

На правах рукописи

РОМАНОВ Валерий Станиславович

УДК635.25/26:631.527.5

**МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ В СЕЛЕКЦИИ ЛУКОВЫХ
КУЛЬТУР - ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И
МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Автореферат

Диссертации на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук

Москва - 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО) в 2008-2024 гг.

Научный консультант: **Солдатенко Алексей Васильевич**, доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, директор ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО)

Официальные оппоненты: **Карлов Геннадий Ильич**, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ)

Калашникова Елена Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела Биологии клетки и биотехнологии ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук» (ИФР РАН)

Бухарова Альмира Рахметовна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры Экологии и биоресурсов ФГБОУ ВО МСХ РФ «Российский государственный университет народного хозяйства имени В.И. Вернадского» (РГУНХ Минсельхоза России)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ)

Защита состоится « 25 » декабря 2025 года в 10:00 на заседании диссертационного совета 24.1.256.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» по адресу: 143080, Московская область, Одинцовский г.о., п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14. Тел: +7 (495) 599-24-42 Факс: +7(495) 599-22-77; E-mail: vniissok@mail.ru; aspirantura@vniissok.ru

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

Автореферат разослан « » _____ 2025 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 24.1.256.01,
доктор сельскохозяйственных наук

Бондарева Людмила Леонидовна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. При создании новых перспективных сортов и гетерозисных гибридов лука необходимо иметь разнообразие исходных селекционных форм, обладающих комплексом ценных признаков. Межвидовая гибридизация остается эффективным методом получения новых рекомбинантных селекционно-ценных форм, сочетающих части геномов двух и более видов в одном генотипе.

Для луковых культур межвидовая гибридизация имеет важное значение в решении проблем устойчивости к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам окружающей среды, а также обогащению генофонда.

Исходный материал для лука репчатого, созданный на основе межвидовой гибридизации, должен сочетать образование луковицы, высокую фертильность семенных растений, устойчивость к болезням, а для многолетних луков – вместе с селекционно-ценными признаками зимо-, морозостойкость, устойчивость к вымоканию и хорошие биохимические показатели.

Система методов создания форм межвидовых гибридов лука, включающая морфобиологический, цитозембриологический, молекулярно-генетические методы, является перспективным направлением в генетико-селекционных исследованиях лука и расширяет их генетическое биоразнообразие. Создание исходного материала на основе межвидовой гибридизации является очень важным для селекции луковых культур.

Цель исследования – научное обоснование системы методов создания и расширения генофонда луковых культур на основе межвидовой гибридизации и усовершенствование методов сокращения сроков получения исходного материала для ускорения селекционного процесса.

Задачи для выполнения поставленной цели:

1. Провести оценку биоразнообразия дикорастущих и культивируемых образцов луковых культур и выделить перспективные формы для включения в межвидовую гибридизацию.

2. Исследовать репродуктивные взаимоотношения при гибридизации видов рода *Allium* L.

3. Усовершенствовать методику эмбриокультуры *in vitro* межвидовых гибридов лука и получить селекционные формы.

4. Получить селекционные формы луковых культур методом полиплоидизации *in vitro*.

5. Усовершенствовать методику скрещивания для получения апомиктических форм лука.

6. Получить константные селекционные формы луковых культур методами инбридинга, кроссбридинга, индуцированного апомиксиса.

7. Провести фитопатологическую оценку и отобрать устойчивые к болезням формы межвидовых гибридов различных поколений.

8. Оценить и выделить по биохимическим показателям селекционные формы межвидовых гибридов лука.

9. Разработать методику получения одного поколения в год луковых растений в культуре цветочных бутонов *in vitro*.

10. Провести молекулярно-цитогенетическими методами оценку селекционных форм лука.

11. Рассчитать экономическую эффективность применения селекционных форм лука, устойчивых к болезням.

Объект исследований – виды рода *Allium* L., многолетние и луковичные формы межвидовых гибридов лука различных поколений, сорта, линии и селекционные формы лука репчатого.

Предмет исследований – закономерности изменчивости селекционных признаков и определение полезности качественных показателей у луковых культур, способы создания селекционных форм луковых культур на основе селекционных, фитопатологических и биотехнологических методов.

Научная новизна исследований. Научно обоснована и интегрирована система селекционных, фитопатологических методов, а также молекулярной, биохимической оценок межвидовых гибридов лука различных поколений.

Показана эффективность использования методов биотехнологии и молекулярно-генетических методов в получении исходного материала луковых культур на основе межвидовой гибридизации.

Создан принципиально новый исходный материал луковых культур с высокой устойчивостью к болезням и оптимальными биохимическими показателями.

Разработаны эффективные приёмы методики гибридизации видов лука с целью получения константных селекционных форм на основе индуцированного апомиксиса.

Усовершенствованы приёмы ускорения получения исходного материала луковых культур на основе межвидовой гибридизации технологией цветочных бутонов в культуре *in vitro*.

Практическая значимость работы. Создана генетическая коллекция луковичных и многолетних форм межвидовых гибридов лука, усовершенствованы способы ускорения получения исходного материала луковых культур.

Разработаны технологические схемы, основанные на сочетании межвидовой гибридизации и методов биотехнологии для получения новых форм растений.

Созданы и зарегистрированы в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию: сорт лука многоярусного Ионовец; сорт лука шнитта Белый танец; сорт лука репчатого Озёрский; гибрид F1 лука репчатого Дракон.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Теоретическое обоснование создания и оценки селекционного материала луковых культур на основе межвидовой гибридизации и его внедрение.
2. Методология получения форм межвидовых гибридов лука: эмбриокультура *in vitro*, полиплоидизация, инбридинг, кроссбридинг, апомиксис.
3. Применение индуцированного апомиксиса для стабилизации ценных генотипов луковых культур и сокращения срока создания линий.
4. Технология в культуре цветочных бутонов *in vitro* для ускорения создания селекционных форм луковых культур.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты, представленные в диссертационной работе, доложены на научно-методической комиссии Ученого совета ФГБНУ ФНЦО в 2008-2024 гг. (ранее ВНИИССОК); съезде генетиков и селекционеров и V съезда ВОГиС; Международной научной конференции, РГАУ-

МСХА имени К.А. Тимирязева, 2010 г.; Международной научно-практической конференции «Вавиловские чтения – 2011, 2012», 2011, 2012 гг.; III Вавиловской Международной конференции «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире», 2012 г.; Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», 2012 г.; V Международной школе молодых учёных по молекулярной генетике «Непостоянство генома», 2012 г.; VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014», 2014 г.; VI Международной научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», 2014 г.; Международной научно-практической конференции «Генетика и селекция: достижения и проблемы», 2014 г.; VII International Symposium on Edible Alliaceae, 2015; Международной научно-практической конференции, посвящённая VII Квасниковским чтениям, 2016 г.; VIII International Scientific Agriculture Symposium, "Agrosym 2017", 2017; V международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции и семеноводстве луковых культур. Традиции и перспективы», 2018 г.; VI Международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции, семеноводстве и товарном производстве зеленых, пряно-вкусовых и цветочных культур. Традиции, современность, перспективы», 2019 г.; VII международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции, семеноводстве и товарном производстве овощных, бахчевых и цветочных культур. Традиции, современность, перспективы», 2020 г.; 20-ой Всероссийской конференции молодых учёных «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», 2020 г. и 2021 г.; International Scientific Conference on Sustainable and Innovative Development in the Digital Age, 2020; VIII международной научно-практической конференции «Современные тенденции в селекции и семеноводстве луковых культур. Традиции и перспективы», 2021 г.; Международной конференции «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии и переработки сельскохозяйственных культур», 2022 г.; Всероссийской научной конференции с международным участием «Многофункциональное адаптивное кормопроизводство», 2023 г.; 7-ой Международной конференции «Генофонд и селекция растений», 2024 г.; Международной научно-практической конференции «Современные тенденции в

селекции овощных, бахчевых и цветочных культур на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды», 2024 г.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертационной работы опубликовано 55 печатных работ, в том числе 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 5 статей – в базах данных Web of Science и Scopus, 1 коллективная монография, 1 методические рекомендации, 4 авторских свидетельства на селекционные достижения.

Личный вклад соискателя. Автором лично выполнены: разработка программы исследований, закладка и проведение опытов, учеты и наблюдения за ходом вегетации; анализ экспериментального материала; оформление накопленного материала в виде диссертационной работы, включая формулировку выводов и предложений. В целом, вклад автора составляет более 85%.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация изложена на 369 страницах компьютерного текста, содержит 77 таблиц, 45 рисунков, 13 приложений. Состоит из введения, обзора литературы, методической части, результатов исследований, заключение, выводов и рекомендаций, списка литературы, включающего 595 источников, в т.ч. 355 иностранных, 2 сайта.

Благодарности. Автор искренне благодарен консультанту научному, академику РАН Алексею Васильевичу Солдатенко. Особую признательность автор выражает академику РАН В.Ф. Пивоварову, д.с.-х.н. Тимину Н.И., д.с.-х.н. О.Н. Пышной, д.с. х.н. Л.Л. Бондаревой, д.б.н. С.М. Надежкину, д.с.-х.н. И.Т. Балашовой, д.с. х.н. Н.А. Голубкиной, д.с.-х.н. А.С. Домблидес, к.с.-х.н. А.Ф. Агафонову, к.с.-х.н. Е.А. Домблидес, к.с.-х.н. Л.Ю. Кан, к.с.-х.н. В.В. Логуновой, к.с.-х.н. Л.В. Кривенкову, к.с.-х.н. А.В. Молчановой, к.с.-х.н. Т.М. Середину, д.с.-х.н. Н.А. Шмыковой, к.с.-х.н. И.В. Титовой, В.В. Цветкову за ценные замечания при подготовке диссертационной работы. Автор благодарен коллективу ФГБНУ ФНЦО за помощь и поддержку в процессе проведения исследований и написания диссертации.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПРОБЛЕМЫ

Обзор литературных источников отражает степень изученности вопросов межвидовой гибридизации сельскохозяйственных культур, роль межвидовой

гибридизации в получении новых селекционных форм лука с хозяйственно-ценными признаками и устойчивостью к болезням. Проанализировано использование методов инбридинга, кроссбридинга, гаплоидии и индуцированного апомиксиса в селекции лука и других сельскохозяйственных культур. Представлено применение молекулярно-генетических, цитогенетических методов, цитологической и биохимической оценок для характеристики растений рода *Allium* L.

2. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены в 2008-2024 годах на опытных участках ФГБНУ ФНЦО. Почвы дерново-подзолистые и среднесуглинистые.

Температурные показатели и уровень осадков играли ключевую роль в развитии растений лука. Благоприятные условия отмечены в 2009 и 2018 гг., когда температуры были близки к норме, а увлажнение было достаточным. Напротив, аномально высокие температуры и недостаток влаги в июле 2010 г. вызвали угнетение растений. Жаркие и сухие сезоны 2011-2012, 2021-2022 гг. негативно сказались на продуктивности. Переувлажнение и низкие температуры 2017 г. способствовали развитию болезней. Избыточные осадки мая-июля 2020 г. компенсировались оптимальной температурой в августе. Гидротермические условия 2024 г. положительно влияли на рост растений на ранних стадиях развития.

Объекты исследований. Материалом исследования служили растения рода *Allium* L.: многолетние виды: *Allium fistulosum* L., *A. altaicum* Pall., *A. vavilovii* M.Pop et Vved., *A. schoenoprasum* L., *A. nutans* L., *A. odorum* L., *A. × proliferum* (Moench) Schrad. ex Willd., *A. sativum* L.; многолетние и луковичные формы межвидовых гибридов $F_{1-5}BC_{1-2}$ *A. cepa* × *A. fistulosum*, *A. cepa* × *A. vavilovii*, $I_{1-2}F_{4-5}$ *A. cepa* × *A. altaicum*, F_1 *A. cepa* × *A. schoenoprasum*, F_1 *A. cepa* × *A. nutans*; луковичные формы межвидовых гибридов $I_{1-5}F_{3-5}BC_{1-2}$ комбинации скрещивания: *A. cepa* × *A. fistulosum*, *A. cepa* × *A. vavilovii*; сорта лука репчатого: Мячковский 300, Одинцовец, Золотничок, Даниловский 301, Йыгева 3, Штутгартер ризен, Золотые купола, Черный принц, Мячковский, Глобус; растения-апомикты.

В диссертации использованы материалы лаборатории генетики и цитологии за предыдущие годы, включая семена межвидовых гибридов, полученные ранее, экспериментальные данные, а так же материалы лаборатории селекции и семеноводства луковых культур ВНИИССОК.

Методы исследований. Полевые опыты проводили по «Методике полевого опыта» (Доспехов, 1985). Растения луковых культур выращивали по общепринятой для зоны технологии (Пивоваров и др., 2001). Учеты и наблюдения выполняли у 50-70 селекционных форм лука индивидуально по 15-50 растениям каждой селекционной формы.

Оценку морфологических признаков лука проводили согласно «Широкому унифицированному классификатору СЭВ и международному классификатору СЭВ лука репчатого (*Allium cepa* L.)» (1980), «Методике проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность лук репчатый (*Allium cepa* L.) и лук шалот (*Allium ascalonicum* L.)» (UPOV, 2000) и «Методике проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность лук батун (*Allium fistulosum* L.)» (UPOV, 2000).

Фитопатологическую оценку растений проводили на искусственном инфекционном фоне согласно «Методическим указаниям по селекции луковых культур» (1997).

Гибридизацию растений проводили по «Методике скрещивания луков (род *Allium* L.)» (Ершов и др., 1982).

Гибридизацию для получения апомиктических семян проводили с многолетними и луковичными межвидовыми гибридами, а также сортами лука репчатого.

Фертильность и жизнеспособность пыльцы определяли согласно «Методическим рекомендациям по определению жизнеспособности пыльцы культур вида *Raphanus sativus* L.» (Бунин, Шмыкова, Иванушкина, 2003).

Изолированные зародыши лука культивировали с помощью эмбриокультуры *in vitro* (Титова и др., 1987), а растения-регенеранты получали технологией *in vitro* (Шмыкова, 2006).

Цитологическое исследование растений-регенерантов лука пропионолактоидным методом (Соловьева, 1982) путем приготовления давленных препаратов меристемы кончиков корней и корешков проростков семян, с предобработкой 0,1% раствором колхицина и без предобработки (Тимин и др., 2013). Препараты просматривали с помощью микроскопа Zeiss Scope.A1, оснащенного камерой Digital Camera Power Shot G10 Canon.

Уровень ploидности полученных растений лука и чеснока определяли методом проточной цитометрии с использованием йодистого пропидия и проточного цитометра Partec CyFlow PA (Partec, GmbH, Münster, Германия) с лазерным источником 532 нм (Skaptsov et al., 2014).

Визуализация и построение графиков проводились с использованием программного обеспечения Flowing Software 2.5.1. (Университет Турку, Турку, Финляндия). Наблюдаемые данные были рассчитаны с помощью XLStat software (<https://www.xlstat.com/en/>) (Addinsoft).

