

УДК 57.084.1: 633.1

ОСНОВНЫЕ ПРИЧИНЫ НИЗКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ АЛЮМОУСТОЙЧИВЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

© 2013 г. Е.М. Лисицын

ГНУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока
им. Н.В. Рудницкого Россельхозакадемии, Киров, Россия,
e-mail: edaphic@mail.ru

Поступила в редакцию 26 сентября 2012 г. Принята к публикации 14 января 2013 г.

Алюмоустойчивость, проявляющаяся на клеточном уровне, открывает возможность получения устойчивых форм растений методом культуры ткани. На практике, однако, данный подход не нашел пока широкого применения, что чаще всего связывают с трудностями регенерации растений из каллусной культуры. Предлагаемая статья заостряет внимание читателей на иных причинах низкой эффективности данных подходов. Среди них – высокая внутрисортовая гетерогенность зерновых культур по признаку алюмоустойчивости; условность принятого на практике разделения генотипов на устойчивые и неустойчивые; получение кислото- и алюмоустойчивых регенерантов не только в стрессовых, но и в контрольных условиях без какого-либо действия изучаемого стрессора; недостатки методических подходов, связанные со специфичностью поведения алюминия в различных средах, когда неправильно подобранные состав или pH среды приводят к маскированию действия алюминия. В результате совместного действия всех упомянутых в статье причин предлагаемые методики создания высокоустойчивых регенерантов зерновых культур по продолжительности, затратам труда и материальных средств, а также эффективности значительно уступают традиционным методам внутрисортового отбора.

Ключевые слова: зерновые культуры, алюминий, pH, устойчивость, культура ткани, регенеранты, каллус, *in vitro*.

Подбор Al-устойчивых сортов и видов растений для широкомасштабного выращивания был рекомендован в качестве альтернативы химической мелиорации для преодоления алюмотоксичности кислых почв. Физиолого-биохимические механизмы устойчивости, проявляющиеся на клеточном уровне, дали повод некоторым исследователям постулировать возможность получения устойчивых к алюминию форм растений методом отбора в культуре ткани (Широких и др., 2009а, б, 2011). Соматональная изменчивость и клеточная селекция *in vitro* считаются принципиально новым инструментом создания растений с высоким потенциалом устойчивости к средовым абиотическим стрессорам (Bertin *et al.*, 1995; Biswas *et al.*, 2002; Mandal *et al.*, 2004; Roy, Mandal, 2005).

Эта изменчивость, природа которой до сих пор не установлена, вкуче с высокой чувствительностью изолированных клеток, по мнению некоторых исследователей (Внучкова и др., 1989; Muuuan *et al.*, 2003), делает целесообразным получение алюмоустойчивых соматоклонов сельскохозяйственных растений методом клеточной селекции. На практике, однако, данный подход не нашел широкого применения, что чаще всего связывают с трудностями регенерации растений из каллусной культуры (Komatsuda *et al.*, 1989; Литовкин и др., 1999; Овчинникова и др., 2004), с необходимостью оптимизировать условия регенерации практически для каждого генотипа (Бакулина, Широких, 2011).

Предложено остановиться на иных, неупомянутых большинством исследователей,

причинах низкой эффективности данных подходов. В первую очередь, следует упомянуть теоретические недостатки самой методики, поскольку, как справедливо отмечает М.А. Шишкин (2006), характер считываемой информации определяется особенностями восприятия того, кто ее считывает, и научные объяснения определяются в конечном счете не требованиями логики, а исходным концептуальным выбором исследователя.

1. Все растения одного сорта самоопыляемых культур генетически одинаковы, а их различия по степени устойчивости обусловлены ненаследуемыми факторами. На практике биотехнологам и селекционерам приходится работать с исходным материалом, представленным сортами, селекционными номерами и гибридами различных культур. Еще со времен В. Иогансена (начало XX в.) известно, что исходный материал для селекции должен быть генотипически гетерогенным, чтобы из него можно было отобрать выделяющиеся растения. Но подавляющее большинство современных сортов сельскохозяйственных культур созданы методами гибридизации, т. е. представляют собой популяции, в которых разные генотипы встречаются в различных пропорциях. Если для исследований в культуре *in vitro* отбирается материал с нескольких десятков и более растений даже одного сорта, вероятность того, что в результате будет отобран генетически гетерогенный материал намного выше, чем вероятность возникновения мутаций (которые считаются основным фактором, приводящим к получению регенерантов, отличающихся по уровню стрессоустойчивости от исходного материала). Мы в своих работах неоднократно указывали на высокую внутрисортную гетерогенность зерновых культур по признаку алюмоустойчивости (Lisitsyn, 2000; Лисицын, 2006; Тиунова, Лисицын, 2009).

