

基于热红外成像和断根修复算法的玉米根系表型检测方法

卢伟^{1*}, 韩钊¹, 蹇兴亮¹, Zhou Ji², 姜东³, 丁艳锋³

1. 南京农业大学工学院/江苏省现代设施农业技术与装备工程实验室, 江苏 南京 210031; 2. John Innes Centre, Earlham Institute, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, 英国; 3. 南京农业大学作物表型组学交叉研究中心, 南京, 210014

摘要 针对土壤遮挡时根系图像信息不全的问题, 本文提出一种热红外成像根系表型检测方法, 结合 Criminisi 改进算法实现根系图像信息的增强和修复, 并研究玉米根系表型与种子活力之间的关系。首先, 设计一种适应于玉米根系构型的环形双层石英培养装置迫使玉米根系贴壁生长, 分别将老化 0d, 1d, 3d, 6d 的玉米种子种植在环形培养装置中。基于水和土壤比热容具有显著差异的特点, 利用水对玉米苗根茎进行滴灌, 并通过热空气对培养装置中的玉米根系进行短时热激励, 再用红外热像仪采集根系红外热像, 利用土壤与根土间隙水流温度的差异实现土壤遮挡处根系的热成像。其次, 对预处理后的根系热像, 进行端点和最佳匹配判定, 并利用 Criminisi 改进算法对红外热像中的断根连接, 实现根系热红外图像的修补。最后, 利用以上方法分别对不同老化天数的玉米种子幼苗进行根系表型检测验证。结果表明, 所提出的热红外成像方法可有助于土壤遮挡处根系的表型图像信息增强, 比彩色图像提取的根系表型参数精度提高约 0.5%~10%。玉米种子老化 1d 后其根系表型参数总根数 (RTL) 和总根长 (RTN) 未见明显差异, 但老化 3d 和 6d 的种子其根系表型参数具有显著差异, RTL 减少 20%-35%, RTN 减少 10%-55%, 反映了玉米种子长时间老化后其活力存在显著下降。不同老化天数的玉米根系表型参数 RTN 和 RTL 均与老化天数呈显著负相关, 可作为种子活力的重要指标参数, 其中, 种子根系 RTN 参数对老化更为敏感, 更能够直观反映种子的活力水平, 老化 1d 和 3d 的种子发根与未老化种子相比均推迟 1d; 老化 6d 的种子其发根则推迟 2d, 且后续根系发育一直迟缓。本文所提的基于热红外成像的根系表型检测结合 Criminisi 改进算法的根系表型检测方法, 可用于作物根系表型高通量无损检测, 具有广阔的应用前景。

关键词 根系表型; 热红外成像; 图像修复; 种子
中图分类号: S513 文献标志码: A

引言

全球人口持续增长, 预计到 2050 年, 人类对粮食作物的需求将翻一番^[1]。玉米是世界上三大谷物之一, 不仅可以用于直接食用, 还可以用作动物饲料和制造玉米乙醇、玉米油、玉米淀粉和玉米糖浆, 提高玉米的产量首先需要筛选优质的种子。玉米种子老化劣变后的重要表型信息之一是玉米根系发育的迟缓。根系具有吸收水分及土壤中植物所需的矿物质、固持植物体等功能^[2], 是植物体生长的重要养分来源, 因此通过玉米根系表型进行玉米种质的评价具有重要意义^[3]。

土壤中根系表型无损检测由于受到土壤的影响, 一直是近年来研究的热点和难点。目前, 针对土壤中根系表型检测, 最传统且最直接的方法为挖掘法, 又分为直接挖

掘法和保护挖掘法^[4], 挖掘法会破坏根系原有的三维形态和生长环境, 对根系有较为严重的损伤和影响, 且还需清洗等复杂后续处理, 费工费时。随后出现的土壤核、土柱管等方法可保留土壤根系原状, 但存在劳动密集、耗时、有损的问题。根管法可对作物根系表型进行原位检测, 但仅能检测作物根系的部分表型信息, 且根管法本身就对作物生长存在一定的影响。为实现根系表型信息的原位、无损探测, 水培法、凝胶培养法^[5]等被提出, 借助三维扫描和成像技术^[6]对根系进行全局检测, 且具有较高精度, 但人工培养基与土壤基质有本质差别, 难以反映作物在土壤中的根系表型情况。

