

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ СОИ К БАКТЕРИАЛЬНЫМ БОЛЕЗНЯМ  
НА ИСКУССТВЕННОМ ИНФЕКЦИОННОМ ФОНЕ

Р.И. ТАРАКАНОВ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

Бактериальный ожог (*P. savastanoi* pv. *glycinea* (Psg)) является одним из основных бактериальных заболеваний, снижающих рентабельность выращивания сои. Другой болезнью сои, недавно обнаруженной в России, является ржаво-бурая бактериальная пятнистость (и увядание) (*C. flaccitfaciens* pv. *flaccitfaciens*). Вред, наносимый этими болезнями, появление устойчивых к антибиотикам штаммов бактериальных фитопатогенов и несовершенство имеющихся мер защиты диктуют необходимость поиска альтернативных стратегий. Одним из них является использование устойчивых или малопоражаемых сортов. В работе определен оптимальный метод искусственного заражения растений и проведен скрининг 47 сортов сои, выращиваемых в стране, на восприимчивость к различным штаммам двух патогенов. Показано, что оптимальным способом заражения является срез ножницами, смоченными в суспензии бактерии с концентрацией  $10^8$  КОЕ/мл. Это позволяет получать типичные симптомы болезни с максимальной площадью поражения через 10 дней после инокуляции. Наименее поражаемым был сортобразец Соер 4, а наиболее восприимчивыми – сорта Нордика и Осмонь. Отмечена нетипичная реакция сверхчувствительности в виде абортации тройчатого листа с черешком при инокуляции Psg у сортов Нордика и Опус, а также сорта Максус, после инокуляции Psg и Cff.

**Ключевые слова:** бактериальный ожог, ржаво-бурая пятнистость, вилт, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*, иммунитет, устойчивость, искусственное заражение, бактериоз сои.

## Введение

Соя (*Glycine max* Willd) является основной зернобобовой культурой во всем мире. Выращивание сои имеет большое значение для продовольственной безопасности ввиду того, что данная культура является важным источником белка для питания людей и часто используется в кормлении сельскохозяйственных животных. За 2020 г. в мире было собрано 353,5 млн т с площади 126,9 млн га при средней урожайности 27,8 ц/га [1]. Недобор урожайности и снижение качества сои могут происходить по причине целого ряда факторов, однако наиболее существенными являются сорные растения, вредители и болезни [2–4].

Среди болезней этой культуры бактериальной этиологии бактериальный ожог считается наиболее разрушительным, способствуя снижению урожайности до 40% [5]. Грамотрицательная бактерия *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (Coerper, 1919; Gardan et al., 1992) syn -*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Coerper, 1919; Young et al., 1978) (далее – Psg) является возбудителем бактериального ожога сои [5]. Возбудитель был обнаружен в 41 стране во всех климатических зонах производства сои. Psg поражает все надземные части сои, но характерные симптомы обычно наблюдаются на листьях среднего и верхнего ярусов и на стручках.

Другими болезнями сои бактериальной этиологии являются ржаво-бурая бактериальная пятнистость и увядание, вызванные грамположительной бактерией *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges, 1922) (далее – Cff). Данная бактерия поражает сосудистую систему растения, вызывает пятна на листьях, ожоги, увядание и гибель растений зернобобовых культур (фасоли, сои, гороха, кормовых бобов и др.) [6]. Зараженные растения растут медленно, их листья опадают, побеги отмирают, а основной стебель увядает и ломается. Несмотря на то, что главным растением-хозяином является фасоль (*Phaseolus vulgaris* L.), патоген может вызывать эпифитотии и на сое [7]. Вредоносность патогена заключается в снижении урожайности [8] и качества семян [9].

В настоящее время меры защиты сои от бактериозов носят комплексный характер и включают в себя несколько методов, основными из которых на профилактике болезней являются, в частности, сертификация семян и недопущение попадания зараженных семян в поле [10–12]. К другим мерам борьбы относятся соблюдение севооборота, использование устойчивых сортов и обработка химическими и биологическими агентами, причем наиболее простым и надежным методом защиты является использование устойчивых сортов. К достоинствам данного метода относятся снижение затрат на применение средств защиты растений, и как следствие – меньшее загрязнение продукции пестицидами.

Успех селекции на устойчивость во многом определяется наличием эффективных методов создания искусственного инфекционного фона и сведениями о вирулентности штаммов фитопатогенов. Данное направление в защите зернобобовых от бактериозов развивается в других странах [13, 14], но в России отсутствует информация об устойчивости к бактериозам используемых на производстве сортов сои.

В задачи исследований входило сравнение различных способов создания искусственного инфекционного фона и скрининг коллекции сортов сои, выращиваемых на территории РФ, на устойчивость к Psg и Cff.

### Материал и методика исследований

**Бактериальные штаммы.** В работе использовали по 3 штамма Psg и Cff (табл. 1) из коллекции CFBP (Французская коллекция фитопатогенных бактерий, Beaucouzé, Франция), № 2214 и № 3418, и штаммы, выделенные и описанные нами в предыдущих публикациях [15, 16]. Данные штаммы обладали патогенностью по отношению к растениям сои сорта Касатка при искусственном заражении. Штаммы Psg положительно реагировали с помощью ПЦР-анализа на ген, кодирующий синтез коронофакат лигазы *cfl* [17]; нуклеотидные последовательности фрагментов гена цинтарсинтазы *cts* [18] с высокой степенью гомологии (< 98%) были идентичны сиквенсам штаммов данного вида в генетической базе данных Genbank. Штаммы Cff были охарактеризованы с использованием родоспецифичных [19] и видоспецифичных [20] праймеров.

**Сравнение способов создания инфекционного фона.** Штаммы бактерий CFBP № 2214 и № 3418, являющихся типовыми для Psg и Cff, выращивали на среде King B при 20 (± 2) °C в течение 72 ч. Бактериальные суспензии получали путем добавления 10 мл стерильной дистиллированной воды в каждую чашку Петри и доведения концентрации до  $1-7 \times 10^8$  КОЕ/мл, измеренной при помощи спектрофотометра Nanodrop One. Для лучшего контакта с листом в суспензию добавляли смачивающий агент Silwet Gold (Chemtura, Филадельфия, Пенсильвания, США) до концентрации 0,01%.

