

## Тестирование устойчивости разных форм ячменя (*Hordeum vulgare* L.) к токсическому действию алюминия

© 2019. Н. В. Кононенко<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с., И. А. Чабан<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с.,  
Е. А. Смирнова<sup>1,2</sup>, д. б. н., профессор, зав. лабораторией,  
И. Г. Широких<sup>3</sup>, д. б. н., зав. лабораторией,  
О. Н. Шуплецова<sup>3</sup>, к. б. н., с. н. с., Е. Н. Баранова<sup>1</sup>, к. б. н., в. н. с.,  
<sup>1</sup> ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии,  
127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42,  
<sup>2</sup> МГУ им. М. В. Ломоносова,  
119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1,  
<sup>3</sup> Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока,  
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,  
e-mail: nilava@mail.ru

Токсичность алюминия в условиях кислых почв создаёт для ячменя значительные трудности в реализации потенциала продуктивности. Разработка эффективных тест-систем для выявления и отбора устойчивых генотипов является актуальной задачей в связи с увеличением во всем мире земельных угодий с повышенной кислотностью. Для выявления особенностей реакции растений на токсическое действие алюминия использовали генотипы ячменя с различной устойчивостью к ионной токсикации (сорта Белгородский 100, Белогорский, Купец, Эло, 999-93 и регенерантная линия 917-01). В модельных экспериментах с помощью методов цитофотометрии, светооптической и электронной микроскопии охарактеризованы структурно-функциональные особенности клеток корневого чехлика проростков ячменя и установлены цитологические маркеры, пригодные для создания тест-системы ранней диагностики чувствительности генотипов ячменя к алюминию. Реакция растений на воздействие алюминия заключалась в изменениях митотического индекса, ином распределении клеток корневой меристемы по фазам клеточного цикла, особенностях накопления запасных веществ (крахмальные зёрна), как предполагаемых маркеров чувствительности. У чувствительных к алюминию генотипов (сорт Эло), при токсическом воздействии наблюдали деструкцию крахмальных зёрен в клетках корневого чехлика, тогда как у генотипов устойчивых (сорт Белогорский), напротив, структура крахмальных зёрен в клетках сохранялась. Предлагается использовать прижизненное окрашивание крахмальных зёрен в клетках корневого чехлика целого корешка в качестве теста на чувствительность растений ячменя к токсическому действию алюминия.

**Ключевые слова:** почвенная кислотность, алюминий, корневой чехлик, крахмальные зёрна, деструктивные изменения.

## Testing the stability of different forms of *Hordeum vulgare* L. to the toxic action of aluminum

© 2019. N. V. Kononenko<sup>1</sup> ORCID:0000-0001-6064-2011, I. A. Chaban<sup>1</sup> ORCID:0000-0002-2508-1316,  
E. A. Smirnova<sup>1,2</sup> ORCID:0000-0001-8241-3578, I. G. Shirokikh<sup>3</sup> ORCID: 0000-0002-3319-2729,  
O. N. Shupletsova<sup>3</sup> ORCID 0000-0003-4679-0717, E. N. Baranova<sup>1</sup> ORCID:0000-0001-9832-3948,  
<sup>1</sup> All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology,  
42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,  
<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University,  
1, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119234,  
<sup>3</sup> Federal Scientific Agricultural Center of the North-East,  
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,  
e-mail: nilava@mail.ru

Combined effect of aluminum toxicity and acidic soil conditions is the major problem for barley productivity in certain areas of crop cultivation. Therefore the development of effective test systems for the identification and selection of aluminum-resistant barley genotypes is an important goal, especially for regions all over the world with high soil

acidity. We used barley genotypes with different resistance to ionic toxicity (Belgorodsky 100, Belogorsky, Kupets, Elo, 999-93 and regenerant line 917-01) for characterization of the plant's reaction to the toxic effect of aluminum. Using methods of cytophotometry, light and electron microscopy we studied structural and functional changes of the root cap cells and obtained cytological markers suitable for early detection of the sensitivity of barley genotypes to aluminum. We showed that the response of plants to aluminum exposure was manifested in changes of mitotic index (MI) and phases of the cell cycle of meristematic cells, and differences in accumulation of starch grains in the root cap cells. It appeared that in aluminum-sensitive genotypes (variety Elo), aluminum induced destruction of starch grains in the root cap cells, whereas in aluminum-resistant genotypes (variety Belogorsky), the structure of starch grains was well preserved. We propose to use the live staining of starch grains in the root cap cells of the whole root as a test for the sensitivity of barley plants to the toxic effect of aluminum.

**Keywords:** soil acidity, aluminum, root cap, starch grains, destructive changes.

По объёмам производства зерна и посевных площадей ячмень (*Hordeum vulgare* L.) занимает четвёртое место в мире среди зерновых культур. В сезоне 2017–2018 гг. посевные площади ячменя составили 49,04 млн га, в том числе 7,7 млн га в Российской Федерации [1]. Поэтому увеличение устойчивости и урожайности ячменя к различным эдафическим стрессам является актуальной проблемой.

К числу широко распространённых (почти 70% мирового фонда пахотных земель) эдафических стрессов относится повышенная кислотность почв, часто усугубляемая токсичностью в кислой среде ионов алюминия. Ионная токсичность создаёт для ячменя значительные трудности в реализации потенциала продуктивности. Симптомы поражения алюминием могут обнаруживаться в различное время после токсического воздействия – от нескольких минут до часов или даже суток [2]. Корневая система растений является первоначальной мишенью действия алюминия на организменном уровне [2], тогда как на клеточном уровне повреждаются ядерная ДНК [3], ядрышки [4], цитоскелет [5], плазматические мембраны [6]. В результате действия высоких концентраций алюминия возникают геномные и хромосомные мутации, что учитывается при выяснении степени токсичности алюминия на ранних стадиях онтогенеза ячменя [7]. Алюминий ингибирует процессы клеточного деления, растяжения клеток и трансмембранного транспорта [8, 9].

