

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –  
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»  
(ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева)

На правах рукописи

Эйдлин Яков Тарасович

«Создание F1-гибридов лука репчатого (*Allium cepa* L.) с групповой устойчивостью к пероноспорозу и розовой гнили корней»

Специальность: 4.1.2 – селекция, семеноводство и биотехнология растений

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

научный руководитель:  
Монахос Григорий Федорович,  
кандидат сельскохозяйственных наук,  
старший научный сотрудник

Москва - 2025

## Оглавление

Введение .....	5
Актуальность и степень разработанности темы исследований .....	5
Цель и задачи исследования .....	7
Научная новизна исследования .....	8
Теоретическая и практическая значимость .....	8
Положения, выносимые на защиту .....	9
Связь работы с научными проектами и программами.....	10
Апробация результатов работы .....	10
Публикации результатов исследований .....	11
Личный вклад соискателя.....	11
Степень достоверности результатов .....	11
Структура диссертации и объем работы .....	11
1. Обзор литературы .....	12
1.1 Хозяйственное значение лука репчатого .....	12
1.2.1 Розовая гниль корней лука репчатого .....	14
1.3 Ложная мучнистая роса семейства Alliaceae (возбудитель <i>Peronospora destructor</i> (Berk.) Casp) .....	17
1.3.1 Систематика патогена <i>Peronospora destructor</i> .....	17
1.3.2 Симптомы и вредоносность патогена .....	17
1.4 Селекция луковых культур .....	20
1.4.1 Инбридинг и создание линий.....	21
1.5 Межвидовая гибридизация луковых культур .....	23
1.5.1 Преодоление несовместимости при инбридинге и отдаленной гибридизации .....	25
1.6 Основные хозяйственно ценные признаки лука репчатого.....	26
1.7 Мужская стерильность и источники новых типов стерильности у рода <i>Allium</i> .....	28
1.8 Гибридное семеноводство на основе ядерно-цитоплазматической мужской стерильности .....	31
1.9 Маркер-опосредованная селекция лука репчатого .....	32
1.9.1 Молекулярные маркеры .....	33

<b>2. Материал, методика и условия проведения исследований .....</b>	<b>36</b>
2.1 Растительный материал .....	36
2.2 Условия выращивания .....	37
2.3 Инбридинг линий и гибридизация .....	37
2.4 Полевые испытания .....	37
2.5 Создание инфекционного фона .....	38
2.6 Погодно – климатические условия проведения полевых испытаний.....	38
2.8 Молекулярные исследования.....	41
2.7 Определение фертильности пыльцы ацетокарминовым методом.....	45
<b>3. Результаты исследований.....</b>	<b>47</b>
3.1. Селекционная программа создания новых типов мужской стерильности у лука репчатого .....	47
3.1.1 Создание аллоплазматических потомств на основе источника ЦМС из <i>Allium galanthum</i> .....	47
3.1.2 Создание аллоплазматических линий на основе источника ЦМС из <i>Allium pskemense</i> .....	54
3.2 Молекулярно-генетический скрининг типов цитоплазмы генетической коллекции рода <i>Allium</i> .....	58
3.3 Создание линий закрепителей стерильности с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе с использованием маркер- опосредованного отбора.....	61
3.4 Создание стерильных линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе .....	70
3.5 Поиск доноров генетической устойчивости к альтернариозу лука репчатого с использованием молекулярных маркеров .....	73
3.6 Отбор исходного материала и создание селекционных популяций .....	77
3.7 Оценка хозяйственно-ценных признаков инбредных линий с генетической устойчивостью к пероноспорозу.....	83
3.8 Оценка основных хозяйственно ценных признаков F1 гибридов лука репчатого с устойчивостью к пероноспорозу .....	86
3.9 Оценка общей комбинационной способности линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе .....	92

<b>3.10 Выявление перспективных для возделывания в условиях Московской области гибридных комбинаций на основе результатов стационарного испытания.....</b>	<b>95</b>
<b>3.11 Экономическая эффективность возделывания лука репчатого «F1 Резистор» устойчивого к ложной мучнистой росе .....</b>	<b>95</b>
<b>Заключение.....</b>	<b>98</b>
<b>Рекомендации для селекции и производства .....</b>	<b>100</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>101</b>
<b>Приложения.....</b>	<b>112</b>

## **Введение**

### **Актуальность и степень разработанности темы исследований**

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

Конкурентоспособные F1-гибриды лука репчатого (*Allium cepa* L.) в комплексе хозяйственно ценных признаков (урожайность, товарность, морфологическая однородность, лёжка, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессорам и др.) должны быть устойчивыми к наиболее вредоносным и распространенным заболеваниям: пероноспорозу, альтернариозу, фузариозу и др.

Ложная мучнистая роса или пероноспороз (возбудитель – оомицет *Peronospora destructor* (Berk.) Casp – одно из самых распространенных, экономически вредоносных и разрушительных грибных заболеваний лука репчатого (*Allium cepa* L.), симптомы заболевания которого, можно наблюдать в первый год выращивания растения на листьях, и во второй год на стрелках растений. Полная гибель растения от заболевания встречается редко, однако патоген способен значительно снизить количество получаемой продукции, и снизить сохранность в период хранения. Серьезный вред заболевание наносит семенным посадкам лука, снижая семенную продуктивность и посевные качества семян.

Генетическая устойчивость к пероноспорозу 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.

В Государственном реестре Российской Федерации селекционных достижений, допущенных к использованию, отсутствуют сорта и F1-гибриды лука репчатого отечественной и зарубежной селекции с генетической устойчивостью к пероноспорозу.

Решением данной проблемы является поиск источников и доноров устойчивости, успешная передача генов устойчивости в лук репчатый, создание исходного материала и селекция сортов и F1-гибридов лука репчатого с генетической устойчивостью.

В 1990 году был найден донор устойчивости *A. roylei* Stearn и успешно получен межвидовой гибрид от скрещивания *A. roylei* и *A. cepa* L., анализ потомства показал наличие полной устойчивости к ложной мучнистой росе (Kofoet A. et al., 1990). При проведении насыщающего скрещивания, отдаленного F1 гибрида восприимчивым луком репчатым, наблюдалось расщепление по устойчивости в соотношении 1:1. Авторы предварительно сделали вывод о моногенном доминантном контроле признака устойчивости. Авторами было предложено название этого доминантного гена, отвечающего за устойчивость к ложной мучнистой росе - *Pd1* (Kofoet A. et al., 1990).

Растения, полученные от самоопыления гибрида первого поколения, от отдаленного скрещивания, показывали сильное отклонение от теоретически ожидаемого расщепления при оценке их на проявление устойчивости (De Vries J. N. et al., 1992).

С целью дальнейшей селекционной работы по передаче гена *Pd1* в лук репчатый авторами Sujeong Kim и Sunggil Kim были разработаны молекулярные маркеры (Kim S. et al., 2016).

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 (Scholten O. E. et al., 2007). Также, это было подтверждено в исследовании Хрусталевой Л. И. (Khrustaleva L. et al., 2019). Методом GISH-гибридизации проведено картирование сцепленного с *Pd1* «киллерного гена и с помощью ранее разработанного молекулярного маркера DMR1 (Kim, S. et al., 2016),

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

Алижановой Р.Р. с использованием молекулярных маркеров и отбора на искусственном инфекционном фоне был создан исходный материал лука репчатого, который включал образцы растений с генетической устойчивостью, контролируемой доминантным гомозиготным геном устойчивости к ложной мучнистой росе *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 и задачи исследования**

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 стационарное испытание и выявить перспективные для возделывания в условиях Московской области гибридные комбинации лука репчатого с генетической устойчивостью к пероноспорозу.

### **Научная новизна исследования**

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 T, 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.

### **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 молочноцветный) и их беккросных потомств, как источники новых типов ЦМС.

### **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.

### **Апробация результатов работы**

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на:

1. 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).

2. 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).

3. Международной научной конференции «Проблемы селекции-2022» РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева (г. Москва, 2022).

4. Международной научно-практической конференции «Аграрная наука-2023» (AgriScience2023), РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева (г. Москва, 2023).

5. 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).

### **Публикации результатов исследований**

По материалам диссертации опубликованы 5 печатных работ, 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 (приложение Б).

### **Личный вклад соискателя**

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

### **Степень достоверности результатов**

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

### **Структура диссертации и объем работы**

Диссертационная работа изложена на 114 страницах, состоит из введения, основной части, состоящей из обзора литературы, материалов и методов, заключения, а также рекомендаций для селекции и производства, приложений. Включает 19 таблиц и 33 рисунка. Библиографический список состоит из 116 наименований на русском и иностранных языках.

## 1. Обзор литературы

### 1.1 Хозяйственное значение лука репчатого

Лук репчатый относится к семейству Alliaceae, роду *Allium*, в систематике рода выделяют порядка 950 различных видов луковых, из них вид *Allium cepa* обладает наиболее ценными хозяйственно значимыми признаками, в то же время характеризуется отсутствием устойчивости ко многим распространенным заболеваниям как в период вегетации, так и в период зимнего хранения (Середин Т. М. и др., 2023).

Посевные площади в России в 2023 году, в хозяйствах всех категорий, составляли 58 тыс. га, из них 23,2 в промышленном секторе возделывания (Бутов И.С., 2023). За 20-летний период возделывания лука репчатого в РФ урожайность возросла в несколько раз, рост урожайности связан с развитием сельскохозяйственных технологий, например, точное земледелие, использование капельного орошения и т.д., а также изменение предпочтений агрономов при выборе посевного материала (F1 – гибриды).

Годовая потребность России в семенах лука для коммерческого выращивания на лук репку оценивается разными источниками в пределах от 200 до 600 тонн, исходя из площадей выращивания в 2023 году, а рыночный потенциал этих семян в денежном эквиваленте составляет от 2,4 до 4,8 миллиарда рублей (Ховрин А.Н., 2014).

Лук репчатый выращивают во многих климатических регионах нашей страны, благодаря способности формировать луковицы в различных абиотических условиях, однако хозяйственно-ценные признаки таких растений могут сильно изменяться, поэтому есть необходимость перед селекционерами вести селекционную работу для различных климатических условий, что подтверждается спросом на такую продукцию (Литвинов С.С., 2008; Логунов А.Н., 2010).

Качество и сохранность луковиц во многом определяется содержанием в них сухого вещества. Уровень сухого вещества в луковицах варьируется от 7% до 16%. Помимо этого, флавонолы и сахара представляют собой важные фитохимические компоненты, которые часто исследуются в контексте хранения, так как они играют

ключевую роль в питании и здоровье. Основная доля сухого вещества в луковицах приходится на углеводы, из них большее содержание приходится на сахарозу, меньшее на фруктозу, глюкозу и фруктоолигосахариды (фруктаны), содержание которых может превышать 12% (Ирков И.И., 2024).

Зарубежными исследователями показано, что лук репчатый богат витамином С, где его уровень изменяется в зависимости от локализации в растении, так в зеленых листьях содержится от 15 до 30 мг%, а в сочных листьях луковицы от 2 до 10 мг% (Kaack K., 2004, Grevsen K., 2004).

Лук репчатый, как и другие овощные культуры, богат витаминным составом, например, в нем содержатся: провитамин А (каротин) – 0,25 мг%, рибофлавин (витамин В2) – 0,10 мг%, витамин РР и другие витамины группы В (Логунов А.Н., 2010).

В луке репчатом содержится кверцетин, флавоноиды, сапонины, и другие БАВ, благодаря этому употребление оказывает, противоопухолевое действие, антиоксидантное, предупреждает заболевания, связанные с сердцем и сосудами, сахарный диабет, повышает иммунитет (Zeng Y., 2017).

Наличие фитонцидных веществ в луке репчатом позволяет использовать культуру в качестве профилактического средства против заболеваний человека (Кароматов И.Д., 2020).

Таким образом, биохимический состав растений лука репчатого очень разнообразен и полезен в качестве ценного источника здорового питания человека, что делает эту культуру одной из самых ценных среди овощных. А способность к длительному хранению дает возможность в течение календарного года быть источником биологически активных веществ и комплекса витаминов.

## **1.2 Заболевания лука репчатого**

Представленные на рынке семян F1-гибриды и сорта лука репчатого являются восприимчивыми ко многим возбудителям, в первую очередь это связано с двухлетним циклом развития растения. Симптомы поражения можно наблюдать как в период роста и развития растения как в первый, так и во второй год, а также во время хранения. Потери продуктивности растения могут достигать 50% процентов

(Никитина С.М. 2008), что является критичным для товарного овощеводства лука репчатого.

Наиболее распространенными в период вегетации являются: Ложная мучнистая роса (пероноспороз), Альтернариоз (пурпурная пятнистость), Пятнистость лука (стемфилиоз), Розовая гниль корней (фомоз).

Пурпурная пятнистость вызываемая патогеном *Alternaria porri*, одно из самых вредоносных заболеваний, которое распространено во всем мире (Dar et al., 2020). В некоторых странах потери урожая товарного лука и семян от заболевания составляли от 25% до 97% (Nanda et al., 2016). Существуют эффективные методы борьбы против заболевания, однако это пагубно влияет на агроэкосистему. По сообщению Chand S. K. в 2018 году им обнаружена генетическая устойчивость к альтернариозу в индийском сорте «Arka Kalyan», при анализе селекционных потомств (F1, F2, BC1) выяснено, что она контролируется одним доминантным геном *ApR1*, и созданы молекулярные маркеры (STS, SSR) для маркер-опосредованного отбора в селекционном процессе. В 2023 году авторами Sahoo J. et al. созданы молекулярные KASP-маркеры для высокоточного генотипирования образцов при селекции на устойчивость лука к альтернариозу (Sahoo J. et al., 2023).

Пятнистость лука вызывается патогеном *Stemphylium vesicarium* и проявляется заболевание на растениях, пораженных ложной мучнистой росой. Потери могут составлять до 100% урожая товарного лука (Mishra B., 2017) Заболевание распространено повсеместно. Возможными источниками и донорами устойчивости могут быть *Allium Fistulosum* и другие дикорастущие виды семейства *Allium* (Pathak C.S., 2001).

### **1.2.1 Розовая гниль корней лука репчатого**

Розовая гниль корней является основным почвенным заболеванием лука репчатого, вызывается патогеном *Phoma terrestris* (синоним *Pyrenochaeta terrestris*). Заболевание распространено повсеместно. Систематическое положение патогена *Phoma terrestris* (indexfungorum.org):

Царство: Fungi

Отдел: Ascomycota  
Подотдел: Pezizomycotina  
Класс: Dothideomycetes  
Подкласс: Pleosporomycetidae  
Порядок: Pleosporales  
Семейство: Didymellaceae  
Род: *Phoma*  
Вид: *terrestris*

Впервые заболевание было обнаружено в Техасе, а в дальнейшем и по всему миру (Pfleger F. L. and Vaughan E.K., 1972). Характерным симптомом является розовая окраска корней (Bruton V. D., 1997), которые со временем становятся более темными, и в конечном итоге корни начинают распадаться. Луковицы пораженных растений формируются мелкими и с пониженным товарным качеством (Netzer D., 1985; Entwistle A. R., 1990). Среди внутривидовых популяций лука зарубежными исследователями были найдены локусы устойчивости и отобраны генотипы лишь толерантные к заболеванию (Marzu J.C., 2018).

#### **Заболевания в период хранения:**

Наиболее распространенными заболеваниями в период хранения являются: фузариоз (гниль донца), шейковая гниль (серая гниль).

Патоген *Fusarium oxysporum*, вызывающий фузариоз (гниль донца) распространен повсеместно, может вызывать потери урожая, в благоприятные для развития патогена годы, до 70% (Tsutsui K., 1991). Первым показателем проявления патогенности является пожелтение и неестественный изгиб края листа, листья со временем отмирают, начиная с верхушки. Восприимчивые к заболеванию растения сильно отстают в росте, а подземная часть растения окрашивается в темно-коричневый цвет, в последствии корни загнивают. Растение может полностью завянуть, а луковица сгнить. Заболевание начинается в поле и продолжается при хранении. Патоген сохраняется в поле и растительных остатках, поэтому соблюдение севооборота обязательно (Иванцова Е.А., 2016).

Исследования показывают, что устойчивость к фузариоз контролируется двумя доминантными генами Foc1 и Foc2, при этом взаимодействие между локусами носит аддитивный характер (Bacher J.W. 1989; Krueger S. K., 1989; Sharma S., 2024). По мнению Galvan C. A. источниками устойчивости могут служить другие виды луков *A. fistulosum*, *A. roylei*, *A. galanthum* (Galvan C. A., 2008).

Серая гниль листьев лука вызывается грибом *Botrytis squamosa*, а гниль шейки лука – *B. aclada*, *B. alli*, *B. squamosa* и *B. porri* (Chilvers, M. I., 2006). Чтобы предотвратить появление заболевания, лук следует хранить в сухом месте, зараженный лук следует быстро удалять, а посеvy следует чередовать каждые 3–4 года. Кроме того, многие фунгициды используются для борьбы с серой гнилью, при этом около 10% мирового рынка фунгицидов сосредоточено на борьбе с *B. cinerea* (Yurgel S. N., 2018). Авторами So-Jeong Kim и др. в 2021 году на основе результатов RAPD был разработан маркер SCAR-OPAN1, показывающий полиморфные фрагменты между устойчивыми и восприимчивыми линиями. Маркер SCAR-OPAN1 амплифицировал только устойчивые линии конкретного продукта размером 2 тыс. п.н., а у восприимчивых образцов не наблюдалась амплификация.

Шейковой гнилью наиболее часто поражаются луковицы, которые не вызрели или травмировались в процессе уборки и транспортировки, именно эти факторы делают растения уязвимыми для инфицирования возбудителем *Botrytis allii*. Заболевание вызывается разными видами грибных фитопатогенов рода *Botrytis*, но самым экономически опасным является гриб вида *Botrytis allii* (Thakur P., 2018). Заболевание в полной мере проявляется в период зимнего хранения. Симптомы проявляются в виде размягчения шейки луковицы и в более поздней симптоматике в виде серого грибного налета. Симптомы заболевания могут проявляться и на других частях луковицы, например, на физически травмированных участках луковицы или даже на донце, такое можно наблюдать при несоблюдении условий хранения.

В настоящее время не было найдено генетической устойчивости лука репчатого к шейковой гнили, однако существуют методы биологического контроля, которые подразумевают использование продуктов метаболизма

микроорганизмов, растительных экстрактов и эфирных масел (Thakur P., 2018). Такая биологическая защита от вредоносных патогенов вызывает выработку антиоксидантных ферментов пероксидазы (PO), полифенолоксидазы, фенилаланинаммиаклиазы (PAL) (Yasmin S. et al., 2016). Эти продукты метаболизма участвуют в производстве фенольных соединений против фитопатогенов. Генерация активных форм кислорода напрямую связана с распознаванием и уничтожением патогенов в системной устойчивости (Shoaib A. et al., 2018).

### **1.3 Ложная мучнистая роса, пероноспороз (возбудитель *Peronospora destructor* (Berk.) Casp)**

#### **1.3.1 Систематика патогена *Peronospora destructor***

Возбудитель заболевания ложная мучнистая роса лука репчатого относится к низшим (несовершенным) грибам (Species Fungorum Plus, 2023).

**Царство:** Chromista (Хромисты)

**Подцарство:** Chromobionta

**Тип/Отдел:** Oomycota

**Класс:** Peronosporae

**Отряд/Порядок:** Peronosporales

**Семейство:** Peronosporaceae (Пероноспоровые)

**Род:** *Peronospora* (Пероноспоры)

**Вид:** *Peronospora destructor* (Berk.) Casp. ex Berk.

#### **1.3.2 Симптомы и вредоносность патогена**

Возбудитель заболевания - *Peronospora destructor* относится к облигатным паразитам с биотрофным типом питания, который при благоприятных условиях для патогенеза способен поражать растение-хозяина на любом этапе онтогенеза и активно воздействовать на растение в течение всего вегетационного периода. Первые признаки поражения лука отражаются в виде появления налета на листьях растения. Симптомы проявления ложной мучнистой росы могут проявляться как на листьях, так и на цветочных стрелках растения. На них образуются светло-желтые пятна, которые при повышенной влажности со временем увеличиваются в

размерах. Листья и цветочные стрелки вне зависимости от стадии развития деформируются. Поврежденные патогеном листья начинают скручиваться, желтеть и в последствии высыхать (Пивоваров В. Ф., 2001; Монахос Г. Ф., 2019). Растение быстро реагирует на патогенез гриба, вследствие чего образуются новые листья, как правило, у таких растений на момент уборки наблюдается утолщение шейки, луковица плохо вызревает, и является непригодной для дальнейшего хранения. При поражении растений в ювенильном периоде растения не образуют луковицы (Иванцова Е.А., 2016).

Споры возбудителя сохраняются в латентном состоянии в остатках заражённых растений и в почве до начала следующего вегетативного сезона, повторяя цикл заражения ежегодно. Распространяется патоген в межклеточном пространстве, в процессе захвата новых клеток происходит образование нитевидных и извилистых гаусторий размером от 1 до 5 мкм (Buloviene V., 2009). Результатом бесполого размножения у патогена являются двужгутиковые зооспоры. Развитие ложной мучнистой росы особенно активно происходит в условиях влажной погоды. Наибольший ущерб заболеванию наносит семенникам лука (Нужных С. А., 2006).

Наиболее благоприятными условиями развития спор патогена является температура от 10 до 12°C, при этом обязательным условием, помимо температуры, является повышенная влажность (Ершов И.И., 1981). Благодаря высокой способности к образованию спор генетическая изменчивость патогена довольно высокая (5-6 поколений), при этом переход к размножению наступает быстро от 5 до 15 дней (Попков В.А., 2001).

Для визуального подтверждения паразитирования патогена можно в ранние утренние часы на листьях растения наблюдать серо-фиолетовый налет спороношения (Рис. 1). В зависимости от уровня влажности, температуры и длительности светового дня изменяется продолжительность жизни конидий патогена (Surviliene E., 2006).



Рисунок 1 – Симптомы поражения пероноспорозом (патоген *Peronospora destructor*) листьев восприимчивых растений лука репчатого *A. cepa*

Жизненный цикл возбудителя включает две стадии: конидиальную и половую (ооспоры). Перенос конидий осуществляется ветром или каплями воды, инфицируя растения. Развитие пероноспороза замедляется в жаркую и сухую погоду, при температуре выше 25°C. Скорость распространения патогена сильно зависит от абиотических факторов и инфекционной нагрузки (Дьяков Г. А., 1972).

При локальном поражении листьев первым симптомом является образование отдельных пятен на поверхности листа, в дальнейшем, когда мицелий достигает корневой шейки, болезнь приобретает диффузный характер. Патоген, поразив растение в первый год выращивания, остается на луковице, и в следующий год проявляет свой патогенез. Кроме того, патоген может сохраняться и в виде ооспор на растительных остатках (Иванцова Е. А., 2016).

Патоген способен передаваться из года в год через пораженные луковицы. После высадки луковицы на растении будет наблюдаться диффузный тип поражения. Растения сильно отстают в росте и симптомы можно наблюдать как на

листьях, так и на появившихся стрелках. Получение урожая семян у таких растений будет затруднено, семена формируются мелкими и с низкой всхожестью. Опасен патоген и для других видов лука, имеющих полый лист. Потери урожая от заболевания могут достигать более 50% (Алексеева К. Л., 2018).

#### **1.4 Селекция луковых культур**

Лук репчатый (*Allium cepa* L.) – перекрестнооплодающееся растение с двулетним циклом развития. Репродукцию сортов и F1-гибридов осуществляют половым способом с получением семени. Исходным материалом для многолетней селекции лука репчатого являются: селекционные формы, коммерческие F1-гибриды и сорта, наиболее экологически приспособленные - сорта народной селекции, а также близкородственные виды рода *Allium* (Хайсин М. Ф., 1978).

В Госреестре допущенных к выращиванию сортов и гибридов Российской Федерации на 2024 год включено 424 селекционных достижения, из них 208 (49%) – F1 гибриды, в основном зарубежной селекции ([gossortrf.ru](http://gossortrf.ru)).

Для успешной селекционной программы необходимо создание моделей гибридов и сортов по важнейшим хозяйственно ценным признакам, которые разрабатываются с учетом направлений селекции, региона дальнейшего возделывания и учета изменчивости признаков. Помимо важнейших признаков лука репчатого необходимо учитывать предпочтения потребительского сектора, для этого необходима оценка качества продукции и ее биохимический состав (Марчева М. М., 2024).

Основными направлениями, определяющими конкурентоспособность и хозяйственную ценность, в селекции лука репчатого являются: устойчивость к фитопатогенам и абиотическим факторам, урожайность, лежкость, высокая способность к механизированной уборке, определяющаяся округлой формой, количеством сухих кроющих чешуй, их прочностью, и содержанием сухого вещества (Любченко А. В., 2015; Агафонов А. Ф., 2012; Солдатенко А. В., 2023). Важным направлением в селекции является создание сортов и F1-гибридов с разным сроком созревания, отдельным направлением является создание

короткодневных форм для озимой культуры в южных регионах нашей страны (Буренин В. И., Шумилина В. В., 2016).

Наряду с селекцией на основные хозяйственно-ценные признаки одним из основных направлений является селекция на гетерозис. Гибриды лука репчатого по сравнению с сортами обладают повышенной урожайностью, скороспелостью, дружностью созревания и полегания листьев, однородностью по форме луковицы, повышенной устойчивостью к неблагоприятным факторам среды и патогенам, вредителям (Пивоваров В.Ф.; Ершов И.И.; Агафонов А.Ф., 2001). Значимость гетерозисного эффекта выросла в связи с переходом технологии выращивания на однолетнюю культуру, то есть перехода от лука-севка к посеву чернушкой.

В настоящее время среди агрономов более предпочтительными являются F1-гибриды, особенности создания которых позволяют достичь высокого качества, большей выровненности, одновременного вызревания и стабильный биохимический состав луковиц. Помимо этого, и для селекционеров более предпочтительным является селекция стерильных F1-гибридов, особенности которых позволяют гарантированно защитить авторские права селекционера. Дальнейшее несанкционированное репродуцирование F1-гибридов со стороны агрономов приведет к сильнейшему расщеплению в полученном потомстве, а отсутствие фертильной пыльцы позволит сохранить коммерческую тайну (Агафонов А.Ф., 2012).

В настоящее время основным направлением в селекции лука репчатого в мире является селекция на устойчивость к самым распространенным заболеваниям и вредителям, скороспелость, качество товарной продукции, лежкость и транспортабельность (Агафонов А.Ф., 2005, 2018).

#### **1.4.1 Инбридинг и создание линий**

При создании F1-гибридов лука репчатого первым этапом в селекционной программе является создание выровненных инбредных линий. В свою очередь у лука репчатого при использовании классических подходов возникают многочисленные трудности, включая сильную инбредную депрессию, двулетний

жизненный цикл развития, необходимость длительного отбора в большом объеме каждого поколения (Khan S., 2020).

Популяции лука репчатого гетерогенны и подвергаются сильной инбредной депрессии при самоопылении, что является значительной проблемой в селекции, однако самоопыление в течении двух поколений дает возможность получения достаточно выровненного инбредного потомства. В отличии от других культур, у лука репчатого для достижения достаточной выровненности внутри линии нет необходимости проведения ряда принудительных самоопылений и ежегодного отбора (Manjunathagowda D. C., 2021).

