基于图像的<u>水稻穗粒相关</u>稻穗</u>性状智能检 测算法的研究

王栋^{1,2},陈佳玮^{1,2},沈利言^{1,2},王永春³,王阿红^{3*},周济^{1,4*}

1南京农业大学前沿交叉研究院/作物表型组学交叉研究中心, 江苏 南京 210095

²南京农业大学工学院, 江苏 南京 210031

3中国科学院分子植物科学卓越创新中心/中国科学院国家基因研究中心,上海 200233

4英国国立农业植物研究所/英国剑桥作物研究中心,剑桥 CB3 0LE,英国

*共同通信作者:周济(Ji.Zhou@njau.edu.cn(中),Ji.Zhou@NIAB.com(英))、王阿红(ahwang@ncgr.ac.cn)

摘要:水稻(Orvza sativa)生产对保障中国粮食安全具有重要意义。水稻穗部粒性状的量化 分析则是预估其衡量产量和品质的重要依据之一。针对当前水稻穗粒性状的表型分析仍较多 依靠人工计数或各类后期考考种设备。,时间和经济成本均较高的情况,本研究通过多学科 融合,结合稻穗性状分析穗粒表型、图像处理和深度学习技术,开发了一种无需脱粒、直接 通过整穗稻穗图像考察每穗粒数和多种穗粒型性状相关性状的智能表型解析算法。该方法适 用于高清照相机、智能手机或扫描仪等拍摄设备在室内外多种采集场景下获取采集的图像。 该算法还可从图像中快速提取完整穗粒并量化分析粒长、粒宽、长宽比、圆形度和穗粒颜色 等多种穗粒相关性状。对室内拍摄定点拍摄拍摄的高清图像,算法对 1918 个水稻品种进行 分析,的每穗粒数分析结果与人工计数比较的决定系数(R^2)为0.951595(n=52144930粒, P<0.001;基于室内获取图像)—和 0.881488 (n=41914 191 粒, P<0.001;基于实际稻穗); <u>对室外手机拍摄的图像,每穗粒数与人工计数比较的R²为0.86(n=2490粒, P<0.001;基</u> 于室内实际稻穗计数)、0.8645 (n=2490 粒, P<0.001;基于室外手机获取图像)和0.8506 图 像)和0.85(n=26452645粒, P<0.001;基于室外实际稻穗计数)。该算法还可从图像中快 速提取完整穗粒并进行粒长、粒宽和长宽比等粒型分析,其中)。长宽比分析结果与人工统 计的 R²分别为 0.817284 (n = 15211 454 粒, P<0.001;基于室内获取图像)和 0.711571 (n = 726 粒, P<0.001;基于室外手机拍摄)。图像)。此外,通过聚类分析可将所试 18 个品种 按其穗粒相关性状分为4类,与人工聚类分析结果相似,可高效区分不同水稻品种间的穗粒 性状差异。结果表明,本研究构建的算法应用范围广、使用便捷且成本低,性状分析结果具 有生物学意义。因此适用于对精确度和泛化性要求较高的穗粒性状鉴定性状快速鉴定及分型 工作,为智能化穗粒性状表型解析提供了新思路和新方法。

The development of a vision-based phenotypic analysis algorithm for measuring spikelet-

basedrelated traits in rice

WANG Dong^{1,2}, CHEN Jiawei^{1,2}, SHEN Liyan^{1,2}, WANG Yongchun³, WANG

Ahong^{3*}, ZHOU Ji^{1,4*}

¹Academy for Advanced Interdisciplinary Studies/Plant Phenomics Research Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China

²College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210031, China ³National Center for Gene Research, Center of Excellence in Molecular Plant Sciences, Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200233, China

⁴Cambridge Crop Research/National Institute of Agricultural Botany, Cambridge CB3 0LE, UK *Co-corresponding authors: Zhou J (<u>Ji.Zhou@njau.edu.cn</u> (CN), <u>Ji.Zhou@NIAB.com</u> (UK)), Wang AH (ahwang@ncgr.ac.cn)

Abstract: Rice (Oryza sativa) and its production is of great importance to China's food security. To predict its yield potential and grain production guality, spikelet-based related traits such as the number of spikelets per spike, <u>coat color</u>, spikelet length, width and length and width ratio (W/L ratio) arecan be employed as key phenotypic evidence. Nevertheless, the present methods of spikelet-based traitsrelated trait analysis are still largely rely on manual counting or varied post-harvest grain testing equipment, which is time-consuming, prone to error, and costly. Here, we present an original analytic algorithm that can analyze key spikelet-based traits based on images collected by high-definition cameras, photo scanner, or smartphones, under both indoor and outdoor conditions. The vision-based algorithm combines image processing and deep learning with domain knowledge in rice spikelet measurement, which does not require any prerequisites such as threshing or postharvest processing. Besides the number of spikelets per spike, the algorithm can quickly detect and measure complete rice spikelets from the acquired images, producing spikeletrelated traits such as grain length, grain width, W/L ratio, circularity, and grain coat color. We chose 1918 rice varieties to verify the algorithm using images collected indoors and in the field. BasedFor example, based on the results of trait analysis (e.g. the number of spikelets per spike and W/L ratio),results, we examined correlations (i.e. the coefficient of determination, R^2) between the computational measures and manual scoring. Significant positive correlations were concluded, with R^2 ranging from 0.850685 to 0.951595 (P < 0.001, n = 2_7_490 - 5_7214 - 4_930 spikelets) for the spikelet number per spike trait, and from 0.711571 to 0.817284 (P < 0.001, n = 726- $_1,521$ -454 spikelets) for the W/L ratio trait, indicating a mechanistic link between the algorithm-derived traits and specialists' scoring. The results show that the work introduced here is low-cost, reliable, and suitable for automated analysis of spikelet based traits in rice.phenotypic analysis of spikelet-related traits in rice. Furthermore, applying cluster analysis, the 18 tested rice varieties can be reliably divided into four categories based on the spikelet-related trait analysis produced by our algorithm, enabling the quantification of phenotypic variation of these rice varieties. Hence, we trust our work can have a wide range of applications to provide a high-accurate and more generalized algorithmic solution to enable biological studies in this research domain.

Keywords: rice; spikelet-<u>based_related</u> traits; automated image processing; deep learning; low-cost phenotypic analysis of spikelets

水稻(*Oryza sativa*)作为世界最重要的粮食作物之一,保障其产量对中国乃至世界的粮 食安全及社会经济稳定发展均举足轻重(青先国 2003; Nguyen 2002<u>Han</u>和 Huang 2013)。 构成水稻产量的重要因素包括有效分蘖数、每穗粒数和千粒质量等关键性状<u>相关性状</u>,其中 每穗粒数指水稻每个有效分蘖<u>稻穗上的穗子上</u>所有谷粒<u>的数目数</u>,而千粒质量则由粒长、粒 宽(或长宽比)—<u>和</u>粒厚决定(徐正进等 2004)。每穗粒数和粒<u>型形</u>结合后可作为估测千粒质 量的重要指标(李金吉等 2021)。,各类穗粒表型一定程度上还能够反映水稻品质的优劣(刘 子凡和黄洁 2007)。因此对穗粒相关性状的量化分析<u>也不仅</u>可为鉴定水稻产量和品质相关的 基因功能、体现基因生物学意义等基础研究提供重要<u>量化</u>指标(宫李辉等 2011;Li 等 2019)。 在),还可为</u>水稻栽培和大规模田间生产中,对穗粒性状的分析还可为预估<u>预测</u>水稻实际产 量提供可靠的表型依据(徐正进等 2006; <u>Zhao 等 2015</u>)。

