

## Повышение толерантности растений к алюминию на кислых почвах методами биотехнологии (обзор)

© 2016. И. Г. Широких<sup>1,2</sup>, д.б.н., зав. лабораторией, в.н.с.,

Т. Я. Ашихмина<sup>2,3</sup>, д.т.н., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Зональный НИИСХ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,  
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166 а,

<sup>2</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,

<sup>3</sup>Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

e-mail: irgenal@mail.ru

Увеличение площадей кислых почв вследствие антропогенного воздействия является одним из ограничивающих факторов продуктивности сельскохозяйственных растений во всём мире. Фитотоксичность этих почв зависит от многих факторов, однако основная причина снижения урожайности культур на кислых почвах связана с высоким содержанием подвижного алюминия ( $Al^{3+}$ ). Высокие концентрации  $Al^{3+}$  вызывают ингибирование деления клеток, что приводит к задержке роста корневой системы и сопровождается снижением поглощения растением воды и питательных веществ. Природная вариабельность по признаку толерантности к алюминию была выявлена у многих видов сельскохозяйственных культур, что говорит о возможности выведения высокопродуктивных, хорошо адаптированных к ионной токсичности сортов. Толерантность к алюминию относится к числу полигенных признаков, в связи с чем выбор стратегии по-прежнему остаётся ограничивающим фактором в развитии селекционных подходов. У различных культур были установлены гены, которые индуцируются, или, наоборот, подавляются воздействием  $Al^{3+}$ . Выявлены молекулярные маркеры, связанные с генами Al-толерантности. В обзоре рассматриваются подходы, основанные на использовании для уменьшения поглощения  $Al^{3+}$  или ограничения повреждения клеток токсичными ионами экспрессии гетерологичных генов и соматональной изменчивости в культуре изолированной растительной ткани. Прогресс в понимании механизмов аломоустойчивости позволяет сегодня создавать толерантные формы и линии с использованием методов генной инженерии и клеточной селекции.

**Ключевые слова:** алюминий, почвенная кислотность, сельскохозяйственные культуры, стресс, механизмы устойчивости, генная инженерия, клеточная селекция.

## Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils by of biotechnology methods (review)

I. G. Shirokikh<sup>1,2</sup>, T. Ya. Ashihmina<sup>2,3</sup>,

<sup>1</sup>N. V. Rudnitski Zonal North-East Agricultural Research Institute,  
166a Lenina st., Kirov, Russia, 610007,

<sup>2</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,  
28 Kommunisticheskaya st., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>3</sup>Vyatka State University,  
36 Moskovskaya st., Kirov, Russia, 610000,  
e-mail: irgenal@mail.ru

Acidic soil area increase which takes place due to anthropogenic impact is one of the factors limiting the productivity of agricultural plants worldwide. Phytotoxicity of acidic soil depends on many factors, however, the main reason for crop yields decrease is connected with a high content of mobile aluminium ( $Al^{3+}$ ). High concentrations  $Al^{3+}$  cause inhibition of cell division, resulting in stunted root growth and decrease of the plants water and nutrients uptake of. Natural variability of tolerance to aluminum has been identified in many crop species, suggesting the possibility of breeding the varieties which are high-yielding and well-adapted to ionic toxicity. Tolerance to aluminum is among polygenic traits, and therefore the choice of strategy remains the limiting factor in the development of breeding approaches. In different cultures the genes were found, which are either induced or suppressed by the influence of  $Al^{3+}$ . The molecular markers were identified which are associated with Al-tolerance genes. This review discusses the approaches based on the use of

heterologous genes expression and somaclonal variation in the culture of isolated plant tissue which lead to reducing absorption of  $Al^{3+}$  or limiting cell damage by toxic ions. The progress in understanding the mechanisms of aluminosilicate allows to create tolerant shapes and lines using the methods of genetic engineering and cell selection.

**Keywords:** aluminum, soil acidity, crops, stress resistance mechanisms, genetic engineering, cell selection.

Алюминий занимает первое место среди металлов по распространённости, составляя около 8% массы земной коры [4]. Алюминий входит в огромное число минералов, главным образом алюмосиликатов и горных пород. Соединения алюминия содержат граниты, базальты, глины, полевые шпаты и др. Валовое содержание алюминия в различных почвах может изменяться в широких пределах от 1 до 30% (10000–300000 Al мг/кг) и не коррелирует с показателями токсичности почвы. Токсичность соединений алюминия в почве зависит от его химической формы [2]. Нерастворимые соединения алюминия, такие как оксиды, значительно менее токсичны по сравнению с его водорастворимыми формами (хлорид, нитрат, ацетат и сульфат алюминия). Если ионы алюминия образуют органические комплексы, а также соединения с фосфором или серой, то токсичность алюминия значительно снижается. При pH менее 4,5 растворимость фосфатов алюминия резко возрастает. Поэтому ионы  $Al^{3+}$  – основной токсический фактор в почвах с высоким уровнем кислотности [3].

