

蒋小敏,冯海宽,常红,等. 基于数码图像的小麦条锈病病害程度分级方法[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):109-115.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.020

基于数码图像的小麦条锈病病害程度分级方法

蒋小敏^{1,2}, 冯海宽², 常红², 杨贵军², 杨小冬²

(1. 安徽理工大学空间信息与测绘工程学院,安徽淮南 232001;

2. 农业农村部农业遥感机理与定量遥感重点实验室/国家农业信息化工程技术研究中心,北京 100097)

摘要:小麦条锈病发病广、发病率高,严重影响农业生产,造成小麦产量重大损失。病叶严重度是获取小麦条锈病病害信息的主要参数。为更好、更便捷地获取小麦条锈病病害信息实现对小麦条锈病单叶病害严重度分级,讨论一种利用数码图像对小麦条锈病进行分级的方法。首先从拍摄的数码图像中选取发病严重度为 1%、5%、10%、20%、40%、60%、80%、100% 的小麦叶片(以植保专家目测为标准),对应设置为 1、2、3、4、5、6、7、8 级,每个级别各 30 张叶片,共计 240 张,从每个类别中选取 10 张做数据分析,20 张作验证。利用 K-means 聚类法、形态学变换等操作将小麦叶片与背景分割开,然后对采集的 RGB 图像通道分离获取 R、G、B 分量图进行 G、R 分量加运算,在小麦叶片染病前期,小麦条锈病严重度为 1~4 级,G+R 图像就能较好地地区分出病斑区域与健康区域,随着病害程度加深黄化严重,G+R 图像不能很好地区分出病斑区域,通过改变 R 分量图的权重,对 5、6、7、8 级 40 个样本进行数据分析,发现 G+1.7R 时表现出的拟合性和精度最好,采用最大类间方差法(Otsu)对 G+R、G+1.7R 图像进行分割,将病斑从小麦叶片中提取出来;最后根据染病面积占叶片总面积的百分比对小麦条锈病病害程度进行分级。160 个不同病害等级的小麦叶片验证样本中,24 个样本被错误分级,136 个样本被正确分级,发病程度较轻的 1~4 级分级正确率为 92.5%,发病程度较重的 5~8 级分级正确率为 77.5%,总体分级正确率为 85.0%。基于数码图像对小麦条锈病病害程度分级识别方法操作灵活、方便,相对于传统田间目测分级提高了分级正确率,为识别小麦条锈病叶片病害程度提供了一种操作快速简单、成本低且方便普及的新方法。

关键词:数码图像;小麦条锈病;病害程度;分级;K-means;最大类间方差法

中图分类号:S435.121.4⁺2;TP391.41

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2021)23-0109-06

小麦是世界上种植范围最广同时也是我国主要的粮食作物,从每年的小麦种植面积以及产量来看,小麦是我国第二大谷类和粮食作物^[1]。作物病害是导致小麦减产的主要因素。小麦条锈病是由条型柄锈菌引起的易受环境条件影响的一种真菌病害,当病原菌在有利的天气条件下感染易感品种时,早期侵染会严重降低株高和分蘖数,从而大大降低小麦的生物量和产量;灌浆期侵染会严重减少籽粒数量、籽粒大小和质量,从而导致产量减少和籽粒质量降低,使小麦严重减产,流行年份可达 40% 以上,甚至可出现绝收现象^[2-5],严重制约了农业生产、影响了农业经济快速平稳发展。病叶严重

度是获取小麦条锈病病情指数的主要参数。传统的监测方法主要由有经验的生产者或植保专家在田间凭借其经验知识观察小麦植株,进而判定小麦条锈病的发生程度等级。这些传统方法存在工作量大、工作效率低等弊端,且对目测人员的专业经验要求极高。因而,能够找到一种成本低、准确度高且易操作的方法去监测小麦条锈病具有重要价值。张帅堂等基于高光谱成像技术和遗传优化神经网络对茶叶病斑进行快速识别,病斑识别率达到 94.17%^[6]。郑志雄等对采集到的受稻瘟病感染不同严重程度的水稻叶片高光谱图像进行光谱分析,采用主成分分析和最大类间方差法(Otsu)对水稻叶瘟病病害程度进行分级,分级准确率为 96.39%^[7]。Moshou 等利用神经网络和二次判别分析技术对采集的冬小麦条锈病光谱图像进行检测取得了较高的分类精度^[8]。雷雨等基于高光谱成像技术利用主成分分析法结合最大类间方差法对小麦条锈病病害程度进行分级,分级正确率达到 98.15%^[9]。李小龙等利用近红外光谱技术获取病害光谱信息

