

Fenotypowanie zagęszczenia ładu pszenżyta ozimego w warunkach polowych przy użyciu kamery RGB

Phenotyping of winter triticale canopy density in field conditions using an RGB camera

Piotr Stefański¹, Krystyna Rybka²  , Przemysław Matysik¹

¹ Hodowla Roślin Strzelce Grupa IHAR Sp. z o.o., ul. Główna 20, 99-307 Strzelce

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, 05-870 Radzików

 k.rybka@ihar.edu.pl

Pszenżyto (*× Triticosecale* Wittmack) jest heksaploidalnym gatunkiem powstałym w wyniku krzyżowania oddalonego pszenicy i żyta. Charakteryzuje się dużą zdolnością przystosowawczą do niekorzystnych warunków środowiskowych co jest istotną cechą w zmieniającym się klimacie. W tej pracy przedstawiamy wyniki automatycznego fenotypowania zagęszczenia ładu, czynnika plonotwórczego, jesienią oraz wiosną (fazy BBCH 22-29) dla dwunastu komercyjnych odmian pszenżyta ozimego z doświadczeń PDO (Porejestrone Doświadczenie Odmianowe), COBORU (Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych). Fenotypowano dwa powtórzenia polowe, uprawiane na dwóch poziomach agrotechniki (A1, A2), wykorzystując platformę HTPP (High Throughput Plant Phenotyping), PlantScreen (PSI, Drasov, Czechy), wyposażoną w wysokorozdzielczą kamerę RGB. Uzyskane zdjęcia przetworzono przy użyciu oprogramowania MorphoAnalyser dedykowanego do przetwarzania zarejestrowanych obrazów i będącego wyposażeniem platformy. Wyniki oraz plon poddano analizie statystycznej przy użyciu oprogramowania Doriane, statystycznego pakietu dla hodowli roślin. Ponieważ stwierdzono, że różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi w warunkach A1 i A2 nie są istotne statystycznie, dane uśredniono i wyliczono korelacje zagęszczenia ładu jesienią i wiosną z plonem. W obu sezonach współczynniki korelacji miały wysoką, dodatnią wartość; wyniosły 0,79.

Słowa kluczowe: hodowla roślin, obrazowanie terenowe, potencjał plonowania wysokoprzepustowe fenotypowanie, *Triticosecale*

Triticale (*× Triticosecale* Wittmack) is a hexaploid species obtained by crossbreeding of wheat and rye. It is characterized by high adaptability to unfavorable environmental conditions, an essential feature in a changing climate. In this work, we present the results of automatic phenotyping of canopy density, a yield-forming factor, in autumn and spring (BBCH phases 22-29) for twelve commercial cultivars of winter triticale from the PDO trials (post-registration variety testing), COBORU (Research Centre for Cultivar Testing) experiments. Two field replicates, grown at two agrotechnical levels (A1, A2), were phenotyped using the HTPP (High Throughput Plant Phenotyping) platform, PlantScreen (PSI, Drasov, Czech Republic), equipped with a high-resolution RGB camera. The obtained photos were processed using MorphoAnalyser software, which is dedicated to processing recorded images and is included in the platform. The obtained results (green color pixels in the photo) and the yield were subjected to statistical analysis using Doriane software, a statistical package for plant breeding. Since the differences between the results obtained at A1 and A2 levels were not statistically significant, the data were averaged, and Pearson's correlations of canopy density in autumn and spring with yield were calculated. In both seasons, the correlation coefficients had high, positive values; were amounted to 0.79.

Keywords: field imaging, high throughput phenotyping, plant breeding, *Triticosecale*, yield potential

Wstęp

Rosnące zapotrzebowanie na żywność, pasze i produkty roślinne jako surowce dla przemysłu oraz energetyki odnawialnej a także uwarunkowania ekonomiczne z jednej strony a z drugiej, ograniczenia wynikające z konieczności wdrażania europejskich przepisów ochrony środowiska, stawiają przed hodowlą roślin uprawnych konieczność ciągłego podnoszenia produktywności odmian wprowadzanych na rynek przy jednoczesnym obniżaniu kosztów ich uprawy. Kosztów, rozumianych nie tylko w aspekcie nakładów finansowych, lecz również w aspekcie minimalizacji wpływu upraw rolniczych na agroekosystemy poprzez zmniejszenie zużycia wody (wykorzystywanej do nawadniania oraz dostępnej

naturalnie), nawozów czy środków ochrony roślin, zgodnie z inicjatywą Europejski Zielony Ład oraz Strategią od Pola do Stołu (European Commission, 2020). W tych warunkach postęp hodowlany wymaga wytwarzania nowych odmian odpornych na choroby i szkodniki oraz stresy abiotyczne. Powinno to przyczyniać się do minimalizacji zużycia środków chemicznych a przez to ich wpływu na środowisko. Ważny jest także aspekt zużycia i zanieczyszczenia wody (Rybka i Nita, 2014).

Zrozumienie złożonych procesów rozwoju roślin opiera się na zrozumieniu interakcji między informacją genetyczną, a środowiskiem oraz tym, w jaki sposób warunki zewnętrzne wpływają na fenotyp rośliny i w rezultacie na rolniczo pożądane cechy (Pieruschka i Lawson, 2015). Do rozwiązania tego zagadnienia potrzebna jest wiedza do-

tycząca zależności między genotypem a fenotypem, i jest to obecnie wielkie wyzwanie dla wszystkich dziedzin nauk przyrodniczych (Großkinsky i in., 2015). Po stronie praktyków, hodowców, pozostają oczekiwania na rozwój bioinformatyki i biologii systemów, które umożliwią skonstruowanie wirtualnego modelu rośliny, pozwalającego na analizę procesów biochemicznych oraz zmiany ekspresji genów *in silico* na każdym etapie wzrostu, z przełożeniem na praktyczne wykorzystanie tej wiedzy (Daloso i Williams, 2021, Long i in., 2008, Ndour i in., 2017). Obecnie japoński model KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) jest jednym z takich modeli, który pozwala na zrozumienie nieoczywistych zależności na poziomie komórkowym i całego organizmu. Jednakże transfer tej wiedzy do praktyki nie jest jeszcze osiągalny (Kanehisa Laboratories, 2024). Pozyskiwanie informacji genetycznej w postaci sekwencjonowania i mikromacierzy osiągnęło wysoki poziom (Sun i in., 2020). Interpretacja tych danych w oparciu o tworzone obecnie pangenomy jest obiecującą perspektywą (Hurgobin i Edwards, 2017, Zhang i in., 2023). Tak zbierane dane wymagają uzupełnienia o precyzyjne dane fenotypowe.