Под воздействием алюминия в первую очередь снижается длина корня, изменяется его цвет, искривляются, редуцируются корневые волоски [10]. В результате асинхронного и радиального деления клеток кортекса изменяется толщина корней и возникают механические повреждения эпидермиса [11, 12]. Вызванные алюминием нарушения сопровождаются резким падением всасывающей способности корневой системы и кардинально изменяют нормальное снабжение растений водой и элементами питания [2].

Создание сортов, толерантных к ионам алюминия, позволяет сократить потери не только обусловленные низким сбором зерна, но и связанные с известкованием кислых почв.

Применение клеточной селекции значительно расширяет возможности традиционных методов создания исходного материала. Изучение эпигенетических изменений рибосомальной (35S) ДНК, сопровождающих клеточную дедифференциацию и дифференциацию, показало, что в дедифференцированном каллусе модельного растения *Nicotiana tabacum*, по сравнению с листьями, наблюдалось снижение метилирования по ЦГ (цитозин-гуанин) и ЦЛГ (цитозин-любой нуклеотид-гуанин), и оно не было случайным, а затрагивало определённые семейства генов рибосомальной ДНК [13]. Таким образом, стадия тотипотентности и пролиферации каллуса сопровождается снижением метилирования и, соответственно, увеличением экспрессии ряда рибосомальных генов. При этом регенерированные из каллусов растения лишь частично восстанавливают метилирование соответствующих последовательностей, в результате чего появляются соматклоны, отличающиеся по ряду признаков от исходного генотипа. Проведение отборов каллусных линий *in vitro* на кислых селективных средах с алюминием позволяет выявить среди них формы с повышенной устойчивостью к токсичным ионам [13]. При этом важное значение имеет разработка соответствующих критериев, позволяющих проводить сравнительный анализ исходных сортов и полученных экспериментальных линий [14–16].

Известно, что по признаку чувствительности к алюминию отдельные виды и даже сорта растений могут значительно различаться [17]. Обладающие устойчивостью растения в настоящее время активно используются для идентификации генов, контролирующей алюмотолерантность. Вместе с тем, чрезвычайно важно разработать такие критерии и тест-системы для оценки толерантности (или,

наоборот, чувствительности) исходного материала, которые позволят дифференцировать функционально различные линии и формы без применения дорогостоящих технологий и длительных полевых испытаний [18]. Возможным подходом к этому является использование в современном селекционном процессе цитологических маркеров.

Целью настоящего исследования было выявление клеточных структур, наиболее чувствительных к токсическому действию алюминия, для ранней диагностики устойчивости ячменя к эдафическому стрессу.

### Материалы и методы исследования

В работе использовали различающиеся по толерантности к алюминию сорта Белгородский 100, Купец, 999-93, созданные методами традиционной селекции, и регенерантную линию 917-01, полученную из сорта 999-93 в результате клеточной селекции на устойчивость к алюминию. Для изучения структурной организации клеток корневого чехлика проростков ячменя использовали семена ячменя сортов Белогорский и Эло. Семена каждого генотипа были получены в результате репродукции на двух контрастных почвенных фонах в условиях вегетационного опыта, описанного ранее [19]. Дерново-подзолистая почва в одном случае характеризовалась содержанием подвижного алюминия 12,0 мг/100 г почвы,  $pH_{\text{сол.}}$  4,0; в другом – не содержала подвижный алюминий,  $pH_{\text{сол.}}$  5,5. Семена, полученные в контрастных почвенных условиях, проращивали в течение суток в дистиллированной воде в термостате при 21–23 °С. Проросшие семена помещали между двумя слоями увлажнённой фильтровальной бумаги и формировали рулоны, которые на 1/3 высоты помещали в воду ( $pH$  5,8–6,0) или в раствор, в который был добавлен сульфат алюминия из расчёта конечной концентрации ионов алюминия 40 мг/л, согласно схеме опыта. Для получения проростков ёмкости с рулонами помещали в термостат при 21–23 °С на 5 суток.

Реакцию клеток корневой меристемы проростков на токсическое действие алюминия оценивали по величине митотического индекса (МИ) и распределению клеток по фазам клеточного цикла: собственно митоз (M), пресинтетический ( $G_1$ ), синтетический (S) и постсинтетический ( $G_2$ ) периоды.

**Цитофотометрический анализ.** Кончики корня размером около 4–5 мм фиксировали в смеси этанола и уксусной кислоты (в со-

отношении 3:1) в течение 3 час. Мацерацию корней проводили в растворе, содержащем 0,4% целлюлазы («Sigma», США) и 0,4% пектиназы («Merk») в течение 2 ч при 37 °С. После гидролиза в 5н HCl (40 мин при 22 °С) суспензию клеток окрашивали реактивом Шиффа («Merk») в течение 2 часов. Содержание ДНК в ядрах измеряли на цитофотометре SMP-20 (Opton) с объективом  $\times 16$ , окуляром  $\times 10$  и зондом 0,16 мм. В качестве стандарта использовали ядра делящихся клеток на стадии телофазы (2С) или метафазы (4С). Выборка для каждой экспериментальной точки составляла не менее 300 ядер. Данные анализировали в программе Статистика 5.0.

**Световая микроскопия.** Для качественного анализа отбирали 5 одинаковых по размеру проростков, не имеющих механических и инфекционных повреждений. Отрезали лезвием часть корня с чехликом. Полученные фрагменты помещали в 1% раствор иода в молочной кислоте на 10 мин. Окрашенные чехлики корешков просматривали в световом микроскопе при 20 кратном увеличении и фотографировали. Количество повторений для каждого образца – 3.

