

Аспекты применения метода химического мутагенеза при создании сортов *Calendula officinalis* L.

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-110-122

УДК 633.8:631.524.1

Поступление/Received: 27.07.2020

Принято/Accepted: 01.03.2021



Aspects of applying the method of chemical mutagenesis to develop cultivars of *Calendula officinalis* L.

Ф. М. ХАЗИЕВА*, И. Н. КОРОТКИХ

F. M. KHAZIEVA*, I. N. KOROTKIKH

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 117216 Россия, г. Москва, ул. Грина, 7

✉ *vilar.6@yandex.ru; slavnica241270@yandex.ru

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7 Grina St., Moscow 117216, Russia

✉ *vilar.6@yandex.ru; slavnica241270@yandex.ru

Актуальность. Необходимость непрерывной селекционной работы по созданию новых сортов *Calendula officinalis* L. вызвана накоплением малоценных генотипов в уже возделываемых сортах вследствие перекрестного характера опыления.

Материалы и методы. Семена, отобранные из высокоурожайных биотипов сорта 'Кальта', обрабатывались различными мутагенами в экспозиции 18 часов. Определяли частоту мутаций в первом мутантном поколении (M_1), посевные качества семян, оценивали жизнеспособность растений в условиях полевой культуры. В фазе «массовое цветение» учитывали изменения по следующим признакам: «высота растения», «число листьев», «число соцветий на растении», «диаметр соцветий», «число рядов язычковых цветков», «масса одного соцветия». Урожайность сырья (свежую и воздушно-сухую массу соцветий) рассчитывали по каждому сбору и по сумме семи сборов в период цветения.

Результаты. Наиболее эффективными мутагенами при создании нового исходного материала для селекции *C. officinalis* оказались ДЭС_{0,05%} и ДМС_{0,08%}. Обработка нитрозометилмочевинной (НММ_{0,02%} и НММ_{0,04%}) привела к нарушению процесса плодообразования. В результате многолетней селекционной работы (2009–2016 гг.) на основе мутантных поколений M_2 – M_3 созданы сорта 'Золотое море' и 'Райский сад', превосходящие сорт 'Кальта' по урожайности соцветий на 39 и 30%, по урожайности семян на 48 и 49%, по содержанию экстрактивных веществ на 13,8 и 21,3%, по содержанию суммы флавоноидов на 29,9 и 43,3% соответственно.

Заключение. Новые сорта *C. officinalis* 'Золотое море' и 'Райский сад' созданы в соответствии со схемой мутационной селекции с применением метода химического мутагенеза, корреляционного и вариационного анализов, с проведением расширенного отбора растений, измененных по морфологическим признакам, продуктивности и содержанию биологически активных веществ (в первом мутантном поколении) и оценкой по однородности, отличимости и стабильности во втором и последующих поколениях.

Ключевые слова: календула лекарственная, селекция, химический мутагенез, сорт, признаки, продуктивность.

Background. The need for continuous breeding practice to develop new varieties of *Calendula officinalis* L. is induced by the accumulation of low-grade morphotypes in the already existing cultivars as a result of crosspollination.

Materials and methods. Seeds selected from high-yielding biotypes of cv. 'Kalta' were treated with various mutagens for 18 hours, using 1000 seeds for each option. The mutation rate in the M_1 generation and seed quality were determined, and plant viability was assessed under field conditions. Plant height, number of branches, number of leaves, number of inflorescences per plant, inflorescence diameter, number of ray floret rows, and weight of one inflorescence were measured in the mass flowering phase. The yield of raw materials (fresh and air-dry biomass of inflorescences) was calculated for each harvest and for the total amount of all 7 harvests during the flowering period.

Results. The mutagens DES_{0,05%} and DMS_{0,08%} turned out the most effective for developing new source material. None of the plants produced seeds after treatment with nitrosomethyl urea (NMU_{0,02%}), and only one plant produced seeds after treatment with NMU_{0,04%}. As a result of a long-term breeding process (2009–2016), new varieties were developed on the basis of mutant generations M_2 – M_3 : cvs. 'Zolotoe more' and 'Rajskij sad', both exceeding cv. 'Kalta' in the yield of inflorescences by 39 and 30%, seed yield by 48 and 49%, total extractives by 13.8 and 21.3%, and total flavonoids by 29.9% and 43.3%, respectively.

Conclusion. New cultivars of *C. officinalis*, 'Zolotoe more' and 'Rajskij sad', were developed in accordance with the mutation breeding scheme that employed methods of chemical mutagenesis, with expanded selection of plants altered in their morphological characteristics, productivity and content of bioactive compounds in the first mutant generation and assessment of uniformity, distinctness and stability in the second and subsequent generations.

Key words: common marigold, plant breeding, chemical mutagenesis, cultivar, traits, productivity.

Введение

Календула лекарственная, или ноготки лекарственные (*Calendula officinalis* L.), является одним из наиболее важных видов лекарственных растений, возделываемых во многих странах мира, таких как Германия, Великобритания, Нидерланды, США, Испания, Индия, Румыния, Франция.

Наиболее распространенными препаратами на основе лекарственного растительного сырья *C. officinalis* являются: настойка календулы (Tinctura Calendulae); настой цветков календулы (Infusum florum Calendulae); мазь «Календула» (Unguentum Calendulae); Калефлон (Caleflonum) и многие другие. Другие изделия широко применяются в косметике, пищевой индустрии и фармакологии (Długosz et al., 2013).

В России селекция календулы направлена преимущественно на создание сортов, предназначенных для медицинского использования. Календула лекарственная в промышленных масштабах возделывается в Центрально-Черноземной зоне России, на Северном Кавказе, а также в Белоруссии и на Украине. Несколько десятилетий традиционными сортами для производства лекарственного растительного сырья ноготков являлись сорта 'Рыжик' (с 1981 г.), 'Кальта' (с 1984 г.), 'Сахаровская Оранжевая' (с 1990 г.).

Возделываемые сорта должны обладать экологической пластичностью, то есть сохранять стабильно высокую урожайность и быть адаптированными к разным природно-климатическим условиям. Примером такого сорта служит сорт календулы лекарственной 'Кальта', который возделывался в СССР и в настоящее время возделывается в России. Сорт 'Кальта' был включен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, в 1984 г., характеризуется оранжево-желтой окраской язычковых цветков¹ и желтой окраской трубчатых (Methods of trials..., 1999).

Урожайность лекарственного растительного сырья (соцветий) ноготков напрямую связана с махровостью соцветий – чем больше число рядов язычковых цветков, тем больше урожайность соцветий: если масса одного сырого соцветия в среднем у немахровых соцветий составляет 1,5 г, то у махровых – 2,2 г. Также и урожайность семян напрямую коррелирует с махровостью соцветий: на одном полностью махровом соцветии – более 100 семян, в то время как на немахровом соцветии размещается только около 30 семян (Ismagilov, Kostylev, 2000).

За многие годы промышленного возделывания сорт 'Кальта' вследствие перекрестного характера опыления потерял не только морфологические, но и хозяйственно полезные признаки. К началу нашего исследования (2009 г.) у сорта 'Кальта' наблюдался широкий полиморфизм морфологических признаков – соцветия отличались по диаметру (от 3 до 10 см), числу рядов язычковых цветков (от 1 до 5 шт.), по цвету трубчатых цветков (от желтого, оранжевого до светло-коричневого и коричневого цветов) и язычковых цветков (от светло-желтого до оранжевого). В связи с вышесказанным возникла необходимость возобновления селекционной работы с целью создания новых сортов календулы, характеризующихся комплексом отличительных и устойчивых морфологических и хозяйственно биологических показателей.

