

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК МАРКЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*Allium cepa* L.)

DNA MARKERS IN ONION (*Allium cepa* L.) CYTOPLASMIC MALE STERILITY STUDY

Павлова И.В.*; кандидат биол. наук, н.с.
Купреенко Н.П., кандидат с.-х. наук, зав. отделом холодостойких культур
Булахова А.С., м.н.с.

Pavlova I.V.*,
Kupreenko N.P.,
Bulahova A.S.

Республиканское унитарное предприятие «Институт овощеводства»
223013, Республика Беларусь, Минская обл., а/г Самохваловичи, ул. Ковалева, 2
*E-mail: hakuroshya@yahoo.com

Republican Unitary Enterprise "Institute of Vegetable Growing"
223013, Republic of Belarus, Minsk region, Samokhvalovichy, Kovaleva st., 2
*E-mail: hakuroshya@yahoo.com

Работа ведется в рамках селекционной программы по созданию гетерозисных гибридов F_1 лука репчатого. Практической целью работы является проведение генетической селекции форм лука репчатого с использованием молекулярно-генетических маркеров мужской стерильности в ходе получения материнской линии для гетерозисной селекции гибридов F_1 . Опытные популяции лука репчатого выращивали в овощном севообороте РУП «Институт овощеводства» в Республике Беларусь. Научной составляющей данных исследований стало изучение популяционно-генетических основ различных типов мужской стерильности лука репчатого белорусской гермплазмы. Использовали сорта белорусской селекции Ветразь и Скарб литвинов и коллекцию сортов и гибридов. Изучали маркеры ДНК митохондриальных генов *orfA501*, *cob* и ядерных аллелей *Ms* и *ms*, cosegregирующих с генами, восстанавливающими или закрепляющими мужскую стерильность *S*-типа. В результате показано, что у в популяции сорта Ветразь наблюдаются цитотипы *N*- или *-T*, у растений с *N*-цитоплазмой (*TN*-). У белорусского сорта Скарб литвинов встречаются растения с цитотипами *N*-, *S*-, *TN*-, *SN*-, *STN*-. В результате сделан вывод, что мужская стерильность сорта Ветразь относится к *T*-типу, а у сорта Скарб литвинов является сложной, и обусловлена цитоплазматическими аллелями *S*- и *T*-. В обоих сортах: Ветразь и Скарб литвинов выявлены источники ядерного локуса *ms*, закрепляющего мужскую стерильность *S*-типа. В мировой коллекции сортов и гибридов выявлено менее пятой части числа образцов на основе *S*-цитотипа. Данная величина меньше значения, приводимого в научной литературе, однако может отражать значительное распространение в мировой гермоплазме лука репчатого исходной *S*-цитоплазмы единичного растения короткодневного сорта *Italian Red*.

Ключевые слова: лук репчатый (*Allium cepa* L.), мужская стерильность, молекулярные маркеры ДНК, *S*-, *T*-цитотипы, *Ms/ms*- ядерный аллель восстановления/закрепления мужской стерильности *S*-типа.

Для цитирования: Павлова И.В., Купреенко Н.П., Булахова А.С. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК МАРКЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ ЛУКА РЕПЧАТОГО (*Allium cepa* L.). Овощи России. 2018; (4): 16-19. DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-16-19

The work is carried out in the framework of the onion F_1 breeding program. The practical purpose of the work is to carry out genetic selection of onion forms using molecular genetic markers of male sterility in the course of obtaining the maternal line for heterotic selection of F_1 hybrids. The scientific component of these studies was the study of the population-genetic basis of various types of male sterility in onions of the Belarusian germplasm. We used belarusian varieties *Vetraz* and *Skarb litvinov* and a collection of other varieties and hybrids. Markers of the mitochondrial genes *orfA501*, *cob* and the nuclear alleles *Ms/ms*, cosegregating with genes of fertility restorer/*S*-sterility maintainer genes, were studied. It has been shown that in the *Vetraz* variety are observed plants with the *N*- or *T*-cytotype in *N*-cytoplasm (*TN*-). The belarusian variety *Skarb litvinov* contains plants with the cytotypes *N*-, *S*, *TN*-, *SN*-, *STN*-. As a result, it was concluded that the male sterility of the *Vetraz* variety is *T*-type, and in the *Scarp litvinov* variety is complex, and is caused by the cytoplasmic alleles *S*- and *T*-. In both varieties: *Vetraz* and *Scarb litvinov* the sources of the *ms* locus causing the *S*-type of male sterility have been identified. Less than one-fifth of the number of world collection of varieties and hybrids was detected as *S*-cytotype. This value is smaller than the value given in the scientific literature. However it may reflect the significant spread of the original *S*-cytoplasm of a single plant of the shortday *Italian Red* variety in the world onion germplasm.