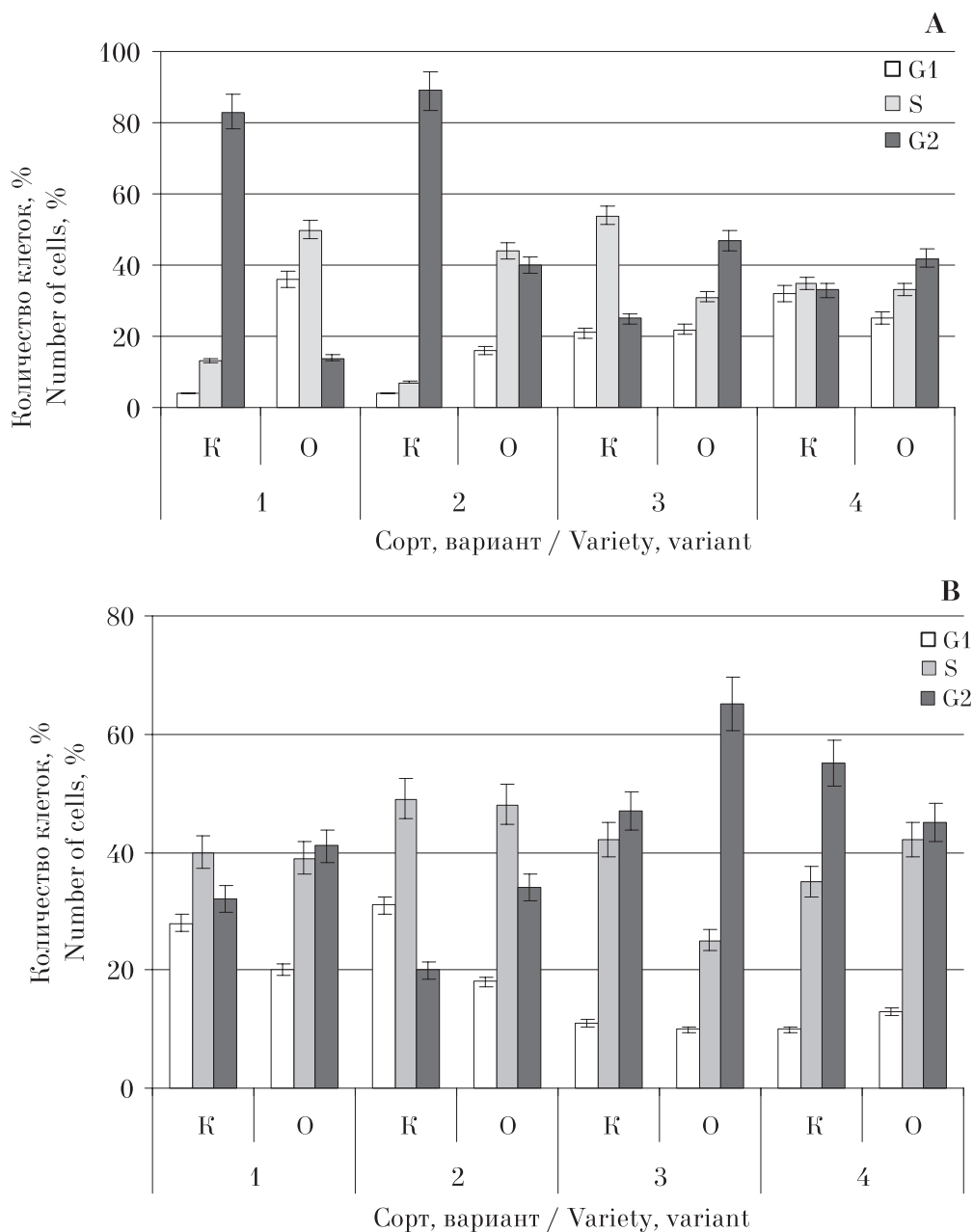
**Электронная микроскопия.** От корешков отделяли фрагменты длиной 4–5 мм и фиксировали в 2,5% глутаровом альдегиде на фосфатном буфере ( $pH$  7,2) с добавлением сахарозы (15 мг/мл) двое суток (при +4 °С). Постфиксацию образцов проводили в 1% растворе  $OsO_4$ , дегидратацию – в этаноле возрастающей концентрации (30, 50, 70, 100%) и в оксиде пропилен. Образцы заключали в смесь эпона и аралдита по стандартному методу. Для светооптической микроскопии «полутонкие» срезы (около 1000 мкм толщиной) монтировали на предметные стекла, заключали в эпон, полимеризовали препараты 1 сутки при 60 °С и фотографировали с использованием микроскопа Olympus BX51 (Япония), оборудованного цифровой камерой Color View (Германия). Регистрация изображений проводилась с помощью фазово-контрастной микроскопии.

### Результаты и обсуждение

Влияние высокой концентрации ионов алюминия (40 мг/л) на процесс прохождения клеточного цикла клетками корневой меристемы проростков ячменя определяли с помощью цитофотометрического анализа. Распределение клеток по фазам клеточного цикла у проростков из семян, репродуцированных на почве с алюминием и без него, было

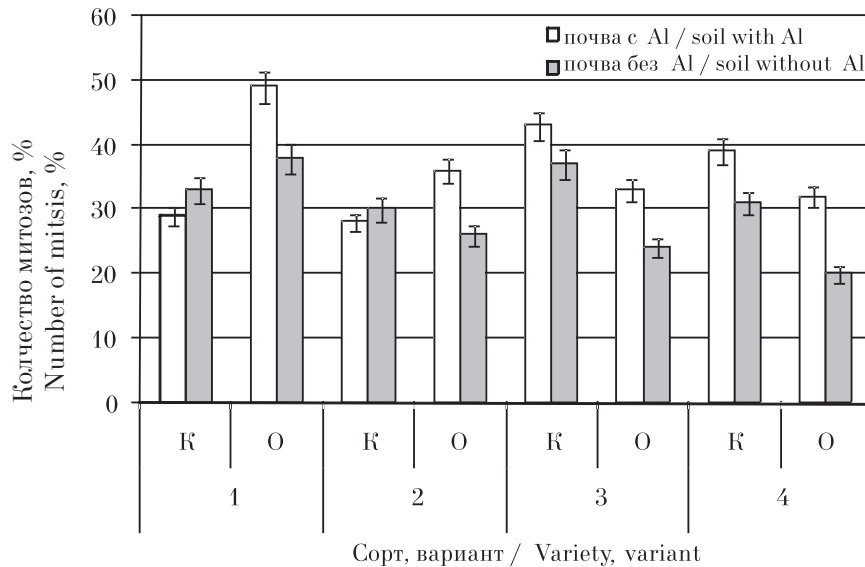
различным. Известно, что клетки, находясь в постсинтетической ( $G_2$ ) фазе, являются более чувствительными к стрессу по сравнению с клетками в пресинтетической ( $G_1$ ) фазе, и увеличение их количества свидетельствует о стрессовом воздействии [20]. Толерантность к алюминию оценивали по количеству клеток в  $G_2$  фазе. Так, у проростков ячменя сортов