В качестве исходного материала для получения инбредных линий выбирают растения с наибольшей популяционной ценностью. Путем проведения самоопыления получают семена первого инбредного поколения  $I_1$  и так далее  $I_n$ . Вместе с тем, следует учитывать тот факт, что у лука репчатого также встречается самонесовместимость, что препятствует принудительному самоопылению.

Создание выровненных инбредных линий является наиболее длительным и экономически затратным этапом в селекционном процессе. Теоретически, для получения чистых линий требуется получение от 5 до 7 инбредных поколений, на что для лука репчатого требуется 10-14 лет (Чистова А.В., 2016).

Иностранцами исследователями установлено, что на проявление депрессии влияют различные факторы, включая генетику самоопыляемых растений, а также факторы окружающей среды, например, влажность, температура, длительность яровизации маточных луковиц, площадь питания растения, соотношение материнских и отцовских рядов при опылении (Chang and Struckmeyer, 1976).

Поэтому поддержание чистых линий, без дальнейшего снижения жизнеспособности, проводят путем открытого переопыления растений линии после проведения двух-трех циклов инбридинга (Manjunathagowda D. C., 2021).

В качестве исходного материала для получения инбредных линий чаще всего используют лучшие растения из сортовых популяций. Проведение инбридинга осуществляют с помощью отдельных изоляторов и с использованием ручного опыления или использование насекомых опылителей (Bradshaw J. E., 2017).

Существуют ускоренные методы получения чистых линий у лука репчатого с использованием биотехнологий, где в качестве экспланта берут целые цветочные бутоны. Метод предусматривает выращивание и подготовку донорных растений, сбор бутонов и дальнейшее их культивирование в условиях *in vitro*, удвоение гаплоидного набора хромосом у полученных эмбриоидов, адаптация в защищенном и открытом грунте (Alan A. R., 2003; Монахос С.Г., Богданова В.Д., Ветчинкина Е. М., 2014).

По данным Чередниченко Е.А. (2022), отношение количества полученных линий к посаженным бутонам лука составляет 1/5000. Такой небольшой выход обусловлен самой генетикой лука репчатого и наличием летальных/полулетальных генов, которые проявляются при гомозиготизации.

### **1.5 Межвидовая гибридизация луковых культур**

Товарное овощеводство постоянно нуждается в высокоурожайных, устойчивых, технологичных сортах и гибридах лука репчатого, для создания которых селекционерам необходимо иметь доноров комплекса ценных признаков. Полученные в ходе длительной селекции сорта имеют высокую урожайность, однако в большинстве случаев являются восприимчивыми в отношении ряда самых распространенных фитопатогенов. Поэтому необходим поиск и включение в селекционные программы источников и доноров устойчивости к заболеваниям лука репчатого среди близкородственных видов рода *Allium* (Тимин Н. И., 2013).

В 30-е годы прошлого столетия в США (Emsweller S. L., 1935) и СССР (Кривенко А. А., 1937), на Грибовской селекционной овощной станции, впервые были созданы межвидовые гибриды лука (Тимин Н.И., 2013).

Основным направлением при межвидовой гибридизации было создание исходного селекционного материала с устойчивостью к различным заболеваниям, а также создание форм с улучшенными биохимическими параметрами и форм с высокой продуктивностью листовой массы растений (Комиссаров В.А., 1983, 1984; Кокорева В. А., 1982).

Наиболее успешно вне зависимости от выбора родительских компонентов скрещивается лук репчатый с *A. vavilovii* и *A. oshaninii*. Однако во многих других

скрещиваниях количество полученных семян от отдаленной гибридизации на низком уровне (Gonzalez L.G., 1987; Rabinowitch H.D., 2002; Пендинен Г. И., 2020).

С использованием биотехнологического метода, эмбриокультуры, удается получать жизнеспособные межвидовые гибриды с луком пореем (*A. porrum*) (Peterka H. et al., 1997), чесноком (*A. sativum*) (Ohsumi C. et al., 1993).

Наиболее изученной комбинацией скрещивания является *A. fistulosum* x *A. cepa*, многие авторы указывают *A. fistulosum* как донора устойчивости ко многим распространенным патогенам лука репчатого, среди них устойчивость к розовой гнили корней, антракноз, вирус желтой мозаики лука репчатого. Помимо устойчивости к грибным фитопатогенам ценным в *A. fistulosum* является зимостойкость, морозоустойчивость, быстрые сроки прохождения генеративного этапа онтогенеза (Тимин Н.И., 2013).

Очень важными источниками ценных генов служат виды лука *A. roylei* и *fistulosum*. Для получения фертильных межвидовых гибридов был использован метод посредника, чтобы передать гены от *A. fistulosum* в лук репчатый, так как *roylei* является промежуточным между луком батунном и репчатым (Khrustaleva L. I., Kik C., 1998). В таком скрещивании завязываемость семян относительно высокая (Веселовский И.А. 1979; Сулейменова С.Е., 1987). Также показали, методом FISH-гибридизации, что происходит гомологичная рекомбинация между геномами луков (Khrustaleva L. I., Kik C., 2000).

Получение межвидовых гибридов, с целью передачи комплекса признаков, отвечающих за проявление устойчивости и селекционно значимых признаков - очень сложный и трудоемкий процесс, который включает проведение научных исследований по разработке методов создания и комплексной оценки полученных исходных форм. Это подразумевает решение ряда проблем, связанных с невозможностью гибридизации между видами, повышению семенной продуктивности и созданию рекомбинантных форм с последующей оценкой.

### 1.5.1 Преодоление несовместимости при инбридинге и отдаленной гибридизации

Среди овощных культур, в том числе и луке репчатом, преодоление несовместимости при инбридинге и отдаленной гибридизации осуществляют очень трудоемкими и дорогостоящими методами, например, опыление вручную вскрытых цветковых бутонов и проведение гибридизации, полиплоидизация, а также обработка генеративных органов БАВ (биологически активными веществами) (Chauhan A., 2021).

Работа по отдаленной гибридизации внутри семейства *Alliaceae* начата с 1930-х годов, которая в настоящее время невозможна без использования современных биотехнологических методов.

При использовании в селекционной работе отдаленных видов лука исследователи сталкиваются с проблемой полной нескрещиваемости и отсутствии или низкой завязываемости семян от гибридизации. Основная причина заключается в нарушенном процессе развития зародыша и эндосперма, и дальнейшая их гибель. Помимо этого, из-за нарушения в хромосомном составе полученные отдаленные гибриды зачастую являются полностью стерильными, что сильно затрудняет дальнейшую селекционную работу (Chauhan A., 2021).

Указанные трудности не позволяют проводить насыщающие скрещивания для получения беккроссных потомств с полным фенотипическим соответствием культурного лука репчатого (Пивоваров В.Ф., 2001).

Самым распространенным и эффективным методом является технология спасения зародышей на искусственных питательных средах в условиях *in vitro*, технология позволяет получать и в некоторых скрещиваниях значительно повысить количество межвидовых гибридов, а также при проведении насыщающих скрещиваний луком репчатым (Dolezhel J., 1980).

Исследованиями Титовой в 1989 году были установлены наиболее эффективные сроки выделения зародыша после проведения межвидового скрещивания (24-27-е сутки) в скрещивания *A. cepa* x *A. shoenoprasum* (табл. 1).

Более поздние сроки выделения приводили к снижению выхода жизнеспособных растений.

Таблица 1. Этапы технологии спасения зародышей при отдаленной гибридизации луков

Этапы	Место выращивания	Календарные сроки
Изоляция зародышей и культивирование <i>in vitro</i> на твердой пит. среде	Камера искусственного климата	Июль-сентябрь
Дорастивание проростков на жидкой пит. среде	Камера искусственного климата	Август-октябрь
Выращивание в торфяных горшках	Зимняя теплица	Сентябрь – ноябрь
Выращивание в вегетационных сосудах	Зимняя теплица	Ноябрь – апрель
Высадка в условия открытого грунта	-	Май

Проблему стерильности полученных растений от отдаленного скрещивания можно решить путем обработки антимиотическими агентами для получения полиплоидных растений. После адаптации и дорастивания межвидовых полиплоидных растений фертильность восстанавливается, что позволяет проводить различные комбинации скрещивания (Пивоваров В.Ф., 2007).

Эти и другие методы могут дать положительный эффект и при проведении инбридинга у лука репчатого, для дальнейшего получения более выровненных линий.

### **1.6 Основные хозяйственно ценные признаки лука репчатого**

Стандартно (по классификации UPOV) для оценки хозяйственно ценных признаков сортов и гибридов лука репчатого используют 36 характеристик. Признаки оцениваются как качественно, так и количественно (с оценкой в баллах). У растений лука оценивают комплекс признаков в первый год, при котором проводят анализ листьев и луковицы, и во второй, при котором оценивают стрелки лука

В первый год выращивания оценке подвергается вся луковица, и признаки, связанные с урожайностью и лежкостью. Например, при оценке сформированных листьев оценивают их количество, длину, наличие воскового налета и его интенсивность. При оценке сформированной луковицы учитывают индекс формы луковицы, ее массу, окраску сочных и сухих чешуй, их количество, плотность сцепления между сухими кроющими чешуями. А также толщину шейки луковицы, что позволяет понять, насколько быстро и интенсивно будет проходить полегание листьев и созревание урожая. Во второй год оценивают наличие фертильной/стерильной пыльцы (Давлетбаева О. Р., 2018).

Скороспелость очень важный параметр сорта или F1-гибрида, оценку проводят перед уборкой при наличии более половины растений с сухой и мягкой шейкой, в момент полегания листьев. По скороспелости лук делят на три группы: ранний (скороспелый) – до 90 календарных дней от всходов до возможности проведения уборки, средний – 100-120 дней, поздний – 130 и более дней (Гиш Р. А и др., 2012).

Биохимический состав лука репчатого сильно подвержен изменению под влиянием генотипа, этапа онтогенеза растения, биотических и абиотических стрессовых факторов, от долготы дня. Содержание сухих веществ в луке колеблется от 9 до 22%. Основную долю составляют сахара. Вкусовые качества, запах и степень остроты зависят от концентрации эфирных масел, варьируемой от 5 до 60 мг% на сырой вес, в зависимости от сорта. Продукция классифицируется на три типа: салатный, полуострый и острый. Сорта сладкого лука имеют мягкий вкус благодаря низкому уровню эфирных масел. В острых видах высокое содержание эфирных масел скрывает наличие сахаров, что связано с их длительным сроком хранения (Ибрагимбеков М.Г, 2015).

Категории остроты лука репчатого представлены в таблице (табл. 2) (Борисов В.А. и др., 2003).

Таблица 2– Содержание сухого вещества в отношении к содержанию сахара в соке лука репчатого

Категория	Содержание сухого вещества	Общее содержание сахаров	Содержание сахарозы
Сладкие	9	6	2
Полуострые	12	8	5
Острые	15	9	8

Наибольшая концентрация эфирных масел наблюдается при развитии растения во второй год выращивания, связано это с перенесением хранения, во время которого происходит накопление (в 2 и более раза) эфирных масел (Борисов В.А. и др., 2003).

### 1.7 Мужская стерильность и источники новых типов стерильности у рода *Allium*

Во всем мире получение F1-гибридов лука репчатого (*Allium cepa* L.) основывается на использовании ЯЦМС системы (ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность). Проявление признака стерильности у растений зависит от двух генетических факторов, находящихся в цитоплазме и ядре клетки. Фенотипическое проявления выражается в отсутствии формирования фертильной пыльцы (Manjunathagowda D. C., 2021).

ЯЦМС была впервые открыта у калифорнийского лука сорта “Italian Red” в 1925 году (Jones and Mann, 1963). Jones and Clarke показали, что этот тип мужской стерильности контролируется взаимодействием аллеля, вызывающего стерильность цитоплазмы и ядерного гена восстановителя *Ms/ms* в рецессивном состоянии (*msms*) (Jones H. A, Clarke A. E., 1943; Gökçe A. F., 2002). Позже в 1960 году во французском сорте *Jaune Pailled Vertus* была обнаружена новая система CMS-T (Berninger, 1965). Фертильность растений с такой цитоплазмой восстанавливается двумя независимыми системами восстановителей. Первая состоит из одного локуса *A* с двумя аллелями, а вторая из двух комплементарно действующих локусов *B* и *C*. По сведениям Schweisguth (1973) доминантные аллели во всех системах являются восстановителями фертильности, а рецессивные - закрепителями стерильности. Фенотипически стерильные растения с S- и T- типом

цитоплазмы различить невозможно, что затрудняет их использование в селекции (Эйдлин Я.Т., 2021).

S-тип цитоплазмы является наиболее распространенным типом в селекции и семеноводстве коммерческих F1-гибридов лука репчатого, благодаря отсутствию снижения женской фертильности и относительно частому появлению в образцах рецессивного аллеля *ms* в ядерном локусе восстановления мужской фертильности (*Ms*) (Havey, 2019).

В опубликованном исследовании М. J. Havey и Kim S. сообщили о существовании нового типа цитоплазмы на основе молекулярного генотипирования 42 коммерческих образцов. Новый обнаруженный тип цитоплазмы обозначили как R, предположительно интегрированный в селекцию из сорта «Rijnsburger» в Европейской селекции Нидерландов (Havey M. J., Kim S. 2021). Существование R-цитоплазмы может объяснить наблюдение Kim S. (2014) о том, что доминантный аллель *Ms* восстанавливает мужскую фертильность в T-цитоплазме, что противоречит мнению Havey M. J. (2000), который заметил, что доминантный аллель *Ms* не восстанавливает мужскую фертильность в T-цитоплазме.

Митохондриальный геном CMS-R показывает высокую степень гомологии с последовательностями нормального цитоплазматического генома (N), что позволяет классифицировать R тип цитоплазмы как T-подобный (Kim S., 2014).

Предлагается, что химерный митохондриальный ген *orf725*, состоящий из частичных последовательностей *coxI* и неопределенных последовательностей, играет ключевую роль в индуцировании мужской стерильности лука репчатого. Сравнительный анализ полных митогеномов N, CMS-S и CMS-R типов подтвердил участие *orf725* в возникновении CMS. Ген *orf725* присутствует в цитоплазме как CMS-S, так и CMS-R, но отсутствует в цитоплазме CMS-T (Kim S. et al., 2009; 2019). В отличие от CMS-T, результаты предыдущих работ Kim S. продемонстрировали, что мужская фертильность как CMS-S, так и CMS-R может быть восстановлена общим локусом *Ms* (Kim S., 2014). Разработаны многочисленные молекулярные маркеры, маркирующие этот локус (Havey M. J.,

2002; Bang et al., 2009; Havey M. J., 2013). Некоторые из этих маркеров тесно сцеплены с локусом *Ms* (Kim S., 2014; Kim S. et al., 2015).

Авторами Yu N. и Kim S. были обнаружены фертильные образцы, дающие небольшое количество пыльцевых зерен, после скрещивания со стерильными мужскими образцами, содержащими CMS-R тип цитоплазмы, фертильность полностью восстанавливалась, хотя их генотипы локуса *Ms* были гомозиготными рецессивными. После анализа наследования признака, был обнаружен локус, обозначенный *Ms2*. Локус *Ms2*, ответственный за восстановление мужской стерильности находится в конце хромосомы 2 на расстоянии 70 сМ от локуса *Ms* (Yu N., Kim S., 2021).

Хрустальной Л.И. созданы молекулярные маркеры для высокопоточного генотипирования методом HRM (High resolution melting), позволяющие дифференцировать типы цитоплазм N-, S-, R-, и T- лука репчатого, используемые в F1-гибридной селекции и семеноводстве (Khrustaleva L. et al., 2023)

Помимо этого, есть сообщения о новом типе цитоплазмы, которая контролируется лишь одним фактором – типом цитоплазмы. Путем межвидовой гибридизации вида *A. galantum* с *A. sepa* были получены формы лука с новым типом стерильности, которую в настоящее время обозначают как CMS-Gal. По результатам исследований автора, материнские стерильные растения с цитоплазмой от *A. galantum* давали потомство со 100% стерильностью, в независимости от ядерных генов (*Ms/ms*) опылителей, потомство от скрещивания оставалось мужски стерильным. Данный тип цитоплазмы с точки зрения селекционного процесса является наиболее предпочтительным, так как контролируется одним фактором стерильности – генами цитоплазмы, и нет необходимости в поиске и создании генотипов закрепителей стерильности. (McCollum G.D., 1980).

В 2024 году Havey M. J. были созданы молекулярные маркеры KASP и CAPS на основе однонуклеотидного полиморфизма T/G хлоропластного генома в позиции 32 258 (Genbank NC\_050981.1), позволяющие дифференцировать тип

цитоплазмы Gal-CMS от других типом ЦМС-систем лука репчатого (Havey M. J., 2024).

В селекции и семеноводстве наиболее распространенными типами ЯЦМС систем являются CMS-R и CMS-S (Havey M. J., 2021). Самой же распространенной системой в селекции F1-гибридов многих стран является CMS-S (Havey M. J., 2019).

В исследованиях Алижановой Р.Р. был проведен молекулярно-генетический анализ F1-гибридов и сортов зарубежной и отечественной селекции, в коллекции Селекционной станции имени Н.Н. Тимофеева на тип цитоплазмы и показано, что большинство образцов (61%) обладают CMS-S цитоплазмой, 22% имеют CMS-T цитоплазму и лишь у 14% выявлена нормальная N-цитоплазма (Алижанова Р.Р., 2019).

### **1.8 Гибридное семеноводство на основе ядерно-цитоплазматической мужской стерильности**

Растения, на которых впервые была найдена мужская стерильность размножали вегетативно, с помощью дочерних луковичек, впоследствии после проведения скрещиваний и установления генетики наследования размножение растений осуществляли половым способом с получением семенного материала.

Получение F1-гибридов у лука репчатого путем ручного опыления с кастрацией тычинок невозможно, это связано с большим количеством цветковых бутонов в соцветии и единичной продуктивностью растений.

Наиболее экономически эффективным методом получения F1-гибридных семян лука репчатого в промышленных масштабах является использованием стерильных материнских линий с ЦМС.

Стерильные линии лука на основе ЯЦМС поддерживают путем скрещивания с закрепителями стерильности (*maintainer*), генотип которых – *Nmsms*. Создание линий закрепителей стерильности очень трудозатратный и длительный процесс, который осложняется сильной инбредной депрессией после самоопыления, и учитывая перекрестное опыление, появления в популяциях доминантного аллеля *Ms* (Havey M.J., 1996).

Получение 100% стерильного потомства возможно только при полностью контролируемом опылении, где в качестве материнского растения используют линию с CMS-S типом стерильности, а в качестве линии опылителя используют генотипы N *msms* (Макаров А.А., 1967).

Промышленное семеноводство F1-гибридов лука репчатого заключается в скрещивании мужски стерильной линии с инбредной фертильной линией, при котором обе линии должны быть максимально генетически разнородны для достижения высокого гетерозисного эффекта. Помимо контроля опыления, для биологической защиты авторских прав в ходе селекции необходимо создавать линии отцовского компонента с генотипом закрепителя стерильности (Эйдлин Я.Т., 2021).

Промышленное семеноводство F1-гибридов проводят в открытом грунте, где в различных соотношениях чередуют стерильную материнскую линию и отцовскую линию опылителя. Во время раскрытия верхнего яруса цветковых бутонов проводят выбраковку внутри рядов стерильной материнской линии, для выявления фертильных растений, которые будут значительно снижать гибридность полученных семян (Clarke and Pollard, 1949).

### **1.9 Маркер-опосредованная селекция лука репчатого**

Использование молекулярных маркеров в селекционном процессе позволяет снизить затраты труда на проведение отборов, исключить проведение анализирующих скрещиваний и сократить этапы селекционного процесса (Havey M.J., 2014).

Молекулярные маркеры представляют собой сравнительно короткие фрагменты ДНК, которые находятся вблизи последовательности гена или даже внутри самого гена. Успешно созданный и апробированный маркер наследуется в ряду поколений. Наиболее ценными в селекции лука репчатого являются маркеры способные дифференцировать аллельные состояния изучаемого гена при проведении отборов (Havey M.J., 2014).

## 1.9.1 Молекулярные маркеры

С начала 90-х годов в селекции лука репчатого полиморфизмы обнаруживали с использованием рестриктаз, RFLP, RAPD–маркеров и маркеров AFLP. Эти типы маркеров предоставляют базовую информацию о различных популяциях лука, на основе них были созданы первые генетические карты лука репчатого (Havey M.J., 2014). Хромосомное распределение ценных признаков лука репчатого представлено в таблице 3.

Таблица 3. Хромосомное распределение хозяйственно ценных признаков лука репчатого

№	Признаки	Хромосомная локализация	Локус	Упоминание в статьях
1	Красная окраска луковиц	4, 7	L, L2, R	Kim et al., 2004a, Kim et al., 2005a, Khar et al., 2008, Khandagale et al., 2019, Khar et al., 2008, Duangjit et al., 2014, Havey et al., 2004
2	Белая окраска луковиц	6	C	Khar et al., 2008
3	Желтая окраска луковиц	9	G	Kim et al., 2005a and b, Khar et al., 2008, Duangjit et al., 2014
4	Устойчивость к стрелкованию	1	AcBl1	Baldwin et al., 2014
5	Восстановитель фертильности для S-типа цитоплазмы	2	Ms	Gokce et al., 2002, Martin et al., 2005, Khrustaleva et al., 2016, Damon and Havey, 2014
6	Устойчивость к ложной мучнистой росе	3	Pd1	Galmarini et al., 2001, Havey et al., 2004, McCallum et al., 2007, Scholten et al., 2007
7	Кутикулярный воск	2, 5	gl	Damon and Havey (2014), Galmarini et al., 2001, Raines et al., 2009
8	Растворимые сахара	3, 4, 5, 6, 8	Frc, fructans 6-fructosyl transferase, 1-sucrose-sucrose fructosyltransferase and Sucrose transporter, and Acid invertase	McCallum et al., 2006, Raines et al., 2009, Fujishima et al., 2005
9	Острота вкуса	3, 5, 6	Serine acetyl transferase, ATP sulfurylase (ATPS), Ferredoxin-Sulphite reductase), Lacrymatory factor synthase	McCallum et al., 2006, Raines et al., 2009, Masamura et al., 2012

Появление различных методов секвенирования и снижение стоимости позволило создать значительно большее количество кодоминантных маркеров, идентифицирующих аллельное состояние целевых генов (Duangjit et al., 2013; Havey M. J., 2018). Например, маркеры на основе микросателлитных повторностей (SSR) и маркеры однонуклеотидных полиморфизмов (SNP).

Использование таких маркеров позволяет точно выявлять растения с необходимым генотипом еще на ранней стадии развития растений. Тесно сцепленные молекулярные маркеры позволяют эффективно и менее трудозатратно проводить отборы со сложными признаками, например, выявления генотипов закрепителей стерильности или отбор устойчивых растений с гомозиготным состоянием гена на инфекционном фоне (Havey M. J., 2014).

Таблица 4. Молекулярные маркеры хозяйственно ценных признаков используемые в селекции

№	Признаки	Ген / локус	Название маркера	Упоминание в статьях
1	Содержание фруктозы	Frc	ACM033 and ACABE58	Galamarini et al. 2001, Havey et al. 2004, McCallum et al. 2006, Raines et al. 2009
2	Мужская стерильность	Ms	PsaO, jnurf20, AcPMS1 and AcSKP1, jnurf13, 5`cob: orfA501 for N, S and T cytoplasm, cytotype: accD, and MKFR	Manjunathagowda and Selvakumar, 2021, Khar et al., 2022, Eidlin et al., 2021
3	Стрелкование	AcBl1, AcVRN1 gene		Baldwin et al., 2014, Khosa, 2018
4	Устойчивость к ложной мучнистой росе	Pd gene	DMR1 marker	Eidlin et al., 2021, Kim et al., 2015
5	Черная плесень	Bs1	RF-SNP markers, onion-SNP markers	Scholten et al., 2016
6	Альтерналиоз	ApR1	KASP SNP marker ApRsnip14, ApRsnip23, SSR marker, AcSSR7, STS marker ApR-450	Sahoo et al., 2023

Продолжение таблицы 4

№	Признаки	Ген / локус	Название маркера	Упоминание в статьях
7	Острота вкуса	lachrymatory factor, alliinase gene	Plastidic ferredoxin-sulfite reductase (SiR) and plastidic ATP sulfurylase (ATPS) closely linked on chromosome 3, AFLP marker	McCallum et al., 2007, Heusden et al., 2000
8	Цвет луковицы	Pink-P, Red-L, L2, R, White-C, Gold-G	Anthocyanidin synthase, Chalcone isomerase, Dihydroflavonol 4-reductase	Kim et al., 2005a and b, Khar et al., 2008, Duangjit et al., 2014, Kim et al., 2004a, Khandagale et al., 2019, Havey et al., 2004

С появлением большого количества различных молекулярных маркеров на моно- и полигенные признаки, появляется возможность отбирать необходимые растения с высокой популяционной ценностью, что будет исключать очень трудозатратные диаллельные скрещивания и проведение отборов на большое количество ценных признаков.

## 2. Материал, методика и условия проведения исследований

### 2.1 Растительный материал

В качестве растительного материала из генетической коллекции ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева» были использованы следующие селекционные образцы:

1) Линии 136, 155, 161, 163 устойчивые к ложной мучнистой росе имеющие ген устойчивости *Pd1*, полученный скрещиванием F1 Santero устойчивого стерильного гибрида с восприимчивой линией Candy2;

Линия Вал1-8 полученная отдаленной гибридизацией лука репчатого с *Allium roylei*, и двукратным беккроссированием луком репчатым;

2) Восприимчивые к ложной мучнистой росе закрепители стерильности с известным генотипом N *msms* (Бн1, Шат12, Р62, Экс);

3) Образцы дикорастущего вида *Allium galanthum*, любезно предоставленные М. И. Ивановой (ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО);

4) Стерильные беккроссные потомства от отдаленного скрещивания *A. pskemense* x *A. cepa* (BC1...BC5);

5) Стерильное гибридное потомство от отдаленного скрещивания *A. galanthum* x *A. cepa*, и их беккроссные популяции BC1, BC2;

6) Зарубежные F1-гибриды, взятые в качестве стандартов: F1 Mondella, F1 Sonoma, F1 Orlenda и F1-119 (Hazera), F1-120 (Hazera);

7) Стерильная линия МсБн1 с типом цитоплазмы CMS-R, тип цитоплазмы установлен Л. И. Хрусталевой методом HRM (Khrustaleva L. et al., 2023);

8) Зарубежный сорт устойчивый к альтернариозу лука репчатого Arka Kalyan, источник гена устойчивости *ApR1*;

9) *Allium roylei* – донор устойчивости к ложной мучнистой росе (*Pd1*);

10) Расщепляющиеся популяции F2...F3 от скрещиваний восприимчивых линий с донорами устойчивости к ложной мучнистой росе.

Исследования проведены в условиях открытого, защищенного грунта и в лаборатории генетики, селекции и биотехнологии овощных культур РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.

## **2.2 Условия выращивания**

Выращивание растений осуществляли рассадным способом, ручной посев - в рассадные кассеты (144 ячейки, размер кассеты – 400x400x50 мм) с торфяным субстратом (Агробалт С: N-150 мг/л, P-150 мг/л, K-250 мг/л + микроэлементы, рН 5,5 - 6,5) в третьей декаде апреля, подкормки проводили минеральным удобрением «Акварин 14-14-14» и аммиачной селитрой. Орошение ювенильных растений проводили по мере необходимости.

