

На правах рукописи

СУХИНИНА КСЕНИЯ ВАДИМОВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ
МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНОГО
МАТЕРИАЛА В СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ**

Специальность 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Краснодар - 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

Научный руководитель **Дубина Елена Викторовна**, доктор биологических наук, профессор РАН, профессор кафедры генетики, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина»

Официальные оппоненты: **Щеглов Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, доцент кафедры генетики и микробиологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

Рамазанова Светлана Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта»

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

Защита состоится «22» декабря 2025 г. в 10:00 на заседании диссертационного совета 35.2.030.08, созданного на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет–МСХА имени К.А. Тимирязева», по адресу: 127434, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 19, тел: 8 (499) 976-17-14.

Юридический адрес для отправки почтовой корреспонденции (отзывов): 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте Университета www.timacad.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор с.-х. наук, профессор

_____ Е.А. Вертикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Ячмень – одна из значимых сельскохозяйственных культур, высеваемых на территории Российской Федерации и всего мира. Его озимые формы более продуктивны относительно яровых и получили широкое распространение на юге нашей страны благодаря скороспелости и урожайности.

Изобилие сортов озимого ячменя, допущенных в производство, регулярно дополняется новыми селекционными достижениями, более продуктивными и адаптивными к изменяющимся условиям окружающей среды.

Классическая схема селекционного процесса предусматривает получение нового сорта в течение 10 лет и более. Настоящий факт заставляет селекционеров активно искать и применять новые способы и методы современных достижений науки, для ускорения и повышения эффективности этапов селекции.

В связи с этим, особую актуальность приобретает вопрос поиска новейших методик и практик, способных более глубоко изучить базу генетических ресурсов растений и отдельных особо ценных признаков, интересующих селекционера.

Сегодня для идентификации целевых генов и создания генотипов с заданными свойствами активно используются ДНК-маркерные системы. Они позволяют охарактеризовать сорт по большому спектру генетических признаков, установить наличие родственных связей и тем самым помочь селекционеру в подборе родительских пар для скрещивания, а так же контролировать перенос интересующих генов от исходных растений к потомству, значительно увеличивая эффективность селекционного процесса.

Молекулярные маркеры, как инструмент в подборе родительских форм для гибридизации применяются всё чаще. Совмещение новых методик и традиционных практик позволяет не только сократить сроки выведения новых сортов, в разы увеличить эффективность процесса, а также сократить экономические и ресурсные затраты в селекции.

Данный вопрос изучали ряд ученых Р. Календар (2010), Э.Н. Дюсибаева (2020), Н.В. Самохвалова (2022). В современной селекционной практике маркер-ориентированный подход только увеличивает свою актуальность и расширяет возможности.

Цель исследования – использование iPBS маркеров для оценки генетического разнообразия коллекционных сортов и селекционных линий озимого ячменя и создание нового исходного материала.

Для реализации цели научного исследования были поставлены следующие задачи:

1. Провести генотипирование коллекционных и селекционных образцов озимого ячменя с использованием 24 iPBS маркеров;
2. Установить генетическую индивидуальность и уникальность каждого изучаемого образца на основании комплекса методов статистической обработки;
3. Сгруппировать изученные образцы в соответствии с фенологическими особенностями, географией происхождения и генетической структурой;
4. Применив метод генетического родства составить и реализовать программу гибридизации;
5. Проанализировать селекционную ценность новых гибридных комбинаций.

Научная новизна диссертационного исследования. Впервые для изучения генетического разнообразия озимого ячменя, а также высокоэффективного подбора пар для гибридизации разработана современная комплексная схема анализа характеристик коллекционных и селекционных образцов, сочетающая классические методы изучения морфологических и фенологических признаков и современные молекулярно-генетические подходы с использованием iPBS маркерных систем. На основе разработанной схемы подобраны перспективные высокопродуктивные родительские компоненты и получен новый исходный материал.

Теоретическая и практическая значимость работы. Использование современных молекулярно-генетических методов в изучении генофонда озимого ячменя позволяет в короткие сроки точно и быстро получать четкое описание образцов по генетическим свойствам. Это значительно упрощает подбор родительских форм для создания новых высокоурожайных и стрессоустойчивых сортов озимого ячменя.

Анализ главных координат, кластерный анализ, а так же анализ генетической структуры дают возможность определить гетерогенность изучаемой популяции и эффективно использовать ее в селекционных программах.

Методология и методы исследования. Методологической основой диссертационной работы является обширный анализ научных исследований, опубликованных в отечественных и зарубежных литературных источниках. Исследование проводилось с использованием лабораторных, полевых и статистических методов. Полевые опыты были организованы в соответствии с методикой Госкомиссии по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур. Для обработки результатов полевых опытов использовались статистические методы, описанные в методических рекомендациях Б.А. Доспехова (2011).

Анализ молекулярно-генетических данных проводился с помощью специализированного программного обеспечения: макроса GenAlex 6.3, а также программ MEGA11, STRUCTURE и Structure Selector.

Положения, выносимые на защиту:

1. Комплексная оценка коллекционных и селекционных образцов озимого ячменя с использованием iPBS маркерных систем;
2. Генетическая индивидуальность изученных популяций;
3. Источники генетического разнообразия озимого ячменя;
4. Новый исходный материал;
5. Применимость iPBS маркерных систем для оценки генетического разнообразия озимого ячменя и получения нового исходного материала.

Степень достоверности и апробация результатов исследований. Все научные исследования выполнены согласно общепринятым методикам, обоснованность научных выводов подкреплена результатами экспериментальных полевых и лабораторных данных, личным участием в получении опытных результатов, что позволило сделать соответствующие выводы и дать обоснованные рекомендации селекционной практике.

Основные результаты исследований докладывались и получили одобрение 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).

Публикации результатов исследований. По материалам научной работы опубликовано 20 научных публикаций, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, в соавторстве зарегистрировано 3 базы данных, получено 3 патента на селекционные достижения.

Личный вклад соискателя. Представленные результаты настоящей диссертационной работы, получены автором на базе ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ с 2021 по 2024 гг. Соискатель осуществлял разработку плана, формирование целей и задач исследований, а так же анализ литературных источников. Совместно с коллегами Центра искусственного климата заложены полевые

опыты. Лично проведены исследования в Центре молекулярно-генетических исследований. Полученные данные оформлены в виде научных статей, диссертационной работы и автореферата.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 193 страницах, включает введение, обзор литературы, четыре главы, заключение, предложения для селекции, список литературы из 149 источников, в том числе 69 иностранных авторов, 22 таблицы, 34 рисунка, 4 приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре научной литературы рассматриваются вопросы сельскохозяйственного значения культуры ячменя, этапность селекционных исследований, и способы их ускорения. Анализируются типы молекулярных маркеров и методы исследования полиморфизма ДНК. Описывается эффективность использования маркеров межпраймерного связывания (iPBS) в изучении генетического разнообразия и популяционной структуры различных культурных растений.

