



СЕЛКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ, СОФИЯ



ДОБРУДЖАНСКИ ЗЕМЕДЕЛСКИ ИНСТИТУТ

гр. Генерал Тошево, 9520, тел. 058 603183;

dai_gt@dobrich.net; <http://www.dai-gt.org/>

МАРИЯ СВЕТОСЛАВОВА ПЕТРОВА

**ПРОУЧВАНЕ НА СИВИТЕ ПЕТНА ПО СЛЪНЧОГЛЕДА
(*RHOMOPSIS HELIANTHI* MUNT.-CVET ET ALL.) В
БЪЛГАРИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИЯ
ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН
ДОКТОР**

ГЕНЕРАЛ ТОШЕВО, 2024

**СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
ДОБРУДЖАНСКИ ЗЕМЕДЕЛСКИ ИНСТИТУТ-ГЕНЕРАЛ
ТОШЕВО**

МАРИЯ СВЕТОСЛАВОВА ПЕТРОВА

**ПРОУЧВАНЕ НА СИВИТЕ ПЕТНА ПО СЛЪНЧОГЛЕДА (*PHOMOPSIS
HELIANTHI* MUNT.-CVET. ET ALL.) В БЪЛГАРИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИЯ
ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН
ДОКТОР**

**Направление:
ш. 6.2. Растителна защита**

**Научна специалност/Докторска програма:
Растителна защита (Фитопатология)**

**Научен ръководител: Проф. д-р Валентина Енчева
Научен консултант: Проф. д-р Иван Киряков**

ГЕНЕРАЛ ТОШЕВО, 2024

Дисертационния труд е написан на 149 страници. Съдържа 26 таблици и 31 фигури и 3 приложения. Списъкът на използваната литература включва 147 източника, от които 18 на кирилица и 131 на латиница. Дисертационния труд е обсъден и насочен за защита на разширено заседание на секция „Селекция на слънчоглед” при Добруджански земеделски институт – Генерал Тошево (Протокол №395/16.10.2024г.) и от Научен съвет по Растителна защита към Селскостопанска академия (Протокол №59/08.11.2024г. и Заповед №РД05-256/14.11.2024г.). Материалите по защита на дисертацията са на разположение на интересувашите се в Добруджански земеделски институт – Генерал Тошево. Използваната номерация на таблиците и фигурите в автореферата не съответства на тази в дисертацията. Защитата на дисертационния труд ще се състои на от часа в Селскостопанска академия – гр. София, на заседание на специализирано научно жури, назначено със заповед на председателя на Селскостопанска академия № Заповед №РД05-256/14.11.2024г. в състав:

1. Проф. д-р Христо Георгиев Бозуков – ИТТИ, Марково
2. Проф. д-р Петър Николов Чавдаров – ИРГР, Садово
3. Проф. дн Росица Борисова Бъчварова – АБИ, София, пенсионер
4. Доц. д-р Нешка Георгиева Пиперкова-Кирякова – АУ, Пловдив
5. Доц. д-р Виолета Савова Кондакова – АБИ, София, пенсионер

1. УВОД

Културният слънчоглед е една от най-масово разпространените маслодайни култури в световен мащаб. В нашата страна, за 2022 година, по данни на ФАО са отгледани 9 млн. дка слънчоглед, а производството възлиза на 21.5 млн. тона. За последните пет стопански години (2018-2022) както площите, така и производството от културата в България значително нарастват. На фона на непрекъснатите промени в климата и неустойчивите метеорологични прояви (интензивни неравномерни валежи през лятото, непредвидени засушавания) подобно увеличаване се свързва и с повишаване на риска от появата и разпространението на разнообразни фитопатогени.

Повече от 30 различни патогена атакуват слънчогледа и водят до икономически загуби в производството. Сивите петна по слънчогледа са едно от икономически най-важните заболявания по слънчогледа, които могат да причинят сериозни щети върху производството, като драстично намалява количеството на добива. Заболяването се предизвиква от фитопатогенната гъба *Phomopsis/Diaporthe helianthi*, която за първи път е установена през 70-те години в Европа, а през 80-те на територията на Северна Америка. Увеличаването на производството на слънчоглед постепенно води до повсеместното разпространение на заболяването, като към момента то е характерно за всички райони, в които се отглежда културата – Европа, Азия, Австралия, Северна Америка.

Phomopsis helianthi е строго специализиран патоген по слънчогледа и е трудно да бъде установен извън слънчогледови посеви. Въпреки това, има съобщения, че може да се съхранява в плевелни и диви видове от сем. Asteraceae. Същевременно, развитието на заболяването се обуславя от високи температури и значително количество валежи, но при неблагоприятни условия може да се запазва дълго време в почвата и растителните остатъци. Тези особености се свързват с неговия висок адаптивен потенциал към неблагоприятните условия на средата. Независимо от това, на съвременния етап от развитие на слънчогледовото производство, генетичното и агресивно разнообразие в популациите на патогена е слабо изследвано, а търсенето на източници на устойчивост е сравнително трудно, поради количествения характер на неговата проява. Това налага необходимостта от задълбочено изследване на реакцията на патогена, а също така предполага и търсенето на нови източници на устойчивост с цел повишаване на продуктивността на културния слънчоглед.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Основната цел на изследването е да се проучи причинителя на сивите петна по слънчогледа *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. при полски и лабораторни условия, като се установят основните характеристики на изолати събрани на територията на страната и реакцията им върху различни генотипове слънчоглед. За реализиране на така поставената цел са формулирани следните задачи:

1. Проучване на разпространението на патогена на територията на страната;
2. Установяване на културални и морфологични характеристики на патогена при колекция от изолати с различен географски произход;
3. Проучване на генетичното разнообразие при патогена – мицелна съвместимост;
4. Установяване на влиянието на фенофазата на гостоприемника върху агресивността на патогена;
5. Проучване на агресивното разнообразие на колекция от изолати с различен географски произход;
6. Проучване на унаследяването на реакцията към патогена при хибриди слънчоглед с различна устойчивост;

3. МАТЕРИАЛ И МЕТОД

3.1. Събиране на растителни проби и изолиране в чиста култура.

За изолиране на образци от *Ph. helianthi* са събирани растителни проби от различни географски области на страната. За целта през 2022 и 2023 год. са обследвани производствени посеви от слънчоглед във фенофаза Развитие на семената (ВВСН 79; R8), което съвпада с периода след средата на месец юли. Пробите са събирани въз основа на фенотипната проява на патогена. Заразените части са изрязвани като сегменти от стъблото на гостоприемника, с дължина 30-40 cm. Пробите са обозначавани по произход и дата на събиране и са съхранявани в натронови кесии до тяхното обработване, при 4°C в хладилник.

3.1.1. Изолиране в чиста култура и съхраняване на изолатите.

Растителните части са промити на течаша 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 спиртна лампа. От периферията на петната е отрязана част с размер 1-2 mm и поставена хранителната среда Картофено захарозен агар (КЗА), разлята в Петриеви блюда с диаметър 90 mm, по пет растителни части в едно блюдо. Блюдата са инкубирани в термостат при температура 22-24°C, на тъмно. Развитието на колонииите е наблюдавано ежедневно. При достигане размер на колонииите 15 mm, всяка колония е прехвърлена върху нова хранителна среда, а изолатите са инкубирани при същите условия. Получените чисти изолати са поддържани върху средата КЗА при 4-5°C, като подновяването им е осъществявано на 30 дни.

3.2. Културална характеристика.

3.2.1. Използвани хранителни среди.

В изследванията са използвани две хранителни среди – готова PDA/ КДА (Potate Dextros Agar/ Картофено-декстрозен агар, HiMedia) и PSA/ КЗА (200 g картофи, 20g захароза, 15 g агар).

3.2.2. Проучване културалните особености на изолатите.

В изследването са включени 50 изолата с различен географски произход. Преди провеждане на тестовете, изолатите са култивирани върху КЗА за 7 дни. От периферията на колонииите е отрязан диск и е поставен върху нова КЗА и КДА, разляти в Петриеви блюда с размер 90 mm. За всеки изолат са използвани по три блюда от съответната хранителна среда. Инкубирането на блюдата е осъществено в термостат при 23±1° C на тъмно. Проследени са следните показатели:

1) Диаметрален растеж на изолатите в mm; Измерването е осъществено от 1-ви ден на залагането до 7-ми от развитието на изолата. Тъй като някои изолати достигат максимален растеж (запълване на блюдото) на 4-тия ден от развитието си, за определяне на стойностите на диаметрален растеж и скорост на развитие се използват резултатите от първите четири дни. Стойностите на диаметралния растеж са определени като средна величина от трите повторения, на 4-тия ден от измерванията.

