

ПРОУЧВАНЕ ВЕГЕТАТИВНАТА СЪВМЕСТИМОСТ НА ИЗОЛАТИ ОТ ПОПУЛАЦИИТЕ НА *FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LENTIS* В БЪЛГАРИЯ

ЙОРДАНКА СТАНОЕВА, ИВАН КИРЯКОВ

Добруджански земеделски институт, 9520 Генерал Тошево

E-mail: y-zdravkova@abv.bg

Резюме: Проучена е вегетативната съвместимост на 89 български и 2 контролни изолата на *Fusarium oxysporum f. sp. lenti*s, чрез използване на нитрат-неусвояващи мутанти (*nit*). За производство на *nit* мутанти са използвани хранителните среди PDC и MMC, съдържащи $KClO_3$. Ефективността на използваните среди по отношение стимулирането на *nit* мутанти е съответно 69,90% за PDC и 75,21% – MMC. И при двете среди преобладават *nit* 1 мутантните форми, резултат от мутация в структурния ген на нитрат-редуктазата. Резултатите от комплементарните тестове за съвместимост показват, че нито един от българските изолати не е съвместим с контролния изолат от Сирия. Не е установена и съвместимост между българските изолати и изолата от Алжир, включен в VCG-0471. Само 14 от общо 88 български изолата показват съвместимост помежду си, в резултат на което формират две VCG с повече от един представител. Първата група включва 11 изолата с различен произход и агресивност. Предлагаме тази група да бъде отбелязана като VCG-0472. Втората група включва три изолата със сходна агресивност. Тъй като тази група е малобройна, предлагаме тя да бъде отбелязана като VCG-047BG до включването на достатъчен брой изолати за формиране на VCG. Останалите изолати са несъвместими помежду си и следва да бъдат отнесени към различни VCGs. Наличието на голям брой VCGs е показател за значително генетично разнообразие в популациите на *F. o. f. sp. lenti*s в България.

Ключови думи: *Fusarium oxysporum f. sp. lenti*s; вегетативна съвместимост, VCGs.

Y. STANOEVA, I. KIRYAKOV, Dobroudja Agricultural Institute, 9520 General Toshevo.
INVESTIGATION ON THE VEGETATIVE COMPATIBILITY OF ISOLATES FROM THE *FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LENTIS* POPULATIONS IN BULGARIA

Abstract: The vegetative compatibility of 89 Bulgarian and 2 check *Fusarium oxysporum f. sp. lenti*s isolates was investigated by using nitrate non-utilizing mutants (*nit*). Nutrition media PDC and MMC containing $KClO_3$ were used for producing *nit* mutants. The efficiency of the above media with regard to the *nit* mutant stimulation was respectively 69.90% for PDC and 75.21% for MMC. In both media *nit* 1 mutant forms were predominant as a result from mutation in the structure gene of the nitrate-reductase. The results from the complementary compatibility tests showed that none of the Bulgarian isolates was compatible with the check isolate from Syria. No vegetative compatibility was established between the Bulgarian isolates and the isolate from Algeria from VCG-0471, as well. Only 14 out of 88 Bulgarian isolates were vegetatively compatible between themselves, forming as a result two VCGs with more than one representative. The first group included 11 isolates of different origin and aggressivity. Our suggestion is to mark this group as VCG-0472. The second group included three isolates of similar aggressivity. Since this group is not numerous, we suggest the designation VCG-047BG until a sufficient number of isolates for formation of VCG are included in it. The rest of the isolates were not compatible between themselves and should be therefore referred to different VCGs. The presence of a large number of VCGs is an indication for considerable genetic diversity in the *F. o. f. sp. lenti*s population in Bulgaria.