2. Различия сортов растений по алюмоустойчивости имеют биологическую природу. В первую очередь стоит отметить, что принятое на практике разделение на устойчивые и неустойчивые генотипы скорее агрономическое – по степени снижения развития того или иного признака (чаще всего – продуктивности растений) в стрессовых условиях. Биологическая же устойчивость определяется способностью

растений производить жизнеспособные семена (Удовенко, 1995), т. е. и сорт, снизивший урожайность в стрессовых условиях на 10–20 %, и сорт, снизивший ее на 80–90 %, являются биологически устойчивыми, так как производят жизнеспособные семена, хотя и в разном количестве. Кроме того, до сих пор не найдено ни одного гена, специфически контролирующего именно устойчивость растений к алюминию, тогда как общее количество генов, активность которых изменяется при воздействии алюминия, исчисляется уже тысячами (Houde, Diallo, 2008). Следует также иметь в виду, что, согласно нашим исследованиям (Баталова, Лисицын, 2009; Щенникова, Лисицын, 2009), генетический контроль алюмоустойчивости у разных сортов одной и той же культуры может осуществляться разным количественным и качественным набором генов. Следует заметить, что нередко один и тот же генотип в одной публикации авторы называют устойчивым, а в другой – чувствительным. Так, например, случилось с генотипом ячменя 999-93, который в работе И.Г. Широких и др. (2009б) использован как алюмотолерантный сорт, а в их следующей работе (Широких и др., 2011) – как чувствительный к токсичности алюминия. Это выглядит вполне естественным, если признать факт относительности уровня алюмоустойчивости генотипа. Но, во-первых, при таком рассмотрении вывод о большей целесообразности использования в культуре *in vitro* сортов с низким уровнем алюмоустойчивости (Van Sint *et al.*, 1997; Roy, Mandal, 2005; Широких и др., 2009б) по сравнению с «устойчивыми» сортами не имеет теоретической основы. А во-вторых, он вообще ставит под сомнение сам принцип получения алюмоустойчивых растений как в культуре *in vitro*, так и традиционными способами. Необходимо указать и на отмечаемые практически всеми авторами генотипические различия по морфогенной и регенерационной способности. Условия, оптимальные для регенерации одного генотипа, оказываются неприемлемыми для других, т. е. получение конечных устойчивых регенерантов далеко не всегда определяется уровнем их потенциальной алюмоустойчивости.

3. Устойчивость в культуре *in vitro* вырабатывается к тому фактору, который вводит в качестве стрессора. Однако кислото-

алюмоустойчивые регенеранты получают и в контрольных условиях (Иванов, 2001; Зобова, Коньшева, 2007; Широких и др., 2009б) без какого-либо действия изучаемого стрессора. Стоит упомянуть также и то, что эффект любой мутации может быть фенотипирован, т. е. индуцирован *извне* без участия генетических изменений, причем он обнаруживает ту же самую морфогенетическую природу (Шишкин, 2006). Согласно теории эколого-генетической организации количественных признаков (Драгавцев и др., 1984) постоянных по составу генетических систем, отвечающих во всех возможных условиях роста за развитие какого-либо количественного признака, не существует. Установлено, что алюминий в зависимости от примененной концентрации имеет разный физиологический механизм токсичного действия, а в растениях функционируют различные генетические системы, определяющие ответную реакцию одного и того же генотипа при разных концентрациях токсиканта (Kochian *et al.*, 2004). Признается, что в управлении признаком алюмоустойчивости у разных растений, полученных в культуре *in vitro*, могут быть задействованы различные механизмы (Mandal *et al.*, 2004). Сама методика получения регенерантов растений в культуре *in vitro* предполагает воздействие на исходный биологический материал большим набором химических соединений, многие из которых могут оказывать мутагенное действие на клетки и ткани. Огромное значение отводится также соотношению фитогормонов и их количественному содержанию в среде (Широких и др., 2009а). Ну а если вспомнить, что одним из проявлений алюминиевой токсичности как раз является нарушение гормонального баланса в растениях, то искусственное изменение соотношения этих биологически активных веществ значительно изменяет сам характер воздействия алюминия на растение, либо усиливая его токсичность, либо сводя ее на нет. Поскольку алюминий как селективный агент вводится на поздних этапах культивирования, также возможно, что регенерантные растения, уже находящиеся в преадаптированном состоянии, гораздо легче переносят воздействие алюминия, и он теряет свою роль селективного агента. Тогда растения-регенеранты, имеющие более высокий уровень общей неспецифической устойчивости, будут

