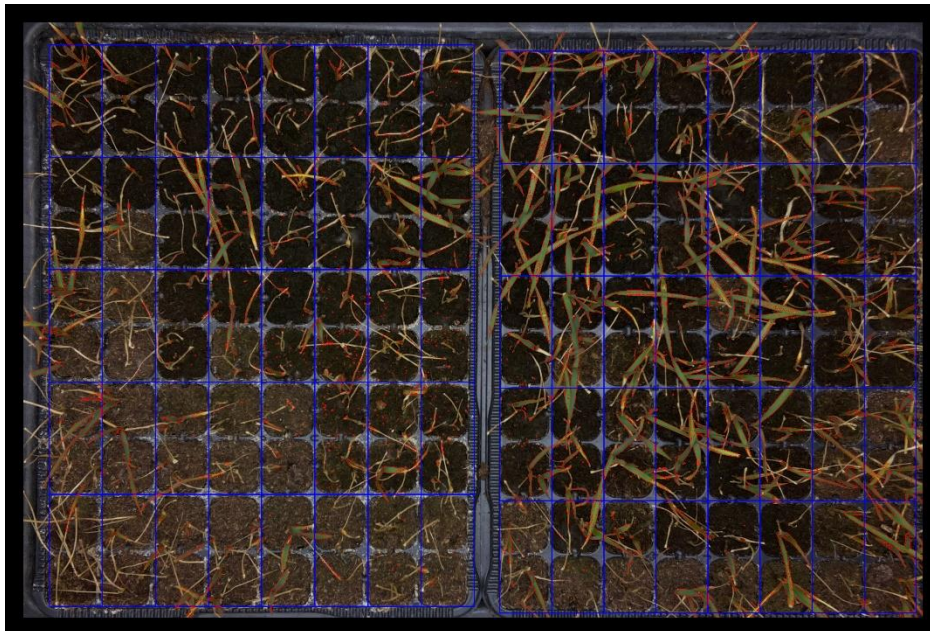


Využití analýzy obrazu pro vyhodnocení testů mrazuvzdornosti ozimé pšenice



SELTON



Přírodovědecká
fakulta



2022

Kolektiv autorů:

Výzkumné centrum SELTON, s.r.o.

Ing. Ondřej Veškrna, Ph.D.

Dr. Ing. Pavel Horčíčka

Ing. Stanislav Ježek

Univerzita Palackého v Olomouci

Mgr. Jan F. Humplík, Ph.D.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Ing. Jana Chrpová, CSc.

ISBN 978-80-7427-403-9

1. Cíl metodiky

Využití analýzy obrazu pro vyhodnocení testů mrazuvzdornosti ozimých obilnin

Cílem certifikované metodiky je optimalizace metod spojených s určováním úrovně zimovzdornosti odrůd ozimých plodin. Metodika pracuje s ozimou pšenicí jako modelovou plodinou, je však možné předložené postupy modifikovat na jiné ozimé plodiny. Jedním z hlavních faktorů zimovzdornosti je mrazuvzdornost, která popisuje schopnost rostlin odolávat mrazovým teplotám. Mrazuvzdornost je dlouhodobě sledována formou speciálních mrazových testů, kde výsledkem je podíl (%) přeživších rostlin. Míra přežívání je však určována pomocí subjektivního hodnocení, které může být nepřesné, časově a pracovně náročné a málo „vytěžuje“ informace z poměrně nákladných testů. Předkládáme vypracované postupy, které zasažené genotypy hodnotí objektivně na základě analýzy obrazu a doplňují, případně mohou nahradit ruční hodnocení.

Use of image analysis for evaluation of winter cereals artificial frost resistance tests