ГЛАВА 2. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2021-2024 гг. на базе Центра молекулярно-генетических исследований, опытной станции УОХ «Кубань» и Центра искусственного климата Кубанского ГАУ.

Для проведения исследований в качестве исходного материала использовались 134 коллекционных и селекционных образца озимого ячменя селекции ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», образцы мировой коллекции предоставленные ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), сорта селекции ФГБНУ «НЦЗ им. Лукьяненко», ФГБНУ «АНЦ Донской», ООО «Агростандарт» и других отечественных селекционных учреждений и зарубежных центров.

Для выделения ДНК при проведении молекулярно-генетических исследований были использованы семидневные ростки озимого ячменя. Проращивание проводилось в чашках – Петри, в соответствии с нормами ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести».

Экстракцию ДНК проводили используя СТАВ-метод (Murray and Thompson, 1980). Наличие выделенной ДНК в пробирке определяли используя спектрофотометр IMPLen NanoPhotometr N60. Оценка генетического разнообразия генотипов озимого ячменя проводилась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), 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). Реакцию амплификации проводили в ДНК амплификаторе «BioRad», производства Германия. При этом подбирали параметры ПЦР: реакционный состав ПЦР-смеси, температура отжига праймеров, количество циклов ПЦР. Визуализацию продуктов ПЦР проводили методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле в течение 60 минут при напряжении 100 V с использованием 0,5 ×Трис-ацетатного буфера с использованием камеры для горизонтального электрофореза SE.2 (Хеликон, РФ) при силе тока 50 mA и напряжении 100 V.

Полевые опыты закладывали согласно методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (2019).

Обработку и подготовку почвы, посев и уходные мероприятия проводили в соответствии с общепринятой технологией для условий центральной зоны Краснодарского края (Шевцов, 2007). В течении вегетации растений фиксировали даты наступления основных фенологических фаз по методике А.И. Руденко (1950). Структурный анализ элементов продуктивности осуществляли непосредственно перед уборкой. С целью создания нового селекционного материала применяли гибридизацию с использованием принудительного опыления.

Статистическая обработка данных осуществлялась согласно методическим рекомендациям в редакции Б.А. Доспехова (2011). Дисперсионный анализ выполняли на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ в составе Microsoft Excel 2010.

Анализ встречаемости аллелей проводили в программе – макросе GenAlex 6.3 для MS Excel. Для расчета генетического разнообразия исследованных генотипов использовался дополнительный макрос MS Excel – ANOVA. Анализ генетического родства изученных генотипов озимого ячменя проводили по методу главных координат (PCoA). Для кластеризации образцов был выбран метод «Neighbor-Joining» программы MEGA11. Анализ структуры популяции всей проанализированной выборки сортов ячменя в программе STRUCTURE. Structure Selector применяли для анализа генетических данных и определения распределения генотипов по различным мнимым группам (Li, Y.L., 2018).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Анализ генетического и фенотипического разнообразия сортов и линий озимого ячменя

Для более детального анализа вся выборка предварительно была разделена по происхождению на следующие группы: мутантные формы (24 образца), устаревшие и современные российские сорта (9 и 30 образцов соответственно), селекционные линии (13 образцов) и сорта озимого ячменя зарубежной селекции (58 образцов).

Анализ генетического разнообразия представлял собой многоступенчатый процесс, включающий в себя выделение ДНК из образцов, постановка ПЦР, а так же детекция её продуктов с помощью электрофореза в 2% агарозном геле (Рисунок 1).

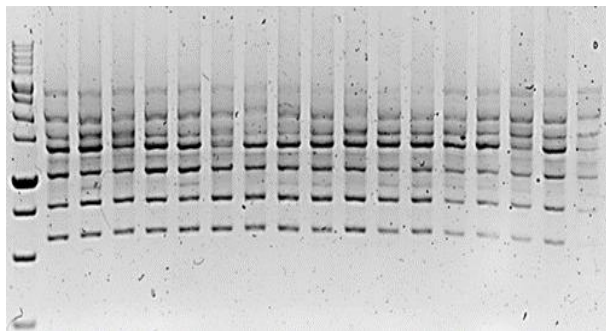


Рисунок 1 – Часть результатов визуализации продуктов ПЦР – реакции

Полученные электрофореграммы подвергали комплексу статистических обработок, анализируя частоты встречаемости аллелей и генетическое взаимоотношение между образцами. На основании чего образцы объединяли в кластеры, а затем рассматривали структуру каждой популяции.

Так как основной задачей наших исследований был генетически обоснованный подбор родительских пар для скрещиваний, дальнейшая обработка полученных данных проводилась по каждой из выделенных групп отдельно, чтобы понять на сколько образцы одной популяции генетически отличаются друг от друга. И только после этого анализировалась вся выборка в целом.

3.1.1 Анализ частот встречаемости аллелей каждой из изучаемых групп

Генетический анализ 134 генотипов озимого ячменя с применением 24 iPBS маркеров основывался на дальнейшей обработке полученных электрофореграмм, которых насчитывалось более 140. Программное обеспечение Gel-Pro Analyser 3.1 использовали для определения размера локусов, относительно выбранного нами маркера молекулярного веса - DNA Ladder 1 kb, содержащего 14 фрагментов от 250 до 10000 п.н.

Наличие бэнда в определенных локусах у всех образцов озимого ячменя принималось за 1, отсутствие за 0. Оценивались только чёткие, яркие полосы,

а бледные, слабые полосы игнорировались. Полученная бинарная матрица анализировалась с использованием дополнительного макроса MS Excel – GenAlex для расчета количества полос на генотип.

Подсчет количества полос на генотип выявил 29138 полиморфных, чётко различимых и воспроизводимых электрофоретических полос в диапазоне от 250 до 10000 п.н., по 217 бэндов на образец в среднем по опыту. Так, в группе образцов, подвергнутых обработке мутагенами, среднее число в 259 бэндов на генотип было самым высоким среди пяти популяций. За ней следовали популяции сортов зарубежной селекции и селекционные линии со средними значениями равными 217 и 211 бэндов на генотип внутри своей популяции. Сорта отечественной селекции, как современные так и старые, каждый внутри своей группы по усредненным данным показали по 194 и 193 бэнда на генотип.