оценены как высокоустойчивые к алюминию, не будучи таковыми по своей природе. Другими словами, поскольку физиолого-биохимические реакции растений на алюминий являются не специфическими реакциями, а скорее реакциями общего ответа, то не всегда можно однозначно сказать, к какому из факторов вырабатывается устойчивость у регенерантов.

4. В каллусной культуре проявляется устойчивость к почвенным стрессам, но при этом у регенерантов на начальных этапах работы корневых систем нет вообще или они искусственно удаляются (Широких и др., 2009б). Таким образом, исследователи пытаются добиться адаптивных перестроек у тех органов растения, которые в принципе не должны и не будут в дальнейшем испытывать непосредственного действия стрессора. Кстати, необходимо отметить и то, что эффект от такого отбора также оценивается по степени угнетения развития надземных органов или физиологических реакций, происходящих в листьях – органах, не испытывающих прямого воздействия почвенного стрессора, а развивающихся в условиях законченной адаптивной перестройки растительного организма, который к тому времени мог испытать действие различных других средовых факторов. К сожалению, многие авторы не учитывают специфичность поведения алюминия в различных средах, и часто неправильно подобранный состав или pH среды приводят к маскированию действия алюминия. Известно, что наибольшую токсичность ионы трехвалентного алюминия имеют при pH среды 4,3 (Taylor *et al.*, 2000). Снижение величины pH при постоянной концентрации алюминия значительно снижает токсичность последнего (Kinraide, 1997). Например, при pH = 3,7 транспорт алюминия через клеточные мембраны снижается в 10 раз (Kinraide *et al.*, 1992), что объясняется занятием ионами водорода обменных сайтов мембран клеток корня (имеющих $pK_a > 4$) (Kinraide, 1997). Кроме того, при pH ниже 4,0 происходит быстрая полинуклеарная агрегация ионов трехвалентного алюминия в комплексы, обозначаемые обычно как Al_{13} , которые в твердой фазе нетоксичны для растений (Kinraide, 1991). В результате исследователи, пытаясь создать алюминиевый стресс, на деле создают, например, кислотный стресс или стресс от недостатка элементов питания. Несомненно, устойчивые к

алюминию растения обладают устойчивостью и к повышенной кислотности, но обратное наблюдается далеко не всегда (Voigt, Staley, 2004; Yang *et al.*, 2005). В крайнем случае стрессовая ситуация, созданная в культуре *in vitro*, вообще не будет иметь никакого отношения к почвенным стрессам. Другая значимая методическая ошибка связана с правильным подбором концентрации стрессора. Например, О.Н. Шуплецова (2008. С. 444) в качестве одной из важных задач методики получения алюмоустойчивых регенерантов *in vitro* ставит «повышение жесткости селективных систем, адекватно моделирующих на клеточном уровне действие стрессора на растения *in vivo*». Стремясь повысить жесткость действия алюминия в рабочей среде (создать жесткие фоны отбора), необходимо учитывать особенности поведения алюминия в разных по химическому составу смесях. Так, при использовании сульфатной соли (Conner, Meredith, 1985; Campbell *et al.*, 1989; Van Sint *et al.*, 1997; Широких и др., 2009а, б, 2011) повышение концентрации алюминия ведет не к повышению жесткости стрессового воздействия, а, напротив, к его значительному снижению. Это вызвано тем, что в условиях среды Мурасиге-Скуга (Ramgareeb *et al.*, 1999) повышение содержания ионов Al^{3+} и SO_4^- приводит к значительному повышению образования алунита (alunite) и соответственному снижению активности трехвалентного алюминия. Напомним, что токсичность алюминия определяется не концентрацией, а активностью ионов Al^{3+} (Kinraide, Parker, 1987). В итоге исследователи, формально усиливая жесткость фона отбора, на самом деле снижают его, что доказывается большим уровнем устойчивости некоторых регенерантов, полученных на мягких средах, по сравнению с жесткими средами отбора (Широких и др., 2009б).

