

ДИАГНОСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ К ОБЫКНОВЕННОЙ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Л.Н. КОРОБОВА^{1, 2}, Т.А. ГУРОВА¹, О.С. ЛУГОВСКАЯ¹

Известно, что стрессоустойчивость растений — генетически закрепленный признак. У сортов яровых зерновых культур, чувствительных к возбудителю обыкновенной гнили *Bipolaris sorokiniana* Schoem., модифицируются процессы запасания энергии, интенсивность дыхания, активность ферментов, синтез сахаров и аминокислот, поглощение калия у растений, нарушается целостность мембран, что приводит к частичной потере электролитов из клеток. Степень устойчивости (толерантности) сорта к инфицированию выявляют по потере урожайности (агрономическая устойчивость к болезни) и по изменению физиологических, биохимических и биофизических процессов в ранние фазы вегетации (биологическая устойчивость). Мы апробировали кондуктометрический метод оценки устойчивости растений в лабораторных (искусственное инфицирование в установке искусственного климата; 15 сортов яровой пшеницы и ячменя) и вегетационно-полевых (сосуды без дна; 4 сорта яровой пшеницы, показавших в лабораторных условиях контрастные результаты) экспериментах. Корреляционные связи между разными индикаторами ранней реакции яровой пшеницы и ячменя на биотический стресс оказались достаточно тесными и статистически доказываемыми. Обнаружено, что электрофизические показатели клеточных мембран листовой ткани проростков изменялись пропорционально длине корней и ростков 14-суточных растений, а также интегральному показателю их роста и развития — биомассе, отражая состояние заболевших растений адекватно биометрическим, фитопатологическим и физиологическим показателям, а также потерям урожайности у сорта.

Ключевые слова: стрессоустойчивость, обыкновенная корневая гниль, ростовые реакции, проницаемость клеточных мембран, кондуктометрический метод, сорта яровой пшеницы и ярового ячменя.

Keywords: stress resistance, common root rot, growth responses, cell membrane permeability, conductance-measuring method, spring wheat and barley varieties.

Стрессоустойчивость растений — генетически закрепленный признак. У яровых зерновых культур устойчивость к корневой гнили контролируется полигенами (малыми генами), которые не обеспечивают полной защиты сорта, но снижают скорость распространения инфекции (1, 2). Степень устойчивости сорта к возбудителю обыкновенной гнили *Bipolaris sorokiniana* Schoem. проявляется в виде реакции растений на патологический процесс и токсины возбудителя (гельминтоспорал, прегельминтоспорол, виктоксинин и др.) (3-5). У чувствительных сортов при этом меняются процессы запасания энергии, интенсивность дыхания, активность ферментов, синтез сахаров и аминокислот, поглощение калия (6-8), нарушается целостность мембран, что приводит к частичной потере электролитов из клеток. Позже отмеченные изменения выражаются снижением продуктивности. У растений устойчивых сортов в ответ на инфицирование *B. sorokiniana* начинают формироваться приспособительные реакции: повышается суммарное содержание макро- и микроэлементов в клетках, токсины возбудителя инактивируются ферментами и связываются в комплексных соединениях (9-10).

Степень устойчивости (толерантности) сорта к инфицированию выявляют по потере урожайности (агрономическая устойчивость к болезни) и по изменению физиологических, биохимических и биофизических процессов в ранние фазы вегетации растений (биологическая устойчивость). Биологическую устойчивость сорта к инфицированию можно опередить инструментальными методами. Они должны быть экспрессными,

особенно при постановке экспериментов в камерах искусственного климата, и иметь высокую производительность, что важно на ранних этапах селекции. Перечисленными достоинствами инструментальных методов обладает кондуктометрия. Регистрируемые кондуктометром биофизические характеристики четко проявляются с началом защитно-приспособительных реакций растения к стрессовому воздействию патогена, что позволяет выявить специфику ответа сорта на заражение до появления видимых повреждений корней.

