На правах рукописи

ЧЕРЕДНИЧЕНКО ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

ПОДБОР И СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ЛУКА РЕПЧАТОГО (*Allium cepa L.)* ДЛЯ ЮЖНОГО РЕГИОНА РФ

Специальность: 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр овощеводства» Минобрнауки РФ (ФГБНУ ФНЦО), лабораторно-полевые опыты проведены в Селекционном центре «Гавриш», в 2016-2021 гг.

Научный руководитель:
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
академик РАН, научный руководитель
ФГБНУ ФНЦО **Пивоваров Виктор Федорович**

Официальные оппоненты:
доктор сельскохозяйственных наук,
зав. кафедрой ботаники, селекции и семеноводства
садовых растений ФГБНУ «Российский государственный
аграрный университет – Московская сельскохозяйственная
академия имени К.А. Тимирязева» **Монахос Сократ Григорьевич**

кандидат сельскохозяйственных наук,
ведущий научный сотрудник, и.о. зав. Отделом
генетических ресурсов овощных и бахчевых культур,
куратор коллекций капусты и салата ФГБНУ
«Федеральный исследовательский центр Всероссийский
институт генетических ресурсов растений имени
Н.И. Вавилова» **Артемьева Анна Майевна**

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина»

Защита состоится « » сентября 2022 года в 10:00 на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 220.019.02, созданном на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» по адресу: 143080, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14.

Тел: +7 (495) 599-24-42 e-mail: vniissok@mail.ru
Факс: +7 (495) 599-22-77; aspirantura@vniissok.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» и на сайте института www.vniissok.ru

Автореферат разослан « ___» _____ 2022 года
ученый секретарь совета по защите
докторских и кандидатских
диссертаций Д 220.019.02,
доктор сельскохозяйственных наук,
старший научный сотрудник Бондарева Людмила Леонидовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Лук репчатый в России выращивают на площади более 59 тыс. га, объемы производства составляют более 1,7 млн. т. Юг России является главным регионом выращивания лука репчатого, при этом базовые селекционные центры в нашей стране, где ведутся работы по созданию гибридов лука репчатого, расположены в Московской области (регион северных широт). Поэтому большинство сортов и гибридов, созданных в этих учреждениях, плохо адаптированы к условиям южного региона с более короткой длиной дня. Исходя из этого, создание исходного материала для целевой селекции и новых конкурентоспособных гибридов лука репчатого является актуальной и востребованной задачей. Современные реалии развития сельского хозяйства требуют ускорения селекционного процесса путем внедрения инновационных технологий молекулярного анализа и биотехнологии.

Цель работы – создание исходного материала лука репчатого (*Allium cepa L.*) с комплексом основных хозяйственно ценных признаков для селекции на гетерозис на основе ЦМС в условиях Южного региона России.

Задачи исследований:

1. Оценить коллекционный и селекционный материал различного происхождения по основным морфологическим и хозяйственно ценным признакам.
2. Выявить полиморфизм коллекционных и селекционных образцов лука репчатого по типу цитоплазмы и аллельному состоянию ядерных генов стерильности посредством молекулярно-генетического анализа Real-time PCR и отобрать перспективные источники стерильности и фертильности.
3. Создать методами инбридинга и MAS-селекции исходный материал стерильных и фертильных родительских линий с улучшенным сочетанием хозяйственно-ценных признаков для получения гибридов на основе ЦМС.
4. Выделить перспективные изогенные пары материнских линий лука репчатого на основе оценки по признаку ЦМС и комплексу селекционно важных признаков потомств, полученных путем гибридизации стерильных и фертильных форм (S/msms x N/msms).
5. Получить и оценить гибридные комбинации между лучшими стерильными материнскими линиями и фертильными отцовскими линиями-опылителями и выделить перспективные гибриды F1 лука репчатого, отвечающие требованиям потребителей и производителей товарного лука.

6. Изучить селекционно значимые признаки удвоенных гаплоидов (DH-растения) лука репчатого, полученных методом культуры неопыленных семяпочек *in vitro*, и выделить наиболее ценные генотипы для создания гомозиготных линий лука репчатого.

Научная новизна. Выявлены взаимосвязи и степень варьирования основных морфологических и хозяйственно ценных признаков коллекционного материала лука репчатого различного происхождения в условиях Южного региона России и показана их селекционная ценность как источников скороспелости, урожайности, высокой сохранности, твердости сухих чешуй, повышенного содержания сахаров.

Впервые показана высокая результативность включения в селекционный процесс разработанных в Селекционном центре «Гавриш» систем молекулярных маркеров для анализа состояния цитоплазмы (Fret 36) и ядерных генов стерильности (Fret 26) на основе метода Real-time PCR как экспресс оценки полиморфизма образцов лука репчатого по признаку цитоплазматическая мужская стерильность. На основе скрининга типа цитоплазмы и аллельного состояния ядерных генов стерильности выделены образцы, которые являются источниками стерильных форм, донорами фертильных генотипов - закрепителей стерильности и опылителей для создания родительских линий гетерозисных гибридов лука репчатого на основе ЦМС.

На основе методов традиционной селекции, молекулярно-генетического анализа и биотехнологии созданы новые родительские линии для гибридов F1 лука репчатого - изогенные линейные пары материнского стерильного компонента и отцовские фертильные линии-опылители (в том числе и на основе DH-растений), сочетающие в себе наиболее ценные признаки. Получены перспективные гибридные комбинации, отвечающие условиям модели гибридов F1 лука репчатого для Южных регионов РФ и требованиям современного рынка.

Практическая значимость. Создан новый исходный материал и основа родительских линий для получения гибридов лука репчатого на основе ЦМС: 18 перспективных потенциально изогенных пар по признаку «мужская стерильность» с низким коэффициентом вариации, максимально схожих между собой, 39 линий опылителей, 14 гибридных комбинаций на основе перспективных стерильных линий и линий опылителей, а также две гомозиготные ли-

нии и две гибридные комбинации на основе выделенных гомозиготных DH-линий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Источники и новый исходный материал лука репчатого с улучшенными хозяйственно-ценными признаками;
2. Эффективность метода Real-time PCR для мониторинга ЦМС и выделения форм с необходимыми генотипами; создание изогенных пар материнских стерильных линий, фертильных линий закрепителей стерильности и опылителей для гетерозисных гибридов лука репчатого;
3. Характеристика DH-линий лука репчатого и перспектива их использования в качестве отцовских линий опылителей для гетерозисных гибридов.

Степень достоверности и апробации работы. Исследования выполнены в соответствии с общепринятыми методиками. Достоверность результатов подтверждена экспериментальными исследованиями, статистической обработкой полученных данных. Результаты работы доложены на научно-практической конференции «Инновационные методы селекции овощных культур» (Крымск, 2017), V международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции и семеноводстве луковых культур. Традиции и перспективы» (Москва, 2018),ежегодной отчетной сессии в НИИ селекции овощных культур «Крымский селекционный центр» и ФГБНУ ФНЦО в 2016-2021 гг. По материалам диссертации опубликованы 2 печатные работы в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, а также 1 статья в сборниках докладов и тезисов.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 189 страницах, содержит 48 таблиц, 64 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, методики проведения исследований, анализа результатов исследований, выводов, списка использованной литературы, включающего 162 наименования, в т.ч. 45 иностранных авторов; 9 приложений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Место исследований. Работа выполнена в 2016-2021 гг. на базе ФГБНУ ФНЦО, лабораторно-полевые опыты проведены в Селекционном центре «Гавриш», расположенном в Крымском районе Краснодарского края.