Кислые почвы распространены во всём мире. Два основных географических пояса распространения кислых почв включают в себя влажные таёжные леса северной Евразии (9,9%) и влажные тропики Америки (40,9%), Азии (26,4%), Африки (16,7%), Австралии и Новой Зеландии (6,1%). Таким образом, почти 70% мирового фонда пахотных земель имеют кислую реакцию [4, 5], что приносит значительный ущерб, ограничивая сбор урожая сельскохозяйственных культур. Резкое сокращение в последнее время объёмов известкования земель сельскохозяйственного назначения, увеличение массы сброса в сточных водах тяжёлых металлов и алюминия, возрастание темпов аэротехногенного загрязнения существенно способствуют тенденции антропогенного закисления почв. Хотя низкое плодородие кислых почв обусловлено, как правило, сочетанием целого комплекса неблагоприятных факторов, таких как дефицит фосфора, кальция, магния и т. д., алюминий является всё же главным фактором снижения производства сельскохозяйственной продукции на 67% площадей кислых почв [5].

### Токсичность алюминия и механизмы толерантности

Токсичность алюминия в растениях проявляется на физиологическом, клеточном и молекулярном уровнях, являясь причиной различных негативных эффектов: при митотическом делении клеток, в процессах фотосинтеза и дыхания, деформации корней, общем замедлении роста и развития растений [2, 6–8]. Алюминий вытесняет из клеток корней кальций, вызывая тем самым снижение проницаемости плазмалеммы, быстро блокирует её сорбционные центры, что нарушает ионный обмен. В результате, наряду с кальцием, алюминий вызывает недостаточность фосфора, железа, магния, марганца, калия, воды, нитратов для растений [9, 10]. Быстро проникая в клетки, алюминий и водород разобщают окисление и фосфорилирование [2].

Наиболее значимое место среди мишеней фитотоксичности алюминия занимают клеточная стенка, плазматическая мембрана, пути трансдукции сигналов, цитоскелет клеток корня, ДНК/ядро клетки. На молекулярном уровне основной мишенью токсического действия ионов алюминия являются комплексы белков и липидов, входящие в состав клеточных мембран [11, 12]. Имеются сведения о генотоксичном действии алюминия с образованием структурных мутаций различных видов: геномных, хроматидных и хромосомных aberrаций [13–15]. Для алюминия, как и для солей тяжёлых металлов, характерен феномен образования двуядерных клеток [16].

Механизм устойчивости растений к избытку ионов алюминия в почве направлен на ограничение скорости поступления алюминия в цитозоль и проявляется в степени иммобилизации ионов алюминия в клеточных стенках, уровне катионообменной ёмкости клеточных стенок; избирательной проницаемости клеточной мембраны; формировании индуцируемого растением pH-барьера в ризосфере или апопласте корня; выделении хелатирующих лигандов; выделении фосфатов и алюминия наружу [17–19]. Установлено, что специфической реакцией на ионы  $Al^{3+}$  для многих культур является стимуляция выработки

органических кислот корневой системой. Выделение янтарной, яблочной, лимонной и некоторых других кислот и их производных (малата, цитрата, оксалата, сукцината), которые хелатируют алюминий в корневой зоне почвы, является эффективным механизмом устойчивости многих культур [8]. Органические кислоты и их производные, выделяемые корнями растений, видоспецифичны: малат найден в корнях пшеницы [20], озимой ржи [21], цитрат – у растений кукурузы [22], сорго [23], ячменя [24]. У более устойчивых к алюминию растений пшеницы было найдено 10-кратное увеличение малоновой кислоты по сравнению с менее устойчивыми генотипами [25]. Выделение органических кислот в ответ на ионы  $Al^{3+}$  в среде выражено в наибольшей степени при его низких концентрациях. При увеличении концентрации токсичных ионов начинают действовать иные механизмы, как во внешней среде, так и в самом растении.

Многие высокоустойчивые виды, вместо того чтобы препятствовать попаданию ионов  $Al^{3+}$  в ткани, поглощают  $Al^{3+}$  и накапливают его в листьях, иногда в концентрациях, превышающих 3000 мг/кг. Во внутриклеточных процессах иммобилизации алюминия участвуют реакции комплексообразования, детоксикации и транспортировки алюминия. Растения, накапливающие в листьях алюминий в количестве от 1000 мг/кг и более, считаются видами-аккумуляторами. К их числу относят чай (*Camelia sinensis*), гортензию (*Hydrangea* sp.) и гречиху (*Fagopyrum esculentum*), а также целый ряд деревьев и кустарников. Большая часть алюминия в листьях чая находится в апопласте [26], тогда как в листьях гортензии и гречихи алюминий связан соответственно цитрат- и оксалат-ионами в вакуолярном пространстве. Декоративное растение гортензия изменяет цвет своих цветков от розового до голубого при выращивании на кислой почве с высоким содержанием  $Al^{3+}$  [27]. Причиной изменения цвета является формирование комплексов дельфинидина с алюминием [28]. Гречиха может накапливать до 15000 мг/кг алюминия в листьях, если её выращивают на кислых почвах [27]. Для защиты растительных клеток от повреждений алюминий связывается органическими лигандами [29]. В реакции связывания участвуют, в зависимости от локализации алюминия в ксилеме или листьях, соответственно цитрат или оксалат [30].