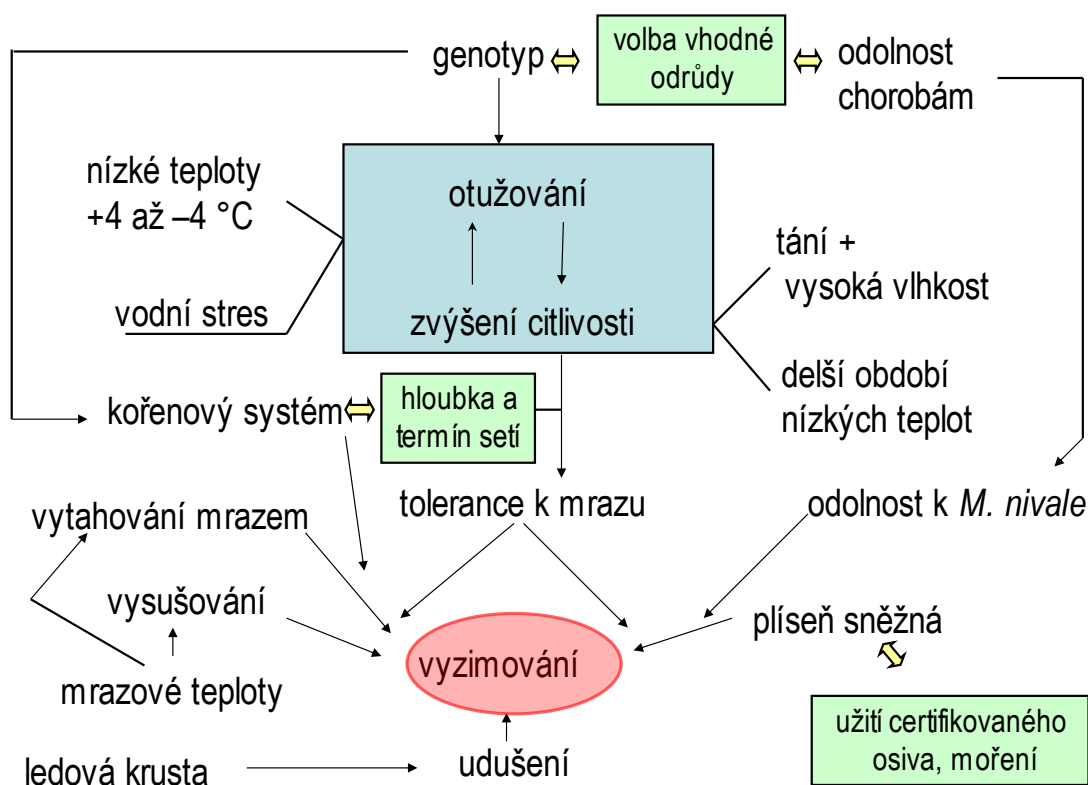
The aim of the certified methodology is to optimize the methods associated with determining the level of winter hardiness of winter crop varieties. The methodology works with winter wheat as a model crop, but it is possible to modify the presented procedures to other winter crops. One of the main factors of winter hardiness is frost resistance, which describes the ability of plants to withstand frost temperatures. Frost resistance has long been monitored in the form of special frost tests, which results in a proportion (%) of surviving plants. However, survival rates are determined by subjective evaluation, which can be inaccurate, time-consuming and laborious. In addition, hand evaluation yields few results from relatively expensive tests. We present elaborated procedures that evaluate the affected genotypes objectively on the basis of image analysis and supplement or may replace manual evaluation.

2. Vlastní popis metodiky

2.1. Metody navození stresu nízkých teplot ozimé pšenice

Zimovzdornost ozimých obilnin je schopnost odolávat specifickým faktorům zimy, které mohou být abiotického i biotického charakteru (mráz, sucho, sněhová pokrývka, plíseň sněžná a další; obrázek 1). Jedním z rozhodujících faktorů ovlivňující zimovzdornost je mrazuvzdornost. Mrazuvzdornost je schopnost ozimých obilnin odolávat nízkým teplotám. Uplatňuje se v oblastech s častým výskytem mrazových period (trvání alespoň 10-21 dní) bez sněhové pokrývky. Geograficky je tato vlastnost klíčová pro oblasti střední a východní Evropy a některé oblasti Kanady a USA. V našich podmínkách dochází k rizikovým scénářům v průměru jednou za deset let (např. 2002-03, 2011-12). Relativně nízká frekvence přirozeného výskytu tohoto stresového faktoru v ČR a negativní korelace s výnosem způsobuje potíže při šlechtění. Pokud není každoroční selekční tlak, dochází v důsledku selekce na vysoký výnos, k nahromadění genotypů s nízkou mrazuvzdorností. Z těchto důvodů byla vypracována celá řada testů mrazuvzdornosti založených na plně nebo částečně indukovaných stresových podmínkách. Částečně indukované stresové podmínky jsou založeny na principu růstu rostlin v nádobách, které rychleji promrzávají v případě přirozeného výskytu nízkých teplot v období zimy. Nevýhodou tohoto přístupu je nemožnost ovlivňovat intenzitu vzniklého stresu, případně v našich podmínkách ani nemusí v průběhu zimy nastat. Každý test se skládá ze tří fází – otužování, mrazový stres a regenerace.

