

DOI 10.33952/2542-0720-2021-2-26-208-222

УДК 633.81:631.52+57.085.2

Ставцева И. В., Егорова Н. А.

**СОЗДАНИЕ СОРТА ШАЛФЕЯ МУСКАТНОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕТОДОВ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ.**

**2. ИЗУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ НА ЭТАПАХ
СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА**

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Реферат. Шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.) – широко востребованное эфиромасличное растение. Основной задачей селекции является выведение сортов, сочетающих высокий выход и качество эфирного масла, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессам. Сорта шалфея мускатного, зарегистрированные в «Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию», получены традиционными методами. В НИИСХ Крыма создан исходный селекционный материал *S. sclarea* с использованием методов клеточной инженерии. Цель исследований – изучение основных хозяйственных и морфометрических показателей образцов шалфея мускатного, созданных с использованием разных биотехнологических методов, на основных этапах селекционного процесса. Исследовали образцы, полученные *in vitro* с применением трех методов, – регенеранты (R₂-R₃) из каллусов сортов С-785 и Тайган, гибриды (*Salvia sclarea* L. × *S. grandiflora* Etlng.), сформированные в культуре изолированных зародышей, и формы, отобранные в эмбриокультуре на селективной среде с осмотиком (маннитом или NaCl). При изучении 10 образцов шалфея (семенное потомство регенерантов) в селекционном питомнике (2012–2014 гг.) выделено три, превосходящих по основным хозяйственным показателям контрольный сорт Тайган. Сбор эфирного масла у них был в 1,2–1,4 раза выше, чем в контроле. В питомнике конкурсного сортоиспытания (2016–2019 гг.) из трех образцов (№№ R₃-1-6, 226-08 и 1-01) лучшим по ряду показателей был № R₃-1-6, являющийся семенным потомством регенеранта, полученного при индукции морфогенеза из каллуса. Характерной особенностью этого образца является повышенное на 41,1 % количество боковых побегов на соцветиях, что способствовало увеличению массы растения. По урожайности соцветий (162,0 ц/га) и сбору эфирного масла (51,5 кг/га) № R₃-1-6 превосходил контроль на 24,9 % и 43,9 % соответственно. Получен патент на сорт шалфея мускатного Селинж (№ R₃-1-6), при создании которого впервые использован метод клеточной инженерии.

Ключевые слова: *Salvia sclarea* L., селекция, сорт, биотехнология, *in vitro*, растения-регенеранты, каллус, эмбриокультура, соматональная изменчивость

Для цитирования: Ставцева И. В., Егорова Н. А. Создание сорта шалфея мускатного с использованием методов клеточной инженерии. 2. Изучение растений-регенерантов на этапах селекционного процесса // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 2(26). С. 208–222. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-2-26-208-222.

For citation: Stavtzeva I. V., Yegorova N. A. Creation of clary sage cultivar using cell engineering methods. 2. Study of plant-regenerants at the stages of breeding process // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2021. No. 2 (26). P. 208–222. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-2-26-208-222.

Введение

Шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.), наряду с лавандой и розой эфиромасличной, является одной из основных выращиваемых в Крыму

эфиромасличных культур. Это травянистое двулетнее или многолетнее растение с отмирающими на зиму побегами. В промышленной культуре чаще всего его возделывают как двулетнее растение, которое в первый год формирует прикорневую розетку листьев, а во второй – мощный стебель с крупными соцветиями [1]. *S. sclarea* отличается высокой засухоустойчивостью, что особенно актуально для Крыма и обуславливает перспективы его выращивания в южных регионах России. Это растение возделывают для получения из соцветий эфирного масла, склареола и других продуктов. Наиболее ценным является эфирное масло шалфея, которое имеет приятный аромат, напоминающий запах апельсина, бергамота и амбры. Содержание эфирного масла в свежесобранном цветущем сырье составляет 0,20–0,32 % [2]. В эфирном масле шалфея содержатся главным образом линалилацетат (до 70–75 %) и линалоол (10–15 %), а также геранилацетат, линалилформинат, кариофиллен и другие компоненты [3]. Одна из важных особенностей *S. sclarea*, благодаря которой этот вид и получил свое название, – наличие дитерпенового спирта склареола (до 1,0–1,5 %). Это соединение можно использовать при изготовлении элитной парфюмерии для замены более дорогих фиксаторов запахов – амбры и мускуса [3]. Эфирное масло используют в парфюмерно-косметической промышленности и медицине благодаря антисептическим, противоспазматическим, противовоспалительным и другим свойствам [4, 5]. В ликероводочном, кондитерском и табачном производствах его применяют для ароматизации различных изделий. Исследования последних лет показали также перспективность использования *S. sclarea* для фиторемедиации [6].

К основным требованиям, предъявляемым в селекции к сортам шалфея мускатного, следует отнести высокую продуктивность, качество эфирного масла (повышенное содержание линалацетата и линалоола), устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам среды (зимостойкость и засухоустойчивость), а также пригодность для механизированной уборки [1]. Селекция *S. sclarea* для выращивания на юге России и Европы, как правило, направлена на создание двулетних сортов.

Основными источниками исходного материала для селекции шалфея мускатного являются формы растений, имеющиеся в сортовых популяциях, а также создаваемые в процессе селекции (гибридные популяции, линейный материал, коллекционные образцы, индуцированные полиплоиды или мутанты). Все существующие сорта *S. sclarea* созданы с использованием одного из перечисленных источников [2]. Так, в работах М. Gonsearicus с соавторами [7], Н. Бочкарёва и др. [1] при создании высокопродуктивных сортов шалфея мускатного использовали линейный материал, полученный при реализации программ гетерозисной селекции. При создании сорта Ай-Тодор применяли искусственную полиплоидизацию [2]. В разные годы в ФГБУН «НИИСХ Крыма» с использованием методов традиционной селекции были созданы сорта шалфея: С-785, Крымский поздний, Тайган, Ай-Тодор, Орфей, которые внесены в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» РФ [8]. Несмотря на то, что традиционные приемы (в частности межсортовая и межвидовая гибридизация) широко используют в селекции как у шалфея мускатного, так и у других видов рода *Salvia*, они не всегда позволяют получать формы с необходимыми признаками [9–12].

В последние годы в селекции основных сельскохозяйственных растений все шире используют новые методы клеточной инженерии, в частности индукцию соматональных вариантов из каллусных культур [13–15], клеточную селекцию [16–18], культуру изолированных зародышей [19, 20] и другие приемы [21]. Эти методы позволяют не только повысить эффективность селекционного процесса, но и получить принципиально новые ценные генотипы, которые будут использованы для создания высокопродуктивных, устойчивых к стрессовым факторам среды сортов [16, 18, 22].

В лаборатории биотехнологии ФГБУН «НИИСХ Крыма» с целью расширения генетической вариабельности для ряда эфиромасличных растений, в том числе и шалфея мускатного, были разработаны биотехнологические методы создания исходного материала на основе культуры изолированных органов и тканей [23–25]. На основе этих методик были получены растения-регенеранты и в дальнейшем, при выращивании в полевых условиях, их семенное потомство. Вместе с тем, для выяснения перспективности использования разработанных приемов клеточной инженерии в селекции шалфея необходимо изучение этих регенерантов по хозяйственно полезным и морфологическим признакам.