Материал исследований. За 2016-2018 гг. в питомнике исходного материала было изучено 13 сортов и 35 гибридов F_1 лука репчатого отечествен-

ной и зарубежной селекции. В качестве объектов исследований были выбраны коллекционные образцы разных групп спелости: ранние, среднеспелые и позднеспелые образцы лука репчатого. В качестве стандартов использовались соответственно гибриды: F_1 Bonus (Takii), F_1 Talon (Bejo Zaden), F_1 Dajtona (Bejo Zaden). В питомнике селекционного материала изучено 425 инбредных потомств разных сроков созревания и окраски, 250 из них первого поколения, 175 второго поколения, 80 – третьего поколения. В гибридном питомнике изучено 14 гибридных комбинаций лука репчатого.

Методы исследований. Опыт по сортоизучению был заложен в питомнике исходного материала, площадь делянок 1,5 м^2. В селекционном питомнике проводили фенотипическую оценку гибридных комбинаций и инбредных потомств, площадь делянок 2-3 м^2 (в зависимости от наличия семенного материала).

Технологические операции проводили в следующие сроки: посев 8-12 апреля, высадка рассады 6-11 мая, уборка с 20-28 июля

Посев семян лука репчатого проводили в рассадном отделении в кассеты с торфом, предварительно пропитанным питательным раствором, содержащим комплексное удобрение «нитроаммофоска» в дозе 15-20 г/10 л. Далее кассеты накрывали агротканью для создания наилучшего теплового и водного режимов, что позволяло через 6-7 дней получить дружные всходы.

Высадку рассады вели вручную в нарезанные гряды в фазе 2-х настоящих листьев по схеме: 15+15+15+15+45х7 см. Далее все технологические мероприятия по уходу за растениями проводили по общепринятой технологии, как и при безрассадном способе выращивания (Пивоваров В.Ф. и др., 2005; Литвинов С.С., 2008).

Уборку лука репчатого вели также вручную в фазе технологической спелости, при полном формировании луковицы, массовом полегании листвы, приобретении характерной для сорта окраски у сухих чешуй. Оптимальный срок уборки при 60% полегании листьев. (Литвинов С.С., 2008).

В селекционном питомнике второго года использования во второй декаде октября для оценки стерильности, гибридизации и проведения насыщающих скрещиваний попарно высаживались стерильные растения и растения закрепители стерильности. Отдельно высаживались образцы, предназначенные для создания линий опылителей. Далее в зависимости от количества растений

на семенные растения были надеты изоляторы из агроткани или изоляционные домики из фасадной сетки «Изумруд», в которые для опыления были помещены куколки мух. Дальнейший уход за семенниками проводили по общепринятой технологии (Пивоваров В.Ф. и др., 2005).

При проведении исследований пользовались следующими методиками: ОСТ-4671-78 «Делянки и схемы посева в селекции сортоиспытании и первичном семеноводстве овощных культур. Параметры», «Методика полевого опыта» (Доспехов Б.А., 1985), «Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве» (Белик В.Ф., 1992), «Методика полевого опыта в овощеводстве и бахчеводстве (Литвинов С.С., 2011), RTG/46/2 «Оценка на отличимость, однородность и стабильность лука репчатого» 5 сентября 2000 г. № 12-06/16, Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур, выпуск четвертый 2015.

Учет по хранению луковиц выполняли с использованием методических указаний по хранению овощей (Широков Е.П., 1982). В процессе хранения лука (5 месяцев) регулярно, каждые 2 недели, перебирали образцы, учитывая число проросших, сгнивших луковиц и определяли процент сохранности, путем вычисления доли сохранившихся луковиц от общего числа луковиц данного образца.

Для оценки содержания растворенного сухого вещества (сахаров) использовали рефрактометр (KETOTEK ATC), твердость определяли пенетрометром (PCE-FM200).

Учет урожайности определяли поделяночно, весовым методом. Так как в опытах в коллекционном питомнике образцы высаживали через рассаду, то густота стояния составила 56 растений на 1 м^2. В промышленной технологии возделывания лука репчатого используется 8-ми строчная схема посева, где на 1 м^2 расположено 80 растений и 800 тыс. растений на 1 га соответственно. Поэтому для более объективной оценки изученных образцов и поиска селекционно ценных источников была рассчитана их потенциальная урожайность исходя из усредненных фактических значений массы луковицы.

Удвоенные гаплоиды лука репчатого были получены методом культуры семяпочек на базе лаборатории биотехнологии Селекционного центра «Гавриш» с использованием усовершенствованной в центре технологии на основе методических рекомендаций Монахоса С.Г. и др. (2014). Молекулярный ана-

лиз проводили совместно с сотрудниками лаборатории молекулярных маркеров Селекционного центра «Гавриш» посредством Real-time PCR с использованием маркерной системы Fret 36 на анализ цитоплазмы и маркерной системы Fret 26 на анализ ядерных генов, разработанные Будылиным М.В. Амплификацию проводили на приборе Light Cycler 480 II. Обработку результатов выполняли при помощи программного обеспечения Light Cycler® 480 SW 1.5.1.

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Microsoft Exsel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка образцов лука репчатого в питомнике исходного материала по хозяйственно ценным признакам

За годы исследований проведена оценка коллекционных образцов по основным морфологическим признакам и определен коэффициент вариации у наиболее значимых количественных признаков в пределах разных группах спелости. К наиболее вариабельным признакам у всех групп спелости относится твердость сочных чешуй и зачатковость у раннеспелых и среднеспелых образцов (рис. 1). Среднее варьирование Cv<18% у твердости сухих чешуй и массы луковицы независимо от групп спелости. Слабое варьирование отмечено у такого признака как лежкость (Cv=3-6%).

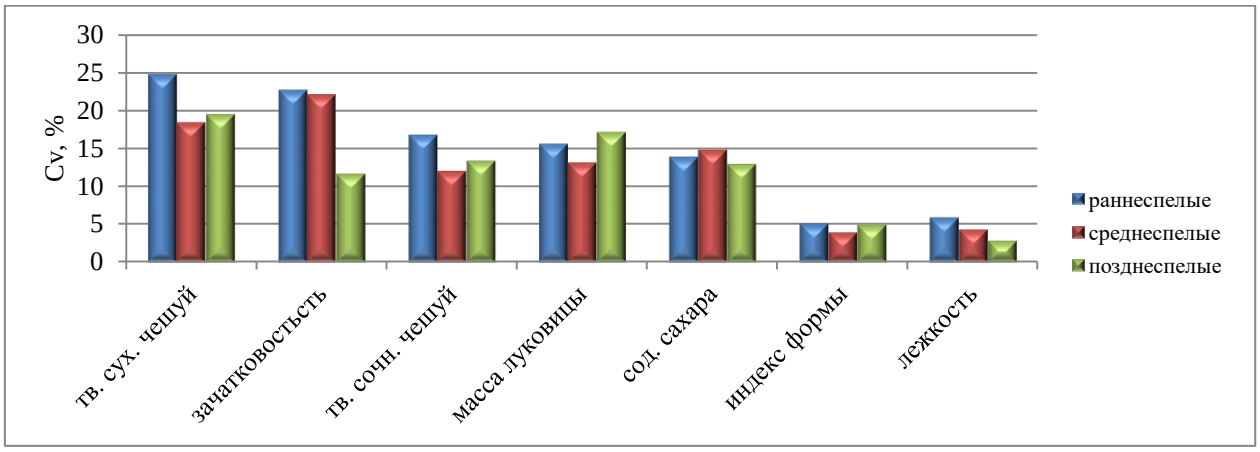
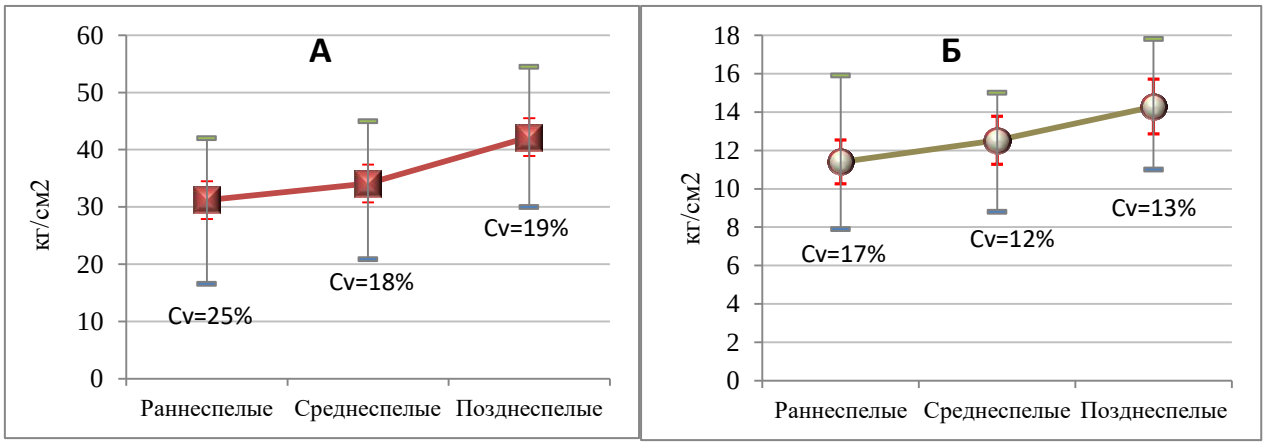