2) Скорост на развитие в mm/h, изчислена по формула:

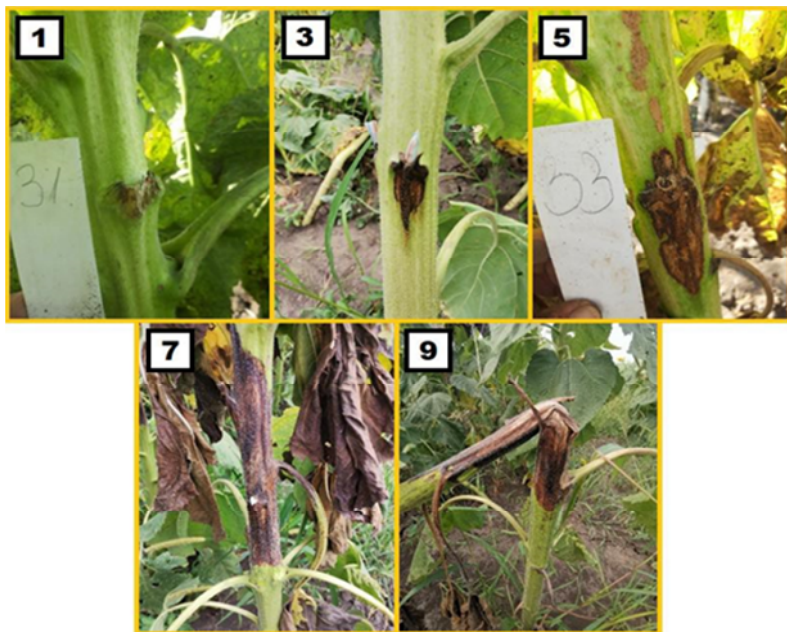
$$Vd = \frac{k1.D1+k2.(D2-D1)+k3.(D3-D2)+k4.(D4-D3)}{24 \times 24}$$

където k_1, k_2, k_3, k_4 – коефициенти на тежест, съответно равни на 4, 3, 2 и 1. D_1, D_2, D_3, D_4 – диаметрален растеж на изолата, съответно на 1вия, 2рия, 3тия и 4тия ден от развитието му.

3) Дни до поява на първите пикнидии – измерванията са проведени от първи до десети ден.

3.3. Установяване влиянието на фазата на развитие при слънчогледа върху реакцията към *Phomopsis helianthi*.

Изследването е проведено при полски условия, през стопанските 2022 и 2023 година, на територията на Добруджански Земеделски Институт - Генерал Тошево. Изпитани е реакцията на сорт Фаворит и хибрид Деведа към три изолата от *Phomopsis helianthi* (*Ph21-614, Ph21-6212, Ph21-423*). Проучваните генотипи за засети в редове с дължина 2,40 m, междуредово 0.7 m и вътрередово разстояния 0.30 m. Заразяването е осъществено в три различни фенофази от онтогенетичното развитие на гостоприемника ВВСН-39, ВВСН-51/53 и ВВСН-61.



Фигура 1. 9-бална скала за отчитане реакцията към *Phomopsis helianthi*

Инокулирането е осъществено по STRAW метода (Encheva and Kiryakov, 2002). За целта, листните дръжки на единични листа от средните етажи на растението, в съответната фенофаза, са отрязани на разстояние 3 cm от листния възел. 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 КЗА. С всеки изолат са заразени по пет растения от съответния генотип. Реакцията на образците е отчетена 14 дни след инокулиране по следната 9 - 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 (*Фиг. 1*). 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.

3.3. Определяне на агресивност на изолати от *P. helinathi*.

Проучването включва 30 изолата, събирани от различни производствени райони в Северна и Южна България. Агресивността на изолатите е установена чрез заразяване на слънчогледов хибрид Деведа и сорт Фаворит при полски условия, на територията на ДЗИ – Генерал Тошево. Генотиповете са засяти в редове с дължина 2,40 m, междуредово 0.7 m и вътрередово разстояния 0.30 m. Заразяването е осъществено във фенофаза ВВСН 51, по STRAW метода (Encheva and Kiryakov, 2002), като с всеки изолат са заразени по шест растения от съответния генотип. Реакцията на образците е отчетена 14 дни след инокулиране по 9 - балната скала показана на *Фигура 1*. На основа балната оценка е изчислена площта под кривата на развитие (AUDPC) при всеки генотип (Simko and Piepho, 2012), както и средната площ под кривата на развитие (AAUDPC) за двата генотипа.

3.4. Мицелно съвместими групи (MCGs).

В изследването са включени 31 изолата на *P. helianthi*, събрани от четири производствени района на територията на страната през 2021г. (*Табл.1*).

Съвместимостта на получените изолати е установена по метода описан от Kiryakov and Zhecheva (2019). В изследването са използвани

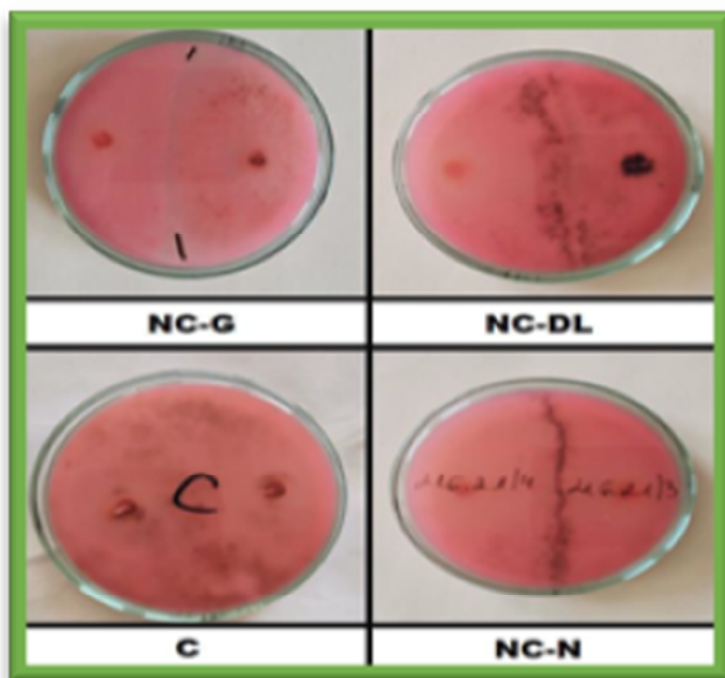
четири вида хранителна среда: КДА, КДА+ 80µl/L с червен оцветител (Christmas red – Слай Комерс ООД) за хранително-вкусовата промишленост, КЗА и КЗА + 80 µl/L. Всеки един от изолатите е комбиниран с останалите, чрез поставяне на агаров диск с размер 5 mm, взет от периферията на 7-дневна култура, върху чиста КДА и КЗА и съответно КДА и КЗА с използван оцветител, на разстояние 3 cm между изолатите в Петриевото блюдо. Успоредно с това, всеки един от изолатите, е комбиниран сам със себе си, за да се установи наличието на самосъвместимост. Блюдата са поставени в термостат при температура 23±1° C. 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 (Фиг. 2).

Таблица 1. Номенклатура на използваните изолати по произходи

Код на локацията	Година	Произход	Бр. изолати
21-61..	2021	ДЗИ I	4
21-62..	2021	ДЗИ II	8
21-623..	2021	ДЗИ III	2
21-41..	2021	Русе I	5
21-42..	2021	Русе II	1
21-45..	2021	Русе III	2
21-23..	2021	Ямбол I	1
21-24..	2021	Ямбол I	1
21-21..	2021	Ямбол II	2
21-72..	2021	Карнобат	5
Общо	-	-	31

Съвместимостта на получените изолати е установена по метода описан от Kiryakov and Zhecheva (2019). В изследването са използвани четири вида хранителна среда: КДА, КДА+ 80µl/L с червен оцветител (Christmas red – Слай Комерс ООД) за хранително-вкусовата промишленост, КЗА и КЗА + 80 µl/L. Всеки един от изолатите е комбиниран с останалите, чрез поставяне на агаров диск с размер 5 mm, взет от периферията на 7-дневна култура, върху чиста КДА и КЗА и съответно КДА и КЗА с използван

оцветител, на разстояние 3 cm между изолатите в Петриевото блюдо. Успоредно с това, всеки един от изолатите, е комбиниран сам със себе си, за да се установи наличието на самосъвместимост. Блюдата са поставени в термостат при температура $23\pm 1^{\circ}$ C. 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 (Фиг. 2).



Фигура 2. Типове реакция при мицелно съвместими групи

1.3. Устойчивост на селекционни линии и хибриди слънчоглед към *Ph. helianthi*.

За установяване наследяването на устойчивостта към *Ph. helianthi* са изследвани 12 хибриди слънчоглед и техните родителски линии.

Изследването е проведено през стопанските 2022 и 2023 год, при полски условия. Образците са засети в редове с дължина 2,40 m, междуредово 0.7 m и вътрередово разстояния 0.30 m. За заразяване са използвани два изолата – *Ph21-614* и *Ph21-212*. Инокулирането е осъществено във фенофаза BVCH 51 по STRAW метода (Encheva and Kiryakov, 2002), като с всеки изолат са заразени по шест растения от съответния генотип. Реакцията на образците е отчетена 14 дни след инокулиране по 9 – балната скала показана (Фиг. 1). На основа балната оценка е изчислена площта под кривата на развитие (AUDPC) при всеки генотип (Simko and Piepho, 2012), както и средната площ под кривата на развитие (AAUDPC) за двата генотипа. За всеки генотип, изолат и стопанска година са установени хетерозисът спрямо по-добрият родител (Best Parent Heterosis – BPH), хетерозисът спрямо средното родителско ниво (Mid Parent Heterosis – MPH) и степента на доминиране (d/a), съгласно методиката описана от Генчев и др. (1975).

1.4. Статистическа обработка на данните.

При обработка на експерименталните данни са проведени еднофакторен и многофакторен дисперсионен анализ, корелационен анализ и клъстерен анализ. За обобщаване, групиране и първоначална обработка на данните, е използван програмния продукт MS Office Excel LTSC Professional Plus 2021. Анализът на варианса, изчисляването на LSD и Duncan тестът, са изчислени чрез IBM SPSS Statistics v.19, а AMMI-анализът чрез софтуерния продукт AMMISoft v 1.0.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. Проучване на разпространението на патогена на територията на страната.

