

Эффекты неспецифической устойчивости генотипов ячменя, полученных путем клеточной селекции

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-192-199



УДК 633.16:631.524

Поступление/Received: 22.05.2020

Принято/Accepted: 23.12.2020

О. Н. ШУПЛЕЦОВА^{1*}, С. Ю. ОГОРОДНИКОВА²,
Я. И. НАЗАРОВА¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока
имени Н.В. Рудницкого,

610007 Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166а

* ✉ olga.shuplecova@mail.ru

² Институт биологии Коми научного центра

Уральского отделения РАН,

167982 Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар,

ул. Коммунистическая, 28

✉ svetao_05@mail.ru

Effects of nonspecific resistance in barley genotypes obtained by cell selection

O. N. SHUPLETSOVA^{1*}, S. YU. OGORODNIKOVA²,
YA. I. NAZAROVA¹

¹ N.V. Rudnitsky Federal Agricultural Science Center
of the North-East,

166a Lenina St., Kirov 610007, Russia

* ✉ olga.shuplecova@mail.ru

² Institute of Biology, Komi Science Center,

Ural Branch of the RAS,

28 Kommunisticheskaya St., Syktyvkar 167982,

Komi Republic, Russia

✉ svetao_05@mail.ru

Эффективным способом повышения генетического разнообразия растений и создания источников устойчивости к абиотическим стрессорам является отбор клеток в селективных условиях *in vitro* на основе соматической изменчивости. Использование соматических клонов (регенерантных форм) ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с устойчивостью к повышенной кислотности, ионной токсичности алюминия, тяжелых металлов, засухе перспективно в условиях северо-востока Нечерноземной зоны РФ. Актуально создание регенерантов с комплексной устойчивостью к стрессорам, обусловленной механизмами специфического и неспецифического характера.

Объектом исследований служили гибридная комбинация ярового ячменя (Luly × Conrad) × 2867-80 и ее регенерантные формы, полученные в результате клеточной селекции со стрессорами различной природы. Растения выращивали в обычных условиях и на провокационных фонах с алюминием и кадмием. Оценивали продуктивные признаки растений, симптомы окислительного стресса и средообразующую активность корневой системы.

У растений-регенерантов, полученных в каллусной культуре на селективных средах *in vitro* с алюминием или водным дефицитом, выявлена повышенная способность корневой системы подщелачивать среду в зоне ризосферы (на 0,2–0,5 ед. pH) при выращивании на алюмокислой почве. На стрессовых почвенных фонах у регенерантных линий, индуцируемых на средах *in vitro* с кадмием или алюминием, отмечено низкое проявление симптомов окислительного стресса, тестируемых по интенсивности перекисного окисления липидов и содержанию фотосинтетических пигментов в листьях, что обеспечивает более высокую семенную продуктивность (по числу зерен в 1,5–3,6 раза и массе зерна с растения в 1,5–3,0 раза) и адаптивные преимущества по сравнению с исходным генотипом и регенерантами, индуцированными на среде с водным дефицитом. Сделан вывод о формировании комплексной устойчивости к токсичности алюминия и кадмия в почве у регенерантов ячменя, полученных в процессе клеточной селекции на средах *in vitro* с любым из этих металлов.

Ключевые слова: стресс, отбор *in vitro*, алюминий, кадмий, водный дефицит, исходный генотип, регенерант, провокационный фон, окислительный стресс, средообразующая активность, продуктивные признаки.

An effective way to increase the genetic diversity of plants and create sources of resistance to edaphic stressors is the selection of cells under selective *in vitro* conditions based on somaclonal variation. The use of somaclones (regenerant forms) of barley with resistance to increased acidity, ionic toxicity of aluminum, heavy metals and drought is promising in the northeast of the Non-Black-Soil Zone of Russia. Development of regenerants with integrated resistance to soil stressors due to specific and nonspecific mechanisms is a relevant trend.

The target research material was a hybrid combination of spring barley (Luly × Conrad) × 2867-80 and its regenerant forms obtained as a result of cell selection with stressors of various nature. Plants were grown under ordinary soil conditions and on provocative backgrounds with aluminum and cadmium. The productive traits of plants, the symptoms of oxidative stress, and the environment-forming activity of the root system were evaluated.

In regenerated plants obtained in callus culture on selective *in vitro* media with aluminum or water deficiency, an increased ability of the root system to alkalize the medium in the rhizosphere zone (by 0.2–0.5 pH units) when grown on alumina soil was revealed. Against stressful soil backgrounds, regenerative lines induced on *in vitro* media with cadmium or aluminum were observed to have a low manifestation of oxidative stress symptoms, tested by the intensity of lipid peroxidation and the content of photosynthetic pigments in the leaves, which provided these genotypes with higher seed productivity (1.5–3.6 times in the number of grains, and 1.5–3.0 times in the grain weight per plant) and adaptive advantages compared to the original genotype and regenerants induced on an *in vitro* medium with water deficiency. It is concluded that complex resistance to soil aluminum and cadmium toxicity is formed in barley regenerants obtained in the process of cell selection on *in vitro* media with any of these metals.

