

Научная статья
УДК 633:606:581.331.2
EDN YEQTUF

**Исследование влияния селективных сред с цинком *in vitro*
на жизнеспособность и фертильность регенерантов гречихи посевной**

**Светлана Александровна Боровая¹, Алексей Григорьевич Клыков²,
Наталья Геннадьевна Богинская³**

^{1, 2, 3} Федеральний научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока
имени А. К. Чайки, Приморский край, Тимирязевский, Россия

¹ borovayasveta@mail.ru, ² alex.klykov@mail.ru, ³ boginskaia98@gmail.com

Аннотация. Целью работы является исследование влияния селективных сред с высокими концентрациями ионов цинка на жизнеспособность и фертильность пыльцевых зерен гречихи посевной. Объекты исследования – регенеранты гречихи посевной сорта Изумруд, толерантные к $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 161 и 184 мг/л, созданные в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии Федерального научного центра агробиотехнологий Дальнего Востока имени А. К. Чайки. Их культивировали на селективных средах с $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ в дозе 808–1 313 мг/л и субкультивировали на питательных средах по Мурасиге и Скуга без токсиканта. Изолированные *in vitro* объекты культивировались в пробирках с ватно-марлевыми пробками при освещенности 4 тыс. люкс, температуре 22–25 °С; фотопериоде, составившем 16 часов, в условиях культуральной комнаты. Перевод пробирочных растений в горшечную культуру осуществляли в контролируемых условиях в световой комнате. Фертильность пыльцы регенерантов проводили по методике З. П. Паушевой с использованием йодного раствора по рецепту Грамма. Было выявлено, что генотипы гречихи, полученные в результате поэтапного использования селективных сред с медью и цинком, показали высокий уровень стрессоустойчивости и жизнеспособности. Продемонстрированы быстрые темпы регенерационной способности растений после токсичного воздействия высоких доз цинка. Процент фертильных пыльцевых зерен по всем изучаемым вариантам высок и варьировал в пределах 92,6–100 %. Фертильность растений, полученных с использованием соли меди в концентрации 161 мг/л, на селективных средах с цинком составила 98,6 %, что выше, чем после цинка и меди (184 мг/л и 95,0 %). В результате принудительного опыления растений внутри каждого варианта получены щуплые семена вследствие иллегитимного опыления, поскольку изучаемые *in vivo* растения оказались короткостолбчатыми. В целом, гречиха продемонстрировала высокий уровень толерантности к тяжелым металлам, что подтверждается высоким уровнем фертильности пыльцевых зерен.

Ключевые слова: гречиха посевная, селективные среды, тяжелые металлы, жизнеспособность, фертильность, *in vitro*

Для цитирования: Боровая С. А., Клыков А. Г., Богинская Н. Г. Исследование влияния селективных сред с цинком *in vitro* на жизнеспособность и фертильность регенерантов гречихи посевной // Дальневосточный аграрный вестник. 2023. Том 17. № 4. С. 14–24.

Original article

**Study on impact of selective media with zinc *in vitro*
on survivability and fertility of regenerated common buckwheat plants**

Svetlana A. Borovaya¹, Alexey G. Klykov², Natalia G. Boginskaya³

^{1, 2, 3} Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East

named after A. K. Chaika, Primorsky krai, Timiryazevsky, Russia

¹ borovayasveta@mail.ru, ² alex.klykov@mail.ru, ³ boginskaia98@gmail.com

Abstract. The research goal was to study how selective media with zinc at high concentrations influenced the survival rate and fertility of pollen grains in common buckwheat. The research object was the regenerated plants (common buckwheat variety Izumrud) created at the Laboratory of Agricultural Biotechnology of the Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika and tolerant to $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ at concentrations of 161 and 184 mg/l. The plants were cultivated on selective media with $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ at concentrations of 808–1 313 mg/l and subcultured on MS nutrient media without the toxicant. The isolated *in vitro* objects were cultivated in test tubes with cotton gauze plugs at 4,000 lx, 22–25 °C, and 16-h photoperiod under culture room condition. The test-tube plants were transferred into pots under controlled conditions in a light room. The fertility of the pollen in the regenerated plants was tested according to the methodology of Z. P. Pausheva using Gram's iodine solution. The buckwheat genotypes obtained by sequentially using selective media with copper and zinc showed high stress resistance and survivability. The studied plants demonstrated a high rate of regeneration after exposure to high doses of zinc. The percentage of fertile pollen grains ranged from 92.6 to 100.0% among the experimental variants. The fertility of the plants obtained using the copper salt at a concentration of 161 mg/l was 98.6% on the selective media with zinc, which was higher than in the variant with the use of zinc and copper (184 mg/l, 95.0%). The artificial pollination among plants in the experimental variants allowed us to obtain underdeveloped seeds due to illegitimate pollination because the obtained *in vivo* plants were short-columnar. In general, buckwheat demonstrated high tolerance to heavy metals as evidenced by the high fertility of its pollen grains.

Keywords: common buckwheat, selective media, heavy metals, fertility, *in vitro*

For citation: Borovaya S. A., Klykov A. G., Boginskaya N. G. Study on impact of selective media with zinc *in vitro* on survivability and fertility of regenerated common buckwheat plants. *Dal'nevostochnyj agrarnyj vestnik*, 2023;17;4:14–24 (in Russ.).