Махровость соцветий обусловлена формированием преимущественно женских язычковых цветков, у которых полностью подавлено развитие тычинок и сильно разрастается венчик. Махровость выше в прохладные и влажные годы, то есть в определенной мере зависит от метеорологических условий – температуры и влагообеспеченности в период формирования генеративного побега. Кроме того, махровость соцветий может возникать как мутация при обработке семян различными мутагенами.

Химический мутагенез – это простой подход, который используется для получения мутаций у экономически важных культур или видов растений, для улучшения их полезных хозяйственных признаков. В последнее десятилетие насчитывалось более 2543 мутантных сортов, созданных в 50 странах мира, полученных из 175 видов растений, включая декоративные, зерновые, масличные, бобовые, овощные, плодовые (Shorpa, 2005). В селекционной работе подбор эффективного и действенного мутагена важен для получения высокой частоты желательных мутаций и морфологически разнородных форм с целью вовлечения их в селекционный процесс (Roychowdhury, Tah, 2011). В частности, махровость соцветий может возникать при обработке семян диметилсульфатом (ДМС). Данный мутаген влияет на процесс мейоза: у махровых растений, начиная с профазы, первое деление мейоза протекает со значительными нарушениями (Tatevosyan, 1979).

В последние годы возобновились исследования по влиянию на календулу лекарственную различных мутагенов в различных концентрациях – колхицина, 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, азида натрия (SA), диэтилового сульфата (DES) и др. Отмечено как стимулирующее, так и угнетающее действие в зависимости от типа и дозы применяемого мутагена (Vätavu et al., 2008; El-Nashar, Asrar, 2016).

Целью данного исследования было создание селекционного материала календулы лекарственной с использованием метода химического мутагенеза для получения новых высокопродуктивных сортов.

Материалы и методы

Опыты проводили на опытных полях отдела агробиологии и селекции Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР; Москва) в 2009–2016 гг. Почвенный покров опытного участка представлен дерново-подзолистыми средне-оподзоленными пылеватыми суглинками (мощностью 80–100 см), подстилаемыми моренными отложениями. Пахотный горизонт – мощностью 22–23 см, буровато-серой окраски, мелкокомковатый или комковатый. По гранулометрическому составу почва пахотного слоя среднесуглинистая. Содержание агрономически ценных водопрочных агрегатов (> 0,5 мм) составляет 40–50%. Агрохимические показатели почвы составляют: содержание гумуса – 2,1%, содержание подвижного фосфора P_2O_5 – 52 мг/кг, обменного калия K_2O – 87 мг/кг, pH – 5,5 (Zagumennikov, 2006).

Семена, отобранные из высокоурожайных биотипов сорта 'Кальта' (далее контроль), обрабатывались различными мутагенами. Семена замачивали в экспозиции 18 часов в растворах мутагенов: НММ (нитрозометилмочевина) в концентрации 0,02 и 0,04%, ДЭС (диэтилсульфат) – 0,025 и 0,05%, ЭМС (этилметилсуль-

¹ ложноязычковые цветки (прим. ред.)

фат) – 0,03%, ДМС (диметилсульфат) – 0,04, 0,06 и 0,08%. Число семян в опыте по каждому варианту – 1000 шт. Обработку семян мутагенами проводили в Институте биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН. Контроль – семена, замоченные в воде. После обработки проросшие семена промывали в чистой воде, проводили пикировку и выращивали в теплице для получения рассады. Питомник M_1 (первое мутантное поколение) был заложен трехнедельной рассадой, которую высаживали по схеме 60 × 30 см. Питомник растений M_2 (второе мутантное поколение) заложен грунтовым посевом семян, полученных с индивидуальных растений в M_1 . Площадь делянки в питомнике M_1 – 15,2 м² без повторностей, число учетных растений – 70–90; площадь делянки в питомниках M_2 и M_3 – 11,2 м² в двукратной повторности (в питомнике M_3 – в четырехкратной повторности) каждого варианта, учетная площадь – 4,5 м².

Частоту мутаций в M_1 определяли, как отношение числа растений с мутациями к общему числу исследованных растений; учитывали показатели всхожести семян, а также выживаемость рассады в полевых условиях после воздействия мутагенов. Лабораторную всхожесть семян определяли на 1000 шт., обработанных мутагенами в каждом варианте опыта. В M_2 учитывали в фазе «массовое цветение» изменения по морфологическим признакам: «высота растений», «число листьев», «число соцветий на растении». В M_1 и M_2 по мере распускания цветков определяли диаметр соцветий, число рядов язычковых цветков, массу одного соцветия и различные морфологические изменения соцветий.

Наследуемость признаков проверяли во втором и третьем поколении (M_2 и M_3): учет по морфологическим признакам – аналогично учету в поколении M_1 ; урожайность сырья (соцветия) рассчитывали по сумме семи сборов соцветий в период цветения растений. Учитывали свежую и воздушно-сухую массу сырья по каждому сбору, использовали теплую сушку при температуре 45–50°C с принудительной вентиляцией в течение 18–20 часов. Средний коэффициент вариации рассчитывали в четырехкратной повторности для каждого варианта опыта.

При оценке изучаемых доз мутагенов руководствовались указаниями, изложенными в методике по использованию мутагенных факторов в селекции садо-

вых культур (Dryagina et al., 1979; Kudina, 2006). Для статистической интерпретации экспериментальных данных по влиянию химических мутагенов по исследуемым характеристикам использовали стандартные функции Microsoft Excel.

Содержание действующих веществ определяли в Центре химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР согласно ФС.2.5.0030.15 «Ноготков лекарственных цветки» (State Pharmacopoeia..., 2018).

Результаты и обсуждение

При предварительном изучении исходного и сортового материала календулы лекарственной был применен корреляционный метод с целью установления связей между количественными признаками растений (табл. 1).

Высокая положительная корреляция наблюдалась между признаками «урожайность соцветий» – «общее число соцветий»; средняя корреляция – в паре признаков «масса одного соцветия» – «урожайность соцветий». Замечена отрицательная связь между признаками: «общее число соцветий» – «диаметр соцветия», «общее число соцветий» – «число рядов язычковых цветков», «урожайность соцветий» – «диаметр соцветий».

Данные таблицы 1 указывают на то, что, во-первых, высота растения не связана с урожайностью растений, во-вторых, с увеличением числа соцветий на растении диаметр соцветия уменьшается. Поэтому в дальнейшем отбирали растения средней высоты, а преимущественными признаками для отбора (в поколении M_1) были признаки: «диаметр соцветий» и «число рядов язычковых цветков».

Химические мутагены оказали как стимулирующее, так и ингибирующее действие на всхожесть семян, выживаемость и продуктивность растений M_1 календулы лекарственной. Установлено, что наиболее угнетающее влияние мутагены оказали на лабораторную всхожесть семян: сильное снижение всхожести наблюдалось в вариантах НММ (нитрозометилмочевина) в концентрации 0,02% и ДЭС (диэтилсульфат) в концентрации 0,04%. В полевых условиях наблюдали как угнетающее, так и стимулирующее действие на выживаемость рассады (табл. 2).