Статистическая обработка бинарной матрицы с использованием макроса MS Excel – GenAlex (Peakall R., 2005) позволила так же рассчитать процент полиморфных полос, количество частных полос, индекс информации Шеннона (I) и индекс разнообразия (h) (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты анализа генетического разнообразия сортов и линий озимого ячменя по популяциям

Номер популяции	Наименование популяции	Кол-во полиморфных электрофорет. полос	PPL, % (процент полиморфных полос)	Кол-во частных полос	I (индекс Шеннона)	h (индекс разнообразия)
1	Мутанты	3627	58,39	57	0,331	0,226
2	Современные российские	3939	67,63	20	0,348	0,235
3	Стародавние российские	532	30,58	7	0,171	0,116
4	Селекционные линии	1120	40,77	22	0,225	0,152
5	Зарубежные	10134	80,34	80	0,413	0,279
	Всего	16183	55,54	186	0,298	0,202

Процент полиморфных электрофоретических полос сильно варьировал в зависимости от популяции от 30,58 % у старых сортов озимого ячменя отечественной селекции до 80,34 % в группе зарубежных, что говорит об их высокой разнородности. Во всей выборке исследованных генотипов процент полиморфных бэндов составил 55,54 % и их общее количество - 16183 ДНК бэндов (Рисунок 2).

В нашем исследовании четко прослеживается зависимость роста полиморфизма в популяции от увеличения её объема. При этом количество обнаруженных частных полос в популяциях распределилось иным образом.

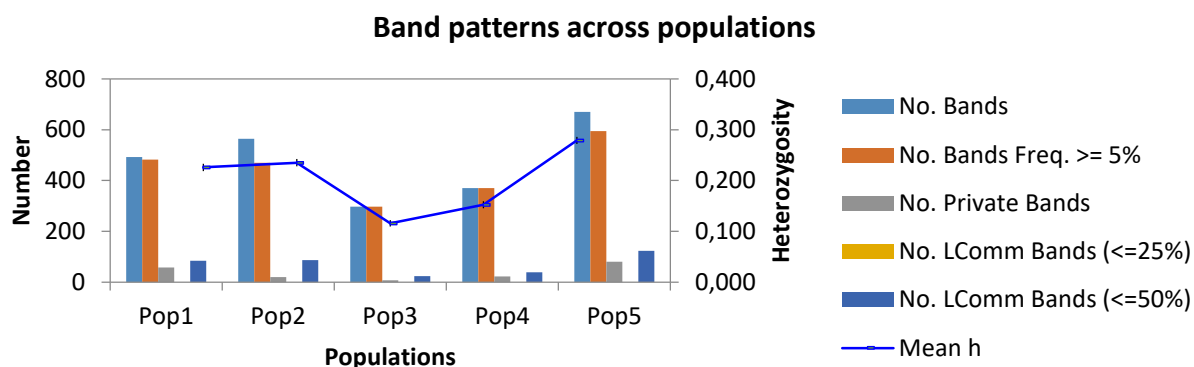


Рисунок 2 – Анализ частот встречаемости электрофоретических полос в популяциях озимого ячменя

Зарубежные сорта были самой богатой по количеству частных полос популяцией – 57 бэндов. Популяция устаревших российских сортов напротив насчитывала их наименьшее количество равное 7 полосам. Группа сортов, подвергнутая обработке мутагенами сгенерировала 57 частных полос, селекционные линии – 22 и популяция объединяющая современные российские сорта – 20.

Индексы Шеннона и разнообразия, как представлено в таблице 1, изменялись от 0,171 и 0,116 в популяции под номером три до 0,413 и 0,279 в популяции номер 5 соответственно. Общие значения для всей выборки составили по индексу Шеннона 0,298 и 0,202 по индексу разнообразия (h). Эти результаты указывают на высокую степень генетической изменчивости и богатое генетическое разнообразие анализируемых популяций.

3.1.2 Оценка генетических взаимоотношений между образцами озимого ячменя по методу главных координат (РСоА)

Оценка генетических взаимоотношений между сортами и линиями озимого ячменя проводилась как внутри каждой популяции, так и относительно всей изучаемой выборки. Были составлены матрицы генетических расстояний, на основании которых проводили анализ главных координат (РСоА) для сопоставления многомерных данных и дальнейшего установления взаимосвязей на основе сходств или различий.

Согласно результатам анализа главных координат изучаемые образцы четко разделились на четыре обособленные группы (Рисунок 3). Первая группа практически полностью представлена сортами озимого ячменя зарубежной селекции, и только сорт Платон оказался среди них. Образец Ramol занял обособленное место на плоскости графика, указывая на большие генетических отличия относительно других представителей той же популяции.

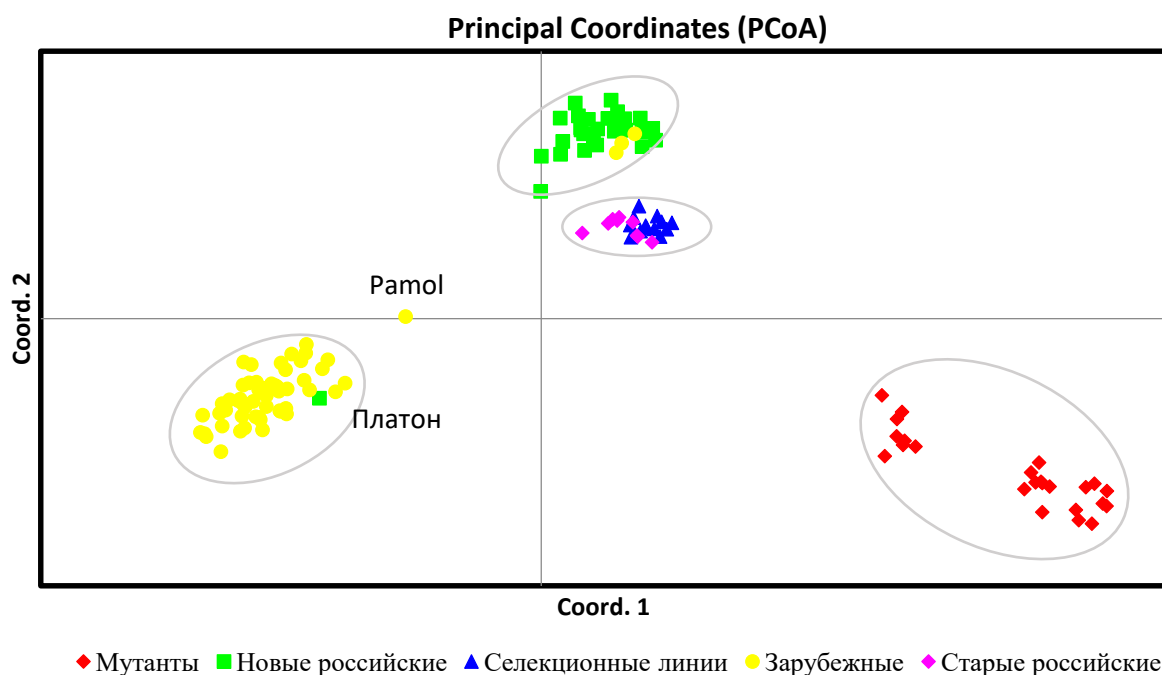


Рисунок 3 - Анализ главных координат 134 образцов озимого ячменя

Вторая группа сформирована российским современными сортами ячменя, однако в нее были отнесены сорта зарубежной селекции Зимний, Буслик и Девятый вал. Такое распределение на плоскости графика свидетельствует о наличии сходной генетической информации этих образцов и второй популяции сортов ячменя.

