



ПРОУЧВАНЕ НА УСТОЙЧИВОСТТА НА МЕСТНИ И ИНТРОДУЦИРАНИ ОБРАЗЦИ ГРАХ КЪМ ПРИЧИНИТЕЛЯ НА ФУЗАРИЙНОТО УВЯХВАНЕ *FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. PISI*
STUDY ON THE RESISTANCE OF LOCAL AND INTRODUCED GARDEN PEA ACCESSIONS TO THE FUSSARIUM WILT *FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. PISI* AGENTI

Петър Чавдаров^{1*}, Славка Калъпчиева²
Petar Chavdarov^{1*}, Slavka Kalapchieva²

¹Институт по растителни генетични ресурси - Садово
Institute of Plant Genetic Resources - Sadovo

²Институт по зеленчукови култури „Марица” - Пловдив
Maritsa Vegetable Crops Research Institute - Plovdiv

*E-mail: chavdarov_petar@abv.bg

Резюме

В периода 2010–2011 г. е проучена реакцията на образци грах с различен географски произход към причинителя на фузариийното увяхване *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*. Изследването е извършено с цел установяване на източници на устойчивост към патогена. Научноизследователската работа беше проведена във вегетационната къща на ИРГР – Садово при изкуствен инфекциозен фон и на опитното поле на ИЗК – Пловдив при естествен инфекциозен фон с 94 линии и сортове грах. Петдесет генотипа показаха висока устойчивост (0,0 % загинали растения) към патогена при лабораторни и полски условия. При полски условия и естествен инфекциозен фон седемдесет и шест генотипа реагираха с висока устойчивост към патогена (0,0 % загинали растения). Образците, показали висока устойчивост при лабораторни и полски условия, могат с успех да се използват в комбинативната селекция като донори за създаване на устойчиви сортове градински грах към причинителя на фузариийното увяхване - *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*.

Abstract

During the period 2010–2011 the response of pea samples of different origin to the causal agent of fusarium wilt – *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* was studied. The study was carried out to establish sources of resistance to the pathogen. The research was done in the greenhouse of the Institute of Plant Genetic Resources – Sadovo by applying artificial infection and in the experimental field of the *Maritsa* Vegetable Crops Research Institute - Plovdiv under natural infection conditions with 94 pea lines and varieties. Fifty genotypes showed high resistance (0.0% wilted plants) to the pathogen under both laboratory and field conditions. Under open field conditions and against a natural infection background seventy-six genotypes responded with high resistance to the pathogen (0.0% wilted plants). The samples which showed high resistance under laboratory and field conditions can be successfully used in a combination selection as donors for the creation of pea varieties resistant to the cause of fusarium wilt - *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*

Ключови думи: резистентност, *Pisum sativum* L., фузариийно увяхване.

Key words: resistance, *Pisum sativum* L., fusarium wilt.

ВЪВЕДЕНИЕ

Фузариийното увяхване по граха се появява под формата на кореново гниене и на трахеомикозно увяхване (Hagedorn, 1984). Гниенето на корените се явява в периода от появата на къпновете до образуването на бобовете. Първоначално се инфектират върхните части на коренчетата, които покафеняват и постепенно заболяването обхваща изцяло кореновата система (Haglund et al., 1987). При подходящи условия болестта се разпространява интензивно и нанася значителни поражения. Болните растения постепенно увяхват отдолу нагоре, като най-често загиват (Ali et

al., 1994). Ако отделни растения преживеят и достигнат до фаза цъфтеж и образуване на бобове, то последните най-често са празни или, ако се образуват семена, те са спаружени (Andrew et al., 2009).

Увяхването е друга форма на заболяването, при което поради запушване на проводящата тъкан се нарушава поемането на вода и минерални вещества от растенията, вследствие на което растенията бързо увяхват (Haglund et al., 2001). При напречен разрез на стъблото се наблюдава пръстен от кафяво оцветена тъкан, но впоследствие отвън стъблото също покафеня-

ва. Първоначално се наблюдава пожълтяване и увяхване на листата от долния пояс, след което постепенно заболяването обхваща и останалите листа до върха на растението. Със задълбочаване на симптомите растенията изостават в развитието си в сравнение със здравите растения и впоследствие загиват (Hagedorn, 2010).