Цель исследований – изучение основных хозяйственных и морфометрических показателей образцов шалфея мускатного, полученных с использованием разных биотехнологических методов, на основных этапах селекционного процесса.

Материалы и методы исследований

Материалом для изучения в селекционном питомнике служили 10 образцов растений-регенерантов шалфея мускатного, которые предварительно прошли испытание и были отобраны в питомнике исходного материала (№№ R₃-5; R₃-1-6; R₃-2-15; R₂-3-1; 226-0,8; 524-007; 2-01 5M; 1-01; 5-01; 104). Образцы представляют собой семенное потомство растений-регенерантов, полученных в культуре *in vitro* с использованием разных биотехнологических методов [24, 26, 27]. Семена высевали на делянках длиной 3 м с шириной междурядья 0,6 м. Площадь делянки 1,8 м². Контроль (сорт Тайган) высевали через три делянки. Повторность опыта двукратная.

В питомнике конкурсного сортоиспытания (КСИ) анализировали три перспективных сортообразца, отобранных по результатам изучения в селекционном питомнике: №№ R₃-1-6; 226-0,8 и 1-01. Испытываемые образцы были посеяны в четырехкратной повторности на шестирядковых делянках длиной 7 м с шириной междурядья 0,6 м. Площадь делянки 25,2 м². В качестве контроля использовали сорт Тайган. Оба питомника заложены согласно общепринятой методике [28].

Основные хозяйственные и морфометрические показатели (урожайность соцветий, массовую долю и сбор эфирного масла, массовую долю и сбор склареола, высоту растения, длину центрального соцветия, количество осей на центральном соцветии и количество боковых побегов) определяли по общепринятым методикам [28]. Массовую долю эфирного масла (МДЭМ) определяли методом гидродистилляции по Гинзбергу в соответствии с требованиями ГОСТ 34213, а массовую долю склареола в сырье шалфея – экстракционно-хроматографическим методом [29]. Коэффициент засухоустойчивости растений рассчитывали по показателям водного обмена [30]. Исследования проводили в 2012–2014 гг. (селекционный питомник) и в 2016–2019 гг. (питомник конкурсного сортоиспытания) в научном севообороте отдела эфиромасличных и лекарственных культур ФГБУН «НИИСХ Крыма» (Белогорский район, с. Крымская Роза).

Климат зоны этого района засушливый, чаще всего с мягкой зимой. Среднегодовая температура воздуха 10 °С. Теплый период составляет 300–315 дней в году. Максимальная температура воздуха достигает 38–40 °С. Минимальная температура зимой в среднем составляет от –18 до –25 °С. Среднегодовая сумма осадков составляет 531 мм, сумма активных температур выше 10 °С находится в пределах 2800–3300 °С. Теплый период с положительными среднесуточными температурами составляет 292 дня [31].

Количественные данные, полученные в ходе исследований, обрабатывали с использованием дисперсионного анализа [32] при помощи стандартного пакета документов Microsoft Office Excel (2010).

Результаты и их обсуждение

При создании исходного селекционного материала, как с использованием традиционных методов, так и биотехнологических, очень важно их изучение на основных этапах селекционного процесса и отбор перспективных форм, на основании которых можно получить новый сорт. Ранее для шалфея мускатного были разработаны клеточные технологии получения нового исходного материала на основе регенерации растений из каллусов разных пассажей для индукции соматклональной variability [26, 27], а также приемы создания отдаленных гибридов в культуре изолированных зародышей [24] и отбора устойчивых к осмотическому стрессу форм в эмбриокультуре *in vitro* [26]. С использованием этих трех биотехнологических методов получены растения-регенеранты (рисунок 1). Для размножения некоторых из них применили методику клонального микроразмножения *in vitro* [26].

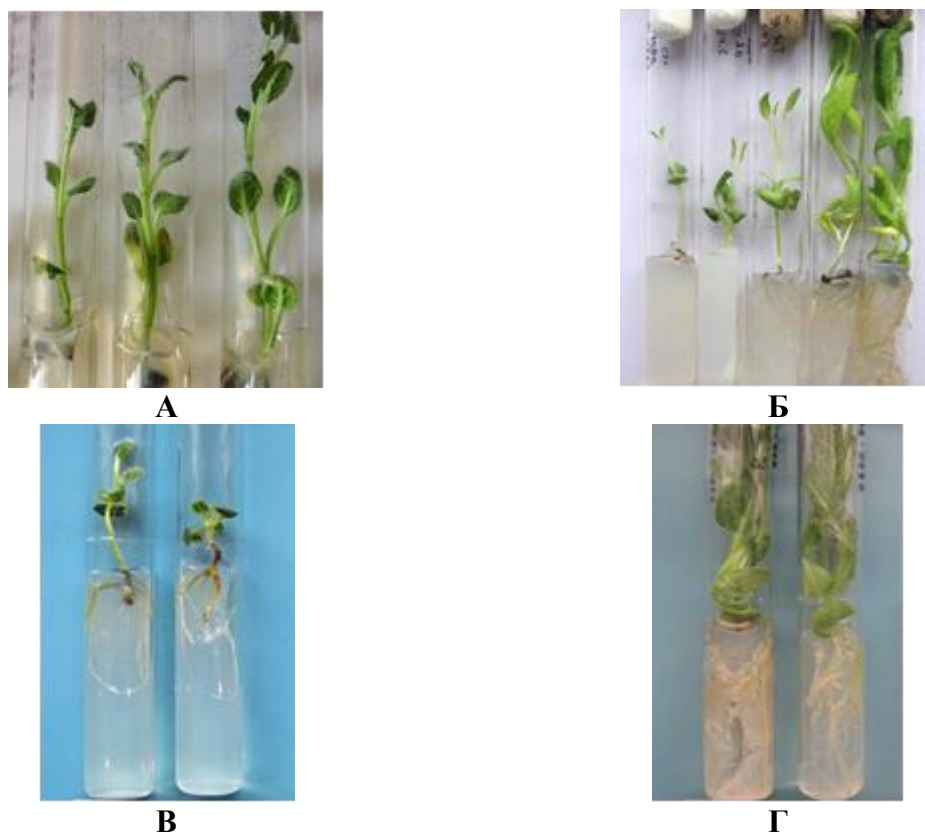


Рисунок 1 – Микроразмножение регенерантов, индуцированных в каллусных культурах *S. sclarea* сорта С-785 (А), гибридные проростки (*Salvia sclarea* L. × *S. grandiflora* Etling.), полученные в эмбриокультуре (Б), развитие зародышей сорта С-785 на среде МС с добавлением 4% маннита (В) и в контроле (Г).