Рис. 1. Коэффициенты вариации у количественных признаков лука репчатотого разных групп спелости (Крымский селекционный центр «Гавриш», 2016-2018 годы)

Признаки «твердость сухих чешуй» и «твердость сочных чешуй» определяют сохранность луковиц в процессе уборки и хранения. Корреляционный анализ выявил, что связь между ними сопряжена на уровне r=0,67 и четко про-

слеживается тенденция увеличения средних значений показателей твердости в пределах групп от раннеспелых образцов к позднеспелым (рис.2).



*серые пределы на рисунке показывают min и max, красные пределы – стандартное отклонение средних.

Рис. 2. Степень варьирования твердости сухих (А) и сочных чешуй (Б) у коллекционных образцов (Крымский селекционный центр «Гавриш», кг/см^2, 2016-2018 годы)

Поскольку эти селекционно значимые признаки относятся к группе изменчивых и варьируют в пределах каждой группы в достаточно широком диапазоне, поэтому образцы оценивали, не только сравнивая их с соответствующими стандартами в каждой группе спелости, но и по их выравненности. В группе раннеспелых образцов по твердости чешуй выделились гибриды F1 Nun 7202 ON и F1 Nun 0726 ONL с низкой изменчивостью признаков. Для группы среднеспелых и позднеспелых сортов, предназначенных для длительного хранения, определяющее значение имеет твердость сухих чешуй. В среднеспелой группе наиболее твердые сухие чешуи и низкий коэффициент вариации отмечены у гибрида F1 Every Joy и сорт Bolton, а в группе позднеспелых - F1 Dora, F1 Elenka и Banko.

По массе луковицы и степени ее выровненности (коэффициент вариации менее 25%) среди раннеспелых образцов можно отметить гибриды: F1 CRX 2311, F1 Sherman и F1 Derbi. Лидерами по урожайности (более 8,5 кг/м^2) являются гибриды F1 Sherman, F1 CRX 2384 и F1 Derbi. Наибольший процент товарности отмечен у образцов F1 Bonus, F1 CRX 2311, F1 Sherman (табл.1).

Таблица 1. Результаты оценки раннеспелых образцов лука репчатого по признаку масса луковицы и урожайность, г. Крымск 2016-2018 годы

№	Название образца	Средняя масса, г X=X±Sd	Коэффициент вариации, Cv%	Общая урожайность, кг/м^2	Товарная урожайность		Потенциальная урожайность, т/га
					кг/м^2	%	
1	**F1 Bonus, st**	108,9±5,1^{a}	19,5	6,4	6,3	98	87
2	F1 Spring Joy	151,2±10,6^{f}	27,7	8,2	7,6	93	121
3	F1 Центавр	109,7±11,6^{a}	35,5	6,6	6,1	93	88
4	F1 Isi 30230	132,2±8,1^{c}	24,7	6,2	6,0	96	106
5	F1 Takstar	161,8±10,6^{f}	36,1	7,7	7,0	91	129
6	F1 CRX 2384	158,1±11,4^{f}	32,3	8,6	7,9	92	126
7	F1 Derbi	178,0±10,0^{g}	24,2	9,4	8,9	95	142
8	F1 Sherman	133,0±9,8^{c}	23,2	8,6	8,3	97	106
9	F1 Muzyka	154,2±10,8^{f}	31,4	7,7	7,1	92	123
10	F1 Nun 07206 ONL	117,6±8,0^{a}	33,0	6,3	5,7	91	94
11	F1 Nun 7202 ON	121,1±7,9^{ab}	31,9	6,0	5,5	92	97
12	F1 Harrison	110,7±9,4^{a}	30,9	6,1	5,7	93	89
13	F1 CRX 2313	120,1±9,9^{ab}	36,8	6,3	5,7	90	96
14	F1 CRX 2311	143,6±6,3^{d}	19,6	8,3	8,1	97	115
15	Экстаз	140,8±8,6^{cd}	25,6	8,0	7,6	95	113
16	Примо	120,1±10,0^{ab}	27,8	8,2	7,7	94	96
17	Среднее значение	135,1					
	$НСР_{05}$			1,5	1,3		

верхние индексы указывают на значимость различий между образцами по тесту множественных диапазонов Дункана при P≤0,05.

В группе среднеспелых образцов гибриды F1 Tamara и F1 Campero, а также сорта Bolton и Densiti по урожайности достоверно превысили стандарт на 1,1-1,9 кг/м^2. По массе луковицы, а также ее выровненности выделились F1GVR 712 и сорт Densiti. Гибриды F1 Talon, F1 Proteus, F1 Korona, F1 Safran, а также сорт Densiti имели высокий процент товарной продукции (табл.2). Среди позднеспелых образцов гибрид F1 Катинка по урожайности превысил стандарт на 2,5 кг/м^2. По крупности луковицы выделились гибриды: F1 Manas, F1 Katinka и F1 Benefit, по товарности - F1 Super nova, F1 Titan, Leon и Basar, а низкая изменчивость по этому признаку отмечена у гибридов F1 Титан и сорта Базар (табл.2).

