

水稻表层根系性状无损测量技术研究

吴迪¹, 王梦珂², 杨万能¹, 刘谦², 黄成龙^{1*}

(1.华中农业大学工学院, 武汉 430070;

2.华中科技大学 Britton Chance 生物医学光子学研究中心, 武汉光电国家实验室, 武汉 430074)

摘要:水稻根系性状和产量之间存在着联系,通过根系育种来改良水稻品种成为未来研究的趋势之一。为研究水稻根系相关性状,设计了一种可以动态无损测量水稻表层根系的方法。将水稻植株种植于透明 PMMA 管中,利用可见光成像并结合图像处理技术,计算获取 27 个水稻表层根系性状。结果表明,水稻表层根系 32~42 d 生长速率达到最大,随后生长减缓或者死亡;质心位置在 22~54 d 下移较快,随后变化较小;表层根系与地上部分面积之比同产量之间存在类似于正态分布的关系,比例在 0.45 至 0.65 之间时产量较高;表层根系从上至下覆盖率递减,但不同品种水稻表层根系分布不同,最上方区域的表层根系覆盖率从最大 45% 到最小 25%。该结果对水稻根系性状无损测量进行了初步探索,并对深入了解水稻根系结构和功能,以及推动植物表型组学的发展具有一定作用。

关键词:水稻表层根系性状;无损测量;移动成像暗室;图像处理;植物表型组学

doi: 10.13304/j.nykjdb.2016.797

中图分类号: S511, S126 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0864(2017)07-0066-12

Research on Non-destructive Measurement of Surface Root Traits of Rice Plants

WU Di¹, WANG Mengke², YANG Wanneng¹, LIU Qian², HUANG Chenglong^{1*}

(1.College of Engineering, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070;

2.Britton Chance Center for Biomedical Photonics, Wuhan National Laboratory for Optoelectronics, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: Rice root traits have relations with yield, which will become one of the trends for future research to improve rice varieties by root system breeding. In order to study the relevant traits of rice root system, this paper designed a method to dynamically and non-destructively measure surface root traits of rice plants. Planting rice varieties in transparent PMMA tubes, 27 surface root traits could be obtained through combining visible light image with processing technology. The results showed that surface roots growth rate at 32~42 d reached the maximum, then they grew slow down or became dead. The centroid got down faster in 22~54 d, and then followed by little changes. The ratio between surface root area and above ground area had similar normal distribution relation with its yield. When the ratio was between 0.45~0.65, the yield was higher. The surface root coverage decreased from top to bottom, but different rice varieties had different surface roots distributions. The coverage rate of the surface root at top areas were varied from the maximum 45% to the minimum 25%. This paper preliminarily explored nondestructive measurement of rice root traits, understood in-depth rice root structure, and played certain role in promoting development of plant phenomics.

Key words: surface root traits of rice plant; nondestructive measurement; movable imaging darkroom; image processing; plant phenomics

收稿日期:2016-12-30; 接受日期:2017-02-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31600287)资助。

作者简介:吴迪,博士研究生,研究方向为水稻表型检测。E-mail:380524590@qq.com。* 通信作者:黄成龙,讲师,博士,研究方向为植物表型组学和农产品无损检测。E-mail:hcl@mail.hzau.edu.cn

水稻是世界最重要的粮食作物之一,世界上超过半数人口以水稻为主食,中国作为世界上水稻最大的消费国,保障水稻产量显得尤为重要^[1]。虽然近十年来我国的水稻产量连续增长,但其增长速率远低于消费量的增长,对我国的粮食安全提出了严峻的挑战。因此培育出产量高、抗性好、营养利用率高、环境适应性强的优质水稻品种,最大限度挖掘水稻产量潜力是水稻育种学家努力的方向^[2]。水稻根系是吸水和吸养分器官,对植株起支撑作用,并且根系和土壤及其周边环境存在相互作用,在生态系统的循环中也发挥着重要作用^[3-6]。水稻地上部分的茎叶及米粒的生长发育,是在根系吸收土壤中水分、养分的基础上实现的。根系生长越强壮,吸收水肥越多,地上部分生长就越好,进而提高产量,反之,将导致减产。因此,根系相关性状对产量的提高具有重要意义。

随着水稻基因组测序的完成,基因功能研究已经成为了工作重点和难点。为了研究水稻的基因功能并筛选出优质品种,往往需要进行大量表型实验,并且实验费时费力,这无疑对研究水稻基因功能造成了较大障碍,因此需要通过发展自动化、高通量的植物表型检测手段来突破基因组学研究的瓶颈^[7-10],也就是通过“植物表型组学”的研究来加速基因功能和育种技术的研究,这对提高粮食产量和保证粮食安全都十分关键^[11-16]。

目前,水稻根系测量方式主要分为人工测量和仪器测量。人工测量根系研究方案可以分为挖掘法、土钻法、内生长法、容器法等^[17],这些方法均存在耗时费力、有损测量、效率不高、不适合观察根系的形态结构和时间上的动态测量等缺陷。近年来,机器视觉技术因其无损性和高效性正广泛应用于农作物及农产品检测。目前国内外研究根系应用比较广泛的一种新方法叫做微根窗技术^[18],具体来讲就是通过插入土壤中的透明观察管,形成一小观察窗,利用长筒观察镜在小观察窗内定期记录观察管外壁新根生长动态的一项根系观测研究技术。现在国内外已经有许多利用微根窗技术测量根系性状的仪器,美国 CID 公司研发的 CI-600 原位根系成像是典型的利用微根窗技术的应用。Iyer-Pascuzzi 等^[19]把 12 个品种的水稻幼苗种植于 Gelzan CM 琼脂中(透明度高,便于成像),利用可见光拍摄 20 个角度图像来研究根系生长,通过图像处理技术自动计算得到了

16 个根系性状参数如根系平均直径、总根长、根体积等,通过分析证明根系垂直扎根深度和平均半径是区分实验中水稻品种根系结构差异的主要性状。Clark 等^[20]把两个品种的水稻幼苗种植于透明的结冷胶中,利用可见光拍摄了 40 个角度图像,最终重建出了根系的三维结构并计算得到了 27 个根系性状参数,这为从分子和基因水平研究水稻根系结构提供了有力的手段。French 等^[21]将拟南芥种植于琼脂糖平板上,利用可见光成像和图像处理技术分析了拟南芥根系的生长速率、弯曲度等。Downie 等^[22]利用 Nafion(高氟化离子交换树脂)和具备相似光学性质的溶液制备了一种透明土壤,并且实验表明植物根系在这种透明土壤中的生长情况和真实的土壤中类似,这种方法为研究植物根系提供了基础,可以通过可见光或者荧光染料标记等手段来研究根系性状。

