

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.04.026

基于腐蚀生长算法的不同活力玉米种子根系表型研究

卢伟^{1,2} 李也^{1,2} 王玲^{1,2} 罗慧^{1,2} 孙国祥^{1,2} 汪小岳^{1,2}
(1. 南京农业大学工学院, 南京 210031; 2. 江苏省现代设施农业技术与装备工程实验室, 南京 210031)

摘要: 针对图像法根系表型检测中因土壤遮挡而导致根系图像断裂的问题,提出一种基于腐蚀生长算法的玉米根系修复方法,并进行了不同活力玉米种子早期根系表型研究。首先,采用长方形扁平结构透明培养容器种植玉米,迫使其根系贴壁生长,可得到清晰的玉米根系图;通过偏振镜和单反相机采集图像,并采用灰度化、二值化、水漫算法等对图像进行预处理,可有效去除因设备反光和土壤色差造成的各类噪声。其次,基于玉米根系的向水性、向地性、连续性等生理特性,提出5条图像修补规则,即端点判定规则、分叉点判定规则、内部连续性规则、片段生长规则、近邻生长规则,在以上规则约束下,通过细化图像得到单像素连接的根系骨干,以各个根段的末端点为起点向中心腐蚀,并为属于不同根段的点集标记不同编号,根据不同根段间的端点导数值和平均导数值等参数,连接根段,实现根系的修补,从而得到完整根系图像。最后,基于所提图像修复算法对不同活力的玉米种子根系图像进行表型研究,发现在相同时间,根系数目、根系宽度、根系长度、根系延展长度与玉米种子活力均呈现明显负相关;以上4个生理参数的增速与种子活力呈现明显正相关。研究表明,本文所提的根系修复算法可用于作物根系高通量表型无损检测。

关键词: 玉米种子; 根系表型; 种子活力; 腐蚀生长算法; 图像修复

中图分类号: S513 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2020)04-0224-08 OSID: 

Root Phenotypic Detection of Different Vigorous Maize Seeds
Based on Corrosion Growth Algorithm of Image

LU Wei^{1,2} LI Ye^{1,2} WANG Ling^{1,2} LUO Hui^{1,2} SUN Guoxiang^{1,2} WANG Xiaochan^{1,2}

(1. College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210031, China
2. Engineering Laboratory of Modern Facility Agriculture Technology and Equipment in Jiangsu Province, Nanjing 210031, China)

Abstract: The root phenotypes of different vigorous maize seeds vary a lot, and imaging roots of growing maize is a non-invasive, affordable and high throughput way to detect it. However, due to the block of soil, acquiring a complete image is difficult. An algorithm was proposed to repair incomplete root images and based on it, root fast non-invasive phenotyping detection can be realized. Firstly, a cuboid transparent container without cover was developed as mesocosms and the maize seeds were planted in it. The maize roots grew in soil against two acrylic plastic surfaces due to the press of the small growing area to acquire more root details during roots visualization and imaging. Even though, parts of the roots were occluded by the soil which meant that it was tough to extract the information of root general physical construction. For recovering gaps from disconnected root segments, corrosion growth algorithm was proposed based on the physiological characteristics of hydrotropism, geotropic and continuity with three steps which were root image thinning, corrosion and growing processing, respectively. The experiments indicated that maize phenotyping parameters were negatively correlated with seed aging days. And specifically, root number, root length, root width and root extension length of unaged and 14-day-aged maize seeds were decreased from 14.80, 83.50 mm, 1.53 mm and 82.70 mm to 4.38, 36.90 mm, 1.38 mm and 54.6 mm, and the growing speed of them were changed from 1.68 per day, 8.80 mm/d,

收稿日期: 2019-08-25 修回日期: 2019-09-11
基金项目: 国家自然科学基金项目(11604154)、江苏省自然科学基金面上项目(BK20181315、BK20170727)、江苏省农机三新工程项目(SZ120170036)、Asia Hub 南京农业大学-密歇根州立大学联合研究项目(2017-AH-11)和扬州市重点研发计划(现代农业)项目(YZ2018038)
作者简介: 卢伟(1978—),男,副教授,博士,主要从事机器人传感与控制技术和无损检测技术研究,E-mail: njajrobot@njau.edu.cn

0.06 mm/d, 9.0 mm/d to 0.70 per day, 4.3 mm/d, 0.05 mm/d and 5.70 mm/d, respectively. Whereas root extension angle is basically irrelevant with the level of maize seed aging. The developed cuboid transparent container without cover can push each root growing along the wall of the container which helped to acquire more root information. The presented novel corrosion growth algorithm can recover the missing parts, even for big gaps, of maize roots effectively according to root morphological properties. The experiments showed that the proposed method can be applied to evaluate the vigor of maize seeds which had vast application prospect in high throughput root phenotyping area.