Высадку рассады в открытый грунт проводили 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 с рекомендованной дозой внесения, при появлении сорной растительности в посадках лука репчатого.

Высадку луковиц для проведения гибридизации и инбридинга в защищенный грунт осуществляли по схеме 100+50x20 см. Для получения F1-гибридных семей, в один ряд проводили высадку маточных луковиц стерильной материнской линии МсБн1, в другой луковицы фертильных линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе 163, 155, 161, Вал1-8.

Уборку проводили ручным способом при полегании листьев у 75-80% растений образца. Хранение луковиц осуществляли в овощном хранилище при температуре 2-4 °С, с относительной влажностью воздуха 60-70%.

## **2.3 Инбридинг линий и гибридизация**

Гибридизацию и инбридинг проводили в контролируемых условиях пленочной теплицы. По достижению этапа цветения растения из расщепляющихся популяций и линий подвергали искусственному самоопылению вручную кисточкой с использованием отдельных изоляторов из полупергаменты.

## **2.4 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 (<sup>0</sup>Вх), наличие устойчивости к пероноспорозу, розовой гнили корней, альтернариозу.

Измерения массы луковиц у каждого генотипа осуществляли с помощью переносных весов. Оценку содержания сухих растворимых веществ проводили с помощью рефрактометра Atago Palette PR-32 с автоматической поправкой на температуру. Интенсивность воскового налета у образцов оценивали визуально.

Число зачатков в луковице определяли на поперечном разрезе. Длину и количество листьев определяли перед уборкой. Количество сухих кроющих чешуй оценивали визуально после проведения ручной уборки.

## **2.5 Создание инфекционного фона**

Для проведения оценки на устойчивость к ложной мучнистой росе создавали инфекционный фон с грибом с биотрофным типом питания *Peronospora destructor*. Инокулюм получали методом смыва с зараженных листьев лука во второй половине вегетации растений, оптимальной инфекционной нагрузкой была определена концентрация  $3 \times 10^6$  (Алижанова Р.Р., 2019), которую проверяли с помощью светового микроскопа в камере Горяева. За устойчивые принимали растения без проявления симптомов ложной мучнистой росы, за восприимчивые – с любой степенью проявления заболевания.

Для оценки образцов на устойчивость к розовой гнили высадку проводили на участки с естественным инфекционным фоном с патогеном *Phoma terrestris*. Оценку устойчивости осуществляли в баллах (0 – полное отсутствие поражения, 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.

## **2.6 Погодно–климатические условия проведения полевых испытаний**

Почвы опытного участка высокоокультуренные дерново-подзолистые тяжелосуглинистые, отличаются повышенным содержанием фосфора ( $P_2O_5$  – 540 мг/кг) и калия ( $K_2O$  – 390 мг/кг почвы), и низким содержанием азота (N – 140 мг/кг).

В период проведения стационарного испытания F1-гибридных комбинаций, согласно данным метеорологической обсерватории имени В.А. Михельсона РГАУ-

МСХА, среднесуточная температура воздуха в весенне-летний период 2023 г. в среднем была на 3 °С выше среднеголетней, а в 2024 году превышение было на 4°С по сравнению с среднеголетней (рис. 2). В ночное время суток наблюдалось существенное понижение температуры воздуха. Так в 2023 году средняя температура воздуха в период I декады июня по I сентября в ночное время составляла 14,6°С, а в 2024 году, в этот же период, была 14,2. Средние максимальные перепады температур в 2023 году составили 10°С, а в 2024 году – 10,5°С. Перепады температур в 2023 и 2024 году, способствовали развитию грибных фитопатогенов, благодаря появлению в утренние часы капельной влаги на листьях растений лука репчатого.

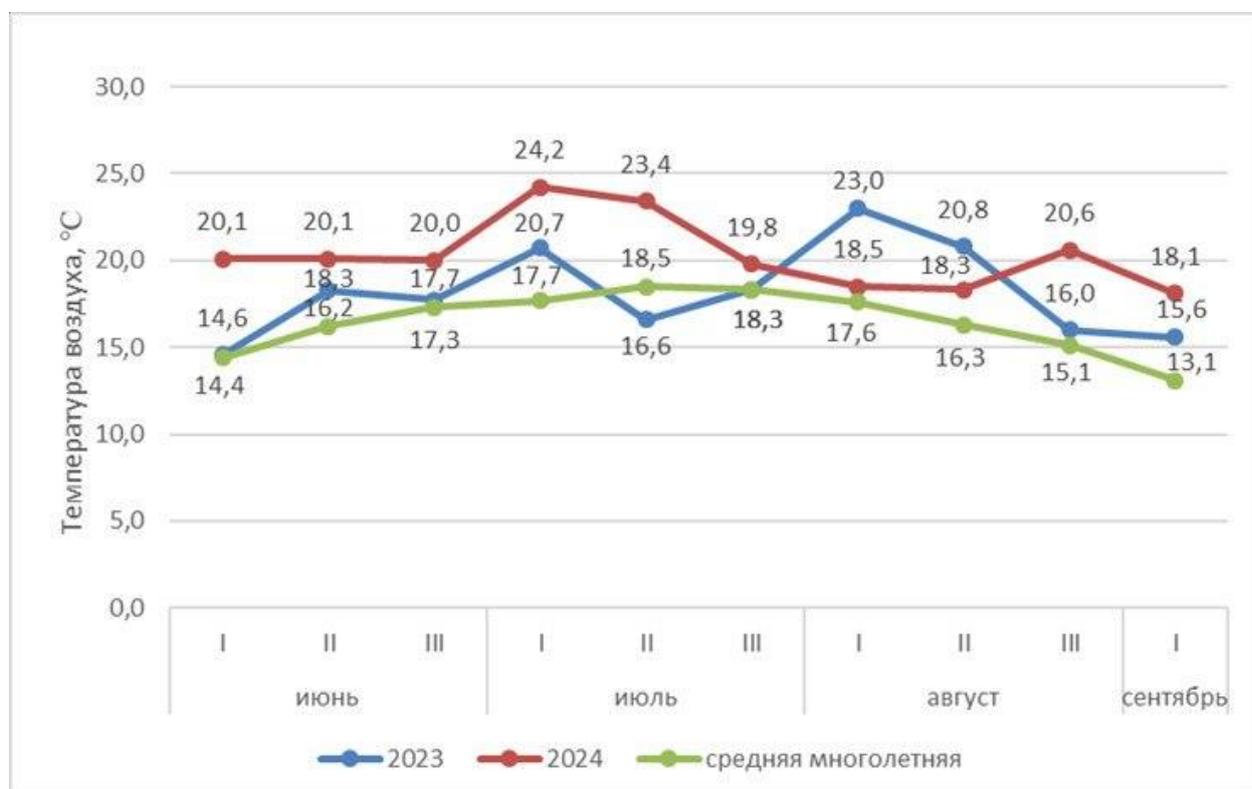


Рисунок 2 – Средняя декадная температура воздуха в период вегетации лука репчатого, °С

Количество осадков в период период I декады июня по I сентября в 2023 году составило 276,5 мм, а в 2024 году – 301,3 (рис. 3). Количество осадков в конце августа – начале сентября было существенно ниже по сравнению с средними многолетними данными.

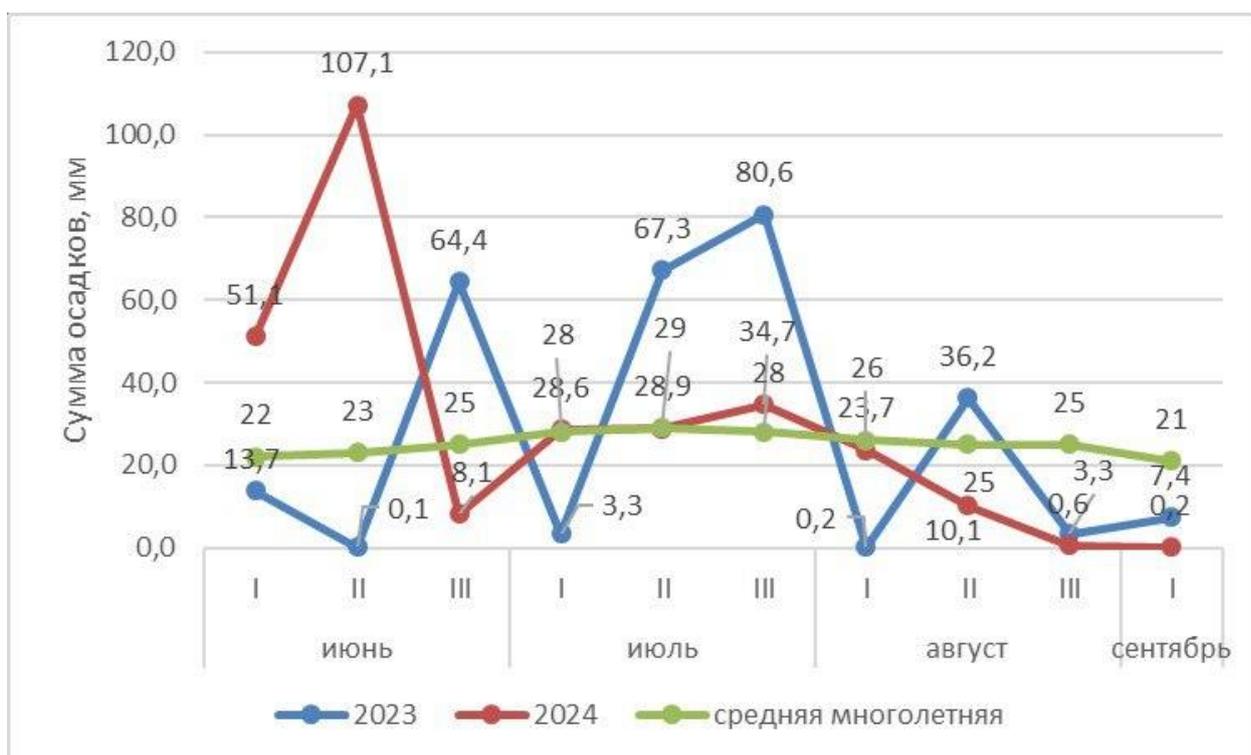


Рисунок 3 – Сумма осадков по декадам в период вегетации лука репчатого, мм

Относительная влажность воздуха в 2024 году была в среднем на 4,8 % ниже по сравнению с данными 2023 года. Так в 2023 году в указанный период средняя влажность воздуха составляла 72,6 %, а в - 2024 67, 8% (рис. 4). Высокая средняя влажность воздуха способствовала патогенезу грибных фитопатогенов в указанный период.

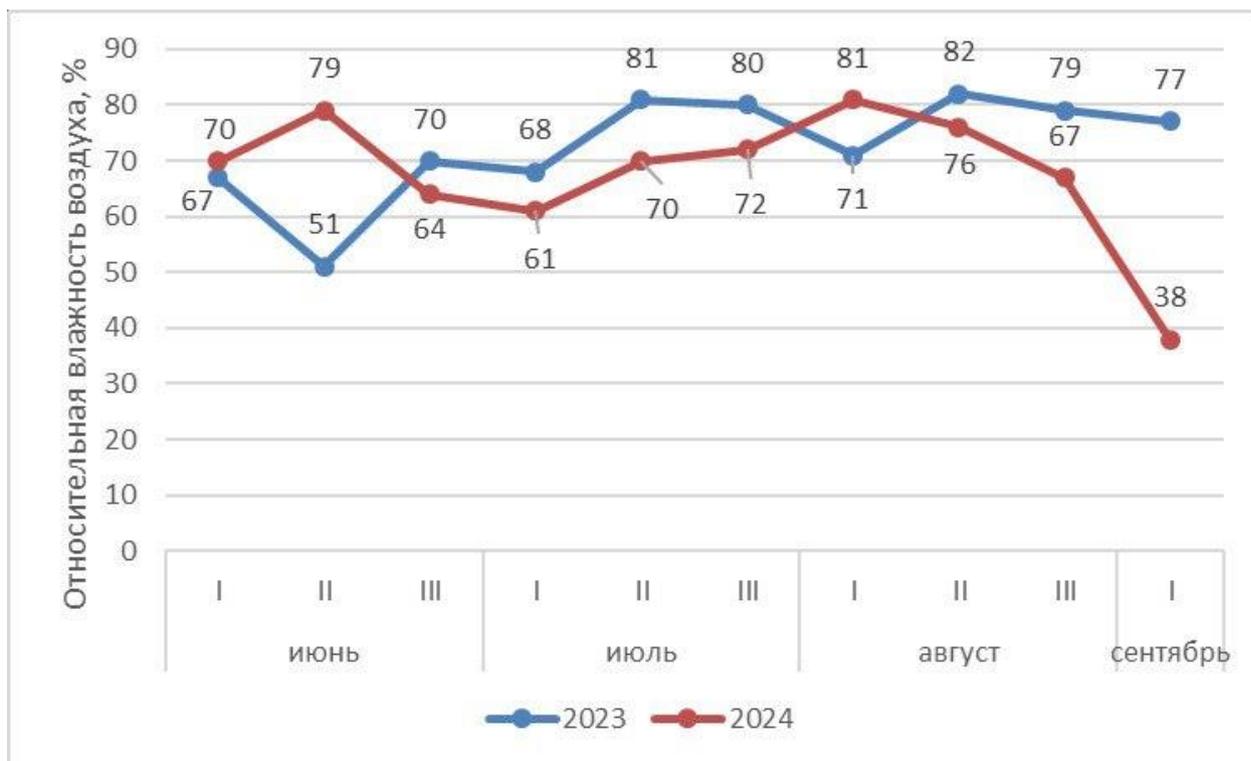


Рисунок 4 – Относительная влажность воздуха по декадам в период вегетации лука репчатого, %

## 2.7 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.

## 2.8 Молекулярные исследования

Общую ДНК выделяли СТАВ-методом с модификациями (Rogers S. O., Bendich A. J., 1985) состав буфера был следующим: 2% СТАВ (ЦТАБ – цетилтриметиламмонийбромид), 100 mM Tris-HCl (pH = 8,0); 20 mM EDTA (pH = 8,0); 1,4M NaCl; 1% PVP (поливинилпирролидон). Для выделения использовали 100-150 мг свежей ткани молодых листьев растений.

Протокол выделения ДНК с небольшими модификациями был следующим:

1. СТАВ нагревали на водяной бане (65 °С) до полного растворения кристаллов. Смешивали с ddH<sub>2</sub>O в соотношении 1:1 для получения СТАВх1;
2. Добавляли к растительному материалу 700 мкл СТАВх1;
3. Гомогенизацию тканей проводили с использованием TissueLyzerII (QIAGEN) с предварительным замораживанием пробирок с растительным материалом в жидком азоте;
4. Переносили пробирки в термостат с сухим нагревом (65 °С) на 60 мин. И переворачивали по 30 раз каждые 15 мин;
5. Добавляли 400 мкл смеси хлороформ:изоамиловый спирт в соотношении 24:1 соответственно. После добавления переворачивали пробирки с использованием мульти-ротатора Multi RS-60 (BioSan) в течении 10 минут;
6. Центрифугировали 10 минут при максимальной скорости (15000 об/мин);
7. Переносили всю надосадочную жидкость в новую чистую пробирку. Для выделения ДНК из тканей растений второго года выращивания повторяли очистку, указанную в 5-6 пункте;
8. Затем добавляли ледяной изопропанол (-20 °С) в объеме 700 мкл. Перемешивали переворачиванием 5 мин на Multi RS-60 (BioSan);
9. Центрифугировали 10 минут на максимальной скорости (15000 об/мин). После центрифугирования сливали всю надосадочную жидкость;
10. Добавляли 200 мкл холодного 70% этанола (+4 °С). Центрифугировали 5 мин. на максимальной скорости (15000 об/мин). Сливали надосадочную жидкость. Повторяли 10 пункт;
11. Высушивали в вакуумной сушилке при 45°С до полного испарения этанола, в течении 4 минут;
12. Растворяли осадок в 100 мкл ddH<sub>2</sub>O. Выдерживали в течении 3-24 ч. до полного растворения ДНК (при +4 °С). Длительное хранение осуществляли при -20 °С.

Измерение концентрации нуклеиновых кислот и оценку степени очистки проводили с использованием прибора NanoPhotometr N (Implen).

Процедуру ПЦР (полимеразная цепная реакция) проводили в амплификаторе Thermal Cycler C1000 Touch (Bio-Rad). Реактивы для проведения амплификации хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ , перед использованием размораживали, далее встряхивали и осаждали на вортексе.

Амплификацию ДНК-фрагментов проводили согласно описанию в оригинальных статьях авторов-разработчиков молекулярных маркеров. Молекулярно-генетический анализ и дифференциацию генотипов по целевым генам проводили с использованием следующих молекулярных маркеров:

DMR1 – SCAR - маркер ядерного гена устойчивости к пероноспорозу *Pdl* (Kim S. et al., 2016). При амплификации с парой праймеров DMR1-R 5'-TTCGTAGCAGCATCAAGGTG-3' и DMR1-F - 5'-TGAGGCTCAAGTTGACATG-3' дает фрагмент размером 505 п.н., соответствующий доминантному аллелю *Pdl*, а рецессивному аллелю *pdl* соответствует фрагмент размером 438 п.н. (рис. 5).

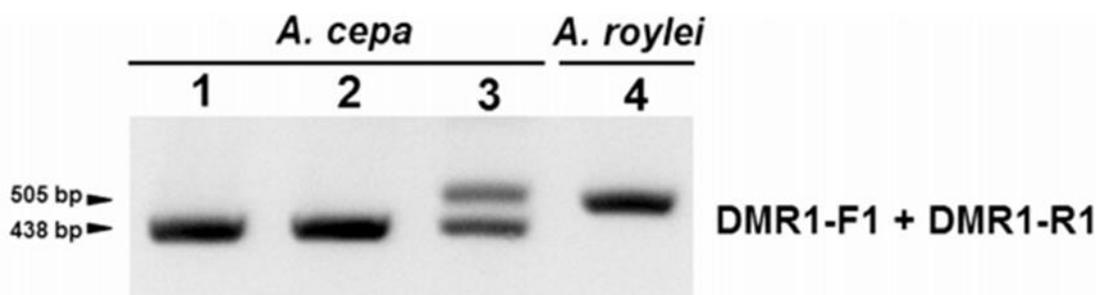


Рисунок 5 – Аллельное состояние гена устойчивости *Pdl* у восприимчивых и устойчивых образцах лука (Kim S., 2016).

Примечание: образцы под номерами 1, 2 – восприимчивые к пероноспорозу, рецессивные гомозиготы *pdlpdl*, образец 3 – гетерозигота (*Pdlpdl*), образец 4 – доминантная гомозигота (*PdlPdl*).

Для определения гена закрепителя стерильности/восстановителя фертильности нами был выбран маркер *Jnurf-13*. Праймеры для *Jnurf-13* это 5'-TTGCCAAAGGTTGCAATACA-3' и 5'-TGCAAGCTTGGAACCTTACG-3', температура отжига  $57^{\circ}\text{C}$ , ожидаемый для доминантного аллеля *Ms* фрагмент - 241 п.н., рецессивного *ms* - 229 п.н. Условия ПЦР были следующими:  $95^{\circ}\text{C}$  - 4 мин; 10

циклов денатурация при 95 °С - 30 сек; отжиг при 65 °С с уменьшением в каждом цикле на 0,8 °С – 30 сек, синтез при 72 °С - 1 мин; 35 циклов 95 °С - 30 сек; 57 °С - 30 сек; 72 °С - 1 мин; 10 мин – 72 °С (Kim S., 2013).

Маркер *orfA501* Т-цитоплазмы (ожидаемый фрагмент 473 п.н.) амплифицировали с праймерами 5'-ATGGCTCGCCTTGAAAGAGAGC-3' и 5'-ССААGCАТТТGGCGCTGAC-3' при температуре отжига 60 °С (Engelke T., 2003).

Маркер 5'*cob* S-цитоплазмы амплифицировали с использованием прямого праймера 5'-GTCCAGTTCСТАТАGААССТАТСАСТ-3', (ожидаемый фрагмент 414 п.н.), маркер нормальной N-цитоплазмы, характеризующийся длиной фрагмента 180 п.н., - с прямым праймером 5'- ТСТАGАТGТCGCАТСАGТGGААТСС-3' и использованием общего обратного праймера 5'-СТТТТСТАТGGTGАСААСТССТСТТ-3' при температуре отжига 53 °С. Условия ПЦР были следующими: 94 °С - 3 мин; 29 циклов- 94 °С - 30 сек; 53 °С - 60 сек; 72 °С - 2 мин; 5 мин – 72 °С (Engelke T., 2003).

*AcSSR7* – кодоминантный молекулярный маркер ядерного гена устойчивости к альтернариозу - *ApR1*. При амплификации с праймерами *AcSSR7F*: 5'-GGAGTATCACAGTGAATGAGG-3' и *AcSSR7R* 5'-TCCAGTTACCATCAGAGTCAC-3' дает фрагмент размером 195 п.н., соответствующий доминантному аллелю устойчивости, и фрагмент размером 225 п.н. соответствующий рецессивному. Условия амплификации были следующими: 94 °С - 5 мин; 35 циклов- 94 °С - 45 сек; 55 °С - 60 сек; 72 °С - 2 мин; 7 мин – 72 °С (Chand S. K., 2019).

Молекулярный маркер для дифференциации типа цитоплазмы Gal-CMS, с праймерами Gal-CMS-F (5'-GТАGСТАССGAGАТАААТGСAGТТА) и Gal-CMS-R (5'-СААССАТСАGААGАAGСАААТАСАА), образующие фрагмент размером 934 п.н. на основе хлоропластной ДНК, который при расщеплении *Eco* RI дает фрагменты размером 317 п.н. и 617 п.н. соответствующие типу цитоплазмы Gal-CMS и *A. galanthum*; ампликоны цитоплазм лука репчатого N, R-CMS, S-CMS и T-CMS при этом не расщепляются (рис. 6) (Havey M. J., 2024).

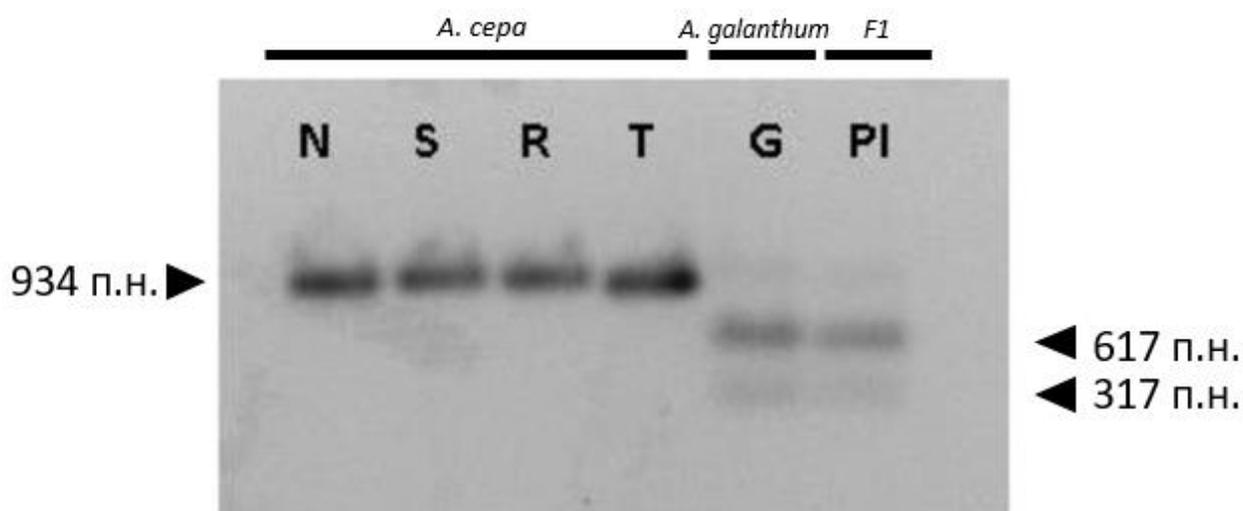


Рисунок 6. Гель–электрофореграмма хлоропластных ампликонов после расщепления ферментом рестрикции Eco RI.

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.

Визуализацию результатов после проведения ПЦР проводили с использованием интеркалирующего красителя GelRed (Biotium, США) в системе гель–документирования ChemiDoc XRS+ (Bio – Rad).

## 2.7 Определение фертильности пыльцы ацетокарминовым методом

Фертильность пыльцы определяется путем окрашивания ацетокармином по методике З.П. Паушевой с небольшими модификациями (Паушева З. П., 1988).

Предварительно предметное и покровное стекло обеззараживали спиртом. Пыльники помещали на предметное стекло и с помощью пипетки наносили 2-3 капли ацетокармина и накрывали покровным стеклом. Далее обратной стороной препаровальной иглы постукивали пару раз по пыльникам для высвобождения и распространения пыльцевых зерен по препарату. Далее прогревали 15 секунд на термостате при 40 °С для более интенсивного окрашивания. Убирали остатки ацетокармина за пределами покровного стекла для микроскопирования.

У фертильных пыльцевых зерен цитоплазма и спермии обретают красно-карминовый окрас, а стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются или окрашиваются неравномерно. Содержимое стерильных зерен часто отходит от оболочки и близко к гибели. Спермиев в них нет.

Для вычисления процента фертильности пыльцы учитывали окрашенные и неокрашенные пыльцевые зерна. Просматривали и фотографировали не менее трех полей зрения микроскопа. Ввели подсчет общего количества пыльцы и количества фертильной. Далее рассчитывали отношение фертильных пыльцевых зерен к их общему числу. Анализ осуществлялся с помощью микроскопа Axioscop 40, с объективом фотоаппарата EF - соединения для макросъемки Canon EF 100 mm f/2.8.

### 3. Результаты исследований

#### 3.1. Селекционная программа создания новых типов мужской стерильности у лука репчатого

##### 3.1.1 Создание аллоплазматических потомств на основе источника ЦМС из *Allium galanthum*

Для получения гибридных семян лука репчатого используют ядерно-цитоплазматическую мужскую стерильность, а наиболее часто встречаемым типом ЦМС в коммерческих гибридах является S-тип цитоплазмы. В данном типе стерильности фертильность восстанавливается одним доминантным локусом *Ms*.

При первичном семеноводстве - размножении стерильной линии возможно механическое попадание или переопыление растениями с доминантным аллелем (*Ms*). Это может приводить к снижению гибридности на участке гибридизации из-за самоопыления или sibсовых опылений растений внутри стерильных линий, что снижает гибридность из-за неприемлемо высокой примеси материнской формы. Еще более серьезной проблемой является, попадание доминантного аллеля *Ms* в линию закрепитель стерильности, так как установление этого факта фенотипически невозможно.

С целью устранения этой проблемы периодически необходимо, проведение генотипирования растений линий закрепителей стерильности с помощью молекулярных маркеров.

Преимущество использования другого источника стерильности на основе только цитоплазматического фактора заключается в том, что в селекционном процессе нет необходимости создания линий закрепителей стерильности с рецессивным гомозиготным локусом *ms*. Потомство, полученное от скрещиваний со стерильной формой, обладающей истинной ЦМС, будет полностью стерильным, вне зависимости от выбора генотипа в качестве растения опылителя, так как такое опыление является продолжением беккрасса, а гены восстановители фертильности для такой цитоплазмы находятся только в виде, использованном в качестве донора ЦМС, то есть в материнском компоненте.