Key words: *Fusarium oxysporum f. sp. lenti*s, vegetative compatibility, VCGs

Фузарийното увяхване е икономически най-важната болест по лещата в редица райони на света (*Lens culinaris* Medikus) (Saxena, 1993). Като причинители на болестта се посочват няколко вида от род *Fusarium*, но най-често е посочван *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend. Snyder et Hansen f. sp. *lentis* Vasud. and Srinivasan (Eujayal et al., 1998; Kraft et al., 1994). *F.o. f. sp. lentis* е почвен патоген, преживяващ в почвата като мицел и хламидоспори. При благоприятни условия (топла пролет, сухо и горещо лято) болестта може да причини пълно унищожение на посева (Agrawal et al., 1993). Според Bayaa et al. (1986), загубите от фузарийното увяхване в Сирия варират най-често между 5 и 12%, но могат да стигнат и до 72%.

Сливането на хифи между два индивида на един вид (анастомозис) е често срещано явление през вегетативния стадий на развитието при редица мицелни гъбни в това число и при видовете от род *Fusarium* (Leslie, 1996). Запазване жизнеността на получени хетерокарион е показател за наличието на вегетативна съвместимост между тези индивиди, което дава възможност за отнасянето им към една и съща вегетативно-съвместима група (VCG). Вегетативната съвместимост или несъвместимост при гъбите се контролира от гени, локализирани в няколко *vic* (vegetative incompatibility) или *het* (heterokaryon incompatibility) локуса (Smith et al., 2000; Muirhead et al., 2002). В повечето случаи вегетативната съвместимост е хомогенна, т.е. два индивида са съвместими само ако алелите в *vic* локусите са идентични. Според Puhalla (1985) вегетативната съвместимост е подходящ метод за групиране на изолатите от популациите на патогените в VCGs, а от тук и за проучване генетичното разнообразие в определени географски райони. Съществуват доказателства за наличието на корелационни зависимости между VCG и размера на колониите (Correll et al., 1986), вирулентността (Correl et al., 1985; Gordon et al., 1986) и изoenзимния профил (Bosland and Williams, 1987).

Като използва *nit* (nitrate non-utilizing) мутанти, Puhalla (1985) проучва вегетативната съвместимост между 21 изолата на *F. oxysporum*. Според автора, изолатите от една VCG се отнасят към една и съща специализирана група. По-нататъшните детайлни изследвания показват, че изолатите отнесени към определена VCG притежават същия или идентичен мултилокусен хаплоид и принадлежат към един и същ клон (Kistler, 1997; Kistler et al., 1998). Впоследствие *nit* мутанти са използвани при проучване вегетативна съвместимост при редица специализирани форми на *F. oxysporum* (Correll et al., 1986, 1985; Alter and Groth, 2005; Elmer and Stophens, 1989; Takehara et al., 2003). Kistler et al. (1998) публикуват списък на специализираните форми на *F. oxysporum*, при които са установени една или повече VCG. Този списък включва 32

специализирани форми на вида, при които са регистрирани над 100 VCG.

Проучванията върху вегетативната съвместимост между изолатите от популациите на *F.o. f.sp. lentis* са твърде ограничени. Според Belabid and Fortas (2002) проучваните 32 изолата на *F.o. f.sp. lentis* с произход от Алжир са отнесени към една VCG, отбелязана като VCG-0471.

