doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.07.006

小麦茎秆截面参数显微图像测量系统

徐胜勇[1]　段宏兵[1]　李东臣[1]　王令强[2]　刘生锐[1]　王怡田[1]
(1.华中农业大学工学院,武汉 430070;2.华中农业大学植物科学技术学院,武汉 430070)

摘要:小麦的抗倒性与其茎秆截面显微结构密切相关,茎秆微观结构的观测和分析对小麦遗传育种具有重要意义。研究了一种显微图像测量系统,用于精确测量小麦茎秆截面的主要参数。使用计算机、图像采集室、光学显微成像系统等搭建了硬件平台,并开发了算法软件。系统针对茎秆截面的颜色和结构特点,对显微图像进行预处理得到髓腔、厚壁的轮廓,再进行椭圆拟合以计算截面整体、髓腔和厚壁的几何参数。根据维管束结构的一致性,提出了一种具有尺度、平移和旋转不变性的模板匹配方法,用于在目标图像中识别维管束并统计数量。实验表明该自动化测量系统具有高通量和高精确度的优点,在作物重要资源的挖掘和群体遗传等研究中具有重要的价值。

关键词:小麦茎秆;显微图像;测量系统;高通量;模板匹配
中图分类号:TP391.41　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-1298(2017)07-0046-07

Measurement System for Parameters of Wheat Stem Section Based on Microimage Processing

XU Shengyong[1]　DUAN Hongbing[1]　LI Dongchen[1]　WANG Lingqiang[2]　LIU Shengrui[1]　WANG Yitian[1]
(1. *College of Engineering*, *Huazhong Agricultural University*, *Wuhan* 430070, *China*
2. *College of Plant Science & Technology*, *Huazhong Agricultural University*, *Wuhan* 430070, *China*)

Abstract: Lodging resistance of wheat is closely related to its stem section microstructure. Observation and analysis of stem microstructure are of great significance for the genetic breeding. A microscopic image measurement system was studied, which could be utilized to measure the main parameters of the wheat stem section accurately. The equipment including computer platform, image acquisition box and electronic microscopy imaging system etc. was used to build the hardware platform and the algorithm software was developed. According to the characteristics of the stem structure and color, the contours of both mechanical tissue and medullary cavity were obtained using image processing procedures. After then the geometrical parameters of the whole section, medullary cavity and sclerenchyma were calculated by the ellipses fitting. Based on the uniformity of the vascular bundle structure, an original template matching method was proposed. This method was invariant to scaling, translation and rotation, which was used to identify and count the vascular bundle in the target image. It showed that this automated measurement system was of high throughput and high precision. The system will play an important role in both the screening of important crops resources and population genetic research.

Key words: wheat stem; microimage; measurement system; high throughput; template match

引言

在小麦生育中后期,局部或大面积的倒伏严重影响小麦成熟,降低产量和品质。小麦的抗倒性是目前研究中的难点和热点。越来越多的研究表明,作物茎秆的力学特性与其截面显微结构密切相关[1]。小麦茎秆机械组织细胞层数、厚度,维管束数目、面积以及髓腔大小与抗倒性密切相关[2]。决定玉米茎秆抗压强度的主要因素为纤维素含量、木质素含量和单位面积维管束个数[3]。冯素伟等[4]

收稿日期:2016-11-16　修回日期:2016-12-14
基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金项目(2662015PY078、2662015PY009)、国家自然科学基金项目(61503146)和国家大学生创新创业训练项目(201510504059)
作者简介:徐胜勇(1980—),男,讲师,博士,主要从事计算机视觉和农业机器人研究,E-mail:xsy@mail.hzau.edu.cn
通信作者:段宏兵(1969—),男,副研究员,博士,主要从事种植与收获机械研究,E-mail:duanhb@mail.hzau.edu.cn

从小麦的外部形态、内部显微结构及生理性状等方面综合分析小麦茎秆的抗倒伏性，结果发现秆壁较厚，茎秆截面积较大的小麦品种抗倒性较强。王健等[5]对 3 种不同品种的小麦茎秆显微结构进行了分析，认为茎秆外径和壁厚之比、厚壁组织比例、单位面积上大维管束平均数目和纤维素含量是影响小麦品种茎秆机械强度的 4 个主要因素。秸秆理化结构特性不仅与倒伏性能及其综合利用有关，而且其维管束系统担负输送水分、无机盐和有机养料的重要作用，影响产量、品质和养分利用效率等重要农艺性状，重要性不言而喻。但这些茎秆相关性状分析费时费力，严重制约了其遗传改良的研究，急切需要高通量、平行性好、精确度高的自动化分析系统。

