

Оригинальная статья / Original article

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2026-1-66-74>  
УДК:635.264:631.526:631.524.86

М.Г. Монахос\*,  
Я.Т. Эйдлин,  
С.Г. Монахос

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева  
127434, Россия, г. Москва,  
Тимирязевская ул., 49

\*Автор для переписки:  
mihaluch1864@gmail.com

**Вклад авторов:** Монахос М.Г., Эйдлин Я.Т.: методология, концептуализация, проведение исследования, формальный анализ, создание рукописи и её редактирование. Монахос С.Г.: руководство исследованием, ресурсы.

**Конфликт интересов.** Авторы статьи не имеют конфликта интересов.

**Для цитирования:** Монахос М.Г., Эйдлин Я.Т., Монахос С.Г. Создание исходного материала для гибридной селекции лука батун с устойчивостью к пероноспорозу. *Овощи России*. 2026;(1):66-74. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2026-1-66-74>

**Поступила в редакцию:** 23.01.2026

**Принята к печати:** 24.02.2026

**Опубликована:** 16.03.2026

Mikhail G. Monakhos\*,  
Yakov T. Eidlin,  
Sokrat G. Monakhos

Russian State Agrarian University – Moscow  
Timiryazev Agricultural Academy,  
49, Timiryazevskaya street, Moscow,  
127434, Russia

\*Corresponding Author:  
mihaluch1864@gmail.com

**Authors' Contributions.** Monakhos M.G., Eidlin Ya.T.: conceptualization, methodology, investigation, formal analysis, writing – review & editing. Monakhos S.G.: supervision, resources.

**Conflict of interest.** The authors of the article declare no conflict of interest.

**For citations:** Monakhos M.G., Eidlin Ya.T., Monakhos S.G. Development of Initial Material for Hybrid Breeding of Welsh Onion with Resistance to Downy Mildew. *Vegetable crops of Russia*. 2026;(1):66-74. (In Russ.)  
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2026-1-66-74>

**Received:** 23.01.2026

**Accepted for publication:** 24.02.2026

**Published:** 16.03.2026

# Создание исходного материала для гибридной селекции лука батун с устойчивостью к пероноспорозу



## РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Целью работы было – создание исходного материала для селекции F<sub>1</sub> гибридов лука батун с устойчивостью к пероноспорозу.

**Материал и методика.** Проведена межвидовая гибридизация с использованием *A. roylei* (донор доминантного гена устойчивости *Pd1*) и *A. galanthum* (донор Ga-типа цитоплазмы, индуцирующей ЦМС) с последующими насыщающими скрещиваниями с *A. fistulosum* (сорт «Ishikura» и линией из гибрида «Katana F<sub>1</sub>»). Оценку фертильности пыльцы проводили методом ацетокарминового окрашивания с подсчетом доли окрашенных зерен в трех полях зрения. Оценку устойчивости/восприимчивости полученных популяций проводили на искусственном инфекционном фоне (инокулюм патогена *Peronospora destructor* в концентрации 3\*10<sup>6</sup> спор/мл), а также с использованием молекулярного SCAR-маркера DMR1.

**Результаты.** Установлено, что гибриды первого поколения (*A. roylei* × *A. fistulosum*) и (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) характеризуются крайне низкой фертильностью пыльцы (17,9% и 14,9% соответственно), обусловленной нарушениями мейоза при отдаленной гибридизации. Однако однократное беккроссирование гибрида (*A. roylei* × *A. fistulosum*) с *A. fistulosum* привело к полному восстановлению мужской фертильности, и она составила 95,4%. Фенотипический анализ на инфекционном фоне выявил отсутствие симптомов поражения пероноспорозом у всех растений популяций BC<sub>1</sub> и потомства беккроссных растений, что не соответствует ожидаемому моногенному доминантному расщеплению. При этом ПЦР-анализ с маркером DMR1 продемонстрировал амплификацию неспецифичных фрагментов (350, 490 и 580 п.н.) у растений BC<sub>1</sub>. В результате исследования показана возможность передачи в геном лука батун ЦМС-индуцирующего фактора от *A. galanthum* и гена устойчивости *Pd1* от *A. roylei*. Отсутствие расщепления по устойчивости к пероноспорозу при беккроссировании восприимчивыми образцами *Allium fistulosum*, а также в самопыленном потомстве беккроссных растений позволяет выдвинуть гипотезу, о наследственном факторе в цитоплазме *Allium roylei* препятствующем образованию зигот, с рецессивным гомозиготным генотипом *pd1pd1*. Эту гипотезу подтверждает факт обнаружения восприимчивых растений в потомствах, где устойчивые растения гибрида *A. roylei* × *A. fistulosum* использовали в качестве опылителей на растения с цитоплазмой *A. galanthum* и *A. fistulosum*. Полученные беккроссные популяции представляют ценный материал для селекции гетерозисных гибридов лука батун.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

лук батун, *Allium roylei*, *Allium galanthum*, мужская стерильность, ПЦР, межвидовая гибридизация

# Development of Initial Material for Hybrid Breeding of Welsh Onion with Resistance to Downy Mildew

## ABSTRACT

**Relevance.** The aim of our work was to create initial material for the breeding of F<sub>1</sub> hybrids of Welsh onion (*Allium fistulosum*) with resistance to downy mildew.

**Materials and Methods.** To achieve this goal, interspecific hybridization was carried out using *A. roylei* (donor of the dominant resistance gene *Pd1*) and *A. galanthum* (donor of the Ga-type cytoplasm inducing CMS), followed by backcrossing with *A. fistulosum* (cultivar 'Ishikura' and self-pollinated lines from the 'Katana F<sub>1</sub>' hybrid). Pollen fertility was assessed using the acetocarmine staining method, calculating the proportion of stained grains in three fields of view. Evaluation of resistance/susceptibility of the obtained populations was conducted under an artificial infection background (inoculum of the pathogen *Peronospora destructor* at a concentration of 10<sup>6</sup> spores/ml), as well as using the molecular SCAR marker DMR1.

**Results.** It was found that first-generation hybrids (*A. roylei* × *A. fistulosum*) and (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) are characterized by extremely low pollen fertility (17.9% and 14.9%, respectively), caused by meiotic disturbances during distant hybridization. However, a single backcross of the hybrid (*A. roylei* × *A. fistulosum*) with *A. fistulosum* led to a complete restoration of male fertility in the BC<sub>1</sub> population, where the average fertility was 95.4%. Phenotypic analysis under the artificial infection background revealed an absence of downy mildew symptoms in all plants of the BC<sub>1</sub> and its populations containing genetic material from *A. roylei*, which does not correspond to the expected monogenic dominant segregation. At the same time, PCR analysis with the DMR1 marker demonstrated the amplification of non-specific fragments (350, 490, and 580 bp) in BC<sub>1</sub> plants, indicating structural rearrangements in the introgression region of the *Pd1* gene. The study demonstrated the possibility of transferring the CMS-inducing factor from *A. galanthum* and the *Pd1* resistance gene from *Allium roylei* into the genome of Welsh onion. The obtained BC populations represent valuable material for the breeding of heterotic Welsh onion hybrids resistant to downy mildew.