Fenotypowanie roślin polega na wizualnej ocenie roślin w zdefiniowanym okresie wegetacyjnym i ciągle jeszcze jest najczęściej realizowane przez poszczególnych hodowców w trakcie obserwacji polowych. Nie trzeba przypominać, że ludzkie oko bywa zawodne, w szczególności po wielogodzinnej pracy w ekstremalnych warunkach pogodowych. Dlatego też obserwacje za pomocą odpowiednich kamer są w stanie uniezależnić jakość zbieranych danych od błędu obserwatora, co jest ich ważną cechą. Ułatwiłoby to porównywanie wyników zebranych w różnych lokalizacjach tj. w różnych warunkach środowiskowych i pogodowych, przez różnych ludzi. Dlatego ważną gałęzią nowoczesnej hodowli jest rozwój zautomatyzowanej oceny fenotypowej zarówno na polu jak i w szklarni. Tak zebrane dane są digitalizowane i pozostają zawsze do wglądu. Badania z wykorzystaniem wysokoprzepustowego fenotypowania roślin (HTPP, z ang.: High Throughput Plant Phenotyping) rozwijają się lawinowo a liczba publikacji z tym związanych wyniosła ok. 2 tysięcy w roku 2020 (Ninomiya, 2022). W ostatniej dekadzie powstały silne ośrodki badawcze m. in. w Australii: Australian Plant Phenomics Facility (<https://www.plantphenomics.org.au>), w Niemczech w Jülich: Plant Phenotyping Center (https://www.fzjuelich.de/ibg/ibg-2/EN/Research/Research_Groups/JPPC/JPPC_node.html) oraz w Gatersleben: Automated Plant Phenotyping (<https://www.ipk-gatersleben.de/en/infrastructure/phenotyping>), w Wielkiej Brytanii: National Plant Phenomics Center ([\[phenomics.ac.uk\]\(https://www.plantphenomics.ac.uk\)\), w Kanadzie: Plant Phenotyping and Imaging Research Center \(<https://p2irc.usask.ca>\) czy Plant Phenomics Center w Chinach \(<http://pprcen.njau.edu.cn>\). Utworzono także platformę międzynarodowej współpracy badawczej i tworzenia sieci kontaktów, International Plant Phenotyping Network \(IPPN\) \(<https://www.plant-phenotyping.org>\) \(Rybka, 2018, Rybka, 2023\). HTPP w warunkach polowych jest znacznie trudniejsze do realizacji ze względu na zmienne warunki środowiskowe: światło i zacienienie, wiatr poruszający roślinami, łan a nie pojedyncze rośliny. Postęp w rozwoju technologii i technik obliczeniowych wpływa na rozwój szybkich, wydajnych, nieniszczących, nieinwazyjnych, ilościowych, powtarzalnych i obiektywnych metod fenotypowania również w warunkach polowych. W związku z tym pojawia się możliwość oceny zupełnie nowych cech, takich jak np. dynamika wzrostu roślin każdego genotypu, w przypadku regularnego fenotypowania materiałów hodowlanych w sezonie wegetacyjnym \(Ninomiya, 2022\).](https://www.plant-</p></div><div data-bbox=)

Jednakże, pomimo dynamicznego rozwoju HTPP, metoda jest w dominującej większości wykorzystywana w ośrodkach uniwersyteckich i w instytutach badawczych, rzadko w rutynowych procesach hodowlanych. Ciągłe brak jest standardowych metod przetwarzania danych generowanych przez HTPP i ich integrowania z klasycznie zbieranymi danymi ksiąg polowych w jednym zbiorze, tak, by *de facto* wieloetapowe procesy przetwarzania danych hodowca mógł zamknąć w jednym kroku („kliknięciu”) bez konieczności udziału specjalisty z zakresu przetwarzania danych (Ninomiya, 2022).

W tym artykule prezentujemy wyniki fenotypowania zagęszczenia łanu na podstawie zdjęć RGB zarejestrowanych w spółce Hodowla Roślin Strzelce, przy użyciu platformy HTPP, PlantScreen System (PSI, Drasov, Czechy). Na zarejestrowanych zdjęciach zidentyfikowano rośliny na podstawie indeksu kolorów RGB przy użyciu dedykowanego, intuicyjnego, oprogramowania MorphoAnalyser (PSI, Drasov, Czechy). Hodowcy oczekują, że automatyzacja fenotypowania zagęszczenia łanu pozwoli na obiektywizację oceny oraz, że włączenie jej do kryteriów selekcyjnych może przyspieszyć proces wytwarzania nowych, wysokoplonujących odmian (Mir i in. 2019). Spośród trzech głównych składników plonu ziarna, masa tysiąca ziaren jest monitorowana w praktyce hodowlanej rutynowo ze względu na łatwość i szybkość pomiaru oraz dobrą korelację z plonem (Matysik i in., 2007). Zagęszczenie łanu, a tym bardziej liczba kłosów na poletku, to rzadko wykorzystywane parametry.

