

基于CT图像和RAUNet-3D的玉米籽粒三维结构测量

杜建军^{1,2} 李大壮³ 廖生进^{1,2} 卢宪菊^{1,2} 郭新宇^{1,2} 赵春江¹

(1. 国家农业信息化工程技术研究中心, 北京 100097; 2. 数字植物北京市重点实验室, 北京 100097;
3. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要: 玉米籽粒构成和精细结构与玉米产量及品质直接相关。本文提出一种基于CT图像的玉米籽粒三维结构自动测量方法,快速提取、统计玉米籽粒成分和结构性状,评估不同玉米品种籽粒间性状差异。首先,利用Micro-CT获取批量玉米籽粒CT图像,通过Watershed算法准确分割出单颗籽粒;进而,设计基于注意力机制RAUNet-3D网络准确提取出籽粒胚;最后,建立自动化玉米籽粒表型管道,计算籽粒、胚、胚乳和空腔的共23项性状,用于玉米籽粒性状分析和品种鉴定。选取4个玉米品种籽粒(登海605、京科968、先正达408和农华5号)共120颗籽粒进行验证,结果表明籽粒CT扫描成像效率提高到1 min/粒,籽粒表型提取效率为10 s/粒,胚分割精度可达93.4%,粒长、粒宽和粒厚的 R^2 分别为0.902、0.926和0.904,籽粒品种分类精度达90.4%。本文方法实现了玉米籽粒及其胚、胚乳、空腔三维结构无损、快速测量,提取的性状能够表征不同玉米品种籽粒间表型差异,为开展大规模玉米籽粒三维表型鉴定奠定了基础。

关键词: 玉米籽粒; 语义分割; 三维表型; Micro-CT; RAUNet-3D

中图分类号: TP391.41; S333.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2022)12-0244-10 OSID:



Three-dimensional Structure Measurement of Corn Kernel Based on CT Image and RAUNet-3D Network

DU Jianjun^{1,2} LI Dazhuang³ LIAO Shengjin^{1,2} LU Xianju^{1,2} GUO Xinyu^{1,2} ZHAO Chunjiang¹

(1. National Engineering Research Center for Information Technology in Agriculture, Beijing 100097, China
2. Beijing Key Laboratory of Digital Plants, Beijing 100097, China
3. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The composition and fine structure of corn kernel are directly related to yield and quality of maize. An automatic measurement method for three-dimensional structures of corn kernels based on CT images was proposed, which could quickly extract and analyze the components and structural traits of corn kernel, and the differences of traits among different maize varieties were evaluated. Firstly, CT images of batch corn kernels were obtained by Micro-CT, and single kernel was accurately segmented by using Watershed algorithm. Furthermore, the improved RAUNet-3D network based on attention mechanism was designed to accurately extract kernel embryos. Finally, an automatic phenotype pipeline was established to calculate 23 traits related to corn kernel, embryo, endosperm and cavity, which were used for traits analysis and variety identification of maize kernel. A total of 120 kernels of four corn varieties (Denghai 605, Jingke 968, Syngenta 408 and Nonghua 5) were selected for performance verification. The experimental results showed that the data acquirement efficiency was improved to about 1 min per kernel, and the efficiency of algorithm pipeline was about 10 s per kernel, and the segmentation accuracy of kernel embryos reached 93.4%. The determinant coefficients of kernel length, width and thickness were 0.902, 0.926 and 0.904, respectively. The proposed method could quickly and non-destructively measure the three-dimensional structure of corn kernel and its components, and the extracted traits could

收稿日期: 2022-01-27 修回日期: 2022-03-22
基金项目: 北京市农林科学院作物表型协同创新中心项目(KJCX201917)、财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系专项(CARS-02)、北京市农林科学院创新能力建设专项(KJCX20180423)、北京市农林科学院改革与发展项目和国家自然科学基金项目(U21A20205)
作者简介: 杜建军(1976—),男,研究员,主要从事图形图像和作物表型组学研究,E-mail: dujianjun18@126.com
通信作者: 赵春江(1964—),男,研究员,中国工程院院士,主要从事农业信息化关键技术研究,E-mail: zhaocj@nrcita.org.cn

represent the phenotypic differences among different corn varieties, which laid a foundation for large-scale three-dimensional phenotypic measurement and identification of corn kernels.