## KEYWORDS:

Welsh onion, *Allium roylei*, *Allium galanthum*, male sterility, PCR, interspecific hybridization.

## Введение

Лук батун (*Allium fistulosum* L., 1753) – многолетнее травянистое растение, возделывается ради сочной зелёной части ложного стебля (пера) для пищевых и пряных целей. Растение родом из восточной части Центральной Азии, а именно Алтайских гор и озера Байкал. В сельском хозяйстве Китая занимает первое место по посевным площадям лука батун (свыше 500 тыс. га). Япония и Южная Корея также имеют первенство по площадям выращивания, с площадями по 25 тыс. га [1]. В Европе и Северной Америке лук-батун встречается реже, однако в последние годы как салатный лук он привлекает внимание селекционеров и фермеров своей высокой урожайностью зелёной массы и холодостойкостью. Культура характеризуется ранним началом вегетации весной, высоким выходом зелёной массы, до 90% урожая приходится на перо, что значительно выше, чем у репчатого лука, а также богатым витаминным составом листьев.

Пероноспороз луковых или ложная мучнистая роса – грибное облигатно-биотрофное заболевание, возбудителем которого является оомицет *Peronospora destructor* (Berk.) Casp. При благоприятных условиях (высокая влажность и низкие температуры) патоген быстро распространяется по листу, образуя характерный серо-пурпурный пушистый налёт. Инфицирование листьев приводит к их пожелтению, некрозам и гибели, что существенно снижает фотосинтез и урожайность растения. По оценкам фитоземиепидемиологов, пероноспороз может наносить чрезвычайно серьёзный ущерб. При полном развитии эпифитотии потери урожая репчатого лука достигают 50-75%. Для контроля болезни обычно требуются множественные обработки фунгицидами (до 10-12 раз за сезон), что обременительно и нежелательно с экологической точки зрения. Таким образом, пероноспороз остаётся одной из наиболее опасных болезней для луковых культур, включая лук батун, и требует поиска длительных решений [2, 3].

Устойчивость к пероноспорозу у *Allium roylei* впервые была обнаружена и описана Van Der Meer и De Vries оценкой на инфекционном фоне. Результаты их опыта показали, что симптомы поражения в условиях инфекционного фона полностью отсутствуют как у самого *Allium roylei*, так и у его гибридного потомства от лука репчатого [4]. Позднее A. Kofoet, в результате скрещивания устойчивого *Allium roylei* и сорта репчатого лука «Jumbo» и дальнейшим беккроссом с репчатым луком в качестве повторного родителя, установил что устойчивость контролируется доминантным геном Pd [5]. Более подробно ген Pd был изучен Хрусталёвой и соавторами. Проведя GISH анализ, ею было определено, что ген локализован на 3 хромосоме в дистальной части её длинного плеча [3]. Подобный подход межвидовой гибридизации, может быть применён и к луку батуну, для получения устойчивых к пероноспорозу гибридов.

Гибридная селекция и семеноводство лука батун подразумевает использование ЦМС систем, для получения 100% гибридных семян, упрощения семеноводства и дополнительной биологической защиты авторских прав. Учитывая то, что внутри вида нет изученных и используемых ЦМС систем, необходима передача этого признака из близкородственных видов.

Наиболее перспективным является поиск и передача ЦМС системы контролируемой исключительно цитоплазматическим фактором, что исключает необходимость в создании генотипов закрепителей стерильности. Это отражается

в отсутствии необходимости анализирующих скрещиваний или маркер-опосредованного отбора генов восстановления/закрепления стерильности. Потомства, полученные от таких скрещиваний, будут полностью стерильными, вне зависимости от выбора отцовского компонента в качестве опылителя.

Наиболее перспективным источником ЦМС системы может служить близкродственный лук молочнокветковый (*Allium galanthum*). Цитоплазма лука молочнокветкового может стать хорошим инструментом для селекции гибридного лука батун. Впервые она была передана в результате межвидовой гибридизации в репчатый лук. Фенотипически цветки растения молочнокветкового лука отличаются скручиванием сегментов околоцветника вверх и тычиночными нитями без пыльников. Это уникальные морфологические признаки, отличающие ЦМС лука молочнокветкового от стерильности S-, R- и T-типа лука репчатого.

Исследования M.J. Havey показали, что аллели, восстанавливающие мужскую фертильность у лука, обладающего S-цитоплазмой, не восстанавливали мужскую фертильность у лука с ЦМС из цитоплазмы лука молочнокветкового. Это подтверждает, что ЦМС, индуцированная цитоплазмой лука молочнокветкового, имеет другой генетический фон, отличный от S-типа ЦМС лука и имеет цитоплазматическое наследование [6]. Вместе с тем, командой Yamashita был найден внутривидовой ген, обозначенный как Rf, который в доминантном аллельном состоянии восстанавливает фертильность у растений лука батун. GISH анализ показал, что ген локализован на 5 хромосоме лука молочнокветкового [7].

Целью настоящего исследования является передача гена устойчивости к ложной мучнистой росе (Pd1) из *Allium roylei* в лук батун. А также испытание лука молочнокветкового (*Allium galanthum*) в качестве донора специфичной ЦМС в лук батун.

В рамках исследования будет проведена межвидовая гибридизация лука батун с *Allium roylei* и *Allium galanthum*; Оценка фертильности полученных популяций межвидовых гибридов; Оценка устойчивости к пероноспорозу популяций, с геномом *Allium roylei*; Изучение факторов наследования целевых признаков ЦМС и устойчивости к ложной мучнистой росе.

## Материалы и методы

### Растительный материал

Представители видов лука, используемые как доноры признаков были взяты в качестве исходного материала из коллекции ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева». *Allium galanthum* – донор цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) и *Allium roylei* – донор гена устойчивости к пероноспорозу (Pd1).

Сорт *Allium fistulosum* «Ishikura/Long white» был выбран на ранних стадиях селекционного процесса в 2019 году, так как является одним из лучших коммерческих сортов лука батун (*Allium fistulosum*). Скороспелый сорт, урожайность 1,4 кг/м<sup>2</sup>, устойчив к фузариозной гнили, розовой гнили и пожелтению листьев.

Гибрид лука батун «Katana F<sub>1</sub>» (Sakata) – один из лучших коммерческих F<sub>1</sub> гибридов лука батун использовали для возвратного скрещивания. Обладает прекрасными хозяйственно ценными признаками среди гибридов лука батун на момент 2023 года. Скороспелый сорт, урожайность до 7 кг/м<sup>2</sup>, устойчив к стрелкованию и полеганию. Для

селекционного процесса использовали фертильное растение из потомства F<sub>2</sub>. Также на основе «Katana F<sub>1</sub>» создана чистая линия лука батуна путём самоопыления и отбора наилучших форм.

