

УТВЕРЖДАЮ:
Врио проректора по научной работе
ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ
С.Н. Семенов
«26» ноября 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» на диссертационную работу Сухининой Ксении Вадимовны на тему: «Использование методов молекулярного маркирования для изучения генетического разнообразия и получения исходного материала в селекции озимого ячменя», представленную к защите в диссертационный совет 35.2.030.08, созданный на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические науки)

Актуальность темы исследования. Озимый ячмень является одной из важнейших зерновых культур в Российской Федерации, занимая значительные посевные площади в южных регионах страны. Его высокая продуктивность по сравнению с яровыми формами, а также способность эффективно использовать осенне-зимние запасы влаги определяют экономическую значимость этой культуры в современном земледелии.

В условиях возрастающей изменчивости климатических условий и усиления стрессовых факторов актуальность создания новых высокопродуктивных и адаптивных сортов озимого ячменя существенно возрастает. Однако традиционная селекционная схема предусматривает получение нового сорта в течение 10 лет и более, что значительно замедляет внедрение перспективного селекционного материала в производство.

В этой связи особую актуальность приобретает внедрение в селекционную практику современных молекулярно-генетических методов, позволяющих ускорить и повысить эффективность селекционного процесса. Использование ДНК-маркерных систем, в частности маркеров межпраймерного связывания (iPBS), открывает новые возможности для глубокого изучения генетических ресурсов растений, идентификации ценных признаков и целенаправленного подбора родительских пар для гибридизации.

Комплексный подход, сочетающий традиционные методы селекции с современными молекулярно-генетическими технологиями, позволяет не только сократить сроки создания новых сортов, но и значительно повысить эффективность селекционного процесса за счет целенаправленного использования генетического разнообразия исходного материала. Разработка и внедрение таких интегративных схем в селекцию озимого ячменя

представляет собой актуальную научно-практическую задачу, решение которой имеет важное значение для развития отечественного семеноводства и повышения продуктивности зернового хозяйства.

Научная новизна диссертационного исследования. Впервые для селекции озимого ячменя разработана и апробирована комплексная схема анализа генетического разнообразия с использованием 24 iPBS-маркеров (2373; 2074; 2228; 2415; 2230; 2075; 2078; 2237; 2374; 2375; 2376; 2095; 2330; 2309; 2321; 2346; 2328; 2311; 2312; 2334; 2303; 2339; 2341; 2306), позволившая провести масштабное генотипирование 134 коллекционных и селекционных образцов.

Впервые для культуры озимого ячменя применен комплекс статистических методов (анализ генетического родства по методу главных координат (PCoF), кластерный анализ методом «Neighbor-Joining» программы MEGA 11, Байесовский анализ генетической структуры популяций), что позволило установить генетическую индивидуальность каждого образца и выявить специфические закономерности структурирования генетического разнообразия.

Впервые для озимого ячменя проведено комплексное изучение динамики полиморфизма в различных популяциях (мутантные формы, современные и устаревшие российские сорта, селекционные линии, зарубежные сорта), что выявило значительные межпопуляционные различия в уровне генетического разнообразия – от 30,58% у старых отечественных сортов до 80,34% у зарубежных образцов.

Разработана и впервые реализована научно обоснованная программа гибридизации на основе данных молекулярного маркирования, позволившая создать 80 новых гибридных комбинаций и получить 6631 гибридное зерно как перспективный исходный материал для селекции.

Впервые установлены конкретные генетические детерминанты хозяйственно-ценных признаков у перспективных гибридных форм озимого ячменя, что подтверждено выделением образцов с ранним сроком колошения, повышенной урожайностью, устойчивостью к полеганию и основным болезням.

Теоретическая и практическая значимость проведенных автором исследований заключается в разработке и научном обосновании комплексного подхода к оценке генетического разнообразия озимого ячменя с использованием современных молекулярно-генетических методов. Полученные данные вносят вклад в развитие теории селекции растений, расширяя представления о генетической структуре популяций культурных растений и закономерностях наследования хозяйственно-ценных признаков.

Разработанная методология комбинированного анализа, включающая использование iPBS-маркеров в сочетании с многомерными статистическими методами (анализ главных координат, кластерный анализ, Байесовский подход), представляет теоретическую ценность для развития направлений генетики и селекции сельскохозяйственных культур.