近年来, 核磁共振成像技术与 X 射线断层扫描^[7]被应用于根系表型研究, 可对土壤中根系的表型信息进行

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (11604154), 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20181315), 江苏省农机三新工程项目 (SZ120170036), Asia Hub NAU-MSU 联合研究项目 (2017-AH-11), 扬州市重点研发计划 (现代农业)(YZ2018038)

作者简介(通信作者): 卢伟 (1978-), 男, 博士, (副教授, 硕导), 主要研究方向为机器人传感与控制技术、无损检测技术, Email: njjaurobot@njau.edu.cn

快速、精确测量,但仪器价格昂贵且长期测量对作物根系具有一定的伤害和影响。为实现根系图像尽可能多的信息采集,扁平透明的培养皿被用于根系表型成像研究^[8],其成本较低且检测速度快,可应用于作物根系表型的高通量检测^[9],但是根系容易受到土壤的遮挡造成根系图像的断裂和不完整。但总体来看,基于图像的根系表型检测技术具有成本和速度的优势,适用于作物根系表型检测的广泛应用。

红外成像技术由于可以检测不同物质的温度和热学特性,因此,广泛应用于工业质检、辅助医疗^[10]、食品检测等领域^[11],在农业方面^[12],Leinonen 等利用热成像仪获取干旱胁迫下葡萄树的冠层温度从而估测气孔导度,并通过热红外成像检测早期侵染性病害等。

本文根据水与泥土比热容具有较大差异的特点,首先设计双层圆柱形培养装置使得根系贴壁生长以获取较完整的根系直观图像;再采用热冲激结合热红外成像方法获取玉米根系的增强图像;最后通过端点连接算法进行根系的修复,得到较为清晰完整的根系热红外图像,并基于根系热红外图像表型信息进行不同老化程度玉米种子的根系发育比较研究。

1 方法

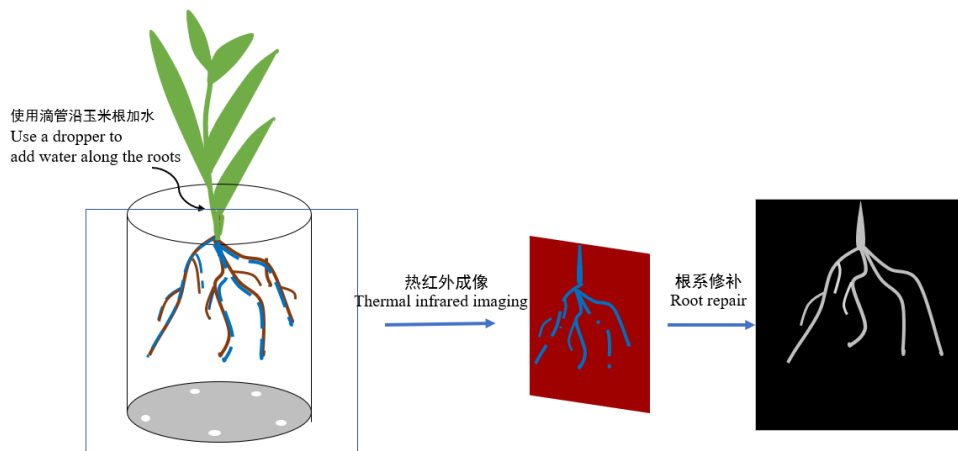


图 1 根系热红外图像采集

Fig.1 Thermal infrared root image sampling

1.2 图像预处理

本文依次采用小波包去噪、二值化、膨胀以及图像细化等预处理方法,实现热红外图像噪声的滤除和玉米根系图像微小断点的连接。并通过细化算法抽出根系热红外图像的骨架。

1.3 端点判定

经预处理后根系图像中玉米根系像素点为 1,土壤像素点为 0。先检测每个根系像素点周围的 8 个像素,根据

1.1 热红外成像检测

1.1.1 热红外图像采集装置

热红外成像系统包括热红外成像仪、移动手机等硬件装置。实验选用 SEEK 热红外成像仪(型号:COMPACT PRO),该仪器红外分辨率为 320*240,在工作波长范围为 7.5~14 μm ,测温范围为-40 $^{\circ}\text{C}$ ~330 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.1.2 热红外成像检测方法