Key words: stress, *in vitro* selection, aluminum, cadmium, drought, initial genotype, regenerant, provocative background, oxidative stress, environment-forming activity, productive traits.

Введение

Повышение стрессоустойчивости сельскохозяйственных растений – одна из важнейших задач современного аграрного производства. Эффективным способом повышения генетического разнообразия растений и создания источников устойчивости к эдафическим стрессорам является отбор клеток в селективных условиях *in vitro*. В основе повышения устойчивости исходного генотипа в каллусной культуре лежит соматическая изменчивость генетической (мутации, кроссинговер, перемещение транспозонов) и эпигенетической (амплификация генов и метилирование) природы, возникающая в условиях неорганизованной пролиферации клеток при отсутствии онтогенетического (организменного) контроля (Vanyushin, 2013; Rozhanskaya, 2016). Использование клеточной селекции растений в комплексе с получением соматических клонов позволяет отбирать генотипы (регенерантные формы) с ценными признаками в качестве исходного материала для селекции. В настоящее время выявлена положительная корреляция между ростом изолированных тканей на селективных средах и стрессоустойчивостью растений-регенерантов на соответствующих провокационных фонах в полевых условиях. Последующая оценка регенерантов показала наследование положительных признаков при семенном размножении (Dolgikh, 2005; Nikitina et al., 2014; Rai et al., 2011).

Многофакторность признаков устойчивости к большинству почвенных стрессоров требует комплексного ответа растений на стресс, который включает в себя механизмы как специфического, так и неспецифического характера (Kuznetsov et al., 1990; Jaleel et al., 2009). Благодаря активации на клеточном и молекулярном уровне ряда механизмов, участвующих в формировании общей ответной реакции растения на стрессовые воздействия различной природы, предполагается возможность формирования неспецифической устойчивости на уровне изолированной ткани и у регенерированного в ней растения (Gladkov, 2009; Nikitina et al., 2014; Mahmood et al., 2012). В некоторых случаях повышение устойчивости на клеточном уровне к конкретному стрессору может обеспечить комплексную защиту растений к нескольким абиотическим стрессорам.

Нарушение обмена веществ растений в условиях кислых почв, обусловленное в основном ионной токсичностью алюминия и тяжелых металлов, тесно связано с избыточной продукцией активных форм кислорода (Zhang et al., 2008; Khan et al., 2007). Их накопление вызывает окислительное повреждение биомолекул, что негативно сказывается на общем развитии растений (Guo et al., 2007; Churakhina et al., 2010; Garifzyanov et al., 2011). Индикатором окислительного стресса могут выступать интенсивность перекисного окисления липидов и степень окислительной деструкции фотосинтетических пигментов в растительных тканях (Blokina et al., 2003; Kreslavski et al., 2012). Генотипы с неодинаковой стрессоустойчивостью имеют различный уровень антиоксидантной защиты и, соответственно, испытывают различное воздействие окислительного стресса, вызванного условиями культивирования.

В формировании устойчивости растений к повышенной почвенной кислотности важную роль играет экскреторная функция (средообразующая активность) корневой системы, позволяющая быстро сдвигать pH почвенного раствора в сторону нейтральных значений

за счет выделения во внешнюю среду инактиваторов – карбоксильных, гидроксильных групп и фосфатов, что позволяет снижать подвижность и инактивировать ионы как алюминия, так и других токсичных металлов (Sokolova et al., 2012; Li et al., 2009).

Для условий северо-востока Нечерноземной зоны России практическое значение имеют регенерантные линии зерновых культур с устойчивостью к неблагоприятным почвенным условиям: повышенной кислотности, ионной токсичности металлов и засухе (Shchenikova, 2016).

В лаборатории биотехнологии растений и микроорганизмов ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого» (ФАНЦ Северо-Востока) разработана технология создания растений-регенерантов ячменя на селективных средах с ионной токсичностью алюминия, кадмия, а также с водным дефицитом. Использование растений-регенерантов в дальнейшей селекции предполагает комплексную оценку их биохимических, физиологических и продуктивных признаков на провокационных почвенных фонах. При создании экологически пластичных генотипов актуально изучение возможности формирования у регенерантов неспецифической устойчивости к почвенным стрессорам различной природы. Для повышения объективности оценки адаптивного потенциала целесообразно проводить исследования на регенерантных линиях, индуцированных общим исходным генотипом, что позволит исключить фактор генотипического влияния на полученные результаты.

Цель исследований – оценить на провокационных почвенных фонах возможные проявления неспецифической устойчивости регенерантных линий ячменя, индуцированных общим генотипом в селективных системах *in vitro* с осмотиком, ионами алюминия и кадмия.

Материалы и методы

Объектами исследования служили генотипы ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.): исходная форма – сорт 999-93, созданный методом отбора из гибридной комбинации [(Luly × Conrad) × 2867-80], характеризующийся низкой полевой устойчивостью к кислым почвам; его регенерантные линии (РА), индуцированные в каллусной культуре по разработанным ранее методикам (Shupletsova, Shirokikh, 2015) на средах со следующими селективными агентами: линия RA_{Al} – 40 мг/л Al³⁺; линия RA_{пэг} – 15% полиэтиленгликоль (ПЭГ) в качестве осмотика; линия RA_{Cd} – 15 мг/л Cd²⁺.