Таблица 2. Масса луковицы и урожайность образцов лука репчатого средне- и позднеспелых групп, г. Крымск 2016-2018 годы

№	Название образца	Средняя масса, г X=X±Sd	Коэффициент вариации, Cv%	Общая урожайность, кг/м^2	Товарная урожайность		Потенциальная урожайность, т/га
					кг/м^2	%	
среднеспелые							
1	**F1 Talon, st**	98,1±6,0 ^{a}	22,4	7,5	7,3	97	78
2	F1 Every Joy	108,3±6,6 ^{ab}	25,9	8,0	7,7	96	87
3	F1 Proteus	109,5±5,3 ^{ab}	21,4	8,3	8,1	97	88
4	F1 Santero	109,5±5,0 ^{ab}	23,4	8,2	7,9	96	88
5	F1 GVR 712	126,9±8,6 ^{c}	26,1	7,9	7,5	95	102
6	F1 Korona	98,1±5,4 ^{a}	23,9	7,4	7,1	96	78
7	F1 Tamara	143,9±8,2 ^{d}	29,6	9,6	8,9	93	115
8	F1 Alonso	106,9±4,3 ^{ab}	17,8	8,3	8,1	97	86
9	F1 Spirit	107,9±6,4 ^{ab}	24,7	8,3	7,8	94	86
10	F1 Safran	107,6±5,2 ^{ab}	19,3	8,0	7,8	98	97
11	F1 Campero	139,9±8,9 ^{d}	29,7	8,8	8,2	93	112
12	Gordion	95,0±11,3 ^{a}	34,3	7,4	6,9	93	76
13	Eksibishen	113,6±5,9 ^{b}	30,0	8,5	7,9	93	91
14	Densiti	127,7±7,1 ^{c}	23,2	8,7	8,4	97	102
15	Bolton	134,5±9,7 ^{cd}	29,8	8,6	8,0	93	108
16	Jankat	134,8±11,6 ^{cd}	29,6	8,1	7,5	92	108
17	Престиж	120,6±5,9 ^{c}	28,4	7,9	7,3	92	96
7	Среднее	116,6					
	$НСР_{05}$			1,0	0,9		
позднеспелые							
1	**F1 Dajtona, st**	122,4±8,6^{c}	31,0	6,8	6,5	95	98
2	F1 Super nova	115,4±8,7 ^{b}	24,7	6,9	6,8	98	92
3	F1 Titan	96,9±4,8 ^{a}	22,7	6,8	6,6	97	78
4	F1 Benefit	159,0±10,6 ^{e}	30,1	8,4	7,8	93	127
5	F1 Dora	137,9±10,6 ^{d}	34,3	8,1	7,5	92	110
6	F1 Manas	148,6±12,6 ^{e}	32,7	8,0	7,4	93	119
7	F1 Katinka	187,7±14,9 ^{e}	27,5	9,3	8,7	94	150
8	F1 Derek	123,2±8,2 ^{c}	28,1	6,8	6,4	94	99
9	F1 Elenka	136,0±8,7 ^{d}	28,6	7,4	6,9	93	109
10	F1 Polaks	140,4±13,1^{d}	26,4	7,9	7,7	97	112
11	Кремень	125,4±8,7 ^{c}	31,2	6,5	6,0	93	100
12	Banko	162,2±7,0 ^{e}	22,8	8,6	8,3	96	130
13	Leon	145,6±10,6 ^{d}	24,9	8,4	8,1	97	116
14	Basar	109,1±6,1 ^{b}	16,9	7,1	6,9	97	87
15	Ампэкс	119,2±8,7 ^{c}	26,3	7,0	6,7	96	95
Среднее		135,3					
$НСР_{05}$				1,5	1,3		

верхние индексы указывают на значимость различий между образцами по тесту множественных диапазонов Дункана при P≤0,05.

Изучение коллекционных образцов лука репчатого по признаку ЦМС с помощью Real-Time PCR

Real-Time скрининг коллекционных образцов лука репчатого с помощью ПЦР-маркеров позволил выявить различия на уровне внутрипопуляционного полиморфизма изученных гибридов и сортов лука репчатого по состоянию и сочетанию типа цитоплазмы и ядерного гена мужской стерильности и выделить наиболее ценные образцы для включения в селекционный процесс создания нового линейного материала (табл. 4).

Таблица 4. Степень стерильности и состав генотипов по состоянию цитоплазмы и ядерных генов стерильности выделенных коллекционных образцов, г. Крымск 2017 год

Название	Частота встречаемости стерильных форм по фенотипу,%	Тип цитоплазмы по анализу Real Time PCR	Ядерные гены
Elenka	5	N,S	MsMs;Msms;msms
CRX 2311	3	N,S	MsMs;Msms;msms
Densiti	1	N,S	MsMs;Msms;msms
Super nova	3	N,S	MsMs;Msms;msms
Derek	1	N,S	MsMs;Msms;msms
Leon	1	N,S	MsMs;Msms;msms
Banko	30	N,S	MsMs;Msms;msms
Takstar	32	S	Msms;msms
Muzyka	36	N,S	MsMs;Msms;msms
Derbi	29	S	Msms;msms
Bonus	20	S	Msms;msms
Harrison	100	S	msms
Katinka	100	S	msms
Talon	10	S	Msms;msms
Tamara	11	S	Msms;msms
Safran	35	S	Msms;msms
Dajtona	70	S	Msms;msms
Spirit	33	S	Msms;msms
Benefit	100	S	msms
Proteus	22	S	Msms;msms

Анализ растений во время цветения в полевых условиях подтвердил результаты лабораторного анализа посредством Real-Time PCR. В целом общее отклонение фактических данных от PCR-анализа составило всего 0,2%. Что говорит о полном соответствии с генетическими маркерами. В качестве источников стерильных форм с генотипом S/msms можно использовать следующие образцы: F_1 Harrison, F_1 Katinka, F_1 Benefit, а также образцы Bonus, Sherman, Talon, Safran, Dajtona. Образцы Super nova, Leon и Densiti являются ис-

точниками фертильных закрепителей стерильности, которые имеют генотип Nmsms. Остальные образцы можно использовать для создания фертильных линий-опылителей с генотипами N/MsMs, N/Msms, N/msms, S/MsMs, S/Msms, среди которых наибольший интерес по сочетанию с другими признаками имеют образцы Дерби и Талон.

В результате оценки и анализа всего комплекса изученных признаков были выделены наиболее ценные селекционные образцы, с различным сочетанием наиболее значимых признаков (табл.5).

Таблица 5. Источники хозяйственно-ценных признаков, г. Крымск 2018 год

Признаки	Источники хозяйственно-ценных признаков		
	раннеспелые	среднеспелые	позднеспелые
Спелость: для конвейерного производства	(<85 суток) F1 Bonus, F1 Muzyka	(96-103 суток) F1 Spirit, F1 Gordion F1 Safran,	(126-130 суток) F1 Manas, Leon, Banko
Масса луковицы (>130 г)	F1 Derbi, F1 CRX 2311	F1 Campero, F1 Spirit	F1 Katinka, F1 Manas, F1 Super nova
Твердость сухих чешуй (>30 кг/см^2)	F1 Nun 7202, F1 CRX 2311	F1 Talon, F1 Tamara, F1 Campero	F1 Октант, F1 Manas
Повышенное содержание сахаров (>7,5 %)		F1 Campero, F1Spirit, F1 Talon	F1 Polaks
Устойчивость к болезням	F1 Bonus, F1 Nun 07206 ONL, F1 CRX 2311	F1 Talon, F1 Tamara	F1 Benefit, F1 Super nova, F1 Derek.
Высокая лежкость (> 92%)		F1 Proteus	F1 Katinka, F1 Manas, F1 Polaks
ЦМС (Smsms)	F1 Derbi, F1 Harrison	Safran, F1 Talon, Spirit, F1 Proteus	F1 Benefit, Dajtona
Закрепитель стерильности (N/msms)	F1 Muzyka, F1 CRX 2311	Densiti	F1 Elenka, F1 Derek, F1 Super nova, Banko, Leon

Создание линейного материала лука репчатого для селекции на гетерозис на основе ЦМС с использованием традиционных, молекулярных и биотехнологических методов

Получение изогенных пар стерильных материнских линий. Для создания изогенных пар на основе молекулярного и фенотипического анализа был проведен отбор стерильных форм с генотипом S/msms. Фертильные растения с подтвержденным генотипом N/msms (потенциальные закрепители стерильности) соответственно использовали в качестве отцовской формы в гибридизации со стерильными растениями. Пары подбирали максимально близ-

кие по комплексу хозяйственно ценных признаков (срок созревания, окраска и форма луковиц и т.д.), так как после четырех-пяти последовательных скрещиваний между стерильными растениями и растениями закрепителями стерильности быстрее достигается изогенность – генетическая и морфологическая идентичность. В наших исследованиях было проведено только одно насыщающее скрещивание, поэтому далее мы будем использовать термин «потенциально изогенная пара». Всего было проведено более 850 комбинаций скрещивания (табл. 6).

