

На правах рукописи

ЭЙДЛИН ЯКОВ ТАРАСОВИЧ

**СОЗДАНИЕ F1-ГИБРИДОВ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*Allium cepa* L.) С
ГРУППОВОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПЕРОНОСПОРОЗУ И РОЗОВОЙ
ГНИЛИ КОРНЕЙ**

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Москва – 2025

Работа выполнена на кафедре молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства в ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель **Монахос Григорий Федорович**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, генеральный директор ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева»

Официальные оппоненты: **Дубина Елена Викторовна**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией информационных, цифровых и биотехнологий ФГБНУ «Федеральный научный центр риса»

Кривенков Леонид Викторович, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией селекции и семеноводства луковых культур ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»

Ведущая организация ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР)»

Защита состоится «17» июня 2025 г. в 10:00 на заседании диссертационного совета 35.2.030.08, созданного на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет–МСХА имени К.А. Тимирязева», по адресу: 127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19, тел: 8 (499) 976-17-14.

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте Университета www.timacad.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета _____ Е.А. Вертикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Лук репчатый (*Allium cepa* L.) – одна из важнейших и древнейших сельскохозяйственных культур во всем мире, площади возделывания культуры в Российской Федерации в 2023 г. составляли 58 тыс. га. (Бутов И.С., 2023).

Ложная мучнистая роса или пероноспороз (возбудитель – оомицет *Peronospora destructor* (Berk.) Casp) - одно из самых распространенных, опасных, экономически вредоносных и разрушительных грибковых заболеваний лука репчатого (*Allium cepa* L.), патоген распространен повсеместно и ежегодно паразитирует на посевах и посадках лука репчатого во всех регионах возделывания.

Генетическая устойчивость к пероноспорозу и другим заболеваниям лука репчатого – важнейший признак, который позволит исключить многократные обработки товарных и семенных посадок фунгицидами, снизить пестицидную нагрузку на агроэкосистему, повысить экономическую эффективность возделывания лука и обеспечить безопасность продукции для населения.

За рубежом уже созданы F1-гибриды с генетической устойчивостью к пероноспорозу (F1 Santero и др.), однако транснациональные компании не зарегистрировали в РФ ни одного из них.

Исходя из этого, актуальным является поиск источников и доноров устойчивости и передача генов устойчивости в лук репчатый.

В 1990 году был найден донор устойчивости *A. roylei* и успешно получен межвидовой гибрид от скрещивания *A. roylei* Stearn и *A. cepa* L., анализ потомства показал наличие полной устойчивости к ложной мучнистой росе (Kofoet A. et al., 1990). Авторами исследования показан моногенный доминантный контроль признака и предложено название гена устойчивости - *Pd1*, однако установлено отклонение от теоретически ожидаемого расщепления в потомствах F2 от соотношения 3:1 (De Vries J. N. et al., 1992).

Хрусталева Л. И. установила, что ген устойчивости *Pd1* локализован в дистальной части 3 хромосомы. Однако при самоопылении гетерозиготного по гену *Pd1* растения наблюдается существенное отклонение от Менделевского расщепления. По мнению Л.И. Хрусталевой, это связано со сцепленным киллерным геном, который не позволяет получать доминантное гомозиготное потомство (Хрусталева Л.И., 2007). Также это было показано в исследовании Хрусталевой Л. И. и др. (2019) году методом GISH-гибридизации при проведении картирования сцепленного с *Pd1* киллерного

гена, на беккроссных потомствах лука репчатого, где одной из родительских форм был *Allium roylei* (Khrustaleva L. et al., 2019).

Алижановой Р.Р. создан исходный материал лука репчатого, включающий растения с генетической устойчивостью, контролируемой доминантным гомозиготным геном *Pd1* (Алижанова Р.Р., 2019).

Вместе с тем для успешного создания устойчивых F1-гибридов необходима передача этого гена (*Pd1*) в стерильные линии, линии закрепители стерильности, отцовские линии, поиск и создание линий с толерантностью к розовой гнили корней, альтернариозу и оценка их комбинационной способности по комплексу хозяйственных признаков.

Цель исследования: Интеграция классических и молекулярно генетических методов при создании стерильных и фертильных линий лука репчатого (*Allium cepa* L.) и на их базе F1- гибридов с групповой устойчивостью к пероноспорозу и розовой гнили корней.

Для реализации цели научного исследования были поставлены следующие задачи:

1. Создание закрепителей стерильности и их стерильных аналогов с устойчивостью к пероноспорозу (возбудитель *Peronospora destructor* (Berk.) Casp) для системы CMS-R маркер-опосредованным отбором;
2. Изучение различных типов стерилизующей цитоплазмы с помощью молекулярных маркеров (5`cob:orfA501);
3. Оценить возможность создания новых типов ЦМС изучением отдаленных гибридов и беккроссных потомств от скрещивания стерильных растений лука пскемского (*Allium pskemense*) и лука молочноцветного (*Allium galanthum*) с луком репчатым (*Allium cepa*);
4. В топкроссных скрещиваниях оценить общую комбинационную способность линий лука с генетической устойчивостью к пероноспорозу;
5. Оценить на естественном инфекционном фоне линейный материал и F1-гибриды по устойчивости/восприимчивости к розовой гнили корней (возбудитель *Phoma terrestris*);
6. Апробация молекулярного маркера (AcSSR7) на устойчивость к альтернариозу (возбудитель *Alternaria porri*) и поиск доноров генетической устойчивости;
7. Провести станционное испытание и выявить перспективные для возделывания в условиях Московской области гибридные комбинации лука репчатого с генетической устойчивостью к пероноспорозу.

Научная новизна

Впервые проведена оценка общей комбинационной способности фертильных линий с генетической устойчивостью к пероноспорозу (возбудитель *Peronospora destructor* (Berk.) Casp) при скрещивании со стерильной линией толерантной к розовой гнили корней.