В условиях вегетационного опыта оценивали биохимические, физиологические и продуктивные признаки растений. Семена высевали в вегетационные емкости (3 растения на сосуд объемом 5 л, шесть сосудов в каждом варианте) с суглинистой дерново-подзолистой почвой. Схема опыта включала три почвенных фона:

- 1) контрольный (рН_{ккл} 6,0);
- 2) кислый с алюминием (с природным уровнем 12,78 мг/100 г почвы Al³⁺ при рН_{ккл} 4,3);
- 3) с кадмием (Cd²⁺ 0,5 мг/100 г почвы при рН_{ккл} 5,2).

Провокационный фон с кадмием создавали путем внесения в природную кислую почву Cd(CH₃COO)₂ с последующим ее регулярным увлажнением (до 80% от полной влагоемкости) и перемешиванием в течение месяца для закрепления кадмия в почвенном поглощающем комплексе.

Для определения показателей, тестирующих симптомы окислительного стресса, использовали методику, представленную в наших предыдущих исследованиях (Shirokikh et al., 2018). У растений каждого варианта отбирали смешанные пробы листьев (второй подфлаговый лист) в фазе выхода в трубку. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), который является промежуточным продуктом окислительной дегградации липидов и служит индикатором интенсивности ПОЛ. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях определяли спектрофотометрически (Specol, Германия) в ацетоновой вытяжке при длинах волн 662 и 644 нм для хлорофилла *a* и *b* соответственно. Определение каротиноидов проводили при 470 нм.

Растения культивировали при естественном освещении до получения семенного потомства. По окончании вегетации в каждом варианте проводили анализ структуры продуктивности растений. В пробах почвы, отобранных в области ризосферы корней, а также в свободной от корневой системы зоне измеряли уровень рН потенциометрическим методом в соответствии с ГОСТ 26483-85 (GOST 26483-85).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом дисперсионного анализа с использованием встроенного статистического пакета Excel (MS Office 2007). В таблицах и на рисунках приведены средние значения из трех аналитических повторений и их квадратичные отклонения (различия значимы при $p \geq 0,95$).

Результаты и обсуждение

Представленные в статье результаты являются продолжением серии исследований влияния условий культивирования каллусной ткани ячменя на формирование хозяйственно ценных признаков регенерантов. Ранее у генотипов регенерантного происхождения 530-98, 552-98, 917-01, 496-07, индуцированных на селективных средах *in vitro* с алюминием, наряду с целевым признаком было выявлено повышение устойчивости к гельминтоспориозным болезням и засухе. Отмечено повышение продуктивных признаков и урожай-

ности на кислых почвенных фонах регенерантов ячменя (линия 780-04), полученных в результате отбора *in vitro* на устойчивость к водному дефициту (Sheshegova, 2014; Shupletsova, Shchennikova, 2016).

В настоящих исследованиях проводили сравнительную оценку на нейтральных и провокационных (с алюминием и кадмием) почвенных фонах регенерантных линий ячменя, индуцированных общим исходным генотипом в процессе клеточной селекции на средах с ионами металлов и водным дефицитом.

Антиоксидантный потенциал растений тестировали по степени окислительных повреждений в ткани листьев – интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровню деструкции фотосинтетических пигментов. Определение содержания в листьях МДА показало, что интенсивность ПОЛ у большинства исследуемых генотипов повышалась на стрессовых фонах относительно благоприятных условий выращивания (контроль). Наиболее остро реагировали на стресс растения исходного генотипа и регенерантной линии, полученной путем клеточной селекции на устойчивость к водному дефициту ($RA_{\text{пэГ}}$): по сравнению с контролем содержание МДА в листьях на почве с алюминием увеличивалось у исходной формы на 5,8 ммоль/г, у $RA_{\text{пэГ}}$ – на 3,8 ммоль/г; присутствие кадмия – на 7,5 ммоль/г и 4,5 ммоль/г соответственно (рис. 1). Регенерантные линии RA_{Al} и RA_{Cd} на провокационном фоне с кадмием существенных отличий от контроля не имели, что свидетельствует об их толерантности к металлу. При выращивании этих генотипов на кислой почве с алюминием содержание МДА повышалось относительно контроля (RA_{Al} – на 3,3 ммоль/г, RA_{Cd} – на 4,6 ммоль/г), однако в меньшей степени по сравнению с исходным генотипом в тех же условиях.