Генетичната устойчивост при граха към причинителя на фузарииното увяхване е обусловена от различни единични доминантни гени, които са установени при редица сортове в определени райони по света (Kraft et al., 1986). Авторите посочват, че познаването на тези райони и обменът на генетична плазма между тях ще доведат до по-високо равнище на имуноселекцията при тази култура. Отглеждането на устойчиви сортове е най-ефективният и най-евтин метод в борбата с фузарииното увяхване по граха. Създаването им изисква предварителна оценка на изходния материал и идентифициране на перспективни източници на устойчивост или толерантност (Infantino et al., 2006). Затова, въпреки отчетената устойчивост, е необходимо детайлно проучване върху реакцията на работната колекция към изпитвания патоген.

Целта на настоящото проучване е да се проучи реакцията на образци грах с различен произход към причинителя на фузарииното увяхване *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* и установяване на източници на устойчивост към патогена.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Научноизследователската работа е изведена във вегетационната къща на ИРГР – Садово и на опитното поле на ИЗК – Пловдив през 2010-2011 г. В опита са включени общо 94 линии и сортове грах основно от набръчкано-семенен тип, с бели цветове. Тридесет и два образца са от българската селекция (14 линии и 18 сорта). Шестдесет и пет генотипа представляват чуждата селекция: 18 са с произход от Германия, 4 сорта от Холандия, 9 от Унгария, 17 от Англия, 10 от Русия и 4 от Франция. Съдовият опит беше заложен в тарини с размер 30 x 30 x 10 cm, а използваният за него субстрат (торф + перлит – 3:1) беше предварително автоклавиран при 11°C за 4 часа. Патогенът беше изолиран от проводящите съдове на болни грахови растения и поддържан в лабораторията по фитопатология върху хранителна среда – КДА. Инокулумът се приготви върху SNA+ (Special Nirenberg Agar) среда, която благоприятства спорообразователната активност на гъбите от род *Fusarium*. За сеитба са използвани

семена, взети от здрави, предварително маркирани растения, като по този начин елиминирахме възможността за наличие на зараза по семената. От всеки образец са засети по 15 семена в три повторения. Растенията се поливаха два пъти седмично, което спомагаше за доброто им развитие. Оценката на образците се извършваше два пъти седмично, като са проследени симптомите на фузарииното увяхване, изразяващи се в загинали кълнове, хлороза, некроза по листата, както и увяхване на цели растения. Растенията в съдовия опит бяха отглеждани до фаза цъфтеж. Оценяването на образците по тип на инфекцията и степен на нападение е извършено по Haglund (1989).

0 % – увяхнали растения – **I** – високоустойчиви
1-15 % – увяхнали растения – **R** – устойчиви
15.1-25.0 % – увяхнали растения – **MS** – средно чувствителни
25.1 – 50.0 % – увяхнали растения – **S** – чувствителни
над 50.0 % – увяхнали растения – **HS** – високочувствителни

При полски условия и естествен инфекциозен фон е проследена устойчивостта на същите образци. Сеитбата е извършена на висока равна леха - четириредова лента 80+20+40+20/5 cm, в края на февруари-началото на март. Полският опит беше заложен в две повторения. Растенията са отгледани по възприетата за градинския грах технология. От всеки изпитван образец имахме по сто жизнени растения. При полския опит бяха извършени общо единадесет поливки, чрез които се поддържаше оптимална почвена влага, необходима за доброто развитие на растенията. Полската оценка е проведена двукратно - във фаза цъфтеж и начало на бобообразуване – края на май – началото на юни.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Осреднените данни от двегодишния период на изследване са посочени в таблица 1.

Съдов опит

От таблицата се вижда, че при редица образци грах има различия в броя на засетите и поникналите семена. Високият процент на непоникналите семена при редица образци се дължи на ниска кълняемост. Това се потвърди след изваждането им от субстрата. Семената външно бяха здрави, а гниене в резултат на инфекция от гъба-



Таблица 1. Реакция на образците градински грах към причинителя на фузарииното увяхване за периода 2010–2011

Table 1. Reaction of peas samples to causal agent of fusarium wilt average for the period 2010-2011