Materialy i metody

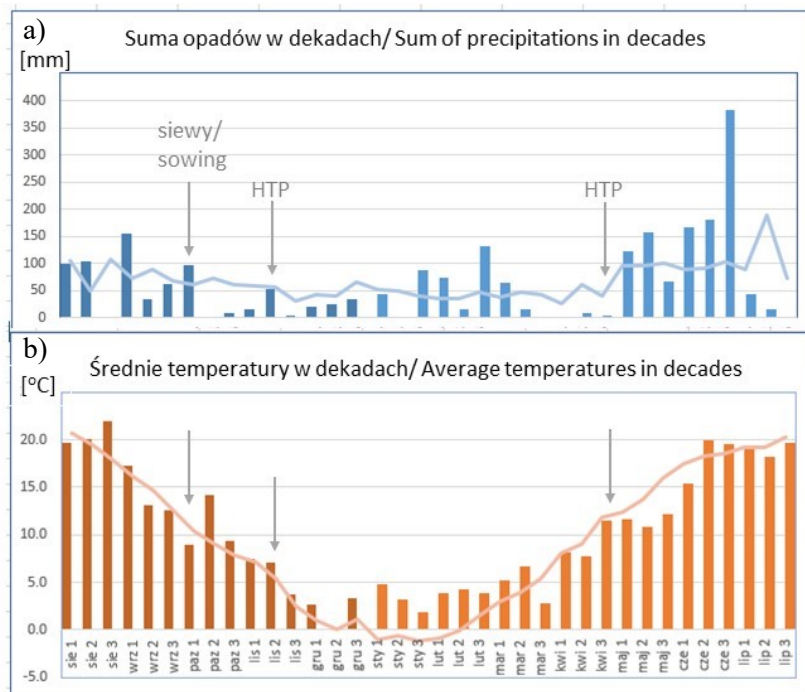
Material roślinny

W doświadczeniu wykorzystano 12 odmian pszenżyta ozimego (\times *Triticosecale* Wittmack), uprawianych w dwóch powtórzeniach polowych, w ramach Porejestrowego Doświadczalnictwa Odmianowego (PDO) na dwóch poziomach agrotechniki A1 (przeciętny) i A2 (wysoki) (Drzazga i in., 2013, Rozbicki i in., 2021) w Hodowli Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR (HRS), Polska (GPS: 52.31 N, 19.41 E), w sumie 48 poletek doświadczalnych. Doświadczenie było założone na działce należącej do gleb brunatnych właściwych o klasie bonitacyjnej IIIa, o uregulowanym odczynie pH na poziomie 6,5 oraz o wysokiej zasobności w makroelementy NPK (Bednarek, 2011, Uggla, 1981). Badano odmiany: Belcanto, Dolindo, Gringo, Meloman, Octavio, Orinoko, Porto, SU Liborius, Tadeus, Toro, Trapero, Trefl. Siewy przeprowadzono 09.10.2019 r., wysiewając 350 kiełkujących nasion na 1 m², na poletkach o powierzchni 10 m² (1 m \times 10 m), umożliwiającym przejazd ciągnika z zainstalowaną platformą wysokoprzepustowego fenotypowania HTPP (High Throughput Plant Phenotyping). Przeciętny poziom agrotechniki (A1) obejmował: jednorazowe nawożenie 300 kg·ha⁻¹ NPK, przed siewami 7.09.2019. Chemiczna ochrona roślin ograniczyła się do przedsiewnego zaprawiania nasion oraz jednorazowego zastosowania herbicydów,

18.10.2019. W ramach interwencji stosowano środki owadobójcze i środki do zwalczania gryzoni, takie same w systemie A1 i A2. Na poziomie A2 zastosowano dodatkowe nawożenie azotem (40 kg·ha⁻¹) w wieloskładnikowym nawozie dolistnym Basfoliar 2.0 36 Extra (ADOB® Sp. z o.o., Poznań), i zabezpieczenie przed wyleganiem (jeden zabieg pod koniec krzewienia 17.04.2020) oraz zabezpieczenie przed chorobami (dwa zabiegi: 18.04 oraz 20.05.2020). W czasie sezonu wegetacyjnego oceniano wizualnie: kondycję plantacji przez zimą, przezimowanie, termin kłoszenia a także: odporność na choroby i parametry plonotwórcze: masa tysiąca ziaren (MTZ) (g), plon (kg na poletko). Fenotypowanie HTPP wykonano jesienią (BBCH 22-24) oraz wiosną (BBCH 25-29): stan rozkrzewienia roślin oceniano 18.11.2019 roku na 48 poletkach (wykonano łącznie 144 zdjęcia), przezimowanie 30.04.2020 roku również na 48 poletkach.

Dane pogodowe

Dane pogodowe zbierała stacja meteo Atmosys Agro (ATMESYS atmosphere monitoring systems, Zgierz, Polska) zlokalizowana w miejscu prowadzenia eksperymentu. Średnie temperatury i sumę opadów w dekadach, w każdym z miesięcy dla sezonu wegetacyjnego, od sierpnia 2019 do lipca 2020, przedstawiono na tle danych wielolecia 2007-2021 (Rys. 1).



Rys. 1. (a) Suma opadów (mm) oraz (b) średnie temperatury (°C) w sezonie wegetacyjnym 2019-2020, w dekadach zaczynając od sierpnia 2019 do lipca 2020 (słupki), na tle wielolecia 2007-2021 (linie). Pionowymi strzałkami zaznaczono termin siewów oraz terminy fenotypowania HTP.

Fig. 1. (a) Total precipitation (mm) and (b) average temperatures (°C) in the 2019-2020 growing season, in decades starting from August 2019 to July 2020 (bars), against the multi-year background 2007-2021 (lines). Vertical arrows mark the sowing term and the HTP phenotyping.

Przygotowanie pola i mapy dla potrzeb automatycznego fenotypowania

Pierwszym etapem HTPP w warunkach polowych było zaplanowanie układu pól na podstawie planowanego usytuowania szkółki PDO, wielkości bloków, szerokości międzyrzędzi. Po wschodach roślin przeprowadzany był przejazd tzw. 0, który miał na celu przygotowanie mapy doświadczenia, przez oznaczenie za pomocą nawigacji GPS punktów lokalizacyjnych poletek i miejsc rejestracji zdjęć w ramach poletka (współrzędne geograficzne). Na każdym poletku zaplanowano wykonanie 3 zdjęć. Punkty lokalizacyjne (nazwane jedną i niepowtarzalną nazwą) są kluczowym elementem wysokopręstowego fenotypowania; są punktami odniesienia dla każdego terminu fenotypowania w ciągu sezonu wegetacyjnego.

Akwizycja obrazu

Po przeprowadzeniu wstępnych zadań następowo było planowanie wykonywania obserwacji polowych w programie PlantScreen Scheduler gdzie oznaczano które punkty i w jakim terminie mają być fenotypowane. Następowo była akceptacja planu prac i zapisanie ich na serwerze w formacie odpowiednim do pobrania go przez komputer sterujący platformą HTPP. Załadowanie schematu z serwera na platformę następowało za pomocą bezprzewodowej sieci Wi-Fi. Przejazd tzw. 1. to przejazd w celu obrazowania roślin, ocena fenotypowa za pomocą platformy w punktach GPS zaplanowanych w czasie robienia mapy. Do tego zadania

należało uruchomić aplikacje FiledScreen Client, a cała reszta czynności związanych z obrazowaniem wykonywała się automatycznie. Potrzebna była wyłącznie obsługa nośnika w czasie przejazdu po bloku doświadczalnym. Po zakończonym przejeździe wykonywany był zapis zarejestrowanych zdjęć, tak, by po przyjeździe w okolice serwera przesłać obrazy na serwer przez połączenie bezprzewodowe Wi-Fi.

