

ЗАРАЖЕНИЕ СОИ В УСЛОВИЯХ *IN VIVO* ГРИБАМИ *DIAPORTHE ERES*© 2024 г. Л. П. Шумилова<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, Е. Э. Каботов<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН,  
675000, Благовещенск, пер. Релочный, 1<sup>2</sup>Амурский филиал Ботанического сада-института Дальневосточного отделения РАН,  
675000, Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 2-й км  
E-mail: Shumilova.85@mail.ru

Исследования проводили с целью оценки патогенности вида *Diaporthe eres* в отношении сои с использованием методов искусственного заражения для уточнения филогенетической специализации грибов *Diaporthe*. Работу выполняли в 2021–2023 гг. в Амурской области в условиях вегетационного опыта. Объектами исследования были растения сои скороспелого сорта Сентябрька и среднеспелого Китросса, а также два штамма микроскопических грибов вида *Diaporthe eres*. Идентификацию грибов *Diaporthe* осуществляли по культурально-морфологическим признакам и молекулярно-генетическими методами. Заражение проводили в разные фазы развития сои, азаровые блоки с инокулюмом помещали на искусственно созданные механические повреждения на стеблях. Для подтверждения проникновения *D. eres* через естественные пути инокулировали листья сои с использованием суспензии спор исследуемых штаммов. Появление симптомов болезни и повторное выделение *D. eres* из ткани зараженного растения свидетельствуют о проявлении патогенных свойств вида в отношении сои. Два исследованных штамма *D. eres* проявляли в отношении сои более низкую агрессивность (уровень инфицированности не превышал 10 %), чем штамм *Diaporthe sp.-1*, выделенный с сои (уровень инфицированности 100 %). Штамм *D. eres MF-Pm-4a* оказался более агрессивным, чем *D. eres MF-Pm-5a*, так как частота его повторного выделение из мест инокуляции была выше на 20 %, а в 10 % случаев он был выделен из мест вне инокуляции. Более молодые растения сои в фазе развития R-1 оказались более устойчивыми, на 40 сутки после инокулирования на них не наблюдали видимых симптомов болезни. Заражение сои в фазе развития R-3 характеризуется очень коротким инкубационным периодом – 15 суток. Среднеспелый сорт сои Китросса оказался более устойчивым, чем скороспелый сорт Сентябрька.

INFECTION OF SOYBEAN *IN VIVO* WITH THE FUNGI *DIAPORTHE ERES*L. P. Shumilova<sup>1</sup>, E. E. Kabotov<sup>2</sup><sup>1</sup>Institute of Geology and Nature Management, Far Eastern branch, Russian Academy of Sciences,  
675000, Blagoveshchensk, per. Relochnyi, 1<sup>2</sup>Amur branch of the Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,  
675000, Blagoveshchensk, Ignat'evskoe shosse, 2-i km  
E-mail: Shumilova.85@mail.ru

Studies were carried out to assess the pathogenicity of the *Diaporthe eres* species in relation to soybeans using artificial infection methods to clarify the phylogenetic specialization of *Diaporthe* fungi. The work was carried out in 2021–2023 in the Amur region under conditions of pot experiment. The objects were soybean plants of the early-ripening variety Sentyabrinka and mid-ripening Kitrossa, as well as two strains of microscopic fungi *Diaporthe eres*. Identification of *Diaporthe* fungi was carried out by molecular genetic methods and according to cultural and morphological characteristics. Infection of soybean was carried out at different stages development, agar blocks with inoculum were placed on artificially created mechanical damage on the stems. To confirm the penetration of *D. eres* through natural routes, soybean leaves were inoculated of the studied strains spores suspension. The appearance of disease symptoms and repeated isolation of *D. eres* from the tissue of an infected plant indicate the manifestation of pathogenicity of the species towards the soybean. Two studied strains of *D. eres*, previously isolated from apricot shoots, exhibit low aggressiveness towards soybean (the infection rate did not exceed 10 %) as compared with a strain of *Diaporthe sp.* isolated from a soybean plant (the infection rate was 100 %). The *D. eres MF-Pm-4a* strain turned out to be more aggressive than *D. eres MF-Pm-5a*, since the frequency of its repeated isolation from inoculation sites was 20 % higher, and in 10 % of cases it was isolated from non-inoculation sites. Younger soybean plants in the R-1 development phase turned out to be more resistant, they had a longer incubation period, and no visible symptoms of the disease were noted on the 40th day after inoculation. Soybean infection in the R-3 development phase is characterized by a very short incubation period – 15 days. The mid-ripening soybean variety Kitrossa was found to be more resistant than the early-ripening variety Sentyabrinka.