Obrázek 1: Zimovzdornost ozimé pšenice a interakce prostředí (Prášil et al., 2012)



Byly vyvinuty tři typy testů ozimé pšenice (polně-laboratorní, laboratorní a kombinovaný), při kterých se indukují stres nízkými teplotami uměle pomocí mrazových komor. Kontrolované podmínky umožňují dosahovat výsledků každoročně s dobrou mírou opakovatelnosti. Základní charakteristiky testů popisuje tabulka 1.

Tabulka 1: Základní charakteristika mrazových testů ozimé pšenice

	Polně-laboratorní	Laboratorní	Kombinovaný
Označení	PL	L	K
Výsev	Pole	Sadbovače	Sadbovače
Počet rostlin / genotyp	15	15	15
Min. počet opakování	2	2	2
Otužování	Přirozené podmínky zimy	Kontrolované podmínky – jarovizační komory	Přirozené podmínky zimy
Délka otužování (dny)	Variabilní	30	Variabilní
Způsob kultivace	Přesazení	Přenos sadbovače	Přenos sadbovače
Zásahové teploty (Z, M, B)	Z = -12°C; M = -14°C; B = -16°C		
Doba trvání zásahových teplot (h)	24	12	24
Regenerace v temperovaném skleníku (dny)	21	21	21

Jednotlivé testy se liší způsobem otužování a výsevem testovaných rostlin. Polně-laboratorní test pracuje s rostlinami odebranými přímo z pole (Obrázek 2). Odebrané rostliny jsou zasazeny do agoperlitu a zasaženy stresem nízkých teplot. Tento typ testu nejlépe koreloval s výsledky vymrzání ozimých pšenic v kritických zimách v letech 2002-03 a 2011-12. Tento test je pracovní velmi náročný a odběr rostlin je závislý na podmínkách zimy (není možný při sněhové pokrývce nebo promrzlé půdě). Proto jsou paralelně prováděny další dva typy testů, laboratorní a kombinovaný. Laboratorní test je zcela nezávislý na podmínkách prostředí. Výsev, vzcházení otužování i samotný test jsou prováděny v jarovizačních a mrazových komorách. Zajišťuje jistotu dosažení výsledků v každém roce testování, ale neinformuje o úrovni otužení/mrazuvzdornosti pšenic v polních podmínkách. Tuto informaci je možné odhadovat pomocí kombinovaného testu, který využívá podmínek začátku zimy k otužení rostlin zasetých v sadbovačích (Obrázek 3). Vhodným plánováním mrazových testů v průběhu zimy je možné sledovat aktuální úroveň mrazuvzdornosti ozimých pšenic na poli. Tyto postupy lze alternativně uplatnit i na další ozimé obilniny.

Obrázek 2: Odběr rostlin a přesazení do agropertlitu, Polně-laboratorní test



Obrázek 3: Vzcházení rostlin v sadbovačích, Laboratorní a Kombinovaný typ testu



Obrázek 4: Regenerace rostlin v temperovaném skleníku



2.2. Vyhodnocení mrazového testu ozimé pšenice

Nízké teploty působí na rostliny destruktivně v podobě narušení buněčných stěn v důsledku změny skupenství jejich kapalného obsahu. Intenzita je určována intenzitou a dobou trvání mrazu a koncentrací asimilátů v jednotlivých tkáních rostliny. Klíčová část rostliny pro její přežití je odnožovací uzel. Mrazuvzdorné odrůdy ozimé pšenice jsou schopné více koncentrovat asimiláty v odnožovacím uzlu, ze kterého jsou pak schopné regenerovat odumřelé (zmrzlé) části rostliny.

Předmětem předložené metodiky je přístup k vyhodnocení mrazového testu. Tradiční vyhodnocení spočívá v určení míry přežívání rostlin na základě vitality a růstu nadzemních částí rostlin. Určuje se podíl živých rostlin (%) na základě subjektivního hodnocení nadzemní části rostliny. Případně je hodnocen kořenový systém, kde je určována přítomnost nových přírůstků. Podíl živých rostlin se někdy uvádí přepočtený do bodové škály 0 a 9, přičemž nejvyšší hodnota představuje vysokou míru mrazuvzdornosti (100% rostlin přežívá nejnižší zásahovou teplotu).

Obrázek 5: Regenerace po testu – odrůdy s různou mírou mrazuvzdornosti



Tento způsob hodnocení je časově náročný, závislý na zkušenosti a odbornosti hodnotitele a v případě hodnocení kořenů je destruktivní. Výsledkem testu je pouze hodnota počtu živých rostlin, mohutnost a rychlost regenerace není zohledňována. Předložená metodika popisuje konstrukci a využití snímkovacího zařízení a software, který umožňuje kvantitativně zhodnotit regeneraci rostlin po mrazovém testu pomocí detekce pixelů, které v rozmezí definovaného barveného prostoru reprezentují míru retence, případně re-syntézy chlorofylu po stresovém zásahu. Kvantifikace plochy obsahující tyto pixely pak umožňuje vzájemné srovnání testovaných variant a poskytuje základní hodnotící parametr pro obrazovou analýzu.