当前，使用显微图像分析技术研究微观结构已成为趋势。何春霞等[6]使用 Hitachi S－4800 型扫描电镜（日本日立株式会社）对 3 种表面处理和未处理的麦秸秆试样表面形貌进行观察，探讨酸、碱、水热处理对麦秸秆微观结构的影响。李勇等[7]将脱模方法与显微图像处理结合，实现了微小孔内部轮廓的尺寸形状测量。显微图像分析在生物、农业等领域被广泛应用于特殊细胞的识别，鲁劲松等[8]设计的全自动分析仪可以对细胞 DNA 指数进行测量，并识别和统计突变细胞。张荣标等[9]对采集的圆褐固氮菌微视图像进行预处理和特征提取，并运用支持向量机（SVM）进行识别、分类和计数，获取圆褐固氮菌的浓度。对植物茎秆微观结构的测量和分析也被研究，如 PIECZYWEK 等[10]比较了 3 种不同的基于显微图像分析的植物组织的 5 种几何参数提取方法，使用这些参数化可以建立模拟生物细胞结构的机械特性模型。TING 等[11]使用 X 射线断层扫描仪获取苹果的孔隙率和薄壁组织的结构分布的二维和三维图像，根据图像的形态和纹理特征研究了不同品种苹果的微观组织结构、机械强度、口感的差异。刘杏娥等[12]使用 LEICA CW4000 自动成像系统，采用显微图像分析方法对撑绿杂交竹主要解剖特征进行研究，测量了纤维长度、腔径、双壁厚、长宽比、壁腔比及腔径比的平均值等多种参数。DEVAUX 等[13]使用番茄切片的显微图像，提取和分析果皮组织的纹理和尺寸信息，根据细胞长度统计信息番茄的遗传特性。MUSSEA 等[14]对成熟度不同的番茄进行磁共振成像（MRI），获取不同的图像类型以研究宏观和微观结构变化，识别番茄的空气空间、果皮中的气泡、核心、胎盘等以判定果实的成熟度。实用化的显微图像分析软件系统也被开发，如 DHONDT 等[15]开发的转基因拟南芥叶片图像分析软件，可以在线跟踪观察和分析叶片的尺寸、脉络、管道等性状。PIECZYWEK 等[16]计算显微图像中目标的面积、周长、圆形度、形状粗糙度等参数，并开发了用于苹果组织的细胞和细胞间隙的自动分类软件。小麦的宏观表型性状提取经常被研究，如 SIRAULT 等[17]使用小麦叶片横截面的骨架图像计算平均曲率以描述叶片的卷曲度，以此建立叶片的卷曲倾向和基因变异的规律。但目前在小麦的秸秆显微分析方面，缺乏全面而实用的植物茎秆截面显微图像分析软件。

本文研究一种小麦茎秆截面图像分析系统，基于数字图像处理技术获取茎秆截面显微结构的主要几何参数，包括茎秆截面的整体宽度、厚壁尺寸、髓腔尺寸和大维管束的数量。该测量系统可为客观准确地分析小麦的显微结构与抗倒性之间的关系提供基础参数。

1　材料和方法

1.1　小麦茎秆截面电子显微图像

小麦、水稻等作物茎秆的二级结构可以看作是由许多不同的组织构成的中空管状结构，如图 1 所示为小麦茎秆截面的电子显微图像（放大 20 倍），主要结构包括厚壁机械组织（Sclerenchyma mechanical tissue）、小维管束（Small vascular bundle）、大维管束（Big vascular bundle）、基本薄壁组织（Parenchyma cells）和髓腔（Medullary cavity）。茎秆截面可以分为两部分：由厚壁机械组织和小维管束构成的紧密层；由薄壁组织和大维管束构成的稀疏层。这两部分对小麦茎秆的力学特性贡献不同。在紧密层中厚壁机械组织和小维管束的细胞直径较小、密度高、排列整齐，特别是细胞壁加厚、木质化程度高，这些特点对茎秆的支撑、弯折的物理特性起着决定作用。大维管束和薄壁组织构成的疏松层是茎秆的主要组成部分，其中薄壁细胞占茎秆横截面比例最大，在 60% ~80% 之间，这些细胞的特点是直径大、细胞壁薄，起着连接维管束和厚壁机械组织的作用。本文将使用图像处理技术对茎秆显微图像中的主要组织结构参数进行精确测量。

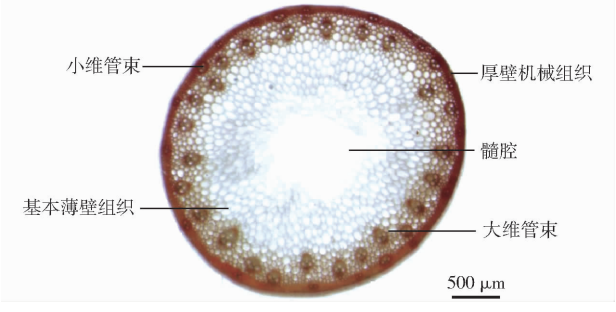
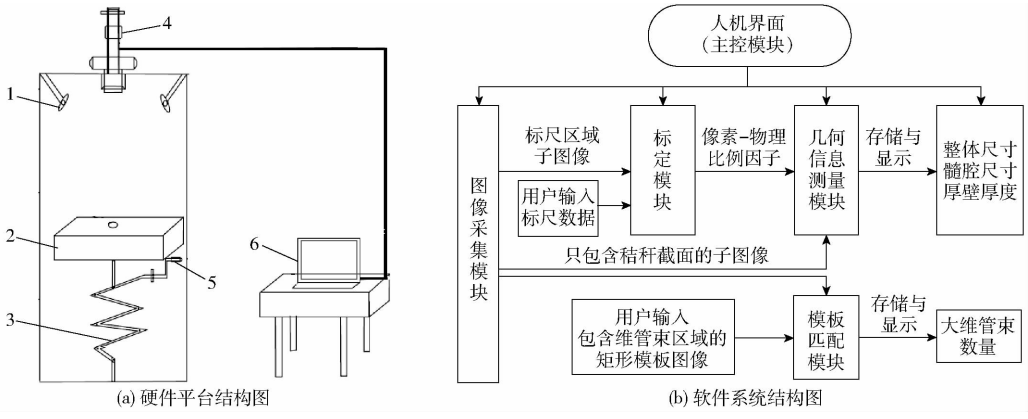


图 1　小麦茎秆横截面模型

Fig. 1　Model of cross-section in wheat stem

1.2 显微图像测量系统整体结构

测量系统结构示意图如图 2 所示。测量系统硬件包括实验平台、光学显微镜成像系统(本文中使用 Coosway CSW－T1000A 型显微测量显示系统,分辨率为 4 140 像素×3 096 像素)、计算机(i5 4200M 2.5 GHz、8 G DDR3 内存、250 G 三星固态硬盘、NVIDIA GeForce GT 755M 显卡)和恒光源图像采集室。图像采集室是一个带侧门的箱体,顶部安装有 LED 灯用于产生稳定的光照条件。光学显微镜通过仪器支架固定在采集室的顶部,镜头垂直向下对准标本。实验员将制作好的茎秆标本放置于升降平台上,启动计算机驱动相机,调节相机镜头使之对焦清晰。软件系统结构图如图 2b 所示,软件系统提供了硬件设备的连接和控制功能、人机界面和算法软件,软件配置为 Windows 10 专业版、VS2013 旗舰版和 OpenCV3.1.0。在人机界面中连接和控制相机工作,拍摄标本的显微图像,并保存为 bmp 格式文件。显微图像分析结果被保存为 txt 文件或输出到人机界面的显示窗口。



(a) 硬件平台结构图 (b) 软件系统结构图

图 2 测量系统结构示意图

Fig. 2 Structure diagram of the measurement system

1. 光源 2. 载玻片 3. 升降平台 4. 光学显微镜 5. 操作窗口 6. 计算机

1.3 信息测量软件模块

1.3.1 整体和髓腔尺寸

显微图像处理中的度量单位是像素,需要转换为物理尺寸单位,本文中为微米(μm)。使用 C++ 编写人工交互的标定程序,标定程序执行流程为:手动输入标尺物理长度 L(本文中为 500 μm);手动选取包含标尺的矩形框,算法将自动检测区域中的直线段,最长直线段的像素个数为 N_0;尺寸标定参数自动被计算并存储,计算公式为

$$C = L/N_0 \tag{1}$$

式中 C——尺寸转换因子,μm/像素,文中计算值为 1.37 μm/像素

茎秆的整体亮度低于背景屏,且处于图像的中心。因此,以图像中心点定义一个边长为 40 像素的正方形子图像,计算灰度平均值再乘以 0.9,作为图像分割的阈值。如图 3 所示为整体和髓腔尺寸计算的算法流程图及分步结果。彩色的电子显微图像被转换为灰度图像,且经过中值滤波去除孤立的噪声