**Ключевые слова:** *Diaporthe eres*, *in vivo*, *Glycine max*, агрессивность, инокуляция, грибы, патогенность.

**Keywords:** *Diaporthe eres*, *in vivo*, *Glycine max*, aggressiveness, inoculation, fungi, pathogenicity.

*Diaporthe eres* Nitschke – эндофит и фитопатоген из отдела *Ascomycota* порядка *Diaporthales* семейства *Diaporthaceae* [1, 2, 3]. Литературные данные о распространении грибов рода *Diaporthe* на территории России и их филогенетическая специализация на сегодняшний день неоднозначны и требуют уточнения [4].

Распространению отдельных видов грибов рода *Diaporthe* способствуют их стратегия выживания и наличие разнообразных адаптаций. Как эндофиты они

могут сосуществовать с некоторыми видами растений, не вызывая заболеваний, но поменяв хозяина могут проявлять себя как фитопатогены. Расширение спектра питающих растений может происходить из-за аборигенных видов, что зачастую приводит к возникновению новых консортивных связей. Кроме того, известно, что на одном растении могут существовать несколько видов грибов из рода *Diaporthe* [4]. Уточнение трофности и филогенетической специализации грибов, выявление

потенциальных резерватов инфекции и установление их патогенности в отношении растений на сегодняшний день считают актуальными задачами.

Один из наиболее распространенных на территории России видов *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvetk., Mihaljč et M. Petrov – возбудитель фомопсиса подсолнечника [5]. Известно, что с подсолнечником могут быть ассоциированы еще 13 видов рода *Diaporthe*, в том числе *D. eres* и *D. phaseolorum* [4]. Точная видовая идентификация грибов *Diaporthe* возможна только с использованием методов молекулярной филогении. Благодаря молекулярным исследованиям в России выявлен *Diaporthe eres* на солянке [6], *D. phaseolorum* на томате и сое [7, 8]. В Амурской области *D. helianthi* ранее не отмечали, однако наличие подсолнечника в агроценозах создает потенциальный фитосанитарный риск для появления и дальнейшего распространения этого карантинного вида. При этом достоверно обнаружены такие опасные и экспортно значимые для приграничных регионов, к которым относят Амурскую область, виды, как *D. eres* на абрикосе [9], *D. longicolla* (Hobbs) J. M. Santos, Vrandečić et A.J.L. Phillips и *D. phaseolorum* (Cooke et Ellis) Sacc. на сое [10, 11]. Поскольку на территории Амурской области располагается до 40 % всех посевов сои страны, вопросы о распространении грибов рода *Diaporthe*, их филогенетической специализации и патогенности остаются открытыми. Согласно результатам последних исследований, круг возбудителей болезней сои из представителей этого комплекса достаточно широк [12, 13]. Хотя *D. eres* – патоген, не подтвержденный для сои, встречаются работы, в которых указано, что грибы этого вида провоцируют гниение семян культуры, а выделенные изоляты различаются по агрессивности [14, 15]. Присутствие *D. eres* в фитоценозах Амурской области увеличивает риски распространения фитопатогенных грибов из-за расширения круга растений-хозяев.

Цель исследования – оценка патогенности вида *Diaporthe eres* в отношении сои для уточнения филогенетической специализации грибов *Diaporthe*.

**Методика.** Объектами исследования были растения сои (*Glycine max* (L.) Merr.) высокопродуктивных сортов, возделываемых в Амурской области – скороспелого Сентябрянка и среднеспелого Китросса, два штамма микроскопических грибов *Diaporthe eres* – *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a, которые были выделены с побегов абрикоса маньчжурского *Prunus mandshurica* (Maxim.) Koehne, произрастающего в искусственных насаждениях

в окрестностях г. Благовещенска (Амурская обл.). Молекулярная характеристика и филогенетический анализ сходства изолятов *D. eres* представлены в работе [9].

Для выявления штаммовых и видовых различий между грибами сою дополнительно инокулировали неидентифицированным видом *Diaporthe*, который был выделен в 2021 г. на опытных полях Всероссийского научно-исследовательского института (ВНИИ) сои (Амурская обл., Тамбовский р-н., с. Садовое) с растений сорта Сентябрянка – *Diaporthe* sp.-1.

До рода идентификацию штамма *Diaporthe* sp.-1 осуществляли по культурально-морфологическим признакам методом световой микроскопии с использованием микроскопов Микромед 1 (вар. 3-20) (Микромед, Россия) и AxioLab. A1 (CarlZeiss, Германия). Для этого чистую культуру выращивали на питательных средах Чапека и картофельно-декстрозном агаре (PDA) при комнатной температуре. Изолят очень скудно спорулировал. Для активации процесса спорообразования использовали УФ-лампу с длиной волны 200...280 нм, облучению подвергали 30-дневные культуры по 15 мин 4 раза, интервал между сеансами – 2 дня.