От събраните през периода 2020-2022 год. растителни проби от 10 Области на Северна и Южна България са изолирани 190 гъбни изолата (Табл. 2). Морфологичните и културални особености на изолатите определят 96 от тях като *Ph. helianthi*.

Таблица 2. Събрани и изолирани растителни проби от района на Северна и Южна България през периода 2020-2022г.

Област	Брой проби	Брой изолати	Получени изолати				
			<i>Ph. helianthi</i>	<i>Ph. macdonaldii</i>	<i>Alternaria spp.</i>	<i>M. phaseolina</i>	Други
Силистра	9	18	6	10	3	0	0
Ямбол	12	24	16	6	2	0	0
Шумен	13	26	14	4	4	2	0
Русе	14	28	18	10	0	0	0
Ст. Загора	1	2	2	0	0	0	0
Добрич	25	50	36	10	2	0	2
Пловдив	4	8	0	4	2	0	2
Бургас	8	16	4	4	4	0	2
Ловеч	7	14	0	8	4	0	2
Сливен	2	4	0	4	0	0	0
Общо	95	190	96	60	21	2	8

4.2. Установяване на културални и морфологични характеристики на патогена при колекция от изолати с различен географски произход.

Културалните особености на проучваните изолати са установени при успоредно използване на хранителни среди - КЗА и КДА. Проследени са показатели диаметрален растеж, скорост на нарастване на колонииите и дни до поява на пикнидии.

4.2.1. Диаметрален растеж и скорост на нарастване.

Диаметрален растеж.

Диаметралният растеж върху средата КДА, при проучваните 50 изолата, варира от 32,8 до 90 mm. Стойностите за показателя върху средата КЗА варират от 40,3 до 90 mm. Средно за двете среди, размерът на колонииите е в границите от 43 до 98,3 mm, като са установени достоверни разлики, както между изолатите, така и между стойностите на показателя за съответния изолат при двете среди. В *таблица 3* е представен диаметралният растеж на проучваните изолати от съответните произходи. С най-нисък,

среден диаметрален растеж върху КДА са изолатите от Русе-2021, а с най-висок – Силистра-2020, като разликите са достоверни. Средният диаметрален растеж при КЗА е най-нисък при Русе-2021, а най-висок при Силистра-2020. Проведеният корелационен анализ показва умерена зависимост между двете хранителни среди спрямо тестираните изолата ($r=0.425^{**}$) и голяма зависимост между хранителните среди спрямо отделните произходи ($r=0.837^{**}$).

Таблица 3. Диаметрален растеж на 50 изолати от *Ph. helianthi* върху две хранителни среди, по произход

Произход	Бр. изолати	КДА		КЗА		Средно	
		D, mm	VC %	D, mm	VC %	D, mm	VC %
Силистра 2020	4	72,4	6,1	83,3	9,3	77,8	10,7
Шумен 2020	6	72,1	4,1	72,7	13,6	72,4	9,9
Раднево 2020	4	67,1	10,5	73,5	11,2	70,3	11,7
ДЗИ 2020	4	66,1	11	66,8	14,9	66,4	12,9
Ямбол 2021	2	55,8	25,5	66,9	37,9	61,3	33,3
Русе 2021	4	55,3	25,4	53,9	23,1	54,6	23,8
ДЗИ 2021	14	68,8	18,1	71	16,3	69,9	17,1
Карнобат 2021	4	72,1	12,9	76,7	11,3	74,4	12,2
ДЗИ 2022	8	69,2	12,3	74	13,5	71,6	13,3
Средно	50	67,8	15,9	71,4	17,8	69,6	17,1

LSD0.05: 0.299 за КДА; 1,494 за КЗА; 2.113 за средни стойност

Скорост на развитие.

Скоростта на нарастване на колонииите, след четири дни инкубиране върху хранителната среда КДА варира от 0,148 до 0,98 mm/h, а върху КЗА от 0,258 до 0,924 mm/h, като разликите спрямо отделните изолати и хранителни среди са достоверни. Средната скорост на нарастване върху двете хранителни среди варира от 0,427 до 0,951 mm/h.

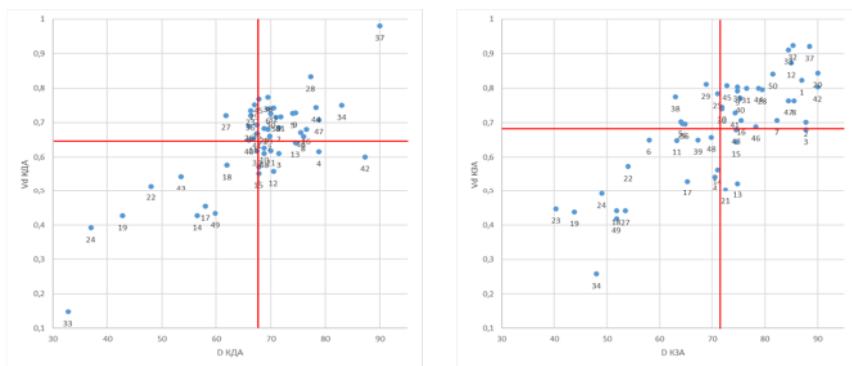
Скоростта на нарастване на колонииите върху двете среди, по произходи е представена в *таблица 4*. Скоростта на нарастване върху КДА варира от 0,555 (Ямбол-2021) до 0,709 (ДЗИ-2021). Врху КЗА стойностите на показателя варират в границите от 0.504 (Русе-2021) до 0,740 (ДЗИ-2021). Установена е голяма корелационна зависимост между скоростта и диаметралният растеж на изолатите при КДА ($r=0,782^{**}$) и КЗА ($r=0,785^{**}$).

Таблица 4. Скорост на нарастване на 50 изолати от *Ph. helianthi* върху две хранителни среди, по произход

Произход	Брой изолати	КДА		КЗА		Средно	
		Vd, mm/h	VC %	Vd, mm/h	VC %	Vd, mm/h	VC %
Силистра 2020	4	0,621	7,2	0,687	15,2	0,654	13
Шумен 2020	6	0,690	6,5	0,727	6,5	0,709	6,9
Раднево 2020	4	0,571	16,7	0,652	21,8	0,611	20,5
ДЗИ 2020	4	0,566	14,8	0,580	18,5	0,573	16,5
Ямбол 2021	2	0,555	25,2	0,641	34,8	0,598	30,6
Русе 2021	4	0,565	23,5	0,504	9,9	0,535	19,2
ДЗИ 2021	14	0,709	24,6	0,740	24,3	0,724	24,4
Карнобат 2021	4	0,634	4,9	0,738	8,2	0,686	10,3
ДЗИ 2022	8	0,649	16,8	0,707	18,4	0,678	18
Средно	50	0,644	20,3	0,686	21,7	0,665	21,2

LSD_{0,05}: 0,003 за КДА; 0,014 за КЗА; 0,020 за средни стойност

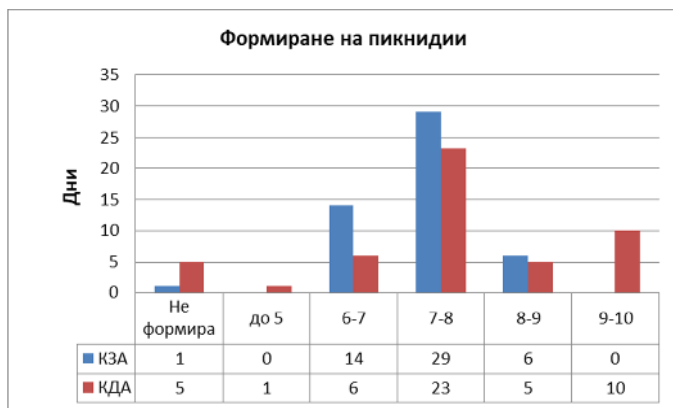
На *фигура 3* е представено разпределението на изолатите в сависимост от средните стойности за диаметралния растеж и скоростта на нарастване върху средите КДА и КЗА.



Фигура 3. Комбиниране на диаметрален растеж и скорост на развитие при КДА (ляво) и КЗА (дясно)

4.2.2. Поява на пикнидии при двата типа хранителна среда.

Един от проучваните изолати не формира пикнидии върху хранителната среда КЗА (Фиг. 4). При 14 изолата, формирането на пикнидии стартира след 6 дни инкубация. Формирането на най-голям брой пикнидии при тази среда се наблюдава през периода 7-8 ден. Пет изолата не формират пикнидии върху средата КДА, за целия период на инкубиране. Стартиране на пикнидийно формиране се наблюдава на петия ден, като на-голям брой изолати, формиращи пикнидии се отчета на 7-8 ден. Тези резултати показват, че хранителна среда КЗА стимулира по-висок процент на пикнидийно формиране, успоредно с по-висока скорост на развитие на колонииите.