Zautomatyzowane fenotypowanie RGB

Zautomatyzowane fenotypowanie RGB przeprowadzono wykorzystując FieldScreen System (PSI, Photon Systems Instruments, Drasov, Czechy, <https://psi.cz/>) zamontowany na nośniku narzędzi polowych (Zürn 540, Zürn Harvesting GmbH & Co. KG, Niemcy) (Rys. 2). Ruch ciągnika podczas fenotypowania odbywał się w kierunku południe-północ, z prędkością $2 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$. Na każdym polu wykonano trzy zdjęcia z odległości 0,9 m bez zatrzymywania ciągnika, każda klatka obejmowała $0,92 \text{ m}^2$ pola. Specyfikacja kamery RGB (PSI, Drasov, Czechy): rozdzielczość 12,36 megapiksela z matrycą CMOS o przekątnej 1,1 cala (Sony IMX-253LQR-C). Czujnik zapewnił rozdzielczość 4112×3006 pikseli i miał funkcję migawki (migawka globalna; maks. fps w trybie swobodnym, 2; rozmiar piksela, $3,45 \mu\text{m}$). Specyfikacja obiektywu: model komputerowy, 1628-MPY; ogniskowa 16 (mm); przysłona, 2,8 (Stefański in., 2024). Opracowanie zdjęć zagęsz-



Rys. 2. System FieldScreen (PSI) zamontowany na nośniku narzędzi Zurn 540, (a) widok pól doświadczalnych, na których prowadzono fenotypowanie RGB; (b) fragment mapy pola z zaplanowanymi miejscami robienia zdjęć. Strzałką zaznaczono kierunek północny; (c) wjazd na pole przez pas obsiewu; (d) fenotypowanie zagęszczenia lanu.

Fig. 2. FieldScreen System (PSI) mounted on the Zurn 540 tool carrier, (a) view of the experimental fields where RGB phenotyping was carried out; (b) fragment of the field map with planned photo-taking locations. The arrow indicates the north direction; (c) entering the field through the sowing strip; (d) canopy density phenotyping.

czenia ładu z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania

Do opracowania zarejestrowanych zdjęć wykorzystano oprogramowanie MorphoAnalyser będące częścią systemu HTPP, PlantScreen System (PSI, Drasov, Czechy, <https://psi.cz/>). Praca z MorphoAnalyser jest intuicyjna i przypomina pracę z ogólnodostępnymi, komercyjnymi programami graficznymi. Wybrano 10 zdjęć wzorcowych, na których zaznaczono po 10 punktów kolorów dla roślin oraz dla tła. Program zdefiniował indeksy kolorów zgodnie z systemem kolorów RGB. Na Rys. 3 przedstawiono przykładową indeksację kolorów dla jednego zdjęcia (Rapid Tables, 2024).

Kolor rośliny/ Plant colour			Kolor tła/ Background colour		
R	G	B	R	G	B
54	97	71	32	29	70
159	181	135	51	73	61
192	213	146	46	37	32
134	158	82	21	20	16
163	184	127	36	33	28
141	160	115	46	41	35
56	74	62	28	27	23
104	136	85	216	178	139
62	77	46	36	31	27
67	86	56	216	191	160

Rys. 3. Udział barw RGB (red green blue) w kolorach zaznaczonych jako roślina i jako tło na jednym z 10 zdjęć wykorzystanych do definiowania masek rośliny i tła.

Fig. 3. The share of RGB (red green blue) colors in the colors marked as a plant and as a background in one of the 10 photos used to define the plant and background masks.

Ponieważ rośliny i kolory tła mogą się różnić między zdjęciami, oprogramowanie proponuje najbardziej odpowiedni indeks dla konkretnego zestawu zdjęć na podstawie obrazów wskazanych jako przykładowe. Wykonywana jest również segmentacja kolorów w celu zmniejszenia ich liczby, za pomocą grupowania k-średnich, która klasyfikuje kolory na podstawie podobieństwa. Oprogramowanie oblicza każdy piksel osobno, aby utworzyć maskę, a następnie wykorzystuje progowanie obliczonej wartości i kilka innych technik, takich jak filtr medianowy do zliczenia pikseli odpowiadających roślinom i eliminacji pikseli tła (Padmavathi i Thangadurai, 2016). Rezultatem tak przetworzonych zdjęć jest liczba pikseli odpowiadająca roślinom w kadrze; wyniki przedstawiono jako jednostki arbitralne (a.u., z ang.: arbitrary units) ($1 \text{ a. u.} = 0,1 \text{ Mpix} \cdot 0,92 \text{ m}^{-2}$).

Analiza statystyczna wyników

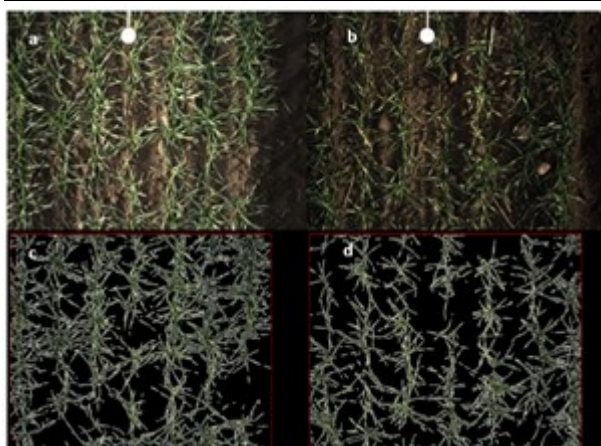
Analiza statystyczna uzyskanych wyników bazowała na analizie wariancji ANOVA. Czynnikiem doświadczenia były badane odmiany (12), oceniano plon ($\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$), zagęszczenie ładu jesienią oraz wiosną, wyrażone w jednostkach arbitralnych tj. Mpix na jednostkę powierzchni. Analiza została

przeprowadzona z wykorzystaniem oprogramowania RnDExp, opracowanego przez francuską firmę DORIANE a przeznaczonego do badań agronomicznych i biologicznych, wspierającego tworzenie nowych odmian roślin i zarządzanie informacją techniczną. Ilustracje uzyskanych wyników przedstawiono w formie wykresów ramka-wąsy (Doriane, 2024); przedstawiają wartości minimalne, maksymalne i kwartyle. Analizę współczynników korelacji Pearsona wykonano w arkuszu MS Excel za pomocą pakietu XLMiner Analysis Tool-Pak.