当前水稻穗粒表型鉴定主要依靠人工统计,限制了穗粒性状统计的监测频率、规模和准确性(Tester和 Langridge 2010)。因此部分研究者通过对扫描平铺后的稻穗进行扫描后性状

分析<u>性状</u>(Wu 等 2019),但扫描平铺整齐的穗子相当耗时耗力,效率较低。</u>而对粒型的分析则必须须先完成脱粒再通过专业考种设备(杨万能-Duan 等 2011)或扫描脱粒后的谷粒 图像(Mandal 2018)完成。以上软硬件方法在执行中需要较多人工干预,统计性状耗时费 力、采集和分析成本较高。随着各项表型采集和分析技术的快速发展(周济等 2018),自动 化、高通通量作物表型技术正逐渐成为获取各类关键作物表型性状的重要手段之一(Zhao 等 2019;Yang 等 2020)。相关的技术方法的完善也为功能基因挖掘、作物育种和栽培等植物 研究方向提供新的助力(Yang 等 2021)。

近年来,国内外学者结合计算机视觉和机器学习技术,基于图像对稻穗穗粒相关性状的 表型检测做出了一系列有益的探索。例如,在脱粒后平铺穗粒,运用傅里叶变换(Mebatsion 和 Paliwal 2011)或曲率分析方法(Lin 等 2014)先分割接触穗粒,再完成穗粒计数。Kaur 和 Singh(2015)通过摆拍脱粒后的穗粒,使用图像处理方法分析粒型性状。P-TRAP 软件 (AL-Tam 等 2013) 能使用局部自适应阈值分割和二维骨架分析等传统图像处理算法估算整 穗稻穗上的穗粒数,但测量穗粒性状前需先脱粒、准确度较低且不适用于穗粒较密集的品种。 Gong 等(2018)结合对稻穗轮廓的小波分析,即基于小波频率估算连通域内的分析进行穗 粒数,以此对重叠的穗粒进行估算。,但算法计算复杂度较高,很难满足高通量分析的需求。 还有的研究人员使用回归分析(赵三琴等 2014)或支持向量机(马志宏等 2019)构建稻穗 形态特征与穗粒数的映射关系,进而估测测算每穗粒数,但这些方法的准确度受限于与穗型 复杂度呈反比。Wu等(2019)使用子结合线性回归模型和深度学习模型对平铺后整穗稻穗 完成了较准确的穗粒数估算,但方法泛化性一般,且无法进一步测量粒型形。Colmer等(2020) 通过监督式机器学习和计算机视觉技术对统一背景上的穗粒进行萌发性状提取,准确率高但 前期需通过人工对脱粒后的谷粒进行排列。Deng-等(2021)通过构建不同场景的稻穗图片 集,改进了穗粒检测模型在复杂背景下的表现,但该方法对图像拍摄要求较高,应用场景相 对受限人工对谷粒进行排列。

综上所述,目前在国内外还没有出现一种无需脱粒、基于简单拍摄获取的整稳<u>稻穗</u>图像 完成考察每穗粒数和<u>穗粒型相关性状</u>的方法。针对现在科研和农业从业人员对快速统计每穗 粒数和粒型性状及对比水稻品种差异的迫切需求,本研究开发了一种能<u>直接通过整穗图像</u>对 每穗粒数和关键粒型性状、完整穗粒图像及其穗粒相关性状(如粒长、粒宽、长宽比、圆形 度和穗粒颜色等)进行智能分析提取的算法,可适用于智能手机、高清相机或扫描仪采集的 图片。本算法结合自动化图像处理和深度学习算法基于稻穗图像统计每穗粒数,进而提取完 整单穗粒并估算单穗粒粒长、粒宽和长宽比。在图像采集时,只需将稻穗一级枝梗分开、瓦

4

不重叠即可,不需要预先脱粒。本研究还算法结合自动化图像处理和深度学习完成性状分析, 并通过 Python 编程语言和开源图像处理、机器学习等软件开发库研制了高通量数字化性状 提取软件包,为建立自动化性状提取和穗粒表型分析提供了新思路和新方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料和采集设备

本研究所使用的实验水稻材料包含中国典型的籼稻('华占'、'野香占'等 5 个品种)、 粳稻('南粳 46'、'武运粳 7'等 3 个品种)、杂交稻('B130'、'B144'等 4<u>3</u> 个品种)以及 籼粳杂交中间材料('B4'、'YY70'等 7 个品种)等 19 共 18 个水稻品种<u>,36 张图片</u>。用 于室内拍摄的品种于 2019 年在上海松江水稻种植基地收获。用于室外智能手机拍摄的品种 从 1918 个品种中挑选,选取了 8 个每穗粒数及粒型差异较大的品种,于 2021 年在上海松江 基地完成种植收获<u>,共采集 16 张图片</u>。在水稻成熟期时完成稻穗采集,并于<u>用于</u>室内外完 成整穗稻穗</u>图像拍摄。

在室内采集图像定点拍摄时(图 1-A),将稻穗样本和参照物(如尺子和标签)摆放在 黑色置物台上,手动散开稻穗的一级枝梗。再通在保证光线稳定的前提下,通过三脚架固定 高清数码相机,在散开状态稻穗正上方 50 厘米处拍摄高清图像,分辨率一般为 5760×38405 760×3 840 像素。在室内可控光线条件下获取图像的色彩饱和度和对比度较高(图 1-B)。 相应的图像采集也可在室外或田间进行图像采集(图 1-C)。的具体操作为于在光线条件良 好处放置黑色置物台,使用智能手机的自动对焦和自动曝光功能从正上方采集稻穗图像(图 1-D),分辨率一般为 4160×31204 160×3 120 像素。因为在室外光线下获取图像的色彩饱和 度和对比度一般会出现一定偏差,需后期通过本算法的通过预处理模块进行了统一校准。



图 1 采集稻穗图像

Fig. 1 Image acquisition of rice spikes

A: 室内图像采集装置:1) 数码相机,2) 三脚架,3) 置物台、标尺、颜色标签及稻穗;B: 室内采
 集的稻穗图像;C: 室外智能手机采集方式;D: 手机采集的稻穗图像。

1.2 结合图像处理和深度学习的算法设计

本研究设计的自动化算法分析流程包括预处理、图像增强、穗区提取、穗粒分割和校准、 以及性状分析等多个模块。流程综合使用了直方图匹配(Paul Bourke 2011)、反锐化遮罩 (Petrou 和 Petrou 2010)、自适应全局或局部阈值分割(Nobuyuki Otsu 1979; Singh 等 2012)、 图像细化(Lee, T. C.等 1995)、边缘检测(Sobel 和 Feldman 2015)、形态学分析、费式超费 <u>氏超</u>像素算法(Felzenszwalb 和 Huttenlocher 2004)等多种图像处理方法。在穗粒提取后</u>, 通过所提取的穗粒对象完成量化穗粒相关性状分析和结果输出。

