

А.Г. КЛЫКОВ, Е.Н. БАРСУКОВА, Е.Л. ЧАЙКИНА,
М.М. АНИСИМОВ

Перспективы и результаты селекции *Fagopyrum esculentum* Moench на повышенное содержание флавоноидов

Приведены направления и результаты селекционной работы с гречихой съедобной, или обыкновенной (*Fagopyrum esculentum* Moench), на Дальнем Востоке России на повышенное содержание флавоноидов в плодах и надземной массе. Исследованы на содержание флавоноидов и продуктивность сорта *F. esculentum* различного эколого-географического происхождения и селекционный материал, полученный в условиях *in vitro* на селективной среде с повышенным содержанием тяжелых металлов. В результате выделен индетерминантный сорт гречихи Башкирская красностебельная с максимальным содержанием флавоноидов в плодах (15,0 мг/100 г) и надземной массе (26,6 мг/г). Показано, что в селекции гречихи с высоким содержанием флавоноидов при создании новых генотипов представляет интерес использование селективных сред *in vitro* с повышенной концентрацией ионов меди и цинка. Приведена модель сорта *F. esculentum* с повышенным содержанием флавоноидов, адаптированного к абиотическим и биотическим факторам среды на Дальнем Востоке России.

Ключевые слова: селекция, *Fagopyrum esculentum* Moench, флавоноиды, продуктивность, ионы тяжелых металлов, селективная среда, Дальний Восток.

Prospects and results of selection of *Fagopyrum esculentum* Moench for increased flavonoid content.

A.G. KLYKOV, E.N. BARSUKOVA (Federal Scientific Center of Agrobiotechnology in the Far East named after A.K. Chaika, Primorsky Krai, Timiryazevsky village), E.L. CHAIKINA, M.M. ANISIMOV (G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok).

The paper presents directions and results of breeding work with edible or common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) in the Far East of Russia on the increased flavonoid content in fruits and above-ground mass. The varieties of *F. esculentum* of different ecological and geographical origin and breeding material obtained *in vitro* on a selective medium with a high content of heavy metals were studied on the content of flavonoids and productivity. As a result of the research, indeterminate variety of buckwheat Bashkirskaya red-stem (Republic of Bashkortostan) with the maximum content of flavonoids in fruits (15.0 mg/100 g) and in the above-ground mass (26.6 mg/g) was defined. It is shown that in the selection of buckwheat for a high content of flavonoids in the development of new genotypes, the use of selective media *in vitro* with high concentrations of copper and zinc ions is of interest. A model of *F. esculentum* variety with a high content of flavonoids adapted to abiotic and biotic environmental factors in the Russian Far East is presented.

Key words: breeding, *Fagopyrum esculentum* Moench, flavonoids, productivity, heavy metal ions, selective medium, Far East.

*КЛЫКОВ Алексей Григорьевич – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий отделом, БАРСУКОВА Елена Николаевна – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник (Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, Приморский край, Уссурийск, пос. Тимирязевский), ЧАЙКИНА Елена Леонидовна – научный сотрудник, АНИСИМОВ Михаил Михайлович – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток). *E-mail: alex.klykov@mail.ru

Работа выполнена в рамках программы «Приоритетные научные исследования в интересах комплексного развития Дальневосточного отделения РАН» на 2019 г.

Дальний Восток России имеет значительный потенциал для развития сельскохозяйственной деятельности в области растениеводства [18]. В Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации (утв. Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642) описаны сценарии научно-технологического развития, определены вызовы и приоритеты научно-технологического развития, которые предусматривают формирование агропромышленного комплекса нового поколения, базирующегося на современных технологиях. Большой вызов для общества, государства и науки – обеспечение продовольственной безопасности и продовольственной независимости России, конкурентоспособности отечественного продовольствия на мировых рынках, снижение технологических рисков в агропромышленном комплексе.

Гречиха посевная, или съедобная (*Fagopyrum esculentum* Moench), – важная крупная и медоносная культура, широко культивируемая во многих странах мира. Она имеет оптимально сбалансированный аминокислотный состав, высокую пищевую и энергетическую ценность и считается одним из лучших диетических продуктов, в том числе для производства детского питания. В настоящее время в мире под посевами гречихи занято 2,5 млн га, а производство этой культуры составляет более 1,5 млн т. Основными производителями зерна гречихи в мире являются Россия и Китай [6].

На территории российского Дальнего Востока селекция гречихи проводится только в Федеральном научном центре (ФНЦ) агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (пос. Тимирязевский, Приморский край). История селекции гречихи в регионе насчитывает около 80 лет. На первом этапе в селекционной работе использовались методы массового, индивидуального и индивидуально-семейственного отборов. Исходным материалом служили местные образцы и сорта инорайонного происхождения. Исследования показали, что в подавляющем большинстве случаев последние были менее урожайными и демонстрировали неустойчивость к условиям муссонного климата [12]. Поэтому одним из главных направлений в селекции гречихи в Дальневосточном регионе является создание высокоадаптированных сортов, устойчивых к полеганию и осыпанию.

С 1980 г. в селекционной работе стали применять методы гибридизации, физического и химического мутагенеза, в результате чего были созданы и районированы сорта гречихи При 7 (1990 г.) и Изумруд (1996 г.). Эти ценные по качеству зерна сорта характеризуются высокой потенциальной урожайностью (до 3 т/га), крупноплодностью, устойчивостью к полеганию и осыпанию.