Имеющиеся и полученные семена растений лука высевали в кассеты с ячейками размером 3,2×3,2×4,0 (Д×Ш×В см). Через 10 дней после прорастания растения переваливали в горшки 11×8 (ДМ×В см). Далее растения в возрасте 20-30 дней с момента прорастания пересаживали в открытый грунт на опытный участок со схемой посадки 70×20 см. Растения популяции ((*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*) переваливали из кассет в горшки 26×20 (ДМ×В см) и расставляли в открытом грунте без высадки. В качестве субстрата использовался грунт торфяной универсальный «Агробалт».

#### Определение фертильности межвидовых гибридов

Жизнеспособность пыльцы оценивали у 4 растений популяции (*A. roylei* × *A. fistulosum*), 10 растений популяции (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) и 20 растений популяции [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] методом ацетокарминового окрашивания. Цветки собирали из зонтиков, у которых распустилось по меньшей мере 2/3 всех цветков. С одного зонтика каждого растения было отобрано по 3 цветка. Жизнеспособность пыльцы проверялась в течение одного часа после сбора цветков, чтобы не допустить обезвоживания пыльцы. С каждого из трёх цветков одного растения было отобрано по одному пыльнику, эти 3 пыльника помещались на предметное стекло в 30 мкл окрашивающего раствора (ацетокармин 0,5%). Пыльники в окрашивающем растворе накрывали покровным стеклом, после чего на покровное стекло оказывали небольшое давление, для разрушения оболочки пыльника и выхода в окрашивающий раствор пыльцевых зёрен. Полученные препараты были просмотрены на электрическом световом микроскопе. В препаратах жизнеспособная пыльца окрашивалась в красный цвет, тогда как нежизнеспособная пыльца оставалась неокрашенной или окрашивалась слабо. В каждом препарате было посчитано общее число пылевых зёрен и окрашенных, то есть фертильных, подсчёт вёлся в трёх разных полях зрения в каждом препарате.

#### Анализ устойчивых к пероноспорозу форм

Маркер-опосредованный отбор применяли для выделения устойчивых к пероноспорозу растений, обладающих геном *Pd1*, а также определения его аллельного состояния. Выделение ДНК проводилось СТАВ-методом [8]. Для выделения использовали 150-200 мг свежей ткани молодых листьев. Амплификация проводилась в ПЦР-амплификаторе Thermal Cycler C1000 Touch (Bio-Rad). Молекулярно-генетический анализ и дифференциация генотипов в расщепляющихся популяциях была проведена с использованием маркера DMR1 – SCAR-маркера ядерного гена устойчивости к пероноспорозу *Pd1* [9]. Молекулярный маркер DMR1 гена устойчивости к пероноспорозу *Pd1* был амплифицирован с парой праймеров, прямым DMR1-F 5'-TGAGGCTCAAGTTGACATG-3' и обратным DMR1-R 5'-TTCGTAGCAGCATCAAGGTG-3' при температуре отжига 65 °С. Амплифицируемый ДНК-фрагмент длиной 505 бп. сцеплен с доминантным *Pd1*-аллелем, ДНК-фрагмент длиной 438 бп. с рецессивным аллелем *pd1*. Разделение ДНК-продуктов амплификации проводили электрофорезом под напряжением 100 V в течение 1 часа 15 минут в 1,5% агарозном геле. ДНК-фрагменты окрашивали флуоресцентным

красителем GelRed (Biotium, USA). Визуализация и фотодокументация разделенных электрофорезом фрагментов ДНК, продуктов амплификации, осуществлялась с помощью геледокументирующей системы

В соответствии с методикой V. Buloviene и E. Surviliene, проводились испытания на искусственном инфекционном фоне, для идентификации устойчивых растений полученных от скрещивания популяций, имеющих ген *Pd1* [10]. С листьев, поражённых пероноспорозом, растений лука репчатого, произраставшего на одном из опытных участков, методом смыва был создан инокулюм *Peronospora destructor* с концентрацией 3\*10<sup>6</sup> спор/мл. Популяции растений, среди которых проводился отбор, опрыскивали инокулюмом *Peronospora destructor* в начале и конце дня в течение семи дней. Помимо межвидовых гибридов, среди которых проводили отбор, также на опытном участке были высажены и обработаны восприимчивые к пероноспорозу растения лука батуна сорта «Ishikura» и лука репчатого сорта «Exhibition» в качестве индикаторов заражения патогеном на опытном участке.

#### Результаты

##### Устойчивость к пероноспорозу

##### у межвидовых гибридов с *Allium roylei*

В 2020 году была проведена межвидовая гибридизация растений *Allium roylei* с луком батуном сорта «Ishikura», материнским компонентом скрещивания использовали *Allium roylei*, так как у него цветки с открытым типом и легко проводить кастрацию и гибридизацию. От скрещивания получили 4 гибридных растения. У гибридов наблюдался сильный гетерозисный эффект в сравнении с обоими родителями, они формировали крупные длинные листья, а растения были более ветвистыми со сложными луковицами (рис. 1). Однако они отличались более поздним переходом к стрелкованию в сравнении с

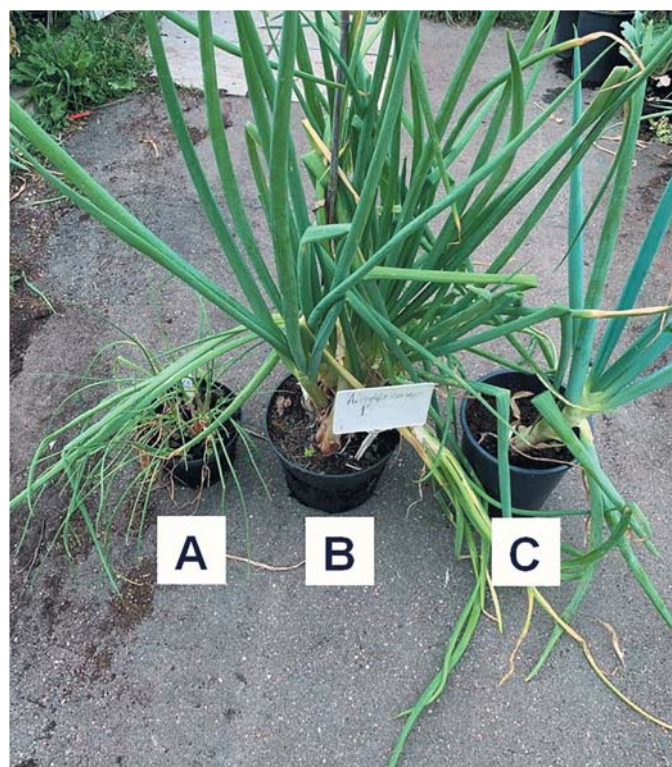


Рис. 1. Растения луков, где А – материнское растение *Allium roylei*; В – межвидовой гибрид (*A. roylei* × *A. fistulosum*); С – отцовское растение *A. fistulosum*  
 Fig. 1. *Allium plants*, where А – maternal plant *Allium roylei*; В – interspecific hybrid (*A. roylei* × *A. fistulosum*); С – paternal plant *A. fistulosum*

