



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
A01H 1/04 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023104759, 27.02.2023  
(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.02.2023  
Дата регистрации:  
30.10.2024  
Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 27.02.2023  
(43) Дата публикации заявки: 27.08.2024 Бюл. № 24  
(45) Опубликовано: 30.10.2024 Бюл. № 31  
Адрес для переписки:  
630501, Новосибирская обл., Новосибирский р-он, р.п. Краснообск, а/я 463, ЯФНЦА РАН (СибФТИ)

(72) Автор(ы):  
Гурова Тамара Алексеевна (RU)  
(73) Патентообладатель(и):  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН) (RU)  
(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2625027 C2, 27.02.2017. RU 2446671 C2, 10.04.2012. RIOS J.A, Changes in leaf gas exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant metabolism within wheat leaves infected by Bipolaris sorokiniana, Annals of Applied Biology, 2017, Vol.170, Iss. 2., p. 189-203. DOI: 10.1111 /aab.1232816.

(54) Способ ранней диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя корневой гнили злаков Bipolaris sorokiniana Shoem. и хлоридного засоления  
(57) Реферат:  
Изобретение относится к области биотехнологии. Заявляемый способ заключается в том, что, используя в качестве растительного объекта листья 10-суточных проростков, выращенных из искусственно инфицированных семян возбудителем обыкновенной корневой гнили злаков на растворе хлорида натрия и проростков, не подвергнутых действию стрессоров, готовят водные вытяжки высечек листьев и по изменению показателя удельной электропроводности дифференцируют сорта по устойчивости к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков и хлоридного засоления. Способ позволяет проводить раннюю инструментальную с высокой дифференцирующей способностью диагностику стрессоустойчивости сортов, принадлежащих к близкородственным группам на стадии проростков, что значительно ускорит отбор перспективных форм в селекционном процессе и выбор сортов в агротехнологиях. 5 табл.

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(52) CPC  
*A01H 1/04 (2024.01)*(21)(22) Application: **2023104759, 27.02.2023**(24) Effective date for property rights:  
**27.02.2023**Registration date:  
**30.10.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **27.02.2023**(43) Application published: **27.08.2024 Bull. № 24**(45) Date of publication: **30.10.2024 Bull. № 31**

Mail address:

**630501, Novosibirskaya obl., Novosibirskij r-on,  
r.p. Krasnoobsk, a/ya 463, YAFNTSA RAN  
(SibFTI)**

(72) Inventor(s):

**Gurova Tamara Alekseevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
uchrezhdenie nauki Sibirskij federalnyj  
nauchnyj tsentr agrobiotekhnologij Rossijskoj  
akademii nauk (SFNTSA RAN) (RU)**(54) **METHOD FOR EARLY DIAGNOSIS OF RESISTANCE OF SOFT SPRING WHEAT VARIETIES TO  
COMBINED ACTION OF CAUSATIVE AGENT OF ROOT ROT OF CEREALS BIPOLARIS SOROKINIANA  
SHOEM. AND CHLORIDE SALINIZATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: disclosed method consists in the fact  
that using leaves of 10-day-old seedlings as a vegetal  
object, grown from artificially infected seeds with a  
causative agent of common root rot of cereals on a  
solution of sodium chloride and seedlings not exposed  
to stressors, water extracts of leaf cuttings are prepared  
and according to change of specific electric conductivity  
the varieties are differentiated by resistance to combinedaction of agent of common root rot of cereals and  
chloride salinization.EFFECT: method enables to carry out early  
instrumental diagnostics with high differentiating ability  
of varieties belonging to closely related groups at the  
sprouts stage, which significantly speeds up the  
selection of promising forms in the selection process  
and selection of varieties in agricultural technologies.

1 cl, 5 tbl

R U  
2 8 2 9 3 5 5  
C 2R U  
2 8 2 9 3 5 5  
C 2

Изобретение относится к области сельского хозяйства, в частности к биофизическим способам диагностики стрессоустойчивости растений в селекции и биотехнологии, и может быть применено для оценки новых генотипов мягкой яровой пшеницы на стадии проростков в лабораторных условиях на устойчивость к совместному действию

5 возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (далее - *B. sorokiniana*) и хлоридного засоления для последующего использования в качестве исходного селекционного материала при создании новых устойчивых сортов и применения их в агротехнологиях.