На провокационном фоне выделен донор моногенной доминантной устойчивости к альтернариозу (возбудитель *Alternaria porri*) АК№1.

С помощью молекулярного маркера AcSSR7 проведено генотипирование и отобраны доминантные гомозиготы по гену *ApR1* устойчивости к альтернариозу лука.

Впервые в нашей стране изучены морфологические и биологические признаки стерильных отдаленных гибридов и их беккроссных потомств *Allium galanthum* x *Allium cepa*, *Allium pskemense* x *Allium cepa*, показано, что после четвертого беккросса у стерильных гибридов с *Allium pskemense* восстановлена семенная продуктивность, а у стерильных гибридов с *Allium galanthum* она остается очень низкой.

Впервые показано, что молекулярная система 5`cob:orfA501 идентифицирует цитоплазму стерильных растений *Allium pskemense* как цитотип Т, а у *Allium galanthum* как цитотип S.

Теоретическая и практическая значимость. Впервые в нашей стране созданы гомозиготные по гену устойчивости Pd1 к пероноспорозу стерильные линии и их фертильные аналоги (закрепители стерильности).

Созданы фертильные линии лука репчатого (*Allium cepa* L.) устойчивые к пероноспорозу с высокой общей комбинационной способностью по хозяйственным признакам (урожайность, сохранность в период хранения, содержание сухих веществ).

Выделены перспективные гибридные комбинации лука репчатого, сочетающие в себе комплекс хозяйственно ценных признаков и групповую устойчивость к ложной мучнистой росе (возбудитель *Peronospora destructor* (Berk.) Casp) и розовой гнили корней (возбудитель *Phoma terrestris*).

Выявлен и предложен для использования в селекции донор толерантности к розовой гнили корней (Бн1).

Выявлены генетические различия в контроле устойчивости к альтернариозу у селекционных образцов лука репчатого.

Создан и включен в 2025 году в Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию, первый в РФ F1-гибрид лука репчатого «Резистор» с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе (Код сорта: 7754879), характеризующийся высокой урожайностью (98,6 т/га в опыте),

среднепоздним сроком созревания, высоким содержанием сухого вещества (9,2 °Вх), способностью к длительному хранению, толерантностью к розовой гнили корней.

Методология и методы исследования

Теоретические исследования основаны на аналитическом обобщении опубликованных научных исследований. Экспериментальные исследования проведены с использованием стандартных и частных методик и последующей статистической обработкой данных. Полностью методология описана в главе «Материалы и методы».

Положения, выносимые на защиту

1. Схема создания линий закрепителей стерильности и их стерильных аналогов с генетической устойчивостью к пероноспорозу (возбудитель *Peronospora destructor* (Berk.) Casp), контролируемой геном *Pd1*, и ее практическая реализация.

2. Интеграция классических и молекулярных способов при создании инбредных линий с высокой общей комбинационной способностью, устойчивых к пероноспорозу и розовой гнили корней с использованием молекулярного маркера DMR1 на ген устойчивости к пероноспорозу *Pd1* и инфекционных фонов.

3. Гибридная комбинация МсБн1 х 163 (F1 «Резистор») сочетает в себе устойчивость к пероноспорозу, толерантность к розовой гнили корней и позволяет получать высокий урожай луковиц с высокой сохранностью.

4. Морфологические и биологические признаки отдаленных гибридов *Allium cepa* (лук репчатый) с *Allium pskemense* (лук пскемский) и *Allium galanthum* (лук молочнокветный) и их беккросных потомств, как источники новых типов ЦМС.

Степень достоверности и апробация результатов исследований

Исследования выполнены согласно принятым методикам, обоснованность научных выводов подкреплена результатами экспериментов и последующей статистической обработкой данных.

Апробация результатов работы

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на: VIII международной научно-практической конференции: «Современные тенденции в селекции и семеноводстве луковых культур. Традиции и перспективы», посвященной 100-летию со дня основания лаборатории селекции и семеноводства луковых культур ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», (ВНИИССОК, 2021); Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова, РГАУ-МСХА им.

К.А. Тимирязева (г. Москва, 2022); Международной научной конференции «Проблемы селекции-2022» РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева (г. Москва, 2022); Международной научно-практической конференции «Аграрная наука-2023» (AgriScience2023), РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева; XI международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции овощных, бахчевых и цветочных культур на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды» ФГБНУ ФНЦО (ВНИИССОК, 2024).

Связь работы с научными проектами и программами

Грант в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего» в рамках соглашения № 075-15-2022-317 от «20» апреля 2022 г.

Публикации результатов исследований

По материалам диссертации опубликовано 5 печатные работы, в том числе 2 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 2 статьи в сборниках докладов и тезисов.

Получен 1 патент на изобретение «Способ создания мужски-стерильных F1-гибридов лука репчатого, устойчивых к заболеваниям», № 2834769 от 17.02.2025, дата приоритета 18.10.2023.

Личный вклад соискателя

Результаты экспериментальных и теоретических исследований получены автором лично. Соискателю принадлежат проведение основных экспериментов и теоретическое обобщение полученных результатов.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация изложена на 114 страницах и состоит из введения, 3 глав, включая обзор литературы, условия, материалы и методику проведения исследований, анализ результатов исследований, выводов, рекомендаций производству, списка использованной литературы, приложения. Включает 19 таблиц и 33 рисунка, библиографический список включает 127 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Место выполнения исследования. Работа выполнена в 2020-2024 годах на кафедре ботаники, селекции и семеноводства садовых растений и в лаборатории генетики, селекции и биотехнологии овощных культур ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева.