Особенность изучаемой культуры заключается в наличии биофлавоноидов (особенно кверцетин-3-О-рутинозида, или рутина) во всех частях растения. Рутин (витамин Р) применяется в медицине для лечения и профилактики нарушений, связанных с проницаемостью кровеносных капилляров (совместно с аскорбиновой кислотой предотвращает разрушение гиалуроновой кислоты), входит во многие препараты, в том числе «Рутин», «Венорутон», и чаще всего в сочетании с аскорбиновой кислотой – «Аскорутин», «Профилактин С» [11].

Основным источником получения рутина являются бутоны и цветки софоры японской (*Sophora japonica* L.). Промышленная сырьевая база данного растения в Российской Федерации отсутствует, а потребность в рутине удовлетворяется за счет импорта из Китая [10]. В ряде стран (Россия, Украина, Япония) для производства рутина получены специальные сорта *F. esculentum* Moench с повышенным его содержанием [15, 17]. Ранее нами было показано, что в надземной массе гречихи, культивируемой в Приморском крае, содержится 20–40 мг/г рутина, и этот сорт может быть использован в качестве флавоноидоносного сырья [8]. В настоящее время улучшение существующих сортов *F. esculentum* и создание новых с высоким содержанием флавоноидов (рутина) в плодах и растениях с целью получения ценных продуктов питания и лекарственного сырья для фармацевтической промышленности является приоритетным направлением в отечественной и зарубежной селекции.

Известно, что флавоноиды играют существенную роль в устойчивости растений к изменяющимся экологическим условиям, в процессах роста, развития, репродукции,

энергетическом обмене, защите от болезней, вирусов и в других жизненно важных функциях растительного организма [2, 3, 23]. В последние годы большой интерес вызывает изучение их вклада в антиоксидантную систему (в качестве низкомолекулярных антиоксидантов) [4, 21]. Обладая высокой реакционной способностью, фенольные соединения способны с легкостью вступать в свободнорадикальные реакции, протекающие в большом количестве при окислительном стрессе, вызванном действием абиотических и биотических факторов. Тем самым они могут инактивировать активные формы кислорода и замедлять окисление липидов клеточных мембран [19, 24]. При этом антиоксидантные свойства проявляют как фенолпропаноиды и их производные, так и флавоноиды [26]. Усиление синтеза фенолов в растениях можно считать неспецифической реакцией на стресс: их содержание увеличивается при повышенных или пониженных температурах воздуха, дефиците элементов минерального питания, разного рода повреждениях [9]. Синтез фенольных соединений относится к важнейшим метаболическим процессам, участвующим в защите и адаптации клеток и, вероятно, является одним из показателей, свидетельствующих о потенциальной способности растительных клеток выживать в стрессовых условиях [5].

Клеточная селекция с использованием летальных доз ионов тяжелых металлов может быть перспективным методом получения растительных форм с улучшенными показателями [16]. Такой способ селекции в культуре *in vitro* позволяет с помощью селективных фонов моделировать стрессовые условия и получать новые рекомбинанты растений с улучшенными адаптивными и качественными характеристиками.

С 1988 г. в селекции гречихи на Дальнем Востоке начался новый этап с применением методов биотехнологии. Исследовались процессы соматического эмбриогенеза и органогенеза. В результате установлено, что регенеранты имеют существенные различия в сравнении с исходными сортами по целому ряду признаков: продуктивности одного растения (8–15 г), крупноплодности (масса 1000 зерен 34–40 г), повышенному содержанию флавоноидов в плодах и надземной массе [1].

В настоящее время в селекции планируется расширить исследования с использованием метода ISSR-анализа для создания новых генотипов гречихи с повышенным содержанием флавоноидов, устойчивых к стрессовым факторам среды. Подобные исследования проводятся совместно с Тихоокеанским институтом биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Их результатом должны стать фундаментальные знания в области создания ценных генотипов гречихи с высоким содержанием флавоноидов.

Цель настоящей работы – создание и всестороннее изучение генотипов *Fagopyrum esculentum* Moench различного происхождения на продуктивность, содержание флавоноидов в надземной массе и плодах, адаптированных к стрессовым факторам среды Дальнего Востока.

Материалы и методика исследований

Экспериментальные исследования проведены в ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки и Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Объектом исследования являлись растения 31 сорта *F. esculentum* селекции Российской Федерации и Японии, а также селекционный материал, полученный в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки. В качестве стандарта были взяты районированные на Дальнем Востоке сорта гречихи Изумруд и При 7. Исследования по созданию толерантных к ионам тяжелых металлов растений гречихи выполнялись в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии. Семена помещали в чашки Петри, добавляли по 10 мл раствора соли сернокислой меди ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) либо сернокислого цинка ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Содержание сульфата меди составляло 46,0–5750,0, сульфата цинка – 101,0–808,0 мг/л. Семена проращивали в течение 5 дн. Контролем служила дистиллированная вода (рис. 1).