Практическая значимость работы подтверждается следующими

результатами:

Создан банк генетических данных 134 образцов озимого ячменя, характеризующий их индивидуальность и уникальность, что имеет практическое значение для селекционных учреждений при подборе родительских пар.

На основе молекулярно-генетического анализа разработаны и реализованы схемы скрещиваний, результатом которых стало создание 80 гибридных комбинаций – ценного исходного материала для дальнейшей селекционной работы.

Выделены перспективные гибридные формы с повышенной продуктивностью (превышение над стандартом от 0,35 до 1,63 т/га), устойчивостью к полеганию и болезням (мучнистая роса, сетчатая пятнистость), рекомендованные для включения в селекционные программы.

Практическим результатом работы стало создание и патентование трех новых сортов озимого ячменя – Агродеум 11, Агродеум 21 и Кубагро 100, внесенных в Государственный реестр селекционных достижений и рекомендованных для возделывания в производственных условиях.

Разработанные методические подходы рекомендуется внедрить в селекционных учреждениях Российской Федерации для повышения эффективности селекционного процесса и сокращения сроков создания новых конкурентоспособных сортов озимого ячменя.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных методов молекулярно-генетического анализа, репрезентативным объемом исследуемого материала (134 коллекционных и селекционных образца озимого ячменя), применением статистически значимых выборок и корректным применением методов математической обработки данных.

Экспериментальные исследования выполнены с соблюдением стандартных методик: полевые опыты проводились в соответствии с методикой государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур, лабораторные исследования – с использованием общепринятых молекулярно-генетических методов (СТАВ-метод выделения ДНК, ПЦР, электрофорез в агарозном геле). Статистическая обработка данных осуществлялась с применением специализированного программного обеспечения (GenAlex 6.3, MEGA11, STRUCTURE, Structure Selector) и пакетов прикладных программ.

Апробация результатов работы. Основные положения и результаты исследований доложены и обсуждены на ежегодных заседаниях кафедры генетики, селекции и семеноводства факультета агрономии и экологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» (2021-2024 гг.), а также на конференциях различного уровня:

- Международной научной конференции «Проблемы селекции – 2022» (г. Москва, 2022);
- II Международной научно-практической конференции «Научные исследования и разработки 2022» (г. Москва, 2022);
- LVIII Международной очно-заочной научно-практической конференции

«Новости науки 2025» (г. Москва, 2025);

- Международной научно-практической конференции «Научный прогресс и устойчивое развитие» (г. Санкт-Петербург, 2025);
- Международной научно-практической конференции «Глобальные научные тенденции: интеграция и инновации» (г. Симферополь, 2025).

Результаты работы внедрены в селекционный процесс ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», о чем имеются соответствующие акты внедрения.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа изложена на 193 страницах компьютерного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, предложений для селекции, списка литературы и приложений. Работа содержит 22 таблицы, 34 рисунка и 4 приложения. Список литературы включает 149 наименований, в том числе 69 иностранных источников.

Во введении (стр.4-8) обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследований, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, а также приведены сведения об апробации результатов и публикациях.

Глава 1 «Обзор литературы» (стр.9-32) содержит анализ современных научных данных по сельскохозяйственному значению культуры ячменя, этапов селекционного процесса и методам его ускорения. Подробно рассмотрены типы молекулярных маркеров и методы исследования полиморфизма ДНК, особое внимание уделено эффективности использования iPBS-маркеров в изучении генетического разнообразия сельскохозяйственных растений.

Глава 2 «Условия, материал и методика проведения исследований» (стр.33-44) описывает объекты и методы исследований. Представлена характеристика 134 коллекционных и селекционных образцов озимого ячменя, детально изложены методы выделения ДНК, проведения ПЦР с 24 iPBS-маркерами, электрофоретического анализа, а также методики полевых опытов и статистической обработки данных с использованием программ GenAlex 6.3, MEGA11, STRUCTURE.

Глава 3 «Результаты и обсуждения» (стр. 45-98) является основной и самой объемной частью диссертации. В ней автором представлены результаты молекулярно-генетического анализа 134, различных по происхождению, образцов ячменя с использованием 24 iPBS-праймеров, выявившего значительный полиморфизм на уровне ДНК. В ходе анализа было идентифицировано 259 полиморфных локусов из 6211 амплифицированных фрагментов, что свидетельствует о существенном генетическом разнообразии изученной коллекции. С применением методов многомерной статистики, включая метод главных координат (PCoA), кластерный анализ и байесовское моделирование (STRUCTURE), была успешно реконструирована генетическая структура исследуемого генофонда. Данные анализы позволили объективно сгруппировать образцы в кластеры, соответствующие их эколого-географическому происхождению и селекционной истории, а также выявить несколько предковых популяций.

