

<https://doi.org/10.61308/OXIX7194>

Мицелна съвместимост на изолати от *Phomopsis helianthi* (Munt.-Cvet. et al.)

Мария Петрова*, Иван Киряков

Добруджански Земеделски Институт – Генерал Тошево, Селскостопанска Академия – София, България

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

Резюме: В настоящото изследване е проучено генетичното разнообразие на 30 изолата от патогена *Phomopsis helianthi*, използвайки метода на мицелно съвместимите групи (MCGs). Тестовите за мицелна съвместимост бяха проведени върху две хранителни среди – PDA + 80 µl/L и PSA +80 µl/L, с добавен оцветител (Christmas red – Слай Комерс ООД) и без добавен оцветител. Установено е, че използването на хранителна среда PDA не е препоръчително, поради неотчетливата разделителната линия (бразда) при изолати, които имат несъвместима фенотипна реакция. На основа на направените тестове са осъществени 416 комбинации и са наблюдавани четирите типа на реакция- NC-N – несъвместим с некроза, NC-G-несъвместим, мицелите не се доближават с изразено разстояние между тях, NC-DL- двете линии (черни) са раздалечени, C-съвместими. Представено е процентното им съотношение. Изолатите са групирани в 20 MCGs, като две от групите включват в себе си само един изолат, поради тяхната несамосъвместимост. Установено е, че останалите изолати се срещат в повече от една MCG. С най-голямо генетично разнообразие са характеризират изолатите с произход от района на гр. Русе, а с най-малко изолатите от гр. Карнобат.

Ключови думи: *Phomopsis helianthi*; мицелно съвместими групи; генетично разнообразие

Mycelial compatibility of *Phomopsis helianthi* (Munt.-Cvet. et al.) isolates

Maria Petrova*, Ivan Kiryakov

Dobrudzha Agricultural Institute – General Toshevo, Agricultural Academy – Sofia, Bulgaria

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

Citation: Petrova, M., & Kiryakov, I. (2024). Mycelial compatibility of *Phomopsis helianthi* (Munt.-Cvet. et al.) isolates. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 61(4) 16-24 (Bg).

Abstract: In the present study, the genetic diversity of 30 isolates of the pathogen *Phomopsis helianthi* was studied using the mycelial compatibility groups (MCGs) method. Mycelial compatibility tests were carried out on two media - PDA + 80 µl/L and PSA +80 µl/L, with added colorant (Christmas red - Sly Commerce OOD) and without added colorant. The use of PDA medium was found to be inadvisable due to the indistinct dividing line (groove) in isolates having an incompatible phenotypic response. Based on the tests done, 416 combinations were carried out and the four types of reaction were observed- NC-N – incompatible with necrosis, NC-G-incompatible, mycelium do not approach with a pronounced distance between them, NC-DL- both lines (black) are spaced, C-compatible. Their percentage ratio is presented. Isolates are grouped into 20 MCGs, with two of the groups containing only one isolate due to their incompatibility. The remaining isolates were found to occur in more than one MCG. The isolates originating from the region of Ruse were marked with the greatest genetic diversity, and the isolates from the area of Karnobat with the least.

Keywords: *Phomopsis helianthi*; mycelial compatibility groups; genetic diversity

ВЪВЕДЕНИЕ

Сивите петна по слънчогледа или още Фомопсис се причинява от аскомикотна, фитопатогенна гъба *Phomopsis helianthi*. Патогенът се размножава полово и безполово. Безполовото размножаване е свързано с образуването на пикнидии, в които се продуцират алфа и бета-конидиите, като функцията на вторите не е изяснена (Vukojevic et al., 1995). Smetnik et al. (1998), установяват, че върху инфектираните семена, причинителят на *Phomopsis helianthi* образува стерилни бета-конидии, които не могат да бъдат първоначален източник на инфекция. При половото размножаване се формират перитеции с кълбовидни аски и аскоспори, които дават началото на инфекцията (Sackston, 1981; Smetnik et al., 1998; Antonova, 1999; Didenko, 2015).