Перед заражением растения сорта Касатка (оригинатор ФНАЦ ВИМ) выращивали в торфо-перлитовом субстрате в пластиковых лотках до фазы V3. Растения культивировали в теплице при 28/22°C (в течение 14 ч днем/10 ч ночью) с естественным освещением и поливали по мере необходимости. Сравнивали несколько методов искусственного заражения растений.

## Характеристика штаммов, использованных в исследованиях

Вид бактерии	Штамм	Культура, сорт	Орган изоляции	Место и год изоляции	Ссылка
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	CFBP 2214	<i>Glycine max</i>	Листья	Новая Зеландия, 1968	[21]
	G2	<i>Glycine max</i> , Касатка	Семена	РФ, Амурская область, 2019	[15]
	G17	<i>Glycine max</i> , Касатка		РФ, Хабаровский край, 2021	
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	CFBP 3418	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Листья	Венгрия, 1957	[21]
	F-125–1	<i>Glycine max</i> , Касатка	Семена	РФ, Рязанская область 2021	[16]
	F-30–1	<i>Glycine max</i> , Даурия		РФ, Амурская область 2021	

В первом варианте проводили инфильтрацию суспензии в мезофилл листа при помощи медицинского инъекционного шприца [22]. Данный метод обычно применяется для проверки патогенности бактерий, поражающих лист.

Во втором варианте ножницы замачивали в суспензии бактерий и срезали ими лист перпендикулярно жилкам на глубину 1 см от края, как в случае проверки патогенности *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* [23].

В третьем варианте стерильный пинцет и вату опускали в колбу с суспензией, вату накручивали на оба рычага и сжимали лист сверху и снизу в нескольких местах для создания ранений и возможности суспензии проникнуть в лист.

В четвертом варианте суспензию при помощи шприца вводили в черешок пары примордиальных листьев [6].

В пятом варианте проводили инфильтрацию бактерий при помощи аэрографа 1113 AirControl (JAS, Нинбо, Китай), описанную для инокуляции *Pseudomonas syringae* [24] с модификациями. Для этого тройчатые листья растений заражали на стадии V2, прижимая лист к плоской поверхности (чашка Петри), чтобы избежать повреждения давлением от распыления аэрографа. Все листья были инокулированы из расчета 5 мл суспензии с концентрацией  $10^9$  КОЕ/мл на растение.

Отрицательный контроль опрыскивали эквивалентным количеством воды с использованием смачивающего агента. За два дня до инокуляции и через 24 ч после нее относительную влажность в теплице поддерживали на уровне ~95% при температуре 28/22°C.

Оценку развития заболевания на взрослых растениях проводили на 12-й день после заражения, используя приложение LeafDoctor, установленный на iPhone SE2. Все листья со всех растений были индивидуально сфотографированы и проанализированы путем перемещения ползунка порога до тех пор, пока только симптоматические ткани не были преобразованы в синий оттенок. Вычисления процента пораженных тканей проведены в соответствии с рекомендациями разработчика. Анализировали 3 повторности по 2 растения в каждой.

Для заражения коллекции сортов использовали метод, обеспечивший наибольшую площадь поражения листа при наименьших затратах рабочего времени.

*Условия инокуляции и коллекция сортов.* Сбор коллекции семян сои различных сортов проводили в 2020–2021 гг. с посевов 1–2 репродукций коммерческих фирм в Орловской

и Рязанской областях, Ставропольском и Хабаровском краях. Информация о характеристиках сортов получена с сайта Госсортокмиссии (Государственный реестр селекционных достижений). После сбора семена хранили в бумажных пакетах без доступа света и влаги при +4°C.

Полная характеристика сортов, использованных в исследованиях, представлена в таблице 2.

Таблица 2

**Характеристика сортов сои, использованных в исследованиях**

№ п/п	Сорт	Группа спелости	Оригинатор (страна)	Регион допуска*
1	Асука	ранний	Semences Prograin Inc. (Канада)	5, 6, 12
2	Опус	ранний		5
3	Кофу	ранний		5
4	Сиберия	ранний		5
5	Хана	ранний		5, 6, 12
6	Нордика	ранний		12
7	Максус	ранний		5
8	Аляска	ранний		5
9	Киото	среднеранний		5
10	Соер 4	ранний	ФАНЦ Юго-Востока (Россия)	5, 7, 8, 9, 12
11	Самер 1	ранний		7
12	Чера	ранний	ФАНЦ Северо-Востока Россия)	4, 7
13	Мк-100	ранний	ВНИИ Сои (Россия)	12
14	Даурия	ранний		12
15	Грация	ранний		12
16	Китросса	ранний		12
17	Дш 863	ранний	Sevita Genetics (Канада)	12
18	Бара	очень ранний	Соевый Комплекс (Россия)	5
19	Аванта	очень ранний		5, 7, 8
20	Эльта	ранний		5, 6
21	Дока	ранний		5, 6, 9, 10
22	Арлета	ранний		5, 6, 8
23	Фарта	ранний		5, 6, 8

№ п/п	Сорт	Группа спелости	Оригинатор (страна)	Регион допуска*
24	Аргента	ранний	ЭкоНива-Семена (Россия)	5
25	Султана	очень ранний	Societe Ragt 2n S.A.S. (Франция)	6
26	Протина	ранний		5
27	Ржт Шуна	ранний		6
28	Мезенка	очень ранний		ФАНЦ Зернобобовых и Крупных культур (Россия)
29	Свапа	ранний	5	
30	Осмонь	ранний	5	
31	Зуша	среднеранний	5	
32	Белгород- ская 7	очень ранний	Белгородский ГАУ (Россия)	5
33	Белгород- ская 48	среднеранний		5
34	ЕС Ко- мандор	среднеранний	Lidea France (Франция)	5, 6
35	Фавор	среднеранний		5, 6, 12
36	Волма	очень ранний	Соя-Север КО (Белоруссия)	3, 5, 7, 9, 12
37	Припять	ранний		2, 3, 5
38	Билявка	очень ранний	Русская Генетика (Россия)	5
39	Аннушка	ранний		5
40	Сибириада	ранний	ФГБНУ Омский АНЦ (Россия)	3, 10, 11
41	Пруденс	очень ранний	Huron Commodities Inc. (Канада)	5
42	Малага	очень ранний	Saatbau Linz Egen (Австрия)	5
43	Лиссабон	среднеранний		5, 12
44	Альтона	среднеранний		5
45	Скульптор	ранний	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke Kg (Германия)	3, 5, 7
46	Амадеа	ранний	Saatzucht Donau (Австрия)	6
47	Касатка	ранний	ФНАЦ ВИМ (Россия)	3, 4