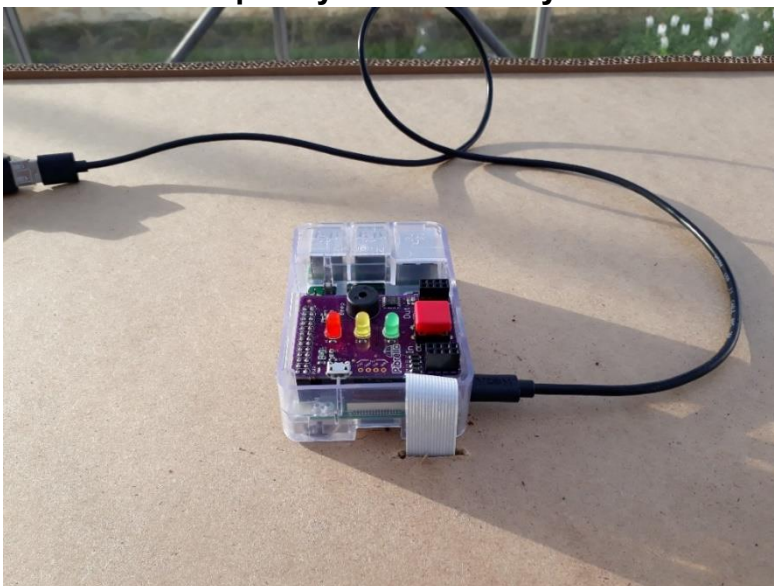
2.3. Popis a konstrukce snímkovacího zařízení

Snímkovací zařízení bylo navrženo s ohledem na minimalizaci vstupních nákladů, tak, aby daná metodika byla přístupná všem potencionálním zájemcům. Snímkovací zařízení se skládá z mikropočítače Raspberry Pi s kamerovým modulem Pi Camera V2 (8Mpx Sony IMX219 CCD) a podpůrné zastíněné konstrukce s LED osvětlením sloužící k standardizovanému nasvícení a k fixaci snímaného plata se sadbovači. LED osvětlení se skládá ze čtyř LED pásků (délka 60 cm, 12V) a LED zdroje (12V; 15W). Intenzita osvětlení snímkové plochy dosahuje hodnot v rozmezí 4100-4300 lx. Konstrukce je tvořena z jídelního stolu IKEA, přidané spodní desky z lamina, dorazů pro vycentrování plata se sadbovači (2x hliníkový L profil 25 mm) a ze zastínění (hrubá lepenka).

Obrázek 6: Snímkovací zařízení



Obrázek 7: Raspberry Pi s kamerovým modulem Pi Camera V2



2.4. Software pro vyhodnocení jednotlivých snímků a jeho použití

Software se všemi nutnými součástmi je bezplatně dostupný i s anglickým popisem na odkaze:

<https://github.com/frycaktadeas/Selgen>

Popis

Tento software je určen k vyhodnocování větších souborů snímků (*batches*) generovaných pomocí snímkovacího zařízení. Principiálně však může být upraven na RGB snímky pocházející z libovolného senzoru (kamery). Vstupní formáty obrázků jsou defaultně nastaveny na jpg, png, bmp, tiff, tif. Jádro softwaru využívá především nástroje knihovny OpenCV (*Bradski, 2000*). Na jednom snímku jsou standardně zobrazeny dva sadbovače o rozměrech 10x8 jamek. Tímto je vymezena vstupní oblast zájmu pro další analýzu.

Software má za úkol vyhodnotit prostorový a barevný vzor rostliny v každé dvojjamce – což je subordinovaná oblast zájmu (ROI) představující jeden genotyp (5-7 rostlin). Jako klíčový parametr regenerace rostlin po mrazových testech software vyhodnocuje míru zazelenání v každém genotypu, tedy počet zelených pixelů pro každou ROI. Definice "zeleného pixelu", byla provedena po prvních testech uživatelsky a lze ji kalibrovat změnou proměnných v souboru *global_variables.py* jako prahové hodnoty pro segmentaci.

Výstupem analýzy je níže popsáný soubor xlsx a složka snímků s vyznačenými maskami (obrysy) kolem "zelených" pixelů, umožňující uživatelskou kontrolu činnosti software.