特别是在对费尔岑斯瓦尔布优化费氏(Felzenszwalb)超像素分割<u>后的算法对</u>穗粒对象 序列<u>(即在超像素分割中提取出的一系列穗粒对象,使之组成序列)</u>的优化校准提取中,本 研究原创了结合深度学习分类模型和自动化图像处理结果进行互相自动选择分割</u>参数优化 的方法<u>,弥补了硬编码或人工调整超像素分割参数在参数选择方面的不足</u>。本算法使用 VGG16 网络(Simonyan 和 Zisserman 2014)构建了对超像素分割后穗粒对象序列的分类模 型--,以此对图像处理获取的穗粒对象进行分类(即单独穗粒集或<u>其它其他</u>数据集),再通过 单穗对单独穗粒数据集获取的分类依据对重新优化超像素分割参数<u>重新优化</u>,完成对<u>原整穗 采集的稻穗</u>图像上对中完整<u>单</u>穗粒的提取。训练深度学习模型时,采用了随机梯度下降算法 (Stochastic Gradient Descent, SGD),设置初始学习率(learning rate)为0.001、动量因子 (momentum)为0.9、批尺寸(batch size)为10。在模型训练达到 600 轮次(epoch)时, 分类模型收敛。

1.2.1 算法的软件实现

算法的软件实现在 Windows 10 个人计算机上完成(CPU 为 i7-9700f; GPU 为 Nvidia 1660Ti; 内存为 24G)。使用的编程语言为 Python (3.8)。实现算法所使用的主要开源科学软件开发库按类别分为:图像处理库 Scikit-image (0.18.0);数据处理库 NumPy (1.19.2); SciPy (1.5.4);数据库操作库 Pandas (1.1.3);深度学习库--PyTorch (1.7.0)。软件源代码通过 Jupyter Notebook 完成算法模块调试,再通过 PyCharm 集成开发环境(IDE)完成代码编写和软件运行调试软件性能(software profiling)调试。下文提及的各类图像分析、数据处理和机器学习函数均来源于以上科学软件开发库。

1.2.2 人工检测和算法评估

在完成图像采集后,本研究分别基于图像和实际整穗稻穗,对每穗粒数和粒型形(即粒长、 粒宽)进行了人工统计和测量:基于图像,人工统计每张整穗稻穗,图像中能够能辨识的穗粒 数_{下:}基于实际稻穗,人工统计各不同</sub>品种整穗稻穗中的每穗粒数和粒型。人工统计穗粒性 状时,从种质资源库中对所选 1918 个水稻品种分别随机抽样 100 个穗粒,使用游标卡尺测 量粒长、粒宽(精确到 0.1mm),并计算长宽比均值。算法评估方面,本研究采用了线性回 归分析对算法获取的每穗粒数、穗粒长宽比均值与各类人工统计数据进行相关性分析。使用 决定系数 *R*² 评价算法获取算法分析穗粒性状的可靠性。此外,本研究还统计了算法获取的 粒长粒宽与游标丰尺人工测量值的误差区间,以验证算法在精确并对比了基于人工测量时的 有效性。4 种性状与算法提取的 8 种性状在水稻表型性状聚类分析中的结果,验证了算法在 性状分析和表型分型中的可靠性。对于深度学习穗粒分类模型,本研究使用了混淆矩阵 (Confusion matrix)、精确度(Precision)、召回率(Recall)和*F*1值等评价标准来综合分析 模型的分析分类效果模型的表现。

1.3 整穗上基于图像的穗粒分析流程

1.3.1 图像预处理

为了兼顾分析精度和高通量图像处理的运行速度,图像在输入算法前需要需完成图像校准和预处理。稻穗图像的输入和校准过程见如图 2,—<u>所示。</u>以第 4 号籼粳杂交中间材料稻穗为例,对原始图像(图 2-A)使用 match_histogram 函数将其与预先优化的基准图像进行三个颜色通道(即 RGB,红绿蓝)的直方图匹配,校准图像色彩对比度(图 2-B)。以此),以减小不同拍摄设备或场景<u>环境光</u>对整穗图像在色彩表现上的影响。然后通过 rescale 函数公式(1~2)将输入图像序列(即在自动化图像分析时,将输入多张图像组成一个序列进行批量处理)中所有图片等比例缩放到 10241 024×683 像素(高度×宽度,图 2-C),使后续批量分析处理中数据量较缩放前减少 96.8%。在不改变表型分析结果的前提下,提高了近 70%。

$$Y_1 = 1\ 024$$
 (1)

$$X_1 = \frac{Y_1}{Y} \times X \tag{2}$$

式中: X、Y为缩放前图像长和宽的像素值; X₁、Y₁为分辨率缩放后图像长和宽的像素值。



图 2 对稻穗图像的预处理校准



A: 输入稻穗图像; B: 通过直方图对输入图像进行预处理校准; C: 校准后用于批处理的图像。

1.3.2 提取水稻整穗<u>稻</u>穗区

校准后的稻穗图像(图 3-A)的前景(如稻穗、标签、尺子等)与背景(如黑色置物台) 之间在颜色和对比度上存在较为明显的区分差别,因此可利用 unsharp mask 函数(通过</u>反锐 化遮罩算法(Petrou 和 Petrou 2010)增强图像前桌前背景间对比度和颜色空间的区分度(图 3-B),以便使用全局自适应阈值分割算法(Global Adaptive Threshold Segmentation)全局提 取图像前景(Nobuyuki Otsu 1979)。对于图像前景蒙版,利用 label 和 regionprops 函数分析 各连通域的长、宽、像素面积等特征,实现对标签和稻穗对象的检测。利用 SeiPy 的 distance_transform_edt 函数计算出标签对象的宽度像素,与已知标签宽度(26 毫米,__mm) 换算后,可建立像素与实际公制的转换关系(图 3-C)。因为穗粒区域偏金黄色,因此对校准 后稻穗图像的红色通道应用局部自适应阈值分割(Singh 等 2012)。后,能更精细地提取整 穗稻穗的二值蒙版和获取增强后的-RGB 图像用于后续穗粒<u>性状相关性状的</u>分析(图 3-D)。



图 3 提取稻穗算法流程

Fig. 3 The algorithmic workflow of detecting rice spike in the input image

A: 校准后稻穗图像; B: 通过反锐化遮罩增强输入图像; C: 对象检测和标签测量; D: 提取稻穗图像及 对应的二值蒙版。

1.3.3 提取穗粒区域图像

为子为提高穗粒分割精度,算法首先去除了整穗稻穗区域中的冗余对象部分(如穗枝梗)。 由于穗枝梗(偏绿)和穗粒区域(偏黄)在颜色上存在较显著的差异,算法通过色域分析提 取枝梗区域(图 4-A)+),将整穗稻穗图像从 RGB 颜色空间转换到 Lab 颜色空间 (Schanda 和 International Commission on Illumination. 2007),在,再取出 a 通道(即绿色到红色的非线 性光谱变化)的灰度图后,通过全局自适应阈值分割方法提取出穗枝梗的蒙版(图 4-B 上半 部)。由于成熟期稻穗的主干枝梗存在部分区域偏黄,仅从颜色角度难以完全提取穗枝梗对 象,为了提高算法的鲁棒性,本算法还采用了形态学二维骨架方法进行补充分析(图4-B下 半部):利用 skeletonize 函数(图像细化算法)获取整稳稻穗二维骨架; 然后利用 SeiPy 中 的 binary hit or miss 函数提取骨架的端点和分支结点二维坐标(Zhou 等 2017),从二维骨 架中筛选出主干枝梗的端点和分支节点后,再);接着去除分支节点和端点间距离相近的骨 架,由于拍摄时稻穗方向固定,故将最接近图像底部的端点定义为主干枝梗的下端点,再以 最短欧式距离为基准,从骨架中筛选出主干枝梗上端点的分支节点;最后,应用广度优先搜 索(Breadth-first search, BFS)算法(Thomas H. Cormen 等 2001)提取主干枝梗两点间的二 维骨架(图 4-B-),并重复验证该段骨架是否存在其他分支节点,若存在其他分支节点,则 定义与下端点沿骨架距离最近的分支节点为主干枝梗的上端点。以上两种特征分析流程在穗 粒区域提取中均须运行,保证特征提取的准确性。