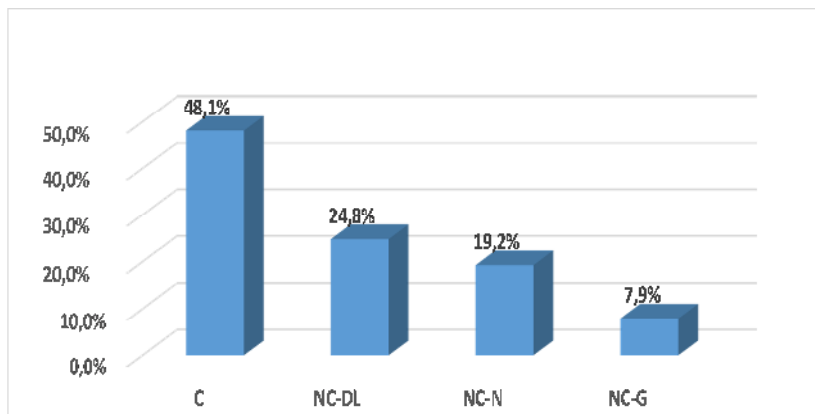


Фигура 4. Формиране на пикнидии върху хранителните среди КЗА и КДА (дни от начало на инкубиране)

4.5. Проучване на генетичното разнообразие при патогена – мицелна съвместимост.

В резултат на проведените комплементарни тестове са осъществени 416 комбинации. Наблюдавани са четирите типа на рекация описани в методологията. При 48,1 % от комбинациите се наблюдава сливане на двете колонии без формирана бразда (С), която е показател за съвместимост между изолатите (Фиг. 5). При фенотипна изява NC-DL се наблюдават две

тъмно оцветени, раздаличени една от друга линии, а този фенотип е установен при 24,8% от изолатите. Реакция от типа NC-N, при която фенотипът е тясна, черно оцветена бразда е 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. Последните три фенотипа определят проучваните изолати като несъвместими.



Фигура 5. Фенотипна изява на взаимодействието между 30 изолата при тест за мицелна съвместимост (%)

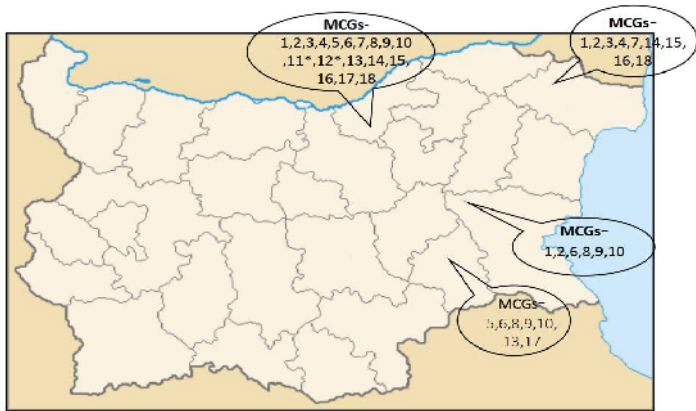
Комплементарните тестове за самосъвместимост показват, че два от изолатите (21-6221 и 21-6222) са несамосъвместими, поради което те са изключени от по-нататъшни тестове и са отнесени към самостоятелни MCG, съответно MCG19 и MCG20 (Табл. 5). На основа фенотипната реакция между останалите изолати се сформират допълнителни 18 MCGs.

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

Таблица 5. Мицелни съвместими групи (MCGs) при анализ на 30 изолата от *P. helianthi*

Група	Изолат	Брой изолати
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	14
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;	12
MCG3	21-414; 21-451; 21-452; 21-611; 21-612; 21-613; 21-614;	7
MCG4	21-412; 21-451; 21-452; 21-6231; 21-6232;	5
MCG5	21-451 21-452 21-241; 21-231; 21-211; 21-212	6
MCG6	21-241; 21-411; 21-423; 21-723;;	4
MCG7	21-411; 21-6212; 21-6214;	3
MCG8	21-411; 21-241; 21-721;	3
MCG9	21-241; 21-411; 21-722;	3
MCG10	21-241; 21-41; 21-724;	3
MCG11	21-411; 21-451; 21-452	3
MCG12	21-212; 21-414; 21-423;	3
MCG13	21-211; 21-423; 21-452;	3
MCG14	21-411; 21-613;	2
MCG15	21-423; 21-612;	2
MCG16	21-414; 21-6232;	2
MCG17	21-241; 21-413;	2
MCG18	21-411; 21-6224;	2
MCG19	21-6221	1
MCG20	21-6222	1

С най-голям генетично разнообразие се характеризира района на Русе, в който осемте проучвани изолата са отнесени към 18 от общо 20 сформирани MCGs (Фиг. 6). 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.



Фигура 6. Разпределение на MCG по райони на произход

Таблица 6. Разпределяне на изолатите по райони на произход

MCGs	Произходи				Общ бр. изолати	MCGs	Произходи				Общ бр. изолати
	ДЗИ	Ямбол	Русе	Карнобат			ДЗИ	Ямбол	Русе	Карнобат	
MCBG1	5	0	6	4	15	MCBG13	0	1	2	0	3
MCBG2	3	0	6	3	12	MCBG14	0	1	2	0	3
MCBG3	4	0	3	0	7	MCBG15	1	0	1	0	2
MCBG4	2	0	3	0	5	MCBG16	1	0	1	0	2
MCBG5	0	4	1	0	5	MCBG17	1	0	1	0	2
MCBG6	0	4	1	0	5	MCBG18	0	1	1	0	2
MCBG7	0	1	2	1	4	MCBG19	1	0	1	0	2
MCBG8	2	0	1	0	3	MCBG20	1	0	0	0	1
MCBG9	0	1	1	1	3	MCBG21	1	0	0	0	1
MCBG10	0	1	1	1	3	Shanon's H index	2,743	2	5,434	1,6	4,958
MCBG11	0	1	1	1	3	Simpson Index	0,868	1	0,916	0,76	0,92
MCBG12	0	0	3	0	3						

Изследвайки генетичното разнообразие на 30 изолата от *P. helianthi* въз основа на групирането им в MCGs по произходи, е изчислен индексът на Shanon и индексът на Simpson (Табл. 6). Относително високо разнообразие е отчетено при изолатите с произход Русе (H = 5,434, S = 0,916) и умерено при изолати с произход ДЗИ (H = 2,743, S = 0,868) и произход Ямбол (H=2,426, S=0,827). Най-ниско разнообразие е установено при изолати с произход Карнобат (H = 1,602, S = 0,760). Ниските стойности при изолатите с произход Карнобат и Ямбол, вероятно се дължи на малкия брой изолати, които влизат в тях.

4.6. Установяване на влиянието на фенофазата на гостоприемника върху агресивността на изолатите.

Анализът на варианса за влиянието на фенофазата на заразяване върху реакцията на хибрид Деведа и сорт Фаворит е представен на *таблица 7*. Анализът показва, че най-съществено влияние оказват факторите година (29,3% от общото вариране) и фенофаза (4,95 % от общото вариране).

Таблица 7. Анализ на варианса върху реакцията на два генотипа към три изолата на *Ph. helianthi* в зависимост от фенофазата на инокулиране

Фактор	Сума на квадратите	df	Варианс	F	Sig.
Изолат (I)	559,144	2	279,572	1,656	0,192
Фенофаза (P)	10110,878	2	5055,439	29,939	0,000
Генотип (G)	6414,168	1	6414,168	37,985	0,000
Година (Y)	59750,668	1	59750,668	353,847	0,000
I * P	3073,389	4	768,347	4,550	0,001
I * G	526,478	2	263,239	1,559	0,211
I * Y	108,344	2	54,172	0,321	0,726
P * G	1333,344	2	666,672	3,948	0,020
P * Y	4335,411	2	2167,706	12,837	0,000
G * Y	1314,901	1	1314,901	7,787	0,005
I * P * G	404,522	4	101,131	0,599	0,664
I * P * Y	206,889	4	51,722	0,306	0,874
I * G * Y	43,011	2	21,506	0,127	0,880
P * G * Y	340,278	2	170,139	1,008	0,366
I * P * G * Y	76,222	4	19,056	0,113	0,978
Error	115500,350	684	168,860		
Total	204097,999	719			

Реакцията на проучваните генотипи към три изолата на патогена, инокулирани в различни фенофази от тяхното развитие са представени на *таблица 8*.

Таблица 8. Влияние на фенофазата върху агресивността на изолати на *Ph. helianthi* през стопанската 2022 - 2023 год.

