

· 特邀综述 ·



新一代植物表型组学的发展之路

胡伟娟^{1,2*}, 傅向东^{1,2}, 陈凡^{1,2}, 杨维才^{1,2}

¹中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; ²作物表型组学联合研究中心, 武汉 430074

摘要 随着多种植物全基因组测序的完成, 科研人员越来越认识到植物表型研究的重要性, 并将其提升至“组学”的高度。植物表型组学是研究植物生长、表现和组成的科学, 能够有效追踪基因型、环境因素和表型之间的联系, 是突破未来作物学研究和应用的关键领域。该文介绍了植物表型采集分析经历的从手工测量计数的初始阶段到特定测量工具的辅助阶段再到高通量表型组学3个阶段; 提出了推动植物表型采集分析发展的3个要素: 表型组学研究设施、表型采集技术及图像数据分析方法; 进而详细阐述了表型组学设施的发展、国际上代表性的设施平台情况以及表型采集传感器和图像数据分析方法的发展, 并展望了植物表型组学未来的研究方向。

关键词 植物表型组学, 表型研究设施, 采集技术, 图像分析

胡伟娟, 傅向东, 陈凡, 杨维才 (2019). 新一代植物表型组学的发展之路. 植物学报 54, 558–568.

植物表型组学是在基因组水平上系统研究植物或细胞在不同环境条件下所有表型的学科, 其研究利用的是多尺度、多维度的全方位数据, 包括空间尺度上小至核苷酸序列和细胞, 大至组织、器官、个体及群体, 以及整个生育期的时间维度信息。随着高通量表型测量技术的快速进步, 植物表型组学研究也取得快速发展。结合基因组学、生物信息学和大数据计算, 植物表型组学将极大地促进功能基因组研究和作物分子育种与高效栽培的进程。表型组学能够有效追踪基因型、环境因素及表型之间的联系, 缺乏详尽的表型数据, 将无法深刻理解基因组和环境因素对植物表型的复杂作用。因此, 植物科学研究的难点正逐渐从基因分析转向表型分析(Mir et al., 2019)。表型组学是突破未来作物学研究和应用的关键领域, 通过表型分析来描述关键性状可为育种、栽培和农业实践提供基于大数据的决策支持。此外, 表型组学的潜力还体现在与其它组学研究的结合上, 表型组学与其它组学(如基因组学、表观组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学)的关联分析, 可针对作物的细胞、组织、器官和群体等不同层面以及不同生长发育时期进行综合分析, 以绘制各项生命活动过程中的调控网络, 最终揭示生命本身的奥秘, 解析农作物的生物学规

律, 切实服务于农业生产(周济等, 2018)。目前在表型组学研究中, 通过复杂的非侵入性成像、光谱学、图像分析、机器人技术、高性能计算设备和表型数据库构建等策略来系统地收集、管理和分析表型数据, 已在加速育种进程中显示出一定的遗传增益(Araus et al., 2018)。

1 植物表型采集分析的发展历程——从表型采集到表型组学研究

早在1866年, “遗传学之父”孟德尔就开始描述和分析表型, 其发表的题为“植物杂交实验”的著名论文中, 详细描述了豌豆7对相对的特征, 包括种子的圆形与皱缩、高茎对矮茎、绿色豆荚与黄色豆荚等。随着遗传学的发展, 植物学家对植物特征的分析越来越重视。鉴于手工测量的局限性, 一些植物特征测量工具逐步兴起, 开始进入表型分析的数字化测量阶段。种子、叶片、根系、果实、细胞和植物冠层等不同尺度, 都有相应的分析系统或专业软件(Subedi et al., 2013; Wiley et al., 2016; Xu et al., 2016)。近年来, 植物某些特定类型特征的观测深度和测量效率都有了实质性提升。在植物内在特征测定方面, 叶绿素荧

收稿日期: 2019-07-29; 接受日期: 2019-08-21

* 通讯作者。E-mail: wjhu@genetics.ac.cn

光技术是研究植物生理过程中应用最广泛的技术之一(Schreiber, 2004; Zhou et al., 2016)。目前已有许多针对光合作用的不同方面及叶绿素荧光的不同特性而开发的仪器设备(Zhou et al., 2016)。利用叶绿素荧光动力学方法可以快速、灵敏且无损伤地检测各种逆境对植物光合生理的影响。采用特定测量工具辅助阶段的特点在于可以弥补手工测量中一些外在特征参数的误差,并可测量植物内在特征,从而获取更多的数字化结果,加快表型分析研究进程。但是这些工具只是针对单一类型特征的收集与分析,对于整株植物所有特征的分析,需要配备不同的特征测量工具,后期操作难度大,数据分析进程缓慢,不适合用于大规模遗传群体特征参数的筛选。

直到20世纪末,对于植物表型的采集分析才进入真正意义上的表型组学研究阶段,其核心是获取高质量且可重复的性状数据,进而量化分析基因型与环境互作效应(G×E)及其对产量、质量和抗逆等相关性状的影响(Ribaut et al., 2010; Tester and Langridge, 2010)。相对于单一性状分析,植物表型组能为植物研究提供全面的科学证据(Finkel, 2009),当与相应的基因组和环境数据相结合时,有望在植物育种上引发巨大的飞跃(Awada et al., 2018)。

植物表型组学研究初期,研究重点集中于提高表型采集技术及降低采集分析设施成本。Araus等(2018)通过比较作物基因组选择和高通量表型组技术后指出,表型获取技术是整个作物育种中比较薄弱的环节,需重点提高该技术的精度和通量,并降低价格成本。在此期间,温室及室内表型技术大都由商业机构推动,其中最著名的是德国LemnaTec公司的高通量温室植物表型成像系统(Scanalyzer 3D)。同期发展的环境传感、非侵入式成像、反射光谱及传送控制技术等也被应用到田间表型采集中,主要应用于田间作物生长的表型性状采集分析及产量预测(White et al., 2012)。表型采集技术的快速发展产生了海量的图像数据,但如何将传感器数据转化为生物学知识并解释生物学问题至关重要。因此,Cobb等(2013)在其综述中首次提出了下一代表型研究(next-generation phenotyping)的概念,文中指出表型组研究应与基因组数据进行关联分析,而不只停留在植物性状参数的快速和准确测量。表型数据通过与全基因组关联分析、数量性状定位、高分辨率连锁图谱及基因组选择模型等技