\*2 – Северо-Западный; 3 – Центральный; 4 – Волго-Вятский; 5 – Центрально-Черноземный; 6 – Северо-Кавказский; 7 – Средневолжский; 8 – Нижневолжский; 9 – Уральский; 10 – Западно-Сибирский; 11 – Восточно-Сибирский; 12 – Дальневосточный.

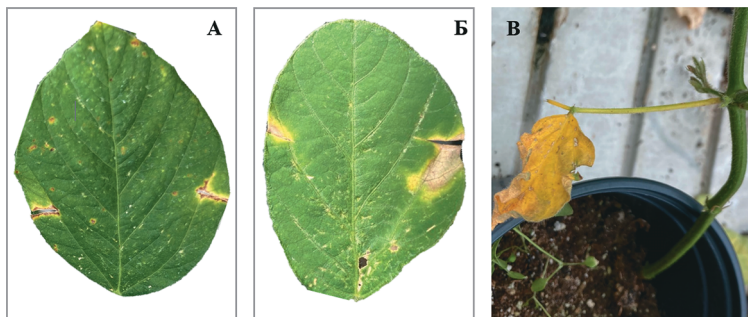
Инокуляцию коллекции сортов и опыты по оценке устойчивости проводили в мае-августе 2021–2022 гг. в экспериментальных теплицах лаборатории защиты растений РГАУ-МСХА.

Коллекцию выращивали в дерново-перлитовом субстрате в пластиковых лотках до фазы V3. Растения культивировали в теплице при температуре 28/22°C (в течение 14 ч днем/10 ч ночью) с естественным освещением и поливали по мере необходимости. Для заражения использовали метод разрезания листа ножницами, смоченными в суспензии бактерии, показавшей хорошие результаты на этапе выбора способа инокуляции. Суспензию бактерии готовили аналогично методике, указанной ранее. За два дня до инокуляции и через 24 ч после нее относительную влажность поддерживали на уровне ~95% при температуре 28/22°C. Проводили заражение всех листьев. Опыт повторяли дважды (в июне и в августе), заражая все листья 4-х растений каждого сорта. Учет проводили на 12-е сутки после инокуляции, измеряя ширину зоны листа с симптомами при помощи штангенциркуля.

*Статистический анализ.* Данные рассматривали с применением метода дисперсионного анализа, используя программу Statistica 12.0 (StatSoft, США), сравнение средних значений по критерию Дункана. Значения  $P < 0,05$  считались значимыми. Данные, выраженные в процентах, перед обработкой были преобразованы в арксинусы. Графики были созданы с помощью GraphPad Prism 9.2.0.

### Результаты и их обсуждение

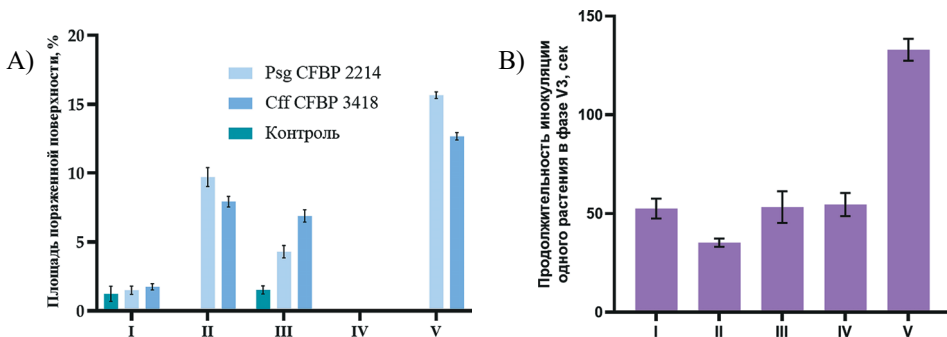
Симптомы, полученные в ходе инокуляции, соответствовали описанию фенотипических проявлений реакции растения на патогены (рис. 2 А-Б). При заражении листьев Psg появлялся желтоватого цвета хлороз, к моменту учета переходящий в некроз коричневатого цвета с изъязвлениями листовой пластинки. При заражении Cff наблюдали соломенного цвета хлороз, постепенно переходящий в такой же окраски некроз листовой пластинки.



**Рис. 1.** Реакция сортов сои на инокуляцию бактериозами сои методом разрезания листа ножницами, смоченными в суспензии бактерии: А – инокуляция Psg; Б – инокуляция Cff; В – абортация тройчатого листа и черешка после инокуляции сорта Нордика штаммом Psg CFBP 2214 на 21-й день)

На рисунке 2 представлены данные о площади поражения листьев и затратах рабочего времени при инокуляции листьев различными методами. Максимальная площадь поражения как Psg, так и Cff листьев сои, была получена при инокуляции с использованием аэрографа (15,6 и 12,7% соответственно). Наименьшие значения получены при инокуляции листьев методом инфильтрации суспензии в мезофилл листа (1,54 и 1,67% соответственно). Способ II также показал максимальные значения зоны поражения листа (9,7 и 8,1% соответственно), причем при способах I и III

некроз был получен и в контрольном варианте, что связано с механическим давлением шприца и пинцета, приводящими к отмиранию тканей вокруг места инокуляции. Способ IV не привел к появлению симптомов, что может быть связано с различиями проводящей системы сои и фасоли, в отношении которой этот метод применяется для скрининга сортов на устойчивость к Cff [4].