№	Образец Variety	Произход Origin	Засети семена Sown seeds	Поникнали р-я Grown plants	Заразени Infected брой % number		Полска оценка, % Field evaluation
					6	7	
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Алдина	Унгария	15	8	0	0.0	0.0
2	Алекс	Германия	15	10	0	0.0	0.0
3	Баладо	Германия	15	7	0	0.0	0.0
4	Вавертоп	Холандия	15	13	8	61.5	37.2
5	Вера	Русия	15	12	6	50.0	21.8
6	Вечерница	България	15	13	5	38.4	37.3
7	Виктория	Англия	15	9	1	11.1	0.0
8	Вил ванс	Холандия	15	14	2	14.2	42.7
9	Виридис	Холандия	15	13	2	15.3	0.0
10	Вятово	България	15	12	0	0.0	0.0
11	Дебрицени	Унгария	15	14	0	0.0	0.0
12	Деница	България	15	13	0	0.0	0.0
13	Денти	Англия	15	13	0	0.0	0.0
14	Джоф	Англия	15	15	0	0.0	0.0
15	Дунав	България	15	13	2	15.3	51.4
16	Елви	Унгария	15	13	0	0.0	0.0
17	Енока	Унгария	15	13	0	0.0	0.0
18	Ечо	Холандия	15	13	0	0.0	0.0
19	Жирой	Русия	15	12	1	8.3	0.0
20	Зелена долина	Русия	15	13	0	0.0	0.0
21	Зелена перла	Русия	15	13	0	0.0	0.0
22	Зерес мезере	Унгария	15	13	6	46.1	32.5
23	Зорница	България	15	14	9	64.2	19.6
24	Искра	България	15	12	4	33.3	0.0
25	Искър	България	15	12	1	8.3	0.0
26	Казино	Англия	15	14	3	21.4	46.2
27	Кати	Русия	15	15	2	13.3	0.0
28	Келвин	Англия	15	9	5	55.5	18.7
29	Кобри	Англия	15	11	3	27.2	0.0
30	Конкорд	България	15	11	2	18.1	0.0
31	Корал	Германия	15	6	0	0.0	0.0
32	Кр.Глория	Англия	15	7	0	0.0	0.0
33	Ланцет	Германия	15	14	0	0.0	0.0
34	Линия 1857-3	България	15	6	0	0.0	0.0
35	Линия 471/32	България	15	7	0	0.0	0.0
36	Линия 86/34	България	15	13	0	0.0	0.0
37	Линия 95/4	България	15	13	0	0.0	0.0
38	Линия № 101 i	България	15	11	0	0.0	0.0
39	Линия № 11	България	15	9	0	0.0	0.0
40	Линия № АХ-11/675	България	15	11	0	0.0	0.0
41	Линия № 1159	България	15	11	0	0.0	0.0
42	Линия № 170	България	15	11	2	18.1	0.0
43	Линия № 20	България	15	11	2	18.1	0.0
44	Линия № 22-4	България	15	12	3	25.0	28.4
45	Линия № 72/2	България	15	15	5	33.3	0.0
46	Линия № 72/9	България	15	12	7	58.3	31.2
47	Линия № 73/10	България	15	11	3	27.2	0.0
48	Линкълн	Англия	15	11	9	81.8	47.6
49	Луна	Русия	15	10	3	30.0	0.0
50	Лющина	Русия	15	9	6	66.6	0.0
51	Маргарит	Германия	15	11	4	36.3	0.0