Wyniki i dyskusja

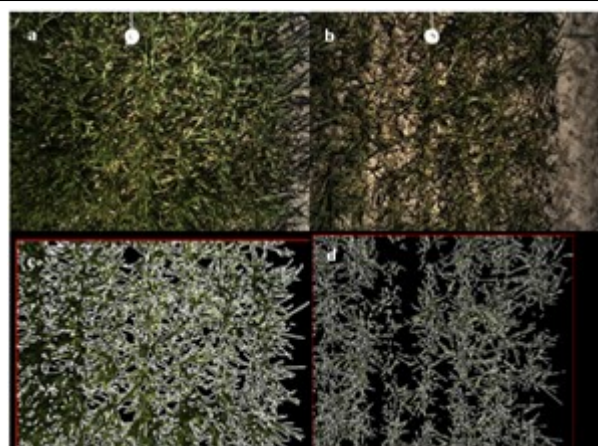
Doświadczenie było przeprowadzone zgodnie z zasadami agrotechniki, nie było znaczących braków we wschodach, uszkodzeń przez szkodniki, poletka były pielęgnowane na bieżąco z zachowaniem wymagań dla poziomów agrotechniki. Warunki pogodowe jesienią pod względem temperatur były na poziomie średniej z wielolecia, poza drugą dekadą października o 5 stopni cieplejszą niż średnia (14°C vs. 9°C) co mogło pozytywnie wpłynąć na kiełkowanie nasion (Rys. 1). Zauważono zróżnicowanie badanych odmian pod względem wigoru i siły kiełkowania nasion, co skutkowało zróżnicowanym zagęszczeniem poletek (Rys. 4 i Rys. 5).

Zima była ponadnormatywnie ciepła, średnia temperatura grudzień-luty wynosiła 3°C w porównaniu z 0°C zanotowanym dla wielolecia. Temperatura wiosną, marzec-kwiecień, była standardowa (Rys. 1). Natomiast sumy opadów były niższe, jesienią od drugiej dekady października do pierwszej dekady listopada spadło 13% średniej sumy opadów dla wielolecia (192 mm), co zostało w jakiejś mierze zrekomensowane przez opady na początku jesieni. Siewy przeprowadzono na początku października, tak, że nasiona miały dobre warunki do kiełkowania. Wiosna również była sucha, spadło jedynie 15% średniej sumy opadów dla wielolecia (od 2 dekady marca do końca kwietnia średnia suma opadów wielolecia wynosiła 216 mm) i wtedy obserwowano wędnięcie roślin niektórych genotypów (dane niepublikowane). Na wiosnę można było również zaobserwować zależne od genotypu uszkodzenia roślin po zimie, słabszą kondycję i zdrowotność niektórych genotypów, które zostały w większości zrekomensowane przez rośliny na dalszych etapach wegetacji (dane niepublikowane). Zauważalne różnice w wypełnieniu poletka, oraz zmiany w obsadzie roślin po zimie, szczególnie były widoczne przy porównywaniu zdjęć słabiej zagęszczonych poletek (Rys. 4b, Rys. 5b), na co bez wątpienia miały wpływ warunki atmosferyczne (Bednarek i in., 2011, Oleksiak i in., 2022, Skłodowski i Bielska, 2009, Uggla, 1981). Poziom istotności różnic między genotypami wynosił dla plonu $p \leq 0,05$, natomiast dla zagęszczenia ładu $p \leq 0,11$ (Tab. 1).



Rys. 4. HTPP zagęszczenia ładu jesienią: zdjęcia oryginalne (a) dobrze i (b) słabiej zagęszczony łąn oraz te same zdjęcia przetworzone przy użyciu oprogramowania MorphoAnalyser (c, d).

Fig. 4. HTPP of canopy density in autumn: original photos (a) well and (b) less dense canopy and the same photos processed using MorphoAnalyser software (c, d).



Rys. 5. HTPP zagęszczenia ładu wiosną: zdjęcia oryginalne (a) dobrze i (b) słabiej zagęszczony łąn oraz te same zdjęcia przetworzone przy użyciu oprogramowania MorphoAnalyser (c, d).

Fig. 5. HTPP of canopy density in spring: original photos (a) well and (b) less dense canopy and the same photos processed using MorphoAnalyser software (c, d).

Tabela 1
Table 1

Plon i zagęszczenie ładu jesienią oraz wiosną 12 odmian pszenżyta ozimego poddanego fenotypowaniu HTPP. Grupowanie na podstawie testu NIR z prawdopodobieństwem 95%
Yield and canopy density in autumn and spring of 12 cultivars of winter triticale subjected to HTPP phenotyping. Grouping based on LSD test with a probability of 95%

Numer ID / Numerical ID	Odmiana / Cultivar	Plon / Yield (t·ha ⁻¹)		Zagęszczenie ładu jesienią / Canopy density at autumn (a.u.*)		Zagęszczenie ładu wiosną / Canopy density at spring (a.u.*)	
		Ranking	Średnia / Mean	Ranking	Średnia / Mean	Ranking	Średnia / Mean
6	Octavio	1	10,02	2	1,61	2	53,43
7	Orinoko	2	9,86	4	1,49	8	51,15
1	Belcanto	3	9,83	2	1,53	3	53,38
12	Medalion	4	9,65	1	1,62	1	54,60
10	Gringo	5	9,34	7	1,38	4	52,82
4	Porto	6	9,29	10	1,22	10	46,45
11	SU Liborius	7	9,12	5	1,39	5	52,76
9	Toro	8	8,91	6	1,39	6	51,64
8	Tadeus	9	8,68	9	1,27	7	51,44
5	Trapero	10	8,02	11	1,22	11	46,13
2	Dolindo	11	7,82	8	1,32	9	49,78
3	Meloman	12	7,77	12	1,13	12	41,52
Średnia / Mean			9,03		1,38		50,42
Średnia wzorcowa / Controls mean			8,96		1,30		47,12
LSD (5%)			1,58		0,34		8,49
Tukey HSD (5%)			2,77		0,60		14,89
α			0,05		0,11		0,12
Współczynnik zmienności / Variation coefficient			11,93		16,91		11,48