Keywords: onion (*Allium cepa* L.), male sterility, DNA markers, *S*-, *T*-cytotypes, *Ms/ms* – fertility restorer/*S*-sterility maintainer nuclear alleles.

For citation: Pavlova I.V., Kupreenko N.P., Bulahova A.S. DNA MARKERS IN ONION (*Allium cepa* L.) CYTOPLASMIC MALE STERILITY STUDY. Vegetable crops of Russia. 2018;(4):16-19. (In Russ.) DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-16-19

Введение

Ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) наряду с самонесовместимостью и протандрией являются природными феноменами, обеспечивающими перекрестное опыление в сортопопуляциях лука репчатого. В результате поддерживается гетерозиготность популяции и предотвращается инбредная депрессия. Несмотря на это частота самоопыления в популяциях сортов лука репчатого доходит до 25%, вследствие чего инбредная депрессия может достигать 30% [1]. В сельскохозяйственном производстве ЦМС лука репчатого используется для обеспечения 100% гибридности F₁ промышленных семян. В сортах белорусской селекции Ветразь и Скарб литвинов мужская стерильность самоподдерживается в популяциях и ежегодно проявляется у 10-20% особей. В ходе создания гибридов F₁, наиболее время-, трудо-, ресурсозатратным процессом является выделение поддерживающих мужскую стерильность форм и создание на их основе выровненных инбредных линий.

Согласно классификатору СЭВ у лука репчатого встречаются два типа стерильности: 1 – ЦМС 1 тип Jones, Clark (1943) и 2 – ЦМС – 2 тип Beringer (1965) [2]. В работе Jones, Clark (1943) говорится об особенностях наследования ЦМС S-типа, в работе Beringer (1965) – о T-типе. Однако различия мужски стерильных фенотипов указанных цитотипов не описаны. В связи с этим пока невозможно различить фенотипически мужски стерильные растения растений S- и T-цитотипов. Это усложняет отбор исходных растений для гибридной селекции на основе ЦМС.

В начале нынешнего столетия в США, Японии и Китае были разработаны молекулярные маркеры ЦМС лука репчатого. Наибольшее внимание уделено изучению наиболее простого S-типа ЦМС, так как он проявляется при сочетании двух мутантных аллелей – одного ядерного и одного цитоплазматического. Молекулярная идентификация ЦМС форм позволяет существенно снизить число индивидуальных скрещиваний со стерильным тестером для идентификации поддерживающего генотипа за счет исключения отцовских растений с S-цитоплазмами и доминантными Ms-аллелями из тесткроссов.

На постсоветском пространстве работы по изучению молекулярных методов маркирования ЦМС были начаты в Российской Федерации [3, 4]. Наиболее изучены S- и T-типы ЦМС лука репчатого. Генетическая основа ЦМС-S, выявленной в 1925 году у сорта Italian Red, представляет собой взаимодействие вызывающей стерильность цитоплазмы (S) и ядерного восстановителя, представленного двумя аллелями Ms и ms [5]. T-цитоплазма была открыта в 1960 году во французском сорте Jaune Paille de Vertus. Термолабильная фертильность растений с T-цитоплазмой восстанавливается двумя независимыми системами восстановителей. Первая система состоит из одного локуса A с

двумя аллелями. Вторая состоит из двух действующих комплементарно локусов B и C. Фертильность восстанавливается доминантными аллелями всех систем [6].