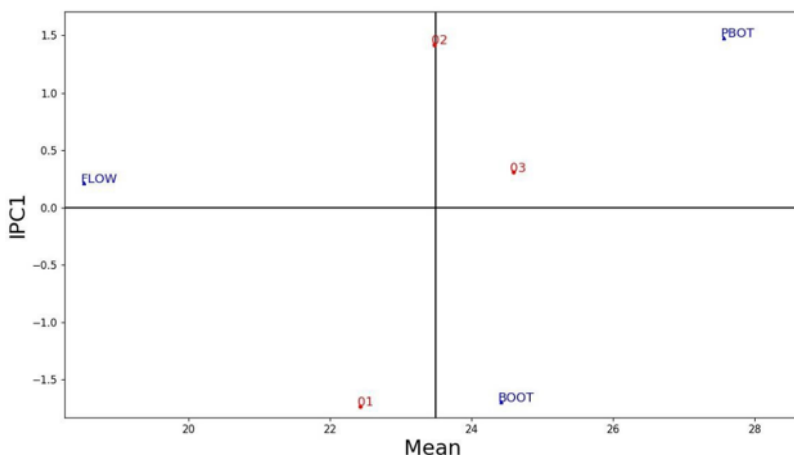
Изолат	2022											
	Фаворит				Деведа				Средно			
	Ф1*	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.
Ph21-614	29,8	28,7	18,2	25,6	42,0	44,1	25,2	37,1	35,9	36,4	21,7	31,3
Ph21- 6212	35,7	26,6	22,4	28,2	50,1	35,0	23,8	36,3	42,9	30,8	23,1	32,3
Ph21-423	37,1	27,0	29,1	31,0	43,8	39,2	29,4	37,5	40,4	33,1	29,2	34,2
Средно	34,2	27,4	23,2	28,3	45,3	39,4	26,1	36,9	39,7	33,4	24,7	32,6
Изолат	2023											
	Фаворит				Деведа				Средно			
	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.
Ph21-614	10,5	13,3	9,1	11,0	15,4	20,3	12,6	16,1	13,0	16,8	10,9	13,5
Ph21- 6212	16,1	13,3	11,2	13,5	20,3	15,4	11,9	15,9	18,2	14,4	11,6	14,7
Ph21-423	14,0	12,6	14,7	13,8	16,1	17,5	14,7	16,1	15,1	15,1	14,7	14,9
Средно	13,5	13,1	11,7	12,8	17,3	17,7	13,1	16,0	15,4	15,4	12,4	14,4
Изолат	Средно за 2022-2023											
	Фаворит				Деведа				Средно			
	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.	Ф1	Ф2	Ф3	Ср.
Ph21-614	20,1	21,0	13,7	18,3	28,7	32,2	18,9	26,6	24,4	26,6	16,3	22,4
Ph21- 6212	25,9	20,0	16,8	20,9	35,2	25,2	17,9	26,1	30,5	22,6	17,3	23,5
Ph21-423	25,6	19,8	21,9	22,4	29,9	28,4	22,1	26,8	27,7	24,1	22,0	24,6
Средно	23,9	20,2	17,4	20,5	31,3	28,6	19,6	26,5	27,6	24,4	18,5	23,5
<i>LSD I</i>	2,33	<i>LSD Y</i>	1,90		<i>LSD I*Y</i>	3,29		<i>LSD G*Y</i>	2,68		<i>LSD I*G*Y</i>	4,65
<i>LSD P</i>	2,33	<i>LSD I*P</i>	4,03		<i>LSD P*G</i>	3,29		<i>LSD I*P*G</i>	5,70		<i>LSD P*G*Y</i>	4,65
<i>LSD G</i>	1,90	<i>LSD I*G</i>	3,29		<i>LSD P*Y</i>	3,29		<i>LSD I*P*Y</i>	5,70		<i>LSD I*P*G*Y</i>	8,05

*Ф1 -ВВСН-39 , Ф2-ВВСН-51/53 и Ф3 -ВВСН-61

Представените в *таблица 8* резултати показват достоверно вариране в реакцията на хибрид Деведа и сорт Фаворит, както по отношение на изолатите, така и по отношение фенофазата на инокулиране. Наблюдават се и различия в реакцията на генотипите свързани с годината. През 2022 год. средните стойностите на AUDPC при сорт Фаворит са най-високи във Фенофаза 1 (ВВСН-39), като разликите спрямо останалите фенофази са достоверни ($LSD_{0,05}=4,65$). През втората година не се наблюдават разлики в реакцията спрямо трите изолата между отделните фенофази. Средните стойности на AUDPC за хибрид Деведа през 2022 год. са най-високи във

Фенофаза 1, като разликите спрямо останалите фенофази са достоверни. През 2023 год. не се наблюдават достоверни разлики между първите две фенофази, но стойностите на показателя между Фенофаза 2 (Ф2-ВВСН-51/53) и Фенофаза 3 са достоверни.

Резултатите за отделните фенофази по години и генотипове като фактор показват, че момента на заразяване има определящо значение не само за агресивността на конкретни изолати, но и за формирането на тенденциите между тях. Данните от АММІ дисперсионния анализ сочат, че се наблюдава наличие на достоверно взаимодействие между фенофазите и използваните изолати. Същевременно резултатите за отделните фенофази не са идентични, а варират по различен начин, в зависимост от използвания изолат. Това показва, че всяка една от отделните фенофази се характеризира с различна предвидимост. Това е показано чрез комбинирането на стойностите за AAUDPC за всяка конкретна фенофаза и IPC1 стойностите за същата фенофаза. Получените резултати показват, че изолатите проявяват своята максимална агресивност при заразяване във фаза ВВСН-39 „преди бутонизация“ (Фиг. 7).



Фигура 7. АММІ биплот по фенофази за изследваните хибриди и години (РВОТ – преди бутонизация, ВООТ – бутонизация, FLOW – цъфтеж; 01 – изолат Ph21-614, 02 – изолат Ph21-6212, 03 – изолат Ph21-423)

4.7. Проучване агресивното разнообразие в колекция от изолати с различен географски произход.

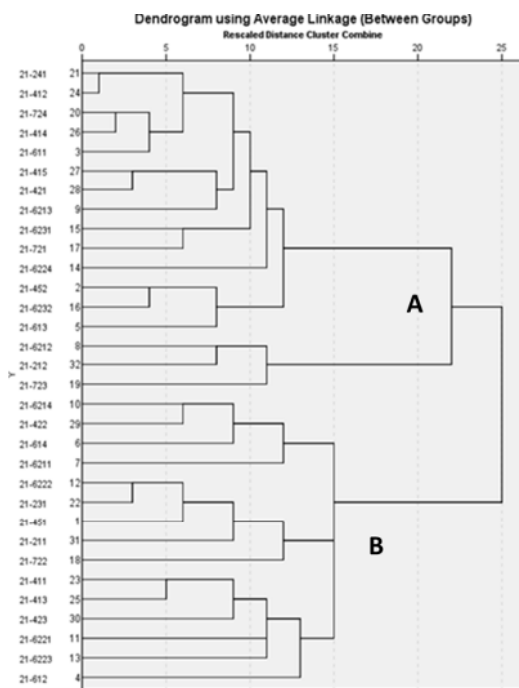
Проведеният дисперсионен анализ показва доказано влияние на проучваните фактори, както самостоятелно, така и в комбинация. Данните за агресивността на 32 изолата са представени в таблица 9.

Таблица 9. Агресивност на 32 изолата на *Ph. helianthi* изразена чрез показателя AAUDCP

№	Изолат	Фаворит			Деведа			Средно		
		2022	2023	Средно	2022	2023	Средно	2022	2023	Средно
1	21-451	28,0	14,0	21,0	39,7	18,7	29,2	33,8	16,3	25,1
2	21-452	7,0	18,7	12,8	7,0	11,7	9,3	7,0	15,2	11,1
3	21-611	7,0	7,0	7,0	14,0	9,3	11,7	10,5	8,2	9,3
4	21-612	32,7	16,3	24,5	63,0	18,7	40,8	47,8	17,5	32,7
5	21-613	7,0	21,0	14,0	18,7	16,3	17,5	12,8	18,7	15,8
6	21-614	46,7	7,0	26,8	49,0	21,0	35,0	47,8	14,0	30,9
7	21-6211	51,3	23,3	37,3	42,0	11,7	26,8	46,7	17,5	32,1
8	21-6212	39,7	30,3	35,0	7,0	16,3	11,7	23,3	23,3	23,3
9	21-6213	21,0	18,7	19,8	16,3	16,3	16,3	18,7	17,5	18,1
10	21-6214	39,7	16,3	28,0	32,7	18,7	25,7	36,2	17,5	26,8
11	21-6221	21,0	21,0	21,0	46,7	21,0	33,8	33,8	21,0	27,4
12	21-6222	25,7	7,0	16,3	32,7	16,3	24,5	29,2	11,7	20,4
13	21-6223	28,0	16,3	22,2	39,7	7,0	23,3	33,8	11,7	22,8
14	21-6224	7,0	7,0	7,0	23,3	7,0	15,2	15,2	7,0	11,1
15	21-6231	25,7	7,0	16,3	11,7	7,0	9,3	18,7	7,0	12,8
16	21-6232	7,0	25,7	16,3	7,0	7,0	7,0	7,0	16,3	11,7
17	21-721	18,7	7,0	12,8	21,0	9,3	15,2	19,8	8,2	14,0
18	21-722	25,7	21,0	23,3	32,7	32,7	32,7	29,2	26,8	28,0
19	21-723	44,3	16,3	30,3	11,7	11,7	11,7	28,0	14,0	21,0
20	21-724	11,7	9,3	10,5	11,7	11,7	11,7	11,7	10,5	11,1
21	21-241	9,3	7,0	8,2	11,7	21,0	16,3	10,5	14,0	12,3
22	21-231	25,7	11,7	18,7	28,0	21,0	24,5	26,8	16,3	21,6
23	21-411	32,7	7,0	19,8	49,0	11,7	30,3	40,8	9,3	25,1
24	21-412	7,0	9,3	8,2	9,3	21,0	15,2	8,2	15,2	11,7
25	21-413	30,3	7,0	18,7	51,3	21,0	36,2	40,8	14,0	27,4
26	21-414	14,0	9,3	11,7	7,0	14,0	10,5	10,5	11,7	11,1
27	21-415	21,0	9,3	15,2	7,0	16,3	11,7	14,0	12,8	13,4
28	21-421	23,3	7,0	15,2	9,3	23,3	16,3	16,3	15,2	15,8
29	21-422	39,7	7,0	23,3	39,7	18,7	29,2	39,7	12,8	26,3
30	21-423	23,3	7,0	15,2	44,3	28,0	36,2	33,8	17,5	25,7
31	21-211	32,7	7,0	19,8	21,0	21,0	21,0	26,8	14,0	20,4
32	21-212	35,0	25,7	30,3	11,7	28,0	19,8	23,3	26,8	25,1
Средно		24,6	13,3	19,0	25,5	16,7	21,1	25,1	15,0	20,0