*a.u. - jednostki arbitralne (ang.: arbitrary units) 1 a.u. = 0,1 Mpix·0,92 m⁻²

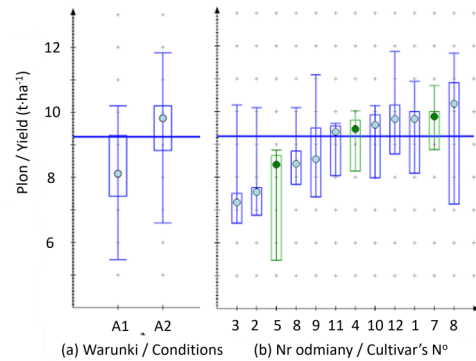
Ocenił statystycznie zróżnicowanie badanych odmian było słabe szczególnie pod względem zagęszczenia ładu. Wpływ na taką notę mogła mieć również zmienność glebowa. W chwili obecnej dysponujemy jedynie klasyfikacją gleby na podstawie analiz chemicznych wykonywanych zgodnie z Polską Normą PN-R-04031-1997 co

kilka lat. Uzyskany wynik wskazuje, że wartościowe byłoby równoległe skanowanie pól przed założeniem doświadczeń, w celu oceny zmienności glebowej jako czynnika mającego wpływ na końcowy efekt, plon i stabilność plonowania, niezmiennie wyznaczniki wartości rynkowej odmian (Austin, 1993). Skanowanie gleby w czasie rze-

czywistym dla zadanych współrzędnych GPS, element rolnictwa precyzyjnego, wykorzystuje techniki pomiarów elektromagnetycznych oraz przewodnictwa elektrycznego gleby w obrębie pola. Sporządzana jest mapa zawartości materii organicznej i pojemności wodnej gleby oraz innych parametrów, takich jak: zawartość składników odżywczych, zasolenie, polowa pojemność gleby (stan gleby, w którym z większych porów glebowych odsączyła się woda, a jej miejsce zajmuje powietrze), punkt trwałego wędnięcia roślin (wilgotność gleby, przy której pojawiają się oznaki trwałego wędnięcia roślin), pojemność wymiany kationów (kationowa pojemność wymienna) (Skudlarski, 2023). W czasie wizualnej oceny doświadczeń hodowca zapisuje w księdze polowej wartość końcową/sumaryczną, najczęściej w skali względnej, natomiast protokół HTPP zakłada gromadzenie danych cząstkowych, które następnie są poddawane ewaluacji metodami statystycznymi. Mapa pola, budowana na pomiarach robionych w miejscach z których są zbierane dane fenotypowe, jest potrzebna by korygować/interpretować dane fenotypowe o wskaźniki jakości gleby w punkcie, w którym zostało zrobione zdjęcie. Plon, główny wyznacznik wartości użytkowej odmiany, jest efektem oddziaływań sumarycznych na polu/poletku i tak jak ocena wizualna jest w pewnym sensie wartością średnią z mikro różnic warunkowanych lokalnymi różnicami w jakości warstwy ornej. Większa precyzja w zbieraniu danych w systemie HTPP wymaga dopracowania metod ich uśredniania po wprowadzaniu korekt dla precyzyjnej lokalizacji wg. GPS, by móc zbudować prawidłowy model plonowania (Rybka i Nita, 2014). Nie umniejsza to wyniku przeprowadzonego eksperymentu, który pokazuje, że automatyczne fenotypowanie HTPP można zrealizować na etapie krzewienia roślin a wyniki można poddać samodzielnej analizie przy użyciu intuicyjnego oprogramowania, bazującego na budowaniu ma-

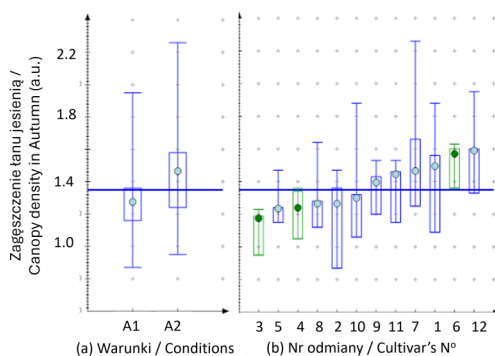
sek obiektów i tła. Niekoniecznie jest w takim przypadku wykorzystywanie złożonych, konwulcyjnych sieci neuronowych CNN (z ang.: Convolutional Neural Network) (Stefański i in. 2024). Pokazanie tej możliwości było celem niniejszej publikacji. Wdrożenie podejścia HTPP do praktyki hodowlanej wymaga dalszej pracy w celu sformułowania efektywnej procedury.

W zrealizowanym doświadczeniu najlepiej plonowały odmiany Octavio, Orinoko, Belcanto i Mediolan, powyżej $9,5 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ i one również charakteryzowały się największym zagęszczeniem ładu, od 1,49 do 1,62 a.u. (Tab. 1). W doświadczeniu PDO dla pszenżyta ozimego w sezonie 2019/2020 odmianami wzorcowymi były: Belcanto, Porto i Meloman. Ich średni plon w naszym doświadczeniu wynosił $8,96 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a zagęszczenie ładu 1,30 a.u. (Tab. 1). Powyżej wzorca plonowały: Octavio, Orinoko, Medalion, Gringo, SU Liborius a zagęszczenie ładu wyższe niż wzorec miała dodatkowo odmiana Toro, plonująca na poziomie 99,4% wzorca (Tab. 1).



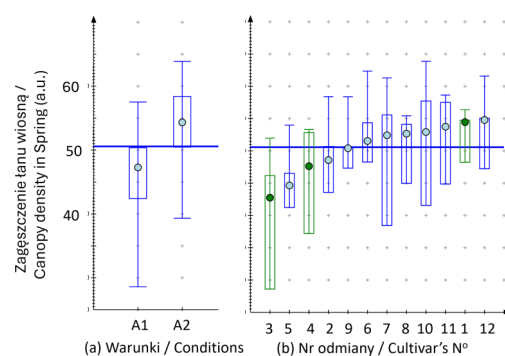
Rys. 6. Wykresy ramka-wąsy dla plonu w zależności od: (a) poziomu agrotechniki A1 i A2 oraz (b) badanych odmian. Wykresy wygenerowane przez oprogramowanie Doriane.

Fig. 6. Boxplot charts for yield depending on: (a) agrotechnical conditions A1 and A2 (b) the tested cultivars. Charts generated by Doriane software.