本文设计了一种可以动态无损测量水稻表层根系的方法。先将水稻植株种植于透明聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)管中,随着植株的生长根系会贴到管内表面,然后利用可见光成像并结合图像处理技术获取水稻表层根系性状,从而实现水稻表层根系性状参数的精确测量。

1 系统组成与方法

1.1 系统组成

1.1.1 系统硬件组成 系统的硬件部分由透明根管、PVC 套管和移动成像暗室组成。总体系统结构如图 1A 所示。

目前比较常用的透明材料有 PMMA、聚氯乙烯、聚对苯二甲酸乙二酯、聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物、聚碳酸酯等。本研究选择了聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)作为材料制作透明根管,主要基于以下考虑:PMMA 又叫做亚克力或有机玻璃,是经常使用的玻璃替代材料,其透光率较高,是目前最优良的高分子透明材料,对可见光的透光率达到 92%,比玻璃的透光率还要高,另外它机械强度较高,抗拉伸和抗冲击的能力比普通玻璃高 7~18 倍,并且其耐候性好,价格相对便宜,易于机械加工。同时在透明根管(图 1B)上设计带 6 个三角片的支撑环,三角片之间间隔 60°排列,便于采集图像时做为旋转参考与支撑作用。

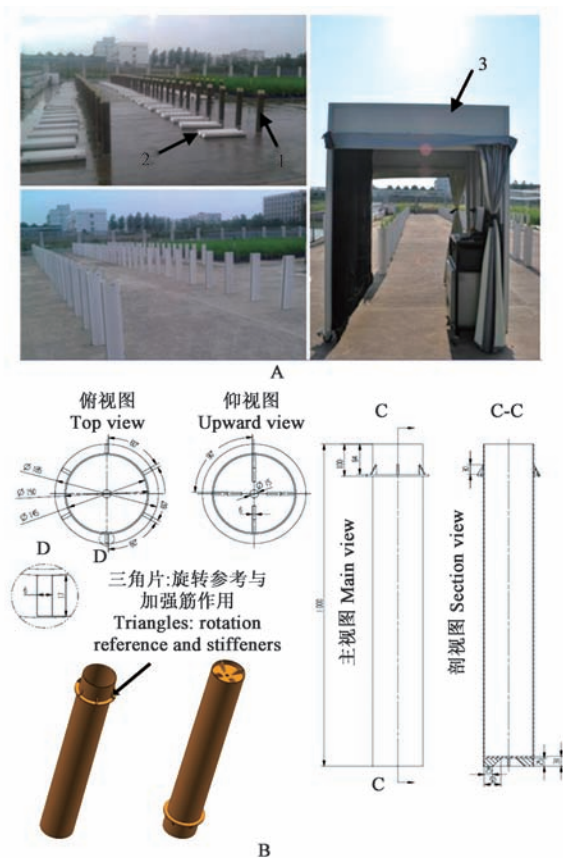


图1 系统结构图(A)和透明根管设计(B)

Fig.1 Structure of system (A) and design of transparent tube (B).

1.透明根管; 2.PVC套管; 3.移动成像暗室

1.Transparent root canal; 2.PVC casing; 3.movable imaging darkroom

由于水稻是夏天种植,气温很高并且根系生长要避免光照,所以还需要不透光的套管为透明根管避光降温,为此实验中设计了一种可以方便开合的白色不透光PVC(polyvinylchlorid,聚氯乙烯)管,外径为200 mm,高度1 000 mm。如果不加套管,透明根管中则会会长出绿色藻类影响成像和抑制根系生长,并且夏天太阳照射会使管内温度过高,所以外面套上套管是必需的。

为了方便室外采集水稻根系图像,保证成像质量,本实验需要设计室外移动成像暗室。暗室长为2 500 mm,宽为2 000 mm,高度为2 500 mm,整个暗室框架用60 mm×60 mm的工业铝型材搭建。在搭建好暗室的整体框架后,需要考虑暗室的内部设计以及所需要实现的功能和设备。首先需要一台电脑作为工作站,用于图像采集和存储图像。选用的主机配置为Windows XP操作系统,i3-2130处理器,CPU主频为3.40 GHz,内存为

3.4 GB。另外需要两个彩色面阵列CCD相机采集根系和地上部分图像,实验选用德国Applied Vision Technologies公司生产的Stingray F-504C相机拍摄水稻根系图片,选用中国大恒公司生产的DH-SV1410FC相机拍摄水稻地上部分。光源采用LED灯管,电源为220 V/50 Hz交流电,功率16 W,成像背景采用黑色粗糙布料,可以保证背景单一简单,并且由于布料漫反射较多,从而可以避免背景反光,方便后面进行图像处理和分析。最后选用山特CIKS型在线式不间断电源(uninterruptible power system,UPS)为上述设备供电。暗室的两侧采用不透光的布料作为窗帘,保证成像的时候光线充足,防止外界环境光的干扰,在暗室底部安装有6个轮子,可以方便移动。

1.1.2 系统软件组成 透明根管、PVC套管和室外移动成像暗室加工完成后,一个关键的步骤就是测试图像采集并进行图像处理。本实验中的图像采集与图像处理均是基于美国国家仪器公司(National Instruments)所研发的LabVIEW软件开发平台,它的特点是图形化编程(G语言),拥有强大的工业控制、图像采集和机器视觉等方面功能,并在这些领域有着广泛的应用^[23,24],本文中的图像采集利用LabVIEW中的IMAQdx库,其中函数可以支持本文中用到的1394相机图像采集和相机参数配置。软件主要用于实现:①相机初始化;②图像采集和图像处理;③数据保存。

1.2 图像采集和调试

1.2.1 相机和镜头选择 用于拍摄水稻根系的相机选用德国Applied Vision Technologies公司生产的Stingray F-504C相机,它分辨率很高、小巧灵活、稳定可靠,可以为提供高质量的水稻根系图片提供保障。用于拍摄水稻地上部分的相机选用中国大恒公司生产的DH-SV1410FC相机,两个相机的具体性能参数如表1所示。

镜头选择方面主要是要考虑成像范围和图像清晰度,首先计算满足成像范围要求需要选用的镜头参数。

$$\frac{f}{S} = \frac{w}{W} = \frac{h}{H} \quad (1)$$

式中, f 为镜头焦距, w 为图像宽度, h 为图像高度, S 为成像距离即物体距离CCD的距离, W 为视场(field of view)宽度, H 为视场(field of view)高度。

根管高度为 1 000 mm,实际拍照的时候成像高度不到 800 mm,即要求视场高度为 800 mm 左右,成像距离约为 1 700 mm;实验所选品种的水稻株高没有超过 1 500 mm 的,因而拍摄地上部分的相机镜头视场高度在 1 500 mm 左右即可,那么拍摄根系和地上部分相机的镜头焦距选择可以通过公式(1)分别计算得到:

$$f_{root} = \frac{2\,056 \times 3.45 \mu\text{m} \times 1\,700 \text{ mm}}{800 \text{ mm}} = 15.1 \text{ mm} \quad (2)$$

$$f_{leaf} = \frac{1\,040 \times 6.45 \mu\text{m} \times 1\,700 \text{ mm}}{1\,500 \text{ mm}} = 7.6 \text{ mm} \quad (3)$$

根据公式(2)和公式(3)的计算结果可以确定拍摄根系相机的镜头选取焦距为 16 mm 的镜头,拍摄地上部分相机的镜头选取焦距为 8 mm 的镜头。

1.2.2 成像效果调试和图像采集 在选取好相机和镜头之后,需要对成像效果进行调试,使得图像质量达到满意的效果。首先对拍摄根系的相机进行色彩校正,在成像范围内使用一个标准色卡作为色彩参考,通过 RGB 通道增益调节使得图像色彩接近真实环境,在实验中主要选择红色、绿色、白色和黑色作为判断的主要依据,因为成像的对象中土壤偏红色,地上部分主要为绿色,黑色和白色为中性色。最终 RGB 三通道增益分别设置为 3.253、1.186 和 2.135 时达到比较好的效果,保证在暗室成像环境下色彩接近真实情况。色彩校正完成后,使用 16 mm 焦距镜头测试成像质量,效果较为理想。

成像效果调整完毕后,对图像采集控制设置如下:可以同时拍摄地上部分和根系部分图片,输入相应的条码号就可以自动将拍摄的图片命名并以 png 格式存储到磁盘中。

表 1 Stingray F-504C 和 DH-SV1410FC 性能参数

Table 1 Performance index of Stingray F-504C and DH-SV1410FC.

性能参数 Performance parameter	Stingray F-504C	DH-SV1410FC
数据接口 Data interface	IEEE 1394b	IEEE 1394a
分辨率 Resolution	2 452×2 056	1 392×1 040
传感器尺寸 Sensor size	2/3 inch	2/3 inch
像元尺寸 Pixel size	3.45 μm	6.45 μm
镜头接口 Lens interface	C	C/CS
在全分辨率下的最大帧率 Maximum frame rate at full resolution	9 f/s	15 f/s

1.3 实验材料和具体步骤

本实验一共选取 30 个不同的水稻品种,每个品种有三个重复,实验样本来源于水稻核心种质资源^[25]。选取具有一定差异的水稻品种按顺序编号,其产量、株高和抽穗期等具体信息如表 2 所示。实验样本首先种植于大田中,等到实验开始的时候再从田间移栽到透明根管中。由于受到移栽和天气等外界因素影响,最后仅保留 10 个品种水稻(编号为:5、6、10、11、15、18、19、20、21、22)进行后期数据分析。

用于种植实验样本的土壤选用菜地中的土壤,首先在太阳下晒干,然后用碎土机将土壤初步碾碎,通过 8 mm 的网筛筛选土壤,这可以去除大部分土壤中的石头和杂草,而且筛选过后的土壤较为均匀,可以保证装入透明根管后水分、氧气和

肥料能够较为均匀分布。之后将固体肥料和土壤混合均匀,施肥量比大田要多一些,由于水稻种植需要大量水,为了防止藻类植物的生长,同时也混入适量的 CuSO_4 固体颗粒。土壤准备完后将其装入透明根管中,装满水让其均匀渗入土壤中,土壤填埋以根管的外部圆环高度为准,即离顶部 100 mm 处,然后把上面的土壤压紧,等土壤中的气泡消失就说明水分已经均匀渗入土壤,可以开始种植。所有透明根管装土浇水并套上 PVC 套管后,将之前准备的 10 个品种的水稻幼苗移栽到其中,每个品种 3 个重复,总计 30 个透明根管,在室外排列成 3 行,同一行之间根管距离约为 650 mm,行之间距离约为 3 000 mm,这样整齐排列好后便于成像暗室移动和实验操作,实验时将套管取下,用水将透明根管洗净。

表 2 实验水稻品种具体信息

Table 2 Information of rice for the experiment.

品种编号 Varieties code	株高 (cm) Height (cm)	抽穗期 (d) Heading stage(d)	产量 (g) Yield (g)
1	72	68	18.69
2	80	68	17.77
3	70	74	15.21
4	73	70	31.57
5	75	68	29.54
6	80	66	19.28
7	72	66	23.42
8	81	70	25.97
9	72	69	22.03
10	80	69	31.08
11	77	70	32.05
12	79	70	24.21
13	79	73	19.89
14	80	68	32.15
15	73	73	30.66
16	80	68	32.91
17	83	68	18.88
18	80	69	36.94
19	72	68	31.96
20	70	68	19.55
21	119	71	18.13
22	119	66	17.10
23	119	66	15.13
24	120	68	19.03
25	120	66	22.34
26	123	70	20.13
27	123	68	17.86
28	129	70	22.31
29	130	68	22.22
30	131	66	20.15

为了保证光照均匀和成像质量,每次测量一株水稻,把根管放置于背景中心位置,使根管上的任意三角板对准背景中心。每拍摄一次,旋转根管使下一个三角板对准背景中心,实现等间隔 60° ,依次拍摄六个角度,在后续分析数据时对6个面获取的参数取平均值,这样能够较好地反映根系整体情况,测完后可以移动暗室继续测量下一株,试验选择在晚上进行。一切准备就绪后开始实验,计划每隔10 d测量一次,总共测量6次,

从移栽幼苗到结束实验总共用时71 d,基本上覆盖了所选水稻品种的生育期。

1.4 图像处理和性状参数计算

1.4.1 透明根管分割 在水稻根系图像采集完成之后需要对图片进行批量处理。首先需要将透明根管准确提取出来,这对后面的分区、根系分割和统一标准等都是必要的。由于原始图像为彩色图像,因此首先需要考虑使用合适的颜色空间和颜色分量,将透明根管部分从图像中分割出来。

RGB颜色空间作为最常使用的颜色空间,被广泛应用于电视和数码相片等常见产品中。RGB颜色空间非常适合用于显示图像,但是由于其三通道的相关性非常高,受到光照变化影响后三通道的值都会变化,所以它并不适合用于图像分割和分析。另外一类颜色空间则是通过RGB颜色空间非线性变换得到,包括HSI、HSV和HSL等。HSI颜色空间与人眼的视觉类似,其中H分量代表色调,S分量代表饱和度,I分量代表亮度,由于H分量和S分量是通过RGB颜色空间的非线性变换得到的,所以H分量和S分量不受亮度影响,对于处理非均匀照明和存在阴影等情况的图像非常合适。HSV和HSL颜色空间是HSI颜色空间的变形。HSI、HSV和HSL颜色空间与RGB颜色空间的变换如公式(4~8)所示。

$$H = \arctan \left[\frac{\sqrt{3}(G - B)}{(R - G) + (R - B)} \right] \quad (4)$$

$$S = 1 - \frac{3}{R + G + B} [\min(R, G, B)] \quad (5)$$

$$I = \frac{R + G + B}{3} \quad (6)$$

$$L = \frac{\max(R, G, B) + \min(R, G, B)}{2} \quad (7)$$

$$V = \max(R, G, B) \quad (8)$$

1.4.2 根系图像分割 首先将根系所在区域准确提取出来并对不同深度的根系进行虚拟分区。在自动提取出根系区域之后需要分割出贴到透明根管管壁上的根系,首先要考虑选取合适的颜色分量。其中L分量根系和土壤的整体亮度要略高一些,最终考虑使用L分量进行分割。本文主要对比了OTSU算法、最大熵算法、聚类法、Niblack局部阈值算法和背景校正算法^[26,27]。