Първоначално се приема, че *Phomopsis helianthi* е единственият причинител на болестта, но по-късни изследванията дават основание да се предполага, че са повече от един вид, поради значителни биологични разлики между изолатите от Европа и САЩ (Muntanola-Cvetkovic et al., 1985; Gulya et al., 1997). В свое проучване Acimovic & Straser (1982) и Masirevic & Gulya (1992) установяват, че съществуват разлики в симптомите на слънчогледови растения, заразени с различни изолати на *P. helianthi*. Те се изразяват в образуването на пикнидиите, размера на пикнидиите и конидиите, вида на конидии, температурните изисквания за конидиално развитие и формиране на перитеции. Gulya et al. (1997) предполага, че патогенните видове *Phomopsis* при слънчоглед могат да се състоят от повече от един вид или биотип с видими биологични разлики между изолатите от Европа и САЩ. Изолатите от САЩ лесно произвеждат перитеции върху хранителна среда, докато европейските изолати не (Gulya et al., 1997; Thompson et al., 2011; Mathew et al., 2018). Muntanola-Cvetkovic et al. (1985) също потвърждават тази зависимост. При изолати, които са с произход Тексас лесно се образуват перитеции върху малцов агар, докато при тези, които са с произход Югославия такива не

се формират. Към настоящия момент са документирани осем вида на *Phomopsis*, нападащи слънчогледа, а някои автори съобщават и за съвместна атака на растенията от няколко вида (Thompson et al., 2011; Mathew et al., 2015 B).

Редица проучвания показват значителни разлики в морфо-физиологичните характеристики и в степента на патогенност на различни изолати при гъбите от род *Phomopsis* (Masirevic & Gulya, 1992; Mathew et al., 2015A). За условията на България, Encheva (2002), установява, че между изолати на гъбата *Phomopsis helianthi*, с произход Области Добрич и Бургас също се наблюдават морфологични разлики.

Според Slyusar & Firaz (1995) и Rozhkovan et al. (1995) в популациите на патогена съществува значително генетично разнообразие, резултат от мутационни или рекомбинационни процеси. Проучвайки генетичното разнообразие на изолати, събрани от различни райони на Франция, чрез прилагане на ДНК-базирана технология (AFLP) SAYS-Lesage et al. (2002) установяват значително генетично разстояние между изолатите, както в един, така и между районите.

Един от често използваните методи за изследване на генетичното разнообразие в популацията на гъбите от отдел *Ascomycota* е изследване на база мицелна съвместимост. Това е способността на два изолата да сформират дикарион чрез осъществяване на процеса анастомозис (Strom & Bushley, 2016; Kiryakov & Zhecheva, 2019; Kamvar & Everhart, 2019; Liua et al., 2018). Редица автори посочват, че групирането на изолати в мицелно съвместими групи (MCGs) е сравнително лесен и евтин метод за установяване на генетичното разнообразие в популациите на фитопатогенни гъби от *Ascomycota* (Kamvar & Everhart 2019, Kiryakov & Zhecheva, 2019). Независимо от това, този метод има ограничено използване при представители от род *Phomopsis*. Според Scheper (2001), комплементарните тестове между 32 изолата от *Phomopsis viticola* се групират в 16 MCGs, което показва значително генетично разнообразие на вида в проучваните райони. Проучвайки вегетативната съвместимост

на голям брой изолати от род *Phomopsis* при слива, Zivkovic et al. (2008) също установяват изразено генотипно разнообразие.

Целта на настоящото проучване е да се установи генетичното разнообразие на *Phomopsis helianthi* в България, чрез групиране на изолатите в MCGs.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изолати от *Phomopsis helianthi*.

В изследването са включени 30 изолата на *P. helianthi*, събрани от четири производствени района на територията на страната през 2021 г. (Таблица 1). Растителните части са промити на течаща вода за 30 min, последвано от двукратно промиване със стерилна дестилирана вода. След подсушаване на ламинарен бокс, от периферията на петната са отрязани части с размер до 5 mm. Отрязаните растителни части са потопени в 70 % ЕТОН за 10 sec., след което са опламенени на спирт-

на лампа. Така стерилизираните растителни части са поставени върху хранителната среда картофено-декстрозен агар (PDA), разлята в Петриеви блюда с диаметър 90 mm, по пет растителни части в едно блюдо. Блюдата са инкубирани в термостат при температура $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Развитието на колонии е наблюдавано ежедневно. При достигане размер на колонии 15 mm всяка колония е прехвърлена върху нова хранителна среда, а изолатите са инкубирани при същите условия. Получените изолати бяха съхранявани при 4°C .