Растительный материал

В качестве растительного материала были использованы следующие селекционные образцы (из генетической коллекции ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева»): линии устойчивые к ложной мучнистой росе, имеющие ген устойчивости *Pd1*, восприимчивые к ложной мучнистой

росе закрепители стерильности с известным генотипом N *msms*, образцы дикорастущего вида *Allium galanthum*; стерильные беккросные потомства от отдаленного скрещивания *A. pskemense* x *A. cepa*, стерильное гибридное потомство от отдаленного скрещивания *A. galanthum* x *A. cepa*, и их беккросные популяции; зарубежные F1-гибриды, взятые в качестве стандартов; стерильная линия МсБн1 с типом цитоплазмы CMS-R; зарубежный сорт устойчивый к альтернариозу лука репчатого, имеющий ген устойчивости *ApR1*, *Allium roylei* – донор устойчивости к ложной мучнистой росе (*Pd1*); расщепляющиеся популяции лука репчатого F2...F3.

Условия выращивания

Выращивание растений осуществляли рассадным способом, ручной посев - в рассадные кассеты (144 ячейки, размер кассеты – 400х400х50 мм) с торфяным субстратом в третьей декаде апреля, подкормки проводили минеральным удобрением «Акварин 14-14-14» и аммиачной селитрой. Высадка рассады в открытый грунт при появлении третьего-четвертого настоящего листа, с отрастанием корневой системы из дна кассеты. Уход за растениями в открытом грунте был следующим: подкормки азофоской, полив, обработка смесью гербицидов Гоал, КЭ + Пантера, КЭ. Уборка ручным способом при полегании листьев у 75-80% растений образца. Высадка луковиц в защищенный грунт по схеме 100+50х20 см. Луковицы хранили в овощном хранилище при температуре 2-4 °С, с относительной влажностью воздуха 60-70%.

Инбридинг линий и гибридизация

Гибридизацию и инбридинг проводили в контролируемых условиях пленочной теплицы. Опыление вручную с использованием кисточек и отдельных изоляторов.

Полевые испытания

Во время вегетационного периода проводили фенологические наблюдения и оценку образцов по следующим признакам: средняя масса луковиц, зачатковость, количество сухих кроющих чешуй, содержание сухих растворимых веществ ($^0\text{Вх}$), наличие устойчивости к пероноспорозу, розовой гнили корней, альтернариозу. Измерения массы луковиц у каждого генотипа осуществляли с помощью переносных весов. Содержание сухих растворимых веществ определяли с помощью рефрактометра Atago Palette PR-32. Интенсивность воскового налета и количество сухих кроющих чешуй у образцов оценивали визуально. Число зачатков в луковице определяли на поперечном разрезе. Длину и количество листьев учитывали перед уборкой.

Создание инфекционного фона

Для оценки устойчивости к ложной мучнистой росе создавали инфекционный фон с грибом *Peronospora destructor*. Инокулом получали методом смыва с зараженных листьев лука во второй половине вегетации растений в концентрации 3×10^6 . За устойчивые принимали растения без проявления симптомов ложной мучнистой росы, за восприимчивые – с любой степенью проявления заболевания. Оценку образцов на устойчивость

к розовой гнили осуществляли на участке с многолетним естественным инфекционным фоном с патогеном *Phoma terrestris*. Толерантность оценивали в баллах (от 0 – полное отсутствие поражения до 5 – корни с сильным проявлением симптомов заболевания). Для оценки селекционного материала на устойчивость к альтернариозу лука репчатого высадку проводили на участки с высокой инфекционной нагрузкой грибных фитопатогенов.

Молекулярные исследования

Тотальное ДНК выделяли СТАВ-методом с модификациями (Rogers S. O., Bendich A. J., 1985). Измерение концентрации нуклеиновых кислот и оценку степени очистки проводили с использованием прибора NanoPhotometr N (Implen). Процедуру амплификации осуществляли в ПЦР-амплификаторе Thermal Cycler C1000 Touch (Bio-Rad). Молекулярно-генетический анализ и дифференциацию генотипов в расщепляющихся популяциях проводили с использованием следующих молекулярных маркеров: DMR1 (S. Kim et al, 2016) – SCAR - маркер ядерного гена устойчивости к пероноспорозу *Pd1*, Jnurf-13 (Kim S., 2013) – маркер ядерного гена мужской фертильности/стерильности *Ms*, 5'cob: orfA501 – система молекулярных маркеров для генотипирования типа цитоплазмы N, S, T. AcSSR7 – кодоминантный молекулярный маркер ядерного гена устойчивости к альтернариозу *ApR1* (Chand S. K., 2019). Gal-CMS (Havey M. J., 2024) - молекулярный маркер для дифференциации типа цитоплазмы Gal-CMS. Гель – электрофорез проводили в камере Sub-Cell GT Cell (Bio-Rad). Агарозный гель готовили с буфером TBE 0,5x с добавлением 1-2 г агарозы на 100 мл буфера, в зависимости от разницы в размере получаемых ампликонов после проведения ПЦР. Результаты визуализировали с использованием интеркалирующего красителя GelRed (Biotium, США) в системе гель – документирования ChemiDoc XRS+ (Bio – Rad).

Фертильность пыльцы

Фертильность пыльцы определяли путем окрашивания ацетокармином по методике З.П. Паушевой (1988) с небольшими модификациями. Анализ осуществляли с помощью микроскопа Axioscop 40, с объективом фотоаппарата EF - соединения для макросъемки Canon EF 100 mm f/2.8.

Статистическая обработка

Хранение и систематизацию данных проводили с использованием Microsoft Excel. Оценку существенности различий между изучаемыми F1-гибридными комбинациями, проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа по признакам «средняя масса луковиц», «среднее содержание сухих веществ».

Расчет общей комбинационной способности (ОКС) в системе топкросс проводили по формулам Савченко В.К. (1973). Существенность различий между линиями по эффектам ОКС по признакам «средняя масса луковиц»,

«среднее содержание сахаров» определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Селекционная программа создания новых типов мужской стерильности у лука репчатого.

