



ПОКАЗАТЕЛЬ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПРОРОСТКОВ В ОЦЕНКЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ

✉ Гурова Т.А., Свежинцева Е.А., Чесноченко Н.Е.

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

✉ e-mail: guro-tamara@yandex.ru

Представлены результаты исследований применения показателя проницаемости клеточных мембран, определяемого по относительному изменению удельной электропроводности (УЭП) водных вытяжек тканей, проростков сортов яровой пшеницы Новосибирская 18, Новосибирская 44, Сибирская 21 и Омская 18 при совместном действии стрессоров. В модельных лабораторных вегетационных опытах исследована почасовая динамика УЭП водных вытяжек листьев проростков (экспозиция листьев в воде 0,5–4,5 ч) в условиях одновременного действия хлоридного засоления (1,3%) и возбудителя обыкновенной гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (5000 конидий на зерно). Установлено достоверное увеличение УЭП в 1,5 раза и скорости выхода электролитов в 2 раза у менее устойчивого сорта Новосибирская 44 по сравнению с более устойчивым Омская 18. Исследована посуточная динамика УЭП 10–16-суточных проростков в условиях последовательного действия гипертермии семян (43 °C), хлоридного засоления (1,3%) и *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (5000 конидий на зерно). Установлен протекторный эффект гипертермии у более устойчивого сорта Сибирская 21 (достоверное снижение УЭП до 1,3 раза) по сравнению с вариантом без прогрева семян. У менее устойчивого сорта Новосибирская 18 прогрев семян дестабилизировал состояние клеточных мембран (достоверное увеличение УЭП и скорости выхода электролитов в 1,5 и 1,2 раза соответственно). Экспериментально определены условия, обеспечивающие выявление максимальных различий исследуемых сортов пшеницы: возраст проростков – 10 сут, временной интервал экспозиции образцов в воде – 1,5–4,5 ч. Межсортные различия по относительному изменению значений УЭП в варианте без прогрева семян составляли 1,9 раза и в варианте с прогревом семян – 3,7 раза с достоверностью различий на уровнях $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$. Межсортные различия по относительному изменению УЭП, установленные на интервале времени экспозиции выхода электролитов 1,5–4,5 ч, составляли 1,50–1,67 раза с достоверностью различий на уровне $p \leq 0,05$. Предложенный подход позволит разработать методику оценки новых генотипов на устойчивость к совместному действию биотических и абиотических стрессоров.

Ключевые слова: сорт, пшеница, устойчивость, стрессоры, проницаемость клеточных мембран, удельная электропроводность

THE INDICATOR OF CELL MEMBRANE PERMEABILITY OF WHEAT SEEDLINGS IN ASSESSING STRESS RESISTANCE OF WHEAT VARIETIES

✉ Gurova T.A., Svezhintseva E.A., Chesnochenko N.E.

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences
Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

✉ e-mail: guro-tamara@yandex.ru

The paper presents the results of studies on the use of the permeability index of cell membranes, determined by the relative change in the specific electrical conductivity (EC) of water extracts of

tissues of spring wheat seedlings, varieties Novosibirskaya 18, Novosibirskaya 44, Sibirskaya 21 and Omskaya 18, under the combined action of stressors. In model laboratory vegetation experiments, the hourly dynamics of the EC of water extracts of seedling leaves (exposure of leaves to water for 0.5–4.5 h) was investigated under the simultaneous action of chloride salinity (1.3%) and the causative agent of common rot of cereals *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (5000 conidia per grain). It was established that EC increased by 1.5 times and the rate of electrolyte leakage increased twofold in the less resistant variety Novosibirskaya 44 compared to the more resistant Omskaya 18. The daily dynamics of the EC of 10–16-day-old seedlings was studied under the sequential action of seed hyperthermia (43 °C), chloride salinity (1.3%), and *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (5000 conidia per grain). The protective effect of hyperthermia was established in the more resistant variety Sibirskaya 21 (a decrease in EC up to 1.3 times) in comparison with the variant without heating the seeds. In the less resistant variety Novosibirskaya 18, heating the seeds destabilized the state of the cell membranes (increase in EC and electrolyte leakage rate by 1.5 and 1.2 times respectively). The conditions that ensure the identification of the maximum differences in the studied wheat varieties were experimentally determined: the age of seedlings 10 days, the time interval of exposure of the samples to water 1.5–4.5 h. Intervarietal differences in the relative change in the EC values in the variant without heating the seeds were 1.9 times and in the variant with heating the seeds – 3.7 times, with the significance of difference at the levels $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$. Intervarietal differences in the relative change in the EC, established for the time interval exposition of electrolytes leakage of 1.5–4.5 h, were 1.50–1.67 times with the significance of difference at the level of $p \leq 0.05$. The proposed approach will make it possible to develop a methodology for assessing new genotypes for resistance to the combined action of biotic and abiotic stressors.

Keywords: wheat, variety, resistance, stressors, permeability of cell membranes, electrical conductivity

Для цитирования: Гурова Т.А., Свежинцева Е.А., Чесноченко Н.Е. Показатель проницаемости клеточных мембран проростков в оценке стрессоустойчивости сортов пшеницы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51. № 3. С. 31–43. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-4>

For citation: Gurova T.A., Svezhintseva E.A., Chesnochenko N.E. The indicator of cell membrane permeability of wheat seedlings in assessing stress resistance of wheat varieties. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2021, vol. 51, no. 3, pp. 31–43. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-4>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

В селекции сортов сельскохозяйственных культур необходима диагностика их устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды. Выполнение подобной оценки в полевых условиях прямым методом (по депрессии урожая) – трудоемкий и продолжительный по времени этап. В связи с этим оценку сортов проводят в лабораторных условиях косвенными методами по изменению физиологических, биохимических и биофизических параметров, которые отражают процесс адаптации растений к стрессовым воздействиям [1, 2]. К достоинствам косвенной оценки относят

высокую информативность, возможность прогнозировать снижение продуктивности под действием стрессов на ранних стадиях онтогенеза растений, независимость диагностических показателей от условий окружающей среды, возможность автоматизированной оценки [3].

В большинстве своем используемые методы диагностики позволяют оценивать генотипы по устойчивости к одному действующему стрессору. Однако в природных условиях растительные организмы подвержены воздействию комплекса стрессовых факторов среды в различных сочетаниях и дозах на разных фазах развития растений.