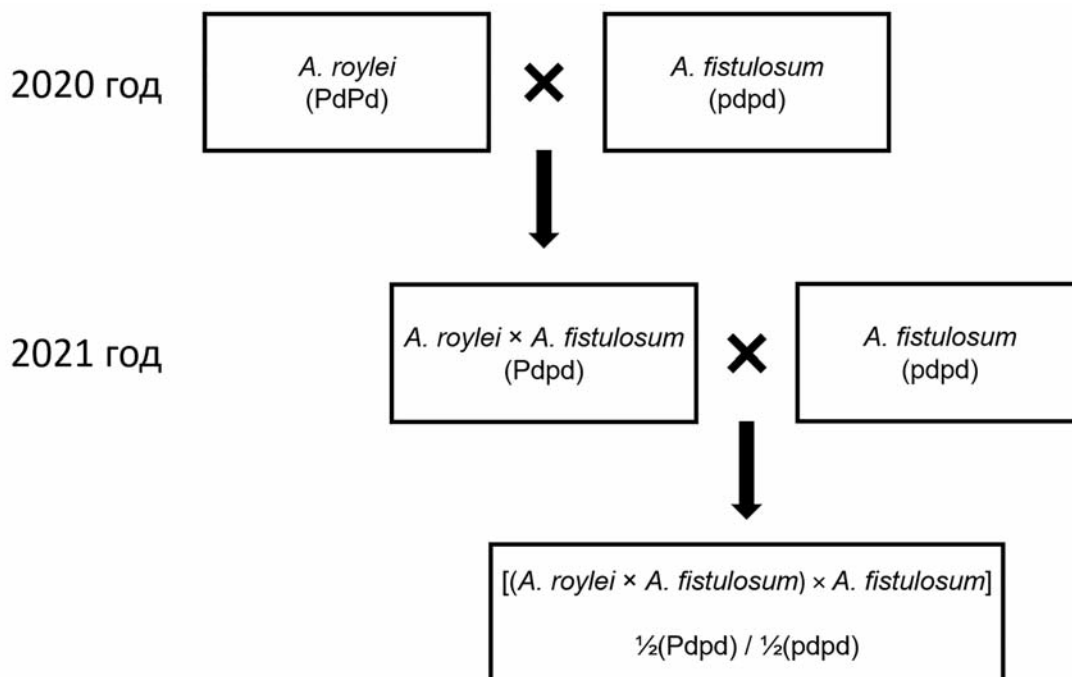


Рис. 2. Схема гибридизации 2020 и 2021 года, где в скобках под генотипом растений обозначено предполагаемое аллельное состояние гена устойчивости к пероноспорозу *Pd1*, в соответствии с наследованием по законам Менделя

Fig. 2. Hybridization scheme for 2020 and 2021. In parentheses below the plant genotype, the putative allelic state of the downy mildew resistance gene *Pd1* is indicated, according to Mendel inheritance patterns

луком батунном и занимали промежуточное положение, так как растения *Allium roylei* стрелковались еще позже. Самоопыление растений  $F_1$  гибридов с помощью шмелей в изодомике оказалось безуспешным, все растения были стерильными и семян  $F_2$  потомства получить не удалось.

В 2021 году провели беккроссное скрещивание гибрида ( $A. roylei \times A. fistulosum$ ), в качестве отцовского родителя был взят представитель потомства  $F_2$ , полученного от самоопыления лука батун гибрида «Katana  $F_1$ ». В дальнейших скрещиваниях в качестве лука батун как компонента скрещивания будет представлено растение  $F_2$  из гибрида «Katana  $F_1$ ». От беккросса получили 23 семени. Растения популяции  $[(A. roylei \times A. fistulosum) \times A. fistulosum]$  в дальнейшем были изолированы и каждому растению было проведено самоопыление с использованием ватного диска.

Схема гибридизации представлена на рисунке 2.

В 2022 году было проведено свободное опыление 20 растений  $[(A. roylei \times A. fistulosum) \times A. fistulosum]$  и было получено 260 семян. Учитывая, что ген *Pd1* находится в гетерозиготном состоянии у каждого представителя скрещиваемой популяции, в потомстве по этому гену теоретически должно происходить расщепление 1:2:1 ( $1Pd1Pd1:2Pd1pd1:1pd1pd1$ ) (рис.3.).

Так же для анализа влияния цитоплазмы на работу гена устойчивости к пероноспорозу (*Pd1*), был проведён беккросс растения генотипа  $[(A. roylei \times A. fistulosum) \times A. fistulosum]$  с  $A. fistulosum$ , при этом лук батун (*Allium fistulosum*) использовался уже как стерильный материнский компонент скрещивания. В результате скрещивания было получено 27 семян, схема скрещивания представлена на рисунке 4.

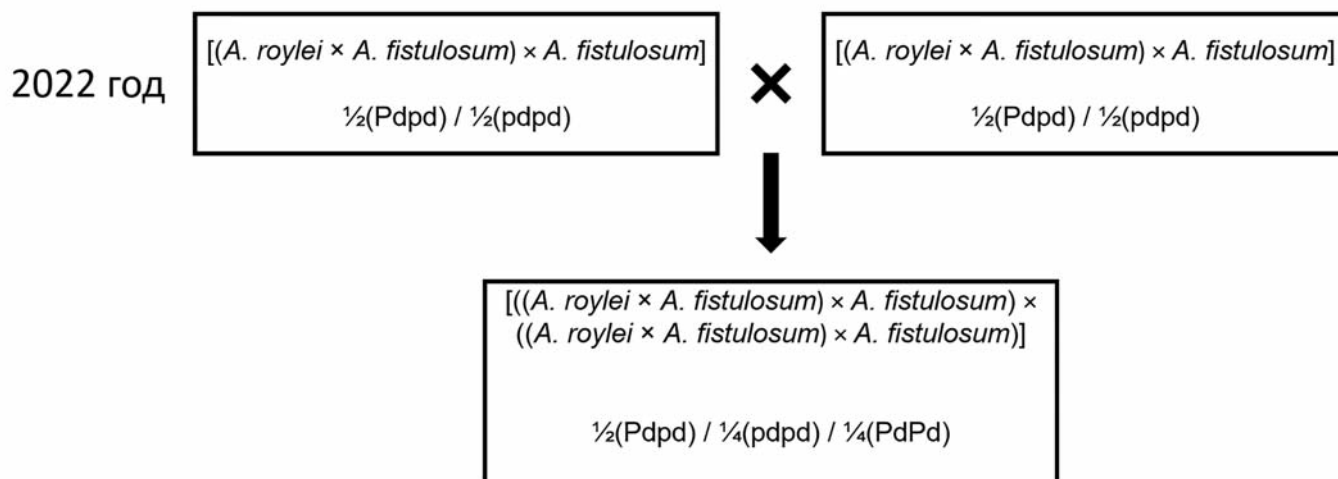


Рис. 3. Схема свободного опыления между 20 растениями межвидового гибрида  $[(A. roylei \times A. fistulosum) \times A. fistulosum]$

Fig. 3. Scheme of open pollination among 20 plants of the interspecific hybrid  $[(A. roylei \times A. fistulosum) \times A. fistulosum]$

**Наследование мужской стерильности при гибридизации *Allium galanthum* и *Allium fistulosum***

В 2020 году было проведено первое скрещивание *Allium galanthum* и *Allium fistulosum* в качестве пестичного компонента. Далее в 2021 году проводился отбор лучших форм и беккросс с *Allium fistulosum* в качестве повторного родителя, схема скрещиваний представлена на рис.5.