Третья группа отражает особенную генетическую взаимосвязь устаревших российских сортов изучаемой выборки и селекционных линий. Образцы Радикал, Бастион, Хуторок и Добрыня 3 обладают большей степенью генетического сходства с селекционными линиями.

И только четвертая группа полностью состоит из мутантных образцов, наиболее удалена от остальных популяций, обладает высокой уникальностью.

3.1.3 Кластерный анализ сортов и линий озимого ячменя по выделенным группам при помощи программы MEGA 11

Степень генетического родства оценивалась методом «Ближайшего соседа (Neighbor-Joining)» с использованием программы MEGA11.

Дендрограмма изученных 134 коллекционных и селекционных образцов озимого ячменя (Рисунок 4), демонстрирует как сформировались клады.

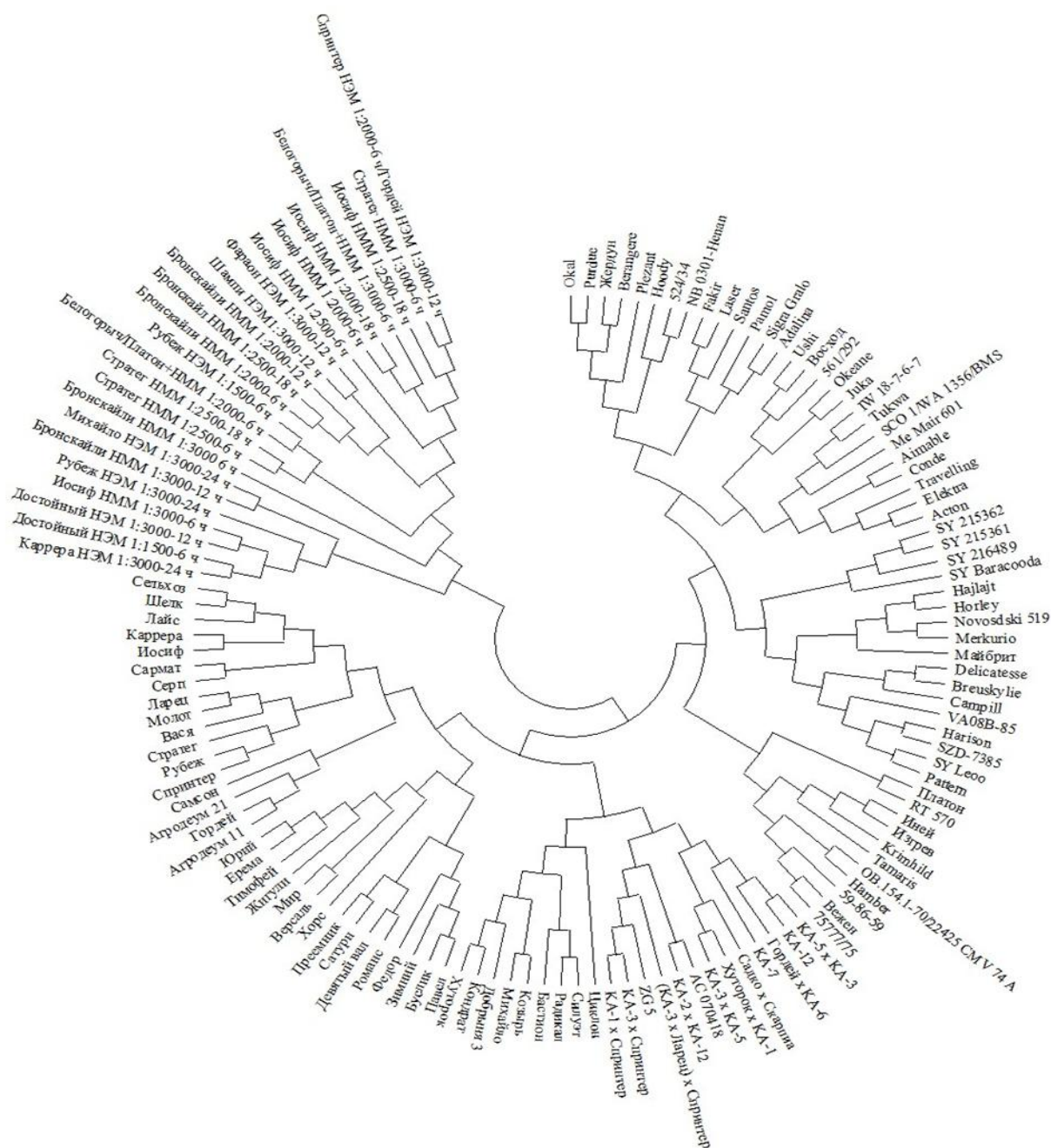


Рисунок 4 – Кластерный анализ методом Neighbor-Joining
134 сортов и линий озимого ячменя

Сорта озимого ячменя, обработанные химическими мутагенами образовали отдельный клад. Остальные 110 образцов сформировали второй клад, который в свою очередь поделился на подклады российских сортов и линий, а также зарубежных сортов озимого ячменя. Подклад образцов отечественного происхождения одной ветвью выделил сорта современной селекции. Стоит отметить, сюда вошли зарубежные сорта Девятый вал и Зимний (Украина), а также Буслик (Беларусь).

Вторая ветвь объединила стародавние сорта и селекционные линии в соответствии с ранее описанной схемой. Сорт Платон, занял место среди зарубежных сортов, показав большее генетическое родство с RT-570 по структуре ДНК.

Таким образом, сравнительный анализ кластеризации сортов и линий озимого ячменя по генотипу выявил взаимосвязь генотипа с географией происхождения образца.

3.1.4 Определение распределения генотипов по различным мнимым группам K с помощью Structure Selector на основании анализа структуры популяции каждой из изучаемых групп в программе STRUCTURE

Для установления генетических взаимосвязей между изученными сортами и линиями озимого ячменя нами использовался Байесовский метод. Он позволяет предположить, что каждый кластер представляет собой отдельную популяцию, и оценить вклад каждой из этих популяций в формирование генетического материала конкретного образца.

Для понимания генетической структуры всего комплекса изученных генотипов озимого ячменя был проведен анализ, с использованием того же Байесовского подхода и программного обеспечения STRUCTURE, а так же Structure Selector, где самая верхняя иерархия структуры популяции зафиксирована при $\Delta K=6$ (Рисунки 5-6).

Согласно результатам работы STRUCTURE графическое изображение распределения изученных образцов по популяциям при $\Delta K=6$. Весь массив сортов и линий озимого ячменя разделился на 6 популяций.