Поэтому важно проводить исследования устойчивости культур к стрессовым воздействиям, моделируя их совокупное действие [4]. В условиях Сибири в числе прочих лимитирующих урожайность стрессоров следует учитывать засоление почв, обыкновенную корневую гниль, повышенные температуры воздуха [5].

Основные ответные реакции растений на абиотические и биотические факторы связаны с возникновением окислительного стресса, нарушающего структуру и функционирование клеточных мембран. Это приводит к полной гибели клеток, торможению или остановке роста [6, 7]. Биологическая мембрана служит первичным защитным барьером и обеспечивает неспецифическую составляющую адаптационных механизмов при действии стрессовых факторов [8].

Важнейшее свойство биологических мембран – проницаемость. Она определяет стабильность растительных тканей и клеток и характеризует статическую, генетически обусловленную потенциальную устойчивость генотипа [9, 10]. Чем выше устойчивость растений, тем меньше нарушаются структура и свойства мембран, сокращается выход электролитов из растительных тканей во внешнюю среду [11]. Изменение мембранной проницаемости для электролитов – один из критериев устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессорам. Причиной возрастания проницаемости клеточных мембран при стрессах может быть соотношение H^+/Ca^{2+} в мембранах, снижение уровня SH-групп, образование дефектных областей в липидах, возрастание активности эндогенных фосфолипаз¹.

Проницаемость клеточных мембран определяется кондуктометрическим методом по измерению удельной электропроводности электролитов, вышедших через поврежденные клеточные мембраны из тканей

и органов растений в дистиллированную воду, что может являться диагностическим показателем стрессоустойчивости сорта.

Получены результаты исследований по изменению проницаемости клеточных мембран при действии на растения низких температур [12, 13], засухи [14, 15], заражения патогеном [16, 17], биологически активных веществ [18, 19], тяжелых металлов [20].

Метод также оказался востребованным в изучении реакции растений на раздельное и комбинированное действие стрессоров: низкой температуры и ионов кадмия [21], теплового шока и водного дефицита [22], неблагоприятной температуры и тяжелых металлов [23], засоления и цинка [24].

Ранее нами экспериментально доказана возможность учета изменения показателя проницаемости клеточных мембран, оцениваемого по удельной электропроводности (УЭП) тканей проростков. На основе этого разработаны диагностические методы для оценки устойчивости сортов яровой пшеницы и ячменя к хлоридному засолению и возбудителю обыкновенной гнили злаков^{2,3}.

Цель исследований – оценить удельную электропроводность водных вытяжек листьев как показатель проницаемости клеточных мембран проростков для определения стрессоустойчивости сортов пшеницы к совокупному действию возбудителя корневой гнили злаков, хлоридного засоления и гипертермии семян.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа выполнена в лаборатории изучения физических процессов в агрофитоценозах Сибирского физико-технического института СФНЦА РАН. Исследования проводили в лабораторных условиях (вегетационный опыт – водные культуры) на проростках районированных сортов мягкой яровой пшеницы Новоси-

¹Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений: учеб. пособие. СПб.: изд-во С.-Пб. ун-та, 2002. 244 с.

²Пат. RU 2446671 МПК A01G7/00, A01H1/04. Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к хлоридному засолению / Т.А. Гурова, В.Ю. Березина, Н.С. Куцерубова. Оpubл. 10.04.2012.

³Пат. RU 2625027 МПК A01C12N 1/14, A01H 5/12. Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков / Т.А. Гурова, В.В. Альт, О.С. Луговская. Оpubл. 11.07.2017.

бирская 18, Новосибирская 44, Сибирская 21 селекции Сибирского НИИ растениеводства – филиала ИЦиГ СО РАН и Омская 18 селекции Омского АНЦ.

Изучение показателя проницаемости клеточных мембран проростков проведено для оценки устойчивости сортов к совокупному действию возбудителя обыкновенной гнили *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (*B. sorokiniana*), хлоридного засоления и гипертермии семян. Исследована почасовая и посуточная динамика УЭП вытяжек листьев проростков сортов пшеницы, различающихся по устойчивости к данным стрессорам. Предварительно устойчивость сортов оценена в лабораторных условиях по ростовым параметрам, изменению сухой и сырой биомассы и по развитию болезни на проростках [25].

Почасовую динамику изменения УЭП вытяжек листьев (кинетику выхода электролитов после экспозиции листовой ткани в дистиллированной воде в течение 0,5–4,5 ч) регистрировали у 10-суточных проростков сортов Омская 18 (относительно устойчивый) и Новосибирская 18 (относительно неустойчивый). Действие стрессоров было одновременным.

Варианты опыта:

- контроль (семена без стрессорной нагрузки),
- инфицирование семян *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) + хлоридное засоление 1,3%.

Посуточную динамику УЭП регистрировали у 10–16-суточных проростков сортов Сибирская 21 (относительно устойчивый) и Новосибирская 18 (относительно неустойчивый). Применяли последовательное действие стрессоров – предварительный прогрев семян с последующими инфицированием *B. sorokiniana* и хлоридным засолением.

Варианты опыта:

- контроль (семена без прогрева) и прогрев семян при 43 °С;
- семена без прогрева + инфицирование *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) + хлоридное засоление 1,3%;

- прогрев семян + инфицирование *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) + хлоридное засоление 1,3%.

Уровни стрессовых нагрузок (конидиальная суспензия *B. sorokiniana* 5000 конидий на зерно, концентрация хлорида натрия (NaCl) 1,3% и температура 43 °С) определены нами в специально проведенных вегетационных опытах. Данные уровни позволяют дифференцировать сорта пшеницы сибирской селекции при оценке их устойчивости к данным стрессовым факторам (см. сноска 2 и 3) [26].

Семена пшеницы предварительно стерилизовали 96%-м этиловым спиртом в течение 2 мин с последующим трехкратным промыванием дистиллированной водой. Прогрев семян проводили в течение 20 мин в горячей воде на водяной бане по методике ВИР⁴. После остывания семена раскладывали в чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой и проращивали в термостате при температуре 22 °С в течение трех суток. Одновременно проращивали замоченные пробы семян без прогрева. Инфицирование семян проводили в фазе прорастания (на третьи сутки культивирования) конидиальной суспензией смеси среднепатогенных изолятов *B. sorokiniana*, приготовленной на 0,1%-м водном агаре (по одной капле на зерно). Далее растения выращивали в рулонной культуре на водопроводной воде (вариант контроль) и хлориде натрия (вариант инфицирование *B. sorokiniana* + хлоридное засоление) в климатической камере «Биотрон-8» при фотопериоде «день – ночь» 16 и 8 ч соответственно, освещенности 20 000 лк (день), температуре 22 °С и влажности 60%.