Уровень фотосинтетических пигментов на обоих стрессовых фонах по сравнению с выращиванием в благоприятных условиях снижался у растений исходного генотипа, регенерантной линии $RA_{\text{пэГ}}$ и, в большей степени, у RA_{Al} . Сокращение суммарного содержания хлорофилла у регенерантов, полученных на алюмокислых селективных средах *in vitro*, достигало 40,7% на почве с алюминием и 46,9% на почве с кадмием; содержание каротиноидов снижалось на 40,7 и 41,6% соответственно (табл. 1). Исключением являлись регенеранты, прошедших отбор на устойчивость к кадмию (RA_{Cd}), содер-

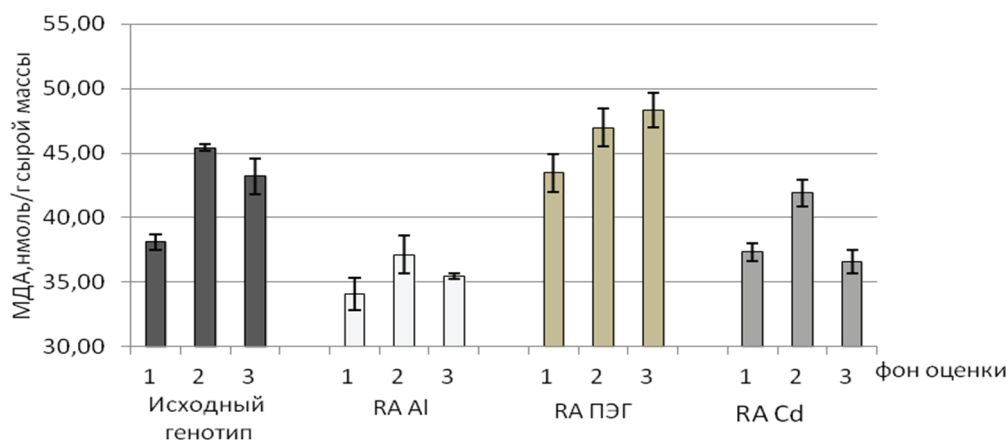


Рис. 1. Накопление малонового диальдегида в листьях ячменя различных генотипов в зависимости от условий выращивания растений: контрольный (1); кислый (2); с кадмием (3)

Fig. 1. Accumulation of malondialdehyde in barley leaves of various genotypes, depending on the growing conditions of the plants: reference (1); acidic (2); cadmium (3)

Таблица 1. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений ячменя в фазе выхода в трубку**Table 1. The content of photosynthetic pigments in the leaves of barley plants in the booting phase**

Генотипы	Фон оценки	Хлорофиллы, мг/г		Каротиноиды, мг/г	Соотношение хлорофиллы/каротиноиды	Сумма (а + б)	Отношение а/б
		а	б				
Исходный генотип	контроль	4,29 ± 0,03	1,99 ± 0,01	1,18 ± 0,02	5,31	6,28	2,15
	кислый	3,76 ± 0,08*	1,74 ± 0,08*	1,05 ± 0,04*	5,26	5,51	2,16
	с кадмием	2,63 ± 0,04*	1,16 ± 0,02*	0,68 ± 0*	5,53	3,78	2,27
RA _{Al}	контроль	4,35 ± 0,32	2,24 ± 0,11	1,45 ± 0,01	4,53	6,59	1,95
	кислый	2,36 ± 0,15*	1,14 ± 0,33*	0,86 ± 0,10*	4,05	3,50	2,14
	с кадмием	2,71 ± 0,01*	1,20 ± 0,16*	0,85 ± 0,02*	4,59	3,91	2,28
RA _{пэрг}	контроль	3,65 ± 0,12	1,96 ± 0,21	1,19 ± 0,06	4,71	5,61	1,87
	кислый	2,91 ± 0,19*	1,36 ± 0,09*	1,19 ± 0,06	4,31	4,27	2,14
	с кадмием	3,00 ± 0,12*	1,39 ± 0,05*	0,95 ± 0,04*	4,63	4,39	2,15
RA _{сд}	контроль	2,27 ± 0,09	1,74 ± 0,17	0,71 ± 0,02	5,65	4,00	1,32
	кислый	2,71 ± 0,14*	1,25 ± 0,04*	0,97 ± 0,19*	4,09	3,96	2,17
	с кадмием	2,82 ± 0,09*	1,23 ± 0,04*	0,95 ± 0,13*	4,29	4,06	2,28

* – различие достоверно относительно контроля при $p \geq 0,95$ * – the difference from the reference is statistically significant at $p \geq 0,95$

жание хлорофиллов у которых практически не зависело от условий выращивания и колебалось в пределах 3,96–4,06 мг/г, а содержание каротиноидов было выше контрольного уровня (0,71 мг/г) и составило при выращивании в почве с алюминием 0,97 мг/г, в присутствии кадмия – 0,95 мг/г. Это свидетельствует о приобретении линией RA_{сд} в процессе клеточной селекции адаптивных преимуществ в условиях ионной токсичности как алюминия, так и кадмия по сравнению с исходной формой. Кроме того, у всех регенерантных линий выявлено увеличение в фотосинтетическом пигментном комплексе доли хлорофилла группы, которая ответственна за повышение скорости фотосинтетических процессов в растении, что тоже можно отнести к адаптивным преимуществам, приобретенным в процессе отбора на стадии каллуса.

Таким образом, при выращивании растений исследуемых генотипов в стрессовых условиях степень окислительных повреждений, тестируемая по интенсивности ПОЛ и содержанию фотосинтетических пигментов, колебалась от полного отсутствия (RA_{сд}) или слабого проявления (RA_{Al}) до отчетливо выраженной (исходный генотип и регенерантная линия RA_{пэрг}).