Введение. Гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum* Moench, 1794) – важная крупяная и медоносная культура, обладающая ценными пищевыми и лекарственными свойствами. Зерно гречихи характеризуется уникальным химическим составом, что обуславливает ее широкое использование в производстве полезных продуктов питания во многих странах мира [1].

Гречневую муку используют для приготовления хлебобулочных, кондитерских и макаронных изделий. Из гречневой крупы получают такие полезные функциональные продукты питания, как каша, лапша (Китай, Корея), собу (Япония); также это популярный ингредиент блинных

смесей и маффинов в Северной Америке и Канаде [2]. Биологическая ценность протеинов гречихи значительно выше, чем у других злаков, риса и сои [3]. Существует мнение, что *F. esculentum* является суперкультурой для решения продовольственной безопасности [4]. Однако при этом гречиха считается малоурожайной культурой, которая не всегда окупает вложения [5], поэтому вопросы повышения продуктивности и качества ее зерна остаются актуальными.

В последнее время культура ткани гречихи *in vitro* широко используется для решения многих фундаментальных вопросов клеточной биологии, генетики и селекции растений. Использование экстре-

мальных факторов и мутагенов позволяет значительно расширить спектр генетической изменчивости и повысить эффективность тканевой селекции. К группе особо опасных химических токсикантов относятся тяжелые металлы. Они могут увеличивать число мутаций в молекулах нуклеиновых кислот, вызывая обширные патологические изменения в растительных организмах. Цинк и медь являются потенциально токсичными элементами, вызывающими дестабилизацию биосинтетических процессов в растительной клетке. Повышенные их концентрации индуцируют развитие окислительного стресса вследствие взаимодействия с системой антиоксидантной защиты, нарушения электронно-транспортной цепи или индукции перекисного окисления липидов. Наиболее значимыми показателями токсичности тяжелых металлов являются задержка роста растений, снижение выхода биомассы, хлороз, связанные преимущественно с нарушениями работы фотосинтетического аппарата [6].

Сообщается, что цинк, наряду с другими тяжелыми металлами, вызывает значительное снижение уровней содержания каротиноидов и хлорофилла, сопровождающееся снижением фотохимической эффективности фотосистемы II [7]. С помощью селективных факторов – меди и цинка в концентрациях, составляющих до 230 и до 606 мг/л соответственно, *in vitro* получены мутантные регенерантные линии гречихи, которые использовали в гибридизации при создании сорта гречихи Уссурочка с повышенными урожайностью и содержанием рутина [8].

Известно, что тяжелые металлы негативно сказываются на репродуктивной системе растений, нарушая нормальные процессы развития генеративных органов. В результате снижается жизнеспособность и качество пыльцы [9, 10]. Критерием устойчивости вида к воздействию стрессовых факторов среды является наличие полового процесса, обеспечивающего фертильность пыльцы не менее 85–90 % [11]. Также подчеркивается, что реакция генеративной сферы на тяжелые металлы видоспецифична [12].

В связи с вышесказанным, исследование фертильности пыльцы, полученной *in vitro* с использованием высокоток-

сичных доз тяжелых металлов, позволит оценить их способность к завязыванию плодов, то есть определить уровень жизнеспособности вида в целом.

Цель работы – исследование влияния селективных сред с высокими концентрациями ионов цинка на жизнеспособность и фертильность пыльцевых зерен гречихи посевной, толерантной к меди.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись регенеранты гречихи посевной сорта Изумруд, толерантные к $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 161 и 184 мг/л, созданные в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии Федерального научного центра агробiotехнологий Дальнего Востока имени А. К. Чайки.

Их культивировали на селективных средах с $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ в дозе равной 808–1 313 мг/л и субкультивировали на питательных средах Мурасиге и Скуга без токсиканта. Регенерацию проводили из асептических одноузловых черенков длиной 0,7–1,5 мм, полученных в результате деления стебля пробирочных растений. Выжившие генотипы субкультивировали и микроклонально размножали на питательной среде МС. Изолированные *in vitro* объекты культивировались в пробирках с ватно-марлевыми пробками при освещенности 4 тыс. люкс, температуре 22–25 °С, фотопериоде 16 часов в условиях культуральной комнаты. Приготовление и стерилизация бокса, посуды, инструментов проводились по общепринятым методикам.

Для создания селективных условий использовали соль цинка ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). В основную среду МС, содержащую сахарозу (20 г/л) и агар (6 г/л), вносили соли цинка в следующих количествах по вариантам опыта: 808; 909; 1 010; 1 111; 1 212 и 1 313 мг/л. Контрольным вариантом являлась среда МС с сахарозой и агаром и со стандартным содержанием сульфата цинка 8,6 мг/л. Число пробирок по каждому варианту составило 20.

Перевод пробирочных растений в горшечную культуру осуществляли в контролируемых условиях в световой комнате: фотопериод 16 часов – день, температура 23 °С.

Определение фертильности пыльцевых зерен в пыльнике регенерантов

проводили по методике З. П. Паушевой (1965). Методика основана на различном прокрашивании спермиев и цитоплазмы клеток пыльцевых зерен.

С целью определения фертильности пыльцы отбирали по пять цветков в период начала цветения с разных растений; отделяли пыльники и фиксировали их в уксусном спирте (1:3). Пыльники потрошили препаровальными иглами на предметном стекле, извлекая пыльцу; удаляли ткани пыльника и смачивали пыльцевые зерна йодным раствором по рецепту Грама. Выдерживали препарат в таком виде в течение нескольких минут, после чего накрывали каплю покровным стеклом и рассматривали препарат под микроскопом при различном увеличении.

В десяти полях зрения микроскопа подсчитывали количество нормальных (фертильных) и abortивных пыльцевых зерен по каждому цветку, взятому для анализа (использовали не менее 100 пыльцевых зерен). Препарат микроскопировали с помощью светового микроскопа Levenhuck DT 750.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel и PAST 4.03.

Результаты исследований и их обсуждение. Гречиха, полученная с использованием меди и культивируемая *in vitro* на селективных средах с цинком, проявила высокую степень устойчивости к токсиканту, что обусловило большой процент

выживаемости микрорастений в токсичных условиях (97,5–100 %) (рис. 1).

Высота микроклонов на 21-е сутки культивирования варьировала в пределах 0,4–2,0 см. На них образовывались молодые листовые пластинки зеленого либо желто-зеленого цвета.

Для микрорастений были характерны высокие темпы восстановления после воздействия высоких доз соли цинка. Данные образцы показали хорошую регенерационную способность во время первого (рис. 2) и последующих субкультивирований на МС даже после максимальных доз тяжелого металла. На 33-и сутки первого субкультивирования растения характеризовались значительными показателями высоты (4,2–16,5 см), большим количеством листьев зеленого цвета, что свидетельствует о хорошем протекании процессов фотосинтеза, а также является признаком пластичности исследуемых генотипов *Fagopyrum esculentum*.

Второе субкультивирование микроклонов показало, что темпы роста и развития испытываемых образцов гречихи весьма высоки (табл. 1).

Морфометрические показатели растений были близки к характеристикам контрольных образцов. Так, высота растений по всем вариантам обоих испытываемых групп регенерантов, полученных с использованием 161 и 184 мг/л соли меди (первая и вторая группы), варьировала в пределах 10,3–16,8 см, что является индикатором

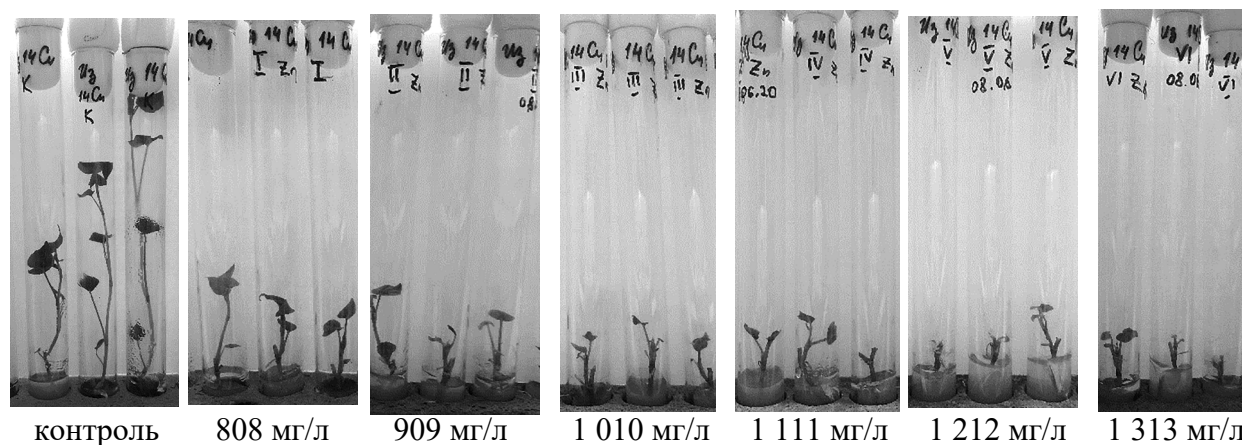


Рисунок 1 – Микроклоны, толерантные к $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (161 мг/л), на селективных средах с цинком (808–909 мг/л) на 21-е сутки культивирования *in vitro*
Figure 1 – Microclones tolerant to $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (161 mg/L) in selective media with zinc (808–909 mg/L) on the 21st day of cultivation *in vitro*

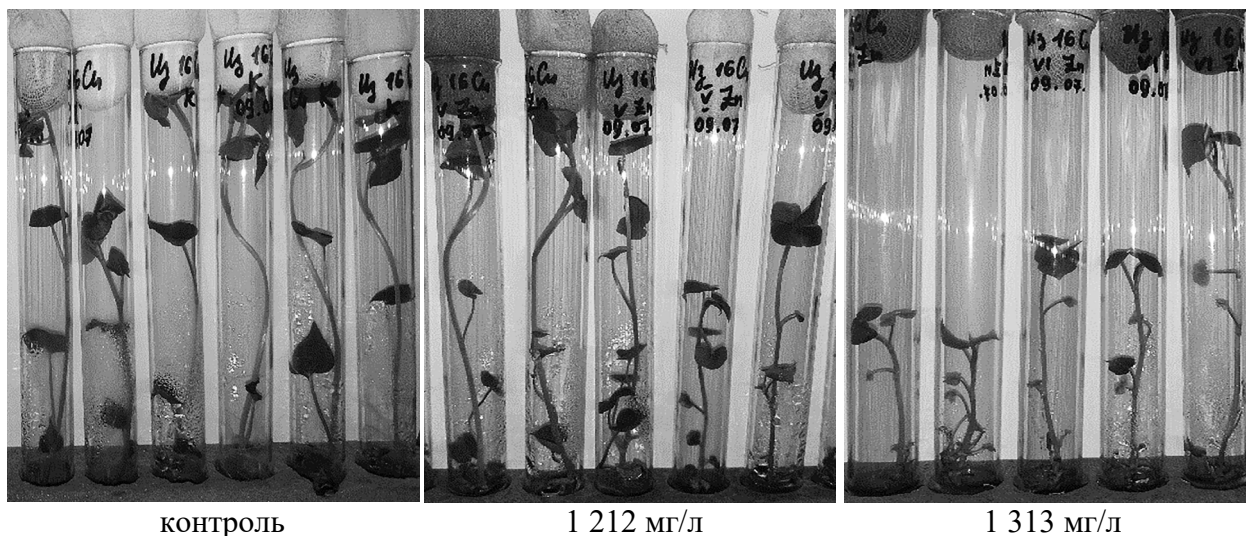


Рисунок 2 – Микрорастения, толерантные к $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (184 мг/л), на 30-е сутки первого субкультивирования на МС

Figure 2 – Plantlets tolerant to $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (184 mg/L) on the 30th day of the 1st subculturing on the MS

Таблица 1 – Регенерационная способность толерантной к $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ *F. esculentum* на 33-и сутки второго субкультивирования

Table 1 – Regenerative ability of *F. esculentum* plants tolerant to $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ on the 33rd day of the 2nd subculturing

| Вариант опыта | Высота растения, см | Число междуузлий, шт. | Число листьев, шт. | Длина листовой пластинки, мм |
|---|---------------------|-----------------------|--------------------|------------------------------|
| 161 мг/л $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ | | | | |
| Контроль | 17,1±1,8 | 6,3±0,7 | 7,3±0,8 | 13,8±0,6 |
| 808 мг/л | 16,8±1,7 | 5,6±0,8 | 6,6±1,1 | 13,7±0,7 |
| 909 мг/л | 12,9±4,7 | 5,3±1,1 | 6,6±1,6 | 12,8±1,7 |
| 1 010 мг/л | 9,2±6,5 | 4,8±1,9 | 6,1±1,7 | 12,0±2,1 |
| 1 111 мг/л | 15,4±3,2 | 6,0±0,8 | 6,9±0,7 | 13,0±0,8 |
| 1 212 мг/л | 11,0±6,0 | 5,0±1,7 | 6,2±1,6 | 12,1±1,8 |
| 1 313 мг/л | 10,4±4,3 | 5,0±0,8 | 6,6±1,4 | 13,1±1,9 |
| НСР _{0,05} | 4,0 | 1,1 | 1,2 | 1,3 |
| 184 мг/л $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ | | | | |
| Контроль | 16,3±2,6 | 5,6±1,1 | 6,5±1,3 | 13,8±1,8 |
| 808 мг/л | 15,0±3,0 | 6,3±0,8 | 6,7±0,9 | 13,6±1,6 |
| 909 мг/л | 16,3±3,3 | 6,4±1,2 | 7,5±1,2 | 14,2±1,1 |
| 1 010 мг/л | 13,5±3,8 | 6,7±1,2 | 7,8±1,0 | 14,3±0,9 |
| 1 111 мг/л | 14,0±3,9 | 5,8±0,8 | 6,9±1,2 | 14,5±1,4 |
| 1 212 мг/л | 14,6±3,3 | 5,8±0,6 | 6,7±0,7 | 14,8±1,5 |
| 1 313 мг/л | 10,3±5,5 | 4,9±0,9 | 5,8±1,3 | 13,8±2,2 |
| НСР _{0,05} | 3,28 | 0,84 | 0,97 | 1,44 |

хорошей жизнеспособности и адаптивности исследуемых генотипов.

Достоверная разница с контролем в первой группе отмечена по высоте растений и количеству междоузлий на вариантах последействия 1 010; 1 212 и 1 313 мг/л $ZnSO_4 \times 7H_2O$, а также 1 010 и 1 212 мг/л – по длине листовой пластинки. Вторая группа растений продемонстрировала большую стрессоустойчивость, где существенное отставание от контроля отмечено только по высоте растения на варианте с максимальной дозой цинка (1 313 мг/л) – 10,3 см. На всех вариантах в обеих группах отмечена зеленая окраска листовых пластинок, а также наличие корней.

Ризогенез – важнейший показатель растений, культивируемых *in vitro*, характеризующий их адаптивные возможности и жизнеспособность. В наших опытах сильная токсическая нагрузка повлияла на корнеобразование: на 21-е сутки культивирования на всех исследуемых вариантах селективных сред (808–1 313 мг/л соли цинка) корнеобразование отсутствовало (рис. 3).

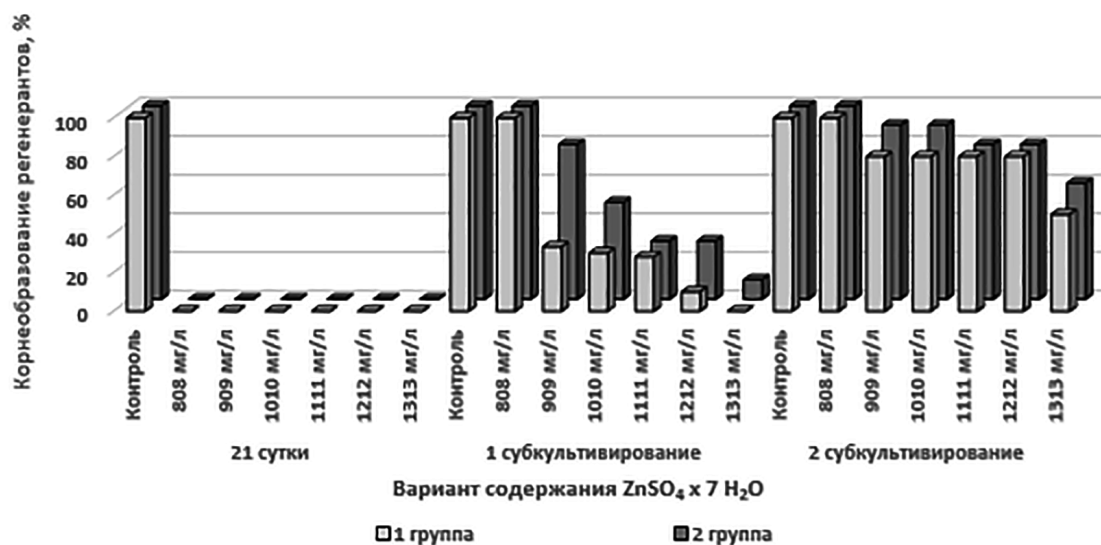
При первом субкультивировании на МС корнеобразование в первой груп-

пе появилось на вариантах после цинка (808–1 212 мг/л) у 10–100 % растений. Все растения, полученные с использованием 808 мг/л соли цинка, характеризовались, как и на контроле, наличием корней. На варианте цинка (909 мг/л) только у 33,3 % образцов обнаружен ризогенез. С повышением дозы цинка отмечено снижение процессов корнеобразования с полным его отсутствием на варианте с использованием 1 313 мг/л соли цинка.

Более адаптированные растения из второй группы продемонстрировали повышенный уровень корнеобразования – на всех вариантах наблюдался ризогенез с максимумом на вариантах после цинка (808 и 909 мг/л) – 80–100 %, снижаясь в зависимости от дозы цинка до 10–30 % на вариантах после цинка (1 111–1 313 мг/л).

При повторном втором субкультивировании в обеих группах корни образовывались на всех вариантах, варьируя в пределах 80–100 %. Только на варианте с наибольшей дозой цинка корни формировались у 50–60 % регенерантов.

Нужно отметить, что часть растений во время первого и второго субкультивирования образовывали листовые розетки



1 группа – растения, полученные на средах с 161 мг/л $CuSO_4 \times 5H_2O$;
 2 группа – растения, полученные на средах с 184 мг/л $CuSO_4 \times 5H_2O$

Рисунок 3 – Характеристика ризогенеза *F. esculentum*, %
 Figure 3 – Characteristics of rhizogenesis in *F. esculentum* plants, %

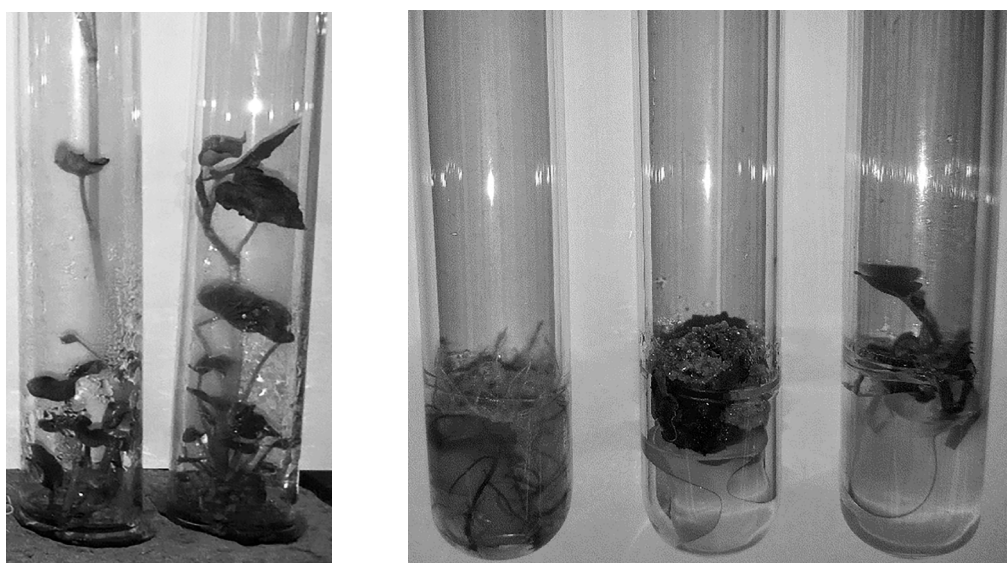
с укороченными междоузлиями в нижней части побега, а также морфогенный плотнoglobулярный каллус (рис. 4). Образовавшиеся побеги на каллусных структурах достигали 2,3–4,4 см в высоту. Они формировали листовые пластинки различной длины и были пригодны для микроклонирования.

Переведенные в горшечную культуру пробирочные растения-регенеранты сорта Изумруд, полученные после воздействия селективных факторов (цинка и меди), нормально росли и развивались. Фаза начала цветения растений наступила на 28–30-е сутки и массового цветения –

на 38–40 сутки культивирования в лабораторных условиях.

Результаты исследования фертильности пыльцы растений-регенерантов, полученных после воздействия комплексного стресса (Cu^{2+} и Zn^{2+}) представлены в таблице 2. Фертильными считали пыльцевые зерна, полностью окрашенные в темно-фиолетовый цвет, стерильными – окрашенные частично (рис. 5).

Как свидетельствуют полученные данные, процент фертильных пыльцевых зерен по всем изучаемым вариантам высок (92,6–100 %). Токсичные дозы цинка не влияли на появление стерильных пыль-

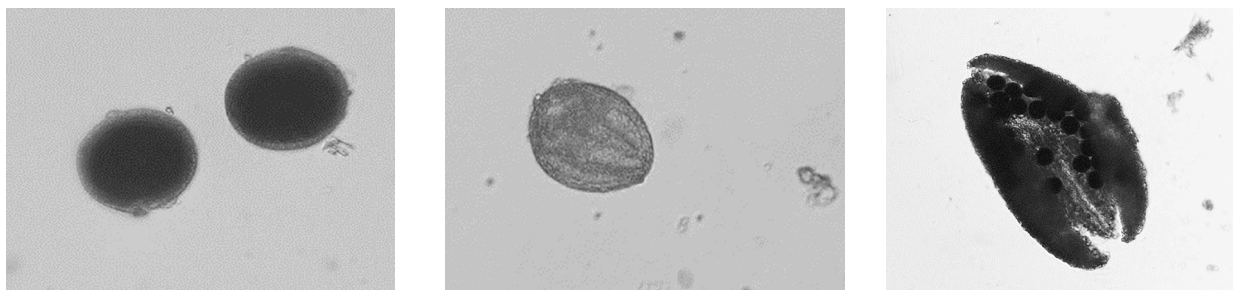


а)

б)

Рисунок 4 – Листовые розетки (а) и каллусная ткань (б) растений гречихи, полученных на средах с цинком, по окончании первого субкультивирования

Figure 4 – Leaf rosette (a) and callus tissue (b) of the buckwheat plants obtained in media with zinc at the end of the 1st subculturing



а)

б)

в)

а) фертильные; б) стерильные, в) пыльцевой мешок с пыльцевыми зёрнами

Рисунок 5 – Окрашенные пыльцевые зёрна регенерантов гречихи (161 мг/л $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ + 808 мг/л $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$)

Figure 5 – Colored pollen grains of regenerated buckwheat plants (161 mg/L $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ + 808 mg/L $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$)

Таблица 2 – Характеристика пыльцевых зерен линий гречихи, полученных после воздействия комплексного стресса (Cu²⁺ и Zn²⁺)

Table 2 – Characteristics of pollen grains of buckwheat lines obtained after exposure to complex stress (Cu²⁺ and Zn²⁺)

| Вариант Zn ²⁺ | Пыльцевые зерна, шт. | | | | |
|--|----------------------|------------|----------|------------|---------|
| | всего, шт. | фертильные | | стерильные | |
| | | шт. | % | шт. | % |
| Изумруд 161 мг/л CuSO₄×5H₂O | | | | | |
| Контроль | 186 | 182 | 97,8 | 4 | 2,2 |
| 808 мг/л | 227 | 222 | 97,8 | 5 | 2,2 |
| 909 мг/л | 180 | 178 | 98,9 | 2 | 1,1 |
| 1 010 мг/л | 123 | 123 | 100,0 | 0 | 0 |
| 1 111 мг/л | 146 | 143 | 97,9 | 3 | 2,1 |
| 1 212 мг/л | 297 | 291 | 98,0 | 6 | 2,0 |
| 1 313 мг/л | 249 | 248 | 99,6 | 1 | 0,4 |
| Mean±sd | – | – | 98,6±0,9 | – | 1,4±0,9 |
| HCP _{0,05} | – | – | 2,3 | – | – |
| Изумруд 184 мг/л CuSO₄×5H₂O | | | | | |
| Контроль | 111 | 105 | 94,6 | 6 | 5,4 |
| 808 мг/л | 186 | 178 | 95,7 | 8 | 4,3 |
| 909 мг/л | 158 | 152 | 96,2 | 6 | 3,8 |
| 1 010 мг/л | 108 | 100 | 92,6 | 8 | 7,4 |
| 1 111 мг/л | 120 | 110 | 91,7 | 10 | 8,3 |
| 1 212 мг/л | 132 | 129 | 97,7 | 3 | 2,3 |
| 1 313 мг/л | 164 | 158 | 96,3 | 6 | 3,7 |
| Mean±sd | – | – | 95,0±2,1 | – | 5,0±2,1 |
| HCP _{0,05} | – | – | 2,9 | – | – |

цевых зерен у регенерантов гречихи, поскольку достоверных различий с контролем не выявлено.

При этом сравнение средних значений показало, что фертильность растений-регенерантов после воздействия цинка и меди (161 мг/л) (98,6 %) оказалась выше, чем после цинка и меди (184 мг/л) (95,0 %). Устойчивость гречихи к неблагоприятным факторам среды и ее высокая пластичность подчеркивается многими исследователями [13, 14].

Поскольку гречиха является перекрестно опыляемой культурой, то для получения семян регенерантов (R₀) проводилось принудительное опыление растений

внутри каждого варианта. Следует отметить, что все изучаемые *in vivo* растения оказались короткостолбчатыми, в связи с чем проводимое опыление являлось illegitimным, что, естественно, сказалось на проценте завязывания семян.

В результате удалось получить плоды с девяти растений по восьми разным вариантам. Полученные в лабораторных условиях плоды гречихи оказались мелкими и щуплыми, как показано на рисунке 6.

Закключение. Гречиха посевная продемонстрировала высокий уровень толерантности к тяжелым металлам и жизнеспособности вида в целом, что нашло отражение в быстрых темпах роста и



Рисунок 6 – Плоды растений-регенерантов гречихи, полученные в результате иллегитимного опыления
Figure 6 – Fruits of regenerated buckwheat plants obtained as result of illegitimate pollination

развития регенерантов при субкультурировании, а также в сохранении фертильности пыльцы в условиях токсической нагрузки, обусловленной тяжелыми металлами.

В целом, оплодотворяющая способность пыльцевых зерен растений *F. esculentum*, культивируемых *in vitro* при после-

довательном воздействии селективных сред, содержащих высокие дозы меди и цинка, достаточно высокая.

Полученные стрессоустойчивые регенеранты могут быть использованы в дальнейшем в селекционных программах гречихи.

Список источников

1. Luthar Z. Buckwheat genetic resources in Central Europe // Buck-wheat Germplasm in the World. London : Academic Press, 2018. P. 127–143. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811006-5.00014-8>.
2. Lee D.-G., Woo S. H., Choi J.-S. Biochemical properties of common and tartary buckwheat: centered with buckwheat proteomics // Molecular breeding and nutritional aspects of buckwheat. London : Elsevier, Academic Press, 2016. P. 239–259. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803692-1.00019-5>.
3. Zhang L., Li Z. Functional characteristics of traditional buckwheat product // Chinese Cereals and Oils. 2009. Vol. 24. No. 3. P. 53–57.
4. Chrungoo N. K., Chetry U. Buckwheat: A critical approach towards assessment of its potential as a super crop // Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. 2021. No. 81. P. 1–23. doi: <https://doi.org/10.31742/IJGPB.81.1.1>.
5. Timoshenko E. V. Development of varietal technology elements for cultivation of buckwheat variety Devyatka in the zone of the Middle Priamurye // INTERAGROMASH 2022 : XV International Scientific Conference. Springer : Springer, 2023. P. 233–243. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-031-21432-5_24.
6. Kaznina N. M., Titov A. F. Effect of zinc deficiency and excess on the growth and photosynthesis of winter wheat // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 2017. Vol. 13 (4). P. 88–94.
7. Maleva M. G., Nekrasova G. F., Borisova G. G., Chukina N. Effect of heavy metal on photosynthetic apparatus and antioxidant status of elodea // Russian Journal of Plant Physiology. 2012. Vol. 59. P. 190–197. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443712020069>.

8. Клыков А. Г., Парская Н. С., Барсукова Е. Н. Селекция гречихи на повышенное содержание рутина // Аграрный вестник Приморья. 2017. № 4 (8). С. 24–29. EDN: ZWNULX.
9. Садакова К. А., Колясникова Н. Л. Фертильность пыльцевых зерен и содержание тяжелых металлов в пыльце сосны обыкновенной, произрастающей в местах с разной антропогенной нагрузкой // Научное обозрение. Биологические науки. 2015. № 1. С. 138–139.
10. Харитонцев Б. С., Чемагин А. А., Попова Е. И. Влияние накопления тяжелых металлов на содержание пигментов фотосинтеза и фертильность пыльцевых зерен // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6. С. 506. EDN: XIBMHX.
11. Нечкина М. А., Куприянов П. Г. Способ определения интегрального эффекта воздействия неблагоприятных факторов внешней среды // Открытия. Изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки. 1992. № 4. С. 14.
12. Жуйкова Т. В., Коваленко А. А., Мезина А. В. Изменчивость признаков мужского гаметофита морфологических форм *Taraxacum officinale* Wigg. s. l. в условиях техногенной трансформации почвы // Самарский научный вестник. 2021. Т. 10. № 2. С. 31–39. doi: <https://doi.org/10.17816/snv2021102104>.
13. Chrungoo N. K., Dohtdong L., Chetry U. Phenotypic plasticity in buckwheat // Molecular breeding and nutritional aspects of buckwheat. London : Elsevier, Academic Press, 2016. P. 137–149. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803692-1.00010-9>.
14. Барсукова Е. Н., Клыков А. Г., Чайкина Е. Л. Использование метода культуры ткани для создания новых форм *Fagopyrum esculentum* Moench // Российская сельскохозяйственная наука. 2019. № 5. С. 3–6. doi: <https://doi.org/10.31857/S2500-2627201953-6>.

References

1. Luthar Z. Buckwheat genetic resources in Central Europe. In.: Buck-wheat Germplasm in the World, London, Academic Press, 2018, P. 127–143. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811006-5.00014-8>.
2. Lee D.-G., Woo S. H., Choi J.-S. Biochemical properties of common and tartary buckwheat: centered with buckwheat proteomics. In.: Molecular breeding and nutritional aspects of buckwheat, London, Elsevier, Academic Press, 2016, P. 239–259. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803692-1.00019-5>.
3. Zhang L., Li Z. Functional characteristics of traditional buckwheat product. Chinese Cereals and Oils, 2009;24;3:53–57.
4. Chrungoo N. K., Chetry U. Buckwheat: A critical approach towards assessment of its potential as a super crop. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 2021;81:1–23. doi: <https://doi.org/10.31742/IJGPB.81.1.1>.
5. Timoshenko E. V. Development of varietal technology elements for cultivation of buckwheat variety Devyatka in the zone of the Middle Priamurye. Proceedings from INTERAGROMASH 2022: XV International Scientific Conference. (PP. 233–243), Springer, Springer, 2023. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-031-21432-5_24.
6. Kaznina N. M., Titov A. F. Effect of zinc deficiency and excess on the growth and photosynthesis of winter wheat. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 2017;13(4):88–94.
7. Maleva M. G., Nekrasova G. F., Borisova G. G., Chukina N. Effect of heavy metal on photosynthetic apparatus and antioxidant status of elodea. Russian Journal of Plant Physiology, 2012;59:190–197. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443712020069>.
8. Klykov A. G., Parskaya N. S., Barsukova E. N. Selection of buckwheat to increase routine content. *Agrarnyj vestnik Primor'ja*, 2017;4(8):24–29 (in Russ.). EDN: ZWNULX.
9. Sadakova K. A., Kolyasnikova N. L. Fertility of pollen grains and content of heavy metals in pine pollen growing in places with different anthropogenic load. *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki*, 2015;1:138–139 (in Russ.).
10. Haritontsev B. S., Chemagin A. A., Popova E. I. Influence accumulation of heavy metals at the content of photosynthetic pigments and fertility pollen grains. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2016;6:506 (in Russ.). EDN: XIBMHX.

11. Nechkina M. A., Kupriyanov P. G. Method for determining the integrated effect of unfavorable environmental conditions. *Otkrytiya. Izobreteniya. Promyshlennye obrazcy. Tovarnye znaki*, 1992;4:14 (in Russ.).

12. Zhuykova T. V., Kovalenko A. A., Mezina A. V. Variability of male gametophyte traits in morphological forms of *Taraxacum officinale* Wigg. S. l. under conditions of technogenic soil transformation. *Samarskij nauchnyj vestnik*, 2021;10(2):31–39 (in Russ.). doi: <https://doi.org/10.17816/snv2021102104>.

13. Chrungoo N. K., Dohtdong L., Chetry U. Phenotypic plasticity in buckwheat In.: Molecular breeding and nutritional aspects of buckwheat, London, Elsevier, Academic Press, 2016, P. 137–149. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803692-1.00010-9>.

14. Barsukova E. N., Klykov A. G., Chaykina E. L. Usage of the tissue culture method for the development of new forms of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Rossijskaja sel'skohozjajstvennaja nauka*, 2019;5:3–6 (in Russ.). doi: <https://doi.org/10.31857/S2500-2627201953-6>.

© Боровая С. А., Клыков А. Г., Богинская Н. Г., 2023

Статья поступила в редакцию 07.11.2023; одобрена после рецензирования 30.11.2023; принята к публикации 06.12.2023.

The article was submitted 07.11.2023; approved after reviewing 30.11.2023; accepted for publication 06.12.2023.

Информация об авторах

Боровая Светлана Александровна, аспирант, научный сотрудник, Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока имени А. К. Чайки, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7440-5129>, Author ID: 508428, borovayasveta@mail.ru;

Клыков Алексей Григорьевич, доктор биологических наук, академик Российской академии наук, Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока имени А. К. Чайки, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-3486>, Author ID: 96183, alex.klykov@mail.ru;

Богинская Наталья Геннадьевна, младший научный сотрудник, Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока имени А. К. Чайки, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8844-8616>, Author ID: 1039484, boginskaia98@gmail.com

Information about the authors

Svetlana A. Borovaya, Postgraduate Student, Researcher, Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7440-5129>, Author ID: 508428, borovayasveta@mail.ru;

Alexey G. Klykov, Doctor of Biological Sciences, Academician of Russian Academy of Sciences, Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-3486>, Author ID: 96183, alex.klykov@mail.ru;

Natalia G. Boginskaya, Junior Researcher, Federal Scientific Center of Agricultural Biotechnology of the Far East named after A. K. Chaika, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8844-8616>, Author ID: 1039484, boginskaia98@gmail.com

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article. The authors declare no conflicts of interests.