Создание аллоплазматических потомств на основе источника ЦМС из *Allium galanthum*. В результате проведения отдаленного скрещивания стерильной формы *Allium galanthum* и образцов лука репчатого восстановителей фертильности на цитоплазму S и R, с генетической устойчивостью к пероноспорозу (*Pd1Pd1*) наблюдалось промежуточное наследование морфологических признаков, формирование нескольких



Рисунок 1 - Растения отдаленных гибридов *Allium galanthum* x *Allium* луковиц в гнезде, а единичные - формировали одиночную луковицу, с коротким периодом покоя. Аналогичные результаты наблюдали и в BC1 (рис. 1), при этом растения были полностью стерильными с низкой семенной продуктивностью. В потомствах BC2, BC3 наблюдалось стабильное наследование мужской стерильности,

низкая семенная продуктивность (3-5 семян на одно соцветие), формировались мелкие, щуплые семена, растения из которых образовывали одиночную луковицу с коротким периодом покоя, со стрелками фенотипически схожими с луком репчатым. В результате получены стерильные аллоплазматические беккроссные потомства формирующие одиночную луковицу, прорастающую в период хранения, с мощной корневой системой, устойчивостью к низким температурам, с промежуточным наследованием признаков родительских форм в четвертом беккроссном поколении и с низкой семенной продуктивностью, при опылении фертильными образцами лука репчатого.

Создание аллоплазматических линий на основе источника ЦМС из *Allium pskemense*. Получение F1-гибридного потомства и три насыщающих скрещивания осложнялись очень



Рисунок 2 - Луковицы пятого беккроссного потомства BC4 x [(St x Бн1 x 136)]

низкой семенной продуктивностью, число завязавшихся семян на соцветие составляло 2-3 шт, формирующиеся растения обладали промежуточным наследованием морфологических признаков.

Семенная продуктивность стерильных растений восстановилась только после четвертого беккрасса, и с одного растения удалось получить 12 граммов семян, при опылении фертильным растением *Allium cepa*.

Растения четвертого беккроссного потомства фенотипически проявляли уже признаки идентичные луку репчатому и формировали плотную одиночную луковицу, способную к длительному хранению.

Таким образом, гибридизацией стерильного растения *Allium pskemense* и насыщающих скрещиваний линиями восстановителями фертильности лука репчатого на цитоплазму S и R, получена мужски стерильная беккроссная популяция аллоплазматических растений с очень плотной одиночной луковицей пригодной для длительного хранения. В пятом беккроссном потомстве BC4 x [(Stur x (Бн1 x 136))](рис. 2), формировались луковицы со средней массой 94 г., имеющие 2-3 сухих кроющих чешуй, с содержанием сухих растворимых веществ 11,4 °Вх. Потомство BC4 x [(Stur x (Бн1 x 136))] будет использовано для создания стерильных аналогов лучших инбредных линий, устойчивых к ложной мучнистой росе и розовой гнили корней.

Изучение различных типов стерилизующей цитоплазмы с помощью молекулярных маркеров. По результатам проведенного ПЦР-

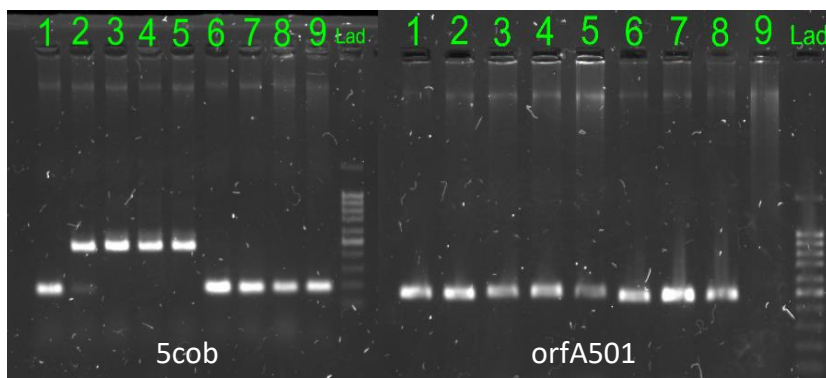


Рисунок 3 - Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярными маркерами 5'cob:orfA501, дифференцирующими тип цитоплазмы у лука репчатого (N, S, T). Примечание: 1-линия восстановитель фертильности (N), 2-линия с аллельным состоянием локуса ms в гетерозиготном состоянии (S), 3,4,5- BC4 от отдаленного скрещивания *A. galanthum* x *A. cepa*, 6,7 – BC4 от отдаленного скрещивания *A. pskemense* x *A. cepa*, 8- линия лука репчатого с цитоплазмой типа T, 9 – линия закрепитель стерильности с цитоплазмой типа N, Lad – маркер длин фрагментов с шагом в 100 bp.

анализа с системой, дифференцирующей типы цитоплазм у лука репчатого было установлено, что образцы F1 гибридного потомства *A. galanthum* x *sepa* образуют фрагменты: с маркером 5'cob размером 414 п.н., с маркером orfA501 размером 473 п.н., что указывает на наличие цитоплазмы типа S (рис. 3, дорожки 3, 4, 5). У BC4 потомства *A. pskemense* x *A. cepa*

образуются фрагменты: с маркером 5'cob размером 180 п.н. и с маркером orfA501 размером 473 п.н., что идентифицируют как цитоплазму типа T (рис. 3, дорожки 6, 7).

Вместе с тем эти данные не дают основания утверждать о наличии S типа цитоплазмы у *A. galanthum* x *A. cepa* и T типа цитоплазмы у *A.*

pskemense, так как растения были опылены восстановителями фертильности с генотипом *MsMs* для типов цитоплазм Т и S, и потомство от скрещивания оказалось полностью стерильным. Полученные данные указывают на различные от *A. sera* типы стерилизующей цитоплазмы у *A. galanthum* и *A. pskemense*, и предполагают проведение дальнейших исследований с целью создания новых молекулярных маркерных систем для их дифференциации.