Цель предпринятых исследований — показать, что кондуктометрический метод определяет биологическую устойчивость сортов яровой пшеницы и ячменя к обыкновенной гнили адекватно общепринятым агрономическим, физиологическим и позволяет ранжировать сорта по степени устойчивости к болезни.

Методика. Лабораторные и вегетационно-полевые опыты выполняли в пос. Краснообск Новосибирской области. Объекты исследования в лабораторных опытах — 12 сортов *Triticum aestivum* L. и три сорта *Hordeum vulgare* L. Использовали сорта мягкой яровой пшеницы селекции Сибирского НИИ растениеводства (Новосибирская обл., пос. Краснообск) и Сибирского НИИ сельского хозяйства (г. Омск). В первом случае это были ранние сорта Новосибирская 15, Полюшко, среднеранние Обская 14, Новосибирская 29 и среднеспелые — Новосибирская 89, Удача, Александрина, Легенда, Новосибирская 31, во втором — среднеспелый сорт Светланка, среднепоздние Омская 35 и Омская 18. У ярового ячменя изучали среднеспелые сорта Новосибирский 80 и Биом селекции Сибирского НИИ растениеводства и среднеранний сорт Арна селекции Казахского НИИ земледелия (Алматинская обл., пос. Алмалыбак). В вегетационно-полевых экспериментах использовали четыре сорта *Triticum aestivum* L.: Полюшко, Обская 14, Новосибирская 29, Новосибирская 31.

Лабораторные опыты проводили в 2005-2010 годах по схеме: контроль (семена без инфекции), опыт (семена, искусственно инфицированы *B. sorokiniana*). Заражали наклюнувшиеся семена споровой суспензией трех среднепатогенных изолятов с инфекционной нагрузкой 5000 конидий в капле суспензии возбудителя на одно зерно (предварительно споры подсчитывали в камере Тома-Горяева). Использованные изоляты *B. sorokiniana* выделяли из корней яровой пшеницы (11), их патогенность установили по методике Лачицовой-Лангольф (12). Далее растения выращивали (до учетов) в рулонах в водной культуре (7) в течение 2 нед в установке искусственного климата при температуре 22 °С, освещенности 5000 лк и влажности 60 %. Повторность экспериментов 6-кратная.

Вегетационно-полевые опыты выполняли в 2007-2009 годах. Использовали инфицированные *B. sorokiniana* семена и почву (в соответствии с двумя существующими в природе способами передачи инфекции). Схема опытов: контроль — семена без инфекции, почва заражена возбудителем ниже порога вредоносности (< 20 спор/г почвы); опыт — семена инфицированы, почва с высокой инфекционной нагрузкой (> 100 спор/г). Как в лабораторных, так и в вегетационно-полевых экспериментах семена предварительно обеззараживали, используя химический протравитель Raxil® Ultra («Bayer CropScience AG», Германия) в дозе 0,25 л/т (контроль осуществлялся методом микоанализа). После этого в опытных вариантах в почву вносили выращенный на кукурузной муке с песком инокулюм возбудителя. Его количество рассчитывали так, чтобы на одну зерновку приходилось 5000 конидий (или более 100 спор/г почвы). Объем нагрузки контро-

лировали методом флотации (13). Почвой (чернозем выщелоченный среднегумусный) набивали сосуды без дна объемом 8 кг, которые закапывали на фитоучастке биополигона, размещая рендомизированно (14) с пространственной изоляцией контроля и опыта. Повторность опыта 6-кратная. В каждый сосуд высевали по 20 зерен пшеницы. Опыт продолжался до учета зерновой продуктивности растений.