После изучения по хозяйственно полезным и морфологическим показателям семенного потомства растений-регенерантов в питомнике исходного материала были выделены перспективные образцы, которые в дальнейшем изучались в селекционном питомнике. Шалфей выращивается в течение двух лет, поэтому анализ хозяйственных и морфологических признаков проводился на второй год вегетации в течение трех двухлетних циклов выращивания (таблица 1). В исследованиях использовали семенное потомство растений, полученных в культуре *in vitro* с использованием разных биотехнологических приемов: №№ R₃-5, R₃-1-6, R₃-2-15 и R₂-3-1 – регенеранты (R₂-R₃) из каллусов (полученных из сегментов стебля) у сортов С-785 и Тайган; формы,

отобранные в эмбриокультуре этих сортов на селективном фоне с добавлением осмотика маннита (№ 2-01 5M) или NaCl (№№ 226-0,8 и 524-007); №№ 1-01, 5-01 и 104 – межвидовые гибриды (*Salvia sclarea* L. × *S. grandiflora* Etling.), полученные в культуре изолированных зародышей.

Таблица 1 – Характеристика полученных в культуре *in vitro* образцов шалфея мускатного по основным хозяйственно ценным показателям в селекционном питомнике

Генотип (фактор В)	Год (фактор А)	Урожайность соцветий, ц/га	Массовая доля эфирного масла, %		Сбор эфирного масла, кг/га	Коэффициент засухо- устойчивости, %
			от сырой массы	от абсолютно сухой массы		
№ R ₃ -1-6	2012	355,6	0,275	0,957	97,7	58,0
	2013	291,7	0,325	1,142	95,1	49,8
	2014	344,5	0,325	1,142	111,7	49,3
	среднее	330,6*	0,310	1,080	101,5*	52,4
№ 524-007	2012	291,6	0,400	1,403	116,7	67,1
	2013	263,9	0,375	1,318	99,4	54,9
	2014	250,0	0,375	1,319	93,7	67,5
	среднее	268,5	0,383*	1,347*	103,3*	63,2*
№ 104	2012	291,7	0,325	1,126	94,9	61,4
	2013	263,9	0,350	1,193	91,7	50,6
	2014	247,2	0,294	0,999	72,7	48,6
	среднее	267,6	0,323*	1,106	86,4	53,5
№ R ₃ -5	2012	261,1	0,263	0,931	68,1	39,7
	2013	216,7	0,275	0,916	60,0	38,0
	2014	277,8	0,325	1,162	90,3	46,9
	среднее	251,9	0,288	1,003	72,8	41,5
№ R ₃ -2-15	2012	269,5	0,213	0,727	57,1	25,7
	2013	208,3	0,218	0,701	44,9	19,4
	2014	233,3	0,230	0,739	53,9	19,3
	среднее	237,0	0,220	0,722	51,9	21,5
№ R ₂ -3-1	2012	286,1	0,325	1,109	92,7	50,6
	2013	233,3	0,275	1,096	63,9	52,4
	2014	208,3	0,325	1,162	67,4	57,7
	среднее	242,6	0,308	1,122	74,6	53,5
№ 226-08	2012	372,2	0,313	1,099	115,9	68,6
	2013	283,4	0,375	1,318	106,7	70,9
	2014	300,0	0,288	1,009	86,2	69,1
	среднее	318,5*	0,325*	1,142*	102,9*	69,5*
№ 2-01 5M	2012	291,7	0,213	0,788	62,2	70,5
	2013	180,6	0,325	1,244	58,3	65,2
	2014	263,9	0,325	1,244	85,4	64,0
	среднее	245,4	0,288	1,092	68,6	66,5*
№ 5-01	2012	313,9	0,194	0,616	60,9	28,6
	2013	305,6	0,225	0,850	69,5	30,4
	2014	236,1	0,325	1,267	77,1	27,0
	среднее	285,2	0,248	0,911	69,2	28,7
№1-01	2012	305,6	0,374	1,440	114,3	48,5
	2013	304,9	0,252	1,037	76,9	50,8
	2014	292,1	0,263	0,833	75,6	56,9
	среднее	300,9*	0,296	1,120	88,9*	52,1
Сорт Тайган (контроль)	2012	291,7	0,263	0,857	76,6	50,9
	2013	291,7	0,238	0,936	69,5	50,9
	2014	258,4	0,310	1,057	78,8	55,6
	среднее	280,6	0,270	0,950	74,9	52,5
НСР ₀₅ по фактору А		42,13	0,09	0,28	21,48	3,53
НСР ₀₅ по фактору В		19,41	0,04	0,19	13,03	5,4

Примечание. * достоверное превышение показателей сорта Тайган при $p \leq 0,05$.

При изучении семенного потомства регенерантов шалфея в селекционном питомнике установлено, что размах изменчивости по урожайности соцветий в среднем за три цикла изучения составил от 237,0 до 330,6 ц/га. По этому признаку в среднем за 2012–2014 гг. выделено три образца (№№ R₃-1-6, 226-08 и 1-01), которые достоверно превысили показатели контроля (сорт Тайган) на 17,8; 13,5 и 7,2 % соответственно.

Массовая доля эфирного масла у изученных образцов варьировала от 0,220 % до 0,383 % от сырой массы (от 0,722 % до 1,347 % в пересчёте на абсолютно сухую массу). Достоверное превышение показателей контроля по этому признаку (в 1,2–1,4 раза) отмечено у №№ 524-007, 104 и 226-08. Показатель сбора эфирного масла также отличала значительная амплитуда изменчивости – от 51,9 до 103,3 кг/га. Образцы №№ R₃-1-6, 524-007, 226-08 и 1-01 превысили стандарт по этому показателю на 35,5; 37,9; 37,4 и 18,7 % соответственно.

Как видно из представленных в таблице 1 данных, погодные условия года исследования оказывали влияние на изученные параметры продуктивности шалфея. Наиболее благоприятным для формирования высокого урожая соцветий у большинства образцов оказался 2012 г., для которого была характерной теплая и влажная весна, когда происходила закладка репродуктивных органов. В третьей декаде апреля этого года температура достигала 25–29 °С, наблюдались редкие грозы. Май также был жарким (до 32 °С), с частыми грозами. Что касается массовой доли эфирного масла, то этот показатель был достоверно выше у образцов № 226-08, 2-01 5М и 5-01 в 2014 г. по сравнению с предыдущими годами. Это может быть обусловлено довольно жарким летом – количество дней с температурой воздуха 30 °С и выше составило 32. При этом количество осадков выпало в пределах нормы. У остальных образцов существенных колебаний не выявлено. В целом суммарный показатель продуктивности – сбор эфирного масла был максимальным у разных образцов в 2012 или 2014 гг., когда складывались оптимальные условия для формирования большей массы соцветий или накопления эфирного масла.

Несмотря на то, что шалфей мускатный является достаточно засухоустойчивым растением [1, 2], возможность его выращивания при недостаточной влагообеспеченности расширяет диапазон использования. Поэтому важным параметром, который может определять и потенциал продуктивности, является коэффициент засухоустойчивости. Значения этого параметра в среднем за три цикла изучения изменялись в пределах от 21,5 до 69,5 %. Достоверно высокие значения коэффициента засухоустойчивости отмечены у образцов №№ 524-007, 226-08 и 2-01 5М, у которых превышение контроля составило 20,4; 32,2 и 26,7 % соответственно. Следует отметить, что исходные растения-регенеранты этих образцов были отобраны при культивировании изолированных зародышей на питательных средах с добавлением осмотически активных веществ, имитирующих условия засухи. Полученные данные свидетельствуют о том, что засухоустойчивость в семенном потомстве этих образцов сохранилась и в полевых условиях.

