Научная статья

УДК 632.4

ПАТОГЕННОСТЬ ГРИБОВ РОДА *DIAPORTHE* В ОТНОШЕНИИ СОИ

Евгений Эдуардович Каботов, Людмила Павловна Шумилова

Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, г. Благовещенск, Россия, zalu.96@mail.com

Аннотация. В Амурской области невозможно провести оценку распространения микроскопических грибов комплекса Diaporthe/Phomopsis из-за отсутствия полноценных исследований. На сегодняшний день актуальным является изучение фитопатогенных грибов рода Diaporthe и уточнение их филогенетической специализации. В статье представлены сведения о патогенности грибов рода Diaporthe по отношению к сое при искусственной инокуляции. Установлено, что D. eres штамм № 4 обладает наибольшей вирулентностью в отношении сои, чем штамм № 5. Выделение изолятов D. eres в 100% случаев с мест поранения, подтверждает жизнеспособность микромицета на данном субстрате. Однако, невысокий процент выделения гриба из фрагментов, взятых выше места инокуляции, свидетельствует о низкой агрессивности вида в отношении сои. Штамм № 1, выделенный с растений сои на опытном участке, проявил себя как патоген, что подтвердили постулаты Коха.

Ключевые слова: *Diaporthe*, фитопатогенные грибы, соя.

Для цитирования: Каботов Е. Э., Шумилова Л. П. Патогенноть грибов рода *Diaporthe* в отношении сои // Агронаука. 2023. Том 1. № 1. С.77–80.

Original article

UDC 632.4

PATHOGENICITY OF FUNGI OF THE GENUS DIAPORTHE IN RELATION TO SOY

Evgenij E. Kabotov, L'yudmila P. Shumilova

Amur Branch of the Botanical Garden-Institute FEB RAS, Blagoveshchensk, Russia, zalu.96@mail.com

Abstract. In the Amur Region, it is impossible to assess the spread of microscopic fungi of the Diaporthe/ Phomopsis complex due to the lack of full-fledged studies. To date, it is relevant to study phytopathogenic fungi of the genus Diaporthe and clarify their phylogenetic specialization. The article presents information about the pathogenicity of fungi of the genus Diaporthe in relation to soy during artificial inoculation. It was found that D. eres strain No. 4 has the greatest virulence against soy than strain No. 5. Isolation of D. eres isolates in 100% of cases from injury sites confirms the viability of the micromycete on this substrate. However, a low percentage of mushroom isolation from fragments taken above the inoculation site indicates a low aggressiveness of the species against soybeans. Strain No. 1 isolated from soybean plants at the experimental site proved to be a pathogen, which was confirmed by Koch's postulates.

Keywords: *Diaporthe*, phytopathogenic fungi, soy.

For citation: Kabotov E.E., Shumilova L.P.. Patogennost' gribov roda *Diaporthe* v otnoshenii soi [Pathogenicity of fungi of the genus *Diaporthe* in relation to soy]. *Agronauka. – Agroscience*. 2023; 1; 1: 77–80. (in Russ.)

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – одна из основных белково-масличных возделываемых культур во всем мире, объемы ее выращивания с каждым годом увеличиваются. Амурская область является лидером производства сои в России, на территории области располагается до 40% от всех посевов сои страны [1]. Увеличение площадей возделывания сои сопровождается ростом численности фитопатогенных микроорганизмов. В первую очередь это касается грибов, в том числе из рода *Diaporthe*. Представители рода Diaporthe широко распространены и известны как сапротрофы, эндофиты и фитопатогены, вызывающие заболевания у широкого круга растений [2].

В составе патокомплекса возбудителей сои одними из наиболее вредоносных являются представители рода Diaporthe. В Амурской области невозможно провести оценку распространения грибов комплекса *Diaporthe/Phomopsis* из-за отсутствия полноценных исследований [3, 4]. Первое упоминание о грибах *Diaporthe/Phomopsis* датировано 1964 годом [5], когда были обнаружены Phomopsis picea v. Hohn. на зверобое и P. subordinaria Trav. на подорожнике. Следующая находка представителей рода *Diaporthe* сделана относительно недавно на плодово-ягодных культурах. Изначально в культуре клеток in vitro абрикоса, а затем с побегов абрикоса маньчжурского, впервые был выделен и идентифицирован молекулярными методами вид *D. eres* Nitschke [6]. *D. eres* является патогенным видом для ряда растений из семейств: *Fagaceae, Juglandaceae, Malvaceae, Rutaceae, Ulmaceae, Vitaceae* и др. [1].