术紧密结合,可用于揭示性状调控的分子机制和阐明基因功能。自下一代表型研究被提出后,科学家对表型组学的发展统一了认识,他们认为表型组研究领域正在进入一个全新的发展阶段:如何把室内、外表型研究中产生的巨量图像和传感器数据转化为有意义的生物学知识将成为下一个表型组学研究的瓶颈(Tardieu et al., 2017; Roitsch et al., 2019)。

植物表型组学研究的发展之路实际上是高通量表型组学研究设施(high-throughput plant phenotyping platforms, HTPPs)、表型采集技术、图像分析及数据关联分析3个方面的发展过程,下文将从这3个方面进行论述。

2 高通量表型组学研究设施的发展

高通量表型组学研究设施是集传送系统、采集相机、控制系统及分析存储系统于一体的大型研究设施,其能够全自动、无损伤地获取植物全生育期的多维度表型信息。这些表型设施平台通过复杂的非侵入性成像、光谱学、图像分析、机器人技术、高性能计算设备和表型数据库等方法来系统地收集并分析表型数据。作为一次表型革命,这些现代的表型组学平台和工具可在一天内记录成百上千株植物,旨在记录植物发育、结构、光合作用、生长或生物量以及生产力等特征数据,为植物学家提供解锁植物基因组编码信息所需的知识和工具(Mir et al., 2019)。

目前,根据应用场景的不同,高通量表型组学研究设施可以分为温室型及田间表型平台两大类(表1)。温室型表型组学设施主要采集和分析可控环境条件下植物或作物的表型信息,通过整合分析环境条件,匹配基因组学和表型组学数据,来实现“自助化、智能化”育种目标。其中,又因表型采集方式的不同分为传送式(plant to sensor)和轨道式(sensor to plant)。国际上大多数的温室表型组学设施属于传送式,即植物或作物在传送带上培养,通过动力传送到成像区域进行成像,其中以澳大利亚植物表型加速器、德国Julich中心表型平台和英国国家植物表型中心为代表。轨道式温室表型系统主要根据温室结构搭建可移动的采集相机,实现植物原位表型收集,其中以德国马普学会轨道型温室表型平台为代表,其温室轨道上搭载了多光谱激光3D成像单元,用于各种作物的三维结构采集及光谱成像。田间表型设施是近期

表1 高通量植物表型组学设施分类及代表性平台

Table 1 The classification and typical international high-throughput plant phenotyping platforms

分类	采集方式	国际代表性平台		
		平台名称	国家	概况/特色
温室型表型平台(可控环境)	传送式	植物表型加速器	澳大利亚	主要有2套大型温室表型平台, 合计通量2400盆。主要应用于非生物胁迫和植物衰老等方面
		德国Julich中心表型平台	德国	自主研发了温室表型系统, 包括根系MRI扫描系统和根系PET-CT扫描系统, 用于植物地上及地下部位的表型研究
		英国亚伯大学国家植物表型中心	英国	一套通量800盆的温室表型系统。重点关注能源植物(草本)研究
		法国农科院表型中心	法国	在蒙彼利埃(Montpellier)和第戎(Dijon)各有一套大型温室表型平台, 合计通量2800盆。用于多种农作物的育种
	轨道式	根特大学温室表型平台	比利时	主要集成可见光、热成像及高光谱成像等成像单元, 主要应用于玉米等农作物的非生物胁迫研究
		德国马普学会轨道型温室表型平台	德国	轨道上搭载了多光谱激光3D成像单元, 用于各种作物的三维结构采集及光谱成像
田间表型平台	轨道式	上海师范大学轨道型温室表型平台	中国	搭载了RGB、多光谱和多光谱激光3D成像传感器, 用于采集分析各种植物的颜色、三维结构、植物反射指数及光谱成像
		英国洛桑实验站田间表型平台	英国	成像覆盖面积10 m×120 m, 包括可见光、红外、激光3D、叶绿素荧光、高光谱、NDVI和CO ₂ 等多个传感器。应用于油菜和小麦等作物不同营养处理下相关田间表型研究
	轨道式	英国JIC田间表型平台	英国	以植物激光三维扫描测量仪为核心, 通过3D顶部成像, 获取植物生长情况。对生长在自然土壤里的农作物进行高通量表型测量
		美国内布拉斯加林肯大学田间表型平台	美国	高吞吐量的表型机器人安装在一个30 t重的钢架上, 沿着200英尺高的钢轨移动, 在1.5英亩田间移动。主要应用于研究植物高度、叶表面积、生物量、耐热性和对当地条件的其它反应的众多变化
	行走式(手动或自动)	澳大利亚昆士兰大学和CSIRO	澳大利亚	行走式田间表型, 三轮带电动驱动系统, 配置可见光和激光扫描测量器。对油菜等田间作物进行高通量表型测量
		日本东京大学田间表型平台	日本	在集成多个低成本传感器的基础上, 通过网络云服务实现对植物在不同环境下的长期观察
		英国诺维奇科学研究所作物表型监测平台Crop Quant	英国	通过自主研发的软件系统动态控制, 根据不同光照条件自动调整成像模式对田间作物的连续拍摄, 完成初步的表型分析, 实现对作物全生育期关键性状的高通量、高频率表型分析
	无人机(UAV)	德国波恩大学田间平台	德国	利用无人机搭载不同类型的高光谱传感器, 主要应用于监测田间大麦的表型参数
		CSIRO昆士兰生物科学区	澳大利亚	改装后的载人直升机Pheno-Copter被应用于测量数以千计的田间小区的冠层温度和倒伏情况
		国际玉米和小麦改良中心CIMMYT	意大利	结合全球定位系统和无人机影像信息来创建精确的正射影像图, 用于计算并分析植物覆盖率和光合作用