Key words: maize seed; root phenotype; seed vigor; corrosion growth algorithm; image repairing

0 引言

根系是植物吸收水分、养分和矿物质的重要器官^[1],根系形态研究是植物营养、生理、育种和生态学的重要内容^[2]。作为世界上产量最多的农作物,玉米既可作为食物,也可作为饲料。玉米的根系是植物的载体,对其环境适应能力如抗水性、抗逆性等特性有很大影响,因此研究玉米的根系构型非常重要。而不同活力的种子的根系在形态学上差异较大,因此,可利用根系表型参数,如根系数目(RTN)、根系长度(RTL)、根系宽度(RTW)、根系延展长度(REL)、根系弯折角(REA)等评价种子活力。

为直观观察根系性状,研究者早期采用发芽纸培养技术,该方法最初用于筛选大豆^[3]、玉米^[4]、小麦^[5]、油菜^[6]、珍珠粟^[7]等,并采用计算机视觉技术辅助分析,可得到清晰的根系图像,但根只能在培养纸^[8]的表面生长,不能展现出其三维空间结构。为得到根系的3D构型,水培^[9]和雾培^[10]的方法应运而生,采用这两种方法,植物根系从二维平面向三维空间延伸,但根系受重力影响下垂严重,与土壤中的根系形态存在较大差异。此后,凝胶基质投入使用,透明的凝胶基质可起到支撑植物根系的作用,且易于观察内部根系构型,但其成分和特性与土壤差异较大,且没有微生物等,因此难以还原根系的生长环境^[11]。上述方法能够控制培养基的同质性,将观察到的根系性状的固有易变性降到最低,也能够得到清晰的根系图像,因此利用计算机视觉技术提取植物根系特征是可行的,只是该类方法中植物生长环境与实际土壤环境差异较大。

为获取根系在土壤中的构型和生长情况,最直接的检测方法有土壤核^[12]和土壤柱等方法,结合机器视觉^[14]、光谱成像^[15]、激光扫描成像等技术^[16],可提供精确的根系细节,但其工作量大,检测时间长,且为有损检测。为实现土壤中根系的无损检测,根管法^[13]和Minirhizotron微根窗技术^[23]及其改进方法^[24]可对土壤中植物根系某一点生长过程进行连续观察^[25],在森林^[26]、果园^[27]、农业生态系统^[28]等领域有较广泛的应用^[29],该方法可实时检测根系

生长状态,但检测耗时长,且会打破根系与土壤间的平衡,导致根系大量繁殖,违背植物根系正常发育生长规律,不适于作物根系表型的高通量无损检测^[30]。

为实现根系的原位无损成像^[17],在医学领域中广泛应用的X射线计算机断层扫描技术^[18]和核磁共振技术^[19]被引入根系表型检测中,该类方法可获得清晰、完整的根系立体图像^[20],但其具有放射性,重复测量会对植物根系造成一定伤害^[21],且设备价格昂贵,无法大规模推广使用^[22]。

为实现土壤中根系的高通量无损检测,研究者利用透明容器获取土壤外侧植物根系图像,并采用计算机视觉技术进行土壤表面根系的高通量表型检测^[31],但由于根系的向水性、向地性和趋暗性,会造成土壤表层根系的断裂和不完整。针对此问题,CHEN^[33]利用神经网络进行根系断裂处的修复研究,通过人工绘制大量的植物完整根系和断裂根系,作为训练集,采用深度神经网络进行土壤表面根系断裂处的修复,验证了深度神经网络进行根系断裂处修复的可行性。但人工绘制的测试集和训练集过于理想化,难以充分还原植物根系的真实情况,且该算法目前只能用于较小根系断裂间隙的修复,因此具有一定局限性。

为克服已有方法的不足,获取土壤中尽可能多的根系表型信息,本文采用薄长方体透明容器作为植物胁迫生长装置,针对玉米根系的向水性、向地性、连续性等生理特性,提出一种新的玉米根系图像修复算法,即腐蚀生长算法,并通过对玉米早期根系表型的检测来验证算法的有效性。

1 实验预处理

1.1 植物培养

基于植物根系的向水性、向地性、趋暗性等开发长方体透明胁迫生长装置,该装置尺寸为100 mm × 20 mm × 150 mm,顶部无盖,底部有8个均匀分布的直径为3 mm的通孔,用于漏水。在容器内加入黑色土壤(有机质质量比478 mg/kg, N、P、K质量比6.75 mg/kg, 益生菌质量比90 μg/kg, 微量元素质量

比 $1.7\text{ }\mu\text{g/kg}$, 腐殖酸质量比 $130\text{ }\mu\text{g/kg}$, pH 值 $6.5\sim 6.8$), 在其中种植黑糯一号(河南上都种子公司)玉米种子, 如图 1 所示。实验在南京农业大学工学院 ($32^{\circ}18'N$, $118^{\circ}46'E$) 完成。



图 1 设备图像
Fig. 1 Equipment pictures

1.2 图像获取

为最大限度消除反光影响, 获取清晰的图像, 采用佳能 D600 型数码单反相机 ($18\sim 135\text{ mm}$ 中焦镜头, 佳能公司): 相机设置为微距模式, 快门速度 $1/3\text{ s}$, 光圈为 5 mm , 传感器灵敏度为 800 ISO 。

将偏振镜沿光轴放置, 通过调整偏振角和两组偏振片之间的距离消除反光。镜头中心、偏振镜中心和根系培养装置位于同一水平线上, 相机的焦点定焦于植物根系, 如图 2 所示。