收稿日期:2021-07-20

项目基金:国家自然科学基金(编号:41771469);广东省重点领域研发计划(编号:2019B020216001)。

作者简介:蒋小敏(1993—),女,安徽长丰人,硕士研究生,从事作物病虫害遥感监测研究。E-mail:18856927671@163.com。

通信作者:杨小冬,博士,副研究员,从事作物病虫害遥感监测研究。E-mail:yangxd7@163.com。

结合定性判别偏最小二乘法(DPLS)建立小麦条锈病不同严重度识别模型,测试集样品总体识别正确率为 96.55%^[10]。陈兵等利用可见/近红外光谱技术获取棉花黄萎病不同严重度病叶光谱特征,建立相应的多种估测模型均达到极显著水平^[11]。近年来计算机技术发展迅速,数字图像处理技术被普遍用于农作物的病害识别^[12-18]。袁媛等对黄瓜病害叶片图像利用超 G 因子和 Otsu 方法提取黄瓜主要叶片去除大部分背景,利用病害图像的红色分量构建基于阈值预处理的图切割算法对 4 种黄瓜病害的病斑进行了有效提取^[19]。任玉刚等对分水岭算法进行改进使分割结果不受叶片纹理的干扰提高了作物病害叶片图像分割的准确性^[20]。Wang 等提出了一种有效的黄瓜叶片分割方法,首先对颜色空间类型进行分析,提取 RGB 模型下 R 特征图,HLS 模型下 H 特征图,然后利用 $RH = R - H$ 特征图进行阈值分割提取病斑^[21]。Shen 等分析了图像分割过程中存在的所有影响因素,采用 Otsu 法分割大豆叶片,基于 HLS 颜色系统下选择 H 分量结合 Sobel 算子对病斑进行分割,最后通过计算病斑与叶片面积的商进行分级^[22]。Revathi 等对采集的棉花叶斑病 RGB 图像进行增强处理,然后对其进行分割得到病斑,使用 Sobel 算子和 Canny 滤波等获取边缘信息进而识别病斑对棉花叶斑病进行分类,分类结果与其他算法相比具有更高的精度^[23]。高光谱成像技术、可见光近红外光谱技术以及 RGB 图像分割均能够识别出病斑。基于高光谱成像技术、近红外光谱技术的病害识别正确率较高,但高光谱技术难以普及,是因为其用到的仪器价格昂贵,近红外光谱技术不易操作。植物发生病虫害时,在不同阶段,其表现的症状有着显著差异,图像分割的正确与否决定了病害识别的准确度。当前,利用图像处理技术识别作物病虫害的研究已经很多^[24-29],但目前尚无将数码图像用于进行小麦条锈病叶片严重度分级的研究。本研究采集了不同严重度的小麦条锈病病叶图像,使用图像处理技术采用两步分割的方法提取小麦叶片和病斑区域,对病叶进行分级识别,以期研究出一种快速准确、成本低、操作简单且方便普及的识别小麦条锈病叶片病害程度的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验田位于甘肃省农业科学院植物保护研究

所甘谷试验站(34.760528N,105.294410E),海拔高度为 1 254.7 m,选用高感病冬麦品种铭贤 169 种植,在试验田中设置 30 个 40 cm × 40 cm 的小区,行距为 20 cm,采用人工喷雾法选用配制的小麦条锈病夏孢子(混合生理小种)液喷洒在小区的中间植株叶片上,之后盖上塑料薄膜过夜,次日揭去薄膜,从中心发病感染周围植株上获取不同严重度的小麦条锈病病叶。2019 年 6 月 1 日,将采集到的每个小区的不同发病程度的小麦叶片并排放在白纸上,用随身携带的华为手机(相机型号为 STF-AL00)进行拍摄存储,像素大小为 3 840 × 5 120,每幅图像里有 9 ~ 13 张小麦叶片,共获取 30 幅图像。

1.2 图像预处理

用绘图软件对采集的图像进行裁剪得到小麦单叶叶片,参照国家标准 GB/T 15795—2011《小麦条锈病测报技术规范》中的小麦条锈病发生程度分级指标,从中分别选取发病严重度为 1%、5%、10%、20%、40%、60%、80%、100% 的小麦叶片(以植保专家目测为标准),等级之间以中间发病严重度分界线作为划分标准计入最接近的分级等级,同时按照小麦条锈病严重度级别分别对应设置为 1 ~ 8 级,每个级别各取 30 张,共计 240 张不同等级的病叶样本,其中 80 个用于数据分析,160 个样本用于对 G + R、G + 1.7R 的分割结果进行验证。裁剪的数码图像用 Python 3.6 软件进行处理和分析。

1.3 图像增强

图像增强是为了增强对比度。在对小麦叶片进行拍摄和存储中会引入噪声,影响病斑部位的提取。因此对裁剪的小麦单叶图像采用中值滤波法进行平滑处理,减少噪声,改善图像质量,并将其作为后续图像处理的基础数据。