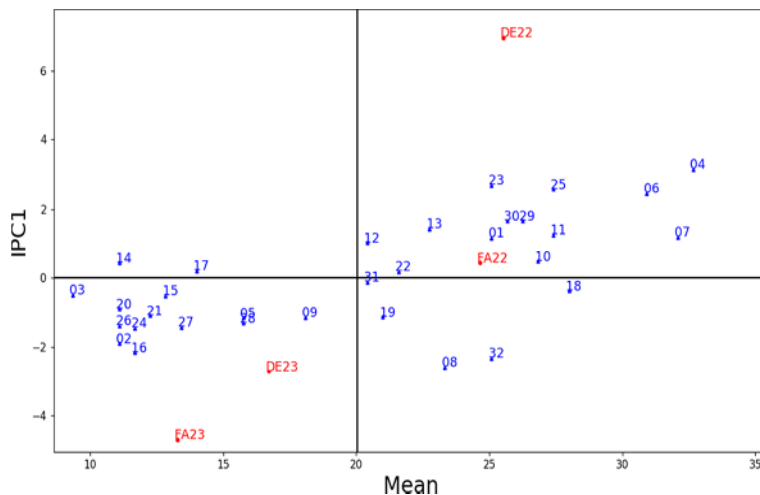
LSD_{0,05}: Изолат (I)- 5,646; Генотип (G)-1,412; Година (Y)-1,412; I x G-7,985; I x G-7,985; G x Y-1,996; IxGxY - 11,292

Средно за двете години на изследване стойностите за AUDPC при Фаворит варират от 7,0 (Ph21-6224) до 37,3 (Ph21-6211). AUDPC при Деведа, за същия период са в границите 7,0 (Ph 21-6232) – 40,8 (Ph 21-612). С най-ниска агресивност спрямо двата генотипа се характеризира изолат Ph 21-611 (AUDPC = 9.3). Не са установени достоверни разлики между този и 14 от включените в теста изолати ($LSD_{0,05}=11.292$). Най-висока агресивност, средно за двете години и проучваните генотипи слънчоглед се характеризира изолат Ph 21-6211 (AUDPC = 32,1), като не се наблюдават разлики спрямо 15 изолатите.



Фигура 8. Дендрограма от клъстерен анализ по показателя AAUDPC за 30 изолата върху два генотипа и две реколтни години

На основа стойностите за AUDPC проучваните изолати се групират в два основни клъстера. Към клъстер А са отнесени изолати с ниска, а към клъстер В с висока агресивност към двата генотипа на гостоприемника.



Фигура 9. АММІ1-биplot по показателя AUDPC за изследваните изолати. *F* – Фаворит, *D* – Деведа

Проведеният АММІ1 анализ групира изолатите спрямо тяхната агресивност към двата генотипа в съответната година на проучване (Фиг. 9). Групирането на изолатите по двата метода показва липсата на връзка между агресивността на изолатите и техният географски произход. Така например изолати Rh21-612 и Rh21-611 са изолирани от една и съща локация (ДЗИ) през 2021 год., но се групират в различни групи по агресивност. Проведеният анализ на получените изолати показва, че условията през годината на заразяване оказват влияние върху агресивността на изолатите. Това налага определянето на агресивността да се осъществява в две или повече години.

4.8. Унаследяването на реакцията към *Ph. helianthi* при 12 хибрида слънчоглед и техните родителски форми.

Резултати за изследваните хибриди и техните родителски форми през 2022 и 2023 год са представени на *таблица 10*.

Таблица 10. Площ под кривата на развитие на родителски форми и хибриди
към два изолата на *Ph. helianthi*

Генотип		2022			2023			Средно		
		Ph21-	Ph21	Ср.	Ph21-	Ph21-	Средно	Ph21-	Ph21-	Средн
217A	M	35,00	30,3	32,67	21,00	25,67	23,33	28,00	28,00	28,00
KM 852 R	F1	35,00	35,0	35,00	49,00	7,00	28,00	42,00	21,00	31,50
<i>217A × KM 825 R</i>	H1	7,00	21,0	14,00	7,00	7,00	7,00	7,00	14,00	10,50
3607 A	M2	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
KM 172	F2	21,00	16,3	18,67	11,67	7,00	9,33	16,33	11,67	14,00
<i>3607 A × KM172</i>	H2	35,00	11,6	23,33	30,33	7,00	18,67	32,67	9,33	21,00
376A-SU	M3	21,00	21,0	21,00	11,67	11,67	11,67	16,33	16,33	16,33
KZ 23R/8	F3	63,00	44,3	53,67	53,67	25,67	39,67	58,33	35,00	46,67
<i>KZ 23R/8 × 376A-SV</i>	H3	21,00	30,3	25,67	16,33	7,00	11,67	18,67	18,67	18,67
692-1/19A	M4	25,67	39,6	32,67	25,67	7,00	16,33	25,67	23,33	24,50
1065-1/17 R	F4	39,67	16,3	28,00	35,00	11,67	23,33	37,33	14,00	25,67
<i>692-1/19A × 1065-1/17R</i>	H4	21,00	16,3	18,67	16,33	7,00	11,67	18,67	11,67	15,17
1111A (226-2/mA)	M5	58,33	21,0	39,67	7,00	7,00	7,00	32,67	14,00	23,33
KZ 23 R/4	F5	44,33	44,3	44,33	39,67	11,67	25,67	42,00	28,00	35,00
<i>1111A × KZ 23R/4</i>	H5	35,00	16,3	25,67	7,00	7,00	7,00	21,00	11,67	16,33
696-1/19A	M6	58,33	39,6	49,00	58,33	53,67	56,00	58,33	46,67	52,50
958-3/19R/7n	F6	21,00	30,3	25,67	35,00	11,67	23,33	28,00	21,00	24,50
<i>696-1/19A × 958-</i>	H6	39,67	30,3	35,00	11,67	7,00	9,33	25,67	18,67	22,17
664-1/19A	M7	35,00	7,00	21,00	49,00	21,00	35,00	42,00	14,00	28,00
1060-2/19R	F7	39,67	11,6	25,67	49,00	35,00	42,00	44,33	23,33	33,83
<i>664-1/19A × 1060-2/19</i>	H7	7,00	16,3	11,67	44,33	16,33	30,33	25,67	16,33	21,00
656-2/19A	M8	30,33	35,0	32,67	49,00	16,33	32,67	39,67	25,67	32,67
1101-2/19R	F8	11,67	25,6	18,67	21,00	11,67	16,33	16,33	18,67	17,50
<i>656-2/19A × 1101-2/19</i>	H8	39,67	21,0	30,33	16,33	7,00	11,67	28,00	14,00	21,00
674-2/19A	M9	7,00	30,3	18,67	63,00	63,00	63,00	35,00	46,67	40,83
966-1/19R/2	F9	7,00	16,3	11,67	21,00	11,67	16,33	14,00	14,00	14,00
<i>674-2/19A × 966-1/19</i>	H9	21,00	16,3	18,67	25,67	25,67	25,67	23,33	21,00	22,17
1111A (226-2/21A)	M10	11,67	16,3	14,00	63,00	16,33	39,67	37,33	16,33	26,83
1065-1/17 R	F10	25,67	30,3	28,00	25,67	7,00	16,33	25,67	18,67	22,17
<i>1111 A × 1065- 1/17 R</i>	H10	39,67	16,3	28,00	16,33	7,00	11,67	28,00	11,67	19,83
1252-2/19A	M11	7,00	16,3	11,67	11,67	7,00	9,33	9,33	11,67	10,50
NAS -1R/12	F11	7,00	11,6	9,33	21,00	7,00	14,00	14,00	9,33	11,67
<i>1252-2/19 A × NAS-</i>	H11	16,33	21,0	18,67	11,67	7,00	9,33	14,00	14,00	14,00
1379A	M12	7,00	39,6	23,33	21,00	7,00	14,00	14,00	23,33	18,67
SVDIR	F12	30,33	21,0	25,67	21,00	7,00	14,00	25,67	14,00	19,83
<i>1379A × SVDIR</i>	H12	7,00	21,0	14,00	21,00	7,00	14,00	14,00	14,00	14,00
Средно		26,06	23,4	24,76	27,61	14,13	20,87	26,83	18,80	22,81

През 2022 год., при по-голяма част от изследвани хибриди се наблюдава тенденция за по-ниска реакция спрямо средната стойност за всички генотипове (Табл. 10). С най-ниска стойност на AUDPC от всички образци е хибридна комбинация Н7 (664-1/19А × 1060-2/19). Ниски стойности са отчетени и при хибридите Н1, Н12, Н4, Н9 и Н11. Най-висока агресивност, средно за двата изолата се наблюдава при хибрид Н6, Н8 и Н10. При Н1 и Н5 се наблюдават разлики в реакцията спрямо родителските форми. Различия спрямо реакцията на майчините форми се отчитат при хибриди Н2, Н4, Н5, Н6 и Н10. От тях хибриди Н2 и Н10 са с по-високи стойности от майчината форма, а другите три са с по-ниски. При хибриди Н3 и Н7 се наблюдават стойности по-ниски от бащината форма.