Таким образом, по результатам изучения в селекционном питомнике выделены перспективные образцы шалфея мускатного (№№ R₃-1-6, 226-08 и 1-01), превосходящие показатели контрольного сорта по основным хозяйственным показателям. Эти образцы затем изучали на заключительном этапе селекционного процесса – в питомнике конкурсного сортоиспытания (таблицы 2–4). В качестве контроля использовали сорт Тайган.

Анализ морфометрических характеристик растений перспективных образцов шалфея в питомнике конкурсного сортоиспытания (КСИ) показал (см. таблицу 2), что в среднем за три цикла изучения изучаемые образцы не различались между собой по высоте растения, длине центрального соцветия и количеству осей третьего порядка на центральном соцветии и не отличались от контроля. По количеству осей первого порядка образцы № 1-01 (6,8 шт.) и № R₃-1-6 (6,9 шт.) достоверно превышали показатели контроля (6,2 шт.) на 11,0 %.

Таблица 2 – Характеристика полученных в культуре *in vitro* образцов шалфея мускатного по основным морфометрическим показателям (КСИ)

Генотип (фактор В)	Год (фактор А)	Высота растения, см	Длина центрального соцветия, см	Количество осей на центральной соцветии, шт.			Количество боковых побегов, шт.
				первого порядка	второго порядка	третьего порядка	
№ 226-08	2016	146,3	55,8	5,3	6,6	0,0	5,0
	2018	114,3	48,5	7,1	10,6	0,0	5,2
	2019	123,8	46,5	7,3	11,5	1,5	6,3
	среднее	128,1	50,3	6,6	9,6*	0,5	5,5
№ 1-01	2016	155,2	54,8	6,4	10,6	0,9	5,2
	2018	108,1	47,3	7,3	8,8	0,4	4,9
	2019	122,0	49,5	6,8	11,8	0,8	5,7
	среднее	128,4	50,5	6,8*	10,4*	0,7	5,3
№ R ₃ -1-6	2016	150,9	55,2	6,3	8,7	0,4	6,4
	2018	110,1	46,3	6,9	14,8	0,0	8,4
	2019	131,0	48,5	7,5	11,5	1,5	8,8
	среднее	130,7	50,0	6,9*	11,7*	0,6	7,9*
Сорт Тайган (контроль)	2016	155,6	55,0	6,3	8,5	0,2	5,2
	2018	114,7	49,8	5,9	7,3	0,4	5,0
	2019	121,0	50,8	6,5	11,3	1,8	6,5
	среднее	130,4	51,9	6,2	9,0	0,8	5,6
НСР ₀₅ по фактору А		1,84	0,96	0,73	0,24	1,52	0,53
НСР ₀₅ по фактору В		1,23	0,84	0,46	0,47	1,26	0,57

Примечание. * достоверное превышение показателей сорта Тайган при $p \leq 0,05$.

Количество осей второго порядка было достоверно выше показателей контроля у всех изучаемых образцов (в 1,1–1,3 раза). По количеству боковых побегов особо следует отметить образец № R₃-1-6, у которого превышение контроля по этому признаку составило в среднем за три года 41,1 %. Увеличение количества боковых побегов и осей первого-второго порядков способствует увеличению массы растения и, как следствие, увеличению урожая.

При анализе основных хозяйственно ценных показателей в питомнике конкурсного сортоиспытания установлено, что в среднем за три цикла изучения по урожайности соцветий лучшим был образец № R₃-1-6, у которого этот показатель в среднем составил 162,0 ц/га, что выше, чем у контрольного сорта Тайган (129,7 ц/га) на 24,9 % (32,3 ц/га) (таблица 3).

Содержание эфирного масла в соцветиях от сырой массы было достоверно выше у образцов № R₃-1-6 (0,351 %) и № 226-08 (0,341 %), что соответственно на 20,0 и 15,6 % превышало этот показатель у сорта Тайган (0,295 %). Массовая доля эфирного масла в пересчёте на абсолютно сухую массу у изучаемых образцов достоверно не отличалась от контроля.

Установлено, что лучшими по сбору эфирного масла были образцы № R₃-1-6 (51,5 кг/га) и № 226-08 (42,4 кг/га). Превышение показателей контрольного сорта Тайган (35,8 кг/га) составило соответственно 15,7 и 6,6 кг/га (на 43,9 % и 18,4 %, соответственно).

Определение коэффициента засухоустойчивости показало, что образец №226-08 (62,6 %) достоверно превышал сорт Тайган (50,6 %) по этому показателю в 1,2 раза. Следует отметить, что образец №226-08 был отобран в результате клеточной селекции как форма, устойчивая к действию осмотика, имитирующего засуху при культивировании *in vitro*. Эта устойчивость проявилась в течение трёх циклов изучения и в условиях *in vivo*, о чём свидетельствуют значения коэффициента засухоустойчивости.

Таблица 3 – Основные хозяйственно ценные показатели у полученных в культуре *in vitro* образцов шалфея мускатного (КСИ)

Генотип (фактор В)	Год (фактор А)	Урожайность соцветий, ц/га	Массовая доля эфирного масла, %		Сбор эфирного масла, кг/га	Коэффициент засухоустойчивости, %
			от сырой массы	от абсолютно сухой массы		
№ R ₃ -1-6	2016	221,6	0,210	0,692	46,5	58,9
	2018	120,3	0,569	1,389	68,5	44,5
	2019	144,2	0,275	0,879	39,7	60,7
	среднее	162,0*	0,351*	0,987	51,5*	54,7
№ 226-08	2016	135,4	0,194	0,662	26,3	65,9
	2018	116,8	0,559	1,729	65,3	52,3
	2019	131,9	0,269	0,856	35,5	69,7
	среднее	128,0	0,341*	1,082	42,4*	62,6*
№1-01	2016	163,1	0,194	0,619	31,6	59,3
	2018	102,7	0,406	1,622	41,7	38,8
	2019	129,7	0,242	0,772	31,4	57,3
	среднее	131,8	0,281	1,004	34,9	51,8
Сорт Тайган (контроль)	2016	169,3	0,216	0,670	36,6	51,9
	2018	94,3	0,419	1,204	39,5	40,8
	2019	125,6	0,250	0,796	31,4	59,1
	среднее	129,7	0,295	0,890	35,8	50,6
НСР ₀₅ по фактору А		16,2	0,05	0,16	5,4	12,15
НСР ₀₅ по фактору В		13,7	0,05	0,21	6,4	9,18

Примечание. * достоверное превышение показателей сорта Тайган при $p \leq 0,05$.

По массовой доле склареола как в пересчете на сырую, так и на абсолютно сухую массу различий между образцами и контролем не выявлено (таблица 4). Вместе с тем следует отметить, что по сбору склареола образец № R₃-1-6 достоверно превосходил контроль на 9,9 кг/га, то есть на 11,2 %.

