

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И  
ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Дата защиты 18 октября 2023 г. протокол № 30

О присуждении Афонникову Дмитрию Аркадьевичу

(гражданин РФ)

ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация Афонникова Д.А. «Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений» по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика, принята к защите 30.06.2023 г, протокол № 15, Диссертационным советом 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

**Соискатель:** Афонников Дмитрий Аркадьевич, 1968 года рождения, окончил Новосибирский государственный университет по специальности «Физика» в 1992 году, в 2002 г. в диссертационном совете, созданном на базе Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Компьютерный анализ

координированных замен аминокислот в семействах гомологичных белковых последовательностей» и получил степень кандидата биологических наук по специальности 05.13.18 "Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ" (КТ № 093504 от 11.04.2003). Работает в ИЦиГ СО РАН с 1992 года, в настоящее время в должности ведущего научного сотрудника Отделения "Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН".

Диссертация выполнена в лаборатории эволюционной биоинформатики и теоретической генетики ФГБНУ "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук" (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, Россия.

Научный консультант: **Колчанов Николай Александрович**, академик РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом системной биологии, научный руководитель ИЦиГ СО РАН, Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Карлов Геннадий Ильич**, доктор биологических наук, академик РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва.
2. **Самсонова Мария Георгиевна**, доктор биологических наук, профессор Высшей школы прикладной математики и вычислительной физики, заведующий Научно-исследовательской лабораторией математической биологии и биоинформатики ФГАОУ ВО "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого", г. Санкт-Петербург.
3. **Ракутько Сергей Анатольевич**, доктор технических наук, главный научный сотрудник Института агроинженерных и экологических проблем сельскохозяйственного производства - филиала Федерального научного агроинженерного центра ВИМ, г. Санкт-Петербург

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ БелГУ), г. Белгород в своем положительном заключении, подписанном д. б. н. Тохтарь В.К., и утвержденном и.о. проректора по науке и инновациям НИУ «БелГУ», канд. техн. наук Мишуниным В.В. указывает, что «Диссертационная работа Афонникова Дмитрия Аркадьевича «Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений» по поставленным задачам, оригинальности подходов, актуальности и научной новизне полученных результатов полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Афонников Д.А. заслуживает присуждения ему искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика. Отзыв ведущей организации о научно-практической ценности диссертации Афонникова Дмитрия Аркадьевича на тему «Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений» обсужден на заседании кафедры биологии Института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ», протокол №1 от 06 сентября 2023 г.».

Соискатель имеет всего 228 научных трудов из них 48 по теме диссертации, общим объемом 257 страниц, в том числе 21 статья, опубликованная в научных рецензируемых изданиях (входят в Scopus и в WoS), 3 авторских свидетельства на программы и базы данных и 24 тезиса в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи Афонникова Д.А. по теме диссертации:

1. Afonnikov D.A., Komyshev E.G., Efimov, V.M., Genaev M.A., Koval V.S., Gierke P.U., Börner A. (2022) Relationship between the Characteristics of Bread Wheat Grains, Storage Time and Germination. *Plants* 2022, 11, 35.
2. Arif, M.A.R.; Komyshev, E.G.; Genaev, M.A.; Koval, V.S.; Shmakov, N.A.; Börner, A.; Afonnikov, D.A. (2022) QTL Analysis for Bread Wheat Seed Size,

- Shape and Color Characteristics Estimated by Digital Image Processing. *Plants*, 11, 2105.
3. Genaev M.A., Doroshkov A.V., Pshenichnikova T.A., Kolchanov N.A., Afonnikov D.A. (2012) Extraction of quantitative characteristics describing wheat leaf pubescence with a novel image-processing technique. *Planta*, 236, 1943–1954.
  4. Genaev M.A., Komyshev E.G., Smirnov N.V., Kruchinina Y.V., Goncharov N.P. and Afonnikov D.A. (2019) Morphometry of the Wheat Spike by Analyzing 2D Images. (2019) *Agronomy*, 9(7), 390.
  5. Komyshev E.G., Genaev M.A., Afonnikov D.A. (2017) Evaluation of the SeedCounter, a mobile application for grain phenotyping. *Front. Plant Sci.*, 7:1990.
  6. Pshenichnikova, T.A., Doroshkov, A.V., Osipova, S.V., Permyakov, A.V., Permyakova, M.D., Efimov, V.M., Afonnikov, D.A. (2019) Quantitative characteristics of pubescence in wheat (*Triticum aestivum* L.) are associated with photosynthetic parameters under conditions of normal and limited water supply. *Planta*, 249 (3), 839-847.