5. В культуре *in vitro* получают алюмоустойчивые регенеранты. На наш взгляд, не совсем понятно, что авторы понимают под термином «получение» алюмоустойчивых регенерантов – отбор из предсуществующего разнообразия или же создание новых генотипов. В данном случае вопрос имеет принципиальное значение: если генотипы создаются, то мы имеем дело с генетическими перестройками, которые могут происходить только в результате мутаций. Принимается, что введение в культуру тканей

вызывает изменение генотипа автоматически, путем мутирования. При этом, как указывают И.Г. Широких и др. (2009б), в потомство первичных регенерантов передаются только точковые мутации, не вызывающие резкого снижения жизнеспособности растений. Авторы считают, что наличие полезных мутаций среди соматональных линий позволяет использовать соматональную изменчивость для создания нового исходного материала для селекции. Кроме того, по мнению авторов, при введении в культуру *in vitro* неустойчивого сорта вероятность возникновения полезных мутаций более высока, чем при использовании устойчивых сортов. Но, во-первых, об относительности понятий «устойчивый» и «неустойчивый» генотип мы уже указывали выше. А, во-вторых, согласно синтетической теории эволюции, новая изменчивость поставляется мутациями, возникающими случайно и ненаправленно, и влияние их на приспособленность организма не зависит от существующих на данный момент времени условий среды (Животовский, 2003). Иными словами, механизм возникновения новой изменчивости предполагает, что варианты, оказавшиеся адаптивными в данной среде, предсуществовали, т. е. уже находились в популяции раньше, до воздействия данного средового фактора. К тому же частота возникновения мутаций генов в культуре *in vitro*, по оценкам Р.Г. Бутенко (1999), составляет порядок величин 10^{-5} – 10^{-7} на генерацию клеток. Конечно, частота эпигенетических мутаций выше (10^{-3} на генерацию клеток), но в этом случае часты инверсии, и наследование этих изменений в половом потомстве оценивается автором только как «возможно». В рамках генетической теории среда рассматривается лишь как «оценщик» наследственной изменчивости популяции. По мнению А.Л. Животовского (2003), частота возникновения приобретенного адаптивного признака с устойчивой передачей потомству невелика (на уровне частоты генных мутаций), и потому такие случаи трудно выявить. Показательно, на наш взгляд, замечание М. Иванова, касающееся популяций регенерантов, исходными эксплантами для которых служили сорта: «Фактором ограничения изменчивости, как генетической, так и морфологической, служит селективная гибель рекомбинантных гамет и зигот из-за их несбалансированности, поэтому

число особей – носителей летальных мутаций (альбинизм, стерильность пыльцы и колоса), погибающих на ранних стадиях формирования популяций растений-регенерантов, достаточно велико, в результате *de novo* сохраняется незначительная часть растений, преимущественно имеющая морфотип исходной формы» (Иванов, 2001. С. 22). Другими словами, даже если и возникают мутантные формы, очень велика вероятность того, что они не дойдут до стадии взрослого растения. Некоторые исследователи (Bertin *et al.*, 1995; Van Sint *et al.*, 1997) полагают, что факт различной устойчивости к стрессорам растений-регенерантов, полученных из одного и того же каллуса, подтверждает идею о возникновении соматоклональной изменчивости в ходе культивирования *in vitro*, но основной причиной ее считают генетическую разнокачественность клеток эмбрионов (Chowdhury, Mandal, 2001), возникающую в результате особенностей двойного оплодотворения, что опять же приводит к идее о предсуществующем разнообразии. Другие авторы (Иванов, 2001), наоборот, различную устойчивость регенерантов из одного и того же каллуса объясняют недостатками методики. По их мнению, регенерация клеток из каллуса идет только на границе среда–каллус и затрагивает не все его клетки. В связи с этим не все чувствительные к стрессору клетки каллуса погибают, а могут дать начало неустойчивым к стрессору регенерантам.

Если же речь идет только об отборе наиболее приспособленных вариантов из предсуществующего разнообразия генотипов (вследствие генетического внутрисортного разнообразия), то мы имеем дело с длительной, дорогостоящей и крайне низкоэффективной альтернативой простому отбору к рулонной культуре, подобной той, что разработана и уже многие годы используется нами (Лисицын, 2003) для оценки уровня устойчивости растений и создания популяций высокоустойчивых растений различных зерновых культур.