Таблица 1. Корреляция между некоторыми количественными признаками календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в контроле

Table 1. Correlations between some quantitative traits of *Calendula officinalis* L. in the control

Признаки / Traits	r
Высота растений – число соцветий / Plant height – number of inflorescences	-0,37 ± 0,175
Высота растений – масса соцветий с растения / Plant height – weight of inflorescences per plant	-0,17 ± 0,016
Общее число соцветий – число рядов язычковых цветков / Total number of inflorescences – number of ray floret rows	-0,59 ± 0,181
Масса одного соцветия – урожайность соцветий / Weight of one inflorescence – yield of inflorescences	0,53 ± 0,158
Урожайность соцветий – диаметр соцветий / Yield of inflorescences – inflorescence diameter	-0,39 ± 0,161
Урожайность соцветий – общее число соцветий / Yield of inflorescences – total number of inflorescences	0,85 ± 0,172

Таблица 2. Влияние химических мутагенов на всхожесть семян *Calendula officinalis* L., выживаемость и продуктивность растений в мутантном поколении M_1 (в среднем за 2010, 2011 гг.)**Table 2.** Effect of chemical mutagens on seed germination, seedling survival and plant productivity of *Calendula officinalis* L. in the M_1 mutant generation (mean for 2010 and 2011)

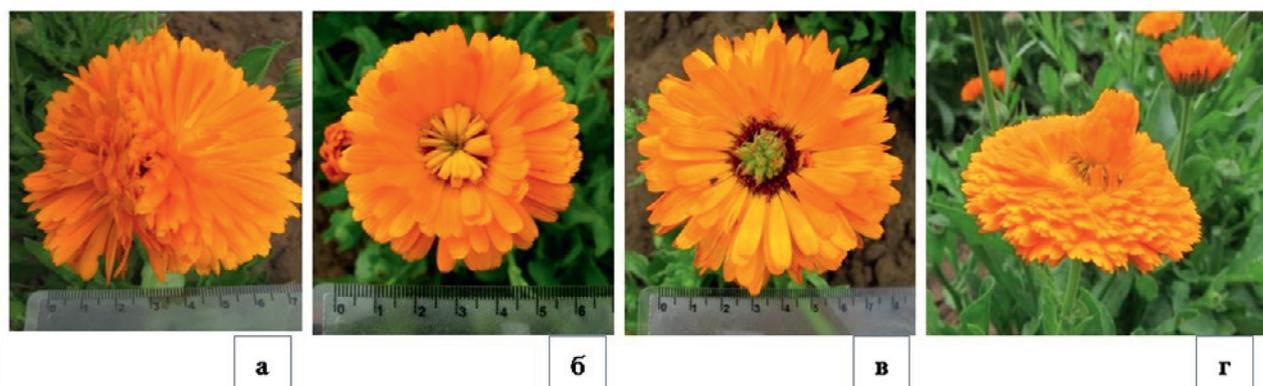
Вариант опыта / Experiment option	Лабораторная всхожесть семян / Laboratory germination of seeds		Выживаемость рассады в полевых условиях / Seedling survival in the field		Число растений с морфологическими изменениями / Number of plants with morphological changes		Урожайность соцветий / Yield of inflorescences	
	%	к контролю	%	к контролю	шт.	% к контролю	г/м ²	% к контролю
Контроль / Control	70	100	65	100	-	-	389,5	100
НММ _{0,02%}	18	26	17	26	20	80	42,8	11
НММ _{0,04%}	38	54	29	45	15	66	35,1	9
ДЭС _{0,025%}	20	29	51	78	12	14	280,4	72
ДЭС _{0,05%}	52	74	68	105	11	16	432,3	111
ЭМС _{0,03%}	34	48	58	89	15	38	350,1	90
ДМС _{0,04%}	21	30	38	58	8	15	194,8	50
ДМС _{0,06%}	33	47	42	66	11	16	151,9	39
ДМС _{0,08%}	45	64	76	107	12	18	428,5	110

Необходимо отметить, что мутагены и их дозы по-разному воздействовали в разные периоды роста и развития растений календулы: одни из них не вызывали существенных изменений или были стимуляторами, другие оказывали подавляющее действие в такой степени, что растения либо теряли жизнеспособность, либо становились менее приспособленными к условиям среды. Наибольший угнетающий эффект на лабораторную всхожесть наблюдался при воздействии мутагенами НММ в обеих концентрациях, и ДМС_{0,04%} и ДМС_{0,06%}. Наименьшее поражающее действие оказали на лабораторную всхожесть мутагены ДЭС (в обоих вариантах опыта) и ДМС_{0,08%}.

На выживаемость рассады календулы лекарственной в условиях открытого грунта, как в случае влияния на лабораторную всхожесть, сильное угнетающее дей-

ствие оказал мутаген НММ в обеих дозах. Следует отметить, что при обработке мутагеном НММ_{0,02%} ни одно из растений не образовало семян, а при НММ_{0,04%} лишь с одного растения получены семена, которые были невыполненными и имели низкую всхожесть. Стимулирующее действие оказали мутагены ДЭС_{0,05%} и ДМС_{0,08%}: выживаемость растений в полевых условиях по отношению к контролю составила 105 и 107% соответственно.

В полевых условиях изучались растения по признакам махровости, продуктивности и окраски язычковых и трубчатых цветков соцветий. Контролем служили растения, не обработанные мутагенами. Обработка семян мутагенами привела к аномалиям роста и развития растений и строения соцветий календулы лекарственной (рис. 1, 2).

**Рис. 1.** Аномалии в строении соцветий календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), возникшие вследствие обработки мутагенами**Fig. 1.** Abnormalities in the inflorescence structure of *Calendula officinalis* L. that occurred as a result of treatment with mutagens

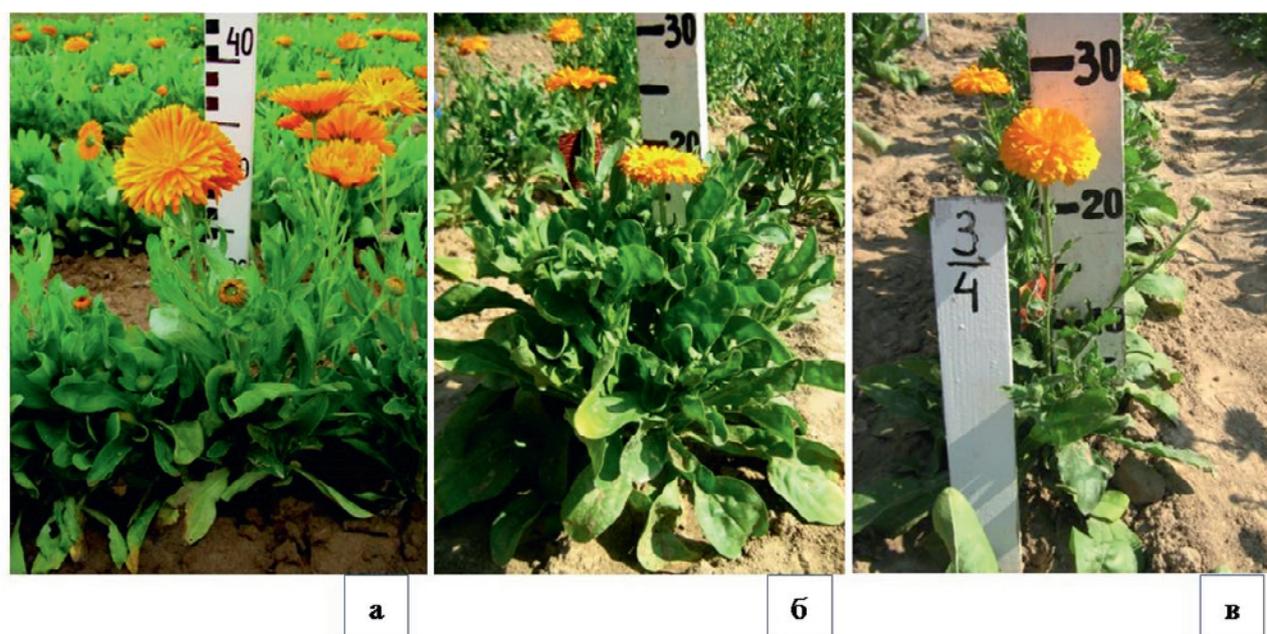


Рис. 2. Аномалии в развитии растений календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), возникшие вследствие обработки мутагенами:

а – срастание соцветия и низкорослость; **б** – низкорослость и кустистость; **в** – аномалии в числе разветвлений

Fig. 2. Abnormalities in the plant development of *Calendula officinalis* L. that occurred as a result of treatment with mutagens:

a – fused inflorescence and stunting; **b** – stunting and bushiness; **v** – abnormalities in the number of branches

Среди морфологических изменений большее их количество выявлено по признаку «высота растений»: отмечалась низкорослость, особенно при воздействии мутагеном ДМС_{0,08%} (27%), в меньшей степени – при дозе ДЭС_{0,05%} (15%).

Влияние мутагенов и их концентраций на продуктивность растений М₁ было различным: от стимулирующего (ДЭС_{0,05%} и ДМС_{0,08%}) до ингибирующего в значительной степени воздействия. Особенно резко снизилась продуктивность растений в М₁ под действием мутагена НММ в обеих концентрациях. Значительным было и негативное действие вариантов ДМС_{0,04%}, ДМС_{0,06%} и ДЭМ_{0,025%}.

Для количественной оценки отбираемого материала изучали естественную внутрипопуляционную изменчивость у исходной формы и в мутантных поколениях М₁–М₃ (табл. 3).

Согласно данным таблицы 3, в мутантных популяциях поколения М₁ наблюдалось возрастание степени изменчивости количественных признаков. Отмечено повышение вариабельности в опытных вариантах по признакам: «высота растений», «число рядов язычковых цветков», «сухая масса соцветий с растения» (40% в контроле и от 51 до 63% в опытах) и «число соцветий на растении» в сравнении с контролем (39% в контроле и от 52 до 64% в опытах). В поколении М₂ наблюдалось снижение вариабельности в вариантах опыта ДЭС_{0,05%} и ДМС_{0,08%} по признаку «число рядов язычковых цветков». Преимущественно пониженный уровень данного показателя наблюдался по признакам «высота растений» и «диаметр соцветий»; средний и повышенный уровень выявлен по другим исследованным признакам. Снижение коэффициента вариации в поколениях М₂–М₃ указывает на стабилизацию проявления признаков у растений, обработанных мутагенами.

Широкий спектр фармакологического действия цветков календулы лекарственной обусловлен содержанием

различных классов биологически активных соединений, основным из которых являются каротиноиды. Установлено, что содержание каротиноидов в сырье коррелирует со степенью махровости соцветий, которая обусловлена формированием преимущественно женских язычковых цветков и наследуется как рецессивный признак. Показано, что в разных сортах календулы лекарственной в зависимости от цвета язычковых и трубчатых цветков содержится разное количество каротиноидов (Pintea et al., 2003; Kishimoto et al., 2005). В связи с этим для медицинских целей широко культивируются махровые сорта, а селекционная работа в первую очередь ведется на повышение махровости соцветий. Исходя из этих источников, для дальнейшей работы нами были отобраны два морфотипа, отличающиеся по окраске трубчатых цветков – оранжевые и коричневые с выраженной махровостью соцветий. Наибольшее число семей с оранжевой окраской трубчатых цветков было обнаружено при обработке мутагеном ДЭС_{0,05%} с коричневой окраской – при дозе ДМС_{0,08%}. Для дальнейшего отбора исходного материала был проведен химический анализ трубчатых и язычковых цветков из соцветий мутантных образцов (табл. 4).

Как видно из таблицы 4, показатель содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин неоднозначен: выше – в язычковых цветках соцветий с коричневой окраской трубчатых цветков, тогда как содержание в трубчатых цветках тех же соцветий – меньше на 18%. В соцветиях с оранжевой серединой наблюдается обратная связь – в трубчатых цветках флавоноидов больше, в язычковых – меньше на 8%. Следует отметить, что оба варианта превышают контроль по исследованным показателям.

Исходя из результатов оценки морфологических признаков и продуктивности растений в поколении М₁, в 2011 г. был заложен питомник поколения М₂, в котором

Таблица 3. Изменчивость количественных признаков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в мутантных популяциях поколений M_1 – M_3 , V%**Table 3. Variability of quantitative characters in mutant populations of the M_1 – M_3 generations of *Calendula officinalis* L., V%**

Признаки / Characters	Контроль	ДЭС _{0,025%}	ЭМС _{0,03%}	ДЭС _{0,05%}	ДМС _{0,08%}
Поколение M_1 / Generation M_1					
Высота растений / Plant height	8,2	15,7	12,8	18,1	20,7
Диаметр соцветий / Diameter of inflorescences	8,8	17,7	20,7	19,6	28,9
Число рядов язычковых цветков / Number of ray floret rows	19,7	20,1	27,8	19,9	23,3
Сухая масса 1 соцветия / Dry weight of one inflorescence	19,7	21,0	24,0	24,2	26,9
Сухая масса соцветий с растения / Dry weight of inflorescences per plant	40,4	51,1	53,2	60,8	62,8
Число соцветий на растении / Number of inflorescences per plant	39,0	56,1	60,0	63,9	51,9
Содержание флавоноидов в сырье в пересчете на рутин / Content of flavonoids in raw material calculated for rutin	8	9	11	11	10
Поколение M_2 / Generation M_2					
Высота растений / Plant height	7,9	9,9	7,9	10,3	7,6
Диаметр соцветий / Inflorescence diameter	7,4	14,6	10,1	9,7	9,1
Число рядов язычковых цветков / Number of ray floret rows	13,3	30,7	24,9	29,2	25,0
Сухая масса 1 соцветия / Dry weight of one inflorescence	9,3	9,7	14,9	6,7	14,4
Сухая масса соцветий с растения / Dry weight of inflorescences per plant	14,0	36,6	36,0	43,4	44,6
Число соцветий на растении / Number of inflorescences per plant	19,6	42,3	43,9	39,7	38,1
Содержание флавоноидов в сырье в пересчете на рутин / Content of flavonoids in raw material calculated for rutin	8	8	10	11	10
Поколение M_3 / Generation M_3					
Высота растений / Plant height	7,9	8,7	7,2	7,8	5,6
Диаметр соцветий / Inflorescence diameter	10,1	7,4	8,8	7,9	7,3
Число рядов язычковых цветков / Number of ray floret rows	15,1	25,5	28,8	22,9	24,3
Сухая масса 1 соцветия / Dry weight of one inflorescence	17,7	19,4	18,0	13,8	16,6
Сухая масса соцветий с растения / Dry weight of inflorescences per plant	26,0	36,7	27,8	26,5	29,1
Число соцветий на растении / Number of inflorescences per plant	15,6	21,7	23,8	22,4	23,7
Содержание флавоноидов в сырье в пересчете на рутин / Content of flavonoids in raw material calculated for rutin	6	7	8	8	7

Таблица 4. Содержание флавоноидов в язычковых и трубчатых цветках соцветий разных морфотипов календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в M₁, 2010 г.**Table 4.** Content of flavonoids in ray and tubular florets in inflorescences of different morphotypes of *Calendula officinalis* L. in M₁, 2010

Варианты опыта / Experiment options	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, % / Total flavonoids calculated for rutin, %	
	Язычковые цветки / Ray florets	Трубчатые цветки / Tubular florets
Контроль / Control	1,53 ± 0,078	1,88 ± 0,086
Соцветия с оранжевой окраской трубчатых цветков / Inflorescences with orange tubular florets	2,00 ± 0,106	2,33 ± 0,125
Соцветия с коричневой окраской трубчатых цветков / Inflorescences with brown tubular florets	2,36 ± 0,078	2,16 ± 0,094

изучали наиболее перспективные образцы из семян, обработанных мутагенами ДЭС_{0,025%}, ДЭС_{0,05%}, ЭМС_{0,03%} и ДМС_{0,08%}. В таблице 5 представлены значения морфологических и хозяйственно ценных признаков наиболее перспективных образцов в поколении M₂.

