

# 基于机器视觉技术的紫苏种子活力快检指标筛选研究

吴伟峰<sup>1</sup> 侯浩楠<sup>1</sup> 涂柯玲<sup>1</sup> 宁翠玲<sup>2</sup> 杨成民<sup>3</sup> 董学会<sup>1</sup> 曹海禄<sup>4</sup> 孙群<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业大学农学院/中国农业大学中药材研究中心/农业农村部农作物种子全程技术研究北京创新中心/北京市作物遗传改良重点实验室,北京100193; <sup>2</sup>承德恒德本草农业科技有限公司,河北承德067000; <sup>3</sup>中国医学科学院药用植物研究所,北京100193; <sup>4</sup>恒德本草(北京)农业科技有限公司,北京100070)

**摘要:**传统的种子活力检测方法操作繁琐、周期长,而种皮叶绿素在欧洲被广泛用于种子成熟度或活力的判别。以叶绿素检测法为对照,采用机器视觉技术提取不同活力水平紫苏种子的表型指标,结合单粒发芽情况及群体发芽试验,通过相关性分析,筛选可替代的种子活力快检指标。研究结果表明,从红色至绿色的范围(a)、从蓝色至黄色的范围(b)、饱和度(S)3个颜色指标与紫苏种子活力的相关系数均稳定高于叶绿素含量,在不同组别种子间的变异系数高于或接近叶绿素含量。建议在紫苏种子生产、加工、销售等各个环节,通过检测a、b、S任一指标代替叶绿素检测来判别种子质量,降低检测成本。

**关键词:**紫苏种子;机器视觉技术;活力快速检测;叶绿素荧光检测

紫苏(*Perilla frutescens* (L.) Britt.)为唇形科紫苏属一年生草本植物,是我国传统中药的重要一味,以全草入药,叶可解表散寒,籽可润肺平喘,梗可理气宽中<sup>[1]</sup>。紫苏市场需求广泛,在我国各地均有规模化人工种植。但目前市场上销售的紫苏种子多从大

基金项目:国家中医药管理局“科技助力经济2020”重点专项  
(202004610111024)

通信作者:孙群,曹海禄

指标整体下降。在灾害年景下,农业部门除应根据种子数量、质量基础科学调整品种布局,紧密跟踪种子质量变化动态外,还必须将药剂浸种环节对种子发芽率的影响风险考虑在内,及时调整配套浸种技术,加强技术指导,确保生产安全。

朱秀红等<sup>[4]</sup>采用12%氟啶·戊·杀螟ZF 900~1200倍液浸种,稻种发芽率达93%~96%,恶苗病防效达92.86%~100%。武向文等<sup>[5]</sup>采用12%氟啶·戊·杀螟ZF 800倍液浸种,对恶苗病总体防效达93.59%。马治丰等<sup>[6]</sup>按照12%氟啶·戊·杀螟WG 7g兑水5kg浸种4kg的比例进行试验,对恶苗病最终防效达90.7%。基于多方面考虑,建议12%氟啶·戊·杀螟ZF浸种浓度采用900~1000倍液,在灾害年景或水稻种子恶苗病带菌率较低的情况下采用

田或野外直接采收而来,种子质量难以控制,种子净度、发芽率、出苗整齐度偏低<sup>[2]</sup>。从紫苏种子质量相关的3个现行标准,即中华人民共和国农业行业标准NY/T 2494—2013《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 紫苏》<sup>[3]</sup>、中华中医药学会团体标准T/CACM 1056.83—2019《中药材种子种苗 紫苏种子》<sup>[4]</sup>和河北省地方标准DB13/T 1320.1—2010《中药材种子质量标准 第1部分:紫苏》<sup>[5]</sup>来看,这3