**Рис. 2.** Сравнение различных способов создания инфекционного фона Psg и Cff на листьях сои. Площадь поражения поверхности листьев сои при искусственном заражении различными методами (А). Затраты времени для инокуляции листьев сои разными методами (В): I – инфильтрация суспензии в мезофилл листа; II – срез листа ножницами, смоченными в суспензии; III – инокуляция пинцетом и ватой, смоченными в суспензии; IV – введение суспензии в черешок пары примордиальных листьев; V – инфильтрация при помощи аэрографа

По продолжительности времени, необходимого для заражения растения, наименьший показатель демонстрировал вариант II (срез листа ножницами, смоченными в суспензии, 36,5 с), наибольший – вариант V (инфильтрация при помощи аэрографа, 133,4 с). V вариант инокуляции, хотя и является трудозатратным по сравнению с другими, но позволяет создавать стабильный инфекционный фон с высокой степенью поражения листьев у обеих бактерий.

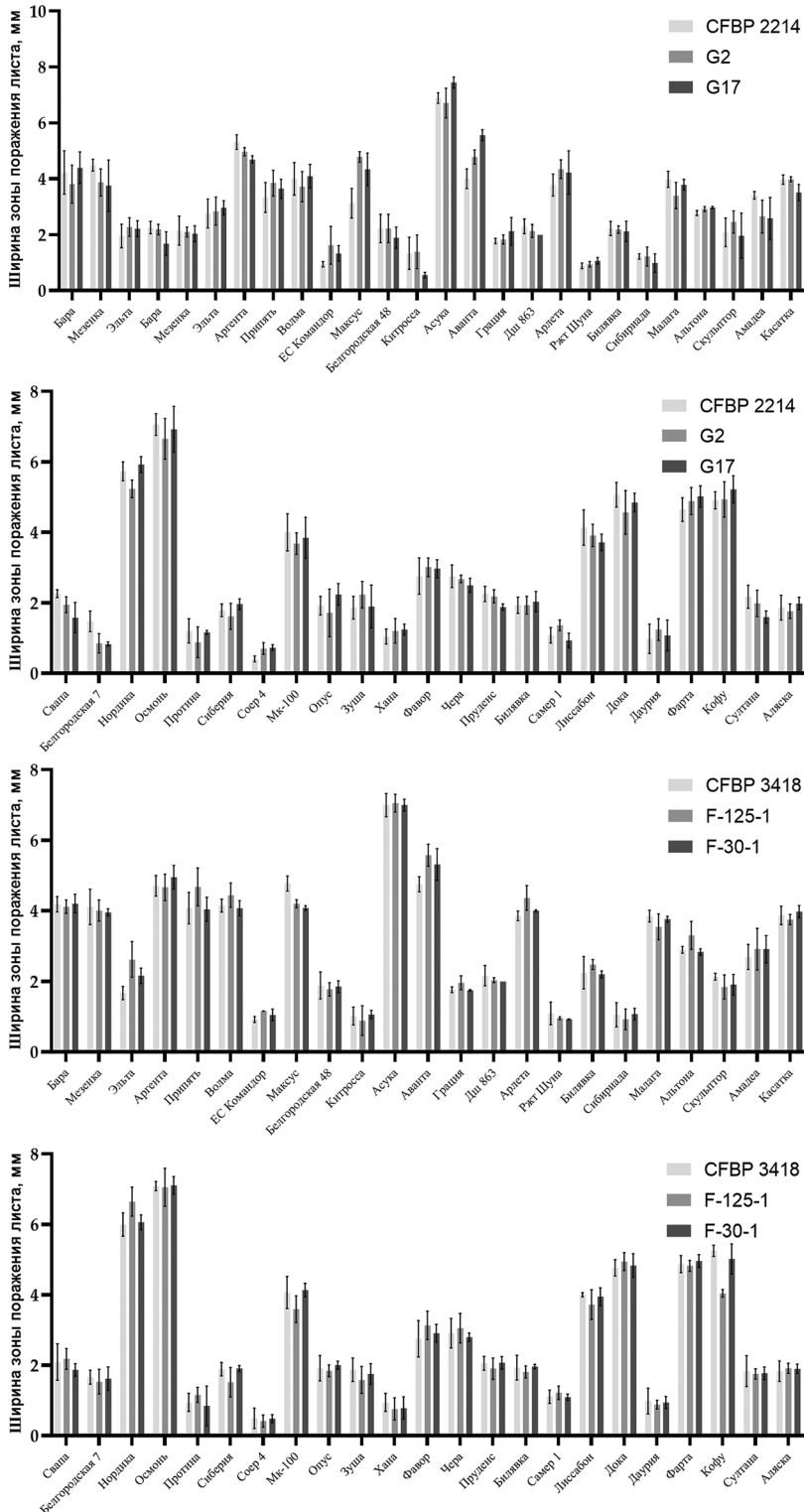
Таким образом, в дальнейшем для оценки устойчивости коллекции сортов сои к бактериозам использовали способ II, показавший хорошие результаты как по площади поражения, так и по затратам времени на инокуляцию растения.

Результаты искусственного заражения коллекции сортов 3 штаммами Psg и 3 штаммами Cff представлены на рисунке 3 и в таблице 2. В результате учета поражаемости сортов сои выяснили, что все сорта поражаются всеми штаммами бактерий, однако существуют значительные различия в размере зоны поражения растения каждого конкретного сорта.

Сорта были подразделены на 4 группы по поражаемости каждым патогеном (табл. 3). По отношению к Psg первая, наименее поражаемая группа (обозначение 1 в таблице 3), была наибольшей по численности, и в нее вошли 23 сорта, во вторую группу вошли 9 сортов, в третью – 10, в четвертую – 3 сорта соответственно. У Cff картина распределения групп по поражаемости была следующей: первая группа – 22 сорта, вторая – 9, третья – 11, четвертая – 3 сорта соответственно.