Proces analýzy jednotlivých snímků probíhá v těchto krocích:

1. Vstupní oblast zájmu se ořízne z nezpracovaného obrazu.
2. Vstupní oblast zájmu se rozdělí na dvě oblasti (levá a pravá).
3. Levá a pravá oblast jsou segmentovány zvlášť (kvůli možnému vychýlení sadbovačů z osy snímku).
4. Výpočet mřížky pro obě oblasti
5. Rozdělení oblastí na jednotlivé ROI (dvojjamky)
6. Výpočet prostorového a barevného vzoru v každém ROI

Aplikace software

Tyto pokyny vás dovedou ke zkopírování projektu a deploy na vašem místním počítači.

Platforma

Projekt je vytvořen v programovacím jazyce Python 3. Pro analýzu lze použít server s operačním systémem Unix, nebo OS Windows (viz níže).

Předpoklady

Jako první nainstalujte na server aktuální verzi jazyka Python (ne starší než 3.8.X). Při instalaci požadované verze Pythonu postupujte např. podle pokynů na této webové stránce (<https://realpython.com/installing-python/>).

Nasazení

Unix

1. Je vyžadován balíček Python `virtualenv`. Otevřete terminál a spusťte příkaz `python3 -m pip install virtualenv` pro instalaci tohoto balíčku.
2. Stáhněte si zazipovaný projekt `selgen` z repozitáře github <https://github.com/UPOL-Plant-phenotyping-research-group/Selgen> pomocí zeleného tlačítka *Clone or download* a *Download ZIP option*.
3. Otevřete stažený soubor zip a umístěte složku `Selgen-master` na plochu vašeho počítače.
4. Otevřete terminál a přejděte do složky projektu příkazem `cd 'your_path_to_project'` (např. `...../Desktop/Selgen-master/`).
5. V terminálu proveďte příkaz `bash create_venv`, který vytvoří virtuální prostředí. Nyní byste ve složce projektu `...../Desktop/Selgen-master/` měli najít složku `selgen`.

Windows

1. Jako první je vyžadován balíček `virtualenv` pro Python. Otevřete terminál interpretu příkazového řádku (`cmd.exe`) a spusťte příkaz `py -m pip install --user virtualenv`
2. Stáhněte si zazipovaný projekt `selgen` z repozitáře github <https://github.com/PolakMichalMLT/Selgen> pomocí zeleného tlačítka *Clone or download* a *Download ZIP option*.
3. Otevřete stažený soubor zip a umístěte složku `Selgen-master` na plochu vašeho serveru.
4. V terminálu `cmd` přejděte terminálem do této složky `cd .\Desktop\Selgen-master`
5. Vytvořte virtuální prostředí pythonu příkazem `python -m venv selgen`
6. Aktivujte virtuální prostředí příkazem `.\selgen\Scripts\activate`
7. Instalace požadavků projektu `pip install -r requirements.txt`
8. Deaktivujte virtuální prostředí příkazem `.\selgen\Scripts\deactivate`

Provedení analýzy

Unix

1. Vytvořte složku se snímky experimentu pro zpracování.
1. Ve složce projektu `.../Desktop/Selgen-master` otevřete soubor `selgen_global.py` v nějakém textovém editoru (např. Notepad++) a definujte cestu (*path*) jako adresář složky z kroku 1
2. Přejděte terminálem do složky projektu `...../Desktop/Selgen-master`.
3. V terminálu spusťte příkaz `bash exe`, který provede analýzu dat.

Windows

2. Vytvořte složku se snímkem experimentu pro zpracování.
3. Ve složce .../Desktop/Selgen-master otevřete soubor *selgen_global.py* v nějakém textovém editoru (např. Notepad++) a definujte cestu (*path*) jako adresář složky z kroku 1
4. Přejděte v terminálu cmd na adresu/Desktop/Selgen-master.
5. Aktivujte virtuální prostředí příkazem `.\selgen\Scripts\activate`
6. V terminálu cmd spusťte analýzu pomocí příkazu `python selgen_analysis.py`
7. Deaktivujte virtuální prostředí příkazem `.\selgen\Scripts\deactivate`

