

## ОТЗЫВ

официального оппонента д.б.н., проф., академика РАН Карлова Геннадия Ильича на диссертационную работу Афонникова Дмитрия Аркадьевича «Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика.

Современные методы поиска генов, контролирующих важные признаки у растений, основаны на использовании статистических подходов, прежде всего анализе ассоциаций между генетическими вариациями и вариациями исследуемых хозяйственных признаков. Для более точной идентификации этих генов требуются выборки, включающие сотни и тысячи образцов, для которых определены вариации и генотипа, и фенотипа. Технологии определения генетических вариаций (чипы, высокопроизводительное секвенирование) являются в настоящее время относительно недорогими и высокопроизводительными. Они позволяют быстро идентифицировать вариации генов у большого количества растений. Методы определения фенотипа для большинства признаков в задачах генетики и селекции растений до сих пор остаются трудоемкими, субъективными и малоэффективными для задач анализа сотен и тысяч растений. Таким образом, получение фенотипических признаков растений является наиболее узким местом при поиске генов, контролирующих важные фенотипические признаки растений.

Решение этой проблемы заключается в разработке новых высокопроизводительных методов, направленных на автоматизацию получения фенотипических данных у растений. Область науки, которая сформировалась при решении подобных задач – феномика, использует современные методы информационных технологий, инженерии, биоинформатики и биологии для получения данных о фенотипах растений автоматизировано, массово и более точно, по сравнению с традиционными подходами. В этой связи диссертационная работа Д.А. Афонникова является **актуальной**, поскольку направлена на решение задач разработки компьютерных методов фенотипирования растений на основе анализа цифровых изображений.

**Научная новизна работы** Афонникова Д.А. заключается в создании экспериментально-компьютерной платформы ICGPhenoPlant для высокопроизводительного фенотипирования растений на основе анализа

цифровых изображений. С помощью разработанных методов фенотипирования получены ряд новых результатов о взаимосвязи между фенотипическими признаками растений, генами, которые их контролируют, а также физиологическим состоянием растений.

Система ICGPhenoPlant включает ряд новых уникальных методов фенотипирования растений: определения и анализа количественных характеристик опушения листьев пшеницы на основе микроизображений сгибов листа (программа LHDetect2) и их адаптацию к анализу опушения картофеля и табака; определения количественных признаков размера, формы и цвета оболочки зерен пшеницы, в том числе и с использованием мобильных устройств на платформе Android (программа SeedCounter); разработку метода фенотипирования колосьев пшеницы на основе изображений, полученных в лабораторных условиях (программа WERecognizer); создание баз данных WheatPGE и SpikeDroidDB для хранения информации о фенотипе и генотипе растений, а также местах их произрастания/выращивания.

Для оценки фенотипических характеристик были впервые предложены уникальные протоколы, позволяющие быстро получить изображения органов растений исходя из использования «экономных» технологий (лабораторные микроскопы, мобильные устройства и цифровые фотокамеры). Разработаны уникальные алгоритмы анализа цифровых изображений для обработки данных. Они позволяют получать новые, ранее не использовавшиеся селекционерами и генетиками признаки растений. Эти разработки позволили подойти к описанию фенотипов растений на новом, количественном и более детальном уровне, чем это было возможно ранее.

С помощью разработанных методов фенотипирования в работе удалось получить ряд новых важных биологических результатов. В частности, впервые на материале 47 образцов растений родов *Triticum* и *Aegilops* разных видов было охарактеризовано разнообразие количественных характеристик опушения у мягкой пшеницы и ее сородичей. Это позволило выделить несколько характерных типов опушения листа пшеницы и связать его свойства со структурой генома. Впервые в деталях было описано фенотипическое проявление трех генов, контролирующих формирование опушения у ряда сортов и почти изогенных линий мягкой пшеницы (*H11*, *H12*, *H13*), показано различие их функций при формировании опушения. Впервые на основе одновременного анализа физиологических характеристик растений и количественных характеристик опушения листьев, устьичного аппарата в условиях водodefицита растений пшеницы продемонстрирована связь

признаков опушения с физиологическими параметрами растений. Впервые на детальном уровне проведен количественный анализ опушения листьев российских сортов картофеля, оценено его разнообразие. Для генетически модифицированных линий табака с повышенным содержанием пролина показано изменение характеристик опушения по сравнению контрольной линией SR1.

В диссертации впервые показана достоверная связь между рядом количественных характеристик цвета оболочки зерен популяции ITMI, сроком хранения и всхожестью.

Впервые предложен метод компьютерного предсказания типа колоса пшеницы и его плотности на основе использования геометрических параметров, полученных в результате анализа цифровых изображений.

Результаты представленной работы имеют **высокую значимость для науки и практики**. Разработанные компьютерные программы анализа изображений для фенотипирования растений находятся в свободном доступе и активно используются как в России, так и за рубежом в решении задач селекции и генетики, образовательном процессе. Эти методы позволяют более полно и детально характеризовать фенотип растений, что актуально при поиске генов, контролирующих важные селекционно-генетические признаки. Биологические результаты, полученные в работе, могут служить основой для дальнейшего изучения связи между признаками опушения листьев растений, размера и цвета зерен, формы колоса с генотипом и стрессовыми факторами окружающей среды.