1.4 小麦条锈病病害程度分级方法

1.4.1 小麦叶片与背景的分离 K-means 聚类算法是用一组特征将输入数据划分为 k 个子集,构成 k 个类的简单聚类,其不断提取当前分类的中心点,并最终在分类稳定时完成聚类。基本步骤^[30]如下:(1)选取 k 个点作为 K-means 聚类的中心点。(2)计算图像中的每个像素点到各个聚类中心点的距离,对于每一个像素点根据其到中心点的最小距离进行分类。(3)再次平均各个分类的像素作为新的分类中心点。(4)重复步骤(2)和步骤(3),直到分类稳定。

腐蚀操作和膨胀操作是形态学运算的基础,将

腐蚀和膨胀操作进行结合就可以实现开运算、闭运算等不同形式的运算。闭运算是先将图像进行膨胀之后再对膨胀的结果进行腐蚀,去除原始图像内部的小孔和小黑点。

为获取小麦叶片,采用 K-means 聚类法和形态学处理去除图片背景。具体流程如图 1 所示。首先将经过平滑处理后的图像用 K-means 聚类法分割,再通过形态学操作,去除叶片内部的小孔洞、小黑点,生成叶片值为 255,背景值为 0 的黑白二值化图(图 1-a),并将其白色像素点数作为小麦叶片的总面积,之后将生成的黑白二值化图跟原始图像做按位与运算得到去除背景后的小麦叶片(图 1-b)。采集的 240 个病害样本均按照此方法提取出小麦叶片,可以较为准确地获取小麦叶片的面积。

1.4.2 小麦条锈病病斑区域提取 将经过平滑处理后的 1~4 级 40 个样本数据图像进行 B、G、R 三通道分离,得到 B、G、R 三通道分量图。小麦条锈病病斑呈现黄色,成行排列且平行于叶脉。其病斑处的 R 值稍高于叶片健康部位的 R 值,因此对 G 和 R、R 和 B 组合图像进行分析。

将 2 个灰度图的像素值进行求和时,遵循以下规则:

$$a+b=\begin{cases} a+b, & a+b \leq 255 \\ 255, & a+b > 255 \end{cases} \quad (1)$$

若 2 个灰度图的像素值(a、b)相加值小于或等于 255,则计算结果就是最终结果,若相加值大于

255,则最终结果就是 255。提取到的 G+R、R+B 组合图像如图 2 所示,G 和 R 图像较好地保存了病斑的形状,因此选取 G+R 组合图作为病斑提取的图像。

G+R 组合图像中能区分出病斑区域与健康区域。叶片中颜色较亮区域为条锈病病斑,较暗区域为健康区域。采用 Otsu 法对 G+R 组合图像进行分割处理,提取病斑区域的具体步骤^[31]如下:(1) 根据阈值 T 将像素分为健康区域和染病区域 2 大类,计算这 2 个区域灰度的类间方差 σ^2 ,寻找最优阈值 T 使得 σ^2 最大,使类间分离性最佳。(2) 计算平均灰度值 n ,若 $n > T$,判定该区域内所有点为染病区域,赋值为 255;若 $n < T$,判定该区域内所有点为健康区域,赋值为 0。由此可获得条锈病病斑二值化图像,此时小麦健康区域为黑色,条锈病病斑为白色(图 3-a)。(3) 提取利用 K-means 聚类法生成的黑白二化值图(图 1-a)的坐标信息,根据坐标值相应地将二化值图像中白色区域变成黑色,黑色区域变成灰色,生成背景图像(图 3-b),背景区域为灰色,小麦叶片为黑色),最后利用条锈病病斑二值化值图像(图 3-a)减去背景图像(图 3-b)即可得到病斑图像(如图 3-c),背景为灰色,健康区域为黑色,病斑区域为白色,统计其白色像素点数作为病斑面积。(4) 通过伪彩色技术,将病斑区域设置为红色,健康区域设置为绿色,背景设置为黑色(图 3-d)。