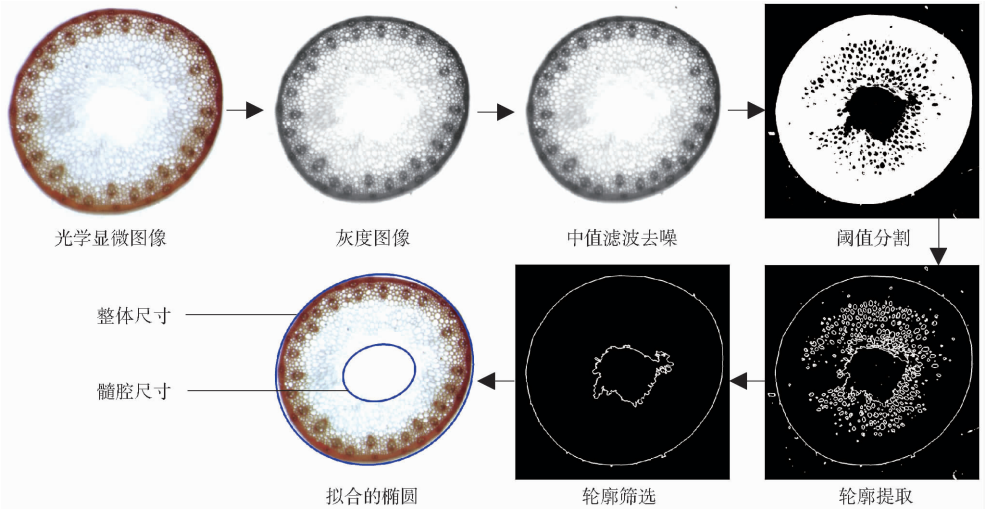


图 3 计算髓腔和整体尺寸的流程图

Fig. 3 Flow chart of geometric dimensioning calculation of medullary cavity and entirety

点，并平滑轮廓的边缘。经过固定阈值分割之后得到一幅二值图像，髓腔区域完全被分离出来。使用 Canny 算子检测二值图像的边缘并搜索二值图像中的轮廓并统计轮廓的长度。显然，髓腔和茎秆截面边缘是长度最大的 2 个轮廓，以此特性筛选出对应的轮廓。髓腔和截面边缘都近似于一个椭圆，对长度最大的 2 个轮廓使用最小二乘法拟合椭圆，将最逼近髓腔和截面边缘的椭圆求出[18]。最后，根据拟合椭圆的参数，长短轴最大的椭圆用于计算整体尺寸，长短轴次之的椭圆用于计算髓腔尺寸。

1.3.2　厚壁厚度

维管束与厚壁组织的整体灰度值接近且紧邻厚壁组织，同时薄壁组织之间存在的间隔组织的灰度值也较小，如果直接进行阈值分割，某些维管束和间隔组织将被错误地分割为厚壁组织，形成内侧的突起，降低厚壁厚度的检测精度，如图 4 红色箭头指向的小图所示。厚壁厚度的算法流程与分步结果如图 4 所示。先对图像使用尺寸为 5 像素 ×5 像素的中值滤波模板，消除孤立的小区域噪声；再使用尺寸为 21 像素 ×21 像素的中值滤波模板，模糊图像以消除间隔组织形成的条纹。使用自适应阈值分割转换为二值图像[19]，厚壁组织被分割为黑色区域，同时粘连有一些维管束区域，形成一些突起。定义一个较大的结构元素（尺寸为 16 像素 ×16 像素、形状为椭圆）对二值图像进行“开”操作，割断厚壁内侧的大部分突起。继而检测图像中的轮廓，而厚壁内外侧边缘形成的 2 条轮廓具有最大长度，依据此规律对轮廓进行筛选，仅保留最长的 2 条轮廓。厚壁的内外侧边缘都接近于一个椭圆，使用最小二乘法拟合椭圆。厚壁厚度的计算公式为

$$D = \sqrt{(a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \tag{2}$$

式中　a_1、a_2、b_1、b_2——长短轴最大的 2 个拟合椭圆的长短轴长度

1.4　基于模板匹配的维管束数量统计

大维管束作为小麦茎秆的重要单元分布在薄壁细胞中，里面由韧皮部、木质部、导管、筛管组成，外面由部分厚壁细胞包围。同类作物的维管束结构非常相似，如小麦茎秆的维管束，从宏观上观察其外形是圆形，中心区域有 3 个小气泡，被网状薄壁组织环绕。模板匹配是一种常用的模式识别方法，用于在待检图像 $I(x,y)$（分辨率为 M 像素 $\times N$ 像素）中识别出与基准模板图像 $T(x',y')$（分辨率为 m 像素 $\times n$ 像素）相似度高的区域[20]。模板匹配适用于具有固定结构的维管束的识别。模板匹配算法中，归一化平方差匹配法具有很好的匹配速度和精度，该算法对相似度的描述为

$$R(x,y) = \frac{\sum_{x',y'} (T(x',y') - I(x+x',y+y'))^2}{\sqrt{\sum_{x',y'} T(x',y')^2 \sum_{x',y'} I(x+x',y+y')^2}} \tag{3}$$

式中　(x,y)——源图像中任意一个像素点的坐标

(x',y')——模板图像中任意一个像素点的坐标

$R(x,y)$——两幅图像的相似度

$R(x,y)$ 越小，表示差异越小，匹配程度越高。

维管束的结构相似，但大小、姿态各不相同。为此提出了一种自适应模板匹配方法，即从一幅显微彩色图像中截取一个包含维管束的矩形子图像，作为模板基准图像，再对模板图像进行旋转和缩放，构成一个模板图像集合，再进行模板匹配。算法原理与分步结果如图 5 所示。详细步骤如下：

（1）创建模板图像集合

①旋转模板图像，每 α（α 可以被 360 整除）旋转一次，得到 $360/\alpha$ 个模板。②缩放 $360/\alpha$ 个模板图像，缩放比例范围为 $[\lambda_{min},\lambda_{max}]$，$\lambda_{min}$、$\lambda_{max}$ 分别是

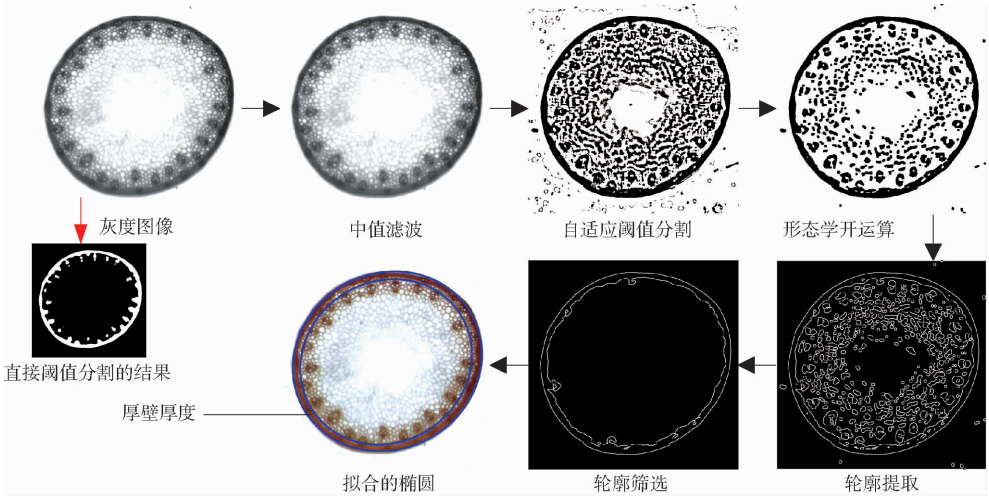


图 4　计算厚壁厚度的流程图

Fig. 4　Flow chart of depth calculation of sclerenchyma

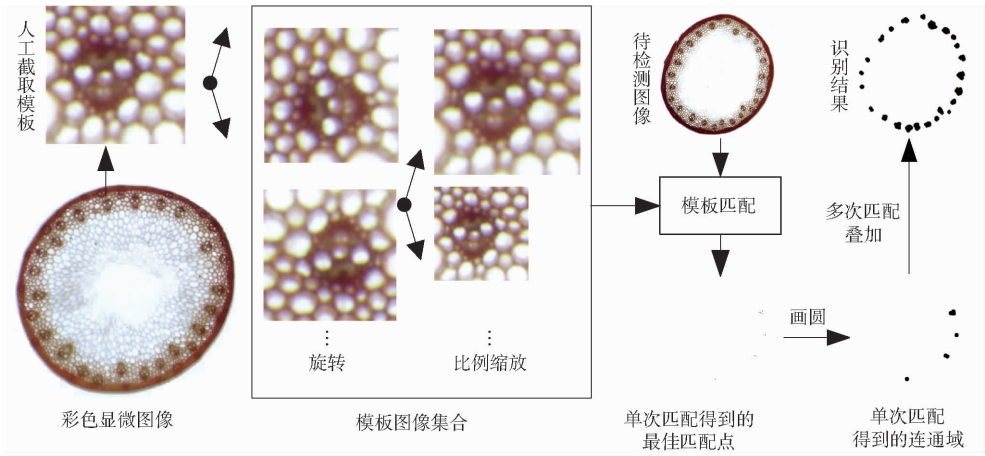


图 5 维管束数量统计流程图

Fig. 5 Flow chart of count of vascular bundle

最小和最大缩放比例,缩放幅度一般为 10%,此时得到的模板图像集合数量为$\frac{3\,600}{\alpha}(\lambda_{\max}-\lambda_{\min}+1)$。