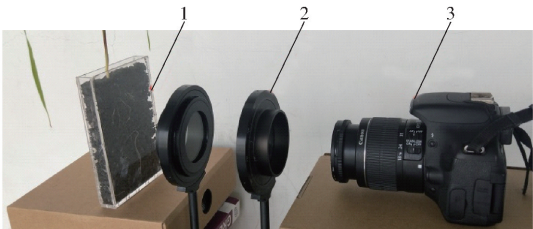


图 2 图像采集
Fig. 2 Image capture
1. 培养皿 2. 偏振镜 3. 相机

1.3 实验步骤

实验分为 4 个步骤:

(1) 种子老化。将筛选的种子破休眠处理后分为 8 份, 进行人工老化实验, 将每组样品放置在玻璃托盘中, 然后放入 RXZ 型(多段编程)智能人工气候箱(宁波江南仪器厂制造), 在温度为 45° , 相对湿度 90% 的条件下, 依次老化 $0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14\text{ d}$, 按时从智能气候箱中取出, 老化后的种子处理后分类备用。

(2) 种子消毒。本实验采用黑糯一号玉米种子, 其发芽率在 85% 以上。将种子先后浸泡在体积分数为 70% 的乙醇溶液中 30 s 和 5% 次氯酸钠溶液中 10 min , 再转入培养皿。

(3) 种子培养。每个设备种植 2 粒种子, 每 5 d

浇水 5 mL 。在培养皿周围包裹黑色塑料薄膜, 模拟根系的生长环境, 避免光照影响根系构型。

(4) 根系图像获取。每天 $09:00$ 和 $16:00$ 采集根系图像, 检测根系发育情况。

2 根系图像修补

2.1 图像预处理

导入图像序列, 并采用灰度化、二值化、中值滤波、高斯滤波、水漫算法等消除因反光和根系与土壤色差等因素造成的图像噪声。

2.2 图像腐蚀

首先根据玉米根系的生理特性提出 2 条规则:

(1) 端点判定规则。一个端点有且仅有一条所属根。设图像区域为 Ω , P 为其中一点, 在以 P 点为中心的 区域 D 中, 若周围存在不超过 2 个相连的点, 则该点为端点, 其数学表达式为

$$e_p = \begin{cases} \text{Ture} & (n = 1) \\ \text{Ture} & (n = 2 \text{ 且 } Q \text{ 中两点相邻}, Q \in m) \\ \text{False} & (\text{其他}) \end{cases}$$

(1)

式中 n —— m 中点的个数 e_p ——端点
 m ——区域 D 中除 P 点以外的 8 个点

(2) 分叉点判定规则。根系的分叉点与多条根连接。设图像区域为 Ω , P 为其中一点, 在以 P 点为中心的 区域 D 中, 若周围存在多个不相连的点, 则该点为分叉点, 其数学表达式为

$$b_p = \begin{cases} \text{Ture} & (n > 1 \text{ 且 } Q \text{ 中两点相邻}) \\ \text{False} & (\text{其他}) \end{cases}$$

(2)

式中 b_p ——分叉点

基于以上 2 条规则提出腐蚀算法, 步骤如下:

(1) 图像细化

根据 ZHANG-SUEN 细化算法^[34]提取根系主干, 其基本规则如下: ①循环所有前景像素, 见图 3, 对符合如下条件的像素 P_1 标记为删除。

$$\begin{cases} 2 \leq N(P_1) \leq 6 \\ S(P_1) = 1 \\ P_2 P_4 P_6 = 0 \\ P_4 P_6 P_8 = 0 \end{cases}$$

(3)

式中 $N(P_1)$ ——与 P_1 相邻的 8 个像素点中, 前景像素数量

P_9	P_2	P_3
P_8	P_1	P_4
P_7	P_6	P_5

图 3 前景像素图

Fig. 3 Foreground pixel image

$S(P_1)$ —— $P_2 \sim P_9 \sim P_2$ 中出现 0、1 的累计次数,其中 0 和 1 分别表示背景和前景

②满足如下条件的像素 P_1 被标记。

$$\begin{cases} 2 \leq N(P_1) \leq 6 \\ S(P_1) = 1 \\ P_2 P_4 P_8 = 0 \\ P_2 P_6 P_8 = 0 \end{cases} \quad (4)$$

循环上述 2 个步骤,输出结果即为二值图像细化后的骨架。

(2) 端点提取

利用端点判定规则得到细化后图像的端点点集 M ,并为 M 中的元素 $M[i]$ 编号,将元素 $M[i]$ 存入队列 m_1 ,其序号存入队列 b ,见图 4。对于每条直线来说,有且仅有 2 个端点,经过后续处理后,每条线上的点集编号将相同。

