеризират Ph21-6232, Ph21-412, Ph21-414, Ph21-415 и Ph21-241, следвани от Ph21-611, Ph21-724, Ph21-212 и Ph21-6213, като разликите в стойностите на AAUDPC не са доказани.

При 14 от проучваните изолати не се наблюдават достоверни разлики в стойностите на AUDPC при двата генотипа. При 10 изолата са установени достоверно по-висока агресивност към хибрид Деведа, а при шест – по-висока агресивност по отношение на сорт Фаворит.

Получените резултати показват наличието на значително вариране в агресивността на изолатите, както в отделните производствени райони, така и между тях (Фиг. 2). С най-ниска агресивност се отличават изолатите с произход Карнобат, при които стойностите на AAUDPC са под средната стойност за всички изолати (AAUDPC = 24.48). Различия в агресивността на изолатите от различни райони в България е установено и от Encheva (2002). Според автора, реакцията на проучваните девет хибрида е тясно свързана с агресивността на използваните изолати. В настоящото проучване хибрид Деведа

показва по-висока чувствителност в сравнение със сорт Фаворит, като разликите са достоверни. Тези резултати потвърждават становището, че селекцията на устойчивост трябва да е насочена към съществуващото агресивно разнообразие в популациите на патогена (Mathew et al., 2015).

## ИЗВОДИ

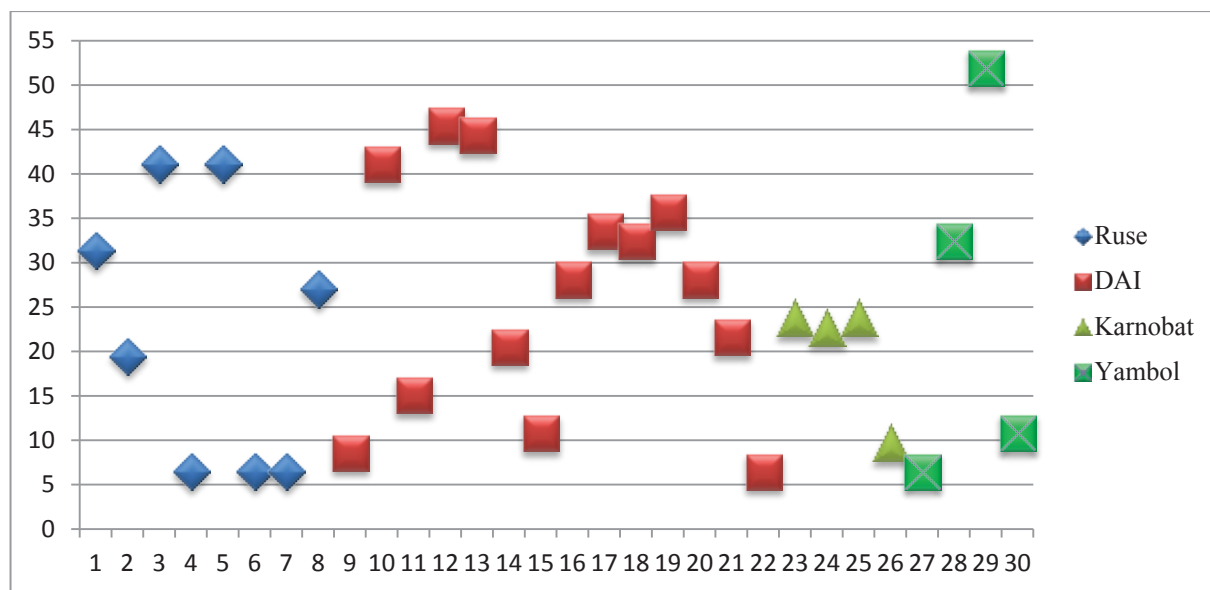
Получените резултати от проучване агресивността на 30 изолата от *Phomopsis/Diaporthe helianthi* по отношение на два слънчогледови генотипа ни дават основание да направим следните изводи.

Агресивността на изолатите е тясно свързана с растителния генотип, като взаимодействието между двата фактора е доказано при висока степен на достоверност ( $P < 0.0001$ ).

Установена е вариране в агресивността на изолатите както в проучваните производствени райони, така и между тях.

Стойностите на AAUDPC за изолатите с произход Карнобат са под средната за всички включени в изследването.

Хибрид Деведа показва по-висока чувствителност към изолатите в сравнение със сорт Фаворит.



**Фигура 2.** Разпределение на 30 изолата от *P. helianthi* в зависимост стойностите на AAUDPC  
**Figure 2.** Distribution of 30 *P. helianthi* isolates according to AAUDPC values



## БЛАГОДАРНОСТИ

Това изследване е подкрепено от Министерството на образованието и науката по Национална програма „Млади учени и постдокторанти - 2“.

## ЛИТЕРАТУРА

- Debaeke, P., & Estragnat, A.** (2003). A simple model to interpret the effects of sunflower crop management on the occurrence and severity of a major fungal disease: Phomopsis stem canker. *Field crops research*, 83(2), 139-155.
- Debaeke, P., & Moinard, J.** (2010). Effect of crop management on epidemics of Phomopsis stem canker (*Diaporthe helianthi*) for susceptible and tolerant sunflower cultivars. *Field Crops Research*, 115(1), 50-60.
- Encheva, V., Tonev, T., & Yankov, P.** (2003). Independent and combined effect of genotype and some agronomy factors on yield and *Phomopsis helianthi* infection in sunflower. II. Effect on *Phomopsis helianthi* infection. *Bulgarian Journal of Agricultural Science (Bulgaria)*.
- Encheva V., & Kiryakov, I.** (2002). A method for evaluation of sunflower resistance to *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt. - Cvet. et al., *Bulg. J. Agric. Sci.*, 8: 219-222.
- Gulya, T., Rashid, K. Y., & Maširević, S.** (1997). Sunflower diseases, Sunflower technology and production. *American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA*, 834.
- Herr, L. J., Lipps, P. E., & Walters, B. H.** (1983). *Diaporthe* stem canker of sunflower, *Plant Dis.* 67:911-913. <https://doi.org/10.1094/PD-67-911>
- Mathew, F. M., Alananbeh, K. M., Jordahl, J. G., Meyer, S. M., Castlebury, L. A., Gulya, T. J., & Markell, S. G.** (2015). Phomopsis stem canker: A reemerging threat to sunflower (*Helianthus annuus*) in the United States. *Phytopathology*, 105(7), 990-997.
- Mathew, F. M., Olson, T. R., Marek, L. F., Gulya, T. J., & Markell, S. G.** (2018). Identification of sunflower (*Helianthus annuus*) accessions resistant to *Diaporthe helianthi* and *Diaporthe gulyae*. *Plant Health Progress*, 19(1), 97-102.
- Mihailova, P.** (1984). Savremeni fitopatogeni problemi pri slanogleda. *Rastitelna zascita* 4.84 11-14.
- Muntañola-Cvetković, M., Vukojević, J., & Mihaljčević, M.** (1989). Pathohistology of sunflower stems attacked by *Diaporthe helianthi*. *Canadian journal of botany*, 67(4), 1119-1125.
- Oprea, D., Joita-Pacureanu, M., Anton, F.G., & Rîsnoveanu, L.** (2022). The Resistance of Sunflower to the Attack of Some Pathogenic Agents in the Climate Conditions of the Northeast Baragan. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 79(2), 54-58.
- Petrova, M., Encheva, V., & Valkova, D.** (2021). Study on the reaction of *Helianthus debilis* accessions to *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. *Field Crops Studies*, XIV (2-3-4), 137-142.
- Skoric, D., Gerald, J., Seiler, Zhao Liu, Chao Chien Jan, Jerry F., Miller, & Laurence, D. Charlet.** (2012). Sunflower genetics and breeding. *International Monography, Serbian Academy of Sciences and Arts Branch in Novi Sad*.
- Simko, I. & Piepho, H.-P.** (2012). The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application., *Phytopathology*, 102: 381-389.
- Viguié, A., Vear, F., & Tourvieille de Labrouhe, D.** (1999a). Interactions between French isolates of *Phomopsis/Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet. et al. and sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. *European Journal of Plant Pathology*, 105(7), 693-702.
- Viguié, A., Touvieille de Labrouhe, D., & Vear, F.** (1999b). Inheritance of several sources of resistance to *Phomopsis* stem canker (*Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet.) in sunflower (*Helianthus annuus* L.) , *INRA, GREAT Station d'Amélioration des Plantes et de Pathologie végétale*, 234 Avenue du Brézet, Clermont-Ferrand Cedex 02, France.
- Vranceanu, A. V., Craiciu, D. S., Soare, G., Pacureanu, M., Voinescu, G., & Sandu, I.** (1992, September). Sunflower genetic resistance to *Phomopsis helianthi* attack. In *Proceedings of the 13th international sunflower conference, Pisa, Italy* (Vol. 2, pp. 1301-1306).
- Zambelli, A., Mancebo, M. F., Bazzalo, M. E., Reid, R. J., Sanchez, M. C., Kontz, B. J., & Mathew, F. M.** (2021). Six species of *Diaporthe* associated with *Phomopsis* stem canker of sunflower in southern pampean region of Argentina. *Plant Health Progress*, 22(2), 136-142.