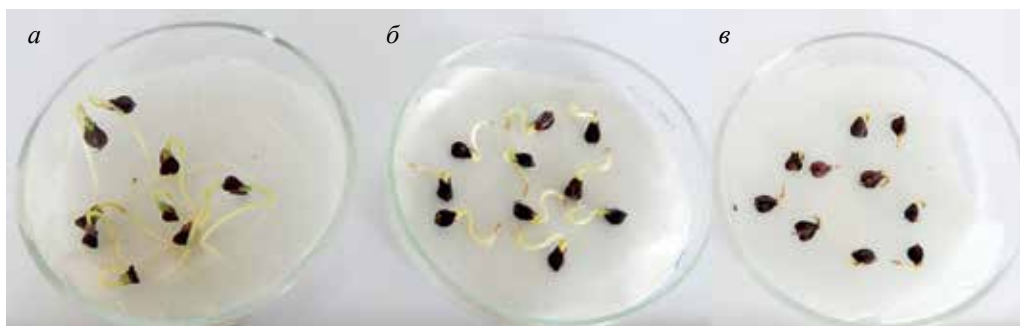


Рис. 1. Проращивание семян гречихи сорта Изумруд в растворах с повышенными концентрациями солей меди и цинка: а – контроль (дистиллированная вода), б – 606 мг/л сульфата цинка, в – 3450 мг/л сульфата меди

Выжившие проростки высевали в почву для получения семенного потомства, которое после размножения изучали в условиях селекционного питомника. Микропобеги (участки асептических растений с пазушной почкой) культивировали в течение 25 дн. на безгормональной селективной среде с минеральной основой по Мурасиге–Скугу (МС) [25], дополненной, в зависимости от варианта опыта, либо сульфатом цинка ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) в количестве 202, 404, 606 мг/л, либо сульфатом меди ($CuSO_4 \times 5H_2O$) в количестве 23, 46, 66, 161, 184 мг/л. В качестве контроля была взята безгормональная среда МС с содержанием сернистой меди 0,025 мг/л, сернистого цинка – 8,6 мг/л [25]. Толерантные к тяжелым металлам регенеранты гречихи микроклонировали на безгормональной питательной среде МС (рис. 2). Пробирочные растения культивировали в контролируемых условиях световой комнаты при 16-часовом дне, температуре 23 °С, освещенности 4 клк. Количественное определение суммы флавоноидов проводили согласно М.Н. Запрометову [3] в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Оптическую плотность исследуемого раствора определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-1700.

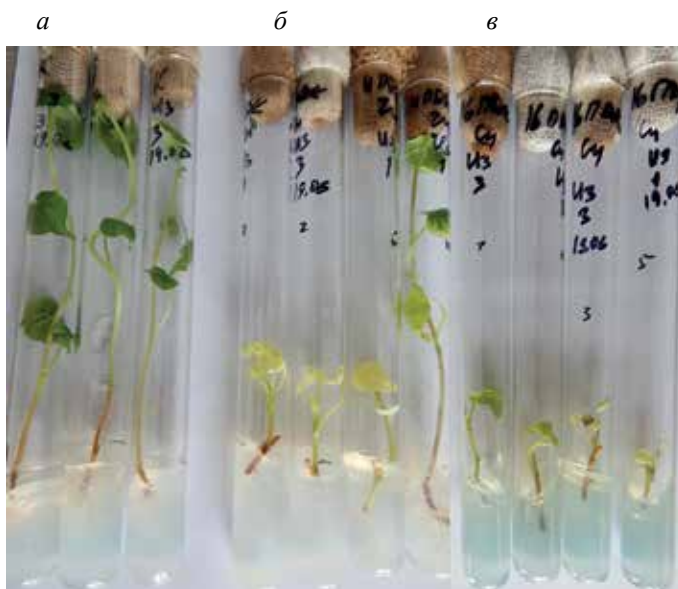


Рис. 2. Влияние действия тяжелых металлов на морфогенез гречихи сорта Изумруд в условиях *in vitro*: а – на контрольной среде без тяжелых металлов; б – на среде, содержащей 404 мг/л сульфата цинка, в – на среде с 184 мг/л сульфата меди

Результаты и обсуждение

В России и за рубежом селекционеры работают над выведением сортов гречихи с высоким содержанием флавоноидов (рутина) [6]. Использование продуктов питания, полученных из сортов такой гречихи, может предотвратить ряд заболеваний человека.

Исследуемые сорта гречихи по морфотипу были представлены индетерминантным (21 сорт) и детерминантным (10 сортов) типами роста стебля (табл.1).

Таблица 1

Продуктивность и содержание флавоноидов в надземной массе и плодах у индетерминантных и детерминантных сортов *F. esculentum*