Ключевым практическим итогом главы является идентификация и характеристика конкретных iPBS-маркеров, показавших статистически значимую ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками, такими как скороспелость и устойчивость к болезням, что подтверждает высокую прикладную ценность работы.

Глава 4 «Хозяйственно-биологическая характеристика созданных сортов» (стр. 99-104) содержит подробное описание трех новых сортов озимого ячменя – Агродеум 11, Агродеум 21 и Кубагро 100, созданных в процессе выполнения диссертационной работы и защищенных патентами на селекционные достижения. Сорт Агродеум 11 отличается раннеспелостью (созревает на 6-8 дней раньше стандарта), высокой устойчивостью к мучнистой росе и потенциальной урожайностью до 11,5 т/га. Агродеум 21 – высокой устойчивостью к болезням, крупным зерном (масса 1000 зерен 45-55 г) и урожайностью 7,58 т/га, превышающей стандарт. Кубагро 100 представляет шестирядный среднеспелый сорт с урожайностью 8,03 т/га и высокой устойчивостью к полеганию даже на интенсивных агрофонах. Все сорта защищены патентами и рекомендованы для использования в производстве, а также в селекционных программах по созданию новых высокопродуктивных и адаптивных сортов.

Раздел «Заключение» (стр. 105-106) представляет собой сжатое и структурированное изложение основных итогов диссертационной работы, сформулированных в виде последовательных, пронумерованных выводов. Каждый вывод логически вытекает из результатов, представленных в главах 3 и 4, и в совокупности они дают полный ответ на цель и задачи, поставленные во введении.

В выводах констатируется успешное решение ключевых задач, и подтверждают положения, выносимые на защиту: дана оценка генетического разнообразия коллекции ячменя с помощью 24 iPBS-праймеров, выявлены уровни полиморфизма, а вся совокупность образцов разделена на генетические кластеры на основе полученных молекулярных данных. Особое внимание уделено наиболее значимому практическому результату – идентификации конкретных iPBS-маркеров, которые ассоциированы с хозяйственно-ценными признаками, такими как скороспелость и устойчивость к болезням. В заключении также перечисляются конкретные сорта, которые были определены как носители этих ценных маркеров и рекомендованы для использования в дальнейшей селекционной работе в качестве источников-доноров. В целом, заключение четко и лаконично подводит итог всему исследованию, подчеркивая его научную новизну и практическую значимость, и демонстрирует, что поставленная цель диссертационной работы была полностью достигнута.

Раздел «Рекомендации для селекции» (стр. 107) расположен сразу после выводов и содержит конкретные, адресованные селекционерам рекомендации, основанные на полученных в ходе исследования результатах. Так, автором предложено внедрение разработанной методики iPBS-маркирования для генотипирования озимого ячменя и изучения

генетического разнообразия в селекционной практике. Рекомендовано использовать полученные данные для эффективного подбора родительских пар и создания целевых гибридных форм. Рекомендуется продолжить изучение перспективных гибридов в третьем поколении и активно включать в селекционные программы новые высокопродуктивные сорта Агродеум 11, Агродеум 21 и Кубагро 100.

В процессе анализа диссертационной работы и автореферата возникли некоторые замечания и вопросы:

1. В разделе 2.2 главы 2 на стр. 37 указано, что полевые опыты закладывались согласно методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (2019), но не приведены конкретные параметры: количество повторностей, размер делянок, способ размещения вариантов. Упоминается, что стандарт высевали «через каждые 10 номеров», но не ясна общая схема опыта. Было бы желательно подробно описать схему полевого опыта с указанием площади делянок, повторности, метода размещения делянок.

2. В разделе 3.2.3 главы 3 отмечается, что в гибридных питомниках проводили оценку роста и развития растений, отмечали даты наступления основных фаз вегетации, подсчитывали сохранность после перезимовки, определяли устойчивость к болезням и полеганию, начиная со второго поколения вели учет структурных элементов продуктивности и учет урожайности. Однако представлены только данные по дате колошения, высоте растений, устойчивости к некоторым болезням и урожайности. В целом весь объем этого важного раздела, в котором должна была быть отражена эффективность предлагаемого соискателем метода подбора пар для скрещиваний, составляет всего три страницы текста диссертации (с.96-98).