Создание линий закрепителей стерильности с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе с использованием маркер-опосредованного отбора. Анализ устойчивости/восприимчивости в расщепляющихся популяциях F₂ выявил меньшее число устойчивых растений, чем теоретически ожидаемое число при моногенном доминантном

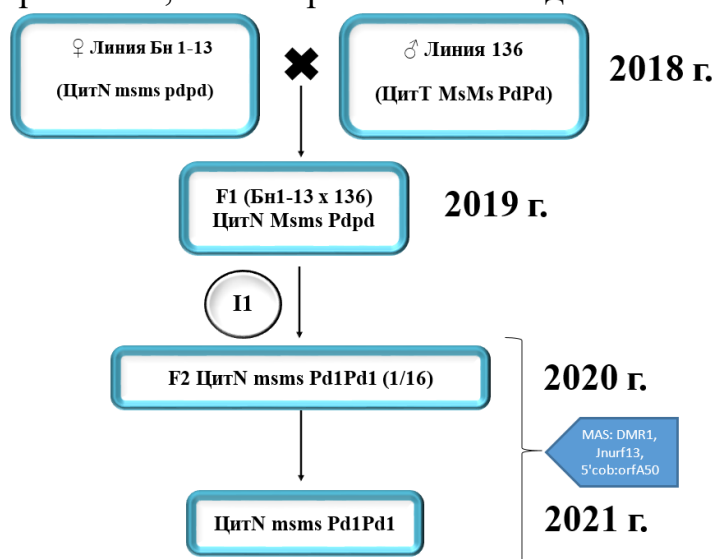


Рисунок 4 - Схема создания линий закрепителей стерильности (ЦитNmsms), с генетической устойчивостью к пероноспорозу, контролируемым геном *Pd1* с помощью молекулярных маркеров

контроле (3R : 1S) (Табл. 1). Отклонение расщепления от ожидаемого, вероятно, связано с избирательностью оплодотворения, снижающего долю формирующихся доминантных по гену *Pd1* гомозигот или с наличием киллерного гена, сцепленного с *Pd1* (Хрусталева Л. И., 2007). Все устойчивые растения были генотипированы по типу цитоплазмы, аллельное состояние генов *Ms* и *Pd1* (рис.

4), в результате которого были выделены 2 растения с генотипом закрепителя стерильности гомозиготного по гену устойчивости *Pd1*. В 2021 году было проведено самоопыление растения из потомства (Бн1-(13)x136)₂ (*NmsmsPd1Pd1*) и получено инбредное потомство, расщепления у которого по целевым генам не наблюдалось.

Таблица 1 – Результаты фенотипической оценки устойчивости/восприимчивости различных популяций на искусственном инфекционном фоне, Москва 2020 г.

Наименование	Тип популяции	Всего растений, шт.	Кол-во устойчивых растений (R), шт.	Кол-во восприимчивых растений (S), шт.
(<i>Ms</i> Бн(11) × 163) ₉	F ₂	34	1	33
(Бн1(13) × 136) ₁	F ₂	19	1	18
(Бн1(11) × 136) ₁	F ₂	20	1	19

Наименование	Тип популяции	Всего растений, шт.	Кол-во устойчивых растений (R), шт.	Кол-во восприимчивых растений (S), шт.
(Бн1(11) × 136)3	F2	23	1	22
(МсБн1(11) × 163)2	F2	36	2	34
(МсМэл × Вал1-1)1-1	F2	10	8	2
(Бн1(13) × 136)2	F2	12	7	5
(Байрам × Вал1-8)3	F2	3	2	1
F1 Birdy	F1	31	0	31
F1 Mondella	F1	26	0	26
F1 Sonoma	F1	35	0	35
F1 Orlando	F1	30	0	35

Аналогичной селекционной схемой в 2022 году были получены F2 расщепляющиеся потомства в скрещиваниях восприимчивых закрепителей стерильности Шат, Экс и Бн1 с устойчивыми генотипами, в результате генотипирования которых, были выделены 11 растений из потомства (Экс х 136)6 с генотипом закрепителя стерильности устойчивых к пероноспорозу (*NmsmsPd1Pd1*).

Создание стерильных линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе. С целью создания стерильного аналога устойчивых линий для генотипов закрепителей стерильности (3С1 и 3СЭкс1), провели гибридизацию стерильных растений, выделенных из популяций, обладающих устойчивостью к пероноспорозу, созданными закрепителями стерильности (*NmsmsPd1Pd1*), с параллельным проведением отбора по хозяйственно

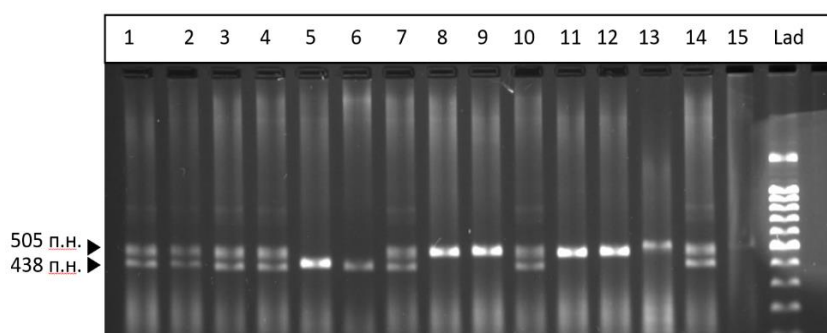


Рисунок 5 - Гель-электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярным маркером DMR1 первого беккросного потомства (МсБн1 х 3С1) х 3С1. Примечание: образцы под номерами 1-4 - F1 гибридное потомство [МсБн1-2 х (Бн1-13х136)]1 х 3С1, 5-6 - восприимчивая стерильная линия МсБн1, 7-14 - растения ВС1 [МсБн1-2 х (Бн1-13х136)]1 х 3С1, где 8, 9, 11, 12 – доминантные гомозиготы по гену *Pd1(Pd1Pd1)*, 7, 10, 14 - гетерозиготы (*Pd1pd1*)