Основной метод создания нового типа ЦМС предполагает отдаленную гибридизацию и насыщающие скрещивания на цитоплазму, стерилизующую микроспорогенез у вида *Allium cepa*.

Для создания аллоплазматической цитоплазматической мужской стерильности растений лука (*Allium*) была проведена отдаленная гибридизация стерильных растений *Allium galanthum* (лука молочноцветного) с линиями лука репчатого (*Allium cepa*), восстановителями фертильности для стерильных типов цитоплазмы лука репчатого с генотипами *RMsMs*, гомозиготными по аллелям гена устойчивости *Pd1*.

В качестве источника стерилизующей цитоплазмы использовали образцы *Allium galanthum*, любезно предоставленные М.И. Ивановой (ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО). Результаты оценки трех образцов *Allium galanthum* на наличие стерильных растений представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты оценки фертильности/стерильности растений в образцах *Allium galanthum*

Номер образца	Общее число растений, шт	Число фертильных растений, шт	Число стерильных растений, шт
№1	26	21	5 (19%)
№2	22	13	9 (59%)
№3	20	18	2 (10%)

Из таблицы 5 видно, что во всех трех образцах *Allium galanthum* присутствуют стерильные растения. Образцы различались по насыщенности стерильных растений от 10% в образце №3 до 59% в образце №2. У стерильных растений практически отсутствовали в цветках пыльники. Для гибридизации луком репчатым отбирали растения с полным проявлением мужской стерильности, то есть растения, у которых отсутствовали пыльники.

Дальнейшая селекционная работа заключалась в проведении насыщающих скрещиваний и отборе из полученных популяций растений с фенотипическими признаками лука репчатого (формирующие одиночную луковицу, способную к

хранению), и в более поздних беккроссных популяциях отбор по хозяйственно ценным признакам (рис. 7).

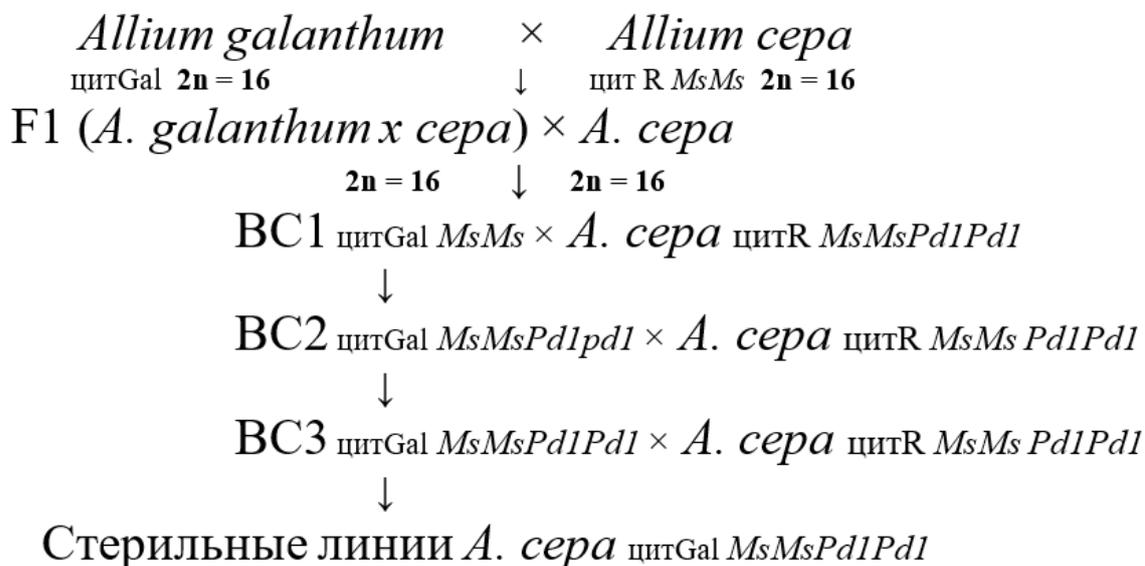


Рисунок 7 - Генетико-селекционная схема создания стерильных линий лука репчатого с типом цитоплазмы Gal

Завязываемость семян от отдаленного скрещивания *Allium galanthum* x *Allium sepa* была очень низкой, завязывалось от 2 до 3 семян на одно соцветие. Кроме того, F1-гибридные семена были мелкие, с низкой энергией прорастания и всхожестью.

Растения F1-гибридного потомства преимущественно формировали несколько луковиц в гнезде, однако в потомствах наблюдались растения, формирующие и одну луковицу. Луковицы обладали мощной корневой системой, высокой зимо- морозостойкостью, и коротким периодом покоя и различались по окраске сухих и сочных листьев (рис. 8).



Рисунок 8 – Луковицы растений, полученных в результате отдаленной гибридизации *Allium galanthum* x *Allium cepa*

Примечание: а) - F1 *A. galanthum* x АВГ5, б)- F1 *A. galanthum* x (Мс130 x Юдж1)1, в) - F1 *A. galanthum* x (Бн1 x 136)2, г)- BC1 *A. galanthum* x ((Мс130 x Юдж1) x (Шат2 x 136)).

Полученные F1-гибридные растения сохраняли мужскую стерильность и фенотипически проявляли промежуточное наследование признаков родительских форм.



Рисунок 9 – Сравнительный анализ цветков *Allium galanthum*, *Allium cepa*, BC1 под биноклем

Примечание: а) *Allium galanthum*; б) *Allium cepa*; в) потомство от скрещивания (♀ *Allium galanthum* x ♂ Юдж1-3)(BC1).

Цветки стерильной формы *Allium galanthum* не раскрывающиеся, тычинки выходящие за пределы цветка обладают зеленоватой окраской, которая в последствии переходит в коричневую, что свидетельствует о усыхании и дальнейшем опадении пыльников. Цветки беккросного потомства *Allium galanthum* x Юдж1-3(BC1) не раскрывающиеся, с искривленными тычиночными нитями и имеют промежуточные морфологические признаки обоих родителей (рис. 9). Полученный гибрид и беккросные растения от отдаленного скрещивания *Allium galanthum* x ♂ Юдж1-3 отличается от родительских форм более крупными размерами вегетативных и генеративных органов.

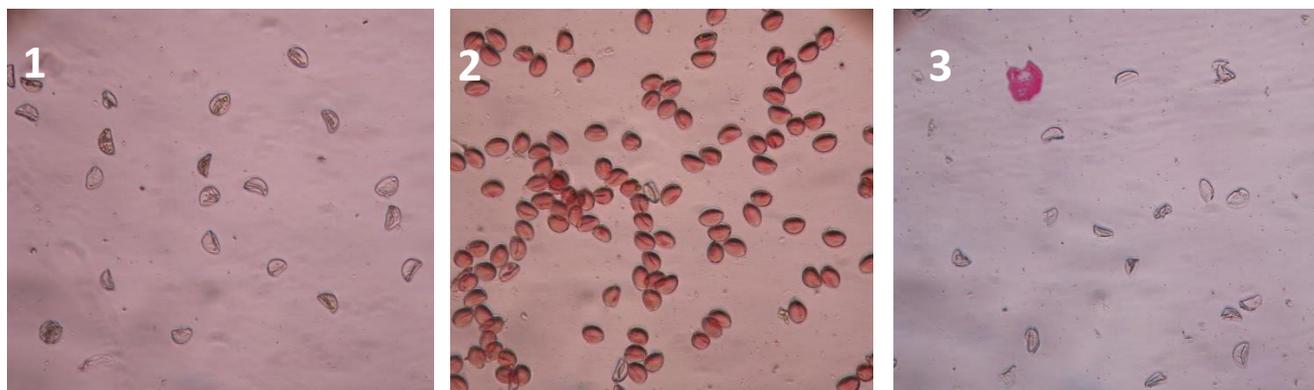


Рисунок 10 - Фотографии ацетокарминовых препаратов пыльцы под микроскопом, увеличение 200X

Примечание: 1 – *A. galanthum* (стерильная форма); 2 - *A. cepa* (Юдж1-3) (фертильная форма), 3 - потомство от скрещивания *Allium galanthum* x *A. cepa* (BC1).

По результатам ацетокарминового окрашивания пыльцы растения из стерильной формы *A. galanthum* имели все щуплые и неокрашенные пыльцевые зерна, что свидетельствует о стерильности пыльцы, аналогичные результаты получены на беккросном образце *A. galanthum* x *A. cepa*, у растения *A. cepa* (Юдж1-3) формировались ярко окрашенные пыльцевые зерна, имеющие фертильность на уровне 96%.

Морфологические особенности ВС1 *Allium galanthum* x Юдж1-3: стрелка заканчивается шаровидным соцветием – многоцветковым зонтиком. Диаметр составляет от 6 до 8 см. Для цветка характерна правильная симметричная форма, цветоножки длиннее околоцветника. Цветки шестилепестковые, крупные, полураскрытые. Околоцветник звездчатый, белого цвета с зеленой полоской на каждом лепестке с внешней стороны. Количество лепестков и тычинок одинаково, 6 штук, пестик один, тычиночные нити длиннее околоцветника. Лепестки со слегка заостренными краями. Пыльников мало, четырехгранные, зеленые или желтоватые в дальнейшем высыхающие, без пыльцевых зерен.

В следующих насыщающих скрещиваниях F1-гибридного потомства от отдаленного скрещивания также использовали фертильные (*MsMs*) образцы лука репчатого с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе (*Pd1Pd1*). Семенная продуктивность растений оставалась на очень низком уровне, количество завязавшихся семян от гибридизации составляло 3-5 штук на одно соцветие.

Полученные растения ВС1 также формировали несколько луковиц в гнезде, и единичные - одиночную луковицу, с коротким периодом покоя (луковицы проросли в течение месяца после уборки) (рис. 11).

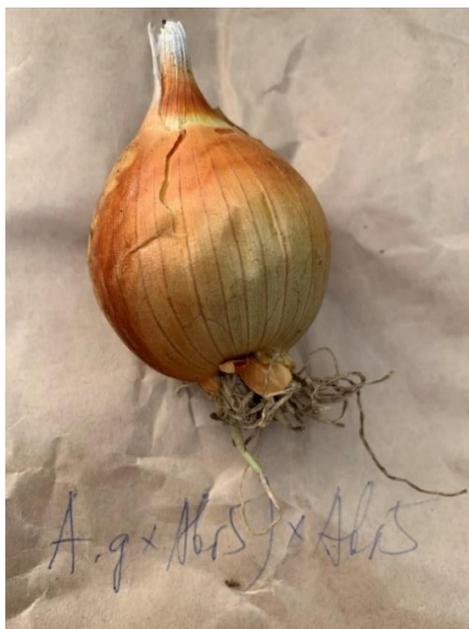


Рисунок 11 - Луковица первого беккроссного потомства (*A. galanthum* x АВГ5) x АВГ5

В потомствах ВС2, ВС3 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 (рис. 12)

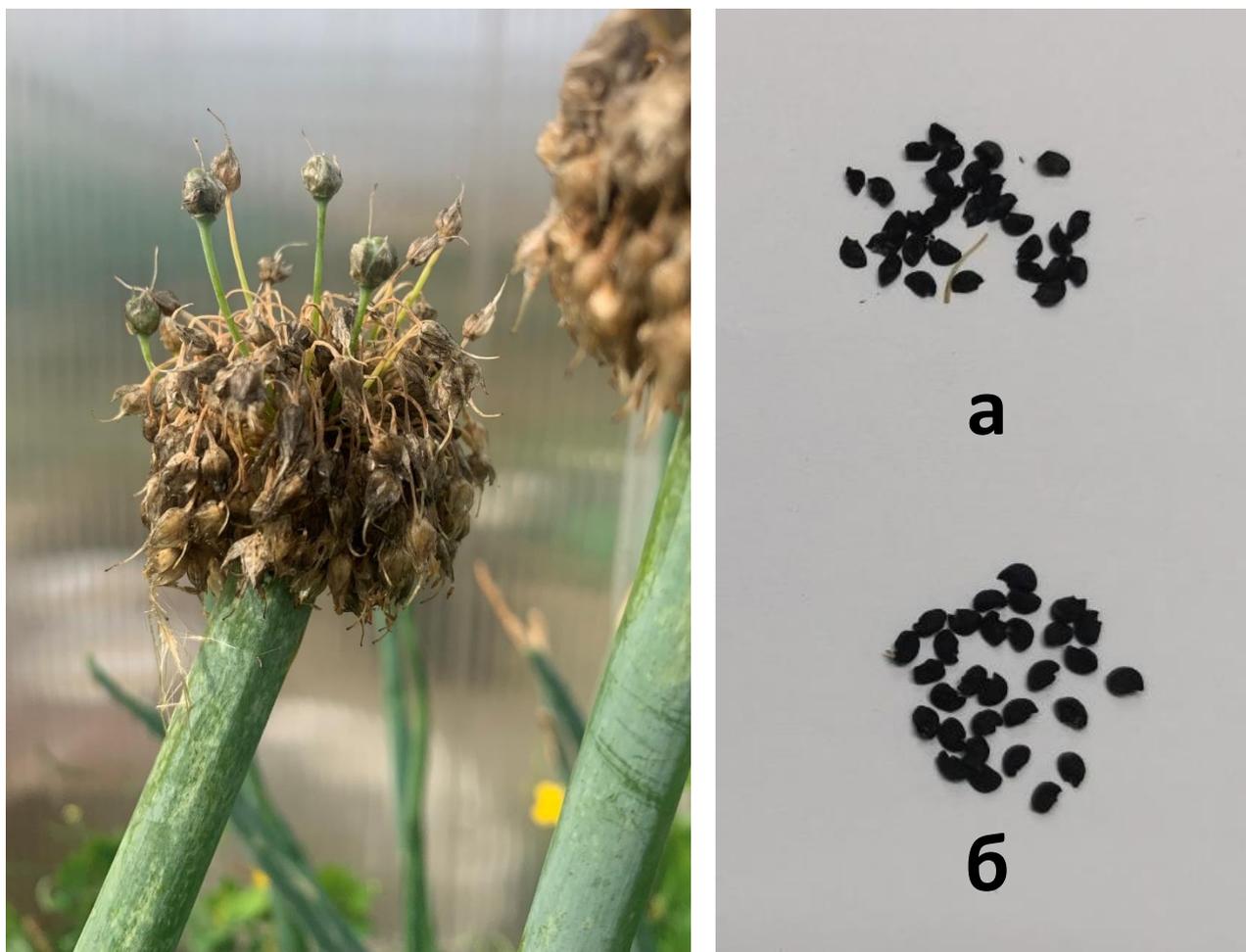


Рисунок 12 - Завязи аллоплазматического беккроссного потомства (BC2) и их семена

Примечание: 1 – цветочная стрелка растения из беккроссной популяции ВС2 с завязями; 2: а) семена от скрещивания ВС2 x (Бн1 x 136), б – семена инбредной линии лука репчатого.

Таким образом, 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*) получены аллоплазматические беккроссные потомства формирующие

одинокую 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.

Поэтому создание аллоплазматических линий с истинной ЦМС, на базе стерилизующей цитоплазмы *Allium galanthum*, требует дальнейших насыщающих скрещиваний линиями лука репчатого до восстановления семенной продуктивности. В аналогичных исследованиях М. J. Havey, потребовалось проведение 6 насыщающих скрещиваний и получения ВС7, у которого луковицы и листья морфологически были идентичны образцам лука репчатого (*Allium cepa*) и обладали приемлемой семенной продуктивностью (Havey M.J., 1999).

### **3.1.2 Создание аллоплазматических линий на основе источника ЦМС из *Allium pskemense***

Работа начата в 2010 году Авдеевым И.В. на Селекционной станции имени Н.Н. Тимофеева. Им были обнаружены в популяции *Allium pskemense* (лук пскемский) растения, обладающие мужской стерильностью и проведена их отдаленная гибридизация с луком репчатым. Селекционная схема получения F1-стерильного гибридного потомства от скрещивания *Allium pskemense*, взятого в качестве материнского компонента скрещивания с *Allium cepa* и дальнейших насыщающих скрещиваний луком репчатым представлена на рисунке 13.

Первое скрещивание и беккросс проводили линией лука репчатого Вал1, являющейся восстановителем фертильности в системе CMS-R лука репчатого. Уже после первого беккросса формировались растения с очень плотной, среднего размера одиночной луковицей.

Следующие насыщающие скрещивания проводили фертильными линиями с генотипом восстановителя фертильности с генетической устойчивостью к пероноспорозу.

Получение F1-гибридного потомства и три насыщающих скрещивания осложнялись очень низкой семенной продуктивностью, число завязавшихся семян

на соцветие составляло 2-3 шт. Семенная продуктивность стерильных растений восстановилась после четвертого беккросса, и с одного растения удалось получить 12 граммов семян, при опылении фертильным растением *Allium sera*.

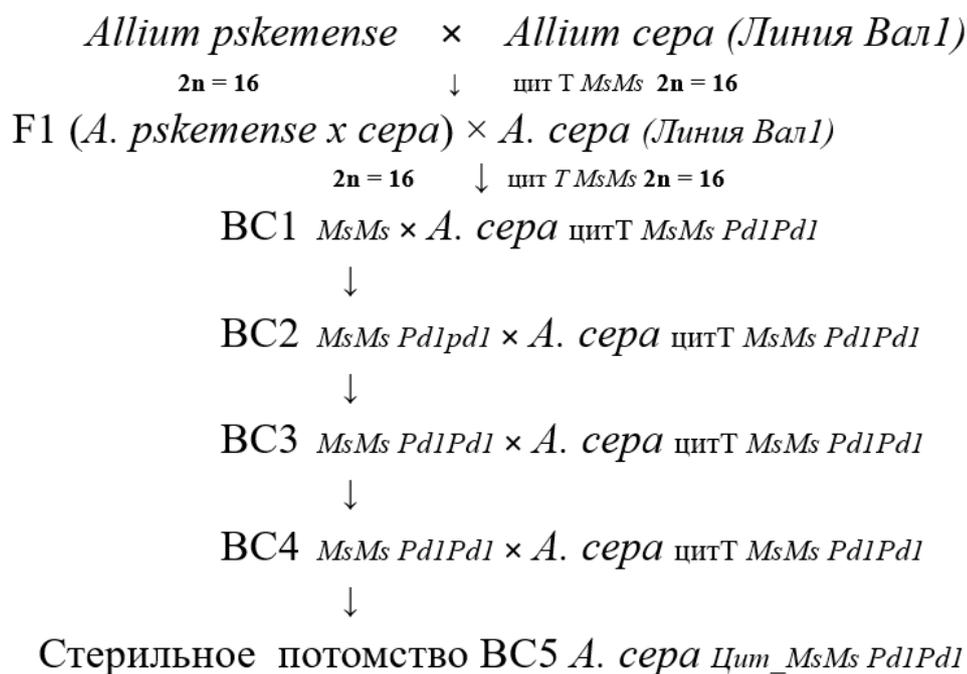


Рисунок 13 - Схема создания аллоплазматического потомства с цитоплазматическим фактором стерильности от *Allium pskemense*

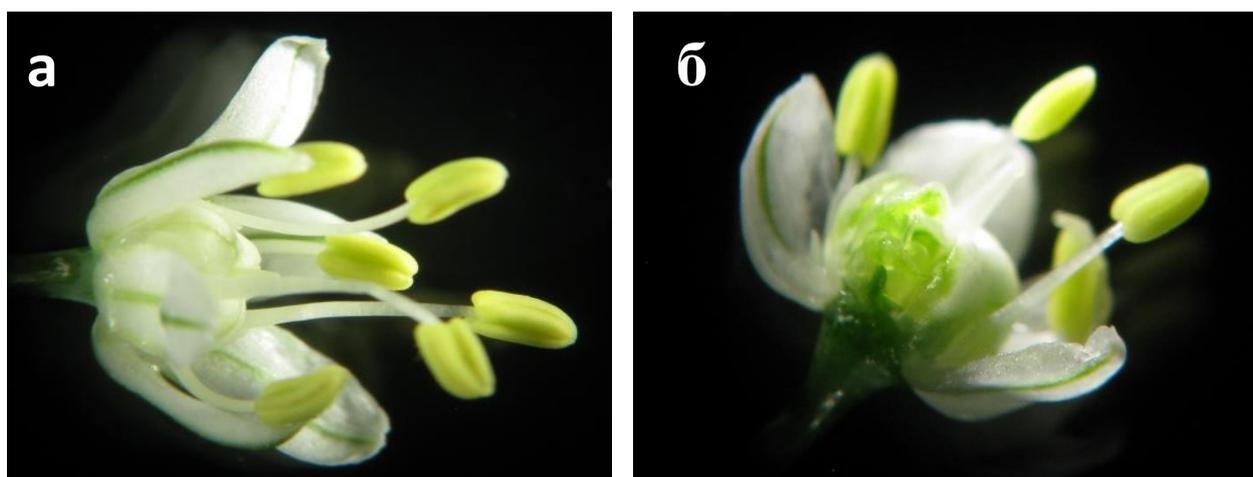


Рисунок 14 – Сравнительный анализ цветков под биноклем: а) *Allium sera*; б) *A. pskemense* x *A. sera* (BC4)

На рисунке 14 и 15 представлены фотографии цветков и соцветия растения беккросного потомства *A. pskemense* x *A. sera* (BC4), которые после момента

раскрытия бутона постепенно усыхали и не образовывали фертильные пыльцевые зерна (рис. 16).



Рисунок 15. Соцветие растения из четвертого беккросного потомства *A. pskemense* x *A. cepa* (BC4)

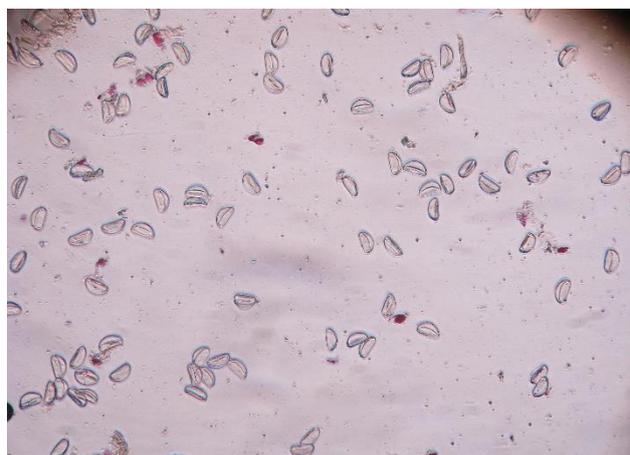


Рисунок 16 - Фотографии ацетокарминовых препаратов пыльцы под микроскопом, увеличение 20X

Примечание: 1 – пыльцевые зерна растения из четвертого беккросного потомства *A. pskemense* x *A. cepa* (BC4), 2 – пыльцевые зерна лука репчатого линии (Бн1 x 136). По результатам ацетокарминового окрашивания пыльцы растения из

четвертого беккроссного потомства от скрещивания *A. pskemense* x ((Бн1 x 136)(BC4)) формировали щуплые и неокрашенные пыльцевые зерна, что свидетельствует о стерильности пыльцы, у растения *A. cepa* (Бн1 x 136) пыльцевые зерна ярко окрашенные. Растения четвертого беккроссного потомства фенотипически проявляли уже признаки идентичные луку репчатому и формировали плотную одиночную луковицу, способную к длительному хранению (рис. 17).



Рисунок 17 - Луковицы пятого беккроссного потомства BC4 x [(St x (Бн1 x 136))]

Таким образом, в результате проведенной гибридизации 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))], формировались луковицы со средней массой 94 г., имеющие 2-3 сухих кроющих чешуй, с содержанием сухих растворимых веществ 11,4 °Вх.

Стерильное потомство BC4 x [(St x Бн1 x 136)], будет использовано для создания стерильных аналогов лучших инбредных линий, отличающихся наличием

генетической устойчивостью к заболеваниям (пероноспороз, альтернариоз, розовая гниль корней) и высокой комбинационной способностью по средней массе луковицы, содержанию сухих веществ, скороспелости, окраске луковиц и другим важным признакам.

### 3.2 Молекулярно-генетический скрининг типов цитоплазмы генетической коллекции рода *Allium*

Для изучения различных типов стерилизующей цитоплазмы из коллекции Селекционной станции им. Н.Н. Тимофеева были отобраны стерильные формы, полученные от насыщающих скрещиваний: *A. pskemense* x *A. cepa* (BC4), *A. galanthum* x *A. cepa* (BC2).

Для подтверждения наличия отличающихся от лука репчатого, типов стерилизующей цитоплазмы гибридизацию стерильных форм луков *A. pskemense* и *A. galanthum* проводили с линиями восстановителями фертильности с генотипом *NMsMs* для цитоплазм S и R лука репчатого. Однако полученные гибридные потомства от отдаленных скрещиваний проявляли мужскую стерильность во всех беккроссах, что было подтверждено с помощью ацетокарминового метода окрашивания тычинок и пыльцы (рис. 16).

Для молекулярно-генетического изучения типов стерильности был проведен ПЦР-анализ с молекулярными маркерами 5`cob:orfA501, дифференцирующими три типа цитоплазмы лука репчатого N, S, T (рис. 18).

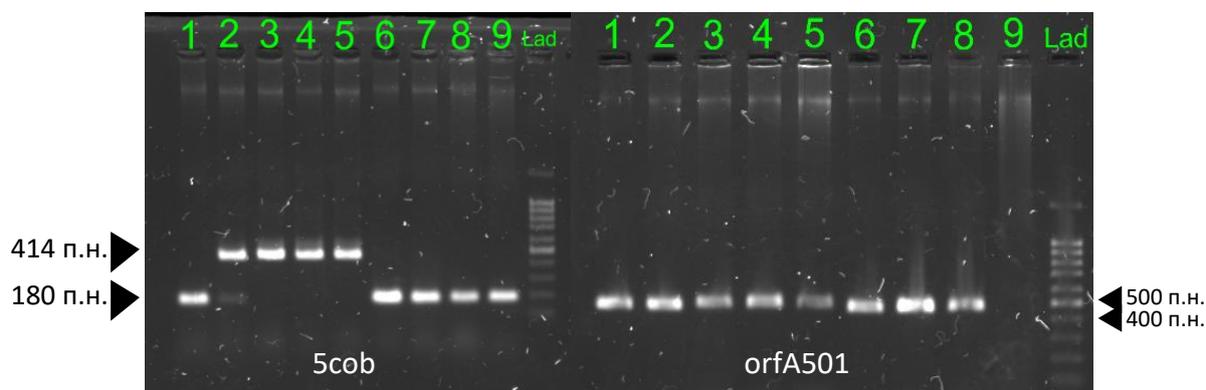


Рисунок 18 - Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярными маркерами 5`cob:orfA501, дифференцирующими тип цитоплазмы у лука репчатого (N, S, T)

Примечание: система молекулярных маркеров 5`cob;orfA501: 1-линия лука репчатого восстановитель фертильности (N), 2-линия лука репчатого с S-цитотипом цитоплазмы, 3, 4, 5- BC3 от отдаленного скрещивания *A. galanthum* x *A. cepa*, 6, 7 – BC4 от отдаленного скрещивания *A. pskemense* x *A. cepa*, 8- линия лука репчатого с T-цитотипом цитоплазмы, 9 – линия лука репчатого закрепитель стерильности с N-цитотипом цитоплазмы, Lad – маркер длин фрагментов с шагом в 100 п.н.