图 4 提取穗粒区域算法流程

Fig. 4 The algorithmic workflow of detecting rice spikelet objects

A: 稻穗图像; B: 通过色彩空间和形态学分析穗枝梗:上部分通过 CIELAB 色彩空间表现穗枝梗并提取 枝梗二值蒙版,下部分通过形态学分析提取稻穗的二维骨架并分离穗轴与枝梗; C: 结合色彩空间和形态 学分析提取穗粒区域。

最后综合色域<u>在完成对稻穗图像的颜色</u>和形态学分析结果<u>后</u>,运用形态学<u>形态</u>分析<u>完成</u> 进一步提取的</u>穗粒区域提取:利用由-sobel 函数和逻辑异或操作提取并去除<u>整穗稻穗</u>二值蒙 版的边界;<u>然后</u>根据面积、倾角等特征,筛选目标区域,分离穗轴与枝梗;再使用逻辑异或 操作去除穗枝梗蒙版区域。在筛选去除与主干枝梗二维骨架<u>有交集的相交</u>区域后,可完成穗 粒区域提取和对应穗粒图像的保存(图 4-C)。

1.3.4 结合超像素算法和深度学习优化提取穗粒对象

提取图像中的穗粒对象时,首先提取穗粒区域图像(图 5-A)中红色通道的 jet 映射图 (图 5-B; 伪色图,深红色代表 该通道内某个像素亮度 值高,深蓝色代表某个像素亮度 值低)。 然后,算法使用了费尔岑斯瓦尔布算法(Felzenszwalb 和 Huttenlocher 2004)对图像进行超 像素分割,初始通过对公式(3)的迭代计算得到一组 13 个最小分割面积参数(min_size; 图 5-C)通过对公式(1)的迭代计算完成:

$$\underline{\min_{size} - \frac{PASR}{SR_{j}} \{j \mid 2 \leq j \leq 14, j \in N\}}$$
(1)

$$min_size_j = \frac{Pasr}{SR_i}, \qquad \{j \mid 2 \le j \le 14, j \in N\}$$
(3)

式中 *PASRPasr*为穗粒区域像素面积(Pixel Areapixel area of Spikelet Regionspikelet region), *SR*为分割比率(Segmentation Ratiosegmentation ratio);在迭代时,*j*为分割比率的取值范围, *SR_j* = $j \times 100$ 。

通过迭代,可计算出一组(共13个)最小<u>完成</u>分割面积参数,并以此输入超像素分割 初始化后,依次将这些参数其输入费氏超像素算法对伪色图进行穗粒分割。随着分割比率从 小到大变化,超像素对穗粒对象的分割会逐渐从欠分割过渡到过分割(即从穗粒计数过少到 穗粒计数过多)。因此,分割,输出一组13个分割结果中的单独穗粒数量也会相应的从快速 增长过渡到收敛。通过迭代计算后,初步分割结果和所提取的穗粒对象(图 5-D 和图 5-E) 将存储在;不同颜色为各个分割对象)。将分割结果的边缘与稻穗图像结合后(图 5-E),可 提取与分割对象相对应的穗粒图像集合(图 5-F)。以上分割结果及其对应的穗粒图像集合 将存储在由 Pandas 构建的多维数据集中,用于后续穗粒对象数据集的构建(图 5-F)性状分 析。

为了<u>对针对</u>不同<u>水稻品种稻穗图像</u>动态获取最佳的穗粒分割<u>参数,保证对每穗粒数及单</u> <u>穗粒提取</u>结果,本算法创新地建立了<u>结合</u>深度学习分类模型获取<u>最优超像素</u>穗粒临界分割比 率的方法。用于穗粒对象首先通过 1000 张由人工分类的穗粒图像构建穗粒对象分类的 <u>VGG16</u>模型(图 5-G)训练和验证的数据集为 1000 张由人工分类的穗粒图像,,,按 8: 1: 1 的比例划分为训练集、验证集和测试集。然后通过随机采用旋转、色调分离、反转、加减 噪点等操作对数据集进行图像数据增强(Data Augmentation),增加训练集以提高模型的泛 化能力。穗粒对象分类模型基于深度学习 VGG16 网络(Simonyan 和 Zisserman 2014)构建, 将输入模型内穗粒对象分为两类(单独穗粒集或其它数据集)。data augmentation),增广训 <u>练集以提高模型的泛化能力。</u>以上学习模型、超参数调整与模型训练皆通过 PyTorch 深度学 习框架完成。

将 13 组穗粒图像集合(图 5-F)依次输入训练后的 VGG16 分类模型,把图像分为两类 (单独穗粒集或其他数据集),将分类后的图像集合存放在多维数据集中。随着分割比率从 小到大的变化,超像素对穗粒对象的分割会逐渐从欠分割(穗粒计数过少)过渡到过分割(穗 粒计数过多),分割结果中的单独穗粒数则会相应的从快速增长过渡到收敛(表 1)。本算法 基于分类后获取的单穗粒数据集,应用 Kneedle 拐点分析(Satopää 等 2011),计算出单独穗 粒数量随分割比率变化时增长的拐点,进而使用拐点处所对应的分割比率(此例为 500)作 为最优分割参数。最后,在原始分辨率图像中使用该最优分割比率进行超像素分割,确保穗 粒提取的精度。对不同的水稻品种,本算法将动态产生相应的分割参数,并输出单穗粒计数 和穗粒对象的图集两种结果(图 5-I)。



图 5 结合超像素算法和深度学习优化提取穗粒的算法流程



A:水稻穗粒区域图像; B:穗粒红色通道信号分析; C:使用费氏超像素分割算法基于不同最小分割面积 参数(即min_size)对穗粒进行超像素分割; D:对应不同min_size参数的超像素分割结果; E:初步分 割后的穗粒对象集; F:构建分割后穗粒图像数据集; G:通过人工标注穗粒图像训练的 VGG16 模型对穗 粒进行分类; H:建立单穗粒集和其他类型穗粒集,进而使用单穗粒集获取最优超像素分割参数; I:使用 优化后参数完成超像素穗粒分割后的结果。

表 1 使用不同分割比率的超像素算法所产生的单穗粒数量

Table 1 The number of individual spikes produced by the Felzenszwalb superpixel algorithm using a