В лабораторных экспериментах определяли следующие показатели: биофизические (кондуктометрическая оценка) — удельную электропроводность (УЭП) и электрическую емкость водных вытяжек листьев (15), физиологические — биомассу ростков и корней (16), морфометрические — длину ростков и корней (16), а также всхожесть и индекс развития болезни (17). В вегетационно-полевых опытах устанавливали электропроводность и электрическую емкость водных вытяжек листьев, фотосинтетический потенциал (18), индекс развития болезни и урожайность. Показатели регистрировали в течение всей вегетации.

Кондуктометрические характеристики учитывали с помощью лабораторного кондуктометра КЛ-С-1 (ООО «Сибпромприбор», г. Барнаул, Россия) и цифровых измерителей L, C, R, E 7-8 и E 7-12.

Статистическую обработку данных выполняли в программах SNEDECOR (19) и MINITAB.

Результаты. Кондуктометрический метод достаточно чувствительно определял различия в толерантности сортов яровой пшеницы и ячменя к обыкновенной гнили. Используемые нами биофизические диагностические показатели состояния инфицированных растений, а также длина корней и ростков 14-суточных растений, их биомасса (как интегральный показатель роста и развития) изменялись сходным образом (рис. 1, табл.).

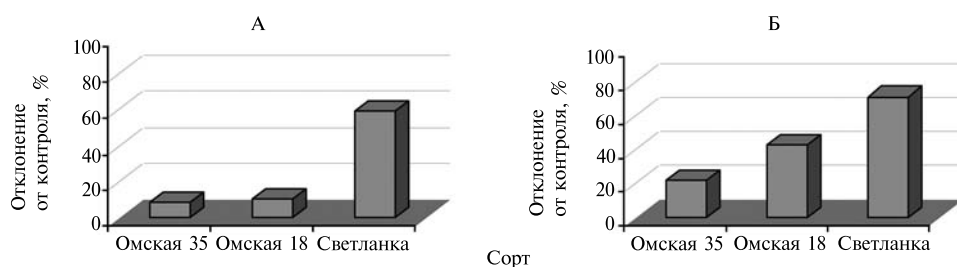


Рис. 1. Удельная электропроводность водных вытяжек листьев (А) и биомасса проростков (Б) при инфицировании *Bipolaris sorokiniana* Schoem. у яровой пшеницы (сорта селекции Сибирского НИИ сельского хозяйства, г. Омск; камера искусственного климата).

Характеристика реакции на инфицирование возбудителем корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* Schoem. у сортов ярового ячменя (камера искусственного климата)

Сорт	Вариант	УЭП × 10 ⁻³ , См/м	Длина проростков, см	Сухая биомасса 10 проростков, г
Новосибирский 80	Контроль	3,4	16,2	3,3
	Инфицирование	4,6	12,0	1,1
Биом	Контроль	4,9	22,4	1,2
	Инфицирование	5,0	21,3	1,1
Арна	Контроль	4,8	17,3	6,0
	Инфицирование	7,4	9,4	2,8
НСР ₀₅ по фактору А (сорт)		0,5	3,8	1,8
НСР ₀₅ по фактору В (инфицирование)		0,4	3,2	1,6
НСР ₀₅ по взаимодействию АВ		0,7	5,5	2,1

Примечание. УЭП — удельная электропроводность. Сорта ячменя Новосибирский 80 и Биом — селекции Сибирского НИИ растениеводства (Новосибирская обл., пос. Краснообск); сорт Арна — селекции Казахского НИИ земледелия (Алматинская обл., пос. Алмалыбак).

Корреляционные связи между разными индикаторами ранней ре-

акции яровой пшеницы и ячменя на биотический стресс были достаточно тесными и статистически доказываемыми. Так, для 15 изученных в лабораторных опытах сортов пшеницы и ячменя сила попарной связи между всхожестью, длиной, биомассой, степенью пораженности корневой системы (индекс развития болезни) проростков и УЭП вытяжек листьев составила соответственно $-0,68$ (10 % уровень достоверности) — $-0,91$ (5 % уровень достоверности), $-0,66$ (10 % уровень достоверности) — $-0,87$ (5 % уровень достоверности), $-0,66$ (10 % уровень достоверности) — $-0,88$ (5 % уровень достоверности) и $0,60$ (10 % уровень достоверности) — $0,86$ (5 % уровень достоверности).