Молекулярно-генетическая оценка растений луковых культур проводилась с помощью ISSR (англ. Inter Simple Sequence Repeats) маркеров (Домблides и др., 2011), EST-SSR (англ. Expressed Sequence Tag - Inter Simple Sequence Repeats) маркеров (Домблides и др., 2014) и HRM (англ. High resolution melting) анализа (Khrustaleva et al., 2023).

Молекулярно-цитогенетическую оценку растений межвидовых гибридов лука проводили на основе GISH (англ. genomic *in situ* hybridization) анализа (Budylin et al., 2014).

Биохимический состав образцов лука определяли по показателям: содержание сухого вещества – методом высушивания навески до постоянной массы и оценивали гравиметрически (Ермаков и др., 1987; ISO (3166)004-97; Метод определения сухого вещества. Стандартиформ, 2012); содержание аскорбиновой кислоты (Сапожникова, Дорофеева, 1966); содержание калия в листьях измеряли с помощью ион селективного электрода на приборе «ЭКОМ» после предварительной экстракции образцов согласно «Руководству по эксплуатации «ЭКОМ». Методика определения нитратов с помощью ион селективных материалов» (Корзун и др., 1988; Методика ..., 2008); моносахара определяли с помощью феррицианидного колориметрического метода, основанного на реакции моносахаров с феррицианидом калия (Swamy, 2008); антиоксидантную активность сухих и сочных чешуй лука оценивали по 70%-ным этаноловым экстрактам сухих образцов, используя метод окислительно-восстановительного титрования (Голубкина и др., 2020); общее количество полифенолов определяли в 70%-ном этанольном экстракте высушенных внутренних и наружных чешуек с использованием колориметрического метода Фолина-Чокалтеу (Голубкина и др., 2020).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ MICROSOFT EXCEL 7.0.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Биоразнообразие дикорастущих и культивируемых образцов из коллекции лука, включенных в межвидовую гибридизацию. В 2008-2011 годах проводили оценку растений 7 видов многолетних луков: *A. altaicum* Pall., *A. fistulosum* L., *A. vavilovii* Pop. et. Vved., *A. nutans* L., *A. odorum* L., *A. schoenoprasum* L., *A. × proliferum* (Moench) Schrad. ex Willd.

Характеристика растений различных видов лука первого года вегетации проводилась по числу листьев, длине листьев, числу стеблей и поражению ложной мучнистой росой (пероноспорозом). Среднее число листьев варьировало от $7,3 \pm 0,3$ шт у *A. vavilovii* Pop. et. Vved. до $123,2 \pm 5,3$ шт у *A. schoenoprasum* L. Кроме того растения вид *A. schoenoprasum* L. выделялись наибольшим числом листьев среди всех исследованных видов. Наиболее длинные листья наблюдали у растений видов *A. fistulosum* L., *A. odorum* L. и *A. × proliferum* (Moench) Schrad. ex Willd. и она составила $48,3 \pm 6,4$ шт, $41,2 \pm 1,3$ шт и $40,4 \pm 8,3$ шт.

Максимальное число ветвей наблюдалось у растений вида *A. schoenoprasum* L., что делало этот вид наиболее ветвящимся. Наименьшее поражение пероноспорозом отмечалось у растений *A. nutans* L., *A. odorum* L., и составило ноль баллов. Наибольшее поражение растений пероноспорозом отмечали у растений *A. × proliferum* (Moench) Schrad. ex Willd. и растений контроля *A. cepa* L., в среднем $4,0 \pm 0,3$ и $3,5 \pm 0,3$ баллов.

Коэффициент вариации (C_v , %) показывал изменчивость растений внутри каждого вида. Особенно высока изменчивость растений по числу листьев у видов *A. altaicum* Pall. ($C_v = 40,7\%$) и *A. nutans* L. ($C_v = 29,5\%$), а длина листьев наиболее выровнена у растений *A. odorum* L. ($C_v = 8,4\%$) и *A. nutans* L. ($C_v = 7,7\%$). В случае поражения растений пероноспорозом высокая вариативность наблюдается у видов *A. fistulosum* L. ($C_v = 34,9\%$) и *A. schoenoprasum* L. ($C_v = 22,5\%$) (рисунок 1).

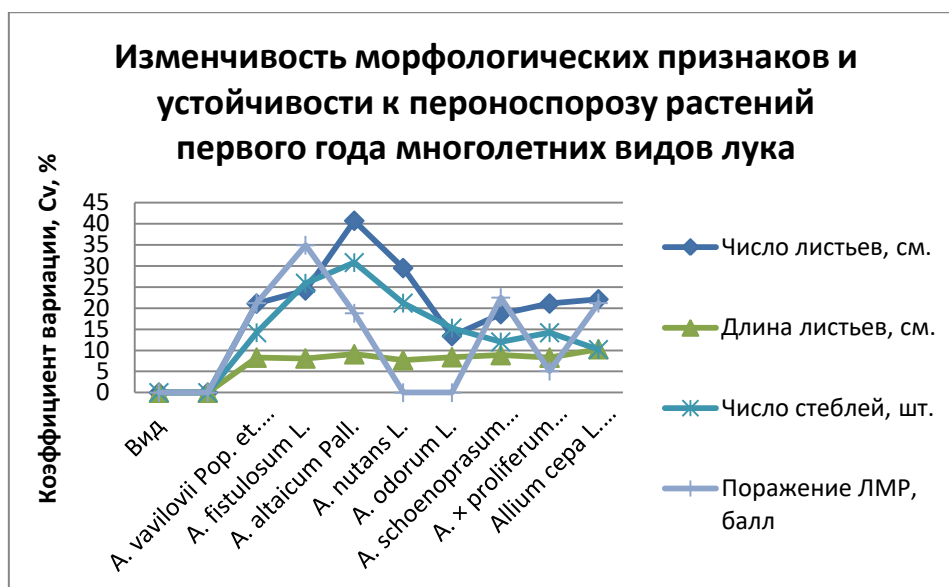


Рисунок 1 – Изменчивость морфологических признаков и устойчивости к пероноспорозу растений первого года многолетних видов лука

На основании анализа изучения видов многолетних луков по комплексу признаков выделили шесть образцов для межвидовой гибридизации, с высоким содержанием биологически активных веществ и устойчивостью к болезням.

Получение селекционных форм лука на основе межвидовой гибридизации. Виды лука *A. fistulosum* L., *A. vavilovii* Pop. et Vved., *A. altaicum* Pall., *A. schoenoprasum* L., *A. odorum* L., *A. nutans* L. при гибридизации с *A. cepa* L. использовались в качестве опылителей (таблица 1).

Высокая завязываемость семян наблюдалась при опылении лука репчатого пыльцой *A. fistulosum* L., в среднем она составила 17,3%. Подобные результаты завязываемости получены при скрещивании лука репчатого с *A. altaicum* Pall. и несколько ниже – при скрещивании с *A. vavilovii* Pop. et Vved.

Таблица 1 – Завязываемость семян при межвидовых скрещиваниях лука в зависимости от комбинации скрещивания, % (2008-2009 годы)

Комбинация скрещивания	Общая		Доля семян с зародышами, %
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$	
<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>	17,3±7,9	45,9	15,7
<i>A. cepa</i> × <i>A. altaicum</i>	16,6±8,9	53,3	5,8
<i>A. cepa</i> × <i>A. vavilovii</i>	18,3±4,9	26,9	12,3
<i>A. cepa</i> × <i>A. schoenoprasum</i>	10,7±4,0	43,7	1,8
<i>A. cepa</i> × <i>A. nutans</i>	29,7±4,0	51,2	4,9
<i>A. cepa</i> L.	39,2±10,7	27,2	95,0

При скрещиваниях *A. cepa* L. с тетраплоидными формами *A. schoenoprasum* L. и *A. nutans* L. завязываемость семян с зародышами составляла в среднем 1,8% и 4,9%, и развитие гибридных зародышей от глобулярного до палочковидного.

Развитие семени и зародыша наиболее быстро протекает у *A. schoenoprasum* L.. Прирост длины зародыша идет до 20 суток, далее темпы прироста резко снижаются. У *A. nutans* L. наиболее бурное развитие зародыша наблюдается до 25-суточного возраста, у *A. fistulosum* L. – до 35-суточного возраста, у *A. cepa* L. – до 30-суточного. Наиболее крупных размеров достигает зародыш *A. cepa* L., наиболее мелкий он у *A. schoenoprasum* L. Благодаря изучению развития зародышей, удалось получить гибридные растения F₁.

Изменчивость основных селекционных признаков у растений F₁ межвидовых гибридов лука. По морфологическим особенностям у полученных селекционных форм F₁ межвидовых гибридов лука комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* наблюдается высокое ветвление (до 6 стеблей), длина листьев 12-83 см, 38,2% растений формируют луковицы (d=2-5 см), у комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* отмечается умеренное ветвление (до 5 стеблей), длина листьев 10-80 см, 24,4% растений с луковицами, а у комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. altaicum* – менее мощные растения, длина листьев 12-83 см, 48,5% с луковицами и склонность к вторичному цветению (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика растений межвидовых гибридов лука F₁ первого года вегетации по селекционно-ценным признакам (2008-20010 годы)

Комбинация скрещивания	Число стеблей, шт.		Число листьев, шт.		Длина листьев, см.		Частота растений, %	
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	C _v , %	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	C _v , %	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	C _v , %	луковицы d=2,0-5,0 см	окраска сухих чешуй луковицы
								коричневатая
<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>	3,5±2,2	47,2	21,1±11,1	36,1	58,6±34,3	52,3	38,2	100,0
<i>A. cepa</i> × <i>A. vavilovii</i>	2,5±1,2	37,2	18,1±12,0	26,8	45,6±31,2	42,5	24,4	100,0
<i>A. cepa</i> × <i>A. altaicum</i>	2,4±1,1	49,2	13,8±11,1	51,2	42,0±29,5	36,4	48,5	100,0
<i>A. cepa</i> L. – контроль	3,5±1,1	48,9	20,5±5,1	41,3	55,6±14,2	42,3	46,9	100,0

У комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. schoenoprasum* растения F₁ имели в среднем 27,8 листьев (от 10 до 47 шт.). Длина листьев, в среднем, составляла 60,2 см (колебаниями от 50 до 71 см). Преобладали растения с сизо-зелёной окраской листьев, как у отцовского вида – лука шнитта (рисунок 2).



а) б) в) г)

Рисунок 2 – Разнообразие селекционных форм комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. schoenoprasum*: а) растение вида *A. schoenoprasum* L.; б, в, г) растения F₁ *A. cepa* × *A. schoenoprasum*

Растения F₁ *A. cepa* × *A. schoenoprasum* с высокой облиственностью и раннеспелостью отбирались для получения высокопродуктивной ранней зелени.

Создание и оценка форм F₂₋₅ межвидовых гибридов лука по селекционно-ценным признакам. При сравнительной характеристике форм межвидовых гибридов в поколении F₂ у комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* 79% растений образовали округло-плоские луковицы (диаметром 0,5-10 см), 19,6% – крупные (>4,5 см) с коричневой, розовой, красной окраской сухих чешуй, 21% растений развивались по многолетнему типу (сильное ветвление, устойчивость к зиме). У растений *A. cepa* × *A. altaicum* сформировались луковицы мельче (средний диаметр 2,4 см), только 9,8% >4,5 см, 58,4% растений без луковиц.

У форм межвидовых гибридов в поколениях F₃₋₅ комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* у F₃ увеличилась облиственность растений (11,4 лист/растение). В поколении F₄₋₅ повысилась доля луковичных форм (до 84,4%) и увеличился размер луковиц (до 5 см). Также в F₅ появились фертильные растения с высокой семенной продуктивностью (до 2,2 г семян/растение). В комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. altaicum* снижалось число листьев с 7,4 шт в

поколении F₃ до 5,7 шт в поколении F₅ с 0,5% вызревшими луковицами в F₄ и 10% в F₅ и семенной продуктивностью ниже (0,5 г/растение).

Для повышения доли растений с вызревающими луковицами с высокой лежкостью у форм межвидовых гибридов F₅ лука применяли беккросирование их *A. scera* L.

У растений F₁ межвидовых гибридов в комбинации скрещивания видов *A. scera* × *A. vavilovii* доминировал многолетний тип и отсутствие луковиц. В поколениях F₂₋₃ появлялось 50% луковичных форм, но с высокой стерильностью растений. У беккроссов (BC₁) доля луковичных форм составляла до 100% с крупными луковицами (до 199 г), но склонными к делению. Гибридные растения F₂₋₃ слабо поражались пероноспорозом (0,1-0,25 балла). Семенные растения из вызревших луковиц поражались сильнее (1,9 балла), чем промежуточные формы (0,5 балла).

Для получения селекционных форм межвидовых гибридов лука с аномалиями в развитии зародышей применяли методы культуры *in vitro*.

Методика эмбриокультуры *in vitro* у растений лука для получения селекционных форм. В зависимости от стадии развития зародышей использовали два способа получения растений лука в культуре *in vitro*. Зародыши межвидовых гибридов и апомиктичных форм лука, достигшие к моменту отделения от материнского растения стадии морфологической дифференциации (палочковидные), способны продолжать развитие *in vitro*. Недоразвитые зародыши инкубировали на агаризованной среде, содержащей БДС с 0,05 мг/л НУК и 0,1 мг/л БАП.

У слабодифференцированных зародышей прорастание продолжается до 4-5 недель, в отдельных случаях – до 3 месяцев. У около 30% проросших зародышей *in vitro* проявляются отклонения от нормального развития: остановка в росте, отсутствия хлорофилла (альбиносы), недоразвитие или отсутствие семядольного листа при наличии развитых корней и другие аномалии.

Подращивание растеньиц продолжается на «мостиках» 2-4 недели до образования 2-3-х настоящих листьев. В целом культивирование зародышей на твёрдой питательной среде и проростков на жидкой питательной среде продолжается от 25 до 45 суток. Хорошо развившиеся растеньица лука

высаживают в горшочки со стерильной почвенной смесью, накрывают сверху перфорированным пластиковым стаканчиком и выращивают в климатической камере при освещении 10-15 тыс. ЛК. Через две недели пластиковые стаканчики убирают, растения выдерживают в течение двух недель притом же режиме, а затем окрепшие растения переносят в условия теплицы.

Получение растений - регенерантов лука через культуру эмбрионного каллуса. Если развитие зародышей остановилось на глобулярной стадии, то для получения растений из таких зародышей, сначала получают эмбрионный каллус, а затем индуцируют в нем побегообразование.

Для каллусообразования используют среду БДС, содержащую 0,15 мг/л 2,4-Д, 1,0 мг/л НУК, 0,15 мг/л кинетина или 0,2 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина. Инкубируют зародыши в термостате при 25° С в темноте. Через 30 суток образовавшийся каллус переносят на среду БДС, содержащую 0,15 мг/л кинетина и 0,5 мг/л НУК. Пробирки также помещают в термостат.