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
分割比率	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	1400
单穗粒数量	18	67	101	114	123	123	125	130	131	132	143	150	151

range of segmentation ratio

深度学习智能分类后的穗粒对象数据集(即单粒和其他图像)会存放在通过 Pandas 构

建的多维数据集中。然后,基于分类后获取的单穗粒数据集,本算法应用了 Kneedle 拐点分析算法(Satopää 等 2011),计算出单独穗粒数量随分割比率(Segmentation Ratio)变化而增 减时的拐点,并使用拐点所对应的作为临界分割比率输入超像素算法,进而对所选不同品种 的水稻整穗进行动态穗粒分割(图 5-1),并输出单穗粒计数和用于后续粒型分析的图集。

1.3.5 每穗粒数的量化分析

根据图像提取每穗粒数性状时,综合使用了单穗粒图像集和<u>其它其他</u>数据集*0*(内含多 个其它多种穗粒类型穗粒图像),通过公式(2~44~6)完成:

N

$$R_{t} = \frac{A_{t}}{\overline{A}}$$
(2)
$$E_{t} = \begin{cases} [R_{t}] + 1, & R_{t} - [R_{t}] \ge T \\ [R_{t}], & R_{t} - [R_{t}] < T \end{cases}$$
(3)

$$=S + \sum_{i=1}^{M} E_i \tag{4}$$

$$R_i = \frac{A_i}{\overline{A}} \tag{4}$$

$$E_{i} = \begin{cases} [R_{i}] + 1, & R_{i} - [R_{i}] \ge T \\ [R_{i}], & R_{i} - [R_{i}] < T \end{cases}$$
(5)

$$N = Sg + \sum_{i=1}^{M} E_i \tag{6}$$

式中: *A*_i为其它其他数据集中第*i*个非单穗粒对象的面积(像素单位), *A*为单穗粒数据集中 所有穗粒的平均面积(像素单位); *R*_i是用于估算穗粒数的中间变量, 具体为*A*_i和*A*的比值(保 留两位小数); *E*_i为根据*R*_i取整所估算的穗粒数, 针对存在穗粒严重重叠的图像, 估算穗粒 数时采用了经验阈值*T*来判断*R*_i到*E*_i的舍入关系(根据<u>对</u>所试 <u>18 个水稻</u>品种, 一般取<u>的测</u> 试,选定为</u>常数 0.4); *SSg*为单穗粒图像集中图像的数量; *N*为最终穗粒数估算的结果。

1.3.6 穗粒性状的量化分析

针对稻穗植粒型性状相关性状,本算法使用了单穗粒图像<u>数据集中的完整穗粒图集</u>完成 子相关的表型分析。通过测量穗粒对象<u>的像素面积、边界的长度以及</u>边界上距离最远的两端 点的像素距离,再使用 1.2.2 节中所述的像素毫米转换关系,完成对穗粒<u>面积、周长和</u>长度 <u>的完成</u>测量。使用与穗粒对象二阶中心矩相等的近似椭圆来估算穗粒长宽比。由于<u>单个</u>穗粒 对象的像素宽度较小,直接对其进行测量时,易受拍摄角度影响而引起误差,因此算法通过 粒长和长宽比对穗粒宽度性状进行估算,采用公式(<u>57</u>):

$$V = \frac{L}{Rat.}$$
(5)

-14

$$W = \frac{L}{Rat.}$$
(7)

式中:W为穗粒宽度,L为穗粒长度,Rat.为穗粒的长宽比(Length-to-width ratio)。

对穗粒圆形度的计算采用公式(8):

$$Rnd = \frac{4\pi \times S}{C^2} \tag{8}$$

式中: Rnd为穗粒的圆形度, S为穗粒的面积, C为穗粒的周长。

<u>成熟期稻穗颜色较浅的穗粒呈黄色,较深的偏向棕色,因此本研究通过提取穗粒的超红</u> 指数(公式9)及其均值的方法表征穗粒颜色的深浅:

$$E_{xR}(x, y) = 1.4 \times f_R(x, y) - f_B(x, y)$$
(9)

<u>式中: E_{xR} 为穗粒图像的超红指数, $f_R(x,y)$ 为红色通道的穗粒灰度图, $f_B(x,y)$ 为蓝色通道的 穗粒灰度图。</u>

2 分析结果

2.1 深度学习穗粒分类模型评价

本研究使用混淆矩阵、精确度、召回率和 F1 值(公式 6~810~12) 对基于 VGG16 的穗 粒对象分类模型进行了综合模型评估。混淆矩阵评价结果如表 2 所示。

$$\frac{Precision}{F_{IP} + F_{P}} = \frac{T_{P}}{T_{P} + F_{P}}$$

$$\frac{Recall}{F_{IP} + F_{N}} = \frac{T_{P}}{T_{P} + F_{N}}$$

$$\frac{2 \times Precision \times Recall}{Precision + Recall}$$

$$Precision = \frac{T_{P}}{T_{P} + F_{P}}$$

$$(10)$$

$$Recall = \frac{T_{P}}{T_{P} + F_{N}}$$

$$(11)$$

$$F_{1} = \frac{2 \times Precision \times Recall}{Precision + Recall}$$
(12)

式中: *T_P* 表示图像标注为单独穗粒,分类结果也为单独穗粒的比例; *F_P* 表示图像标注为其 它<u>其他,分类结果也为其他的比例; *T_N* 表示图像标注为单独穗粒,分类结果为其他的比例; *F_N* 表示图像标注为其他,分类结果为单独穗粒的比例; *F_A* 表示图像标注为单独穗粒,分类 结果为其它的比例; *T_A* 表示图像标注为其它,分类结果为单独穗粒的比例。</u>

表 2 混淆矩阵

	Table 2 Co	nfusion matrix					
油戏	- 45 Rt.	实际分类					
化伯	17217	单独穗粒	其他				
预测分类	单独穗粒	$T_P = 0.913$	$F_{P} = 0.087$				
1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.	其他	$F_N = 0.104$	$T_N = 0.896$				

如表 <u>+2</u>中,对模型进行评价测试,模型的精确度为 0.913、召回率为 0.898、*F*₁为 0.905。 结果显示模型在对单独穗粒进行分类时准确率较高,可应用于对完整单穗粒的分类。

2.2 穗粒性状分析结果

通过深度学习模型获得最优的分割参数后,本算法将每穗粒数估算值和性状测量值取均 值<u>后作作</u>为所测水稻品种的稻穗性状的结果,并将每穗粒数和单粒的粒型分析以 CSV 文件 的形式保存。同时,算法还可<u>会</u>输出优化后的穗粒分割结果图片(图 6-A)、每穗粒数分析 及提取穗粒的位置(图 6-B,位置以红点标出)、以及检测到的完整<u>穗单穗</u>粒的数量(图 6-C,位置以蓝色点标出)。算法在不同水稻品种<u>整穗稻穗</u>图像中的应用<u>分析结果</u>和可视化性状 分析<u>结果</u>见图 6-D。





Fig. 6 Spikelet-based phenotypic analysis

A:优化后超像素穗粒分割结果;B:根据稻穗图像分析穗粒数;C:根据图像分析可提取的完整穗粒;