Для подтверждения патогенности *Diaporthe eres* в отношении сои растения для инокуляции выращивали в вегетационном домике на базе ВНИИ сои в 2022 г. Набивку сосудов осуществляли почвой с длительного стационарного опыта ВНИИ сои. В качестве инокулома использовали агаровые блоки, высеченные из 10-суточной чистой культуры гриба, выращенной на среде Чапека, в контроле – агаровые блоки, высеченные из чистой питательной среды, без мицелия гриба. Агаровые блоки прикладывали к искусственно созданным механическим повреждениям на стеблях сои. Место поранения дезинфицировали 70 %-ным спиртом, после чего прикладывали агаровый блок площадью 1 см<sup>2</sup>, фиксировали ватой, смоченной в стерильной воде, затем обертывали место повреждения пищевой пленкой. Инокуляцию здоровых растений сои проводили на стадии формирования бобов (R-3), отбор образцов осуществляли на стадии полной спелости бобов (R-8). Всего было инокулировано 35 растений сорта Сентябрянка (табл. 1). Отбор образцов для реинокуляции проводили на 40-е сутки после инокуляции.

Для выявления восприимчивости сои к заражению в зависимости от возраста растений дополнительно инфицировали растения сорта Сентябрянка и Китросса в начале цветения (R-1). Исследования проводили в вегетационном домике на территории АФ БСИ ДВО РАН (Амурская обл., Благовещенск). Сосуды набивали субстратом (смесь песка и почвы в соотношении 1:2), который предварительно протравливали препаратами Тиовит и Фуфанол нова. Поскольку эксперименты выполняли в разное время, почву использовали согласно новой локации. На рост и развитие сои это не влияло.

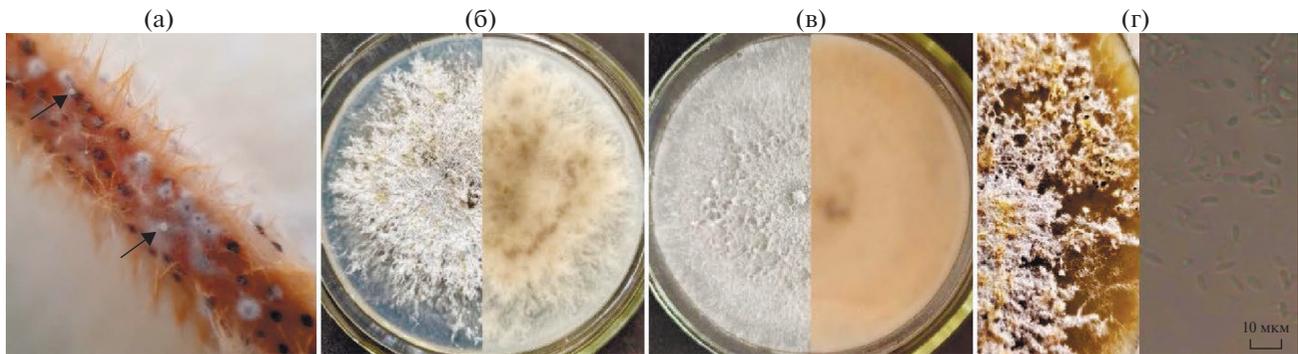
Заражение опытных растений сои проводили методом агаровых блоков аналогично описанному ранее. Инокулировано 53 растения сои (см. табл. 1). Сосуды с инфицированными растениями помещали в климатические камеры, поддерживающие оптимальные условия для их роста: влажность – 50 %, температура – 24 °С, фотопериод – 16 ч. Отбор образцов для реинокуляции проводили на 40-е сутки после инокуляции.

Для подтверждения проникновения патогена через естественные пути листья сои инокулировали суспензией спор штаммов *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a. Растения сортов Сентябрянка и Китросса выращивали в вегетационном домике АФ БСИ ДВО РАН в 2023 г. Листья для инокуляции отбирали на стадии R-1 с визуально здоровых растений, на которых не наблюдали

Табл. 1. Схема опытов

Инокуляция методом агаровых блоков (фаза развития сои R-3)		Инокуляция методом агаровых блоков (фаза развития сои R-1)		Инокуляция листьев суспензией спор	
сорт сои/штамм	повторность	сорт сои/штамм	повторность	сорт сои/штамм	повторность
Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-4a	10	Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-4a	10	Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-4a	12 (6+6)*
Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-5a	10	Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-5a	10	Сентябрянка/ <i>D. eres</i> MF-Pm-5a	12 (6+6)
Сентябрянка/ <i>Diaporthe</i> sp.-1	10	Китросса/ <i>D. eres</i> MF-Pm-4a	10	Китросса/ <i>D. eres</i> MF-Pm-4a	12 (6+6)
Контроль	5	Китросса/ <i>D. eres</i> MF-Pm-5a	10	Китросса/ <i>D. eres</i> MF-Pm-5a	12 (6+6)
	35	Контроль	13	Контроль	8+8
			53		64

\*абаксиальная и адаксиальная стороны листьев.