Наименее поражаемым Psg были растения сорта Соер 4, показавшие минимальный размер зоны поражения (в среднем 0,61 мм по всем трем штаммам). Самым восприимчивым оказался сорт Осмонь (в среднем 6,88 мм по всем трем штаммам). В случае Cff наименее поражаемым был также сорт Соер 4 (в среднем 0,46 мм). Больше всего поражался сорт Нордика (в среднем ширина зоны с симптомами составила 6,23 мм).





**Рис. 3.** Значения ширины зоны поражения листа сортов сои при инокуляции ножницами, смоченными в суспензии разных штаммов Psg (А) и Cff (Б)



Таблица 3

**Степень поражаемости сортов сои возбудителями бактериального ожога (Psg)  
и ржаво-бурой бактериальной пятнистости (Cff)**

Сорт	Psg		Cff	
	Буквенное обозначение статистической группы*	Группа поражаемости**	Буквенное обозначение статистической группы*	Группа поражаемости**
Аванта	h	3	dfg	3
Альтона	d	2	fgh	2
Аляска	c	1	mnp	1
Амадеа	d	2	kl	2
Аргента	h	3	op	3
Арлета	g	3	bc	3
Асука	j	4	s	4
Бара	c	2	lmno	3
Белгородская 48	c	1	bc	1
Белгородская 7	b	1	d	1
Биявка	c	1	c	2
Биявка	c	1	bc	1
Волма	efg	3	bc	3
Грация	c	1	ghi	1
Даурия	b	1	q	3
Дока	h	3	bc	3
Дш 863	c	1	lmnop	1
ЕС Командор	b	1	p	1
Зуша	c	1	b	1
Касатка	efg	2	fgh	2
Китросса	b	1	u	1
Кофу	h	3	dfg	3
Лиссабон	efg	3	q	2

Сорт	Psg		Cff	
	Буквенное обозначение статистической группы*	Группа поражаемости**	Буквенное обозначение статистической группы*	Группа поражаемости**
Максус	fg	3	dfg	3
Малага	ef	2	j	2
Мезенка	c	2	hi	3
Мк-100	efg	3	klmn	2
Нордика	i	4	t	4
Опус	c	1	df	1
Осмонь	j	4	u	4
Припять	e	2	nop	3
Протина	b	1	bc	1
Пруденс	c	1	dfgh	1
Ржт Шуна	b	1	i	1
Самер 1	b	1	klm	1
Свапа	c	1	fghi	1
Сиберия	c	1	dfg	1
Сибириада	b	1	k	1
Скульптор	c	1	j	1
Соер 4	a	1	a	1
Султана	c	1	dfgh	1
Фавор	d	2	j	2
Фарта	h	3	q	3
Хана	b	1	j	1
Чера	d	2	fgh	2
Эльта	d	1	q	1

\*Значения в строках, отмеченных разными буквами, указывают на значительную разницу при использовании критерия Дункана при  $p = 0,05$ .

\*\*Группа поражаемости по распределению ширины зоны листа с симптомами (1 – слабопоражаемая, 2 – среднепоражаемая, 3 – сильнопоражаемая, 4 – очень сильнопоражаемая).

Таким образом сорт Соер 4, наименее поражаемый, рекомендуется для дальнейшего изучения и включения в селекционные программы по сое как источник генов устойчивости к бактериальному ожогу и ржаво-бурому бактериальному ожогу. Сильнопоражаемые сорта Нордика и Осмонь рекомендуется использовать как наиболее восприимчивые при оценке вирулентности штаммов патогенов и на этапе проведения теста на патогенность при диагностике семян на наличие возбудителей бактериозов [10, 28].

Отмечено, что все штаммы в пределах вида патогена давали почти одинаковые размеры зоны поражения листа. Это может указывать на однородность популяции патогена в России, как в случае с *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* на салате [25]. Однако в некоторых парах «Штамм-сорт» размер зоны поражения статистически отличался от двух других штаммов того же патогена. Например, отличаются штаммы Psg: CFBP 2214 на сорте Соер 4, G17 на сорте Китросса, все штаммы на сорте Аванта, а у Cff – штаммы F-125–1 на сорте Кофу, CFBP 3418 на сортах Эльта и Максус. Данный факт может быть связан с наличием штаммоспецифичной реакции сорта на инокуляцию тем или иным штаммом.

Стоит отметить, что сорта Нордика и Опус после инокуляции Psg и сорт Максус после инокуляции Psg и Cff через 10 дней после учета симптомов (на 21-й день после инокуляции) показали реакцию абортации зараженных тройчатых листьев (рис. 1 В). Данная системная реакция может косвенно указывать на наличие реакции сверхчувствительности, описанной, к примеру, для *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* [26, 27]. Механизм этого процесса заключается в том, что при несовместимом взаимодействии белок *Avr* распознается продуктом гена резистентности *R*, который запускает реакцию гиперчувствительности и приводит к прерыванию заболевания. Возможно, данный механизм и приводит к абортации и прерыванию заболевания, вызванного Psg и Cff. Очевидно, что в дальнейшем необходимо провести подробное исследование, описывающее истинный механизм данного феномена.

Безусловно, данное исследование по скринингу поражаемости российских сортов сои бактериозами является первичным, поэтому в дальнейшем планируется провести оценку той же линейки сортов, но уже с большим количеством штаммов, выделенных из разных почвенно-климатических зон страны. Это даст более четкую картину как популяции патогенов, так и, возможно, наличия специфического взаимодействия «Ген-ген».

Что касается физиологических рас, то у Psg известно 10 рас [29], и наиболее распространенной в мире является раса 4 [31]. У Cff на данный момент расовая дифференциация на сое неизвестна – известной она является только на фасоли [30]. При этом данные о расовом составе этих патогенов, как и об их генетическом разнообразии в России, отсутствуют. Выявление расового состава Psg в нашей стране позволило бы в дальнейшем при селекции на устойчивость к бактериозам использовать не только полевой, но и вертикальный (расоспецифический) типы устойчивости.