Rys. 7. Wykresy ramka-wąsy dla zagęszczenia ładu jesienią w zależności od (a) poziomu agrotechniki A1 i A2 oraz (b) badanych odmian. Wykresy wygenerowane przez oprogramowanie Doriane.

Fig. 7. Boxplot charts for canopy density in the autumn (a) depending on agrotechnical conditions A1 and A2 and (b) the tested cultivars. Charts generated by Doriane software.



Rys. 8. Wykresy ramka-wąsy dla zagęszczenia ładu wiosną w zależności od (a) poziomu agrotechniki A1 i A2 oraz (b) badanych odmian. Wykresy wygenerowane przez oprogramowanie Doriane.

Fig. 8. Boxplot charts for canopy density at spring (a) depending on agrotechnical conditions A1 and A2 and (b) the tested cultivars. Charts generated by Doriane software.

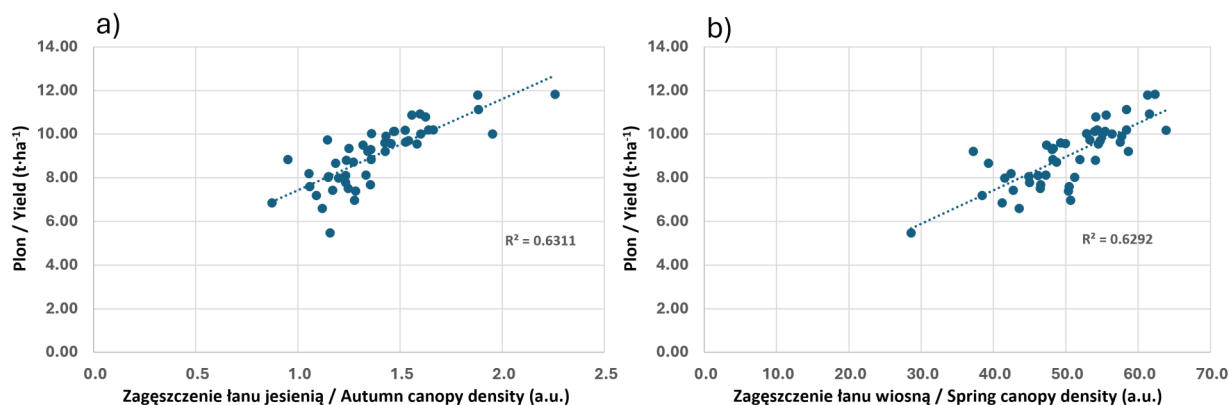
Poziom agrotechniki nie miał statystycznie istotnego wpływu na średni plon badanych odmian, na co mogły się złożyć omówione już warunki środowiskowe. Dlatego dla uzyskania przejrzystości w interpretacji wyników dla odmian, uśredniono dane A1 i A2 zarówno dla plonu (Rys. 6) jak i dla zagęszczenia łąnu jesienią (Rys. 7) oraz wiosną (Rys. 8). Pomimo braku statystycznie istotnej różnicy, poziom agrotechniki A2 wyróżnił się wyższym plonem, co potwierdza fakt, że lepsza ochrona i większe nawożenie daje szansę na zwiększenie plonowania roślin uprawnych (Drzazga i in., 2013). Tabela 2 prezentuje wartości

współczynników korelacji Pearsona dla HTPP zagęszczenia łąnu jesienią i wiosną oraz plonowania pszenżyta ozimego. Wysoki współczynnik korelacji na poziomie 0,79 daje nadzieję na skuteczność HTPP w fenotypowaniu zagęszczenia łąnu i na rozwinięcie metody dla innych gatunków w Hodowli Roślin Strzelce a także na poszerzenie i udoskonalanie wysokoprzepustowej platformy do obserwacji polowych i budowania nowych procedur prac hodowlanych. Wykresy trendu zależności plonu od gęstości łąnu przedstawiono na Rys. 9.

Tabela 2
Table 2

Współczynniki korelacji Pearsona pomiędzy plonem a zagęszczeniem łąnu jesienią oraz wiosną a także korelacji pomiędzy zagęszczeniem łąnu w sezonach
Pearson's correlation coefficients between yield and canopy density in autumn and spring, as well as correlations between canopy density in seasons

	Zagęszczenie łąnu jesienią / Autumn canopy density	Zagęszczenie łąnu wiosną / Spring canopy density	Plon/Yield
Zagęszczenie łąnu jesienią / Autumn canopy density	1		
Zagęszczenie łąnu wiosną / Spring canopy density	0,688	1	
Plon / Yield	0,794	0,793	1



Rys. 9. Zależność plonu pszenżyta ozimego ($t \cdot ha^{-1}$) od zagęszczenia łąnu (a) jesienią i (b) wiosną. *a.u. - jednostki arbitralne, 1 a. u. = $0,1 \text{ Mpix} \cdot 0,92 \text{ m}^2$

Fig. 9. Relation of winter triticale yield ($t \cdot ha^{-1}$) and canopy density (a) in autumn and (b) in spring. *a.u. - arbitrary units, 1 a. u. = $0,1 \text{ Mpix} \cdot 0,92 \text{ m}^2$

Wnioski

- 1) Wysokoprzepustowe fenotypowanie HTPP z wykorzystaniem różnych kamer wymaga nowych metod przetwarzania i analizy danych;
 - Należy sprawdzić, czy precyzja wyników może zostać zwiększona przez uwzględnienie współczynników korekcyjnych wynikających z jakości gleby, ocenionej metodami fizycznymi w czasie rzeczywistym rejestracji mapy pola.
2. Silna dodatnia korelacja zagęszczenia łąnu ocenianego za pomocą HTPP z plonem (0,79), jest istotnym wynikiem dla hodowli i może zostać wdrożona jako parametr selekcyjny wysokoplonujących odmian.

Finansowanie

Badania zrealizowana w ramach projektu POIR-01.01.01-00-0782/16-00 (Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, w ramach Działalności B+R Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 współfinansowanego ze środków Europejskich Funduszy Rozwoju Regionalnego), pt.: „Uzyskanie nowej generacji polskich odmian rzepaku, zbóż oraz bobowatych odpornych na nowe rasy agrofagów, o lepszych zdolnościach mitygacji i adaptacji do zmian klimatu, o odpowiednich cechach technologicznych wymaganych przez konsumentów i przemysł”.