热红外成像是一种无损检测技术,比 0.78 μm 长的电磁波位于可见光光谱红色以外,称为红外线,其中波长为 2.0~1000 μm 的部分称为热红外线。自然界中一切物体都可以辐射红外线,因此利用探测仪测量目标本身与背景间的红外线差(温差)可以得根土清晰的热红外线图像。干土壤的比热容为 0.84 J/(kg $^{\circ}\text{C}$),水的比热容为 4.2 J/(kg $^{\circ}\text{C}$)。根据土壤与根系比热容的差异,即水的吸热和散热能力比土壤好的特性,采集图像时使用滴管沿着玉米茎滴灌自来水,由于土壤与根系之间有较大缝隙,土壤本身压实度较高,水会沿根系走向流动且主要集中在根系周围。在空气加热激励时,流动水吸热能力更强,根系周围会明显比土壤温度低,温度分布不同使得热成像图像中植物根系与土壤有明显的区分,另外培养装置选择高纯石英玻璃,材质耐热且热红外成像仪可透过容器壁采集热红外图像。

判定条件,辨别端点和分叉点。判定规则如下(图 2)。

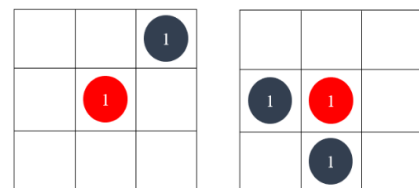


图 2 端点和交叉点判定规则

Fig.2 Determination rules of the endpoint and junction point

端点判定规则: 待定像素点周围八个方向的像素点

有且仅有一个像素为 1，则判为端点。

交叉点判定规则：待定像素点周围的八个方向上像素点为 1 的点与中心点连线的最大夹角小于 135° ，则判为交叉点。

1.4 最佳匹配对确定

在所有端点和交叉点确定后，选取一端点并分别测量该点与其它所有点的欧式距离，选择与该点最近欧氏距离 d_{min} 的点为最佳匹配点，两者形成最佳匹配对。以最佳匹配对两点连线反方向分别外延 $d_{min}/2$ ，以此连接线为中心、 d_{min} 为宽度标记绿色矩形框用于后续端点连接，如图 3 所示。

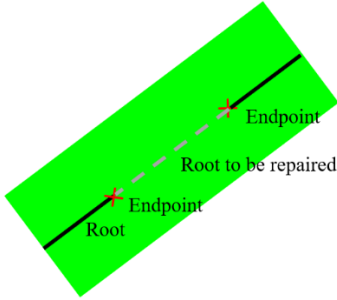


图 3 最佳匹配对修复区域

Fig.3 Area to be repaired for best matching points

1.5 Criminisi 改进算法

1.5.1 优先权计算

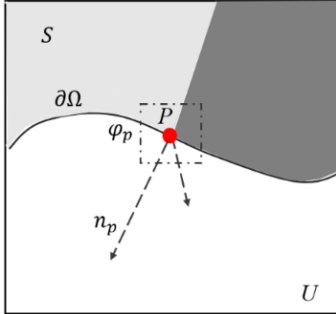


图 4 Criminisi 算法符号示意图

Fig.4 Criminisi algorithm symbolic diagram

计算优先权是整个算法的关键，其目的是决定图像的修补顺序，即令图像的线性结构得到传播，使得边界信息互相连通。优先权计算由 $C(P)$ 和 $D(P)$ 两项决定，其中 $C(P)$ 为以 P 为中心的带修补块中原图的像素所占的比重； $D(p)$ 是边界在 p 处的梯度法向量 np 与完好区域的边缘梯度向量 v_p 的乘积。针对传统 Criminisi 算法修复过程中 $C(p)$ 急剧下降的问题。本文引入影响因子 γ ，服从：