Для индукции побегообразования каллус переносят на среду БДС с 2,0 мг/л кинетина и 0,05 мг/л НУК и культивируют на свету интенсивностью 5-8 тыс. ЛК и фотопериодом 18 часов. Образовавшиеся проростки переносят на фильтровальные «мостики» в пробирки с жидкой питательной средой МС с 0,2 мг/л НУК. Культивируют на свету притом же режиме. Хорошо развившиеся растеньица лука дальше выращивают так же как и при получении растений в культуре изолированных зародышей *in vitro*. Описанный способ культуры *in vitro* обеспечивает не только сохранение, но и размножение селекционного материала лука. Выход растений в культуре *in vitro* варьирует от 4,8% до 47,6% в зависимости от комбинации скрещивания.

Метод полиплоидизации *in vitro* для повышения фертильности луковых культур. Полиплоидия применялась для получения фертильных форм межвидовых гибридов лука и чеснока озимого. У многолетних растений межвидовых гибридов лука F₁ *A. cepa* × *A. nutans* воздушные луковички помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную 0,1% раствором колхицина в экспозиции 24 часа, 48 часов, 72 и получали фертильные растения, устойчивые к пероноспорозу (таблица 3).

Таблица 3 – Выживаемость и выход полиплоидов в зависимости от времени обработки колхицином воздушных луковичек межвидовых гибридов лука F_1 *A. сера* × *A. nutans* (2020-2021 годы)

Варианты	Всего высаженных воздушных луковичек, шт.	Боковые побеги из донца, %.	Выживаемость растений, %	Полиплоиды, %.
Контроль*	100	0	100,0	0
24 часа	100	50,1	60,1	20,3
48 часов	100	80,4	75,5	40,6
72 часа	100	20,8	50,7	10,2
НСР ₀₅				3,84

* Контроль без обработки раствором колхицина.

Для подтверждения уровня ploидности растений применяли метод проточной цитофотометрии (рисунок 3). Оценив полученные растения селекционных форм F_1 *A. сера* × *A. nutans* установили, что ploидность увеличилась при времени обработки колхицином 48 часов, а объем полиплоидных клеток составил 58,91-67,69%.

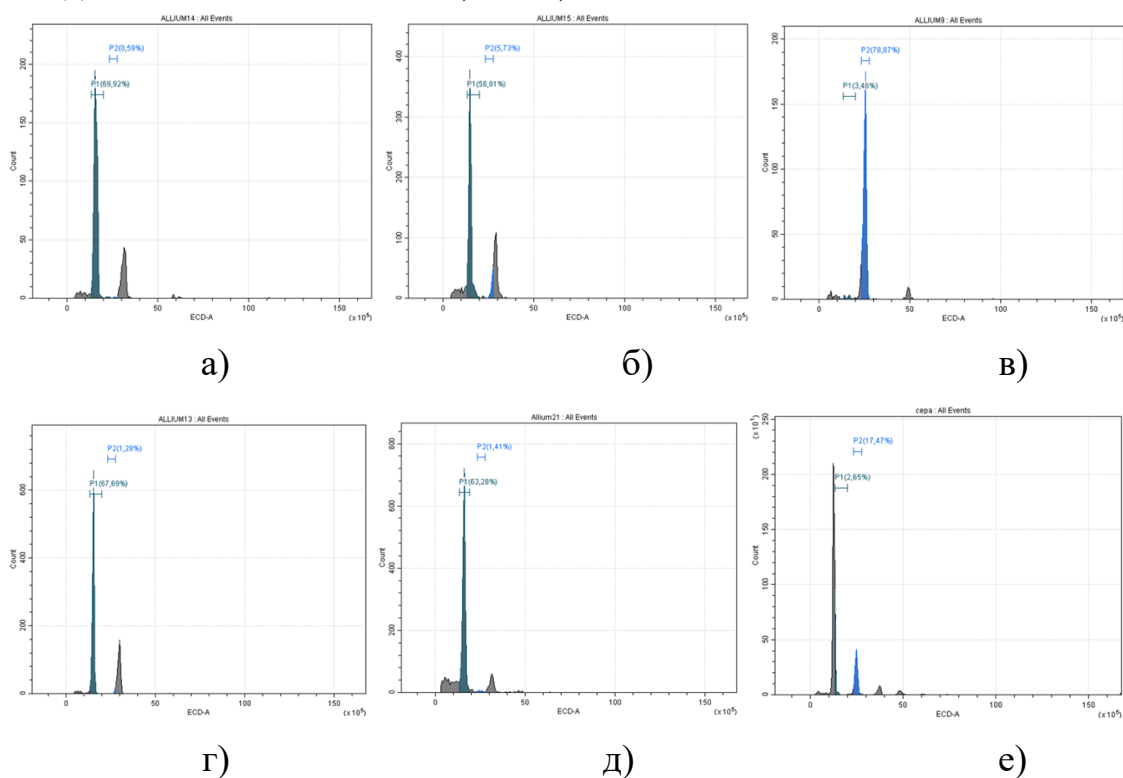


Рисунок 3 – Гистограммы при цитофлуориметрическом исследовании (внешняя стандартизация, образцы исследуются без изменения настроек прибора) колхицинированных форм межвидовых гибридов лука комбинации скрещивания *A. сера* × *A. nutans*: а) форма №14 гексаплоид с цитотипом $2C = 65,86$ пг; б) форма №15 гексаплоид с цитотипом $2C = 66,44$ пг; в) форма №9 гексаплоид с цитотипом $2C = 70,34$ пг; г) форма №13 гексаплоид с цитотипом $2C = 69,11$ пг; д) *A. nutans* L. контроль – тетраплоид с цитотипом $2C = 46,73$ пг; е) *A. сера* L. контроль – диплоид с цитотипом $2C = 16,69$ пг

Исследование методом проточной цитометрии выявило у триплоидных ($2n = 3x = 24$) растений F_1 *A. cepa* × *A. nutans* после обработки раствором колхицина гексаплоидные цитотипы ($2n = 6x = 48$) с содержанием ДНК $2C = 65,86-70,34$ пг. Варьирование содержания ДНК возможно связано с хромосомными мутациями и потерей ДНК при морфогенезе. Для всех исследованных селекционных форм наблюдалась эндополиплоидия.

Растения *A. cepa* L., *A. cepa* × *A. fistulosum* и *A. sativum* L., получали из семян и воздушных луковичек, обработанных 0,1% раствором колхицина, в культуре *in vitro*. Затем растения выращивали в условиях зимней остекленной теплицы. В результате адаптации их в условиях *in vivo* получили растения *A. cepa* L., *A. cepa* × *A. fistulosum* и *A. sativum* L. Растения *A. cepa* L., *A. cepa* × *A. fistulosum* сформировали округлые луковицы массой до 29,4 г. У *A. sativum* L. сформировались двухзубковые луковицы (рисунок 4).

Методом проточной цитометрии было установлено, что 50% растений лука являются тетраплоидами, а остальные – диплоиды, у *A. sativum* L. обнаружили только одно тетраплоидное растение (рисунок 5).

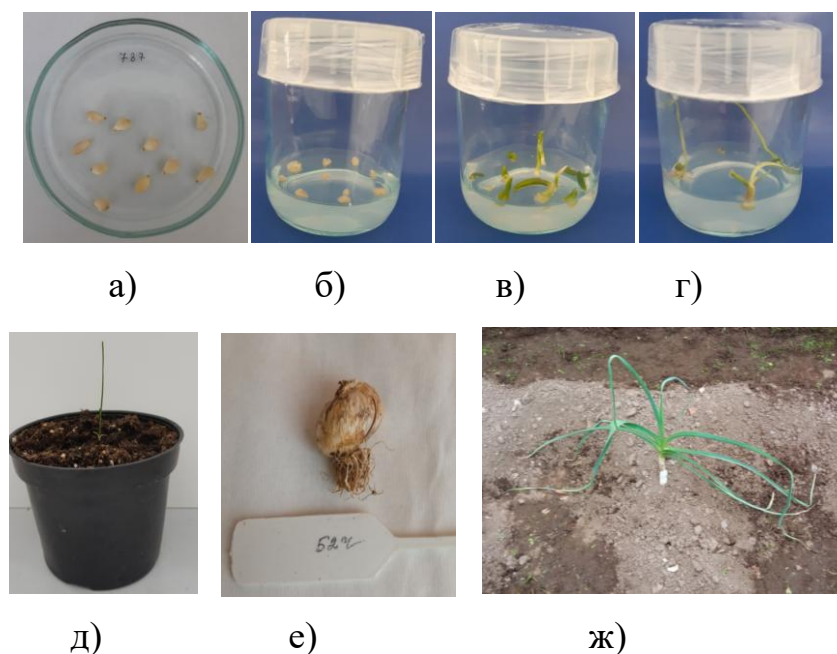


Рисунок 4 – Развитие растений *A. sativum* L., полученных в культуре *in vitro*: а) воздушные луковички; б, в, г) органоогенез чеснока на твердой питательной среде; д) растения, высаженные для адаптации в грунт; е) луковица; ж) вегетирующее растение

Колхицинирование эксплантов было эффективно при экспозиции 48 часов для семян *A. cepa* × *A. fistulosum* и при экспозиции 72 часа для *A. sativum* L. При обработке колхицином воздушных луковичек межвидовых гибридов лука F₁ *A. cepa* × *A. nutans* получено 40,6% полиплоидных растений, у растений *A. cepa* × *A. fistulosum* – 4%, у растений *A. sativum* L. – 2,3-8,2% растений с удвоенным числом хромосом.

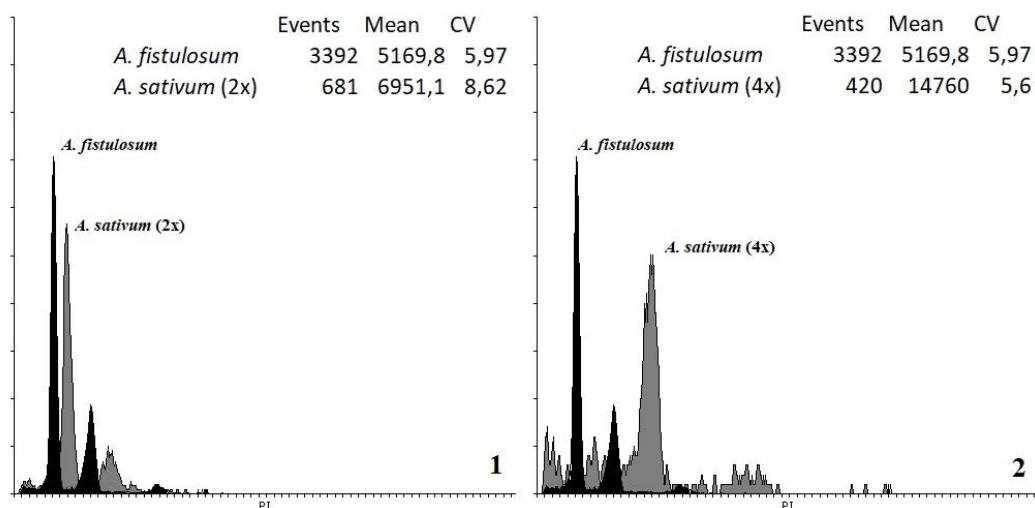


Рисунок 5 – Гистограммы при цитофлуориметрическом исследовании колхицинированных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* и *A. sativum* L. Внешняя стандартизация (исследование без изменения настроек цитометра). Характерна эндополиплоидия (появление трех и более пиков). 1. Объединенная гистограмма стандарта и контрольного диплоидного образца. 2. Объединенная гистограмма стандарта и выявленного тетраплоидного образца №61

Усовершенствование элементов методики гибридизации лука. Для ускорения получения константных селекционных форм лука применяли индуцированный апомиксис. В начале определяли влияние различных концентраций раствора гиббереллина на завязываемость семян опылением растений лука видом *A. odorum* L. Концентрация гиббереллина 0,1% при обработке соцветий оказалась оптимальной для завязываемости семян с зародышами (3,90%). А при обработке соцветий лука растворами 2,4-Д наибольший процент завязывания коробочек и семян дала концентрация – 0,50 мг/л (3,94%).

При выявлении индуктора апомиксиса растения гибридной комбинации *A. cepa* × *A. fistulosum* оказались более отзывчивые на воздействие пыльцы *A. odorum* L. (таблица 4). На этой комбинации скрещивания растения-индукторы показали высокую эффективность. Общая завязываемость семян составила от 38,7 до 75,3%, а семян с зародышами составил от 2,90% до 5,80%. Но растения лука получали при помощи эмбриокультуры *in vitro*.

Анализ полученных растений показал, что максимальное число завязавшихся семян отмечено у селекционной формы лука $I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$ (75,3%), а минимальное значение зафиксировано у селекционной формы $I_1F_4(A. cepa \times A. altaicum)$ (2,1%).

Таблица 4 – Результаты скрещивания многолетних форм межвидовых гибридов лука с луком *A. odorum* L. (2010-2011 годы)

Комбинация скрещиваний	Завязываемость семян, %	
	общая	из них с зародышами
$I_1F_5(A. cepa \times A. altaicum) \times A. odorum$ №6	2,0	0,60
$BC_1F_1(A. cepa \times A. vavilovii) \times A. odorum$ №71	43,6	0,90
$I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum) \times A. odorum$ №19	38,7	3,34
$I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum) \times A. odorum$ №25	75,3	5,80
$I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum) \times A. odorum$ №26	59,2	2,90
$I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$ контроль*	0	0
* – кастрация цветков без опыления		

Лучший показатель семян с зародышами принадлежит селекционной форме лука $I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$, составляющий 5,80%. Это в десять раз больше, чем у селекционной формы $BC_1F_1(A. cepa \times A. vavilovii)$ (0,54%) (таблица 5).

Из селекционных форм лука, показавших способность к прорастанию зародышей в культуре *in vitro*, лучший результат так же у селекционной формы лука $I_1BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$ – 0,51%.

Таблица 5 – Выход растений-апомиктов лука при использовании эмбриокультуры *in vitro*, % (2010-2011 годы)

Селекционная форма	завязавшихся семян	семян с зародышами	проросших зародышей (<i>in vitro</i>)	полученных растений (<i>in vitro</i>)	растений, высаженных в грунт
BC ₁ F ₁ (<i>A. cepa</i> × <i>A. vavilovii</i>)	51,1	0,54	0	0	0
I ₁ BC ₂ F ₅ (<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>)	75,3	5,80	0,51	0,31	0,31
I ₁ F ₄ (<i>A. cepa</i> × <i>A. altaicum</i>)	2,1	0,33	0,33	0,03	0
Даниловский (<i>A. cepa</i> L.)	71,0	0,1	0,1	0,03	0
Одинцовец (<i>A. cepa</i> L.)	41,0	0,11	0,11	0,04	0,04
Золотничок (<i>A. cepa</i> L.)	30,5	0,11	0,11	0,02	0

У селекционной формы лука I₁BC₂F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*) сформировались полноценные растения лука, которые высадили в грунт (0,31%). По большинству признаков растения-апомикты соответствовали исходной материнской форме, но отдельные растения отличались по окраске и формированию луковицы, что свидетельствует о гетерозиготности материнской формы этим признакам (рисунок 6).