1000倍液更为安全。

## 参考文献

- [1] 方兴洲,陈莉,产祝龙,丁龙坚.水稻恶苗病与浸种、催芽和播种等因素的关系研究.热带作物学报,2012,33(6): 1107-1110
- [2] 徐军,徐宗进,宋永斌,李毅,庄建玲,黄师.几种浸种配方对水稻种子芽势及芽率的影响.现代农业科技,2007(8): 63
- [3] 朱友理,王银.药剂浸种对水稻发芽率及安全性影响.湖北植保,2021(2): 31-34
- [4] 朱秀红,季远,徐飞.三种浸种剂对水稻浸种的安全性试验及对水稻恶苗病预防效果评价.农业开发与装备,2021(1): 152-153
- [5] 武向文,沈慧梅,沈雁君,关洪丹,刘敏.不同种子处理药剂对水稻恶苗病的控制效果.中国植保导刊,2021,41(4): 66-68
- [6] 马治丰,涂荣文,周丹,李志鹏,王烨.不同新型种子处理药剂对水稻恶苗病的防治效果试验简报.上海农业科技,2022(4): 118-120

(收稿日期:2022-08-18)

个文件规定的发芽率标准( $\geq 75\%$ )均远低于农作物种子的质量标准。种子质量已成为制约紫苏规范化生产与发展的“瓶颈”。种子作为最基本的农业生产资料,在储藏的过程中会发生自然老化,随着老化程度的增加,种子的活力会持续下降,对种子播种后萌发以及田间出苗等会产生极大的影响。传统检测种子生活力或活力的方法是进行发芽试验,测量周期长,对种子具破坏性,而且由于发芽环境及人为操作等因素,结果稳定性不够理想。种子清选是提升种子质量的重要手段之一,主要按种子的物理特性(如宽度、厚度、长度、比重、临界悬浮速度、颜色等)除去种子中的夹杂物质,如未成熟的、破碎的以及遭受病虫害的种子和杂草种子,提升种子的净度和发芽率。在判断加工程序的有效性方面,多肉眼判断净度,无法快速评判种子的活力。中药材种业市场的种子质量监管、种子质量提升手段有效性的及时判断等均需要对种子活力进行快速检测。

种皮叶绿素含量是作为判定种子成熟度及种子质量的重要指标之一,种子叶绿素含量高,则成熟度低;反之,叶绿素含量低则成熟度相对高。欧洲广泛采用叶绿素荧光仪对种子叶绿素含量进行快速检测<sup>[6-8]</sup>,叶绿素荧光技术的操作原理是当波长650~730nm的光照在种子表皮上,种子表皮上的叶绿素将以荧光和热的形式散发能量,通过对种子表皮上叶绿素荧光的检测,实现种子成熟度或种子活力的快速判别。Jalink等<sup>[9]</sup>依靠叶绿素荧光含量对种子活力进行分级;Kenanoglu等<sup>[10]</sup>使用叶绿素荧光技术种子分选机对辣椒种子进行分级。目前光学叶绿素荧光检测仪便携易操作,检测快速,但仍存在成本较高的问题。

机器视觉技术近年来发展迅速,是一种计算机技术和图像识别处理技术相结合的多领域新型交叉技术<sup>[11]</sup>,具有计算能力强、价格低、非破坏性和高效率等特点<sup>[12]</sup>,在农作物种子质量分类、品种鉴别等方面已有广泛应用<sup>[13-16]</sup>。Xu等<sup>[17]</sup>通过机器视觉技术采集提取了黄芪种子的多个颜色特征,其中R值和G值与叶绿素含量的决定系数 $R^2$ 达到0.969和0.965,基于多个特征建立的叶绿素含量预测模型,其 $R^2$ 达到0.940以上。