Key words: corn kernel; semantic segmentation; 3D phenotypes; Micro-CT; RAUNet-3D

0 引言

玉米产量和品质与籽粒构成和相对比例直接相关^[1]。玉米籽粒包含表皮、胚、胚乳和空腔等结构, 这些结构和成分通常无法直接获取, 只能通过破坏性方式观察内部结构, 获取定性描述和有限的定量指标。一种直接的人工测量方式, 是利用刀片来分离籽粒胚和胚乳, 然后测量质量、体积等参数^[2], 该方式人工成本高、耗时长、精度低、主观性强。另一种破坏性测量方式, 是仅切割出籽粒的特征断面, 然后利用可见光成像方式获得断面图像, 进而提取和分析该断面上籽粒胚和胚乳信息^[3]。然而, 这种方式只能获取二维指标, 且对籽粒切割位置非常敏感, 无法准确反映籽粒真实三维结构。另外, 籽粒空腔也是反映籽粒物理和生理特性的重要性状, 与籽粒耐破碎性、爆裂性和硬度等紧密相关^[4-5], 上述方式均无法测量。

目前, CT 无损成像技术已在植物表型组学研究中逐渐推广应用^[5-13], 在玉米籽粒内部结构和成分的研究已有相关应用^[14]。相关研究^[4,15-17]大多使用 Micro-CT 进行单粒扫描来获取上百幅 CT 图像, 然后通过人工逐层勾选目标轮廓, 或者借助商业化软件进行半自动化分析, 不仅耗时耗力, 而且交互过程具有极大主观性。可以看出, CT 成像已成为研究籽粒精细结构和成分的最重要手段, 但迫切需要解决扫描成像效率低、表型测量自动化程度低和鲁棒性差等问题。

就 CT 扫描效率而言, 对批量籽粒一次性扫描成像不仅可成倍提高扫描通量, 而且保证了成像参数和环境条件一致性。因此, 将获取的批量籽粒 CT 图像处理问题转化为单颗籽粒(实例)分割问题, 即从粘连籽粒中准确拆分出高质量的单颗籽粒。就籽粒表型测量方法而言, 对单颗籽粒成分分析也可转化为对籽粒内部特征最显著的胚和空腔成分的语义分割问题。目前, 已涌现了大量基于卷积网络的二维分割网络(UNet^[18]、SegNet^[19]等)和三维分割网络(UNet-3D^[20]、VNet^[21]等), 在植物学和医学的 CT 图像分析中取得了成功。如 SOLTANINEJAD 等^[22]设计了多损失多尺度的 3D 卷积网络, 能不需要交互地完全自动分割根系 CT 数据, CHAFFARI 等^[23]使用改进的级联密集连接 UNet-3D 从脑 CT 中自动分割出肿瘤。因此, 训练、评估基于卷积神经

网络的语义分割模型, 构建全自动玉米籽粒表型分析管道, 无损、高效、准确提取籽粒内部结构和成分, 在玉米籽粒品种和品质精准鉴定以及表型-基因型的关联分析^[24-25]方面均具有重要应用价值。

本文使用 Micro-CT 批量籽粒扫描方式获取 CT 图像, 使用分水岭算法自动提取单颗籽粒, 利用改进的 UNet-3D 网络提取籽粒胚, 并整合为自动化表型分析管道, 快速提取 23 项籽粒结构和成分性状, 并用于不同玉米品种籽粒性状统计分析和表型鉴定。

1 数据获取

1.1 CT 扫描

试验选取的玉米品种包括: 登海 605 (DH605)、京科 968 (JK968)、先正达 408 (XZD408) 和农华 5 号 (NH5)。挑选表面无破损的 120 颗玉米籽粒, 使用 Micro-CT 设备 (SkyScan 1172, 美国 Bruker 公司) 获取籽粒 CT 图像。

使用批量扫描的方式提高籽粒成像效率。由于籽粒大小不同, 每次在泡沫圆盘(直径 30 mm)上放置 6~8 颗籽粒, 用双面胶固定(图 1a), 并且籽粒之间尽可能保持分离, 便于后续图像处理。在 Micro-CT 扫描过程中, 在每个旋转角度均可获得投影图(图 1b), 使用配套的重构软件 CT Scan NRecon(美国 Bruker 公司, 版本 1.6.9.4)进行断层图像重构和图像导出。本试验采用的扫描和重建参数如表 1 所示, 对 120 颗玉米籽粒分批扫描 20 次, 每次可导出 500 幅 1 000 像素×1 000 像素的 8 位 BMP 格式的图像序列(图 1c)。平均单粒 CT 扫描成像时间为 1 min。