Мицелни съвместими групи (MCGs).

Мицелната съвместимост на изолати е установена по метода описан от Kiryakov & Zhecheva (2019). В изследването бяха използвани четири вида хранителна среда: PDA (Картофено-декстрозен агар), CPDA - PDA+ 80µl/L с червен оцветител (Christmas red – Слай Комерс ООД) за хранително-вкусовата промишленост, PSA (Картофено-захарозен агар) и CPSA - PSA+ 80 µl/L оцветител. Всеки един от изолатите беше комбиниран с останалите чрез поставяне на агаров диск с размер 5 mm, взет от периферията на 7-дневна култура върху съответната среда, на разстояние 3 cm между изолатите, по две блюда за комбинация изолати x хранителна среда. Успоредно с това, всеки един от изолатите, беше комбиниран сам със себе си, за да се установи наличието на самосъвместимост. Блюдата бяха поставени в термостат при температура $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, без осветление. Наличието на съвместима/несъвместима реакция между изолатите е отчетено след 7 и 10 дена. Отчетени са четири типа на реакция: NC-N – несъвместим с некроза, NC-G-несъвместим, мицелите не се доближават, с разстояние между тях, NC-DL-двете линии (черни) са раздалечени и C-съвместими (Scheper, 2001) (Фигура 1).

Таблица 1. Произход и номенклатура на изследваните изолати

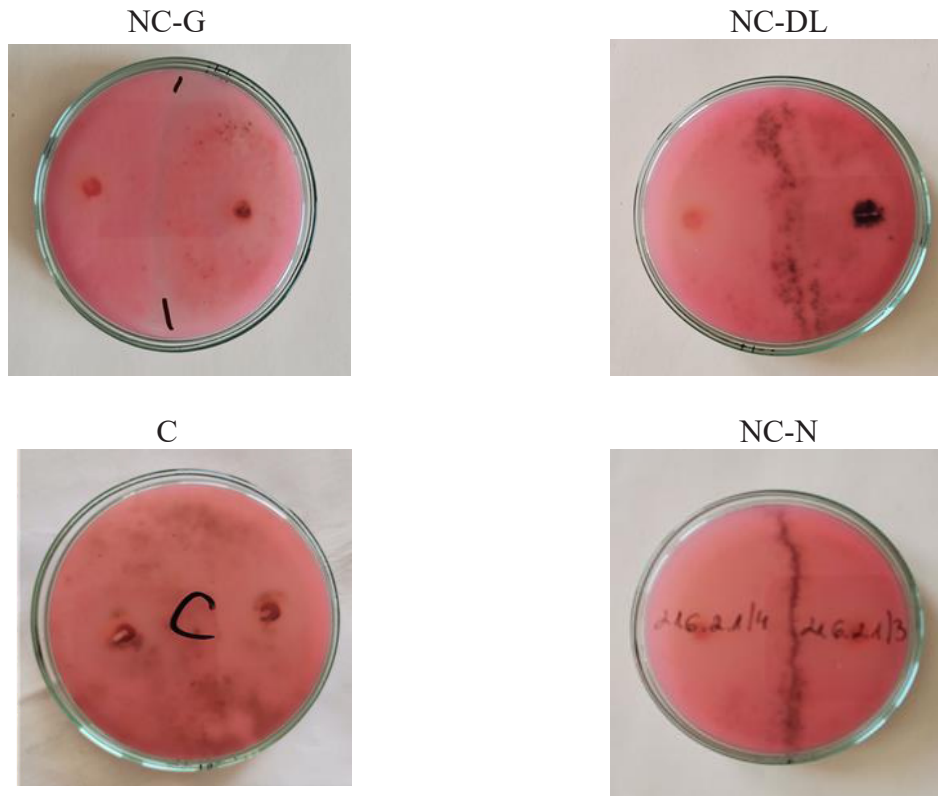
Table 1. Origin and nomenclature of the studied isolates