Наиболее важные внешние физиологические механизмы толерантности растений к избытку ионов  $Al^{3+}$  сводятся к следующему:

экссудация органических кислот и фосфатов, хелатирующих алюминий; иммобилизация и закрепление алюминия в клеточных стенках; активный отток алюминия через мембраны; продукция клеточной слизи; эксклюзия алюминия из клеток корня в ризосферу; избирательная проницаемость мембран клеток корня [16]. К внутренним механизмам авторы относят синтез алюмосвязывающих протеинов, хелатирование алюминия в цитозоле, компартментацию в вакуоле, присутствие алюмотолерантных ферментов и в целом повышенную ферментную активность растений в условиях стрессовой ситуации.

Это говорит о возможности мультигенной зависимости механизмов адаптации к обусловленной алюминием токсичности, каждый из которых реализуется при определённых условиях [4]. Устойчивость растений к токсичности алюминия имеет сложную природу и контролируется генетически [31, 32]. При изучении процесса индуцированной алюминием секреции малата корнями устойчивых и неустойчивых к  $Al^{3+}$  изогенных линий пшеницы была выявлена разница в реакции растений, различающихся по одному известному гену. Установлен ген *ALMT1* (aluminum-activated malate transporter), детерминирующий мембранный белок, который образуется в больших количествах в апексах корней более устойчивых к алюминию изогенных линий пшеницы [20].

Многие исследовательские группы занимаются выделением, созданием и изучением молекулярных маркеров генов толерантности растений к алюминию. Клонированы гены, контролирующие корневую экскрецию органических анионов – малата [20, 24] и цитрата [21, 24], которые связывают токсичные ионы  $Al^{3+}$  во внеклеточном пространстве; и гены белков транспортёров [33, 34], повышающих резистентность при попадании алюминия в апопласт.

К сожалению, результаты подобных работ пока не могут быть напрямую использованы в практической селекции. Идентификация локусов RFLP, RAPD, SSR и AFLP часто затруднена присутствием гомологичных локусов и/или множественными аллелями.

### Генная инженерия транспортных белков и антиоксидантов

Темпы накопления знаний о роли отдельных генов в реакциях на ионную токсикацию среды резко возросли в связи с возможностью

целенаправленного генно-инженерного манипулирования [35]. Путём внедрения генных конструкций создаются линии с потенциально более высокой толерантностью к токсичности алюминия на кислых почвах. Например, с этой целью использовали ген транспортера малата (*ALMT1*), выделенный из алюмотолерантной пшеницы, с промотором *Ubi1* [36]. Путём агробактериальной трансформации данной конструкцией сорта Golden Promise были получены 25 первичных трансформантов, три из которых проявили высокий уровень экспрессии целевого гена. Благодаря активному выведению из клеток малата трансформанты ячменя были устойчивы к ионам  $Al^{3+}$  как при тестировании в гидропонной культуре, так и при выращивании в почве с повышенной кислотностью. Стабильная экспрессия гетерологичного гена сохранялась и в поколении T2.

После того как были установлены и клонированы гены, контролирующие устойчивость к ионам  $Al^{3+}$ , они были использованы для трансформации растений [35]. Большинство из них относятся к семействам генов MATE и ALMT и кодируют белки, участвующие в транспорте органических анионов через плазматическую мембрану во внешнюю среду. Генно-инженерное встраивание *ALMT1* было осуществлено в геном таких видов растений, как арабидопсис, пшеница, ячмень, и почти во всех случаях трансгенные растения характеризовались  $Al^{3+}$ -обусловленной активацией транспорта малата и повышенной устойчивостью к ионам  $Al^{3+}$  [35–38]. Единственным исключением был рис, после трансформации которого геном *ALMT1* наблюдали активацию малатного транспортера, но это не сопровождалось повышением алюмоустойчивости растений [20]. Гены, принадлежащие семейству MATE, кодирующие транспортные белки цитрата, были использованы для трансформации модельных растений арабидопсиса и табака [22, 24], что также сопровождалось повышением устойчивости растений к алюминию. Таким образом, увеличение экспрессии генов, кодирующих транспортные белки, рассматривается на сегодняшний день как наиболее эффективный генно-инженерный способ повышения устойчивости растений к токсичности ионов [35].

В то же время одним из механизмов цитотоксического действия алюминия является окислительный стресс [39, 40]. К числу ключевых компонентов системы защиты клеток и тканей от окислительной деструкции относится антиоксидантный фермент супер-

оксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.1). СОД катализирует реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов до молекулярного кислорода и пероксида водорода. Супероксидные анион-радикалы могут вызывать прямые повреждающие эффекты, а также быть источником образования других, в том числе и более токсичных, форм кислорода. Поэтому клетка нуждается в строгом контроле над продукцией и своевременном удалении данных радикалов.