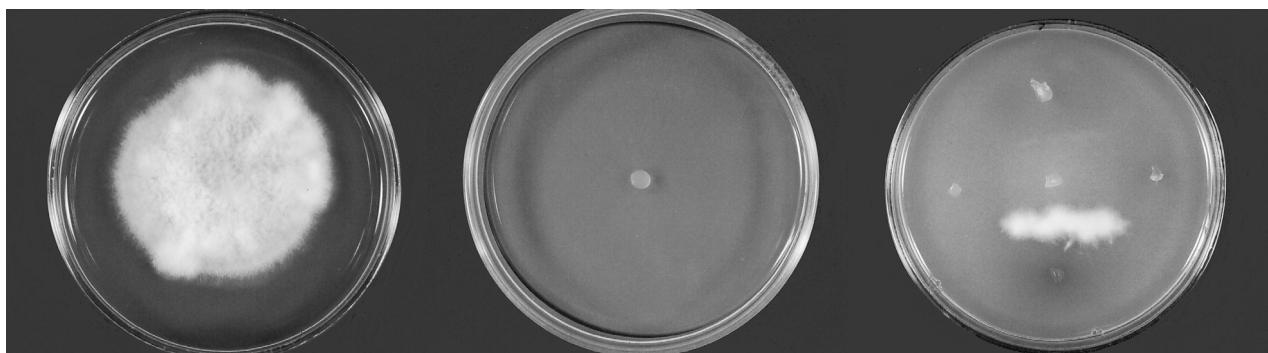
Проведените от нас изследвания върху фузарийното увяхване при лещата в различни райони на България показват, че основен причинител на болестта е *F.o. f.sp. lentis* (Станоева и др., 2002). Целта на изследването беше да се проучи вегетативната съвместимост между изолати от *F.o. f.sp. lentis* с оглед установяване генетичното разнообразие в популациите на патогена в България.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В изследването са включени 89 патогенни за лещата изолати от *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, изолирани от растения с типични симптоми на фузарийно увяхване. Пробите са събрани от различни райони на България през периода 1997–2006 г. Патогенността и агресивността на проучваните изолати е установена по методиката на Erskine and Bayaa (1996) и Belabid et al. (2000). Като контроли са използвани – един изолат с произход от Сирия и един изолат с произход от Алжир, отнесен към VCG-0471.

Изолиране на *nit* мутанти. Всички изолати, включени в изследването са култивирани върху пълна хранителна среда (CM) за 5–7 дни (Correll et al., 1987). От всеки изолат са пренесени мицелни дискове с диаметър 2 mm върху петриеви блюда с PDC и MMC хранителни среди, съдържащи $KClO_3$. Блюдата са инкубиирани при температура $25\pm1^\circ C$ на тъмно и проверени периодично за появата на бързо растящи участъци от първоначално ограничните по своя растеж колонии. Всички бързо растящи участъци са пренесени върху минимална среда (MM), съдържаща $NaNO_3$ като източник на азот. Културите с тънък, стелещ мицел са приети за *nit* мутанти. Всички *nit* мутанти са устойчиви на хлорат и показват див тип на растеж върху CM.

Определяне фенотипа на *nit* мутантите. *Nit* мутантите са групирани в три фенотипни класа (*nit 1*, *nit 3*, *nit M*), в зависимост от растежа им върху хранителни среди с различни източници на азот. Използвани са следните източници на азот: 1) нитратна среда = MM; 2) нитритна среда = BM + 0,5 g/l $NaNO_2$; 3) среда с хипоксантин = BM + 0,2 g/l хипоксантин (Correll et al., 1987). Мицелни дискове от *nit* мутантите са пренесени върху хранителни среди с различни азотни източници. Фенотипът на ауксотрофните мутанти е сравнен с този на дивия тип, от който са изолирани четири дни след инкубиране на културите при $25\pm1^\circ C$.



Фиг. 1. Развитие на изолат F5.12 от *F.o. f.sp. lenthis* върху хранителната среда MM: А – гиб тип; В – nit M мутант; С – вегетативна съвместимост между nit мутанти от изолат F 5.12 и F 5.63

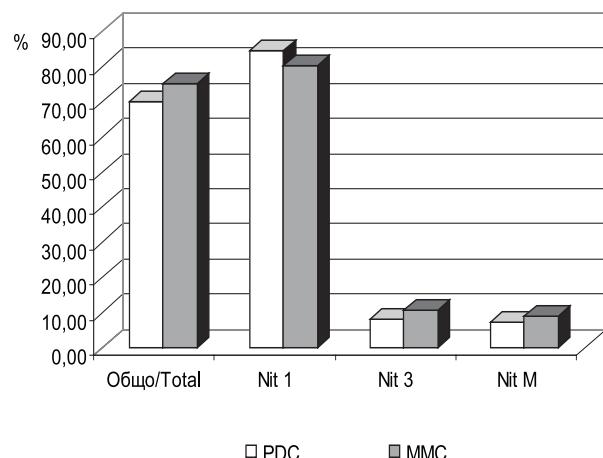
Fig. 1. Growth of *F.o. f.sp. lenthis* F5.12 isolate on MM nutrition medium: A – wild type; B – nit M mutant; C – vegetative compatibility between F 5.12 and F 5.63 nit mutants