В выполненной нами работе типы цитоплазмы определяли по полиморфизму митохондриальных *orfA501* и *cob* генов [3]. Маркер *orfA501* дает фрагмент молекулярной массой 473 п.о. у T-цитоплазм, индуцирующих стерильность, в отличие от N-цитоплазмы [7]. S-цитоплазма отличается от T-цитоплазмы с помощью маркера *cobS*, дающего фрагмент массой 414 п.о. у S-цитоплазмы [8]. N-цитоплазма отличается от S- по *cobN* маркеру наличием продукта амплификации 180 п.о. Изучали маркеры, корегулирующие с ядерными аллелями Ms и ms, для отбора поддерживающих мужскую стерильность генотипов [9].

Материалы и методы

Использовали острые сорта лука репчатого белорусской селекции. Сорт Ветразь – скороспелый, среднегнездный, образующий 2-5 луковиц, выращиваемый через севок. Сорт Скарб литвинов может выращиваться в однолетней культуре из семян и в двухлетней культуре через севок. Сорт среднеспелый, одногнездный, образующий 1-2 луковицы. Также исследовали сорта и гибриды из коллекции института: Темптейшн F₁, Марко F₁, Маргит F₁, Братко F₁, Хай белл F₁, Пандеро F₁, Хилтон F₁, Центро F₁, Робот, Тареско F₁, Франциско F₁, Премито F₁, Прометей, Эдельвейс, Аренал F₁, Венто F₁, EX07714593 F₁, Кремень, Сабросо F₁, Универсо F₁, Бонус F₁, Веллингтон F₁, Фирмо F₁, Ред цепелин F₁, Экстаз, Моушен F₁, Сангро F₁, Балдито F₁, Навигатор, Визин F₁, Нерато F₁, Дормо F₁, Радимич, Беннино F₁. Опытные популяции лука репчатого выращивали в овощном севообороте РУП «Институт овощеводства» в Республике Беларусь, Минском районе, агрогородке Самохваловичи. Проводили инбридинг фертильных N-цитотипов и тесткроссы мужски стерильных S-цитотипов под индивидуальными изоляторами (рис. 1, а). В исследованиях использовали семьи сортов Ветразь и Скарб литвинов, полученные с цитотипированных растений (рис. 1, б, с).

ДНК выделяли из высечек Ø 0,5 см одной, двух запасующих чешуй маточной луковицы или из листьев наборами реагентов, выпускаемыми ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», в колонках связыванием на нейлоновой мембране.

Праймеры для *orfA501* это 5'-ATGGCTCGCCTTGAAAGAGAGC-3' и 5'-CCAAGCATTTGGCGCTGAC-3', соответствующая температура отжига 60°C [7]. Праймеры для региона митохондриального гена *cob* S-цитоплазмы 5'-GTCCAGTTCCTATAGAACCTATCACT-3' (рис. 2, а). Для N-цитоплазмы 5'-TCTAGATGTGCGCATGTTGGAATCC-3'. Общий обратный праймер для *cobS*- и N-5'-CTTTCTATGGTGAACAACCTCTT-3', температура отжига 53°C [8]. Олигонуклеотиды синтезированы ОДО



Рис. 1. Внешний вид индивидуальных изоляторов для соцветий лука репчатого (а), генотипированные семенные растения лука репчатого, транспортируемые для дозирования и обмола (б), семенные растения лука репчатого, выращенные из генотипированных растений (с), d – контрольные растения лука репчатого.

Fig. 1. Appearance of cages used to obtain selfs on individual inflorescences of onion bulb selections (a), genotyped onion seed plants, transported for ripening and harvesting of seeds (b), onion seed plants grown from genotyped plants (c), d – control onion plants.