Согласно рисунку 6 можно увидеть, как зарубежные сорта подразделились на 2 популяции. Все остальные образцы распределились согласно своим группам, за исключением сорта Платон, который попал в группу зарубежных, а также сортов Зимний, Буслик и Девятый вал, которые по структуре соответствуют российским образцам.

Первая популяция состояла из 24 образцов озимого ячменя, обработанных химическими мутагенами. При этом Бронскайли НММ 1:3000-6 ч менее чем на 20 % включал в долю генплазмы популяции стародавних сортов озимого ячменя отечественной селекции. Доля популяции сортов современной российской селекции в образце Рубеж НЭМ 1:3000-24 ч не превышала 20 %. Такие образцы как Каррера НЭМ 1:3000-24 ч; Достойный НЭМ 1:3000-12 ч; Иосиф НММ 1:3000-6 ч; Бронскайли НММ 1:3000-12 ч; Михайло НЭМ 1:3000-24 ч имели незначительный вклад смежных популяций. В остальных образцах настоящей популяции генетический обмен не зафиксирован.

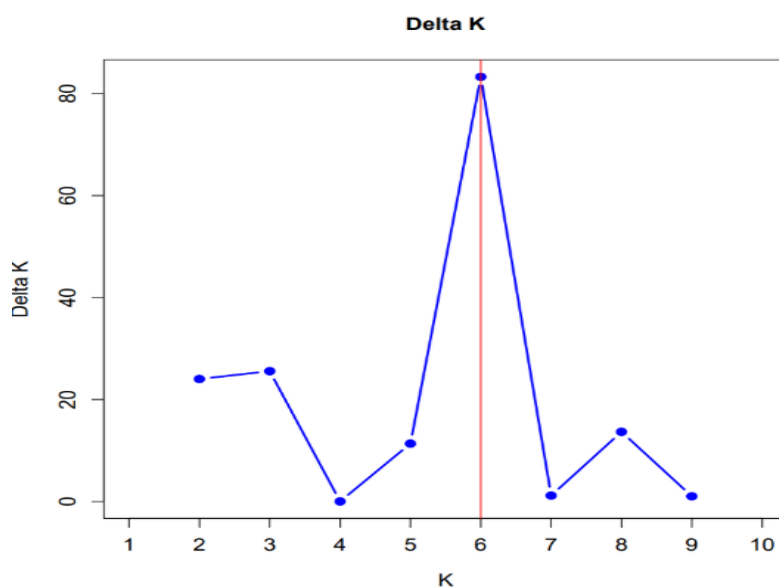


Рисунок 5 – Количество К групп (Structure Selector) 134 генотипов озимого ячменя

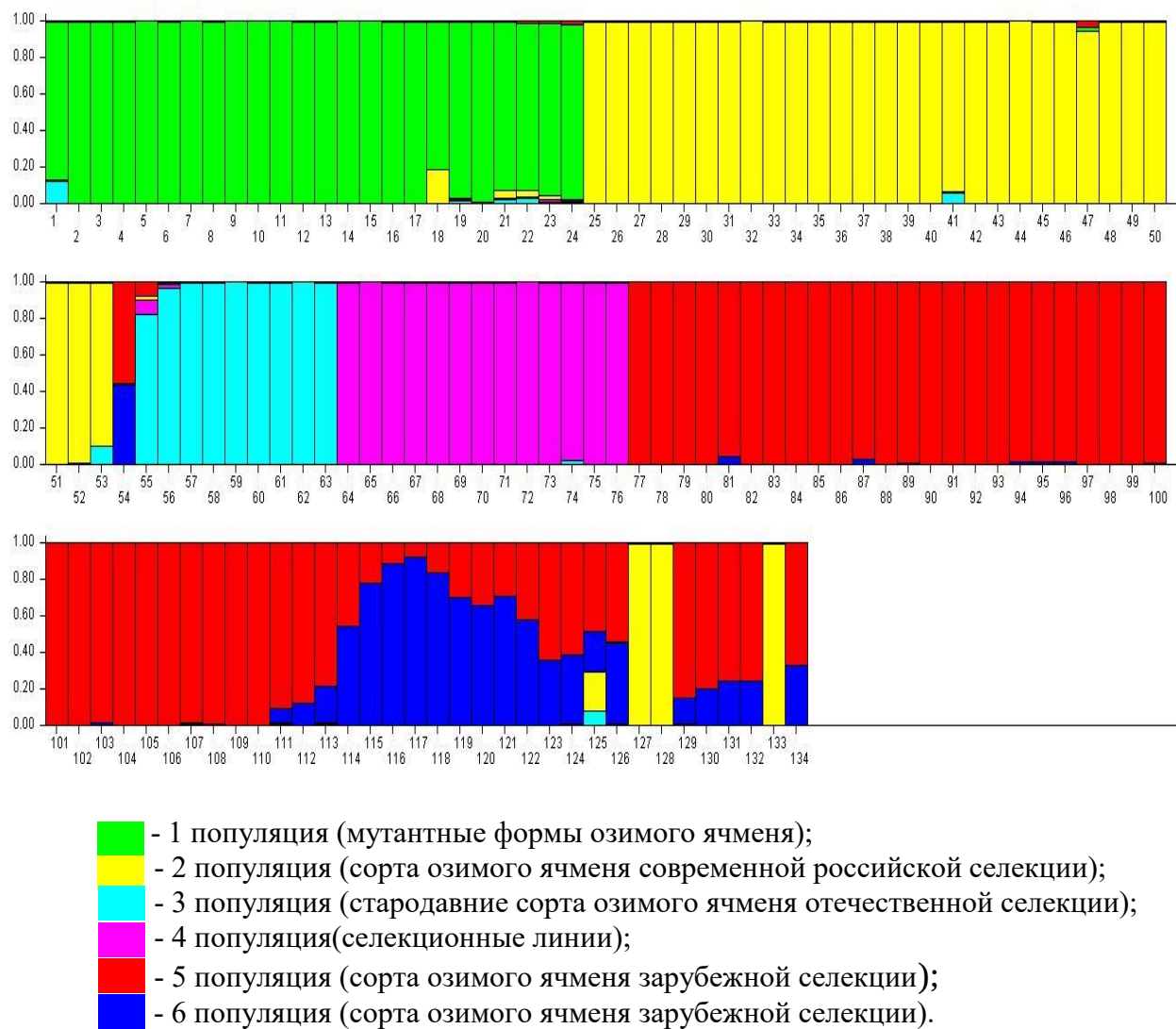


Рисунок 6 - Генетическая структура 134 генотипов озимого ячменя при $\Delta K = 6$

Анализ второй популяции, в которую вошли сорта озимого ячменя современной российской селекции показал, что все сорта за исключением Самсон, Хорс, Преемник и Платон имели простой генетический фон, это позволяет предположить об использовании общих родительских форм в их генотипах.