По результатам проведенного ПЦР-анализа с системой 5`cob:orfA501 (Engelke T., 2003) , дифференцирующей типы цитоплазм у лука репчатого было установлено, что образцы беккроссного потомства *A. galanthum* x *cepa* образуют фрагменты: с маркером 5`cob размером 414 п.н., с маркером *orfA501* размером 473 п.н., что указывает на цитоплазму подобную S-цитотипу. 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.

Однако 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 *NMsMs* для типов цитоплазм T и S, но потомство от скрещивания оказалось полностью стерильным. Автор Bal S. указывает на тесную связь цитотипа CMS-S с *Allium roylei* и *Allium galanthum*, что предполагает, что цитотип CMS-S имеет аллоплазматическое происхождение, а *Allium dictyoprasum* и *Allium vavilovii* являются близкими родственниками цитотипам N- и CMS-T у лука репчатого (Bal S., 2023).

Полученные данные указывают на различные от *A. cepa* типы стерилизующей цитоплазмы у *A. galanthum* и *A. pskemense*, и предполагают проведение дальнейших исследований с целью создания новых молекулярных маркерных систем для их дифференциации.

## Апробация молекулярных маркеров на тип цитоплазмы Gal-CMS гибридных и беккросных популяций

Автором М.Ж. Havey в 2023 году были опубликованы молекулярные маркеры, основанные на однонуклеотидном полиморфизме хлоропластного ДНК, которые в исследовании позволяли дифференцировать тип цитоплазмы Gal-CMS от типов цитоплазмы лука репчатого N, S, R, T после обработки полученных в результате ПЦР ампликонов ферментом рестрикции *EcoRI*. Праймеры использованные в работе обладали нуклеотидной последовательностью: Gal-CMS\_F: 5'-GTAGCTACCGAGATAAATGCAGTTA и Gal-CMS\_R: 5'-CAACCATCAGAAGAAGCAAATACAA. По данным автора в результате проведенной амплификации, вне зависимости от типа цитоплазмы образцов (Gal-CMS, N, R, S, T) образуется фрагмент размером 934 п.н., который при расщеплении *Eco RI* дает фрагменты размером 317 п.н. и 617 п.н. соответствующие типу цитоплазмы Gal-CMS, хлоропластные ампликоны из цитоплазмы лука репчатого N, R-CMS, S-CMS и T-CMS при этом не расщепляются.

Нами проведена апробация молекулярного маркера с праймерами Gal-CMS\_F и Gal-CMS\_R с использованием образцов из селекционной коллекции F1-гибридных потомств, полученных от скрещиваний *Allium galanthum* с *Allium cepa*, образцов первого беккросного потомства (BC1), стерильного образца *Allium galanthum*, в сравнении с образцами лука репчатого с N-цитоплазмой и R-цитоплазмой. Состав реакционной смеси и протокол амплификации был использован в соответствии с литературным источником. Результаты апробации молекулярного маркера представлены на рисунке 19.

В результате проведенной ПЦР-амплификации, у всех использованных в работе образцов образовывались фрагменты, не соответствующие размерам фрагментов, указанным в статье, как для растений с Gal-CMS типом цитоплазмы, так и для R и N типов цитоплазмы лука репчатого. Также не было обнаружено уникального сайта рестрикции для Gal-CMS у образцов *A. galanthum* x *A. cepa* (линия АВГ), BC1 *A. galanthum* x *A. cepa* (линия АВГ), стерильного растения *A. galanthum*.

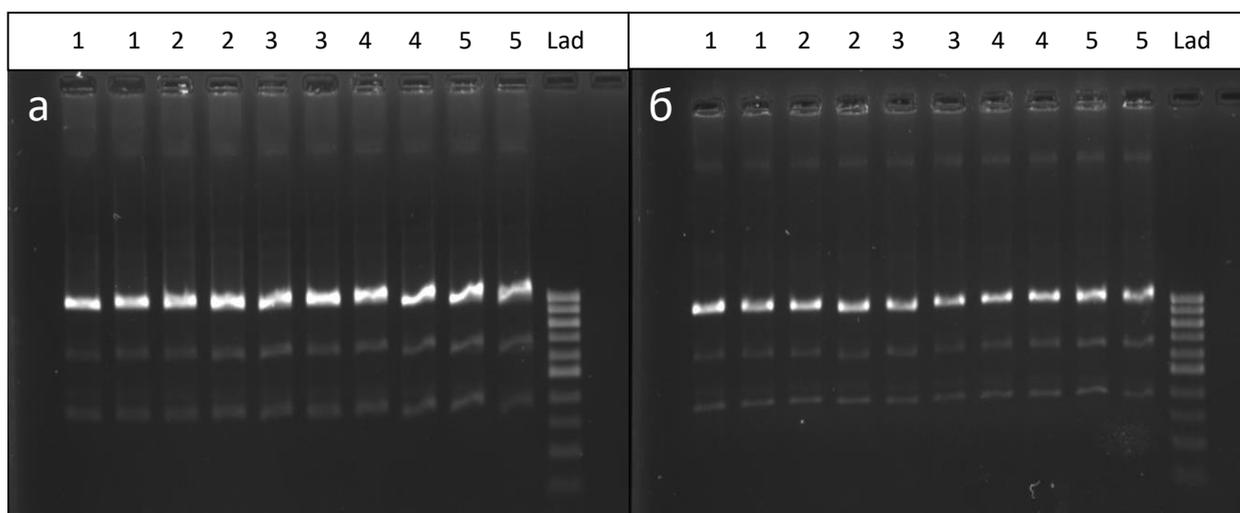


Рисунок 19 - Электрофореграмма продуктов амплификации с праймерами Gal-CMS\_F и Gal-CMS\_R

Примечание: а) дорожки под номером 1 – гибридная комбинация первого поколения *Allium galanthum* x *Allium cera* (линия АВГ), 2 – BC1 *A. galanthum* x *A. cera* (линия АВГ), 3 – стерильный образец *Allium galanthum*, 4 – лук репчатый с R-типом цитоплазмы (линия МсБн1), 5 – лук репчатый с N-типом цитоплазмы (линия ЗС1), б) электрофореграмма продуктов амплификации после обработки ферментом рестрикции Eco RI, с тем порядком образцов как на рисунке а.

Вместе с тем М. J. Havey указывает, что только у 10% стерильных растений с цитоплазмой Gal, наблюдается наличие однонуклеотидного полиморфизма в хлоропластном геноме, позволяющий провести идентификацию стерильной цитоплазмы Gal. Исходя из этого, воспроизводимость этого молекулярного маркера в наших популяциях проблематична (Havey M. J., 2024).

### **3.3 Создание линий закрепителей стерильности с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе с использованием маркер-опосредованного отбора**

Применение классических методов селекции для создания закрепителя стерильности лука репчатого с устойчивостью к пероноспорозу предполагает сложную и трудоемкую генетико-селекционную схему с большим количеством анализирующих скрещиваний, с использованием оценки устойчивости к пероноспорозу на искусственном инфекционном фоне в вегетативной стадии и анализом фертильности/стерильности в генеративной стадии развития. В связи с

тем, что устойчивость контролируется доминантным геном для дифференциации доминантной гомозиготы и гетерозиготы необходимо два поколения при оценке на инфекционном фоне. Следует учесть, что оценку стерильности/фертильности необходимо проводить в защищенном грунте в свободных от насекомых-опылителей условиях, а самоопыление – с использованием индивидуальных изоляторов. Такая работа требует больших затрат средств, труда и времени.

С целью защиты от несанкционированного размножения F1 гибридов и получения устойчивого к пероноспорозу F2-потомства, как правило в гибридах ген устойчивости используют в гетерозиготном состоянии. Таким образом, при самоопылении в F2 четверть растений будут восприимчивыми. При этом у селекционеров возникает дилемма, какая из родительских линий должна быть гомозиготой по гену устойчивости. Учитывая, что поражение цветочных стрелок ведет к резкому снижению семенной продуктивности и ухудшает посевные качества семян, по нашему мнению, лучшим вариантом будет использование устойчивой стерильной материнской линии. Вместе с тем такой подход требует более длительной селекционной программы, которая начинается с создания устойчивых закрепителей стерильности.

Создание закрепителя стерильности при ядерно-цитоплазматической мужской стерильности требует передачи рецессивного аллеля *ms* с цитоплазмой S- и T-типа в растение с нормальной N-цитоплазмой для чего необходима гибридизация, инбридинг и серия анализирующих скрещиваний. В нашей работе мы использовали созданные в предыдущие годы линии закрепители стерильности восприимчивые к пероноспорозу (Эйдлин Я.Т., 2021).

В 2018 году провели гибридизацию инбредной линии закрепителя стерильности Бн1-(13) (генотип – ЦитN *msmspd1pd1*) с линией 136 (генотип – цитТ *MsMsPd1Pd1*), содержащей доминантные аллели гена устойчивости *Pd1* в гомозиготном состоянии. Полученное потомство было гетерозиготным как по гену устойчивости *Pd1*, так и по гену мужской стерильности *Ms*. Для отбора генотипов, сочетающих гомозиготность по аллелям устойчивости *Pd1Pd1* и аллелям закрепления стерильности *msms*, в 2019 году провели самоопыление растений

первого гибридного потомства и создали сегрегирующую по двум генам *Ms* и *Pd1* популяцию F2. В 2020 году растения F2-популяции оценили на искусственном инфекционном фоне на устойчивость к пероноспорозу и провели отбор ЦитN *msmsPd1Pd1* - генотипов с применением молекулярно-генетического анализа по маркерам целевых генов.

Генетико-селекционная схема создания линии, закрепителя стерильности, гомозиготы по гену устойчивости к пероноспорозу с применением маркер-опосредованного отбора представлена на рисунке 20.

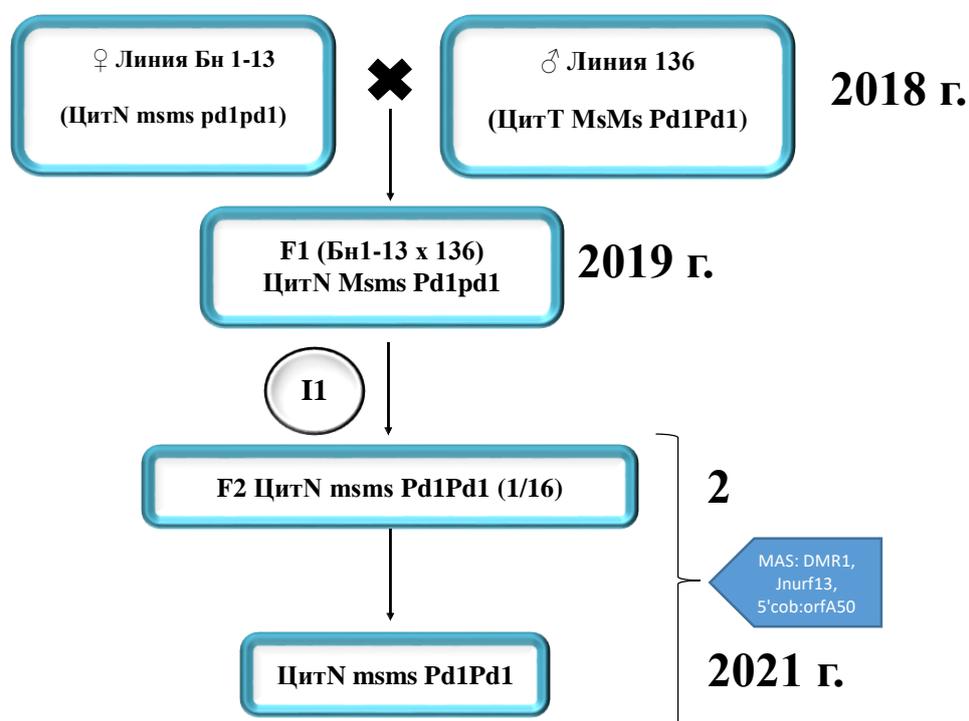


Рисунок 20 - Схема создания линий закрепителей стерильности (ЦитN *msms*), с генетической устойчивостью к пероноспорозу, контролируемой геном *Pd1* с помощью молекулярных маркеров

Примечание: ♀ – материнская линия, ♂ – отцовская линия, x – гибридизация, F1 – первое гибридное потомство, F2 – второе гибридное потомство от самоопыления F1, II – инбридинг, 1/16 – теоретическая доля целевых генотипов в потомстве F2.

Инокуляция растений суспензией спор *P. destructor* привела к 100%-му поражению пероноспорозом зарубежных гибридов (F1 Mondella, F1 Birdy, F1

Sonoma), что свидетельствует об эффективности инокуляции и выровненности искусственного инфекционного фона (табл. 6).

Таблица 6 – Результаты фенотипической оценки устойчивости/восприимчивости различных популяций на искусственном инфекционном фоне с патогеном *Peronospora destructor*, Москва 2020 год

Наименование	Тип популяции	Всего растений, шт.	Кол-во устойчивых растений (R), шт.	Кол-во восприимчивых растений (S), шт.
<b>(McБн(11) × 163)9</b>	F2	34	1	33
<b>(Бн1(13) × 136)1</b>	F2	19	1	18
<b>(Бн1(11) × 136)1</b>	F2	20	1	19
<b>(Бн1(11) × 136)3</b>	F2	23	1	22
<b>(McБн1(11) × 163)2</b>	F2	36	2	34
<b>(McМэл× Вал1-1)1-1</b>	F2	10	8	2
<b>(Бн1(13) × 136)2</b>	F2	12	7	5
<b>(Байрам× Вал1-8)3</b>	F2	3	2	1
<b>Вал1-8</b>	Линия	12	12	0
<b>McБн1 x 163</b>	F1	60	60	0
<b>McБн1 x 155</b>	F1	10	10	0
<b>F1 Birdy</b>	F1	31	0	31
<b>F1 Mondella</b>	F1	26	0	26
<b>F1 Sonoma</b>	F1	35	0	35
<b>F1 Orlando</b>	F1	30	0	35

Гибридные комбинации McБн1 x 163, McБн1 x Вал1-8, McБн1 x 136 и линия Вал1-8 проявили полную устойчивость, расщепление по устойчивости/восприимчивости к пероноспорозу отсутствовало, что

свидетельствует о гомозиготном состоянии гена устойчивости *Pdl* родительских линий 163, 136 и Вал1-8 (табл. 6). Анализ устойчивости (R), восприимчивости (S) в расщепляющихся популяциях F2 (McБн1(11) x 163)2, (McБн1(11) x 163)9, (Бн1(13) x 136)1, (Бн1(11) x 136)1, (Бн1(11) x 136)3 выявил меньшее число устойчивых растений, чем теоретически ожидаемое число при моногенном доминантном контроле устойчивости к пероноспорозу (3R : 1S) (Табл. 6). Отклонение расщепления от ожидаемого, вероятно, связано с избирательностью оплодотворения, снижающего долю формирующихся доминантных по гену *Pdl* гомозигот или с наличием киллерного гена, сцепленного с *Pdl*.

Все отобранные устойчивые к пероноспорозу растения расщепляющихся популяций были заложены на хранение и яровизирующую обработку при +4°C. Весной 2021 года растения высадили в наполненные торфяным субстратом горшки объемом 3 л. и размещены для культивирования в поликарбонатной теплице.

После отрастания молодых листьев из луковиц был проведен маркер-опосредованный отбор на определение состояния гена *Pdl* (рис. 21)

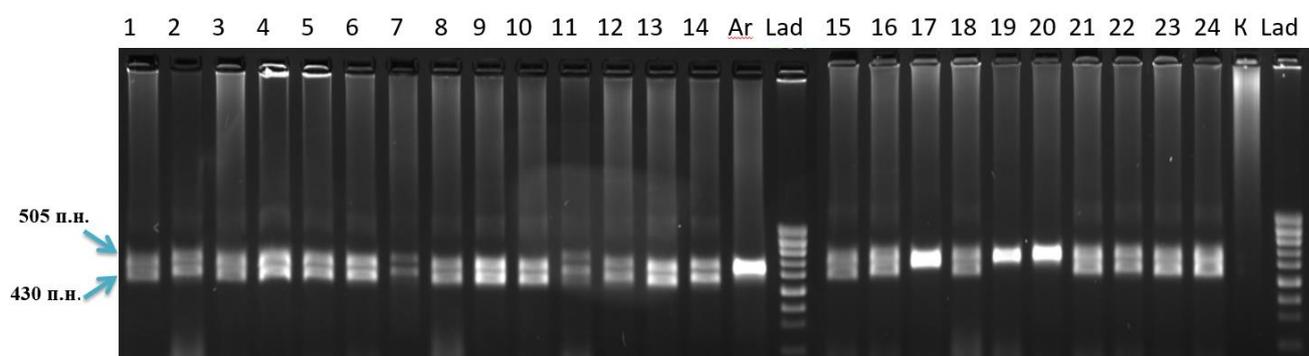


Рисунок 21 – Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярным маркером DMR1 устойчивых растений, отобранных на инфекционном фоне.

Примечание: 1-3 – F1 McБн1 x 136, 4 – (Байрам x Вал1-8)3, 5-6 – F1 McБн x Вал1-8, 7-8 - (McМэл x Вал 1-1)1, 9-15 – F1 McБн1-1 x 163, 16-19 - (Бн 1(13) × 136)2, 20 – Вал1-8К3, 21- (Бн1(11) x 136)1, 22 – (McБн1-(11) x 163)2, 23 – (McБн1-(11) x 163)9, 24 – (Бн 1-(13) × 136)2, Ar – *A. roylei* (R), положительный контроль, K – H<sub>2</sub>O, отрицательный контроль, Lad – маркер длин ДНК-фрагментов, 100 п.н.

По результатам молекулярно-генетического анализа растений по маркеру DMR1 гена устойчивости *Pdl* установлено, что только 2 устойчивых растения,

отобранных на искусственном инфекционном фоне из потомств F2, содержали доминантный аллель *Pd1* в гомозиготном состоянии. Один фрагмент ДНК на электрофореграмме размером 505 п.н. свидетельствует о гомозиготности доминантного аллеля гена устойчивости *Pd1* – генотипы 17 и 19 из F2-популяции (Бн1-(13) x 136)2, и генотип 20, линия Вал1-8 (рис. 21). В качестве положительного контроля маркерной системы использовали растение *Allium roylei*, донор устойчивости к пероноспорозу, в дорожке которого на электрофореграмме присутствует один фрагмент 505 п.н. (*Pd1Pd1*). У всех остальных устойчивых растений наблюдалось два фрагмента 505 п.н. и 437 п.н., что свидетельствует о гетерозиготном состоянии аллелей гена устойчивости (*Pd1pd1*).

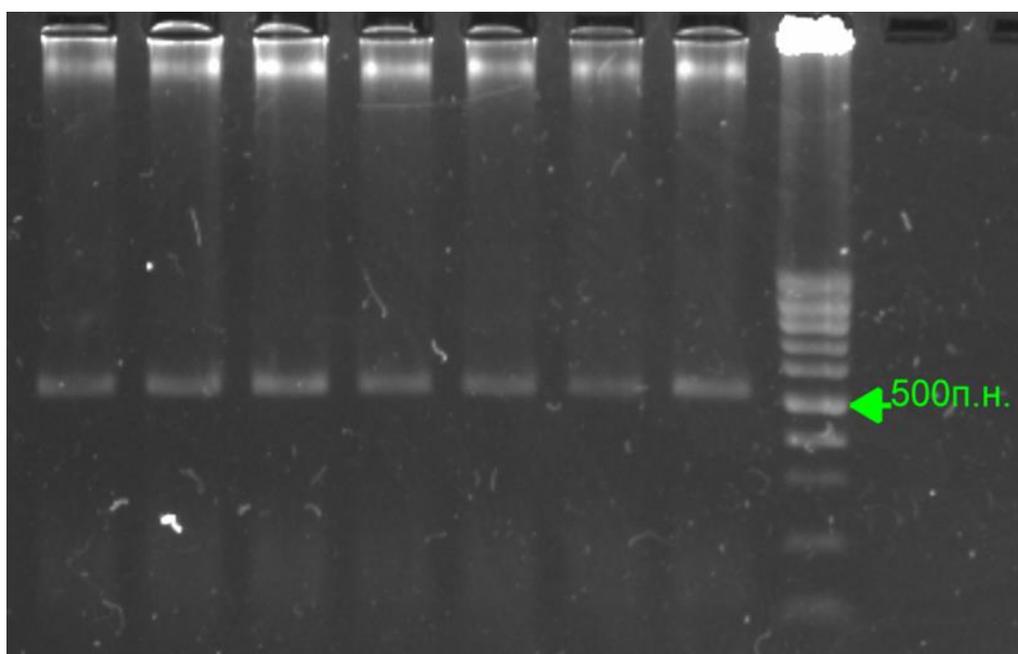


Рисунок 22 - Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярным маркером DMR1 отобранных устойчивых гомозиготных растений

Примечание: дорожки под номером 17, 19 - (Бн1-(13) x 136)2, 20 – образец линия Вал1-8, Ar – *A. roylei* (R), положительный контроль, Lad – маркер длин ДНК-фрагментов, 100 п.н.

Доминантное гомозиготное состояние гена устойчивости к пероноспорозу *Pd1* у выделенных растений подтвердили повторным ПЦР-анализом с молекулярным маркером DMR-1 (рис. 22).

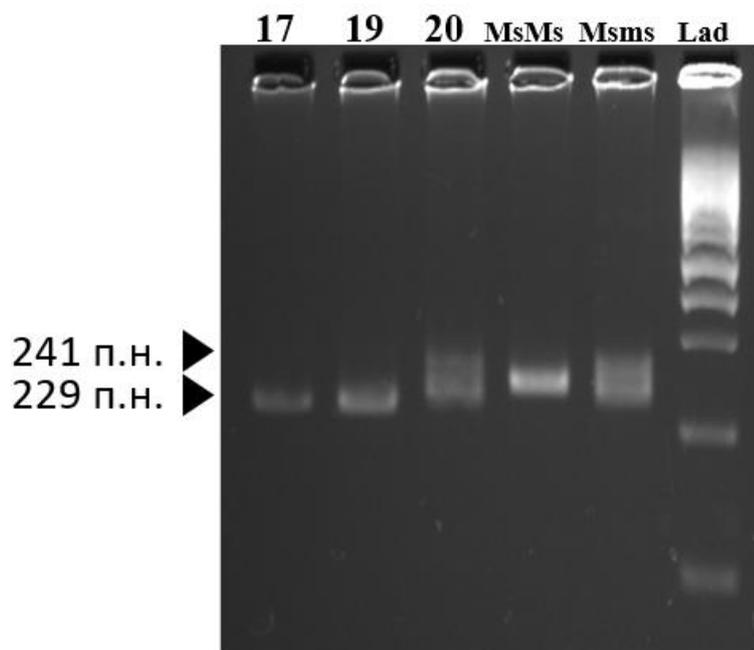


Рисунок 23 - Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярным маркером *Jnurfl3* отобранных устойчивых гомозиготных растений по гену *Pd1*

Молекулярно-генетическим анализом гена закрепления стерильности *ms* с использованием ДНК-маркера *Jnurfl3* выделенных гомозиготных (*Pd1Pd1*) по устойчивости растений из потомства (Бн1(13) x 136)2 (дорожки 17 и 19, рис. 21, 22) выявлено рецессивное гомозиготное состояние ядерных генов (*msms*), на что указывает наличие одного ДНК-фрагмента размером 229 п.н. (рис. 5). У *Pd1Pd1*-растения линии Вал1-8 (дорожка 20, рис. 21, 22.) выявлено гетерозиготное состояние ядерных генов (*Msms*), о чем свидетельствует проявление двух фрагментов размером 229 п.н. и 241 п.н. В качестве контроля использовали образцы с известным генотипом *MsMs* и *Msms* (рис. 23).

Молекулярно-генетическим анализом растений 17 и 19 и Вал1-8 (20) по типу цитоплазмы (N, S, T) с использованием системы маркеров 5'cob:orfA501 было установлено, что растения 17 и 19 из потомства (Бн1-(13) x 136)2 содержат N-цитоплазму (нормальная), а растение из потомства Вал1-8 (20) содержит T-цитоплазму (рис. 24).

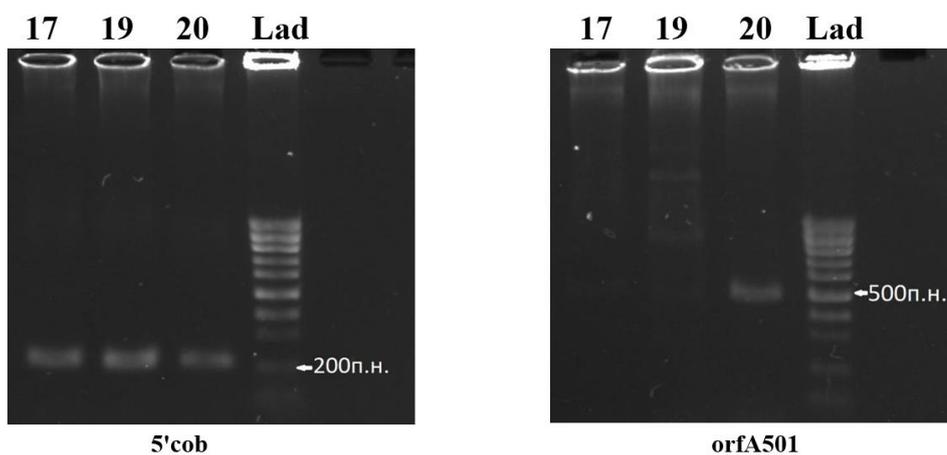


Рисунок 24 - Электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярной системой маркеров 5'cob:orfA501 отобранных растений с генотипом *msmsPd1Pd1*

Примечание: дорожка под номер 17,19 - (Бн1-(13) x 136)2, 20 – образец линия Вал1-8, Lad – маркер длин ДНК-фрагментов, 100 п.н.

В 2021 году было проведено самоопыление растения №17 из потомства (Бн1-(13)x136)2 и получено инбредное потомство (линия ЗС1), которое в 2022 году было вновь проверено с помощью молекулярных маркеров, где расщепления по гену устойчивости *Pd1* и ядерному гену *ms* не наблюдалось.

Аналогичной селекционной схемой в 2022 году были получены F2 расщепляющиеся потомства в скрещиваниях генотипов Шат, Экс и Бн1, так же взятыми в качестве материнского компонента для передачи цитоплазмы N и рецессивного локуса *ms* потомству с линиями 161, 136, устойчивыми к ложной мучнистой росе (*Pd1Pd1*).

Инфекционный фон не удалось создать ввиду очень сухой и жаркой погоды в период вегетации. Однако все растения из популяций были генотипированы с помощью молекулярного маркера DMR1 для идентификации и отбора доминантных гомозигот. Результаты молекулярно-генетического анализа расщепляющихся F2 потомств представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Результаты ПЦР-анализа растений из расщепляющихся потомств F2 на аллельное состояние гена *Pd1* с молекулярным маркером DMR1, Москва 2022 год

Селекционный номер F2 потомства	Всего растений, шт.	<i>Pd1pd1</i> , шт.	<i>pd1pd1</i> , шт.	<i>Pd1Pd1</i> , шт.
(Бн1 x 136)2	48	30	18	0
(Экс x 136)6	92	51	30	11
(Бн1 x 136)1	48	21	27	0
(Шат12 x 161)1	5	0	5	0
(Шат12 x 136)2	13	5	8	0
(Шат12 x 136)3	11	1	10	0
(Шат12 x 136)4	16	3	13	0

Во всех F2 потомствах наблюдалось сильное отклонение от теоретически ожидаемого расщепления 1:2:1. Только в одной популяции (Экс x 136)6 было выделено 11 растений с гомозиготным доминантным аллельным состоянием гена *Pd1* ( $\chi^2 = 2,13$ ), их доля составила только 12% при ожидаемых 25%. В 6 расщепляющихся потомствах доминантных гомозигот не обнаружено, а доля гетерозигот варьировала от 0% в потомстве (Шат12 x 161)1 до 62,5% в потомстве (Бн1 x 136)2.