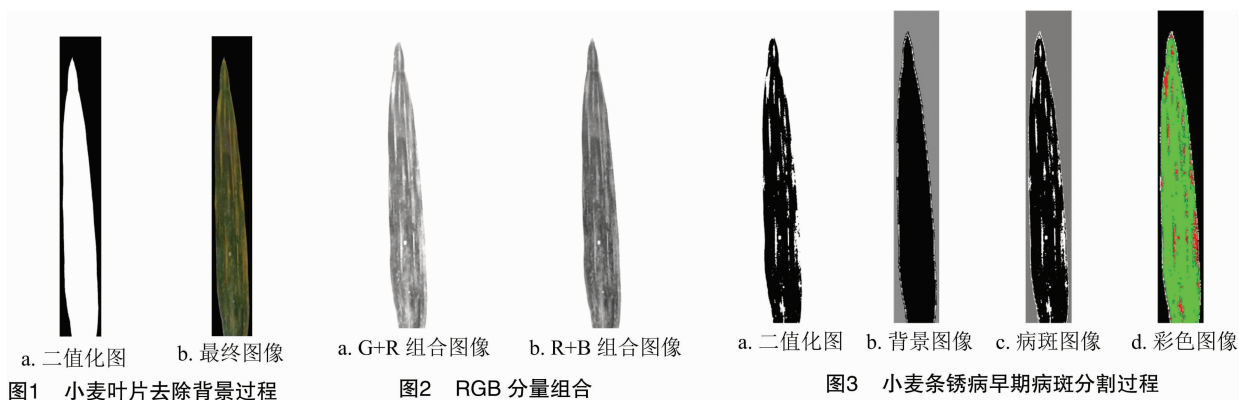


图1 小麦叶片去除背景过程

图2 RGB 分量组合

图3 小麦条锈病早期病斑分割过程

随着小麦条锈病病情加重,小麦叶片黄化严重,后期叶片表面黄色面积占据大部分,用 G+R 的组合图像并不能很好地将全部病斑提取出来,增加 R 分量在颜色空间中的权重,可用于对叶片病斑的分割^[32]。对后期病情严重,叶片表面大片泛黄的级别在 5、6、7、8 级的 40 个样本数据进行分析,对 G、R 分量图进行不同加权比获取组合图进行病斑分割

提取。

图像加权和就是将 2 幅灰度图像像素值进行求和时,考虑每幅图像的权重,其公式为

$$dst = \text{saturnate}(src1 \times \alpha + src2 \times \beta + \gamma) \quad (2)$$

式中:dst 表示结果图像;saturnate() 表示取饱和值(最大值);src1、src2 表示相同的数据类型; α 、 β 表示 src1、src2 对应的系数; γ 表示亮度调节量,可以为 0。

1.4.3 小麦条锈病病害程度分级 病害严重度是依据病叶上病斑面积占叶片总面积的百分比表示。病害严重度的计算公式为

$$C=A_1/A_2\times100\%。$$
 (3)

式中: C 表示病害严重度; A_2 表示小麦叶片总面积,像素; A_1 为小麦条锈病病斑面积,像素。

2 结果与分析

2.1 图像分割

对获取的 G、R 分量图,按照 $\alpha:\beta$ 不同的系数比进行图像加权,验证其分割效果。通过试验可

知,当 $\alpha=1$ 时, β 的系数越大,病斑区域的增强越明显;而当 $\beta>1.7$ 时,叶片健康区域也会被明显加强,不符合将全部病斑提取出来的试验预期。以 $\alpha:\beta=1:1.6、1:1.7、1:1.8$ 为例进行图像分割,并将分割结果与实测结果进行对比分析(图 4)。选用均方根误差(RMSE)、平均绝对误差(MAE)和分级正确率进行精度评价,RMSE、MAE 越小,分级精度越高^[33]。通过研究发现,G+1.7R 时所表现的拟合性和精度最好(表 1),此时 RMSE 为 0.105 5,MAE 为 0.080 8,分级正确率为 80%。故 G、R 的加权和在 1:1.7 时,分割效果最好。