## Выводы

1. Показано, что оптимальным способом инокуляции при скрининге селекционного материала сои на устойчивость к бактериальному ожогу и ржаво-бурой бактериальной пятнистости является срез листа ножницами, смоченными в бактериальной суспензии с концентрацией  $10^8$  КОЕ/мл. Данный метод позволяет проводить быструю инокуляцию (36,5 с/растение) и получать максимальный размер зоны поражения возбудителями.

2. Все проанализированные сортообразцы поражались всеми испытанными штаммами бактерий, однако имелись сильные различия в сортовой устойчивости.

Соер 4 рекомендован для включения в селекционные программы и дальнейшего изучения как перспективный сортообразец с минимальной степенью поражения штаммами российской популяции бактериального ожога и ржаво-бурой бактериальной пятнистости (и увядания) сои. Сорта Нордика и Осмонь рекомендуется использовать как наиболее восприимчивые при оценке вирулентности штаммов патогенов и на этапе проведения теста на патогенность при диагностике семян на наличие возбудителей бактериозов.

3. Сортообразцы Нордика, Опус и Максус, показавшие на 21-й день после инокуляции реакцию абортации зараженных тройчатых листьев, рекомендуются к дальнейшему изучению как перспективные доноры признака.

*Работа выполнена за счет средств Программы развития Университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-203».*

*Автор выражает искреннюю благодарность доктору биологических наук, профессору Агробиотехнологического департамента ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Александру Николаевичу Игнатову за помощь в планировании и статистической обработке результатов экспериментов.*

### **Библиографический список**

1. FAO. World Food and Agriculture – Statistical Yearbook. FAO: Rome, Italy, 2021.
2. Allen T.W., Bradley C.A., Sisson A.J., Byamukama E., Chilvers M.I. Coker C.M., Collins A.A., Damicone J.P., Dorrance A.E., Dufault N.S. Soybean Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014 // Plant Health Progress. – 2017; 18:19–27.
3. Abudulai M., Salifu A.B., Opere-Atakora D., Haruna M., Denwar N.N., Baba I.I.Y. Yield Loss at the Different Growth Stages in Soybean Due to Insect Pests in Ghana // Archives of Phytopathology and Plant Protection. – 2012; 45:1796–1809.
4. Soltani N., Dille J., Burke I., Everman W., VanGessel M., Davis V., Sikkema P. Perspectives on Potential Soybean Yield Losses from Weeds in North America // Weed Technology. – 2017; 31:148–154.
5. Zhang J., Wang X., Lu Y., Bhusal S.J., Song Q., Cregan P.B., Yen Y., Brown M., Jiang G.L. Genome-Wide Scan for Seed Composition Provides Insights into Soybean Quality Improvement and the Impacts of Domestication and Breeding // Mol. Plant. – 2018; 11:460–472.
6. Huang H. – C., Hsieh T. – F., Mündel H. – H., Scott R. A Rapid Indoor Technique for Screening Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) for Resistance to Bacterial Wilt [*Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* (Hedges) Collins and Jones] // Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA. – 2003; 3:364–369.
7. Soares R.M., Fantinato G.G.P., Darben L.M., Marcelino-Guimarães F.C., Seixas C.D.S., Carneiro G.E. de S. First Report of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* on Soybean in Brazil // Trop. plant pathol. – 2013; 38:452–454.
8. Huang H. – C., Ndel H. – H., Erickson R., Chelle C., Balasubramanian P., Kiehn F., Huang H., Ndel M., Erickson H. – H., Balasubramanian C. Bacterial Resistance of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Cultivars and Germplasm Lines to the Purple Variant of Bacterial Wilt (*Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens*) // Plant Pathol Bull. – 2007; 16:91–95.
9. Camara R.C., Vigo S.C., Maringoni A.C. Plant to seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in a dry bean cultivar // Journal of Plant Pathology. – 2009; 91:549–554.

10. *Shepherd L.M., Block C.C.* Chapter 13: Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in Soybean Seeds. In *Detection of Plant-Pathogenic Bacteria in Seed and Other Planting Material*, 2<sup>nd</sup> ed. // The American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA. – 2017.
11. *Hsieh T.F., Huang H.C., Erickson R.S.* Bacterial wilt of common bean: Effect of seedborne inoculum on disease incidence and seedling vigour // *Seed Science and Technology*. – 2006; 34:57–67.
12. *Huang H., Erickson R., Balasubramanian P., Hsieh T.* Resurgence of Bacterial Wilt of Common Bean in North America // *Canadian Journal of Plant Pathology*. – 2009; 31:290–300.
13. *Monteil C.L., Yahara K., Studholme D.J., Mageiros L., Méric G., Swingle B., Morris C.E., Vinatzer B.A., Sheppard S.K.* Population-Genomic Insights into Emergence, Crop Adaptation and Dissemination of *Pseudomonas Syringae* Pathogens // *Microb. Genom.* – 2016; 2: e000089.
14. *Fernandes da Silva Júnior T., Maringoni A., Negrão D.* Survival of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* in Soil and Bean Crop Debris // *Journal of Plant Pathology*. – 2012; 94.
15. *Tarakanov R.I., Lukianova A.A., Evseev P.V., Toshchakov S.V., Kulikov E.E., Ignatov A.N., Miroshnikov K.A., Dzhililov F.S.* – U. Bacteriophage Control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in Soybean // *Plants*. – 2022; 11:938.
16. *Tarakanov R., Lukianova A., Pilik R., Evseev P., Miroshnikov K., Dzhililov F., Ignatov A.* First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* causing a bacterial tan spot of soybean in Russia // *Plant Disease*. – 2022 (in press).
17. *Ignjatov M., Milošević M., Nikolić Z., Vujaković M., Petrović D.* Characterization of *Pseudomonas Savastanoi* Pv. *Glycinea* Isolates from Vojvodina // *Phytopathol. Pol.* – 2007; 45:43–54.
18. *Sarkar S.F., Guttman D.S.* Evolution of the Core Genome of *Pseudomonas Syringae*, a Highly Clonal, Endemic Plant Pathogen. *Appl. Environ // Microbiol.* – 2004; 70:1999–2012.
19. *Evseev P., Lukianova A., Tarakanov R., Tokmakova A., Shneider M., Ignatov A., Miroshnikov K.* *Curtobacterium* Spp. and *Curtobacterium Flaccumfaciens*: Phylogeny, Genomics-Based Taxonomy, Pathogenicity and Diagnostics // *Current Issues in Molecular Biology*. 2022; 44:889–927.
20. *Tegli S., Sereni A., Surico G.* PCR-Based Assay for the Detection of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* in Bean Seeds // *Lett Appl Microbiol.* – 2002; 35:331–337.
21. CIRM–CFBP. International Centre of Microbial Resource (CIRM) – French Collection for Plant-associated Bacteria. – INRAE. – URL: <https://cirm-cfbp.fr/> (last update: 02.09.2022).
22. *Chincinska I.A.* Leaf Infiltration in Plant Science: Old Method, New Possibilities // *Plant Methods*. – 2021; 17:83.
23. *Salah Eddin K., Marimuthu T., Ladhalakshmi D., Rabindran R., Velazhahan R.* A Simple Inoculation Technique for Evaluation of Cotton Genotypes for Resistance to Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Malvacearum* // *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. – 2005; 112:321–328.
24. *Shine M.B., Fu D. – Q., Kachroo A.* Airbrush Infiltration Method for *Pseudomonas Syringae* Infection Assays in Soybean // *Bio-protocol*. – 2015; 5: e1427.
25. *Barak J.D., Gilbertson R.L.* Genetic Diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*, the Causal Agent of Bacterial Leafspot of Lettuce // *Phytopathology*. – 2003; 93 (5):596–603.