Тесной оказалась также зависимость между заболеваемостью растений и электрической емкостью вытяжек листьев при поражении обыкновенной гнилью у ряда сортов яровой пшеницы ($r = 0,88 \pm 0,12$), что впоследствии нашло отражение при построении дендрограммы.

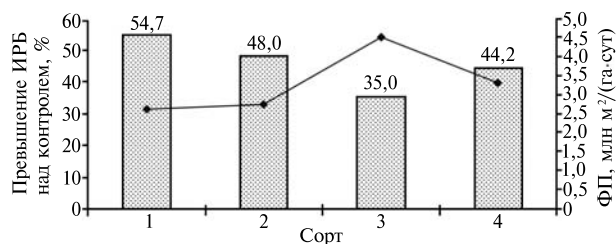


Рис. 2. Характеристика фитопатологического (индекс развития болезни — ИРБ, диаграмма) и физиологического (фотосинтетический потенциал за период всходы—рост стебля — ФП, график) состояния у сортов яровой пшеницы на инфекционном фоне: 1-4 — сорта Новосибирская 29, Новосибирская 31, Обская 14, Полюшко (селекция Сибирского НИИ растениеводства, Новосибирская обл., пос. Краснообск). Возбудитель корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* Schoem. (вегетационно-полевой опыт, Новосибирская обл., 2008-2009 годы).

электрофизические показатели отличались от аналогичных у устойчивых на 30-57 %, а стандартно учитываемые биометрические показатели — не более чем на 20 %. У ячменя морфометрические и электрофизические отклонения у неодинаковых по устойчивости к патогену сортов были сопоставимыми.

В полевых условиях биофизические характеристики клеток заболевших растений яровой пшеницы также изменялись синхронно с физиологическим и фитопатологическим состоянием сортов. У сортов в условиях 2008 года электрофизические процессы в листьях инфицированных растений относительно контроля усилились в ряду: Обская 14 → Полюшко → Новосибирская 31 → Новосибирская 29 (соответственно на 11,1; 17,3; 33,0 и 41,2 %). Аналогичным образом при инфицировании повышалась пораженность корневой системы и уменьшалась площадь листовой поверхности (рис. 2). Расчеты показали, что в паре УЭП—индекс развития болезни (ИРБ) $r = 0,85 \pm 0,007$ и $d = 0,72$ (d — коэффициент детерминации), в паре УЭП—изменение фотосинтетического потенциала (ФП) $r = 0,63 \pm 0,060$.

Поскольку УЭП как биофизический показатель целостности для клеточных мембран листьев четко отразил реакцию на болезнь у сортов яровой пшеницы, кондуктометрическая оценка их устойчивости к обыкновенной гнили соответствовала потерям урожая зерна. В частности, на силь-

Если сравнить устойчивые к обыкновенной корневой гнили и поражаемые сорта по диапазону отклонений приведенных параметров, то у яровой пшеницы определяемые кондуктометрическим методом результирующие различия были больше, чем разница в морфометрических характеристиках растений. Так, у чувствительных к внедрению вирулентных штаммов патогена сортов пшеницы

ном инфекционном фоне сорт Обская 14 снизил урожайность на 30,5 %, остальные изученные сорта — на 40,8-41,5 %.