Таблица 1/Table 1

Честота на изолиранные *nit* мутанты след култивиране на 91 изолата от *F.o. f.sp.lenthis* върху хранителните среди PDC и MMC

Frequency of isolated *nit* mutants following cultivation of 91 *F.o. f.sp.lenthis* isolates on PDC and MMC nutrition media

Фенотип Phenotype	PDC		MMC	
	брой number	%	брой number	%
Nit 1	33	36,26	26	28,57
Nit 3	0	0,00	2	2,20
Nit M	3	3,30	3	3,30
Nit 1 + Nit3	14	15,38	20	21,98
Nit 1 + Nit M	31	34,07	27	29,67
Nit 3 + Nit M	0	0,00	0	0,00
Nit1 + Nit 3 + Nit M	9	9,89	10	10,99
NO	1	1,10	3	3,30



Фиг. 2. Ефикасност на хранителните среди PDC и MMC, съдържащи калиев хлорат по отношение продукцията на нитрат-неусвояващи мутанти от *F.o. f.sp. lenthis*

Fig. 2. Efficiency of PDC and MMC nutrition media containing potassium chloride in relation to nitrate non-utilizing mutants of *F.o. f.sp. lenthis*

Таблица 2/Table 2

Вегетативно съвместими групи на *F.o. f.sp.lenthis* в България
Vegetative compatibility groups of *F.o. f.sp.lenthis* in Bulgaria

VCG	Изолат Isolat	Произход Origin	Агресивност *	
			дни days	группа group
VCG-0472	F5.12	ДЗИ/DAI	5,8	I
	F5.13	ДЗИ/DAI	5,2	I
	F5.63	Раднево/Radnevo	6,2	I
	F5.42	Бургас/Burgass	7,1	I
	F6.13	ДЗИ/DAI	11,3	II
	F6.52	Раднево/Radnevo	9,8	II
	F6.32	Бургас/Burgass	8,1	II
	F1.73	Селановци/Selanovci	9,5	II
	F1.103	Ситово/Sitovo	11,2	II
	F97.4	Силистра/Silistra	8,1	II
VCG-047BG	F97.2	Житница/Jitnica	7,0	I
	F5.23	Бургас/Burgass	4,8	I
	F6.23	Бургас/Burgass	4,2	I
	F5.33	Бургас/Burgass	7,2	I

* На основа агресивността им към чувствителния сорт 'Образцов чифлик 7' и линия ILL 4605 изолатите са разделени на три групи: I група – високо агресивни, загиване на тестовите растения до 7 дни след инокулиране; II група – средно агресивни, загиване на тестовите растения от 8 до 14 дни след инокулиране; III група, загиване на тестовите растения 15 до 21 дни след инокулиране.

* The isolates were divided into three groups based on their aggressivity to the susceptible variety 'Obrazcov chiflik 7' and line ILL 4605: I group I – highly aggressive, plant die up to 7 days following inoculation; group II – moderate aggressive, plant die from 8 to 14 days following inoculation; group III – low aggressive, plant die from 15 to 21 days following inoculation.

Комплементарен тест за вегетативна съвместимост. Наличието на съвместимост между *nit* мутантите е определено върху средата PDC при всички възможни комбинации, като за всеки изолат са използвани един *nit M* и един *nit 1* или *nit 3* мутант. Три до четири агарови диска, колонизирани с *nit 1* или *nit 3* мутанти са разположени на еднакво разстояние от *nit M* мутант в 90 mm петриеви блюда и инкубиирани при 25±1° C на тъмно. На тест за съвместимост са подложени, както мутантите от даден родителски изолат (тест за самосъвместимост), така и мутантите между отделните изолати, при всички възможни комбинации. Блюдата са проверявани периодично за развитие на хетерокарион. Наличието на съвместимост се определя от формирането на хетерокарион, който се наблюдава като пълтен въздушен мицел в зоната на контакта (фиг. 1).