表型研究中的热点及难点, 由于田间植物种植的固定性, 田间表型采集都是sensor to plant形式, 根据相机搭载运行方式的不同可以细分为轨道式(龙门吊)、

绳索悬浮式、行走式及无人机。其中以轨道式的田间表型设施最为常见, 英国洛桑实验站田间表型平台是国际上建成最早且功能最全的田间平台, 其搭载可见

光、红外、激光3D、叶绿素荧光、高光谱、NDVI和CO₂等多个传感器, 已应用于油菜(*Brassica napus*)和小麦(*Triticum aestivum*)等作物不同营养处理下相关田间表型研究。

3 表型采集技术的发展

利用高精度、非破坏性的技术方法提高植物功能与结构的研究能力已成为植物育种和精准农业的主要目标。随着植物表型分析技术的发展, 这些新兴方法在揭示植物生长、产量、品质和抗逆的数量性状方面发挥关键作用(Tripodi et al., 2018)。近20年来, 图像表型采集技术的发展使得高通量、无损伤地获取植物全部生育期或动态胁迫过程的形态、结构及生理信息成为可能, 本节将具体结合采集的表型性状对植物表型

技术的发展进行论述(表2)。依照图像的性质可以将图像采集技术分为二维和三维图像采集技术。二维图像采集主要集中于不同光谱下的光学成像, 利用植物在不同光谱波段对光的吸收反射特性来表征提取相关的表型参数。可见光成像是目前应用最广泛的成像技术(Fiorani and Schurr, 2013), 通过图像分析, 从此类图像中提取植物的大小、形状、颜色及结构等信息, 此类采集技术多用于作物产量预测(Fiorani and Schurr, 2013; Bowman et al., 2015; Neilson et al., 2015)、生长发育(Vasseur et al., 2002; Yang et al., 2014; Ward et al., 2019)及逆境胁迫研究(Chen et al., 2014; Enders et al., 2019)中。近红外成像技术可应用于组织含水量的监测(Seelig et al., 2008), 由于其基于图像的特征, 故可以分析含水量在植物体内

表2 表型采集技术及应用简介

Table 2 The brief introduction of the phenotyping technology and its applications

分类	成像技术	元数据	波长范围	采集性状 (传统农艺性状)	新参数	应用实例
二维成像技术	可见光成像	灰度或彩色图像, RGB通道反射值	400–700 nm	株高, 叶面积, 物候学信息, 叶型, 根系结构, 产量性状, 穗型, 种子形态, 绝对生长率(GR)和相对生长率(RGR)等	投影面积, 紧密度, 叶片衰老指数、伸长速率、卷曲指数, 叶面积垂直分布, 绿度, 开花率等	玉米耐冷性(Enders et al., 2019), 小麦产量预测(Bowman et al., 2015), 马铃薯出苗量预测(Li et al., 2019), 小麦开花率(Wang et al., 2019), 大麦叶片伸长QTL(Ward et al., 2019), 拟南芥群体生长(Vasseur et al., 2017), 春小麦产量性状(Neilson et al., 2015), 大麦抗旱性状(Chen et al., 2014), 水稻QTL (Yang et al., 2013), C ₄ 作物地上部生物量(Fiorani and Schurr, 2013), 种子形态(Fahlgren et al., 2015)等
	近红外成像	灰度图像	900–1700 nm	NIR反射值, 组织含水量	含水量垂直分布, 辐射分布等	小麦叶片含水量监测(Elsayed et al., 2011), 玉米木质素(Hatfield and Fukushima, 2005), 叶片含水量(Seelig et al., 2008), 大麦抗旱性状等
	热成像	灰度图像, IR反射值	8000–14000 nm	IR反射值, 叶片或冠层温度	冠层温度下降差, 温度分布	甘蔗产量(Basnayake et al., 2017), 大麦及小麦叶片水分状态(Munns et al., 2010), 干旱耐受性评价(Fischer et al., 1998, Tuberosa, 2011, Araus et al., 2012), 产量贡献(Reynolds et al., 1999), 拟南芥突变体筛选(Merlot et al., 2002)等
	荧光成像	颜色图像, 荧光反射值	400–700 nm	荧光反射强度	衰老指数, 胁迫指数等	小麦及大麦干旱胁迫(Munns et al., 2010), 拟南芥干旱胁迫(Woo et al., 2008), 叶片生长及胁迫(Jansen et al., 2009), 除草剂应用(Chaerle et al., 2003), 作物生长发育及胁迫(Chaerle et al., 2009)等

表 2 (续) Table 2 (continued)