Изследвайки реакцията на хибридите и техните родителски форми през 2023 год., се установява, че средната реакция на всички генотипове (AUDPC=20,87) е по-ниска от тази на предходната година (AUDPC=24,76) (Табл. 10). Тази тенденция обаче не е общовалидна за всички генотипове, като при някои реакцията през 2023 е по-висока, а при някои не се наблюдава разлика. С най-ниски стойности са хибриди Н1, Н5, Н6 и Н11. Също с ниски стойности на AUDPC са Н3, Н4, Н8 и Н10. Единствено хибрид Н7 се характеризира със стойности по-високи от средната – 30,33.

По отношение на средните резултати от двете години (AAUDPC), се наблюдава резултати, които в по-голяма степен клонят към резултатите получени през 2023 год. (Табл. 10). С най-ниски стойности са хибридите Н1, Н11 и Н12. По отношение на двата изпитвани изолата Ph21-614 и Ph21-211, средно за изпитваните родителски линии и хибриди, достоверно по-агресивен е Ph21-614. Тази тенденция се запазва при родителски линии М2, F2, N3, F3, F4, M6, F6, M7, F7 и хибриди Н2, Н4, Н6 и Н8, като резултатите са сходни и за двете стопански години. При всички останали генотипове двата изолата показват коренно различни резултати през двете реколтни години.

В направеното проучване е изследван хетерозисният ефект на отделните образци, спрямо генетиката на унаследяването при Ph. helianthi (Табл. 11). През стопанската 2022 година, висок хетерозисен ефект, както спрямо по-добрия родител, така и спрямо средното родителско ниво, се наблюдава при хибриди Н1, Н4, Н5, Н7 и Н12. При хибриди Н1 и Н5 тенденцията хетерозисът да е висок се отчита и за двата използвани изолата. Много силен отрицателен хетерозис (хибридът е по-чувствителен и от двете родителски форми) е отчетен при хибриди Н2, Н8, Н9, Н10 и Н11. При

всички, с изключение на Н8 и Н10, тази тенденция е отчетена и при двата изолата.

Таблица 11. Хетерозисен ефект и степен на доминиране при реакцията на родителските форми и хибрида, спрямо Ph. helianthi

Хибрид	Показател	2022			2023			Средно		
		Ph21- 614	Ph21- 211	Средно	Ph21- 614	Ph21- 211	Средно	Ph21- 614	Ph21- 211	Средно
217A × KM 825 R	*	80,0	30,8	57,1	66,7	0,0	70,0	75,0	33,3	62,5
	**	80,0	35,7	58,6	80,0	57,1	72,7	80,0	42,9	64,7
	d/a	-	-5,0	-17,0	-2,0	1,0	-8,0	-4,0	3,0	-11,0
3607 A × KM172	*	-400,0	-66,7	-233,3	-333,3	0,0	-166,7	-366,7	-33,3	-200,0
	**	-150,0	0,0	-81,8	-225,0	0,0	-128,6	-180,0	0,0	-100,0
	d/a	3,0	0,0	1,8	9,0	-	9,0	4,5	0,0	3,0
KZ 23R/8 × 376A-SV	*	0,0	-44,4	-22,2	-40,0	40,0	0,0	-14,3	-14,3	-14,3
	**	50,0	7,1	31,3	50,0	62,5	54,5	50,0	27,3	40,7
	d/a	-1,0	-0,2	-0,7	-0,8	-1,7	-1,0	-0,9	-0,8	-0,8
692-1/19A × 1065-1/17R	*	18,2	0,0	33,3	36,4	0,0	28,6	27,3	16,7	38,1
	**	35,7	41,7	38,5	46,2	25,0	41,2	40,7	37,5	39,5
	d/a	-1,7	1,0	5,0	-3,0	-1,0	-2,3	-2,2	1,5	-17,0
1111A × KZ 23R/4	*	21,1	22,2	35,3	0,0	0,0	0,0	35,7	16,7	30,0
	**	31,8	50,0	38,9	70,0	25,0	57,1	43,8	44,4	44,0
	d/a	2,3	-1,4	-7,0	-1,0	-1,0	-1,0	-3,5	-1,3	-2,2
696-1/19A × 958-3/19R/7	*	-88,9	0,0	-36,4	66,7	40,0	60,0	8,3	11,1	9,5
	**	0,0	13,3	6,3	75,0	78,6	76,5	40,5	44,8	42,4
	d/a	0,0	1,0	0,2	3,0	1,2	1,9	1,2	1,2	1,2
664-1/19A × 1060-2/19R	*	80,0	-133,3	44,4	9,5	22,2	13,3	38,9	-16,7	25,0
	**	81,3	-75,0	50,0	9,5	41,7	21,2	40,5	12,5	32,1
	d/a	-13,0	3,0	-5,0	-	-1,7	-2,3	-15,0	-0,5	-3,4
656-2/19A × 1101-2/19R	*	-240,0	18,2	-62,5	22,2	40,0	28,6	-71,4	25,0	-20,0
	**	-88,9	30,8	-18,2	53,3	50,0	52,4	0,0	36,8	16,3
	d/a	-2,0	2,0	-0,7	1,3	3,0	1,6	0,0	2,3	0,5
674-2/19A × 966-1/19R/2	*	-200,0	0,0	-60,0	-22,2	-120,0	-57,1	-66,7	-50,0	-58,3
	**	-200,0	30,0	-23,1	38,9	31,3	35,3	4,8	30,8	19,1
	d/a	-	1,0	-1,0	0,8	0,5	0,6	0,1	0,6	0,4
1111 A × 1065- 1/17R	*	-240,0	0,0	-100,0	36,4	0,0	28,6	-9,1	28,6	10,5
	**	-112,5	30,0	-33,3	63,2	40,0	58,3	11,1	33,3	19,0
	d/a	3,0	-1,0	1,0	1,5	1,0	1,4	0,6	-5,0	2,0
1252-2/19A × NAS-1R/12	*	-133,3	-80,0	-100,0	0,0	0,0	0,0	-50,0	-50,0	-33,3
	**	-133,3	-50,0	-77,8	28,6	0,0	20,0	-20,0	-33,3	-26,3
	d/a	-	-3,0	-7,0	-1,0	-	-1,0	1,0	-3,0	5,0
1379A × SVDIR	*	0,0	0,0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0
	**	62,5	30,8	42,9	0,0	0,0	0,0	29,4	25,0	27,3
	d/a	-1,0	1,0	-9,0	-	-	-	-1,0	1,0	-9,0

*Хетерозис спрямо по-добрия родител по-добър бащин родител, ** Хетерозис спрямо средното родителско ниво, d/a – степен на доминиране.

През стопанската 2023 година, висок хетерозисен ефект, както по отношение на по-добрия родител, така и спрямо средното родителско ниво се наблюдава при хибриди Н1, Н4, Н6, Н7, Н8 и Н10 (Табл. 11). Тенденцията се отчита и при двата използвани изолата, при хибриди Н6, Н7 и Н8. Много висок отрицателен хетерозис се установява само при един от хибридите – Н2, като при изолата Ph21-614, хетерозисният ефект е изключително висок, а при изолат Ph21-212 - такъв липсва.

Средно за двете стопански години, хетерозисен ефект е отчетен при хибриди Н1, Н4, Н5, Н6, Н7, Н10 и Н12(Табл. 11).. При хибриди Н1, Н4 и Н6, хетерозисният ефект е висок по-отношение и на двата изолата, както спрямо по-добрия родител, така и спрямо средното родителско ниво. Тази тенденция показва, че при тези хибриди се наблюдава повишена устойчивост към патогена на Сивите петна, спрямо двете родителски форми. Отрицателен хетерозисен ефект се наблюдава при хибрид Н2 и Н11. При хибриди Н1, Н3, Н4, Н5, Н7 и Н12, се предполага, че високата устойчивост на хибрида се унаследява свръхдоминантно (при Н3 е адитивно) от майчината форма. Това се доказва както от стойностите на AUDPC за родителските форми и хибрида, така и от стойностите на степента на доминиране. При хибрид Н6 се наблюдава висок хетерозисен ефект спрямо бащината форма и реакция на свръхдоминиране към същия родител. Това е валидно и за двата изпитвани изолата и през двете години на изпитване. Подобни резултати показват, че при този хибрид, устойчивата реакция се унаследява от бащината форма. Тъй като при F6 (958-3/19R/7n) участва дивият вид *Helianthus petiolaris*, устойчивостта към *Ph. helianthi* е пряко свързана с генетичния материал от дивия вид. При всички останали хибриди, резултатите показват, че устойчивостта към патогена не може да бъде асоциирана с участието на дивите видове в родителските форми.