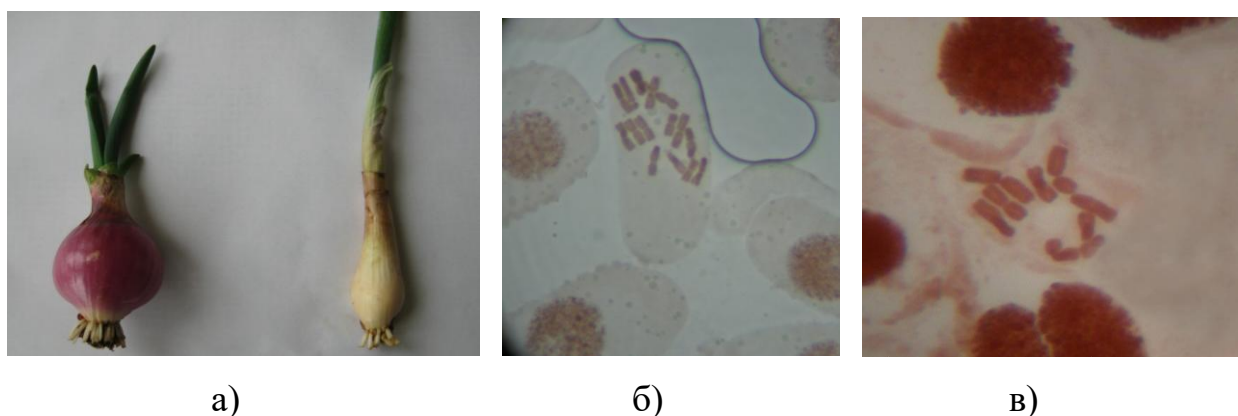


Рисунок 6 – Растения селекционных форм многолетних лука *A. cepa* × *A. fistulosum*: а) внешний вид материнского растения BC₁F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*) и растения-апомикта A₀I₁BC₂F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*) формы межвидового гибрида комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* и их кариотипы – б) исходного материнского растения, в) растения-апомикта

При использовании индуцированного апомиксиса получены селекционные формы лука, используемые в селекционном процессе.

Изменчивость селекционных признаков у инбредных форм межвидовых гибридов лука. При изучении инбредных потомств межвидовых гибридов лука *A. cepa* × *A. vavilovii* и *A. cepa* × *A. fistulosum* выявляли закономерности по морфологическим признакам. Число листьев варьировало незначительно (5,2-7,6 шт.), приближаясь к контролю (6,2-6,4 шт.), но с высокой изменчивостью ($C_v=8,4-48,0\%$). Длина листа имела широкое варьирование средних значений (23,6-48,4 см) и степень изменчивости от незначительной ($C_v=5,0\%$) до значительной ($C_v=48,8\%$). Масса луковицы у селекционных форм *A. cepa* × *A. vavilovii* с повышением инбредного поколения резко снижалась с ростом изменчивости до $C_v=64,0\%$. У селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* масса луковицы варьировала от 18,5 до 92,3 г также с высокой изменчивостью до $C_v=62,2\%$. Окраска сухих чешуй луковицы у обеих комбинаций скрещивания видов в основном золотисто-желтая, как у контроля. Однако отмечалась коричневатая, белая, темно-фиолетовая окраска луковицы. У комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* преобладала плоская и округло-плоская форма луковицы, а у *A. cepa* × *A. fistulosum* отмечалось разнообразие по форме луковицы (плоская, округлая, овальная, округло-плоская). Растения контроля сформировали округлые луковицы. У селекционных форм комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* с увеличением инбредного поколения отмечено снижение поражения пероноспорозом до слабой степени (0-0,5 балла), а у растений *A. cepa* × *A. fistulosum* поражение пероноспорозом также снизилось до высоко- и среднеустойчивого (0,5-1,5 балла). При этом изменчивость признака устойчивости возросла до значительного уровня, в то время как у контроля (сорт Одинцовец) сохранился высокий средний уровень поражения (2,0-3,0 балла).

Особенности селекционных признаков у кроссбредных форм межвидовых гибридов лука. Кроссбридинг у селекционных форм межвидовых гибридов лука использовали для снижения последствий инбредной депрессии. У растений первого года кроссбредных потомств лука существенных различий не наблюдали, а при изучении признаков семенных растений отмечали изменения в

их характеристиках. Число стрелок снижалось у растений обеих комбинаций скрещивания видов: *A. cepa* × *A. vavilovii* – до 2,2 шт., *A. cepa* × *A. fistulosum* – до 1,3 шт. Изменчивость признака у первой комбинации скрещивания видов значительно снизилась, но осталась высокой ($C_v=20,3\%$), у второй осталась значительной ($C_v=38,7-46,8\%$) и у растений контроля (сорт Одинцовец) также осталась высокой ($C_v=30,0\%$). По высоте стрелки растения снизились у всех селекционных форм: *A. cepa* × *A. vavilovii* до 62,0 см ($C_v=7,2\%$), *A. cepa* × *A. fistulosum* до 70,0 см ($C_v=0\%$), у контроля – до 80,2 см ($C_v=3,1\%$). Диаметр стрелки растений лука составил 1,7 см у *A. cepa* × *A. vavilovii* ($C_v=26,3\%$) и 2,0 см у *A. cepa* × *A. fistulosum* ($C_v=0\%$), в контроле – 1,7 см ($C_v=20,8\%$). Общее число листьев сохранилось на уровне 8,3 шт. ($C_v=5,3\%$) у растений *A. cepa* × *A. vavilovii* и увеличилось до 15,8 шт. ($C_v=18,3\%$) у растений *A. cepa* × *A. fistulosum*. Семенная продуктивность у селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* повысилась до 4,6 г/растение ($C_v=12,8\%$), в контроле продуктивность была крайне низкой (0,1 г) при высокой изменчивости ($C_v=54,6\%$). Семенные растения комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* показали абсолютную устойчивость к пероноспорозу (0 баллов), у растений *A. cepa* × *A. fistulosum* средний балл поражения пероноспорозом снизился до 1,0 при незначительной изменчивости ($C_v=8,9\%$). Поражение пероноспорозом растений контроля осталось высоким 2,5 балла ($C_v=0\%$).

Изменчивость комплекса признаков у растений-апомиктов лука и их инбредных потомств. Проведённые исследования выявили характерные особенности признаков у апомиктичных растений *A. cepa* L. и селекционных форм комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* (таблица 6). Число листьев у растений-апомиктов *A. cepa* L. составляло 6,0-7,0 шт. с высокой выравненностью ($C_v=0\%$), которая сохранялась в инбредном поколении I_1 ($C_v=9,7\%$). У апомиктов селекционной формы *A. cepa* × *A. fistulosum* число листьев варьировало от 5,9 до 6,4 шт. ($C_v=7,9-8,7\%$), а в поколении I_2 наблюдали резкое увеличение изменчивости признака до значительного уровня ($C_v=31,6\%$), превышающего контроль. Длина листа у растений-апомиктов *A. cepa* L. и

потомств I_1 снижалась (до 25,9 см) при невысокой изменчивости ($C_v=13,8\%$). У селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* у растений-апомиктов длина листа составляла 24,3 см ($C_v=12,1\%$), а в поколении I_2 средняя длина листа увеличилась до 33,6 см со значительной изменчивостью ($C_v=38,1\%$). У апомиктичных потомств отмечено появление новой темно- и светло-зеленой окраски листьев. Масса луковицы возрастала у растений-апомиктов *A. cepa* L. (до 60,7 г) со снижением изменчивости, а у форм *A. cepa* × *A. fistulosum* – до 56,5 г при сохранении высокой изменчивости ($C_v=35,5-59,1\%$). Окраска луковиц у растений-апомиктов была преимущественно золотисто-желтой, в то время как у селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* в поколении I_1 выщепились луковицы красной окраски. Растения-апомикты *A. cepa* L. сохраняли округло-плоскую форму луковицы ($I=0,8$), а у селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* после инбридинга растения имели плоскую форму луковицы ($I=0,6$). У растений-апомиктов селекционных форм *A. cepa* × *A. fistulosum* в поколении I_1 устойчивость к перonosпорозу у растений составляла 1,0 балл, однако в поколении I_2 она снижалась до 1,5 балла (рисунок 7).



а)

б)

в)

Рисунок 7 – Семенные растения селекционных форм межвидовых гибридов лука *A. cepa* × *A. fistulosum*: а) материнское растение $I_1BC_2F_5$ (*A. cepa* × *A. fistulosum*), б) растение-апомикт $A_0I_1BC_2F_5$ (*A. cepa* × *A. fistulosum*), в) растения $I_1A_0I_1BC_2F_5$ (*A. cepa* × *A. fistulosum*)

Таблица 6 – Характеристика растений-апомиктов и их инбредных потомств у растений лука первого года вегетации по селекционным признакам и устойчивости к пероноспорозу (2008-2009 годы)

Комбинация скрещивания	Общее число листьев, шт.		Масса луковицы, г		Окраска сухих покровных чешуй луковицы		Индекс формы луковицы, I		Поражение пероноспорозом, балл	
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$C_v, \%$
$I_2BC_1(F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum}))$	7,1±0,4	19,6	75,5±3,4	36,3	красная	0	0,6±0,02	5,1	1,5±0,02	2,2
$A_0(I_2BC_1(F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum})))$	5,9±0,3	8,7	31,7±2,7	59,1	золотисто-желтая	0	0,9±0,03	34,0	1,5±0,01	6,3
$I_1A_0(I_2BC_1(F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum})))$	6,4±0,2	7,9	56,5±2,9	54,8	золотисто-желтая / красная	75,0	0,6±0,01	19,1	1,0±0,2	5,4
$I_2A_0(I_2BC_1(F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum})))$	5,2±0,2	31,6	56,3±2,1	35,5	золотисто-желтая	0	0,6±0,01	8,0	1,5±0,1	7,5
<i>A. sepa</i> L.	6,2±0,1	38,9	40,7±2,2	58,1	золотисто-желтая	0	0,8±0,01	10,1	2,5±0,02	86,1
$A_0(A. \textit{sepa} L.)$	7,0	0	60,7	0	золотисто-желтая	0	0,8	0	2,0	0
$I_1A_0(A. \textit{sepa} L.)$	6,3±0,2	9,7	45,3±2,1	37,8	золотисто-желтая	0	0,8±0,01	16,8	2,0±0,02	11,2
НСР ₀₅	0,40		26,1		золотисто-желтая		0,38		0,39	

На основе инбредных потомств селекционных форм лука от растений-апомиктов, получены линии, перспективные для селекции на устойчивость к грибным заболеваниям.

Фитопатологическая оценка и отбор устойчивых к пероноспорозу селекционных форм лука. При получении форм межвидовых гибридов лука проводилась фитопатологическая оценка растений на каждом этапе селекционного процесса. Рассматривая отдельно каждую комбинацию скрещивания межвидовых гибридов F_1 лука по доле пораженных растений в зависимости от комбинации скрещивания, соотношение всех групп устойчивости в популяции существенно варьировало (рисунок 8). Установлено, что толерантность гибридов лука *A. sepa* × *A. schoenoprasum* и *A. sepa* × *A. nutans* к пероноспорозу определялась высоким процентом доминирующей группы относительно устойчивых генотипов ($I=0,5-1,0$ балл) в популяции до 89%. Тогда как восприимчивость растений *A. sepa* L., наоборот, обусловлена самой высокой долей восприимчивых генотипов ($I>2,0$) в популяции – 95%.

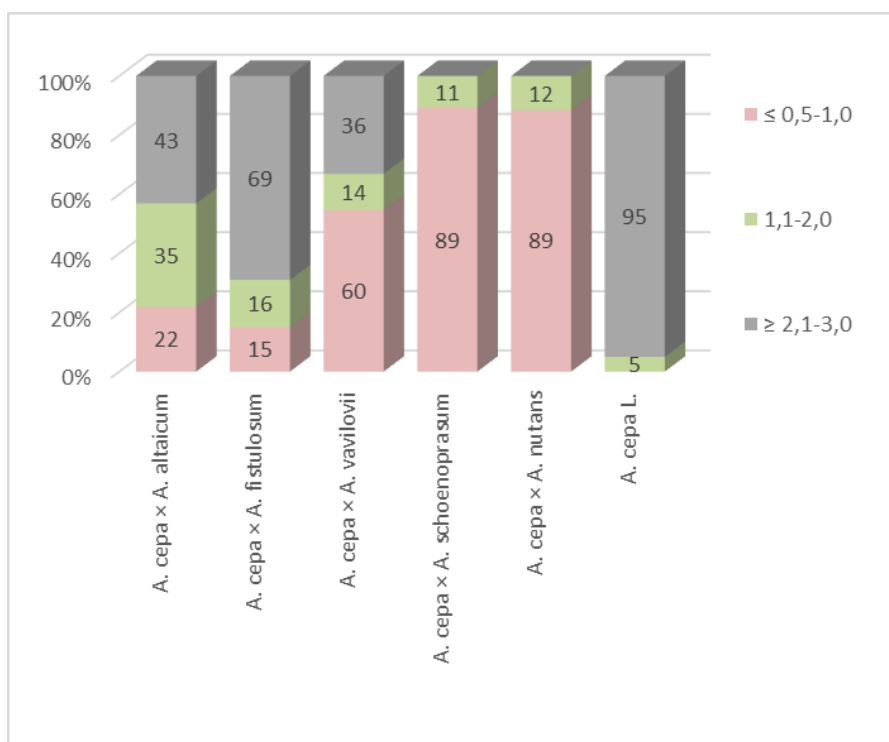


Рисунок 8 – Распределение растений F_1 межвидовых гибридов лука по интенсивности заражения пероноспорозом (2009-2010 годы)

Для трех изученных комбинаций скрещивания видов межвидовых гибридов лука *A. cepa* × *A. altaicum*, *A. cepa* × *A. fistulosum*, *A. cepa* × *A. vavilovii* выявлен полиморфизм индивидуальной устойчивости генотипов в пределах популяций, о чем свидетельствует присутствие в них всех групп – от устойчивых до восприимчивых. Причем относительная устойчивость комбинации *A. cepa* × *A. vavilovii* к пероноспорозу обусловлена наиболее низкой долей восприимчивых генотипов в популяции (36%) и высокой – устойчивых (60%).

Присутствие устойчивых генотипов во всех популяциях межвидовых гибридов лука дало возможность проведения внутривидового отбора наиболее устойчивых форм лука с дальнейшей оценкой устойчивости в последующих поколениях. Оценка устойчивости растений поколений F_{2-5} межвидовых гибридов лука показали, что уровень устойчивости к пероноспорозу у различных потомств существенно отличался относительно исходных популяций. В популяциях большинства комбинаций скрещивания при дальнейших отборах отмечался высокий полиморфизм признака за счет присутствия генотипов с разным уровнем устойчивости.