分类	成像技术	元数据	波长范围	采集性状 (传统农艺性状)	新参数	应用实例
	叶绿素荧光成像	颜色图像	400–700 nm	光合效率, 光系统II产生荧光强度	叶绿素指数, 花青素指数, F_v/F_m , F_o	光合效率检测(van Veelen et al., 2018), 小麦光合动力学变化(Murchie et al., 2018), 拟南芥干旱胁迫(Yao et al., 2018)等
	多光谱成像	灰度或彩色图像, 光谱吸收曲线	400–2500 nm	可溶性固形物, 花青素, 叶绿素含量, 叶片N、P元素含量, 组织含水量等	归一化植被指数(NDVI), 叶黄素, 叶绿素等色素的反射峰值, 生化组分光谱值, 植物光谱反射指数	马铃薯晚疫病分级评价(Franceschini et al., 2019), 油菜光叶斑病(Veys et al., 2019), 葡萄病害分辨(Albetis et al., 2019), 棉花水分利用效率(Thorp et al., 2018)等
	高光谱成像	灰度或彩色图像, 光谱吸收曲线	400–2500 nm连续波长	可溶性固形物, 花青素, 叶绿素含量, 叶片N、P元素含量, 组织含水量等	归一化植被指数(NDVI), 叶黄素, 叶绿素等色素的反射峰值, 叶片组织反射率, 叶片生化组分光谱值, 植物光谱反射指数(NDVI、RVI和GVI等)	小麦光合效率评估(EI-Hendawy et al., 2019), 卷心莴苣评分及分类(Bauer et al., 2011), 葡萄浆果品质(Gutiérrez et al., 2019), 小麦N素评估(Elsayed et al., 2018), 小麦含氮量监测(Camino et al., 2018), 小麦耐盐(Moghimini et al., 2018)等
三维成像技术	激光雷达成像	点阵云图	532 nm	株高, 叶面积, 物候学信息, 叶型, 根系结构, 产量性状, 穗型, 种子形态等	大小(高度、宽度、长度), 倾角如叶倾角(点云倾角), 基本体积测量等	高粱田间穗数及尺寸(Malambo et al., 2019), 粗肋草属叶片性状分析(Panjvani et al., 2019), 玉米田间结构特征(Bao et al., 2019)等
	计算机断层扫描成像	连续灰度图像	100 μm或更低	生物量, 分蘖数、分蘖角度, 穗粒数, 内部结构信息等	各部位密度分布, 茎秆强度等	玉米茎秆抗倒伏(Zhang et al., 2018), 高粱茎解剖学特征(Gomez et al., 2018), 小麦根系研究(Douarre et al., 2018, Xu et al., 2018), 根系分泌物(Valdes et al., 2018)等
	磁共振成像	连续灰度图像	200–500 μm	根系长度, 体内可动水的分布图, 内部结构等	组织体内电磁分布, 根系结构等	根系分泌物(van Veelen et al., 2018), 根系生长(Poorter et al., 2012), 鹰嘴豆表型(Rascher et al., 2011)等

的分布情况;加之此类技术的无损测定优势,已应用于抗旱性的动力学监测(Chen et al., 2014)。红外成像技术可无损测定并快速获取植株或冠层生理状态,揭示植株的蒸腾热耗散情况,已应用于叶片水分状态评价(Munns et al., 2010)、干旱耐受性评价(Fischer et al., 1998; Tuberosa, 2011; Araus et al., 2012)及突变体筛选(Merlot et al., 2002)等。健康的植物在蓝光照射下会自发发出红色的叶绿素荧光,通过荧光成像技术可以记录不同植物或相同植物不同部位的红色荧光强度,这种差异荧光成像可应用于胁迫的早期诊断(Chaerle et al., 2003; Woo et al., 2008; Jansen et al., 2009; Munns et al., 2010)等。以上成像技术主要是第一代传感器的应用,虽然这些成像技术都能实现高通量、无损快速获得植物表型信

息,但获取的信息比较单一,且易受植物叶片遮挡的影响。

为了采集和描述更复杂的表型信息,采集设备也在不断进步,新一代的采集传感器被应用于表型采集并驱动新一代植物表型组学研究的发展(Roitsch et al., 2019)。近年来,被广泛应用的高光谱及多光谱成像技术除获取单个波段的图像信息以外,还可以同时获得植物的光谱吸收曲线。通过对图像和光谱信息进行分析,能够实时原位观测植物的内在生理信息和化学物质含量,一次成像可以获取大量的表型信息,尤其高光谱成像技术是近期植物表型组学采集的热点技术,其采集的归一化植被指数(NDVI)叶黄素、叶绿素等色素的反射峰值、叶片组织反射率、叶片生化组分光谱值、植物光谱反射指数(如NDVI、RVI和GVI)

等可以反映植物体内的可溶性固形物、花青素、叶绿素含量、叶片N和P元素含量及组织含水量等。同时三维成像技术的发展彻底解决了二维成像中叶片遮挡的问题。例如, 激光雷达成像可以获得植物的三维点阵云图, 通过分析可以获取植物结构信息。计算机断层扫描机及磁共振成像技术可以将光线穿透植物样本, 通过一系列连续灰度图像重建的三维结构, 可以获取内部结构信息, 已广泛应用于根系研究(Rascher et al., 2011; Poorter et al., 2012; Zhang et al., 2018; Gomez et al., 2018; Douarre et al., 2018; Xu et al., 2018; Valdes et al., 2018; van Veelen et al., 2018)。

4 图像及数据分析技术的发展

针对新一代多层次表型采集技术获取的多维植物表型图像数据集, 图像分析方法致力于从图像中提取性状, 并进行图像信息的分类识别; 数据分析则是对从图像中提取的性状进行加工统计, 以获得高可信度、可重复的生物学结论(Tardieu et al., 2017)。近年来, 许多科学家发表了各类图像及数据分析工具, 这些工具可以实现从单个细胞、组织、个体及冠层等不同尺度进行图像处理及特征提取(Lobet et al., 2017)。Patil和Kumar (2017)利用图像的颜色、形状及纹理特征实现了对3种大豆(*Glycine max*)叶片病害的检索分析。Zhao等(2015)开发了一个RGB图像分析工具ApLeaf, 该软件通过背景去除、特征提取及分类鉴定3个步骤, 对法国的126个物种进行了分类鉴定。Pound等(2014)开发了一种软件包, 可以利用RGB图像自动进行三维重建以提取植物地上部的结构特征, 这种方法被应用于小麦和水稻(*Oryza sativa*)的地上部重建并证明其可行性。图像分析远远不止于此, 目前在表型数据管理及分析方面也有不少研究进展, 其中最著名的图像数据管理分析平台IAP (Integrated Analysis Platform)同时具有数据综合管理与分析功能, 可处理与分析多种作物如玉米(*Zea mays*)、大麦(*Hordeum vulgare*)和小麦的图像, 且允许用户通过插件的形式向IAP系统添加其它处理函数, 以扩展相应的功能(Klukas et al., 2012)。PHENOPSIS DB是一种拟南芥表型管理分析的数据库, 用于管理与分析PHENOPSIS表型采集平台收集的图像及数据, 对这些数据进行研究, 可分析拟南芥基因×环境的交互作