В условиях оценки растений на кислых почвах было логично оценить физиологически обусловленную способность корневой системы оптимизировать уровень pH в зоне ризосферы. Интенсивность экскреторной (средообразующей) функции корней в создании pH-барьера в ризосфере является важной составляющей механизма устойчивости растений к ионной токсичности почв и носит геноспецифичный характер. Благодаря подщелачиванию среды и выделению фосфатов начинается связывание и детоксикация алюминия в ризосфере, также снижается подвижность тяжелых ме-

таллов, что резко уменьшает степень ростигибирования среды. В наших экспериментах корневая система растений исходного генотипа на обоих стрессовых фонах снижала интенсивность подщелачивания почвы. Регенеранты RA_{пэрг} и, в большей степени, RA_{Al} в алюмокислых условиях изменяли уровень pH в зоне ризосферы, что проявлялось в изменении кислотности по сравнению с контролем: сдвиг в щелочную сторону на 0,2 (RA_{пэрг}) и 0,5 (RA_{Al}) ед. pH (рис. 2). Однако в присутствии кадмия интенсивность подщелачивания почвы этими генотипами снижалась (RA_{пэрг}) или полностью отсутствовала (RA_{Al}). Регенеранты RA_{сд} относительно слабо подщелачивали почву в алюмокислых условиях и особенно в почве с кадмием. Вероятно, это объясняется тем, что толерантность к кадмию, приобретенная этим генотипом в результате отбора в каллусной культуре, обусловлена механизмами, не связанными со средообразующей активностью корней.

Наряду с биохимическими и физиологическими показателями растений проводили сравнительный анализ продуктивных признаков. В благоприятных почвенных условиях существенных различий между генотипами не выявлено. На стрессовых фонах уровень структурных компонентов у всех растений снижался, причем в большей степени у исходного генотипа. На почве с алюминием регенерантные линии, независимо от условий их получения в каллусной культуре, достоверно превосходили исходный генотип по высоте растений (на 42–60%), числу зерен (в 1,8–3,6 раз) и массе зерна с растения (в 1,9–3,0 раза), причем наибольшие показатели были у регенерантов RA_{сд} (табл. 2). Присутствие кадмия в почве негативно сказывалось на развитии растений исходного генотипа и регенерантов, индуцированных на селективных средах с водным дефи-

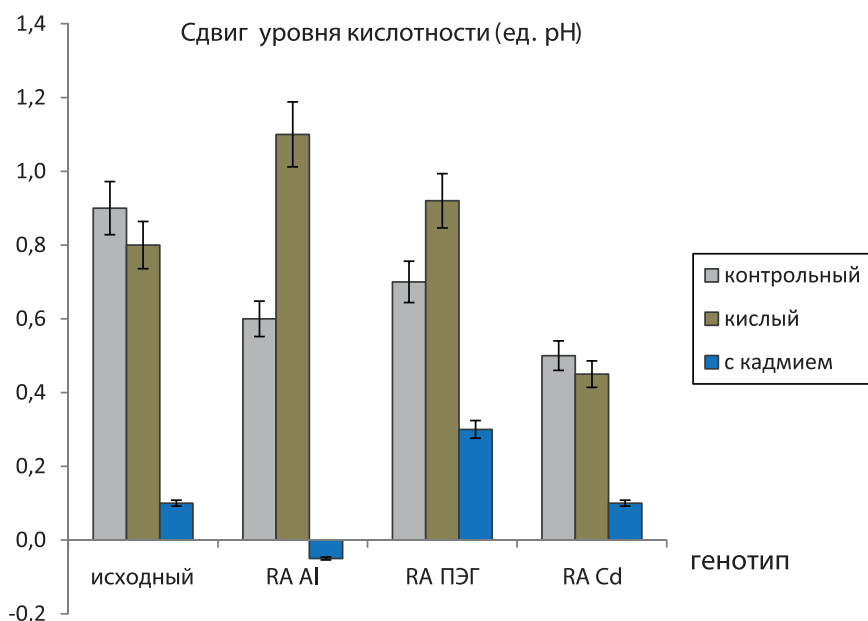


Рис. 2. Величина изменения уровня рН в зоне ризосферы растений ячменя при культивировании на различных почвенных фонах в условиях вегетационного опыта

Fig. 2. The magnitude of the change in pH in the rhizosphere of barley plants during cultivation on various soil backgrounds under the conditions of the growing experiment

Таблица 2. Продуктивные признаки растений ячменя сорта 999-93 и его регенерантных форм в условиях вегетационного опыта в зависимости от почвенного фона

Table 2. Productive characters of cv. 999-93 barley plants and its regenerants under the conditions of the growing experiment, depending on the soil background