Антиоксидательную активность внутри клетки можно значительно повысить, внедрив в геном реципиентного растения ген фермента супероксиддисмутазы с промотором, обеспечивающим высокий уровень экспрессии во всех органах и тканях. Генетически модифицированные культуры с суперэкспрессией гена СОД – табак [41], кукуруза [42], арабидопсис [43], томат [44, 45], рапс [46] – демонстрировали большую, в сравнении с обычными растениями, устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов среды, включая токсичность алюминия [46].

### Культура *in vitro* и клеточная селекция

Методы культуры изолированной ткани и клеток используются для изучения реакции клеток на алюминиевую токсичность, скрининга устойчивых к алюминию генотипов, а также для создания и идентификации соматоклональных вариантов с повышенной устойчивостью к токсичным ионам [3]. Клеточная основа устойчивости к алюминию делает целесообразным получение алюмоустойчивых форм растений методом отбора в культуре ткани. В основе клеточной селекции лежит явление соматоклональной (генетической) изменчивости, накапливаемой в процессе искусственного культивирования тканей на кариотипическом, морфологическом, биохимическом и молекулярном уровнях [47]. Одно из наиболее важных следствий соматоклональной изменчивости заключается в значительном увеличении частоты хромосомных нарушений в процессе культивирования тканей. Многие из этих хромосомных изменений способны влиять на тотипотентность и не будут передаваться регенерантам, поскольку избирательность морфогенеза элиминирует многие хромосомные отклонения от нормы. Несмотря на высокую изменчивость каллусной культуры в процессе культивирования, регенеранты сохраняют относительную стабильность. Это обеспечивается тем, что, во-первых, регенерационной способностью обладают, как пра-

вило, цитогенетически нормальные клетки; во-вторых, происходит элиминация крупных изменений в стадии мейоза. В результате этого в потомство первичных регенерантов передаются только точковые мутации, не вызывающие резкого снижения жизнеспособности растений. Вследствие этого предлагалось, в частности, применять культуру ткани для создания чувствительных мутантов из устойчивых растений. Это обеспечило бы возможность использовать для идентификации и характеристики генов устойчивости формы с близкими генотипами [48]. Хотя точная природа соматической изменчивости пока не установлена (возможны мутации, разная экспрессия генов, соматический кроссинговер и др.), целесообразность её использования в селекционных целях очевидна ввиду расширения спектра генетического разнообразия.

На уровень соматической изменчивости влияют многие факторы: наличие генетической изменчивости в соматической ткани растений, используемой в качестве экспланта, длительность выращивания в культуре *in vitro*, использование специфических компонентов среды. В индукции соматической изменчивости *in vitro* участвуют основные фитогормоны – ауксины и цитокинины, которые входят в состав питательных сред для культивирования каллусных тканей [49, 50]. Их воздействие осуществляется через регуляторные гены [51, 52], модуляцию метилирования генома [53] и индукцию стрессзависимых генов [54, 55]. Всё это определяет возможность непосредственного участия ауксинов и цитокининов в адаптационных процессах за счёт регуляции экспрессии генов в растениях.

В работе, проведённой на культуре винограда, было показано, что соматклоны, полученные в культуре изолированной ткани, проявляли больший полиморфизм, чем клоны, полученные традиционным путём в полевых условиях [56]. Авторы считают, что соматкловальный эмбриогенез с отклонениями желаемых признаков может быть полезен для улучшения сортов при сохранении их основных сортовых характеристик.

Опираясь на данные геномики и транскриптомики, сегодня с уверенностью можно говорить о значительном вкладе в природу соматкловальной изменчивости эпигенетических факторов. Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов реализуются посредством стойких модификаций хроматина в тех участках, где эти гены расположены. Установлено, в частности, что вызванные стрессовыми усло-

виями изменения в процессах метилирования ДНК могут наследоваться и обуславливать адаптацию растения к стрессовому фактору в ряду поколений [35]. В дедифференцированных каллусных клетках эпигенетические события – амплификация генов и метилирование – происходят с большей интенсивностью, чем в интактном растении [57]. Изучали эпигенетические изменения рибосомальной (35S) ДНК *Nicotiana tabacum*, сопровождающие клеточную дедифференциацию и дифференциацию. В дедифференцированном каллусе и корнях, по сравнению с листьями, наблюдалось снижение метилирования по ЦГ и ЦЛГ (цитозин – гуанин и цитозин – любой нуклеотид – гуанин). Деметилирование было неслучайным, а затрагивало определённые семейства генов рибосомальной ДНК. Таким образом, стадия тотипотентности и пролиферации каллуса сопровождалась снижением метилирования, т. е. увеличением экспрессии ряда рибосомальных генов, но это не было связано с деконденсацией хроматина в соответствующих рибосомальных ДНК локусах [58]. Характерно, что регенерированные из каллусов растения имели частичное или полное восстановление метилирования соответствующих последовательностей.