26. *Mansfield J.W.* From bacterial avirulence genes to effector functions via the hrp delivery system: an overview of 25 years of progress in our understanding of plant innate immunity // *Mol Plant Pathol.* – 2009; 10 (6):721–734.
27. *Álvarez-Mejía C., Rodríguez-Ríos D., Hernández-Guzmán G., López-Ramírez V., Valenzuela-Soto H., Marsch R.* Characterization of the HrpZ Gene from *Pseudomonas Syringae* Pv. *Maculicola* M2. Braz // *J. Microbiol.* – 2015; 46:929–936.
28. EPPO. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Bull. OEPP. – 2011; 41:320–328.
29. *Prom L.K., Venette J.R.* Races of *Pseudomonas Syringae* Pv. *Glycinea* on Commercial Soybean in Eastern North Dakota // *Plant Dis.* – 1997; 81:541–544.
30. *Valdo S.C., Wendland A., Araújo L.G., Melo L.C., Pereira H.S., Melo P.G., Faria L.C.* Differential interactions between *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* and common bean // *Genet Mol Res.* – 2016; 15 (4).
31. *Abo-Moch F., Mavridis A., Rudolph K.* Determination of Races of *Pseudomonas Syringae* Pv. *Glycinea* Occurring in Europe // *J. Phytopathol.* – 1995; 143:1–5.

## EVALUATION OF THE RESISTANCE OF SOYBEAN CULTIVARS TO BACTERIAL DISEASES ON AN ARTIFICIAL INOCULATION BACKGROUND

R.I. TARAKANOV

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*Bacterial blight (P. savastanoi pv. glycinea (Psg)) is one of the main bacterial diseases reducing the profitability of soybean cultivation. Another soybean disease recently discovered in Russia is rusty-brown bacterial spot (and wilting) (C. flaccumfaciens pv. flaccumfaciens). The harm caused by these diseases, the emergence of antibiotic-resistant strains of bacterial phytopathogens and the imperfection of available protection necessitate the search for alternative strategies, one of which is the use of resistant or low-struck cultivars. In this work, the optimal method of artificial inoculation of plants was determined and 47 domestic soybean cultivars were screened for susceptibility to different strains of the two pathogens. It is shown that the optimal method of inoculation is cutting with scissors soaked in a suspension of bacteria with a concentration of 10<sup>8</sup> CFU/mL, which produces typical disease symptoms with a maximum damage area in 10 days after inoculation. The least affected cultivar was Soer 4, and the most susceptible cultivars were Nordica and Osmon. An atypical hypersensitivity reaction was noted in the form of abortion of a triple leaf with a petiole during Psg inoculation in cultivars Nordica and Opus and cultivar Maxus after Psg and Cff inoculation.*

**Key words:** bacterial blight, rusty-brown spot, wilt, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*, immunity, resistance, artificial inoculation, soybean bacteriosis.

### References

1. FAO. World Food and Agriculture – Statistical Yearbook; FAO: Rome, Italy, 2021.
2. *Allen T.W., Bradley C.A., Sisson A.J., Byamukama E., Chilvers M.I. Coker C.M., Collins A.A., Damicone J.P., Dorrance A.E., Dufault N.S.* Soybean Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. *Plant Health Progress.* 2017; 18: 19–27.
3. *Abudulai M., Salifu A.B., Opare-Atakora D., Haruna M., Denwar N.N., Baba I.I.Y.* Yield Loss at the Different Growth Stages in Soybean Due to Insect Pests in Ghana. *Archives of Phytopathology and Plant Protection.* 2012; 45: 1796–1809.