**Рис. 1. Морфологические признаки *Diaporthe* sp.-1: а) спорующие пикниды на стебле сои; б) колония / реверс на среде Чапека, 21-е сутки; в) колония / реверс на среде PDA, 21-е сутки; г) колония с пикнидами на среде Чапека после УФ-облучения, 35-е сутки /  $\alpha$ -конидии.**

симптомов, характерных для поражения грибами рода *Diaporthe*. После этого их помещали в чашки Петри на стерильную увлажненную фильтровальную бумагу. В качестве инокулюма использовали суспензию спор грибов, полученную смывом конидий с поверхности 6-недельных грибных колоний, выращенных на среде Чапека. Аликвота инокулюма составляла 50 мкл, концентрация спор  $\sim 1,7 \times 10^6$  КОЕ/мл. Инокулюм наносили на абаксиальную и адаксиальную стороны листьев. Всего было заражено 64 листа сои (см. табл. 1). В контрольном варианте в качестве инокулюма использовали стерильную воду.

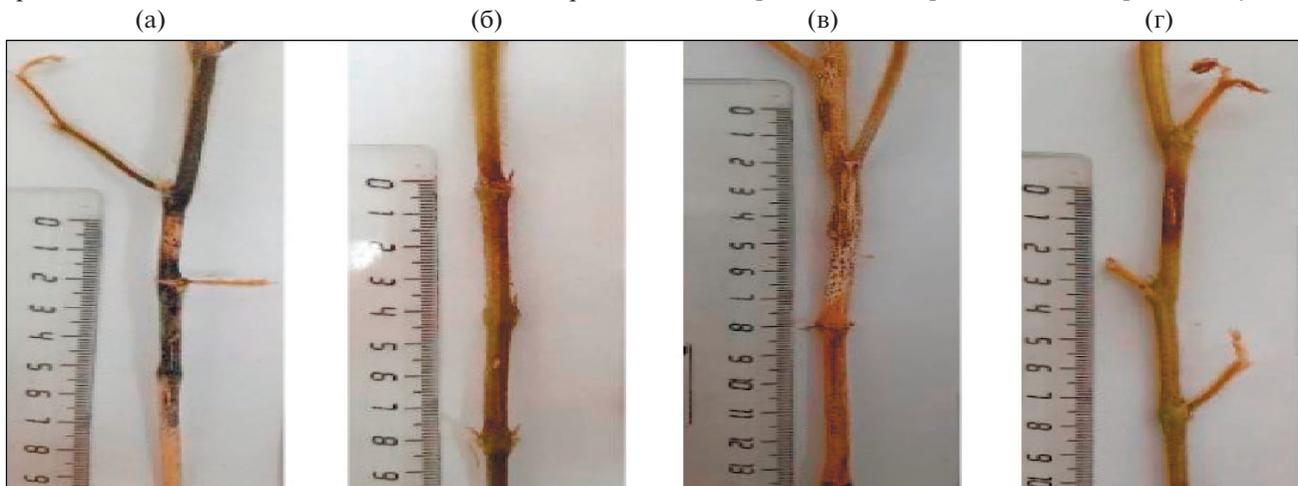
Перед реинокуляцией патогена в чистую культуру проводили поверхностную стерилизацию фрагментов. Их промывали водопроводной водой, затем 10 минут замачивали в 3 %-ной перекиси водорода, далее в течение 5 минут (для листьев 1...2 мин) обрабатывали 70 %-ным спиртом, после чего 2...3 раза промывали стерильной водой. Стерильные фрагменты раскладывали в чашки Петри с питательной средой Чапека и культивировали при комнатной температуре. Видовую принадлежность повторно выделенных изолятов определяли по культурально-морфологическим признакам с использованием световой микроскопии. За уровень инфицированности принимали процент повторного выделения патогена из ткани вне места инокуляции, то есть учитывали патоген, развивающийся только внутри самого растения.

Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Office Excel. Рассчитывали стандартное

отклонение и статистическую значимость различий средних величин по t-критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Анализ фрагментов генов VT и EF1- $\alpha$  штаммов *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a при идентификации подтвердил их расположение в пределах видового комплекса *Diaporthe eres*. Штаммы *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a имеют разные нуклеотидные замены в генах, кодирующих  $\beta$ -тубулин и фактор элонгации трансляции 1- $\alpha$ , и находятся в разных кластерах в пределах вида *D. eres* [9]. Виды рода *Diaporthe* очень полиморфны, разные изоляты могут образовывать отдельные клады на филогенетических деревьях в зависимости от локуса, используемого для филогенетического анализа. Изоляты, составляющие разные клады даже в пределах вида, могут различаться по своей агрессивности в отношении растений-хозяев [16, 17]. Поэтому для выявления штаммовых различий вида в пределах комплекса мы выбрали штаммы из разных генотипических кластеров.

Штамм *Diaporthe* sp.-1 был изолирован с *Glycine max* и по морфолого-культуральным признакам идентифицирован до рода *Diaporthe* (рис. 1). В чистой культуре на среде Чапека *Diaporthe* sp.-1 образует ризоидные колонии с белым воздушным мицелием, присутствуют зоны с желто-зеленой пигментацией, с возрастом колонии темнеют. Реверс, начиная с центра, развивает темную пигментацию, которая с возрастом становится интенсивнее. На среде PDA *Diaporthe* sp.-1 образует быстрорастущие войлочные плотные колонии белого цвета; гриб достигает границ чашки Петри на 5-е сутки.



**Рис. 2. Внешний вид стеблей сои после инокуляции на 40-е сутки: а) зараженный штаммом *Diaporthe* sp.-1; б) контроль; в) зараженный штаммом *D. eres* MF-Pm-5a; г) зараженный штаммом *D. eres* MF-Pm-4a.**

Реверс пигментирован только в центре (рис. 1 б, в). На 50...60-е сутки культивирования образуются немногочисленные черные округлые пикниды, размер которых не превышает 150...260 мкм (рис. 1 г). После первого УФ-облучения на 33 сутки культивирования начали образовываться пикниды; после четырех сеансов единичные пикниды стали выделять желтую полупрозрачную массу, содержащую альфа-конидии, бета-конидии отсутствовали (рис. 1 г). Альфа-конидии были одноклеточными, эллипсоидными, размером в среднем  $6,2 \pm 0,7 \times 2,3 \pm 0,3$  мкм ( $n=45$ ). Из-за отсутствия и медленного спорообразования, высокой межвидовой и внутривидовой изменчивости в пределах рода видовую идентификацию необходимо осуществлять с использованием молекулярно-генетических методов [18, 19, 20].

До инокулирования растения сои в период вегетации от всходов до формирования бобов были визуально здоровы; симптомов, характерных для заболеваний, вызываемых комплексом видов *Diaporthe*, не отмечали. При отборе образцов для реинокуляции на растениях наблюдали симптомы в виде некротических пятен на стеблях в местах инокуляции, усыхание листьев и формирование пикнид на поверхности стеблей. Контрольные растения не усыхали и оставались зелеными.

После сбора растительных образцов, зараженных *Diaporthe* sp.-1, при визуальном осмотре наблюдали симптомы в виде обширных некротических повреждений, охватывающих большую часть стебля выше и ниже места инокуляции (рис. 2 а). Появившиеся некротические пятна распространялись практически по всему стеблю, что со временем приводило к гибели растений, при этом пикниды на поверхности были немногочисленными. Наличие обширной площади некрозов на всех экспериментальных образцах и повторное выделение *Diaporthe* sp.-1 из них подтверждает его патогенность по отношению к сое.

При заражении сои штаммами *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a некротические поражения были менее выражены, по сравнению с повреждениями, вызываемыми *Diaporthe* sp.-1 (рис. 2 в, г). Относительно контроля размеры некрозов были значительно больше (табл. 2). В местах поранений и инокуляции *D. eres* MF-Pm-5a отмечены некрозы размерами ~1,3 см. Штамм *D. eres* MF-Pm-4a приводил к образованию некротических пятен, размер которых в среднем составлял ~2,3 см. Более обширные некрозы свидетельствуют о повышенной скорости распространения патогена по тканям и косвенно указывают на большую агрессивность штамма *D. eres* MF-Pm-4a, по сравнению с *D. eres* MF-Pm-5a.

На поверхности живых растений сои, зараженных штаммами *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a, наблюдали пикнидиальное спороношение, характерное для грибов рода *Diaporthe*. Повторное изолирование *D. eres* из фрагментов, отобранных выше мест инокулирования, составляло 100 % из-за повсеместного присутствия пикнид. Из фрагментов контрольных растений грибы рода *Diaporthe* не выделены.