此外实验中同时还拍摄了水稻的地上部分,

同根系一样也拍摄了 6 个角度,主要用于分析地上部分生长情况,根系和地上部分之间的关系。

1.4.3 性状参数计算 综合考虑环境因素,计算得到根系相关性状参数 27 个:根系总面积、不同区域根系密度(即根系占所在区域总面积的比例)、不同区域根系面积、最大扎根区域、根系结构质心、地上部分面积、表层根系生长速率、地上部分生长速率、根系总面积/地上部分面积等。在处理完根系图片后,计算相关性状参数,首先计算从上到下的 AL、AD、BL、BD、CL、CD、DL、DD、EL、ED 十个虚拟区域根系面积,根系密度和根系总面积(包含所有区域),然后可以通过不同深度根系密度变化趋势和比例得最大扎根区域。通过 LabVIEW 中 centroid 函数可以计算根系结构的质心位置,在数据分析时主要考虑质心所在行数,它可以反映根系整体结构的位置和变化趋势。对于实验选取的 30 份水稻数据,计算得到每一次测量时上述列举的根系相关性状参数以便于分析根系动态生长和变化。在分析数据的时候,最终对于 6 个面的所有参数求取平均值,这样能够较好地反映根系整体。

整体的图像处理流程如图 2 所示。首先进行图像采集,分别得到水稻根系部分和地上部分图像。对于地上部分而言,利用 ExG 分量提取绿色部分,利用 I₂分量提取黄色部分,合并两者得到的结果并进行去噪处理后即得到地上部分侧视面积,最终取 6 个侧视面积平均值。对于根系部分,提取图像饱和度分量(S 分量)并利用 OTSU 算法将图像二值化,通过去除小区域及形态学操作能较好的分割出透明根管,然后采用最大熵分割算法和背景校正算法结果的并集分割出表层根系。分割完成后,统计不同深度区域的根系面积和根系密度,并根据根系密度和其变化趋势确定最大扎根区域,对于整体根系则计算其总面积和质心位置,然后对 6 张侧视图中提取的上述参数求取均值。最后整理和分析得到的水稻根系性状参数和地上部分参数。

2 结果与分析

2.1 根管分割和分区结果

以第四次拍摄的 10 号品种的第二个重复为例,提取其 R、G、B、H、S、L、V、I 分量,其结果如

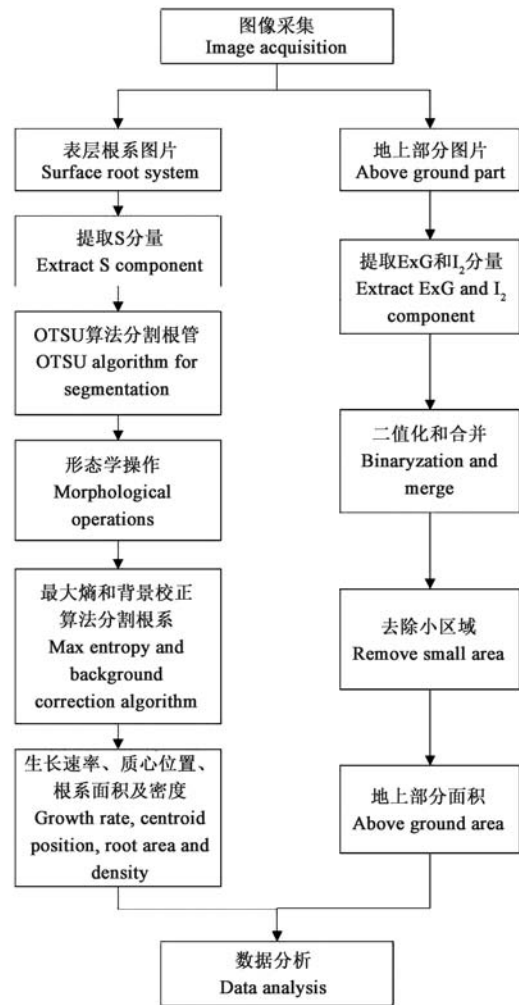


图 2 图像处理流程图

Fig.2 Flowchart of image processing.

图 3A 所示。总体上看, H、S 分量能够较好区分根管和背景部分, S 分量中根管灰度值较高并且对比度相对 H 分量要高一些, 最终选取 S 分量分割根管。

从根系图片饱和度分量可以看出, 根管部分和背景部分亮度差异明显, 根管灰度值较大而背景灰度值较小, 因此可以采用基于灰度直方图的方法进行图像分割, OTSU 算法简单高效, 对于背景和背景灰度差别较大的图像能够自动准确分割, 并且不需要先验信息, 所以被广泛应用。本文采用 OTSU 算法, 它是按图像的灰度分布特性, 将图像分成背景和目标两部分, 背景和背景之间的类间方差越大, 说明构成图像的两部分的差别越大, 当部分目标错分为背景或部分背景错分为目标都会导致两部分差别变小, 对于灰度图其分割

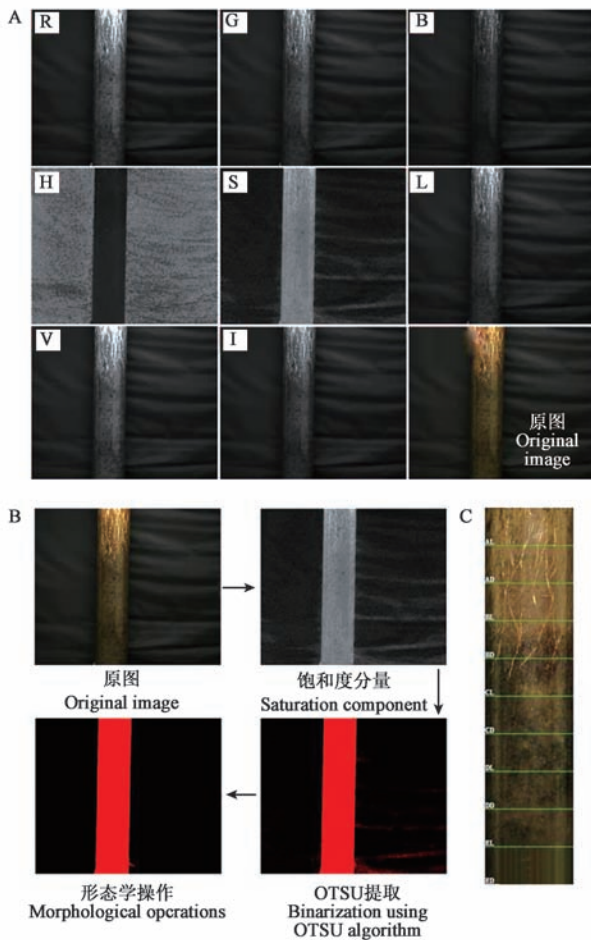


图3 透明根管的图像处理和虚拟分区

Fig.3 Image processing and virtual partition of transparent tube.

A. 表层根系图像各分量对比; B. 透明根管分割; C. 虚拟分区
A. Comparison of each component of the surface root image; B. Segmentation of transparent tube; C. Virtual partition

阈值计算如公式(9), 根管的具体分割流程如图3B所示, 首先提取原图像饱和度分量S, 然后利用OTSU算法提取根管部分, 从图中可以看到存在一些噪声点, 因此, 最后进行一些形态学操作, 包括去除小区域和闭操作, 其中闭操作可使根管轮廓线更光滑, 消除小的空洞, 并填补轮廓线中的断裂。

$$k = \max [w_0(k) \times (u_0(k) - u) + w_1(k) \times (u_1(k) - u)] \quad (9)$$

其中, k 为分割阈值, $w_0(k)$ 为背景像素比例, $w_1(k)$ 为前景像素比例, $u_0(k)$ 为背景像素灰度均值, $u_1(k)$ 为前景像素灰度均值, u 为整幅图像灰度均值。

为分析根系相关数据提供一个统一的标准,

将根系所在区域准确提取出来并对不同深度的根系进行虚拟分区。如图3C所示, 为了统一标准, 在选择ROI的时候选择中间的400列, 去掉最上面8行和最下面348行(由于所有根管中没有根系长到这个深度), ROI的大小为 1700×400 , 分为10个区, 每个区大小为 170×400 , 图像中从上到下依次标记为AL、AD、BL、BD、CL、CD、DL、DD、EL、ED。在这里需要再次说明的是由于受光照和土壤表面绿色藻类和杂草的影响, 并且相机成像范围有限, 根系图像仅拍摄根管220 mm处到约940 mm, 最上面的一部分根系并未拍摄, 对透明根管进行虚拟分区则是为了统计不同深度根系的分布以及扎根深度。

2.2 根系分割结果

通过对比OTSU算法、最大熵算法、聚类法、Niblack局部阈值算法和背景校正算法, 分割结果如图4A所示。OTSU算法分割效果一般, 不能保留细小根系, 根系主体分割不全。聚类法存在较严重的误分割, 根系结构已经无法识别。最大熵算法能较好分割出根系主体部分, 但是对于细小根系效果不好。背景校正算法能够较为准确地识别出细小根系, 但是根系主体部分有所缺失。Niblack算法效果很差, 不适合分割根系。可见单独使用上述算法都存在一定的缺陷, 最后将最大熵算法的结果和背景校正算法的结果求并集, 这样可以同时分割出根系主体和细小根系, 具有相对较好的分割效果。上述算法在根系较多的情况下较适合, 但是当根系较小的时候, 则不适合, 通过比较几种算法, 最大熵分割算法效果较好, 其他算法误差较大。综上所述, 对前两次采集的根系图像采用最大熵分割算法, 对后四次采集的根系图像采用最大熵算法和背景校正算法的并集。

地上部分图像的分割结果如图4B所示, 首先提取原始图像的 I_2 分量^[28,29]和ExG分量^[30], ExG分量和 I_2 分量计算如公式(10)和公式(11)所示。 I_2 分量用于提取地上偏黄的部分, ExG分量则用于提取地上的绿色部分, 将 I_2 分量和ExG分量的二值化结果进行像素合并, 去除小区域后即得到地上部分分割图像, 计算二值图总像素值作为地上部分性状参数。

$$ExG = 2Ng - Nr - Nb \quad (10)$$

$$I_2 = 0.5R - 0.5B \quad (11)$$

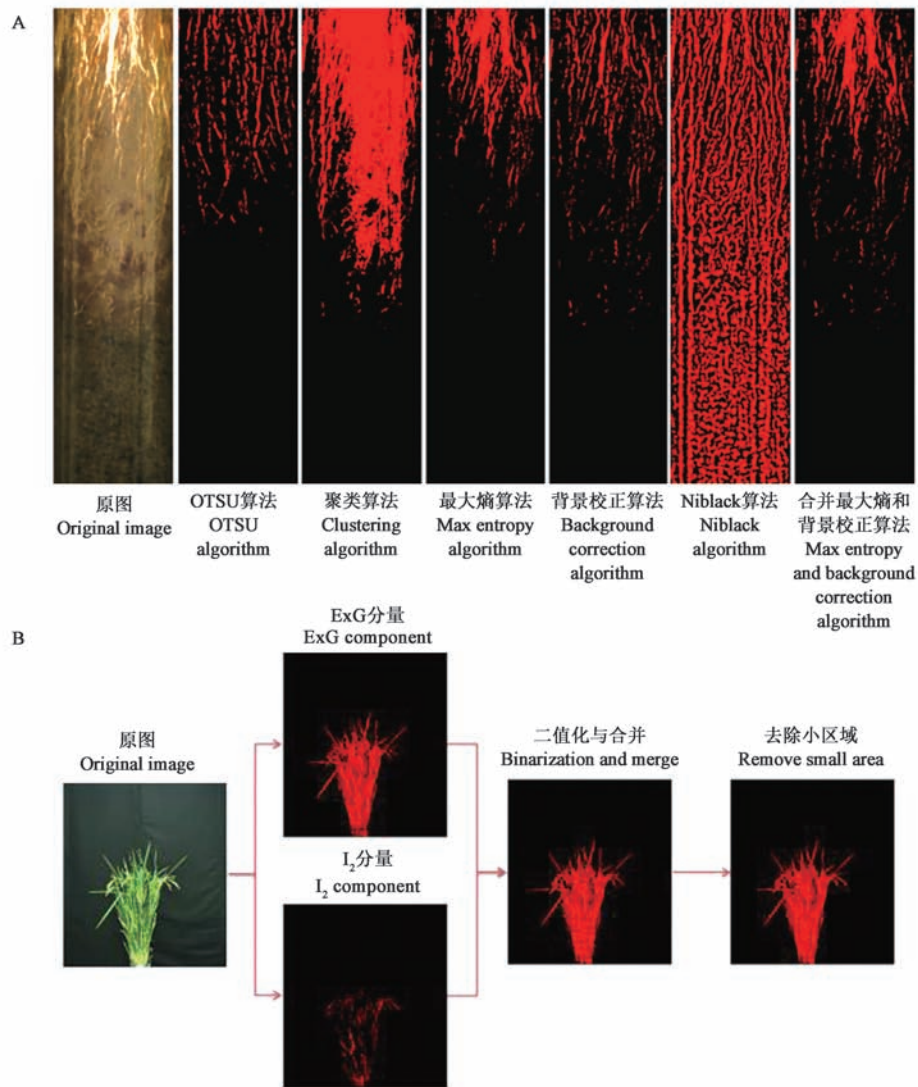


图 4 水稻根系和地上部分分割结果

Fig.4 Results of root segmentation and aboveground parts of rice plants.

A:不同算法根系分割结果;B:地上部分分割算法

A:Results of root segmentation using different algorithms; B:Segmentation algorithm for aboveground parts

2.3 根系、地上部分生长和质心位置变化

将所有品种的数据进行重复性验证和处理后,最终对重复性一致的样本求取平均值来代表相应品种。

图 5A 展示的是不同品种水稻表层根系生长曲线,从该曲线可以看出所有品种水稻表层根系在第 33~42 d 的时候生长速率达到最大(表 3),其中 5 号品种此时期表层根系面积平均每天增加 3 765 像素,为所有品种中最快的,6 号品种平均每天增加 1 284 像素,为所有品种中最慢的。在 42 d 以后表层根系生长减缓甚至出现负增长,例如 21 号和 22 号品种均在 55~71 d 的时候出现较

大的负增长,通过查看 21 号和 22 号品种原始图片可以发现较多根系变黄或者变红,并且土壤也变成了偏红的颜色,说明此时期有些根系已死亡。实验所用品种水稻的表层根系生长在不同时期差异较大,在 10~32 d 的时间内处于加速生长阶段,而在 33~42 d 的时间内生长最为旺盛,42 d 以后生长减缓并且有的品种根系出现死亡。

图 5B 展示的是不同品种水稻地上部分生长曲线,从该曲线可以看出所有品种水稻的地上部分生长较为均匀一致,不同的时期生长速率变化不大,生长曲线接近于直线。其中 21 号和 22 号品种地上部分生长较快,从图中也可以明显看出

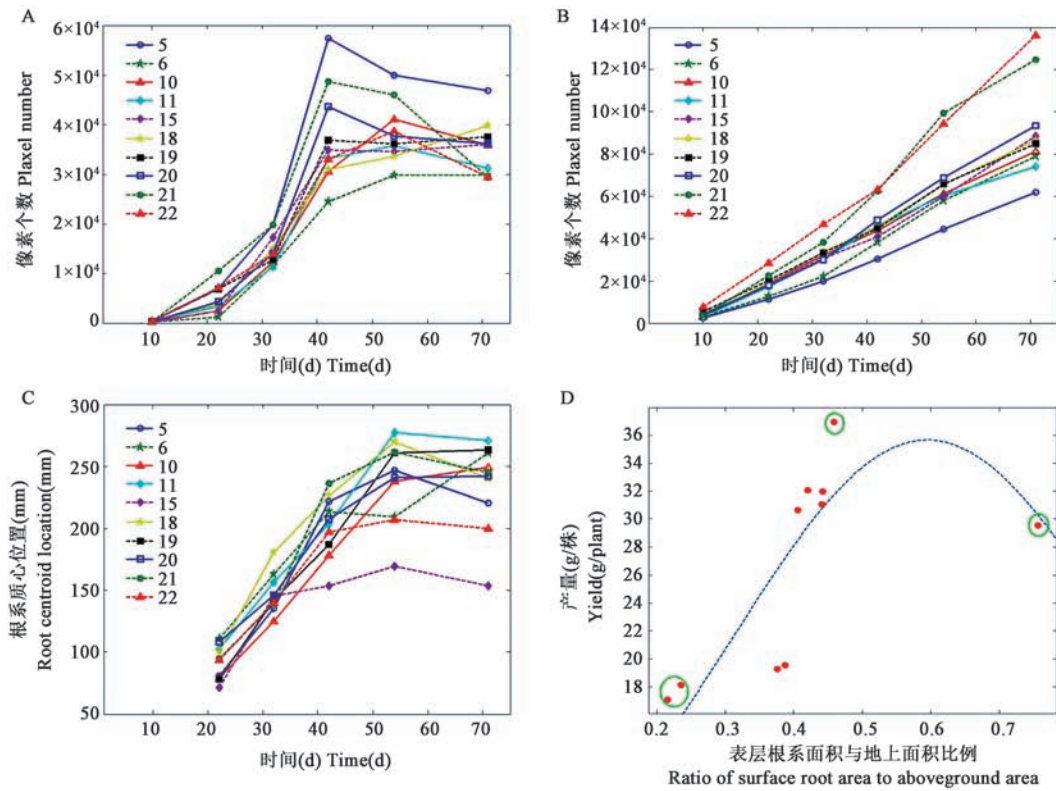


图 5 系统测量的性状参数

Fig.5 The contrast result of system measurement and manual measurement.

A. 表层根系生长曲线; B. 地上部分生长曲线; C. 质心位置变化曲线; D. 产量与表层根系同地上部分面积比例的关系
 A. Growth curves of surface roots; B. Growth curves of aboveground parts; C. Varying curves of centroid; D. Relation between yield and surface root area to aboveground area ratio.

表 3 不同品种水稻表层根系和地上部分生长速率

Table 3 Growth rate of surface roots and aboveground parts of different rice varieties.

品种编号 Varieties code	表层根系生长速率(像素/d) Root growth rate (pixel/d)					地上部分生长速率(像素/d) Aboveground growth rate (pixel/d)				
	10~22 d	23~32 d	33~42 d	43~54 d	55~71 d	10~22 d	23~32 d	33~42 d	43~54 d	55~71 d
5	551	1 289	3 765	-625	-180	744	849	1 060	1 180	1 024
6	89	1 038	1 284	442	-3	793	947	1 607	1 654	1 237
10	187	986	1 817	885	-314	1 342	1 299	1 183	1 456	1 170
11	238	800	2 187	214	-268	1 175	1 331	1 515	1 222	813
15	190	1 479	1 766	-25	85	1 164	1 223	1 030	1 588	1 687
18	276	1 136	1 586	221	364	1 271	1 446	1 230	1 628	1 247
19	537	599	2 411	-60	82	1 223	1 297	1 179	1 747	1 116
20	335	983	2 955	-494	-88	1 182	1 215	1 874	1 672	1 450
21	864	929	2 887	-224	-977	1 595	1 587	2 420	3 058	1 492
22	565	678	1 919	459	-541	1 745	1 825	1 639	2 622	2 455