Вопрос о патогенности *D. eres* в отношении сои является несомненно значимым, поскольку встречаются единичные работы, доказывающие связь этого вида микромицета с гниением семян сои. Результаты этих исследований показали, что изоляты *D. eres* различаются по агрессивности [7, 8]. Для уточнения филогенетической специализации D. eres требуются дополнительные исследования. Поэтому целью нашего исследования явилась оценка патогенности грибов рода Diaporthe по отношению к сое при искусственной инокуляции в условиях вегетационного опыта.

Материалы и методы

Объекты исследования: растения сои двух сортов – Сентябринка и Китросса; три штамма грибов рода *Diaporthe*. Штамм № 1 был выделен в 2021 г. с растений сои сорта Сентябринка, произрастающих на опытных участках ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои (Амурская обл., Тамбовский р-н., с. Садовое). Идентифицирован этот штамм по культурально-морфологическим признакам до рода *Diaporthe sp*. Штаммы № 4 и № 5 были выделены с побегов абрикоса и идентифицированы молекулярно-генетическими методами как *D. eres* [6].

Растения сои для инокуляции выращивали в вегетационном домике на базе ВНИИ сои в 2022 г, посев производили 30.05.2022 г. Для набивки сосудов использовали почву длительного стационарного опыта института сои.

Для дополнительных исследований сою выращивали в вегетационном домике на территории АФ БСИ ДВО РАН, посев производили 19.08.2022 г. Для набивки сосудов использовали субстрат (смесь песка и почвы в соотношении 1:2), который предварительно протравили "Тиовитом" и "Фуфанолом нова".

Заражение здоровых растений сои проводили методом искусственной инокуляции (13.08.2022 г.) на стадии формирования бобов. В качестве инокулюма использовали агаровые блоки, высеченные из 10-дневной чистой культуры гриба, выращенные на среде Чапека. В качестве контроля использовали агаровые блоки, высеченные из чистой питательной среды, без мицелия гриба. Агаровые блоки прикладывали к искусственно созданным механическим повреждениям на стеблях сои. Место ранения дезинфицировали 70% спиртом, после чего прикладывали агаровый блок площадью 1 см^2, фиксировали ваткой, смоченной в стерильной воде, далее обертывали место повреждения пищевой пленкой. Всего было инокулировано 35 экземпляров сои – по 10 экземпляров каждым штаммом, контрольный вариант представлен 5 растениями. Сбор экспериментальных образцов после инокулирования осуществляли 21.09.2022 г. Из фрагментов стеблей, прошедших предварительную поверхностную стерилизацию, выделяли грибы в чистую культуру. Видовую принадлежность повторно выделенных изолятов определяли по культурально-морфологическим признакам.

Второй эксперимент заключался в искусственном заражении сои на стадии цветения, которую осуществили 10.10.2022 г. Заражение опытных растений сои проводили тождественно описанному выше. Шаммами *D. eres* (№ 4 и № 5), выделенными с побегов абрикоса, было инокулировано 43 экземпляра сои – 20 сорта Сентябринка и 10 сорта Китросса; контрольный вариант был представлен 13 растениями.

Для акклиматизации к лабораторным условиям сосуды с растениями поместили в климатические камеры (06.10.2022 г.), поддерживающие оптимальные условия для роста растений: влажность – 50%; температура – 24°C; фотопериод – 16 часов. Сбор образцов для повторного выделения грибов осуществляли 22.11.2022 г.

Результаты

За вегетационный период на исследуемых растениях не было отмечено симптомов, характерных для заболеваний, вызываемых комплексом *Diaporthe/Phomopsis*. Вследствие чего, отбор образцов осуществляли на стадии полной спелости бобов в конце сентября. В период сбора образцов на растениях сои наблюдали симптомы в виде некротических пятен на стеблях, особенно в местах инокуляции, усыхание растений и формирование пикнид на поверхности стеблей. Контрольные растения оставались зелеными, чистыми, не усохшими.

На растениях, зараженных штаммом № 1, при визуальном осмотре наблюдали симптомы в виде обширных некротических повреждений, охватывающих большую часть стебля выше и ниже места инокуляции. Пикниды на поверхности растений были немногочисленными. Наличие обширной площади некрозов во всех 10 вариантах и повторное выделение Diaporhte sp. отвечает постулатам Коха и подтверждает его патогенность по отношению к сое.

При заражении сои *D. eres* (штаммами №№ 4 и 5) симптомы поражения были менее выражены. Инокуляция штаммом № 5 сопровождалась некрозами до 1 см. В 100% случаях наблюдали пикнидиальное спороношение характерное для *D. eres*, поэтому повторное выделение гриба происходило в 100%.

Симптомы заражения штаммом № 4 также проявлялись в виде некротических пятен размерами в среднем около 2 см. Пикнидиальное спороношение на стеблях проявлялась только в 40% случаях. Наличие более обширных некрозов может свидетельствовать о бо̀льшей агрессивности этого штамма, чем штамма № 5. Из фрагментов с поранением в 100% был повторно выделен гриб *D. eres.* Выделить гриб из ткани стеблей выше мест искусственного повреждения не удалось. Из растений контрольного варианта грибы рода Diaporhte не выделены.

Поскольку не представлялось возможным выделить патоген с мест выше инокуляции из-за обильного пикнидообразования на стеблях, был проведен эксперимент по заражению более молодых растений сои на стадии цветения. Через 43 дня после заражения на растениях также не было отмечено симптомов, характерных для болезней, вызываемых грибами патокомплекса *Diaporthe/ Phomopsis*. Растения сои оставались зелеными, признаки усыхания отсутствовали. После инокуляции растения сои продолжали расти и образовывать бобы.

Из поврежденных фрагментов сои сортов Сентябринка и Китросса в 100% случаев выделяли *D. eres*. Некротическая ткань наблюдалась только в месте поранения. Только в 10% случаев гриб был выделен из междоузлий, взятых выше места инокуляции. При этом штамм № 4 выделяли чаще, что указывает на его бо̀льшую агрессивность по сравнению со штаммом № 5 и подтверждает результаты предыдущего эксперимента. Стоить отметить, что все случаи выделения гриба с междоузлий, зафиксированы на сое сорта Сентябринка. По-видимому, данный сорт является менее устойчивым, чем сорт Китросса. В целом невысокий процент выделения *D. eres* из междоузлий свидетельствует о низкой агрессивности исследуемого вида в отношении сои.

Таким образом, подтвержденные постулаты Коха свидетельствуют о патогенности Diaporhte sp. (штамм № 1) в отношении сои. Установлено, что *D. eres* штамм № 4 обладает наибольшей вирулентностью в отношении сои, чем штамм № 5. Выделение изолятов *D. eres* в 100% случаев с мест поранения, подтверждает жизнеспособность микромицета на данном субстрате. Однако, невысокий процент выделения гриба из фрагментов, взятых выше места инокуляции, свидетельствует о низкой агрессивности вида в отношении сои.

Данные исследования расширяют представления о фитопатогенных грибах Амурской области. Необходимо изучать биоразнообразие фитопатогенных грибов растений дальневосточной флоры, их филогенетическую специализацию и патогенность по отношению к растениям.

Список источников

1. Амурская область соя // Информационное агентство "Зерно Он-Лайн". 2022. URL: https://www.zol.ru/amurskaya-oblast-soya.htm (дата обращения: 12.02.2023).

2. Udayanga D., Liu X., McKenzie E.H.C. [et al.] The genus Phomopsis: Biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. Fungal diversity. 2011. – Vol. 50, № 1. P. 189-225. DOI: 10.1007/s13225-011-0126-9.

3. Ручков Е.Р., Сурина Т.А. Особо опасные грибные болезни сои, имеющие значение для стран-им-

портеров отечественной продукции. Научные исследования. 2019. № 2. С. 38-43.
4. Заостровных В.И., Кадуров А.А., Дубовицкая Л.К., Рязанова О.А. Мониторинг видового состава болезней сои в различных зонах соесеяния. Дальневосточный аграрный вестник. 2018. Т. 48, № 4. С. 51-67. DOI: 10.24411/1999-6837-2018-14081. – EDN YUNQTJ.
5. Нелен Е.С. Грибы микромицеты юга Амурской области и закономерности их распределения. 1964. Вып. XIII. С. 13-32.
6. Nekrasov E.V., Shumilova L.P., Gomzhina M.M. [et al.] Diversity of Endophytic Fungi in Annual Shoots of Prunus mandshurica (Rosaceae) in the South of Amur Region, Russia. Diversity. 2022. № 14. P. 1124. DOI: 10.3390/d14121124.
7. Petrović K., Vidić M., Riccioni L. [et al.] First Report of Diaporthe eres Species Complex Causing Seed Decay of Soybean in Serbia. Plant Disease. 2015. Vol. 99, № 8. Doi:10.1094/PDIS-01-15-0056-PDN.
8. Hosseini B., El-Hasan A., Link T. [et al.] Analysis of the species spectrum of the Diaporthe/Phomopsis complex in European soybean seeds. Mycol. Progress. 2020. Vol. 19. P. 455-469. DOI:10.1007/s11557-020-01570-y.

References

1. Amurskaya oblast` soya // Informacionnoe agentstvo "Zerno On-Lajn". 2022. URL: https://www.zol.ru/amurskaya-oblast-soya.htm (data obrashheniya: 12.02.2023).
2. Udayanga D., Liu X., McKenzie E.H.C. [et al.] The genus Phomopsis: Biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. Fungal diversity. 2011. – Vol. 50, № 1. R. 189-225. DOI: 10.1007/s13225-011-0126-9.
3. Ruchkov E.R., Surina T.A. Osobo opasny`e gribny`e bolezni soi, imeyushhie znachenie dlya stran-importerov otechestvennoj produkcii. Nauchny`e issledovaniya. 2019. № 2. S. 38-43.
4. Zaostrovny`x V.I., Kadurov A.A., Duboviczkaya L.K., Ryazanova O.A. Monitoring vidovogo sostava boleznej soi v razlichny`x zonax soeseyaniya. Dal`nevostochny`j agrarny`j vestnik. 2018. T. 48, № 4. S. 51-67. DOI: 10.24411/1999-6837-2018-14081. – EDN YUNQTJ.
5. Nelen E.S. Griby` mikromicety` yuga Amurskoj oblasti i zakonomernosti ix raspredeleniya. 1964. Vy`p. XIII. S. 13-32.
6. Nekrasov E.V., Shumilova L.P., Gomzhina M.M. [et al.] Diversity of Endophytic Fungi in Annual Shoots of Prunus mandshurica (Rosaceae) in the South of Amur Region, Russia. Diversity. 2022. № 14. R. 1124. DOI: 10.3390/d14121124.
7. Petrović K., Vidić M., Riccioni L. [et al.] First Report of Diaporthe eres Species Complex Causing Seed Decay of Soybean in Serbia. Plant Disease. 2015. Vol. 99, № 8. Doi:10.1094/PDIS-01-15-0056-PDN.
8. Hosseini B., El-Hasan A., Link T. [et al.] Analysis of the species spectrum of the Diaporthe/Phomopsis complex in European soybean seeds. Mycol. Progress. 2020. Vol. 19. R. 455-469. DOI:10.1007/s11557-020-01570-y.

Информация об авторах

К.Э. Каботов – аспирант, инженер;
Л.П. Шумилова – канд. биол. наук, мл. науч. сотр.

Information about the authors

E.E. Kabotov – Postgraduate Student, engineer;
L.P. Shumilova – Cand. Biol. Sci., Junior Researcher

Статья поступила в редакцию 13.02.2023; одобрена после рецензирования 27.02.2023; принята к публикации 15.03.2023

The article was submitted 13.02.2023; approved aftee reviewing 27.02.2023; accepted for publication 15.03.2023