Для риса было показано, что несколько копий определённых транспозонов активировались (деметилировались) в культуре ткани [59]. Но при получении регенерантов из каллусов степень метилирования этих транспозонов постепенно увеличивалась с ростом растений и существенно – в последующей генерации. Таким образом, соматкловальные изменения, индуцируемые *in vitro*, реализовываются в процессе регенерации с высокой степенью неопределённости.

Тем не менее соматкловальная изменчивость по признаку чувствительности к алюминию была успешно использована при выведении устойчивого к кислым почвам сорго – культуры, весьма чувствительной к алюминию [60].

Однако для практического использования селекции *in vitro* с целью создания устойчивых сортов необходимо, чтобы степень устойчивости на уровне культуры клеток и всего растения тесно коррелировала, как это было показано для люцерны [61]. Устойчивые формы можно идентифицировать путём сравнения роста каллуса на кислой среде в присутствии и отсутствии алюминия. Видимо, как в культуре клеток, так и на уровне целого растения функционируют аналогичные механизмы устойчивости. До настоящего времени недо-

статочно изучена связь признаков *in vitro* по отношению к условиям *in vivo*.

Для проведения направленных отборов в культуре *in vitro* создаётся селективный фон, позволяющий отобрать клетки с нужными качествами. Разработка селективных сред с введением фитотоксичных ионов  $Al^{3+}$  для культуры клеток может представлять определённые трудности, поскольку алюминий способен взаимодействовать с другими ионами с образованием нерастворимых осадков. Поэтому фактические концентрации алюминия в агаризованной среде могут быть значительно ниже, чем добавленные в среду [3]. Однако именно этот этап клеточной селекции обеспечивает возможность повышения приспособленности генотипов и позволяет отнести данное направление клеточной инженерии к методам адаптивной селекции.

Путём выращивания непосредственно на кислой среде, содержащей алюминий, с последующим снятием его воздействия, впервые удалось отобрать устойчивые клеточные линии табака [62]. В культуре клеток на среде, содержащей алюминий, также были отобраны стабильные по признаку устойчивости к алюминию линии моркови [63]. Позднее возможность использования кислых селективных систем с алюминием в культуре *in vitro* была показана в работах [64–65] для ячменя. Сочетание отборов *in vitro* с традиционными методами селекции позволило создать в НИИСХ Северо-Востока новые высокопродуктивные сорта ячменя Бионик и Форвард, отличающиеся повышенной устойчивостью к токсичности алюминия на кислых почвах [66].

### Заключение

Эдафический стресс, обусловленный высокими концентрациями в почвенном растворе ионов водорода и алюминия, в значительной степени снижает возможности растений реализовать свою генетическую программу. Формируя специфический фенотип, токсичность ионов накладывает ограничения на интенсивность продукционного процесса и, следовательно, на конечный урожай сельскохозяйственных культур.

Понимание механизмов токсичности алюминия и устойчивости к нему растений необходимо для создания сортов растений с повышенной устойчивостью. Основной причиной существенных различий в степени чувствительности генетически близких форм растений к токсичности алюминия является

наличие механизмов, инактивирующих токсические ионы и в неодинаковой степени проявляющихся у разных видов и сортов.

Прогресс в изучении алюмоустойчивости растений позволяет сегодня создавать толерантные формы и линии с использованием биотехнологических методов, в частности, генетической инженерии и клеточной селекции. Это особенно важно для повышения адаптации растений к неблагоприятным условиям выращивания, эффективного использования генетических и почвенно-климатических ресурсов, охраны окружающей среды.

### References

1. Pukhalskaya N.V. Problematic issues of aluminum toxicity (review) // *Agrokimiya*. 2005. № 8. P. 70–82. [Пухальская Н.В. Проблемные вопросы алюминиевой токсичности (обзор) // *Агрохимия*. 2005. № 8. С. 70–82]
2. Klimashevskiy E.L., Chernysheva N.F. Genetic variability of plant resistance to ion toxicity (hydrogen and aluminium) in the root zone: theory and practical aspects // *Selskokhozaystvennaya biologiya*. 1980. T. 15. № 2. P. 270–277. [Климашевский Э.Л., Чернышева Н.Ф. Генетическая вариабельность устойчивости растений к ионной токсичности (водорода и алюминия) в зоне корней: теория и практические аспекты // *Сельскохозяйственная биология*. 1980. Т. 15. № 2. С. 270–277].
3. Samac D.A., Tesfaye M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003. V. 75. P. 189–207.
4. von Uexkull H.R., Mutert E. Global extent, development and economic impact of acid soils // *Plant Soil*. 1995. V. 71. P. 1–15.
5. Eswaran H., Reich P., Beinroth F. Global distribution of soils with acidity // *Plant-soil interactions at low pH* / Moniz A.C. et al. (eds) *Brazilian Soil Science Society*, 1997. P. 159–164.
6. Taylor G.J. Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminium resistance // *Plant and Soil*. 1995. V. 171. № 1. P. 89–103.
7. Kochian L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance plants // *Ann. Rev. Plant Biol.* 1995. V. 46. P. 237–260
8. Ma J.F., Ryan P.R., Delhaize E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids // *Trends in Plant Science*. 2001. V. 6. P. 273–278.
9. Matsumoto H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants // *Int. Rev. Citol.* 2000. V. 200. P. 1–46.
10. Kochian L.V., Hoekenga J.A., Pineros M.A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2004. V. 55. P. 459–493.
11. Yamamoto Y., Kobayashi Y., Matsumoto H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum,

but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots // *Plant Physiol.* 2001. V. 125. P. 199–208.