D: 使用算法对不同水稻稻穗图像分析穗粒性状。

如图 7-A 所示,通过运行本算法对室内拍摄、<u>质量较好</u>的 19<u>18</u>个代表性水稻品种的图 像进行自动化分析和性状提取。对比不同品种分析获得的每穗粒数、完整粒数目、粒长粒宽 及比均值,结果表明各品种的每穗粒数在 150 个到-160~380 个范围内波动,穗粒长宽比在 2.5 到_4.0 间波动。其中,第150 号籼粳杂交中间材料(B150)的每穗粒数最多,野香占的 粒型长宽比均值最大。将算法获得的每穗粒数、穗粒长宽比均值分别与人工统计数据进行对 比,采用线性回归分析每穗粒数的拟合结果,得到决定系数 *R*² 值为 0.951595,表明本研究 算法对每穗粒数的估算与基于相同图像的人工计数具有极显著的相关性(图 7-B)。图 7-C 表 示基于实际整稳稻穗人工的穗粒计数与基于图像的算法估测值的相关性分析,其 *R*² 为 0.881488,表明算法对每穗粒数的估算与基于实际稻穗的人工计数值具有非常显著的相关性。







A: 对18个品种的每穗粒数(深红)、完整穗粒数(红)和穗粒长宽比(淡绿)的统计; B: 算法与人工 基于图像对18个品种的每穗粒数相关性分析; C: 算法与人工基于实际稻穗对18个品种的每穗粒数的相 关性分析; D: 算法与人工对18个品种穗粒长宽比的相关性分析; E: 算法对18个品种的平均粒长、粒 宽测算与人工测量的误差范围(共1454个穗粒,实心圆为离群点,空心圆为平均值,误差区间中横线为

中位值)。

图 7-D 表示不同品种人工计量的穗粒长宽比均值与算法基于图像分析的拟合结果,得

到*R*²为0.817284,表明本算法统计的穗粒长宽比性状与实际穗粒长宽比有较显著的相关性。 排除离群点后,使用本算法测量的各品种粒长均值介于 7.5 到_10.3 毫米(_mm)-区间,粒 宽均值介于 2.5 到_3.0 毫米(_mm)-区间;人工测量的各品种粒长均值介于 7.1 到_10.1 毫 米(_mm)-区间,粒宽均值则介于 1.9 到_3.3 毫米(_mm)-区间。图 7-E 显示了算法基于 1918 个品种统计的穗粒长、宽均值性状与人工抽样 100 粒测量均值间的对比,排除离群值后,算 法测量粒长平均误差区间为: -_0.06-__0.11 毫米(_mm);算法测量粒宽平均误差区间为: -_0.13-__0.17 毫米(_mm)。表明算法对穗粒长、粒宽和长宽性状的估算与人工测量值相比 误差较小。

2.3 手机照片的应用

本算法对于不同的拍照设备、采集场景及光照条件也有较强的兼容性。对于使用智能手 机在室外采集到的图像,通过上文所述算法分析流程可对每穗粒数和提取的完整穗粒进行表 型分析和自动化提取,为区分与室内性状分析<u>区分</u>,算法输出的可视化结果使用玫红色为穗 粒分割结果(图 8-A)。每穗粒数分析及提取穗粒的位置(图 8-B,位置以红点标出)、以及 检测到的完整穗粒(图 8-C,位置以蓝色点标出)。算法对于手机在田间拍摄的不同水稻品 种的整穗图像可视化性状分析结果见图 8-D 稻穗图像可视化性状分析结果见图 8-D。在与人 工统计数据的对比中,通过算法获取的每穗粒数与人工基于图像计数的 *R*² 为 0.86(图 8-E)、 与人工基于实际稻穗计数的 *R*² 为 0.85 (图 8-F);穗粒长宽比与人工统计的 *R*² 为 0.71 (图 8-G)。表明本研究算法在室外光线和手机拍摄条件下对穗粒相关性状的分析与人工统计均具 有显著的相关性。



稻穗分割结果



每穗粒数分析(共232粒)



完整穗粒提取(共65粒)





图 8 算法对在田间使用手机采集的稻穗图像的穗粒性状分析和相关性分析

Fig. 8 Trait analysis of rice spikelets base on in-field image collection using smartphones and correlation analysis

A: 超像素穗粒分割结果; B: 每穗粒数分析结果; C: 完整穗粒提取结果; D: 使用算法对不同手机稻穗 图像的穗粒性状分析; E: 算法与人工基于图像对 8 个品种(13 个稻穗, 2 490 粒)的每穗粒数相关性分析; F: 算法与人工基于实际稻穗对 8 个品种的每穗粒数的相关性分析(13 个稻穗, 2 645 粒); D: 算法 与人工对 8 个品种(726 粒) 穗粒长宽比的相关性分析。

2.4 表型聚类分析

针对所试 18 个水稻品种,本研究使用人工考察获得 4 个穗粒相关性状,分别为穗粒长、 宽、长宽比和每穗粒数;基于本算法分析获得 8 个穗粒相关性状(除与人工相同的 4 个性状 外,增加了穗粒面积、周长、圆形度、色深等 4 个性状)。通过欧式距离均值法对这些性状 数据进行聚类分析后获得基于穗粒相关性状的水稻品种聚类图(图 9)。基于人工考察和本 算法分析所获表型数据均将 18 个品种分为 4 类,大部分品种的分类一致。如图 9-A 所示, 通过人工考察性状所获的聚类图将 4 个籼稻(无芒 9311、有芒 9311、五山丝苗、华占)、6 个偏籼型的籼粳杂交中间材料(B4、B10、B17、B20、B25、B67)、1 个偏籼的杂交稻组合 (B130)、1 个籼粳杂交中间材料(YY70)分成了第 I 类;将 2 个偏籼型的杂交稻组合(B144、 B150)分为第 II 类;第 III 类为 1 个籼稻材料(野香占);将 3 个粳稻(沪软 1212、南粳 46、 武运粳 7)分为第 IV 类。如图 9-B 所示,通过本算法分析穗粒性状所获聚类图与图 9-A 结 果相似。两种聚类的区别在于 YY70、B144、B150 这三个品种。



图 9 根据欧氏距离对穗粒相关性状的聚类分析结果

A:基于人工考察的4个穗粒相关性状的聚类分析;B:基于算法提取的8个穗粒相关性状的聚类分析。

为分析通过人工考察和算法分析所获的 4 聚类在统计上是否具有显著性差异,本研究 利用方差分析对以上两种方法得到的表型差异进行了分析比较。如表 3 所示,通过聚类分出 的 4 类水稻材料中,由算法分析得到的各性状的 P 值均小于 0.05,与人工考察得到的 4 类 水稻材料性状差异 (P 值也小于 0.05)结果相似,说明通过本研究算法获得的穗粒相关性状 能从统计上表征不同水稻品种间的表型差异。

表 3 通过人工考察和算法分析对 18 个水稻品种获得的 4 类性状差异(基于毫米计量)