$$\gamma \rightarrow \gamma(x) = Z(i) \quad \gamma \in [0,1] \quad (1)$$

其中， $Z(i)$ 为对数函数。

改进后的置信度公式为：

$$P = \gamma D(p) + (1 - \gamma) C(p) \quad (2)$$

1.5.2 搜索匹配块

当目标区域边界上所有修复块的优先级都计算完成后，系统采用随机搜索、选取最佳匹配模板 ψ_p 。首先利用 SSD 原则计算区域内像素之间的颜色差距，公式为

$$SSD = \sum \left(\begin{array}{l} (R_p - R_q(P))^2 \\ + (G_p - G_q(P))^2 \\ + (B_p - B_q(P))^2 \end{array} \right) \quad (3)$$

其中， R 、 G 、 B 分别表示目标块内像素的 RGB 三原色。通过公式寻找颜色差距最小的像素块，确定最佳匹配方式的大范围，并不断缩小范围，找到与最大优先权值的修复块差距最小的像素块，即为最相似匹配块，使用其对修复块进行更新，如公式 4 所示。

$$f(\varphi\hat{q}) = arg \min d(\varphi\hat{p}, \varphi_q) \quad \varphi_q \in \varphi \quad (4)$$

1.5.3 置信度的更新

经过最佳匹配块的填充，待修补区域参数由未知变为已知，该区域的置信度得到更新。成为接下来修复的依据，即一次修复完成。更新公式为：

$$C(p) = C(q) \quad (5)$$

此时，边界重新划分，并重复 1.5.1~1.5.3 步骤，直到目标区域被填充完毕后输出图像。

整体算法流程如图 5 所示。

2 实验部分

2.1 实验材料和设备

2.1.1 玉米种子老化处理

将玉米种子置于纱网袋中，薄层平铺放于老化箱中网架上，以相对湿度 90%、温度 40°C 的条件进行人工加速老化处理，老化处理时间分别为 0d（对照）、1d、3d、6d 的处理，老化结束后将玉米种子取出，风干至原质量。

2.1.2 环形植物培养装置

基于以往研究、并结合植物根系空间圆柱伸展特性，本文采用双圆柱环形透明结构的培养装置。培养装置是将两个半径不同但高度相同的石英玻璃圆筒同心嵌套，底部与一打有漏水孔的底座固装，两圆柱夹层装入土壤并种植不同老化时间的玉米种子。此圆环形结构兼顾玉米根系的构型特征同时可迫使根系贴近玻璃，便于成像。

2.2 热红外图像采集过程

2.2.1 种子预处理

实验选用 2018 年收获、发芽率在 85% 以上苏玉 41 玉米种子，玉米种子用 70% (v/v) 乙醇冲洗 30s，移入 5% 次氯酸钠溶液中静置 10min，再用无菌水冲洗三次后浸泡，随后再浸于 40°C 的水中 12 小时，最后种植于环形培养装置中。种子培养在 $25^\circ\text{C} \sim 28^\circ\text{C}$ 的温室内，培养过程中平均 5 天浇一次水。