Группа образцов с 55 по 63 образовала третью популяцию, среди которых смешанным генотипом обладали сорта Циклон (до 20 % генплазмы других популяций) и Силуэт (до 5 %).

Четвертая популяция полностью состоящая из селекционных линий озимого ячменя, находящихся в работе Центра искусственного климата Кубанского ГАУ не выявляет наличия вклада генетики других популяций, за исключением селекционной линии (КА-3 × Ларец) × Спринтер, имеющей незначительную часть популяции стародавних российских сортов.

Несмотря на то, что группа сортов озимого ячменя зарубежной селекции, согласно данным STRUCTURE и Structure Selector, разделилась на две самостоятельные популяции считаем, необходимым анализировать как две субпопуляции одной генетически наиболее разнородной популяции среди всего изучаемого набора указанных в работе 134 сортообразцов. При этом сорта Зимний, Буслик и Девятый вал по своей структуре наглядно выделялись и были отнесены к сортам современной российской селекции озимого ячменя. В генетической структуре образцов 77-110 отмечено единичное проявление синей субпопуляции в крайне малых соотношениях. А в сортах 111-134 процент вклада субпопуляции варьировал от 10 % до 90 % с максимальным значением в сортах Изгрев, Иней, Вежен (80-90 %).

На основании всего выше изложенного можно предположить, что популяции как определенные нами в начале исследования, так и сформированные на основе анализа генетических данных мало комбинируются между собой. Это связано с процессом многолетней направленной селекции генотип культуры озимого ячменя становился менее разнообразным. В такой эволюции ценные участки генома могли быть утрачены, это особенно ярко проявляется в обособленности популяции стародавних сортов от сортов современной отечественной селекции.

Все это позволяет сделать вывод о высоких перспективах составления новых гибридных комбинаций с учетом удаленности популяций друг от друга не только для получения в будущем сорте комплекса хозяйственно-ценных признаков, но и для повышения уровня генетического разнообразия генофонда озимого ячменя в целом.

3.2 Результаты использования маркеров межпраймерного связывания (iPBS) для изучения генетического разнообразия и создания нового исходного материала

3.2.1 Подбор наиболее перспективных пар для скрещивания

В современных условиях, селекционные программы требуют комплексного подхода к выбору родительских пар для скрещивания, чтобы максимально увеличить вероятность получения целевых признаков у потомства. В этой связи, методы многомерной статистики, такие как анализ главных координат кластерный анализ и анализ генетической структуры, становятся незаменимыми инструментами.

Проведенный нами генетический анализ популяций озимого ячменя с использованием данных методик, состоящих в общей сложности из 134 сортов и линий позволил оценить степень родства между отдельными образцами и выявить субпопуляции внутри изучаемых популяций.

Скрещивание представителей разных субпопуляций направлено на увеличение генетического разнообразия гибридного потомства и повышение эффективности селекционного процесса. Выбор родительских пар из разных кластеров способствовал получению гетерозисных гибридов, с повышенной продуктивностью.

Кроме того, при подборе родительских пар также основывались на классических подходах учитывающих эколого-географическое происхождение и биологические различия и дополнения в целевых признаках.

Такой комплексный подход с применением современных методик и классических принципов позволяет селекционерам более осознанно подходить к выбору родительских пар, оптимизировать процесс гибридизации и повысить вероятность получения ценных гибридов с желаемыми характеристиками.

На основании полученных нами результатов молекулярных исследований, а так же комплекса фенологических наблюдений, был сформирован перечень образцов для дальнейшего составления схем скрещиваний, а также разработан и реализован план гибридизации.

Совместно со специалистами селекционной группы Центра искусственного климата Кубанского ГАУ в период 2022-2024 годов была проведена гибридизация с отобранными родительскими образцами. Материнскими формами выступали местные сорта и линии озимого ячменя, отцовскими - сорта озимого ячменя зарубежной селекции.

3.2.2 Результаты гибридизации

В целом было осуществлено – 80 комбинаций скрещиваний (таблица 2), получено 6631 гибридное зерно, как основа нового селекционного материала, который в дальнейшем будет изучен в более поздних поколениях.

Таблица 2 – Итоги гибридизации озимого ячменя (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, 2022-2024 гг.)

Показатели	Годы			Всего
	2022	2023	2024	
Количество комбинаций скрещивания, шт.	31	18	31	80
Количество опыленных цветков, шт.	8082	4608	7236	19926
Получено гибридных зерен, шт.	3154	981	2496	6631
% завязывания	38,8	21,3	34,5	31,5

3.2.3 Оценка селекционной ценности гибридных комбинаций

Полученные нами гибридные комбинации в дальнейшем, всесторонне изучались в естественных полевых условиях. 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.

Анализ морфо-биологических признаков гибридов второго поколения, произведенный в условиях 2024 года, позволил выявить наиболее перспективный селекционный материал (таблица 3).

Выделенные гибридные комбинации по срокам колошения были в одной группе спелости со стандартным сортом, за исключением Агродеум 11 × Hamber, у которой фиксировали более раннее вступление в данную фазу.

Все гибриды имели довольно высокий балл устойчивости к полеганию.

Высокая устойчивость к мучнистой росе выявлена у гибридов Агродеум 11 × Hamber, Преемник × Ramol, Агродеум 21 × Бронскайли НММ1:3000-6 ч.

Более устойчивы к сетчатой пятнистости относительно стандарта Агродеум 11 × Hamber и Адалина × Версаль.

Учет урожайности гибридных форм показал, что все они сформировали довольно высокую продуктивность, превышение над стандартом составило от 0,35 т/га у Агродеум 21 × Бронскайли НММ1:3000-6 ч до 1,63 т/га у Серп × Океане.

Таблица 3 – Характеристика гибридных комбинаций (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, 2024 г.)

Гибридная комбинация	Дата колошения	Высота растений, см.	Устойчивость, балл			Урожайность, т/га
			полегание	МР*	СГС**	
Стратег, ст.	02.05	82	9	5,5	6,5	6,54
Агродеум 21 × Бронскайли НММ 1:3000-6 ч	04.05	85	9	8,5	6,5	7,02
Агродеум 11 × Hamber	28.04	96	8	9,0	7,0	6,89
КА-7 × SZD-7385	05.05	95	8	7,5	5,5	7,36
Каррера × Harison	04.05	84	9	6,5	4,5	6,96
Лайс × Conde	03.05	99	9	7,0	6,5	7,35
Серп × Okeane	01.05	102	7	6,5	6,0	7,94
Мир × SZD-7385	04.05	84	9	8,0	5,5	8,17
Преемник × Ramol	01.05	89	9	8,5	6,5	8,02
Версаль × Адалина	03.05	78	9	7,5	7,5	7,06
КА-7 × Santos	05.05	82	9	8,0	6,0	7,49

*МР – мучнистая роса; **СГС – сетчатый гельминтоспориоз.