Код/ Code	Година/ Year	Произход*/ Origin	Бр. изолати/ Number of isolates
21-21..	2021	Ямбол/ Yambol I	1
21-23..	2021	Ямбол/ Yambol II	1
21-24..	2021	Ямбол/ Yambol III	2
21-41..	2021	Русе/ Ruse I	5
21-42..	2021	Русе/ Ruse II	1
21-45..	2021	Русе/ Ruse III	2
21-61..	2021	ДЗИ/DAI I	4
21-62..	2021	ДЗИ/DAI II	8
21-623..	2021	ДЗИ/DAI III	2
21-72..	2021	Карнобат/ Karnobat	5

*Номерацията е свързана с различни производствени полета в един и същ район/ The numeration is related to different production fields in the same area

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Влияние на хранителната среда и периода на инкубация върху



Фигура 1. Типове реакция между изолати от *Phomopsis helianthi* при изследване на MCGs върху средата CPSA.

Figure 1. Reaction types between *Phomopsis helianthi*'s isolates in MCGs study

визуализацията на съвместима/ несъвместима реакция.

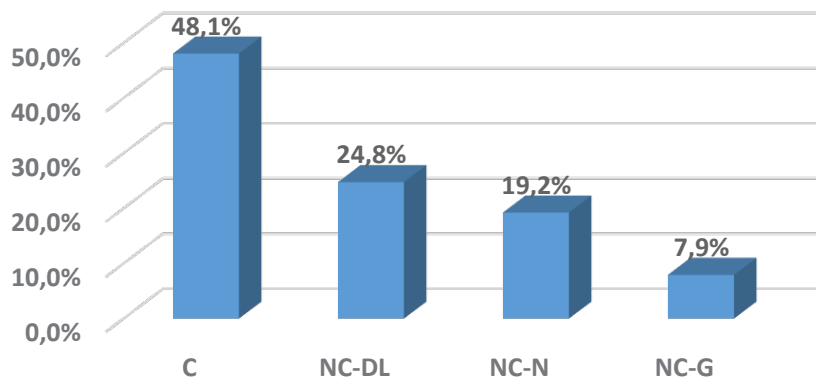
Резултатите от настоящото изследване показват, че прибавянето на оцветител не оказва влияние върху темпа на развитие на изолатите при проучваните хранителни среди. Сравнявайки фенотипната изява на изолатите при комплементарните тестове върху четирите среди, беше установено, че реакцията на несъвместимост е по-ясно изразена върху средата CPSA в сравнение с останалите.

Мицелно съвместими групи (MCGs).

В резултат на проведените комплементарни тестове са осъществени 416 комбинации. Наблюдавани са четирите типа на реакция описани в методологията. При 48,1 % от комбинациите се наблюдава сливане на двете колонии без формиране на бразда (C) (Фиг.1 и 2). Фенотипна изява NC-DL, при която между

изолатите се наблюдават две тъмно оцветени, раздалечени една от друга линии, е установена при 24,8% от изолатите. Реакция от типа NC-N, при която фенотипът е тясна, черно оцветена бразда, се установява при 19,2% от пробите. Най-малък е процента на реакция от типа NC-G, при която мицелите не се доближават - 7,9% от всички комбинации. Според Schepet (2001) сливането на колонии без формиране на разделителни линии се приема за съвместима реакция.

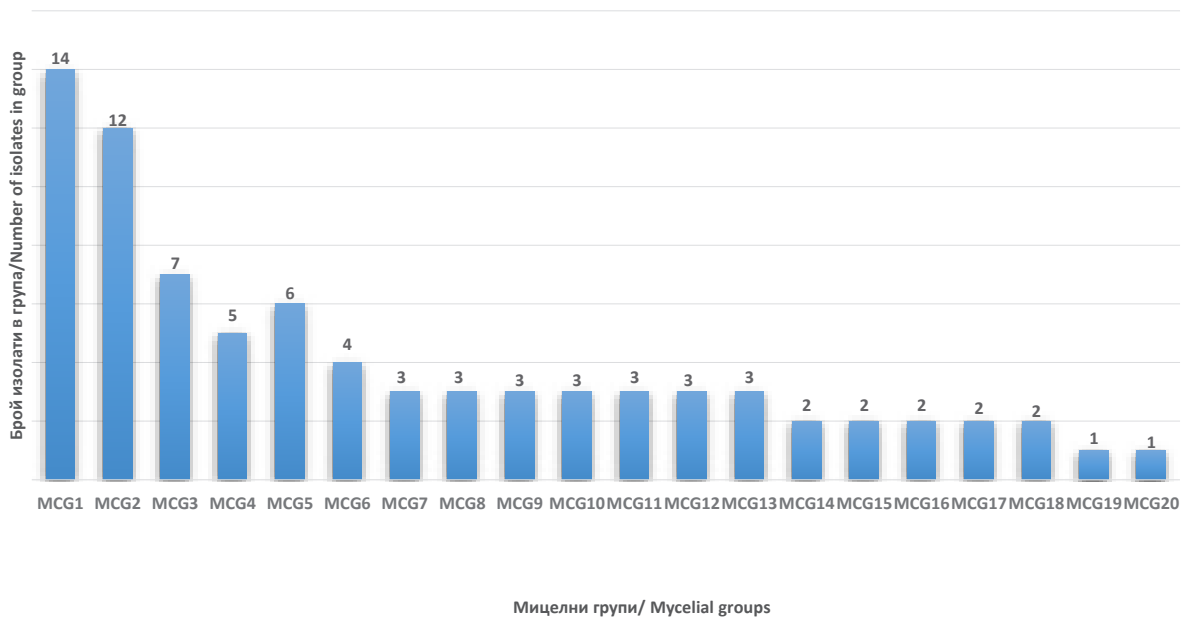
Комплементарните тестове за самосъвместимост показват, че два от изолатите (21-6221 и 21-6222) са несамосъвместими, поради което те са изключени от по-нататъшни тестове и са отнесени към самостоятелни MCG, съответно MCG19 и MCG20 (Табл. 2). На основа фенотипната реакция между останалите изолати се сформират допълнителни 18 MCGs.



Фигура 2. Фенотипна изява на взаимодействието между 30 изолата при тест за мицелна съвместимост (%) - NC-N – несъвместим с некроза, NC-G-несъвместим, мицелите не се доближават с изразено разстояние между тях, NC-DL-двете линии (черни) са раздалечени , C-съвместими
Figure 2. Phenotypic expression of the interaction between 30 isolates in a MCG (%) - NC-N-incompatible with necrosis, NC-G-incompatible, micelles do not approach with a pronounced distance between them, NC-DL-the two lines (black) are spaced, C-compatible

Таблица 2. Мицелни съвместими групи (MCGs) при анализ на 30 изолата от *P. helianthi*
Table 2. Mycelial Compatibility Groups (MCGs) in an analysis of 30 isolates of *P. helianthi*

ГРУПА/ GROUP	ИЗОЛАТ / ISOLATE
MCG1	21-412; 21-413; 21-414; 21-415; 21-451; 21-45221-6211; 21-6212; 21-6213; 21-6223; 21-721; 21-722; 21-723; 21-724
MCG2	21-412; 21-413; 21-414; 21-415; 21-451; 21-452; 21-6214; 21-6224; 21-6223; 21-721; 21-722; 21-723;
MCG3	21-414; 21-451; 21-452; 21-611; 21-612; 21-613; 21-614;
MCG4	21-412; 21-451; 21-452; 21-6231; 21-6232;
MCG5	21-451 21-452 21-241; 21-231; 21-211; 21-212
MCG6	21-241; 21-411; 21-423; 21-723;;
MCG7	21-411; 21-6212; 21-6214;
MCG8	21-411; 21-241; 21-721;
MCG9	21-241; 21-411; 21-722;;
MCG10	21-241; 21-41; 21-724;
MCG11	21-411; 21-451; 21-452
MCG12	21-212; 21-414; 21-423;
MCG13	21-211; 21-423; 21-452;
MCG14	21-411; 21-613;
MCG15	21-423; 21-612;
MCG16	21-414; 21-6232;
MCG17	21-241; 21-413;
MCG18	21-411; 21-6224;
MCG19	21-6221
MCG20	21-6222