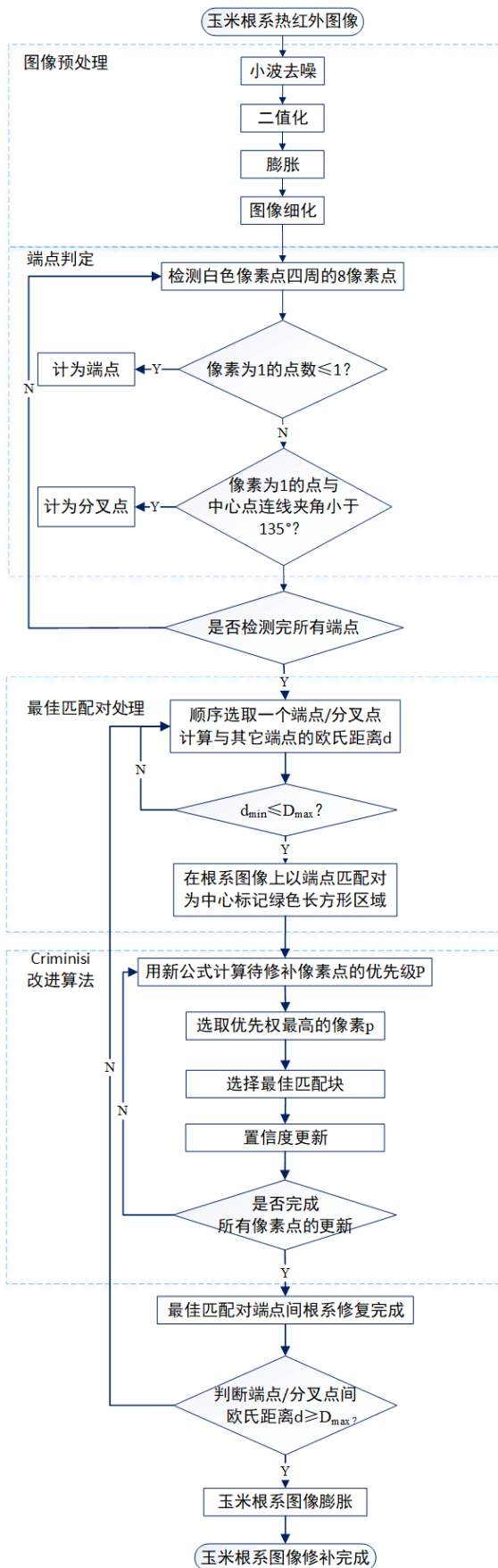


图 5 根系热红外图像修补算法流程图

Fig.5 Root thermal infrared image repairing algorithm flow chart

2.2.2 采集过程

将植物容器置于 20°C 的房间内，使用滴管向玉米茎处滴灌 20°C 自来水，随后通过 350°C 热空气立即加热冲激 3s，根系与土壤均匀受热，在加热同时利用热红外成像仪拍摄根系温度变化情况，截取最优效果图，即得到根系热红外图像。