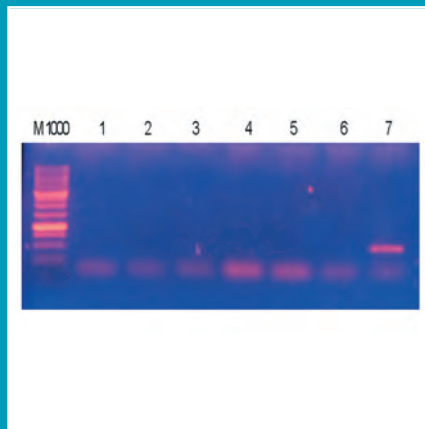
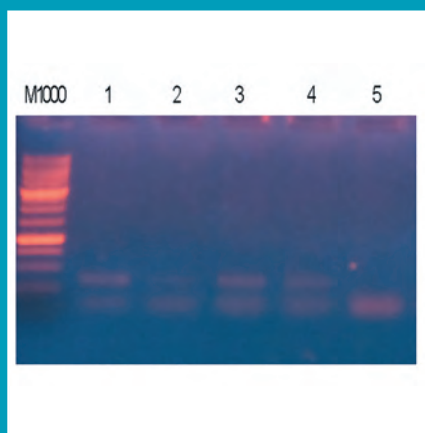
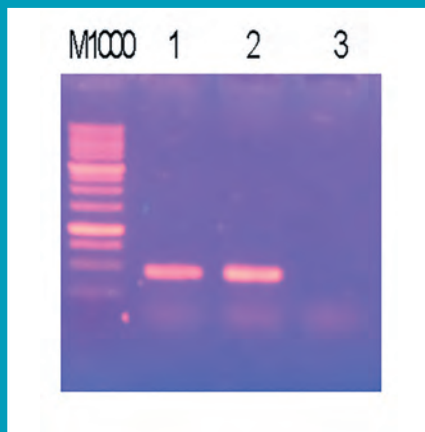


Рис. 2. Образцы электрофоретического анализа продуктов ПЦР тотальной ДНК образцов лука репчатого с использованием молекулярно-генетических маркеров. M1000 – маркер молекулярного веса 1000 п.н., а – молекулярный маркер *cob S*, положительные образцы на дорожках 1, 2, (414 п.н.); b – маркер *ms*, положительные образцы на дорожках 1, 3, 4, (357 п.н.); c – маркер *Ms*, положительный образец на дорожке 7 (566 п.н.). Продукты ПЦР цитоплазматических аллелей видны более четко, чем ядерных.
Fig. 2. Samples of electrophoresed products of PCR of total DNA of onion plants using molecular-genetic markers. M1000 - molecular weight marker 1000 bp, a - molecular marker *cob S*, positive samples on lanes 1, 2, (414 bp); b - marker *ms*, positive samples on lanes 1, 3, 4, (357 bp); c - *Ms* marker, positive sample on track 7 (566 bp). The PCR products of the cytoplasmic alleles are seen more clearly than the nuclear ones.

«Праймтех», Минск. Реакционная смесь для ПЦР объемом 25 µl содержала 50 ng матричной ДНК, 1x«AM» буфер для Tag-полимеразы «Праймтех», 0,2 mM каждого из dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 1 единицу Tag полимеразы и 10 pM каждого праймера. После периода начальной денатурации 94°C 2 мин., выполняли 25 циклов: 94°C – 30 сек., 60 (53)°C – 1 мин., 72°C – 2 мин. Терминальная элонгация 72°C – 5 мин.

Праймеры для идентификации *Ms*, *ms* аллелей синтезированы согласно [9]. Для детекции аллеля *Ms* прямой праймер – 5'-TACAGATTTGTTTATCTTCTTCTTCT-3', обратный – 5'-TTCATTTGTTAGGATGTACTCTTACC-3', для аллеля *ms* прямой праймер – 5'-TCAGTATCAATAGAAGGAATCAC-3', обратный – 5'-GTATACCATTGGTACTTTGATGCA-3' (рис. 2. b, c). Реакционная смесь общим объемом 25 µl содержала 50 ng матричной ДНК, 1x«AM» буфер для Tag-полимеразы «Праймтех», 0,2 mM каждого из dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 1 единицу Tag-полимеразы и 10 pM каждого праймера. Условия ПЦР следующие: начальная денатурация 95°C – 6 мин, затем 35 циклов 95°C 30 – сек, 58°C – 45 сек, 72°C – 45 сек. Терминальная элонгация 72°C – 5 мин. Амплифицированные продукты ПЦР анализировали в 1% агарозном геле, визуализировали в UV-свете после окрашивания бромистым этидием.

Результаты и обсуждение

В связи с тем, что S-цитотип рекомендуется использовать в селекционной работе по ЦМС лука репчатого как более простой, анализ начали с *cobS* аллеля. В наших исследованиях с 2014 по 2018 годы нормальная N-цитоплазма выявлялась у всех растений сорта Ветразь, S-цитоплазма выявилась единично только в 2017 году. В популяции сорта Скарб литвинов S-цитоплазма встречалась ежегодно примерно у четверти растений. У некоторых растений сорта Скарб литвинов S-цитоплазмой маркер N-отсутствовал. Первоначально фенотип мужской стерильности у сорта Скарб литвинов был классифицирован S-типом.