Отобранные растения с гомозиготным доминантным состоянием гена *Pd1* из потомства (Экс x 136)6 были генотипированы на аллельное состояние локуса *ms*, для поиска генотипов закрепителей стерильности *NmsmsPd1Pd1*. Результаты генотипирования - 10 из 11 растений с геном устойчивости в гомозиготном доминантном состоянии (*Pd1Pd1*), с молекулярным маркером *Jnurf13* представлены на рисунке 25.

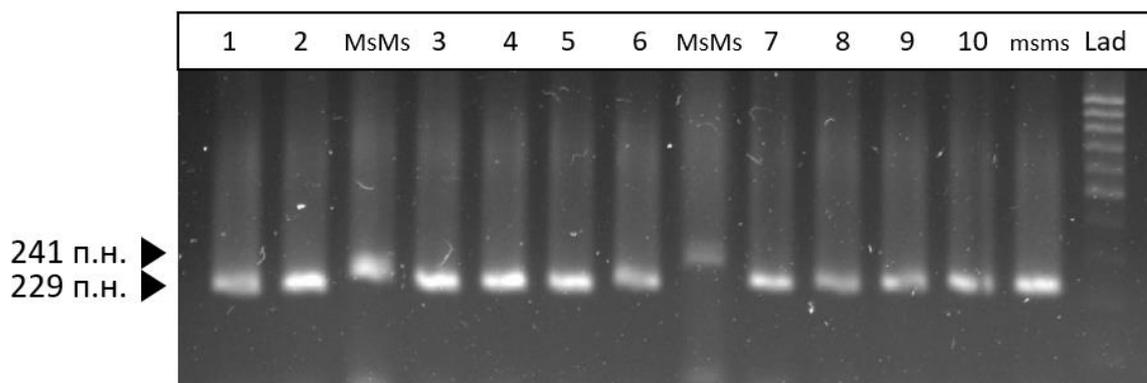


Рисунок 25 – Электрофореграмма гомозиготных по *Pdl* гену растений из популяции (Экзх136)6 с молекулярным маркером на локус *ms*

Примечание: 1-10 – устойчивые к ложной мучнистой росе образцы из расщепляющейся популяции F2 (Экзх136)6, *msms/MsMs* – образцы с известным генотипом закрепителя/восстановителя стерильности/фертильности, взятые в качестве стандартов образуемых фрагментов, Lad – маркер длин фрагментов ДНК с шагом 100 п.н.

Все генотипированные растения из популяции F2 (Экз х 136)6 образуют один фрагмент размером 229 п.н., что указывает на рецессивное гомозиготное аллельное состояние локуса *ms*. Выделенные растения по достижении стадии цветения были самоопылены для создания линии закрепителя стерильности (линия ЗСЭкс1), а также получены потомства от скрещивания со стерильной линией МсЭкс х (Экс х 136).

### 3.4 Создание стерильных линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе

При селекции и семеноводстве F1-гибридов лука репчатого на основе ЦМС возникает вопрос, кто из родительских линий должен обладать генетической устойчивостью к заболеваниям. Мы считаем, что при трехлинейной схеме семеноводства на основе ЦМС, необходимо создание устойчивой материнской линии (ЦМС) и закрепителя стерильности с гомозиготным аллельным состоянием гена *Pdl*. Для эффективной защиты авторских прав в качестве отцовского компонента, нужно использовать любую инбредную линию (как восприимчивую,

так и устойчивую), но с генотипом закрепителя стерильности (*msms*). Так как устойчивость контролируется доминантным *Pd1* геном, все растения F1-гибрида будут являться гетерозиготами (*Pd1pd1*) и обладать устойчивостью к пероноспорозу при этом, они будут стерильными, что не позволит получать F2-поколение.

С целью создания стерильного аналога устойчивых линий для генотипов закрепителей стерильности (ЗС1 и ЗСЭкс1), провели гибридизацию стерильных растений выделенных из популяции [МсБн1-2 x (Бн1-13x136)]1 и [МсЭкс x (Экс x 136)]2, обладающих устойчивостью к пероноспорозу, созданными закрепителями стерильности (*NmsmsPd1Pd1*), взятыми в качестве доноров гена устойчивости к пероноспорозу, с параллельным проведением отбора по хозяйственно ценным признакам и молекулярным генотипированием с использованием молекулярных маркеров DMR1 и Jnurf13 (рис. 26).

Для проведения следующего насыщающего скрещивания в стерильном аналоге отбирали луковицы идентичные фенотипически отцовскому компоненту – закрепителю стерильности.

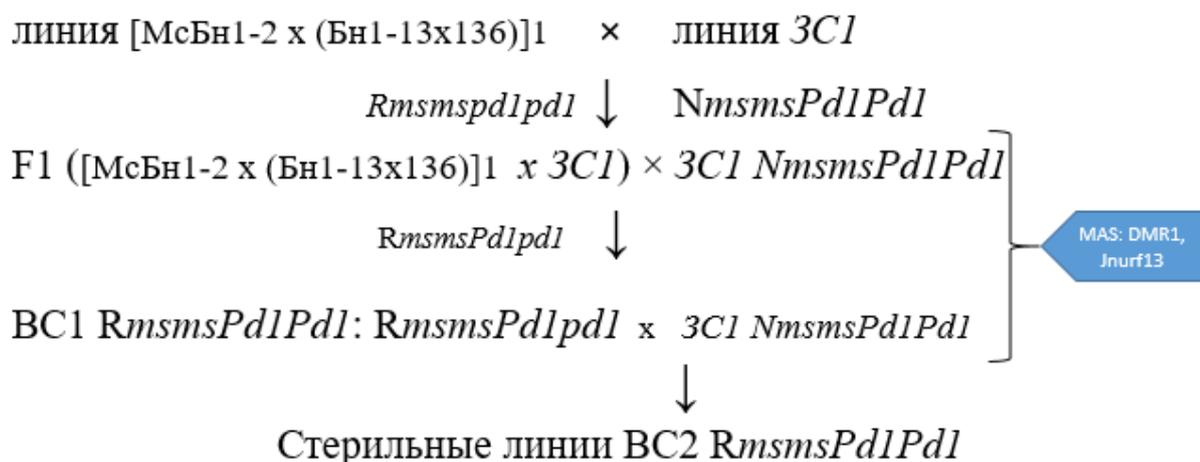


Рисунок 26 - Генетико-селекционная схема создания стерильных линий с устойчивостью к ложной мучнистой росе

В F1 гибридных потомствах от скрещивания стерильных растений из популяций [МсБн1-2 x (Бн1-13x136)]1 и [МсЭкс x (Экс x 136)]2 с линиями закрепителями стерильности ЗС1, ЗСЭкс1 проводили отбор на искусственном

инфекционном фоне с патогеном *Peronospora destructor*. Начиная с первого беккроссного потомства, помимо отбора на инфекционном фоне, проводили маркер-опосредованную селекцию с использованием молекулярных маркеров для дифференциации аллельного состояния ядерных генов *Pd1* и *ms* в гомозиготном состоянии, где расщепление по устойчивости было 1:1 (*Pd1Pd1* : *pd1pd1*) и последующего отбора доминантных гомозигот (Рис. 27). После проведения второго насыщающего скрещивания сбор семян осуществляли с каждого растения отдельно, для дальнейшей оценки в условиях открытого грунта.

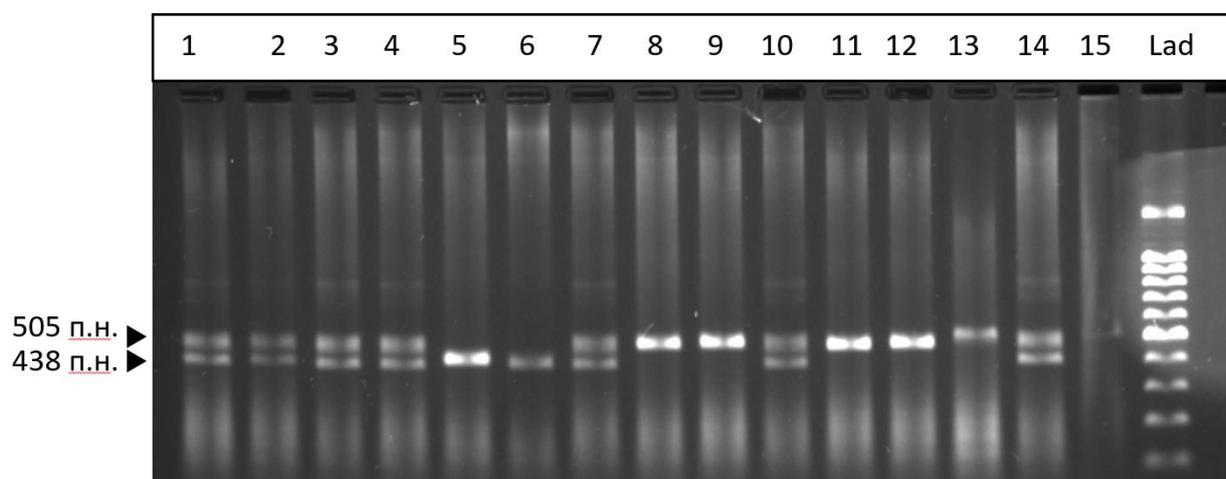


Рисунок 27 - Гель-электрофореграмма продуктов амплификации с молекулярным маркером DMR1 первого беккроссного потомства (McБн1 x ЗС1) x ЗС1

Примечание: образцы под номерами 1-4 - F1 гибридное потомство [McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1 x ЗС1, 5-6 - восприимчивая стерильная линия McБн1, 7-14 - растения ВС1 [McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1 x ЗС1, где 8, 9, 11, 12 – доминантные гомозиготы по гену *Pd1*(*Pd1Pd1*), 7, 10, 14 - гетерозиготы (*Pd1pd1*), Lad – ДНК маркер фрагментов с шагом 100 п.н.

В результате гибридизации стерильных растений из потомств [McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1 и [McЭкс x (Экс x 136)]2 и линий закрепителей стерильности ЗС1 и ЗСЭкс1 с геном устойчивости *Pd1* в гомозиготном доминантном состоянии и дальнейшего насыщающего скрещивания, были созданы линии, стерильные аналоги, с устойчивостью к ложной мучнистой росе с генотипом *RmsmsPd1Pd1*.

### 3.5 Поиск доноров генетической устойчивости к альтернариозу лука репчатого с использованием молекулярных маркеров

Зарубежными исследователями Chand S. K. и др. (2018) было установлено, что сорт Arka Kalyan обладает моногенной доминантной устойчивостью к заболеванию, ими же, были созданы кодоминантные молекулярные маркеры, дифференцирующие аллельное состояние гена *ApRI*, которые были использованы нами в дальнейшей работе.

ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева» были предоставлены образцы лука репчатого генетически устойчивого к патогену *Alternaria porri* индийского сорта Arka Kalyan, которые были высажены в условиях открытого грунта с высокой инфекционной нагрузкой грибных фитопатогенов лука репчатого.



Рисунок 28 - Растение сорта Arka Kalyan с симптомами поражения ложной мучнистой росой.

Результаты фенотипической оценки устойчивости к альтернариозу и пероноспорозу растений на естественном (альтернариоз) и искусственном инфекционном фоне (пероноспороз) отражены в таблице 8. Анализировали по 48 растений каждой популяции, однако сорт Arka Kalyan является луком короткого

дня, из-за чего большая часть потомства остановилась в росте в фазе 3-4 настоящих листьев, без симптомов поражения альтернариозом.

Таблица 8. Результаты фенотипической оценки селекционных популяций на инфекционных фонах в условиях Московского региона, 2024

<b>Наименование образца</b>	<b>Общее число растений, шт</b>	<b>Пораженных альтернариозом, шт</b>	<b>Распространенность болезни, %</b>	<b>Пораженных ложной мучнистой росой, шт</b>	<b>Распространенность болезни, %</b>
<b>Arka Kalyan</b>	48	0	0	12	25
<b>F1 McBn1 x 163</b>	48	11	22,9	0	0
<b>F1 McBn1 x 3C1</b>	48	5	10,4	0	0
<b>Линия 163-21</b>	48	14	0,29	0	0

Примечание: Распространённость болезни (частота встречаемости, %) вычисляли по формуле:  $P=n/N \times 100\%$ , где P- распространенность, N- общее число растений в популяции, n- количество растений с симптомами альтернариоза.

После проведения фенотипической оценки на устойчивость к альтернариозу лука в условиях Московского региона было выявлено, что растения зарубежного сорта Arka Kalyan были поражены ложной мучнистой росой, однако все оцениваемые растения проявили устойчивость к альтернариозу (рис. 28). 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. В практике поражение альтернариозом наблюдается как вторичное заболевание после поражения ложной мучнистой росой.

Для дальнейшего использования в селекционном процессе растений сорта Arka Kalyan, в качестве донора устойчивости к альтернариозу, был проведен молекулярно-генетический анализ растений с молекулярным маркером AcSSR7 на

аллельное состояние гена *ApR1*, с последующим отбором доминантных гомозигот по гену устойчивости. Результаты представлены на рисунке 29.

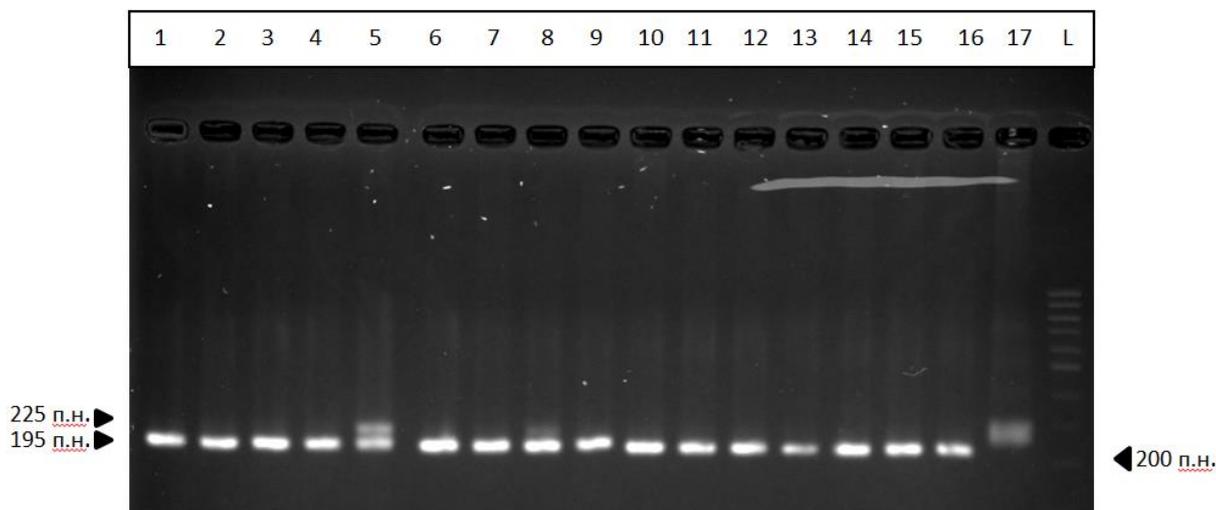


Рисунок 29 - Результаты ПЦР-анализа с молекулярным маркером AcSSR7 на ген устойчивости к альтернариозу *ApR1* сорта Arka Kalyan и образца из линии 163-2

Примечание: дорожки под номерами 1-16 – растения сорта Arka Kalyan, 17 – растение 21 инбредной линии 163, L – ДНК-маркер с шагом 100 п.н.

По результатам генетического анализа с молекулярным маркером AcSSR7 сортовой популяции Arka Kalyan было установлено, что 14 растений из 16 образуют фрагмент размером 195 п.н., что свидетельствует о наличии доминантного аллеля гена устойчивости *ApR1* в гомозиготном состоянии, у 2-х растений (дорожки под номерами 5 и 8) имеется два фрагмента, что свидетельствует о гетерозиготном состоянии гена устойчивости у этих растений (*ApR1apr1*). Наличие гетерозигот типично для сортовых популяций лука репчатого.

В 2023 году в посадках устойчивой к пероноспорозу линии 163 наблюдалось сильное поражение стрелок альтернариозом. Из 210 растений линии только 3 растения проявили полное отсутствие симптомов поражения альтернариозом. Тотальное ДНК одного из них было использовано для генотипирования при постановке ПЦР-анализа (дорожка 17 рис. 29; рис. 30). Результаты анализа с молекулярным маркером AcSSR7 устойчивого растения из инбредной линии 163,

показали наличие одного фрагмента размером 225 п.н., что свидетельствует об отсутствии доминантного аллеля устойчивости *ApR1* (рис. 30, дорожка 17).

Это отсутствие маркера на наличие гена устойчивости *ApR1*, указывает на иной генетический контроль устойчивости к альтернариозу у растения 21 инбредной линии 163.



Рисунок 30 – Дифференциация растений инбредной линии 163 по реакции устойчивости/восприимчивости к альтернариозу в условиях естественного инфекционного фона в открытом грунте, Москва, 2023 г.

Примечание: а) растения линии 163-2 пораженные альтернариозом лука репчатого, б) отобранные растения линии 163-2 без проявления симптомов поражения альтернариозом.

Таким образом, в результате оценки на естественном инфекционном фоне генетически устойчивого сорта Arka Kalyan на устойчивость к альтернариозу лука репчатого в условиях Московского региона удалось подтвердить наличие полной устойчивости. С помощью молекулярно-генетического анализа были отобраны генотипы с гомозиготным доминантным аллельным состоянием гена *ApR1*, для их

гибридизации с линиями устойчивыми к пероноспорозу и толерантностью к розовой гнили корней.

### 3.6 Отбор исходного материала и создание селекционных популяций

Для создания выравненных по хозяйственно-ценным признакам инбредных линий проводили ежегодное самоопыление растений внутри каждой популяции в условиях защищенного грунта с опылением кисточкой каждого соцветия. Оценку по основным хозяйственно ценным признакам проводили визуально с последующим отбором внутри популяций. Результаты оценки средней массы луковиц инбредных линий представлены в таблице 9.

Таблица 9. Результаты оценки средней массы луковиц, полученных популяций после проведения инбридинга в период с 2020 по 2022 год

Селекционный номер линии	Средняя масса луковиц, г		
	2020 год	2021 год	2022 год
163	65,2	38,9	68,7
161	101	43,8	68,7
Вал1-8	98	67,4	50,1
143	65,2	-	-
155	57	45,4	67,4
Бн1	80,9	95,1	118,7
Экс	46,6	17,6	-
Юдж1-3	86,9	96,6	-
Бирди1	126,3	56,6	60,1
Шат	39,8	29,4	-
Р62-66	65,7	53,4	-
МсБн1	102,3	96,5	154,9
МсШат	35,5	34,6	-
МсРб	52,6	41,5	-
НСР <sub>05</sub>	18,18	17,89	13,6

В результате оценки средней массы луковиц полученных от самоопыления инбредных линий, было установлено, что ежегодно наблюдалось снижение массы луковиц вследствие проявления инбредной депрессии. Однако изученные генотипы реагировали по-разному. У некоторых линий, в результате отбора из потомства более крупных 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. Например, у инбредной линии Вал1-8 средняя масса луковицы в 2020 году составляла 98 г., в 2021 - 67,4 г., то в 2022 году уже 50,1 г. Наиболее впечатляющая инбредная депрессия наблюдалась у линии Бирди1 средняя масса в 2022 году снизилась в 2,1 раза.

Таким образом в результате проведения принудительного самоопыления растений и отбора по хозяйственно ценным признакам в потомстве, были созданы выровненные инбредные линии лука репчатого, обладающие высокой средней массой луковиц Бн1 (118,7 г.), Юдж1-3 (96,6 г.), линия, обладающая белой окраской сухих и сочных чешуй Юдж1-3, инбредная линия обладающие красной окраской сухих и сочных чешуй эллиптической формы Р62-66 со средней массой 53,4 г.

У инбредных линий 163, 161, 155, Вал1-8 обладающих моногенной генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе, формировались средние по размерам луковицы с массой от 50,1 у линии Вал1-8 до 68,7 у линий 163 и 161.

Для создания генотипов на основе ЦМС системы и устойчивости к ложной мучнистой росе проводили гибридизацию образцов инбредных линий различных генотипов для получения F1-гибридных популяций, и дальнейшее самоопыление растений для получения F2 расщепляющихся популяций по целевым генам, где в потомствах отбирали растения, имеющие средние и крупные луковицы (более 70 г.), результаты представлены в таблицах 10-12.

Таблица 10. Результаты оценки средней массы луковиц у F2 расщепляющихся популяций в 2020 году

Селекционный номер F2 потомства	2020 г.
	средняя масса луковиц, г.
(McMэл x Вал1-1)1	119,5
[McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1	201,6
(Р62 x 136)1	139,3
(Mc97 x Лф1)4	92

Продолжение таблицы 10

Селекционный номер F2 потомства	2020 г.
	средняя масса луковиц, г.
(Mc98 x Лф1)1	119
(Mc254 x Лф1)1	105,7
(Mc257 x Лф1)4	76,3
(Mc98 x Лф1)3	95,8
(Mc130 x Юдж1-3)3	27,8
(Mc98 x Лф1)2	128
(Mc257 x Ялт2-3)1	49,2
(Mc130 x Юдж)1	161,1
(Бн1-13 x 136)2	78,4
(Mc98 x Лф1)2	79
(Mc135 x Ялт2-3)2	58,5
(Бн1-13 x 136)1	70,1
(McБн1(11) x 163)9	101
НСР <sub>05</sub>	20,64

Анализ средней массы луковицы F2 расщепляющихся по устойчивости к пероноспорозу популяций, показывает, что средняя масса варьировала в 2020 году в пределах от 27,8 г в комбинации (Mc130 x Юдж1-3)3 до 201,6 г в комбинации [McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1.

У 7 расщепляющихся популяций (McМэл x Вал1-1)1, [McБн1-2 x (Бн1-13x136)]1, (Mc98 x Лф1)1, (Mc254 x Лф1), (Mc98 x Лф1)2, (Mc130 x Юдж)1, (McБн1(11) x 163)9 формировалась крупная луковица средней массой выше 100 г. У 6 расщепляющихся потомств (Mc97 x Лф1)4, Mc257 x Лф1)4, (Mc98 x Лф1)3, (Бн1-13 x 136)2, (Бн1-13 x 136)1, (Mc98 x Лф1)2, формировалась луковица средних размеров, со средней массой от 70, 1 г. до 95,8 г. Растения (Mc130 x Юдж1-3)3, (Mc257 x Ялт2-3)1, (Mc135 x Ялт2-3)2 генотипов формировали мелкие луковицы и были отбракованы для использования в дальнейшей селекции.

Среди них в расщепляющихся популяциях (McМэл x Вал1-1)1, [McБн1-2 x (Бн1-13 x 136)]1, (McБн1(11) x 163)9 были отобраны образцы, проявляющие устойчивость на искусственном инфекционном фоне к пероноспорозу, обладающие фактором стерильности в цитоплазме, для дальнейшего создания стерильных материнских компонентов с моногенной устойчивостью к пероноспорозу.

В F2 расщепляющихся популяциях, где одним из родителей (материнским) была линия закрепитель стерильности с генотипом *Nmsms* (Р62 x 136)1, (Бн1-13 x 136)2, (Бн1-13 x 136)1 на искусственном инфекционном фоне и с помощью молекулярных маркеров были отобраны генотипы закрепителей стерильности (*NmsmsPd1Pd1*), результаты отбора и молекулярного генотипирования представлены в главе 3.3.

В F2 расщепляющихся популяциях (Mc97 x Лф1)4, (Mc98 x Лф1)1, (Mc254 x Лф1), (Mc98 x Лф1)3, (Mc130 x Юдж1-3)3, (Mc98 x Лф1)2, (Mc257 x Ялт2-3)1, (Mc130 x Юдж)1, (Mc98 x Лф1)2, (Mc135 x Ялт2-3)2 проводили отбор луковиц по хозяйственно ценным признакам, для создания устойчивых к пероноспорозу стерильных аналогов инбредных линий, использованных в качестве отцовского компонента.

Таблица 11. Результаты оценки средней массы луковиц у F2 расщепляющихся популяций в 2021 году

Селекционный номер F2, F3 потомства	Тип популяции	2021 г.
		средняя масса луковиц, г.
(McMэл x Вал1-1)12	F2	66,8
(McШат12 x 136)1	F2	68,5
(McMэл x Вал1-1)11	F2	110,5
(Р62-66 x 136)1	F2	41,3
(McШат12 x Шат x 136)1	F2	41,5
[McШат12 x (S x K)]233	F2	45
[McШат12 x (S x K)]231	F2	67,3
(Шат12 x 161)1	F2	34,4
(Шат12 x 136)4	F2	67,9
(Шат12 x 136)2	F2	33,8
[McШат12 x (S x K)]233	F2	44,3
(Р62-66 x 136)2	F2	44
[McШат12 x (S x K)]2	F2	17
(Шат12 x 136)3	F2	37,5
[McШат12 x (S x K)] 134	F2	30,3
[(McШат12 x (S x K)]13	F2	26
[(McБн1-1 x Вал1-8) x (Бн1-12 x Вал1-8)]1	F2	65,8
[Бн1-13 x (S x K)]23	F2	76
[McШат12 x (S x K)]232	F2	37,6

Продолжение таблицы 11

Селекционный номер F2, F3 потомства	Тип популяции	2021 г.
		средняя масса луковиц, г.
[McШат12 x (S x K)]231	F2	33,3
(McMэл x Вал1-8)1-1	F3	57,2
[(McШат12 x S x K)]2-6	F3	18,7
НСР <sub>05</sub>	-	16,48

Анализ средней массы луковиц F2-расщепляющихся потомств в 2021 показал сильное варьирование в пределах от 17 г. у потомства [McШат12 x (S x K)]2 до 110,5 г. у потомства (McMэл x Вал1-1)11.

В одной расщепляющейся популяции (McMэл x Вал1-1)11 наблюдалось формирование крупной луковицы со средней массой 110,5 г. В одной популяции [Бн1-13 x (S x K)]23 формировались луковицы среднего размера, со средней массой 76 г. У остальных 20 расщепляющихся популяций: [(McШат12 x S x K)]2-6, (McMэл x Вал1-1)12, (McШат12 x 136)1, (P62-66 x 136)1, (McШат12 x Шат x 136)1, [McШат12 x (S x K)]233, [McШат12 x (S x K)231], (McMэл x Вал1-8)1-1, (Шат12 x 161)1, (Шат12 x 136)4, (Шат12 x 136)1, [McШат12 x (S x K)]233, (P62-66 x 136)2, [McШат12 x (S x K)]2, (Шат12 x 136)2, [McШат12 x (S x K)] 134, [McШат12 x S x K)], [(McБн1-1 x Вал1-8) x (Бн1-12 x Вал1-8)]1, [McШат12 x (S x K)]232, [McШат12 x (S x K)]231 формировались мелкие луковицы, с массой ниже 70 г.