Для измерения УЭП у проростков отделяли первые листья, промывали водопроводной водой, просушивали фильтровальной бумагой. В каждом варианте готовили средний образец. Для этого из средней части листьев лезвием делали нарезки, помещали их в мешочек из капроновой ткани, промывали дистиллированной водой, затем просушивали фильтровальной бумагой. Навески

⁴Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методические рекомендации / под ред. Г.В. Удовенко. Л., 1988. 228 с.

растительной ткани помещали в стеклянный стаканчик с дистиллированной водой в определенном соотношении ткань – вода. Стаканчики выдерживали в условиях освещения не менее 1,5 ч. Удельную электропроводность водных вытяжек листьев измеряли на кондуктометрической установке edge EC, HANNA Instruments (Германия). Реакцию сорта определяли по относительному изменению УЭП водных вытяжек листьев проростков после экспозиции растений на стрессорах. Чем меньше изменение параметра, тем устойчивее сорт⁵.

Аналитическая повторность опытов 6–8-кратная, биологическая – 3-кратная. Репрезентативная выборка – 200 проростков в каждом варианте опыта. Экспериментальные данные математически обрабатывали с помощью стандартных статистических программ. Для определения значимости различий средних значений использовали *t*-критерий Стьюдента. Для выявления взаимосвязи регистрируемых параметров сортов с их устойчивостью проводили регрессионный анализ. Ошибка среднего не превышала 3–5%. Проведено три серии экспериментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование почасовой динамики выхода электролитов. Одно из наиболее существенных требований, предъявляемых к методу диагностики, – его дифференцирующая способность. Она определяется достоверностью оценки устойчивости близкородственных объектов (сорта одной культуры, растения из одной сортовой популяции) к различным стрессовым воздействиям. Поэтому в эксперименте необходим выбор режимов (условий), которые бы обеспечивали наибольшую амплитуду проявления сортовых различий.

Исследование кинетики выхода электролитов в зависимости от длительности экспозиции листовой ткани в воде – важный методический прием для установления времени проявления максимальных межсортовых

различий при оценке стрессоустойчивости сортов. Измерения УЭП показали различный характер выхода электролитов из листовой ткани проростков сортов пшеницы в дистиллированную воду при одновременном действии хлоридного засоления и возбудителя корневой гнили злаков (см. рис. 1).

Выход электролитов у проростков обоих сортов в контрольных вариантах достоверно не различался. В опытном варианте у проростков относительно устойчивого сорта Омская 18 выход электролитов стабилизировался на более низком уровне значения УЭП по сравнению с относительно неустойчивым сортом Новосибирская 44. Быстрый выход электролитов в первые 0,5–1,5 ч экспозиции образцов в дистиллированной воде сменялся более слабым, но стабильным выходом в течение следующих трех часов (время экспозиции 1,5–4,5 ч). Таким образом, на кривой суммарного выхода электролитов можно выделить два участка, характеризующих временные интервалы различных процессов (см. рис. 2).

Участок 1 графика (время экспозиции 0,5–1,5 ч) характеризует выход электролитов из апопласта, в котором ионы перемещаются в соответствии с законами диффузии и адсорбции [27]. Участок 2 графика (время экспозиции 1,5–4,5 ч) отличается меньшим углом наклона линейной аппроксимации, чем участок 1, и отражает функциональную активность плазмалеммы, ее сопротивление диффузному проникновению электролитов.

Следовательно, временной интервал выхода электролитов из свободного пространства (апопласта) и цитоплазмы (через плазмалемму), косвенно указывающий на состояние плазмалеммы, составляет 1,5–4,5 ч. Показатель относительного изменения УЭП для неустойчивого сорта Новосибирская 44 значительно превышает (при экспозиции 1,5 ч – в 1,5 раза) показатель относительного изменения УЭП для устойчивого сорта Омская 18. Наклон линейной аппрок-

⁵Гурова Т.А., Денисюк С.Г., Луговская О.С., Свежинцева Е.А., Минеев В.В. Методические положения ранней диагностики устойчивости яровой пшеницы и ячменя к совокупному действию стрессоров. Новосибирск: СФНЦА РАН, 2017. 62 с.

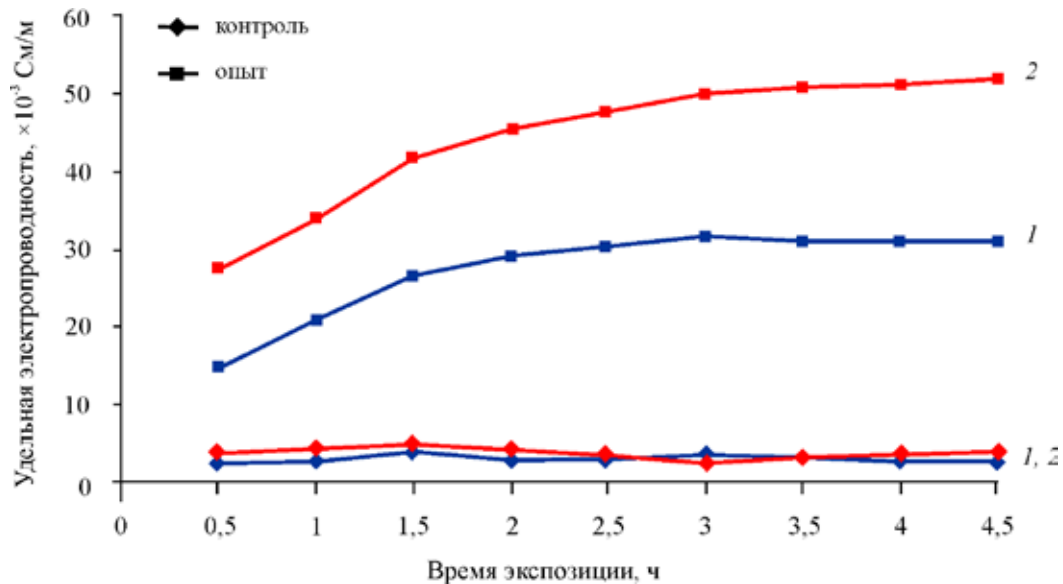


Рис. 1. Удельная электропроводность водных вытяжек листьев пшеницы в зависимости от длительности экспозиции листовой ткани в воде (стрессоры – конидиальная суспензия *B. sorokiniana* – 5000 конидий на зерно + хлорид натрия 1,3%): 1 – сорт Омская 18 (относительно устойчивый), 2 – сорт Новосибирская 44 (относительно неустойчивый). Различия с контролем достоверны на уровне $p \leq 0,01$