Данные таблицы 5 показывают, что высота растений и диаметр соцветий не связаны с урожайностью соцветий, подтверждая тем самым результаты корреляционного анализа (см. табл. 1).

Урожайность воздушно-сухих соцветий учитывали за 7 сборов. В 2011, 2012 г. первый сбор соцветий был проведен 13–15 июля, последующие сборы – с периодичностью в 5–7 дней. Наибольшая урожайность соцветий в наших исследованиях приходилась на начало августа

(5-й сбор в 2011 г. и 5-й сбор в 2012 г.), наименьшим был первый сбор во II декаде июля (рис. 3, 4). Наибольший стимулирующий эффект на данный признак наблюдался при обработке мутагенами ДМС_{0,08%} и ДЭС_{0,05%} (см. рис. 3).

Изучение последующих поколений наиболее перспективных форм, выделенных в M₂, показало, что большинство видимых изменений являются модификациями, но некоторые из них (количество генеративных побегов, махровость и окраска соцветий) наследовались в последующих поколениях. Даже при обработке высокими дозами мутагенов в M₂ показатели и число форм с изменениями этих признаков оставались стабильными. Отдельно в условиях пространственной изоляции высевались низкорослые растения, но дан-

Таблица 5. Значения хозяйственно ценных признаков растений мутантных поколений M₂ календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), 2011–2012 гг.**Table 5.** Economically valuable characteristics of *Calendula officinalis* L. plants in the M₂ mutant generations, 2011–2012

Признаки / Characters	Варианты опыта / Experiment options					
	ДЭС _{0,025%}	ЭМС _{0,03%}	ДЭС _{0,05%}	ДМС _{0,08%}	Контроль / Control	НСР ₀₅
Высота растений, см / Plant height, cm	57,8	56,4	51,1	52,2	62,8	5,08
Число побегов, шт. / Number of shoots	4,0	3,3	4,9	4,7	3,5	0,31
Диаметр соцветия, см / Inflorescence diameter, cm	6,7	7,2	7,7	7,7	6,2	0,51
Число язычковых рядов, шт. / Number of ray floret rows	6,3	6,3	8,8	9,3	4,3	0,61
Масса 1 соцветия, г / Weight of one inflorescence, g	2,18	2,15	3,19	3,12	2,19	0,185
Урожайность сухих соцветий, кг/га / Yield of dry inflorescences, kg/ha	1551,4	1724,5	2034,9	2200,1	1547,3	146,52
Вегетационный период, сут. / Growing season, days	121	124	125	125	120	-
Урожайность семян, кг/га / Seed yield, kg/ha	668,7	711,7	896,5	912,5	661,8	76,71

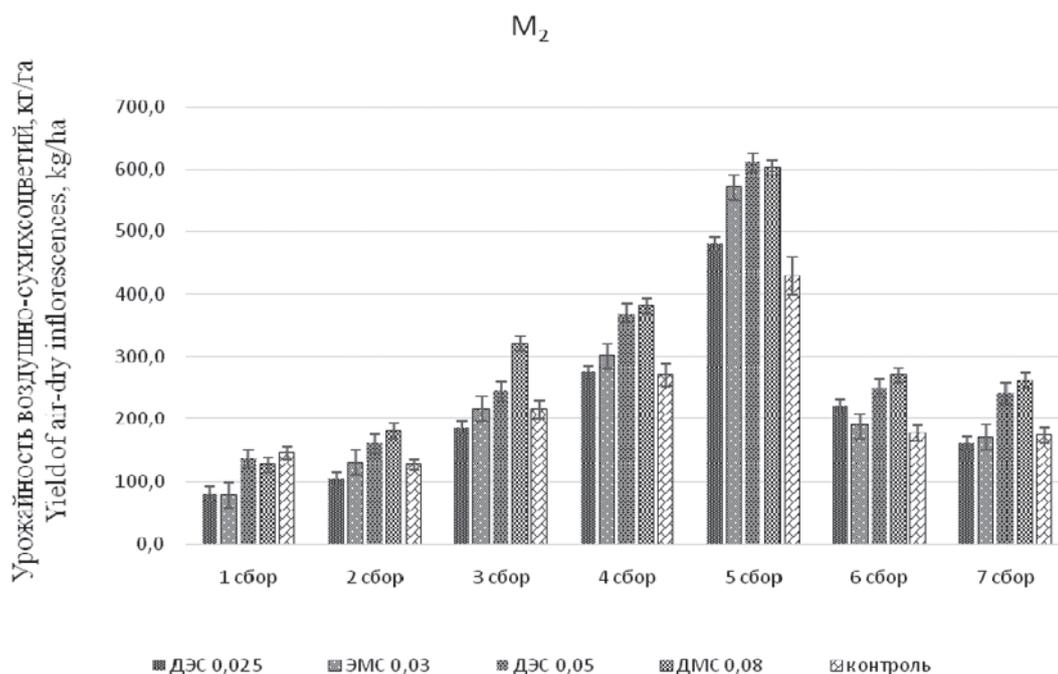


Рис. 3. Урожайность воздушно-сухих соцветий календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в поколении M_2 в зависимости от сбора, кг/га

Fig. 3. Yield of air-dry inflorescences of *Calendula officinalis* L. in the M_2 generation depending on the harvest, kg/ha

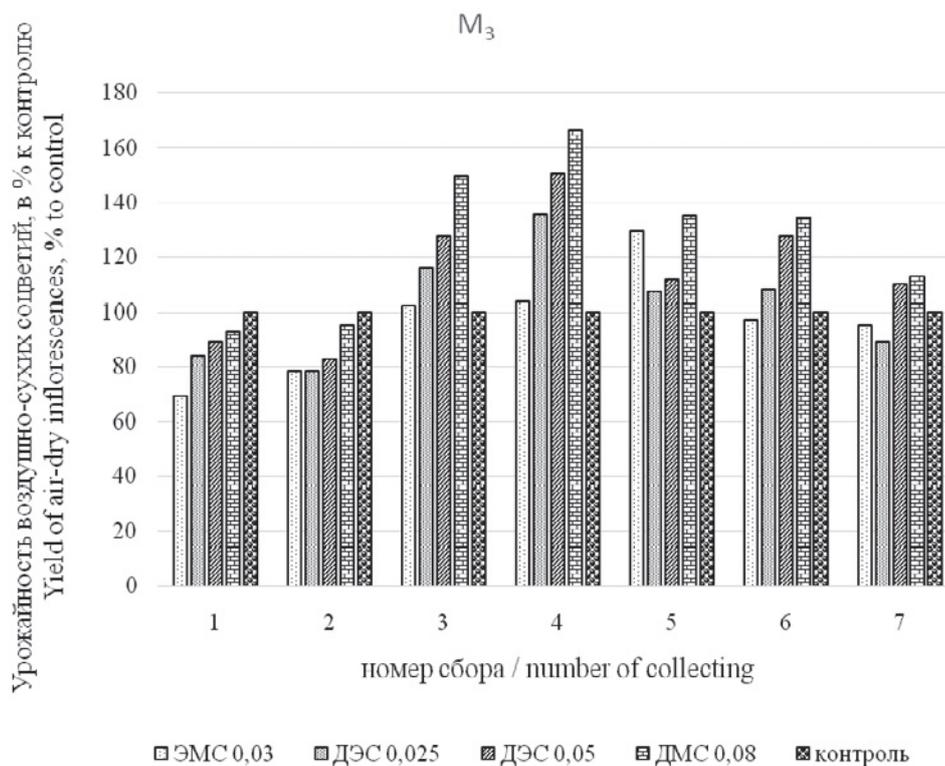


Рис. 4. Урожайность воздушно-сухих соцветий календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) в поколении M_3 в зависимости от сбора (% относительно к контролю)

Fig. 4. Yield of air-dry inflorescences of *Calendula officinalis* L. in the M_3 generation depending on the harvest (% to the control)

ный признак у календулы лекарственной в M_2 нивелировался. Следует вывод, что в данном случае наблюдалось угнетающее действие мутагенов.