В природных условиях растительные организмы, в том числе мягкая яровая пшеница,

10 подвержены, как правило, влиянию совместного действия стрессовых факторов среды: биотического, в частности, возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana*, и абиотического - хлоридного засоления, в различных сочетаниях и дозах с последовательным или одновременным их проявлением. Комплексное воздействие повреждающих факторов, таких как обыкновенная корневая гниль злаков *B. Sorokiniana*

15 - одного из самых распространенных и вредоносных заболеваний мягкой яровой пшеницы, засоление почв, в том числе хлоридное, снижают продуктивность и ухудшают качество зерна пшеницы, что ограничивает сельскохозяйственное производство культуры во всем мире [1, 2]. Стрессовые взаимодействия между абиотическими и биотическими факторами, станут более распространенными в связи с наблюдаемыми

20 и прогнозируемыми изменениями климата [3, 4].

Наиболее практичным и экономичным подходом для повышения урожайности мягкой яровой пшеницы является создание и возделывание сортов, устойчивых к совместному действию стрессоров, в том числе к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридному засолению. Диагностика стрессоустойчивости

25 сортов, особенно ранняя, - важное звено в отборе селекционного материала при создании новых сортов и применении их в агротехнологиях.

В полевых условиях диагностика стрессоустойчивости растений по депрессии урожая является довольно трудоемким и продолжительным по времени процессом в связи с невозможностью моделирования ежегодной одинаковой нагрузки стрессовых

30 воздействий [5]. Поэтому часто диагностику стрессоустойчивости проводят в лабораторных условиях косвенными методами по изменению ряда физиологических, биохимических и биофизических параметров растений.

Известен ряд методов лабораторной диагностики устойчивости сортов пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков и солеустойчивости растений

35 зерновых культур: косвенные биофизические методы по оптическим и электрофизическим параметрам [6-10], а также прямые методы диагностики по морфофизиологическим и фитопатологическим показателям проростков [11-15].

Всеми перечисленными методами можно оценивать коллекционный и селекционный материал мягкой яровой пшеницы с целью выделения устойчивых сортов, линий и

40 гибридов только к одному виду стрессора - либо к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana*, либо к хлоридному засолению.

Известны способы оценки устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы по изменению электропроводности водных вытяжек листьев: патент РФ №2446671 Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к хлоридному

45 засолению, 2012 [16] и патент РФ №2625027 Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков, 2017 [17]. Экспериментально нами была установлена невозможность применения данных способов для диагностики устойчивости сортов мягкой яровой

пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления.

Наиболее близким способом по своей сущности к заявленному изобретению является способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков (патент РФ №2625027, 2017) [17]. При реализации способа проростки выращивают в рулонной культуре на водопроводной воде в условиях постоянной освещенности до фазы 2-3 листьев, контрольные растения помещают в дистиллированную воду, опытные растения помещают в культуральный фильтрат возбудителя, содержащий его токсины, на 24 ч. Затем готовят нарезки из вторых листьев контрольных и опытных образцов растений, помещают нарезки в дистиллированную воду в соотношении 1:4 на 1,5 ч в условия освещения, фильтруют вытяжки, измеряют их электропроводность при частоте 1 КГц и дифференцируют сорта по устойчивости - чем меньше относительное изменение электропроводности, тем устойчивее сорт.

Недостатком указанного способа является то, что он не позволяет дифференцировать сорта мягкой яровой пшеницы по устойчивости к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления.

Задачей предлагаемого изобретения является разработка способа ранней диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления.

Технический результат - высокая дифференцирующая способность способа, то есть повышение достоверности и объективности диагностики устойчивости к совместному действию стрессоров, а, следовательно, и ускорение отбора селекционного материала для создания новых устойчивых сортов и использования их в агротехнологиях за счет снижения временных и трудовых затрат.

В основу предлагаемого способа положено экспериментально установленное и теоретически обоснованное явление увеличения проницаемости клеточных мембран растительных тканей при совместном действии возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления, а также выявленные зависимости изменения проницаемости клеточных мембран проростков от устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы. В результате токсического действия метаболитов патогена и хлоридного засоления происходит увеличение выхода электролитов из растительных клеток и, соответственно, повышение электропроводности водных вытяжек тканей. Эти изменения электропроводности могут быть зарегистрированы измерительными приборами - кондуктометрами. Дополнительно были проведены исследования по разработке методических приемов, обеспечивающих максимальные межсортные различия мягкой яровой пшеницы при совместном действии возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления. В результате установлена патогенная структура возбудителя - конидиальная суспензия, способ и время ее действия, концентрация хлорида натрия, возраст проростков и методические приемы кондуктометрических измерений: размер нарезки, соотношение листовой ткани и воды и время экспозиции образцов.