На следующем этапе работы среди потенциально изогенных пар провели оценку и отбор по хозяйственно ценным качественным и количественным признакам луковицы. Для дальнейшей работы из раннеспелых потомств отобраны образцы отцовской и материнской формы с желтой окраской сухих чешуй любой интенсивности, а также с коричневой окраской средней и светлой интенсивности, округлой и широкоэллиптической формы, которые имеют среднюю толщину и сцепление сухих чешуй. Всего из 120 пар было отобрано 46 пар с максимальным соответствием качественных признаков внутри пары.

Таблица 6. Общее число проведенных скрещиваний S/msms x N/msms и полученных потенциальных изогенных пар, г. Крымск 2017-2018 годы

Образцы - источники		Группа спелости	Число скрещиваний, шт.	Число изогенных пар, шт.
♀ S/msms- растений	♂ N/msms - закрепителей			
Derbi, Bonus	Muzyka	Раннеспелые	100	96
Bonus Harrison	CRX 2311	Раннеспелые	38	24
Talon, Tamara, Spirit, Safran, Proteus	Densiti	Среднеспелые	160	72
Katinka, Benefit	Super nova	Позднеспелые	64	25
	Derek	Позднеспелые	54	27
	Banko	Позднеспелые	70	45
	Leon	Позднеспелые	46	27
	Elenka	Позднеспелые	324	221
Всего			856	531

Среди 72 изогенных пар из среднеспелой группы отобрано 45 потомств с коричневой окраской разной степени интенсивности, со средними и толстыми

сухими чешуями, которые сцеплены между собой в сильной и средней степени, имеющие округлую и широко-эллиптическую форму.

Для позднеспелых образцов предпочтительна коричневая окраска и прочные чешуи с хорошим сцеплением, что имеет большое значение для механической уборки, транспортировки и хранения. По этим признакам для дальнейшей работы пригодно большинство полученных образцов. Основной отбор здесь вели по форме луковицы, отбраковывая образцы с широкояйцевидной и поперечно-эллиптической формой. Всего из 318 пар по качественным признакам была отобрана 141 пара.

Таким образом, из 531 полученной потенциально изогенной пары по признаку мужская стерильность у лука репчатого после оценки и отбора по качественным хозяйственно ценным признакам луковицы было отобрано 232 пары из всех групп спелости. Далее все отобранные потомства анализировали по количественным признакам: индекс формы луковицы, ее масса, содержание сахаров, зачатковость, лежкость, твердость сухих и сочных чешуй, а также определяли степень выровненности всех признаков. Оценку проводили на 20 луковицах в каждом образце потенциально изогенной пары: как в стерильной гибридной комбинации, так и в инбредном потомстве фертильной отцовской формы.

У раннеспелых изогенных пар в инбредном потомстве первого поколения были отобраны потомства с коротким вегетационным периодом, у которых индекс формы варьировал в пределах 1,0-1,2, коэффициент вариации не превышал 19%. По содержанию сахара были отобраны сладкие и полуострые образцы с минимальным коэффициентом вариации. По массе луковицы и твердости сухих чешуй были отобраны наименее вариабельные потомства.

У среднеспелых инбредных потомств отбирали образцы с высокой лежкостью (более 90%) и твердостью сухих чешуй в пределах 28-40 кг/см^2, индексом формы не более 1,3 и наиболее стабильным проявлением этих признаков. Также отбирали образцы с содержанием сахара, не менее 7,2% и низкой зачатковостью, которая во всех образцах в среднем не превышала 1,3.Основной отбор у позднеспелых инбредных потомств вели на лежкость (более 92%), твердость сухих чешуй (более 30 кг/см^2), индекс формы, который должен быть не менее 0,9 и не более 1,3. Также отбирали потомства с высоким содержанием

сахара (8,2-9,1%) и довольно крупной луковицей (120-130г), учитывая низкие коэффициенты вариации по всем признакам.

После качественной и количественной оценки для более детальной характеристики и отбора наиболее выровненных потенциально изогенных пар были определены пределы колебаний количественных признаков внутри пар в каждой группе спелости. Выделены пары, у которых отмечена низкая вариабельность и наибольшее совпадение пределов изменчивости основных признаков у закрепителей стерильности и гибридных комбинаций, тем самым обеспечивая максимальную схожесть внутри пар по этому признаку.

Таким образом, комплексная оценка по хозяйственно ценным признакам 531 стерильной гибридной комбинации и их закрепителей стерильности дала возможность выделить для дальнейшей работы 18 наиболее перспективных потенциально изогенных пар разных групп спелости (табл.7).

Таблица 7. Выделенные потенциально изогенные пары лука репчатого, г. Крымск 2018 год

№ п/п	Шифр изогенной пары	Источники родительских форм	
		Стерильный компонент	Фертильный компонент-закрепитель стерильности
ранние			
1	100 х 1112	Bonus	Muzyka
2	100 х 1164	Bonus	CRX 2311
3	210 х 1180	Derbi	Muzyka
4	301 х 1210	Харрисон	CRX 2311
средние			
5	408 х 1232	Talon	Densiti
6	515 х 1240	Tamara	Densiti
7	604 х 1259	Spirit	Densiti
8	701 х 1264	Safran	Densiti
9	801х 1296	Proteus	Densiti
поздние			
10	908 х 1305	Benefit	Elenka
11	908 х 1438	Benefit	Super nova
12	908 х 1454	Benefit	Banko
13	908 х 1475	Benefit	Leon
14	908 х 1498	Benefit	Derek
15	1005 х 1523	Katinka	Elenka
16	1005 х 1615	Katinka	Super nova
17	1005 х 1628	Katinka	Banko
18	1005 х 1642	Katinka	Derek

Все отобранные луковицы у выделившихся потенциально изогенных пар были высажены для проведения следующих насыщающих скрещиваний. В начале цветения у всех гибридных комбинаций была проведена фенотипическая оценка на сохранение признака стерильности, а у всех закрепителей стерильности – фертильности. По результатам которой, все гибридные комбинации были стерильными, закрепители стерильности – фертильными, что подтверждает правильный выбор нужных растений для создания изогенных пар.
После второго насыщающего скрещивания для дальнейшей работы было отобрано шесть наиболее выровненных стерильных линий на основе изогенных пар: раннеспелые – Harrison x CRX 2311, среднеспелые – Spirit x Densiti, Safran x Densiti, позднеспелые – Benefit x Elenka, Benefit x Leon, Katinka x Derek, основная характеристика которых дана в таблице 8. Они были использованы в качестве стерильного материнского компонента (линии А) при скрещивании с фертильными опылителями (линия С) для создания и оценки предварительных гибридных комбинаций.