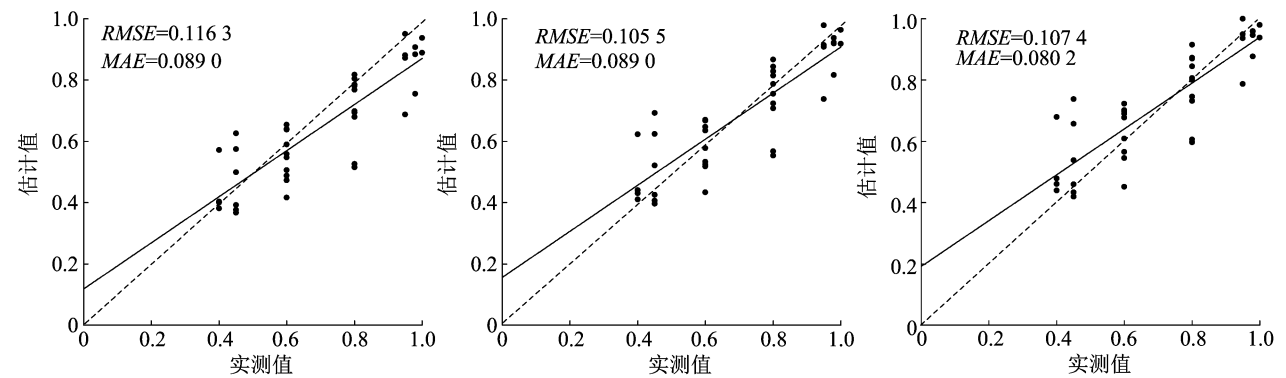


图4 基于 G+1.6R、G+1.7R、G+1.8R 的病害严重度实测值与估计值

表 1 基于 G+1.6R、G+1.7R、G+1.8R 的病害严重度估算

方法	均方根误差	平均绝对误差	分级正确率 (%)
G+1.6R	0.116 3	0.089 0	55
G+1.7R	0.105 5	0.080 8	80
G+1.8R	0.107 4	0.080 2	70

由图 5 可知,只有一部分的条锈病病斑被分割出来,不能达到病斑分割目的。由图 6 可知,G+1.7R 分割小麦叶片中呈现黄色的病斑区域能被较清晰地分割出来,满足下一步小麦条锈病的分级需要。

2.2 病害分级

对 80 个早期感染小麦条锈病的叶片采用 G+R 的分割算法进行分级。由表 2 可知,病害等级为 1 级的分级正确率是 85.0%,3 个样本被识别错误,其中 2 个误分为 2 级,1 个误分为 3 级;病害等级为 2 级的分级正确率是 90.0%,2 个样本被识别为 3 级;病害等级为 3 级的分级正确率是 95.0%,1 个样本被识别为 4 级;病害等级为 4 级的分级正确率是 100.0%。在 80 个验证样本中,共有 6 个识别错误,分级平均正确率为 92.5%。

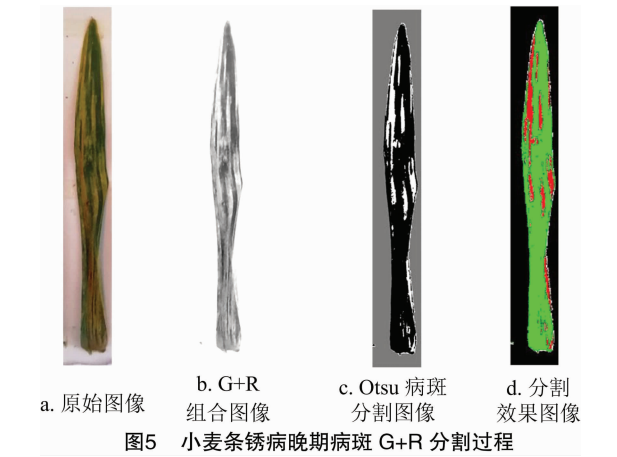


图5 小麦条锈病晚期病斑 G+R 分割过程

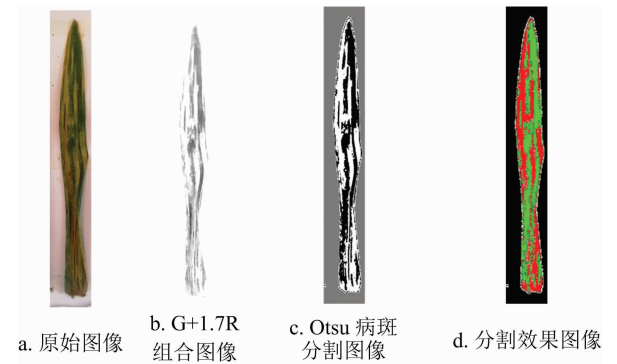


图6 小麦条锈病晚期病斑 G+1.7R 分割过程

表 2 小麦条锈病病害 1~4 级分级结果

级别 (级)	样本数量 (个)	误识别数 (个)	分级正确率 (%)
1	20	3	85.0
2	20	2	90.0
3	20	1	95.0
4	20	0	100.0
总计	80	6	92.5

对 80 个晚期感染小麦条锈病的叶片采用 G + 1.7R 的分割算法进行分级。由表 3 可知,病害等级为 5 级的分级正确率是 85.0%,3 个样本被识别为 4 级;病害等级为 6 级的分级正确率是 85.0%,3 个样本被识别错误,其中 1 个误分到 5 级,2 个误分到 7 级;病害等级为 7 级的分级正确率是 75.0%,5 个样本被识别为 6 级;病害等级为 8 级的分级正确率是 65.0%,7 个样本被识别为 7 级。在 80 个验证样本中,共有 18 个识别错误,分级平均正确率为 77.5%。

表 3 小麦条锈病病害 5~8 级分级结果

级别 (级)	样本数量 (个)	误识别数 (个)	分级正确率 (%)
5	20	3	85.0
6	20	3	85.0
7	20	5	75.0
8	20	7	65.0
总计	80	18	77.5