Групиране на изолатите в VCG. Изолатите са групирани на основата на съвместимостта между тях. Когато мутанти от два различни изолата формират хетерокарион, те се приемат за вегетативно съвместими и се поставят в една група. Изолатите, които са съвместими сами по себе си (самосъвместими), но не са съвместими с други изолати, са определени като единични членове на отделна VCG. При липса на съвместимост между фенотипно различни мутанти от един и същи изолат, те се приемат за несъвместими сами по себе си (самонесъвместими). Номерирането на VCG се основава на изискванията, посочени от Kistler et al. (1989) и Katan (1999), като за база се взема номера на VCG за *F.o. f.sp. lentis* – VCG-047 (Belabid and Fortas, 2002).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

От включените в изследването 91 изолата на *F.o. f.sp. lentis* върху средата PDC бяха заложени 3415 агарови диска. Изолирани са 2387 нитрат-неусвояващи мутанта (*nit*), което показва 69,90% ефикасност на тази среда по отношение продукцията на *nit* мутанти от патогена (фиг. 2). Върху средата MMC са заложени 2918 агарови диска, от които са изолирани 2190 *nit* мутанта. Ефикасността на MMC по отношение продукцията на ауксотрофни мутанти е 75,21%.

Correll et al. (1987) групират нитрат-неусвояващи мутанти от *F. oxysporum* в три фенотипни класа: *nit 1* мутанти, резултат от мутация в структурния локус на нитрат-редуктазата, неразвиващи се при наличие на нитрат, като единствен азотен източник, но развиващи се при наличие на нитрит и хипоксантин; *nit 3* мутанти, резултат от настъпили мутации в локуса, регулиращ едновременно нитрат – и нитрит-редуктазата и развиващи се само при наличие на хипоксантин в средата; *nit-M* мутанти, резултат от мутации в един от локусите, регулира-

щи синтеза на молибден кофактора и развиващи се при наличие на нитрити в тестовата среда.

От данните представени във фиг. 1 се вижда, че *nit 1* мутантите преобладават, независимо от използваната хранителна среда. Техният процент, спрямо общото количество мутанти, е незначително по-висок при PDC (84,71%) в сравнение с MMC (80,27%). Продуцирането на другите два фенотипа върху PDC и MMC е съответно 8,09% и 10,68% за *nit 3* и 7,21 и 9,04% за *nit M* мутантите. Получените резултати за продуцирането на *nit* мутанти от съответните фенотипни класове при изолатите от *F.o. f.sp. lentis* съответстват на съобщените от Belabid and Fortas (2002) при тази специализирана форма на *F. oxysporum*.

Според Correll et al. (1987) наличието на *nit M* мутанти е задължително условие при проучване вегетативната съвместимост между изолатите от популациите на отделните специализирани форми на *F. oxysporum*. Останалите два фенотипа са взаимно заменими и всеки един от тях може да бъде комбиниран с *nit M* мутантите. Резултатите от проучването показват, че при 32,6% от включените в изследването изолати са продуцирали само *nit 1* мутантни форми, след култивирането им върху PDC (табл. 1). При 34,07% от изолатите са получени както *nit 1*, така и *nit M* мутантни форми. Трите мутантни форми са получени при 9,89% от изолатите. Сходни резултати се наблюдават и при култивиране на изолатите върху средата MMC, но процентът на продуцираните от един изолат *nit 1* и *nit M* нитрат-неусвояващи мутанти е значително по-голям от този върху средата PDC.

При 16,48% от изолатите е получен само един мутантен фенотип, при култивирането им и върху двете среди, поради което при тях не е проведен тест за самосъвместимост. Независимо от това тези изолати са включени в комплементарния тест за съвместимост с останалите изолати. Един от изолатите беше изключен от изследването, поради невъзможността за отделяне на нитрат-неусвояващи мутанти. Тестовете за самосъвместимост показват, че 14,29% от проучваните изолати са несъвместими сами със себе си. Според Papa (1986) липсата на съвместимост между различни по фенотип *nit* мутанти, от един и същ изолат, може да се дължи на двойни мутации при някои от тях. Не е изключено самонесъвместимостта да е резултат от генетична невъзможност на изолатите да анастомозират, което се наблюдава при някои изолати от *F. oxysporum* (Correl et al., 1987).