По данным исследований в 2011–2013 гг. были получены и отобраны два перспективных образца: 18-06 – трубчатые цветки коричневые (результат воздействия ДМС в концентрации 0,08%) и 9-07 – трубчатые цветки оранжевые (результат воздействия ДЭС в концентрации 0,05%). В 2013–2015 гг. были заложены питомники конкурсного сортоиспытания двух перспективных номеров. На основе результатов конкурсного сортоиспытания были поданы заявки на получение допуска к использованию новых сортов календулы – ‘Золотое море’ (2014 г.) и ‘Райский сад’ (2016 г.) (Basalaeva et al., 2014; Gryaznov et al., 2016). Значения хозяйственно ценных признаков новых сортов представлены в таблице 6.

По данным таблицы 6, урожайность соцветий сортов ‘Золотое море’ и ‘Райский сад’ превосходит аналогичный

показатель контрольного сорта ‘Кальта’ на 39 и 30% соответственно.

Урожайность семян – это интегральный показатель, который определяется генотипом сорта, условиями выращивания и модификационной изменчивостью. Известно, что для календулы характерна ярко выраженная гетерокарпия (разнокачественность семян). Семена различной величины и формы (когтевидные, ладьевидные и кольцевидные, а также переходные между ними формы), с прямым маслянистым зародышем и очень тонким остаточным эндоспермом (Takhtajan, 1987).

В средней части немахровых и полумахровых корзинок формируются семена крючковидной фракции – мелкие, длиной 5–10 мм, с массой 1000 семян ~8 г. Ближе к краю корзинок располагаются семена ладьевидной фракции – крупные, длиной 10–20 мм, имеют наибольшую массу 1000 семян (~15 г) за счет широких «крыльев» (рис. 5).

Таблица 6. Характеристика новых сортов календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) по результатам конкурсного сортоиспытания 2013–2015 гг.

Table 6. Characteristics of the new *Calendula officinalis* L. cultivars according to the results of the 2013–2015 competitive variety trials

Признаки / Characters	Кальта / Kalta	Золотое море / Zolotoe more	Райский сад / Rajsijij sad	НСР ₀₅
Высота растений, см / Plant height, cm	58,1	51,6	52,5	5,21
Диаметр соцветия, см / Inflorescence diameter, cm	7,01	7,58	7,68	0,51
Число рядов язычковых цветков, шт. / Number of ray floret rows	4,33	8,17	8,98	0,68
Масса 1 соцветия (сырого), г / Weight of one inflorescence (fresh), g	2,11	3,17	3,12	0,705
Урожайность соцветий, кг/га / Yield of inflorescences, kg/ha	1536,3	2241,4	2011,7	145,28
Вегетационный период, дн. / Growing season, days	120	125	125	–



Рис. 5. Форма семян календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.): а – ладьевидные; б – серповидные; в – крючковидные; г – кольцевидные

Fig. 5. Seed shapes of *Calendula officinalis* L.: а – navicular; б – falcate; в – hamate; г – annular

У самого края корзинок формируются семена серповидной фракции – длинные (до 25 мм), но лишённые «крыльев», и имеющие среднюю массу 1000 семян ~11 г. Плоды располагаются, в зависимости от степени махровости соцветия, в несколько рядов. Количественное соотношение трех типов семян в корзинке зависит от количества рядов семян. У немахровых соцветий с 2-3 рядами наружные крючковидные семена составляют ~40% от общего числа семян в соцветии, ладьевидные ~35%, серповидные ~25% (Kostylev et al., 2011).

Масса семени календулы находится в прямой зависимости от соотношения типов семян в соцветии и количества рядов семян. Масса 1000 семян у немахровых соцветий с большим количеством крупных серповидно-изогнутых и ладьевидных семян составляет в среднем 18 г. У махровых соцветий подавляющим большинством мелких кольцевидных семян этот показатель не превышает 7–8 г. У контрольного сорта 'Кальта' в корзинке отмечено наибольшее число семян серповидной и ладьевидной формы (табл. 7), а в махровых соцветиях сорта 'Золотое море' наибольшее число семян – крючковидной и кольцевидной формы, что объясняется большим количеством рядов язычковых цветков, из которых и образуются семена такой формы. Полученные нами данные совпадают с результатами ранее опубликованных работ и подтверждают, что количественное соотношение типов семян в корзинке зависит от количества рядов семян (Ismagilov, Kostylev, 2000).

На растениях, выращенных из крючковидных семян, формируется на 37–85% больше махровых соцветий, чем на растениях, выращенных из семян других фракций. На рисунке 6 представлены соплодия сортовых растений календулы лекарственной.

У сорта 'Золотое море' отмечается наибольшая урожайность семян и масса семян в корзинке, но наименьшая масса 1000 семян, что свидетельствует о наличии большого количества кольцевидных форм семян (табл. 8). По посевным качествам семена всех сортов соответствуют ГОСТ 34221-2017.

Химический состав календулы изучен достаточно подробно. В цветках и траве присутствуют такие соединения, как флавоноиды, ксантофиллы и каротиноиды, эфирное масло, кумарины (скополетин), водорастворимые полисахариды (14,75%) (Butnariu, Coradini, 2012). В сырье содержатся 2–10% тритерпеновых сапонинов (гликозиды олеаноловой кислоты), тритерпеновые спирты (ψ -таракастерол, таракостерол, фарадиол, арнидиол, гелиантриол), стероиды. Наиболее активным считается фарадиол, который оказывает противоотечное и антимуутагенное действие. В наших предыдущих исследованиях применение комбинации двух хроматографических методов, ГХ-МС и УЭЖХ-МС, позволило идентифицировать в цветках календулы лекарственной один агликон – β -амирин, который является предшественником на пути синтеза олеаноловой кислоты, и четыре календулозида – E, F, G и H. Кроме того, были обнаружены

Таблица 7. Формы семян в соплодиях сортов *Calendula officinalis* L., 2013–2015 гг.