对 160 个感染小麦条锈病的叶片进行分级,病害程度分级结果分布如图 7 所示,结果表明,在全部验证样本中,分级平均正确率为 85.0%,共有 24 个识别错误。R、G 分量的不同组合图像可以很好地显示出小麦条锈病病斑区域跟健康区域的灰度差异。1~4 级,G + R 图像就能较好地地区分出病斑区域与健康区域,5~8 级,病害程度加深,小麦叶片表皮破裂黄化严重,G + R 图像不能很好地将病斑准确地分割出来,通过改变 R 分量图的权重,进而更好地对病斑进行提取。通过对样本数据进行分析,选取 G + 1.7R 分割效果最好,再根据病叶严重度分级标准对小麦叶片条锈病进行分级。随着病害等级增加,分级正确率总体上呈现下降趋势,拟合性逐渐降低。对于病害较为严重的分级还需进一步研究,以便更加准确地获取小麦条锈病病害程度。

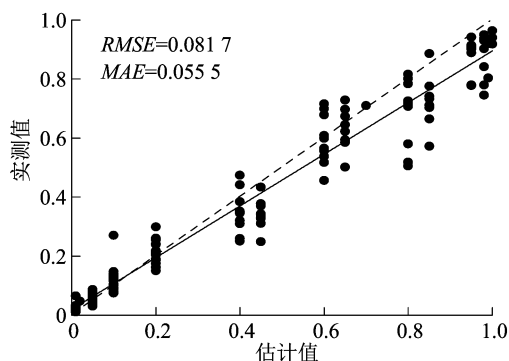


图 7 1~8 级分级结果

3 讨论

本研究通过手机相机获取小麦条锈病叶片数据,分割出小麦叶片、小麦条锈病病斑,取得了较高分级准确度,为小麦条锈病叶片严重度分级研究提供了一种新的方法。利用 K-means 聚类法结合形态学处理,提取的特征值较少,具有较高的清晰度能够很好地去掉图像背景将小麦叶片分割出来。G + R 组合图像能够完整地体现出病斑的形状,有效区分出健康区域与病斑区域。

病害等级在 1、2、3、4 级时,RMSE、MAE 均比较小,分级精度较高,拟合效果较好,误分错误主要集中在早期病害等级划分,区间间隔相差较小,1 百分点的误差均会导致分级结果错误。小麦条锈病病情逐渐加重,病害等级增加,5、6、7、8 级 RMSE、MAE 相对较大,分级正确率逐渐降低,其原因主要集中在病害加重,叶片黄化严重,叶片健康区域面积较小且 G 值减弱,致使健康区域与病斑区域差异不够显著,没有黄化的病斑不能提取出来,都会使病斑面积减少,进而使得到的病害严重度相比实测值较小,因而致使病情严重的叶片等级被误分到小 1 级中。

影响分级正确率的因素主要有以下几个来源:(1)RGB 图像。因为 RGB 图像只有 3 个通道的像素值,病斑分割依靠颜色特征,没有黄化的病斑无法分割。致使病情较为严重的叶片等级被误分到小 1 级中。(2)样本本身。叶片表面的泥土,叶片与背景的边缘阴影部分均有可能被误识别为病斑,致使病斑面积增大,病害前期,会将病害等级错误识别大 1 级。拍摄亮度、图像分辨率的高低等也会影响分割的准确性。(3)等级划分的因素。不同等级之间的区间相差太小,比如 1 级与 2 级之间仅相差 4%,极易被错误分类,位于 2 个级别间分界线附

近也容易被识别错误。

本研究建立在试验小区之上,供试品种单一,且对于区分小麦叶片感染条锈病早期、晚期仍需要人工进行目测判别,因此还需要进一步研究。

4 结论

本研究以小麦锈病中最常见、发病广、影响范围大的条锈病作为研究对象,利用 K-means 聚类法结合形态学处理获取小麦叶片,利用 Otsu 法分割 R、G 分量的不同组合图像提取小麦条锈病病斑结论如下。

(1)对小麦条锈病病情严重的 5~8 级 40 个样本数据分析得出,G、R 分量图按照 $G+1.7R$ 的组合图像分割效果最好, $RMSE$ 为 0.1055, MAE 为 0.0808,分级正确率为 80.0%。

(2)160 个不同病害等级的小麦叶片验证样本中,24 个样本被错误分级,136 个样本被正确分级,总体分级正确率为 85.0%。1~4 级分级正确率为 92.5%,分割精度较高,能够实现对小麦条锈病的早期病害分级,更适合于小麦条锈病田间早期病害检测,为田间病害早期管理提供基础数据,表明基于数码图像对小麦条锈病病害程度分级识别是可行的,为小麦条锈病病害程度评估提供了一种新的研究思路。5~8 级分级正确率为 77.5%,分割精度相较于中、轻度发病水平较低,小麦条锈病病情严重程度达到重度水平时,分级方法还需进一步研究。