(2)进行模板匹配

①使用第 1 幅模板对待检图像进行模板匹配,从 $I(x,y)$ 的原点(0,0)开始,切割一块从(0,0)至(m,n)、尺寸为 m 像素 × n 像素的临时图像,用式(3)计算相似度,记为 $f_{(0,0)}$;切割从(0,1)至(m,$n+1$)的临时图像,计算相似度,并记为 $f_{(0,1)}$;重复,直至得到 $f_{(M-m,N-n)}$。②创建一个空白图像 $G(x,y)$(分辨率为 M 像素 × N 像素,每个像素点的灰度设置为 255),对全部相似度构成的集合 $\{f_{(0,0)},\cdots,f_{(M-m,N-n)}\}$ 按像素大小进行排序,取匹配程度最高的 H 个 f(H 取值一般为 8 ~ 10),将 $G(x,y)$ 中对应的像素坐标的灰度置为 0。③使用第 2 幅模板对图像 $I(x,y)$ 进行匹配,重复步骤① ~ ③。

(3)维管束数量统计

①将 $G(x,y)$ 中灰度为零的像素点扩展成一个实心圆(半径一般为 3 ~ 5 像素),将相距较近的最佳匹配点聚集为一个连通域,对应于一个大维管束。②检测连通域的个数,即为维管束数量。

2 实验结果与分析

2.1 几何参数测量实验

为评价本文算法的有效性和准确性,测量了 10 个小麦茎秆显微图像样本,将人工测量结果与本文算法测量结果进行比较。使用画图工具打开显微图像,以 30°为间隔在茎秆截面上选取测量点,取 12 次的平均值作为真实值,计算茎秆的髓腔尺寸、整体尺寸和厚壁厚度。使用均方根误差(RMSE)和平均相对误差(MRE)来描述测量精度。R^2 是决定系数,实验结果如表 1 所示。从结果看,髓腔尺寸的 RMSE 和 MRE 分别为 20.85 像素(28.56 μm)和 6.0%;整体尺寸的 RMSE 和 MRE 分别为 20.63 像素(28.26 μm)和 1.8%;厚壁厚度的 RMSE 和 MRE 为 5.43 像素(7.44 μm)和 14.3%。结果表明,本文的自动测量系统具有较高的精度。厚壁厚度测量结果误差较大,归因于粘连在厚壁上的小维管束未被彻底分离,在厚壁内侧形成突起而导致测量结果偏大。

表 1 几何尺寸测量结果

Tab. 1 Results of geometric dimensioning measurement

测试项目	测试图像数量	R^2	RMSE/像素	MRE/%
髓腔尺寸	10	0.964 3	20.85	6.0
整体尺寸	10	0.977 8	20.63	1.8
厚壁厚度	10	0.836 1	5.43	14.3

2.2 维管束数量识别实验

维管束的识别是自动测量系统的难点。模板图像集合中的每一个模板都要与待检图像进行模板匹配,因此模板图像的数量(由模板式样、缩放级数、旋转角 3 种因素共同决定,见 1.4 节)直接影响算法的执行速度。此外,模板匹配是逐个像素进行的,图像的分辨率对算法的执行速度影响很大。人工统计 10 幅显微图像中维管束的总数量为 243 个。为了直观地展示不同因素对算法性能的影响,以图像分辨率为 518 像素 ×387 像素(原图像的 1/8)、模板式样为 1、缩放级数为 7、旋转角为 2°时,10 幅测试图像的平均真实执行时间(9.5 s)为基准时间,将算法执行时间除以 9.5 s 得到耗时比。实验中,算法的执行时间包含了图像压缩时间。以下实验结果均是在仅改变某一个参数、其他参数不变的条件下获得的:

(1)模板数量对算法性能的影响

从显微图像的不同位置处人工截取包含维管束的矩形子图像,得到多个不同式样的模板图像。实验结果如图 6a 所示,模板式样的增加对算法准确率的提升基本没有作用,但耗时会同比例增加。由此

可见，对于同一个品种的农作物，只需一个模板式样即可保障维管束数量的识别准确率。

实验中设定的缩放比例变化幅度为 0.1。测试了 12 级缩放（缩放比例为 0.4 ~ 1.5）到 1 级缩放（不缩放）对性能的影响，结果如图 6b 所示。实验结果表明，缩放级数和算法耗时成近似的正比例关系，级数越大，耗时越长。缩放级数大于 7 时，检测精度保持 100% 不变；缩放级数小于 7（缩放比例为 0.6 ~ 1.2）时，检测精度下降。

实验中设定旋转角变化幅度为 0.5°，按此变化幅度，旋转角从 0.5°起，依次递增至 6°，测试了 12 级角度变化对性能的影响，结果如图 6c 所示。实验结果表明，旋转角和算法耗时成反比例关系，旋转角越大，耗时越短。旋转角小于 2°时，识别率保持不变；旋转角大于 2.5°时，识别准确率开始下降；旋转角大于 3°时，识别准确率急剧下降。