Таблица 8. Характеристика лучших потенциально изогенных пар лука репчатого, г. Крымск 2018 год

Селекционный номер	Масса луковицы		Форма луковицы		Содержание сахара		Зачатковость		Твердость сухих чешуй		Лежкость, %	Линия
	кг/м^2	Cv,%	индекс	Cv,%	^{0}Bx	Cv,%	шт.	Cv,%	кг/см^2	Cv,%		
301/1210	115,8	28	1,2	17	7,6	14	1,0	25	19,4	21	-	ms-A
1210	109,8	24	1,1	14	7,8	12	1,0	18	21,8	28	-	mf-B
604/1259	109,2	30	1,1	16	7,6	16	1,2	28	35,6	31	93	ms-A
1259	100,0	22	1,2	16	8,0	16	1,0	10	38,3	38	96	mf-B
701/1264	130,6	29	1,0	15	7,8	15	1,1	30	32,5	35	96	ms-A
1264	85,5	26	1,0	15	7,5	14	1,0	25	30,9	33	100	mf-B
908/1305	122,6	28	1,2	8	7,6	8	1,1	31	32,8	28	96	ms-A
1305	83,6	32	1,1	10	8,0	10	1,0	25	38,0	30	99	mf-B
908/1475	121,0	35	1,3	11	7,4	10	1,2	35	36,0	33	94	ms-A
1475	105,4	25	1,1	13	7,2	12	1,1	25	25,3	28	98	mf-B
1105/1642	123,2	24	1,0	9	8,0	8	1,1	37	35,0	30	100	ms-A
1642	98,5	27	0,9	13	8,0	13	1,2	35	34,0	28	99	mf-B

С остальными потенциально изогенными парами работа продолжена, проведены следующие насыщающие скрещивания, отобраны лучшие образцы, которые в последующем будут включены в гибридизацию с выровненными линиями-опылителями.

Получение фертильных линий-опылителей. Для создания гетерозисных гибридов лука репчатого необходимо иметь линию опылитель, сочетаю-

щую в себе наиболее ценные хозяйственные признаки, а также генетическую и фенотипическую выровненность и фертильность. При создании линий-опылителей был использован тот же коллекционный материал, что и для создания изогенных пар линии-А. Всего было получено 425 инбредных потомств первого поколения из 48 коллекционных образцов, а из 80 выделившихся инбредных потомств третьего поколения было отобрано 39 образцов, сочетающих в себе хозяйственно ценные признаки: коричневую окраску различной интенсивности для разных групп спелости, округлую форму луковицы, низкую зачатковость, высокую урожайность и сохранность (для средне и позднеспелых образцов), имеющие плотные кроющие чешуи, хорошо сцепленные между собой, в слабой и средней степени поражающиеся фузариозной гнилью, а также имеющие низкий коэффициент вариации по всем признакам, т.е. полностью соответствующие требованиям современного рынка, характеристика некоторых из них представлена в таблице 9.

Таблица 9. Характеристика лучших линий-опылителей лука репчатого, г. Крымск 2019 год

Образец – источник	Форма луковицы	Толщина сухих чешуй	Сцепление сухих чешуй	Устойчивость к фузариозной гнили	Число отобранных потомств
Derbi	округло оваль-ная/округлая	средняя	среднее	средняя	2
Muzyka	округло-овальная	средняя	среднее	средняя/слабая	3
CRX 2311	округло-овальная/округлая	средняя	среднее	высокая	2
Nun 7202 ON	округлая	средняя	среднее	средняя	5
Isi 30230	округло-овальная/округлая	средняя	среднее	средняя	3
Talon	округло-овальная/округлая	средняя	сильное	высокая	4
Spirit	округло-овальная/округлая	тол-стая/средняя	среднее	средняя	3
Manas	округло-овальная/округлая	толстая	сильное	средняя	4
Super nova	округло-овальная	толстая	сильное	высокая/средняя	5

Из 39 инбредных потомств третьего поколения для опыления стерильных линий выбрано восемь наиболее выровненных потомств: раннеспелые – I_3 Derbi, I_3 Nun 7202 ON, I_3 Isi 30230; среднеспелые – I_3 Talon и I_3 Spirit; позднеспелые – I_3 Super nova, I_3 Manas и I_3 Elenka. С остальными перспективными образцами селекционная работа будет продолжена.

Оценка полученных гибридных комбинаций лука репчатого по хозяйственно ценным признакам

С целью подбора высокоэффективных гибридных комбинаций в 2020 году отобранные стерильные линии включали в различные комбинации скрещивания с лучшими инбредными линиями-опылителями (табл.10). Всего было проведено 20 комбинаций скрещивания в различных группах спелости, но достаточное количество гибридных семян получено только в 14 комбинациях.

Таблица 10. Список выделенных родительских линий и полученных гибридных комбинаций г. Крымск 2020 год

Номер гибридной комбинации	Линия-А		Линия-В		Линия-С	
	Селекционный номер	Название исходного образца	Селекционный номер	Название исходного образца	Селекционный номер	Название исходного образца
1	301	Harrison	1210	CRX 2311	3141	Nun 7202
2	301	Harrison	1210	CRX 2311	3102	Isi 30230
3	301	Harrison	1210	CRX 2311	3004	Derbi
5	701	Safran	1264	Densiti	3202	Talon
6	701	Safran	1264	Densiti	3234	Spirit
7	604	Spirit	1259	Densiti	3202	Talon
10	1105	Katinka	1642	Derek	3353	Супер нова
11	1105	Katinka	1642	Derek	3311	Манас
12	1105	Katinka	1642	Derek	3362	Elenka
14	908	Benefit	1475	Leon	3353	Супер нова
15	908	Benefit	1475	Leon	3311	Манас
16	908	Benefit	1475	Leon	3362	Elenka
18	908	Benefit	1305	Elenka	3353	Супер нова
19	908	Benefit	1305	Elenka	3311	Манас

Результаты сравнительной оценки полученных гибридных комбинаций с общепринятыми для зоны стандартами для каждой группы спелости, а также с разработанной моделью гибрида, приведены в таблице 11.

У раннеспелых образцов лучшие результаты по урожайности на уровне стандарта F1 Talon показал гибрид под номером 3, в данной гибридной комбинации отмечен положительный гетерозисный эффект по массе луковицы.

У среднеспелых образцов гибридная комбинация под номером 5 по урожайности превысила стандарт, а также выделилась по массе луковицы и ее выровненности.

В позднеспелой группе высокий положительный эффект гетерозиса по массе луковицы отмечен в гибридных комбинация под номерами 10,14,18.

Лучшие показатели по урожайности, а также размеру луковиц и ее однородности отмечены у гибридов №10 и №19.

Таблица 11. Характеристика гибридных комбинаций лука репчатого различных групп спелости по массе луковицы и урожайности, г. Крымск 2021 год

Номер гибридной комбинации	Средняя масса		масса, г		Средняя масса, г.	масса	Стандартная урожайность			Потенциальная урожайность, т/га
	г	Cv %	♀	♂		эффект гетерозиса,%	кг/м^2	откл от st.	%	
Раннеспелые										
F1 Bonus, st	128,9	21,6					6,5		98	103
1	92,8	25,3	115,8	102,5	109,2	-15,0	5,2	-1,4	98	74
2	111,9	31,5	115,8	120,5	118,2	-5,3	5,4	-1,2	94	90
3	116,0	30,3	115,8	105,4	110,6	4,9	5,7	-0,8	95	93
НСР 0,5							1,0			
Среднеспелые										
F1 Talon, st	118,1	25,3					5,9		97	95
5	133,0	31,2	130,6	103,8	117,2	13,5	6,5	**1,0**	94	106
6	131,6	25,2	130,6	120,3	125,5	4,9	6,3	**0,6**	96	105
7	122,5	38,2	109,2	103,0	106,1	15,5	6,0	**0,2**	93	98
НСР 0,5							0,9			
Позднеспелые										
F1 Dajtona, st	122,4	26,0					6,1		96	98
10	136,8	29,8	123,2	109,4	116,3	17,6	**7,2**	**1,1**	**94**	**109**
11	125,5	28,4	123,2	124,3	123,8	1,4	6,1	0,0	95	100
12	128,2	34,4	123,2	124,3	123,8	3,6	6,3	0,2	94	103
14	126,3	32,5	121,0	109,4	115,2	9,6	5,8	-0,3	93	101
15	133,2	36,3	121,0	124,3	122,7	8,6	**6,9**	**0,8**	**94**	**107**
16	116,4	30,8	121,0	124,3	122,7	-5,1	5,8	-0,3	95	93
18	130,9	35,2	122,6	109,4	116,0	12,8	6,8	**0,7**	**94**	**108**
19	137,6	27,5	122,6	124,3	123,5	11,5	**7,4**	**1,3**	**96**	**110**
НСР 0,5							0,9			