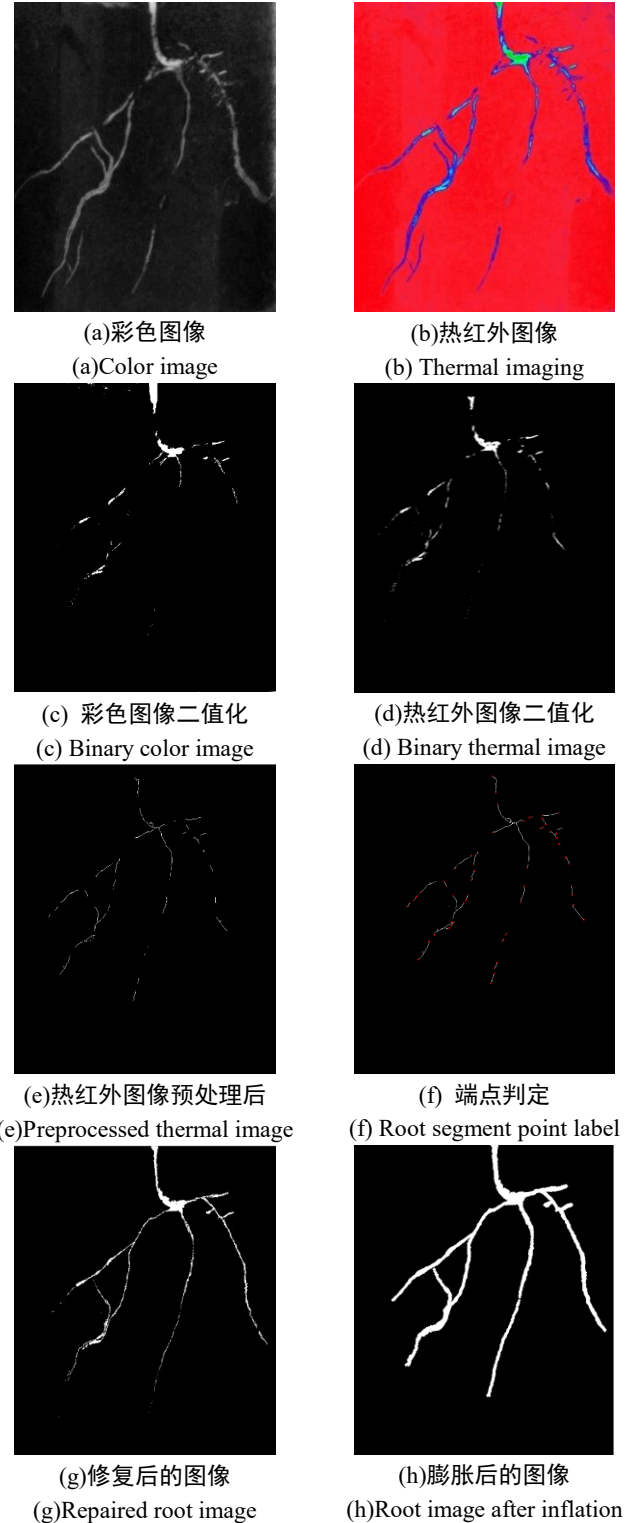


图 6 玉米根系表型修补过程图

Fig. 6 repair process of maize root phenotype

2.3 玉米根系表型信息分析

种子幼苗根系表型信息能直观反映种子活力，与谷物产量具有显著相关性^[13]。因此，利用所提出的 Criminisi 改进算法增强并提取玉米根系热红外图像中的根系表型参数，总根数 RTN (Root Total Number)、总根长 RTL (Root Total Length) ^[14]，进行作物根系表型检测分析。老化 0d, 1d, 3d 的玉米种子分别种植在环形培养装置里，记录生长 10d 的热红外图像和彩色图像，提取根系表型参数如表 1 所示。

Table 1. Thermal infrared image, color image and real corn root phenotypic information comparison

表 1 热红外图像、彩色图像与实际玉米根系表型参数对比

Root phenotypic parameters	Color image	Thermal infrared image	Actual value	Color error	Thermal infrared error
RTN (0 d)	10	9	9	11%	0%
RTN (1 d)	9	9	9	0%	0%
RTN (3 d)	10	8	8	20%	0%
RTL (0 d)	110.2	111	110.7	0.45%	0.27%
RTL (1 d)	96	102.1	102.3	6.1%	0.19%
RTL (3 d)	78.6	79.2	79.8	1.5%	0.75%

可见，本文提出的热红外图像结合 Criminisi 改进算法提取的根系信息的准确性明显高于彩色图像提取的信息。热红外图像提取的 RTN, RTL 信息的准确率可达 99% 以上，而彩色图像因土壤遮挡，存在不连续根，准确率与土壤遮挡程度呈现负相关，当遮挡程度大时，长根分段，RTN 测量值增大，RTL 测量值减小，误差值变大。

此外，一段时间的玉米种子根系表型参数，如 RTN、RTL 能够直观表达根系的生长速度，反映种子活性。采用本文方法，连续记录老化 0d, 1d, 3d, 6d 的玉米种子生长 10d 的根系表型参数如图 7 所示。可见，没有老化活力高的种子其根系长度与生长时间呈近似线性关系，老化 1d 的种子其根系长度与生长时间线性度降低，老化 3d 和 6d 的种子其根系长度与生长时间分别呈二次多项式和三次多项式关系。总体上根系长度与老化时间呈负相关，且随老化天数的增加生长显著迟缓。

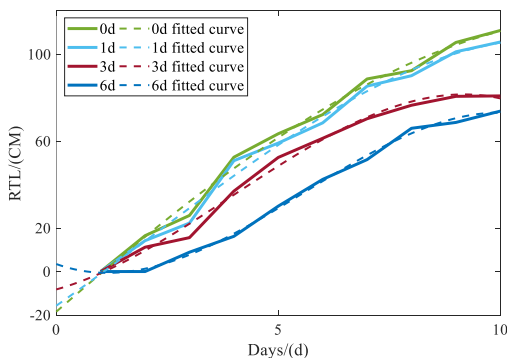


图 7 不同老化程度种子幼苗热红外成像总根长变化图

Fig. 7 Root length development of different aging days Maize seedlings using thermal infrared imaging method