12. Zheng S.J., Yang J.L., He Y.F., Yu X.H., Zhang L., You J.F., Shen R.F., Matsumoto H. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat // *Plant Physiol.* 2005. V. 138. P. 297–303.

13. Synzynys B.I., Nikolskaya O.G., Bulanova N.V., Kharlamova O.V. On the effect of aluminum on wheat seedlings at different pH values of cultivation medium // *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya.* 2004. № 3. P. 80–84. [Сынзыныс Б.И., Никольская О.Г., Буланова Н.В., Харламова О.В. О действии алюминия на проростки пшеницы при разных значениях pH среды культивирования // *Сельскохозяйственная биология.* 2004. № 3. С. 80–84].

14. Aniol A.M. Physiological aspects of Al tolerance associated with the long arm of chromosome 2D of the wheat genome // *Theor. Appl. Genet.* 1995. № 91. P. 510–516.

15. Muyuan Y.Z., Jianwe, P., Lilin W., Qing G., Chunyuan H. Mutation induced enhancement of Al tolerance in barley cell lines // *Plant Science.* 2003. V. 164. P. 17–23.

16. Hede A. R., Skovmand B., Lopez-Cesati J. Acid soils and aluminum toxicity // *Application of Physiology in Wheat Breeding.* CIMMYT. 2001. 240 p.

17. Li Y.Y., Zhang Y.J., Zhou Y., Yang J.L., Zheng S.J. Protecting cell walls from binding aluminum by organic acids contributes to aluminum resistance // *Journal of Integrative Plant Biology.* 2009. V. 51. P. 574–580.

18. Ryan P.R., Delhaize E., Jones D.L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots // *Annual Review of Plant Biology.* 2001. V. 52. P. 527–560.

19. Basu U., Godbold, D., Taylor G. J. Aluminium resistance in *Triticum aestivum* associated with enhanced exudation of malate // *J. Plant Physiol.* 1994. № 144. P. 747–753.

20. Sasaki T., Yamamoto Y., Ezaki B., Katsuhara M., Ahn S., Ryan P., Delhaize E., Matsumoto H. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter // *J. Plant. Phys.* 2004. V. 37. № 5. P. 645–653.

21. Collins N.C., Shirley N.J., Saeed M., Pallotta M., Gustafson J.P. An *ALMT1* gene cluster controlling aluminum tolerance at the *Alt4* locus of rye (*Secale cereale* L.) // *Genetics.* 2008. V. 179. P. 669–682.

22. Maron L.G., Pineros M.A., Guimaraes C.T., Magalhaes J.V., Pleiman J.K., Mao C.Z., Shaff J., Belicuas S.N.J., Kochian L.V. Two functionally distinct members of the MATE (multidrug and toxic compound extrusion) family of transporters potentially underlie two major aluminum tolerance QTLs in maize // *Plant J.* 2010. V. 61. P. 728–740.

23. Magalhaes J.V., Garvin D.F., Wang Y.H., Sorrells M.E., Klein P.E., Schaffert R.E., Li L., Kochian L.V. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae // *Genetics.* 2004. V. 167. P. 1905–1914.

24. Furukawa J., Yamaji N., Wang H., Mitani N., Murata Y., Sato K., Katsuhara M., Takeda K., Ma J.F. An aluminum-activated citrate transporter in barley // *Plant Cell Physiol.* 2007. V. 48. P. 1081–1091.

25. Delhaize E., Ryan P., Rendall P. Altolerance in wheat. Aluminium stimulated excretion // *Plant Physiol.* 1993. V. 103. P. 695–702.

26. Tolra R., Vogel-Mikus K., Hajiboland R., Kump P., Pongrac P., Kaulich B., Gianoncelli A., Babin V., Barcelo J., Regvar M., Poschenrieder C. Localization of aluminium in tea (*Camellia sinensis*) leaves using low energy X-ray fluorescence spectromicroscopy // *J. Plant. Res.* 2011. V. 124. P. 165–172.

27. Ma J.F., Hiradate S., Nomoto K., Iwashita T., Matsumoto H. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea – Identification of Al form in the leaves // *Plant Physiol.* 1997. V. 113. P. 1033–1039.

28. Takeda K., Kariuda M., Itoi H. Blueing of sepal color of hydrangea-macrophylla // *Phytochemistry.* 1985. V. 24. P. 2251–2254.

29. Ma J.F., Ryan P.R., Delhaize E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids // *Trends Plant Sci.* 2001. V. 6. P. 273–278.