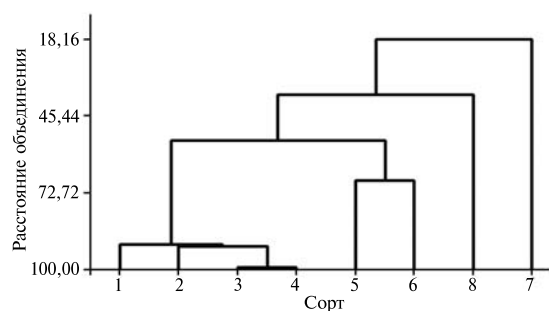


Рис. 3. Кластеризация сортов яровой пшеницы по признаку устойчивости к возбудителю корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* Schoem.: 1 — Полюшко; 2 — Удача; 3 — Новосибирская 29; 4 — Новосибирская 31; 5 — Новосибирская 89; 6 — Новосибирская 15; 7 — Обская 14; 8 — Александрина (по данным кондуктометрических исследований в условиях камеры искусственного климата).

У сортов яровой пшеницы обнаруженная агрономическая устойчивость к обыкновенной гнили оказалась полностью адекватна полученной при лабораторной кондуктометрической оценке биологической устойчивости, поскольку при тестировании в камере искусственного климата сорта Новосибирская 29, Полюшко и Новосибирская 31 тоже были включены в кластер слаботолерантных (малочувствительных) к болезни (рис. 3). У других сортов селекции Сибирского НИИ растениеводства

биофизическая реакция на заболевание существенно отличалась от характерной для указанного кластера, особенно у сорта Обская 14. Следовательно, кондуктометрический метод показал себя вполне пригодным для ранней диагностики относительной устойчивости к обыкновенной корневой гнили у сортов яровой пшеницы и ячменя и использованию в агрономической и селекционной практике.

Таким образом, установлено, что оценка стрессоустойчивости сортов зерновых культур к обыкновенной гнили, проводимая на стадии проростков по биофизическим показателям состояния клеточных мембран, соответствует снижению биометрических показателей, всхожести и биомассы у испытывающих стресс растений. Кондуктометрический метод более чувствительно отражает реакцию сортов яровой пшеницы на стресс, чем биометрические параметры: разница в электрофизических показателях между чувствительными к внедрению возбудителя обыкновенной гнили сортами пшеницы и устойчивыми сортами составляет 30-57 %, в то время как в изменении биометрических параметров — не более 20 %. Следовательно, кондуктометрический метод ранней диагностики стрессоустойчивости сортов может быть рекомендован для экспресс-отбора перспективного селекционного материала у зерновых культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оди́нцова И.Г. Генетика устойчивости к фитопатогенам. Успехи современной генетики, 1994, 19: 119-132.
2. Тырышкин Л.Г. Генетическое разнообразие пшеницы и ячменя по эффективной устойчивости к болезням и возможности его расширения. Автореф. докт. дис. СПб, 2011.
3. Акулов А.Ю. Биологические особенности *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorokin) Shoemaker и диагностика возбудителей корневой гнили и черного зародыша ярового ячменя. Канд. дис. Харьков, 2006.
4. Берестецкий А.О. Фитотоксины грибов: от фундаментальных исследований — к практическому использованию (обзор). Прикладная биохимия и микробиология, 2008, 44(5): 501-514.
5. Kumar J., Huckelhoven R., Beckhove U., Nagarajan S., Kogel K.H. A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*). Phytopathology, 2001, 91: 127-133.
6. Фадеев Ю.Н. Влияние токсинов возбудителя гельминтоспориозной корневой гнили

