

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию Кручининой Юлии Владимировны
**«Генетический анализ архитектоники колоса пшениц и его
компьютерное фенотипирование»,**
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 1.5.7. – генетика

Актуальность исследования

Пшеница входит в число наиболее широко выращиваемых зерновых культур во всем мире, играя жизненно важную роль в многочисленных рационах питания в качестве основных продуктов питания. Соцветие или колос пшеницы отвечает за производство зерна, поэтому его архитектурные характеристики имеют решающее значение для определения урожайности зерна, а изучение видоспецифических, таксономически значимых особенностей колоса (архитектоники колоса) видов рода *Triticum* L. необходимо для создания современных классификаций этих видов для последующего широкого применения в генетических, молекулярно-биологических исследованиях и селекционной работе. Всестороннее исследование естественных вариаций архитектоники колоса пшеницы на всех уровнях ploидности пшениц ведет к накоплению большого количества данных вследствие анализа тысяч растений и дальнейшее принципиальное продвижение в этой области, безусловно, должно опираться на новейшие аналитические платформы для фенотипирования растений. Диссертация Кручининой Юлии Владимировны является примером такой работы. Кручинина Ю.В. ставит в своем исследовании целью не только провести генетический анализ видоспецифических признаков колоса пшениц, но и установить базисные, пригодные для автоматического разделения с использованием нейронных сетей и создания цифровой коллекции признаки. Актуальность и своевременность работы несомненны.

Структура диссертации

Диссертационная работа Кручининой Ю.В. изложена на 154 страницах, содержит 24 рисунка и 25 таблиц. Работа имеет стандартную структуру: оглавление; введение; обзор литературы; материалы и методы; результаты, обсуждение; заключение; выводы; список сокращений; список

литературы. Материал диссертации изложен последовательно, написан ясно.

Во введении обосновывается актуальность исследования, формулируются цель и задачи проводимого исследования, научная новизна, а также практическая и теоретическая значимость исследования. Перечисляются положения, выносимые на защиту, методы исследования, апробация результатов, личный вклад автора и публикации по теме работы.

Обзор литератур рассматривает широкий круг проблем и включает пять разделов: (1) - в первой части рассматриваются понятия «архитектура» и «архитектоника» растений, обосновывается необходимость изучения генетического контроля архитектуры и архитектоники вегетативных и генеративных органов пшеницы для расширения представлений о биоразнообразии пшениц; (2) - во втором разделе проанализированы филогенетические связи между пшеницами различного уровня ploидности, установленные с использованием анализа геномов и плазмонов пшениц; (3) - в третьей части дается описание влияния доместикации на архитектуру колоса и свойств диких видов пшеницы и представлены данные о ключевых генах, отвечающих за таксономически важные признаки пшениц и вовлеченных в процесс доместикации; (4) - четвертый раздел посвящен способам фенотипирования образцов растений, описываются основные характеристики колоса пшеницы разных уровней ploидности, обосновывается важность создания цифровых коллекций; (5) - в пятом разделе рассматриваются современные компьютерные методы фенотипирования, в частности, нейронные сети глубокого обучения, для которых необходимы большие выборки изображений, сформированные на основе оцифровки коллекций пшениц, различающихся по видам и разновидностям. К обзору литературы делается обоснованное заключение, что современные методы изучения архитектоники колоса пшениц базируются как на традиционных подходах, включающих фенотипирование таксономически значимых признаков, изучение генетического контроля этих признаков у пшениц разного уровня ploидности, так и на подходах, использующих методы биоинформатики для создания и анализа цифровых коллекций.

В главе «Материалы и методы» дается представление о видовом разнообразии изученного в работе растительного материала. В этой главе соискателем подробно описаны параметры выращивания растений пшеницы в условиях гидропонной теплицы и полевых; метеоусловия для

вегетаций в открытом грунте в годы проведения эксперимента. Для идентификации генотипов пшениц по видоспецифическим признакам соискатель использовал методы гибридологического анализа, для идентификации аллелей гена *Btr-1* – молекулярно-биологические методы. Для создания цифровой коллекции колосья фотографировали по двум протоколам: «на столе» и «на прищепке». Сравнивая три модели описания изображения колоса, диссертант выбрал модель четырехугольников, как наиболее подходящую и адекватную для оценки цифровых характеристик колоса. Качественные характеристики колоса, такие как ветвистоколосость, остистость/безостость, тетраостость, ломкость колоса оценивались визуально.

Глава «Результаты» содержит три раздела. В первом разделе соискателем был проведен анализ компьютерных методов оценки морфометрии колоса пшеницы. Был использован алгоритм, позволяющий предсказывать по форме колоса тип плоидности пшениц, также обработка изображений колоса с помощью свёрточной нейронной сети позволила построить распределение по признакам «площадь остей», «длина колоса», «периметр» тела колоса у пшениц разных уровней плоидности. Далее для создания и аннотирования цифровой коллекции колосьев видов пшеницы диссертант провела фенотипирование для образцов гексаплоидных, тетраплоидных (самая многочисленная группа в исследовании и роде *Triticum* L.), октоплоидных и декаплоидной пшениц; всего было сделано 21505 фотографий. По результатам фенотипирования в цифровую коллекцию колосьев видов пшениц были введены признаки колоса, являющиеся видообразующими и таксономически значимыми, а именно: спельтоидность, компактность, круглозёрность, ветвистоколосость, а также у ряда видов - наличие/отсутствие остей. Поскольку диссертант убедительно показала, что компьютерная оценка архитектуры колоса пшениц расширяет возможности исследователя для детального фенотипирования колосьев, Юлия Владимировна ставит перед собой еще одну важную задачу, изучение наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных пшениц (второй раздел главы «Результаты»). Для этого соискатель проводит гибридологический анализ наследования видоспецифических признаков у тетраплоидных пшениц (*T. aethiopicum*, *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. polonicum* и *T. carthlicum*) - для поиска признаков, которые могут быть эффективно использованы при создании цифровой коллекции колосьев. Распространение аллелей гена ломкоколосости *Btr1* у тетраплоидных пшениц было изучено молекулярно-биологическими методами. Третий раздел главы