Fig. 1. Electrical conductivity of water extracts of wheat leaves depending on the duration of exposure of leaf tissue to water (stressors – conidial suspension of *B. sorokiniana* – 5000 conidia per grain + sodium chloride 1.3%): 1 – variety Omskaya 18 (relatively resistant), 2 – variety Novosibirskaya 44 (relatively non-resistant). Differences with control are reliable at the level of $p \leq 0.01$

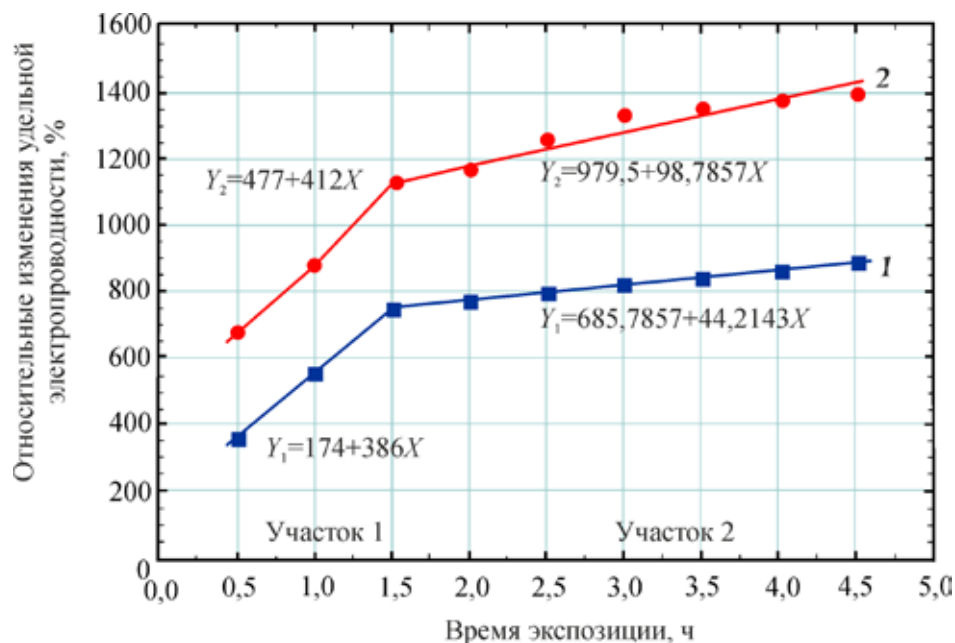


Рис. 2. Линейная аппроксимация относительного изменения удельной электропроводности водных вытяжек листьев пшеницы от длительности экспозиции листовой ткани в воде: 1 – сорт Омская 18 (относительно устойчивый); 2 – сорт Новосибирская 44 (относительно неустойчивый)

Fig. 2. Linear approximation of the relative change in the electrical conductivity of water extracts of wheat leaves on the duration of exposure of leaf tissue to water: 1 – variety Omskaya 18 (relatively resistant); 2 – variety Novosibirskaya 44 (relatively non-resistant)

симации (скорость выхода электролитов) для неустойчивого сорта Новосибирская 44 значительно превышает (более чем в 2 раза) скорость выхода электролитов у проростков устойчивого сорта Омская 18. Межсортные различия, установленные по временам экспозиций 1,5; 3,0 и 4,5 ч, составляли 1,5; 1,66 и 1,67 раза соответственно с достоверностью различий на уровне $p \leq 0,05$.

Таким образом, максимальные различия исследуемых сортов яровой пшеницы выявлены на временном интервале опыта 1,5–4,5 ч. Установлено время экспозиции образцов в воде (не менее 1,5 ч). При меньшем периоде экспозиции происходит выход электролитов только из свободного пространства (апопласта). Длительность экспозиции более 4,5 ч увеличивает продолжительность процедуры оценки образцов и снижает качество анализов. У более устойчивого сорта Омская 18 установлены наименьшие показатели относительного изменения УЭП и скорости выхода электролитов. Чем меньше относительное изменение УЭП, тем устойчивее сорт к совокупному действию кониди-

альной суспензии *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) и 1,3% хлоридного засоления.

Исследование посуточной динамики выхода электролитов. Посуточную динамику УЭП вытяжек листьев исследовали у 10–16-суточных проростков сортов пшеницы Сибирская 21 (относительно устойчивый) и Новосибирская 18 (относительно неустойчивый). Эксперимент проведен без предварительного прогрева и с прогревом семян при совместном действии следующих стрессоров: конидиальной суспензии *B. sorokiniana* и хлорида натрия. Первичные экспериментальные данные представлены в таблице 1. Полученные результаты аппроксимированы графически в виде квадратичных зависимостей (см. рис. 3). Коэффициенты квадратных уравнений для каждого варианта опыта соответственно представлены в таблице 2. Анализ полученных данных опыта по исследованию посуточной динамики и соответствующих аппроксимационных квадратичных зависимостей позволил выявить следующие особенности.