5. ИЗВОДИ

1. През проучвания период са събрани общо 95 растителни проби. От тях са изолирани 190 изолата, като 50,5% са отнесени към *Phomopsis helianthi*, а останалите към *Phoma macdonaldii*, род *Alternaria* и *Macrophomina phaseolina*.
2. Върху хранителната среда КДА диаметралния растеж (D) варира от 32,8 mm до 90 mm, а темпът на развитие (Vd) в границите от 0,148

- mm/h до 0,980 mm/h. Групирането на изолатите по произход и години, показва, че с най-високи стойности на D са изолатите с произход Силистра 2020, Шумен 2021 и Карнобат 2021, а с най-ниски Ямбол 2021 и Русе 2021. По отношение на темпа на развитие (Vd), най-висок темп е установен при произходи ДЗИ 2021 и Шумен 2020, а най-нисък при Ямбол 2021.
3. Върху хранителна среда КЗА диаметралният растеж варира от 40,3 mm до 90,0 mm, а темпът на развитие от 0,258 mm/h до 0,924 mm/h. Най-високи стойности на D е отчетено при групите Силистра 2020, Карнобат 2021 и ДЗИ 2022, а най-ниски при ДЗИ 2020, Ямбол 2021 и Русе 2021. Висок темп на развитие (Vd) имат изолатите с произход ДЗИ 2021 и Карнобат 2021, а най – нисък Русе 2021.
 4. Установеният положителен корелационен коефициенти между средния диаметрален растеж и средната скорост на развитие при КЗА и КДА ($r=0,738$), показва наличието на изолати, които реагират различно при двете хранителни среди. Средните стойности за двете хранителни среди, показват тенденции за по-висок диаметрален растеж и темп на развитие при хранителна среда КЗА ($D=71,4$; $Vd=0,686$), в сравнение с КДА ($D=67,8$; $Vd=0,644$). Не е установена връзка между проучваните показатели и географския произход на изолатите.
 5. Периодът на формиране на пикнидии върху хранителна среда КДА, варира от 5-ти до 10-ти ден, като преобладават стойностите между 7 и 9-ти ден. Периодът на формиране на пикнидии при КЗА варира между 6-ти и 9-ти ден.
 6. Проучваните 30 изолата се групират в 20 мицелно съвместими групи (MCGs), като две от групите включват само по един изолат, които са определени като несърместими. Изолатите от различни пространствено отдалечени райони влизат в една и съща MCGs. С най-голяма честота се срещат групите MCG1 и MCG2 (Русе, ДЗИ и Карнобат), а с най-малка групите MCG11 и MCG12 (Русе). Проведеният анализ на база мицелна съвместимост между изолатите показва слабо генетично разнообразие в популациите на патогена (Shanon's H index – 4.958; Simpson Index -0.920).
 7. Проведеният дисперсионен анализ за влиянието на фенофазата на развитие върху реакцията на генотипове слънчоглед към два изолата

на патогена показва достоверно влияние на фактора година (29,3% от общото вариране) и фактора фенофаза (4,95% от общото вариране). Получените резултати определят фенофаза ВВСН 51-53 („преди бутонизация“), като най-подходяща за оценка устойчивостта на селекционните материали. Независимо от фенофазата на инокулиране изолат Ph21-423 показва по-висока агресивност от Ph21-614.

8. Стойностите на AAUDPC средно за всички изпитани изолати и години варират в границите от 9.3 до 32.7. Най-високи стойности по този показател са отчетени при изолати Ph21-612, Ph21-614 и Ph21-6211. Анализът на резултатите показва, че произхода на изолатите не е определящ за агресивната проява на патогена.
9. При хибридни комбинации *217A x KM852 R*, *692-1/19A x 1065-1/17R* и *696-1/19A x 958-3/19R/7n* е установен висок хетерозисен ефект по отношение на изолати Ph21-614 и Ph21-212, както спрямо по-добрия родител, така и спрямо средното родителско ниво. Отрицателен хетерозисен ефект се наблюдава при хибридни комбинации *3607A x KM172* и *1252-2/19a x NAS-1R/12*. С най-висока агресивност към проучваните 12 хибридни комбинации и техните родители се характеризира изолат Ph21-614.
10. Високата устойчивост при хибридни комбинации *217A x KM852 R*, *376A-SU x KZ23R/8*, *692-1/19A x 1065-1/17R*, *1111A x KZ23R/4*, *664-1/19A x 1060-2/19R* и *1379A x SUD1R* се дължи на свръхдоминантно унаследяване (при *376A-SU x KZ23R/8* е адитивно) от майчината форма. При хибридна комбинация *696-1/19A x 958-3/19R/7n*, се наблюдава висок хетерозисен ефект спрямо бащината форма и реакция на свръхдоминиране към същия родител. Установено е, че устойчивостта към *Phomopsis helianthi* е пряко свързана с генетичния материал от дивия вид *Helianthus petiolaris*, който участва в създаването на бащината форма на хибрида.

6. ПРИНОСИ

Приноси с научен характер:

1. Това е първото детайлно проучване на *Phomopsis helianthi* при слънчогледа в България, включващо разпространение, културални, морфологични и патогенни характеристики, при които са използвани нови похвати на изследвания;
2. За пръв път в България е проучено генетичното разнообразие на *Phomopsis helianthi*, чрез прилагане на метода за Мицелно съвместимите групи (MCGs). Анализът на научната литература през последните 30 години показва, този метод, е използван за първи път при *Phomopsis helianthi* в света;
3. За първи път в България е проучено унаследяването на реакцията на патогена (*Phomopsis helianthi*) при родителски форми слънчоглед и техните хибриди;

Приноси с научно-приложен характер:

1. Установено е значително разнообразие в агресивността на изолатите, както в едно поле, така и между отделните полета. Натрупаната информация дава възможност за използване на най-агресивните изолати в селекционния процес.
2. Трансформирана е 5-бална в 9-бална система за оценяване повредата от *Phomopsis helianthi*, с цел възможност и подобряване обработката на данните чрез статистически програми;
3. Проучена е реакцията на хибриди и техните родителски форми, в които участват диви едногодишни и многогодишни видове слънчоглед, при изкуствено заразяване с изолати на *Phomopsis helianthi*, с цел проследяване унаследяването на устойчивост към патогена;
4. Установена е реакцията на различни генотипове при заразяване в определени фенофази от онтогенетичното им развитие. Това дава възможност да се определи най-критичната фенофаза за заразяване и съответно предприемане на адекватна химична защита;

Публикационна дейност, свързана с дисертационния труд:

- 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).**
- Damyanova-Serbezova, R., Petrova, M., Valkova, D., & Drumeva, M. (2024).** Testing of spicement of wild sunflower spicies for rezistence to *Phomopsis helianthi*. *Bulgarian Journal of Crop Science, 61(2) 20-28 (Bg).*
- 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).*

SUMMARY

Sunflower gray spots, caused by *Phomopsis/Diaporthe helianthi*, is one of the most economically important sunflower diseases that can cause serious damage to production, drastically reducing yield. The pathogen is strictly specialized and the main host is sunflower. Previous studies in Bulgaria show that the main investigations conducted on *Phomopsis helianthi*, are related to the use of wild sunflower species as potential sources of resistance, as well as a limited number of studies related to its aggressiveness. Researches covering the genetic diversity of the pathogen, its distribution and importance in Bulgaria, as well as the inheritance of resistance - are lacking. The main objective of the study is to investigate the cause of sunflower gray spots *Diaporthe/Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet. et al. under field and laboratory conditions, by determining the main characteristics of isolates collected on the territory of Bulgaria and their reaction on different sunflower genotypes. To achieve this purpose, six tasks have been formulated. As a result of the route surveys of production areas conducted in the period 2020-2022, 95 plant samples with symptoms of gray spots were collected in Northern and Southern Bulgaria. 190 fungal isolates were isolated. 50.5% of the isolates refer to morphological and cultural traits of *Phomopsis/Diaporthe helianthi*. When comparing the diametrical growth and colony growth rate of 50 isolates on the PDA and PSA nutrition media, higher values of the studied parameters were found on the PSA nutrition media. The positive correlation coefficient between the average diametrical growth and the average development rate in PSA and PDA ($r=0.738$) indicates the presence of isolates that react differently to the two nutrition media. The average values for both nutrition media show trends for higher diametral growth and colony growth rate in the PSA nutrition media ($D=71.4$; $Vd=0.686$), compared to the PDA ($D=67.8$; $Vd=0.644$). No correlation was established between the studied indicators and the geographical origin of the isolates. The period of pycnidia formation on the PDA nutrition media varied from the 5th to the 10th day, with values prevailing between the 7th and 9th day. The period of pycnidia formation in the PSA varied between the 6th and 9th day. Studies on the mycelial compatibility of the 30 isolates divided them into 20 mycelial compatible groups (MCGs), with two of the groups including only one isolate each, which were determined as incompatible. Isolates from different distant regions entered the same MCGs. The groups MCG1 and MCG2 (Ruse, DZI and Karnobat) are found with the highest frequency, and the groups MCG11 and

MCG12 (Ruse) with the lowest frequency. The analysis based on mycelial compatibility between the isolates shows low genetic diversity in the populations of the pathogen (Shanon's H index – 4.958; Simpson Index -0.920). The ANOVA set for the influence of the phenophase of development on the reaction of two sunflower genotypes to two isolates of the pathogen shows a reliable influence of the factor year (29.3% of the total variation) and the factor phenophase (4.95% of the total variation). The results obtained determine the phenophase BBCH 51-53 (“before budding”) as the most suitable for assessing the resistance of the breeding materials. The AAUDPC values, on average for the 30 isolates studied, during the two years of the investigation varied in the range from 9.3 to 32.7. The analysis of the results shows that the origin of the isolates is not decisive for the aggressive diversity of the pathogen. The two year analysis of 12 hybrid combinations and their parental forms shows that the resistance to *Phomopsis helianthi* is due to both superdominant inheritance from the maternal form and directly from the paternal form.