В целом, выделенные гибриды выглядят перспективными, у них отмечается сочетание высокой урожайности с хорошей устойчивости к полеганию и болезням. Однако, их изучение будет еще продолжено, в третьем поколении уже отобраны элитные растения по каждой комбинации, для посева в селекционный питомник.

ГЛАВА 4. ХОЗЯЙСТВЕННО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОЗДАННЫХ СОРТОВ

В процессе проведения научных исследований, параллельно велась работа по созданию новых сортов, классическими методами. Практическим результатом селекционной деятельности стало создание трех новых сортов озимого ячменя Агродеум 11, Агродеум 21 и Кубагро 100 (охраняемых патентами).

Агродеум 11 формирует крупное полуудлиненное хорошо выполненное зерно с массой 1000 зерен до 55 г (таблица 4). Сорт раннеспелый и полностью выколашивается на 6–8 дней раньше стандартного сорта Стратег. Средняя высота растений 90–98 см обеспечивает ему высокую устойчивость к полеганию. Высокий коэффициент кущения позволяет развивать более 800 продуктивных стеблей на 1 м² к уборке. Хорошо реагирует на внесение удобрений. Потенци-

альная урожайность – 11,5 т/га, средняя 6-8 т/га. Проявляет высокую устойчивость к мучнистой росе, бурой пятнистости в естественных условиях. На инфекционном фоне в средней степени поражается пыльной головней.

Таблица 4 – Хозяйственно-биологическая характеристика созданных сортов (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, 2021-2024 гг.)

Признак	Сорт			
	Стратег, ст.	Агродеум 11	Агродеум 21	Кубагро 100
Дата колошения	03.05	27.04	07.05	05.05
Высота растений, см	96	92	98	104
Устойчивость к полеганию, балл	8	7	7	9
Поражение болезнями, % естественный фон				
мучнистая роса	5-10	0-3	0	5-10
карликовая ржавчина	10-15	5-10	0-5	5-10
сетчатый гельминтоспориоз	15-20	10-15	10-15	10-15
темно-бурая пятнистость	0-5	0-3	0-3	0-5
Количество продуктивных стеблей на 1 м ²	461	802	814	614
Число зерен в колосе, шт.	43	26	24	54
Масса 1000 зерен, г.	36,8	49,5	50,5	42,5
Урожайность, т/га	7,32	6,58	7,58	8,03

Агродеум 21 средней группы спелости. Формирует колос длинной до 12-14 см. Зерно крупное, масса 100 зерен 45-55 грамм, удлинённой формы. Фазы колошения и созревания наступают на 3-5 дней позже стандарта. Средняя высота растений до 100 см. При применении интенсивной технологии необходима обработка ретардантами. Обладает высоким коэффициентом кущения. Агродеум 21 проявляет высокую устойчивость к распространённым в зоне болезням, практически не поражается мучнистой росой, высокоустойчив к карликовой ржавчине. В конкурсном сортоиспытании его урожайность превысила показатели стандарта и составила 7,58 т/га.

Формируя двурядную форму и накопление белка в пределах ГОСТа данные сорте имеют перспективность использования в солодовенной промышленности.

Кубагро 100 ботаническая разновидность – *parallelum*. Колос шестирядный, плотный. Формирует до 60 зерен в колосе. Зерно полуудлинённой формы, среднего размера. Масса 1000 зерен 39–44 г.

Вегетационный период 242–258 дней, что позволяет отнести его к группе среднеспелых сортов. Даже на высоких агрофонах устойчив к полеганию за счет относительно небольшой высоты растений (98–105 см).

Показатели урожайности сорта Кубагро 100 за 2022-2024 годы превышали данные стандарта на 0,71 т/га, составляя 8,03 т/га. Сочетание комплекса положительных признаков свойств в сорте Кубагро 100 делает его особенно привлекательным для селекционных программ по созданию новых адаптивных сортов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенной научно-исследовательской работы на основе методов молекулярного маркирования генотипировано 134 коллекционных образца озимого ячменя 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).

2. Выявлено от 136 до 302 полиморфных аллелей на образец. Наиболее высоким уровнем изменчивости обладает образец Стратег НММ 1:2500-6 ч, а наиболее низким сорт Платон. Всего было обнаружено 82 аллельных состояния по всем маркерам.

3. Установлена генетическая индивидуальность и уникальность каждого испытуемого образца на основании комплекса методов статистической обработки, позволившего сгруппировать образцы в соответствии с фенологическими особенностями, географией происхождения, а так же их генетической структурой.

4. Выделены сорта и линии, обладающие сложным генотипом, как наиболее перспективные для использования в качестве родительских форм: Бронскайли НММ 1:3000-6 ч; Рубеж НЭМ 1:3000-24 ч; Достойный НЭМ 1:3000-12 ч; Иосиф НММ 1:3000-6 ч; Ерема; Самсон; Агродеум 11; Агродеум 21; Каррера; Лайс; Серп; Версаль; Юрий; Мир; Преемник; Кондрат; Хуторок; КА-7; Гордей × КА-6; Хуторок × КА-1. КА-1 × Спринтер; Harison; SZD-7385; Адалина; Hamber; Okeane; Juka; Уши; Восход; Santos; Tamaris; Krimhild; Иней; Изгрев; Вежен; 75777/75; 59-86-59; Ramol; RT-570; Conde.

5. Составлен план гибридизации, по итогам которого осуществлено 80 комбинаций скрещиваний.

6. При изучении новых гибридных комбинаций выделены образцы с ранним сроком колошения Агродеум 11 × Hamber; Серп × Okeane, Преемник × Ramol.

7. Большинство созданных форм отличались высокой устойчивостью к полеганию. Гибриды Агродеум 11 × Hamber, Преемник × Ramol, Агродеум 21 × Бронскайли НММ 1:3000-6 ч проявили высокую устойчивость к мучнистой росе.

8. Выделены гибридные формы обладающие высокими показателя уржайности: Агродеум 21 × Бронскайли НММ 1:3000-6 ч; Агродеум 11 × Hamber; КА-7 × SZD-7385; Карпера × Harison; Лайс × Conde; Серп × Okeane; Мир × SZD-7385 и др., их превышение над стандартом было от 0,35 до 1,63 т/га.

9. В соавторстве с коллективом Центра искусственного климата имени академика В.М. Шевцова созданы и запатентованы новые высокопродуктивные сорта озимого ячменя: Агродеум 11, Агродеум 21, Кубагро 100.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ

Рекомендовать современные молекулярно-генетические методы на основе 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) для генотипирования озимого ячменя, а так же для изучения их генетического разнообразия и популяционной структуры.

Использовать результаты генотипирования в селекционной практике для эффективного подбора родительских пар и получения целевых гибридных форм.