不同老化天数的玉米种子根系数量与生长天数的关系如图 8 所示。未老化的玉米种子根系数量与生长天数之间均呈近似线性关系，根数从第 2d 开始持续增加。老化 1d 和 3d 的玉米种子根数从第 3d 开始增加，总体趋势相近，但在第 4d 时老化 1d 的玉米种子根数增长迅速，明显高于老化 3d 的种子。老化 6d 的玉米种子根系数目从第 4d 开始增加，且后续增加缓慢。总体上，老化后的种子根系数目均少于未老化的种子。

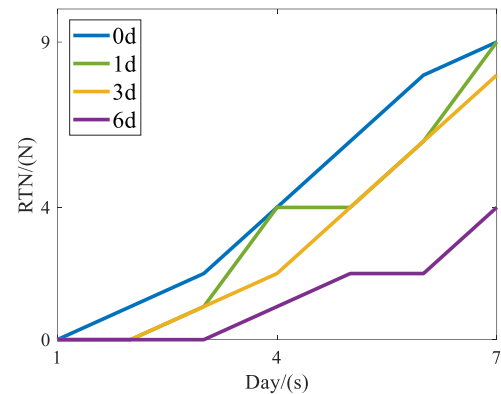


图 8 不同老化程度的热红外成像图根数目统计图

Fig.8 Root number statistics of thermal infrared imaging images with different aging degrees

3 结果与讨论

土壤中根系的表型信息能够直观反映种子的活力，但由于土壤难以透视，因此，作为高通量的机器视觉难以进行土壤中根系的表型检测。本文设计了狭窄环形圆筒有利于根系的贴壁生长，利用水与土壤比热容差异较大的特性，通过外部短时热激励产生温差，采用热红外成像能够增强根系图像信息，采集到土壤遮盖的部分根系，通过 Criminisi 改进算法能够对玉米根系图像进行修复，提取更精确的根系表型信息。采用脉冲热红外成像提取的玉米根系 RTL 和 RTN 表型参数比彩色图像提取的参数精度提高约 0.5%~10%。

不同老化程度种子的劣变程度不同，在高温高湿中长时间暴露，种子质膜受损，破坏种子质膜的完整性^[15]，其发芽率、发芽势、生活力、种子活力均显著下降^[16]，等位基因数、有效基因数减少，导致遗传多样性也有所下降。本文采用所提的热红外成像和根系修复方法，对不同老化程度 (0d, 1d, 3d, 6d) 的玉米种子其早期幼苗的根系发育进行了研究，表明种子老化 1d 后其根系表型参数 RTL 和 RTN 未见明显差异，但老化 3d 和 6d 的种子其根系表型参数具有显著差异，RTL 减少 20%~35%，RTN 减少 10%~55%，反映了玉米种子长时间老化后其活力存在显著下降。此外，种子根系 RTN 参数对老化更为敏感，更能够直观反映种子的活力水平，老化 1d 和 3d 的种子发根与未老化种子相比均推迟

1d; 老化 6d 的种子其发根则推迟 2d, 且后续根系发育一直迟缓。根系发育的迟缓直接导致作物吸收水分以及各类矿物质能力下降, 植物的抗逆性受损。

4 结论

(1) 本文根据水和土壤比热容差异的特性, 提出通过脉冲加热和热红外成像相结合进行土壤中根系信息增强,

提出基于 Criminisi 改进算法的玉米根系图像断根修复算法, 实验结果表明所提方法的有效性。

(2) 基于本文所提方法, 对不同活力(老化 0d, 1d, 3d, 6d)的玉米种子的早期根系发育进行表型检测, 表明玉米种子早期根系表型信息(RTL、RTN)可有效表达种子的活力水平。