Патогенность штамма *Diaporthe* sp.-1 в отношении сои была доказана и проверена постулатами Коха, для *D. eres* MF-Pm-4a и *D. eres* MF-Pm-5a она не подтвердилась, поэтому в дальнейших исследованиях использовали только эти штаммы. Растения сои, инокулированные на стадии R-1, оставались зелеными, пикниды на их поверхности не обнаруживали, признаки усыхания листьев отсутствовали, растения продолжали развиваться и образовывать бобы. На 40-е сутки после инокуляции некротические пятна, размеры которых в среднем составляли ~2 см, наблюдали на зараженных растениях

Табл. 2. Патогенность штаммов рода *Diaporthe* в отношении сои

Штамм	Средняя длина некроза, см ± стандартное отклонение		Частота повторного выделения из места инокуляции, %		Частота выделения из ткани вне места инокуляции, %	
	Сентяб-ринка	Китросса	Сентяб-ринка	Китросса	Сентяб-ринка	Китросса
<b>Инокуляция методом агаровых блоков (фаза развития сои R-3)</b>						
Контроль	0,50±0,05	-	0	-	0	-
<i>D. eres</i>	2,30±0,60*	-	60	-	100	-
MF-Pm-4a						
<i>D. eres</i>	1,30±0,30	-	100	-	100	-
MF-Pm-5a						
<i>Diaporthe</i> sp.-1	по всей длине стебля	-	100	-	100	-
<b>Инокуляция методом агаровых блоков (фаза развития сои R-1)</b>						
Контроль	0,50±0,05	0,50±0,05	0	0	0	0
<i>D. eres</i>	2,00±0,50	2,10±0,50	70	66	10	0
MF-Pm-4a						
<i>D. eres</i>	1,80±0,50	2,10±0,20	54	43	0	0
MF-Pm-5a						
<b>Инокуляция листьев суспензией спор</b>						
Контроль	0	0	0	0	0	0
<i>D. eres</i>	0,50±0,10	0,50±0,10	60	40	10	0
MF-Pm-4a						
<i>D. eres</i>	0,50±0,10	0,50±0,10	60	35	0	0
MF-Pm-5a						

\*различия достоверны, по сравнению с контролем, на уровне значимости 0,001; -- сорт не использовали в эксперименте.

исключительно в местах поранения. Размеры некрозов были больше, чем в контроле, в 4 раза (см. табл. 2).

Заражение более молодых растений не вызвало повсеместного появления пикнид на стеблях, что дало возможность повторно выделить патоген. После реинокуляции из фрагментов, взятых выше мест инокуляции, штамм *D. eres* MF-Pm-4a выделяли в 10 % случаев. Повторное выделение патогена только на скороспелом сорте Сентябринка свидетельствует о его меньшей устойчивости к инфицированию, по сравнению со среднеспелым сортом Китросса. Повторное выделение из ткани вне места инокуляции только штамма *D. eres* MF-Pm-4a, а также более высокая (на 20 %) его реинокуляция из мест инокуляции, косвенно указывают на большую агрессивность, по сравнению со штаммом *D. eres* MF-Pm-5a, что согласуется с результатами предыдущего эксперимента. В целом незначительное (10 %) повторное выделение *D. eres* из междоузлий и появление локальных некрозов только в местах поранений свидетельствуют о невысокой агрессивности исследуемого вида гриба в отношении сои.

При заражении сои на стадии развития R-3 отмечали более короткий инкубационный период – появление первых симптомов в виде пикнид на стеблях наблюдали через 15 дней после инокулирования, тогда как при заражении молодых растений на стадии R-1 даже через 40 суток после инокулирования развития видимых симптомов, характерных для болезни, вызываемых комплексом видов *Diaporthe*, не наблюдали.

Существует немало методов искусственного заражения растений, благодаря которым становится возможным определение не только толерантности генотипов растений, но и вирулентности различных изолятов возбудителя. Особенно это актуально для уточнения филогенетической приуроченности узкоспециализированных или факультативных паразитов, а также для изучения потенциальных рисков их распространения. Один из способов распространения грибов рода *Diaporthe* – капельная влага. Для подтверждения возможности проникновения патогена не только через повреждения, но и через

естественные пути, например, устьица, использовали метод искусственного заражения листьев сои суспензией спор без нанесения механических повреждений.

На 10-е сутки после инокуляции на листьях наблюдали некротические пятна, которые по форме и диаметру соответствовали нанесенной капле со спорами и во всех вариантах составляли 0,5 см (см. табл. 2). Сильнее выраженные некрозы отмечали на абаксиальной стороне листовой пластинки, по-видимому, наличие устьичного аппарата способствовало более быстрому и легкому проникновению патогена внутрь тканей. Листья в контроле оставались без повреждений и сохраняли свой первоначальный зеленый цвет.