Установлено, что только в структуре всех потомств F_{2-5} устойчивых генотипов комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* отмечены явные положительные сдвиги в сторону стабильно высокой устойчивости ($I=0,5-1,0$ балла). Но при дальнейшем беккроссировании *A. cepa* L. данной комбинации в потомствах BC_{1-2} отмечено появление восприимчивых генотипов. В комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* идет тенденция к снижению числа растений по устойчивости с каждым последующим поколением. Из-за низкой фертильности растений, насыщающие скрещивания проводятся с поколения F_5 . У растений беккроссов BC_{1-2} комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* и *A. cepa* × *A. fistulosum* определялось сильное варьирование признака устойчивости, а у отдельных селекционных форм лука наблюдали высокую устойчивость к пероноспорозу ($I=0,1-1,0$ балла). Изменчивость признака устойчивости к пероноспорозу также варьирует в зависимости от конкретного поколения, что указывает на влияние генотипа. Исследования подчеркивают важность селекционной работы для получения стабильно устойчивых к пероноспорозу форм лука.

Биохимическое исследование селекционных форм лука. При создании селекционных форм лука в высокими биохимическим показателями оценивали многолетние формы межвидовых гибридов лука различных поколений комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. altaicum* (таблица 7, рисунок 9).



а)

б)

в)

Рисунок 9 – Многолетние селекционные формы лука: а) *A. altaicum* Pall., б) $F_4(A. cepa \times A. altaicum)$, в) $F_5(A. cepa \times A. altaicum)$

Таблица 7 – Биохимический анализ зелёных листьев многолетних луков (2011-2012 годы)

Вариант	Сухое вещество, %	Аскорбиновая кислота, мг/%	Нитраты, мг/кг сырого вещества	Сахара, %	
				моносахара	сумма
	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$
$F_4(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$	8,75±0,2	22,88±1,2	341,0±4,2	3,95±0,2	4,11±0,3
$F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$	9,01±0,1	33,44±1,1	349,0±3,2	3,42±0,4	4,54±0,2
$I_1F_4(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$	10,39±0,1	26,40±1,2	156,0±2,1	4,20±0,3	5,38±0,2
$I_1F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$	10,05±0,2	44,00±2,2	374,0±3,4	3,29±0,2	4,60±0,1
<i>A. altaicum</i> Pall.	10,13±0,2	26,40±1,1	334,0±3,2	3,95±0,3	5,08±0,2
HCP ₀₅	1,9	20,6	156,3	1,01	1,33

Наибольшее количество сухого вещества отмечено у селекционной формы лука $I_1F_4(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$ – 10,39%. Максимальное содержание аскорбиновой кислоты у селекционной формы $I_1F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$ равно 44,00 мг%. По накоплению нитратов наименьший показатель у селекционной формы лука $I_1F_4(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$ – 156 мг/кг. По содержанию моносахаров и суммы сахаров у селекционной формы $I_1F_4(A. \textit{sepa} \times A. \textit{altaicum})$ показатели выше, чем у родительской формы *A. altaicum* Pall. и составили 4,20% и 5,38%.

Изучение биохимического состава и накопление отдельных химических элементов проводили у селекционных форм комбинации скрещивания видов *A. sepa* × *A. nutans* для отбора растений с наилучшими показателями (рисунок 10).



а)

б)

в)

Рисунок 10 – Растения лука слизуна: а) *A. nutans* L.; б), в) $F_1 A. \textit{sepa} \times A. \textit{nutans}$

Содержание NO_3^- в листьях растений лука находилось в пределах 50,0-62,0 мг/кг. Самое низкое содержание NO_3^- отметили у №128 F_1 *A. cepa* × *A. nutans*. По содержанию Cl^- и K^+ в листьях растений у селекционной формы №15 F_1 *A. cepa* × *A. nutans* содержание Cl^- и K^+ в листьях значительно превышало накопление этих элементов у растений других вариантов, а по содержанию Cl^- превосходило контроль на 74,0 мг/кг. Содержание аскорбиновой кислоты у растений F_1 *A. cepa* × *A. nutans* варьировало от 15,8 до 28,6 мг%. По содержанию сухого вещества варианты гибридных растений лука находились в пределах от 9,3 до 10,9%, уступая растениям *A. nutans* L.

Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов в листьях растений лука F_1 *A. cepa* × *A. nutans* варьировало от 16,1 до 24,4 мг/г (ЕАК) и от 3,3 до 5,2 мг/г (ЕГК). Самые высокие значения у варианта №16 F_1 *A. cepa* × *A. nutans* составили 37,3 мг/г (ЕАК) и 8,0 мг/г (ЕГК), превосходя по данному показателю контроль в два раза.

Содержание сухого вещества у селекционных форм межвидовых гибридов лука *A. cepa* × *A. vavilovii* и *A. cepa* × *A. fistulosum* находилось в пределах 12,93-15,78% (таблица 8).

Таблица 8 – Биохимические показатели растений межвидовых гибридов лука (2018-2019 годы)

Вариант	Сухое вещество, %	Моносахара, %	Сумма, сахаров, %	Аскорбиновая кислота, мг%	Суммарное содержание антиоксидантов, мг/г в единицах аскорбиновой кислоты	Суммарное содержание антиоксидантов, мг/г в единицах галловой кислоты
	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$
$I_5BC_1F_5(A. cepa \times A. vavilovii)$	15,78±0,3	1,43±0,2	10,28±0,1	12,32±1,2	7,09±1,1	1,99±0,2
$I_5BC_1F_5(A. cepa \times A. vavilovii)$	15,04±0,2	1,15±0,2	10,28±0,1	14,08±1,3	8,22±1,2	2,31±0,2
$I_4BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$	12,93±0,1	1,71±0,1	9,18±0,2	12,32±1,2	7,90±1,1	2,22±0,1
$I_5BC_1F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$	13,54±0,2	1,05±0,1	9,52±0,2	14,08±1,1	5,10±1,2	1,43±0,1
$I_5BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$	15,05±0,1	1,57±0,2	11,17±0,3	10,56±1,2	6,62±1,1	1,86±0,1
Одинцовец (<i>A. cepa</i> L.) (st.)	15,52±0,2	1,44±0,1	10,71±0,2	7,04±1,1	10,10±1,3	2,83±0,2
НСР ₀₅	0,43	0,35	0,38	4,7	0,43	0,35

У комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. vavilovii* – на уровне 15%. У комбинации скрещивания видов *A. cepa* × *A. fistulosum* варьирование составляло от 12,93 до 15,05% в зависимости от поколения инбридинга и беккрасса. Содержание моносахаров у исследуемых форм составило 1,05-1,71%. По сумме сахаров наивысшие показатели были установлены у комбинации скрещивания *A. cepa* × *A. fistulosum* – до 11,17. Содержание аскорбиновой кислоты у форм межвидовых гибридов лука находилось в пределах от 10,56 до 14,08 мг%; в комбинациях скрещивания в поколениях $I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.vavilovii)$ и $I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$ превосходило стандарт (7,04 мг%) в 2 раза – 14,08 мг%.

Накопление полифенолов в наружных сухих и сочных чешуях луковицы обеспечивают как механическую, так и мощную химическую защиту и зависело от селекционной формы (таблица 9).

Среднее содержание полифенолов варьирует от 14,95 до 22,73 мг-экв ГК/г сухой массы среди изученных селекционных форм лука. У растений контроля (*A. cepa* L.) близкое к средним показателям содержание полифенолов (20,21 мг-экв ГК/г). Наибольшее накопление полифенолов наблюдается у селекционной формы $I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$, а самое низкое – у $I_4BC_2F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$.

Таблица 9 – Сравнение накопления полифенолов и антиоксидантов у луковичных форм межвидовых гибридов лука *A. cepa* × *A. vavilovii* и *A. cepa* × *A. fistulosum* (2023-2024 годы)

Комбинация скрещивания, поколение	Полифенолы, мг-экв ГК/г сух. мас.	Суммарное содержание антиоксидантов, мг-экв ГК/г сух. мас.
	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$	$X_{cp} \pm S_{Xcp}$
$I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	22,73±2,2	23,48±2,1
$I_5BC_2F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	16,92±2,1	20,09±2,2
$I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.vavilovii)$	21,96±2,2	21,69±2,2
$I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.vavilovii)$	17,71±2,2	18,85±2,3
$I_4BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	21,59±2,1	25,98±2,2
$I_4BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	19,29±2,3	21,92±3,1
$I_5BC_1F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	21,09±1,2	21,34±2,2
$I_4BC_2F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	14,95±2,2	19,17±2,2
$I_4BC_2F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	17,84±1,2	20,59±2,1
$I_2A_0BC_2F_5(A.cepа \times A.fistulosum)$	19,60±2,2	21,19±2,2
<i>A. cepa</i> L.	20,21±1,3	28,23±2,1
НСР ₀₅	2,27	2,71

Суммарное содержание антиоксидантов варьируется от 18,85 до 28,23 мг-экв ГК/г сухой массы. Максимальная концентрация антиоксидантов обнаружена у контрольного образца *A. cepa* L. (28,23 мг-экв ГК/г). Среди селекционных форм лука наивысшая сумма антиоксидантов зафиксирована у I₄BC₁F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*), в то время как самая низкая — у I₅BC₁F₅(*A. cepa* × *A. vavilovii*). Селекционная форма I₅BC₁F₅(*A. cepa* × *A. vavilovii*) наиболее перспективна по содержанию сухого вещества – 17,50%, сумме сахаров – 10,28% и суммарному содержанию антиоксидантов – 3,15 мг-экв ГК/г, но требует контроля по содержанию нитратов. Селекционная форма I₄BC₂F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*) выделяется по содержанию аскорбиновой кислоты – 22,88 мг% и сбалансированностью суммы сахаров – 9,89% при умеренном накоплении нитратов.

Перспективные многолетние селекционные формы лука: *A. cepa* × *A. altaicum* – источник ранневесенней и осенней зелени с высоким содержанием аскорбиновой кислоты 44 мг% и низким уровнем нитратов 156 мг/кг; *A. cepa* × *A. nutans* имеют высокие показатели по антиоксидантам 37,3 мг/г ЕАК, важные для функционального питания.

Ускорение создания селекционных форм лука при помощи культуры *in vitro*. Для ускорения создания селекционных форм лука проводилась оценка гиногенной способности генотипов *A. schoenoprasum* L. с использованием культуры цветочных бутонов. После стерилизации бутоны размером 3-5 мм отделяли от цветоножки, затем целые цветочные бутоны культивировали на среде БДС с 30 г/л сахарозы, дополненную 2 мг/л НУК, 4 мг/л БАП, 0,5 мг/л гидролизата казеина, с добавлением 5 г/л агар-геля (рН=5,8). Бутоны культивировали в ростовой комнате на стеллажах с люминесцентными лампами (16/8 часов) с освещенностью 2,5 тыс. люкс при 25°C до прорастания эмбриоидов. Подсчитывали процент гиногенных эмбриоидов и выживших растений. Полученные растения переносили в горшки с торфом и накрывали пластиковыми стаканами с отверстиями для газообмена (рисунок 11).

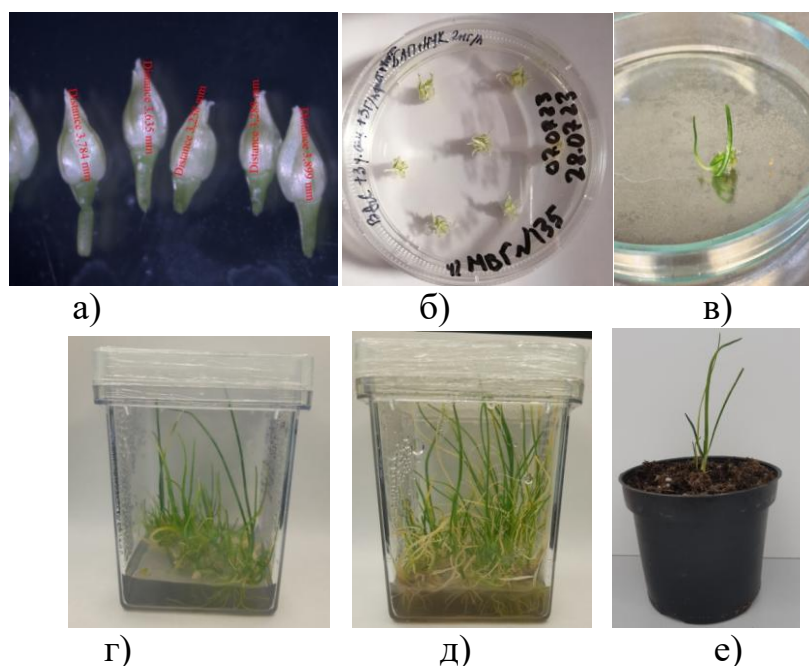


Рисунок 11 – Этапы развития растений *A. schoenoprasum* L. в культуре цветочных бутонов *in vitro*: а) бутоны, внешний вид; б) бутоны на питательной среде; в) проростки лука из бутона; г, д) доращивание растений на твердой питательной среде, е) адаптация растений в грунт

Выход гиногенных эмбриоидов составил 1,44%, укоренившихся растений – 0,5%. Выращенные растения удвоенных гаплоидов *A. schoenoprasum* L. использовали для создания гомозиготных родительских линий в селекции луковых культур.

Ускоренное получение одного поколения лука за год технологией культуры цветочных бутонов *in vitro*. С целью сокращения этапов биологии развития растений селекционных форм лука использовали культуру цветочных бутонов *in vitro* (рисунок 12). Бутоны размером 2 мм сначала высадили на среду В5 2 мг/л БАП + 1 мг/л 2,4-Д. Затем бутоны перенесли на среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК в термостат в темноту при температуре 25 °С для формирования каллуса. Для индукции побегообразования каллус переносили на питательную среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК и культивировали на свету (5-8 тыс. ЛК 18 часов). Образовавшиеся проростки переносили на фильтровальные мостики в пробирки с жидкой без гормональной питательной средой. Культивировали на свету интенсивностью 5-8 тыс. ЛК с фотопериодом 18 часов. Развитые

растеньица лука высаживали в горшочки со стерильной почвенной смесью, накрывали сверху перфорированным пластиковым стаканчиком и помещали в климатическую камеру при освещении 10-15 тыс. ЛК. Пластиковые стаканы убрали через 2 недели. Растения-регенеранты в фазу 3-4 настоящих листьев пересаживали в нестерильные условия в грунт при контролируемых условиях фитотрона ($t = +8-10^{\circ}\text{C}$). Спустя 3 месяца растения лука высадили в пленочную теплицу.