Поставленная задача и технический результат достигаются тем, что в известный способ оценки устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* вводят следующие операции: подготовка конидиальной суспензии возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и раствора хлорида натрия; инфицирование конидиальной суспензией возбудителя проросших трехсуточных семян пшеницы с титром 5000 конидий на одну

зерновку; выращивание в рулонной культуре опытных образцов проростков из искусственно инфицированных возбудителем семян в течение 1,0-1,5 суток на водопроводной воде до появления ростков длиной 15-20 мм, затем на 1,3%-ном растворе хлорида натрия до фазы первого листа в течение 10 суток; в аналогичных условиях на водопроводной воде выращивают контрольные образцы проростков без действия стрессоров до фазы первого листа в течение 10 суток; подготовка нарезок из средней части первых листьев проростков опытных и контрольных образцов, помещение их в дистиллированную воду в соотношении 1:40 не менее, чем на 1,5 часа, фильтрация вытяжек, определение их удельной электропроводности (УЭП) кондуктометром; диагностика стрессоустойчивости сортов по относительному изменению удельной электропроводности контрольных и опытных образцов проростков и дифференциация сортов по устойчивости - чем меньше относительное изменение удельной электропроводности, тем устойчивее сорт к совокупному воздействию стрессоров.

Способ ранней диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. и хлоридного засоления реализуется следующим образом.

Для подготовки инфекционного материала изоляты возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* культивируют на твердой питательной среде Чапека в течение 14-15 суток. К этому времени на колониях гриба образуется наибольшее количество жизнеспособных конидий [18]. Затем в пробирку с культурой гриба наливают 0,1%-ный водный агар, встряхивают и готовят конидиальную суспензию для инфицирования семян пшеницы. Инфицирование семян конидиальной суспензией обеспечивает непосредственный контакт возбудителя с растением-хозяином, что приближает условия эксперимента к естественным и дает возможность возбудителю проявлять свои патогенные свойства, т.е. вызывать симптомы болезни.

Раствор хлорида натрия 1,3%-ной концентрации готовят на дистиллированной воде, используя химреактив NaCl (хлорид натрия) квалификации ЧДА.

Отбирают хорошо выполненные без видимых признаков поражения болезнями, вредителями и без механических повреждений семена мягкой яровой пшеницы. Для устранения поверхностной сапрофитной и патогенной микрофлоры семена стерилизуют этанолом в течение 1 минуты, после чего трижды ополаскивают стерильной дистиллированной водой. Подготовленные семена проращивают в термостате в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной водой. На третьи сутки культивирования, проросшие семена раскладывают на лентах фильтровальной бумаги и инфицируют конидиальной суспензией смеси среднепатогенных изолятов *B. sorokiniana*, приготовленной на 0,1%-ном водном агаре. Инфекционная нагрузка - титр конидий возбудителя в одной капле суспензии, составляет 5000 конидий на одну зерновку пшеницы, ее определяют в камере Тома-Горяева. Далее инфицированные растения выращивают в рулонной культуре сначала в течение 1,0-1,5 суток на водопроводной воде до появления ростков длиной 15-20 мм над поверхностью рулона, а затем на 1,3%-ном растворе хлорида натрия в условиях постоянной температуры  $t=22^{\circ}\text{C}$ , освещенности  $E=20000$  лк и влажности 60%, до фазы 1-го листа в течение 10 суток. Контрольные растения выращивают в рулонной культуре в тех же условиях на водопроводной воде до фазы 1-го листа в течение 10 суток.

Затем из контрольных и опытных растений готовят образцы для измерений удельной электропроводности. Первые листья 10-суточных контрольных и опытных образцов проростков промывают водопроводной водой и обсушивают фильтровальной бумагой. В каждом варианте готовят средний образец. Для этого из средней части листьев лезвием

нарезают растительный материал на кусочки длиной 1,5 мм. Такой способ подготовки образцов позволяет получить однородный экспериментальный материал и уменьшить вариацию измеряемых параметров (таблица 1). Нарезанный растительный материал помещают в капроновый мешочек и промывают под струей водопроводной воды, затем ополаскивают дистиллированной водой. Нарезанную ткань осторожно промокают фильтровальной бумагой и готовят навески по 200 мг, которые помещают в стеклянный стаканчик с 5 мл дистиллированной воды в условия освещения  $E=20000$  лк при  $t=22^{\circ}\text{C}$ . Экспериментально установлено, что соотношение дистиллированной воды, которая добавляется для получения вытяжек, и массы листовой ткани должно составлять не менее 1:40 (таблица 2). При меньших соотношениях получаемые вытяжки представляют собой сильно разбавленные растворы электролитов, особенно в контрольных вариантах, вследствие чего значительно возрастает вариабельность показателей. Ввиду ограниченного количества экспериментального материала, особенно при испытании новых сортов или селекционных образцов более высокая массовая доля листовой ткани не всегда достижима. Указанное массовое соотношение, как было нами установлено, является вполне достаточным для выявления межсортовых различий по показателю удельной электропроводности. Время световой экспозиции, как установлено нами экспериментально, должно составлять не менее 1,5 часов (таблица 3). За это время происходит выход электролитов из свободного пространства и цитоплазмы клеток растительной ткани в дистиллированную воду. При меньшем периоде экспозиции происходит выход электролитов только из свободного пространства клетки апопласта.