参考文献:

- [1]Wan A M, Chen X M, He Z H. Wheat stripe rust in China[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2007, 58(6): 605.
- [2]李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京:中国农业出版社, 2002.
- [3]Ripilly F. Yellow rust epidemiology[J]. Annual Review of Phytopathology, 1979, 17(1): 59-73.
- [4]Chen X M. Pathogens which threaten food security: *Puccinia striiformis*, the wheat stripe rust pathogen[J]. Food Security, 2020, 12(2): 239-251.
- [5]马占鸿. 中国小麦条锈病研究与防控[J]. 植物保护学报, 2018, 45(1): 1-6.
- [6]张帅堂,王紫烟,邹修国,等. 基于高光谱图像和遗传优化神经网络的茶叶病斑识别[J]. 农业工程学报, 2017, 33(22): 200-207.
- [7]郑志雄,齐 龙,马 旭,等. 基于高光谱成像技术的水稻叶瘟病病害程度分级方法[J]. 农业工程学报, 2013, 29(19): 138-144.
- [8]Moshou D, Bravo C, West J, et al. Automatic detection of 'yellow rust' in wheat using reflectance measurements and neural networks[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2004, 44(3): 173-188.
- [9]雷 雨,韩德俊,曾庆东,等. 基于高光谱成像技术的小麦条锈病病害程度分级方法[J]. 农业机械学报, 2018, 49(5): 226-232.
- [10]李小龙,秦 丰,赵龙莲,等. 近红外光谱技术的小麦条锈病严重度分级识别[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(2): 367-371.
- [11]陈 兵,李少昆,王克如,等. 棉花黄萎病病叶光谱特征与病情严重度的估测[J]. 中国农业科学, 2007, 40(12): 2709-2715.
- [12]Bai X B, Li X X, Fu Z T, et al. A fuzzy clustering segmentation method based on neighborhood grayscale information for defining cucumber leaf spot disease images[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2017, 136: 157-165.
- [13]张 冲,李 森,张 健,等. 基于改进中值滤波的梨树病害彩色图像分割[J]. 计算机应用, 2016, 36(增刊2): 197-199, 217.
- [14]张会敏,谢泽奇,张善文,等. 基于 WT-Otsu 算法的植物病害叶片图像分割方法[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 194-196.
- [15]葛 婧,邵陆寿,丁克坚,等. 玉米小斑病病害程度图像检测[J]. 农业机械学报, 2008, 39(1): 114-117.
- [16]任守纲,陆海飞,袁培森,等. 基于显著性检测的黄瓜叶部病害图像分割算法[J]. 农业机械学报, 2016, 47(9): 11-16.
- [17]曹英丽,林明童,郭忠辉,等. 基于 Lab 颜色空间的非监督 GMM 水稻无人机图像分割[J]. 农业机械学报, 2021, 52(1): 162-169.
- [18]明 浩,苏喜友. 利用特征分割和病斑增强的杨树叶部病害识别[J]. 浙江农林大学学报, 2020, 37(6): 1159-1166.
- [19]袁 媛,李 森,陈 晟,等. 复杂背景黄瓜叶部病害图像分割方法[J]. 农业机械学报, 2013, 44(10): 233-237.
- [20]任玉刚,张 建,李 森,等. 基于分水岭算法的作物病害叶片图像分割方法[J]. 计算机应用, 2012, 32(3): 752-755.
- [21]Wang L D, Yang T, Tian Y W. Crop disease leaf image segmentation method based on color features[C]//Li D L. Computer and Computing Technologies in Agriculture, Volume I. Wuyishan: International Federation for Information Processing, 2008.
- [22]Shen W Z, Wu Y C, Chen Z L, et al. Grading method of leaf spot disease based on image processing[C]//2008 International Conference on Computer Science and Software Engineering. Wuhan, China. IEEE, 2008: 491-494.
- [23]Revathi P, Hemalatha M. Classification of cotton leaf spot diseases using image processing edge detection techniques[C]//2012 International Conference on Emerging Trends in Science, Engineering and Technology (INCOSSET). Tiruchirappalli, India. IEEE, 2012: 169-173.
- [24]施 文,邹锐标,王 访,等. 基于多重分形的油菜病虫害叶片图像分割[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2014, 40(5): 556-560.
- [25]齐 龙,马 旭,张小超. 基于 BP 网络的植物病害彩色图像的分割技术[J]. 吉林大学学报(工学版), 2006, 36(增刊2): 126-129.
- [26]张善文,张云龙,尚怡君. 1 种基于 Otsu 算法的植物病害叶片图