Значение относительного изменения УЭП резко возрастает у 12-суточных про-

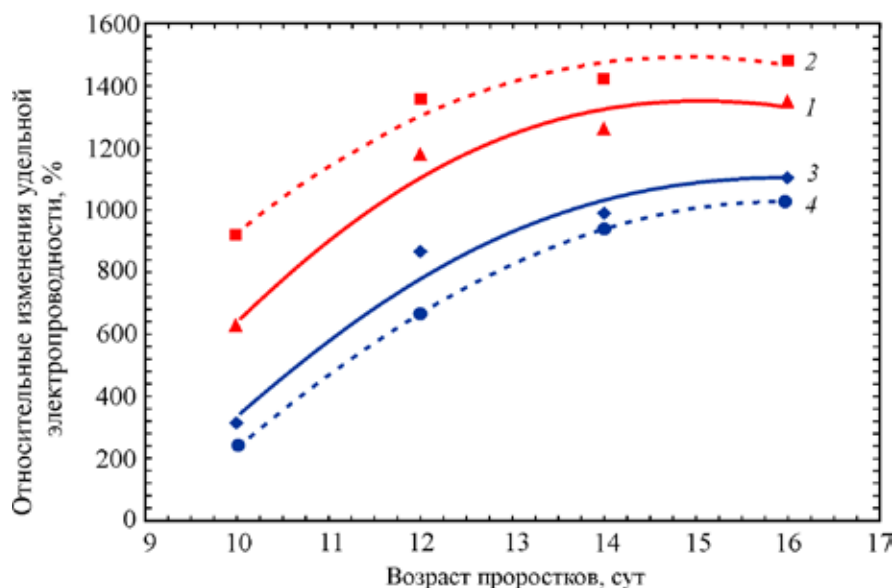


Рис. 3. Зависимость относительного изменения УЭП от возраста проростков при совместном действии стрессоров (конидиальная суспензия *B. sorokiniana* + хлорид натрия 1,3%): 1 – сорт Новосибирская 18, без прогрева семян; 2 – сорт Новосибирская 18, с прогревом семян; 3 – сорт Сибирская 21, без прогрева семян; 4 – сорт Сибирская 21, с прогревом семян

Fig. 3. Dependence of the relative change in EC on the age of seedlings under the combined action of stressors (conidial suspension of *B. sorokiniana* + chloride salinity 1.3%): 1 – Novosibirskaya 18, without seed heating; 2 – Novosibirskaya 18 variety, with seed heating; 3 – Sibirskaya 21, without seed heating; 4 – Sibirskaya 21, with seed heating

Табл. 1. Изменение удельной электропроводности сортов пшеницы в зависимости от возраста проростков при действии комплекса стрессоров, УЭП $\times 10^{-3}$ См/м

Table 1. Changes in the specific electrical conductivity of wheat varieties depending on the age of seedlings under the action of a complex of stressors, EC $\times 10^{-3}$ Cm/m

Сорт	Вариант	Возраст проростков, сут			
		10	12	14	16
Без прогрева семян					
Новосибир- ская 18	Контроль	3,5 ± 0,01	3,5 ± 0,05	3,1 ± 0,03	3,0 ± 0,05
	Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	25,5 ± 0,5*	44,7 ± 0,5*	42,2 ± 0,3*	43,5 ± 0,5*
Сибирская 21	Контроль	5,1 ± 0,05	4,1 ± 0,06	4,0 ± 0,01	4,1 ± 0,07
	Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	21,4 ± 0,7*	39,6 ± 1,1*	40,4 ± 0,9*	49,2 ± 1,2*
Прогрев семян 43 °С					
Новосибир- ская 18	Контроль	3,8 ± 0,03	3,8 ± 0,02	2,9 ± 0,03	3,0 ± 0,03
	Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	38,7 ± 1,0*	55,4 ± 1,2*	44,1 ± 0,8*	47,4 ± 0,9*
Сибирская 21	Контроль	6,9 ± 0,08	4,8 ± 0,04	4,2 ± 0,03	4,0 ± 0,02
	Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	23,8 ± 0,5*	36,8 ± 0,7*	43,6 ± 0,8*	45,4 ± 1,1*

* Различия с контролем достоверны на уровне значимости $p \leq 0,01$.

ростков с последующим увеличением показателя при культивировании в течение 16 сут у обоих сортов в вариантах с прогревом и без прогрева семян (см. табл.1 и рис. 3). В варианте без прогрева семян показатель относительного изменения УЭП у проростков сорта Новосибирская 18 на всем диапазоне исследований достоверно ($p \leq 0,05$) превышает показатель УЭП для устойчивого сорта Сибирская 21 (почти в 2 раза на 10-е сутки культивирования проростков). Предварительный прогрев семян с последующим действием двух стрессоров (*B. sorokiniana* и хлорида натрия) привел к дестабилизации клеточных мембран и достоверному ($p \leq 0,05$) увеличению УЭП проростков сорта Новосибирская 18 (относительно неустойчивый). У сорта Сибирская 21 прогрев семян стимулировал формирование защитно-приспособительных реакций, что выразилось в снижении УЭП за весь период культивирования проростков этого сорта. Одна из возможных причин такой комбинированной толерантности у проростков сорта Сибирская 21 – способность растений адаптировать существующие перекрестные реакции при действии стрессоров [28].

У обоих сортов разница относительного изменения УЭП в вариантах с прогревом

семян и без прогрева отмечена максимальной у 10-суточных проростков – 1,5 раза (сорт Новосибирская 18) и 1,3 раза (сорт Сибирская 21) с достоверностью различий на уровне $p \leq 0,05$. Межсортные максимальные различия зарегистрированы также у 10-суточных проростков, они в варианте без прогрева семян составляли 1,9 раза и в варианте с прогревом семян – 3,7 раза с достоверностью различий на уровне $p \leq 0,05$.

Одна из важных характеристик процесса – скорость его нарастания. Для характеристики скорости выхода электролитов проведен анализ линейных функций (производных от аппроксимационных зависимостей), который позволил выявить ряд особенностей (см. табл. 2).

Максимальный выход электролитов достигался при возрасте проростков около 15,5 сут для всех вариантов опытов (14,86; 14,95; 15,67; 16,25 сут), причем у сорта Новосибирская 18 – на сутки раньше, чем у сорта Сибирская 21. Угловым коэффициентом функции, характеризующий скорость изменения скорости выхода электролитов, также отмечен более высоким у сорта Новосибирская 18, что указывает на большую нестациональность клеточных мембран у данного сорта при совокупном действии стрессоров.