Наличие одновременно аллелей S- и N- в одной цитоплазме может объяснять частичное восстановление мужской фертильности у соответствующего фенотипа. В работе Kim [10] отражается тот факт, что растительные митохондриальные геномы в ходе эволюции увеличились в размерах и превратились в нестабильные структуры, по сравнению с компактными циркулярными структурами животных. Реаранжировки в растительной митохондриальной ДНК происходят под влиянием ядерных генов и других факторов и приводят к появлению химерных последовательностей. Продукты экспрессируемых химерных генов часто ухудшают митохондриальные функции, что приводит к таким морфологическим изменениям как мужская стерильность. Сообщается, что в геноме ЦМС-S цитотипа произошла интеграция

последовательности хлоропластного гена *usc2* в митохондриальный геном [11]. Там же показано, что у лука репчатого происходят существенные перестановки митохондриальной ДНК между нормальным и ЦМС-S цитотипами.

В ходе исследований постоянно наблюдали фенотипы мужской стерильности лука репчатого при отсутствии S-маркера. Поэтому провели анализ маркеров T-цитотипа. В нашем эксперименте количество растений с T-цитоплазмой у сорта Ветразь составляло 33,3%, у сорта Скарб литвинов – 25%. Наличие фрагмента *orfA501* одновременно с фрагментами S и N- у некоторых индивидуальных растений Скарб литвинов отражает факт сосуществования S-, T- и N-факторов в одной цитоплазме. На основе этих результатов сделан вывод, что мужская стерильность у сорта Ветразь может быть классифицирована как T-тип, а у сорта Скарб литвинов как сложная ЦМС на основе двух типов T- и S-.

Существует мнение, что большинство мировых гибридов F₁ лука репчатого произведены на основе ядерно-цитоплазматической стерильности S-типа. Однако тестирование соответственных молекулярно-генетических маркеров мужской стерильности в 2017 году в коллекционном питомнике маточных растений показало наличие маркера S-типа цитоплазмы только у 22% образцов из мировой коллекции сортов и гибридов F₁ (Медуза F₁, Братко F₁, Хай белл F₁, Прометей, Эдельвейс, EX07714593 F₁, Кремень, Веллингтон F₁, Ред цепелин F₁). Единообразие маркера S-цитоплазмы установлено в 19% популяций. Ядерный аллель *ms*, отвечающий за мужскую стерильность особей с S-цитоплазмой, отмечен в гомозиготном состоянии у двух из исследованных иностранных образцов: EX07714593 F₁ и Медуза F₁. Согласно нашим результатам, степень родства цитоплазм изученной коллекции единичному растению, источнику ЦМС S-типа, выделенному около века назад из короткодневного сорта Italian Red, далека от описываемых в научной литературе [12, 13] величин.

В 2018 году генотип, по теории поддерживающий мужскую стерильность – *msmsN*, выявлен у 10% растений сорта Ветразь, у 15% – у сорта Скарб литвинов. Растения, с генотипом тестера мужской стерильности – *msmsS* выделены только из сорта Скарб литвинов. Эти результаты в сопоставлении с данными других лет отражены в таблице. Было показано, что часть растений в обоих сортопопуляциях не содержат ни одного из ядерных аллелей стерильности *Ms/ms*.

Фенотипическое выделение мужской стерильных тестеров в наших опытах пока является субъективным. В коллекции лука репчатого выявили полиморфизм по цвету пыльников, по особенностям антезиса. У контрольных фертильных растений сорта Ветразь пыльники желтого цвета, крупные, хорошо выполняются, при созревании раскрываются и

Таблица. Встречаемость растений с целевыми генотипами по годам, %
Table. Occurrence of plants with target genotypes by years, %

Образец	msmsS				msmsN			
	2015	2016	2017	2018	2015	2016	2017	2018
Ветразь	0	0	5,0	0	29,2	25	27	10,0
Скарб литвинов	4,2	41,7	0	22,0	33,3	8,3	8,7	15,0