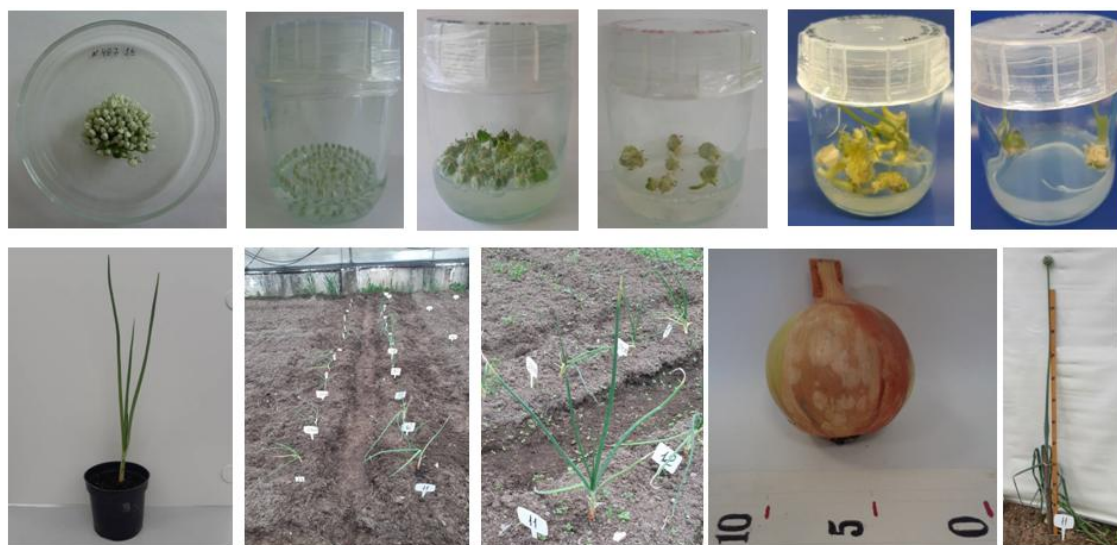


Рисунок 12 – Схема получения семян селекционных форм лука за 1 год на основе технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*

При проведении анализа полученных растений лучшую регенерацию побегов показали селекционные формы лука №3 – 7,1% и $I_5BC_2F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum})$ – 6,8%, а также у них лучшая способность к органогенезу (таблица 10). Несмотря на высокую начальную ростовую активность селекционных форм №3 и формы межвидового гибрида $I_5BC_2F_5(A. \textit{sepa} \times A. \textit{fistulosum})$, у стандарта эффективность выше по конечному выходу растений. Это подчеркивает важность сбалансированности всех этапов развития в культуре *in vitro*.

По результатам исследований время образования каллуса, формирование проростков и выращивание их на фильтровальных мостиках составило 120 суток. 120 суток растения лука выращивали в условиях фитотрона. В пленочной теплице 60 суток возделывали растения до формирования луковицы, в течение 30 суток – стрелкование, бутонизация и цветение – 30 суток.

Таблица 10 – Сравнение селекционных форм лука по развитию в культуре цветочных бутонов *in vitro* (2019-2021 годы)

Селекционная форма	Число высаженных бутонов, шт.	Набухшие бутоны, %	Побеги, %	Каллус, %	Получено растений, %
№3 (<i>A. cepa</i> L.)	100,0	40,1	7,1	1,3	5,2
№4 (<i>A. cepa</i> L.)	100,0	35,0	1,6	0,8	1,2
№5 (<i>A. cepa</i> L.)	100,0	22,3	0,0	10,4	4,6
I ₅ BC ₂ F ₅ (<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>)	100,0	30,2	6,8	5,4	3,9
<i>A. cepa</i> L. (st.)	100,0	25,9	2,3	6,2	6,8

Разработанная технология культуры цветочных бутонов *in vitro* лука позволила сократить получение одного поколения лука с 2-3 лет до 1 года (360 суток). Технология доказала возможность развития растений лука от бутона до бутона за год, что ценно для селекции луковых культур.

Молекулярно-цитогенетические методы при оценке селекционных форм лука. Для исследования генетической изменчивости среди селекционных форм лука отбирали пять ISSR праймеров. Среднее количество продуктов амплификации, приходящихся на 1 праймер, составляло 10,5. Фрагменты были представлены большим спектром длины от 350 до 2000 н.п. 53 ISSR локуса были получены в результате амплификации, из которых 40 были полиморфными, т.е. с использованием пяти ISSR праймеров ((ggat)₄, (ag)₈yt, (ca)₈rg, (ca)₈rc, (ga)₈yt) удалось выявить 76 % полиморфизма среди представленных видов лука.

В дендрограмме обращает на себя внимание кластер с формами, полученными в процессе гибридизации и последующего беккроссирования BC₁F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*) формы №92/2 и №92/3, и форма №61, полученная в результате апомиксиса A₀BC₂F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*). Все эти генотипы совместно с *A. cepa* L., выступающим как материнская форма, сгруппировались вместе, т.е. были генетически сходными (рисунок 13).

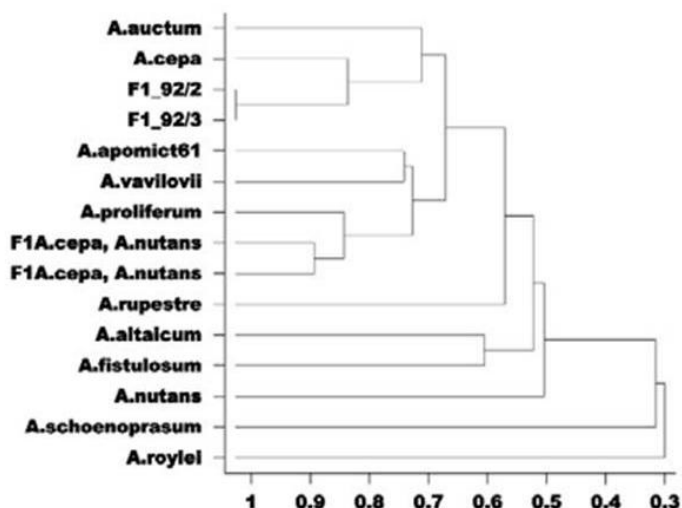


Рисунок 13 – Дендрограмма, отображающая генетическую схожесть между различными видами лука и селекционными образцами, полученными на основе межвидовых скрещиваний, построенная на основе ISSR спектров геномной ДНК (Домблидес и др., 2011)

Использование ISSR-ДНК маркеров позволило достоверно отличить межвидовые формы лука, полученные в результате скрещивания лука слизуна и лука репчатого.

Серия из 6 дополнительных EST-SSR маркеров использовали для оценки гибридности полученных форм. Оценку проводили на образцах *A. nutans* L., *A. cepa* L., и гибридных потомствах F_{1-2} *A. cepa* × *A. nutans*. Было получено 16 микросателлитных локусов различной молекулярной массы. Локус ACM132 присутствовал только у образцов *A. cepa* L. и не был обнаружен у *A. nutans* L. Полученные ПЦР локусы достоверно отличали виды и их гибридные формы. Определена универсальность использования EST-SSR маркеров на различных видах и сортах лука (рисунок 14).

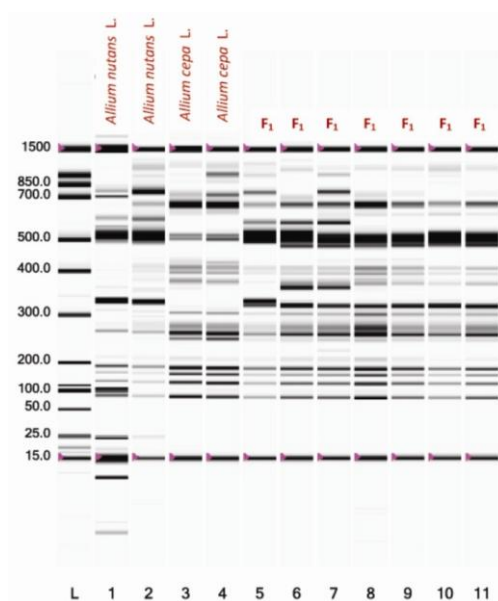


Рисунок 14 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК лука слизуна (*Allium nutans* L.) лука репчатого (*Allium cepa* L.), сорт Штутгартен Ризен и растений полученных в результате их скрещивания (Домблидес и др., 2014)

Набор EST-SSR маркеров подтвердил большое генетическое разнообразие между межвидовыми гибридами лука.

Геномная *in situ* гибридизация (GISH) в исследовании селекционных форм лука. Селекционные формы межвидовых гибридов лука комбинации скрещивания *A. cepa* × *A. fistulosum* проанализировали с помощью GISH анализа для установления гибридности. Исследуемые формы лука оказались полиплоидными с триплоидным ($2n=3x=24$) или тетраплоидным ($2n=4x=32$) набором хромосом.

У селекционной формы №78 $BC_2(F_5(A. cepa \times A. fistulosum) \times A. cepa)$ GISH анализ выявил 32 хромосомы в комплименте этого гибрида, из которых 14 хромосом с гибридизационным ДНК:ДНК сигналом по всей длине хромосом принадлежали *A. fistulosum* L., 14 хромосом, на которых отсутствовал гибридизационный сигнал принадлежали *A. cepa* L. и 4 рекомбинантные хромосомы (рисунок 15 а). У двух рекомбинантных хромосом полностью короткое плечо, центромерная область и прицентромерная часть длинного плеча принадлежали *A. fistulosum* L. и были отнесены к набору *A. fistulosum* L., так как в этих хромосомах центромера была *A. fistulosum* L. (рисунок 15 б). Кариотипический анализ установил, что эти рекомбинантные хромосомы – это хромосомы 7 *A. fistulosum* L.

Положение мест рекомбинаций на обеих хромосомах было одинаковым – $27,2\% \pm 5$ от центromеры на длинном плече. У двух других рекомбинантных хромосом длинное плечо, центromерная область и прицентromерная часть короткого плеча принадлежат *A. sepa* L. и были отнесены к набору *A. sepa* L. (рисунок 15 с). Кариотипический анализ установил, что рекомбинантные хромосомы – это хромосомы 7. Положение мест рекомбинаций было одинаковым у обеих рекомбинантных хромосом – $42\% \pm 2$ от центromеры на коротком плече. Наличие двух копий рекомбинантной хромосомы 7 *A. fistulosum* L. и двух копий рекомбинантной хромосомы 7 *A. sepa* L. может быть результатом удвоения набора хромосом в момент, когда в наборе уже имелись две рекомбинантные хромосомы: одна хромосома 7 *A. sepa* L. и одна хромосома 7 *A. fistulosum* L. Так как места рекомбинаций локализованы в разных плечах хромосом 7 (на хромосомах *A. sepa* L. в коротком плече, а на хромосомах *A. fistulosum* L. в длинном плече), то они не являются результатом одного события кроссинговера. На основании результатов анализа составлена идиограмма кариотипа селекционной формы 78 (рисунок 15 d).

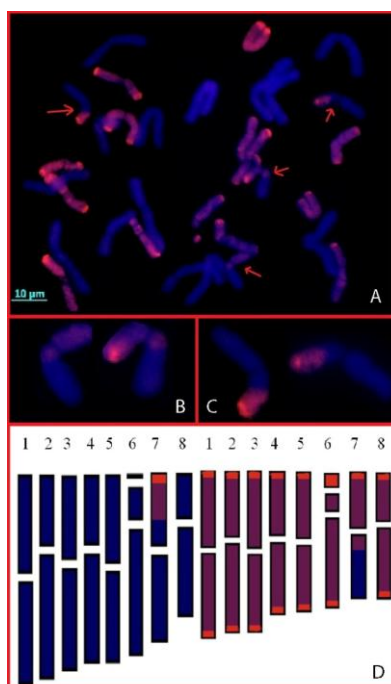


Рисунок 15 – GISH (проба – *A. fistulosum* L., блок – *A. sepa* L.) на митотических метафазных хромосомах межвидового гибрида $BC_2(F_5(A. sepa \times A. fistulosum)) \times A. sepa$ селекционная форма 78: а) 14 хромосом *A. fistulosum* (темно-серые), 14 хромосом *A. sepa* (светло-серые) и 4 рекомбинантные хромосомы между *A. sepa* L. и *A. fistulosum* L. (указаны стрелками); б) и с) – рекомбинантные хромосомы; д) – идиограмма кариотипа (Budylin et al., 2014)

С помощью GISH анализа доказана гибридная природа анализируемых селекционных форм, объясняя их устойчивость к пероноспорозу. Также определена рекомбинация хромосом *A. cepa* L. и *A. fistulosum* L. и перенос генетического материала от *A. fistulosum* L. в геном *A. cepa* L..

Анализ плавления полученных продуктов ПЦР (HRM-анализ) селекционных форм лука. Для идентификации N-, S-, R- и T-цитоплазм селекционных форм лука использовали двухэтапную систему HRM-маркеров. Для оценки HRM-маркеров провели ПЦР с использованием маркеров (Sato, 1998; Engelke et al., 2003; Kim et al., 2009). ПЦР-маркеры, используемые для определения типов цитоплазмы позволили различить N- и S- типы цитоплазмы. Комбинация маркеров с *orfA501* позволила выделить три типа цитоплазмы: N-, S- и настоящую T-цитоплазму (Sato, 1998; Engelke et al., 2003).

Праймерами для идентификации N-, S- и R- типов цитоплазмы (Havey, Kim, 2021), используя комбинацию трех систем маркеров, можно выделить четыре типа цитоплазмы лука. Анализ одиннадцати селекционных линий с помощью обычной ПЦР показал, что результаты полностью согласуются с результатами HRM (рисунок 16).

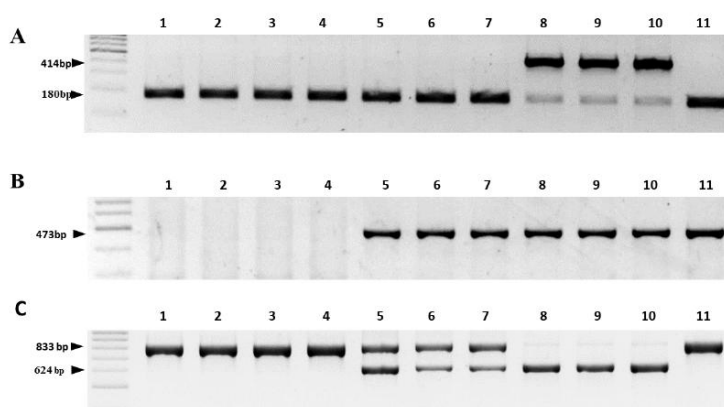


Рисунок 16 – Идентификация типов цитоплазмы в селекционных линиях лука с использованием традиционных систем ПЦР – маркеров: А (Sato, 1998), В (Engelke et al., 2003) и С (Kim et al., 2009). Дорожки: 1 – Banko; 2 – Сибирский; 3 – Derek-8; 4 – Одинцовец-28; 5 – LFK; 6 – CM Banko; 7 – Ивашка; 8 – Rawhide - 17; 9 – Sandra - 276; 10 – Derek-3; и 11 – Одинцовец-37 (Khrustaleva et al., 2023)

Анализ 77 селекционных линий (246 отдельных растений) показал наличие в селекционных линиях отдельных растений, которые были гетерозиготны по локусу *Ms*. В общей сложности 20,3% отдельных растений были гетерозиготны по *Ms*.