Фигура 3. Брой изолати на *P. helianthi* в сформираните мицелно съвместими групи (MCGs)
Figure 3. Number of *P. helianthi* isolates in the formed Mycelial Compatibility Groups (MCGs)

Група MCG1 включва 14 изолатата и е най-голямата група от общо 20 (Таблица 2; Фигура 3). MCG2 обединяват 12 изолатата, като това я прави втората по големина група. MCG3 включва 7 изолатата, MCG4 – 5, а MCG5, съответно 6 изолатата. Седем от групите (MCG7, MCG8, MCG9, MCG10, MCG11, MCG12, MCG13) включват в себе си по 3 изолатата, а една от тях (MCG6) е с 4 изолатата. Пет от групите (MCG 14, MCG15, MCG16, MCG 17, MCG18) са представени от по 2 изолатата, а две от тях (MCG19 и MCG20) са с по 1 изолат и се определят като отделни самостоятелни групи, поради тяхната несамосъвместимост.

Резултатите от изследването показват, че голяма част от изолатите присъстват в повече от една мицелна група (Таблица 2; Таблица 3). Така например, изолат Ph21-411 е отнесен към осем мицелно съвместими групи, а изолат Ph21-452 - към седем от тях. За включване на един изолат в няколко MCGs съобщават и Kiryakov & Zhecheva (2019) при определянето на мицелната съвместимост на 16 изолатата от *S. sclerotiorum*. Според Kamvar & Everhart

(2019), това явление може да бъде свързано с големия брой локуси за несъвместимост, които определят стабилността на формирания дикарион.

С най-голямо генетично разнообразие се характеризира района на Русе, в който осемте проучвани изолатата са отнесени към 18 от общо 20 сформирани MCGs (Фигура 4). Изолатите от района на ДЗИ влизат в състава на 9, а от Ямбол в 7 от идентифицираните 20 MCGs. Броят на установените MCGs е най-малък в района на Карнобат. Тези резултати показват, че някои групи могат да се срещат в повече от един район. Така например, MCG1 и MCG2 се срещат, както в района на ДЗИ, така и в района на Карнобат и Русе. Група MCG10 също се наблюдава в три от проучваните района - Карнобат, Русе и Ямбол. Някои от MCGs могат да се открият само в един район. Такива са групи MCG11, MCG12, които се срещат само в района на Русе.

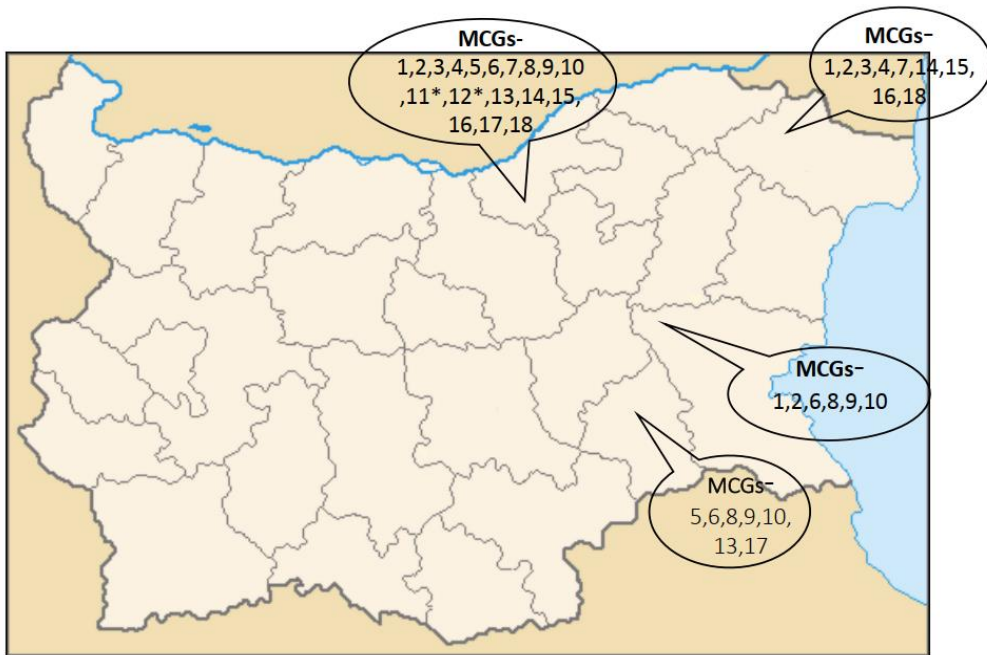
Липсата на полов процес в европейските популации на патогена предполага, че уста-