Таким образом, по комплексу хозяйственно ценных признаков выделены три наиболее перспективные гибридные комбинации, отвечающие основным параметрам модели гибридов лука репчатого разных сроков созревания:

- F1 (BC1(Harrison x CRX) x I3 Derbi), (гибрид №3) сочетающая в себе раннеспелость, урожайность, округлую форму луковицы, твердые сухие чешуи (рис.57);

- F_1 (BC_1 (Spirit x Densiti) x I_3 Talon), (гибрид №7) имеющая среднеспелый срок созревания, высокую степень сохранности, округлую форму луковицы, твердые сухие чешуи (рис.59).
- F_1 (BC_1 (Benefit x Elenka) x I_3 Манас) (гибрид №19) – выделилась среди позднеспелых образцов по урожайности, а также имеет округлую форму луковицы и твердые сухие чешуи (рис.58);

В дальнейшем эти выделенные перспективные гибриды лука репчатого будут переданы на конкурсное сортоиспытание и по его результатам на регистрацию в госкомиссию.

Оценка удвоенных гаплоидов лука репчатого по основным хозяйственно ценных признакам

Получение удвоенных гаплоидов лука репчатого методом культуры семяпочек проводили совместно с лабораторией биотехнологии Селекционного центра «Гавриш». Для работы было подобрано 27 наиболее ценных селекционных образцов, из которых по данным лаборатории большая часть генотипов (44%) оказались неотзывчивыми к эмбриогенезу и не сформировали эмбриоиды из бутонов на питательной среде. Остальные образцы разделились примерно поровну - на слабоотзывчивые, у которых средняя частота образования эмбриоидов на 100 бутонов (ЧОЭ) была меньше единицы, и отзывчивые с ЧОЭ более одного эмбриоида – от 1,17 до 3,33 штук на 100 бутонов.

Всего за два года в совместной работе на базе лаборатории биотехнологии было получено 162 эмбриоида (0,6% от общего числа бутонов) и всего 59 растений (36% от числа эмбриоидов) семи генотипов, которые после пересадки в грунт сформировали развитую корневую систему и листовой аппарат, а также смогли образовать луковицу-севок размером 3-4 см. Анализ плоидности методом проточной цитометрии показал, что среди полученных растений только 40 растений являются удвоенными гаплоидами, остальные – гаплоиды или миксоплоиды. Выделенные DH–растения были переданы в наш отдел селекции для дальнейшей оценки и получения семенного потомства.

Полученные DH–растения лука репчатого выращивали в открытом грунте и во время всего периода вегетации (от севка до цветения) проводили стандартные технологические мероприятия. Далее луковицы были убраны, досушены в течение семи суток в вентилируемом помещении, закрытом от прямых солнечных лучей и в зимне-весенний период хранились в холодиль-

нике при температуре +1..+3^{0}С. В 2020 году все сохранившиеся растения были снова высажены в открытый грунт. К концу июля маточную луковицу, размером более 3 см, образовали только девять образцов. Далее маточные луковицы после окончательного созревания и последующей сушки хранили в условиях с температурой +6…+8^{0}С для прохождения стадии яровизации, которую успешно прошли DH–растения, полученные из образцов Elenka и Super nova (табл. 11). Наибольший выход маточных луковиц отмечен у образца «Super nova» - 75% от числа заложенных.

Таблица 11. Структура популяций DH-растений лука репчатого различного происхождения по качеству луковиц на разных стадиях развития, г. Крымск 2019-2021 годы

Название исходной популяции DH-растений	Число луковиц севка, шт.						Число маточных луковиц, шт.					
	выращено, 2019 г.			после хранения 2019-2020 гг.			выращено, 2020 г.			после яровизации 2020-2021 гг.		
	всего высажено	больных	заложено на хранение	усохшие	больные	высажено	не сформировал и луковицу нужного размера	больные	заложено на яровизацию	усохшие	больные	здоровые
Spring joy	4	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Цефей	3	0	3	0	1	2	1	1	0	0	0	0
Polaks	6	1	5	1	2	2	1	0	1	1	0	0
Галилео	5	0	5	2	1	2	1	1	0	0	0	0
Elenka	11	1	10	2	0	8	4	0	4	0	0	4
Super nova	6	0	6	2	0	4	0	1	3	0	1	2
Derek	5	1	4	2	0	2	1	0	1	0	1	0
Всего	40	5	35	10	5	20	8	3	9	1	2	6

Далее была проведена сравнительная оценка между исходными образцами и полученными из них DH–растениями (табл.12). По всем параметрам исходному образцу (F1 Elenka) больше всего соответствует DH-растение 1. У всех DH-растений, полученных из образца F1 «Super nova», масса луковицы в два раза меньше исходного образца, по остальным параметрам DH-растение 6 соответствует своему родоначальнику.

Таблица 12. Сравнительная оценка маточных луковиц исходных образцов и полученных из них DH-линий, г. Крымск 2020 год

Название исход-ного образца и № DH-растения	Окраска сухих чешуй	Форма луковицы	Толщина сухих чешуй	Сцепление сухих чешуй	Масса луковицы, г
F_1 Elenka	коричневая	округлая	средняя	сильное	136
DH-растение 1	коричневая	округлая	толстая	сильное	130
DH-растение 2	коричневая/ желтая	округлая	толстая	сильное	92
DH-растение 3	коричневая	округлая	средняя	сильное	104
DH-растение 4	коричневая	поперечно эллиптическая	средняя	сильное	70
F_1 Super nova	коричневая	округлая	толстая	сильное	115
DH-растение 5	коричневая/ желтая	округлая	средняя	среднее	54
DH-растение 6	коричневая	округлая	средняя	сильное	62

В результате ПЦР-анализа у выделенных DH-растений были определены следующие генотипы: N/MsMs (DH-растение 1), N/msms (DH-растение 3) и S/MsMs (DH-растение 6). То есть, все высаженные растения являются фертильными и могут быть использованы в качестве линий-опылителей при скрещивании со стерильными линиями.

В 2021 году отобранные маточные луковицы были высажены для получения инбредных семян и включены в гибридизацию со стерильными линиями. Однако, в процессе дальнейшего роста и развития у DH-растения-3 образовались редуцированные бутоны, которые не образовывали пыльцу, поэтому, инбридинг и гибридизация со стерильными формами была проведена только с участием двух фертильных DH-растений 1 и 6, которые относятся к разным генотипам (табл.13).

Таблица 13. Число завязавшихся семян при инбридинге DH-растений и в гибридных комбинациях с их участием как опылителей, г. Крымск 2021 год

Селекционный номер	Название DH-растения и гибридной комбинации	Число семян, шт.
19 A	Ro Elenka – DH-1	70
908/1498 x 19 A	F1 (♀ms BC1 (Benefit x Leon) x ♂mf Elenka- DH-1))	68
17	Ro – Super nova-DH-6	186
1005/1523 x 17	F1 ((♀ms BC1 (Katinka x Elenka) x ♂mf Super nova-DH-6))	677

Для создания более благоприятных условий опыления, все образцы были выкопаны и помещены в закрытое от прямых солнечных лучей место. Далее на каждую гибридную комбинацию был надет изолятор, внутрь которого для улучшения качества опыления были помещены куколки мух

(*Lucilia caesar*). Через два месяца были получены семенные потомства от гибридных комбинаций и инбридинга DH-растений (табл.13).