При реинокуляции через 7...10 суток на питательной среде из образцов некротической ткани в 35...60 % случаев выделяли грибы рода *Diaporthe*, что свидетельствует о явном присутствии их спор/мицелия в некротической ткани (см. табл. 2). В процессе культивирования участков листовых пластинок без видимых признаков некрозов в 10 % случаев выделяли *D. eres*, что подтверждает потенциальную вероятность развития и распространения патогена в тканях листьев сои. Всего лишь 10 %-ное повторное выделение гриба из условно здоровых фрагментов листьев (без видимых некротических повреждений) свидетельствует о низкой агрессивности вида, что согласуется с результатами, полученными в ходе инокулирования молодых растений на стадии R-1. Все случаи повторного выделения *D. eres* были отмечены на листьях сои скороспелого сорта Сентябринка (см. табл. 1), что может свидетельствовать о более высокой устойчивости среднеспелого сорта Китросса.

Наличие спор/мицелия в некротической ткани свидетельствует о возможности развития паразитических взаимоотношений гриба и сои. Кроме того, существует вероятность, что *D. eres* способен колонизировать сою как оппортунист, который при определенных условиях (инфекция, неблагоприятные абиотические факторы) может привести к гибели растения. В последних исследованиях показано, что одно растение может быть поражено более чем одним видом *Diaporthe* [4, 12, 15]. Например, установлено, что *D. eres* входит в состав патокомплекса подсолнечника, и существуют предположения, что возбудитель фомопсиса – комплекс видов рода *Diaporthe* [4]. Благодаря выявленному в нашем исследовании факту, что соя способна поддерживать инокулят *D. eres*, вид может войти в состав патокомплекса и привести к увеличению вредоносности из-за совместного влияния, особенно на менее устойчивые сорта.

**Выводы.** Таким образом, независимо от используемого метода искусственного заражения в условиях *in vivo* доказано, что *Diaporthe eres* проявляет патогенные свойства в отношении сои. Появление симптомов болезни в виде некрозов и пикнидообразования на живых растениях, повторное выделение изолятов из фрагментов, отобранных выше мест инокуляции, подтверждают возможность развития *D. eres* на сое как патогена. Однако незначительная реинокуляция (10 %) из фрагментов зараженных растений свидетельствует о низкой агрессивности вида в отношении сои.

Штаммы из разных генотипических кластеров демонстрируют различную агрессивность по отношению к сое. Штамм *D. eres* MF-Pm-4a более агрессивен, чем *D. eres* MF-Pm-5a, так как частота его повторного выделения из мест инокуляции была выше на 20 %, а из мест вне инокуляции составляла 10 %.

Процесс развития болезни сои в фазе R-1 характеризуется более продолжительным инкубационным

периодом, даже на 40 сутки после инокулирования видимых симптомов болезни не наблюдали. Тогда как при заражении сои в фазе развития R-3 появление первых симптомов в виде пикнид на живых стеблях сои отмечали на 15 сутки после инокулирования. При этом среднеспелый сорт сои Китросса был более устойчивым, чем скороспелый сорт Сентябринка.

Несмотря на низкий патогенный потенциал исследуемых штаммов, возможное присутствие вида *D. eres* в патокомплексе сои может привести к повышению его вредоносности, а соя может способствовать сохранению и дальнейшему распространению вида.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИГиП ДВО РАН по теме № 122041800128-5; БСИ ДВО РАН по теме № 1021060207393-6-1.6.11.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### БЛАГОДАРНОСТИ.

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику, к. б. н. Э. В. Некрасову (АФ БСИ ДВО РАН, г. Благовещенск) за неоценимую помощь на всех этапах исследования.