Резултатите от комплементарните тестове за съвместимост показват, че нито един от българските изолати не е съвместим с контролния

изолат от Сирия. Не е установена и съвместимост между българските изолати и изолата от Алжир, включен в VCG-0471. Само 14 от общо 88 български изолата показват съвместимост помежду си, в резултат на което формират две VCG с повече от един представител. Първата група включва 11 изолата, формиращи хетерокарион с всеки един от членовете на тази група (табл. 2). Съобразявайки се с изискванията за сформиране на VCGs при специализираните форми на *F. oxysporum*, предлагаме тази вегетативна група да бъде отбелязана като VCG-0472 (Kistler et al., 1989; Katan, 1999). Изолатите от тази група са с различен произход и агресивност. Втората група включва три изолата, изолирани от растителни преби, събрани от две полета в района на град Бургас. Тъй като според изискванията за сформиране на VCG е необходимо минимум 5% от изолатите на проучваната популация да са вегетативно съвместими, предлагаме тази група да бъде отбелязана като VCG-047BG, до установяване на необходимия брой съвместими изолати. Останалата част от проучваните изолати не може да бъде отнесена към нито една от установените до този момент VCGs при *F.o. f.sp. lentis*. Всеки един от тези изолати може да бъде отнесен към отделна VCG (Elmer and Stephenson, 1989; Correl, 1991).

Установяването на вегетативната съвместимост между изолатите е един от най-често използваните методи при проучване генетичното разнообразие в популациите на *F. oxysporum* (Leslei, 1996). До този момент при този вид са регистрирани над 100 VCGs, като техният брой при отделните специализирани форми варира от 1 до 10 и повече групи (Kistler et al., 1988). Според Belabid and Fortas (2002), по своята вегетативна съвместимост, проучваните 33 алжирски изолати на *F.o. f.sp. lentis* се отнасят към VCG-0471. Резултатите от това проучване показват, че 88-те български изолата могат да бъдат групирани в 76 VCGs, като само две от тях съдържат повече от един изолат. Невъзможността за групирание на повечето от изолатите в VCG е показател за значително генетично разнообразие в популациите на *F.o. f.sp. lentis* в България.

ИЗВОДИ

Популациите на *Fusarium oxysporum f.sp. lentis* в България се характеризират с голямо генетично разнообразие по отношение алерите, контролиращи вегетативната съвместимост между изолатите.

Установени са две вегетативно съвместими групи с повече от един представител на *F.o.f.sp. lentis*. Първата група включва 11 изолата с различен произход и агресивност. Предлагаме тази

група да бъде отбелязана като VCG-0472. Втората група включва три изолата със сходна агресивност. Предлагаме тази група да бъде отбелязана като VCG-047BG до включването на достатъчен брой изолати за изграждане на VCG. Останалите изолати са несъвместими помежду си и следва да бъдат отнесени към различни VCGs.