Таким образом, из 40 DH-растений лука репчатого, полученных в лаборатории биотехнологии и относящихся к семи генотипам: Spring joi, Цефей, Polaks, Галилео, Elenka, Super nova, Derek, в результате роста, развития, хранения, яровизации и цветения получено семенное потомство только от двух DH-растений, которые относятся к генотипам Elenka и Super nova. Такой небольшой выход конечной продукции обусловлен самой природой удвоенных гаплоидов: при общем количестве генов у лука более 27000 создание гомозиготной линии, полностью лишенной летальных и полулетальных аллелей, происходит с частотой менее чем 1/5000.

В 2022 году со всеми полученными инбредными потомствами и гибридными комбинациями будут проведены сравнительные испытания, по результатам которых будет принято решение о целесообразности дальнейшего размножения и использования данных DH-линий в селекционной работе и создании гибридов лука репчатого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате всестороннего анализа 48 коллекционных образцов выделены источники хозяйственно ценных количественных и качественных признаков, среди которых для проведения селекционной работы наибольший интерес по их сочетанию представляют образцы: F_1 CRX 2311, F1 Harrison, Banko и Leon.

2. Скрининг коллекционных образцов по типу цитоплазмы и аллельному состоянию ядерных генов стерильности с помощью Real-time PCR выявил различный уровень их популяционного полиморфизма по признаку ЦМС; фенотипическая оценка встречаемости стерильных форм в полевых условиях подтвердила высокую информативность использованной системы маркеров - общее отклонение фактических данных от PCR-анализа составило 0,2%.

3. По результатам генотипической и фенотипической оценки выделены наиболее ценные источники стерильных форм (S/msms): гибридные популяциии F_1 Harrison, F_1 Katinka, F_1 Benefit, а также фертильные закрепители стерильности (N/msms) – гибридные популяции F_1 Super nova, F_1 Derek, сортопопуляции Densiti, Banko и Leon, которые необходимы для создания и поддер-

жания материнского компонента трехлинейных гибридов лука репчатого на основе ЦМС.

4. Методами классической селекции (инбридинг и гибридизация) получено и выделено 18 перспективных изогенных пар, максимально схожих между собой по селекционно значимым признакам и низким коэффициентом вариации; создано 39 линий-опылителей, отвечающих требованиям сегодняшнего рынка по следующим показателям: скороспелость, привлекательный внешний вид луковиц, твердость сухих чешуй, выровненность, урожайность, высокая товарность и лежкость.

5. На основе лучших стерильных линий и линий-опылителей создано 14 гибридных комбинаций, из которых выделены три наиболее перспективные: раннеспелая F_1 (BC_1(Harrison x CRX) x I_3 Derbi), среднеспелая F_1 (BC_1 (Spirit x Densiti) x I_3 Talon), позднеспелая F_1 (BC_1 (Benefit x Elenka) x I_3 Манас), отвечающие основным требованиям современной модели сортов.

6. Из 40 DH-растений лука репчатого, созданных методом культуры семяпочек, инбредное семенное потомство R_0 получено только у двух генотипов «Elenka» и «Super nova», DH-растения которых проявляют высокую адаптивность к условиям выращивания и хранения, устойчивость к болезням, способность завязывать семена при самоопылении и гибридизации со стерильными линиями. На основе этих DH-растений и стерильных линий получены новые гибридные комбинации: F_1 (BC_1 (Benefit x Leon) x Elenka- DH -1)) и F_1 (BC_1 (Katinka x Elenka) x Супер нова-DH-6)), изучение которых позволит оценить селекционную ценность полученного материала.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При создании нового исходного материала лука репчатого для южных регионов РФ в качестве источников хозяйственно ценных признаков можно рекомендовать следующие образцы: *скороспелость* - F_1 Muzyka, F1 Bonus, F_1; *восковой налет, число и слабый изгиб листьев* - F_1 Harrison, F_1 Campero и сорт Leon; *светлая интенсивность окраски сухих чешуй* - F_1 Центавр, F_1 Derbi, F_1 Sherman, F_1 Muzyka, F_1 Harrison, F_1 CRX 2313, F_1 CRX 2311; *коричневая окраска сухих чешуй* - F_1 Super nova, F_1 Katinka, F_1 Derek, F_1 Elenka, Кремень, Leon; *твердость, толщина и сцепление сухих чешуй* - F_1 Spring Joy, F_1 Nun 0723, F_1 Every Joy, F_1 Campero, Bolton, F_1 Elenka, Leon; *округлая форма луковицы и слабая зачатковость* - F_1 Nun 7202, F_1 CRX 2311, F_1 CVR 712, F_1

Harrison, F1 Dajtona, Basar; *масса и товарность луковиц* - F1 Bonus, F1 Sherman, F1 Derbi, F1 Alonso, F1 Proteus, F1 Talon, Banko и Leon; *общая урожайность* - F1 Derbi, F1 Sherman, F1 Tamara, F1 Campero, Densiti, F1 Katinka, F1 Титан; *высокое содержание сахаров* - F1 CRX 2384, F1 CRX 2313, F1 Proteus, F1 Santero, F1 Tamara, F1 Titan, F1 Polaks; *лежкость луковиц* - F1 Talon, F1 Safran, F1 Gordion, F1 Polaks, Кремень, Banko, F1 Benefit, Basar; *относительная устойчивость к фузариознойной гнили* - F1 Bonus, F1 Nun 07206 ONL, F1 CRX 2311, F1 Talon, F1 Tamara, F1 Benefit, F1 Super nova и F1 Derek.

2. Для ускорения и повышения эффективности селекционного процесса на предбридинговом этапе использовать популяционный скрининг генотипов изучаемого материала по признаку ЦМС на основе маркерных систем Fret 36 (анализ цитоплазмы) и Fret 26 (анализ ядерных генов) методом Real-time PCR; донорами стерильных форм с генотипом *Smsms* являются: F1 Harrison, F1 Katinka, F1 Benefit; фертильных форм - закрепителей стерильности с генотипом *Nmsms* - F1 Elenka, F1 Derek, F1 CRX 2311, F1 Super nova и F1 Muzyka, а также сорта Banko, Leon и Densiti.

3. Для ускоренного получения гомозиготного линейного материала лука репчатого следует включать в селекционный процесс удвоенные гаплоиды, полученные через культуру семяпочек; в качестве донорных растений использовать отзывчивые к эмбриогенезу генотипы таких образцов, как F1 Spring Joy, Цефей, F1 Polaks, Галилео, F1 Derek, F1 Elenka, F1 Super nova, среди которых наибольший интерес представляют два последних генотипа.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1.Тико Е.А. Сортоиспытание раннеспелых гибридов F1 лука репчатого в Северо-Кавказском регионе / Е.А. Тико // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2016. – № 39 (3). – С. 181-191.

2.Новые генетические источники цитоплазматической мужской стерильности лука репчатого *(Allium cepa L.)* / А.Н. Логунов, М.В. Будылин, Е.А. Тико // Овощи России. – 2018. – №2. – С.38-40.

Статьи в прочих изданиях

1. Использование молекулярных маркеров в современной селекции лука репчатого (*Allium cepa L.*) / А.Н. Логунов, М.В. Будылин, Е.А. Тико // Доклады ТСХА: Сб. науч. тр. – М., 2016. – Вып. 288 – С. 194-199.