Literatura

- Austin, R.B. (1993). Augmenting yield-based selection, in: M. D. Hayward, et al. (Eds.), *Plant Breeding: Principles and Prospects* Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 391-405.
- Bednarek, R., Dziadowiec, H., Pokojka, U., Prusinkiewicz, Z. (2011). *Badania gleboznawczo-ekologiczne*. PWN, Warszawa, ISBN 83-01-14216-2, p. 343.
- Daloso D. D. M., Williams, T. C. R. (2021). Current Challenges in Plant Systems Biology, in: F. Vischi Winck (Ed.), *Advances in Plant Omics and Systems Biology Approaches*, Springer International Publishing, Cham, pp. 155-170.
- Doriane. (2024). Agronomy driven by data. <https://www.doriane.com>. Data dostępu, 15.03.2024.
- Drzazga, T., Krajewski, P., Śmiałek, E. (2013). Wykorzystanie różnych poziomów intensywności agrotechniki w hodowli pszenicy ozimej. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 270, 3-16. DOI: <https://doi.org/10.37317/biul-2013-0001>
- European Commission (2020.05.2020) Reinforcing Europe's resilience: halting biodiversity loss and building a healthy and sustainable food system. An official website of the European Union, https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_20_884; The European Green Deal, https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal_en; Farm to Fork Strategy, https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/farm-fork-strategy_en. Access date: 22.02.2024.
- Großkinsky, D. K., Svendsgaard, J., Christensen, S., Roitsch, T. (2015). Plant phenomics and the need for physiological phenotyping across scales to narrow the genotype-to-phenotype knowledge gap. *Journal of Experimental Botany*, 66, 5429-5440. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv345>
- Hurgobin, B., Edwards, D. (2017). SNP Discovery Using a Pangenome: Has the Single Reference Approach Become Obsolete? *Biology*, 6, 21. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology6010021>.
- Kanehisa Laboratories, Fukuoka – Kyoto – Tokyo (15.01.2024). KEGG Pathway Database. Wiring diagrams of molecular interactions, reactions and relations. <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>. Access date: 22.02.2024.
- Long, T. A., Brady, S. M., Benfey, P. N. (2008). Systems approaches to identifying gene regulatory networks in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 24, 81-103. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.24.110707.175408>
- Matysik P., Nita Z., Matysik E. (2007). Skuteczność kryteriów selekcji pszenicy ozimej w pokoleniu F4 na podstawie komponentów plonu. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 244, 99-110. DOI: <https://doi.org/10.37317/biul-2007-0049>
- Mir, R. R., Reynolds, M., Pinto, F., Khan, M. A., Bhat, M. A. (2019). High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era. *Plant Science*, 282, 60-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.007>
- Ninomiya, S. (2022). High-throughput field crop phenotyping: current status and challenges. *Breeding Science*, 72 (1), 3-18. DOI: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.21069>
- Ndour, A., Vadez, V., Pradal, C., Lucas, M. (2017). Virtual plants need water too: Functional-structural root system models in the context of drought tolerance breeding. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1577. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01577>
- Oleksiak, T., Spyroglou, I., Pacoń, D., Matysik, P., Pernisova, M., Rybka, K. (2022). Effect of drought on wheat production in Poland between 1961 and 2019. *Crop Science*, 62, 728-743. DOI: <https://doi.org/10.1002/csc2.20690>
- Padmavathi, K., Thangadurai, K. (2016.) Implementation of RGB and grayscale images in plant leaves disease detection – comparative study. *Indian Journal of Science and Technology*, 9(6), 1-7. DOI: <https://doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i6/77739>
- Pieruschka, R., Lawson, T. (2015). Phenotyping in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66, 5385-5387. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erv395>
- Rapid Tables. (2024) Tabela kolorów RGB. https://www.rapidtables.org/pl/web/color/RGB_Color.html. Access date: 13.03.2024.
- Rozbicki, J., Gozdowski, D., Studnicki, M., Mądry, W., Golba, J., Sobczyński, G., Wijata, M. (2019.) Management intensity effects on grain yield and its quality traits of winter wheat cultivars in different environments in Poland. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 22(1), 1. DOI: <https://doi.org/10.30825/5.ejpau.168.2019.22.1>
- Rybka, K. (2018). Fenotypowanie roślin. Konferencja EPPN 2020 w Tartu/ Estonia. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 282, 161-174. DOI: <https://doi.org/10.37317/biul-2017-0022>
- Rybka, K. (2023). Najnowsze doniesienia z zakresu biotechnologii i hodowli zbóż: CBB7 siódma konferencja Cereal Biotechnology and Breeding in Wernigerode, Niemcy. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 300, 77-89. DOI: <https://doi.org/10.37317/biul-2023-0014>
- Rybka K., Nita Z. (2015). Physiological requirements for wheat ideotypes in response to drought threat. *Acta Physiologiae Plantarum*, e37, 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1844-5>
- Skłodowski, P., Bielska, A. (2009). Properties and fertility of soils in Poland: A basis for the formation of agro-environmental relations. In Polish: Właściwości i urodzajność gleb Polski: podstawa kształtowania relacji rolno-środowiskowych. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 9(28), 203-214. <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-article-BATC-0002-0057>
- Skudlarski, J. (2023). Skanowanie elektromagnetyczne gleby – element rolnictwa precyzyjnego. *Wiadomości Rolnicze Polska*. <https://www.wrp.pl/skanowanie-elektromagnetyczne-gleby-element-rolnictwa-precyzyjnego/>. Access date: 16.03.2024.
- Stefański, P., Ullah, S., Matysik, P., Rybka, K. (2024). Triticale field phenotyping using RGB camera for ear counting and yield estimation. *Journal of Applied Genetics*, 65, 271-281. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13353-024-00835-6>.
- Sun, C., Dong, Z., Zhao, L., Ren, Y., Zhang, N., Chen, F. (2020). The Wheat 660K SNP array demonstrates great potential for marker-assisted selection in polyploid wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 18, 1354-1360. DOI: <https://doi.org/10.1111/pbi.13361>
- Uggla, H. (1981). *Gleboznawstwo rolnicze*. PWN, Warszawa, ISBN 83-01-00237-9, p. 557.
- Zhang, B., Huang, H., Tibbs-Cortes, L. E., Vanous, A., Zhang, Z., Sanguine, K., Garland-Campbell, K. A., Yu, J., Li, X. (2023). Streamline unsupervised machine learning to survey and graph indel indel-based haplotypes from pan pan-genomes. *Molecular Plant*, 16, 975-997. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.05.005>