Table 7. Seed shapes in infructescences of *Calendula officinalis* L. cultivars, 2013–2015

Сорт / Cultivar	Формы семян / Seed shapes				Всего / Total
	Кольцевидные / Annular	Крючковидные / Hamate	Серповидные / Falcate	Ладьевидные / Navicular	
Контроль (Кальта) / Control (Kalta)	$\frac{1,6 \pm 0,54}{2,2}$	$\frac{17,3 \pm 1,50}{23,3}$	$\frac{29,7 \pm 2,11}{39,9}$	$\frac{25,8 \pm 2,15}{34,7}$	$\frac{74,4 \pm 6,33}{100}$
Золотое море / Zolotoe more	$\frac{10,4 \pm 0,87}{6,0}$	$\frac{152,3 \pm 13,44}{87,8}$	$\frac{6,67 \pm 0,57}{3,9}$	$\frac{4,1 \pm 0,31}{2,4}$	$\frac{173,5 \pm 15,56}{100}$
Райский сад / Rajsij sad	$\frac{8,1 \pm 0,61}{4,8}$	$\frac{144,3 \pm 13,02}{86,0}$	$\frac{11,2 \pm 1,01}{6,7}$	$\frac{3,8 \pm 0,25}{2,3}$	$\frac{167,4 \pm 14,62}{100}$

Примечание: числитель – штук; знаменатель – %. Выборка по 1000 штук семян
 Note: the numerator shows seeds (pcs); the denominator shows %. Statistical sampling of 1000 seeds

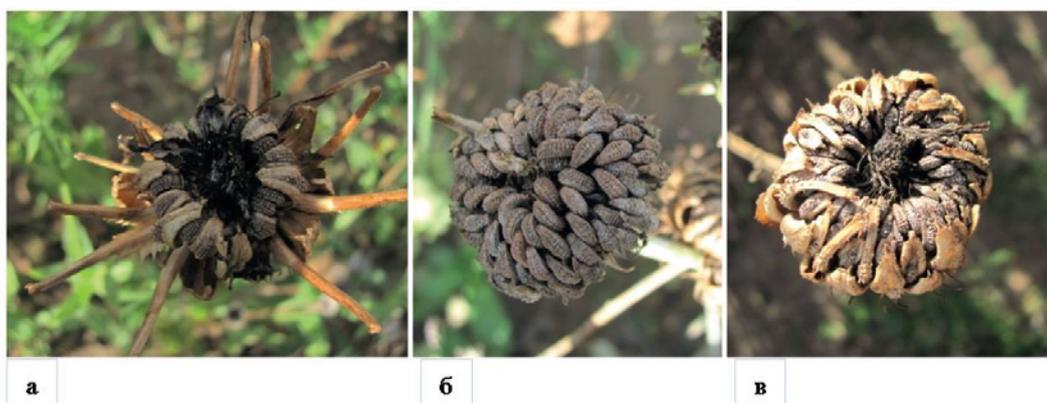


Рис. 6. Соплодия сортовых растений *Calendula officinalis* L.: а – контроль (сорт 'Кальта'); б – сорт 'Золотое море'; в – сорт 'Райский сад'

Fig. 6. Infructescences of *Calendula officinalis* L.: а – control (cv. 'Kalta'); б – cv. 'Zolotoe more'; в – cv. 'Rajsij sad'

Таблица 8. Урожайность и посевные качества семян сортов *Calendula officinalis* L., 2013–2015 гг.

Table 8. Seed yield and seed quality of *Calendula officinalis* L. cultivars, 2013–2015

Сорт / Cultivar	Урожайность семян, кг/га / Seed yield, kg/ha	Масса 1000 семян, г / 1000 seed weight, g	Энергия прорастания, % / Germination energy, %	Всхожесть, % / Germination rate, %
Контроль (Кальта) / Control (Kalta)	602,3	14,78	53,8	85
Золотое море / Zolotoe more	899,7	6,89	57,8	95
Райский сад / Rajskij sad	891,5	7,09	57,7	95
НСР ₀₅	68,97	1,180	-	-

два тритерпеноида, которые предварительно идентифицированы как гликозиды олеаноловой кислоты. Различий в содержании тритерпеноидов в цветках исследованных сортов календулы лекарственной 'Кальта', 'Золотое море' и 'Райский сад' не установлено (Osipov et al., 2018).

Качество сырья ноготков лекарственных регламентируется ФС.2.5.0030.15 «Ноготков лекарственных цветки» по сумме флавоноидов в пересчете на рутин, содержание которых должно быть не менее 1%; экстрактивных веществ – не менее 35% (State Pharmacopoeia..., 2018). Содержание экстрактивных веществ и флавоноидов в образцах ноготков лекарственных приведено в таблице 9.

стебля и по высоте). В популяциях мутантных поколений M_1 возросла (с 39–40% до 51–64%) степень изменчивости по количественным признакам («высота растения», «число рядов язычковых цветков», «масса и число соцветий»), но в поколении M_3 этот показатель снизился (до 7–24%), что указывает на стабилизацию проявления признаков в мутантных поколениях. Среди мутировавших образцов выделены морфотипы с разной окраской трубчатых цветков: с коричневой окраской – после обработки ДМС_{0,08%} с оранжевой окраской – после обработки мутагеном ДЭС_{0,05%}. В результате многолетней селекционной работы (2009–2016 гг.) на основе мутантных поколений (M_2 – M_3) созданы сорта 'Золотое море' и 'Райский сад', которые превосходят контроль (сорт 'Кальта') по

Таблица 9. Содержание экстрактивных веществ и флавоноидов в сырье сортов *Calendula officinalis* L., 2013–2015 гг.

Table 9. Total extractives and flavonoids in raw materials of *Calendula officinalis* L. cultivars, 2013–2015

Сорт / Cultivars	Содержание экстрактивных веществ, % / Total extractives, %	Содержание суммы флавоноидов, % / Total flavonoids, %
Контроль (сорт Кальта) / Control (cv. Kalta)	44,76 ± 3,847	1,57 ± 0,081
Золотое море / Zolotoe more	50,96 ± 4,568	2,04 ± 0,108
Райский сад / Rajskij sad	54,29 ± 5,012	2,25 ± 0,115

По данным таблицы 9, по содержанию экстрактивных веществ сорта 'Золотое море' и 'Райский сад' превосходят контроль на 13,8 и 21,3%, по содержанию суммы флавоноидов – на 29,9 и 43,3% соответственно.

Заключение

При обработке семян календулы лекарственной химическими мутагенами выявлено ингибирующее действие ДЭС_{0,04%}, ДМС_{0,04%} и ДМС_{0,06%} на лабораторную всхожесть семян; мутагенов НММ_{0,04%} и НММ_{0,02%} – на жизнеспособность и семенную продуктивность растений в условиях открытого грунта. Показано стимулирующее действие ДЭС_{0,05%} и ДМС_{0,08%} на жизнеспособность растений и продуктивность сырья в условиях открытого грунта. Обработка семян химическими мутагенами привела к аномалиям в строении соцветий, а также аномалиям роста и развития растений (по характеру ветвления

урожаемости соцветий на 39 и 30%, по урожайности семян на 48 и 49%, по содержанию экстрактивных веществ на 13,8 и 21,3%, по содержанию суммы флавоноидов на 29,9 и 43,3%, «число рядов язычковых цветков в соцветии» больше в 2 раза, «масса соцветия» больше в 1,5 раза. Вследствие обработки химическими мутагенами в связи с повышением махровости соцветий доля фракции крючковидных семян в соплодии увеличилась с 23 до 86%, фракции кольцевых семян в 2 раза (указанные фракции семян наиболее пригодны для механизированного посева).

Работа выполнена в рамках НИР ФГБНУ ВИЛАР № 0576-2019-0007.

The work was carried out within the framework of VILAR's Research Project No. 0576-2019-0007.