Таблица 4 – Содержание склареола у полученных в культуре *in vitro* образцов шалфея мускатного (КСИ)

Генотип (фактор В)	Год (фактор А)	Массовая доля склареола, %		Сбор склареола, кг/га
		от сырой массы	от абсолютно сухой массы	
№ R ₃ -1-6	2016	0,341	1,034	75,6
	2018	0,624	1,958	75,1
	2019	0,835	2,666	120,4
	среднее	0,600	1,886	90,4*
№ 226-08	2016	0,309	1,041	41,8
	2018	0,719	2,254	83,9
	2019	0,725	2,313	95,6
	среднее	0,584	1,870	73,8
№1-01	2016	0,444	1,323	72,4
	2018	0,536	1,682	55,0
	2019	0,711	2,251	92,2
	среднее	0,564	1,752	73,2
Сорт Тайган (контроль)	2016	0,385	1,169	65,2
	2018	0,836	2,656	78,8
	2019	0,777	2,461	97,6
	среднее	0,666	2,095	80,5
НСР ₀₅ по фактору А		0,680	0,610	8,3
НСР ₀₅ по фактору В		0,390	0,590	2,3

Примечание. * достоверное превышение показателей сорта Тайган при $p \leq 0,05$.

Анализ компонентного состава эфирного масла показал, что изученные в КСИ образцы по содержанию основных компонентов (линалоола и линалилацетата) достоверно не отличались от контроля. Соотношение этих компонентов в эфирном масле соответствовало ГОСТ 34213-2017.

За все годы изучения и проведения конкурсного сортоиспытания не зарегистрировано повреждения растений изучаемых образцов шалфея болезнями и вредителями.

Важным фактором были гидротермические условия года исследования, которые в период вегетации за три двухгодичных цикла изучения в конкурсном сортоиспытании (2016–2019 гг.) влияли на урожайность соцветий образцов, а также на показатели массовой доли эфирного масла в сырье (см. таблицы 3, 4). Как известно, для развития репродуктивных органов у растений шалфея в период от начала всходов до стеблевания обязательно наличие влаги в почве, особенно в слое до 40 см. По многолетним данным, роль условий увлажнения подтверждалась корреляционным анализом связи урожайности с количеством осадков за период от пробуждения шалфея до начала его цветения [33].

В первом цикле изучения зима 2015–2016 гг. была теплой и влажной, средняя температура превышала норму на 1,1–5,5 °С, а сумма осадков составила 262 мм, что на 11,8 % выше нормы. Лето было сухим и жарким. За период вегетации (март–июнь) сумма температур составила 54,3 °С при норме 51,4 °С, сумма осадков 259 мм, что составило 81–294 % от нормы (в зависимости от месяца). Активная вегетация растений образцов шалфея (формирование розетки, стебление и бутонизация) проходила в условиях повышенной влажности (апрель–июнь), что способствовало увеличению вегетативной массы и повышению урожайности соцветий. При этом отмечено снижение массовой доли эфирного масла в пересчете на сырую массу (см. таблицу 3).

Во втором цикле изучения период 2017–2018 гг. был неблагоприятным для анализируемых образцов шалфея. Он характеризовался умеренно прохладной и бесснежной зимой, сухим и жарким летом. За период активной вегетации растений (апрель–июнь) отмечено недостаточное выпадение осадков – при норме 155,1 мм выпало 60,6 мм. Это негативно повлияло на формирование урожая. Сумма температур в этот период составила 62,4 °С при норме 55,7 °С, что способствовало повышению массовой доли эфирного масла по сравнению с показателями первого цикла изучения.

В третьем цикле изучения зима 2018–2019 гг. была умеренно холодной и бесснежной – сумма температур составила 5,4 °С при норме 2,4 °С, сумма осадков 105,8 мм при норме 129,1 мм, что негативно сказалось на развитии розеток весной. В период активной вегетации растений сумма температур составила 54,8 °С при норме 46,6 °С, количество осадков при этом было 18,8–44,4 % от нормы. В таких погодных условиях наблюдали сокращение отдельных фаз онтогенеза, цветение растений шалфея отмечено на две недели раньше обычного. Это негативно сказалось на формировании урожая и процессе биосинтеза эфирного масла.

Как следует из приведенных данных, в разные годы исследований наблюдали отклонения показателей погодных условий от средних многолетних данных, что является типичным для предгорного Крыма и влияет на развитие растений шалфея мускатного. Длительность вегетационного периода от отрастания прикорневой розетки листьев до технической спелости изучаемых образцов также зависела от погодных условий года. В 2016 г. фаза технической спелости для переработки соцветий с целью получения эфирного масла наступила 13 июля, в 2018 и 2019 гг. техническая спелость была отмечена на 8–10 дней раньше. Продолжительность периода вегетации за весь период изучения образцов № 226-08, №1-01 и сорта Тайган составляла 123–125 дней. У образца № R3-1-6 период вегетации был на 7–10 дней длиннее и составил 130–133 дня.

Таким образом, анализ трех селекционных образцов шалфея мускатного на протяжении трёх циклов изучения в КСИ позволил однозначно выделить как наилучший образец № R₃-1-6, который по урожайности соцветий и сбору эфирного масла превосходил контроль в 1,2 и 1,4 раза соответственно (рисунок 2). Данный образец является семенным потомством регенеранта, полученного при индукции морфогенеза из каллусной культуры сорта С-785. Растения этого образца формировали на 41,1 % больше боковых побегов по сравнению с контролем, что способствовало увеличению массы соцветия и, как следствие, увеличению урожайности. В 2021 г. получен патент на новый сорт шалфея мускатного Селинж (№ R₃-1-6), при выведении которого впервые исходным материалом служили растения-регенеранты, полученные с использованием метода биотехнологии.

Характеристика сорта шалфея мускатного Селинж.

Сорт шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), получен методом индивидуально-семейственного отбора из семенного потомства третьего поколения растений-регенерантов (R₃). Сорт двухлетний, позднезрелый. По данным конкурсного сортоиспытания урожайность соцветий составила 162,0 ц/га, массовая доля эфирного масла – 0,987 % на абсолютно сухую массу, содержание линалилацетата в эфирном масле – 55,6 %, сбор эфирного масла – 51,5 кг/га, склареола – 90,4 кг/га. Высота растений – 130 см. Стебель ветвистый, прямостоячий, среднеопушённый, соцветия в виде метёлки длиной до 50 см. Соцветий на растении – 6–7 шт. Окраска венчика цветка сиреневая, прицветники ярко-сиреневые.



Рисунок 2 – Питомник конкурсного сортоиспытания регенерантов шалфея мускатного (2019 г.) (А), образец № R₃-1-6 (сорт Селинж) (Б)

Таким образом, проведенные исследования показали, что использование различных клеточных технологий у шалфея мускатного позволяет получать ценный исходный селекционный материал. В доступной литературе мы не встречали сведений о характеристике по хозяйственно полезным признакам полученных в условиях *in vitro* растений-регенерантов разных видов шалфея [34–36], за исключением данных о генетической стабильности и содержании вторичных метаболитов у размноженных *in vitro* растений *S. sclarea* [37]. Хотя по многим другим сельскохозяйственным видам растений имеются данные о создании перспективного селекционного материала, а в некоторых случаях, и сортов с использованием соматональной изменчивости, клеточной селекции или эмбриокультуры [14–19].