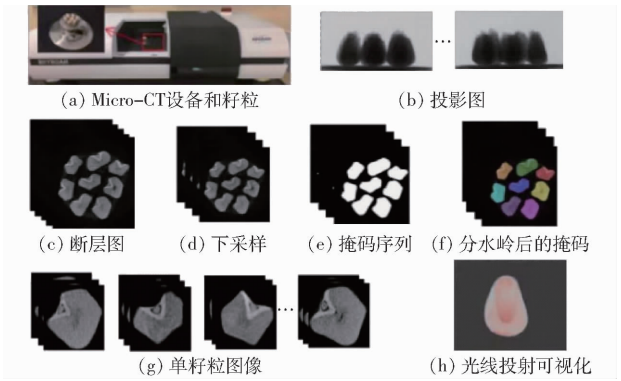


图 1 Micro-CT 图像获取与三维可视化
Fig. 1 Image acquisition and 3D visualization based on Micro-CT

1.2 单籽粒拆分

CT 图像中包含有多颗籽粒, 本文使用三维分水

表 1 Micro-CT 扫描与重建参数

Tab.1 Scanning and reconstruction parameters of Micro-CT

参数	数值
电压/kV	40
电流/ μ A	250
样品与光源的距离/mm	259.850
相机与光源的距离/mm	345.591
单次旋转角度/ $^{\circ}$	0.4
总旋转角度/ $^{\circ}$	180
图像导出中 Housfield 取值/Hu	-500 ~ 5 000
CT 图像分辨率/(像素 $\times$ 像素)	1 000 $\times$ 1 000
CT 图像体素大小/(μ m $\times$ μ m $\times$ μ m)	27 $\times$ 27 $\times$ 27

岭算法^[26]直接提取出每颗籽粒的三维 CT 图像。然而,直接在原始尺寸的籽粒三维图像上应用三维分水岭算法对内存要求太高,因此首先对原始图像 2 倍下采样,下采样后的三维图像尺寸为 250 像素 $\times$ 500 像素 $\times$ 500 像素。通过大津算法^[27]自动确定阈值并二值化,并通过形态学操作移除籽粒内部的孔洞获得图像掩码(图 1e),进而通过距离变换,将每个连通域标记为一个种子点,在图像掩码上实现三维分水岭分割(图 1f)。分割结果与原图像进行“与”运算即可提取出单颗籽粒 CT 图像。120 个单籽粒 CT 图像中最大籽粒尺寸为 150 像素 $\times$ 200 像素 $\times$ 200 像素,因此使用该尺寸从原图像中分别裁剪出籽粒图像(图 1g)。使用光线投射算法^[28]对单籽粒 CT 图像序列进行体绘制三维重建(图 1h),可以观察到籽粒胚和胚乳间具有较明显的结构和形态差异。

2 籽粒表型管道

基于单籽粒 CT 图像构建的玉米籽粒表型分析管道如图 2 所示,依次提取出籽粒、籽粒胚、胚乳和空腔结构,并计算其性状。在单颗籽粒 CT 图像中,胚的像素灰度较大,特征明显,易于识别和标注;胚乳和胚紧密相连,胚乳可通过胚来计算;而空腔为籽粒内部像素灰度极低的连通区域,可以设置阈值直接分割。因此,提出一种基于残差连接和注意力机制的三维分割网络 Residual_Attention_Unet-3D (RAUNet-3D),基于标注的少量籽粒胚数据,训练出较高精度的籽粒胚分割模型。进而,使用图像算术和形态学运算将单颗籽粒分解为胚、胚乳和空腔等语义的三维图像。最后,基于目标掩码图像和基于 Marching Cube (MC)^[29]算法表面重建后的目标表面模型,实现籽粒各语义对象的性状提取。