(5,10)	(6,2)	(5,8)	(2,1)	(5,1)	(3,4)
1	2	3	4	5	6

图 4 存储队列示例

Fig. 4 Memory queue

(3) 图像映射

创建一个与细化图像大小相同的空图像 c ,然后将 b 中的元素保存在对应的坐标 c 中,即 c 中元素的坐标等于 m_1 的值。

$$c[a[i]] = b[\text{index}(m_1[i])] \quad (5)$$

式中 index ——求取队列索引值的函数

$a[i]$ ——图像 c 中对应的坐标

(4) 图像腐蚀

腐蚀算法分为 4 个步骤,循环以下 4 个步骤直到队列 m_1 为空:①队列 m_1 中弹出一个点 P ,将细化图像上该点的值设为 0,即 $\text{ppop}(P) = 0$,其中 ppop 为像素归零函数。②判断 c 上 P 点周围 8 个像素点(定义为点 q)中是否有点 q 已经被赋值,若被赋值,则 q 点编号更新为 P 点编号,即 $\text{Number}(q) = \text{Number}(P)$,其中 Number 为编号求取函数。③判断 P 点是否是端点,若为端点,则必有一点 P_1 与其相连,令 c 上 P_1 对应位置的值为 P 点编号,将 P_1 压入队列 m_1 。④若 P 点为分叉点,则 P 周围存在点集,将该点集内部的所有点压入 m_1 中并将编号存入 b 中,且 c 上对应位置应赋值为相应编号。

2.3 图像生长算法

经过腐蚀算法处理后,属于不同根系片段的点集具有相同的序号。若将根系片段间的间隙理解为残缺部分,则修复间隙可以形象地描述为间隙的“生长”过程,为使根系片段正确生长,提出 3 条

规则:

(1)内部连续性规则。在数字化处理的过程中,根系片段被分解为离散化的点,但玉米根系的生长具有连续性。因此可采用最小二乘法对根系片段进行拟合,拟合函数为

$$f(x) = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \cdots + a_kx^k \quad (6)$$

损失值 l 为

$$l = \sum_{i=1}^n [y_i - (a_0 + a_1x + a_2x^2 + \cdots + a_kx^k)]^2 \quad (7)$$

为求得符合条件的 a 值,对等式右边求 a_i 的偏导数,得到矩阵

$$\begin{bmatrix} n & \sum_{i=1}^n x_i & \cdots & \sum_{i=1}^n x_i^k \\ \sum_{i=1}^n x_i & \sum_{i=1}^n x_i^2 & \cdots & \sum_{i=1}^n x_i^{k+1} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \sum_{i=1}^n x_i^k & \sum_{i=1}^n x_i^{k+1} & \cdots & \sum_{i=1}^n x_i^{2k} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^n y_i \\ \sum_{i=1}^n x_i y_i \\ \vdots \\ \sum_{i=1}^n x_i^k y_i \end{bmatrix} \quad (8)$$

将矩阵化简得

$$\begin{bmatrix} 1 & x_1 & \cdots & x_1^k \\ 1 & x_2 & \cdots & x_2^k \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & x_n & \cdots & x_n^k \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} \quad (9)$$

令

$$X = \begin{bmatrix} 1 & x_1 & \cdots & x_1^k \\ 1 & x_2 & \cdots & x_2^k \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & x_n & \cdots & x_n^k \end{bmatrix} \quad A = \begin{bmatrix} a_0 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_k \end{bmatrix} \quad Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}$$

可得系数矩阵 $A = (X^T X)^{-1} X^T Y$ 及其拟合曲线。

(2)片段生长规则。因植物根系生长的连续性,在一定长度内,由根系片段拟合而成的曲线其导数差值非常接近,因此同一根段的端点导数仅在较小的范围内变化。

(3)近邻生长规则。在以上 2 条规则的约束下,生长行为总是发生在最近的 2 个根段之间。

根系图像生长算法的具体步骤如下:①依据最小二乘法分别求出每个根段 2 个端点的导数值和该根段平均导数值,作为根段间生长的依据。②若根段间满足下列条件,则可正确生长:两根段平均导数差在某范围 $[d_1, d_2]$ 之内;拟连接的两根段端点的导数差值不大于设定值 d_3 ;根据式(7)计算的两段损失值不超过某值 d_4 ;根据根系的发散特性,一个根段只能作为一个根段的生长起点但可作为多个根段

的生长终点。③在满足步骤②的条件下,采用二次多项式插值和五次函数拟合的方式完成根段间的生长。

腐蚀生长算法的流程如图 5 所示。

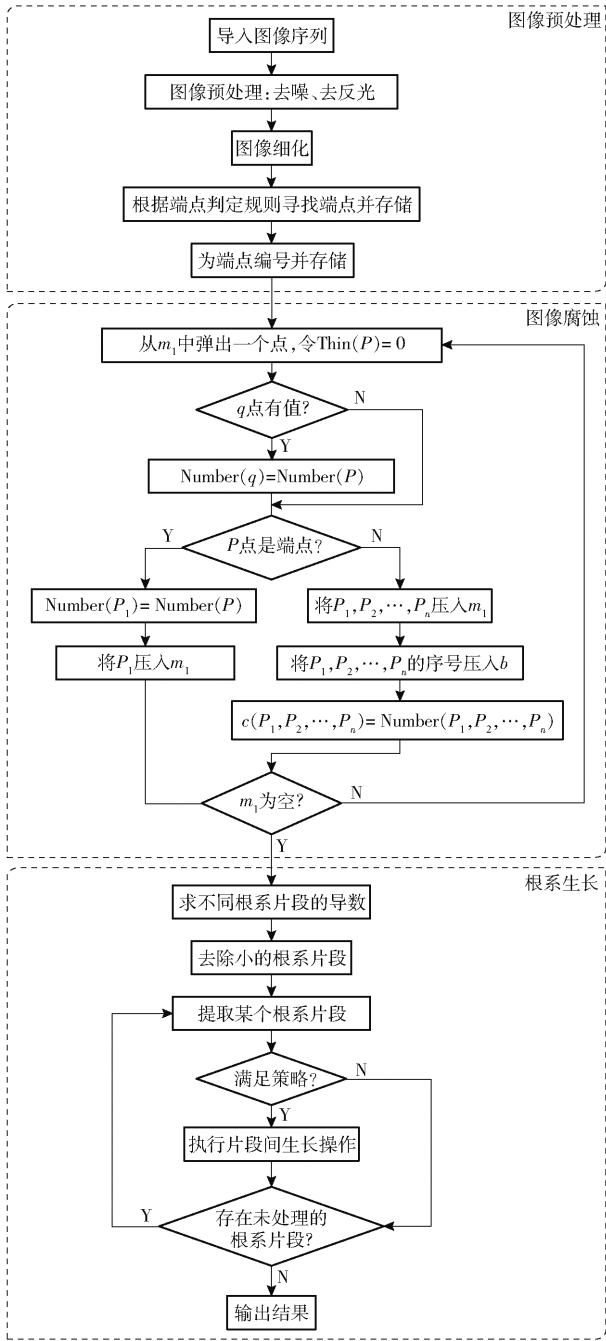


图 5 腐蚀生长算法流程图

Fig. 5 Flow chart of corrosion growth algorithm

3 根系腐蚀生长结果

如图 6a 所示,经去噪、灰度化和水漫算法处理的图像中有很多明显的断裂层,且不同根段的长度、宽度等差异明显。经二值化处理后,可获得土壤与根系之间的界限,如图 6b 所示。为分析根段的特性,利用细化算法得到根系主干图,根段被抽象为单像素的点,如图 6c 所示。在图 6d 中,提取根系的所

有端点作为腐蚀算法的起点。经腐蚀处理后,不同根段的点集具有唯一编号,且颜色相同,如图 6e 所示。最后,基于根系生长规则修复断根,可得到完整的根系图像,如图 6f 所示。

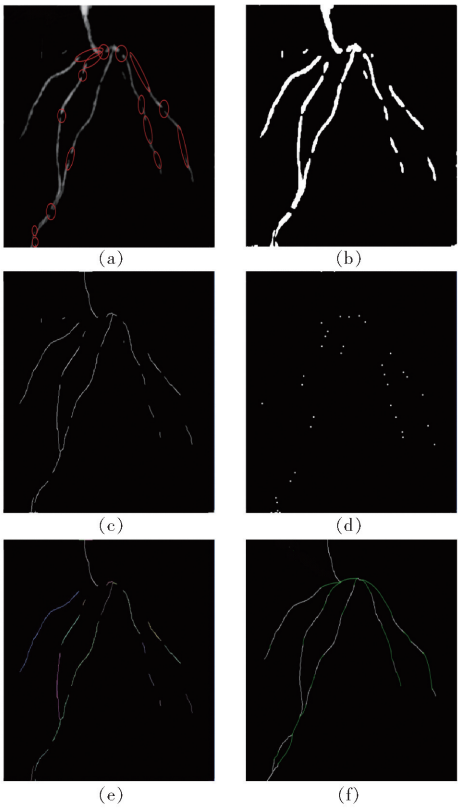


图 6 腐蚀生长算法结果

Fig. 6 Diagram of corrosion growth algorithm result

种子早期根系生长状况是评价种子活力的一种有效方法。本文以根系数目 (RTN)、根系长度 (RTL)、根系宽度 (RTW)、根系延展长度 (REL)、根系弯折角 (REA) 5 个生理参数作为评价种子活力指标的基本参数,并通过比例尺计算以上生理参数;利用设备的实际边框长度 (人工测定) 和图上对应像素的个数得出比例尺:1 (像素):0.225 (mm)。各参数计算方法如下:

(1)根系数目 (RTN)。本文所提出的腐蚀生长算法将同一条根上的像素赋予同一编号,而属于不同根的像素编号不同,因此序号数目即为 RTN,计算公式为

$$N_{RT} = \text{sum}(I) \tag{10}$$

式中 N_{RT} ——根系数目
 $\text{sum}()$ ——返回数组中根系数目的函数
 I ——用于存储编号的数组

(2)根系长度 (RTL)。经本文算法处理后的图像为单像素连接的根系骨架图像,基于该图像可得到构成根系骨架的像素点数目,经比例尺换算得到 RTL,计算公式为

$$L_{RT} = R_{\text{pixel_sum}}(P) \tag{11}$$

式中 pixel_sum()——返回图像中非黑色像素个数的函数

P ——传入图像

R ——比例尺,像素/mm

(3)根系宽度(RTW)。基于根系的骨架图像,在原图直接转化得到的二值图像中的每条根上随机取 3 个部位,计算其宽度方向上的像素点平均值,并换算为该根系的宽度。再计算所有根系宽度的平均值得到 RTW,计算公式为

$$W_{RT} = \text{avg} \left(\sum_{i=1}^n \left(\text{avg} \left(\sum_{j=1}^3 w[j] \right) R \right) \right) \tag{12}$$

式中 W_{RT} ——根系宽度

avg()——平均值函数

w ——根上随机某部分的宽度,mm

(4)根系延展长度(REL)。即根系系统的宽度,找到骨架图像上最左侧的像素和最右侧的像素,计算其横向距离并换算,即可得到 REL,计算公式为

$$L_{RE} = \text{length}(p_1, p_2) R \tag{13}$$

式中 L_{RE} ——根系延展长度

length()——求两个像素点之间的水平像素点个数的函数

p_1 ——图像最左侧像素点

p_2 ——图像最右侧像素点

(5)根系弯折角(REA)。即根系分叉点分叉角度的平均值。本文提出的腐蚀生长算法将每条根系拟合成五次函数,通过计算 2 个拟合函数在分叉点的切线夹角得到一个分叉点的弯折角,再计算所有分叉点的夹角平均值得到 REA,计算公式为

$$A_{RE} = \text{avg} \left(\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \text{angle}(l_i, l_j) \right) \tag{14}$$

式中 A_{RE} ——根系弯折角度

angle()——求两条直线夹角的函数

l_i ——分叉点处拟合的一条切线

l_j ——分叉点处拟合的另一条切线

4 玉米种子静态表型参数分析

因种子活力与老化时间呈负相关^[35],且不同活力玉米种子其根系生长状态差异显著^[36],因此采用老化时间分别为 0、3、7 d 的种子来研究不同活力玉米种子的根系表型参数^[37]。基于本文所提的腐蚀生长算法进行玉米根系图像中的断根修复,测得 3 种老化时间的玉米种子在土壤中根系发育生理参数如表 1~3 所示。由表可知,玉米种子活力和根系表

型之间具有显著的相关性。为对所提出的腐蚀生长算法进行评价,将该算法处理得到的根系表型参数测量值与实际值(通过人工方法修复图像根系并测量得到的数值)进行对比,两者之间的误差小于 5%。其中,由于土壤遮挡,部分根系不可见,RTL 的误差最大。如图 7 所示,未老化的玉米种子和老化 14 d 的玉米种子,RTN、RTL、RTW 和 REL 分别从 14.80 条、83.50 mm、1.53 mm 和 82.70 mm 降低到 4.38 条、36.90 mm、1.38 mm 和 54.6 mm。通过数据对比分析,发现种子活力与 RTN、RTL、RTW、REL 呈明显负相关,且 RTL、REL 与玉米种子老化程度的关系曲线和种子活力、发芽率与老化程度之间^[38]的关系曲线较为相似,而 REA 与玉米种子活力相关性较小。

表 1 未老化根系第 7 天数据

Tab. 1 Data records on day 7 of unaged roots					
生理参数	RTN/条	RTL/cm	RTW/mm	REL/cm	REA/(°)
测量值	12	83.00	1.55	8.06	32.65
实际值	12	86.48	1.60	8.24	33.00
误差/%	0	4.2	3.5	2.2	1.1

表 2 老化 3 d 根系数据

Tab. 2 Root data records of three days of aging					
生理参数	RTN/条	RTL/cm	RTW/mm	REL/cm	REA/(°)
测量值	9	77.20	1.53	7.62	47.2
实际值	9	80.40	1.58	7.78	47.7
误差/%	0	4.2	3.8	2.1	1.2

表 3 老化 7 d 根系数据

Tab. 3 Root data records of seven days of aging					
生理参数	RTN/条	RTL/cm	RTW/mm	REL/cm	REA/(°)
测量值	6	46.20	1.38	6.02	44.30
实际值	6	48.23	1.41	6.17	45.09
误差/%	0	4.4	3.2	2.6	1.8

5 玉米种子动态表型参数分析

为研究不同活力的种子其早期根系发育速度的差异,对种子根系参数进行求导处理,如图 8 所示,RTN、RTL、RTW、REL 与老化程度之间的差异更加显著。在生长 2~12 d 的时间里,RTN、RTL、RTW、REL 的差值从 1.4 条、4.2 mm、0.2 mm、0.3 mm 变为 14.1 条、54 mm、0.5 mm、5.4 mm。以上 4 个生理参数的增速从 1.68 条/d、8.80 mm/d、0.06 mm/d、9.0 mm/d 变为 0.70 条/d、4.3 mm/d、0.05 mm/d、5.70 mm/d。可见,上述 4 种根系表型参数的动态变化情况与玉米种子活力之间存在显著的相关性。

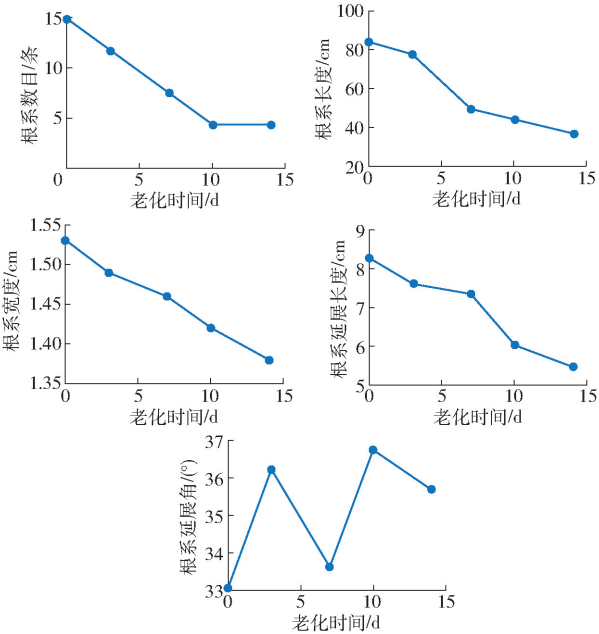


图 7 玉米根系静态参数分析

Fig. 7 Analysis of static parameters of maize roots

6 结论

(1)为实现玉米根系的高通量原位无损检测,采用长方体透明容器作为胁迫生长装置,使绝大部分玉米根系贴壁生长。为得到完整根系,提出腐蚀

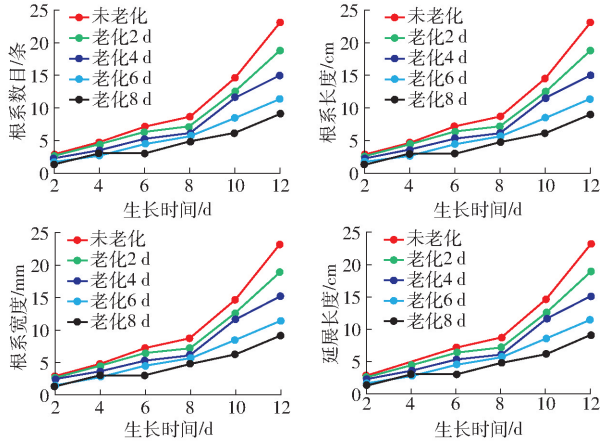


图 8 玉米根系动态参数分析

Fig. 8 Analysis of dynamic parameters of maize root system

生长算法用于修复残缺图像:经预处理后的图像消除了因反光和土壤色差造成的噪声,在细化图像的基础上用腐蚀算法处理图像,将属于不同根段的点分类存储,再通过生长算法修复图像中根系的断裂部分。本算法适用于须根系植物,可修复根系图像中的大段断裂,鲁棒性较强。

(2)基于本文提出的根系图像修复算法,对不同活力的玉米种子进行根系表型研究,结果表明,RTN、RTL、RTW、REL 4 个生理参数与种子活力呈现明显负相关,其变化速率与种子活力之间呈现明显正相关。

参 考 文 献

[1] ROGERS E D, BENFEY P N. Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015,32: 93 – 98.

[2] IYER-PASCUZZI A S, SYMONOVA O, MILEYKO Y, et al. Imaging and analysis platform for automatic phenotyping and trait ranking of plant root systems[J]. Plant Physiology, 2010,152(3): 1148 – 1157.

[3] BONSER A M, LYNCH J, SNAPP S. Effect of phosphorus deficiency on growth angle of basal roots in *Phaseolus vulgaris*[J]. New Phytologist, 1996,132(2): 281 – 288.

[4] HUND A, TRACHSEL S, STAMP P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform[J]. Plant and Soil, 2009,325(1 – 2): 335 – 349.

[5] ATKINSON J A, WINGEN L U, GRIFFITHS M, et al. Phenotyping pipeline reveals major seedling root growth QTL in hexaploid wheat[J]. Journal of Experimental Botany, 2015,66(8): 2283 – 2292.

[6] GIOIA T, GALINSKI A, LENZ H, et al. GrowScreen – PaGe, a non-invasive, high-throughput phenotyping system based on germination paper to quantify crop phenotypic diversity and plasticity of root traits under varying nutrient supply[J]. Functional Plant Biology, 2017,44(1): 76 – 93.

[7] PASSOT S, GNACKO F, MOUKOUANGA D, et al. Characterization of pearl millet root architecture and anatomy reveals three types of lateral roots[J]. Frontiers in Plant Science, 2016,7: 829 – 839.

[8] FRENCH A, UBEDA-TOMÁS S, HOLMAN T J, et al. High-throughput quantification of root growth using a novel image-analysis tool[J]. Plant Physiology, 2009,150(4): 1784 – 1795.

[9] CLARK R T, MACCURDY R B, JUNG J K, et al. Three-dimensional root phenotyping with a novel imaging and software platform[J]. Plant Physiology, 2011,156(2): 455 – 465.

[10] TOPP C N, IYER-PASCUZZI A S, ANDERSON J T, et al. 3D phenotyping and quantitative trait locus mapping identify core regions of the rice genome controlling root architecture[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013,110(18): E1695 – E1704.

[11] ARMENGAUD P, ZAMBAUX K, HILLS A, et al. EZ-Rhizo: integrated software for the fast and accurate measurement of root system architecture[J]. The Plant Journal, 2009, 57(5): 945 – 956.

[12] TAYLOR B N, BEIDLER K V, STRAND A E, et al. Improved scaling of minirhizotron data using an empirically-derived depth of field and correcting for the underestimation of root diameters[J]. Plant and Soil, 2014,374(1 – 2): 941 – 948.

[13] MAJDI H, SMUCKER A J M, PERSSON H. A comparison between minirhizotron and monolith sampling methods for measuring root growth of maize (*Zea mays* L.)[J]. Plant and Soil, 1992,147(1): 127 – 134.