На автореферат диссертации поступило 7 отзывов, все положительные.  
Отзывы прислали:

1. Ронжин А.Л., д.т.н., профессор, и.о. директора ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», г. Санкт-Петербург.
2. Шаманин В.П., д.с.-х.н., профессор, профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства и Потоцкая И.В., д.с.-х.н., доцент, профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Омский ГАУ».
3. Жмудь Е.В., д.б.н., доцент, с.н.с. лаборатории редких и исчезающих видов растений и Дорогина О.В., д.б.н., профессор, г.н.с. лаборатории редких и

исчезающих видов растений ФГБОУН «Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

4. Медведев С.С., д.б.н., профессор, Зав. кафедрой физиологии и биохимии растений, Смоликова Г.Н., к.б.н., доцент кафедры физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург.
5. Хлесткина Е.К., д.б.н., профессор РАН, Директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.
6. Демидчик В.В., д.б.н., доц., чл.-корр. НАН Беларуси, декан биологического факультета Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь.
7. Воденеев В.А., д.б.н., зав. кафедрой биофизики ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики и селекции растений, биоинформатики, анализа цифровых изображений, имеют публикации в ведущих биологических и агротехнических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Университетов, в котором активно проводятся исследования в области биологического разнообразия, экологии и феномики растений.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных** соискателем исследований разработан комплексный подход к анализу количественных характеристик фенотипа растений, применение которого позволяет проводить их массовый анализ для решения задач поиска взаимосвязи генотип–фенотип и фенотип–окружающая среда у растений. В

процессе реализации этого подхода созданы **уникальные алгоритмы** анализа цифровых изображений, использование которых позволило подойти к описанию фенотипов растений на **новом** количественном и более детальном уровне и расширить спектр селекционно-значимых признаков растений, связанных с устойчивостью к стрессу.

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

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые** с помощью разработанных методов, реализованных в программном комплексе LHDetect2, охарактеризовано разнообразие количественных характеристик опушения листьев (число и длина трихомов) у растений родов *Triticum* и *Aegilops* разных видов. **Обнаружено**, что у пшеницы и ее диких сородичей наблюдаются характерные паттерны опушения листьев, которые значимо ассоциированы с типом и ploидностью генома. **Показано**, что у гексаплоидных пшениц наблюдается положительная корреляция между числом трихомов и их длиной.

**Впервые** в деталях описано фенотипическое проявление генов *H11*, *H12<sup>aesp</sup>* и *H13*, контролирующих формирование опушения у ряда сортов и почти изогенных линий мягкой пшеницы. **Показано**, что ген *H12<sup>aesp</sup>* в большей степени влияет на длину трихом, а гены *H11* и *H13* влияют одновременно и на длину трихомов и на их количество.

Впервые проведен комплексный анализ физиологических характеристик растений пшеницы, количественных характеристик опушения и устьичного аппарата листьев в условиях водного дефицита. **Показано**, что дефицит воды приводит к достоверному увеличению числа трихомов на обеих сторонах листа и уменьшению их средней длины, причем изменение числа трихомов связано с эффективностью использования воды, а изменение длины – с числом устьиц на нижней стороне листа.

**Показано**, что количество трихомов на верхней стороне листа табака достоверно положительно коррелирует с содержанием пролина в линиях табака с измененным паттерном экспрессии гена *PDH*, а длина трихомов – отрицательно.

С использованием приложения SeedCounter впервые проведен анализ локусов количественных признаков для характеристик размера, формы и цвета зерен мягкой пшеницы в популяции Международной Инициативы по картированию пшеницы (ITMI). С помощью анализа QTL показано, что с признаками размера зерновки ассоциировано 20 локусов, с признаками формы – 22 локуса, а с признаками цвета – 170 локусов. Для локусов, ассоциированных с размером и формой зерен, идентифицировано 29 генов-кандидатов, а для локусов, ассоциированных с цветом оболочки – 14 генов-кандидатов.

**Показано**, что окраска оболочки зерен мягкой пшеницы, хранившихся в условиях генбанка, достоверно изменяется в зависимости от срока хранения, при этом интенсивность красной компоненты цвета оболочки отрицательно коррелирует со всхожестью зерен.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан** экспериментально-компьютерный комплекс ICGPhenoPlant для фенотипирования таких признаков растений, как опушение листа у пшеницы, картофеля и табака, размер, форма и цвет оболочки зерен, размер и форма колоса пшеницы. Комплекс ICGPhenoPlant включает ряд уникальных методов фенотипирования растений реализованных в следующих программных комплексах: LHDetect2 (АС № 2012620897), программа для определения и анализа количественных характеристик опушения листьев пшеницы на основе микроизображений сгибов листа и их адаптация к анализу опушения листьев картофеля и табака; SeedCounter, приложение для определения размера, формы и цвета оболочки зерен пшеницы, в том числе с использованием мобильных устройств на платформе Android; WERrecognizer (АС №2019666362), программа для

фенотипирования колосьев пшеницы на основе изображений, полученных в лабораторных условиях. **Доказано**, что использование приложения WERecognizer позволяет с высокой точностью оценить тип колоса и индекс его плотности.