Табл. 2. Аналитические выражения аппроксимационных функций зависимости относительного изменения УЭП от возраста проростков**Table 2.** Analytical expressions of the dependence approximation functions of EC relative change on the age of seedlings

Вариант	Аналитическое выражение		Абцисса максиму-ма X_m , сут	Угловой коэффициент функции Y_1
	Функция Y , УЭП	Производная Y_1		
<i>Сорт Новосибирская 18</i>				
Семена без прогрева + конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	$Y_1 = -28,8125X^2 + 861,275X - 5080,45$	$-57,6250X + 861,275$	14,95	-57,6
Прогрев семян + конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	$Y_2 = -23,5625X^2 + 700,675X - 3713,65$	$-47,1250X + 700,675$	14,86	-47,1
<i>Сорт Сибирская 21</i>				
Семена без прогрева + конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	$-22,3125X^2 + 699,475X - 412,050$	$-44,6250X + 699,475$	15,67	-44,6
Прогрев семян + конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + хлорид натрия	$-20,3188X^2 + 660,353X - 4327,895$	$-40,6376X + 660,353$	16,25	-40,6

Таким образом, в условиях последовательного действия стрессоров установлен протекторный эффект гипертермии у более устойчивого сорта Сибирская 21 (достоверное снижение УЭП до 1,3 раза) по сравнению с вариантом без прогрева семян. У менее устойчивого сорта Новосибирская 18 прогрев семян дестабилизировал состояние клеточных мембран (достоверное увеличение УЭП и скорости выхода электролитов в 1,5 и 1,2 раза соответственно).

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально установлена информативность УЭП водных вытяжек листьев как показателя изменения проницаемости клеточных мембран проростков для определения стрессоустойчивости сортов пшеницы к совокупному действию возбудителя корневой гнили злаков, хлоридного засоления и гипертермии семян.
2. Определена зависимость УЭП водных вытяжек листьев четырех сортов яровой пшеницы от устойчивости к одновременному и последовательному совокупному действию гипертермии семян

(43 °C), хлоридного засоления (1,3%) и возбудителя обыкновенной гнили злаков *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно). Наименьшие изменения величины УЭП и скорости выхода электролитов зарегистрированы у проростков относительно устойчивых сортов яровой пшеницы Омская 18 и Сибирская 21.

3. При исследовании почасовой динамики выхода электролитов (экспозиция листьев проростков в воде 0,5–4,5 ч) при одновременном действии *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) и хлоридного засоления (1,3%) установлено достоверное увеличение показателя относительного изменения УЭП в 1,5 раза и скорости увеличения выхода электролитов в 2 раза у менее устойчивого сорта Новосибирская 44 по сравнению с более устойчивым сортом Омская 18.
4. В исследовании посуточной динамики выхода электролитов у 10–16-суточных проростков при последовательном действии гипертермии семян (43 °C), *B. sorokiniana* (5000 конидий на зерно) и хлоридного засоления (1,3%) протекторный эффект ги-

пертермии установлен у более устойчивого сорта Сибирская 21. Отмечено достоверное ($p \leq 0,05$) снижение относительно изменения УЭП в 1,3 раза по сравнению с вариантом без прогрева семян. У менее устойчивого сорта Новосибирская 18 прогрев семян дестабилизировал состояние клеточных мембран, что привело к достоверному ($p \leq 0,05$) увеличению относительного изменения УЭП и скорости выхода электролитов в 1,5 и 1,2 раза соответственно.

- Получены аналитические выражения, подтверждающие экспериментально установленные методические приемы кондуктометрических измерений, обеспечивающих максимальные межсортные различия: возраст проростков – 10 сут; временной интервал экспозиции образцов в воде – 1,5–4,5 ч. Межсортные различия в варианте без прогрева семян составляли 1,9 раза и в варианте с прогревом семян – 3,7 раза с достоверностью различий на уровнях $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$. Межсортные различия, установленные на интервале времени экспозиции выхода электролитов 1,5–4,5 ч, составляли 1,50–1,67 раза с достоверностью различий на уровне $p \leq 0,05$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гончарова Э.А., Еремин Г.В., Гасанова Т.А. Экспресс-методы оценки стрессоустойчивости сельскохозяйственных культур и стратегия их диагностики для селекции // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2015. № 5. С. 21–24.
- Карманенко Н.М. Адаптация зерновых культур к стрессовым факторам: монография. М.: Издательство ВНИИА, 2014. 160 с.
- Полонский В.И. Оценка функционального состояния растений: продукционные, селекционные и экологические аспекты: монография. Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2014. 408 с.
- Suzuki N., Rivero R.M., Shulaev V., Blumwald E., Mittler R. Abiotic and biotic stress combinations // *New Phytologist*. 2014. Vol. 203. N 1. P. 32–43.
- Гурова Т.А., Осипова Г.М. Проблема сопряженной стрессоустойчивости растений при изменении климата в Сибири // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2018. Т. 48. № 2. С. 81–92. DOI: 10.26898/0370-8799-2018-2-11.
- Ahmed I., Dai H., Zheng W., Gao F., Zhang G., Sun D., Wu F. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013. Vol. 63. P. 49–60.
- Zhong-Guang L., Ming G. Mechanical stimulation-induced cross-adaptation in plants: An overview // *Journal Plant Biology*. 2011. Vol. 54. P. 358–364. DOI: 10.1007/s12374-011-9178-3.
- Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Белкина А.В., Ренкова А.Г., Минабаева Ф.В. Липидный профиль корней пшеницы при действии мембранотропных агентов // *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии*. 2020. Т. 37. № 6. С. 466–476.
- Грищенко Н.Н., Лукаткин А.С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // *Поволжский экологический журнал*. 2005. № 1. С. 3–11.
- Терлецкая Н.В. Проницаемость клеточных мембран как показатель устойчивости растений к абиотическим стрессам // *Известия Национальной академии наук Республики Казахстан*. 2009. № 2. С. 60–64.
- Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S.S., Pozhvanov G.A., Sokolik A., Yurin V. Stress – induced electrolyte leakage: the role of K⁺- permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment // *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65 (5). P. 1259–1270. DOI: 10.1093/jxb/eru 004.
- Астахова Н.В., Попов В.Н., Селиванов А.А., Бураханова Е.А., Алиева Г.П., Мошков И.Е. Реорганизация ультраструктуры хлоропластов при низкотемпературном закаливании растений арабидопсиса // *Физиология растений*. 2014. Т. 61. № 6. С. 790–798.
- Danielle Fiebelkorn, David Horvath & Mukhlesur Rahman. Genome-wide association study for electrolyte leakage in rapeseed/canola