легко высвобождают пыльцу. У цветков фенотипически мужски стерильных растений образца Медуза F₁ (msmsS) пыльники усыхают до антезиса. У образца Темптейшн F₁ (--N) пыльники отламываются до начала созревания. Все растения сорта Прометей (Ms-SN) имеют пыльники темно-зеленого цвета. У сорта Кремень (Ms-S) пыльники у мужски стерильных растений окрашены в коричневый цвет. У растений других образцов наблюдали пыльники крупные, выполненные, растрескивающиеся, но имеющие липкую, плохо высвобождающуюся пыльцу. В связи с этим наряду с молекулярно-генетическим скринингом выборки из открытоопыляемой популяции проводится контроль стабильности мужской стерильности по годам у клонов материнских растений и оценивается закрепление мужской стерильности последовательными тесткроссами.

На данном этапе исследовательской работы по гибридной селекции лука реп-

чатого молекулярное маркирование S-цитотипа позволило сократить число инбредных популяций и семей, полученных из мужски стерильных фенотипов. Среди отобранных семей ведется отбор на семенную продуктивность, на всхожесть, на нормальный рост и развитие особей в популяции. В результате были отобраны семьи на N-цитоплазме со всхожестью семян биологического урожая выше 70% из сортов Ветразь, Скарб литвинов и образцов Премито F₁, Хилтон F₁, Венто F₁, Фирмо F₁, Сабросо F₁, Франциско F₁, Тареско F₁, Дормо F₁, Арена F₁. Нами установлено, что большинство изученных генотипов с аллелем ms в гомозиготном состоянии характеризуются низкой всхожестью и слабым ростом.

Заключение или выводы

В результате исследований показано, популяция сорта белорусской селекции Ветразь состоит из цитоти-

пов TN- и N-, то есть мужская стерильность сорта Ветразь относится к T-типу. Сортопопуляция Скарб литвинов состоит из композиции выявленных цитотипов: S-, SN-, SNT- и N. Мужская стерильность у сорта Скарб литвинов обусловлена цитоплазматическими аллелями S- и T-. В обоих сортах: Ветразь и Скарб литвинов выявлены источники ядерного локуса ms закрепляющего мужскую стерильность S-типа. По нашим результатам аллели Ms и ms отсутствуют в генотипах части растений в популяциях сортов Ветразь и Скарб литвинов. Отмечена низкая всхожесть и слабый рост большинства семей с аллелем ms, поэтому требуется проводить дополнительные инбридинги и отборы для получения гомозиготных ms растений, закрепляющих ЦМС S-типа. В коллекции иностранных сортов и гибридов различного происхождения выявлено 22% образцов с маркером ЦМС S-типа.

Литература

- Gokcè A.F., Havey M.J./Selection at the Ms locus in open pollinated onion (*Allium cepa* L.) populations possessing S-cytoplasm or mixtures of N- and S-cytoplasms//Genetic Resources and Crop Evolution. – 2006. – № 53. – С. 1495-1499.
- Широкий унифицированный классификатор СЭВ и международный классификатор СЭВ лука репчатого (*Allium cepa* L.). Оломоуц, ЧССР, 1980. – С. 17.
- Супрунова Т.П., Логунов А.Н., Логунова В.В., Агафонов А.Ф./Определение типа цитоплазматической мужской стерильности лука репчатого (*Allium cepa* L.) селекции ВНИИССОК с помощью молекулярных маркеров//Овощи России. – 2011. – № 4 (13). – С. 20-22.
- Пивоваров В.Ф., Пышная О.Н., Гуркина Л.К./Краткие итоги научных исследований по селекции и семеноводству овощных культур во ВНИИССОК//Овощи России. – № 4, (21). – 2013. – С. 10-15.
- Davis, E.W./The distribution of the male sterility gene in onion//Proc. Am. Soc. Hort. Sci. – 1957. – № 20. – P. 316-318.
- Berninger E./Contribution a l'etude de la sterilité male de l'oignon (*Allium cepa* L.)//Ann Amelior Plant (Paris). – 1965. – № 23. – P. 183-199.
- Enkle T., Terefe, D., Tatlioglu A./PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.)//Theor. Appl. Genet. – 2003. – № 107. – P. 162-167.
- Sato Y./PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes in onion (*Allium cepa* L.)//Theor. Appl. Genet. – 1998. – № 96. – P. 367-370.
- Yan Yan Yang, Yu Meng Huo, Jun Miao, Bing Jiang Liu et al./Identification of two SCAR markers co-segregated with the dominant Ms and recessive ms alleles in onion (*Allium cepa* L.)// Euphytica. – Apr. 2013. – Vol. 190. – Is. 2. – P. 267-277.
- Kim S., Bang H., Patl B.S./Origin of three characteristic onion (*Allium cepa* L.) mitochondrial genome rearrangements in *Allium* species//Scientia Horticulturae. – 2013. – № 157. – P. 24-31.
- Kim S., Yoon M./Comparison of mitochondrial and chloroplast genome segments from tree onion (*Allium cepa* L.) cytoplasm types and identification of a trans-splicing intron of cpx2//Curr. Genet. – 2010. – № 56. – P. 177-188.
- Havey M./Cytoplasmic determinations using the polymerase chain reaction to aid in the extraction of maintainer lines from open-pollinated populations of onion//Theor. Appl. Genet. – 1995. – № 90. – P. 263-268.
- Havey M./Diversity among male-sterility-inducing and male-fertile cytoplasms of onion// Theor. Appl. Genet. – 2000. – № 101. P. 778-782.