用(Fabre et al., 2011)。HTPheno是一个开源的图像数据分析软件系统, 可自动处理与分析高通量表型平台中获取的图像, 随后将分析数据转化为生物学知识(如植物适应性)(Hartmann et al., 2011)。Roitsch等(2019)在综述中详细阐述了高通量表型组学中数据提取和分析的相关进展, 同时提出人工智能(如机器学习和深度学习)技术在植物表型组学图像及数据分析中的应用是推进下一代表型组学发展的主要助力之一。

随着植物表型组学研究的发展, 全自动且精准地从海量的图像数据中提取植物的表型特性至关重要, 机器学习及深度学习等其它数据处理方法可以从多维度数据集中提取新的信息和认知, 已在植物表型组学研究中的图像分类、物体识别与特征提取方面展示出强大的数据处理优势(Pound et al., 2017, 2018)。Casanova等(2014)利用高斯混合模型检测小麦的生物胁迫。Bauer等(2011)利用K近邻算法和贝叶斯分类方法对多光谱图像进行叶片病害的早期检测与鉴定(Bauer et al., 2011)。Raza等(2014)利用支持向量机的方法对番茄(*Solanum lycopersicum*)红外及可见光图像进行病害的分类及鉴定; 利用支持向量机和高斯混合模型结合, 对菠菜(*Spinacia oleracea*)冠层的红外及可见光图像进行水分胁迫的自动识别(Raza et al., 2015)。Singh等(2016)对植物的生物与非生物胁迫表型研究中常用的机器学习算法进行梳理, 并指出未来将机器学习方法用于植物胁迫的定量分析具有很大的应用前景。机器学习等技术与表型研究领域的结合多集中在生物及非生物胁迫方面, 对于其它性状如作物的株型、穗型、生理参数及养分含量的自动定量分析还有待进一步加强。

5 表型组学研究展望

表型组学是突破未来作物学研究和应用的关键领域, 通过表型采集分析可为育种、栽培和农业实践提供基于大数据的决策支持。对于表型组学来说, 多元数据的组合可以解释新的生物学现象, 这就要求在表型设施平台建设及数据采集方面应尽量多考虑多模态数据采集的结合, 由于单个传感器获取的数据特征是有限的, 而且仍然存在一些技术局限性, 通过结合多种成像传感器或成像技术可以获得更多的表型特征和

更全面的数据集,且不同的成像技术相结合也可以突破单一成像技术的局限。例如,一个叶片生长发育的生物学问题,可以利用可见光成像得到叶片的大小和颜色等信息,再结合多光谱、高光谱和热成像等技术可同时推导出叶片的生化含量,解释叶片的光学特性;同时,结合激光雷达或CT成像技术可以获取叶片的三维信息,有效避免光学成像中由于叶片相互遮挡产生的问题,获取关于叶片的生长方向和位置等信息。因此,新一代植物表型组学的发展势必要考虑成像技术的结合和组合。

由于表型采集技术的快速发展,即使只针对单个物种,全表型测量也会产生海量数据集。在今后相当长的时间内,图像分析及数据解析方法仍然是新一代植物表型组学发展的瓶颈。各类表型设备只是完成了数据采集工作,如何从庞大的数据集中高效地总结共性规律,并提取有生物学意义的信息至关重要。目前在人工智能技术与表型组学的结合方面取得了一定的进展,但对于丰富的图像信息来说,我们目前只是从中提取了有限的信息,仍需将更多的计算方法与表型数据的提取相结合。同时由于表型组学是一个广泛的交叉学科,如何将传感器提取的图像性状与植物的关键性状进行关联分析,以及如何高效地对元数据进行有效注释和分析均是亟待解决的问题。

植物表型组学研究作为一个“组学”的范畴,可以实现量化分析植物个体的全部表型信息,对植物不同空间尺度,如冠层、个体、组织器官甚至细胞及其整个生长发育各个阶段进行动态性状的获取和分析。这种全面分析的潜力还体现在与其它组学研究的结合上,表型组学整合基因组学、表观组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学等针对植物的细胞、组织、器官、群体等不同尺度及不同生长发育时期进行综合分析,预期可以绘制各项生命活动过程中的调控网络,最终揭示生命本身的奥秘,阐明农作物的生物学规律,切实服务于农业生产。