Спустя не менее, чем 1,5 часа настой фильтруют через капроновую ткань, отфильтрованные вытяжки помещают в измерительную ячейку кондуктометра и измеряют удельную электропроводность контрольных и опытных вариантов на кондуктометре лабораторном.

Об устойчивости сорта судят по относительному изменению удельной электропроводности ( $K$ ) водных вытяжек листовой ткани проростков после действия стрессоров:

$$K = \frac{|G_0 - G_K|}{G_K} \cdot 100\% \quad (1)$$

где  $G_K$  - удельная электропроводность водных вытяжек листьев контрольных образцов;

$G_0$  - удельная электропроводность водных вытяжек листьев опытных образцов.

Полученные результаты обрабатывают статистически с использованием стандартных статистических программ.

Пример реализации способа

Способ диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления по удельной электропроводности водных вытяжек из листовой ткани проростков продемонстрируем на примере сортов мягкой яровой пшеницы сибирской селекции: Новосибирская 44, Новосибирская 18, Сибирская 21, Омская 18.

Для получения конидиальной суспензии изоляты возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* выращивают на твердой питательной среде Чапека в чашках Петри в термостате при температуре  $t=22^{\circ}\text{C}$  в течение 14 суток. Затем в стерильных условиях готовят разведение конидий на 0,1%-ном водном агаре с титром 5000 конидий в 1 капле для инфицирования семян мягкой яровой пшеницы. Титр конидий определяют с помощью камеры Тома-Горяева.

Предварительно отобранные хорошо выполненные без видимых признаков поражения болезнями, вредителями и без механических повреждений семена мягкой яровой пшеницы для устранения поверхностной сапрофитной и патогенной микрофлоры стерилизуют этанолом в течение 1 минуты, после чего трижды ополаскивают стерильной дистиллированной водой. Подготовленные семена раскладывают в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную водой, и помещают в термостат для проращивания при температуре  $t=23^{\circ}\text{C}$  в течение 3 суток.

Часть проросших семян раскладывают на лентах фильтровальной бумаги и инфицируют конидиальной суспензией смеси среднепатогенных изолятов *B. sorokiniana*, титр конидий возбудителя в одной капле суспензии составляет 5000 конидий на одну зерновку пшеницы, ленты с разложенными семенами скручивают в рулоны. Рулоны опытного варианта с инфицированными семенами помещают в отдельные кюветы с водопроводной водой на 1,0-1,5 суток до появления ростков длиной 15-20 мм над поверхностью рулона, а затем переносят в кюветы с 1,3%-ным раствором хлорида натрия. Рулоны с другой частью проросших семян для контрольного варианта с неинфицированными семенами помещают в кюветы с водопроводной водой. Развитие растений происходит в шкафу с регулируемым климатом «БИОТРОН-7» [19] в условиях постоянной температуры  $t=22^{\circ}\text{C}$ , освещенности  $E=20000$  лк и влажности 60%. до фазы первого листа в течение 10 суток.

Затем из контрольных и опытных растений готовят образцы для измерений удельной электропроводности. Первые листья 10-суточных контрольных и опытных образцов проростков промывают водопроводной водой и обсушивают фильтровальной бумагой. В каждом варианте готовят средний образец. Для этого из средней части листьев лезвием нарезают растительный материал на кусочки длиной 1,5 мм. Нарезанный растительный материал помещают в капроновый мешочек и промывают под струей водопроводной воды, затем ополаскивают дистиллированной водой. Нарезанную ткань осторожно промокают фильтровальной бумагой и готовят навески по 200 мг, которые помещают в стеклянный стаканчик с 5 мл дистиллированной воды в условия освещения  $E=20000$  лк и  $t=22^{\circ}\text{C}$  не менее чем на 1,5 часа. После фильтрования водные вытяжки помещают в измерительную ячейку и измеряют удельную электропроводность на кондуктометре лабораторном edge EC, HANNA Instruments, Германия. Диагностику устойчивости сортов к совместному действию *B. sorokiniana* и хлоридного засоления проводят по формуле (1). Чем меньше вычисленное отношение, тем устойчивее сорт среди группы оцениваемых сортов мягкой яровой пшеницы.