Литература / References

- Basalaeva I.V., Voznyakova A.N., Burova A.E., Gryaznov M. Yu., Kostyanovsky R.G., Korotkikh I.N., Krutius O.N., Sidel'nikov N.I., Totskaya S.A., Shirokova A.V., Khazieva F.M. *Calendula officinalis* L. Cv. Zolotoe more (Sort Zolotoye more). Russian Federation; breeding achievement patent number: 7532; 2014. [in Russian] (Басалаева И.В., Бознякова А.Н., Бурова А.Е., Грязнов М.Ю., Костяновский Р.Г., Коротких И.Н., Крутиус О.Н., Сидельников Н.И., Тоцкая С.А., Широкова А.В., Хазиева Ф.М. *Calendula officinalis* L. Сорт Золотое море. Российская Федерация; патент на селекционное достижение № 7532; 2014).
- Butnariu M., Coradini C.Z. Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry. *Chemistry Central Journal*. 2012;6:35. DOI: 10.1186/1752-153X-6-35
- Chopra V.L. Mutagenesis Investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Science*. 2005;89(2):353-359.
- Дługosz M., Wiktorowska E., Wiśniewska A., Paćzkowski C. Production of oleanolic acid glycosides by hairy root established cultures of *Calendula officinalis* L. *Acta Biochimica Polonica*. 2013;60(3):467-473. DOI: 10.18388/abp.2013_2008
- Dryagina I.V., Potapov S.P., Ravkin A.S. Guidelines for the use of mutagenic factors in the breeding of vegetatively propagated horticultural plants (Metodicheskiye ukazaniya po ispolzovaniyu mutagennykh faktorov v selektsii sadovykh vegetativno-razmnozhayemykh rasteniy). Moscow: VASKhNIL; 1979. [in Russian] (Дрягина И.В., Потапов С.П., Равкин А. С. Методические указания по использованию мутагенных факторов в селекции садовых вегетативно-размножаемых растений. Москва: ВАСХНИЛ; 1979).
- El-Nashar Y.I., Asrar A.A. Phenotypic and biochemical profile changes in calendula (*Calendula officinalis* L.) plants treated with two chemical mutagenesis. *Genetics and Molecular Research*. 2016;15(2):27173326. DOI: 10.4238/gmr.15028071
- Gryaznov M.Yu., Samatadze T.E., Svistunova N.Yu., Tsitsilin A.N., Khazieva F.M. *Calendula officinalis* L. Cv. Rajskej sad (Sort Rayskiy sad). Russian Federation; breeding achievement patent number: 8651; 2016. [in Russian] (Грязнов М.Ю., Саматадзе Т.Е., Свистунова Н.Ю., Цицилин А.Н., Хазиева Ф.М. *Calendula officinalis* L. Сорт Райский сад. Российская Федерация; патент на селекционное достижение № 8651; 2016).
- Ismagilov R.R., Kostylev D.A. *Calendula* (Kalendula). Ufa: BSAU; 2000. [in Russian] (Исмагилов Р.Р., Костылев Д.А. Календула. Уфа: БГАУ; 2000).
- Kishimoto S., Maoka T., Sumimoto K., Ohmiya A. Analysis of carotenoid composition in petals of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2005;69(11):2122-2128. DOI: 10.1271/bbb.69.2122
- Kostylev D.A., Ismagilov R.R., Timofeeva O.V. Seed material of *Calendula officinalis* in the Cis-Urals (Semennoy material kalenduly lekarstvennoy v Preduralye). *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2011;1(80):9-10. [in Russian] (Костылев Д.А. Исмагилов Р.Р., Тимофеева О.В. Семенной материал календулы лекарственной в Предуралье. *Аграрный вестник Урала*. 2011;1(80):9-10).
- Kudina G.A. Chemical mutagens in flower-ornamental plant selection. *Promyshlennaya botanika = Industrial Botany*. 2006;(6):116-120. [in Russian] (Кудина Г.А. Химические мутагены в селекции цветочно-декоративных культур. *Промышленная ботаника*. 2006;(6):116-120).
- Methods of trials for distinctness, uniformity, and stability RTG/1006/1. Common marigold (*Calendula officinalis* L.) (Metodika ispytaniy na otlichimost, odnorodnost, stabilnost RTG/1006/1. Nogotki lekarstvennyye [*Calendula officinalis* L.]). In: *Official Bulletin of the State Commission of the Russian Federation for Testing and Protection of Breeding Achievements*. 12-06/32 (Ofitsialnyy byulleten Gosudarstvennoy komissii GK RF po ispytaniyu i okhrane selektsionnykh dostizheniy. 12-06/32). Moscow; 1999. p.206-210. [in Russian] (Методика испытаний на отличимость, однородность, стабильность RTG/1006/1. Ноготки лекарственные (*Calendula officinalis* L.). В кн.: *Официальный бюллетень Государственной комиссии ГК РФ по испытанию и охране селекционных достижений*. 12-06/32. Москва; 1999. С.206-210).
- Osipov V.I., Bykov V.A., Hazieva F.M., Sidel'nikov N.I. Triterpenoids of *Calendula officinalis* flowers. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2018;21(6):3-9. [in Russian] (Осипов В.И., Быков В.А., Хазиева Ф.М., Сидельников Н.И. Тритерпеноиды цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018;21(6):3-9). DOI: 10.29296/25877313-2018-06-01
- Pintea A., Bele C., Andrei S., Socaciu C. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis*. 2003;47(1-4):37-40.
- Roychowdhury R., Tah J. Chemical mutagenic action on seed germination and related agro-metrical traits in M1 *Dianthus* generation. *Current Botany* 2011;2(8):19-23.
- State Pharmacopoeia of the Russian Federation (Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoj federatsii). XIV ed. 2018. [in Russian] (Государственная фармакопея РФ. XIV изд. 2018). URL: <http://femb.ru/feml> [дата обращения: 01.07.2020].
- Takhtajan A.L. Magnoliophite system (Sistema magnoliofitov). Leningrad: Nauka; 1987. [In Russian] (Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. Ленинград: Наука; 1987).
- Tatevosyan V.B. Characteristics of some mutants of calendula (Kharakteristika nekotorykh mutantov kalenduly). In: *Inter-university collection of scientific papers. Vol. 1. Biology (Mezhvuzovskiy sbornik nauchnykh trudov. T. 1. Biologiya)*. Erevan: Erevan University; 1979. p.12-19. [in Russian] (Татевосян В.Б. Характеристика некоторых мутантов календулы. В кн.: *Межвузовский сборник научных трудов. Т. 1. Биология*. Ереван: Ереванский университет; 1979. С.12-19).
- Vátavu R., Leonte C., Robu T., Pascal-Slabu C. Studies concerning the influence of some mutagen agents on the production of inflorescences at *Calendula officinalis* L. species. *Lucrări Ştiinţifice. Seria Agronomie = Scientific Papers. Agronomy Series*. 2008; 51(1):41-46). Available from: http://www.uaiasi.ro/revagrois/PDF/2008_1_41.pdf [accessed on June 28, 2020].
- Zagumennikov V.B. Optimization of the cultivation of medicinal plants in the Non-Black Earth Zone of Russia (Optimizatsiya kultivirovaniya lekarstvennykh rasteniy v Nechernozemnoy zone Rossii). Moscow: VILAR; 2006. [in Russian] (Загуменников В.Б. Оптимизация культивирования лекарственных растений в Нечерноземной зоне России. Москва: ВИЛАР; 2006).

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

Хазиева Ф.М., Коротких И.Н. Аспекты применения метода химического мутагенеза при создании сортов *Calendula officinalis* L. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(1):110-122. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-110-122

Khazieva F.M., Korotkikh I.N. Aspects of applying the method of chemical mutagenesis to develop cultivars of *Calendula officinalis* L. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2021;182(1):110-122. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-110-122

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/10.30901/2227-8834-2021-1-110-122>

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

Khazieva F.M. <https://orcid.org/0000-0003-4454-0773>

Korotkikh I.N. <https://orcid.org/0000-0002-0954-9353>