相应的曲线斜率较大,而 5 号品种地上部分生长最慢(表 3)。实验中的 10 个水稻品种地上部分和表层根系的生长并没有明显关系,表层根系不

同时期的生长速率具有明显差异,而地上部分各时期分生长速率较为一致。

图 5C 展示的是不同品种水稻表层根系质心

位置随时间变化曲线,从该曲线可以发现根系整体质心位置在 23~54 d 期间下移较快,54 d 之后变化较小,其中 15 号品种质心位置下移较少,6 号品种质心位置在 54 d 之后下降仍然较快。质心位置的下移可以间接反映出根系结构的向下生长。

2.4 产量与根同地上部分面积之比的关系

图 5D 展示的是产量与表层根系同地上部分面积之比的关系,当比例过小或者过大时,产量都不是最高,当比例适中时则产量较高,表层根系和地上部分面积之比同产量之间存在类似于正态分布的关系(表 4)。表层根系面积可以反映根系侧向生长和吸取营养的能力,而地上部分面积则反映了光合作用等方面的能力,当表层根系面积小而地上部分面积很大时,尽管光合作用能力可以保证,但是植株吸收营养的能力受到了限制,因此产量不高;当表层根系面积大而地上部分面积较小的时候,虽然根系吸收营养的能力很强,但是光合作用能力有限,并不能有效地将营养转化成产

量,所以最终产量也不是很高;当这两者之间的比例适中的时候,产量达到了比较高的水平,这说明在营养吸收和光合作用能力之间达到平衡的时候才能保证最大产量。

2.5 根系密度分布

实验中 10 个水稻品种表层根系在深度方向上的分布也有不同,以前面虚拟分区中的 10 个区域为准统计每个区域内根系的密度分布,如图 6 所示。可以发现所有品种水稻在分区范围内从上至下密度均呈递减趋势,以覆盖率 0.1% 为界限 ($0.1\% \times 170 \times 400 = 68$ 像素),5 号、6 号、10 号、11 号、15 号、18 号、19 号、20 号、21 号、22 号品种依次扎根到 DL、DL、DL、DL、CD、DD、DL、DL、DL、DL 区域(图中区域从上至下记为 1 到 10)、DL 区域为 477~537 mm 之间,CD 区为 418~477 mm 之间,DD 区为 537~597 mm 之间。不同品种间的密度区域分布也有差异,如 5 号品种 AL 区表层根系所占最高比例约为 45%,而 11 号品种则约为 25%。

表 4 不同品种水稻表层根系、地上部分性状和产量数据

Table 4 Traits of surface root and aboveground parts and yields of different rice varieties

品种编号 Varieties code	地上部分像素个数 Number of pixels on the ground	表层根系像素个数 Pixel number of root surface	根系与地上像素个数之比 The ratio of the number of pixels of root to ground	品种产量(g) Yield (g)
5	62 071	46 901	0.76	29.54
6	79 078	29 731	0.38	19.28
10	81 273	35 790	0.44	31.08
11	74 171	31 150	0.42	32.05
15	88 698	36 003	0.41	30.66
18	86 642	39 732	0.46	36.94
19	84 924	37 551	0.44	31.96
20	93 453	36 180	0.39	19.55
21	124 677	29 399	0.24	18.13
22	136 342	29 396	0.22	17.10

3 讨论

随着水稻功能基因组研究和水稻育种技术的飞速发展,需要在很短的时间内获取成千上万份水稻品种的表型性状,而传统的水稻根系表型观测手段已无法满足这一需求,严重的制约水稻功

能基因组和水稻育种技术的发展。

本文主要侧重于水稻根系无损测量方法的研究和探索,克服传统方法存在的一些缺陷。针对水稻根系设计了一种可以动态无损测量其表层根系的方法。将水稻植株种植于透明 PMMA 管中,随着植株的生长根系会贴到管内表面,利用可见光成像并结合图像处理技术可以提取水稻表层根

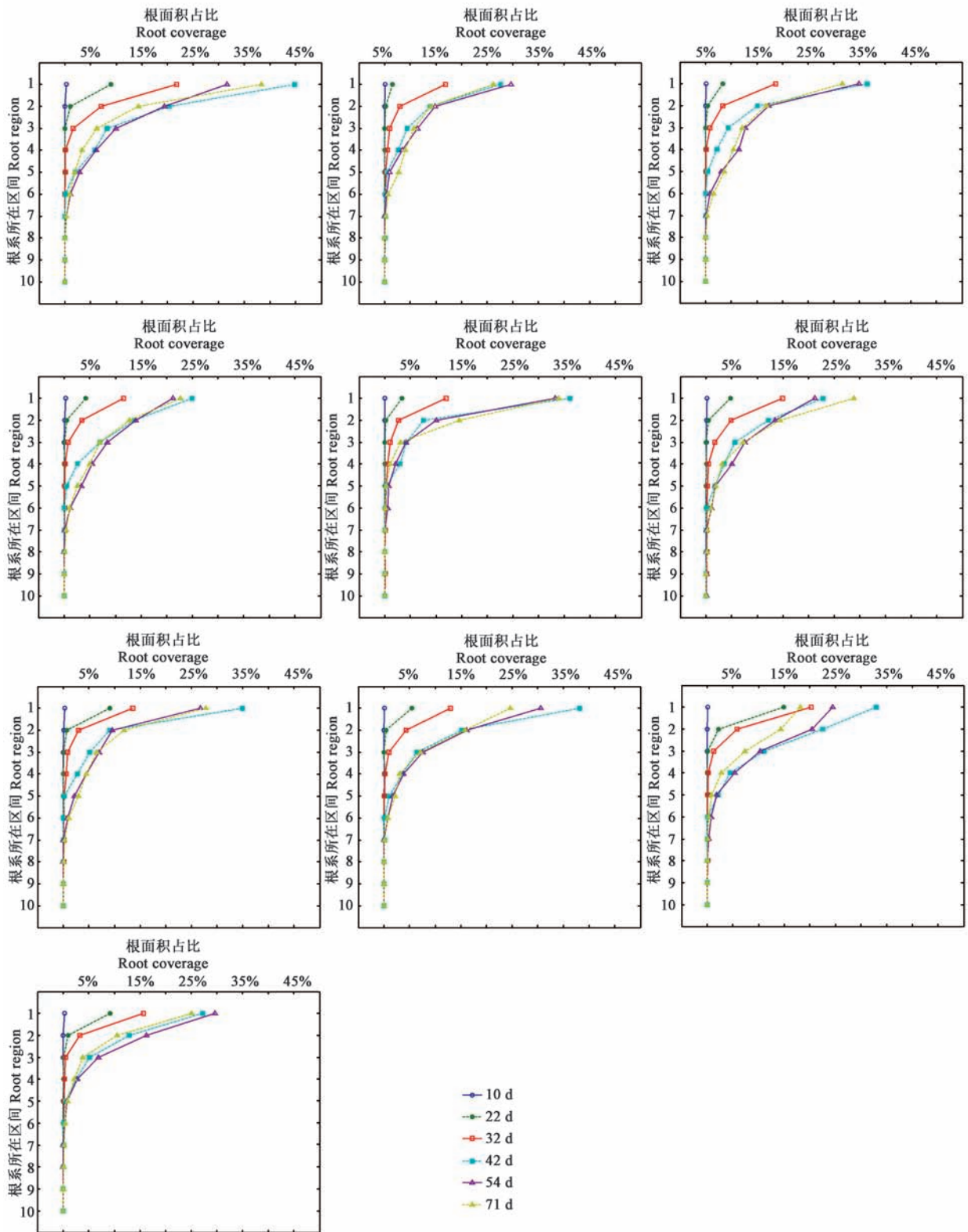


图6 表层根系密度分布

Fig.6 Density distribution of surface roots.