ЛИТЕРАТУРА

- Станоева, Й., Й. Караджова, И. Кириков (2002). Фузиарино увяхване по лещата (*Lens culinaris* Medik.) в България. Юбилейна научна сесия „50 години Добруджански земеделски институт“, 1 юни 2001, Добрич. Том II; 765–771.
- Agrawal, S.C., K. Singh and S. S. Lal (1993). Plant protection of lentil in India. In: Erskine W. and Saxena M.C. (eds) Proceedings of the Seminar on Lentil in South Asia, 11–15 March 1991, New Delhi, India, pp. 147–165.
- Altier, N. A. and J. V. Groth (2005). Characterization of aggressiveness and vegetative compatibility diversity of *Fusarium oxysporum* associated with crown and root rot of birdstfoot trefoil. Lotus Newsletter, 35: 59–74.
- Belabid, L., Z. Fortas, D. M. Khiare and D. Dmjad (2000). Fletrissement et pouriture racinaire de la lentille dans le nord-ouest algérien. Cahiers/Agricultures, Vol. 9, 6: 515–518.
- Belabid, L. and Z. Fortas (2002). Virulence and vegetative compatibility of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp.*lentis*. Phytopathol. Mediterr., 41: 179–187.
- Bosland, P. W. and P. H. Williams (1987). An evolution of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. Can. J. Bot. 65: 2067–2073.
- Correll, J. C. (1991). The relationship between formae speciales, races and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 81, 1061–1064.
- Correll, J. C., C. J. R. Klittich and J. F. Leslie (1987). Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology, 77: 1640–1646.
- Correll, J. C., J. E. Puhalla and R. U. Schnaider (1986). Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. Phytopathology, 76: 396–400.
- Correll, J. C., J. E. Puhalla, R. U. Schnaider and J. M. Kraft (1985). Differentiating race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* based on vegetative compatibility. Phytopathology, 75: 1347.
- Elmer, W. H. and C. T. Stephenson (1989). Classification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagys* into vegetatively compatible groups. Phytopathology, 79: 88–93.
- Erskine, W. and B. Bayaa (1996). Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. Phytopath. Medit. 1996, 35: 24–32.
- Gordon, T. R., J. C. Correll and A. H. McCain (1986). Host specificity and vegetative compatibility in *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology, 76: 1111.
- Katan, T. (1999). Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. Phytoparasitica, 27: 1–14.

- Kistler, H. C.* (1997). Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 87: 474–479.
- Kistler, H. C., C. Alabouvette, R. P. Baayen, S. Bentley, D. Braiford, A. Coddington, J. Correll, M.-J. Daboussi, K. Elias, D. Fernandez, T. R. Gordan, T. Katan, H. G. Kim, J. F. Leslei, R. D. Matryn, Q. Migheli, N. Y. Moore, K. O'Donnell, L. C. Ploetz, M. A. Rutherford, B. Summerell, C. Waalwijk and S. Wo* (1989). Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 88: 30–32.
- Kraft, J. M., M. P. Haware, R. M. Jimenez-Diaz, B. Bayaa and M. Harrabi* (1994). Screening techniques and sours of resistance to rots and wilts in cool season food legumes. In: Explanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes, 268–269, (F. J. Muehlbauer and W. K. Kaiser, eds).
- Leslie, J. E.* (1996). Fungal vegetative compatibility – promises and prospects. *Phytoparasitica*, 24: 3–6.
- Muirhead, C. A., N. Louise Glass and M. Stalkin* (2002). Multilocus self-recognition in fungi as a cause of trans-species polymorphism. *Genetics*, 161: 633–641.
- Papa, K. E.* (1986). Heterokaryon incompatibility in *Aspergillus falicus*. *Micologia*, 78: 98–101
- Puhalla, J. E.* (1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Can. J. Bot.*, 63: 179–183.
- Smith, M. L., O. C. Micals, S. P. Hubbard, N. Mir-Rashed, D. J. Jacobson and N. Louise Glass* (2000). Vegetative incompatibility in the het – 6 region of *Neurospora crassa* in mediated by two linked genes. *Genetics*, 155: 1095–1104.
- Takehara, T., K. Kuniyasu, M. Mori and H. Hagiwara* (2003). Use of nitrate-nonutilizing mutant and selective media to examine population dynamics of *Fusarium oxysporum* f.sp. *spinacia* in soil. *Phytopathology*, 93: 1173–1181.
- Saxena* (1993). The challenge of developing biotic and abiotic stress resistance in cool season food legumes. In: K.B.Singh & M.C.Saxena (Eds.), Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes, pp. 3–14. Wiley-Sayce, UK.

Статията е постъпила в редакцията на 27.02.2007 г. и е докладвана от ст.н.с. I ст. г-р Тони К. Тонев