также тип цитоплазмы – N – нормальная, обеспечивающая фертильность; Ga – специфичный для *A. galanthum* тип цитоплазмы, вызывающий мужскую стерильность.

Было проведено скрещивание растения популяции (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) с ядерно-цитоплазматической мужской стерильностью и р растения популяции [*A. roylei* × (*A. galanthum* × *A. fistulosum*)] для оценки работы генов, отвечающих за устойчивость и ядерно-цитоплазмати-

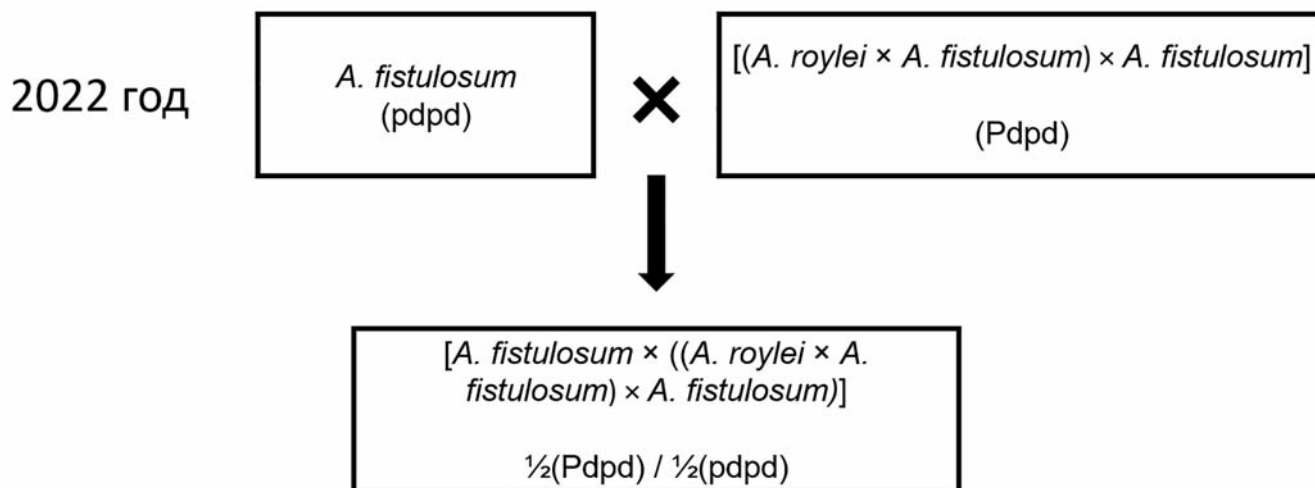


Рис. 4. Схема беккросса межвидового гибрида [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] и *A. fistulosum*, где последний используется в качестве материнского компонента  
 Fig. 4. Backcross scheme of the interspecific hybrid [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] with *A. fistulosum*, where the latter is used as the maternal component

Примечание: в скобках под генотипом растений обозначено предполагаемое аллельное состояние гена восстановителя фертильности Rf – доминантный аллель, восстанавливающий фертильность, rf – рецессивный аллель;

чекую мужскую стерильность в одной популяции, а также хозяйственно ценных качеств присущих луку батуну. Схема получения конечного генотипа с целевыми признаками представлена на рис. 6. Было получено 24 семени.

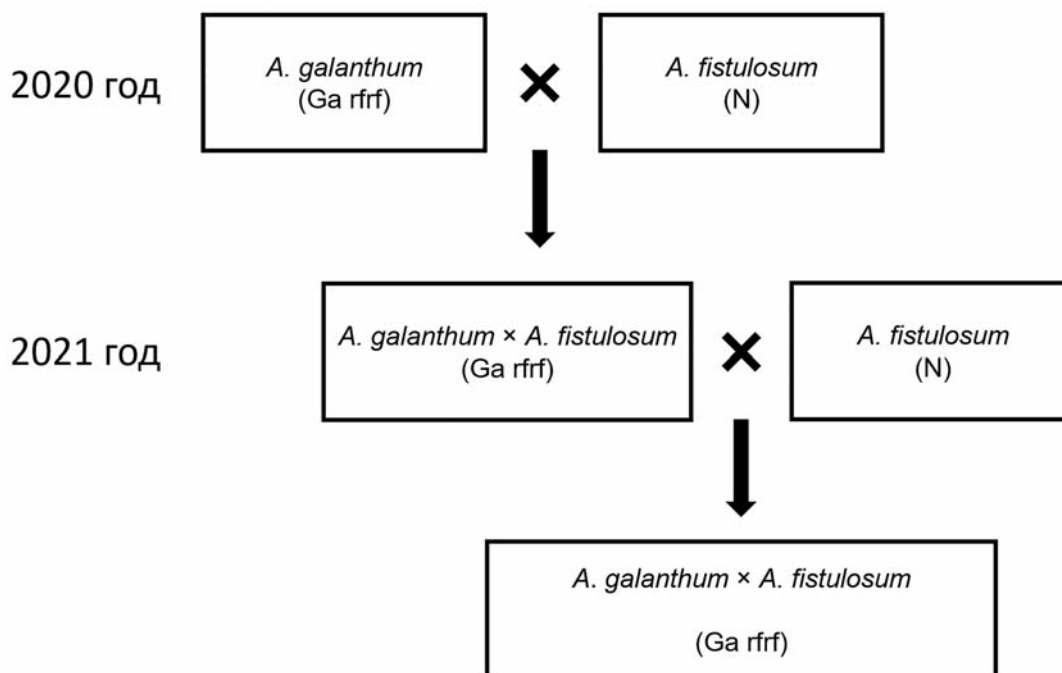


Рис. 5. Схема получения межвидовых гибридов (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) и первого поколения беккросса  
 Fig. 5. Scheme for obtaining interspecific hybrids (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) and the first backcross generation Note: In parentheses below the plant genotype, the putative allelic state of the fertility restorer gene is indicated: Rf – dominant allele restoring fertility, rf – recessive allele; also the cytoplasm type: N – normal, ensuring fertility; Ga – *A. galanthum*-specific cytoplasm type inducing male sterility.