Следует отметить, что в наших исследованиях все используемые биотехнологические методы позволили получить отдельные регенеранты, которые превышали по хозяйственно полезным признакам контрольный районированный сорт. Поэтому в КСИ изучали три перспективных образца, полученных с применением трех биотехнологических приемов, – регенерант из каллуса, гибрид (полученный в эмбриокультуре) и образец, отобранный на селективном фоне в культуре зародышей. При использовании методов клеточной селекции (при культивировании зиготических зародышей на питательной среде МС с осмотиками) все изучавшиеся в селекционном питомнике регенеранты (№№ 2-01 5М, 226-0,8 и 524-007) проявили повышенную засухоустойчивость. Коэффициент засухоустойчивости у них был на 20,4–32,4 % достоверно выше по сравнению с таковым у наиболее засухоустойчивого сорта Тайган. Это свидетельствует о перспективности использования данного методического приема при создании устойчивых к абиотическому стрессу генотипов шалфея. Вместе с тем при использовании полученных *in vitro* образцов наиболее высокопродуктивным в данной серии экспериментов, оказался образец № R₃-1-6, полученный при индукции морфогенеза из каллуса. Создание новых генотипов в культуре каллусных клеток основано на соматической изменчивости соматических клеток в изолированной культуре, передающейся во многих случаях и регенерировавшим из них растениям [13, 22]. Как следует из наших данных, образец № R₃-1-6 (соматический вариант) показал существенное превышение контроля по урожайности, что, по-видимому, обусловлено в значительной степени морфологическими изменениями (увеличением числа боковых побегов). Полученные в результате КСИ данные позволили показать эффективность применения в селекции шалфея мускатного методов культуры тканей и органов *in vitro* и впервые создать с их использованием новый сорт Селинж, на который в 2021 г. получен патент на селекционное достижение.

Выводы

На основных этапах селекционного процесса изучены хозяйственные и морфометрические признаки семенного потомства образцов *S. sclarea*, полученных с использованием разных биотехнологических методов, – растения-регенеранты из каллусных культур, межвидовые гибриды (*S. sclarea* L. × *S. grandiflora* Etling.), полученные в культуре изолированных зародышей, и формы, отобранные в эмбриокультуре на селективной среде с осмотиком. Анализ 10 образцов в селекционном питомнике позволил отобрать три перспективных (№№ R₃-1-6, 226-08 и 1-01), у которых сбор эфирного масла был на 18,7–37,4 % выше, чем у контрольного сорта Тайган. В питомнике конкурсного сортоиспытания выделен образец № R₃-1-6, который по урожайности соцветий (162,0 ц/га) и сбору эфирного масла (51,5 кг/га) превосходил контроль в 1,2 и 1,4 раза соответственно. По сбору склареола образец № R₃-1-6 также достоверно превосходил контроль на 11,2 %. Получен патент на новый сорт шалфея мускатного Селинж (№ R₃-1-6), при создании которого впервые использован метод клеточной инженерии.

Литература

1. Бочкарёв Н. И., Зеленцов С. В., Шуваева Т. П., Бородкина А. П. Состояние таксономии, морфологии и селекции шалфея мускатного (обзор) // Масличные культуры. 2014. Вып. 1 (157-158). С. 165–177.
2. Паштецкий В. С., Невкрытая Н. В., Мишнев А. В., Назаренко Л. Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 320 с.
3. Эфиромасличные культуры. Краснодар: Просвещение-Юг, 2017. 295 с.
4. Aćimović M., Kiprovski B., Rat M., Sikora V., Popović V., Koren A., Brdar-Jokanović M. *Salvia sclarea*: chemical composition and biological activity // Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management. 2018. Vol. 1(1). P. 18–28.

5. Poullos E., Giaginis C., Vasios G. K. Current advances on the extraction and identification of bioactive components of Sage (*Salvia spp.*) // Curr. Pharm. Biotechnol. 2019. Vol. 20(10). P. 845–857. DOI: 10.2174/1389201020666190722130440. PMID: 31333123.
6. Angelova V. R., Ivanova R. V., Todorov G. M., Ivanov K. I. Potential of *Salvia sclarea* L. for phytoremediation of soils contaminated with heavy metals // Int. J. Agric. Biosyst. Engineer. 2016. Vol. 10. No. 12. P. 780–790.
7. Goncariuc M., Balmus Z., Cotelea L. Genetic diversification of *Salvia sclarea* L. quality by increasing the storage capacity of the essential oil // Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicări. Științele Naturii. 2016. Vol. 32. No. 1. P. 29–36.
8. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. 516 с.
9. Tychonievich J., Warner R. M. Interspecific crossability of selected *Salvia* species and potential use for crop improvement // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 2011. Vol. 136. No. 1. P. 41–47. DOI: 10.21273/JASHS.136.1.41.
10. Zutic I., Nitzan N., Chaimovitsh D., Schechter A., Dudai N. Geographical location is a key component to effective breeding of clary sage (*Salvia sclarea*) for essential oil composition // Israel Journal of Plant Sciences. 2016. Vol. 63. No. 2. P. 134–141. DOI: 10.1080/07929978.2016.1141602.
11. Hawke R. G. An evaluation study of tender salvias (*Salvia spp.*) // Plant Evaluation Notes. 2019. No. 44. P. 1–12. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.chicagobotanic.org/sites/default/files/pdf/plantevaluation/no44_salvia.pdf (дата обращения 12.04.2021).
12. Radosavljević I., Bogdanović S., Celep F., Filipović M., Satovic Z., Surina B., Liber Z. Morphological, genetic and epigenetic aspects of homoploid hybridization between *Salvia officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Mill. // Sci Rep. 2019. Vol. 9. Art. No. 3276. DOI: 10.1038/s41598-019-40080-0.
13. Remotti P. C. Somaclonal variation and *in vitro* selection for crop improvement // Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement // Ed. by Mohan Jain S., Brar D. S., Ahloowalia B. S. Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. P. 169–202.
14. Рожанская О. А. Соя и нут в Сибири: культура тканей, соматклоны, мутанты. Новосибирск: Юпитер, 2005. 155 с.
15. Бишимбаева Н.К. Соматклональная вариабельность как источник получения новых форм пшеницы с ценными признаками // Experimental Biology. 2015. Vol. 55. No. 3. P. 41–46.
16. Игнатова С. А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт, 2011. 224 с.
17. Дубровна О. В., Чугункова Т. В., Бавол А. В., Лялько І. І. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. К.: Логос, 2012. 428 с.
18. Шуплецова О. Н., Щенникова И. Н. Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 5. С. 623–628. DOI: 10.18699/VJ16.183.
19. Здруйковская-Рихтер А. И. Эмбриокультура изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. Ялта: Крым-Фарм-Трейддинг, 2003. 368 с.
20. Mitrofanova I. V., Smykov A. V., Mitrofanova O. V., Lesnikova-Sedoshenko N. P., Chirkov S. N., Zhdanova I. V. Using *in vitro* embryo culture for obtaining new breeding forms of peach // Acta Hort. 2020. Vol. 1289. P. 159–165. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1289.23.
21. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5. P. 50–59. DOI:10.1016/j.eng.2018.11.006.
22. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений. М.: Юрайт, 2020. 333 с.
23. Егорова Н. А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: индукция каллусо- и морфогенеза, использование соматклональной вариабельности // Физиология растений и генетика. Т. 46. № 2. 2014. С. 108–120.
24. Ставцева И. В., Егорова Н. А. Культура изолированных зародышей шалфея и ее использование в селекции. Методические рекомендации. Симферополь, ИЭЛР НААНУ, 2011. 20 с.
25. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Биотехнологические приемы получения форм шалфея, устойчивых к осмотическому стрессу *in vitro* // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2013. Вып. 8. С. 93–100.
26. Егорова Н. А., Ставцева И. В., Митрофанова И. В. Морфогенез и клональное микроразмножение *Salvia sclarea* L. *in vitro* // Труды Никитского ботанического сада. 2011. Т. 133. С. 41–53.
27. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Создание сорта шалфея мускатного с использованием методов клеточной инженерии. 1. Получение растений-регенерантов в каллусной культуре *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 1(25). С. 98–112. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-98-112.
28. Селекция эфиромасличных культур (методические указания) / Под ред. Ариштейн А.И. Симферополь: Всесоюзный научно-исследовательский институт эфиромасличных культур, 1977. 151 с.
29. Тимашева Л. А., Пехова О. А., Данилова И. Л. О методике определения содержания склареола в сырье *Salvia sclarea* L. и продуктах его переработки // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2017. Вып. 4 (67). С. 249–254. DOI: 10.21515/1999-1703-67-249-254.