«Результаты» посвящен созданию цифровой коллекции видоспецифических признаков колосьев пшеницы. Совокупность ранее полученных результатов позволила Кручининой Юлии Владимировне создать расширенную базу данных цифровой коллекции колосьев; приводится адрес расположения цифровой коллекции на сайте ИЦиГ СО РАН, инструкция для работы с базой. В четвертой главе диссертантом представлено обсуждение полученных результатов: обосновывается выбор таксономически важных признаков для фенотипирования архитектуры колоса, обсуждены данные по наследованию видоспецифических признаков у видов тетраплоидных пшениц, приведены примеры распределения колосьев тетра- и гексаплоидных пшеницы по значимым признакам (фенотипирования) с использованием моделей для визуализации морфологии колоса и подходов машинного обучения.

Общее Заключение подтверждает, что цель проведенного исследования достигнута, а поставленные задачи – выполнены.

Степень новизны результатов научных исследований

Соискателем впервые изучен полиморфизм девяти видов гексаплоидных пшениц по признакам спельтоидность, компактность, округлозерность и ветвистоколосость с использованием подходов машинного обучения, выявлены закономерности распределения видов пшеницы в соответствии с проявлением их морфологических признаков. В работе впервые в столь полном объеме представлены данные по гибридологическому анализу видоспецифических признаков (спельтоидность, тетраостость, полоникумность, ветвистоколосость) у девяти видов тетраплоидных пшениц. Приоритетными можно назвать и результаты по рассмотрению различных моделей компьютерного фенотипирования при изучении изображений колосьев и созданию, в конечном итоге, цифровой коллекции колосьев видов пшеницы всех уровней плоидности.

Научная и практическая значимость результатов

В диссертационной работе Юлии Владимировны Кручининой совмещены исследования, важные как для биологии развития злаков, так и для селекции и таксономии. Полученные соискателем результаты важны для понимания того, как генетически контролируется архитектурная сложность колоса пшениц и как эти знания могут быть преобразованы в развитие систематики и генетики пшениц. С практической точки зрения данная работа интересна тем, что полученные автором данные по базисным признакам были использованы для создания современной

цифровой коллекции колосьев видов пшениц на основе автоматического разделения видов. Наличие цифровых коллекций позволит контролировать подлинность образцов и аутентичность образцов из различных коллекций, с высокой вероятностью определять принадлежность новых образцов к определенному виду, используя биоинформатические методы, нейронные сети и машинное обучение.

Полнота опубликованности положений и результатов диссертации

Основные положения и результаты исследований по диссертации Юлии Владимировны Кручининой опубликованы в семи научных статьях, три из которых опубликованы в журналах категории Q1, входящих в международные базы цитирования (WoS, Scopus), доложены на 5 международных и российских научных форумах. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, положениям, выносимым на защиту.

Замечания

1. Работа не свободна от оформительских ошибок. Так, в ряде случаев цитирование источника литературы идет с указанием фамилий авторов, без указания позиции в списке литературы (например, на стр. 5, 27);
2. В нескольких случаях объект исследования диссертант называет просто злаки, но злаки - это весьма обширная группа родов и видов, а исследование касается только злаков рода *Triticum*;
3. В разделе «Материалы и методы» описание молекулярно-биологических методов приведено с небольшими ошибками: например, не выделение геля, а выделение ДНК (например, стр. 69).
4. В разделе 3.2.1. в таблицах 15, 17, 19, 21 и 23 не указаны каталоги, из которых взяты образцы, хотя заголовок столбца говорит об обратном. В таблице 25 данные о каталогах указаны, но на английском языке.
5. В разделе 3.2.1. в комментариях к таблицам 16, 18, 20, 22 и 24 не совсем корректная запись значений хи-квадрат: хи-квадрат не может быть равен 3:1; 15:1.

В целом высказанные замечания носят в основном редакционный характер, не затрагивают сути научных выводов, сделанных диссертантом, и не умаляют научного значения проделанной работы, выполненной на высоком научном и методическом уровне.

Заключение

Диссертационная работа Кручининой Юлии Владимировны на тему «Генетический анализ архитектуры колоса пшениц и его компьютерное фенотипирование» по актуальности, новизне и практической значимости

соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013г. №842, и представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, ее автор, Юлия Владимировна Кручинина, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. –«Генетика».

Официальный оппонент,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории
молекулярной генетики Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии
Российской академии наук (ИМКБ СО РАН),

 Евтушенко Елена Васильевна

«14» октября 2024 года

Контактные данные:

Тел. +7 (383) 363 90 75; e-mail: evt@mcb.nsc.ru; специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.00.15 генетика

Адрес места работы:

630090 Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, дом 8/2, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН), лаборатория молекулярной генетики

Подпись сотрудника Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии
Российской академии наук (ИМКБ СО РАН)
Елены Васильевны Евтушенко удостоверяю:

