

ЦИФРОВЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ ПРИ ФЕНОТИПИРОВАНИИ ВИНОГРАДА

Горбунов И.В., канд. биол. наук

Анапская зональная опытная станция виноградарства и виноделия – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (Анапа)

Реферат. В статье представлены различные новейшие цифровые и компьютерные технологии, облегчающие процесс фенотипирования растений, в частности винограда. Показано, как в ампелографии интенсивно используются методы визуального и высокопроизводительного фенотипирования.

Ключевые слова: виноград, цифровые инструменты, фенотипирование, компьютерные программы, морфология, ампелография

Summary. The article presents the different latest digital and computer technologies that facilitate the process of phenotyping of plants, in particular, grapes. It is shown how the methods of visual and high-performance phenotyping are intensively used in ampelography.

Key words: grapes, digital instruments, phenotyping, software, morphology, ampelography

Введение. На сегодняшний день у исследователей имеется большой комплекс вспомогательных цифровых инструментов при фенотипировании растений: электронные микроскопы, цифровые камеры, компьютеры и сканеры, мощные программные продукты, а также робототехника. Но графические методы анализа – это сложное дело, которое требует определённых навыков и при подаче визуальной информации. При этом важно, чтобы сочетались огромные вычислительные ресурсы современных компьютеров с творческим и гибким человеческим мышлением.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являются растения, в частности виноград. Обсуждаются различные цифровые методы по фенотипированию растений.

Обсуждение результатов. Так называемый, визуальный анализ данных призван вовлечь человека в процесс поиска знаний в данных. Суть его заключается в том, чтобы представить большие объёмы данных в такой форме, в которой человек смог бы увидеть то, что трудно выделить алгоритмически. Из-за сложности информации - это не всегда возможно в простейших графических видах представления знаний, таких как деревья решений, дейтаграммы, двумерные графики и т.п. В связи с этим возникает необходимость в более сложных средствах отображения информации и результатов анализа. С помощью новых технологий исследователь способен оценивать большие объекты и маленькие, далеко они находятся или близко. Пользователь в реальном времени может двигаться вокруг объектов или кластеров объектов и рассматривать их со всех сторон.

В последнее время интенсивно используется в селекционном процессе визуальное фенотипирование, которое включает в себя работу приборами, что, по сути, в основном автоматический процесс. Под визуальным понимается производимый невооруженным глазом или с помощью оптических приборов анализ или направленное наблюдение за объектом (в отличие от фотографирования или фотоэлектрических наблюдений).

Растения движутся по ленте в камеру с нормальным светом, одновременно на растения со всех сторон воздействуют инфракрасным светом. Если комбинировать с приёмами для анализа изображения, то можно изучать на такой установке, например, до 100000 растений риса в год, и при этом учитывать урожайность, число зёрен и их размер, фотосинтетическую активность, биомассу листьев и корней, а также ряд других признаков. Примером инновационного подхода к анализу опущения листа могут служить разработки на основе высокопроизводительного фенотипирования.

Для определения морфологических характеристик опущения листьев пшеницы разработана инновационная технология высокопроизводительного фенотипирования. Она основана на анализе цифровых изображений сгиба листа, полученных при помощи микроскопа. Разработаны алгоритм и компьютерная программа LHDetect [1], которая по цифровому изображению позволяет оценить число трихом и их распределение по длине. Время обработки одного образца при помощи инновационной технологии занимает около 1 мин. Это позволяет проводить массовое фенотипирование растений. Алгоритм оценки степени обижённости может обрабатывать цветные изображения листа.

Иным инновационным подходом к анализу роста и развития растений является платформа Phenotiki для изображения растений и визуального фенотипирования. С помощью визуального сканирования обрабатывается визуальный профиль растения и подаётся на дальнейшую обработку. Это доступная и простая в использовании система для сбора и анализа цифровых изображений, ориентированных на оценку роста растений. Визуальное фенотипирование или современные методы высокопроизводительного фенотипирования позволяют получать более быстрое точное описание морфологических признаков, чем ранее используемые методы.

Высокопроизводительное фенотипирование успешно применяется в процессе анализа опущения растений картофеля при подсчёте количества трихом, набора поверхностных образований на листе, определяющих степень опущения [2]. Плотность и степень опущения является селекционным признаком, который используется для предсказания устойчивости генотипов картофеля к насекомым.

На сегодняшний день сделаны интересные работы по биометрической оценке полиморфизма сортогрупп винограда на основе АСК-анализа [3]. Все это позволяет ставить и решать на практике ряд важных задач ампелографии:

- оцифровка сканированных изображений листьев и создание их математических моделей;
- формирование математических моделей конкретных листьев с применением теории информации;
- формирование моделей обобщённых образов листьев различных сортов;
- сравнение образа конкретного листа с обобщённым образом листа разных сортов и определение количественной степени сходства-различия между ними, то есть идентификация сорта по листу;
- количественное определение сходства-различия сортов, то есть кластерно-конструктивный анализ обобщённых образов листьев различных сортов.

В результате оцифровки и АСК-анализа изображений получается иконография листа растений винограда без зашумления, т.е. получение информации об истинной форме листа данного сорта (чистый сигнал) без шума, искажающего эту истинную форму и обусловленного случайным воздействием окружающей среды.

Анализ формы и размеров листа по изображению можно оценивать полуавтоматически, с использованием ImageJ [4]. Так, с помощью скриптов пакета ImageJ в работе Читвуда и соавторов [5] было проанализировано более 1200 генотипов винограда, произрастающих в разных условиях, с целью установить влияние генетических факторов, терруара (уникальных свойств климата, почв) на формирование морфологии листа.

На основе геномных ассоциаций выявлены геномные вариации, влияющие на форму и размер листа винограда. Для анализа листьев разрабатываются и специальные программные пакеты. Например, программа LAMINA, на основе изображения сорванного листа на светлом фоне, позволяет оценить его длину, ширину, площадь, округлость, симметричность и т.п. [6]. Аналогичные задачи позволяют решить программы LEAFPROCESSOR и LeafJ. В работе Ванга и соавторов [7] данные о форме листа (его контур) извлекаются на основе фотографий, сделанных в полевых условиях на природном фоне.

Для определения расположения и ориентации листа на стебле, определения признаков, меняющихся в процессе суточного ритма, исследования циркадных ритмов растения применяют технологии лазерного сканирования [8] и цифровые стереокамеры, позволяющие получать 3D-модель растения [9].

Важная задача при фенотипировании листа – выявление сегментов листовой пластинки, повреждённых различными заболеваниями или вредителями. В случае слаборазличимых человеческим глазом заболеваний используются мультиспектральные сенсоры. Мультиспектральные методы основаны на разнице поглощённого и отражённого листовой пластинкой света в определённом интервале длин волн для поражённых и здоровых участков листа. Отдельные виды поражений листа, особенно на ранних стадиях заболевания, не поддаются визуальному определению. В этом случае может оказаться оправданным использование тепловизоров или термальных датчиков.

Для фенотипирования плодов развиваются методы автоматизированного анализа изображений, полученных с помощью сенсоров. Например, метод реконструкции виноградных гроздей на основе данных лазерного дальномера [10] позволяет воссоздавать 3D-модель грозди с точностью до 0.025 мм. После воссоздания 3D-модели она может быть проанализирована для получения необходимых данных о фенотипических признаках плодов винограда.

Для снятия цифровой информации листьев винограда может использоваться разработка фирмы SIAMS, в частности анализатор SIAMS MesoPlant [11]. Он имеет модульную структуру и состоит из цифровой фотолаборатории SIAMS Photolab (инструментальная платформа) и набора готовых решений [12]. В данном случае используется решение «Параметры листьев растений». Так, при распознавании интересующего генотипа сканируются листья, изображения вносятся в ПК, затем автоматически измеряются их линейные и угловые параметры (площадь и периметр листа, длина черешка, длина и ширина листовой пластинки, углы альфа, бета, гамма и другие признаки).

Полученные данные записываются в электронную таблицу (например, Microsoft Excel или Openoffice Calc), обрабатываются биометрическими методами анализа и сопоставляются с ранее введенными в ПК данными эталонов.

Система контроля культивирования винограда (Viticulture Service-Oriented Framework или сокращенно VSOF) осуществляет сбор информации по характеристикам растений винограда в полевых условиях с использованием карманных компьютеров, а затем синхронизирует данные в общей базе [13]. Система хранения и сбора фенотипической информации в полевых условиях через мобильные устройства представлена в работе Кёл с соавторами [14]. Эти работы демонстрируют успешное использование информационных технологий (баз данных и систем распределённого сбора информации) для решения таких комплексных задач, как контроль проведения селекционных и генетических экспериментов в полевых условиях.

Заключение. Использование компьютерных технологий позволяет сократить рутинные операции по получению, обработке и представлению данных, повысить точность и существенно повысить скорость данных, сделать анализ и представление данных более эффективными. Постановку любой задачи в рамках селекции и семеноводства, как и вообще любой научной задачи, можно представить как передачу информации между исследователем и исследуемым объектом, с одной стороны, и сообществом исследователей (обществом) с другой стороны.

Компьютер способен обрабатывать только данные, представленные в виде чисел. Поэтому первой задачей, которую должен решить экспериментатор, желающий применить в своей работе компьютерную технику, визуальный анализ и инновационные технологии, станет выбор способа представления измеряемого параметра в численной форме. К счастью, большая часть таких способов уже реализована, и доступны периферийные устройства для перевода данных в числовую форму.

Литература

1. Website http://siams.com/products/photolab/siams_photolab.htm.
2. Дорошков А. В., Генаев М. А., Афонников Д. А. Протокол анализа количественных характеристик опушения листа картофеля // *Zhurnal Genetiki i Seleksii Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016. Т.20. №. 6. С. 863-868.
3. Луценко Е.В., Бандык Д.К., Трошин Л.П. Решение задач ампелографии с применением АСК-анализа изображений листьев по их внешним контурам (обобщение, абстрагирование, классификация и идентификация) // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]*. Краснодар: КубГАУ, 2015. №08(112). С. 862-910
4. Abramoff M.D., Magalhaes P.J., Ram S.J. Image processing with ImageJ // *Biophotonics Internat*. 2004. V. 11. № 7. P. 36-42.
5. Chitwood D.H., Ranjan A., Martinez C.C. et al. A modern ampelography: a genetic basis for leaf shape and venation patterning in grape // *Plant Physiol*. 2014. V. 164. № 1. P. 259–272.
6. Bylesjo M., Segura V., Soolanayakanahally R.Y. et al. LAMINA: a tool for rapid quantification of leaf size and shape parameters // *BMC Plant Biol*. 2008. V. 8. № 1. P. 82.
7. Wang J., He J., Han Y. et al. An Adaptive Thresholding algorithm of field leaf image // *Computers and Electronics in Agriculture*. 2013. V. 96. P. 23–39.
8. Dornbusch T., Lorrain S., Kuznetsov D. et al. Measuring the diurnal pattern of leaf hyponasty and growth in Arabidopsis—a novel phenotyping approach using laser scanning // *Functional Plant Biol*. 2012. V. 39. №11. P. 860–869.
9. Chene Y., Rousseau D., Lucidarme P. et al. On the use of depth camera for 3D phenotyping of entire plants // *Computers and Electronics in Agriculture*. 2012. V. 82. P. 122–127.
10. Scholer F., Steinhage V. Automated 3D reconstruction of grape cluster architecture from sensor data for efficient phenotyping // *Computers and Electronics in Agriculture*. 2015. V. 114. P. 163–177.
11. Website http://siams.com/products/mesoplant/siams_mesoplant.htm.
12. Website <http://wheatdb.org/lhdetect>
13. Vankadavath R.N., Hussain A.J., Bodanapu R. et al. Computer aided data acquisition tool for highthroughput phenotyping of plant populations // *Plant Methods*. 2009. V. 5. № 1. P. 18.
14. Kohl K., Gremmels J. A software tool for the input and management of phenotypic data using personal digital assistants and other mobile devices // *Plant Methods*. 2015. V. 11. № 1. P. 13.