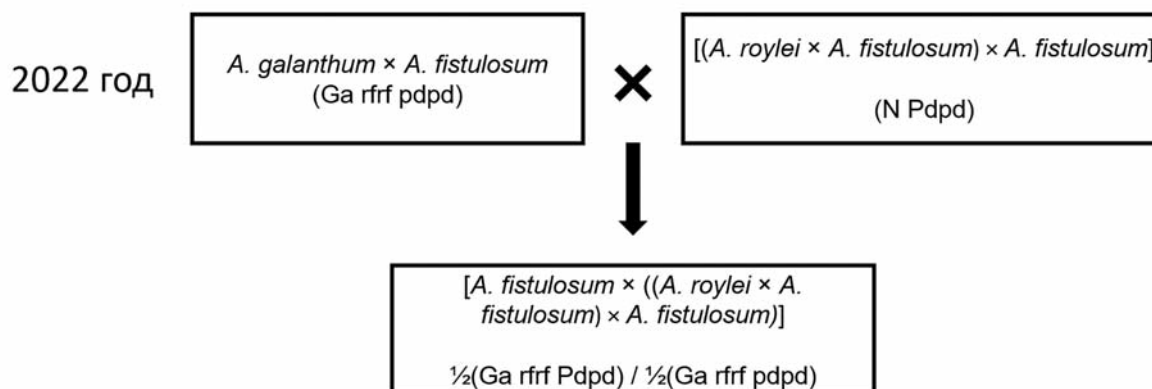


Рис. 6. Схема скрещивания межвидовых гибридов (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) и [(*A. roylei* × (*A. galanthum* × *A. fistulosum*))] / [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*].  
 Примечание: ген восстановителя фертильности Rf; ген устойчивости к пероноспорозу – Pd1; тип цитоплазмы – N и Ga  
 Fig. 6. Crossing scheme of interspecific hybrids (*A. galanthum* × *A. fistulosum*) and [(*A. roylei* × (*A. galanthum* × *A. fistulosum*))] / [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*]  
 Note: Fertility restorer gene – Rf; downy mildew resistance gene – Pd1; cytoplasm type – N and Ga.

### Оценка устойчивости на инфекционном фоне

Инфекционный фон показал свою эффективность, при котором высаженные в качестве индикатора растения лука репчатого (*Allium cepa*) сорта «Exhibition» полностью поразились пероноспорозом вместе с некоторыми гибридными



Рис. 7. Растения популяции [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] в технических горшках в условиях искусственного инфекционного фона. Поражённые растения лука репчатого произрастают в открытом грунте  
 Fig. 7. Plants of the population [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] in technical pots under artificial infection background conditions. Infected bulb onion plants are grown in open ground

популяциями лука батунa (*Allium fistulosum*), из чего следует, что опыт был поставлен успешно. Визуальная отличимость устойчивых растений представлена на рисунке 7, где показаны устойчивые растения F<sub>1</sub> гибридов *A. roylei* × *A. fistulosum*. Выявлено что все растения гибридов были полностью устойчивы.

По результатам фенотипической оценки беккроссных потомств в 2023 году, было определено число устойчивых и поражённых пероноспорозом растений. Число фактически поражённых растений и растений без симптомов было соответственно сопоставлено с теоретическими ожидаемыми данными расщепления по гену Pd1. На основании сравнительных данных была составлена таблица 1.

Молекулярно-генетический анализ наследования устойчивости

Результаты ПЦР анализа, представленные на рис. 7 показали, что у всех растений генотипа [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] 3 неспецифических для маркера DMR1 фрагментов ДНК, приблизительно 350, 490 и 580 пар нуклеотидов.

### Определение фертильности

С гибридных растений популяций (*A. roylei* × *A. fistulosum*), (*A. galanthum* × *A. fistulosum*), [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] среднее по трём полям зрения отношение фертильных пыльцевых зёрен к общему их числу для каждого отобранного растения приведено в таблице (2), наглядно количество фертильных пыльцевых зёрен в каждом подобранном генотипе в одном поле зрения представлено на рисунке 9.

Таблица 1. Результаты фенотипирования межвидовых гибридов на искусственном инфекционном фоне  
 Table 1. Results of phenotyping interspecific hybrids under an artificial infection background

Популяция	Всего растений	Число растений без симптомов		Число поражённых растений		χ <sup>2</sup>
		ожидаемо	фактически	ожидаемо	фактически	
[( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> ]	20	10	20	10	0	20
[[( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> ] × (( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> )]	244	183	244	61	0	81,33
[( <i>A. galanthum</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × (( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> )]	10	5	8	5	2	3,60
[ <i>A. fistulosum</i> × (( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> )]	24	12	21	12	3	13,50

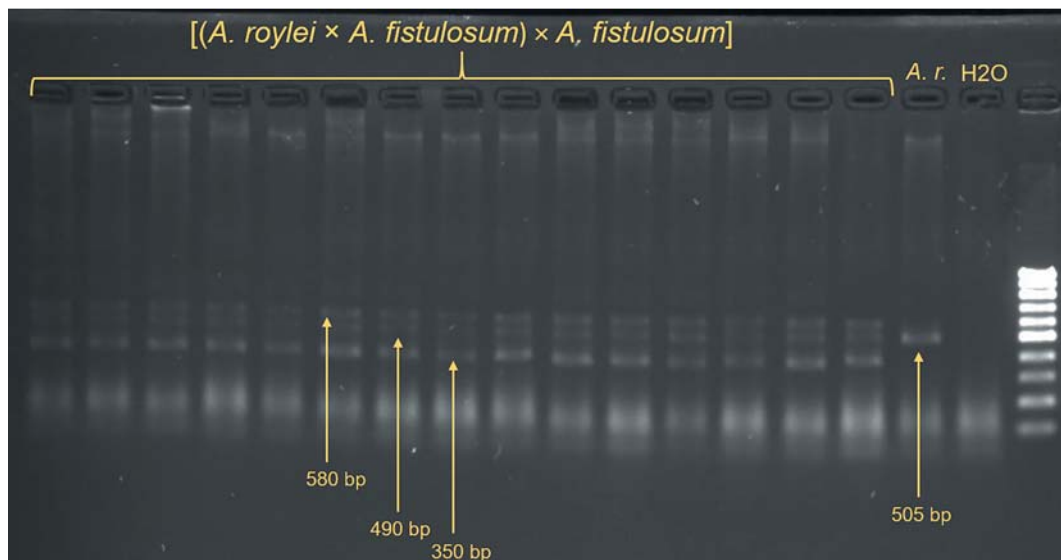


Рис. 8. Результат ПЦР анализа с парой праймеров DMR1. Проанализированы 15 растений генотипа [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*], растение *Allium roylei* – *A. r.* и отрицательным контролем –  $H_2O$ , ДНК маркер с шагом 100 п.н.  
 Fig. 8. Result of PCR analysis with the DMR1 primer pair. Analyzed samples: 15 plants of the genotype [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*], an *Allium roylei* plant – *A. r.*, and a negative control –  $H_2O$ . DNA ladder with 100 bp step.

**Обсуждение**

Межвидовая гибридная популяция (*A. roylei* × *A. fistulosum*) характеризовалась высокой степенью мужской стерильности: средняя фертильность пыльцы составила всего 17,9% (варьирование от 15,1 до 20,1% (табл. 2, рис. 9А). Следует отметить, что такая низкая фертильность не позволяла завязываться семенам при самоопылении.