参考文献

- 周济, Tardieu F, Pridmore T, Doonan J, Reynolds D, Hall N, Griffiths S, 程涛, 朱艳, 王秀娥, 姜东, 丁艳锋 (2018). 植物表型组学: 发展、现状与挑战. 南京农业大学学报 **41**, 580–588.
- Albetis J, Jacquin A, Goulard M, Poilvé H, Rousseau J, Clenet H, Dedieu G, Duthoit S (2019). On the potentiality of UAV multispectral imagery to detect *Flavescence dorée* and grapevine trunk diseases. *Remote Sens* **11**, 23.
- Araus JL, Kefauver SC, Zaman-Allah M, Olsen MS, Cairns JE (2018). Translating high-throughput phenotyping into genetic gain. *Trends Plant Sci* **23**, 451–466.
- Araus JL, Serret MD, Edmeades GO (2012). Phenotyping maize for adaptation to drought. *Front Physiol* **3**, 305.
- Awada L, Phillips PWB, Smyth SJ (2018). The adoption of automated phenotyping by plant breeders. *Euphytica* **214**, 148.
- Bao Y, Tang L, Srinivasan S, Schnable PS (2019). Field-based architectural traits characterisation of maize plant using time-of-flight 3D imaging. *Biosyst Eng* **178**, 86–101.
- Basnayake J, Lakshmanan P, Jackson P, Chapman S, Natarajan S (2017). Canopy temperature: a predictor of sugarcane yield for irrigated and rainfed conditions. *Int Sugar J* **29**, 1–9.
- Bauer SD, Korč F, Förstner W (2011). The potential of automatic methods of classification to identify leaf diseases from multispectral images. *Precis Agric* **12**, 361–377.
- Bowman BC, Chen J, Zhang J, Wheeler J, Wang Y, Zhao W, Nayak S, Heslot N, Bockelman H, Bonman JM (2015). Evaluating grain yield in spring wheat with canopy spectral reflectance. *Crop Sci* **55**, 1881–1890.
- Camino C, González-Dugo V, Hernández P, Sillero JC, Zarco-Tejada PJ (2018). Improved nitrogen retrievals with airborne-derived fluorescence and plant traits quantified from VNIR-SWIR hyperspectral imagery in the context of precision agriculture. *Int J Appl Earth Obs Geoinform* **70**, 105–117.
- Casanova JJ, O'Shaughnessy SA, Evett SR, Rush CM (2014). Development of a wireless computer vision instrument to detect biotic stress in wheat. *Sensors* **14**, 17753–17769.
- Chaerle L, Hulsen K, Hermans C, Strasser RJ, Valcke R, Höfte M, Van Der Straeten D (2003). Robotized time-lapse imaging to assess in-planta uptake of phenylurea herbicides and their microbial degradation. *Physiol Plantarum* **118**, 613–619.
- Chaerle L, Lenk S, Leinonen I, Jones HG, Van Der Straeten D, Buschmann C (2009). Multi-sensor plant imaging: towards the development of a stress-catalogue. *Biotechnol J* **4**, 1152–1167.
- Chen DJ, Neumann K, Friedel S, Kilian B, Chen M, Altmann T, Klukas C (2014). Dissecting the phenotypic

- components of crop plant growth and drought responses based on high-throughput image analysis. *Plant Cell* **26**, 4636–4655.
- Cobb JN, DeClerck G, Greenberg A, Clark R, McCouch S** (2013). Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype phenotype relationships and its relevance to crop improvement. *Theor Appl Genet* **126**, 867–887.
- Douarre C, Schielein R, Frindel C, Gerth S, Rousseau D** (2018). Transfer learning from synthetic data applied to soil-root segmentation in X-ray tomography images. *J Imaging* **4**, 65.
- El-Hendawy S, Al-Suhaibani N, Dewir YH, Elsayed S, Alotaibi M, Hassan W, Refay Y, Tahir MU** (2019). Ability of modified spectral reflectance indices for estimating growth and photosynthetic efficiency of wheat under saline field conditions. *Agronomy* **9**, 35.
- Elsayed S, Barmeier G, Schmidhalter U** (2018). Passive reflectance sensing and digital image analysis allows for assessing the biomass and nitrogen status of wheat in early and late tillering stages. *Front Plant Sci* **9**, 1478.
- Elsayed S, Mistele B, Schmidhalter U** (2011). Can changes in leaf water potential be assessed spectrally? *Funct Plant Biol* **38**, 523–533.
- Enders TA, St Dennis S, Oakland J, Callen ST, Gehan MA, Miller ND, Spalding EP, Springer NM, Hirsch CD** (2019). Classifying cold-stress responses of inbred maize seedlings using RGB imaging. *Plant Direct* **3**, 1–11.
- Fabre J, Dauzat M, Negre V, Wuyts N, Tireau A, Gennari E, Neveu P, Tisne S, Massonnet C, Hummel I, Granier C** (2011). PHENOPSIS DB: an information system for *Arabidopsis thaliana* phenotypic data in an environmental context. *BMC Plant Biol* **11**, 77.
- Fahlgren N, Gehan MA, Baxter I** (2015). Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. *Curr Opin Plant Biol* **24**, 93–99.
- Finkel E** (2009). With 'Phenomics', plant scientists hope to shift breeding into overdrive. *Science* **325**, 380–381.
- Fiorani F, Schurr U** (2013). Future scenarios for plant phenotyping. *Annu Rev Plant Biol* **64**, 267–291.
- Fischer RA, Rees D, Sayre KD, Lu ZM, Condon AG, Saavedra AL** (1998). Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Sci* **38**, 1467–1475.
- Franceschini MHD, Bartholomeus H, van Apeldoorn DF, Suomalainen J, Kooistra L** (2019). Feasibility of unmanned aerial vehicle optical imagery for early detection and severity assessment of late blight in potato. *Remote Sens* **11**, 224.
- Gomez FE, Carvalho Jr G, Shi FH, Muliana AH, Rooney WL** (2018). High throughput phenotyping of morpho-anatomical stem properties using X-ray computed tomography in sorghum. *Plant Methods* **14**, 59.
- Gutiérrez S, Tardaguila J, Fernández-Navales J, Diago MP** (2019). On-the-go hyperspectral imaging for the in-field estimation of grape berry soluble solids and anthocyanin concentration. *Aust J Grape Wine Res* **25**, 127–133.
- Hartmann A, Czauderna T, Hoffmann R, Stein N, Schreiber F** (2011). HTPPheno: an image analysis pipeline for high-throughput plant phenotyping. *BMC Bioinform* **12**, 148.
- Hatfield R, Fukushima RS** (2005). Can lignin be accurately measured? *Crop Sci* **45**, 832–839.
- Jansen M, Gilmer F, Biskup B, Nagel KA, Rascher U, Fischbach A, Briem S, Dreissen G, Tittmann S, Braun S, De Jaeger I, Metzlaff M, Schurr U, Scharr H, Walter A** (2009). Simultaneous phenotyping of leaf growth and chlorophyll fluorescence via GROWSCREEN FLUORO allows detection of stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and other rosette plants. *Funct Plant Biol* **36**, 902–914.
- Klukas C, Pape JM, Entzian A** (2012). Analysis of high-throughput plant image data with the information system IAP. *J Integr Bioinform* **9**, 191.
- Li B, Xu XM, Han JW, Zhang L, Bian CS, Jin LP, Liu JG** (2019). The estimation of crop emergence in potatoes by UAV RGB imagery. *Plant Methods* **15**, 15.
- Lobet G** (2017). Image analysis in plant sciences: publish then perish. *Trends Plant Sci* **22**, 559–566.
- Malambo L, Popescu SC, Horne DW, Pugh NA, Rooney WL** (2019). Automated detection and measurement of individual sorghum panicles using density-based clustering of terrestrial lidar data. *ISPRS J Photogramm* **149**, 1–13.
- Merlot S, Mustilli AC, Genty B, North H, Lefebvre V, Sotta B, Vasseur A, Giraudat J** (2002). Use of infrared thermal imaging to isolate *Arabidopsis* mutants defective in stomatal regulation. *Plant J* **30**, 601–609.
- Mir RR, Reynolds M, Pinto F, Khan MA, Bhat MA** (2019). High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era. *Plant Sci* **282**, 60–72.
- Moghim A, Yang C, Miller ME, Kianian SF, Marchetto PM** (2018). A novel approach to assess salt stress tolerance