Výstup analýzy

1. Všechny výsledky jsou umístěny ve složce umístěné dle definované cesty (*path*) ze souboru *selgen_global.py*
2. Ve složce *contoured_images* jsou původní obrázky s nakreslenými obrysy aktivní biomasy
3. Ve složce *processed* jsou snímky, které byly úspěšně zpracovány
4. Ve složce *unprocessed* jsou snímky, které nebyly zpracovány z důvodu nějaké chyby
5. Ve složce *batch_output.xlsx* jsou strukturované výsledky
 - a. **biomass** sloupec obsahuje počet pixelů pro daný ROI
 - b. **day** sloupec obsahuje pořadové číslo dne snímání
 - c. **side** sloupec definuje o který ze dvou přítomných sadbovačů se jedná (*left/right*)
 - d. **variant** sloupec obsahuje uživatelem definovanou variantu ošetření na celém sadbovači (např. zásahovou teplotu)
 - e. **row** sloupec je označení řady ve které se daná ROI (tedy genotyp) nachází
 - f. **column** sloupec označení sloupce ve kterém se daná ROI (tedy genotyp) nachází
 - g. **size** je rozměr hodnocené oblasti – počet všech pixelů ROI

Obrázek 8: Ukázka výstupní tabulky analýzy snímků

	date	time	variant	side	row	column	biomass	size
0	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	0	0,000385	(307, 144)
1	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	1	0,003841	(307, 145)
2	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	2	0,000882	(307, 144)
3	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	3	0,000944	(307, 145)
4	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	4	0,006175	(307, 144)
5	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	5	0,000966	(307, 145)
6	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	6	0,002353	(307, 144)
7	2022-03-0	09-40-10	B147	left	0	7	0,000809	(307, 145)
8	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	0	0,000204	(307, 144)
9	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	1	0,000135	(307, 145)
10	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	2	0,000498	(307, 144)
11	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	3	0,00337	(307, 145)
12	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	4	0,00181	(307, 144)
13	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	5	0,009457	(307, 145)
14	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	6	0,000566	(307, 144)
15	2022-03-0	09-40-10	B147	left	1	7	0,000202	(307, 145)
16	2022-03-0	09-40-10	B147	left	2	0	0,003574	(307, 144)

2.5. Interpretace vyhodnocených dat a jejich verifikace

Analyzovali jsme schopnost rostlin regenerovat po mrazových testech pomocí obrazové analýzy a zároveň tradiční metodou hodnocením hodnotitelem. Jako potenciální markery mrazové odolnosti sloužil počet zelených pixelů měřený standardizovaným snímkovacím systémem a výše popsaným software, výsledky měření byly korelovány s výsledky manuálních hodnocení.

Rostliny byly testovány ve dvou nezávislých pokusech (2019, 2020) vždy při třech mrazových teplotách (z, m, b). Rostliny byly snímkovány ve třech časových bodech, před mrazovým testem, 14 a 21 dní během regenerace rostlin. Podle očekávání byla pozorována nejvyšší korelace mezi manuálním hodnocením (které se rutinně provádí 21. den regenerace) a obrazovou analýzou 21. dne regenerace. Vzhledem k nenormální distribuci datových souborů (což je běžný jev v datech z biologických experimentů), byla zvolena neparametrická metoda korelace Spearmanův korelační koeficient. Korelace mezi obrazovou analýzou a manuálním hodnocením u 21. dne regenerace dosáhly hodnoty 0,78 u pokusu z roku 2019 a 0,66 u pokusu z roku 2020. I přes nižší korelaci v sezóně 2020 dosahovala souhrnná korelace v 21. den regenerace z obou sezón (2019+2020) hodnoty 0,78. Také při analýze vlivu mrazových teplot vykazovaly nejsilnější mrazové podmínky (b, -16 °C) nejvyšší korelaci v porovnání s nižšími teplotami m a z. To lze pravděpodobně vysvětlit dramatictější rozpadem chlorofylu ve stresovaných pletivech a pomalejším růstem regenerujících genotypů způsobujícím menší překryvání rostlin. Podrobnosti o korelacích v různých dnech regenerace jsou zaznamenány v tabulce 2.

Tabulka 2: Spearmanův korelační koeficient pro jednotlivé zásahové teploty a dané experimentální roky. Všechny hodnoty jsou signifikantní na hladině $p < 0.05$.

Year	2019+2020	2019+2020	2019+2020	2019	2020	2019+2020
Freezing temp.	b (-16 °C)	m (-14 °C)	z (-12 °C)	b+m+z	b+m+z	b+m+z
pre_GA	0.359411	0.428211	0.107314	0.104194	0.185321	0.437075
14_GA	0.743390	0.646280	0.673204	0.733987	0.648173	0.763826
21_GA	0.767987	0.652888	0.731202	0.779357	0.658934	0.780046

3. Srovnání „novosti postupů“

Metodika přináší podrobné informace o využití analýzy obrazu pro vyhodnocení testů mrazuvzdornosti. Tato metoda umožňuje finančně i časově méně náročné stanovení úrovně mrazuvzdornosti na velkém počtu genotypů s menším počtem hodnotitelů. Výsledky získané touto metodou vyhovují požadavkům pro výběr materiálů s vyšší mrazuvzdorností v procesu šlechtění ozimých obilnin. Výhodou této metody je možnost opakovaného snímání v různých fázích regenerace rostlin a přesnější porozumění jeho průběhu.