30. Моргун В. В., Григорюк И. П., Кравець В. С. Вплив регуляторів росту на водний статус і продуктивність сортів картоплі за умов посухи // Физиология и биохимия культурных растений. 2001. Т. 33. № 5. С. 371–376.
31. Савчук Л. П. Климат предгорья Крыма и эфирносы. Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2006. 76 с.
32. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Альянс, 2011. 350 с.
33. Савчук Л. П. Агрометеорологические показатели условий перезимовки и формирования урожая шалфея мускатного // Труды ВНИИЭМК. 1975. Т. VIII. С. 189–196.
34. Iola-Boldura O.M., Radu F., Popescu S., Borozan A. Regeneration, micropropagation, callus cultures and somatic embryogenesis of common sage (*Salvia officinalis* L.) // Bulletin UASVM Horticulture. 2010. Vol. 67. No. 1. P. 308–313.
35. Marconi P. L., López M. C., De Meester J., Bovjin C., Alvarez M.A. *In vitro* establishment of *Salvia hispanica* L. plants and callus // Biotecnología Vegetal. 2013. Vol. 13. No. 4. P. 203–207.
36. Crespo-Rosas J. C., Lopez-Peralta M. C. G., Hernandez-Meneses E., Cruz-Galindo B. *In vitro* regeneration of *Salvia hispanica* L. by organogenesis // Agrociencia. 2019. No. 53. P. 122–1232.
37. Erişen S., Kurt-Gür G., Servi H. *In vitro* propagation of *Salvia sclarea* L. by meta-Topolin, and assessment of genetic stability and secondary metabolite profiling of micropropagated plants // Industrial Crops and Products. 2020. Vol. 157. Art. No. 112892. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112892.

References

1. Bochkarev N. I., Zelentsov S. V., Shuvaeva T. P., Borodkina A. P. State of taxonomy, morphology and breeding of clary sage (review) // Oil crops. 2014. No. 1 (157–158). P. 165–177.
2. Pashtetskii V. S., Nevkrytaya N. V., Mishnev A. V., Nazarenko L. G. Essential oil industry in the Crimea. Yesterday, today, tomorrow. Simferopol: Publishing house “Arial”, 2018. 320 p.
3. Essential oil crops. Krasnodar: “Prosveshcheniye-Yug”, 2017. 295 p.
4. Aćimović M., Kiprovski B., Rat M., Sikora V., Popović V., Koren A., Brdar-Jokanović M. *Salvia sclarea*: chemical composition and biological activity // Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management. 2018. Vol. 1(1). P. 18–28.
5. Poullos E., Giaginis C., Vasios G.K. Current advances on the extraction and identification of bioactive components of sage (*Salvia spp.*) // Curr. Pharm. Biotechnol. 2019. Vol. 20(10). P. 845–857. DOI: 10.2174/1389201020666190722130440.
6. Angelova V. R., Ivanova R. V., Todorov G. M., Ivanov K. I. Potential of *Salvia sclarea* L. for phytoremediation of soils contaminated with heavy metals // Int. J. Agric. Biosyst. Engineer. 2016. Vol. 10. No. 12. P. 780–790.
7. Goncariuc M., Balmus Z., Cotelea L. Genetic diversification of *Salvia sclarea* L. quality by increasing the storage capacity of the essential oil // Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicări. Științele Naturii. 2016. Vol. 32. No. 1. P. 29–36.
8. State register of breeding achievements allowed for use. Vol. 1. Plant cultivars (official edition). Moscow: FSBSI “Rosinformagrotekh”, 2019. 516 p.
9. Tychonievich J., Warner R. M. Interspecific crossability of selected *Salvia* species and potential use for crop improvement // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 2011. Vol. 136. No. 1. P. 41–47. DOI: 10.21273/JASHS.136.1.41.
10. Zutic I., Nitzan N., Chaimovitch D., Schechter A., Dudai N. Geographical location is a key component to effective breeding of clary sage (*Salvia sclarea*) for essential oil composition // Israel Journal of Plant Sciences. 2016. Vol. 63. No. 2. P. 134–141. DOI: 10.1080/07929978.2016.1141602.
11. Hawke R. G. An evaluation study of tender salvias (*Salvia spp.*) // Plant Evaluation Notes. 2019. No. 44. P. 1–12. [Electronic resource]. Access point: https://www.chicagobotanic.org/sites/default/files/pdf/plantevaluation/no44_salvia.pdf (references date 12.04.2021).
12. Radosavljević I., Bogdanović S., Celep F., Filipović M., Satovic Z., Surina B., Liber Z. Morphological, genetic and epigenetic aspects of homoploid hybridization between *Salvia officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Mill. // Sci Rep. 2019. Vol. 9. Art. No. 3276. DOI: 10.1038/s41598-019-40080-0.
13. Remotti P. C. Somaclonal variation and *in vitro* selection for crop improvement // Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement // Ed. by Mohan Jain S., Brar D. S., Ahloowalia B. S. Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. P. 169–202.
14. Rozhanskaya O. A. Soybean and chickpea in Siberia: tissue culture, somaclones, mutants. Novosibirsk: Yupiter, 2005. 155 p.
15. Bishimbaeva N. K. Somaclonal variability as a source of obtaining new forms of wheat with valuable traits // Experimental Biology. 2015. Vol. 55. No. 3. P. 41–46.
16. Ignatova S. A. Cell technologies in plant growing, genetics and breeding of cultivated plants: tasks, opportunities, development of *in vitro* systems. Odessa: Astroprint, 2011. 224 p.
17. Dubrovna O. V., Chugunkova T. V., Bavol A. V., Lyalko I. I. Biotechnological and cytogenetic basis for creating stress-resistant plants. Kiev: Logos, 2012. 428 p.