Table 3 Phenotypic differences of four clusters in 18 rice varieties obtained through manual scoring

and algorithmic analysis (in mm unit)									
性状	<u>I类</u>	<u>II 类</u>	<u>III 类</u>	<u>IV 类</u>	<u>F 值</u>	<u>P 值</u>			
算法分析									
穗粒数	<u>233.75±50.45</u>	<u>348.50±45.96</u>	<u>185.67±33.95</u>	<u>241</u>	<u>3.29</u>	<u>0.0452</u>			
长宽比	3.58 ± 0.21	3.88 ± 0.42	2.76 ± 0.14	<u>3.43</u>	<u>9.22</u>	<u>9.29E-04</u>			
<u>粒长</u>	<u>9.51±0.46</u>	9.35 ± 0.35	7.63 ± 0.38	<u>11.2</u>	<u>14.56</u>	<u>9.97E-05</u>			
粒宽	2.66 ± 0.12	2.45 ± 0.35	2.8 ± 0.2	<u>3.3</u>	<u>4.91</u>	<u>0.01235</u>			
粒面积	15.79 ± 0.90	<u>14.04±2.66</u>	<u>12.16±0.81</u>	<u>21.92</u>	<u>14.93</u>	<u>8.73E-05</u>			
粒周长	20.45 ± 1.08	<u>20.12±1.21</u>	16.32 ± 0.78	<u>25</u>	<u>14.22</u>	<u>1.12E-04</u>			
粒圆形度	0.48 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.57 ± 0.02	0.44	6.83	3.44E-03			

Fig. 9 Cluster analysis of rice spikelet-related traits measured

粒色深	<u>121.89±9.54</u>	<u>88.66±12.21</u>	<u>136.35±8.3</u>	<u>100.81</u>	<u>8.01</u>	<u>1.75E-03</u>
人工考察						
穗粒数	<u>243.33±41.93</u>	398.5 ± 9.19	<u>184.33±28.11</u>	<u>348</u>	<u>14.75</u>	<u>1.29E-04</u>
<u>粒长</u>	9.31 ± 0.35	9.31 ± 0.11	7.33 ± 0.29	<u>9.68</u>	<u>31.44</u>	<u>1.78E-06</u>
<u>粒宽</u>	2.56 ± 0.16	2.41 ± 0.01	3.19 ± 0.10	<u>1.95</u>	<u>23.05</u>	<u>1.11E-05</u>
长宽比	3.65 ± 0.25	3.88 ± 0.06	<u>2.30±0.17</u>	<u>5.11</u>	<u>47.15</u>	<u>1.45E-07</u>

结合聚类分析和方差分析,能够进一步分析聚类结果中各品种间的性状差异。以图 9-B 为例,I类的12个品种,粒长和粒周长均较长、粒长宽比和粒面积较大;II类中的两个品种 每穗粒数较多,穗粒长宽比较大、圆形度偏小、颜色较浅;III类中的3个品种均为粳稻, 这些品种的每穗粒数较少,穗粒长宽比和面积较小、圆形度较大、颜色较深;IV类仅包含1 个籼粳杂交中间材料 YY70,其每穗粒数较多,同时其穗粒长、宽、长宽比和面积都较大, 圆形度较小。算法分析的表型数据的聚类结果与基于人工考察数据所获聚类结果相似,提取 的表型数据较为可靠。事实上,根据水稻籼粳亚种的形态性状分类标准(程侃声1993),谷 粒长宽比越大,偏籼稻型的可能性越大;谷粒长宽比越小,偏粳稻型的可能性越大。利用本 研究算法分析获取的穗粒相关性状数据,其聚类结果与各水稻材料实际品系分布特征一致, 证明了算法的可信度。

2.4<u>2.5</u>算法软件运行

通过本研究所使用的工作站运行算法,每张高清照片(3.4~5<u>4~5</u>MB)的处理时间约为 40~45<u>~45</u>s,分析时占用内存为700~800_800MB;对一组数据(15张一组,约45~50_50 MB)处理时间约为660~750_750s;批处理时无内存溢出现象。以上软件运行剖析(Software profiling)通过 PyCharm 集成开发环境完成运行测试。

3 讨论

能够经济、方便地考察不同水稻品种的每穗粒数及粒型,对水稻育种、田间生产和关键 基因功能鉴定等研究领域都具有非常重要的意义。针对现在水稻穗粒表型鉴定的瓶颈,本研 究提出了一种能够基于图像快速可靠提取关键穗粒性状的算法。本算法适用于多种场景下使 用不同设备如数码相机、智能手机拍摄或扫描仪采集整穗稻穗</u>图像。在采集时只需将一级枝 梗稍稍分开,无需使稻穗保持非常整齐的状态。然后通过本算法可一次性读取、分析多张图 像中的每穗粒数和各类粒型性状,并提取图片中未被遮挡的完整穗粒及其长宽和长宽比,并, 自动计算和输出每个提取穗粒的<u>穗粒型性状相关</u>数据。在保证数据准确性的前提下,大大减 少科研人员高耗时的重复劳动,提高表型分析及品种间对比工作的效率。

本研究还结合了传统自动化图像处理和深度学习的优点,并规避了两种方法的缺点。例 如,通过深度学习模型自动获取最优参数,极大减少了图像处理中的人工干预因素,提高了 分析效率。而自动化图像处理又为机器学习或深度学习提供了标注数据集,降低了数据标注 中的工作量,提高了标注精度。同时,通过本算法还可解释和调控关键特征提取的依据(如 超像素对穗粒间的分割依据,即<u>如</u>光线阴影),两种方法结合互补,提高分类模型的准确率 和性状提取的通量。此外,本方法获取的分割结果还能为后续的各种不同类型的深度学习语 义或实例分割模型(Semantic or Instance Segmentation)提供大量标注图像集,可为提高深度 学习算法在小对象分割上的表现提供大数据支撑。在准确度较高的同时,大大降低了深度学 习中构建训练集的工作量针对超像素分割算法分割时间会随图像分辨率的提高呈指数增长 的特点,本研究使用了等比例缩放后生成的图像进行穗粒对象分割。特别是在分析超像素分 割的最优分割比率时,进行了多次超像素分割算法的迭代循环,因此使用等比缩小的图像能 在保持分割精度的前提下极大地降低计算复杂度、提高算法的运行效率。在计算出最优分割 比后,算法最终会对原始输入图像进行分割,保证了最终表型分析结果的准确性。

相对手根据本算法研究所遇到的优势,本问题,后续研究可对一下方面作进一步改善对 以下方面作出改进:(1)与在室内使用数码相机定点拍摄相比,在室外使用<u>不同品牌的</u>手机 <u>拍摄图像时,、在</u>不同设备和成像条件<u>下拍摄的图像</u>可能存在较大差异;尽管在算法设计时 加入了一定的校正,但在成像须避免日光直射等</u>某些情况(如日光直射)下的分析仍有待提 高。(2)成像时二维图像的遮掩问题,被完全遮挡的穗粒难以被本算法完全提取计数。,因 此与基于实际整穗稻穗的人工计数相比,通过算法获取的每穗粒数性状的统计一般会略低于 人工计数,且穗粒越密集、每穗粒数越多的稻穗品种,拍摄时被完全遮挡的穗粒数也会越多 (图 7 c),这也是 YY70、B144、B150 这三个品种在表型数据聚类分析中不同于人工考察 数据聚类结果的原因;但对于所测对本研究所试的 1918 个品种,穗粒遮挡并没有带来较大 的计数误差。(3)在粒ෙ菇(第方面,由于使用了分辨率收缩,粒宽的精度有一定误差,所以 后续的算法将在处理速度、通量和精度上再做进一步平衡。(4)随着该本类方法的成熟和广 泛应用,算法还将后续研究可考虑</u>扩展品种类型和、穗型、和粒型数据库₃,在精简拍摄要 求的前提下(即不需要过度分开每个枝梗),通过算法提高性状检测精度。(5)最后,扩展 数据集并结合领域知识充分训练端到端深度学习模型,结合表型性状的特征提取(如形态、