Семена второго поколения так и не удалось получить. Однако уже в первом беккроссном поколении BC<sub>1</sub> [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] наблюдалось полное восстановление фертильности – средний показатель достиг 95,4% (от 85,2 до 98,7% (табл. 2, рис. 9С). Это свидетельствует о том, что геном *A. fistulosum* способен компенсировать мейотические нарушения, вызванные

Таблица 2. фертильность пыльцевых зёрен межвидовых гибридов  
 Table 2. Pollen grain fertility of interspecific hybrids

Популяция	№ образца в популяции	Фертильность образца, %	Средняя фертильность в популяции, %
<i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i>	1	18,8	17,9
	2	17,4	
	3	20,1	
	4	15,1	
<i>A. galanthum</i> × <i>A. fistulosum</i>	1	16,9	14,9
	2	13,2	
	3	15,6	
	4	13,1	
	5	12,9	
	6	17,5	
	7	18,2	
	8	15,4	
	9	11,8	
	10	14,4	
[( <i>A. roylei</i> × <i>A. fistulosum</i> ) × <i>A. fistulosum</i> ]	1	85,2	95,4
	2	93,7	
	3	97,3	
	4	93,8	
	5	97,0	
	6	92,9	
	7	98,6	
	8	94,3	
	9	90,7	
	10	98,2	
	11	95,6	
	12	98,7	
	13	96,6	
	14	98,1	
	15	92,3	
	16	95,8	
17	93,3		
18	97,4		
19	98,2		
20	93,7		

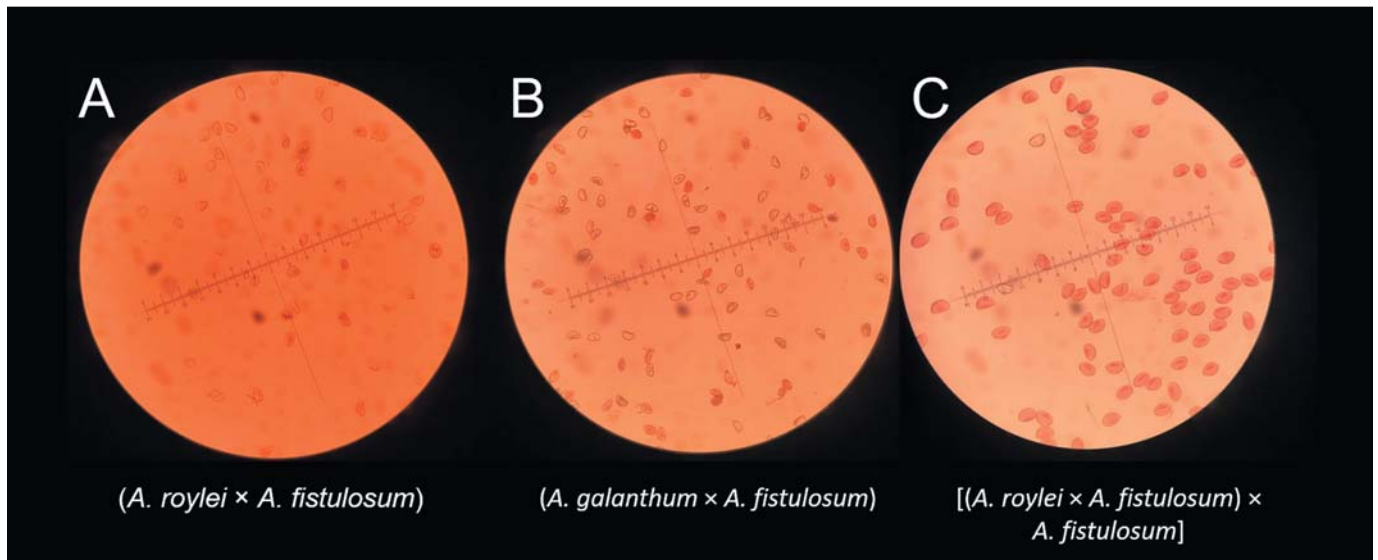


Рис. 9. Снимки препаратов пыльцевых зёрен, окрашенных ацетокармином. А – стерильные пыльцевые зёрна генотипа *A. roylei* × *A. fistulosum*; В – в основном стерильные пыльцевые зёрна генотипа *A. galanthum* × *A. fistulosum*; С – фертильные пыльцевые зёрна генотипа [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*].

Fig. 9. Micrographs of pollen grain preparations stained with acetocarmine. A – sterile pollen grains of genotype *A. roylei* × *A. fistulosum*; B – predominantly sterile pollen grains of genotype *A. galanthum* × *A. fistulosum*; C – fertile pollen grains of genotype [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*].

*Allium galanthum* был выбран донором за счёт обладания специфической среди видов луковых растений ядерно-цитоплазматической мужской стерильности, которая контролируется генами, присущими только *Allium galanthum* (цитоплазмой Ga и ядерным геном Rf) и хорошо фенотипически отличимой. Но при отсутствии генов восстановителей фертильности может использоваться как истинная ЦМС в других видах. В популяции *A. galanthum* × *A. fistulosum* уровень фертильности составляет 14,9% и семена от самоопыления также не завязывались.

Для дальнейшего анализа наследования низкого уровня фертильности или его возможного снижения из коллекции были отобраны и далее использовались в селекционной программе исключительно стерильные представители *Allium galanthum* с генотипом по мужской стерильности Gal rrf.

По результатам оценки на искусственном инфекционном фоне популяции [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] и [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] × [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] демонстрируют полное отсутствие расщепления – все растения оказались полностью устойчивыми, при этом значения  $\chi^2$  многократно превышают критический порог. Несмотря на то, что только половина представителей генотипа [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*], полученного по схеме из рис. 2 должна была генетически иметь устойчивость к пероноспорозу, в условиях искусственного инфекционного фона, поставленного в июле 2022 года, ни одно из растений не имело симптомов поражения в результате фенотипического анализа. Исходя из этого факта был сделан вывод, что все представители генотипа имеют ген устойчивости к пероноспорозу в гетерозиготном состоянии, то есть *Pd1pd1*, что не согласуется с моногенным наследованием Менделя. Популяция [*A. fistulosum* × ((*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*)] на инфекционном фоне демонстрирует 3 пораженных растения, что так же не согласуется с менделевским

расщеплением 1:1 при моногенном доминантном контроле.

В существующих исследованиях нетипичного наследования межвидовых гибридов, авторы сообщили о доминировании генома одного родителя над геномом другого [11,12]. В следствии такого доминирования происходит замещение хромосом субмиссивного родителя хромосомами доминантного, а также сверхэкспрессия генов доминантного родителя. Можно предположить, что геном *Allium roylei* доминирует в межвидовых гибридах над *Allium fistulosum*, и этим фактором можно объяснить отсутствие расщепления в межвидовых популяциях. Появление расщепления по гену устойчивости при реципрокном скрещивании также объясняется частой доминацией материнского генома. David Kopecký при анализе межвидовых популяций (*A. roylei* × *A. cepa*) указывал на доминирование генома *Allium roylei*, в которых тот использовался в качестве материнского компонента, однако при реципрокном скрещивании, где *Allium* сера материнское растение, распределение генома в гибридах происходит стабильно [13]. Наследование гена устойчивости к пероноспорозу в межвидовых гибридах (*A. roylei* × *A. fistulosum*) требует дальнейшего цитогенетического изучения.