1	2	3	4	5	6	7	8
52	Марси	България	15	14	5	35.7	21.8
53	Мезире	Унгария	15	13	7	53.8	34.2
54	Мелвил	Унгария	15	14	9	64.2	56.4
55	Мигнон	Унгария	15	14	2	14.2	0.0
56	Минарете	Англия	15	12	2	16.6	0.0
57	Мира	България	15	8	3	37.5	28.6
58	Миравиглия	Унгария	15	5	1	20.0	0.0
59	Мусала	България	15	11	2	18.1	0.0
60	Пиноккио	Русия	15	9	2	22.2	0.0
61	Пион	Франция	15	13	6	46.1	42.3
62	Пловдив	България	15	10	0	0.0	0.0
63	Пулпудева	България	15	15	0	0.0	0.0
64	Пюджет	Франция	15	15	0	0.0	0.0
65	Рамир	Франция	15	14	0	0.0	0.0
66	Ран 1	България	15	10	0	0.0	0.0
67	Ран 1 нов	България	15	15	3	20.0	37.6
68	Ран хардеринг	Англия	15	15	0	0.0	0.0
69	Ред хавер	Англия	15	15	0	0.0	0.0
70	Рейна	България	15	12	0	0.0	0.0
71	Ривалин	Германия	15	13	0	0.0	0.0
72	Рожер шеф	Унгария	15	12	0	0.0	0.0
73	Скаут	Германия	15	14	0	0.0	0.0
74	Скинадо	Германия	15	15	5	33.3	0.0
75	Совин	Англия	15	14	0	0.0	0.0
76	Супрема	Англия	15	15	0	0.0	0.0
77	Темптер	Англия	15	8	0	0.0	0.0
78	Тринтела	Англия	15	12	9	75.0	0.0
79	Трио	Англия	15	5	0	0.0	0.0
80	Триофин	Германия	15	14	0	0.0	0.0
81	Тропар PL	Германия	15	10	0	0.0	0.0
82	Ундине	Германия	15	10	1	10.0	0.0
83	Успех 72	България	15	14	0	0.0	0.0
84	Фабио	Германия	15	15	1	6.6	0.0
85	Фабундо	Германия	15	10	0	0.0	0.0
86	Фацима	Франция	15	10	0	0.0	0.0
87	Флора 6	Русия	15	14	0	0.0	0.0
88	Фрагмент	Русия	15	14	0	0.0	0.0
89	Фриде	Германия	15	12	3	25.0	0.0
90	Фридол	Германия	15	15	0	0.0	0.0
91	Фрима	Германия	15	13	0	0.0	0.0
92	Фрименто	Германия	15	14	0	0.0	0.0
93	Фрости рой	Англия	15	15	2	13.3	0.0
94	Хебър	България	15	14	0	0.0	0.0

та не беше отчетено. При лабораторни условия и изкуствен инфекциозен фон от общо деветдесет и четири проучвани образци грах петдесет показва висока устойчивост (**0%**, **I**) към причинителя на фузариеното увяхване - *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. В групата на устойчивите образци с поражение от 1,0% до 15,0% (**R**) са 9 генотипа (Виктория, Вил ванс, Жирой, Искър, Кати, Мигнон, Ундине, Фабио и Фрости рой). Прави впечатление високият процент от българските материали, които попадат в първите две групи на устойчивост.

Средно чувствителна реакция (**MS**) при съдовия опит е отчетена при 13 образеца (Виридис, Дунав, Казино, Конкорд, Линия № 170, Линия № 20, Линия № 22-4, Минарете, Миравиглия, Мусала, Пиноккио, Ран 1 нов и Фриде). Чувствителна реакция (**S**) спрямо причинителя на фузариеното увяхване при контролирани условия, със степен на нападение от 25,1 до 50,0% са 13 сорта (Вера, Вечерница, Зерес мезере, Искра, Кобри, Линия № 72/2, Линия № 73/10, Луна, Маргарит, Марси, Мира, Пион и Скинадо). При тези сортове наблюда-



давахме просветляване по долните листа, които по-късно жълтеят и опадат. След изваждането на част от болните растения наблюдавахме покафеняване на отделни обрастващи коренчета. Високочувствителни (**HS**) към патогена се оказаха 9 образеца (Вавертоп, Зорница, Келвин, Линия № 72/9, Линкълн, Лющина, Мезире, Мелвил и Тринтела). Признаците на болестта при тази група наблюдавахме във фаза начало на цъфтеж. При тях се установи, че увяхването и бързото засъхване на растенията се дължи на покафеняване на цялата коренова система.

Полски опит

Оценката се извърши двукратно – във фаза цъфтеж и бобообразуване. До фаза цъфтеж типични симптоми на фузариено увяхване не бяха отчетени. Високоустойчива (**0** %, **I**) реакция към причинителя на фузариено увяхване при полски условия и естествен инфекциозен фон показаха 76 образци. При същите не бяха отчетени симптоми на болестта през цялата вегетация на културата. Устойчива реакция (**R**) към патогена с нападение в границите от 1 до 15% не беше отчетена. В групата на средно чувствителните (**MS**) образци с нападение от 15,1 до 25,0% по-

падат 4 сорта (Вера, Зорница, Келвин и Марси), а чувствителни (**S**) се оказаха следните 12 сорта: Вавертоп, Вечерница, Вил ванс, Зерес мезере, Казино, Линия № 22-4, Линия № 72/9, Линкълн, Мезире, Мира Пион и Ран 1 нов. Към високочувствителните образци с нападение над 50,0% се отнасят 2 сорта – Дунав и Мелвил. При тях беше наблюдавана намалена тургурна жизненост, увяхване на връхните части и бързо загиване на цели растения в резултат на запушване на проводящите съдове от развитието на гъбата – типична трахеомикоза. Вземите за реизолация проби от проводящите съдове на болните растения потвърдиха наличието на *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. Този патоген е основен причинител на фузариено увяхване по граха поради системното си развитие в проводящите съдове на инфектираните чувствителни растения (Сидорова, 1983). По-голямата част от фитопатогенните гъби от вида *Fusarium oxysporum* се развиват системно в чувствителните растения гостоприемници (Билай, 1977).