Таблица 3. Разпределение на изолатите по мицелно съвместими групи (MCGs)
Table 3. Distribution of isolates by Mycelial Compatible Groups (MCGs)

Изолати/Isolates	Мицелни групи/ Mycelial groups
Ph21-211	MCG5; MCG13
Ph21-212	MCG5; MCG12
Ph21-231	MCG5
Ph21-241	MCG5; MCG6; MCG8; MCG9; MCG10; MCG17
Ph21-411	MCG6; MCG7; MCG8; MCG9; MCG10; MCG11; MCG14; MCG18
Ph21-412	MCG1; MCG2; MCG4
Ph21-413	MCG1; MCG2; MCG17
Ph21-414	MCG1; MCG2; MCG3; MCG12; MCG16
Ph21-415	MCG1; MCG2
Ph21-423	MCG6; MCG12; MCG13; MCG15
Ph21-451	MCG1; MCG2; MCG3; MCG4; MCG5; MCG11
Ph21-452	MCG1; MCG2; MCG3; MCG4; MCG5; MCG11; MCG13
Ph21-611	MCG3
Ph21-612	MCG3; MCG15
Ph21-613	MCG3; MCG14
Ph21-614	MCG3
Ph21-6211	MCG1
Ph21-6212	MCG7
Ph21-6213	MCG1
Ph21-6214	MCG2; MCG7
Ph21-6221	MCG19 *
Ph21-6222	MCG20 *
Ph21-6223	MCG1; MCG2
Ph21-6224	MCG2; MCG18
Ph21-6231	MCG4
Ph21-6232	MCG16
Ph21-721	MCG1; MCG2; MCG8
Ph21-722	MCG1; MCG2; MCG9
Ph21-723	MCG1; MCG2; MCG6
Ph21-724	MCG1; MCG10

новеното в това изследване генетично разнообразие може да се дължи на мутационни или парасексуални процеси. От една страна, значителния брой на установените MCGs в отделните райони е показател за наличие на генетично разнообразие в локусите за несъв-

местимост. От друга страна, наличието на едни и същи MCGs в два или повече пространствено изолирани райони на страната, ни дава основание да предположим, че генетичното разнообразие базирано на мицелната съвместимост е незначително.



Фигура 4. Географско разпределение на MCGs в страната
Figure 4. Geographical distribution of MCGs in the country

ИЗВОДИ

Хранителната среда CPSA (PSA+80 µl/L) е подходяща за провеждане на комплементарни тестове за съвместимост, тъй като фенотипната изява е по-ясно изразена.

Проучваните 30 изолата на *Phomopsis helianthi* сформират 20 MCGs, като един и същ изолат може да бъде включен в повече от една група.

С най-голямо генетично разнообразие са характеризират изолатите с произход от района на гр. Русе, а с най-малко - изолатите от гр. Карнобат.

Доколкото ни е известно, това е първото съобщение за генетично разнообразие в популациите на *Phomopsis helianthi*, основавайки се на мицелната съвместимост на изолатите.

ЛИТЕРАТУРА

Acimovic, M., & Straser, N. (1982). *Phomopsis* sp. - a new parasite of sunflower. *Zastita Bilja*. 33(2), 117-158.

Antonova, T. S. (1999). Biological features of the development of *Phomopsis* / T. S. Antonova // Protection and quarantine of plants. 1., P. 25-26.

Didenko, A. O. (2015). *Basic biological developments and control of the pathogen of the sunflower phomopsis in the conditions of the Krasnodar region*. Ph.D. thesis. Krasnodar.

Entcheva, V. (2002). Variation in the aggressiveness of isolates from *Phomopsis/Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet. et al. on sunflower. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 8(4), 349-352.