ценным признакам и молекулярным генотипированием с использованием молекулярных маркеров DMR1 и Jnur13 (рис. 5). В результате

гибридизации стерильных растений из потомств [МсБн1-2 х (Бн1-13х136)]1 и [МсЭкс х (Экс х 136)]2 и линий

закрепителей стерильности 3С1 и 3СЭкс1 с геном устойчивости *Pd1* и дальнейшего насыщающего скрещивания, были отобраны растения,

стерильные аналоги, с устойчивостью к ложной мучнистой росе с генотипом *RmsmsPd1Pd1*.

Поиск доноров генетической устойчивости к альтернариозу лука репчатого с использованием молекулярных маркеров. В результате фенотипической оценки на устойчивость к альтернариозу лука в условиях Московского региона на естественном инфекционном фоне было выявлено, что растения зарубежного сорта *Arka Kalyan* были поражены ложной мучнистой росой, однако проявили полную устойчивость к альтернариозу. Вместе с тем растения устойчивые к ложной мучнистой росе F1-гибридных комбинаций (F1 *McBn1* x 163, F1 *McBn1* x 3C1) и линия 163-21 частично поражались альтернариозом. Кроме того, на естественном инфекционном фоне при сильном поражении стрелок выделены 2 растения без симптомов поражения, которые так же генотипировали молекулярным маркером *AcSSR7*) и установлено, что их устойчивость обусловлена другими генами.

С помощью молекулярно-генетического анализа сорта *Arka Kalyan* были отобраны растения с гомозиготным доминантным аллельным состоянием гена *ApR1*, для использования в дальнейшей селекционной работе.

Отбор исходного материала и создание селекционных популяций. Установлено, что ежегодно наблюдалось снижение массы луковиц инбредных потомств, вследствие проявления инбредной депрессии, однако изученные генотипы реагировали по-разному. У некоторых линий, в результате отбора из потомства типичных луковиц и их самоопыления, наблюдали отсутствие инбредной депрессии. Например, у инбредной линии Юдж1-3 средняя масса луковицы в 2020 году составила 86,3, а в 2021 году - 96,6 г. У инбредной линии, закрепителя стерильности Бн1, в 2020 году средняя масса луковицы составила 80,9 г., в 2021 году – 95,1 г., а в 2022 уже 118,7 г. У инбредных линий: Экс, Бирди1, Шат, Р62-66, средняя масса луковиц ежегодно снижалась. Впечатляющая инбредная депрессия наблюдалась у линии Бирди1 средняя масса в 2022 году снизилась в 2,1 раза. Таким образом, созданы выровненные инбредные линии лука репчатого, обладающие высокой средней массой луковиц Бн1 (118,7 г.), Юдж1-3 (96,6 г.) – линия с белой окраской сухих и сочных чешуй, инбредная линия обладающие красной окраской сухих и сочных чешуй эллиптической формы Р62-66 (53,4 г.).

Анализ средней массы луковицы F2 потомств, в период 2020-2022 года, расщепляющихся по устойчивости к пероноспорозу популяций с фактором стерильности, показывает, на сильное варьирование генотипов по этому признаку. В результате оценки отобраны образцы растений из 20

расщепляющихся популяций, проявляющие устойчивость на искусственном инфекционном фоне к пероноспорозу, обладающие фактором стерильности в цитоплазме, для дальнейшего создания стерильных материнских компонентов с моногенной устойчивостью к пероноспорозу. Анализ средней массы луковиц в 15 F2 потомств, где одним из родителей (материнским) была линия закрепитель стерильности с генотипом *Nmsms*, удалось отобрать генотипы закрепителей стерильности с генетической устойчивостью к пероноспорозу, результаты представлены в главе диссертации 3.3.

Однако в 9 F3 расщепляющихся по устойчивости к пероноспорозу потомствах маркер-опосредованным отбором не удалось выявить генотипы с гомозиготным доминантным состоянием гена *Pd1*.

Оценка хозяйственно ценных признаков инбредных линий с генетической устойчивостью к пероноспорозу. В результате работы были созданы инбредные линии, обладающие комплексом хозяйственно ценных признаков: выровненные, с массой луковиц от 44,2 (Вал1-8) до 92,2 (3С1), со средним и высоким содержанием сухих растворимых веществ, 1-2 зачатковые, с 2...4 кроющими сухими чешуями, устойчивые к ложной мучнистой росе, гомозиготные по гену устойчивости *Pd1Pd1*: 163, 161, 155, Вал1-8, 3С1.

Оценка основных хозяйственно ценных признаков F1 гибридов лука репчатого с устойчивостью к пероноспорозу. В результате изучения комплекса хозяйственно-ценных признаков были оценены 4 F1 гибридные комбинации (F1 МсБн1 х 163, F1 МсБн1 х 155, F1 МсБн1 х 161), обладающие высокой средней массой луковиц (от 168 до 276 г), низкой зачатковостью (1-2), высоким содержанием сухих веществ (8,2 – 11,1⁰Вх), отличной сохранностью, высоким числом кроющих сухих чешуй (от 3 до 4) устойчивостью к пероноспорозу, толерантностью к розовой гнили корней, со среднепоздним сроком созревания.