Страна, регион России	Сорт	Содержание флавоноидов		Продуктивность одного растения, г	
		в плодах, мг/100 г	в надземной массе*, мг/г	Lim	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
Индетерминантный тип роста					
Приморский край	Изумруд, стандарт	7,5 ± 0,2	20,1 ± 0,3	1,0–1,79	1,32
	При 7	5,0 ± 0,1	19,7 ± 0,2	0,78–1,55	1,12
Республика Татарстан	Чатыр Тау	7,7 ± 0,2	17,7 ± 0,2	0,75–1,06	0,92
	Никольская	4,0 ± 0,1	16,0 ± 0,1	0,86–1,31	1,08
	Саулык	7,3 ± 0,2	14,4 ± 0,1	0,65–0,94	0,82
	Батыр	4,7 ± 0,1	17,9 ± 0,2	0,57–0,92	0,75
	Черемшанка	7,7 ± 0,2	19,2 ± 0,2	0,75–1,54	1,15
Республика Башкортостан	Землячка	6,0 ± 0,1	24,0 ± 0,3	0,96–1,72	1,40
	Башкирская красностебельная	15,0 ± 0,2	26,6 ± 0,3	0,97–1,50	1,15
	Илишевская	7,1 ± 0,1	25,1 ± 0,3	0,99–1,52	1,28
	Агидель	8,3 ± 0,2	21,1 ± 0,2	0,86–1,77	1,32
	Уфимская	5,7 ± 0,1	16,6 ± 0,1	0,97–1,33	1,18
	Инзерская	9,7 ± 0,2	21,4 ± 0,2	1,06–1,85	1,48
Орловская область	Каёмчатая	10,0 ± 0,2	20,2 ± 0,2	0,40–0,98	0,72
	Молва	8,0 ± 0,2	21,4 ± 0,2	0,87–1,69	1,22
Новосибирская область	Наташа	8,3 ± 0,2	16,1 ± 0,1	0,78–1,50	1,05
Амурская область	Амурская местная	4,3 ± 0,1	19,2 ± 0,2	0,55–0,89	0,75
Нижегородская область	Стрелка	4,0 ± 0,1	19,4 ± 0,2	0,77–1,12	0,95
Япония	Китавэ соба	6,3 ± 0,1	19,5 ± 0,2	0,87–1,61	1,10
	Манкан	5,7 ± 0,1	16,4 ± 0,1	0,75–0,97	0,87
	Синаноану соба	6,9 ± 0,1	19,7 ± 0,2	0,78–1,01	0,89
Детерминантный тип роста					
Новосибирская область	Ирменка	7,3 ± 0,2	21,1 ± 0,2	0,84–1,23	1,01
Орловская область	Дождик	5,3 ± 0,1	14,9 ± 0,1	0,67–1,02	0,85
	Есень	4,3 ± 0,1	18,9 ± 0,1	0,60–1,23	0,95
	Дружина	9,0 ± 0,2	17,1 ± 0,1	0,85–1,24	1,02
	Дизайн	4,0 ± 0,1	23,5 ± 0,3	0,86–1,52	1,15
	Девятка	8,3 ± 0,2	13,6 ± 0,1	0,78–1,43	1,18
	Диалог	7,0 ± 0,1	20,6 ± 0,2	0,98–1,62	1,38
	Деметра	6,7 ± 0,1	15,0 ± 0,1	1,15–1,5	1,32
	Диккуль	8,7 ± 0,2	15,4 ± 0,1	1,27–1,94	1,55
	Темп	6,3 ± 0,1	17,7 ± 0,1	0,97–1,35	1,15

* Содержание флавоноидов в фазу плодообразования.

У индетерминантных сортов верхушка побега заканчивается сложным соцветием, состоящим из кистей. Детерминантные растения характеризуются ограниченным ростом, и верхушечное соцветие у них представлено простой кистью.

Результаты определения флавоноидов показали существенные различия в их содержании в зависимости от генотипа *F. esculentum* и максимальные их количества в надземной массе (13,6–26,6 мг/г) по сравнению с плодами (4,0–15,0 мг/100 г). Содержание флавоноидов в надземной массе в 150–200 раз было выше, чем в плодах. Это подтверждается литературными данными и нашими собственными исследованиями. Максимальное содержание флавоноидов в надземной массе отмечается в фазу массового цветения, что связано с увеличением синтеза фенольных соединений в вегетативных (листья, стебли) и генеративных (бутоны, цветки) органах в период активного роста от фазы всходов до цветения. К фазе плодообразования содержание флавоноидов уменьшается [6, 14].

Самая высокая способность к накоплению флавоноидов в плодах (15,0 мг/100 г) характерна для индетерминантного сорта Башкирская красностебельная, который был получен из гибридной популяции с участием красноцветкового мутанта сорта Рубра (Каменец-Подольский аграрно-технический университет, Украина) и сортов Уфимская и Чишминская (Башкирский НИИСХ, Россия) [15]. У остальных генотипов индетерминантного типа роста этот показатель находился в пределах 4,0–10,0 мг/100 г, а у сортов детерминантного морфотипа – 4,0–9,0 мг/100 г. В надземной массе максимальное количество флавоноидов отмечено у индетерминантных сортов Башкирская красностебельная (26,6 мг/г), Землячка (24,0 мг/г) и Илишевская (25,1 мг/г) из Республики Башкортостан. Среди детерминантных растений наибольшее содержание флавоноидов имели сорта Дизайн, Ирменка и Диалог. Аналогичные результаты получены в условиях Орловской области у детерминантных сортов Дизайн и Диалог [14]. У широко распространенных в Приморском крае районированных сортов Изумруд и При 7 количество флавоноидов в надземной массе было не более 20,1 мг/г. В среднем наибольшая продуктивность в сравнении со стандартом Изумруд была отмечена у индетерминантного сорта Инзерская (на 0,16 г) и детерминантного Диккуль (на 0,23 г). Высокие показатели продуктивности местных сортов Изумруд и При 7, наряду с меньшей амплитудой ее изменчивости по годам, указывают на их лучшую приспособленность к эколого-географическим условиям Дальнего Востока. Полученные результаты могут быть использованы в селекции новых сортов *F. esculentum* с повышенным содержанием флавоноидов. Подбор родительских пар при этом проводится с учетом содержания флавоноидов в растениях гречихи.

Следует отметить, что *F. esculentum* как источник флавоноидов представляет несомненный интерес не только для пищевой промышленности, но и для медицины в качестве возможного лекарственного растительного сырья, тем более что данный вид широко культивируется в России и объемы получаемого урожая могут обеспечить необходимые для фармацевтики сырьевые ресурсы.

С целью выявления диагностических признаков для практической селекции нами проведены комплексные исследования, которые показали, что внутривидовые и внутрисортные изменения по окраске растений имеют широкий спектр (красные, красно-зеленые, зелено-красные и зеленые) и обусловлены не только генотипом сорта, но и в значительной степени изменчивостью, проявление которой зависит от различных факторов [6].

В результате химического анализа растений гречихи, отобранных по окраске, установлено, что растения гречихи сорта Изумруд и При 7 с красной окраской стебля и ветвей содержат больше рутина по сравнению с растениями, имеющими зеленый, зелено-красный и красно-зеленый цвета. По нашему мнению, антоциановая (темно-красная) окраска стеблей – хороший диагностический признак, который можно использовать для целенаправленного отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе. Установлена высокая положительная корреляция ($r = 0,87$) между содержанием рутина в надземной массе и окраской растений у сортов При 7 и Изумруд. На основе полученных данных нами разработан способ отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе [13]. Отбор растений проводится по антоциановой окраске стеблей в фазу плодообразования, что согласуется с литературными данными о зависимости

окраски органов растений от их химического состава. Эту закономерность можно использовать в селекции для отбора ценных форм [22].

Антоцианы (пигменты высших растений) – вещества фенольной природы, которые не только придают окраску органам растений, но и участвуют в защите их тканей от стрессовых воздействий (низких температур, загрязнений тяжелыми металлами, засухи и др.) [3, 10, 20]. Растения *F. esculentum* имеют белые, зеленые, розовые и красные цветки (рис. 3). По окраске цветков можно судить о содержании рутина в разных сортах гречихи. Наибольшее количество этого флавоноида было выявлено в растениях с красными (42,8 мг/г), наименьшее – с белыми цветками (34,0 мг/г).

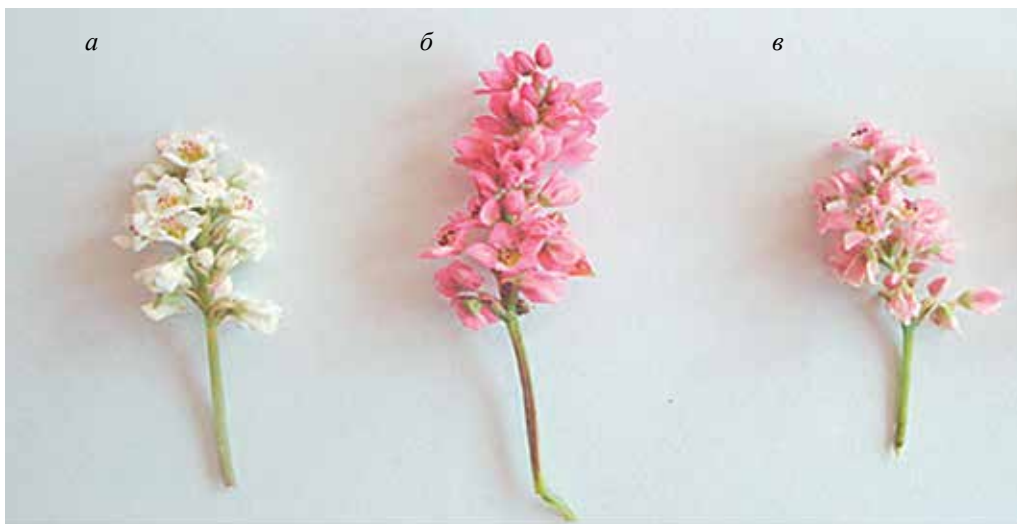


Рис. 3. Окраска цветков у сортов *F. esculentum*: а – белая, б – красная, в – розовая

Таким образом, красная окраска цветков – хороший диагностический признак, который можно использовать в качестве критерия при отборе растений гречихи с высоким содержанием флавоноидов. Следовательно, при создании новых сортов гречихи с повышенным содержанием флавоноидов уже на первых этапах целесообразно проводить отбраковку гибридного материала по окраске цветков, стеблей. Особое внимание при этом следует уделять использованию клеточной селекции культур *in vitro* в сочетании с гибридизацией, что позволит с помощью селективных фонов моделировать стрессовые условия и получать новые рекомбинанты растений с адаптивными реакциями. Это особенно перспективно и актуально. В Польше на фармацевтическом факультете Медицинского университета им. К. Марцинковского осуществлена регенерация растений из каллуса гречихи, а также выявлена возможность получения с помощью культуры тканей вторичных метаболитов, в частности рутина [16].

В лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки культивирование эксплантов гречихи на селективных средах *in vitro*, содержащих повышенные концентрации ионов меди и цинка, индуцировало большую часть положительных изменений. Проведенный химический анализ количественного содержания флавоноидов в растениях-регенерантах гречихи после культивирования на питательных средах с повышенными концентрациями сернокислой меди и сернокислого цинка выявил тенденцию к его увеличению с повышением концентрации соли цинка до 606 мг/л, соли меди до 161 мг/л (рис. 4).

Полевые испытания образцов гречихи, полученных под действием повышенных концентраций ионов меди и цинка, показали наличие у них изменений в сравнении с исходными сортами по ряду селекционных показателей, представленных в табл. 2.

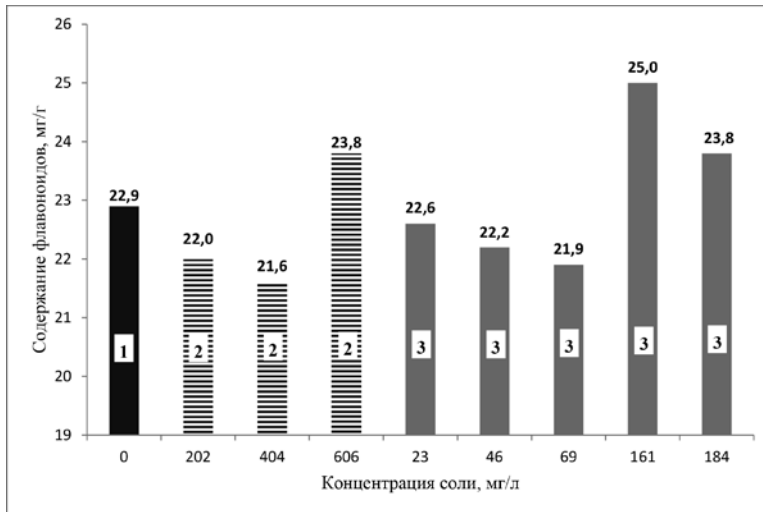


Рис. 4. Содержание флавоноидов в надземной массе у растений-регенерантов гречихи сорта Изумруд, полученных под действием ионов меди и цинка *in vitro*. Образцы: 1 – без тяжелых металлов, 2 – с сульфатом цинка, 3 – с сульфатом меди

Таблица 2

Селекционные показатели образцов гречихи, толерантных к ионам меди и цинка

Сорт, номер образца	Происхождение, содержание соли тяжелых металлов, мг/л	Продуктивность одного растения, г	Масса 1000 зерен, г	Содержание флавоноидов в надземной массе в фазу цветения, мг/г
Изумруд (исходный сорт)		1,12 ± 0,30	34,0	26,0 ± 0,1
575	404,0 ZnSO ₄ × 7H ₂ O	3,20 ± 0,24*	36,2*	35,0 ± 0,1*
468	606,0 ZnSO ₄ × 7H ₂ O	1,92 ± 0,28*	38,0*	24,0 ± 0,2
Изумруд × Китаवासэ, 497	161,0 CuSO ₄ × 5H ₂ O (микробоег <i>in vitro</i>)	1,20 ± 0,48	30,4	36,0 ± 0,3*
Китаवासэ (исходный сорт)		1,60 ± 0,21	32,0	20,0 ± 0,2
482	101,0 ZnSO ₄ × 7H ₂ O (микробоег <i>in vitro</i>)	1,13 ± 0,26	25,0	28,0 ± 0,2*
487	606,0 ZnSO ₄ × 7H ₂ O (микробоег <i>in vitro</i>)	2,09 ± 0,33*	36,0*	20,5 ± 0,2
547	46,0 CuSO ₄ × 5H ₂ O + колхицин 48 ч <i>in vitro</i>	0,85 ± 0,12	29,6	43,0 ± 0,1**
535	R30, 60,0 CuSO ₄ × 5H ₂ O <i>in vitro</i>	0,91 ± 0,12	32,0	28,0 ± 0,1*
517	R62, 60,0 CuSO ₄ × 5H ₂ O <i>in vitro</i>	1,81 ± 0,40*	31,0	20,0 ± 0,2
$\bar{x} \pm S\bar{x}$		1,58 ± 0,22	32,4 ± 1,2	28,5 ± 0,23
V***, %		45,7	11,7	25,9

*Различия достоверны при P < 0,05.

**Различия достоверны при P < 0,01 по сравнению с исходным сортом.

***V – коэффициент вариации.

Повышенные концентрации тяжелых металлов в большей степени отразились на изменчивости семенной продуктивности (коэффициент вариации 32,7 %). Содержание флавоноидов в надземной массе также характеризовалось значительной изменчивостью (коэффициент вариации 25,9 %). Отмечено среднее варьирование значений показателя признака «масса 1000 зерен» (11,7 %). Более детальный анализ результатов действия тяжелых

металлов свидетельствует, что существенные превышения показателей семенной продуктивности растения и массы 1000 зерен в сравнении с исходным сортом получены для растений гречихи, толерантных к ионам цинка (образцы 468, 487). Под действием повышенных концентраций ионов меди происходят положительные изменения в продуктивности семян с одного растения и содержании флавоноидов в надземной массе у образцов 517 и 497, 547, 535 соответственно. На основе сравнительного анализа установлено, что высокое содержание флавоноидов в надземной массе в фазу цветения (43 мг/г) имеет линия 547, полученная на основе японского сорта Китакасэ с применением сульфата меди (46 мг/л). Содержание флавоноидов у исходного сорта Китакасэ 20,0 мг/г, т.е. содержание флавоноидов в регенерантах гречихи после культивирования на селективных средах *in vitro* с повышенными концентрациями ионов меди, значительно повысилось. Отмечено высокое содержание флавоноидов в надземной массе у регенерантной линии 497, Изумруд × Китакасэ (161,0 $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) – 36,0 мг/г и линии 575 (404,0 $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) – 35,0 мг/г, полученных на основе исходного сорта Изумруд (26,0 мг/г). В связи с этим особый интерес при создании высокорутинных линий гречихи, по нашему мнению, представляет использование селективных сред с ионами тяжелых металлов.