3. В таблице 17 раздела 3.2.3 главы 3 (стр. 97) и в таблицах 18-21 главы 4 (стр. 99-104), где представлены данные по урожайности гибридных комбинаций и созданных сортов, а также их хозяйственно-биологическая характеристика, отсутствуют результаты статистической оценки достоверности различий по анализируемым показателям между гибридами (сортами) и стандартом.

4. В разделе 3.1.1 на странице 52 диссертации в легенде диаграммы на рисунке 9 и подписях осей при анализе частот встречаемости электрофоретических полос в популяциях озимого ячменя, использованы англоязычные термины (напр. «Heterozygosity», «No. Private Bands»). Отсутствует пояснение и в тексте диссертации. Это затрудняет интерпретацию рисунка.

5. В выводах (стр. 105) автор утверждает, что «были идентифицированы образцы, представляющие интерес для селекции» и ассоциированные с признаками маркеры. Однако, для того чтобы эти маркеры можно было рекомендовать для широкого использования в маркер-вспомогательной селекции (MAS), необходим этап их валидации. В тексте диссертации (главы 3 и 4) отсутствует информация о проверке найденных ассоциаций на независимой тестовой выборке сортов или, что было бы еще

лучше, на специально созданных картирующих популяциях (например, F_2). Без этого этапа надежность и воспроизводимость маркеров за пределами изученной коллекции остается пока под вопросом.

6. Автор подробно описывает и успешно применяет метод iPBS-маркирования (обоснование в главе 1, стр. 29-32; описание в главе 2, стр. 37-43). Вместе с тем, в разделе «Обзор литературы» (глава 1) упоминаются и другие системы маркеров, например, SNP. Для всесторонней оценки генофонда было бы крайне полезно провести сравнение результатов, полученных с помощью iPBS, с данными по тем же образцам, полученными, например, методом SNP-генотипирования. Это позволило бы оценить, насколько полно iPBS-система покрывает геном и не упускаются ли ключевые полиморфизмы в других его частях.

7. В разделе «Материалы и методы» (глава 2, стр. 34-35) приведено общее описание методики ПЦР. Однако для полной воспроизводимости результатов было бы правильнее указать точные протоколы и условия реакции (температуры отжига) для каждого из 24 использованных праймеров, возможно, в виде таблицы в приложении.

8. В Главе 4 «Обсуждение результатов» (стр. 99-105) автор в основном констатирует полученные данные и сравнивает их с результатами других исследователей. Хотелось бы видеть более глубокую научную дискуссию: например, попытку объяснить, почему коллекция разделилась именно на такие генетические кластеры с точки зрения истории селекции и происхождения сортов.

Однако эти замечания не снижают ценность проделанной работы, а скорее указывают на возможные направления для ее дальнейшего развития и углубления в рамках постдиссертационных исследований.

Заключение по диссертационной работе.

На основании вышеизложенного считаем, что диссертационная работа Сухининой Ксении Вадимовны «Использование методов молекулярного маркирования для изучения генетического разнообразия и получения исходного материала в селекции озимого ячменя» представляет собой завершенное научное исследование, выполнено на высоком научно-методическом уровне и характеризуется логичным изложением материала, глубиной проработки рассматриваемых проблем и достоверностью полученных результатов.

Проведенные исследования соответствуют специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений, а их результаты вносят существенный вклад в развитие теоретических и практических основ селекции сельскохозяйственных растений.

Диссертационная работа Сухининой Ксении Вадимовны заслуживает положительной оценки и соответствует требованиям пунктов 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор – присуждения ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры селекции, семеноводства и биотехнологии ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, протокол № 3 от 12 ноября 2025 г.

Голева Галина Геннадьевна

доктор сельскохозяйственных наук (06.01.05 Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений), доцент, зав. кафедрой селекции, семеноводства и биотехнологии ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» (ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ),
394087, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1,
тел. +7(473)253-86-51, Факс: +7(473)253-86-51. Эл. почта: main@vsau,
Официальный сайт организации: <http://www.vsau.ru>

Подпись Голевой Г.Г. заверяю:

Зав. канцелярией ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ

26.11.2025 г.