- in wheat using hyperspectral imaging. *Front Plant Sci* **9**, 1182.
- Munns R, James RA, Sirault XRR, Furbank RT, Jones HG** (2010). New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *J Exp Bot* **61**, 3499–3507.
- Murchie EH, Kefauver S, Araus JL, Muller O, Rascher U, Flood PJ, Lawson T** (2018). Measuring the dynamic photosynthetic. *Ann Bot* **122**, 207–220.
- Neilson EH, Edwards AM, Blomstedt CK, Berger B, Møller BL, Gleadow RM** (2015). Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C_4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *J Exp Bot* **66**, 1817–1832.
- Panjvani K, Dinh AV, Wahid KA** (2019). LiDARPheno—a low-cost LiDAR-based 3D scanning system for leaf morphological trait extraction. *Front Plant Sci* **10**, 147.
- Patil JK, Kumar R** (2017). Analysis of content based image retrieval for plant leaf diseases using color, shape and texture features. *Eng Agric, Environ Food* **10**, 69–78.
- Poorter H, Bühler J, van Dusschoten D, Climent J, Postma JA** (2012). Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Funct Plant Biol* **39**, 839–850.
- Pound MP, Atkinson JA, Townsend AJ, Wilson MH, Griffiths M, Jackson AS, Bulat A, Tzimiropoulos G, Wells DM, Murchie EH, Pridmore TP, French AP** (2017). Deep machine learning provides state-of-the-art performance in image-based plant phenotyping. *GigaScience* **6**, gix083.
- Pound MP, Atkinson JA, Townsend AJ, Wilson MH, Griffiths M, Jackson AS, Bulat A, Tzimiropoulos G, Wells DM, Murchie EH, Pridmore TP, French AP** (2018). Erratum to: deep machine learning provides state-of-the-art performance in image-based plant phenotyping. *GigaScience* **7**, 042.
- Pound MP, French AP, Murchie EH, Pridmore TP** (2014). Automated recovery of three-dimensional models of plant shoots from multiple color images. *Plant Physiol* **166**, 1688–1698.
- Rascher U, Blossfeld S, Fiorani F, Jahnke S, Jansen M, Kuhn AJ, Matsubara S, Martin LLA, Merchant A, Metzner R, Müller-Linow M, Nagel KA, Pieruschka R, Pinto F, Schreiber CM, Temperton VM, Thorpe MR, van Dusschoten D, van Volkenburgh E, Windt CW, Schurr U** (2011). Non-invasive approaches for phenotyping of enhanced performance traits in bean. *Funct Plant Biol* **38**, 968–983.
- Raza SEA, Prince G, Clarkson JP, Rajpoot NM** (2015). Automatic detection of diseased tomato plants using thermal and stereo visible light images. *PLoS One* **10**, e0123262.
- Raza SEA, Smith HK, Clarkson GJJ, Taylor G, Thompson AJ, Clarkson J, Rajpoot NM** (2014). Automatic detection of regions in spinach canopies responding to soil moisture deficit using combined visible and thermal imagery. *PLoS One* **9**, e97612.
- Reynolds MP, Rajaram S, Sayre KD** (1999). Physiological and genetic changes of irrigated wheat in the post-green revolution period and approaches for meeting projected global demand. *Crop Sci* **39**, 1611–1621.
- Ribaut JM, de Vicente MC, Delannay X** (2010). Molecular breeding in developing countries: challenges and perspectives. *Curr Opin Plant Biol* **13**, 213–218.
- Roitsch T, Cabrera-Bosquet L, Fournier A, Ghamkhar K, Jiménez-Berni J, Pinto F, Ober ES** (2019). Review: new sensors and data-driven approaches—a path to next generation phenomics. *Plant Sci* **282**, 2–10.
- Schreiber U** (2004). Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. In: Papageorgiou GC, Govindjee, eds. *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Dordrecht: Springer. pp. 279–319.
- Seelig HD, Hoehn A, Stodieck LS, Klaus DM, Adams III WW, Emery WJ** (2008). The assessment of leaf water content using leaf reflectance ratios in the visible, near-, and short-wave-infrared. *Int J Remote Sens* **29**, 3701–3713.
- Singh A, Ganapathysubramanian B, Singh AK, Sarkar S** (2016). Machine learning for high-throughput stress phenotyping in plants. *Trends Plant Sci* **21**, 110–124.
- Subedi P, Walsh K, Purdy P** (2013). Determination of optimum maturity stages of mangoes using fruit spectral signatures. *Acta Hort* **992**, 521–527.
- Tardieu F, Cabrera-Bosquet L, Pridmore T, Bennett M** (2017). Plant phenomics, from sensors to knowledge. *Curr Biol* **27**, R770–R783.
- Tester M, Langridge P** (2010). Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* **327**, 818–822.
- Thorp KR, Thompson AL, Harders SJ, French AN, Ward RW** (2018). High-throughput phenotyping of crop water use efficiency via multispectral drone imagery and a daily soil water balance model. *Remote Sens* **10**, 1682.
- Tripodi P, Massa D, Venezia A, Cardi T** (2018). Sensing