18. Shupletsova O. N., Shchennikova I. N. Results of using cell technologies for creation of new barley varieties resistant against aluminum toxicity and drought // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii [Vavilov Journal of Genetics and Breeding]. 2016. Vol. 20 (5). P. 623–628. DOI: 10.18699/VJ16.183.
19. Zdruikovskaya-Richter A. I. Embryoculture of isolated embryos, generative structures and obtaining new forms of plants. Yalta: Crimea-Farm-Trading, 2003. 368 p.
20. Mitrofanova I. V., Smykov A. V., Mitrofanova O. V., Lesnikova-Sedoshenko N. P., Chirkov S. N., Zhdanova I. V. Using *in vitro* embryo culture for obtaining new breeding forms of peach // Acta Hort. 2020. Vol. 1289. P. 159–165. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1289.23.
21. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5. P. 50–59. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
22. Kalashnikova E. A. Cell engineering of plants. Moscow: “Yurayt”, 2020. 333 p.
23. Yegorova N. A. Some aspects of essential oil plants biotechnology: callus and morphogenesis induction, use of somaclonal variability // Plant Physiology and Genetics. 2014. Vol. 46. No. 2. P. 108–120.
24. Stavtzeva I. V., Yegorova N. A. The culture of isolated sage embryos and their use in breeding. Guidelines. Simferopol: Research Institute of Essential Oil and Medicinal Crops, 2011. 20 p.
25. Yegorova N. A., Stavtzeva I. V. Biotechnological methods of obtaining sage forms resistant to osmotic stress *in vitro* // Ecosystems, their optimization and protection. 2013. No. 8. P. 93–100.
26. Yegorova N. A., Stavtzeva I. V., Mitrofanova I. V. Morphogenesis and clonal micropropagation of *Salvia sclarea* L. *in vitro* // Works of the State Nikita Botanical Gardens. 2011. Vol. 133. P. 41–53.
27. Yegorova N. A., Stavtzeva I. V. Creation of clary sage cultivar using cell engineering methods. 1. Obtaining of plant-regenerants in callus culture *in vitro* // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2021. No. 1(25). P. 98–112. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-98-112.
28. Essential oil crops breeding (Guidelines) // Ed. by Arinshteyn A.I. Simferopol: All-Union Research Institute of Essential Oil Crops, 1977. 151 p.
29. Timasheva L. A., Pekhova O. A., Danilova I. L. Methods of identifying sclareol content in the raw material of *Salvia sclarea* L. and in products of its processing // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. 2017. Vol. 4(67). P. 249–254. DOI: 10.21515/1999-1703-67-249-254.
30. Morgun V. V., Grigoryuk I. P., Kravets V. S. Influence of growth regulators on water status and productivity of potato cultivars in drought conditions // Physiology and biochemistry of cultivated plants. 2001. Vol. 33. No. 5. P. 371–376.
31. Savchuk L. P. The climate of the foothill areas of the Crimea and essential oil crops. Simferopol: El'in'o, 2006. 76 p.
32. Dospekhov B. A. Methods of field research (with the basics of statistical processing of research results). Moscow: Alyans, 2011. 350 p.
33. Savchuk L. P. Agrometeorological indicators of wintering conditions and formation of clary sage harvest // Proceedings of All-Union Research Institute of Essential Oil Crops. 1975. Vol. VIII. P. 189–196.
34. Iola-Boldura O.M., Radu F., Popescu S., Borozan A. Regeneration, micropropagation, callus cultures and somatic embryogenesis of common sage (*Salvia officinalis* L.) // Bulletin UASVM Horticulture. 2010. Vol. 67. No. 1. P. 308–313.
35. Marconi P. L., López M. C., De Meester J., Bovjin C., Alvarez M. A. *In vitro* establishment of *Salvia hispanica* L. plants and callus // Biotecnología Vegetal. 2013. Vol. 13. No. 4. P. 203–207.
36. Crespo-Rosas J. C., Lopez-Peralta M. C. G., Hernandez-Meneses E., Cruz-Galindo B. *In vitro* regeneration of *Salvia hispanica* L. by organogenesis // Agrociencia. 2019. No. 53. P. 1221–1232.
37. Erişen S., Kurt-Gür G., Servi H. *In vitro* propagation of *Salvia sclarea* L. by meta-Topolin, and assessment of genetic stability and secondary metabolite profiling of micropropagated plants // Industrial Crops and Products. 2020. Vol. 157. Art. No. 112892. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112892.

UDC 633.81:631.52+57.085.2

Stavtzeva I. V., Yegorova N. A.

CREATION OF CLARY SAGE CULTIVAR USING CELL ENGINEERING METHODS.

2. STUDY OF PLANT-REGENERANTS AT THE STAGES OF BREEDING PROCESS

Summary. Clary sage (*Salvia sclarea* L.) is a widely demanded essential oil plant. The products of its processing are used in medicine, perfumery and cosmetics, food industry, paint and varnish production. The main breeding tasks are to develop cultivars that combine high yield and quality of essential oil, resistant to abiotic and biotic stresses. All clary sage cultivars registered in the ‘State register of breeding achievements allowed for use’ Russian Federation were obtained on the basis of traditional methods. The initial

breeding material of *S. sclarea* was obtained at the FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea” using methods of cell engineering (induction of somaclones from callus cultures, obtaining hybrids in embryoculture and cell selection for resistance to osmotic stress). The aim of this work was to study the main economic and morphometric parameters of clary sage samples created using various biotechnological methods at the main stages of the breeding process. As a material for research, we used samples obtained *in vitro* using three biotechnological methods – regenerants (R₂-R₃) from calli of ‘C-785’ and ‘Taigan’ cultivars, obtained in isolated embryo culture hybrids (*Salvia sclarea* L. x *S. grandiflora* Etling.) and forms selected in embryoculture on a selective medium with an osmotic (mannitol or NaCl). When studying 10 sage samples (seed progeny of regenerants) in the breeding nursery (2012–2014), three that exceeded the control cultivar ‘Taigan’ in terms of basic economic characteristics were identified. The collection of essential oil from them was 1.2-1.4 times higher than in the control. In the nursery of competitive variety trials (2016–2019), when studying three samples (No. R₃-1-6, 226-08 and 1-01), No. R₃-1-6 was selected for a number of indicators. This sample is seed progeny of regenerant obtained by the induction of morphogenesis from callus. A characteristic feature of this sample was an increase in the number of lateral shoots per inflorescence by 41.1 %, which contributed to an increase in the mass of inflorescences. By the yield of inflorescences (162.0 c/ha) and the collection of essential oil (51.5 kg/ha), No. R₃-1-6 exceeded control by 24.9 % and 43.9 %, respectively. The patent on the new clary sage cultivar ‘Selinzh’ (No. R₃-1-6), in the creation of which the method of cell engineering was used for the first time, was received.

Keywords: *Salvia sclarea* L., breeding, cultivar, biotechnology, *in vitro*, plant-regenerants, callus, embryoculture, somaclonal variability.

Ставцева Ирина Викторовна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: ira563583@mail.ru.

Егорова Наталья Алексеевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией биотехнологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: yegorova.na@mail.ru.

Stavtzeva Irina Viktorovna, Cand. Sc. (Agr.), senior researcher, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: ira563583@mail.ru.

Yegorova Natalia Alekseevna, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of biotechnology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: yegorova.na@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 08.02.2021.

Дата принятия к печати – 22.03.2021.