- (*Brassica napus*) // *Molecular Breeding*. 2018. Vol. 38. P. 129.
14. Поминов А.В., Дьячук Т.И., Кибкало И.А., Хомякова О.В., Акинина В.Н. Оценка засухоустойчивости растений сортообразцов тритикале мировой коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова // *Аграрный вестник Юго-Востока*. 2016. № 1–2. С. 38–40.
15. Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Федорова К.А., Шакирова Ф.М. Снижение степени индуцируемых засухой окислительных повреждений в растениях пшеницы при обработке донором NO // *ЭКОБИОТЕХ*. 2020. Т. 3. № 2. С. 181–186.
16. Hatsugai N., Katagiri F. Quantification of Plant Cell Death by Electrolyte Leakage Assay // *Bio-protocol*. 2018. Vol. 8(5). P. 2758. DOI: 10.21769/BioProtoc.2758.
17. Imanifard Z., Vandelle E., Bellin D. Measurement of hypersensitive cell death triggered by avirulent bacterial pathogens in *Arabidopsis* // *Methods in Molecular Biology*. 2018. Vol. 1743. P. 39–50. DOI: 10.1007 / 978-1-4939-7668-3_4.
18. Якунина А.В., Синицына Ю.В., Крутова Е.К., Веселов А.П. Изучение влияния пирабактина на урожайность растений гороха посевного *Pisum sativum* L. и анализ изменений перекисного окисления липидов и выхода электролитов как возможных факторов этого воздействия // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*. 2020. № 4 (32). С. 3–12.
19. Безрукова М.В., Кудоярова Г.Р., Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М. Влияние 24-эпибрассинолида на водный обмен отличающихся по засухоустойчивости сортов пшеницы при осмотическом стрессе // *Физиология растений*. 2021. Т. 68. № 2. С. 161–169.
20. Sánchez-Viveros G., González- Mendoza D., Alarcón A. Copper Effects on Photosynthetic Activity and Membrane Leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana* // *International Journal of Agriculture & Biology*. 2010. Vol. 12. P. 365–368.
21. Репкина Н.С., Таланова В.В., Тумов А.Ф., Букарева И.В. Реакция растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия // *Труды Карельского научного центра Российской академии наук*. 2014. № 5. С. 133–139.
22. Хохлова Л.П., Валиулина Р.Н., Мидер Д.Р., Акберова Н.И. Термостабильность мембран и экспрессия генов низкомолекулярных белков теплового шока при действии на растения повышенных температур и водного дефицита // *Биологические мембраны*. 2015. Т. 33. № 1. С. 59–71.
23. Лукаткин А.С., Старкина М.И. Влияние тидиазурина на устойчивость проростков огурца к стрессовым факторам // *Агрохимия*. 2009. № 10. С. 31–38.
24. Pandey S. K., Sujata Upadhyay, Zaffar Mehdi Dar, Hemantaranjan, A and Sri-vastava, J.P. Effect of electrolyte leakage activity on mungbean leaf under induced salinity and zinc levels // *International Journal of Current Research*. 2017. Vol. 9. Is. 06. P. 52438–52440.
25. Гурова Т.А., Свежинцева Е.А., Чесноченко Н.Е. Адаптация сортов пшеницы при гипертермии, хлоридном засолении и инфицировании *Bipolaris sorokiniana* Shoem. // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2020. № 6. С. 12–25. DOI: 10.26898/0370-8799-2020-6-2.
26. Гурова Т.А., Луговская О.С., Свежинцева Е.А. Адаптивные реакции проростков пшеницы, дифференцирующие сорта при гипертермии // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2019. Т. 49. № 3. С. 31–40. DOI: 10.26898/0370-8799-2019-3-4.
27. Коваль С.Ф., Шаманин В.П. Растение в опыте: монография. Омск: Издательство ИЦиГ СО РАН, ОмГАУ, 1999. 204 с.
28. Naghmeh Nejat, Nitin Mantri. Plant Immune System: Crosstalk Between Responses to Biotic and Abiotic Stresses the Missing Link in Understanding Plant Defence // *Current Issues in Molecular Biology*. 2017. Vol. 23. P. 1–16. DOI: 10.21775/cimb.023.001.

REFERENCES

1. Goncharova E.A., Eremin G.V., Gasanova T.A. Express-methods of evaluation of stress resistance of cultivated crops and strategy for their diagnosis for breeding. *Doklady Rossiiskoi akademii sel'skokhozyaistvennykh nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences*, 2015, no. 5, pp. 21–24. (In Russian).
2. Karmanenko N.M. *Adaptation of crops to stress factors*. Moscow, Izdatel'stvo VNIIA, 2014, 160 p. (In Russian).