30. Ma J.F., Hiradate S. Form of aluminium for uptake and translocation in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) // *Planta.* 2000. V. 211. P. 355–360.

31. Komatsuda T., Annaka T., Oka S., Genetic mapping of a quantitative trait locus (QTL) that enhances the shoot differentiation rate in *Hordeum vulgare* L. // *Theor. Appl. Genet.* 1993. V. 86. P. 713–720.

32. Hoekenga O.A., Maron L.G., Pineros M.A., Cancado G.M.A., Shaff J., Kobayashi Y., Ryan P.R., Dong B., Delhaize E., Sasaki T., Matsumoto H., Yamamoto Y., Koyama H., Kochian L.V. *AtALMT1*, which encodes a malate transporter, is identified as one of several genes critical for aluminum tolerance in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006. V. 103. P. 9738–9743.

33. Huang C.F., Yamaji N., Mitani N., Yano M., Nagamura Y., Ma J.F. A bacterial-type ABC transporter is involved in aluminum tolerance rice // *Plant Cell.* 2009. V. 21. P. 655–667.

34. Huang C.F., Yamaji N., Ma J.F. Knockout of a bacterial-type atp-binding cassette transporter gene, *AtSTAR1*, results in increased aluminum sensitivity in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2010. V. 153. P. 1669–1677.

35. Zhou G., Delhaize E., Zhou M., Ryan P. R. Biotechnological solutions for enhancing the aluminium resistance of crop plants // *Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations* / Ed. A. Shanker and B. Venkateswarlu / Publisher: In Tech September, 2011. P. 119–142. [Электронный ресурс]. <http://www.intechopen.com/books>.

36. Delhaize E., Ryan P.R., Hebb D.M., Yamamoto Y., Sasaki T., Matsumoto H. Engineering high level aluminium tolerance in barley with the *ALMT1* gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. P. 15249–15254.

37. Pereira J.F., Zhou G.F., Delhaize E., Richardson T., Zhou M.X., Ryan P.R. Engineering greater aluminium resistance in wheat by overexpressing *TaALMT1* // *Ann Bot.* 2010. V. 106. P. 205–214.

38. Ryan P.R., Tyerman S.D., Sasaki T., Furuichi T., Yamamoto Y., Zhang W.H., Delhaize E. The identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62. P. 9–20.

39. Chzhan Kh., Li Ya.Kh., Khu L.Yu., Van S. Kh., Chzhan F. K., Khu K. D. The effect of treatment of wheat leaves with nitric oxide donor on the antioxidant metabolism under stress caused by aluminium // *Fiziologiya rasteniy.* 2008. V. 55. № 4. P. 523–528. [Чжан Х., Ли Я.Х., Ху Л.Ю.,