Вариабилността в степента на нападение от *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* се дължи на значителните генетични различия между изпитваните генотипи грах, доказани с високо ниво на достоверност ($p \leq 0,001$), (табл. 2). Влиянието на

Таблица 2. Двухфакторен дисперсионен анализ на степента на нападение от *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* при лабораторни и полски условия за периода 2010–2011
Table 2. Two-way analysis of variance on the degree of infestation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* in laboratory and field conditions for the period 2010-2011

Factors of variation	Degree of freedom	Mean square/laboratory	Influence of variation factors, %	Mean square/field	Influence of variation factors, %
Генотип/ Genotype	93	870,8***	98,5	455,6***	99,6
Година/Year	1	38,2*	0,1	12,9**	0,1
Остатъчно/Residual	93	13,3	-	1,6	-

***, **, * - доказано при $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$; n.s. – недоказано

***, **, * - demonstrated in $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$; n.s. – unproven

фактора генотип е 98,5% при лабораторни условия и изкуствен инфекциозен фон и 99,6% при полски условия и естествена инфекция. Различните агроклиматични условия през двете години на изпитването оказват доказано, но в значителна степен по-малко влияние (0,1%) върху степента на нападение от причинителя на фузариено увяхване.

Sharma (2011) съобщават за различна реакция на адаптирания генофонд към причинителя на фузариено увяхване *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. В потвърждение са получените резултати от изследването, които показват наличие на значителни доказани различия между изпитваните генотипи грах, което е и основен източник на вариране в степента на нападение от проучвания патоген.

ИЗВОДИ

В резултат на проучване на разнообразен по произход и статус материал от грах към причинителя на фузарииното увяхване - *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, се установи:

- Петдесет генотипа показаха висока устойчивост към патогена при лабораторни и полски условия. Те могат с успех да се използват в комбинативната селекция като донори за създаване на устойчиви сортове грах към причинителя на фузарииното увяхване - *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

LITERATURE

- Bilay, V. I.*, 1977. *Fuzarii*.
- Sidorova, S. F.*, 1983. *Fuzarioznoe uvvyadanie odnoletnih selysko-hozyaystvennyh kulytur*.
- Ali, S.M., B. Sharma, and M.J. Ambrose*, 1994. Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses, p. 540–543.
- Andrew, W., Yousiph, A., Liew, E., Duff, J.*, 2009. Management options for fusarium wilt of snow peas, *Primefacts*, 971, 1-3.
- Hagedorn, D.J.*, 1984. *Compendium of pea diseases*. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minn. 30–31.
- Hagedorn, D. J.*, 2010. *Diseases of Pea (Pisum sativum L.)*, The American Phytopathological Society, APSnet, 1.
- Haglund, W.A. and W.C. Anderson*, 1987. WSU 28 and WSU 31 pea inbred lines with resistance to specific races of fusarium wilt. *Hort. Science* 22(3): 513–514.
- Haglund, W.A.*, 1989. A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. *Plant Dis.* 73:457–458.
- Haglund, W. A. and Kraft, J. M.*, 2001. *Fusarium wilt*. Pages 14–16 in J. M. Kraft and F. L. Pflieger, eds. *Compendium of pea diseases and pests*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 67 p.
- Infantino, Al., Kharrat, M., Riccioni, L., Coyne, Cl., McPhee, K., Grunwald, N.*, 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes, *Euphytica* 147: 201–221.
- Kraft, J.M. and J.A. Tuck.*, 1986. Registration of pea germplasms. *Crop Sci.* 26:1262–1263.
- Sharma, P.*, 2011. Alarming occurrence of *Fusarium* wilt disease in pea (*Pisum sativum* L.) cultivations of Jabalpur district in Central India revealed by an array of pathogenicity tests, *Agriculture & Biology Journal of North America*; Vol. 2 Issue 6, 981 p.

Статията е приета на 30.05.2013 г.
Рецензент - проф. дсн Мариана Накова
E-mail: mariananakova@gmail.com