Генотип	Высота растения, см	Продуктивная кустистость, шт.	Масса зерна с растения, г	Число зерен в растении, шт.
Контроль				
исходный генотип	54,9 ± 2,8	1,4 ± 0,6	0,99 ± 0,24	20,7 ± 6,8
RA _{Al}	58,3 ± 7,1	1,7 ± 0,4	1,22 ± 0,12	24,3 ± 9,3
RA _{ПЭГ}	54,4 ± 2,2	1,2 ± 0,3	0,97 ± 0,12	23,2 ± 6,2
RA _{Cd}	51,4 ± 3,7	1,3 ± 0,3	0,85 ± 0,23	19,2 ± 4,7
Провокационный фон по алюминию				
исходный генотип	33,5 ± 4,3	1,2 ± 0,1	0,22 ± 0,04	5,6 ± 1,7
RA _{Al}	53,7 ± 3,5*	1,2 ± 0,4	0,42 ± 0,08*	10,2 ± 2,5*
RA _{ПЭГ}	49,8 ± 4,2*	1,0 ± 0,0	0,41 ± 0,06*	10,0 ± 2,9*
RA _{Cd}	47,6 ± 3,8*	1,3 ± 0,1	0,65 ± 0,05*	20,2 ± 4,4*
Провокационный фон по кадмию				
исходный генотип	39,4 ± 3,0	1,0 ± 0,1	0,31 ± 0,04	9,6 ± 0,5
RA _{Al}	39,41 ± 0,9	1,0 ± 0,1	0,39 ± 0,04*	11,2 ± 0,1*
RA _{ПЭГ}	39,6 ± 2,7	1,1 ± 0,2	0,34 ± 0,05	10,5 ± 0,3
RA _{Cd}	51,5 ± 2,3*	1,3 ± 0,4*	0,42 ± 0,05*	13,1 ± 0,6*

* - отличие достоверно от исходной формы при $p \geq 0,05$

* - the difference from the original form is statistically significant at $p \geq 0,05$

цитом ($RA_{\text{пэг}}$). Однако регенерантные линии, прошедшие отбор на стадии каллуса на алюмоселективных средах (RA_{Al}), при выращивании на почве с кадмием превосходили исходный генотип по продуктивности колоса на 11,6–12,6%. У регенерантов RA_{Cd} в этих условиях преимущество перед исходной формой было выражено в большей степени: все структурные показатели/компоненты были выше по сравнению с исходной линией на 30,7–35,4%. Таким образом, отбор генотипов ячменя на средах *in vitro* с ионной токсичностью алюминия или кадмия способствовал развитию продуктивных признаков растений в почвенных условиях с любым из этих металлов.

Заключение

Проведенные исследования показывают эффективность наших селективных систем *in vitro* в создании новых стрессоустойчивых генотипов ячменя. Культивирование клеток на искусственных питательных средах с наложением селективного фактора повышает частоту возникновения соматклонов с заданным признаком. В дезорганизованных каллусных клетках эти события происходят с большей интенсивностью, чем в интактном растении. Регенерированные из каллусов растения могут отличаться от исходной формы по ряду признаков. В нашем случае такие изменения заключались в относительно низко проявлении симптомов окислительного стресса при выращивании на провокационных почвенных фонах регенерантных линий RA_{Al} (по уровню ПОЛ) и RA_{Cd} (по уровню ПОЛ и содержанию фотосинтетических пигментов), в способности корневой системы RA_{Al} оптимизировать уровень pH в зоне ризосферы, что обеспечило этим генотипам в условиях стресса более высокую семенную продуктивность и адаптивные преимущества по сравнению с исходным генотипом и генотипом $RA_{\text{пэг}}$. Полученные данные позволяют говорить об устойчивости к токсичности как алюминия, так и кадмия в почве у регенерантов ячменя, индуцированных на селективных средах *in vitro*, содержащих только один (любой) из этих металлов. Вероятно, это объясняется универсальностью механизмов устойчивости растений к избытку металлов в среде: задержка избыточного количества ионов в корнях или за пределами метаболически важных органов (накопление в вакуолях, удаление через клеточную стенку), перевод избыточных ионов в инертные формы (Ilyin et al., 2001). Тогда как реализация приспособительных реакций растений к засухе обусловлена механизмами другой природы и связана, прежде всего с накоплением осмопротектантов (Ibragimova et al., 2010). Таким образом, вероятность проявления неспецифической устойчивости генотипов повышается при наличии каких-либо общих адаптационных механизмов к присутствующим стрессорам.