Белгородский-100 и Купец, полученных из семенного потомства, выращенного на почвах, содержащих алюминий, в контроле отмечен блок (накопление клеток в одной из фаз, приводящее к остановке клеточного цикла) в  $G_2$  фазе, ингибирующий деление, что приводит к снижению роста и урожая. В опыте у сортов Белгородский-100 и Купец



**Рис. 1.** Влияние высоких концентраций алюминия на распределение клеток по фазам клеточного цикла корневой меристемы проростков ячменя, полученных из семенного потомства, выращенного на почвах, содержащих алюминий (А) и при его отсутствии (В): 1 – сорт Белгородский 100; 2 – сорт Купец; 3 – сорт 999-93; 4 – линия 917-01; К – контроль; О – опыт

**Fig. 1.** Effect of high concentrations of aluminum on the distribution of cells in the cell cycle phases of the root meristem of barley seedlings obtained from seed progeny grown on soils containing aluminum (A) and in its absence (B): 1 – variety Belgorodsky 100; 2 – Kupets variety; 3 – variety 999-93; 4 – line 917-01; K – control; O – experiment



**Рис. 2.** Влияние алюминия на митотический индекс корневой меристемы проростков ячменя, выросших из семян растений, произраставших на почве с алюминием и без алюминия: 1 – сорт Белгородский 100; 2 – сорт Купец; 3 – сорт 999-93; 4 – линия 917-01; К – контроль; О – опыт  
**Fig. 2.** Effect of aluminum on the mitotic index of the root meristem of barley seedlings grown from plant seeds grown on soil with aluminum and without aluminum: 1 – variety Belgorodsky 100; 2 – Kupets variety; 3 – variety 999-93; 4 – line 917-01; K – control; O – experiment

максимальное количество клеток находится в фазе S (фазе синтеза). У сорта 999-93 и линии 917-01 как в контроле, так и в опыте блок в  $G_2$  фазе отсутствует. У сорта 999-93 количество клеток в  $G_2$  фазе в опыте выше по сравнению с контролем (в 2 раза), что свидетельствует о меньшей устойчивости опытных растений. У линии 917-01 опытные растения в  $G_2$  фазе в меньшей степени отличаются от контрольных, по сравнению с растениями сорта 999-93, что предопределяет толерантность к алюминию.

При анализе проростков ячменя, полученных из семян, репродуцированных на почве без алюминия, выделяется линия 917-01, опытные растения которой, в отличие от контроля, содержат меньшее количество клеток в  $G_2$  фазе. Проростки 917-01 проявили большую устойчивость в сравнении с исходным сортом 999-93, из которого данная линия была отобрана в каллусной культуре на кислых селективных средах с алюминием [19]. Линия 917-01 в этом случае превосходила также по устойчивости сорта Купец и Белгородский 100.

Таким образом, результаты цитофотометрического анализа распределения клеток по фазам клеточного цикла свидетельствуют, что растения ячменя генотипов 917-01 и 999-93, репродуцированные в условиях токсичности ионов алюминия, лучше переносят его высо-

кие концентрации, по сравнению с проростками генотипов Купец и Белгородский 100, репродуцированными в тех же условиях.

В результате обработки корней проростков высокими концентрациями алюминия выявлены также изменения МИ. У проростков линии 917-01 и сорта 999-93, полученных из семенного потомства, выращенного на почвах, содержащих алюминий, МИ снижался у опытных растений (в 1,2–1,3 раза) по сравнению с контролем, а у сортов Купец и Белгородский 100 повышался по сравнению с контролем (в 1,3–1,6 раза).

У проростков, полученных из семенного потомства, выращенного на почвах без алюминия, МИ снижался у опытных растений по сравнению с контрольными у сортов Купец, 999-93, линии 917-01 (в 1,2–1,7 раза), а у сорта Белгородский 100, наоборот, повышался (в 1,2 раза) (рис. 2).