Результаты диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления предлагаемым способом и по ростовым параметрам и биомассе представлены в таблице 4. Как следует из приведенных данных, у сорта пшеницы Новосибирская 18 подавление ростовых процессов и снижение накопления биомассы выражено значительно, чем у сортов Омская 18, Сибирская 21 и Новосибирская 44. Это означает, что сорт Новосибирская 18 является менее устойчивым к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков и хлоридного засоления, чем сорта Омская 18, Сибирская 21 и Новосибирская 44. При этом выборочные средние относительных изменений показателей длины и биомассы ростков и корней у данных сортов различаются в 1,2...2,3 раза, тогда как выборочные средние для относительных изменений показателя удельной электропроводности водных вытяжек листовой ткани различаются в 2,6...7,3 раза. Таким образом, предлагаемый способ обладает большей дифференцирующей способностью и устанавливает наибольшие межсортовые различия

при ранней диагностике устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *B. sorokiniana* и хлоридного засоления. Представленные данные убедительно показывают, что результаты диагностики устойчивости к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков и хлоридного засоления исследованных сортов пшеницы по ростовым процессам и по удельной электропроводности водных вытяжек листовой ткани совпали. Коэффициент корреляции рангов Спирмена между показателями устойчивости по ростовым процессам и по удельной электропроводности водных вытяжек листовой ткани проростков составляет  $r_s=0,88$  на уровне значимости по критерию Стьюдента  $p \leq 0,01$ .

Таблица 1 – Удельная электропроводность водных вытяжек листьев мягкой яровой пшеницы в зависимости от размера высевок листьев, УЭП  $\times 10^{-3}$  См/м, ( $M \pm m$ )

| Сорт                                                                                                                       | Вариант                                                  | Время экспозиции образцов 1,5 ч |                 | Время экспозиции образцов 24 ч |                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|
|                                                                                                                            |                                                          | 1,5 мм                          | 1 см            | 1,5 мм                         | 1 см            |
| Новосибирская 18                                                                                                           | Контроль                                                 | 4,2 $\pm$ 0,05                  | 2,6 $\pm$ 0,04  | 11,7 $\pm$ 0,53                | 5,8 $\pm$ 0,07  |
|                                                                                                                            | Коэффициент вариации, %                                  | 2,65                            | 5,16            | 6,45                           | 10,99           |
|                                                                                                                            | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 31,9 $\pm$ 0,6*                 | 25,1 $\pm$ 0,5* | 59,2 $\pm$ 1,8*                | 67,1 $\pm$ 2,1* |
|                                                                                                                            | Коэффициент вариации, %                                  | 2,23                            | 3,44            | 5,74                           | 17,71           |
|                                                                                                                            | Относительное изменение УЭП, %                           | 669                             | 884             | 407                            | 1058            |
| Омская 18                                                                                                                  | Контроль                                                 | 3,7 $\pm$ 0,08                  | 1,5 $\pm$ 0,03  | 7,4 $\pm$ 0,36                 | 2,44 $\pm$ 0,17 |
|                                                                                                                            | Коэффициент вариации, %                                  | 3,36                            | 5,33            | 11,9                           | 17,62           |
|                                                                                                                            | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 18,8 $\pm$ 0,14*                | 11,1 $\pm$ 0,2* | 35,3 $\pm$ 0,3*                | 19,7 $\pm$ 0,9* |
|                                                                                                                            | Коэффициент вариации, %                                  | 1,86                            | 6,5             | 2,07                           | 11,65           |
|                                                                                                                            | Относительное изменение УЭП, %                           | 404                             | 639             | 377                            | 705             |
| Примечание: *- различия по удельной электропроводности в зависимости от размера высевок достоверны на уровне $p \leq 0,01$ |                                                          |                                 |                 |                                |                 |