- Ван С.Х., Чжан Ф.К., Ху К. Д. Влияние обработки листьев пшеницы донором окиси азота на антиокислительный метаболизм при стрессе, вызванном алюминием // Физиология растений. 2008. V. 55. № 4. P. 523–528].
40. Ezaki B., Gardner R.C., Ezaki Y., Matsumoto H. Expression of aluminum-induced genes in transgenic *Arabidopsis* plants can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress // Plant Physiol. 2000. V. 122. P. 657–665.
41. Van Camp W., Capiou K., Van Montagu M., Inze D., Slooten L. Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overexpressing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts // Plant Physiol. 1996. V. 112. P. 1703–1714.
42. Van Breusegem F., Slooten L., Stassart J., Moens T., Botterman J., Van Montagu M., Inze D. Overproduction of *Arabidopsis thaliana* FeSOD confers oxidative stress tolerance to transgenic maize // Plant Cell Physiol. 1999. V. 40. P. 515–523.
43. Gao X., Ren Z., Zhao Y., Zhang H. Overexpression of SOD increases salt tolerance of *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 1873–1881.
44. Serenko E.K., Ovchinnikova V.N., Kurenina L.V., Baranova E.N., Gulevich A.A., Maysuryan A.N., Kharchenko P.N. Obtaining transgenic tomato plants with the gene Fe dependent superoxide dismutase // Доклады Российской академии наук. № 4. P. 12–14. [Серенко Е.К., Овчинникова В.Н., Куренина Л.В., Баранова Е.Н., Гулевич А.А., Майсурян А.Н., Харченко П.Н. Получение трансгенных растений томата с геном Fe-зависимой супероксиддисмутазы // Доклады РАН. № 4. P. 12–14].
45. Baranova E.N., Gulevich A.A., Maysuryan A.N., Lavrova N.V. Ultrastructural organization of cells of transgenic tomato plants with gene Fe-SOD in conditions of salinization of the nutrient medium // Izvestiya TSKHA. 2011. № 1. P. 90–96. [Баранова Е.Н., Гулевич А.А., Майсурян А.Н., Лаврова Н.В. Ультраструктурная организация клеток трансгенных растений томата с геном Fe-SOD при засолении питательной среды // Известия ТСХА. 2011. № 1. С. 90–96].
46. Basu U., Good A. G., Taylor G.J. Transgenic *Brassica napus* plants overexpressing aluminium-induced mitochondrial manganese superoxide dismutase cDNA are resistant to aluminium // Plant. Cell Envir. 2001. V. 24. P. 1269–1278.
47. Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell culture for plant improvement // Theor. Appl. Genet. 1981. V. 60. P. 197–214.
48. Moon D.H., Ottoboni L.M.M., Souza A.P., Sibov S.T., Gaspar M., Arruda P. Somaclonal-variation-induced aluminum-sensitive mutant from an aluminum-inbred maize tolerant line // Plant Cell Rep. 1997. V. 16. P. 686–691.
49. Marchenko A.O. Realization of morphogenetic potential of plant organisms: calibration approach // Zhurnal obshchey biologii. 1999. T. 60. № 6. P. 654–667. [Марченко А.О. Реализация морфогенетического потенциала растительных организмов: калибровочный подход // Журн. общей биологии. 1999. Т. 60. № 6. С. 654–667].
50. Meins F.Jr, Seldran M. Pseudodirected variation in the requirement of cultured plant cells for cell-division factors // Development. 1994. V. 120. P. 1163–1168.
51. Schmulling T., Schafer S., Romanov G. Cytokinins as regulators of gene expression // Physiol. Plant. 1997. V. 100. P. 505–519.
52. Woodward A.W., Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction // Annals Bot. 2005. V. 95. № 5. P. 707–735.
53. Vanyushin B.F. DNA methylation and epigenetics // Genetics. 2006. T. 42. № 9. P. 1186–1199. [Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика // Генетика. 2006. Т. 42. № 9. С. 1186–1199]
54. Davletova S., Meszaros T., Miskolczi P. Auxin and heat shock activation of a novel member of the calmodulin like domain protein kinase gene family in cultured alfalfa cells // J. Exp. Bot. 2001. V. 52. P. 215–221.
55. Reiser V., Raitt D.C., Saito H. Yeast osmosensor Sln1 and plant cytokinin receptor Cre 1 respond to changes in turgor pressure // J. Cell. Biol. 2003. V. 161. P. 1035–1040.
56. Schellenbaum P., Mohler V., Wenzel G., Walter B. Variation in DNA methylation patterns of grapevine somaclones (*Vitis vinifera* L.) // BMC Plant Biol. 2008. V. 8. P. 78–87.
57. Liu L., Shen J., Liu B. Genetic and epigenetic instabilities induced by tissue culture in wild barley (*Hordeum brevisubulatum* (Trin.) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2007. V. 90. P. 153–168.
58. Koukalova B., Fojtova M., Lim K.Y., Fulnecek J., Leitch R.A., Kovarik A. Dedifferentiation of tobacco cells is associated with ribosomal RNA gene hypomethylation, increased transcription, and chromatin alterations // Plant Physiology. 2005. V. 139. P. 275–286.
59. Cheng C., Daigen M., Hirochika H. Epigenetic regulation of the rice retrotransposon Tos17 // Mol. Genet. Genomics. 2006. V. 276 (4). P. 378–390.
60. Foy C.D., Duncan R.R., Waskon R.M., Miller D.R. Tolerance of sorghum genotypes to an acid, aluminum toxic tatum subsoil // J. Plant Nutr. 1993. V. 161. P. 97–127.
61. Dall'Agnol M., Bouton J.H., Parrott W.A. Screening methods to develop alfalfa germplasm tolerant of acid, aluminum toxic soils // Crop Sci. 1996. V. 36. P. 64–70.
62. Conner A.J., Meredith C.P. Large scale selection of aluminum-resistant mutants from plant cell cultures: expression and inheritance in seedlings // Theor. Appl. Genet. 1985. V. 71. P. 159–165.
63. Arihara A., Kumagai R., Koyama H., Ojima K. Aluminum tolerance of carrot (*Daucus carota* L.) plants regenerated from cell cultures // Soil Sci. Plant Nutr. 1991. V. 37. P. 699–705.
64. Muyuan, Y.Z., Jianwei, P., Lilin, W., Qing, G., Chunyuan, H. Mutation induced enhancement of Al tolerance in barley cell lines // Plant Science. 2003. V. 164. P. 17–23.
65. Shirokikh I.G., Ogorodnikova S.Yu., Dalke I.V., Shupletsova O.N. Biochemical and physiological estimation of barley regenerants obtained in selective systems // Biology Bulletin. 2011. V. 38. № 6. P. 602–607.
66. Shupletsova O.N., Shirokikh I.G. Creation of new barley varieties by biotechnology methods and the results of evaluating their economic value // Rasteniya v usloviyakh globalnikh i lokalnikh prirodno-klimaticheskikh i antropogennikh vozdeystviy. Petrozavodsk: KNCRAN, 2015. P. 606. [Шуплецова О.Н., Широких И.Г. Создание новых сортов ячменя методами биотехнологии и результаты оценки их хозяйственной ценности // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий. Петрозаводск: КНЦ РАН, 2015. С. 606]