В качестве подтверждения эффективности отбора кислото- или алюмоустойчивых регенерантов авторы обычно приводят результаты полевых испытаний (Иванов, 2001; Зобова, Кобышева, 2007; Широких и др., 2009а, б, 2011). Такой подход кажется не совсем правомерным по двум основным причинам. Во-первых, развитие

надземных органов хотя и находится в связи с особенностями развития корневых систем – объектов воздействия ионов водорода и алюминия, но эта связь далеко не однозначна, а сами надземные органы испытывают влияние различных средовых факторов. Например, в многолетних опытах с зерновыми культурами коэффициенты парных корреляций между уровнем алюмоустойчивости сорта (оцениваемым по депрессии роста корней в присутствии алюминия) и изменениями в развитии отдельных элементов структуры урожая или биохимических показателей листовых пластинок растений (алюмоокислый почвенный фон в сравнении с нейтральным) только в отдельных случаях достигали уровня $r = 0,5$ (Лисицын, 2005). Гораздо чаще эти связи были статистически недостоверными. Во-вторых, все полевые исследования регенерантов имеют существенную методическую погрешность, которая лишает данные работы доказательной базы. Здесь имеется в виду принцип единственного отличия. Обыкновенно почему-то авторы сравнивают полученные в селективных условиях регенеранты либо с исходным сортом, либо с районированными сортами исследуемых культур. Однако единственно верным решением в данном случае является сравнение регенерантов, полученных в присутствии ионов алюминия с регенерантами, полученными в контрольных условиях, когда единственным отличием является отсутствие в среде отбора стрессового агента. Только при такой организации опыта можно однозначно говорить об эффективности предлагаемого метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все вышеизложенное позволяет заключить, что к настоящему времени теоретические вопросы, связанные с возможностью получения (создания) алюмоустойчивых регенерантов зерновых культур, остаются недостаточно разработанными. Такое положение дел приводит к необоснованности заявлений о возможности повышения уровня алюмоустойчивости растений путем использования отборов на селективных по алюминию средах в культуре *in vitro*. Полученные в этих условиях растения могут проявлять повышенную устойчивость к стрессору в ходе дальнейшего роста и развития, но, во-первых, это

не является закономерным и воспроизводимым результатом, а, во-вторых, получение высокоустойчивых регенерантов в контрольных средах сводит эффективность предлагаемых методик практически к нулю. Можно согласиться с тем теоретическим замечанием, что соматональная изменчивость является одним из вариантов использования внутрисортного полиморфизма по алюмоустойчивости. Но в то же время по продолжительности, затратам труда и материальных средств, а также эффективности подобные методики значительно уступают традиционным методам внутрисортного отбора.

Пока не будут решены вопросы, связанные с преодолением обозначенных выше теоретических и методических проблем, предложения о широком использовании в селекционной практике биотехнологических методов создания нового алюмоустойчивого материала зерновых культур являются, по крайней мере, преждевременными.

ЛИТЕРАТУРА

- Бакулина А.В., Широких И.Г. Генотипическая реакция ячменя на антибиотики канамицин и цефотаксим в культуре *in vitro* // Биологический мониторинг природно-техногенных систем: Матер. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Киров, 29–30 ноября 2011 г. Киров: ООО «Лобань», 2011. Ч. 2. С. 69–72.
- Баталова Г.А., Лисицын Е.М. Генетический контроль алюмоустойчивости овса на сортовом уровне // Съезд генетиков и селекционеров, посвящ. 200-летию со дня рожд. Ч. Дарвина. V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. М., 2009. Ч. 1. С. 179.
- Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Уч. пособие. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
- Внучкова В.А., Негтевич Э.Д., Чеботарева Т.М. и др. Использование методов *in vitro* в селекции ячменя на устойчивость к токсичности кислых почв // Докл. ВАСХНИЛ. 1989. № 7. С. 2–5.
- Драгавцев В.А., Литун Н.П., Шкель И.М., Нечипоренко Н.Н. Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 3. С. 720–723.
- Животовский Л.А. Наследование приобретенных признаков: Ламарк был прав // Химия и жизнь. 2003. № 4. С. 22–26.
- Зобова Н.В., Коньшева Е.Н. Использование биотехнологических методов в повышении соле- и кислотоустойчивости ярового ячменя. Новосибирск: СО РАСХН, КНИИСХ, 2007. 124 с.
- Иванов М.В. Биотехнологические основы создания исходного материала ярового ячменя. СПб.–Пушкин: Изд-во ГНЦ ВИР, 2001. 205 с.
- Лисицын Е.М. Методика лабораторной оценки алюмоустойчивости зерновых культур // Докл. РАСХН. 2003. № 3. С. 5–7.
- Лисицын Е.М. Полиморфизм адаптивных реакций сорта на уровне морфологических и биохимических показателей // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 2006. Т. 162. С. 150–154.
- Лисицын Е.М. Потенциальная алюмоустойчивость сельскохозяйственных растений и ее реализация в условиях европейского северо-востока России: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 2005. 361 с.
- Литовкин К.В., Игнатова С.А., Бондарь Г.П. Морфогенез в культуре незрелых зародышей изогенных линий ячменя // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 5. С. 14–18.
- Овчинникова В.Н., Варламова Н.В., Мелик-Саркисов О.С. и др. Получение регенерантов у ярового ячменя *Hordeum vulgare* L. в культуре *in vitro* // Докл. РАСХН. 2004. № 3. С. 8–10.
- Тиунова Л.Н., Лисицын Е.М. Алюмоустойчивость образцов овса, созданных традиционными методами и методами клеточной селекции // Аграрная наука Северо-Востока. 2009. № 4 (15). С. 9–13.
- Удовенко Г.В. Устойчивость растений к абиотическим стрессам // Физиологические основы селекции растений. Т. 2. Ч. 2. СПб.: ВИР, 1995. С. 293–352.
- Широких И.Г., Огородникова С.Ю., Далькэ И.В., Шуплецова О.Н. Физиолого-биохимические показатели и продуктивность растений ячменя, регенерированных из каллуса в селективных системах // Докл. РАСХН. 2011. № 2. С. 6–9.
- Широких И.Г., Шуплецова О.Н., Широких А.А. Клеточная селекция ячменя на устойчивость к токсичности алюминия (08-04-13590) // Ориентированные фундаментальные исследования и их реализация в АПК России. Сергиев Посад. 2009а. С. 79–83.
- Широких И.Г., Шуплецова О.Н., Щенникова И.Н. Получение *in vitro* форм ячменя, устойчивых к токсическому действию алюминия в кислых почвах // Биотехнология. 2009б. № 3. С. 40–48.
- Шишкин М.А. Индивидуальное развитие и уроки эволюционизма // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 3. С. 179–198.
- Шуплецова О.Н. Клеточная селекция ячменя на устойчивость к эдафическим стрессам // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: Сб. статей IX Междунар. конф. М.: ИД ФБК-Пресс, 2008. С. 444–445.
- Щенникова И.Н., Лисицын Е.М. Напряженность стрессового воздействия и генетический контроль алюмоустойчивости ячменя // Съезд генетиков и селекционеров, посвящ. 200-летию со дня рожд. Ч. Дарвина. V Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. М., 2009. Ч. 1. С. 369.
- Bertin P., Kinet J.M., Bouharmont J. Heritable chilling tolerance improvement in rice through somaclonal variation and cell line selection // Aust. J. Bot. 1995. V. 44. P. 91–105.
- Biswas J., Chowdhury B., Bhattacharya A., Mandal A.B. *In vitro* screening for increased drought tolerance in rice // *In vitro* Cell Dev. Biol. Plant. 2002. V. 38. P. 525–530.
- Campbell K.A.G., Carter T.E., Anderson J.M. Aluminium tolerance of soybean callus cultures: Comparison with greenhouse and solution culture screening methods // Soybean Genet. Newsl. 1989. V. 16. P. 191–195.

- Chowdhury B., Mandal A.B. Microspore embryogenesis and fertile plantlet regeneration in salt susceptible–salt tolerant rice hybrid // *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 2001. V. 65. P. 141–147.
- Conner A.J., Meredith C.P. Strategies for the selection and characterization of aluminium-resistant variants from cell cultures of *Nicotiana plumbaginifolia* // *Planta*. 1985. V. 166. P. 466–473.
- Houde M., Diallo A.O. Identification of genes and pathways associated with aluminum stress and tolerance using transcriptome profiling of wheat near-isogenic lines // *BioMed Central Genomics*. 2008. doi:10.1186/1471-2164-9-400.
- Kinraide T.B. Identity of the rhizotoxic aluminum species // *Plant Soil*. 1991. V. 134. P. 167–178.
- Kinraide T.B. Reconsidering the rhysotoxicity of hydroxyl, sulphate, and fluoride complex of aluminum // *J. Exp. Bot.* 1997. V. 48. P. 1115–1124.
- Kinraide T.B., Parker D.R. Cation amelioration of aluminium toxicity in wheat // *Plant Physiol.* 1987. V. 83. P. 546–551.
- Kinraide T.B., Ryan P.R., Kochian L.V. Interactive effects of Al³⁺, H⁺ and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential // *Plant Physiol.* 1992. V. 99. P. 1461–1468.
- Kochian L.V., Hoekenga J.A., Pineros M.A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2004. V. 55. P. 459–493.
- Komatsuda T., Enomoto S., Nakajima K. Genetics of callus proliferation and shoot differentiation in barley // *J. Heredity*. 1989. V. 80. No. 5. P. 345–350.
- Lisitsyn E.M. Intravarietal level of aluminum resistance in cereal crops // *J. Plant Nutrition*. 2000. V. 23. No. 6. P. 793–804.
- Mandal A.B., Basu A.K., Roy B. *et al.* Genetic management for improved aluminium and iron toxicity tolerance in rice – A review // *Indian J. Biotechnol.* 2004. V. 3. No. 3. P. 359–368.
- Muyuan Y.Z., Jianwei P., Lilin W. *et al.* Mutation induced enhancement of Al tolerance in barley cell lines // *Plant Sci.* 2003. V. 164. P. 17–23.
- Rangareeb S., Watt M.P., Marsh C., Cooke J.A. Assessment of Al³⁺ availability in callus culture media for screening tolerant genotypes of *Cynodon dactylon* // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1999. V. 56. P. 65–68.
- Roy B., Mandal A.B. Towards development of Al-toxicity tolerant lines in *indica* rice by exploiting somaclonal variation // *Euphytica*. 2005. V. 145. P. 221–227.
- Taylor G.J., McDonald-Stephens J.L., Hunter D.B. *et al.* Direct measurement of aluminum uptake and distribution in single cell of *Chara corallina* // *Plant Physiol.* 2000. V. 123. P. 987–996.
- Van Sint J.V., Costa de Macedo C., Kinet J., Bouharmont J. Selection of Al-resistant plants from a sensitive rice cultivar, using somaclonal variation, *in vitro* and hydroponic cultures // *Euphytica*. 1997. V. 97. P. 303–310.
- Voigt P.W., Staley T.E. Selection for aluminum and acid-soil resistance in white clover // *Crop Sci.* 2004. V. 44. P. 38–48.
- Yang J.L., Zheng S.J., He Y.F., Matsumoto H. Aluminum resistance requires resistance to acid stress: a case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56. No. 414. P. 1197–1203.

THE MAIN REASONS OF THE LOW EFFICIENCY OF OBTAINING ALUMINUM-RESISTANT REGENERANTS OF CEREAL CROPS

E.M. Lisitsyn

Rudnitskii North-East Agricultural Research Institute, Russian Academy of Agricultural Sciences,
Kirov, Russia, e-mail: edaphic@mail.ru

Summary

The mechanisms of aluminum resistance, acting at the cellular level, provide an opportunity of obtaining resistant forms of plants by the cell culture method. In practice, however, this approach has not become widely used because of difficulties of plant regeneration from callus culture. This article focuses the attention of readers on other causes of low efficiency of the approach. They include high intraspecific heterogeneity of cereal crops with regard to aluminum resistance; conventionality of the division of genotypes into resistant and sensitive, accepted in practice; appearance of acid- and aluminum-resistant regenerants not only under stress but also under control conditions without any action of the stress factor under study; lack of appropriate methods, connected to the specific behavior of aluminum in various media, when incorrectly chosen medium composition or pH conceal the action of aluminum. As a result of joint action of all reasons mentioned in the article, the offered techniques of creation of high-resistant regenerants of cereal crops are behind traditional methods of intravarietal selection in duration, labor consumption, cost, and efficiency.

Key words: cereal crops, aluminum, pH, resistance, tissue culture, regenerants, callus, *in vitro*.