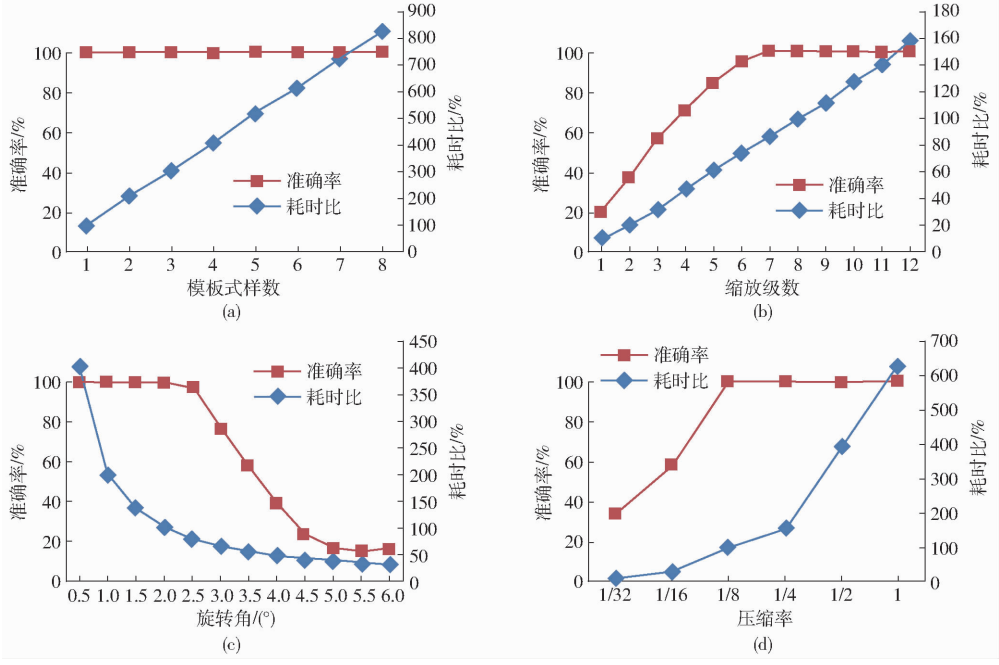


图 6　维管束数量统计实验结果

Fig. 6　Results of vascular bundle counting

（2）图像分辨率对算法性能的影响

图像压缩率指经过重采样，图像的长和宽分别降低为原来的百分比。测试了不同图像压缩率下本文算法的执行时间，结果如图 6d 所示。实验结果显示，算法耗时与图像分辨率有近似的平方正比例关系，分辨率降低，耗时平方减少；但图像分辨率过低，识别率会急剧下降，这是因为图像压缩之后维管束细节变得模糊，匹配错误显著增大。

3　结束语

以小麦为例研究了茎秆显微图像的几何参数测量问题。针对小麦茎秆中各种组织的结构和颜色等特征，设计了针对性的图像处理算法，实现了对髓腔大小、整体尺寸和厚壁厚度等关键参数的精确测量。使用该自动测量系统，10 幅图像测量时间为 145 s，每幅图像平均耗时 14.5 s。技术人员对 10 幅图像进行人工测量约需 45 min，每幅图像平均耗时 270 s。因此，本算法的效率是手动测量方法的 18 倍。在自动测量中，通常花费大约 2 s 来手动读入图像，剩余时间是计算机的计算时间。如果需要进行大量的显微图像测量，可以对待检图像进行统一命名并修改程序，使得测量可以连续进行以节省时间。对于维管束数量的统计，提出了一种改进的模板匹配算法精确有效地识别出维管束的位置和数量。模板匹配算法的执行耗时与模板数量和待检图像分辨率密切相关，适当地压缩图像分辨率，可以保证识别精度的同时大幅提高计算速度。模板图像集合的创建中，缩放级数过小或旋转角过大，都将导致检测的维管束数量大于实际值，这是因为此时匹配成功的像素点过少，二值结果图像中存在孤立的连通域被错误检测为维管束。使用较大的缩放级数和较小的选择角度，可以保障算法对维管束的尺寸和角度变化的适应性。

参　考　文　献

1　王芬娥，黄高宝，郭维俊，等. 小麦茎秆力学性能与微观结构研究[J]. 农业机械学报，2009，40(5)：92 - 95.
WANG Fene，HUANG Gaobao，GUO Weijun，et al. Mechanical properties and micro-structure of wheat stems[J]. Transactions

of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(5): 92 - 95. (in Chinese)

2 姚金保, 马鸿翔, 姚国才, 等. 小麦抗倒性研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(2): 208 - 213.
YAO Jinbao, MA Hongxiang, YAO Guocai, et al. Research progress on lodging resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(2): 208 - 213. (in Chinese)