基于上述研究进展,本研究利用收集到的大量不同来源、不同加工方式处理后的紫苏种子,通过机

器视觉技术采集种子的尺寸、颜色和纹理等表型指标,通过比较单粒种子各表型指标与活力之间的相关性,以筛选到的指标在不同活力紫苏种子批间进行比较验证,确定可以代替叶绿素含量的种子活力快检指标。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 试验以15个批次(来源)紫苏种子作为试验材料(表1),其中单粒试验使用Lot 3批次紫苏种子,千粒重为3.134g,发芽率为69.3%。以33份不同加工环节(筛选、比重选、色选处理)的紫苏种子(Lot 1加工后的3份种子,Lot 2加工后的4份种子,Lot 3加工后的10份种子,Lot 12加工后的6份种子,Lot 13加工后的2份种子,Lot 14加工后的6份种子,Lot 15加工后的2份种子)为快检指标验证样品。

表1 15个批次的紫苏种子

批次	发芽率(%)	千粒重(g)	叶绿素含量(mg/g)
Lot 1	84.7±2.3	2.496	0.073
Lot 2	72.3±3.1	3.698	0.085
Lot 3	69.3±4.0	3.134	0.080
Lot 4	69.3±1.5	0.864	0.059
Lot 5	93.3±2.1	2.490	0.054
Lot 6	64.7±4.2	2.647	0.067
Lot 7	8.7±0.6	1.483	0.092
Lot 8	6.7±2.5	1.339	0.081
Lot 9	41.0±1.0	1.024	0.074
Lot 10	66.3±3.8	2.595	0.067
Lot 11	0	3.277	0.132
Lot 12	60.0±2.6	2.746	0.079
Lot 13	0	0.886	0.069
Lot 14	64.3±3.2	2.955	0.080
Lot 15	32.7±3.8	1.112	0.066

## 1.2 试验方法

**1.2.1 单粒试验** 从Lot 3中选取净种600粒,置于Microtek MiCardWizard扫描仪(上海中晶科技有限公司)上,进行种子扫描,获得分辨率为300dpi的图片,保存为.tif无损格式。

使用种子表型全自动提取系统(PhenoSeed,南京智农云芯大数据科技有限公司与中国农业大学种子科学与技术研究中心共同研发)进行种子表型指标的提取。尺寸指标包括长(Length,单位mm)、宽(Width,

单位 mm)、长宽比(L/W Ratio)、投影面积(Area, 单位 mm<sup>2</sup>)、周长(Perimeter, 单位 mm)、圆度(Roundness); 颜色指标包括红色值(Red, R)、绿色值(Green, G)、蓝色值(Blue, B)、色相(Hue, H)、饱和度(Saturation, S)、明度(Value, V)、亮度(Luminosity, L)、从红色至绿色的范围(a)、从蓝色至黄色的范围(b)、灰度(Gray)的平均值(mean)及标准差(std); 纹理指标包括 Gray、R、G、B 这 4 个分量下的对比度(Contrast)、相异性(Dissimilarity)、同质性(Homogeneity)、能量(Energy)、自相关(Correlation)、角二阶矩(ASM)、熵(Entropy)。

将种子按扫描时的序号放入发芽盒中, 25℃光照条件下进行标准发芽试验, 每天检查种子是否发芽, 统计到第 8 天。

然后采用 Excel 2016、SPSS 21.0 对试验数据进行统计, 分析单粒种子发芽情况与种子表型指标之间的相关性。

**1.2.2 群体试验** 测定 15 个批次紫苏种子的尺寸、颜色、纹理指标, 分析种子的表型指标与种子发芽率之间的相关性。

**1.2.3 快检指标的筛选与验证** 以 33 份不同加工环节处理(筛选、比重选、色选)后的紫苏种子建立

验证样品池。采用 FluoMini Pro 光学叶绿素荧光(CF)检测仪检测其叶绿素含量, 补充提取机器视觉指标和发芽率, 进行相关性分析。

## 2 结果与分析

**2.1 单粒紫苏种子活力与机器视觉指标的相关性分析** 相关性分析表明, 多项指标与单粒活力存在相关性, 筛选出 20 个与单粒发芽结果显著或极显著相关的指标。由表 2 可知, 颜色指标的相关系数(红色值、绿色值、蓝色值、从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度、明度)多高于尺寸指标(长、宽、长宽比、投影面积、圆度)。其中从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度这几个指标与活力的相关系数较高, 绝对值达到 0.437 以上。后续将重点关注这几个颜色指标。