Среди них в расщепляющихся популяциях [(McШат12 x S x K)]2-6, (McMэл x Вал1-1)12, (McШат12 x 136)1, (McMэл x Вал1-1)11, (McШат12 x Шат x 136)1, [(McШат12 x (S x K)]233, [McШат12 x (S x K)231], (McMэл x Вал1-8)1-1, [(McШат12 x S x K)]233, [McШат12 x (S x K)]2, [McШат12 x (S x K)] 134, [(McШат12 x S x K)], [(McБн1-1 x Вал1-8) x (Бн1-12 x Вал1-8)]1, [McШат12 x (S x K)]232, [McШат12 x (S x K)]231 были отобраны образцы растений, обладающие генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе, с фактором стерильности в цитоплазме, для дальнейшего создания стерильных материнских компонентов с моногенной устойчивостью к ложной мучнистой росе.

В F2-расщепляющихся популяциях (P62-66 x 136)1, (Шат12 x 161)1, (Шат12 x 136)2, (Шат12 x 136)3, (Шат12 x 136)4, (P62-66 x 136)2, [Бн1-13 x (S x K)]23, где в качестве материнского компонента был взят образец линии с цитоплазмой N,

были отобраны растения с генотипами *NPd1pd1*. Результаты генотипирования с молекулярным маркером DMR1 наиболее крупных луковиц из потомств (Шат12 x 161)1, (Шат12 x 136)2, (Шат12 x 136)3, (Шат12 x 136)4 представлено в главе 3.3.

Таблица 12. Результаты оценки средней массы луковиц у F2 и F3 расщепляющихся популяций в 2022 году

Селекционный номер F2, F3 потомства	Тип популяции	2022 г.
		средняя масса луковиц, г.
[McЭкс x (Экс x 136)]2	F2	189
[McЭкс x (Экс x 136)]1	F2	220
(Экс x 136)F2	F2	145,6
(Mc107 x Зм1-4)1Mc	F2	98,2
(Бн1 x 136)2	F2	79,16
(Экс x 136)1	F2	126,4
(Mc254 x Лф1)1	F2	143,2
[(McКрокет x (Экс x 136)]6	F2	127,3
(Бн1 x 136)1	F2	145
(Экс x 136)6	F2	182,4
(McБн1 x Лф1)ф	F2	135,5
(McБн1 x Вал1-8)2ф	F2	121,2
(McБн1 x 163)ф5	F2	126
(Mc254 x Лф1)1	F2	117
(Mc254 x Лф1)1-1	F3	81,6
(Mc254 x Лф1)1-2	F3	128,6
(Mc254 x Лф1)1-5	F3	137,8
(P62 x 136)1-5	F3	48,1
(P62 x 136)2-2	F3	63,6
(McMэл x Вал1-1)1-3	F3	198,6
(Mc107 x CO)2-1	F3	102,3
(Бн1-13 x 136)2-2	F3	138
(Mc251 x Лф1)1-2 с.о.	F3	138
НСР <sub>05</sub>	-	22,56

Анализ средней массы луковиц расщепляющихся потомств в 2022 году показал сильное варьирование в пределах с 48,1 г. у потомства F2 (P62 x 136)1-5 до 198,6 г. у потомства F3(McMэл x Вал1-1)1-3.

Среди них, у расщепляющихся популяций (Mc254 x Лф1)1-2, (Mc254 x Лф1)1-5, [McЭкс x (Экс x 136)]2, [McЭкс x (Экс x 136)]1, (Экс x 136)F2, (McMэл x Вал1-1)1-3, (Экс x 136)1, (Mc254 x Лф1)1, (Бн1-13 x 136)2-2, [(McКрокет x (Экс x

136)]6, (Mc251 x Лф1)1-2co, (Экс x 136)6, (McБн1 x Лф1)ф, (McБн1 x Вал1-8)2ф, (McБн1 x 163)ф5, (Mc254 x Лф1)1, наблюдалось формирование крупной луковицы, свыше 100 г. У 3 популяций (Mc254 x Лф1)1-1, (Mc107 x Зм1-4)1Mc, (Бн1 x 136)4 наблюдалось формирование луковицы средних размеров, с 79,16 г. до 98,2 г. У 2 популяций формировалась луковица мелких размеров (P62 x 136)1-5, (P62 x 136)2-2 ниже 70 г.

Среди них в расщепляющихся популяциях [McЭкс x (Экс x 136)]2, [McЭкс x (Экс x 136)]1, (Mc107 x Зм1-4)1Mc, (Mc254 x Лф1)1, (McБн1 x Лф1)ф, (McБн1 x Вал1-8)2ф, (McБн1 x 163)ф5, (Mc254 x Лф1)1 были отобраны образцы растений, обладающие фактором стерильности в цитоплазме, для дальнейшего создания стерильных материнских компонентов с моногенной устойчивостью к пероноспорозу.

В F2 расщепляющихся популяциях (Экс x 136)F2, (Экс x 136)1, (Экс x 136)6, (Бн1 x 136)1, (Бн1 x 136)2, проводили поиск закрепителей стерильности с использованием молекулярных маркеров, результаты генотипирования представлены в главе 3.3.

В F3 расщепляющихся популяциях (Mc254 x Лф1)1-1, (Mc254 x Лф1)1-2, (Mc254 x Лф1)1-5, (McМэл x Вал1-1)1-3, (Mc107 x CO)2-1, (Mc251 x Лф1)1-2 с.о. были отобраны наиболее крупные луковицы, теоретически расщепляющиеся по гену устойчивости к ложной мучнистой росе, среди которых не было обнаружено маркер-опосредованным отбором доминантных гомозиготных генотипов по гену *Pdl*.

Среди образцов F3 расщепляющихся популяций (P62 x 136)1-5, (P62 x 136)2-2, (Бн1-13 x 136)2-2 методом молекулярного генотипирования не было найдено генотипов закрепителей стерильности с доминантным гомозиготным геном *Pdl*.

### **3.7 Оценка хозяйственно-ценных признаков инбредных линий с генетической устойчивостью к пероноспорозу**

Создание инбредных линий у лука репчатого, наряду с положительными эффектами, отражающимися в выровненности потомств по основным признакам, имеет и отрицательные стороны, у лука репчатого это проявляется в появлении

сильной инбредной депрессии уже после проведения второго этапа инбридинга. Растения, полученные в более поздних репродукциях инбридинга, обладают слабой жизненностью, что отражается в осложнении получения товарной луковицы и дальнейшего получения семян.

Размножение и поддержание линий нами проводилось путем опыления растений внутри инбредной популяции, за счет чего осуществляется поддержание гетерозиготности по количественным признакам, обеспечивающим достаточную жизненность для дальнейшего размножения растений.

В результате этой работы, были созданы инбредные линии, обладающие комплексом хозяйственно ценных признаков: выровненные, устойчивые к ложной мучнистой росе линии 163, 161, 155, Вал1-8, ЗС1. Результаты оценки средней массы луковиц и среднего содержания сахаров представлены в таблице 11.

Таблица 13 - Результаты оценки средней массы луковиц и среднего содержания сахаров в устойчивых инбредных линиях, Москва 2023

<b>Наименование линии</b>	<b>Средняя масса луковиц, г</b>	<b>Среднее содержание сахаров, °Вх</b>	<b>Коэффициент вариации по содержанию сахаров, Cv%</b>
<b>163</b>	87,4	10,5	2,9
<b>155</b>	67,4	8,5	7,8
<b>Вал1-8</b>	44,2	11,0	12,3
<b>161</b>	69,7	8,7	6,7
<b>ЗС1</b>	92,2	10,7	5,3
<b>НСР<sub>05</sub></b>	14,3	1,38	-

Диапазон варьирования признака средняя масса луковиц у инбредных линий составлял от 44,2 г. до 92,2 г. Максимальной средней массой луковицы обладала инбредная линия ЗС1 (92,2 г.), минимальной – инбредная линия Вал1-8 (44,2).

По содержанию сухих растворимых веществ были выделены линии полуострые: 155 (8,5 °Вх) 161 (8,7 °Вх) и острые: 163 (10,5 °Вх), Вал1-8 (11,0 °Вх), ЗС1 (10,7 °Вх).

Изменчивость вариационного ряда по параметру среднее содержание сахаров у инбредных линий 163, 155, 161, ЗС1 - незначительная (<10%), средняя изменчивость вариационного ряда наблюдается у линии Вал1-8 (12,3%).

Таблица 14 - Результаты оценки инбредных линий по признакам, 2023

<b>Наименование линии</b>	<b>Зачатковость, шт.</b>	<b>Индекс формы</b>	<b>Число кроющих сухих чешуй, шт.</b>	<b>Число образующихся стрелок, шт.</b>
<b>163</b>	1-2	0,76	3-4	2-3
<b>Мсбн1</b>	1	0,84	2	3-5
<b>155</b>	1-2	1,05	2	1-2
<b>Вал1-8</b>	1	0,76	2-3	1-3
<b>161</b>	1-2	0,74	2	1-3
<b>ЗС1</b>	1	0,97	3-4	1-2

В результате оценки луковиц по признаку зачатковости на кг были выделены инбредные линии, обладающие очень низкой зачатковостью, со средним количеством зачатков 1: Вал1-8, ЗС1, линии с варьированием количества зачатков от 1 до 2 (очень низкая зачатковость): 163, 155, 161.

Индекс формы луковиц рассчитывали путем продольного разрезания луковицы и дальнейшего измерения высоты – Н, и максимального диаметра - d (Н/d). По признаку индекса формы были выделены инбредные линии с округло-плоской формой луковицы: 163, Вал1-8, 161 и округлой: линии 155, ЗС1.

По признаку числа кроющих сухих чешуй линии обладали средним и высоким количеством, из них, линии МсБн1, 155, 161 обладали двумя кроющими листьями, линия Вал1-8 обладала от двух до трех, линии 163 и ЗС1 обладали тремя-четырьмя сухими кроющими листьями.

### 3.8 Оценка основных хозяйственно ценных признаков F1-гибридов лука репчатого с устойчивостью к пероноспорозу

В системе скрещиваний топкросс созданы гибридные комбинации (табл. 13, 14). В качестве материнского компонента (тестера) во всех комбинациях скрещиваний была выбрана МС-линия МсБн1, обладающая крупной луковицей (>100 г.), с двумя плотными чешуями, обладающая высокой толерантностью к фомозу и относящаяся к сорто типу «Испанский». В качестве отцовского компонента были выбраны линии 163, 155, 161 и Вал1-8, имеющие ген устойчивости к ложной мучнистой росе в доминантном гомозиготном состоянии (Эйдлин Я. Т., 2023). Гибридизацию осуществляли в условиях защищенного грунта (рис. 31)



Рисунок 31 – Участок гибридизации в защищенном грунте линий МсБн1 (материнского компонента) и линии 155, устойчивой к ложной мучнистой росе *Pd1Pd1* (отцовского компонента)

В 2023 году оценку F1 гибридов и родительских форм проводили на искусственном и естественном инфекционных фонах, с патогенами *Peronospora*

*destructor* и *Phoma terrestris* соответственно, оценку устойчивости к пероноспорозу проводили перед уборкой, к розовой гнили корней после проведения ручной уборки. Результаты оценки устойчивости к пероноспорозу и розовой гнили корней F1 гибридов представлены в таблице 13.

Таблица 15 - Оценка образцов на устойчивость к пероноспорозу и на пораженность розовой гнилью корней, 2023 г.

Образец	Устойчивость	Пораженность, средний балл
	Пероноспороз	Розовая гниль корней
<b>F1 McBn1 x 163</b>	+	0,1
<b>F1 McBn1 x Юдж</b>	-	1,2
<b>F1 McBn1 x Вал1-8</b>	+	2,5
<b>F1 McBn1 x 155</b>	+	1,1
<b>F1 McBn1 x 161</b>	+	0,2
<b>F1-119</b>	+	0,1
<b>F1-120</b>	-	2,4
<b>F1 Mondella</b>	-	3,3
<b>F1 Sonoma</b>	-	3,6
<b>F1 Orlenda</b>	-	1
<b>Линия McBn1</b>	-	0,2
<b>Линия Bn1</b>	-	0,2
<b>Линия 163</b>	+	1,1
<b>Линия 161</b>	+	1,9
<b>Линия 155</b>	+	1,7
<b>Линия Вал1-8</b>	+	2,9

Примечание: «+» - полная устойчивость, «-» - восприимчивые к пероноспорозу; оценка устойчивости к розовой гнили корней указана в баллах, где 0- полное отсутствие симптомов заболевания.

Результаты визуальной оценки корней луковиц по степени пораженности розовой гнилью корней показали, что наиболее толерантными, с баллом поражения

<1, выделились гибридные комбинации: F1МсБн х 163, F1МсБн х 161 и коммерческий гибрид F1-119. Среди линий, с баллом поражения <1 выделились МсБн1 и Бн1. Со средним баллом поражения от 1 до 2 обладали гибридные комбинации МсБн1 х Юдж (1,2), МсБн1 х 155 (1,1), среди коммерческих гибридов F1 Orlenda (1), среди линий 163 (1,1), 161 (1,9), 155 (1,7). Средним баллом от 2 до 3 обладала гибридная комбинация МсБн1 х Вал1 (2,5), среди коммерческих F1 гибридов F1-120 (2,4), среди линий Вал1-8 (2,9). Баллом поражения выше 3 обладали коммерческие гибриды F1 Mondella (3,3), F1 Sonoma (3,6). Симптомы поражения корневой системы луковиц представлены на рисунке 32.



Рисунок 32 - Луковицы F1-гибридных популяций с различной степенью поражения корневой системы розовой гнилью корней

Примечание: а) луковица коммерческого F1 гибрида лука репчатого Sonoma, с симптомами поражения (3 балла поражения), б) Луковица гибридной комбинации F1 МсБн1 х 163, без симптомов поражения, в) корни луковицы гибридной комбинации F1 МсБн х Вал1, со средним баллом поражения розовой гнилью корней.

Таким образом, в результате проведения оценки пораженности корневой системы розовой гнилью корней были выделены толерантные образцы Бн1 и МсБн1 со средним баллом поражения 0,2, являющиеся донорами толерантности, что подтверждено результатами оценки пораженности гибридных комбинаций: F1 МсБн1 х 163, F1 МсБн1 х 155, F1 МсБн1 х 161.

Результаты оценки устойчивости к пероноспорозу, показали, что гибридные потомства F1McБн x 163, F1McБн x Вал 1-8, F1McБн x 155, F1McБн x 161 были полностью устойчивы и ген *Pdl* у этих потомств был в гетерозиготном состоянии, что подтверждалось генотипированием отцовских линий перед проведением гибридизации и получением семян потомств, и испытанием отцовских компонентов скрещивания на инфекционном фоне. Гибриды зарубежной селекции F1 Mondella, F1 Sonoma, F1 Orlenda, взятые в качестве стандартов были полностью поражены пероноспорозом.

Наиболее раннее массовое формирование луковицы среди всех образцов наблюдалось у F1-119, F1-120 (50-е сутки), позднее формирование наблюдалось у гибридных комбинаций F1 McБн x 163, F1 McБн1 x Вал 1-8, F1 McБн1 x 155, F1 McБн1 x 161 (68-73-е сутки) и они относятся к средне-позднеспелой группе.

Листовой аппарат лука репчатого является основным органом фотосинтеза от которого зависит формирование высокого урожая. В нашей модели гибрида образцы должны обладать вертикальным положением листа. Среди гибридных комбинаций вертикальным положением листа обладали гибридные комбинации F1 McБн x 161 и F1 McБн x 155.

Наличие воскового налета на листьях является одним из факторов устойчивости к патогенам и насекомым, сильный восковой налет наблюдался у образцов: F1 McБн x 161, F1-119, F1-120. У всех образцов отмечена средняя длина листа с варьированием от 40 до 56 см и среднее число листьев от 7 до 10 шт.

По зачатковости все анализируемые образцы обладали малым числом зачатков (от 1 до 2), что является предпочтительным в модели гибрида.

Высокое число и сильную плотность прилегания кроющих сухих чешуй связывают с пригодностью к механизированной уборке и повышенной лежкостью луковиц во время зимнего хранения. Наилучшими показателями по числу кроющих сухих чешуй обладали гибридные комбинации F1 McБн x 163 и F1 McБн x Вал 1-8 (3-4 листа).

Уборку проводили вручную в первой декаде сентября при 80% полегании листьев у образца. Для выделения лучшей комбинации скрещивания была

проведена оценка F1 гибридных потомств по параметрам: средняя масса луковицы, зачатковость, товарность, среднее содержание сахаров и урожайность. Хранение луковиц осуществляли в овощном хранилище при температуре 2-4 °С, с относительной влажностью воздуха 60-70%. Оценка сохранности луковиц F1 гибридных потомств проводили в овощном хранилище через 235 календарных дней после закладки на хранение.

Для оценки сохранности луковиц после хранения принимали за «Отлично» - 90-100% (отсутствие прорастания листьев, гнили шейки и донца), «Хорошо» - 90-75%, «Плохо» –75%. (Широков Е.П., 1982). Результаты по основным хозяйственно ценным признакам представлены в таблице 14.

Таблица 16 - Результаты оценки F1-гибридных популяций лука репчатого по хозяйственно ценным признакам, Москва 2023

<b>F1-гибридная популяция</b>	<b>Средняя масса луковицы, г.</b>	<b>Зачатковость, шт.</b>	<b>Товарность, %</b>	<b>Среднее содержание сахаров, °Вх</b>	<b>Урожайность, т/га</b>	<b>Сохранность луковиц</b>
<b>F1 МсБн1 х 163</b>	276	1-2	94,1	9,2	98,6	Отлично
<b>F1 МсБн1 х Юдж</b>	218	1-2	56,3	8,0	78,1	Плохо
<b>F1 МсБн1 х Вал 1-8</b>	168	1-2	91,6	10,7	60,0	Отлично
<b>F1 МсБн1 х 155</b>	268	1-2	92,3	11,1	96,0	Отлично
<b>F1 МсБн1 х 161</b>	256	1-2	95,1	8,2	91,6	Хорошо
<b>F1-119</b>	115	2	87,5	12,3	41,2	Отлично
<b>F1-120</b>	133	2	44,9	9,8	47,6	Отлично
<b>F1 Mondella</b>	126	2	67,2	9,2	45,1	Плохо
<b>F1 Sonoma</b>	185	1	51,6	9,0	66,3	Плохо
<b>F1 Orlanda</b>	147	1-2	34,2	7,3	52,6	Плохо
<b>НСР<sub>05</sub></b>	18,9	-	-	1,1	14,5	-

У гибридных комбинаций средняя масса луковицы была в пределах от 168 г. (F1 МсБн1 х Вал1-8) до 276 г. (F1 МсБн1 х 163), а у стандартов от 115 г. (F1-119) до 185 г. (F1 Sonoma), а у родительских линий от 44 г. (отцовская линия Вал1-8) до

150 г. у материнской линии МсБн1. При этом у отцовских линий она была в пределах от 44 г. (Вал1-8) до 87 г. (163).

Урожайность рассчитывали исходя из схемы высадки рассады 50+20x8 см и площади питания одного растения 0,028 м<sup>2</sup>. У F1-гибридов урожайность варьировала от 60 т/га (гибридная комбинация МсБн1 x Вал1-8) до 98,6 т/га (гибридная комбинация МсБн1 x 163), среди коммерческих F1-гибридов варьирование урожайности составило от 41,2 (F1-119) до 66,3 (F1 Sonoma). Наиболее высокой урожайностью среди образцов выделилась гибридная комбинация F1 МсБн1 x 163, у которой она составила 98,6 т/га, что на 48,8% выше лучшего стандарта F1 Sonoma в опыте. Все гибридные комбинации, за исключением F1 МсБн1 x Вал1-8 превзошли лучший стандарт F1 Sonoma.

По зачатковости все анализируемые образцы обладали малым количеством зачатков (1-2), что является предпочтительным в модели гибрида.

По признаку среднего содержания сахаров (<sup>0</sup>Вх), среди F1-гибридов, наименьшим показателем обладала гибридная комбинация МсБн1 x Юдж (8,0 <sup>0</sup>Вх), наивысшим – гибридная комбинация МсБн1 x 155 (11,1 <sup>0</sup>Вх), среди коммерческих F1-гибридов, наименьшим средним содержанием сахаров – F1 Orlenda (7,3 <sup>0</sup>Вх), наивысшим F1-119 (12,3 <sup>0</sup>Вх).

Высокое количество и сильную плотность прилегания кроющих сухих чешуй связывают с пригодностью к механизированной уборке и повышенной лежкостью луковиц во время хранения. Наилучшими результатами по количеству кроющих сухих чешуй обладали гибридные комбинации F1 МсБн1 x 163 и F1 МсБн1 x Вал 1-8 (3-4).

По результатам оценки отличной степенью сохранности луковиц обладали гибридные комбинации F1 МсБн1 x 163, F1 МсБн1 x Вал 1-8, F1 МсБн1 x 155 и коммерческие F1-гибриды F1-119, F1-120, хорошей степенью сохранности обладала гибридная комбинация F1 МсБн1 x 161, плохой степенью сохранности характеризовалась F1-гибридная комбинация F1 МсБн1 x Юдж, у которой основной причиной плохой сохранности являлось поражение шейковой гнилью, и

коммерческие F1-гибриды F1 Mondella, F1 Sonoma, F1 Orlenda, среди которых основной причиной было прорастание листьев.

Во всех гибридных комбинациях наблюдается истинный гетерозисный эффект. Превышение над лучшим родителем – материнской линией МсБн, было в пределах от 12 % до 84 %.

### 3.9 Оценка общей комбинационной способности линий с генетической устойчивостью к ложной мучнистой росе

Оценку общей комбинационной способности в системе скрещиваний топкросс проводили со следующими гибридными комбинациями: F1 МсБн1 x 163, F1 МсБн1 x 155, F1 МсБн1 x 161, F1 МсБн1 x Юдж, F1 МсБн1 x Вал1-8. Эффекты общей комбинационной способности по признакам «средняя масса луковиц» и «среднее содержание сахаров» представлены в таблице 17.

Таблица 17. - Средняя масса луковиц, среднее содержание сахаров F1 гибридов и эффекты общей комбинационной способности линий опылителей по признакам, Москва 2023

♀ ♂	МсБн1				
	Средняя масса луковиц, г.	Эффект ОКС, г	Группа линий по общей комбинационной способности	Среднее содержание сахаров, °Вх	Эффект ОКС, °Вх
<b>163</b>	276	38,8	Высокая	9,2	-0,5
<b>155</b>	268	30,8	Высокая	11,1	1,5
<b>161</b>	256	18,8	Средняя	10,7	1,1
<b>Юдж</b>	218	-19,2	Низкая	8,0	-1,6
<b>Вал1-8</b>	168	-69,2	Низкая	9,2	-0,4
<b>НСР<sub>05</sub></b>	-	20,3	-	-	0,8

Все F1-гибриды превосходили лучший стандарт (Sonoma) по средней массе луковицы на 37,9 - 48,7%.

Эффект общей комбинационной способности у отцовских линий по признаку средняя масса луковиц существенно варьировал. Размах варьирования составил 108 г или 45,5% от средней популяционной. 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. Устойчивые к ложной мучнистой росе, линии 163 и 155 можно рекомендовать для использования в качестве отцовских форм при селекции на урожайность и в качестве доноров гена устойчивости *Pd1* к ложной мучнистой росе.

Наследование признака «содержание сухих растворимых веществ» было промежуточным, за исключением МсБн х 155, где эффект гетерозиса составил 14,4%.

По признаку «средняя масса луковицы» максимальный гетерозисный эффект отмечен в комбинации F1 МсБн1 х 163, что говорит о наличии сверхдоминирования и неаллельных взаимодействий генов (48,7%) в контроле этого признака.

В 2024 в оценку комбинационной способности включены две новые линии устойчивые к пероноспорозу ЗС1 и ЭКСЗС1, являющиеся закрепителями стерильности для типов цитоплазм S и R, результаты приведены в таблице 18.

Среди новых линий, включенных в гибридизацию самым высоким эффектом ОКС 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. Низкими эффектами ОКС обладали линии 163, ЭксЗС1 и 155.

По признаку «средняя масса луковицы» максимальный истинный гетерозисный эффект отмечен в гибридной комбинации F1 МсБн1 х ЗС1, эффект гетерозиса составил 96,2% в сравнении с максимальным показателем лучшего родителя МсБн1 (94,2 г.).

Таблица 18. Средняя масса луковицы и среднее содержание сахаров у F1-гибридов и эффекты общей комбинационной способности линий опылителей, Москва 2024

♀ ♂	МсБн1				
	Средняя масса луковиц, г.	Эффект ОКС, г	Группа линий по общей комбинационной способности	Среднее содержание сахаров, °Вх	Эффект ОКС, °Вх
<b>ЗС1</b>	184,9	57,4	Высокая	9,6	1,2
<b>163</b>	113,9	-13,5	Средняя	8,3	-0,1
<b>ЭксЗС1</b>	114,6	-12,9	Средняя	6,8	-1,6
<b>155</b>	96,5	-31,0	Низкая	8,9	0,5
<b>НСР<sub>05</sub></b>	-	18,7	-	-	0,9

По среднему содержанию сахаров наблюдалась низкая вариация, однако положительными эффектами ОКС обладали линии ЗС1 (1,2 °Вх) и 155 (0,5 °Вх)

Устойчивую линию ЗС1 можно рекомендовать в качестве отцовского компонента при создании F1 гибридов, растения которых будут полностью стерильными, а также в качестве донора гена устойчивости *Pdl* к ложной мучнистой росе при селекции на урожайность и содержание сухих веществ.

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. Исходя из этого результата, мы рекомендуем проводить браковку линий с низким эффектом ОКС, по результатам не менее двух лет испытаний.

### **3.10 Выявление перспективных для возделывания в условиях Московской области гибридных комбинаций на основе результатов стационарного испытания**

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 массе луковицы, наличию групповой устойчивости к пероноспорозу и розовой гнили корней, высокому содержанию растворимых сухих веществ, малому числу зачатков (1-2), трем-четырем плотно прилегающим кроющим сухим чешуям.

Гибридная комбинация МсБн1 х 163 в 2022 передана в Государственное сортоиспытание под названием F1 «Резистор» (Рисунок 33). По результатам успешного сортоиспытания F1 «Резистор» включен в Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию с 2025 года. Гибридная комбинация МсБн1 х 3С1 будет передана в Государственное сортоиспытание в 2025 году.



Рисунок 33 - Луковицы лучшей гибридной комбинации F1МсБн х 163  
«F1 Резистор»

### **3.11 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 выращивания в однолетней культуре (табл. 19).

Таблица 19. 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, %
F1 Резистор	72,9	+	5,5	874,8	474,8	118,7
F1 Sonoma (Bejo)	46,6	-	8,6	559,2	159,2	39,8
F1 Birdy (Bejo)	45,1	-	8,9	541,2	141,2	35,3
F1 Orlanda (Bejo)	32,1	-	12,5	385,2	-14,8	-3,7
F1 Mondella (Bejo)	31,1	-	12,9	373,2	-26,8	-6,7
НСП	31,4	-	-	-	-	-

Максимальная прибыль (474,8 тыс.руб./га) и рентабельность в опыте (118,7 %) получены при возделывании устойчивого к ложной мучнистой росе гибрида F1 Резистор. Низкая экономическая эффективность у гибридов F1 Sonoma -39,8% и F1 Birdy – 35,3%, а выращивание гибридов F1 Orlanda и F1 Mondella убыточна, что связано с большими потерями урожайности, ввиду патогенеза в период вегетации растений.