Gulya, T., Rashid, K. Y., & Masirevic, S. M. (1997). Sunflower diseases. *Sunflower technology and production*. 35, 263-379.

Kamvar, Z. N., & Everhart, S. E. (2019). Something in the agar does not compute: on the discriminatory power of mycelial compatibility in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Tropical Plant Pathology*, 44, 32-40.

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

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.

- Masirevic, S., & Gulya, T. J.** (1992). Sclerotinia and Phomopsis—two devastating sunflower pathogens. *Field Crops Research*, 30(3-4), 271-300.
- Mathew, F. M., Rashid, K. Y., Gulya, T. J., & Markell, S. G.** (2015A). First report of Phomopsis stem canker of sunflower (*Helianthus annuus*) caused by *Diaporthe gulyae* in Canada. *Plant Disease*, 99(1), 160-160.
- Mathew, F. M., Alananbeh, K. M., Jordahl, J. G., Meyer, S. M., Castlebury, L. A., Gulya, T. J., & Markell, S. G.** (2015B). Phomopsis stem canker: A reemerging threat to sunflower (*Helianthus annuus*) in the United States. *Phytopathology*, 105(7), 990-997.
- Mathew, F., Olson, T., Marek, L., Gulya, T., & Markell, S.** (2018). Identification of sunflower (*Helianthus annuus*) accessions resistant to *Diaporthe helianthi* and *Diaporthe gulyae*. *Plant Health Prog.* 19: 97–102.
- Muntañola-Cvetković, M., Mihaljčević, M., Vukojević, J., & Petrov, M.** (1985). Comparisons of Phomopsis isolates obtained from sunflower plants and debris in Yugoslavia. *Transactions of the British Mycological Society*, 85(3), 477-483.
- Sackston, W. E.** (1981). The Sunflower Crop and Disease: Progress, Problems, and Prospects. *Plant disease*, 65(8), 643-648.
- Says-Lesage, V., Roeckel-Drevet, P., Viguié, A., Tourvieille, J., Nicolas, P., & de Labrouhe, D. T.** (2002). Molecular variability within *Diaporthe/Phomopsis helianthi* from France. *Phytopathology*, 92(3), 308-313.
- Schafer, M. R., & Kohn, L. M.** (2006). An optimized method for mycelial compatibility testing in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycologia*, 98(4), 593-597.
- Scheper, R. W. A.** (2001). *Studies on the biology and genetic variation of phomopsis on grapevine/Reiny WA Scheper* (Doctoral dissertation).
- Slyusar, E., & Firaz, M.** (1995). Response of wild sunflower species to Phomopsis infection. *Selection and seed breeding*, 1995, N 3 pp. 22-23.
- Smetnik, A. I., Aleksandrov, I. N., Skripka, O. V. & Izmalkova, A. G.** (1998). Sunflower seeds as a way of preservation of Phomopsis infection. *Zashchita i Karantin Rastenij*, (1), 35-36.
- Strom, N. B. & Bushley, K. E.** (2016). Two genomes are better than one: history, genetics, and biotechnological applications of fungal heterokaryons. *Fungal biology and biotechnology*, 3(1), 1-14.
- Rozhkovan, V, Tereshchenko, B. & Stus, Z.** (1995). Resistance of wild sunflower species to Phomopsis. *Breeding and Seed Breeding*, 1995, N:3, pp. 23-26
- Thompson, S. M., Tan, Y. P., Young, A. J., Neate, S. M., Aitken, E. A. B. & Shivas, R. G.** (2011). Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe (Phomopsis)* species. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 27(1), 80-89.
- Vukojević, J., Franić-Mihajlović, D. & Mihaljčević, M.** (1995). In vitro production of perithecia of *Diaporthe helianthi*. *Mycopathologia*, 132, 21-25.
- Zivkovic, S., Stojanovic, S., Gavrilovic, V. & Ivanovic, Z.** (2008). Vegetativna inkompatibilnost izolata *Phomopsis spp.* izolovanih sa stabla sljive.

Received: March, 12, 2024; Approved: April, 20, 2024; Published: August, 2024