Таблица 2 – Удельная электропроводность водных вытяжек листьев мягкой яровой пшеницы в зависимости от массового соотношения дистиллированной воды и образца листовой ткани, ( $M \pm m$ )

| Сорт                                                                   | Вариант                                                  | Массовое соотношение вода – образец листьев |             |             |             |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                                                                        |                                                          | 1: 40                                       | 1: 30       | 1: 20       | 1: 10       |
| Новосибирская 18                                                       | Контроль                                                 | 4,14±0,05                                   | 5,42±0,12   | 6,85±0,07   | 7,43±0,02   |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 2,65                                        | 4,24        | 2,68        | 0,68        |
|                                                                        | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 28,1±0,26*                                  | 35,46±0,54* | 37,75±0,51* | 42,70±0,78* |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 1,23                                        | 3,07        | 2,49        | 5,52        |
| Омская 18                                                              | Контроль                                                 | 3,73±0,08                                   | 3,83±0,19   | 4,35±0,03   | 5,45±0,09   |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 5,36                                        | 10,97       | 1,38        | 6,92        |
|                                                                        | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 18,82±0,14*                                 | 23,34±0,38* | 27,64±0,21* | 30,62±0,33* |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 1,86                                        | 3,64        | 1,52        | 3,84        |
| Примечание: *- различия с контролем достоверны на уровне $p \leq 0,01$ |                                                          |                                             |             |             |             |

Таблица 3 – Удельная электропроводность водных вытяжек листьев мягкой яровой пшеницы в зависимости от времени подготовки образцов, ( $M \pm m$ )

| Сорт                                                                   | Вариант                                                  | Время подготовки образцов, ч |            |            |            |
|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------|------------|------------|------------|
|                                                                        |                                                          | 0,5                          | 1,5        | 3,0        | 4,5        |
| Новосибирская 18                                                       | Контроль                                                 | 3,2±0,12                     | 4,2±0,24   | 3,2±0,06   | 3,4±0,11   |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 8,7                          | 4,0        | 4,72       | 7,92       |
|                                                                        | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 27,3±0,2*                    | 41,2±0,22* | 49,8±0,28* | 52,0±1,3*  |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 6,1                          | 1,29       | 2,48       | 1,98       |
|                                                                        | Относительное изменение УЭП, %                           | 749*                         | 901*       | 1465*      | 1425*      |
| Омская 18                                                              | Контроль                                                 | 2,3±0,04                     | 3,8±0,08   | 3,2±0,1    | 3,3±0,05   |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 4,91                         | 3,96       | 2,39       | 3,48       |
|                                                                        | Конидиальная суспензия <i>B. sorokiniana</i> + NaCl 1,3% | 14,7±0,33*                   | 26,8±0,57* | 31,6±0,48* | 30,9±0,49* |
|                                                                        | Коэффициент вариации, %                                  | 4,97                         | 4,22       | 3,99       | 4,78       |
|                                                                        | Относительное изменение УЭП, %                           | 539*                         | 607*       | 881*       | 850*       |
| Примечание: *- различия с контролем достоверны на уровне $p \leq 0,01$ |                                                          |                              |            |            |            |

Таблица 4 – Показатели проростков сортов яровой пшеницы при совместном действии стрессоров ( $M \pm m$ )

| Вариант                                                                                                                               | Показатели |          |                    |           |                    |          |                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------|--------------------|-----------|--------------------|----------|-----------------------------------|
|                                                                                                                                       | Длина, мм  |          | Сырая биомасса, мг |           | Сухая биомасса, мг |          | Удельная электропроводность, См/м |
|                                                                                                                                       | ростки     | корни    | ростки             | корни     | ростки             | корни    |                                   |
| Новосибирская 44                                                                                                                      |            |          |                    |           |                    |          |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 15,3±0,6   | 9,3±0,3  | 90,2±1,2           | 86,2±3,9  | 13,3±1,0           | 10,7±0,6 | 4,3±0,1                           |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | 13,2±0,2*  | 4,6±0,2* | 79,4±1,9*          | 57,8±2,8* | 12,2±0,2           | 7,9±0,4* | 16,2±0,3**                        |
| Новосибирская 18                                                                                                                      |            |          |                    |           |                    |          |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 19,6±0,4   | 13,8±0   | 100,1±2,9          | 85,0±2,5  | 15,8±0,8           | 9,2±0,1  | 3,5±0,1                           |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | 12,7±0,2*  | 6,1±0,4* | 63,2±0,9*          | 51,9±0,9* | 10,1±0,1*          | 7,6±0,1* | 25,5±0,9**                        |
| Омская 18                                                                                                                             |            |          |                    |           |                    |          |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 16,4±0,6   | 10,9±0,2 | 93,0±1,2           | 97,0±3,9  | 13,9±0,1           | 10,0±0,3 | 4,4±0,2                           |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | 12,7±0*    | 6,1±0*   | 71,5±1,2*          | 72,2±1,9* | 11,9±0,1*          | 9,2±0    | 11,6±0,2**                        |
| Сибирская 21                                                                                                                          |            |          |                    |           |                    |          |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 15,6±0,4   | 10,3±0,4 | 74,0±3,6           | 91,9±2,8  | 12,3±0,6           | 10,8±0,2 | 4,8±0                             |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | 12,7±0,2*  | 6,7±0,2* | 60,4±0,7*          | 73,6±2,5* | 9,9±0,2*           | 8,6±0,3* | 15,6±0,4**                        |
| Примечание: * – различия с контролем достоверны на 5% уровне значимости; **– различия с контролем достоверны на 1% уровне значимости. |            |          |                    |           |                    |          |                                   |