Obrázek 9: Ukázka vyhodnocení mrazuvzdornosti vybraných genotypů (Selgen, a.s.; 2022)

Č.22	NÁZEV	obrazová analýza				ruční hodnocení			
		biomass*100				% přežití			
		Z	M	B	ZMB	Z	M	B	ZMB
VS_701	MEGAN	13,6	2,6	1,0	5,7	48	17	0	22
VS_702	KALBEX	8,5	1,5	2,1	4,0	15	12	0	9
VS_703	BUTTERFLY	14,5	3,6	1,4	6,5	60	36	11	36
VS_704	JULIE	17,4	7,2	2,9	9,2	89	57	39	61
VS_705	ADINA	7,0	1,0	0,6	2,9	48	20	7	25
VS_706	SKIF	11,5	3,2	1,6	5,4	79	46	26	50
VS_707	ILLUSION	11,1	5,0	0,8	5,6	82	50	30	54
VS_708	TURANDOT	12,2	2,5	1,5	5,4	68	29	23	40
VS_709	PETRONELA	8,4	2,5	1,2	4,1	55	28	12	32
VS_710	STEFFI	3,3	1,3	0,4	1,7	28	11	6	15
VS_711	LORIEN	1,7	0,4	0,4	0,8	0	0	0	0
VS_712	MERCEDES	7,6	3,7	1,6	4,3	51	49	0	33
VS_713	VANESSA	12,3	4,0	1,3	5,9	52	18	18	29
VS_714	COLLECTOR	5,0	0,9	0,4	2,1	14	6	0	7
VS_715	REGISTANA	2,5	0,3	0,4	1,1	0	0	0	0
VS_716	NONSTOP	11,1	1,7	3,8	5,5	57	0	22	27
VS_717	LISETA	14,3	5,9	2,6	7,6	66	45	8	40
VS_718	BOHEMIA	19,5	8,8	8,6	12,3	97	51	44	64
VS_719	ARTIX	7,2	3,9	4,8	5,3	61	53	39	51
VS_720	SALLY	8,6	4,1	2,3	5,0	53	23	30	35
VS_721	VIKI	17,2	2,8	5,8	8,6	90	25	39	51
VS_723	DYNAMITE	12,8	5,3	3,5	7,2	76	58	35	56
VS_724	NETTA	14,3	5,9	3,3	7,8	61	66	33	53

4. Popis uplatnění metodiky

Metodika nachází dobré uplatnění ve šlechtění ozimých obilnin (zejména ozimá pšenice) a trav. Má i potenciál využití při testování dalších plodin, které je možné pěstovat jako ozimy (řepka, jetel, hrách a mák). Tyto plodiny se ale standardně na mrazuvzdornost netestují a využití této metodiky by vyžadovalo úpravu designu mrazového testu. Postupy uplatněné v této metodice je možné využít při odrůdovém testování ÚKZÚZ nebo výzkumnými organizacemi, které testují abiotické stresy na rostlinách.

5. Ekonomické aspekty

Metoda vyhodnocení testů mrazuvzdornosti s využitím analýzy obrazu je pro budoucí uživatele finančně dostupná. Konstrukce snímkovacího zařízení není náročná a vychází z běžně dostupných a relativně levných hardwarových zařízení. Softwarové vybavení využívá základní systémy založené na freewarových licencích a program pro vyhodnocení snímků je volně dostupným výsledkem řešení projektu QK1910041. Počáteční investice by podle našich odhadů neměla překročit 100 tisíc korun. Náklady na otestování jednoho genotypu ozimé pšenice jsou odhadovány v tabulce 3.