References/Литература

- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*. 2003;91(2):179-194. DOI: 10.1093/aob/mcf118
- Chupakhina G.N., Maltseva E.Yu., Skrypnik L.N. The effect of cadmium of various concentrations on growth processes and the pigment apparatus of meadow timothy seedlings (*Phleum pratense* L.) (Vliyaniye kadmiya razlichny kontsentratsii na rostovye protsessy i pigmentnyy apparat prorostkov timofeyevki lugovoy [*Phleum pratense* L.]) In: *Plant and Stress: All-Russian Symposium, Moscow, October 9–12, 2010*. Moscow: K.A. Timiryazev Plant Physiology Institute; 2010. p.388-389. [in Russian] (Чупахина Г.Н., Мальцева Е.Ю., Скрыпник Л.Н. Влияние кадмия различной концентрации на ростовые процессы и пигментный аппарат проростков тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.). В кн.: *Растение и стресс: Всероссийский симпозиум, Москва, 9–12 октября 2010 г.* Москва: ИФР им. К.А. Тимирязева; 2010. С.388-389).
- Dolgikh Yu.I. Results and prospects of using cell breeding to create promising plant forms (Rezultaty i perspektivy ispolzovaniya kletchnoy seleksii dlya sozdaniya perspektivnykh form rasteniy). In: *Biotechnology in Plant Growing, Animal Husbandry and Veterinary Medicine (Biotehnologiya v rasteniyevodstve, zhivotnovodstve i veterinarii)*. Rep. Synopses of the III Internat. Scient. Conf., October 19, 2004. Moscow; 2004. p.114-115. [in Russian] (Долгих Ю.И. Результаты и перспективы использования клеточной селекции для создания перспективных форм растений. В кн.: *Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. Тез. докл. III Межд. науч. конф., 19 октября 2004 г.* Москва; 2004. С.114-115).
- Garifzyanov A.R., Zhukov N.N., Ivanishchev V.V. Formation and physiological reactions of oxygen active forms in plant cells. *Modern Problems of Science and Education*. 2011;2. [in Russian] (Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Иванисhev В.В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений. *Современные проблемы науки и образования*. 2011;2). URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4600> [дата обращения: 22.05.2020].
- Gladkov E.A. Biotechnological methods for isolation the plants possessing complex stability to heavy metals and salinization. *Agricultural Biology* 2009;(6):85-88. [in Russian] (Гладков Е.А. Получение растений полевицы побегоносной с комплексной устойчивостью к тяжелым металлам и засолению методами клеточной селекции. *Сельскохозяйственная биология*. 2009;(6):85-88).
- GOST 26483-85. Soils. Preparation of salt extract and determination of its pH by CINA0 method. Moscow: Standards Publishing House; 1985. [in Russian] (ГОСТ 26483-85. Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее pH по методу ЦИНА0. Москва: Издательство стандартов; 1985).
- Guo T.R., Zhang G.P., Zhang Y.H. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2007;57(2):182-188. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.01.013
- Ibragimova S.S., Gorelova V.V., Kochetov A.V., Shumny V.K. Role of plant metabolites in mechanisms of stress tolerance. *Vestnik NSU. Series: Biology, Clinical Medicine*. 2010;8(3):98-103. [in Russian] (Ибрагимова С.С., Горелова В.В., Кочетов А.В., Шумный В.К. Роль различных метаболитов в формировании стрессоустойчивости растений. *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2010;8(3):98-103).
- Ilyin V.B., Siso A., Khmelev V.A. Trace elements and heavy metals in soils and plants of Novosibirsk Province (Mikroelementy i tyazhelye metally v pochvakh i rasteniyakh Novosibirskoy oblasti). Novosibirsk: Siberian Division of the RAS; 2001. [in Russian] (Ильин В.Б.,