#### Литература.

1. *Species Fungorum*. URL: <https://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp> (дата обращения: 15.02.2024).
2. *The current status of species in Diaporthe / A. Dissanayake, A. Phillips, K. D. Hyde, et al. // Mycosphere*. 2017. No. 8. P. 1106–1156. doi: 10.5943/mycosphere/8/5/5.
3. *Hulário S., Santos L., Alves A. Diaporthe amygdaly, a species complex or a complex species? // Fungal biology*. 2021. Vol. 125. P. 505–518. doi: 10.1016/j.funbio.2021.01.006.
4. *Gomzhina M. M., Gannibal P. B. Diaporthe species infecting sunflower (Helianthus annuus) in Russia, with the description of two new species // Mycologia*. 2022. Vol. 114. No. 3. P. 556–574. doi: 10.1080/00275514.2022.2040285.
5. *Якуткин В. И., Саулич М. И. Географическая распространённость фомопсиса подсолнечника в России и соседних странах в современных агроценозах // Аграрная наука*. 2019. Т. 2. С. 83–88. doi: 10.32634/0869-8155-2019-326-2-83-88.
6. *First report of stem canker of Salsola tragus caused by Diaporthe eres in Russia / T. Kolomiets, Z. Mukhina, T. Matveeva, et al. // Plant disease*. 2009. Vol. 93. No. 1. Article 110. URL: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-93-1-0110B> (дата обращения: 06.12.2023). doi: 10.1094/PDIS-93-1-0110B.
7. *Фитопатогенный гриб Phomopsis phaseoli: вирулентность и устойчивость к фунгицидам / Е. М. Чудинова, Т. А. Шкункова, Л. Ю. Кокаева и др. // Защита картофеля*. 2019. № 1. С. 14–20.
8. *First report of Phomopsis phaseoli on tomato / S. N. Elansky, L. Y. Kokaeva, A. V. Alexandrova, et al. // Journal of plant pathology*. 2020. Vol. 102. No. 1. P. 236–236. doi: 10.1007/s42161-019-00403-6.
9. *Diversity of endophytic fungi in annual shoots of Prunus mandshurica (Rosaceae) in the south of Amur Region, Russia / E. V. Nekrasov, L. P. Shumilova, M. M. Gomzhina, et al. // Diversity*. 2022. No. 14. Article 1124. URL: <https://www.mdpi.com/1424-2818/14/12/1124> (дата обращения: 15.02.2024). doi: 10.3390/d14121124.

10. Грибные заболевания сои на Дальнем Востоке / И. П. Дудченко, А. А. Кузнецова, Г. Н. Дудченко и др. // Фитосанитария. Карантин растений. 2023. № 4 (16). С. 2–16.
11. Кузьмин А. А. Особенности распространения заболеваний сои на территории Амурской области // Научное обеспечение АПК. 2023. Т. 17. № 2. С. 31–44.
12. *Diaporthe* seed decay of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] is endemic in the United States, but new fungi are involved / K. Petrovic, D. Skaltsas, L. A. Castlebury, et al. // *Plant Disease*. 2021. Vol. 105. P. 1621–1629. doi: 10.1094/PDIS-03-20-0604-RE.
13. The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops / D. Udayanga, L. A. Castlebury, A. Y. Rossman, et al. // *Fungal biology*. 2015. Vol. 119. No. 5. P. 383–407. doi: 10.1016/j.funbio.2014.10.009.
14. The biochemical response of soybean cultivars infected by *Diaporthe* species complex / K. Petrović, J. Šućur Élez, M. Crnković, et al. // *Plants*. 2023. Vol. 12. Article 2896. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/16/2896> (дата обращения: 26.11.23). doi: 10.3390/plants12162896.
15. Analysis of the species spectrum of the *Diaporthe/Phomopsis* complex in European soybean seeds / B. Hosseini, A. El-Hasan, T. Link, et al. // *Mycological Progress*. 2020. Vol. 19. P. 455–469. doi: 10.1007/s11557-020-01570-y.
16. *Diaporthe* diversity and pathogenicity revealed from a broad survey of soybean stem blight China / X. Zhao, K. Li, S. Zheng, et al. // *Plant Disease*. 2022. Vol. 106. P. 2892–2903. doi: 10.1094/PDIS-12-21-2785-RE.
17. Zaw M., Aye S. S., Matsumotos M. *Colletotrichum* and *Diaporthe* species associated with soybean stem diseases in Myanmar // *of General Plant Pathology*. 2020. Vol. 86. P. 114–123. doi: 10.1007/s10327-019-00902-5.
18. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi / R. R. Gomes, C. Glienke, S. I. R. Videira, et al. // *Persoonia*. 2013. No. 13. URL: [https://www.ingentaconnect.com/content/nhn/pimj/2013/00000031/00000001/art00001\\_jsessionid=e9aetb1bnpsjt.x-ic-live-03#](https://www.ingentaconnect.com/content/nhn/pimj/2013/00000031/00000001/art00001_jsessionid=e9aetb1bnpsjt.x-ic-live-03#) (дата обращения: 19.01.2024).
19. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia / J. M. Santos, K. Vrandecic, J. Cosic, T. Duvnjak, et al. // *Persoonia*. 2011. Vol. 27. P. 9–19. doi: 10.3767/003158511X603719.
20. Soybean stem canker caused by *Diaporthe caulivora*; Pathogen diversity, Colonization process, and plant defense activation / E. Mena, S. Steward, M. Montesaño, et al. // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 10. Article 1733. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.01733/full> (дата обращения: 17.02.2024). doi: 10.3389/fpls.2019.01733.

Поступила в редакцию 21.03.2024  
 После доработки 10.04.2023  
 Принята к публикации 14.05.2024