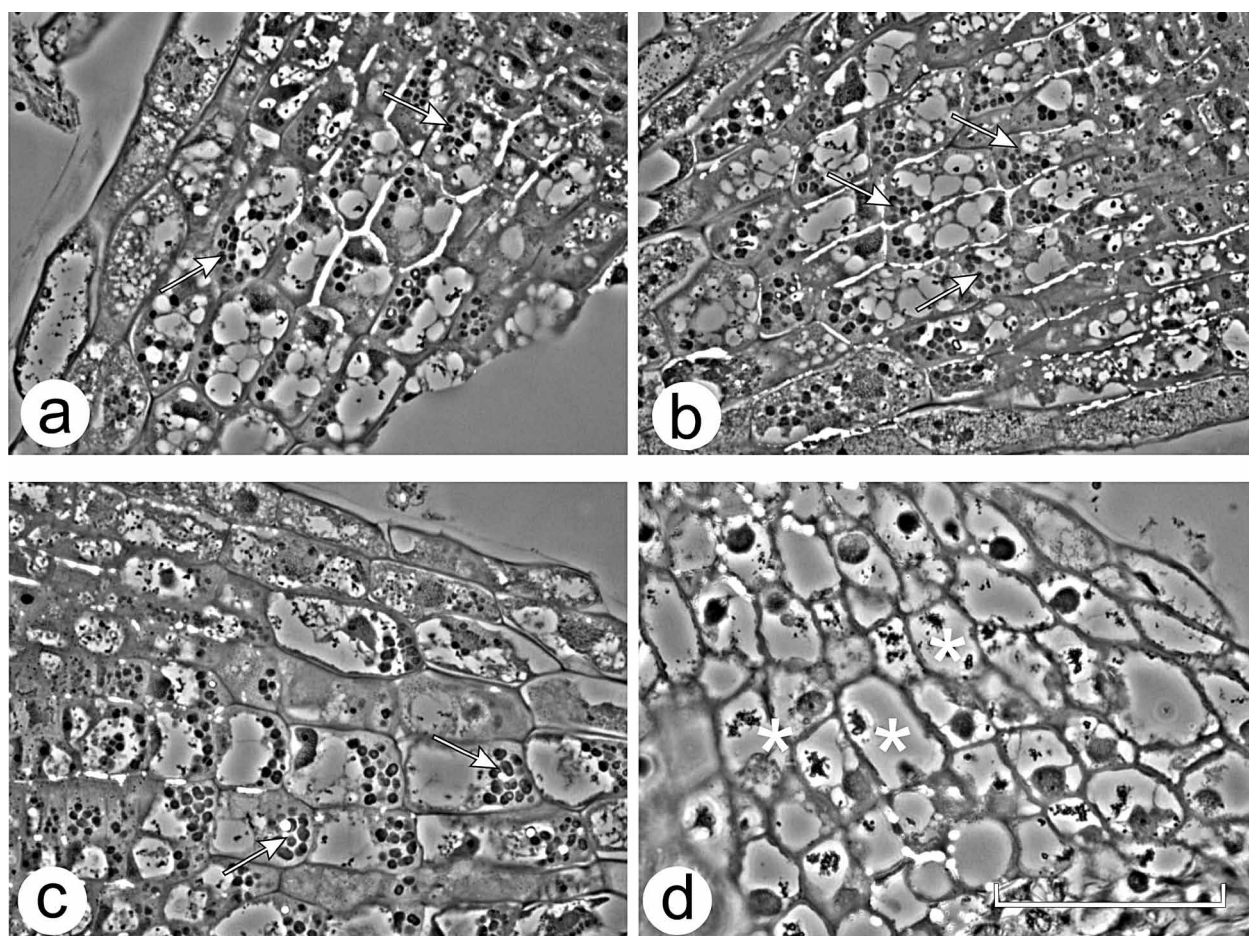
Это говорит о том, что условия репродукции семян (в присутствии алюминия или без него) могут оказывать влияние на устойчивость проростков к алюминию. Чувствительность к алюминию регенерантной линии 917-01 в большей степени зависела от условий репродукции семян, чем чувствительность исходного сорта 999-93. Возможно, это вызвано эпигенетической нестабильностью в связи с проведением генотипа 917-01 через каллус-

ную культуру. Известно, что эпигенетические события – амплификация генов и метилирование – происходят в дедифференцированных каллусных клетках с большей интенсивностью, чем в интактном растении [21, 22].

Поскольку форма, длина, толщина корня и гравитропическая направленность роста (выражавшаяся в искривлении корней) [10] существенно различались у исследованных генотипов, мы предположили наличие связи между этими нарушениями и формированием крахмальных зёрен (статолитов), ответственных за гравитропическую реакцию, в клетках колумеллы (осевая часть чехлика) корня. В связи с этим мы исследовали структуру корней проростков ячменя на полутонких срезах, отмечая структурные изменения в чехлике корня.

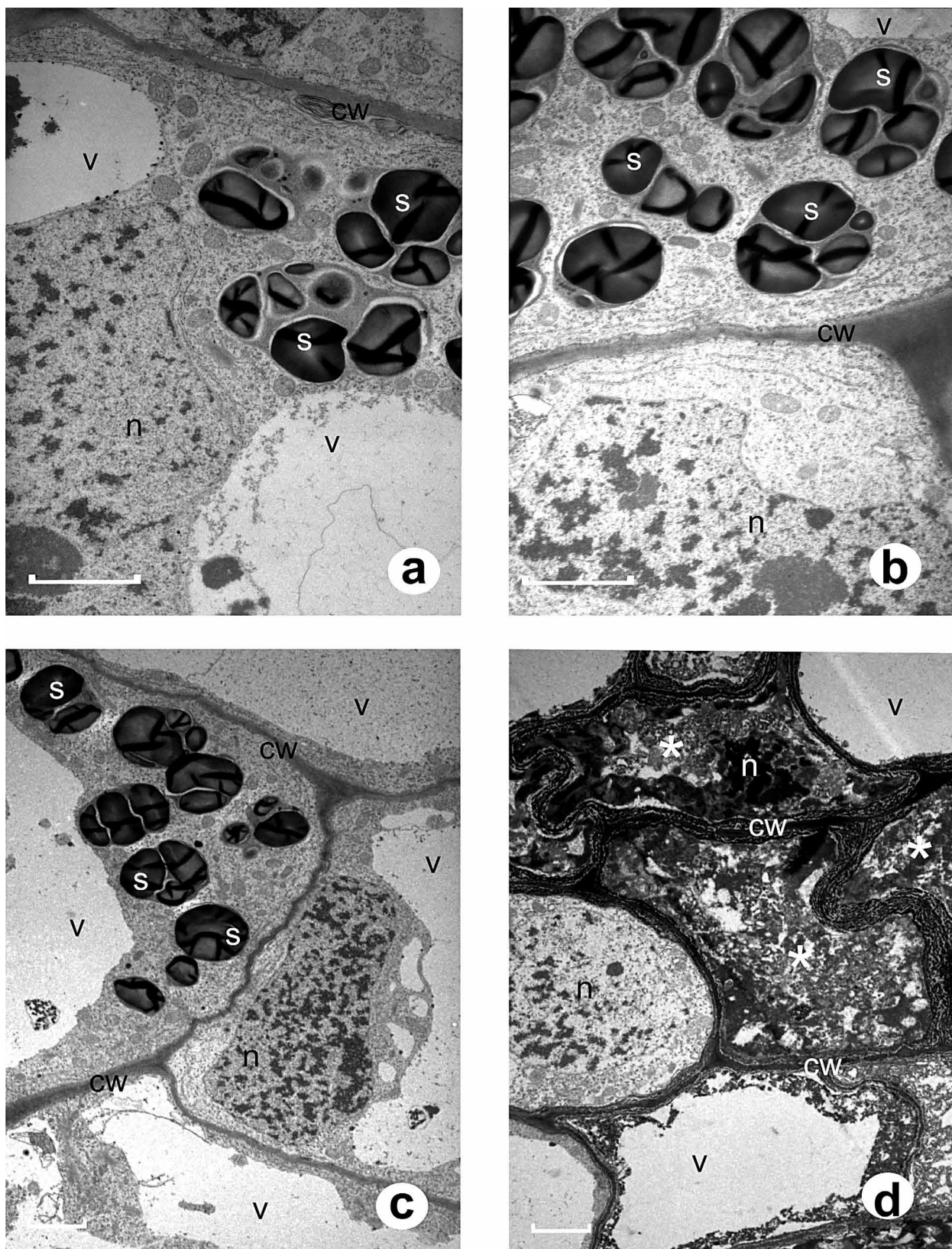
Для изучения структурной организации клеток корневого чехлика проростков ячменя использовали семена сортов Белогорский и