Продолжить изучение гибридов в третьем поколении, произвести в каждой комбинации отбор элитных растений для раскрытия их потенциала как ценных носителей генов хозяйственно-ценных признаков.

Активно включать в программы скрещиваний новые высокопродуктивные сорта Агродеум 11, Агродеум 21, Кубагро 100.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ

1. **Сухинина, К. В.** Использование iPBS-маркеров для анализа полиморфизма генотипов озимого ячменя / К. В. Сухинина, Е. В. Дубина, Н. В. Репко, В. Н. Давыденко // Вестник КрасГАУ. 2025. № 5. С. 47–61.

2. Давыденко, В. Н. Оценка морозоустойчивости сортов озимого ячменя с помощью молекулярных маркеров / В. Н. Давыденко, Н. В. Репко, **К. В. Сухинина** // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2025. – № 117. – С. 114-119.

3. Давыденко, В. Н. Гены семейства СВF как основные факторы морозоустойчивости озимых зерновых культур / В. Н. Давыденко, Н. В. Репко, **К. В. Сухинина** // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2024. – № 112. – С. 95-99.

Интеллектуальная собственность

4. Патент на селекционное достижение № 12421. Ячмень озимый Агродеум 11 : Заявка № 77767 от 25.12.2018 // Авторы : Бойко Е. С., Пивень М. М., Репко Н. В., Смирнова Е. В., **Сухинина К. В.**, Шевцов В. М.

5. Патент на селекционное достижение № 14242. Ячмень озимый Агродеум 21 : Заявка № 85772 от 23.12.2021 // Авторы : Мальцева Д. А., Мокриков Г. В., Пивень М. М., Репко Н. В., Сердюков Д. Н., Смирнова Е. В., **Сухинина К. В.**

6. Патент на селекционное достижение № 14243. Ячмень озимый Кубагро 100 : Заявка № 85771 от 23.12.2021 // Авторы : Мальцева Д. А., Пивень М. М., Репко Н. В., Сердюков Д. Н., Смирнова Е. В., **Сухинина К. В.**

7. База данных «Морфо-биологические особенности сортов ячменя озимого, допущенных к использованию в РФ». Свидетельство государственной регистрации 2022623610. Заявка № 2022623708 от 15.12.2022. Авторы : Шаляпин В. В., Репко Н. В., Шуликин А. Е., Ткаченко В. В., Смирнова Е. В., Сердюков Д. Н., **Сухинина К. В.**

8. База данных «Хозяйственно-ценные признаки селекционных линий озимого ячменя». Свидетельство государственной регистрации 2022623555. Заявка № 2022623473 от 06.12.2022. Авторы : Шаляпин В. В., Репко Н. В., Сердюков Д. Н., **Сухинина К. В.**, Смирнова Е. В., Шуликин А. Е., Давыденко В. Н.

9. База данных «Резистентность озимого ячменя к возбудителю темно-бурой пятнистости ячменя». Свидетельство государственной регистрации № 2025623055. Заявка № 2025622493 : от 30.06.2025. Авторы : Репко Н. В., Волкова Г. В., Шаляпин В. В., Сердюков Д. Н., Данилова А. В., **Сухинина К. В.**

Работы, опубликованные в прочих изданиях

10. Динамика мирового производства ячменя / Н. В. Репко, **К. В. Сухинина**, Д. Н. Сердюков [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар : КубГАУ, 2022. – № 179. – С. 222–231. (ВАК)

11. Мониторинг резистентности коллекционных сортов и образцов озимого ячменя к распространенным в зоне патогенам / Д. Н. Сердюков, Н. В. Репко, **К. В. Сухинина**, [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар : КубГАУ, 2022. – № 182 – С. 278–292. (ВАК)

12. Сравнительная оценка перспективных селекционных линий озимого ячменя по комплексу хозяйственно-ценных признаков : сб. науч. трудов / К. В. Сухинина, Н. В. Репко, Д. Н. Сердюков [и др.] // Инновации в АПК : проблемы и перспективы. – 2022. – № 4 (36). – С. 92–96. (ВАК)

13. Сравнительная оценка устойчивости интродуцированных образцов и селекционных форм озимого ячменя к низким отрицательным температурам / Д. Н. Сердюков, Н. В. Репко, **К. В. Сухинина** [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 183. – С. 253–263. – DOI 10.21515/1990-4665-183-025. (BAK)
14. Создание исходного материала озимого ячменя методом внутривидовой межсортовой гибридизации // Е. В. Смирнова, Н. В. Репко, **К.В. Сухинина** [и др.] // Journal of Agriculture and Environment. – 2022. – № 8 (28).
15. Оценка устойчивости коллекционных образцов озимого ячменя к болезням : тез. докл. Междунар. науч. конф. / **К. В. Сухинина**, Н. В. Репко, Д. Н. Сердюков [и др.] // Проблемы селекции – 2022 г. – Москва, МСХА. 2022. – С. 117.
16. **Сухинина, К. В.** Продолжительность вегетационного периода двурядных сортов и селекционных линий озимого ячменя / К. В. Сухинина, А. Е. Бочкарева // Вестник научных конференций. – 2022. – № 6-1(82). – С. 160–162.
17. Эффективность метода внутривидовой межсортовой гибридизации при создании исходного материала озимого ячменя : тез. докл. Междунар. науч. конф. / Е. В. Смирнова, Н. В. Репко, **К. В. Сухинина**, Д. Н. Сердюков [и др.] // Научные исследования и разработки – 2022. – Москва : Олимп, 2022. – С. 29–30.
18. **Сухинина, К. В.** Положительные аспекты использования молекулярных маркеров в селекции сельскохозяйственных растений / К. В. Сухинина, Е. В. Дубина, Н. В. Репко // Новости науки 2025: гуманитарные и точные науки : сб. ст. по материалам LVIII-ой Междунар. очно-заочной науч.-практ. конф. / отв. за вып. Н.В. Бурмистров. – Москва : Империя, 2024. – С. 69–70.
19. **Сухинина, К. В.** Изучение генетического разнообразия сельскохозяйственных растений с использованием iPBS маркеров / К. В. Сухинина, Е. В. Дубина, Н. В. Репко // Современные тенденции в научных исследованиях : сб. ст. по материалам Междунар. науч. практ. конф. / отв. за вып. В. С. Соболева. – Симферополь : Ариал, 2025. – С. 298–304.
20. **Сухинина, К. В.** Методы молекулярно-генетического анализа сельскохозяйственных растений / К. В. Сухинина, Е. В. Дубина, Н. В. Репко // Научный прогресс и устойчивое развитие : сб. ст. по материалам Междунар. науч. практ. конф. / отв. за вып. А. Ф. Жуковская. – Санкт-Петербург : Сциентиа, 2025. – С. 125–129.