Tabulka 3: Kalkulace nákladů mrazového testu a s využitím analýzy obrazu (AO) (kalkulováno na jeden testovaný genotyp, 2 opakování)

Položka	Běžná cena (Kč)	Cena s využitím AO (Kč)
Energie	100	90
Materiál	90	90
Režie	76	63
Osobní náklady	190	133
Celkem	456	376

V případě vyhodnocení pokusu pouze pomocí obrazové analýzy dojde k úspoře osobních nákladů o 30 % a energií o 10 %. Pracoviště Selgen, a.s. testuje každoročně 2500 až 3000 genotypů. Při tomto objemu testování může úspora nákladů činit 200 až 240 tis. Kč ročně. Autoři metodiky nicméně spatřují důležitější ekonomický přínos v přesnějším vyhodnocení testu mrazuvzdornosti a úspěšnější selekci na tento znak ve šlechtění nebo státních odrůdových zkouškách. Aktuální průměrná mrazuvzdornost doporučených odrůd je 4,5 bodu (hodnocení VÚRV) a 67 % podle testů ÚKZÚZ. V případě výskytu déle trvajících holomrazů jako v letech 2002-03 nebo 2011-12 bude docházet k významnému vymrzání zhruba 40 až 50 % doporučených odrůd. V případě odrůd pěstovaných v ČR na základě evropského katalogu je odhad ještě méně příznivý. Obvykle jsou pěstovány odrůdy původem z Francie a Německa, které mají většinou nižší úroveň mrazuvzdornosti. Vylepšení stávající situace pomocí

účinnějších způsobů identifikace mrazuvzdorných odrůd pšenice zřejmě pomůže zabránit významným ekonomickým ztrátám.

6. Seznam použité související literatury

Bradski, G. (2000). The openCV library. Dr. Dobb's Journal: Software Tools for the Professional Programmer, 25(11), 120-123.

Horáková, V, Dvořáčková O. Seznam doporučených odrůd 2021, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, POINT CZ 2021, ISBN 978-80-7401-201-3.

Horčíčka, P.; Čapek, J.; Kocourková, Z; Bížová, I.; Veškna, O.; Bláha, T; Skala, R.; Sedláček, T.: 2012 Pěstební doporučení k odrůdám ozimé pšenice, Selgen, a.s. a Výzkumné centrum SELTON, s.r.o., ISBN: 978-80-87111-31-4, Kurent.

Nakhforoosh, A., Bodewein, T., Fiorani, F., & Bodner, G. (2016). Identification of water use strategies at early growth stages in durum wheat from shoot phenotyping and physiological measurements. *Frontiers in plant science*, 7, 1155.

Prášilová, P.; Prášil, I.T. 2008: Hodnocení mrazuvzdornosti obilnin pomocí mrazového testu a letální teploty, METODIKA PRO PRAXI Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.; ISBN 978-80-87011-87-4.

Vítámvás P, Kosová K, Musilová J, Holková L, Mařík P, Smutná P, Klíma M, Prášil I. Relationship Between Dehydrin Accumulation and Winter Survival in Winter Wheat and Barley Grown in the Field. *Front Plant Sci*. 2019 Jan 29;10:7. doi: 10.3389/fpls.2019.00007. PMID: 30761163; PMCID: PMC6361858.

Sun, D., Robbins, K., Morales, N., Shu, Q., & Cen, H. (2021). Advances in optical phenotyping of cereal crops. *Trends in Plant Science*.

7. Seznam publikací, které předcházely metodice

Prášilová, P.; Prášil, I.T. 2008: Hodnocení mrazuvzdornosti obilnin pomocí mrazového testu a letální teploty, METODIKA PRO PRAXI Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.; ISBN : 978-80-87011-87-4

Mařík, P.; Prášil, I. T.; Prášilová, P.; Horčíčka, P. 2012: Metodika polně-laboratorního testu mrazuvzdornosti adaptovaná pro potřeby odrůdového zkušebnictví s použitím mrazicích pultů Elcold EL 51 LT; © Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, ISBN 978-80-7427-112-0

Horčíčka, P.; Čapek, J.; Kocourková, Z; Bížová, I.; Veškrna, O.; Bláha, T; Skala, R.; Sedláček, T. 2012: Pěstební doporučení k odrůdám ozimé pšenice, Selgen, a.s. a Výzkumné centrum SELTON, s.r.o., ISBN: 978-80-87111-31-4, Kurent

Jan F. Humplík, Petr Kuczman, Michal Polák, Ondřej Veškrna, Lukáš Spíchal: 2019

Low cost image-based method for screening of freeze-tolerant genotypes of wheat.

8. Jména oponentů a názvy jejich organizací

Ing. Vladimíra Horáková

ÚKZÚZ oddělení odrůdového zkušebnictví – testování pšenice

Ing. Tomáš Nováček

Limagrain Central Europe Cereals, s.r.o.

9. Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu NAZV na rozvoj výzkumné organizace č **QK1910041** s názvem: **Využití zobrazovacích metod pro automatické fenotypování ve šlechtění na rezistenci k biotickým a abiotickým stresům u pšenice**