Оценка общей комбинационной способности линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе. В результате оценки в 2023 году общей комбинационной способности линий, гомозиготных по гену *Pd1*:163, 155, 161, Юдж, Вал1-8 было установлено, что высокими положительными эффектами ОКС (средняя масса луковиц) обладали линии 163 и 155, средним эффектом ОКС обладала линия 161, линия Юдж низким и линия Вал1-8 очень низким (табл. 2). Среди гибридных комбинаций наследование признака «содержание сухих растворимых веществ» было промежуточным, за исключением гибридной комбинации F1 МсБн1 х 155, где эффект гетерозиса составил 14,4 %.

Таблица 2 – Средняя масса луковицы, среднее содержание сахаров F1 гибридов и эффекты общей комбинационной способности линий опылителей, Москва 2023 г.

♀ ♂	МсБн1				
	Средняя масса луковицы, г.	Эффект ОКС, г	Группа линий по общей комбинационной способности	Среднее содержание сахаров, °Вх	Эффект ОКС, °Вх
163	276	38,8	Высокая	9,2	-0,5
155	268	30,8	Высокая	11,1	1,5
161	256	18,8	Средняя	10,7	1,1
Юдж	218	-19,2	Низкая	8,0	-1,6
Вал1-8	168	-69,2	Низкая	9,2	-0,4
НСР₀₅	-	20,3	-	-	0,8

В 2024 в оценку комбинационной способности включены две новые линии устойчивые к пероноспорозу ЗС1 и ЗСЭкс1, являющиеся закрепителями стерильности для типов цитоплазм S и R.

Таблица 3 – Средняя масса луковицы, среднее содержание сахаров F1 гибридов и эффекты общей комбинационной способности линий опылителей, Москва 2024 г.

♀ ♂	МсБн1				
	Средняя масса луковицы, г.	Эффект ОКС, г	Группа линий по общей комбинационной способности	Среднее содержание сахаров, °Вх	Эффект ОКС, °Вх
ЗС1	184,9	57,4	Высокая	9,6	1,2
163	113,9	-13,5	Средняя	8,3	-0,1
ЗСЭкс1	114,6	-12,9	Средняя	6,8	-1,6
155	96,5	-31,0	Низкая	8,9	0,5
НСР₀₅	-	18,7	-	-	0,9

Самым высоким эффектом ОКС в 2024 году (табл. 3) по средней массе луковицы выделилась линия ЗС1 (57,4 г), и по среднему содержанию сахаров (1,2 °Вх). Эффект общей комбинационной способности у отцовских линий по признаку средняя масса луковиц существенно варьировал. Размах варьирования составил 57,4 г или 45% от средней популяционной. По среднему содержанию сахаров наблюдалась низкая вариация, однако положительными эффектами ОКС обладали линии ЗС1 (1,2 °Вх) и 155 (0,5 °Вх).

Таким образом, при анализе общей комбинационной способности проведенному в годы, различающиеся по погодным условиям и различным составом отцовских компонентов, наблюдается различное проявление общей комбинационной способности. Например, отцовская линия 163 показавшая в 2023 году максимальный эффект ОКС, в 2024 году имела средний показатель, а линия 155 обладавшая высоким эффектом ОКС в 2023 году показала минимальный эффект ОКС в 2024.

Выявление перспективных для возделывания в условиях Московской области гибридных комбинаций на основе результатов стационарного испытания.



Рисунок 6 - Луковицы лучшей гибридной комбинации МсБн х 163 «F1 Резистор»

По результатам полевых испытаний, проведенных в период 2020-2024 годы, выделены наилучшие гибридные комбинации МсБн1 х 163, МсБн1 х 3С1 обеспечивающие высокое проявление гетерозисного эффекта по основному признаку, определяющему продуктивность «масса луковицы», наличие групповой устойчивости к пероноспорозу и розовой гнили корней, высоким содержанием растворимых сухих веществ, малым числом зачатков (1-2), 3-4 плотно прилегающими кроющими сухими чешуями, и гибридная комбинация МсБн1 х 163 в 2022 передана в Государственное сортоиспытание под названием F1 «Резистор» (Рисунок 6), а гибридная комбинация МсБн1 х 3С1 будет передана в Государственное сортоиспытание в 2025 году.

Экономическая эффективность возделывания лука репчатого «F1 Резистор» устойчивого к ложной мучнистой росе. На основе полученных данных на инфекционном фоне восприимчивых к ложной мучнистой росе коммерческих F1-гибридов и устойчивого F1 гибрида «Резистор», рассчитана экономическая эффективность (табл. 17) выращивания в однолетней культуре генетически устойчивого гибрида «Резистор».

Таблица 4 – Результаты оценки экономической эффективности при отсутствии обработок фунгицидами F1-гибридов, Москва 2020 г.

F1 гибрид	Урожайность, т/га	Устойчивость к пероноспорозу	Себестоимость, тыс. руб./т	Общая выручка продукции, тыс. руб./га	Прибыль, тыс. руб./га	Рентабельность, %
Резистор	72,9	+	5,5	874,8	474,8	118,7
Sonoma (Bejo)	46,6	-	8,6	559,2	159,2	39,8
Birdy (Bejo)	45,1	-	8,9	541,2	141,2	35,3
Orlanda(Bejo)	32,1	-	12,5	385,2	-14,8	-3,7
Mondella (Bejo)	31,1	-	12,9	373,2	-26,8	-6,7
НСР ₀₅	31,4					

Максимальная прибыль (474,8 тыс.руб./га) и рентабельность в опыте (118,7 %) получены при возделывании устойчивого к ложной мучнистой росе F1 Резистора. Низкая у гибридов F1 Sonoma -39,8% и F1 Birdy – 35,3%, а выращивание гибридов F1 Orlanda и F1 Mondella убыточна. Безусловно, при многократных обработках, можно снизить потери урожайности, однако стоимость таких обработок за вегетационный период фунгицидом Ридомил Голд (Syngenta) достигает 90 тыс. руб. на 1 га, без учета включенных в

обработку затрат. При использовании в товарном овощеводстве генетически устойчивого к ложной мучнистой росе F1 Резистор необходимость в проведении фунгицидных обработок против заболевания полностью исключается, что в свою очередь повышает экологичность производимой продукции, дает возможность использования гибрида в органическом овощеводстве, снижает пестицидную нагрузку на агроэкосистему, и снижает себестоимость производства товарного лука репчатого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Интеграцией классических и молекулярных методов созданы инбредные линии 163, 3С1, 155 лука репчатого (*Allium cepa*), сочетающие генетическую устойчивость к ложной мучнистой росе (возбудитель *Peronospora destructor*), определяемую геном *Pd1* в гомозиготном состоянии с высокой общей комбинационной способностью по средней массе луковиц.