2.1 RAUNet-3D 分割胚

2.1.1 数据标注

在 120 颗籽粒 CT 图像中,使用开源软件 ITK-

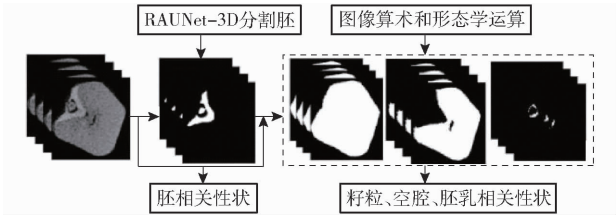


图 2 籽粒表型管道主要流程图
Fig. 2 Main flow chart of corn kernel pipeline

SNAP(3.6.0)对 50 颗籽粒图像中的胚进行人工交互式标注。标注流程如下:首先,人工选取胚所在区域(图 3a 中的红框),调整二值化阈值初步提取出胚(图 3b);然后人工选择种子点进行区域增长,保证胚的完整性(图 3c、3d);在此基础上,使用笔刷、形态学运算等工具逐层精细调整掩码(图 3e);最后,导出籽粒 CT 图像(图 3f)对应的胚标签(图 3g)。使用随机旋转操作对标注好的 50 个籽粒 CT 及其标签图像进行数据增广,将数据集扩充至 100 个,并按照比例 8:2 随机划分为训练集和测试集。

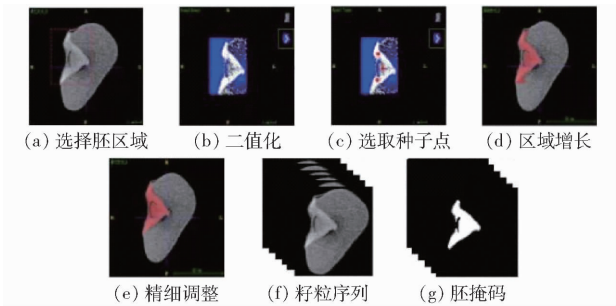


图 3 使用 ITK-SNAP 数据标注过程
Fig. 3 Data annotation process using ITK-SNAP

2.1.2 网络结构

UNet-2D 和 UNet-3D 是经典的基于 UNet 的二维和三维语义分割模型,均由编码器和解码器组成,通过在解码阶段合并相应的编码特征,有效提高语义分割精度,并且基于较少的训练样本数据集也能训练出精度较高的语义分割模型。UNet-2D 和 UNet-3D 的区别主要在于特征抽取过程中是否利用了目标的图像层间信息。UNet-3D 实现三维图像的端到端分割,使用 3D 卷积充分捕获目标空间信息,有效提高语义分割精度。本文提出的 RAUNet-3D 三维分割网络,主要是在原始 UNet-3D 网络基础上添加残差连接和注意力机制,网络结构如图 4 所示。该端到端网络由编码器和解码器组成,输入 32 $\times$ 96 $\times$ 96 的 CT 图像,输出 32 $\times$ 96 $\times$ 96 的胚掩码。网络分为 4 层,在编码阶段进行 3 次下采样,在解码阶段进行 3 次上采样,每层由通过残差相连接的两个 Conv3D-BN-ReLU 模块构成(图 4 中 Residual Convolution 模块),该残差模块能有效防