**Обоснованность и достоверность основных положений, результатов, и выводов диссертации** подтверждается использованием в работе статистических тестов и верификации методов и алгоритмов анализа изображений на тестовых данных. Точность методов подсчета трихомов и оценки их длины была оценена на независимых выборках изображений сгибов листа пшеницы и табака. Аналогичный анализ был проведен для определения ошибки в подсчете зерен пшеницы и определения их размеров с помощью приложения SeedCounter. Было показано, что основным фактор, влияющий на точность оценок характеристик зерен – условия освещения, но не тип мобильного устройства. При анализе колосьев на изображении была оценена точность идентификаций на изображении контура тела колоса и его остей. Оценки точности на тестовых данных показали, что разработанные методы позволяют определять характеристики фенотипа растений с высокой точностью, достаточной для получения достоверных биологических

результатов. В работе, это было продемонстрировано в процессе анализа опушения растений, характеристик зерен пшеницы и колосьев.

Основные биологические результаты, полученные в работе, также обоснованы использованием статистических тестов при проверке гипотез (на основе дисперсионного анализа, рандомизации). Оценки достоверности полученных результатов являются адекватными.

**Содержание диссертации включает** Введение, 5 глав, включая Обзор литературы и 4 главы с описанием результатов работы, Заключение, Выводов, Списка публикаций по теме диссертации, Списка использованных сокращений, Списка литературы и Приложения. Объем работы составляет 391 лист. В работе 87 рисунков и 29 таблиц. Список литературы включает 438 источников.

Во введении обосновывается актуальность выбора темы исследований, приведены цели, задачи и положения, выносимые на защиту. Обзор литературы охватывает проблемы, связанные с разработкой компьютерных методов фенотипирования растений (анализ изображений, специфические особенности фенотипирования различных органов растений, вопросы интеграции больших данных). В заключительном разделе формулируется постановка задачи исследования.

Глава 2 посвящена представлению результатов по фенотипированию опушения листьев растений. В ней приводится описание важности данного признака в ответе растений на стресс и основные характеристики различных типов опушения у растений. Описан протокол пробоподготовки и получения изображений, алгоритмы анализа изображений и результаты оценки их точности. Далее в главе представлены результаты применения метода фенотипирования опушения листьев для изучения опушения у пшеницы, картофеля и табака.

Глава 3 посвящена результатам разработки и применения метода фенотипирования зерен пшеницы. Описаны протоколы получения изображений, алгоритмы анализа изображений для определения характеристик зерен. Приведены результаты оценки точности метода при подсчете зерен и определению их размера. Представлены результаты поиска QTL, связанных с признаками зерен на основе анализа популяции ITMI. Проведен анализ изменения признаков зерен в процессе длительного хранения в генбанке и их связи с всхожестью.

Глава 4 представляет результаты разработки метода фенотипирования колоса пшеницы и оценки характеристик его размера и формы. Описан протокол получения изображений колосьев, алгоритм выделения на нем

колоса, его тела и остей. Даны оценки точности этого алгоритма, а также влияния особенностей протокола на точность определения контура колоса и остей. Далее представлено описание модели, описывающей форму колоса, результаты использования параметров этой модели для классификации колосьев по типу (компактный, нормальный, спельтоидный) и предсказания плотности колоса.

В 5 главе описаны подходы к созданию баз данных в области феномики растений: WheatPGE для анализа характеристик генотипа фенотипа и окружающей среды у пшеницы, SpikeDroidDB для описания колосьев пшеницы.

В Заключение описана структура платформы ICGPhenoPlant и обобщены биологические результаты, полученные с ее помощью. По результатам диссертационного исследования сформулировано 5 выводов. Они имеют комплексную структуру. Первый посвящен итогам разработки методов фенотипирования в рамках платформы, остальные сделаны на основании биологических результатов, полученных с помощью разработанной платформы фенотипирования и представлены в соответствии со структурой работы.

Текст диссертации характеризует данную работу как завершённое исследование на актуальную тему, представляющую новые научные результаты.

**Результаты работы опубликованы** в зарубежных и российских рецензируемых журналах (21 публикация), подготовлено три авторских свидетельства. Все работы опубликованы в соавторстве. Результаты работы были представлены на различных научных мероприятиях (конференции, совещания и форумы) в России и за рубежом.

Структура и текст автореферата соответствует тексту диссертации.

**К замечаниям** по работе следует отнести нарушение нумерации в списке выводов: в них отсутствует вывод с номером 4. Данная ошибка присутствует как в тексте диссертации, так и в автореферате. Однако по своему содержанию приведенные выводы полностью соответствуют поставленным задачам и результатам, представленным в работе. Поэтому данная ошибка является лишь опечаткой в нумерации выводов. Остальные замечания относятся к небольшим опечаткам в тексте диссертации. Так на стр. 239 встречаются термины на английском языке, иногда в качестве разделителя десятичных знаков используется запятая (в основном – точка). На стр. 305-306 есть ссылка на таблицу 1, отсутствующую в тексте (вероятно это таблица 5.2).

**Заключение.** Диссертация Афонникова Дмитрия Аркадьевича на тему «Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика, является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствующей требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а её автор, Афонников Дмитрий Аркадьевич, достоин присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент,  
Карлов Геннадий Ильич,

доктор биологических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии); 03.02.07 – генетика, профессор, профессор РАН, академик РАН, директор Федерального государственного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ).

Адрес: г. Москва, 127550

Ул. Тимирязевская, д.42

Тел. +7 499 976 65 44

E-mail: karlov@iab.ac.ru; karlovg@gmail.com

Подпись Карлова  
Геннадия Ильича  
Заверяю:  
Ученый секретарь ФГБНУ ВНИИСБ  
Е.В. Аркина  
27 сентября 2025 г.