В результате целенаправленной селекционной работы методами гибридизации и культуры тканей создан перспективный сорт Уссурочка (Изумруд × Черноплодная) × (Изумруд × Китакасэ) *in vitro* на селективной среде с ионами меди с повышенным содержанием флавоноидов в плодах (9,7 мг/г) и другими хозяйственно ценными признаками по сравнению с районированными сортами Изумруд и При 7. Сорт Уссурочка в 2017 г. передан на государственное сортоиспытание [7]. Высокая способность к накоплению фенольных соединений как важных компонентов антиоксидантной системы защиты растений может служить критерием высокой устойчивости растений к действию стрессовых факторов.

При создании нового сорта прежде всего необходимо определить его показатели на данном этапе селекции. Для этого разрабатывается модель будущего сорта. В связи с отсутствием модели сорта *F. esculentum* с повышенным содержанием флавоноидов для условий Дальнего Востока нами предпринята попытка ее создания с учетом оптимальных морфологических, биологических, биохимических и хозяйственно ценных признаков с использованием анализа 40-летних данных по селекции. Параметры сорта предусматривают повышение потенциальной урожайности до 3,0 т/га, массы 1000 зерен до 32–40 г. Морфотип модельного сорта должен быть красноцветковым, черноплодным, с вегетационным периодом 60–75 сут, адаптированным к условиям произрастания на Дальнем Востоке. Модель нового сорта предполагает увеличение содержания флавоноидов в плодах до 5, в надземной массе – до 80, цветках – до 140, листьях – до 100, проростках – до 30, корнях – до 15, стеблях – до 50, соломе – до 25 мг/г, плодовых оболочках – до 3 мг/г (табл. 3).

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о перспективах использования клеточной селекции в культуре *in vitro* гречихи для получения регенерантных линий с повышенным содержанием флавоноидов и другими хозяйственно ценными признаками (продуктивность, масса 1000 зерен). Выявленные взаимосвязи между содержанием флавоноидов и окраской разных органов (стебель, цветки) *F. esculentum* позволяют внести некоторые коррективы в существующие методы отбора ценных форм с высоким содержанием флавоноидов (рутина), более адаптированных к абиотическим и биотическим стрессам. Определены диагностические признаки, которые целесообразно использовать в селекции для создания новых сортов, имеющих высокое содержание флавоноидов, с целью получения функциональных продуктов питания и перспективного отечественного источника Р-витаминного сырья для фармацевтической промышленности.

Параметры модели сорта *F. esculentum* с повышенным содержанием флавоноидов, адаптированного к абиотическим и биотическим факторам среды Дальнего Востока России

Признак	Показатели районированных сортов	Показатели модели сорта
Морфологические		
Окраска плода	коричневая	черная
Окраска ядрицы	светло-коричневая, салатная	салатная, светло-зеленая
Окраска цветка	белая и розовая	красная
Окраска стебля и ветвей	зеленая, зелено-красная	красная
Окраска семян	зеленая	фиолетовая
Окраска жилок у основания листа	зеленая	красная
Окраска корней в фазу созревания	коричневая	светло-коричневая
Размер листа	средний	средний, крупный
Высота растения, см	80–120	70–100
Толщина первого междоузлия, мм	3–5	5–7
Длина первого междоузлия, см	4–8	3–5
Число ветвей первого порядка, шт.	2–4	3–5
Число ветвей второго порядка, шт.	2–3	3–4
Число ветвей третьего порядка, шт.	1–2	2–3
Высота прикрепления первого соцветия, см	20–35	10–20
Количество соцветий на растении, шт.	15–30	30–50
Биологические		
Период вегетации, дни	70–85	60–75
Период всходы–цветение, дни	30–35	25–35
Период цветение–созревание, дни	40–50	35–40
Устойчивость к полеганию, балл	4–5	5
Устойчивость к осыпанию, балл	4–5	5
Устойчивость к фузариозу, балл	7–9	1–3
Засухоустойчивость, %	5–7	1–3
Корнеобеспеченность надземной массы в фазу созревания	0,05–0,10	0,10–0,30
Биохимические		
Содержание флавоноидов, мг/г:		
плоды	1–2	3–5
надземная масса	30–40	60–80
цветки	50–60	100–140
листья	40–55	80–100
стебли	12–25	30–50
корни	05–06	12–15
проростки	10–20	20–30
солома	10–15	20–25
плодовые оболочки	1–1,5	2–3
Выход флавоноидов с гектара, кг	70–100	150–250
Содержание сахара в одном цветке, мг	0,07–0,11	0,8–0,2
Содержание белка в плодах, %	10–14	12–14
Содержание аминокислот, %:		
валин	0,46–0,55	0,55–0,65
изолейцин	0,30–0,36	0,35–0,40
лейцин	0,96–1,16	0,10–1,25
лизин	0,80–0,95	0,85–0,15
метионин	0,02	0,02–0,03
треонин	0,50–0,60	0,55–0,70
фенилаланин	0,43–0,52	0,45–0,65
аргинин	0,82–0,98	0,85–0,10
Содержание крахмала в плодах, %	53–61	55–65

Признак	Показатели районированных сортов	Показатели модели сорта
Содержание жира в плодах, %	2,0–3,0	2,0–4,0
Содержание микроэлементов, мг/100 г:		
железо	7,7–8,3	8,0–8,5
кальций	0,07–0,09	0,08–0,10
магний	0,17–0,23	0,20–0,25
фосфор	0,25–0,33	0,30–0,40
цинк	0,035–0,040	0,040–0,050
Хозяйственные		
Потенциальная урожайность, т/га	2,0–3,2	3,0–4,0
Урожайность средняя, т/га	1,2–1,6	2,0–2,5
Продуктивность одного растения, г	1,0–3,5	3,5–5,5
Масса 1000 зерен, г	28–34	32–40
Пленчатость, %	20–23	20–23
Выравненность зерна, %	80–90	80–90
Выход крупы, %	75–78	76–80
Кулинарные достоинства крупы, балл	5	5