**2.2 不同批次紫苏种子活力与机器视觉指标的相关性分析** 以 15 份紫苏种子为材料进行群体试验, 对种子批发芽率和群体表型指标平均值进行相关性分析。结果表明多个颜色指标与发芽率存在显著相关或极显著相关, 相较于单粒试验, 未筛选到尺寸指标。从表 3 可以看出, 与单粒发芽试验相比, 显著或极显著相关的指标数量减少至 10 个。其中

表 2 紫苏单粒种子表型指标与发芽率相关指标筛选

指标	相关系数	变异系数	指标	相关系数	变异系数
长	0.089*	0.09	蓝色值标准差	0.109**	0.16
宽	0.127**	0.10	从红色至绿色平均值	-0.515**	0.41
长宽比	-0.084*	0.06	从红色至绿色标准差	-0.380**	0.24
投影面积	0.113**	0.18	从蓝色至黄色平均值	-0.497**	0.19
周长	0.123**	0.10	从蓝色至黄色标准差	-0.360**	0.14
圆度	-0.074*	0.06	色相平均值	0.437**	0.17
红色值平均值	-0.317**	0.09	饱和度平均值	-0.510**	0.17
红色值标准差	-0.165**	0.18	饱和度标准差	-0.237**	0.20
绿色值平均值	0.119**	0.07	明度平均值	-0.290**	0.12
蓝色值平均值	0.290**	0.11	明度标准差	-0.169**	0.08

\* 和 \*\* 分别代表 0.05 和 0.01 水平显著性相关, 下同

表 3 15 份紫苏种子表型指标与发芽率相关指标筛选

指标	相关系数	变异系数	指标	相关系数	变异系数
叶绿素含量	-0.549*	0.23	从蓝色至黄色平均值	-0.949**	0.09
蓝色值平均值	0.520*	0.13	从蓝色至黄色标准差	-0.817**	0.05
蓝色值标准差	0.536*	0.04	色相平均值	0.922**	0.08
从红色至绿色平均值	-0.826**	0.17	饱和度平均值	-0.820**	0.14
从红色至绿色标准差	-0.612*	0.09	饱和度标准差	-0.598*	0.09

叶绿素含量与发芽率呈现显著负相关,相关系数为-0.549。单粒试验中筛选到的从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度指标同样出现在群体试验结果中,相关系数分别为-0.826、-0.949、0.922、-0.820。除了指标平均值外,虽然从红色至绿色的范围标准差、从蓝色至黄色的范围标准差、饱和度标准差与发芽率的相关系数绝对值超过0.549(参考叶绿素与发芽率的相关系数),考虑到检测的方便性,舍弃不用。后面的验证试验将重点验证从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度这几个指标。

**2.3 快检指标筛选** 以33份不同加工环节(机器筛选、液体比重选及G、R值分选)的紫苏种子进行验证,获得与前面相对一致的结果,筛选出22个与发芽率显著或极显著相关指标。其中叶绿素含量与发芽率呈极显著负相关,相关系数为-0.569(表4)。从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度这几个指标中色相与发芽率的相关系数降到0.380,不如其余3个指标稳定。从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、饱和度均与发芽率呈极显著负相关,相关系数分别为-0.596、-0.730、-0.699,虽略低于15份紫苏种子中与发芽率的相关系数,但仍均高于叶绿素含量与发芽率之间的相关系数。进一步比较不同加工环节分选得到的不同组别种子间从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、饱和度这3个指标的变异系数,探究其在区分种子发芽率上的有效性,

结果表明从红色至绿色的范围平均值在不同组别之间变异系数最高,稳定高于不同组别的叶绿素变异系数,因此优先推荐通过检测从红色至绿色的范围平均值进行生产上加工或处理手段的有效性判断。