**Созданы базы данных** WheatPGE (АС № 2010620602) и SpikeDroidDB для хранения информации о фенотипе и генотипе растений и местах их произрастания/выращивания.

**Предложены** протоколы для оценки фенотипических характеристик растений, которые позволяют быстро получить изображения сгибов их листьев, зерен и колосьев исходя из использования «экономных» технологий (лабораторные микроскопы, мобильные устройства и цифровые фотокамеры).

Разработанные компьютерные программы анализа изображений для фенотипирования растений находятся в свободном доступе (web –приложение LHDetect2: <http://wheatdb.org/lhdetect2>; приложение SeedCounter: <https://play.google.com/store/apps/details?id=org.wheatdb.seedcounter>; приложение WERecognizer: <http://wheatdb.org/werecognizer>) и могут быть использованы заинтересованными исследователями.

Методы и программы, а также фундаментальные знания, полученные в диссертационной работе, могут быть использованы в научно-исследовательских учреждениях биологического и сельскохозяйственного направления, связанных с изучением генетики и селекции растений и служить основой для дальнейшего изучения связи изменения признаков опушения листьев растений, размера и цвета зерен, формы колоса с изменением генотипа и воздействием стрессовых факторов окружающей среды. Полученные результаты используются при чтении курса “Анализ биологических изображений” на кафедре Информационной биологии ФЕН НГУ (г. Новосибирск).

**Применительно к проблематике диссертации результативно использованы** методы компьютерного анализа цифровых изображений, на основе которых разработаны программы LHDetect2 для оценки



количественных характеристик опушения, приложение SeedCounter для морфометрии зерен пшеницы с помощью мобильных устройств, программа WERecognizer для морфометрии колосьев пшеницы на основе цифровых изображений. Для фенотипирования растений разработаны эффективные протоколы получения цифровых изображений как в условиях лаборатории, так и за ее пределами, в том числе с использованием световой микроскопии и мобильных устройств. Для интеграции данных о фенотипе, генотипе, окружающей среде использованы методы разработки баз данных и создания Web-ресурсов. Для обработки и анализа данных использованы методы статистического и кластерного анализа. Для приоритизации генов, выявленных при анализе локусов количественных признаков, использованы биоинформатические методы функциональной аннотации генов.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила их** высокую точность и воспроизводимость, что подтверждается использованием в работе статистических тестов и верификацией 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 идентификации 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.

**Личный вклад автора** состоит в решающей роли в постановке цели и задач исследования, обосновании выбора методов для решения задач, обработке данных, интерпретации и обобщении полученных результатов. В

большинстве статей, опубликованных по тематике диссертации автор был автором для переписки.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 11 «Организация, ведение и использование специализированных мультидисциплинарных банков данных и баз знаний по биологии и медицине, в т.ч. банков междисциплинарных данных», п. 12 «Разработка и применение новых вычислительных алгоритмов для анализа экспериментальных данных в биологии и медицине», п. 13 «Компьютерное распознавание, анализ и синтез изображений в биологических и медицинских исследованиях», п. 14 «Математические модели, численные методы, алгоритмы и программные средства применительно к процессам получения, накопления, обработки и систематизации биологических и медицинских данных и знаний» паспорта специальности 1.5.8. – «Математическая биология, биоинформатика» (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

В ходе защиты диссертации было высказано замечание о нарушении нумерации в выводах. Соискатель Афонников Д.А. аргументированно ответил, что данная ошибка – результат опечатки, и по своему содержанию приведенные выводы полностью соответствуют поставленным задачам и результатам, представленным в работе. Данная техническая ошибка присутствует и в диссертации, и в автореферате.

На заседании 18 октября 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Афонникову Дмитрию Аркадьевичу учёную степень доктора биологических наук за решение научной задачи по созданию экспериментально-компьютерной платформы для высокопроизводительного компьютерного фенотипирования растений на основе анализа цифровых

изображений для оценки характеристик опушения листа, размера, формы и цвета зерен, формы колоса и изучении с ее помощью взаимосвязи признаков фенотипа растений с генотипом и ответом на воздействие окружающей среды.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.8. – «Математическая биология, биоинформатика» (биологические науки), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



Н.Б. Рубцов

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

18.10.2023 г.