4. Soltani N., Dille J., Burke I., Everman W., VanGessel M., Davis V., Sikkema P. Perspectives on Potential Soybean Yield Losses from Weeds in North America. *Weed Technology*. 2017; 31: 148–154.
5. Zhang J., Wang X., Lu Y., Bhusal S.J., Song Q., Cregan P.B., Yen Y., Brown M., Jiang G.L. Genome-Wide Scan for Seed Composition Provides Insights into Soybean Quality Improvement and the Impacts of Domestication and Breeding. *Mol. Plant*. 2018; 11: 460–472.
6. Huang H. – C., Hsieh T. – F., Mündel H. – H., Scott R. A Rapid Indoor Technique for Screening Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) for Resistance to Bacterial Wilt [*Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* (Hedges) Collins and Jones]. *Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA*. 2003; 3: 364–369.
7. Soares R.M., Fantinato G.G.P., Darben L.M., Marcelino-Guimarães F.C., Seixas C.D.S., Carneiro G.E. de S. First Report of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* on Soybean in Brazil. *Trop. plant pathol.* 2013; 38: 452–454.
8. Huang H. – C., Ndel H. – H., Erickson R., Chelle C., Balasubramanian P., Kiehn F., Huang H., Ndel M., Erickson H. – H., Balasubramanian C. Bacterial Resistance of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Cultivars and Germplasm Lines to the Purple Variant of Bacterial Wilt (*Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens*). *Plant Pathol Bull.* 2007; 16: 91–95.
9. Camara R.C., Vigo S.C., Maringoni A.C. Plant to seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in a dry bean cultivar. *Journal of Plant Pathology*. 2009; 91: 549–554.
10. Shepherd L.M., Block C.C. Chapter 13: Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in Soybean Seeds. In *Detection of Plant-Pathogenic Bacteria in Seed and Other Planting Material*, 2<sup>nd</sup> ed.; The American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA; 2017. ISBN978-0-89054-539-3
11. Hsieh T.F., Huang H.C., Erickson R.S. Bacterial wilt of common bean: Effect of seedborne inoculum on disease incidence and seedling vigour. *Seed Science and Technology*. 2006; 34: 57–67.
12. Huang H., Erickson R., Balasubramanian P., Hsieh T. Resurgence of Bacterial Wilt of Common Bean in North America. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2009; 31: 290–300.
13. Monteil C.L., Yahara K., Studholme D.J., Mageiros L., Méric G., Swingle B., Morris C.E., Vinatzer B.A., Sheppard S.K. Population-Genomic Insights into Emergence, Crop Adaptation and Dissemination of *Pseudomonas Syringae* Pathogens. *Microb. Genom.* 2016; 2: e000089.
14. Fernandes da Silva Júnior T., Maringoni A., Negrão D. Survival of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* in Soil and Bean Crop Debris. *Journal of Plant Pathology*. 2012; 94.
15. Tarakanov R.I., Lukianova A.A., Evseev P.V.; Toshchakov S.V., Kulikov E.E.; Ignatov A.N.; Miroshnikov K.A.; Dzhililov F.S. – U. Bacteriophage Control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in Soybean. *Plants*. 2022; 11: 938.
16. Tarakanov R., Lukianova A., Pilik R., Evseev P., Miroshnikov K., Dzhililov F., Ignatov A. First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* causing a bacterial tan spot of soybean in Russia. *Plant Disease*. 2022. (in press)
17. Ignjatov M., Milošević M., Nikolić Z., Vujaković M., Petrović D. Characterization of *Pseudomonas Savastanoi* Pv. *Glycinea* Isolates from Vojvodina. *Phytopathol. Pol.* 2007; 45: 43–54.
18. Sarkar S.F., Guttman D.S. Evolution of the Core Genome of *Pseudomonas Syringae*, a Highly Clonal, Endemic Plant Pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70: 1999–2012.



19. Evseev P., Lukianova A., Tarakanov R., Tokmakova A., Shneider M., Ignatov A., Miroshnikov K. *Curtobacterium* Spp. and *Curtobacterium Flaccumfaciens*: Phylogeny, Genomics-Based Taxonomy, Pathogenicity, and Diagnostics. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022; 44: 889–927.
20. Tegli S., Sereni A., Surico G. PCR-Based Assay for the Detection of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* in Bean Seeds. *Lett Appl Microbiol*. 2002; 35: 331–337.
21. CIRM–CFBP. International Centre of Microbial Resource (CIRM) – French Collection for Plant-associated Bacteria. INRAE. (last update: 02.09.2022). URL: <https://cirm-cfbp.fr/>
22. Chincinska I.A. Leaf Infiltration in Plant Science: Old Method, New Possibilities. *Plant Methods*. 2021; 17: 83.
23. Salah Eddin K., Marimuthu T., Ladhalakshmi D., Rabindran R., Velazhahan R. A Simple Inoculation Technique for Evaluation of Cotton Genotypes for Resistance to Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Malvacearum*. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 2005; 112: 321–328.
24. Shine M.B., Fu D. – Q., Kachroo A. Airbrush Infiltration Method for *Pseudomonas Syringae* Infection Assays in Soybean. *Bio-protocol*. 2015; 5: e1427.
25. Barak J.D., Gilbertson R.L. Genetic Diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *vitiensis*, the Causal Agent of Bacterial Leafspot of Lettuce. *Phytopathology*. 2003; 93 (5): 596–603.
26. Mansfield J.W. From bacterial avirulence genes to effector functions via the hrp delivery system: an overview of 25 years of progress in our understanding of plant innate immunity. *Mol Plant Pathol*. 2009; 10 (6): 721–734.
27. Álvarez-Mejía C., Rodríguez-Ríos D., Hernández-Guzmán G., López-Ramírez V., Valenzuela-Soto H., Marsch R. Characterization of the HrpZ Gene from *Pseudomonas Syringae* Pv. *Maculicola* M2. *Braz. J. Microbiol*. 2015; 46: 929–936.
28. EPPO. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Bull. OEPP*. 2011; 41: 320–328.
29. Prom L.K., Venette J.R. Races of *Pseudomonas Syringae* Pv. *Glycinea* on Commercial Soybean in Eastern North Dakota. *Plant Dis*. 1997; 81: 541–544.
30. Valdo S.C., Wendland A., Araújo L.G., Melo L.C., Pereira H.S., Melo P.G., Faria L.C. Differential interactions between *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* and common bean. *Genet Mol Res*. 2016; 15 (4).
31. Abo-Moch F., Mavridis A., Rudolph K. Determination of Races of *Pseudomonas Syringae* Pv. *Glycinea* Occurring in Europe. *J. Phytopathol*. 1995; 143: 1–5.

**Тараканов Рашит Ислямович**, аспирант, ассистент кафедры защиты растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (977) 403–54–40; e-mail: tarakanov.rashit@mail.ru)

**Rashit I. Tarakanov**, post-graduate student, Assistant Professor of the Plant Protection Department, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (977) 403–54–40; E-mail: tarakanov.rashit@mail.ru)