- [14] BODNER G, NAKHFOROOSH A, ARNOLD T, et al. Hyperspectral imaging: a novel approach for plant root phenotyping [J]. *Plant Methods*, 2018,14(1): 84–100.
- [15] LOBET G, DRAYE X. Novel scanning procedure enabling the vectorization of entire rhizotron-grown root systems[J]. *Plant Methods*, 2013,9(1): 1–11.
- [16] JOSLIN J D, WOLFE M H. Disturbances during minirhizotron installation can affect root observation data[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1999,63(1): 218–221.
- [17] BATES G H. A device for the observation of root growth in the soil[J]. *Nature*, 1937,139: 966–967.
- [18] VAN DUSSCHOTEN D, METZNER R, KOCHS J, et al. Quantitative 3D analysis of plant roots growing in soil using magnetic resonance imaging[J]. *Plant Physiology*, 2016,170(3): 1176–1188.
- [19] MOHAMED A, MONNIER Y, MAO Z, et al. An evaluation of inexpensive methods for root image acquisition when using rhizotrons[J]. *Plant Methods*, 2017,13(1): 11–14.
- [20] JOHNSON M G, TINGEY D T, PHILLIPS D L, et al. Advancing fine root research with minirhizotrons[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2001,45(3): 263–289.
- [21] TIERNEY G L, FAHEY T J. Evaluating minirhizotron estimates of fine root longevity and production in the forest floor of a temperate broadleaf forest[J]. *Plant and Soil*, 2001,229(2): 167–176.
- [22] ZHANG Z, LI X, ZHANG J, et al. Root growth dynamics of *Caragana korshinskii* using minirhizotrons [J]. *Acta Phytocological Sinica*, 2006,30(3): 457–464.
- [23] NADELHOFFER K J, ABER J D, MELILLO J M. Fine roots, net primary production, and soil nitrogen availability: a new hypothesis[J]. *Ecology*, 1985,66(4): 1377–1390.
- [24] KOENIG C, WEY H, BINKLEY T. Precision of the XCT 3000 and comparison of densitometric measurements in distal radius scans between XCT 3000 and XCT 2000 peripheral quantitative computed tomography scanners[J]. *Journal of Clinical Densitometry*, 2008,11(4): 575–580.
- [25] METZNER R, EGGERT A, VAN DUSSCHOTEN D, et al. Direct comparison of MRI and X-ray CT technologies for 3D imaging of root systems in soil: potential and challenges for root trait quantification[J]. *Plant Methods*, 2015,11(1): 17–27.
- [26] PFLUGFELDER D, METZNER R, VAN DUSSCHOTEN D, et al. Non-invasive imaging of plant roots in different soils using magnetic resonance imaging (MRI) [J]. *Plant Methods*, 2017,13(1): 102–110.
- [27] KOENIG C, BINKLEY T, SPECKER B. Comparison and precision of the XCT 3000 and XCT 2000 peripheral quantitative computer tomography densitometers for geometric and material bone parameters of the radius [J]. *FASEB Journal*, 2008, 12(1): 12–16.
- [28] METZNER R, VAN DUSSCHOTEN D, BÜHLER J, et al. Belowground plant development measured with magnetic resonance imaging (MRI): exploiting the potential for non-invasive trait quantification using sugar beet as a proxy[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 469–481.
- [29] ZAPPALA S, MAIRHOFER S, TRACY S, et al. Quantifying the effect of soil moisture content on segmenting root system architecture in X-ray computed tomography images[J]. *Plant and Soil*, 2013,370(1–2): 35–45.
- [30] LU W, WANG X, WANG F. Adaptive minirhizotron for pepper roots observation and its installation based on root system architecture traits[J]. *Plant Methods*, 2019,15(1): 29–42.
- [31] LOBET G, KOEVOETS I T, NOLL M, et al. Using a structural root system model to evaluate and improve the accuracy of root image analysis pipelines[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017,8: 447–457.
- [32] LIN P, LI D, ZOU Z, et al. Deep convolutional neural network for automatic discrimination between *Fragaria ananassa* flowers and other similar white wild flowers in fields[J]. *Plant Methods*, 2018,14(1): 64–75.
- [33] CHEN H, GIUFFRIDA M V, TSAFTARIS S A, et al. Root gap correction with a deep inpainting model[J]. *BMVC*, 2018,325–336.
- [34] ZHANG T Y, SUEN C Y. A fast parallel algorithm for thinning digital patterns[J]. *Communications of ACM*, 1984,27(3): 236–239.
- [35] 彭彦昆,赵芳,白京,等. 基于图谱特征的番茄种子活力检测与分级[J/OL]. *农业机械学报*, 2018,49(2): 327–333. PENG Yankun, ZHAO Fang, BAI Jing, et al. Detection and classification of tomato seed vitality based on image processing [J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018,49(2): 327–333. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20180242&flag=1. DOI: 10. 6041/j. issn. 1000-1298. 2018. 02. 042. (in Chinese)
- [36] LI S. Development of a seedling inoculation technique for rapid evaluation of soybean for resistance to *Phomopsis longicolla* under controlled conditions[J]. *Plant Methods*, 2018, 14(1): 81–94.
- [37] ENGELHARDT K A M, RITCHIE M E. Effects of macrophyte species richness on wetland ecosystem functioning and services [J]. *Nature*, 2001, 411(6838): 687–699.
- [38] MARCOSFIHO J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective[J]. *Scientia Agricola*, 2015,72(4): 363–374.