Селекционную линию Одинцовец-37 с Т-типом цитоплазмы оценили как гомозогенно-рецессивную при Ms и фертильную. Однако, если ген/гены, восстанавливающие фертильность Т-типа цитоплазмы, находятся в локусе Ms, то растение должно быть стерильным с ядерным генотипом msms (Khrustaleva et al., 2023). Двухэтапная система идентификации цитоплазмы лука репчатого на основе HRM-маркеров позволяет быстро и просто различать N-, S-, R- и Т-типы цитоплазмы, что очень ценно для селекции.

Экономическая эффективность применения селекционных форм лука, устойчивых к болезням. Для расчета экономической эффективности и рентабельности по технологическим картам создания селекционного материала лука репчатого устойчивого к пероноспорозу в сравнении с неустойчивыми сортами, проводили сравнительный анализ затрат и полученной прибыли.

Общие затраты при производстве лука репчатого составили 400000 руб./га. Затраты на обработку фунгицидами неустойчивых сортов лука репчатого составили 90000 руб./га. Затраты на селекцию для устойчивых к пероноспорозу сортов лука репчатого при прочих равных затратах выше и составляют 95000 руб./га.

На основе сравнительной оценки выращивания в севочной культуре на инфекционном фоне восприимчивых и устойчивых к пероноспорозу селекционных форм лука рассчитана экономическая эффективность (таблица 11).

Таблица 11 – Результаты оценки экономической эффективности при отсутствии обработок фунгицидами селекционных форм лука (2023 год)

Селекционная форма	Урожайность, т/га	Себестоимость, тыс. руб./т	Общая выручка продукции, тыс. руб./га	Прибыль, тыс. руб./га	Рентабельность, %
Озёрский	68,1	5,1	1021,4	526,5	106,4
Мячковский	50,1	5,0	751,5	261,8	53,4
Одинцовец	56,1	5,0	841,2	351,6	71,7
I ₅ BC ₂ F ₅ (<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>)	70,5	5,1	1057,1	562,1	113,6
НСР	14,9				

Максимальная прибыль (562,1 тыс. руб./га и 526,5 тыс. руб./га) и рентабельность (113,6% и 106,4%) получены при возделывании относительно

устойчивых к пероноспорозу селекционной формы $I_5BC_2F_5(A. \textit{cepa} \times A. \textit{fistulosum})$ сорта лука репчатого Озёрский (рисунок 17).

Ниже экономическая эффективность у других селекционных форм из-за потерь в урожайности, ввиду поражения патогенами в период вегетации растений. Обработкой растений лука с начала формирования 4 настоящего листа и через каждые 14 суток системным фунгицидом Ридомил Голдом (Syngenta) против пероноспороза на луке репчатом можно снизить потери урожайности.

Однако стоимость этого препарата в 2023 году составила 3 тысячи рублей за 1 кг. При кратности обработок фунгицидом, в зависимости от климатических условий возделывания и при норме расхода препарата в 5 кг/га стоимость одной обработки составляет 15 тысяч рублей, а за вегетационный период может достигать 90 тысяч рубл./га, без учета включенных в обработку затрат на технику, ГСМ, зарплату механизатора. При использовании в товарном овощеводстве устойчивых к пероноспорозу форм лука необходимость в проведении обработок фунгицидами полностью исключается иликратно снижается. Это повышает экологичность производимой продукции и дает возможность их использования в органическом овощеводстве, снижая пестицидную нагрузку на агроэкосистему и себестоимость производства товарного лука репчатого.



Рисунок 17 – Селекционные формы лука, созданные на основе межвидовой гибридизации: а) сорт Озёрский и б) форма $I_5BC_2F_5(A. \textit{cepa} \times A. \textit{fistulosum})$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изменчивость растений многолетних видов показывает значительные различия между видами лука по морфологическим признакам и устойчивости к пероноспорозу: *A. nutans* L. и *A. odorum* L. проявили полную устойчивость (поражение 0 баллов), *A. vavilovii* Pop. et. Vved. и *A. fistulosum* L. устойчивость к пероноспорозу 0,5 и 1,5 балла. Наиболее перспективные доноры устойчивости: *A. vavilovii* M. Pop. et Vved., *A. fistulosum* L., *A. nutans* L.

2. Наибольший потенциал для селекции на получение луковичных растений имеют комбинации *A. cepa* × *A. fistulosum*, *A. cepa* × *A. vavilovii*, а на высокопродуктивную зеленую массу листьев – *A. cepa* × *A. fistulosum*, *A. cepa* × *A. altaicum*, *A. cepa* × *A. nutans*.

3. Методика эмбриокультуры *in vitro* обеспечивает получение взрослых растений межвидовых гибридов до 47,6% и апомиктичных форм 0,5%, а срок изоляции зародышей 24-27 суток и состав питательных сред повышает эффективность метода эмбриокультуры *in vitro*.

4. Обработка воздушных луковичек межвидовых гибридов лука F₁ *A. cepa* × *A. nutans*, растений *A. sativum* L. 0,1% раствором колхицина позволяет получить 40,6%, 2,3% и 8,2% полиплоидных растений в культуре *in vitro*, а обработка растений BC₁F₅ (*A. cepa* × *A. fistulosum*) – 4,0% полиплоидных форм.

5. Разработанный способ получения апомиктичных семян лука, обеспечивает завязываемость семян с зародышами до 5,8% опылением пыльцой вида *A. odorum* L. с предварительной обработкой цветков опыляемых растений физиологически активными веществами.

6. Инбридинг повышает константность по устойчивости к пероноспорозу и качественных признаков у форм межвидовых гибридов *A. cepa* × *A. fistulosum* и *A. cepa* × *A. vavilovii* (C_v = 0-10,5%). Кроссбридинг снижает инбредную депрессию, способствует повышению семенной продуктивности и стабилизации устойчивости к пероноспорозу у форм межвидовых гибридов *A. cepa* × *A. vavilovii* (C_v = 0%). Индуцированный апомиксис эффективен для стабилизации селекционных

признаков ценных генотипов ($C_v = 0-8,7\%$), увеличения массы луковицы и сокращения времени создания линий.

7. Селекционные формы межвидовых гибридов лука выделились по биохимическим показателям увеличением содержания сухого вещества до 17,5% и антиоксидантной активностью до 11,49 мг-экв АК/г у комбинации скрещивания *A. cepa* × *A. vavilovii*, повышением содержания сухого вещества 15,05% и суммы сахаров 11,17% у комбинации скрещивания *A. cepa* × *A. fistulosum*, содержанием аскорбиновой кислоты до 44,00 мг% у *A. cepa* × *A. altaicum*.

8. Технологией культуры цветочных бутонов лука *in vitro* сокращено получение одного поколения лука до 1 года (360 суток): культура *in vitro* – 120 суток, фитотрон – 120 суток, теплица – 120 суток.

9. Молекулярные ISSR маркеры эффективны при оценке селекционного материала межвидовых гибридов для выявления полиморфизма. Набор EST-SSR маркеров подтверждает большое генетическое разнообразие между межвидовыми гибридами и показывает универсальность их использования на различных видах и сортах лука.

10. С помощью GISH анализа доказана гибридная природа анализируемых селекционных форм лука. У всех селекционных форм установлен гаплоидный или диплоидный набор хромосом *A. fistulosum* L. с устойчивостью к пероноспорозу. С помощью GISH показана рекомбинация хромосом *A. cepa* L. и *A. fistulosum* L. между собой.

11. HRM-маркерами эффективно определяются N-, S-, R- и T-типы цитоплазмы у лука репчатого. Селекционная форма Одинцовец №37 идентифицирована как гомозиготно-рецессивная, фертильная с T-типом цитоплазмы, что важно при создании линий закрепителей и восстановителей для гетерозисных гибридов F_1 .

12. При выращивании в севочной культуре лука репчатого получена максимальная прибыль (562,1 тыс. руб./га и 526,5 тыс. руб./га) и рентабельность (113,6% и 106,4%) у относительно устойчивых к пероноспорозу селекционной формы $I_5BC_2F_5(A. cepa \times A. fistulosum)$ и сорта Озёрский.

Практические рекомендации

В качестве исходного материала для селекции необходимо использовать формы межвидовых гибридов лука как генетические источники селекционно-ценных признаков:

- луковичные формы с высокой устойчивостью к пероноспорозу (0-0,5 балла) – $I_5BC_1F_5(A.cepa \times A.fistulosum)$, $I_5BC_2F_5(A.cepa \times A.fistulosum)$ с округлой формой луковицы желтой окраски; $I_3BC_1(F_5(A.cepa \times A.vavilovii))$ с округло-плоской формой луковицей желтой окраски; $I_2BC_1(F_3(A.cepa \times A.vavilovii))$ с плоской формой луковицы белой окраски; $I_2BC_1(F_5(A.cepa \times A.fistulosum))$ с округло-плоской формой луковицы красной окраски массой от 60 до 90 г.;

- многолетние формы с высокой устойчивостью к пероноспорозу (0-1,5 балла) – $A.cepa \times A.altaicum$, $A.cepa \times A.schoenoprasum$, $A.cepa \times A.nutans$ и высокой продуктивностью зеленных листьев.

На основе фитопатологической оценки растений различных потомств (инбредных I_{1-4} , кроссбредных F_1) отобраны формы, обладающие высокой устойчивостью к пероноспорозу (0,0-1,0 балл): многолетние $A.cepa \times A.vavilovii$ и луковичные $A.cepa \times A.vavilovii$, $A.cepa \times A.fistulosum$.

В результате культивирования апомиктичных семян с нередуцированными зародышами в эмбриокультуре *in vitro* с последующим выращиванием растений в теплице получены апомиктичные формы межвидовых гибридов лука комбинации скрещивания видов $A.cepa \times A.fistulosum$ и сортов лука репчатого.

С помощью комплексного использования инбридинга, кроссбридинга и апомиксиса получены различные потомства комбинаций скрещивания видов $A.cepa \times A.vavilovii$, $A.cepa \times A.fistulosum$, установлены их селекционно-генетические особенности и выделены рекомбинантные формы лука, обладающие новым сочетанием признаков высокой устойчивости к пероноспорозу с вызревающей, хранящейся луковицей.

В результате комплексной оценки селекционных форм лука, созданных на основе межвидовой гибридизации, выделена перспективная форма $I_5BC_1F_5(A.cepa \times A.fistulosum)$ впоследствии зарегистрированная в Государственном реестре

селекционных достижений сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию в РФ как сорт Озёрский (патент на селекционное достижение №12474 от 06.12.2022 года).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК

1. Романов, В.С. Полиморфизм межмикросателлитных повторов у видов лука / А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, Л.Ю. Кан, В.С. Романов // Овощи России. – 2011. - №3 (12). – С. 24-27.
2. Романов, В.С. Хромосомная структура гибридов между *Allium sera* L. и *A. fistulosum* L., относительно устойчивых к пероноспорозу, по данным геномной *in situ* гибридизации // М.В. Будылин, Л.Ю. Кан, В.С. Романов, Л.И. Хрусталева // Генетика. – 2014. – Т. 50. - №4. – С. 443-451 DOI: 10.7868/S0016675814040031.
3. Романов, В.С. Создание и комплексная оценка луковичных форм межвидовых гибридов лука *A. sera* × *A. fistulosum* / В.С. Романов, Н.И. Тимин // Овощи России. – 2016. - №2 (31). – С. 19-24.
4. Романов, В.С. Характеристика гибридов между *Allium sera* L. и *Allium nutans* L. по биохимическому составу / В.С. Романов, Л.Ю. Кан, Н.И. Тимин, А.С. Домблидес, А.В. Молчанова, М.М. Тареева // Овощи России. – 2017. - №5 (38). – С. 33-36 DOI: 10.18619/2072-9146-2017-5-33-36.
5. Романов, В.С. Перспективы использования биопрепаратов в селекции луков на зелень // М.С. Гинс, А.Ф. Агафонов, В.К. Гинс, А.А. Байков, В.С. Романов, В.Ф. Пивоваров, В.В. Логунова, Е.М. Гинс // Овощи России. – 2018. - №6 (44). – С. 70-72 DOI: 10.18619/2072-9146-2018-6-70-72.
6. Романов, В.С. Селекционная и биохимическая характеристика форм лука, созданных на основе межвидовой гибридизации / В.С. Романов, А.В. Молчанова, О.В. Павлова, М.М. Тареева // Овощи России. – 2018. - №6 (44). – С. 23-25 DOI: 10.18619/2072-9146-2018-6-23-25.
7. Романов, В.С. Селекционные особенности многолетних форм межвидовых гибридов лука / В.С. Романов, А.С. Домблидес, Л.Ю. Кан, М.М. Тареева, А.В. Солдатенко // Овощи России. – 2018. - №5 (43). – С. 18-24 DOI: 10.18619/2072-9146-2018-5-18-24.
8. Романов, В.С. Генетическое разнообразие межвидовых гибридов рода *Allium* L. / В.С. Романов, Л.Ю. Кан, А.С. Домблидес, Н.И. Тимин, Л.К. Гуркина, М.М. Тареева // Овощи России. – 2018. - №1 (39). – С. 21-27 DOI:10.18619/2072-9146-2018-1-21-27.

9. Романов, В.С. Луковичные формы межвидовых гибридов лука, их создание и оценка / В.С. Романов, О.В. Романова, М.М. Тареева // Овощи России. – 2019. - №1 (45). – С. 42-45 DOI: 10.18619/2072-9146-2019-1-42-45.

10. Романов, В.С. Регенерация растений чеснока озимого *in vitro* после колхицинирования / В.С. Романов, О.В. Романова, Л.И. Герасимова, Т.М. Середин, Н.А. Шмыкова, М.М. Тареева // Аграрная наука. – 2020. - №11-12. – С. 125-128 DOI: 10.32634/0869-8155-2020-343-11-125-128.

11. Романов, В.С. Селекционная работа с видами рода *Allium* L. в условиях Нечерноземной зоны России: новые сорта / Т.М. Середин, В.В. Шумилиа, А.В. Молчанова, М.И. Иванова, В.С. Романов, А.Ф. Агафонов // Промышленная ботаника. – 2022. – Т. 22. - №2. – С. 34-39 DOI: 10.5281/zenodo.7394466.

12. Романов, В.С. Ускоренное получение одного поколения лука за год технологией культуры цветочных бутонов *in vitro* / В.С. Романов, О.В. Романова, В.В. Логунова, М.М. Тареева // Биосфера. – 2022. – Т. 14. - №4. – С. 375-379 DOI: 10.24855/biosfera.v14i4.696.

13. Романов, В.С. Биоразнообразие межвидовых гибридов рода *Allium* L. / В.С. Романов // Овощи России. – 2022. - №5. – С. 43-49 DOI: 10.18619/2072-9146-2022-5-43-49.

14. Романов, В.С. Селекционные формы межвидовых гибридов рода *Allium* L. - источники увеличения биоресурсов лука / В.С. Романов // Рисоводство. – 2024. – Т. 23. - №3 (64). – С. 18-23 DOI: 10.33775/1684-2464-2024-64-3-18-23.

15. Романов, В.С. Применение межвидовой гибридизации и технологии культуры цветочных бутонов *in vitro* для увеличения биоресурсов лука / В.С. Романов, В.В. Логунова, В.Ф. Пивоваров, А.В. Солдатенко // Достижения науки и техники АПК. – 2024. – Т. 38. - №10. – С. 11-17 DOI: 10.53859/02352451_2024_38_10_11.