References

- [1] Wang Y Y, Chen Y P. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017.
- [2] Gyssels G, Poesen J, Bochet E, et al. *Progress in Physical Geography*, 2005, 29(2):189-217.
- [3] Meister R, Rajani M S, Ruzicka D, et al. *Trends in plant science*, 2014, 19(12): 779-788.
- [4] Wangenheim D V, Hauschild R, Friml J. *Journal of Visualized Experiments Jove*, 2017, 2017(119).
- [5] Tom J Bechman. *Farm Industry News*, 2019
- [6] Mairhofer S, Zappala S, Tracy S R, et al. *Plant physiology*, 2012, 158(2): 561-569.
- [7] Borisjuk L, Rolletschek H, Neuberger T. *The Plant Journal*, 2012, 70(1): 129-146.
- [8] Basseby B, Samadi N, Panahifar A, et al. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2018, 910: 26-34.
- [9] von Wangenheim D, Hauschild R, Friml J. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2017 (119): e55044.
- [10] Miller J, Morgenroth J, Gomez C. *Urban Forestry & Urban Greening*, 2015, 14(4): 932-940.
- [11] Scarano A, Lorusso F, Di Cerbo A, et al. *Postoperative pain assessment using thermal infrared imaging[J]. Lasers in surgery and medicine*, 2019.
- [12] Maoxing Wen, Liqing Wei, Xiaoqiong ZHuang, Daogang He, Shengwei Wang, Yueming Wang. *Infrared Physics and Technology*, 2018.
- [13] Borianne P, Subsol G, Fallavier F, et al. *Computers and electronics in agriculture*, 2018, 150: 328-342.
- [14] Wen M, Wei L, Zhuang X, et al. *Infrared Physics & Technology*, 2018, 95: 93-99.
- [15] Wang W Q, Møller I M, Song S Q. *Journal of proteomics*, 2012, 77: 68-86.
- [16] Yang J T, Schneider H M, Brown K M, et al. *Journal of experimental botany*, 2019.

Maize root phenotypic detection based on thermal imaging and root gap repair algorithm

LU Wei^{1*}, HAN Zhao¹, JIAN Xingliang¹, ZHOU Ji², JIANG Dong³, DING Yanfeng³

1. College of Engineering, Nanjing Agricultural University/Jiangsu Modern Facility Agricultural Technology and Equipment Engineering Laboratory, Nanjing China 210031

2. John Innes Centre, Earlham Institute, Norwich Research Park, Norwich, UK NR4 7UH

3. Plant Phenomics Research Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing China 210014

Abstract Aiming at the problem of incomplete root image information because of blocking by the soil, the paper proposed a root phenotypic method by using thermal image combined with improved Criminisi algorithm for root image repair, and studied the relationship between the root phenotype and seed vigor. First, an annular double-layer quartz culture device adapted to maize root configuration was designed to push maize roots to grow along the inner wall of the device, and the maize seeds aged 0d, 1d,

3d and 6d were planted in the annular culture device respectively.

Base on the significant difference of heat capacity between soil and water, water was used to irrigate the seedlings along their stems followed by short time hot air thermal excitation, and then infrared thermal images were captured based on the temperature difference between the soil and interstitial water flow around the roots. Secondly, the endpoints of the root thermal images after preprocessed were selected and matched for connecting using improved Criminisi algorithm to repair root image. Finally, different aged-day maize seeds were applied for seeding root phenotyping detection to verify the mentioned method which results shown that the proposed thermal infrared imaging method can help to enhance the root phenotypic image information which improve the precision of phenotypic parameters about 0.5-10% compared with color image. The was no significant difference of Root Total Length (RTL) and Root Total Number (RTN) after 1 d aging, but there were remarkable difference of RTL and RTN after 3 d and 6 d aging which decreased about 20-35% and 10-55% respectively. In general, the maize root phenotypic parameters such as RTN and RTL were significantly negative with the aging-day which can be used as important index parameters of seed vigor. Furthermore, RTN is more sensitive to impress a seed vigor. Root number of 1d/3d and 6d aging days increasing delayed about 1day and 2 day compared with 0 aging-day seeds respectively. The proposed root phenotypic detection method based on the thermal infrared imaging combined with improved Criminisi algorithm for root image repair can be used in root high throughput nondestructive detection which has a broad application prospect.

Keywords Root phenotype; Thermal infrared imaging; Image restoration;seeds