王娜,王彪,蔡灏漾,等. 1 株桑叶内生生防多黏类芽孢杆菌可湿性粉剂的制备及应用效果[J]. 江苏农业科学,2021,49(23):115-124.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.23.021

1 株桑叶内生生防多黏类芽孢杆菌可湿性粉剂的制备及应用效果

王娜,王彪,蔡灏漾,戚昱琦,陈爱明,唐子恒,古扎来·达吾坎尔

(江苏科技大学生物技术学院,江苏镇江 212003)

摘要:以筛选自健康桑树叶片的 1 株多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)为研究对象,通过单因素试验、正交试验结合生物相容性确定可湿性粉剂的最佳配方,探讨可湿性粉剂的促生效应和安全毒理性,在此基础上探索菌株促生和拮抗机制。结果表明,可湿性粉剂的最佳配方为发酵液 70%、载体硅藻土 10%、分散剂聚乙烯醇 5%、湿润剂十二烷基苯磺酸钠 10%、稳定剂磷酸钾 2.5%、保护剂糊精 2.5%。可湿性粉剂主要性能检测结果显示,菌含量约为 7.0×10^8 CFU/g,悬浮率为 92.99%,湿润时间为 20 s,细度为 96.2%,pH 值为 6.8,含水量为 1.81%。可湿性粉剂热稳定性较好,耐受弱酸弱碱环境。平板对峙试验结果表明,可湿性粉剂对桑青枯病病原菌 5 号小种和灰霉菌仍有较高的拮抗性能,灌根处理对番茄幼苗有明显促生效果。浸根和茎穿刺处理对番茄幼苗无害;经口灌胃试验小鼠表明可湿性粉剂低毒性,对雄性个体影响较小,对雌性个体的伤害较大。培养基定性分析结果显示菌株可产生铁载体,能产生有机酸、胞外纤维素酶和蛋白酶,从而直接或间接促进植物生长和抑制病原菌的生长。

关键词:内生菌;多黏类芽孢杆菌;可湿性粉剂;促生;毒性;抑菌活性

中图分类号:S482.2⁺92 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)23-0115-10

农业生产受多方面制约,植物病害是其中主要因素之一。农业生产上,化学药剂是防治植物病害的主要手段,虽然防治效果显著,但是由于长期不合理使用,病原菌抗药性增强、环境污染严重、生物多样性破坏以及高毒高残留等^[1-4]负面问题层出不穷。随着人们环保意识以及农产品安全意识的不断增强,生物防治受到了国内外植物保护工作者的重视,其中对环境友好的微生物农药受到人们青睐^[5]。

生防细菌作为微生物农药的开发源之一,同其

他生防微生物相比具有存在广泛、群体庞大、繁殖迅速、代谢活动复杂、对病原菌作用方式多样等特点,成为开发热点。目前研究者已从不同来源分离并鉴定出多种具有抗植物病原菌活性的生防细菌,其中以芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)生防细菌研究应用最多^[6-9]。生防细菌来源广泛^[10],但植物内生细菌因与植物互利共生、抗逆性强、危害小、定殖快等优点,成为微生物农药研究的主要对象^[11-12]。

目前,利用植物内生菌作为微生物农药防治植物病害还存在一定问题。植物内生菌本身是一个生物活体,运输和保存对药效保持有重要影响。用于生物防治时,田间环境(土壤、植株表面及根际分

收稿日期:2021-04-09

基金项目:江苏科技大学博士启动基金(编号:1102931901)。

作者简介:王娜(1976—),女,山东烟台人,博士,副教授,主要从事植物病理学研究。E-mail:biojustwn@126.com。

像分割方法[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):337-339.

[27]谭峰,马晓丹. 基于叶片的植物病虫害识别方法[J]. 农机化研究,2009,31(6):41-43.

[28]乔雪,潘新,王欣宇,等. 基于 G-R 分量与 K-means 的马铃薯病虫害图像分割[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版),2021,42(3):84-87.

[29]张水发,王开义,祖琴,等. 基于块标记的田间叶片损伤区域分割方法[J]. 农业工程学报,2014,30(21):218-225.

[30]Jaware T H, Badgujar R D, Patil P G. Crop disease detection using image segmentation[J]. World Journal of Science and Technology,

2012,2(4):190-194.

[31]Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms[J]. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, 1979, 9(1):62-66.

[32]刁智华,王欢,宋寅卯,等. 基于颜色和形状特征的棉花害虫图像分割方法[J]. 农机化研究,2013,35(3):50-55.

[33]Yue J B, Feng H K, Jin X L, et al. A comparison of crop parameters estimation using images from UAV-mounted snapshot hyperspectral sensor and high-definition digital camera[J]. Remote Sensing, 2018,10(7):1138.