Публикации, входящие в Web of Science или Scopus

16. Romanov, V.S. GISH study of advanced generation of the interspecific hybrids between *Allium cepa* L. and *Allium fistulosum* L. with relative resistance to downy mildew / M.V. Budylin, L.I. Khrustaleva, L.Y. Kan, V.S. Romanov // Russian Journal of Genetics. – 2014. – V. 50. - №4. – P. 387-394 DOI: 10.1134/S1022795414040036.

17. Romanov, V.S. Profitability of cultivation of onion interspecific hybrids / V.S. Romanov, A.V. Soldatenko, V.F. Pivovarov, N.I. Timin, O.V. Romanova // In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – P. 012064 DOI: 10.1088/1755-1315/650/1/012064.

18. Romanov, V.S. Breeding forms of plants of the genus *Allium* L. obtained using induced apomixes / V.S. Romanov, O.V. Romanova, V.F. Pivovarov, A.V. Soldatenko //

In: International Scientific and Practical Conference "Current Issues of Biology, Breeding, Technology and Processing of Agricultural Crops" (CIBTA2022). Conference Proceedings (To the 110th anniversary of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops). United States, 2023. – P. 020069-1-020069-5 DOI: 10.1063/5.0140266.

19. Romanov, V.S. The 'edge effect' phenomenon in plants: morphological, biochemical and mineral characteristics of border tissues / N. Golubkina, L. Skrypnik, L. Logvinenko, V. Zayachkovsky, A. Smirnova, L. Krivenkov, V. Romanov, V. Kharchenko, P. Poluboyarinov, A. Sekara, A. Tallarita, G. Caruso // *Diversity*. – 2023. – V. 15. - №1. – P. 123 DOI: 10.3390/d15010123.

20. Romanov, V.S. Two-Step identification of N-, S-, R- and T-cytoplasm types in onion breeding lines using high-resolution melting (HRM)-based markers / L. Khrustaleva, M. Nzeha, A. Ermolaev, E. Nikitina, V. Romanov // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – V. 24. - №2. – P. 1605 DOI: 10.3390/ijms24021605.

Публикации в других изданиях

21. Романов, В.С. Создание форм межвидовых гибридов овощных растений – генетических источников ценных признаков (лук, морковь) / Н.И. Тимин, И.В. Титова, Л.Ю. Кан, В.С. Романов, Л.Т. Тимина, С.В. Жевора // *Материалы съезда генетиков и селекционеров и V съезда ВОГиС*. – М., 2009. – Ч. 1. – С. 337.

22. Романов, В.С. Создание и оценка форм межвидовых гибридов лука / В.С. Романов, Л.Ю. Кан, Н.И. Тимин // *Доклады ТСХА*. – М, 2010. – Вып. 282. – Ч. 1. – С. 649-651.

23. Романов, В.С. Особенности форм межвидовых гибридов лука / В.С. Романов, Л.Ю. Кан // *Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. II международная научно-практическая конференция (2-4 августа 2010 г.)*. – М.: ВНИИССОК, 2010 – Т. 2. – С. 491-496.

24. Романов, В.С. Формы межвидовых гибридов лука как источники хозяйственно ценных признаков (*A. сера* × *A. altaicum*) / В.С. Романов, Л.Ю. Кан // IX межд. симп. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 14-18 июня. – Пущино.– 2011. – Т. 3. – С. 78-80.

25. Романов, В.С. Селекционно-генетические особенности межвидовых гибридов лука / В.С. Романов, Л.Ю. Кан // *Вавиловские чтения 2011*, Саратов. – С. 59-60.

26. Романов, В.С. Селекционно-ценные формы межвидовых гибридов лука и моркови / Л.Ю. Кан, В.С. Романов, Н.И. Тимин, Л.Т. Тимина // III Вавиловская Международная конференция «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире», 6-9 ноября 2012. – С.-Пб., 2012. – С. 290-291.

27. Романов, В.С. Формы межвидовых гибридов лука как генетические источники селекционно-ценных признаков / В.С. Романов, Л.Ю. Кан, Л.К. Гуркина // Междунар. научн. конф. «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (8-11 октября 2012). – Минск, Республика Беларусь, 2012. – С. 97.

28. Романов, В.С. Генетическое разнообразие видов и форм межвидовых гибридов лука во ВНИИССОК / Л.Ю. Кан, В.С. Романов, А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, Н.И. Тимин // Международная конференция «Вавиловские чтения-2012», 26-28 ноября 2012. – Саратов, 2012. – С. 93-100.

29. Романов, В.С. Полиморфизм ISSR и SSR маркеров у представителей рода *Allium* ПЦР / А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, В.С. Романов, Л.Ю. Кан // V Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике «Непостоянство генома», 3-7 декабря 2012. – Звенигород, 2012. – С. 24.

30. Романов, В.С. Межвидовая гибридизация овощных растений (*Allium* L. – лук, *Daucus* L. – морковь, *Capsicum* L. – перец) / Н.И. Тимин, О.Н. Пышная, А.Ф. Агафонов, М.И. Мамедов, И.В. Титова, Л.Ю. Кан, В.В. Логунова, В.С. Романов, Н.А. Шмыкова, Л.Т. Тимина, Л.К. Гуркина, Е.А. Джос, Т. П. Супрунова, С.М. Кривошеев. – М., 2013. – 186 с.

31. Романов, В.С. Идентификация межвидовых гибридов лука с использованием ДНК маркеров / А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, В.С. Романов, Л.Ю. Кан, Н.И. Тимин // Сборник трудов 8-ой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014». – М., 2014. – Т. 2. – С.436-437.

32. Романов, В.С. Полиморфизм ISSR и SSR маркеров у представителей рода *Allium* L. / А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, В.С. Романов, Л.Ю. Кан, Н.И. Тимин, А.Ф. Агафонов, Т.С. Науменко // Сборник трудов 6-ой Международной научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», 12-17 октября 2014, Никитский ботанический сад, г. Ялта, Республика Крым, Россия. – С. 162-163.

33. Романов, В.С. Генетическое разнообразие видов и форм межвидовых гибридов рода *Allium* L. / Л.Ю. Кан, В.С. Романов, А.С. Домблидес, Е.А. Домблидес, Н.И. Тимин // Генетика и селекция: достижения и проблемы. Межд. науч. конф. – Умань, 2014. – С.43.

34. Romanov, V.S. Cytogenetic study the interspecific hybrids between *Allium cepa* L. and *Allium fistulosum* L. with relative resistance to downy mildew based on GISH analysis / L.Yu. Kan, V.S. Romanov, M.V. Budylin, L.I. Khrustaleva // The 7th

International Symposium on Edible Alliaceae 21st-25th May, 2015, Nigde, Turkey. – P. 110.

35. Romanov, V.S. Obtaining interspecific hybrids among edible *Allium* species / V.S. Romanov, L.Yu. Kan, N.I. Timin, A.S. Domblides, E.A. Domblides, L.K. Gurkina, A.V. Molchanova // The 7th International Symposium on Edible Alliaceae 21st-25th May, 2015, Nigde, Turkey. – P. 114.

36. Романов, В.С. Получение исходных селекционных форм у растений рода *Allium* L. при использовании апомиксиса / В.С. Романов, Н.И. Тимин // Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвящённой VII Квасниковским чтениям 1 декабря 2016 года. – М., ВНИИО, 2016. – С. 266-270.

37. Романов, В.С. Исходные формы селекции растений рода *Allium* L. полученные при использовании апомиксиса / В.С. Романов, Н.А. Шмыкова // Международной научно-практической интернет-конференции молодых учёных и специалистов «Наука, инновации и международное сотрудничество молодых учёных-аграриев», 23-24 декабря 2016 года. – Орёл, ВНИИЗБКК, 2016. – С. 204-207.

38. Романов, В.С. Межвидовые гибриды лука как источники увеличения биоразнообразия исходного материала в селекции лука / В.С. Романов // Материалы III международной научно-практической конференции «Овощеводство и бахчеводство: исторические аспекты, современное состояние, проблемы и перспективы развития» (в рамках II научного форума «Неделя науки в Крутах – 2017», 13-14 марта 2017 г). – с. Круты, Черниговская обл., Украина, 2017. – Т. 2. – С. 249-259.

39. Романов, В.С. Растения рода *Allium* L., полученные при использовании апомиксиса, как исходный материал селекции / В.С. Романов, Н.А. Шмыкова // Материалы международной научно-практической конференции «Основные, малораспространенные и нетрадиционные виды растений – от изучения к внедрению (сельскохозяйственные и биологические науки)» (в рамках II научного форума «Неделя науки в Крутах – 2017», 16 марта 2017 г). – с. Круты, Черниговская обл., Украина, 2017. – Т. 1. – С. 233-240.

40. Романов, В.С. Создание луковичных форм межвидовых гибридов лука и их оценка по селекционно-ценным признакам / В.С. Романов, А.С. Домблides, Л.Ю. Кан // «Инновационные подходы и перспективные идеи молодых ученых в аграрной науке». Сборник материалов международной научно-практической конференции молодых ученых (17 ноября 2017 г., Кайнар). – С. 459-463.

41. Romanov, V.S. Biotechnological approaches for breeding programs in vegetable crops / E.A. Domblides, N.A. Shmykova, D.V. Shumilina, T.V. Zayachkovskaya, T.S. Vjurtts, E.V. Kozar, L.YU. Kan, V.S. Romanov, A.S. Domblides, V.F. Pivovarov, A.V.

Soldatenko // VIII International Scientific Agriculture Symposium, "Agrosym 2017", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 2017. Book of Proceedings 2017. – P. 452-460.

42. Романов, В.С. Выделение исходного материала лука многоярусного (*Allium proliferum* Schrad.) по уровню содержания минеральных веществ в листьях / Т.М. Середин, А.Ф. Агафонов, Л.В. Кривенков, Е.В. Баранова, В.С. Романов, В.В. Шумилина, Т.Е. Шевченко // Доклады ТСХА. – 2019. – С. 549-551.

43. Романов, В.С. Гаплоидия на шнитт-луке (*Allium schoenoprasum* L.) через гиногенез / О.В. Романова, Т.М. Середин, В.С. Романов // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. Сборник тезисов докладов 20-й Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. Москва, 2020. – С. 74-76 DOI: 10.48397/ARRIAB.2020.20.042.

44. Романов, В.С. Биологические аспекты селекции *Allium proliferum* L. / Т.М. Середин, Т.Е. Шевченко, В.С. Романов // В сборнике: Перспективные технологии и материалы. Материалы научно–практической конференции с международным участием. Севастополь, 2020. – С. 186-188.

45. Романов, В.С. Итоги совместной селекционной работы по многолетним лукам ВНИИГР им. Н.И. Вавилова и ФГБНУ ФНЦО / Р.Д. Мусаев, Т.М. Середин, В.В. Шумилина, В.С. Романов // Вестник Российского государственного аграрного заочного университета. – 2021. - №36 (41). – С. 35-38.

46. Романов, В.С. Результат совместной селекционной работы по многолетним лукам ВНИИГР им. Н.И. Вавилова и ФГБНУ ФНЦО / А.В. Гончаров, Т.М. Середин, В.В. Шумилина, В.С. Романов // Вестник Российского государственного аграрного заочного университета. – 2021. - №38 (43). – С. 16-20.

47. Романов, В.С. Полиплоидные формы лука (*Allium scera* L. × *Allium fistulosum* L.) и чеснока (*Allium sativum* L.) / О.В. Романова, Т.М. Середин, В.С. Романов, И.С. Мастяев // В книге: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. Сборник тезисов докладов 21-ой Всероссийской молодежной научной конференции. Конференция посвящается памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. Москва, 2021. – С. 114-115 DOI: 10.48397/ARRIAB.2021.21.XXI.066.

48. Романов, В.С. Зимостойкость и биохимический состав коллекционного питомника лука слизуна / Т.М. Середин, В.В. Шумилина, М.М. Марчева, В.С. Романов, А.В. Гончаров // Вестник Российского государственного аграрного заочного университета. – 2022. - №41 (46). – С. 56-59.

49. Романов, В.С. Межвидовая гибридизация в увеличении биоразнообразия луковых культур / В.С. Романов, Н.И. Тимин // В книге: Генофонд и селекция растений. Сборник материалов 6-й Международной конференции. Новосибирск, 2022. – С. 161-165.

50. Romanov, V. Varietal differences of yield, morphological, and biochemical parameters of *Allium cepa* L. under precipitation excess in different phenological phases / N. Golubkina, O. Romanova, V. Romanov, L. Krivenkov, T. Shevchenko, O.C. Murariu, L. Vecchietti, S.B. Hamburda, G. Caruso // *Stresses*. – 2023. – V. 3. - №3. – P. 541-554 DOI: 10.3390/stresses3030038.

51. Романов, В.С. Селекция луковых культур на современном этапе / А.В. Биюшкина, В.С. Романов // В сборнике: Многофункциональное адаптивное кормопроизводство. Материалы Международного конгресса по кормам. Лобня, 2023. – С. 123-129 DOI: 10.33814/МАК-2023-31-79-123-129.

52. Романов, В.С. Фертильность пыльцы у межвидовых гибридов лука / А.В. Биюшкина, В.С. Романов, Л.Ю. Кан // Известия ФНЦО. – 2024. - №1. – С. 7-12 DOI: 10.18619/2658-4832-2024-1-7-12.

53. Романов, В.С. Оценка фертильности пыльцы у межвидовых гибридов лука / А.В. Биюшкина, В.С. Романов, Л.Ю. Кан // В сборнике: Инновационные процессы в сельском хозяйстве. Сборник статей XVI Международной научно-практической конференции. Москва, 2024. – С. 324-328.

54. Романов, В.С. Межвидовая гибридизация в увеличении биоресурсной коллекции лука / В.С. Романов, А.В. Молчанова // В сборнике: Генофонд и селекция растений. Материалы 7-й Международной конференции, посвященной 95-летию академика РАН П.Л. Гончарова. Новосибирск, 2024. – С. 291-296 DOI: 10.18699/GPB2024-74.

55. Романов, В.С. Межвидовые гибриды лука как генетический источник увеличения биоресурсной коллекции / В.С. Романов // Овощи России. – 2025. - №2. – С. 30-35 DOI:10.18619/2072-9146-2025-2-30-35.

Патенты и авторские свидетельства

56. Патент на селекционное достижение №12474 Лук репчатый Озёрский, выдан по заявке №8057618, дата приоритета 12.09.2019 г.

57. Авторское свидетельство №80362 Лук многоярусный Ионовец, выдано по заявке №8058858, дата приоритета 02.12.2019 г.

58. Авторское свидетельство №82702 Лук шнитт Белый танец, выдан по заявке №7954345, дата приоритета 24.11.2020 г.

59. Авторское свидетельство № 82050 Лук репчатый Дракон F1, выдан по заявке №7953842, дата приоритета 27.10.2020 г.