References

- Gokcè A.F., Havey M.J./Selection at the Ms locus in open pollinated onion (*Allium cepa* L.) populations possessing S-cytoplasm or mixtures of N- and S-cytoplasms//Genetic Resources and Crop Evolution. – 2006. – № 53. – С. 1495-1499.
- The international standard classification of the CMEA of onions (*Allium cepa* L.). Olomouc, ChSSR, 1980, P. 17.
- Suprunova T.P., Logunov A.N., Logunova V.V., Agafonov A.F./ Determination of cytoplasmic male sterile factors in onion plants (*Allium cepa* L.) of VNISSOK's breeding //Vegetable crops of Russia. – 2011. – № 4 (13). – P. 20-22.
- Pivovarov V.F., Pishnaya O.N., Gurkina L.K. The summary report of the research investigations on breeding and seed production in the all-russian research institute of vegetable breeding and seed production. Vegetable crops of Russia. 2013;(4):10-15. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2013-4-10-15>.
- Davis, E.W./The distribution of the male sterility gene in onion//Proc. Am. Soc. Hort. Sci. – 1957. – № 20. – P. 316-318.
- Berninger E./Contribution a l'etude de la sterilité male de l'oignon (*Allium cepa* L.)//Ann Amelior Plant (Paris). – 1965. – № 23. – P. 183-199.
- Enkle T., Terefe, D., Tatlioglu A./PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.)//Theor. Appl. Genet. – 2003. – № 107. – P. 162-167.
- Sato Y./PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes in onion (*Allium cepa* L.)//Theor. Appl. Genet. – 1998. – № 96. – P. 367-370.
- Yan Yan Yang, Yu Meng Huo, Jun Miao, Bing Jiang Liu et al./Identification of two SCAR markers co-segregated with the dominant Ms and recessive ms alleles in onion (*Allium cepa* L.)// Euphytica. – Apr. 2013. – Vol. 190. – Is. 2. – P. 267-277.
- Kim S., Bang H., Patl B.S./Origin of three characteristic onion (*Allium cepa* L.) mitochondrial genome rearrangements in *Allium* species//Scientia Horticulturae. – 2013. – № 157. – P. 24-31.
- Kim S., Yoon M./Comparison of mitochondrial and chloroplast genome segments from tree onion (*Allium cepa* L.) cytoplasm types and identification of a trans-splicing intron of cpx2//Curr. Genet. – 2010. – № 56. – P. 177-188.
- Havey M./Cytoplasmic determinations using the polymerase chain reaction to aid in the extraction of maintainer lines from open-pollinated populations of onion//Theor. Appl. Genet. – 1995. – № 90. – P. 263-268.
- Havey M./Diversity among male-sterility-inducing and male-fertile cytoplasms of onion// Theor. Appl. Genet. – 2000. – № 101. P. 778-782.