- Сисо А., Хмелев В.А. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск: СО РАН; 2001).
- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Al-Juburi H.J., Somasundaram R. et al. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2009;11(1):100-105.
- Khan N., Singh Gill S., Nazar R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2007;193(6):435-444.
- Kreslavski V.D., Los D.A., Allakhverdiev S.I., Kuznetsov V.V. Signaling role of reactive oxygen species in plants under stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2012;59(2):141-154.
- Kuznetsov V.V., Khodyrev B.T., Roshchupkin B.V., Borisova N.N. General systems of cotton resistance to salinization and high temperature: facts and hypotheses (Obshchiye sistemy ustoychivosti khlopchatnika k zasoleniyu i vysokoy temperature: fakty i gipotezy). *Russian Journal of Plant Physiology*. 1990;37(5):987-996. [in Russian] [Кузнецов В.В., Ходырев Б.Т., Рощупкин Б.В., Борисова Н.Н. Общие системы устойчивости хлопчатника к засолению и высокой температуре: факты и гипотезы. *Физиология растений*. 1990;37(5):987-996].
- 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;51(6):574-580. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2009.00825.x
- Mahmood I., Razzaq A., Ashraf M., Hafiz I.A., Kaleem S., Qayyum A. et al. *In vitro* selection of tissue culture induced somaclonal variants of wheat for drought tolerance. *Journal of Agricultural Research*. 2012;50(2):177-188.
- Nikitina E.D., Khlebova L.P., Ereschenko O.V. The development of some technology of the spring wheat cell selection for resistance to abiotic stresses. *Izvestiya of Altai State University Journal*. 2014;2(3):50-54. [in Russian] [Никитина Е.Д., Хлебова Л.П., Ересченко О.В. Разработка отдельных элементов технологии клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессам. *Известия Алтайского государственного университета*. 2014;2(3):50-54].
- Rai M.K., Kalia R.K., Singh R., Gangola M.P., Dhawan A.K. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection – an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*. 2011;71(1):89-98. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.021
- Rozhanskaya O.A. About somaclonal variability of plants as a source of biodiversity for breeding (O somaklonalnoy izmenchivosti rasteniy kak istochnike bioraznoobraziya dlya seleksii) In: *Plant Breeding: Past, Present and Future (Seleksiya rasteniy: proshloye, nastoyashcheye i budushcheye)*. Proc. of the I All-Russ. Scient. and Pract. Conf. with Internat. Particip. dedicated to the 140th Anniversary of Belgorod State University, Belgorod, November 24–26, 2016. Belgorod; 2016. p.152-56. [in Russian] [Рожанская О.А. О соматклональной изменчивости растений как источнике биоразнообразия для селекции В кн.: *Селекция растений: прошлое, настоящее и будущее. Сб. матер. I Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. уч., посв. 140-летию НИУ БелГУ. Белгород, 24–26 ноября 2016 г.* Белгород; 2016. С.152-156]. URL: http://dspace.bsu.edu.ru/bitstream/123456789/18621/1/Seleksiya%20rasteniy_konferenstiya_2017.pdf [дата обращения: 17.06.2020].
- Shchennikova I.N. Spring barley breeding for the environments of the Volga-Vyatka region (Seleksiya yarovogo yachmenya dlya usloviy Volgo-Vyatskogo regiona) [dissertation]. Moscow; 2016. [in Russian] [Щенникова И.Н. Селекция ярового ячменя для условий Волго-Вятского региона: дис. ... докт. с.-х. наук. Москва; 2016].
- Sheshegova T.K. Methods of breeding cereal crops for disease resistance in the Northeast Breeding Center (Metody seleksii zernovykh kultur na ustoychivost k boleznyam v Severo-Vostochnom selektsentre). In: *Methods and Technologies in Plant Breeding (Metody i tekhnologii v seleksii rasteniy)*. Proc. of the Scient. and Pract. Conf. Kirov: Res. Inst. of Agric. of the North-East; 2014. p.34-42 [in Russian] [Шешегова Т.К. Методы селекции зерновых культур на устойчивость к болезням в Северо-Восточном селекцентре. В кн.: *Матер. науч.-практ. конф. «Методы и технологии в селекции растений»*. Киров: НИИСХ Северо-Востока; 2014. С.34-42].
- Shirokikh I.G., Shupletsova O.N., Tovstik E.V., Ogorodnikova S.Yu., Nazarova Y.I., Berezin G.I. Comprehensive assessment of barley plants regenerated from resistant to cadmium callus lines. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2018;65(4):19-29. [in Russian] [Широких И.Г., Шуплецова О.Н., Товстик Е.В., Огородникова С.Ю., Назарова Я.И., Березин Г.И. Комплексная оценка растений ячменя, полученных путем клеточной селекции на устойчивость к кадмию. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2018;65(4):19-29]. DOI: 10.30766/2072-9081.2018.65.4.19-29
- 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;20(5):623-628. [in Russian] [Шуплецова О.Н., Щенникова И.Н. Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(5):623-628]. DOI: 10.18699/VJ16.183
- Shupletsova O.N., Shirokikh I.G. Increase of barley tolerance to toxicity of metals and osmotic stress using cell selection. *Grain Economy of Russia*. 2015;(1):57-62. [in Russian] [Шуплецова О.Н., Широких И.Г. Повышение устойчивости ячменя к токсичности металлов и осмотическому стрессу путем клеточной селекции. *Зерновое хозяйство России*. 2015;(1):57-62]. URL: <https://www.zhros.ru/jour/article/viewFile/231/230> [дата обращения: 17.06.2020].
- Sokolova T.A., Tolpeshta I.I., Trofimov S.Ya. Soil acidity. Acid-base soil buffering. Aluminum compounds in the solid phase of the soil and in the soil solution (Pochvennaya kislotnost. Kislотно-osnovnaya bufernost pochv. Soyedineniya alyuminiya v tverdoy faze pochvy i v pochvennom rastvore). 2nd ed. Tula: Grif & Co.; 2012. [in Russian] [Соколова Т.А., Толпешта И.И., Трофимов С.Я. Почвенная кислотность. Кислотно-основная буферность почв. Соединения алюминия в твердой фазе почвы и в почвенном растворе. 2-е изд. Тула: Гриф и К; 2012]. URL: <http://soil.msu.ru/attachments/article/1366/Почвенная%20кислотность.pdf> [дата обращения: 27.07.2020].

Vanyushin B.F. Epigenetics today and tomorrow. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):805-832. [in Russian] (Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):805-832).

Zhang H., Li Y.H., Hu L.Y., Wang S.H., Zhang F.K., Hu K.D.. Effect of treatment of wheat leaves with a nitric oxide donor on antioxidant metabolism under stress caused by alumi-

num (Vliyaniye obrabotki listyev pshenitsy donorom okisi azota na antiokislitelny metabolizm pri stresse, vyzvanom alyuminiyem) *Russian Journal of Plant Physiology*. 2008;55(4):523-528. [in Russian] (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;55(4):523-528).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Шуплецова О.Н., Огородникова С.Ю., Назарова Я.И. Эффекты неспецифической устойчивости генотипов ячменя, полученных путем клеточной селекции. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(4):192-199. DOI:10.30901/2227-8834-2020-4-192-199

Shupletsova O.N., Ogorodnikova S.Yu., Nazarova Ya.I. Effects of non-specific resistance in barley genotypes obtained by cell selection. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(4):192-199. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-192-199

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-4-192-199>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Shupletsova O.N. <https://orcid.org/0000-0003-4679-0717>

Ogorodnikova S.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-8865-4743>

Nazarova Ya.I. <https://orcid.org/0000-0002-2945-5282>