3. Polonskii V.I. *Assessment of the functional state of plants: production, breeding and ecological aspects*. Krasnoyarsk, Krasnoyarskii gosudarstvennyi agrarnyi universitet, 2014, 408 p. (In Russian).
4. Suzuki N., Rivero R.M., Shulaev V., Blumwald E., Mittler R. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*, 2014, vol. 203, no. 1, pp. 32–43.
5. Gurova T.A., Osipova G.M. The problem of combined stress resistance of plants under climate change in Siberia. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2018, vol. 48, no. 2, pp. 81–92. (In Russian). DOI: 10.26898/0370-8799-2018-2-11.
6. Ahmed I., Dai H., Zheng W., Gao F., Zhang G., Sun D., Wu F. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, vol. 63, pp. 49–60.
7. Zhong-Guang L., Ming G. Mechanical stimulation-induced cross-adaptation in plants: An overview. *Journal Plant Biology*, 2011, vol. 54, pp. 358–364. DOI: 10.1007/s12374-011-9178-3.
8. Valitova Yu.N., Khabibrakhmanova V.R., Belkina A.V., Renkova A.G., Minibaeva F.V. The lipid profile of wheat roots treated with membranotropic agents. *Biologicheskie membrany: Zhurnal membranoi i kletochnoi biologii = Biochemistry (Moscow) supplement. Series A: Membrane and Cell Biology*, 2020, vol. 37, no. 6, pp. 466–476. (In Russian).
9. Grishenkova N.N., Lukatkin A.S. A conductometric technique to estimate the plant tissue stability to abiotic stresses. *Povolzhskii ekologicheskii zhurnal = Povolzhsky Journal of Ecology*, 2005, no. 1, pp. 3–11. (In Russian).
10. Terletskaya N.V. Permeability of cell membranes as an indicator of plant resistance to abiotic stress. *Izvestiya Natsional'noi akademii nauk Respubliki Kazakhstan = Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan*, 2009, no. 2, pp. 60–64. (In Russian).
11. Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S.S., Pozhvanov G.A., Sokolik A., Yurin V. Stress – induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 2014, vol. 65 (5), pp. 1259–1270. DOI: 10.1093/jxb/eru 004.
12. Astakhova N.V., Popov V.N., Selivanov A.A., Burakhanova E.A., Alieva G.P., Moshkov I.E. Reorganization of chloroplast ultrastructure associated with low-temperature hardening of Arabidopsis plants. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*, 2014, vol. 61, no. 6, pp. 790–798. (In Russian).
13. Danielle Fiebelkorn, David Horvath & Mukhlesur Rahman. Genome-wide association study for electrolyte leakage in rapeseed/canola (*Brassica napus*). *Molecular Breeding*, 2018, vol. 38, pp. 129.
14. Pominov A.V., D'yachuk T.I., Kibkalo I.A., Khomyakova O.V., Akinina V.N. Evaluation of drought resistance of samples of plants of triticale varieties of the world collection of All-Union Research Institute of Plant Breeding named after Vavilov N.I. *Agrarnyi vestnik Yugo-Vostoka = Agrarian Bulletin of the South-East*, 2016, no. 1–2, pp. 38–40. (In Russian).
15. Allagulova Ch.R., Aval'baev A.M., Fedorova K.A., Shakirova F.M. NO-induced reduction of oxidative stress level in wheat plants under drought conditions. *EKOBIOTEKH = ECO-BIOTECH*, 2020, vol. 3, no. 2, pp. 181–186. (In Russian).
16. Hatsugai N., Katagiri F. Quantification of Plant Cell Death by Electrolyte Leakage Assay. *Bio-protocol*. 2018, vol. 8(5), p. 2758. DOI: 10.21769/BioProtoc.2758.
17. Imanifard Z., Vandelle E., Bellin D. Measurement of hypersensitive cell death triggered by avirulent bacterial pathogens in Arabidopsis. *Methods in Molecular Biology*, 2018, vol. 1743, pp. 39–50. DOI: 10.1007 / 978-1-4939-7668-3_4.
18. Yakunina A.V., Sinitsyna Yu.V., Krutova E.K., Veselov A.P. The study of the pirabactin effect on the yield of *Pisum sativum* L. and analysis of changes in lipid peroxidation and electrolytes leakage as possible factors of this effect. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Povolzhskii region. Estestvennye nauki = University Proceedings. Volga Region. Natural Sciences*, 2020, no. 4 (32), pp. 3–12. (In Russian).
19. Bezrukova M.V., Kudoyarova G.R., Lubyanova A.R., Maslennikova D.R., Shakirova F.M. Influence of 24-Epi brassinolide on water exchange of wheat varieties various in dry resistance under osmotic stress. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*,

- 2021, vol. 68, no. 2, pp. 161–169. (In Russian).
20. Sánchez-Viveros G., González- Mendoza D., Alarcón A. Copper Effects on Photosynthetic Activity and Membrane Leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2010, vol. 12, pp. 365–368.
21. Repkina N.S., Talanova V.V., Titov A.F., Bukareva I.V. Wheat response to separate and combined impact of low temperature and cadmium. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk = Transactions of Karelian Research Centre of Russian Academy of Sciences*, 2014, no. 5, pp. 133–139. (In Russian).
22. Khokhlova L.P., Valiulina R.N., Mider D.R., Akberova N.I. Membrane thermostability and gene expression of small-heat shock protein in wheat shoots exposed to elevated temperatures and water deficiency. *Biologicheskie membrany = Biochemistry (Moscow) supplement. Series A: Membrane and Cell Biology*, 2015, vol. 33, no. 1, pp. 59–71. (In Russian).
23. Lukatkin A.S., Starkina M.I. Effect of thidiazuron on the resistance of cucumber seedlings to stress factors. *Agrokimiya = Agricultural Chemistry*, 2009, no. 10, pp. 31–38. (In Russian).
24. Pandey S.K., Sujata Upadhyay, Zaffar Mehdi Dar, Hemantaranjan A., Sri-vastava J.P. Effect of electrolyte leakage activity on mungbean leaf under induced salinity and zinc levels. *International Journal of Current Research*, 2017, vol. 9, is. 06, pp. 52438–52440.
25. Gurova T.A., Svezhintseva E.A., Chesnochenko N.E. Adaptation of wheat varieties to hyperthermia, chloride salinity and *Bipolaris sorokiniana* Shoem. infection. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2020, no. 6, pp. 12–25. (In Russian). DOI: 10.26898/0370-8799-2020-6-2.
26. Gurova T.A., Lugovskaya O.S., Svezhintseva E.A. Adaptive reactions of wheat seedlings differentiating varieties under hyperthermia. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2019, vol. 49, no. 3, pp. 31–40. (In Russian). DOI: 10.26898/0370-8799-2019-3-4.
27. Koval' S.F., Shamanin V.P. *Plant in an experiment*. Omsk, ITsIG SO RAN Publ., OmGAU, 1999, 204 p. (In Russian).
28. Naghmeh Nejat, Nitin Mantri. Plant Immune System: Crosstalk Between Responses to Biotic and Abiotic Stresses the Missing Link in Understanding Plant Defence. *Current Issues in Molecular Biology*, 2017, vol. 23, pp. 1–16. DOI: 10.21775/cimb.023.001.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ Гурова Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией:
адрес для переписки: Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, СФНЦА РАН, а/я 463; e-mail: guro-tamara@yandex.ru

Свежинцева Е.А., младший научный сотрудник

Чесноченко Н.Е., научный сотрудник

AUTHOR INFORMATION

✉ **Tamara A. Gurova**, Candidate of Science in Agriculture, Laboratory Head; **address:** PO Box 463, SFSCA RAS Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: guro-tamara@yandex.ru

Elena A. Svezhintseva, Junior Researcher

Natalia E. Chesnochenko, Researcher

Дата поступления статьи / Received by the editors 7.04. 2021
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 10.06.2021
Дата публикации / Published 26.07.2021