Эло, отличающихся по солеустойчивости [23]. Было показано, что у проростков Белогорский крахмальные зёрна в клетках колумеллы не разрушались и сохраняли целостность, тогда как у ячменя сорта Эло наблюдалась деструкция крахмальных зёрен и разрушение статолитов в клетках корневого чехлика (рис. 3). Воздействие ионов алюминия (40 мг/л) на корни проростков ячменя изменило морфологию клеток чехлика, наиболее сильно проявившись у сорта Эло, у которого наблюдали выраженные дефекты статолитов колумеллы чехлика. Недавно показано, что действие ионов алюминия вызывает уменьшение содержания крахмала в листьях чая [24]. Таким образом, мы предполагаем, что существует тесная связь между изменениями структуры крахмальных зёрен и неблагоприятными условиями среды (засуха, низкая или высокая температура, действие некоторых химических веществ) [25–27].



**Рис. 3.** Влияние алюминия на структуру крахмальных зёрен в клетках корневого чехлика проростков ячменя. Объектив  $\times 40$ . Сорт Белогорский: а – контроль, б – алюминий 40 мг/л; сорт Эло: с – контроль, д – алюминий 40 мг/л. Обозначения: стрелка – крахмальные зёрна; \* – деструкция крахмальных зёрен. Масштабный отрезок 400 мкм.

**Fig. 3.** Effect of aluminum on the structure of starch grains of the root cap cells of barley seedling. Lens 40 x. Variety Belogorsky: a – control, b – aluminum 40 mg/L; variety Elo: c – control, d – aluminum 40 mg/L. Legend: arrow – starch grains; \* – destruction of starch grains. The scale bar is 400  $\mu\text{m}$



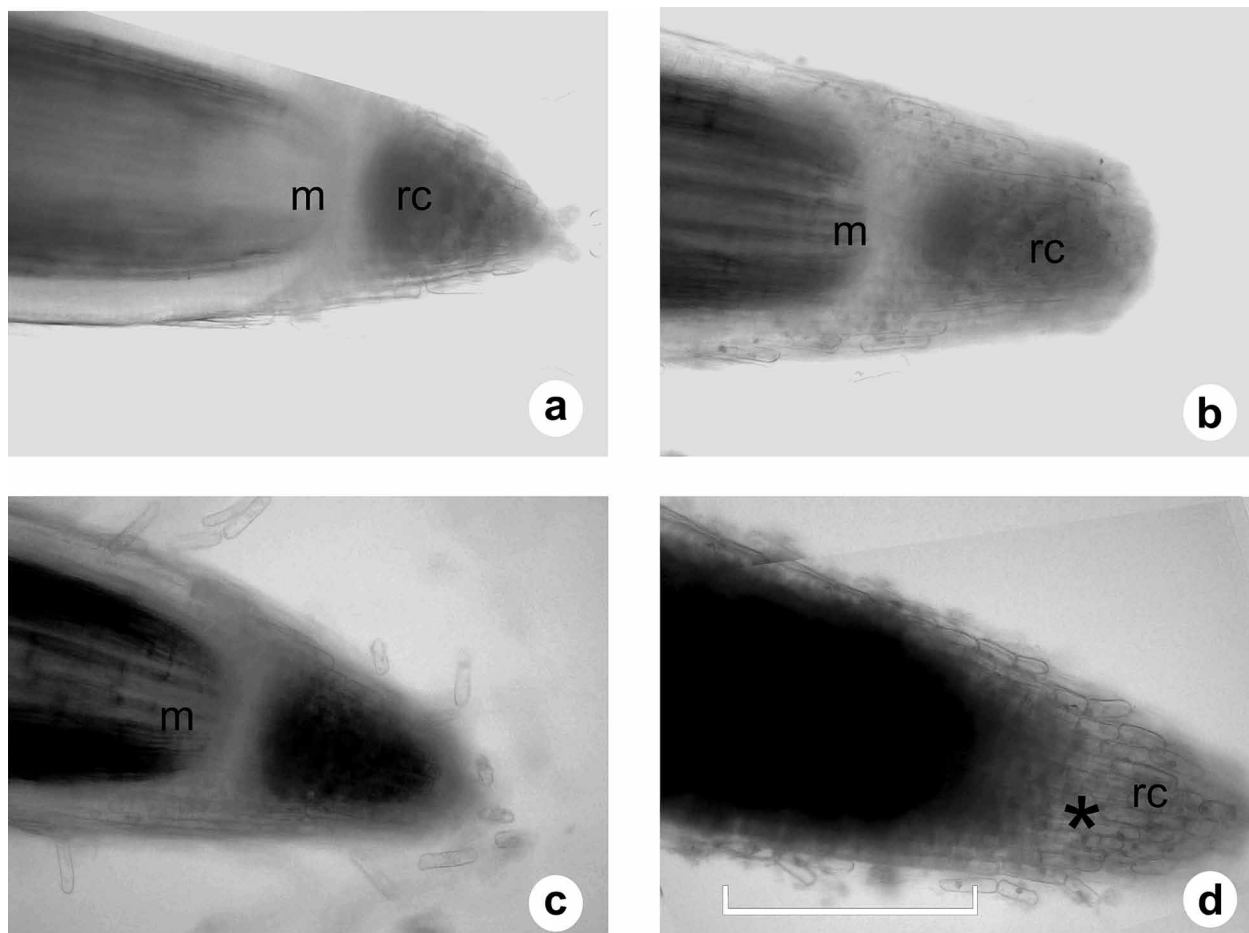
**Рис. 4.** Ультраструктура клеток чехлика корня ячменя сорта Белгородский 100 (а – контроль; б – алюминий 40 мг/л) и сорта Эло (с – контроль; д – алюминий 40 мг/л).  
 Обозначения: n – ядро, v – вакуоль, s – крахмальное зерно, cw – клеточная стенка,  
 \* – деструкция крахмальных зёрен. Масштабный отрезок 50 мкм