Таблица 5 – Диагностика устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы по ростовым параметрам и удельной электропроводности при совместном действии стрессоров, (относительные изменения, %)

| Вариант                                                                                                                               | Показатели |        |                    |        |                    |        |                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|-----------------------------------|
|                                                                                                                                       | Длина, мм  |        | Сырая биомасса, мг |        | Сухая биомасса, мг |        | Удельная электропроводность, См/м |
|                                                                                                                                       | ростки     | корни  | ростки             | корни  | ростки             | корни  |                                   |
| Новосибирская 44                                                                                                                      |            |        |                    |        |                    |        |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 100        | 100    | 100                | 100    | 100                | 100    | 100                               |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | -13,7*     | -50,5* | -11,9*             | -32,9* | -22,2*             | -8,9   | +276,7**                          |
| Новосибирская 18                                                                                                                      |            |        |                    |        |                    |        |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 100        | 100    | 100                | 100    | 100                | 100    | 100                               |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | -35,2*     | -55,8* | -36,9*             | -38,9* | -36,1*             | -17,4* | +628,5**                          |
| Омская 18                                                                                                                             |            |        |                    |        |                    |        |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 100        | 100    | 100                | 100    | 100                | 100    | 100                               |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | -22,6*     | -44,0* | -23,1*             | -25,6* | -14,4*             | -8,0   | +163,6**                          |
| Сибирская 21                                                                                                                          |            |        |                    |        |                    |        |                                   |
| Контроль                                                                                                                              | 100        | 100    | 100                | 100    | 100                | 100    | 100                               |
| <i>B. sorokiniana</i> + NaCl                                                                                                          | -18,6*     | -34,9* | -18,4*             | -19,9* | -19,5*             | -20,4* | +225,0**                          |
| Примечание: * – различия с контролем достоверны на 5% уровне значимости; **– различия с контролем достоверны на 1% уровне значимости. |            |        |                    |        |                    |        |                                   |

Использованные источники информации

1. Гольцяпин В.Я., Мишуков Н.П., Федоренко В.Ф., Голубев И.Г., Балабанов В.И.,

Петухов Д.А. Цифровые технологии для обследования состояния земель сельскохозяйственного назначения беспилотными летательными аппаратами: аналитический обзор. М.: ФГБУ «Росинформагротех», 2020. 88 с.