A~J分别为5号、6号、10号、11号、15号、18号、19号、20号、21号和22号品种根系分布图。

A~J shows roots coverage of 5, 6, 10, 11, 15, 18, 19, 20, 21 and 22 varieties, respectively.

系的相关性状,最终可用于分析不同水稻品种根系的生长和结构。虽然该方法中环境温度与真实的地下土壤环境温度相比还是有一定的差距。但是与琼脂、结冷胶、琼脂糖平板、透明土壤等其他培养介质相比较而言,本方法与根系真实生长环境更为接近,获取的性状具有更好的可靠性。实验中最终得到了 10 个品种的水稻表层根系相关性状参数,包括根系总面积、不同深度根系面积及密度、质心位置、最大扎根区域、地上部分面积和产量。本实验方案可以为以后的水稻根系研究提供参考,为发展水稻根系表型的自动化、高通量测量平台做铺垫。但本方案也存在一些不足,比如缺少田间竞争、容器会限制根系生长、实验样本较少,根系图像分割有待进一步改进等。

参 考 文 献

- [1] 袁隆平. 杂交水稻超高产育种[J]. 杂交水稻, 1997, 12(6).
Yuan L P. Hybrid rice breeding for super high yield [J]. Hybrid Rice, 1997, 12(6).
- [2] Zhang Q. Strategies for developing green super rice [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, 104(42): 16402-16409.
- [3] Foy C D. Soil Chemical Factors Limiting Plant Root Growth [M]. New York: Springer, 1992, 97-149.
- [4] Shaw B T. Soil physical conditions and plant growth [J]. Soil Sci., 1952, 74(3): 264.
- [5] Rovira A D. Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms [J]. Ecol. Soil-borne Plant Pathogens, 1965, 1: 170-186.
- [6] Russell R S. Plant Root Systems: Their Function and Interaction with the Soil [M]. UK: McGraw-Hill Book Company Limited, 1977.
- [7] Duan L, Yang W, Bi K, *et al.*. Fast discrimination and counting of filled/unfilled rice spikelets based on bi-modal imaging [J]. Computers Elect. Agric., 2011, 75(1): 196-203.
- [8] Duan L, Yang W, Huang C, *et al.*. A novel machine-vision-based facility for the automatic evaluation of yield-related traits in rice [J]. Plant Methods, 2011, 7(1): 44.
- [9] Huang C, Yang W, Duan L, *et al.*. Rice panicle length measuring system based on dual-camera imaging [J]. Computers Elect. Agric., 2013, 98: 158-165.
- [10] Yang W, Xu X, Duan L, *et al.*. High-throughput measurement of rice tillers using a conveyor equipped with X-ray computed tomography [J]. Rev. Sci. Instrum., 2011, 82(2): 025102.
- [11] Araus J L, Cairns J E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier [J]. Trends Plant Sci., 2014, 19(1): 52-61.
- [12] Finkel E. With 'phenomics,' plant scientists hope to shift breeding into overdrive [J]. Science, 2009, 325(5939): 380-381.
- [13] Furbank R T, Tester M. Phenomics - technologies to relieve the phenotyping bottleneck [J]. Trends Plant Sci., 2011, 16(12): 635-644.
- [14] Houle D, Govindaraju D R, Omholt S. Phenomics: the next challenge [J]. Nat. Rev. Genetics, 2010, 11(12): 855-866.
- [15] Yang W, Duan L, Chen G, *et al.*. Plant phenomics and high-throughput phenotyping: Accelerating rice functional genomics using multidisciplinary technologies [J]. Curr. Opin. Plant Biol., 2013, 16(2): 180-187.
- [16] 李维炯. 测定根生物量的简便方法——土钻法[J]. 耕作与栽培, 1984, 6: 23.
- [17] Hendrick R L, Pregitzer K S. Applications of minirhizotrons to understand root function in forests and other natural ecosystems [J]. Plant Soil, 1996, 185(2): 293-304.
- [18] 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 Physiol., 2010, 152(3): 1148-1157.
- [19] Clark R T, MacCurdy R B, Jung J K, *et al.*. Three-dimensional root phenotyping with a novel imaging and software platform [J]. Plant Physiol., 2011, 156(2): 455-465.
- [20] French A, Ubeda-Tomás S, Holman T J, *et al.*. High-throughput quantification of root growth using a novel image-analysis tool [J]. Plant Physiol., 2009, 150(4): 1784-1795.
- [21] Downie H, Holden N, Otten W, *et al.*. Transparent soil for imaging the rhizosphere [J]. PLoS ONE, 2012, 7(9): e44276.
- [22] Klinger T. Image Processing with LabVIEW and IMAQ Vision [M]. Prentice Hall Professional, 2003.
- [23] Lita I, Visan D A, Cioc I B. LabVIEW application for movement detection using image acquisition and processing [A]. In: Proceeding of Design and Technology in Electronic Packaging (SIITME), 2010 IEEE 16th International Symposium [C]. 2010, 225-228.
- [24] Yang W N, Guo Z L, Huang C L, *et al.*. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice [J]. Nat. Commun., 2014, 5:5087.
- [25] Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms [J]. Automatica, 1975, 11(285-296): 23-27.
- [26] Kapur J N, Sahoo P K, Wong A K C. A new method for gray-level picture thresholding using the entropy of the histogram [J]. Computer Vision Graphics Image Process., 1985, 29(3): 273-285.
- [27] Ohta Y I, Kanade T, Sakai T. Color information for region segmentation [J]. Computer Vision Graphics Image Process., 1980, 13(3): 222-241.
- [28] Cheng H D, Jiang X H, Sun Y, *et al.*. Color image segmentation: Advances and prospects [J]. Pattern Recognition, 2001, 34(12): 2259-2281.
- [29] Meyer G E, Neto J C. Verification of color vegetation indices for automated crop imaging applications [J]. Computers Elect. Agric., 2008, 63(2): 282-293.

(责任编辑:温小杰)