### 3 结论与讨论

**3.1 单粒试验发现紫苏种子活力与颜色指标相关性强** 进行紫苏种子单粒发芽试验的目的是为了将每粒种子的表型指标与其发芽情况对应,通过随机选取一定数量的紫苏种子进行试验,可以得到大量的表型数据和对应的发芽结果,从而对活力快检指标进行初步筛选。相关性分析表明,20个指标与发芽率存在显著或极显著关系,种子的多个尺寸指标包含在其中,但相关系数并不高,多数低于颜色指标。

考虑紫苏种子快检指标的筛选精简性和实用性,为此选择了相关系数较高的a、b、H、S值作为初步的筛选指标,后续对15份不同批次的种子进行数据采集,验证以上4个指标作为快检指标的可靠性。

**3.2 群体试验发现紫苏种子活力与a、b、H、S指标相关性强** 对15份种子分别进行机器视觉扫描、叶绿素含量测定以及发芽率测定,并将每份种子的表型指标平均值与发芽率进行相关性分析,最终选取得到10个与发芽率显著或极显著相关指标。相较于单粒试验结果,群体试验并未筛选到与活力显著相关的尺寸指标,这表明在同一批次内,

表4 33份紫苏种子表型指标与发芽率相关指标筛选

指标	相关系数	变异系数	指标	相关系数	变异系数
叶绿素含量	-0.569**	0.09	亮度平均值	0.522**	0.07
长	0.761**	0.11	亮度标准差	0.860**	0.07
宽	0.762**	0.12	从红色至绿色平均值	-0.596**	0.26
长宽比	-0.573**	0.18	从蓝色至黄色平均值	-0.730**	0.08
投影面积	0.751**	0.20	色相平均值	0.380*	0.05
周长	0.769**	0.11	色相标准差	-0.670**	0.08
红色值标准差	0.707**	0.05	饱和度平均值	-0.699**	0.12
绿色值平均值	0.578**	0.07	饱和度标准差	-0.588**	0.09
绿色值标准差	0.855**	0.08	明度标准差	0.719**	0.05
蓝色值平均值	0.566**	0.10	灰度平均值	0.513**	0.07
蓝色值标准差	0.611**	0.03	灰度标准差	0.851**	0.07

紫苏种子活力与尺寸指标相关联,但在不同批次之间,种子的尺寸差异更多是遗传因素所导致,与活力的关系并不显著。相比之下,颜色指标与活力的相关性较为稳定,其中从红色至绿色的范围(a)、从蓝色至黄色的范围(b)、色相(H)、饱和度(S)指标相关系数绝对值均稳定高于0.549(参考叶绿素相关系数)。

**3.3 快检指标筛选** 除机器视觉技术外,近年来基于光学特性的种子活力快速无损检测技术也在逐渐兴起,包括X射线技术、近红外光谱技术、高光谱成像技术等。但这些技术尚处于实验室研究阶段,目前市面上缺少商用的种子活力检测设备,原因在于光学检测技术成本普遍较高,并且对于不同品种或批次的种子,往往需要通过光谱数据和发芽试验建立相应的模型,实际应用较为复杂<sup>[18]</sup>。本研究首次采用机器视觉技术对紫苏种子进行快检指标筛选,在一定程度上,对检测加工工序是否有效、种子处理是否有效等提供了数据指导,大大降低了检测成本,实际操作也更为简便。本研究以各种比重筛选、液体比重选及色选分选的种子作为验证材料,对从红色至绿色的范围、从蓝色至黄色的范围、色相、饱和度作为快检指标的稳定性和区分度进行比较,扩充了样本数据池,增加了数据可信性。

通过分析比较不同加工环节的种子进行快检指标的确定,最终以相关性稳定的从红色至绿色的范围(a)、从蓝色至黄色的范围(b)、饱和度(S)作为快检指标。在紫苏种子生产、加工、销售等各个环节,可通过机器视觉技术快速提供种子的a、b、S值,用于种子质量的快速判定,比较加工工序是否有效,种子处理是否有效等。