Таким образом, определены перспективные направления научных исследований по селекции гречихи на Дальнем Востоке:

– геномные и биотехнологические исследования с целью создания новых высокопродуктивных сортов гречихи, адаптированных к почвенно-климатическим условиям Дальневосточного региона;

– развитие производства и глубокой переработки гречихи, создание новых качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Для эффективного выполнения поставленных задач необходимы междисциплинарные исследования совместно с Тихоокеанским институтом биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Институтом химии ДВО РАН, ДВФУ и другими учреждениями региона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсукова Е.Н. Клеточная селекция гречихи посевной в условиях ионного стресса // *Аграрная Россия*. 2013. № 10. С. 2–4.
2. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных. Новосибирск, 2004. 240 с.
3. Запретов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
4. Казанцева В.В., Гончарук Е.А., Фесенко А.Н., Широкова А.В., Загоскина Н.В. Особенности образования фенольных соединений в проростках гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) различных сортов // *Сельхоз. биология*. 2015. Т. 50, № 5. С. 611–619.
5. Калашникова Е.А. Биологические основы клеточной селекции растений // *Докл. ТСХА*. 2003. Вып. 275. С. 110–112.
6. Клыков А.Г., Моисеенко Л.М., Горовой П.Г. Биологические ресурсы видов рода Гречиха (*Fagopyrum* Mill.) на российском Дальнем Востоке. Владивосток: Дальнаука, 2018. 304 с.
7. Клыков А.Г., Барсукова Е.Н., Парская Н.С. Основные направления и методы в селекции гречихи на Дальнем Востоке // *Генофонд и селекция растений: материалы IV Междунар. науч.-практ. конф.*, Новосибирск, 4–6 апр. 2018 г. Новосибирск: ИЦИГ СО РАН, 2018. С. 176–180.
8. Клыков А.Г., Моисеенко Л.М., Горовой П.Г. Сезонная динамика содержания рутина и продуктивность надземной фитомассы у трех видов *Fagopyrum* Mill., выращиваемых в Приморском крае // *Растительн. ресурсы*. 2003. Вып. 3. С. 77–82.
9. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: Изд-во БГУ, 2004. 179 с.
10. Куркин В.А. Фармакогнозия. 2-е изд., перераб. и доп. Самара: Офорт, 2007. 1239 с.

11. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., исправ. и доп. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
12. Моисеенко А.А., Моисеенко Л.М., Клыков А.Г., Барсукова Е.Н. Гречиха на Дальнем Востоке. М.: Росинформротех, 2010. 276 с.
13. Пат. 2255466 Российская Федерация, МПК⁷ А 01 Н 1/04. Способ отбора растений гречихи с высоким содержанием рутина в надземной массе / А.Г. Клыков, Л.М. Моисеенко; ПримНИИСХ РАСХН. № 2003108308; заявл. 25.03.2003; опубл. 10.07.2005, Бюл. № 19.
14. Полежаева Н.Н., Павловская Н.Е. Динамика накопления биохимических соединений антиоксидантного действия в разных органах гречихи в процессе онтогенеза // Фундамент. исслед. 2013. № 10. С. 357–361.
15. Сабитов А.М., Магафурова Е.Ф., Хуснутдинов В.В. О новых направлениях селекции гречихи в Башкирском НИИСХ // Достижения науки и техники АПК. 2010. № 3. С. 20–22.
16. Сергеева Л.Е., Бронникова Л.И. Клеточная селекция с ионами тяжелых металлов: новые аспекты комплексной устойчивости // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: сб. тез. X Междунар. конф., Казань, 1–6 окт. 2013. Казань, 2013. С. 82–83.
17. Соколов О.А. Качество урожая гречихи. Пушкино: ПНЦБИ РАН, 1983. 264 с.
18. Чайка А.К., Клыков А.Г. Приоритетные направления в развитии агропромышленного комплекса Дальнего Востока России // Вестн. ДВО РАН. 2016. № 2. С. 24–30.
19. Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // *Ann. Bot.* 2003. Vol. 91. P. 179–194.
20. Cheynier V., Comte G., Davis K.M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // *Plant Physiol. Biochem.* 2013. Vol. 72. P. 1–20.
21. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. and Biochem.* 2010. Vol. 48. P. 909–930.
22. Kosyan A., Sytar O., Taran N. Anthocyanins as marker for selection buckwheat plants with high rutin content // *Advances in buckwheat research: Proc. of the 11th Int. Symp. on buckwheat.* Orel, 2010. P. 314–319.
23. Lattanzio V., Kroon P.A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics-secondary metabolites with diverse functions // *Recent advances in polyphenol research / eds F. Daayf, V. Lattanzio.* Oxford: Wiley-Blackwell, 2008. Vol. 1. P. 1–35.
24. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Sci.* 2002. Vol. 7. P. 405–410.
25. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, N 13. P. 473–497.
26. Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evance C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and chain-breaking antioxidants // *Arch. Biochem. Biophys.* 1995. Vol. 322. P. 339–346.