3 王庭杰, 张亮, 韩琼, 等. 玉米茎秆细胞壁和组织构建对抗压强度的影响[J]. 植物科学学报, 2015, 33(1): 109 - 115.
WANG Tingjie, ZHANG Liang, HAN Qiong, et al. Effects of stalk cell wall and tissue on the compressive strength of maize[J]. Plant Science Journal, 2015, 33(1): 109 - 115. (in Chinese)

4 冯素伟, 姜小苓, 胡铁柱, 等. 不同小麦品种茎秆显微结构与抗倒强度关系研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(36):57 - 62.
FENG Suwei, JIANG Xiaoling, HU Tiezhu, et al. Study on relationship between the stem microstructure and lodging resistance with different wheat varieties[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(36):57 - 62. (in Chinese)

5 王健, 朱锦懋, 林青青, 等. 小麦茎秆结构和细胞壁化学成分对抗压强度的影响[J]. 科学通报, 2006, 51(6): 679 - 685.

6 何春霞, 傅雷鸣, 熊静, 等. 不同表面处理对麦秸秆结构和性能的影响[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(2): 325 - 331.
HE Chunxia, FU Leiming, XIONG Jing, et al. Study on the microstructure and properties of wheat straw with different treatments [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2016, 39(2): 325 - 331. (in Chinese)

7 李勇, 胡瑞钦. 微小孔尺寸形状的脱模与图像测量[J]. 纳米技术与精密工程, 2013, 11(4): 341 - 347.
LI Yong, HU Ruiqin. Size and profile measurement of micro holes by mold extraction and image processing[J]. Nanotechnology and Precision Engineering, 2013, 11(4): 341 - 347. (in Chinese)

8 鲁劲松, 段侪杰, 俞燕明, 等. 细胞 DNA 指数全自动分析仪及其关键技术[J]. 仪器仪表学报, 2009, 32(2): 293 - 297.
LU Jinsong, DUAN Chaijie, YU Yanming, et al. Cell DNA index autoanalyzer and its key technologies[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2009, 32(2): 293 - 297. (in Chinese)

9 张荣标, 黄义振, 孙晓军, 等. 基于图像处理的圆褐固氮菌浓度快速检测方法[J/OL]. 农业机械学报, 2012, 43(10): 174 - 178. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no=20121031&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.10.031.
ZHANG Rongbiao, HUANG Yizhen, SUN Xiaojun, et al. Rapid detection of azotobacter chroococcum concentration based on image processing[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(10): 174 - 178. (in Chinese)

10 PIECZYWEK P M, ZDUNEK A, UMEDA M. Study on parameterisation of plant tissue microstructure by confocal microscopy for finite elements modelling[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2011, 78(1): 98 - 105.

11 TING V J L, PATRICK S, BREMER P J. X-Ray micro-computer tomographic method to visualize the microstructure of different apple cultivars[J]. Journal of Food Science, 2013, 78(11): 1735 - 1742.

12 刘杏娥, 胡飞, 汪佑宏, 等. 撑绿杂交竹主要解剖特征的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(1): 1 - 4.
LIU Xing'e, HU Fei, WANG Youhong, et al. Main anatomical characteristics of *Bamdusa pervariadilis* × *Dendrocalamopsis daii* [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2013, 40(1): 1 - 4. (in Chinese)

13 DEVAUX M F, BOUCHET B, LEGLAND D, et al. Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(2): 199 - 209.

14 MUSSEA M, QUELLEC S, CAMBERT M, et al. Monitoring the postharvest ripening of tomato fruit using quantitative MRI and NMR relaxometry[J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 53(1 - 2): 22 - 35.

15 DHONDT S, VAN H D, VAN C C, et al. Quantitative analysis of venation patterns of Arabidopsis leaves by supervised image analysis[J]. The Plant Journal, 2012, 69(3): 553 - 563.

16 PIECZYWEK P M, ZDUNEK A. Automatic classification of cells and intercellular spaces of apple tissue[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2012, 81: 72 - 78.

17 SIRAULT X R R, CONDON A G, WOOD J T. "Rolled-upness": phenotyping leaf rolling in cereals using computer vision and functional data analysis approaches[J]. Plant Methods, 2015, 11(1): 1 - 11.

18 MA Jiayi, ZHAO Ji, TIAN Jinwen. Nonrigid image deformation using moving regularized least squares[J]. IEEE Signal Processing Letters, 2013, 20(10): 988 - 991.

19 JIANG X Y, MOJON D. Adaptive local thresholding by verification-based multithreshold probing with application to vessel detection in retinal images[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2003, 25(1):131 - 137.

20 KIM H Y, ARAÚJO S. Grayscale template-matching invariant to rotation, scale, translation, brightness and contrast[J]. Advances in Image and Video Technology, 2007, 4872(2): 100 - 113.