- на фотовосстановление НАДФ хлоропластами яровой пшеницы. Сельскохозяйственная биология, 1987, 12: 29-34.
7. Полонский В.И., Сурин Н.А. Оценка зерновых злаков на устойчивость к неблагоприятным экологическим факторам. Новосибирск, 2003.
 8. Хапилина О.Н. Использование токсичных метаболитов *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.: Sorok.) Shoem. в клеточной селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к гельминтоспориозной корневой гнили. Автореф. канд. дис. Астана, 2005.
 9. Дурьнина Е.П. Роль макро- и микроэлементов в хеомунимитете растений на примере устойчивости ячменя к обыкновенной корневой гнили (возбудитель *Helminthosporium sativum*). Тез. докл. 11 Всес. конф. «Микроэлементы в биологии и их применение в сельском хозяйстве и медицине». Самарканд, 1990: 283-284.
 10. Рогинский В.З. Сортовая специфика устойчивости яровой пшеницы к корневой гнили в условиях действия стрессовых факторов. Вестник сельскохозяйственной науки, 1992, 1: 131-138.
 11. Методы экспериментальной микологии /Под ред. В.И. Билай. Киев, 1982.
 12. Лангольф Э.И. Методика определения патогенности штаммов гриба *Bipolaris sorokiniana* (возбудителя обыкновенной корневой гнили яровой пшеницы). Науч.-тех. бюл. ВАСХНИЛ (Новосибирск), 1981: 24-26.
 13. Ledingham R.J., Chinn S.H.F. A flotation method for obtaining spores of *Helminthosporium sativum* from soil. Canad. J. Bot., 1955, 33(4): 298-303.
 14. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М., 1985.
 15. Коробова Л.Н., Гурова Т.А., Голощапова Е.А., Куцерубова Н.С., Луговская О.С., Минеев В.В. Оценка стрессоустойчивости сортов зерновых культур кондуктометрическим методом. Новосибирск, 2010.
 16. Диагностика растений к стрессовым воздействиям: Метод. реком. /Под ред. Г.В. Удовенко. СПб, 1988.
 17. Экологический мониторинг и методы совершенствования защиты зерновых культур от вредителей, болезней и сорняков: Метод. реком. СПб, 2002.
 18. Васильчук Н.С., Евдокимова О.А., Захарченко Н.А., Кумаков В.А., Поздеев А.И., Чернов В.К., Шер К.Н. Некоторые приемы и методы физиологического изучения сортов зерновых культур в полевых условиях /Под ред. В.А. Кумакова. Саратов, 2000.
 19. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. Краснообск, 2004.

*ГНУ Сибирский физико-технический институт
аграрных проблем Россельхозакадемии,
630501 Новосибирская обл., пос. Краснообск,
e-mail: lnkorobova@mail.ru, guro-tamara@jandex.ru;
2ФГБОУ ВПО Новосибирский государственный
аграрный университет,
630039 г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160*

*Поступила в редакцию
7 марта 2012 года*

RESISTANCE TO *Bipolaris sorokiniana* Schoem. IN WINTER WHEAT INDICATED BY CONDUCTOMETRIC METHOD

L.N. Korobova^{1, 2}, T.A. Gurova¹, O.S. Lugovskaya¹

Summary

Resistance to stresses is known to be under the plant genes control. In winter cereals which are sensitive to a rot pathogen *Bipolaris sorokiniana* Schoem., the metabolic processes, i.e. the energy accumulation, respiration intensity, enzymatic activity, polysaccharide and amino acids synthesis, K input, cell membrane intactness, change significantly. As a result, a part of intracellular electrolytes are lost. A variety resistance (tolerance) is usually evaluated as the yield loss which indicates an agronomic resistance to disease, and by estimating the physiological, biochemical and biophysical parameters during early vegetation which reflect a biological resistance. We used a conductometric method to estimate the resistance of 15 winter wheat and winter rye varieties under plant inoculation with *B. sorokiniana* Schoem. in a climatic chamber, and then the 4 winter wheat varieties with contrast characteristics in that test were examined in pot trials. The correlations between different indexes of early plant reaction to biotic stress were shown to be really tight and reliable. It was revealed that the electrophysical parameters of leaf cell membranes changed equal to root and sprouts length in 14-day seedlings, and to their biomass as an integral growth index. Thus, the electrophysical parameters are adequate to biometric, psychopathological, physiological parameters and yield losses, and can be used as the indicators for plant resistance to stress caused by *B. sorokiniana* Schoem. infection.