- technologies for precision phenotyping in vegetable crops: current status and future challenges. *Agronomy* **8**, 57.
- Tuberosa R** (2011). Phenotyping drought-stressed crops: key concepts, issues and approaches. In: Monneveux P, Ribaut JM, eds. *Drought Phenotyping in Crops: From Theory to Practice*. Texcoco: CGIAR Generation Challenge Programme. pp. 3–35.
- van Veelen A, Tourell MC, Koebernick N, Pileio G, Roose T** (2018). Correlative visualization of root mucilage degradation using X-ray CT and MRI. *Front Environ Sci* **6**, 32.
- Vasseur F, Wang G, Bresson J, Schwab R, Weigel D** (2017). Image-based methods for phenotyping growth dynamics and fitness in large plant populations. *BioRxiv* doi: <http://dx.doi.org/10.1101/208512>.
- Veys C, Chatziavgerinos F, AISuwaidi A, Hibbert J, Hansen M, Bernotas G, Smith M, Yin HJ, Rolfe S, Grieve B** (2019). Multispectral imaging for presymptomatic analysis of light leaf spot in oilseed rape. *Plant Methods* **15**, 4.
- Wang X, Xuan H, Evers B** (2019). High-throughput phenotyping with deep learning gives insight into the genetic architecture of flowering time in wheat. *BioRxiv* doi: <http://dx.doi.org/10.1101/527911>.
- Ward B, Brien C, Oakey H, Pearson A, Negrão S, Schilling RK, Taylor J, Jarvis D, Timmins A, Roy SJ, Tester M, Berger B, van den Hengel A** (2019). High-throughput 3D modelling to dissect the genetic control of leaf elongation in barley (*Hordeum vulgare*). *Plant J* **98**, 555–570.
- White JW, Andrade-Sanchez P, Gore MA, Bronson KF, Coffelt TA, Conley MM, Feldmann KA, French AN, Heun JT, Hunsaker DJ, Jenks MA, Kimball BA, Roth RL, Strand RJ, Thorp KR, Wall GW, Wang GY** (2012). Field-based phenomics for plant genetics research. *Field Crops Res* **133**, 101–112.
- Wiley E, Casper BB, Helliker BR** (2016). Recovery following defoliation involves shifts in allocation that favor storage and reproduction over radial growth in black oak. *J Ecol* **10**, 1365–2745.
- Woo NS, Badger MR, Pogson BJ** (2008). A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence. *Plant Methods* **4**, 27.
- Xu T, Su CL, Hu D, Li FF, Lu QQ, Zhang TT, Xu QS** (2016). Molecular distribution and toxicity assessment of praseodymium by *Spirodela polyrrhiza*. *J Hazard Mater* **312**, 132–140.
- Xu Z, Valdes C, Clarke J** (2018). Existing and potential statistical and computational approaches for the analysis of 3D CT images of plant roots. *Agronomy* **8**, 71.
- Yang WN, Guo ZL, Huang CL, Duan LF, Chen GX, Jiang N, Fang W, Feng H, Xie WB, Lian XM, Wang GW, Luo QM, Zhang QF, Liu Q, Xiong LZ** (2014). Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice. *Nat Commun* **5**, 5087.
- Yao JN, Sun DW, Cen HY, Xu HX, Weng HY, Yuan F, He Y** (2018). Phenotyping of *Arabidopsis* drought stress response using kinetic chlorophyll fluorescence and multi-color fluorescence imaging. *Front Plant Sci* **9**, 603.
- Zhang Y, Du JJ, Wang JL, Ma LM, Lu XJ, Pan XD, Guo XY, Zhao CJ** (2018). High-throughput micro-phenotyping measurements applied to assess stalk lodging in maize (*Zea mays* L.). *Biol Res* **51**, 40.
- Zhao ZQ, Ma LH, Cheung YM, Wu XD, Tang YY, Chen CLP** (2015). ApLeaf: an efficient android-based plant leaf identification system. *Neurocomputing* **151**, 1112–1119.
- Zhou W, Sui ZH, Wang JG, Hu YY, Kang KH, Hong HR, Niaz Z, Wei HH, Du QW, Peng C, Mi P, Que Z** (2016). Effects of sodium bicarbonate concentration on growth, photosynthesis, and carbonic anhydrase activity of macroalgae *Gracilariopsis lemaneiformis*, *Gracilaria vermiculophylla*, and *Gracilaria chouae* (Gracilariales, Rhodophyta). *Photosynth Res* **128**, 259–270.

A Path to Next Generation of Plant Phenomics

Weijuan Hu^{1,2*}, Xiangdong Fu^{1,2}, Fan Chen^{1,2}, Weicai Yang^{1,2}

¹*Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*

²*Crop Phenomics Joint Research Center, Wuhan 430074, China*

Abstract Recent advances in genomics technologies have greatly accelerated the progress in both fundamental plant science and applied breeding research. Concurrently, high-throughput plant phenotyping is becoming widely adopted in the plant research, promising to alleviate the phenotypic bottleneck. Plant phenomics is a science that studies the growth, performance and composition of plants. It can effectively track the relationship among genotypes, environmental factors, and phenotypes. It is a key research field to break through the future crop research and application. In this paper, three stages of plant phenotypic analysis are discussed, that is, from the initial stage of manual measurement and counting and the assistant stage of specific measurement tools to the stage of high throughput phenomics. It is proposed that the development of plant phenotypic acquisition and analysis is driven by three important factors: phenotypic research facilities, phenotype acquisition technology and image analysis methods. Finally, the plant phenomic research is prospected.

Key words plant phenomics, phenotypic research facilities, acquisition technology, image analysis

Hu WJ, Fu XD, Chen F, Yang WC (2019). A path to next generation of plant phenomics. *Chin Bull Bot* **54**, 558–568.

* Author for correspondence. E-mail: wjhu@genetics.ac.cn

(责任编辑: 朱亚娜)