2. Rios J.A., Aucique-Pérez C.E., Debona D., Cruz Neto L.B.M., Rios V.S., Rodrigues F.A.  
5 Changes in leaf gas exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant metabolism within wheat leaves infected by *Bipolaris sorokiniana*. // *Annals of Applied Biology*. 2017. Vol.170, Iss. 2. P. 189-203. DOI: 10.1111 /aab.1232816.
3. Atkinson N.J, Lilley C.J, Urwin P.E. Identification of genes involved in the response of *Arabidopsis* to simultaneous biotic and abiotic stresses // *Plant Physiology*. 2013. Vol. 162. P.  
10 2028-2041. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.113.222372>
4. Kissoudis C., Chowdhury R., Van Heusden S., Van de Wiel C., Finkers R., Visser R.G., Bai Y., Van der Linden G. Combined biotic and abiotic stress resistance in tomato // *Euphytica*. 2015. Vol.202. N2. P. 317-332. DOI: 10.1007/s10681-015-1363-x.
5. Гончарова Э.А., Еремин Г.В., Гасанова Т.А. Экспресс-методы оценки  
15 стрессоустойчивости сельскохозяйственных культур и стратегия их диагностики для селекции // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2015. №5. С. 21-24.
6. А.с. СССР №1488976. Способ определения относительной устойчивости зерновых культур к токсинам *Bipolaris sorokiniana* (Сасс.) Shoemaker. / Березина В.Ю., Гурова Т.А.,  
20 Павлов Е.И., Рябцев А.Ф., Бухтияров И.Д. - Заявл. 22.06.85, зарег. 22.02.89.
7. Патент РФ №216624. Способ определения относительной устойчивости сортов ячменя и пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков. / Гурова Т.А., Березина В.Ю. - Заявл. 20.07.1999, опубл. 10.05.2001. Бюл. №13.
8. Патент РФ №2188538. Способ определения относительной устойчивости сортов  
25 пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков. / Гурова Т.А., Березина В.Ю. - Заявл. 27.05.1999, опубл. 10.09.2002. Бюл. №25.
9. А.с.599766 СССР. Способ определения солеустойчивости растений. / Алешин Е.П., Третьяков Г.И., Федулов Ю.П., Зима П.И., Кошелев В.И. - Заявл. 06.10.75. Опубл. 30.03.78. Бюл. №12.
10. Патент РФ №2017408. Способ оценки солеустойчивости растений - Заявл. 26.06.91.  
30 Опубл. 15.08.94.
11. Гешеле Э.Э. Методическое руководство по фитопатологической оценке зерновых культур. Одесса, 1971. 180 с.
12. Бенкен А.А., Хрустовская В.Н. Лабораторная оценка болезнеустойчивости  
35 растений и паразитических свойств возбудителей обыкновенной корневой гнили злаков / Труды ВНИИЗР. Л., 1977. Вып. 56. С. 9-13.
13. Рогинская В.А. Влияние условий культивирования на токсинообразование у возбудителя корневой гнили пшеницы гриба *Helminthosporium sativum* Pam, King et Bakke // Микробные ассоциации и их функционирование в почвах Западной Сибири.  
40 Новосибирск, изд-во «Наука», 1979. С. 243-250.
14. Удовенко Г.В., Гончарова Э.А. Эффективные экспресс-методы оценки сортовой и индивидуальной устойчивости растений к экстремальным условиям // Докл. ВАСХНИЛ. 1982, №7. С. 13-19.
15. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методическое  
45 руководство / Под ред. Г.В. Удовенко. Ленинград, 1988. С. 85-97.
16. Патент РФ №2446671. Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к хлоридному засолению / Гурова Т.А., Березина В.Ю., Куцерубова Н.С. Опубл. 10.04.2012.

17. Патент РФ №2625027. Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к возбудителю обыкновенной корневой гнили злаков / Гурова Т.А., Альт В.В., Луговская О.С. Оpubл. 11.07.2017.

18. Березина В.Ю., Гурова Т.А., Беребердин Н.А., Лангольф Э.И. Оценка биологической активности возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков: методические рекомендации. СО РАСХН. Новосибирск, 1994. 24 с.

19. Патент РФ №2603910. Шкаф с регулируемым климатом / Минеев В.В., Золотарев В.А., Альт В.В., Фурзиков В.М., Рожанская С.В. - Заявл. 19.06.2015. Оpubл. 09.11.2016.

#### (57) Формула изобретения

Способ ранней диагностики устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. и хлоридного засоления, предусматривающий инфицирование опытных проросших трехсуточных семян мягкой яровой пшеницы конидиальной суспензией возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. с титром 5000 конидий на одну зерновку, выращивание проростков в рулонной культуре из инфицированных семян на водопроводной воде до момента появления ростков над поверхностью рулона на 15-20 мм в течение 1,0-1,5 суток, с последующим выращиванием на 1,3%-ном растворе хлорида натрия до фазы первого листа в течение 10 суток при температуре  $t=22^{\circ}\text{C}$ , освещенности  $E=20000$  лк и влажности 60%, одновременно в аналогичных условиях на водопроводной воде выращивают контрольные образцы проростков без действия стрессоров до фазы первого листа в течение 10 суток, готовят нарезки из средней части первых листьев проростков опытных и контрольных образцов, помещают их в дистиллированную воду в соотношении 1:40 не менее чем на 1,5 часа, в условия, аналогичные выращиванию проростков, фильтруют вытяжки, измеряют кондуктометром удельную электропроводность водных вытяжек листьев проростков пшеницы и вычисляют отношения по формуле  $K=|G_0 - G_k|/G_k \times 100\%$  (1), где  $G_k$  - электропроводность водных вытяжек листьев контрольных образцов;  $G_0$  - электропроводность водных вытяжек листьев опытных образцов, диагностируют устойчивость сорта по отношению, вычисленному по формуле (1), при этом, чем меньше вычисленное отношение, тем устойчивее сорт среди группы оцениваемых сортов мягкой яровой пшеницы к совместному действию возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков *Bipolaris sorokiniana* Shoem. и хлоридного засоления.