Отсутствие расщепления по устойчивости к пероноспорозу при беккроссировании восприимчивыми образцами *Allium fistulosum*, а также в самоопыленном потомстве беккроссных растений позволяет выдвинуть гипотезу, о наследственном факторе в цитоплазме *Allium roylei* препятствующем образованию зигот, с рецессивным гомозиготным генотипом *pd1pd1*. Эту гипотезу подтверждает факт обнаружения восприимчивых растений в потомствах, где устойчивые растения гибрида *A. roylei* × *A. fistulosum* использовали в качестве опылителей на растения с цитоплазмой *A. galanthum* и *A. fistulosum*

На основании ПЦР анализа был сделан вывод, что в геноме гибридных растений [(*A. roylei* × *A.*

*fistulosum*) × *A. fistulosum*] могла произойти перестройка нуклеотидной последовательности маркера вследствие кроссинговера или мутации, в результате амплификация с маркером DMR1 показывает неспецифичные бенды предположительных размеров в 350, 490 и 580 пар нуклеотидов. При маркер-опосредованной селекции необходим поиск и создание новых, специфичных молекулярных маркеров, сцепленных с

геном *Pd1* при интрогрессии в другие виды луковых культур.

Растения популяций [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] и [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] × [(*A. roylei* × *A. fistulosum*) × *A. fistulosum*] обладают высокой селекционной ценностью и могут быть использованы в гибридной селекции на устойчивость к ложной мучнистой росе.

• Литература / References

1. Padula G., Xia X., Hołubowicz R. Welsh onion (*Allium fistulosum* L.) seed physiology, breeding, production and trade. *Plants*. 2022;11(3):343.  
<https://doi.org/10.3390/plants11030343>
2. Van Der Heyden H., Dutilleul P., Charron J.B., Bilodeau G.J., Carisse O. Factors Influencing the Occurrence of Onion Downy Mildew (*Peronospora destructor*) Epidemics: Trends from 31 Years of Observational Data. *Agronomy*. 2020;10(5):738.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy10050738>
3. Khurstaleva L., Mardini M., Kudryavtseva N., et al. The Power of Genomic in situ Hybridization (GISH) in Interspecific Breeding of Bulb Onion (*Allium cepa* L.) Resistant to Downy Mildew (*Peronospora destructor* [Berk.] Casp.). *Plants*. 2019;8(2):36.  
<https://doi.org/10.3390/plants8020036>
4. Van der Meer Q., De Vries J. An interspecific cross between *Allium roylei* Stearn and *Allium cepa* L., and its backcross to *A. cepa*. *Euphytica*. 1990;47(1):29-31.
5. Kofoet A., Kik C., Wietsma W., De Vries J. Inheritance of resistance to downy mildew (*Peronospora destructor* [Berk.] Casp.) from *Allium roylei* Stearn in the backcross *Allium cepa* L. × (*A. roylei* × *A. cepa*). *Plant Breeding*. 1990;105(2):144-149.
6. Havey M. Seed yield, floral morphology, and lack of male-fertility restoration of male-sterile onion (*Allium cepa*) populations possessing the cytoplasm of *Allium galanthum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1999;124(6):626-629.
7. Yamashita Kichiro, Takatori Y., Tashiro Y. Chromosomal location of

- a pollen fertility-restoring gene, Rf, for CMS in Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) possessing the cytoplasm of *A. galanthum* Kar. et Kir. revealed by genomic in situ hybridization. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(1):15-22.  
<https://doi.org/10.1007/s00122-005-1941-8>
8. Porebski S., Bailey L.G., Baum B.R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant molecular biology reporter*. 1997;15(1):8-15.
9. Kim S., Kim C.W., Choi M.S., Kim S. Development of a simple PCR marker tagging the *Allium roylei* fragment harboring resistance to downy mildew (*Peronospora destructor*) in onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica*. 2016;208(3):561-569.
10. Buloviene V., Surviliene E. Effect of environmental conditions and inoculum concentration on sporulation of *Peronospora destructor*. *Agronomy Research*. 2009;4(Special issue).
11. Glombik M., Bačovský V., Hobza R., Kopecký D. Competition of Parental Genomes in Plant Hybrids. *Front Plant Sci*. 2020;11:200.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00200>
12. Majka J., Glombik M., Doležalová A., et al. Both male and female meiosis contribute to non-Mendelian inheritance of parental chromosomes in interspecific plant hybrids (*Lolium* × *Festuca*). *New Phytologist*. 2023;238(2):624-636.  
<https://doi.org/10.1111/nph.18753>
13. Kopecký D., Scholten O., Majka J., Burger-Meijer K., Duchoslav M., Bartoš J. Genome Dominance in *Allium* Hybrids (*A. cepa* × *A. roylei*). *Front Plant Sci*. 2022;13:854127.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.854127>

Об авторе:

**Монахос Михаил Григорьевич** – младший научный сотрудник ООО «Селекционная станция имени Н.Н.Тимофеева»,  
SPIN: 6843-4970, ORCID: 0009-0003-6604-0822,  
ResearcherID Web of Science: PDW-8077-2025,  
Scopus AuthorID: 60176808900, mihaluch1864@gmail.com.

**Эйдлин Яков Тарасович** – к.с.-х.н., ассистент кафедры молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства,  
SPIN: 7774-7058, ORCID: 0000-0003-0657-8797,  
ResearcherID Web of Science: AFW-7880-2022.

**Монахос Сократ Григорьевич** – зав. кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, доктор с.-х. наук, профессор РАН,  
SPIN: 7130-9663, ORCID: 0000-0001-9404-8862,  
Researcher ID Web of Science:  
I-7729-201, Scopus AuthorID 56052882900

About the Author:

**Mikhail G. Monakhos** – Junior researcher N.N. Timofeev Breeding Station LLC, SPIN: 6843-4970, ORCID: 0009-0003-6604-0822,  
ResearcherID Web of Science: PDW-8077-2025,  
Scopus AuthorID: 60176808900, mihaluch1864@gmail.com.

**Yakov T. Eidlin** – Agricultural science PhD, Assistant Professor, Department of Molecular Breeding, Cell Technologies and Seed Production,  
SPIN: 7774-7058, ORCID: 0000-0003-0657-8797,  
ResearcherID Web of Science: AFW-7880-2022.

**Sokrat G. Monakhos** – Head of the Department Botany, Plant Breeding and Seed Technology, RSAU-MTAA, Dr. Sci. (Agriculture), Professor, SPIN: 7130-9663,  
ORCID: 0000-0001-9404-8862,  
Researcher ID Web of Science:  
I-7729-201, Scopus AuthorID 56052882900.