**Fig. 4.** Ultrastructure of the root cap cells of barley variety Belgorodsky 100 (a – control; b – aluminium 40 mg/L) and variety of Elo (c – control; d – aluminium 40 mg/L).  
 Designations: n – nucleus, v – vacuole, s – starch grain, cw – cell wall,  
 \* – destruction of starch grains. The scale bar is 50 µm

Для уточнения структурно-функциональных нарушений статолитов в клетках колумеллы корней при воздействии алюминия проводили электронно-микроскопический анализ (рис. 4). Мишенями токсического действия алюминия являлись дифференцированные клетки корневого чехлика: сохранность статолитов, преобразование вакуолей и повреждения цитоплазматических мембран клеток корневого меристемы. Ранее нами уже было показано, что в качестве цитологических маркеров чувствительности растений к действию алюминия можно использовать данные по структуре ядер, ядрышек и вакуолей клеток меристемы корня [12].

Однако методы трансмиссионной микроскопии достаточно трудоёмки и продолжительны по времени, поэтому в данном исследовании мы рассматривали варианты экспресс-оценки, исходя из полученных данных на ультратонких и полутонких срезах.

Полученные на ультраструктурном и светооптическом уровне данные ранней диагностики устойчивости ячменя к токсическому действию алюминия дают основание считать, что идентификация наличия крахмала в зоне чехлика, может быть произведена более простым методом. В частности, возможна визуализация крахмальных зёрен в колумелле путём прижизненной (на целом корешке) цитохимической детекции при помощи специфической реакции на чувствительность растений ячменя к абиотическому стрессу. Оптимизация тест-системы для диагностики устойчивости растений к алюминию проводилась на сортах ячменя Белогорский и Эло (отличающихся по устойчивости к солям). Для качественной реакции на крахмал использовался 1% водный раствор иода. У 2-х суточных проростков, выращенных в воде (контроль) и в растворе с алюминием (опыт), обнаружено, что контрольные растения обоих



**Рис. 5.** Окрашенные раствором иода корешки проростков ячменя сорта Белогорский (а – контроль; б – сульфат алюминия) и сорта Эло (с – контроль; д – сульфат алюминия).

Обозначения: m – меристема, rc – корневой чехлик;

\* – деструкция крахмальных зёрен. Масштабный отрезок 400 мкм

**Fig. 5.** The iodine-stained roots of barley seedlings of the Belogorsky variety (a – control; b – aluminum sulphate) and Elo variety (c – control; d – aluminum sulphate). Designations: m – meristem, rc – root cap; \* – destruction of starch grains. The scale bar is 400 μm



сортов по локализации крахмала в чехлике корня не отличаются между собой. Растения в опыте, в зависимости от сорта, обнаруживают отличия. Так, в чехлике корня проростков ячменя сорта Белогорский, при концентрации ионов алюминия 60 мг/л, обнаруживается крахмал. Чехлик корня проростков ячменя сорта Эло в тех же условиях подвергается разрушению. Гранулы крахмала размыты, что свидетельствует о неустойчивости сорта к данной концентрации алюминия. На рисунке 5 представлены фотографии тотальных препаратов корешков, прижизненно окрашенных раствором иода. Как видно из них, у контрольных растений обоих сортов в корневом чехлике интенсивно окрашиваются крахмальные зёрна (рис. 5 а, с). После проращивания растений в присутствии алюминия окраска крахмальных зёрен не визуализируется у сорта Эло (рис. 5 d), но наблюдается у сорта Белогорский (рис. 5 b).

Таким образом, данный подход позволил чётко дифференцировать устойчивые и неустойчивые сорта ячменя по структурным нарушениям, ультраструктурной организации клеток колумеллы и статолитов и определять их при помощи специфической реакции.

### Заключение

В процессе исследования были получены экспериментальные данные по выявлению устойчивых генотипов, которые позволили охарактеризовать системный клеточный ответ на стрессовые воздействия абиотической природы (на примере действия эдафического стресса – токсического действия алюминия) в клетках корней проростков ячменя.

Анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла корней проростков ячменя, полученных из семенного потомства, выращенного на почвах, содержащих алюминий и при его отсутствии, показал, что из представленных образцов устойчивость к алюминию проявили проростки линии 917-01. Сорт 999-93 оказался среднеустойчивым. Чувствительными к токсичности алюминия были сорта Купец и Белгородский 100. Таким образом, процесс прохождения клеточного цикла в корневой меристеме проростков ячменя можно использовать в качестве цитологического маркера чувствительности растений к токсическому действию алюминия.

Сравнение по структуре крахмальных зёрен генотипов ячменя, различающихся по устойчивости к ионам алюминия, позволило оха-

актеризовать структурно-функциональные преобразования на клеточном и организменном уровнях и установить цитологический маркер (наличие крахмальных зёрен в клетках чехлика), который мы предлагаем в качестве перспективной тест-системы для ранней диагностики чувствительности ячменя к эдафическому стрессу.

*Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук по заданиям № 0574-2019-002 «Разработка экспериментальных подходов повышения продуктивности, а также устойчивости сельскохозяйственных растений к абиотическим и биотическим стрессовым факторам методами биотехнологии и геной инженерии» и № 0767-2019-0093 «Разработка и реализация фундаментальных научно-методических подходов мобилизации, изучения, создания (в т. ч. с использованием биотехнологий) и поддержания уникальных природных и экспериментальных генетических ресурсов яровых зерновых культур (пшеница, ячмень, овес); моделей сортов с повышенной продуктивностью и устойчивостью к действию стрессовых биотических и абиотических факторов, с улучшенными селекционно-ценными признаками; технологии управления продукционным процессом с учётом эдафических и биотических стрессовых факторов европейского Северо-Востока России, локального и глобального изменения климата для решения актуальных задач обеспечения импортозамещения и улучшения качества питания населения».*

### References

1. World agricultural production / United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service, Circular Series: December 2018. 31 p. [Internet resource] <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> (Accessed: 25.02.2019).
2. Barceló J., Poschenrieder C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance // *Environmental and Experimental Botany*. 2002. V. 48. No. 1. P. 75–92.
3. Silva I.R., Smyth T.J., Moxley D.F., Carter T.E. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy // *Plant Physiology*. 2000. V. 123. No. 2. P. 543–552.
4. Qin F.J., Sun Q.W., Huang L.M., Chen X.S., Zhou D.X. Rice SUVH histone methyltransferase genes display specific functions in chromatin modification and

- retrotransposon repression // *Molecular plant*. 2010. V. 3. No. 4. P. 773–782.
5. Sivaguru M., Ezaki B., He Z.H., Tong H., Osawa H., Baluska F., Volkmann D., Matsumoto H. Aluminum-induced gene expression and protein localization of a cell wall-associated receptor kinase in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2003. V. 132. No. 4. P. 2256–2266.
6. Kochian L.V., Pineros M.A., Hoekenga O.A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity // *Root Physiology: from Gene to Function*. 2005. No. 2. P. 175–195.
7. Amosova N.V., Synzynyns B.I. About complex action by aluminum and iron ions on barley and wheat seedlings // *Selskokhozyaistvennaya biologiya*. 2005. No. 1. P. 46–49 (in Russian).
8. Mossor-Pietraszewska T. Effect of aluminium on plant growth and metabolism // *Acta Biochim. Pol.* 2001. V. 48. No. 3. P. 673–686.
9. Wang J.P., Raman H., Zhang G.P., Mendham N., Meixue Z. Aluminium tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Physiological mechanisms, genetics and screening Wang methods. Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2006. V. 7. No. 10. P. 769–787. doi: 10.1631/jzus.2006
10. Vardar F., Arican E., Gozukirmizi N. Effects of aluminum on in vitro root growth and seed germination of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // *Advances in food sciences*. 2006. V. 28. No. 2. P. 85–88.
11. Čiamporová M. Morphological and structural responses of plant roots to aluminium at organ, tissue, and cellular levels // *Biologia Plantarum*. 2002. V. 45. No. 2. P. 161–171.
12. Baranova E.N., Bakulina A.V., Shirokikh I.G., Shuplechova O.N., Chaban I.A., Gulevich A.A., Polyakov V.Y. The influence of aluminium on the structural organization of the roots of barley in culture *in vitro* // *Russian agricultural sciences*. 2011. V. 37. No. 5. P. 358–363.
13. 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. doi: 10.1104/pp.105.061788
14. Baranova E.N., Chaban I.A., Kononenko N.V., Shupletsova O.N., Shirokikh I.G., Polyakov V.Y. Morphological and functional characteristics of the barley calluses tolerant to the toxic action of aluminum // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2015. V. 32. No. 4. P. 274–286 (in Russian). doi: 10.7868/S0233475515030032
15. Shirokikh I.G., Kononenko N.V., Shupletsova O.N., Baranova E.N. Effect of aluminium on morphogenesis in callus culture of barley // *Phytobiotechnology Prospects for Improving the Quality of Life in the North. Yakutsk*, 2014. P. 82–84.
16. Rout G.R., Samantaray S., Das P. Aluminium toxicity in plants: a review // *Agronomie, EDP Sciences*. 2001. V. 21. No. 1. P. 3–21. doi: 10.1051/agro:2001105
17. Ma J.F., Zheng S.J., Matsumoto H., Hiradate S. Detoxifying aluminium with buckwheat // *Nature*. 1997. V. 39. P. 569–570. .
18. Belozerova A.A., Bome N.A. Study of spring wheat reaction to salinity on the variability of sprouts morphometric parameters // *Biological sciences*. 2014. V. 12. No. 2. P. 300–306 (in Russian).
19. Shupletsova O.N., Shchennikova I.N. Results of using cell technologies for creation of new barley varieties resistant against aluminum toxicity and drought // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016. V. 20. No. 5. P. 623–628. doi: 10.18699/VJ16.183
20. Lutsenko E.K., Marushko E.A., Kononenko N.V., Leonova T.G. Effects of fusicoccin on the early stages of sorghum growth at high NaCl concentrations // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2005. V. 52. No. 3. P. 332–337 (in Russian).
21. Li X., Yu X., Wang N., Feng Q., Dong Z., 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.
22. Bottley A., Chapman N.H., Koebner R.M. Homoeologous gene silencing in tissue cultured wheat callus // *BMC Genetics*. 2008. V. 9. P. 65.
23. Leonova T.G., Goncharova E.A., Khodorenko A.V., Babakov A.V. Salt tolerant and salt sensitive barley varieties and their characteristics // *Fiziologiya rasteniy*. 2005. V. 52. No. 6. P. 876–881 (in Russian).
24. Huang L., Yuan J., Wang H., Tan X., Niu G. Aluminum stress affects growth and physiological characteristics in oil tea // *Hort Science*. 2017. V. 52. No. 11. P. 1601–1607.
25. Vitorello V.A., Capaldi F.R., Stefanuto V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants // *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2005. V. 17. No. 1. P. 129–143.
26. Yan Z. Q., Jin H., Wang D.D., Yang X.Y., Qin B. The effect of ellagic acid on the root gravitropic response in *Arabidopsis thaliana* // *Russian journal of plant physiology*. 2015. V. 62. No. 5. P. 664–669.
27. Baranova E.N., Chaban I.A., Kononenko N.V., Gulevich A.A., Kurenina L.V., Smirnova E.A. Ultrastructural changes of plastids in root cap cells of tobacco under salinity // *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. 2019. V. 73. No. 1. P. 47–55.