21

<u>颜色、对比度和纹理等),对端到端模型做出符合生物学意义的优化,进一步提高每穗粒数</u> <u>性状的检测精度。(4)后续研究还可</u>根据图像生成更多的农艺表型数据,比如一次枝梗、二 次枝梗的数量,每个枝梗上的籽粒数,以及从上到下各一次枝梗上的籽粒分布及其均衡性等, 结合历史数据、性状分析和模型预测等多种方法进一步提高研发对穗粒稻穗</u>性状的关键表型 分析技术。

综上所述,本研究对基于图像的水稻穗粒表型分析具有重要意义。通过在田间和室内条件下的标准图像获取,本研究可为作物研究、育种栽培和农业生产提供快速对比多个品种穗粒性状的新方法、新技术。在不断改进通过本算法构建的基础上分析流程,可进一步提高测量精度和<u>、扩大</u>适用范围,为自动化性状提取、高通量表型分析和相应的决策系统提供智能化解析方案。

参考文献(References)

- AL-Tam F, Adam H, Anjos AD, et al (2013). P-TRAP: a panicle trait phenotyping tool. BMC Plant Biol. 13 (1): 1–14 Cheng KS (1993). Identification of Asian rice *Indica* and *Japonica* subspecies. Kunming: Yunnan Science and Technology Press (in Chinese) [程侃声(1993). 亚洲稻籼粳亚种的鉴别. 昆明: 云南科技出版社]
- Colmer J, O'Neill CM, Wells R, et al (2020). SeedGerm: a cost-effective phenotyping platform for automated seed imaging and machine-learning based phenotypic analysis of crop seed germination. New Phytol. 228 (2): 778–793
- Duan LF, Yang WN, Huang CL, et al (2011). A novel machine-vision-based facility for the automatic evaluation of yieldrelated traits in rice. Plant Methods. 7 (1): 44
- Felzenszwalb PF, Huttenlocher DP (2004). Efficient graph-based image segmentation. Int J Comput Vis. 59 (2): 167– 181
- Gong L, Lin K, Wang T, et al (2018). Image-based on-panicle rice [*Oryza sativa* L.] grain counting with a prior edge wavelet correction model. Agronomy. 8 (6): 91
- Han B, Huang XH (2013). Sequencing-based genome-wide association study in rice. Curr Opin Plant Biol. 16 (2): 133– 138
- Lee TC, Kashyap RL, Chu CN (1995). Building skeleton models via 3-D medial surface axis thinning algorithms. Graph

Models Image Process. 57 (6): 537-538

- Li RH, Li MJ, Ashraf U, et al (2019). Exploring the relationships between yield and yield-related traits for rice varieties released in china from 1978 to 2017. Front Plant Sci. 10: 543
- Liu ZF, Huang J (2007). General introduction to crop cultivation. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese) [刘子凡, 黄洁(2007). 作物栽培学总论. 北京: 中国农业科学技术出版社]
- Mandal D (2018). Adaptive neuro-fuzzy inference system based grading of basmati rice grains using image processing technique. Appl Syst Innov. 1 (2): 19
- Ma ZH, Gong L, Lin K, et al (2019). Estimation of panicle seed number based on panicle geometric pattern recognition. J Shanghai Jiaotong Univ. 53 (2): 239–246 (in Chinese with English abstract) [马志宏, 贡亮, 林可等. 基于稻穗几 何形态模式识别的在穗籽粒数估测. 上海交通大学学报, 53 (2): 239–246]
- Otsu N (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. IEEE Trans on SMC. 9 (1): 62-66

Paul B (2011). Histogram matching. http://paulbourke.net/miscellaneous/equalisation/

Petrou M, Petrou C (2010). Image processing: the fundamentals. John Wiley & Sons.

- Satopää V, Albrecht J, Irwin D, et al (2011). Finding a "kneedle" in a haystack: detecting knee points in system behavior. Proceedings - International Conference on Distributed Computing Systems. 166–171
- Simonyan K, Zisserman A (2014). Very deep convolutional networks for large-scale image recognition. arXiv preprint. arXiv:1409.1556
- Singh TR, Roy S, Singh OI, et al (2012). A new local adaptive thresholding technique in binarization. arXiv preprint. arXiv:1201.5227
- Sobel I, Feldman G (2015). An isotropic 3x3 image gradient operator. Stanford Artificial Intelligence Project (SAIL). June: 271–272
- Tester M, Langridge P (2010). Breeding technologies to increase crop production in a changing world. Science. 327 (5967): 818–822

Thomas HC, Charles EL, Ronald LR, et al (2001). Breadth-first search. 2nd ed. MIT Press and McGraw-Hill. 531–539 Wu W, Liu T, Zhou P, et al (2019). Image analysis-based recognition and quantification of grain number per panicle in rice. Plant Methods. 15 (1): 1-14

- Xu ZJ, Shao GJ, Han Y, et al (2006). A preliminary study on yield and quality of rice and their relationship with panicle characters in northeast region. Acta Agron Sin. 32 (12): 1878–1883 (in Chinese with English abstract) [徐正进, 邵 国军, 韩勇等(2006). 东北三省水稻产量和品质及其与穗部性状关系的初步研究. 作物学报, 32 (12): 1878–1883]
- Xu ZJ, Chen WF, Ma DR, et al (2004). Correlations between rice grain shapes and main qualitative characteristics. Acta Agron Sin. 30 (9): 894–900 (in Chinese with English abstract) [徐正进,陈温福,马殿荣等(2004). 稻谷粒形与稻米主要品质性状的关系. 作物学报, 30 (9): 894–900]
- Yang WN, Doonan JH, Hawkesford MJ, et al (2021). Editorial: state-of-the-art technology and applications in crop phenomics. Front Plant Sci. 12: 767324
- Zhao CJ, Zhang Y, Du JJ, et al (2019). Crop phenomics: current status and perspectives. Front Plant Sci. 10: 714
- Zhao SQ, Li YN, Ding WM, et al (2014). Relative analysis between image characteristics of panicle structure and spikelet number. T Chin Soc Agric Mach. 45 (12): 323–328 (in Chinese with English abstract) [赵三琴, 李毅念, 丁 为民等(2014). 稻穗结构图像特征与籽粒数相关关系分析. 农业机械学报, 45 (12): 323–328]
- Zhou J, Tardieu F, Pridmore T, et al (2018). Plant phenomics: history, present status and challenges. J Nanjing Agric Univ. 41 (4): 580–588 (in Chinese with English abstract) [周济, Tardieu F, Pridmore T 等(2018). 植物表型组学: 发展,现状与挑战. 南京农业大学学报, 41 (4): 580–588]
- Zhou J, Applegate C, Alonso AD, et al (2017). Leaf-GP: an open and automated software application for measuring growth phenotypes for arabidopsis and wheat. Plant Methods. 13 (1): 1–17