Безусловно, при многократных обработках, с начала формирования 4 настоящего листа, и далее с интервалом в 14 дней, можно снизить потери урожайности. Например, наиболее популярным и используемым системным фунгицидом против ложной мучнистой росы на луке репчатом является Ридомил Голд (Syngenta), стоимость которого в 2024 году составляет 3 тысячи рублей за 1 кг.

Кратность обработок этим фунгицидом, в зависимости от климатических условий и зоны возделывания, может составлять до 6 (максимальное рекомендуемое число обработок компанией изготовителем).

При норме расхода препарата в 5 кг/га стоимость одной обработки составляет 15 тысяч рублей, а за вегетационный период может достигать 90 тысяч рублей, 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, 155, 3С1 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, 5sob: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 *Apr1*

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

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

6. Растения потомства BC4 от отдаленного скрещивания *A. galanthum* x *A. sera* (BC4), 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 (5`cob:orfA501) показало S-подобный тип цитоплазмы.

7. Растения потомства BC5 от отдаленного скрещивания *A. pskemense* x *A. sera* 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 BC4. 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 ЗС1 и ЭксЗС1 в качестве закрепителей стерильности и доноров для передачи гена устойчивости *Pd1*
- Образцы АК№1 (*ApRIApRI*) лука репчатого Arka Kalyan в качестве донора моногенной устойчивости к альтернариозу.

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

## Список литературы

1. Агафонов А. Ф., Дубова М. В. Селекция лука порея для средней полосы России при выращивании безрассадным способом //Овощи России. – 2018. – №. 3. – С. 47-51.
2. Агафонов А.Ф. Новые сорта луковых культур // Картофель и овощи. – 2005. – №4. – С. 13.
3. Агафонов А.Ф. Состояние и основные направления селекции и семеноводства луковых культур // Овощи России. – 2012. – №3. – С. 12-20.
4. Алексеева К. Л. и др. Циркон повышает устойчивость к пероноспорозу и урожайность лука //Защита и карантин растений. – 2018. – №. 9. – С. 20-22.
5. Алижанова Р. Р., Монахос С. Г., Монахос Г. Ф. Молекулярные маркеры в селекции лука репчатого //Картофель и овощи. – 2019. – №. 2. – С. 32.
6. Борисов В.А. Качество и лежкость овощей / В.А. Борисов, С.С. Литвинов, А.В. Романова. - М., 2003. – 627 с.
7. Буренин В. И., Шумилина В. В. Отдаленная гибридизация видов рода *Allium L* //Овощи России. – 2016. – №. 1. – С. 10-13.
8. Бутов И.С. Анализ рынка лука репчатого в России: тенденции и перспективы// Картофель и овощи – 2023 - №9 –с.3
9. Веселовский И.А. Межвидовой гибрид лука // Картофель и овощи. – 1979. – № 2. – С. 37.
10. Гиш Р.А. Технология выращивания лука репчатого в яровой и озимой культуре на Кубани в условиях малых форм хозяйствования. Научно-производственное пособие / Р.А. Гиш, Е.Н. Благородова, С.Г. Лукомец – Краснодар. – 2012. – 48 с. ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».
11. Давлетбаева О. Р., Ибрагимбеков М. Г., Ховрин А. Н. Оценка коллекции лука репчатого по признакам листовой розетки и луковицы //Овощи России. – 2018. – №. 4. – С. 29-32.
12. Дьяков Г.А. Лук и чеснок / Г.А. Дьяков. – Минск. - 1972. – 64 с.
13. Ершов И.И., Воробьева А.А., Юрьева Н.А., Ореховская М.В. О

селекции лука репчатого на устойчивость к пероноспорозу // Проблемы и пути повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с селекцией: тезисы докладов Всесоюзной конференции. – Л., 1981. – Ч. 4. – С. 144-145.

14. Ибрагимбеков М. Г. Создание исходного материала лука репчатого для селекции длиннодевных полуострых сортов и гибридов/ Ибрагимбеков М. Г.: автореф. к. с.-х.н. – Москва – 2015. – 25 с.

15. Ирков И. И., Успенская О. Н., Берназ Н. И. О целесообразности и эффективности применения биопрепаратов на луке репчатом (*Allium sera* L.) в однолетней культуре //Овощи России. – 2024. – №. 3. – С. 90-95.

16. Кароматов И. Д., Такаева Ш. К. Лук репчатый лечебное и профилактическое средство (обзор литературы) //Биология и интегративная медицина. – 2020. – №. 1 (41). – С. 61-79.

17. Кокорева В.А. Особенности межвидовой гибридизации лука репчатого с дикорастущими видами // Автореф. дисс. ... к. с.-х. наук. – М., 1982. – 17 с.

18. Комиссаров В.А., Кокорева В.А. Межвидовые гибриды лука // Изв. ТСХА. – 1984. – Т.1. – С. 125-133

19. Комиссаров В.А., Тарасова Е.М., Сангаре М. Сравнительная характеристика основных биологических признаков диплоидных и амфидиплоидных гибридов *A. sera* × *A. fistulosum* // Изв. ТСХА. – 1983. – Т. 4. – С. 127-132.

20. Кривенко А.А. Межвидовые скрещивания луков (*Allium* L.) // Биол. журнал. – 1937. – Т. VI. – Вып. 3. – С. 289-297.

21. Литвинов С.С. Научные основы современного овощеводства. – М.: Россельхозакадемия, ВНИИО. – 2008. – 776 с.

22. Логунов А.Н. Особенности форм лука репчатого, полученных на основе потенциальной изменчивости сортовых популяций. / А.Н. Логунов, Н.И. Тимин, В.В. Логунова // Доклады ТСХА: изд-во РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, М - 2010. Вып.282. часть I, С. 646-648.

23. Любченко А.В. Исходный материал для селекции лука на

адаптивность и качество продукции в условиях предгорной зоны республики Адыгея / А.В. Любченко: дисс.раб. к.с.-х.н. – С.П. – 2015. – 230 с.

24. Марчева М. М. и др. Приоритетные направления селекции лука репчатого (*Allium cepa* L.) //Овощи России. – 2024. – №. 6. – С. 30-43.

25. Монахос Г. Ф., Монахос С. Г., Алижанова Р. Р. Селекция лука репчатого с устойчивостью к пероноспорозу //Картофель и овощи. – 2019. – Т. 10. – С. 38-40.

26. Монахос С.Г., Монахос Г.Ф., Богданова В.Д., Ветчинкина Е.М. Создание чистых линий – удвоенных гаплоидов лука репчатого (*Allium cepa* L.) и селекция F1 гибридов на основе современных методов биотехнологии. Методические указания. М., 2014

27. Никитина, С. М. Комплексная устойчивость многолетних луков к заболеваниям [Текст] / С. М. Никитина // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2008. - N 10.- С.38-41

28. Нужных С. А. и др. Защита овощных культур открытого грунта и картофеля от вредителей: учебное пособие. – 2006.

29. Иванцова Е. А. Болезни луковых культур //Фермер. Поволжье. – 2016. – №. 5. – С. 72-74.

30. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с

31. Пендинен Г. И., Чернов В. Е. Diversity of chromosomal composition in top onion (*Allium× proliferum* (Moench) Schrad. ex Willd.) accessions from the VIR in vitro collection //Биотехнология и селекция растений. – 2020. – Т. 2. – №. 3. – С. 6-14.

32. Пивоваров В. Ф., Ершов И. И., Агафонов А. Ф. Луковые культуры. – 2001.

33. Пивоваров В.Ф., Ершов И.И., Агафонов А.Ф. Луковые культуры. М.: ВНИИССОК, 2001. 500 с.

34. Пивоваров, В.Ф. Селекция и семеноводство овощных культур / В.Ф Пивоваров. – М. – 2007. – 816 с.

35. Попков В.А. Лук в условиях Республики Беларусь: Биология, агротехника, экономика / В.А. Попков. – Гомель: ГГТУ им. П.О. Сухого, 2001. – 400 с.
36. Савченко В.К. Метод оценки комбинационной способности генетически разнокачественных наборов родительских форм. В сб. «Методики генетико-селекционного и генетического экспериментов», Минск, «Наука и техника», 1973, с. 48-77.
37. Середин Т. М. и др. Лук душистый (*Allium tuberosum* Rottler ex Sprengel)–перспективная овощная культура //Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2023. – №. 9 (227). – С. 18-25.
38. Солдатенко А. В. и др. Селекция и семеноводство овощных культур–на инновационный путь развития //Овощи России. – 2023. – №. 1. – С. 5-13.
39. Сулейменова С.Е. Использование гибридизации дикорастущих и культурных видов лука для получения исходного селекционного материала в условиях юговостока Казахстана // Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. – М., 1987. – 19 с.
40. Тимин Н. И. и др. Межвидовая гибридизация овощных растений (*Allium* L. – лук, *Daucus* L. – морковь, *Capsicum* L. – перец)./Коллективная монография.–М.: Изд-во ВНИИССОК, 2013.–188 с. – 2013.
41. Широков Е.П. Методические указания по проведению научно-исследовательских работ по хранению овощей. М.: ВАСХНИЛ, 1982. С. 15–16.
42. Хайсин М. Ф. Устойчивость сортов репчатого лука (*Allium cepa* L.) к пероноспорозу *Peronospora destructor* //Защита овощных культур от болезней и сорняков.–Кишинев: Штиинца. – 1978. – С. 21-36.
43. Ховрин А. Н., Монахос Г. Ф. Производство и селекция лука репчатого в России //Картофель и овощи. – 2014. – Т. 7. – С. 18-21.
44. Чередниченко Е. А. и др. Эффективность использования удвоенных гаплоидов в селекции лука репчатого (*Allium cepa* L.) //Овощи России. – 2022. – №. 5. – С. 24-28.
45. Чистова А. В., Ветчинкина Е. М., Монахос С. Г. Влияние

антимитотических агентов на гиногенные эмбриониды лука //Картофель и овощи. – 2016. – №. 7. – С. 37-38.

46. Эйдлин, Я. Т. Маркер-опосредованный отбор при создании устойчивых к пероноспорозу линий закрепителей стерильности лука репчатого (*A. cepa* L.) / Я. Т. Эйдлин, Г. Ф. Монахос, С. Г. Монахос // Овощи России. – 2021. – № 3. – С. 34-39. – DOI 10.18619/2072-9146-2021-3-34-39. – EDN IQNFIE.

47. Эйдлин, Я. Т. Оценка гибридных комбинаций лука репчатого с групповой устойчивостью к заболеваниям / Я. Т. Эйдлин, Г. Ф. Монахос, С. Г. Монахос // Картофель и овощи. – 2023. – № 12. – С. 34-37. – DOI 10.25630/PAV.2023.88.72.003. – EDN EOFQZY.

48. Alan A. R. et al. Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* Stearn //Plant Science. – 2003. – Т. 165. – №. 6. – С. 1201-1211.

49. Bacher J. W. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepaе* in cultivated onions. – Michigan State University, 1989.

50. Berninger E. Contribution to the study of male sterility in the onion (*Allium cepa* L.) //Annales de l'Amélioration des Plantes. – 1965.

51. Bradshaw J. E. Plant breeding: past, present and future //Euphytica. – 2017. – Т. 213. – С. 1-12.

52. Bruton B. D., Biles C. L., Duthie J. A. Pink Root of Muskmelon and Watermelon Caused by *Phoma* ter //Subtropical Plant Science. – 1997. – Т. 49. – С. 34-41.

53. Buloviene V., Surviliene E. Effect of environmental conditions and inoculum concentration on sporulation of *Peronospora destructor* //Agronomy Research. – 2009. – Т. 4. – №. Special issue.

54. Chand S. K., Nanda S., Joshi R. K. Genetics and molecular mapping of a novel purple blotch-resistant gene *ApR1* in onion (*Allium cepa* L.) using STS and SSR markers //Molecular Breeding. – 2018. – Т. 38. – №. 9. – С. 109.

55. Chang W. N., Struckmeyer B. E. Influence of temperature on seed development of *Allium cepa* L. – 1976.

56. Chauhan A. et al. Potential, challenges and strategies involved in gene

introgression from wild relatives of vegetable crops: A review //Agricultural Reviews. – 2021. – T. 42. – №. 4. – C. 390-397.

57. Chilvers M. I. et al. Influence of benzimidazole fungicides on incidence of *Botrytis allii* infection of onion leaves and subsequent incidence of onion neck rot in storage in Tasmania, Australia //Australian Journal of Experimental Agriculture. – 2006. – T. 46. – №. 12. – C. 1661-1664.

58. Dar A. A. et al. Overview of purple blotch disease and understanding its management through chemical, biological and genetic approaches //Journal of Integrative Agriculture. – 2020. – T. 19. – №. 12. – C. 3013-3024.

59. De Vries J. N., Wietsma W. A., Jongerius M. C. Linkage of downy mildew resistance genes Pd 1 and Pd 2 from *Allium roylei* Stearn in progeny of its interspecific hybrid with onion (*A. cepa* L.) //Euphytica. – 1992. – T. 64. – C. 131-137.

60. Dolezhel J., Novak F.J., Luzhny J. Embryo development and *in vitro* culture of *Allium cepa* and its interspecific hybrids // Pflanzenzucht. – 1980. – V. 85. – № 3. – P. 177-184.

61. Duangjit J. et al. Transcriptome sequencing to produce SNP-based genetic maps of onion //Theoretical and Applied Genetics. – 2013. – T. 126. – C. 2093-2101.  
Emsweller S. L., Jones H. A. A gene for control of interstitial localization of chiasmata in *Allium fistulosum* L //Science. – 1935. – T. 81. – №. 2109. – C. 543-544.

62. Engelke T., Terefe D., Tatlioglu T. A PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.) //Theoretical and Applied Genetics. – 2003. – T. 107. – C. 162-167.

63. Entwistle AR (1990) Root diseases. In: Rabinowitch HD, Brewster JL (eds.). Onion and allied crops. Vol II. CRC Press, Boca Raton, FL. p. 103-154

64. Galván G. A. et al. Genetic variation among *Fusarium* isolates from onion, and resistance to *Fusarium* basal rot in related *Allium* species //European Journal of Plant Pathology. – 2008. – T. 121. – C. 499-512.

65. Gökçe A. F. et al. Molecular tagging of the Ms locus in onion //JOURNAL-AMERICAN SOCIETY FOR HORTICULTURAL SCIENCE. – 2002. – T. 127. – №. 4. – C. 576-582.

66. Gonzalez L.G., Ford-Lloyd B.V. Facilitation of wide-crossing through embryo rescue and pollen storage in interspecific hybridization of cultivated *Allium* species // *Plant Breeding*. – 1987. – V. 98. – №4. – P. 318-322
67. Grevsen K., Sorensen J. N. Sprouting and yield in bulb onions (*Allium cepa* L.) as influenced by cultivar, plant establishment methods, maturity at harvest and storage conditions // *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2004. – T. 79. – №. 6. – C. 877-884.
68. Havey M. J. A Single Nucleotide Polymorphism Unique to the Galanthum-CMS of Onion // *HortScience*. – 2024. – T. 59. – №. 1. – C. 8-10.
69. Havey M. J. Diversity among male-sterility-inducing and male-fertile cytoplasm of onion // *Theoretical and Applied genetics*. – 2000. – T. 101. – C. 778-782.
70. Havey M. J. Seed yield, floral morphology, and lack of male-fertility restoration of male-sterile onion (*Allium cepa*) populations possessing the cytoplasm of *Allium galanthum*. – 1999.
71. Havey M. J. Single nucleotide polymorphisms in linkage disequilibrium with the male-fertility restoration (Ms) locus in open-pollinated and inbred populations of onion // *Journal of the American Society for Horticultural Science*. – 2013. – T. 138. – №. 4. – C. 306-309.
72. Havey M. J., Kim S. Molecular marker characterization of commercially used cytoplasmic male sterilities in onion // *Journal of the American Society for Horticultural Science*. – 2021. – T. 146. – №. 5. – C. 351-355.
73. Havey, M.J. and Ghavami, F. (2018). Informativeness of single nucleotide polymorphisms and relationships among onion populations from important world production regions. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 143: 34–44.
74. Jones H. A., Clarke A. E. The story of hybrid onions. – 1943.
75. Jones H. A., Mann L. K. Onions and their allies, botany, cultivation, and utilization. – 1963.
76. Jones H.A., Clarke A.E. A natural amphidiploid from an onion species hybrid *A. cepa* × *A. fistulosum* // *Hereditas*. – 1942. – V. 33. – P. 25-32.

77. Jones, H.A. Inheritance of male sterility in the onion and the production of hybrid seed / H.A. Jones, A.E. Clarke // Proc. Am. Soc. Hort. Sci. -1943. -V. 43. -P.189-194.
78. Kaack K. et al. Non-structural carbohydrates in processed soft fried onion (*Allium cepa* L.) //European Food Research and Technology. – 2004. – T. 218. – C. 372-379.
79. Khan P. S. S. V. et al. Doubled haploid production in onion (*Allium cepa* L.): from gynogenesis to chromosome doubling //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2020. – T. 142. – C. 1-22.
80. Khrustaleva L. et al. The power of genomic in situ hybridization (GISH) in interspecific breeding of bulb onion (*Allium cepa* L.) resistant to downy mildew (*Peronospora destructor* [Berk.] Casp.) //Plants. – 2019. – T. 8. – №. 2. – C. 36.
81. Khrustaleva L. et al. Two-step identification of N-, S-, R-and T-cytoplasm types in onion breeding lines using high-resolution melting (HRM)-based markers //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – T. 24. – №. 2. – C. 1605.
82. Khrustaleva L.I., Kik C. Cytogenetical studies in the bridge-cross *Allium cepa* × (*A. fi stulosum* × *A. roylei*) // Theor. Appl. Genet. – 1998. – V. 96. – P. 8-14.
83. Kim B., Yang T. J., Kim S. Identification of a gene responsible for cytoplasmic male-sterility in onions (*Allium cepa* L.) using comparative analysis of mitochondrial genome sequences of two recently diverged cytoplasms //Theoretical and Applied Genetics. – 2019. – T. 132. – C. 313-322.
84. Kim S. A codominant molecular marker in linkage disequilibrium with a restorer-of-fertility gene (*Ms*) and its application in reevaluation of inheritance of fertility restoration in onions //Molecular breeding. – 2014. – T. 34. – C. 769-778.
85. Kim S. et al. Identification of a novel chimeric gene, *orf725*, and its use in development of a molecular marker for distinguishing among three cytoplasm types in onion (*Allium cepa* L.) //Theoretical and applied genetics. – 2009. – T. 118. – C. 433-441.
86. Kim S. et al. Identification of a novel chimeric gene, *orf725*, and its use in development of a molecular marker for distinguishing among three cytoplasm types in

onion (*Allium cepa* L.) //Theoretical and applied genetics. – 2009. – T. 118. – C. 433-441.

87. Kim S. et al. Identification of candidate genes associated with fertility restoration of cytoplasmic male-sterility in onion (*Allium cepa* L.) using a combination of bulked segregant analysis and RNA-seq //Theoretical and Applied Genetics. – 2015. – T. 128. – C. 2289-2299.

88. Kim S. J. et al. Development of molecular markers associated with resistance to gray mold disease in onion (*Allium cepa* L.) through RAPD-PCR and transcriptome analysis //Horticulturae. – 2021. – T. 7. – №. 11. – C. 436.

89. Kim S. A codominant molecular marker in linkage disequilibrium with a restorer-of-fertility gene (*Ms*) and its application in reevaluation of inheritance of fertility restoration in onions //Molecular breeding. – 2014. – T. 34. – C. 769-778.

90. Kofoet A. et al. Inheritance of resistance to downy mildew (*Peronospora destructor* [Berk.] Casp.) from *Allium roylei* Stearn in the backcross *Allium cepa* L. × (*A. roylei* × *A. cepa*) //Plant Breeding. – 1990. – T. 105. – №. 2. – C. 144-149.

91. Krueger S. K., Weinman A. A., Gabelman W. H. Combining ability among inbred onions for resistance to *Fusarium basal rot* //HortScience. – 1989. – T. 24. – №. 6. – C. 1021-1023.

92. Manjunathagowda D. C. et al. Male sterility in onion (*Allium cepa* L.): origin: origin, evolutionary status, and their prospectus //Genetic Resources and Crop Evolution. – 2021. – T. 68. – C. 421-439.

93. Marzu J. C., Straley E., Havey M. J. Genetic analyses and mapping of pink-root resistance in onion //Journal of the American Society for Horticultural Science. – 2018. – T. 143. – №. 6. – C. 503-507.

94. McCollum, G.D., 1980. Development of the amphidiploid of *Allium galanthum* × *A. cepa*. *J Heredity* 71: 445–447.

95. Mishra B., Singh R. P. Fungicidal management of *Stemphylium* blight of onion caused by *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simmons //Biosciences Biotechnology Research Asia. – 2017. – T. 14. – №. 3. – C. 1043-1049.

96. Nanda S. et al. Identification of novel source of resistance and differential

response of *Allium* genotypes to purple blotch pathogen, *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri //The Plant Pathology Journal. – 2016. – T. 32. – №. 6. – C. 519.

97. Netzer D., Rabinowitch H.D., Weintal C. Greenhouse technique to evaluate pink root disease caused by *Pyrenochaeta terrestris*. – 1985. – V. 34. – P. 385-391.

98. Ohsumi C., Kojima A., Hinata K., Etoh T., Hayashi T. Interspecific hybrids between *Allium cepa* and *Allium sativum* // Theor. Appl. Genet. – 1993. – V. 85. – P. 969-975.

99. Pathak CS, Black LL, Cheng SJ, Wang TC, Ko SS (2001) Breeding onions for *Stemphylium* leaf blight resistance. *Acta Horti* (555):77–81

100. Peterka H., Budahn H., Schrader O. Interspecific hybrids between onion (*Allium cepa* L.) with S-cytoplasm and leek (*Allium ampeloprasum* L.) // Theor. Appl. Genet. – 1997. – V. 94. – P. 383-389.

101. Pflieger F. L., Vaughan E. K. *Pyrenochaeta terrestris* as a naturally occurring component of the soil in Oregon //Plant Dis. Rep. – 1972. – T. 56. – C. 180-182.

102. Rabinowitch H.D., Currah L. *Allium*. Crop Science: Recent advances. – 2002. – 544 p.

103. Sahoo J. et al. Development of SNP markers linked to purple blotch resistance for marker-assisted selection in onion (*Allium cepa* L.) breeding //3 Biotech. – 2023. – T. 13. – №. 5. – C. 137.

104. Scholten O. E. et al. The long and winding road leading to the successful introgression of downy mildew resistance into onion //Euphytica. – 2007. – T. 156. – C. 345-353.

105. Schweisguth B. Study of a new type of male sterility in onion, *Allium cepa* L. – 1973.

106. Sharma S. et al. Recent Advances in Molecular Genetics of Onion //Horticulturae. – 2024. – T. 10. – №. 3. – C. 256.

107. Shoaib A. et al. Influence of salinity and *Fusarium oxysporum* as the stress factors on morpho-physiological and yield attributes in onion //Physiology and Molecular Biology of Plants. – 2018. – T. 24. – C. 1093-1101.

108. Thakur P., Singh I. Biocontrol of soilborne root pathogens: an overview

//Root biology. – 2018. – С. 181-220.

109. Tsutsui K. Inheritance of Resistance to Fusarium Basal Rot in Onions (*Allium Cepa* L.). – University of Wisconsin--Madison, 1991.

110. Yasmin S. et al. Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by inoculated bacteria //PloS one. – 2016. – Т. 11. – №. 8. – С. e0160688.

111. Yu N., Kim S. Identification of Ms2, a novel locus controlling male-fertility restoration of cytoplasmic male-sterility in onion (*Allium cepa* L.), and development of tightly linked molecular markers //Euphytica. – 2021. – Т. 217. – №. 10. – С. 191.

112. Yurgel S. N. et al. Microbial communities associated with storage onion //Phytobiomes. – 2018. – Т. 2. – №. 1. – С. 35-41.

113. Zeng Y. et al. Therapeutic role of functional components in alliums for preventive chronic disease in human being //Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. – 2017. – Т. 2017. – №. 1. – С. 9402849.

#### **Интернет-ресурсы**

114. Реестр селекционных достижений. URL: <https://gossortrf.ru/registry/> (дата обращения 27.04.2024)

115. Indexfungorum - международный проект индексации научных названий в царстве грибов // URL: [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org) (дата обращения: 28.04.2022).

116. Royal Botanic Gardens, Kew (2023). Species Fungorum Plus. Checklist dataset URL: <https://doi.org/10.15468/ts7wsb> accessed via GBIF.org (дата обращения 11.05. 2023)

## Приложения

### Приложение А

#### Результаты дисперсионного анализа влияния генотипа на среднюю массу луковиц линий в 2023 году

Дисперсионный анализ						
<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	20708,75	5	4141,75	11,28514	1,78E-07	2,38607
Внутри групп	19818,5	54	367,0093			
Итого	40527,25	59				

#### Результаты дисперсионного анализа влияния генотипа на среднее содержание сухих веществ в луковицах линий в 2023 году

Дисперсионный анализ						
<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	60,17667	5	12,03533	24,27566	1,03E-09	2,533555
Внутри групп	14,87333	30	0,495778			
Итого	75,05	35				

#### Результаты дисперсионного анализа влияния генотипа на среднюю массу луковиц F1-гибридов в 2020 и 2023 году

Дисперсионный анализ						
<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	2043678	9	227075,4	57,80001	2,83E-75	1,895737
Внутри групп	2317897	590	3928,639			
Итого	4361575	599				

#### Результаты дисперсионного анализа влияния генотипа на среднее содержание сухих веществ F1-гибридов в 2020 и 2023 году

Дисперсионный анализ						
<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>

Между группами	99,126	9	11,014	11,65708	1,29E-07	2,210697
Внутри групп	28,345	30	0,944833			
Итого	127,471	39				

**Результаты дисперсионного анализа распределения по группам ОКС линий, по признаку среднего содержания сухих веществ в 2023 году**

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	12,8165	4	3,204125	19,17745	0,0031	5,192168
Внутри групп	0,835389	5	0,167078			
Итого	13,65189	9				

**Результаты дисперсионного анализа распределения по группам ОКС линий, по признаку средней массы луковиц в 2024 году**

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	69066,93	3	23022,31	24,50206	2,95E-10	2,769431
Внутри групп	52618	56	939,6071			
Итого	121684,9	59				

**Результаты дисперсионного анализа распределения по группам ОКС линий, по признаку среднего содержания сухих веществ в 2024 году**

Дисперсионный анализ

<i>Источник вариации</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-Значение</i>	<i>F критическое</i>
Между группами	7,980278	3	2,660093	14,23461	0,013354	6,591382
Внутри групп	0,7475	4	0,186875			
Итого	8,727778	7				

## Приложение Б

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

**№ 2834769**

### Способ создания мужски-стерильных F1-гибридов лука репчатого, устойчивых к заболеваниям

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева" (ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева) (RU)*

Авторы: *Эйдлин Яков Тарасович (RU), Монахос Сократ Григорьевич (RU)*

Заявка № 2023126677

Приоритет изобретения **18 октября 2023 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **17 февраля 2025 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **18 октября 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью

Сертификат: 0692e7c1a6300bf54f2401670bca2026

Владелец: **Зубов Юрий Сергеевич**

Действителен с 10.07.2024 по 03.10.2025

*Ю.С. Зубов*