2. В результате гибридизации мужски стерильной и фертильных линий выявлены гибридные комбинации МсБн1 х 163 и МсБн1 х 3С1, значительно превосходящие лучший стандарт по продуктивности (средняя масса луковицы 276 г. и 184,9 г., соответственно) с моногенной доминантной устойчивостью (ген *Pd1*) к ложной мучнистой росе (возбудитель *Peronospora destructor*), толерантные к розовой гнили корней (возбудитель *Phoma terrestris*), с высоким содержанием сухих веществ в луковице (9,2 и 9,6 °Вх соответственно), а также высоким числом сухих кроющих чешуй (3-4) и низкой зачатковостью (1-2). Таким образом, впервые в России создан и включен в Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию, отечественный гибрид лука репчатого F1 Резистор (МсБн1 х 163) с групповой устойчивостью к ложной мучнистой росе и толерантностью к розовой гнили корней.

3. На основе разработанной схемы создания линий закрепителей стерильности, гибридизацией линий закрепителей стерильности с линиями - донорами гена устойчивости *Pd1*, с использованием молекулярных маркеров DMR1, Jnurf13, 5cob:orfA501 и инфекционного фона, получены устойчивые линии с генотипом закрепителей стерильности *NmsmsPd1Pd1* (3С1, Экс3С1) и их стерильные аналоги (*RmsmsPd1Pd1*).

4. На естественном инфекционном фоне в условиях Московской области в популяции устойчивого сорта Arka Kalyan симптомов поражения альтернариозом лука не выявлено, а большинство растений (93%) по результатам ПЦР-анализа с молекулярным маркером AcSSR7 являются гомозиготами по гену устойчивости *ArR1*.

5. Линия Бн1 (фертильная) является донором толерантности к розовой

гнили корней, которая проявляется и наследуется в F1 гибридном потомстве.

6. Растения потомства ВС4 от отдаленного скрещивания *A. galanthum* х *A. сера* (ВС4), не восстанавливают мужскую фертильность при скрещивании восстановителями фертильности для ЯЦМС-систем лука репчатого (S, R), однако обладают низкой семенной продуктивностью, вместе с тем, молекулярным генотипированием показан S-подобный тип цитоплазмы.

7. Растения потомств ВС5 от отдаленного скрещивания *A. pskemense* х *A. сера* формируют настоящую луковицу и остаются стерильными после скрещивания с восстановителями фертильности для типов цитоплазмы S, R лука репчатого и обладают высокой семенной продуктивностью при опылении фертильными образцами в ВС4, вместе с тем, молекулярным генотипированием (5`cob:orfA501) показан T-подобный тип цитоплазмы.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ И ПРОИЗВОДСТВА

1. В качестве исходного материала для селекции F1-гибридов и сортов, для однолетней культуры рекомендуем использовать образцы:

- Выровненные инбредные линии с геном устойчивости в гомозиготном доминантном состоянии 163, 155, 161, для использования в качестве отцовского компонента
- Линия Бн1, как донор устойчивости к розовой гнили корней
- Выровненные инбредные линии 3С1 и Экс3С1 в качестве закрепителей стерильности и доноров для передачи гена устойчивости *Pd1*
- Образцы АК№1 (*ApR1ApR1*) лука репчатого Arka Kalyan в качестве донора моногенной устойчивости к альтернариозу

2. Использовать в товарном овощеводстве открытого грунта F1-гибрид «Резистор», сочетающий высокую урожайность, устойчивость к ложной мучнистой росе и толерантность к розовой гнили корней

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Эйшлин, Я.Т. Маркер-опосредованный отбор при создании устойчивых к пероноспорозу линий закрепителей стерильности лука репчатого (*A. сера* L.) / Я.Т. Эйшлин, Г.Ф. Монахос, С. Г. Монахос //Овощи России. – 2021. – №. 3. – С. 34-39.

2. Эйшлин, Я.Т. Оценка гибридных комбинаций лука репчатого с групповой устойчивостью к заболеваниям / Я.Т. Эйшлин, Г.Ф. Монахос, С.Г.

Монахос // Картофель и овощи. – 2023. – № 12. – С. 34-37. – DOI 10.25630/PAV.2023.88.72.003. – EDN EOFQZY.

Патент:

1. Патент №2834769 «Способ создания мужски-стерильных F1-гибридов лука репчатого, устойчивых к заболеваниям», № 2023126677 от 18.10.2023, опубл. 17.02.2025. / **Я.Т. Эйшлин**, С.Г. Монахос; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева".

Публикации в прочих изданиях:

1. **Эйшлин, Я.Т.** Использование молекулярных маркеров при создании закрепителя стерильности лука репчатого с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе / **Я.Т. Эйшлин**, С.Г. Монахос // Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова : сборник статей, Москва, 06–08 июня 2022 года. Том 2. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 314-318. – EDN IPGFPC.

2. **Эйшлин, Я.Т.** На пути создания F1 гибрида лука репчатого / **Я.Т. Эйшлин** // Проблемы селекции - 2022 : Тезисы докладов международной научной конференции, Москва, 12–15 октября 2022 года. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 61. – EDN HRSXIG.