## 参考文献

- [1] 谭美莲,严明芳,汪磊,王力军,严兴初.国内外紫苏研究进展概述. 中国油料作物学报,2012,34(2): 225-231
- [2] 侯浩楠,达卓娅,吴伟峰,许亚男,程莹,董学会,宁翠玲,杨成民,曹海禄,孙群.紫苏种子适宜的液体分选全程技术研究.中国种业,2022(6): 67-71
- [3] 中华人民共和国农业部. NY/T 2494—2013 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 紫苏.北京:全国植物新品种测试标准化技术委员会,2013
- [4] 湖北中医药大学,中国中医科学院. T/CACM 1056. 83—2019 中药材种子种苗 紫苏种子.北京:中华中医药学会,2019
- [5] 河北省农林科学院经济作物研究所,河北省种子管理总站. DB13/T 1320. 1—2010 中药材种子质量标准 第1部分:紫苏.石家庄:河北省质量技术监督局,2010
- [6] Wilson H T, Khan O, Welbaum G E. Chlorophyll fluorescence in developing 'Top Mark' cantaloupe (*Cucumis melo*) seeds as an indicator of quality. Seed Technology, 2014, 36: 103-113
- [7] Yadav S K, Jalink H, Groot S P C, Van Der Schoor R, Yadav S, Dadlani M, Kodde J. Quality improvement of aged cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) seeds using chlorophyll fluorescence sensor. Scientia Horticulturae, 2015, 189: 81-85
- [8] Deleuran L C, Olesen M H, Boelt B. Spinach seed quality : Potential for combining seed size grading and chlorophyll fluorescence sorting. Seed Science Research, 2013, 23: 271-278
- [9] Jalink H, Van Der Schoor R, Frandas A, Van Pijlen J G, Bino R J. Chlorophyll fluorescence of *Brassica oleracea* seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. Seed Science Research, 1998, 8 (4): 437-443
- [10] Kenanoglu B B, Demir I, Jalink H. Chlorophyll fluorescence sorting method to improve quality of capsicum pepper seed lots produced from different maturity fruits. Horticultural Science, 2013, 48 (8): 965-968
- [11] 杨涛,李晓晓.机器视觉技术在现代农业生产中的研究进展.中国农机化学报,2021,42(3): 171-181
- [12] 赵娜,赵平,高铁军.机器视觉技术在我国现代农业生产中的应用研究.天津农学院学报,2015(2): 55-58
- [13] Huang K Y, Cheng J F. A novel auto-sorting system for Chinese cabbage seeds. Sensors, 2017, 17 (4): 886
- [14] Tu K L, Wen S Z, Cheng Y, Zhang T T, Sun Q. A non-destructive and highly efficient model for detecting the genuineness of maize variety 'JINGKE 968' using machine vision combined with deep learning. Computers and Electronics in Agriculture, 2021, 182: 106002
- [15] 马佳佳,王克强,郑奕雄,蔡肯,林钦永.基于机器视觉的花生种子外观品质检测与分类方法研究.安徽农业科学,2021,49(10): 225-227,231
- [16] 程莹,许亚男,侯浩楠,宁翠玲,杨成民,董学会,曹海禄,孙群.基于机器视觉技术的小粒中药材种子净度快速检测.中国农业大学学报,2022,27(5): 114-122
- [17] Xu Y N, Tu K L, Cheng Y, Hou H N, Cao H L, Dong X H, Sun Q. Application of digital image analysis to the prediction of chlorophyll content in astragalus seeds. Applied Sciences, 2021, 11 (18): 8744
- [18] 袁俊,郑雯,祁亨年,高璐,胡晓军,赵光武,施俊生,贾良权.种子活力光学无损检测技术研究进展.作物杂志,2020(5): 9-16

(收稿日期: 2022-08-23)