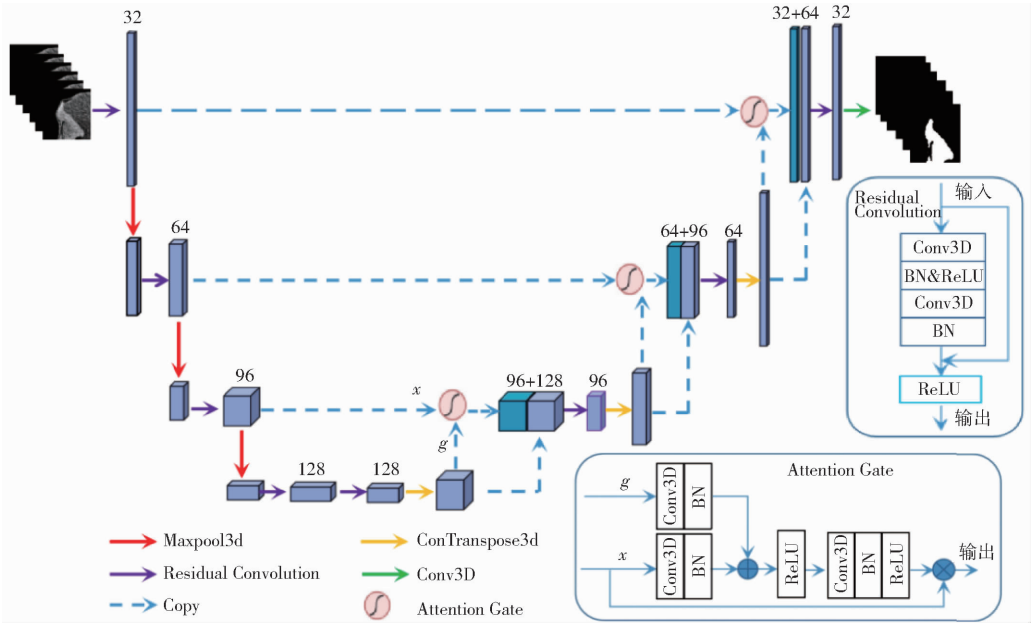


图 4 RAUNet-3D 架构
Fig. 4 RAUNet-3D architecture

止网络退化和加速网络收敛。每层卷积核数目分别为 32、64、96 和 128。

在解码阶段中嵌入注意力模块,用于从合并过来的下采样特征中提取对恢复胚掩码较重要的特征。图 4 中的 Attention Gate 为注意力模块, g 为解码阶段上采样的特征, x 为编码阶段产生的需要合并至上采样过程中的特征。首先,对 g 和 x 应用 $1 \times 1 \times 1$ 的卷积,将通道数调整一致(设置为 32);然后,将张量对应位置元素相加,并通过 ReLU 激活;最后,利用 $1 \times 1 \times 1$ 卷积为下采样特征 x 的每个通道训练一个权重,经过张量相乘后得到注意力模块输出的下采样特征。

RAUNet-3D 中的基本运算包括 3D 卷积、Batch Normalization 和 ReLU。其中,3D 卷积可以同时连续多层 CT 图像进行特征提取;Batch Normalization 在一个 Batch 的每个通道上对 3D 卷积后的数据进行归一化,避免数据分布过于分散;ReLU 激活函数能增加网络的非线性拟合能力,相较于 sigmoid 函数与 tanh 函数,ReLU 计算简单且克服了梯度消失问题。下采样和上采样分别采用 3D 最大值池化(MaxPool3d)和逆卷积(ConvTranspose3d)的方式。

2.1.3 网络训练

计算环境 CPU 为 Intel(R) Xeon(R) E5-2699,256GB RAM,操作系统为 Ubuntu 20.04.2,显卡为 RTX2080Ti(11GB 显存),深度学习框架为 pytorch-gpu1.7,Python 版本为 3.8.8。Epoch 设置为 300,学习率设置为 0.000 1,Batch_size 为 8,采用适应性矩估计(Adaptive momentum estimation,

Adam)优化算法进行训练,损失函数采用 Dice_Loss,公式为

$$L_{Dice} = 1 - 2 \frac{|X \cap Y|}{|X| + |Y|} \tag{1}$$

式中 X ——预测像素点集 Y ——真实像素点集
 L_{Dice} ——Dice_Loss 函数

利用骰子系数(Dice similarity coefficient,DICE)和交并比(Intersection over union,IoU)评估网络精度,计算公式分别为

$$D_{ICE} = \frac{2|X \cap Y|}{|X \cup Y|} \tag{2}$$

$$I_{oU} = \frac{|X \cap Y|}{|X \cup Y|} \tag{3}$$

式中 D_{ICE} ——骰子系数 I_{oU} ——交并比

在模型训练和推理阶段,均采用分块方式处理输入图像。在模型训练阶段,从原始 CT 图像和其标签中随机采样 $32 \times 96 \times 96$ 的体数据输入网络(图 5a)。在模型推理阶段,以(32,64,64)为步长从输入 CT 体数据中依次提取出 $32 \times 96 \times 96$ 的体数据,输入分割网络进行推理,最后将分割结果按照实际位置合并,得到籽粒胚的掩码图像(图 5b)。

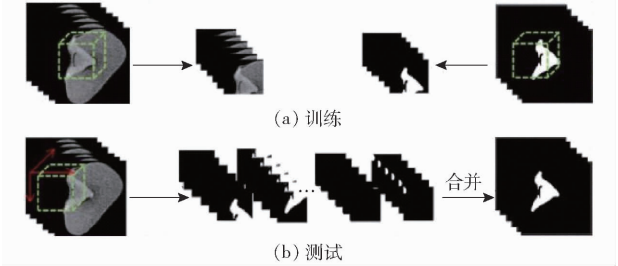


图 5 训练和测试的数据处理
Fig. 5 Data processing for training and testing

2.2 籽粒胚乳和空腔分割

图 6 为从单颗籽粒中提取玉米内部成分和结构的流程图,图中红色、蓝色、紫色和绿色箭头分别表示胚、胚乳、空腔和籽粒的分割和表面重建流程。首先将单颗籽粒 CT 图像输入到 RAUNet-3D 网络,自动分割出胚掩码。然后,对单颗籽粒 CT 图像进行

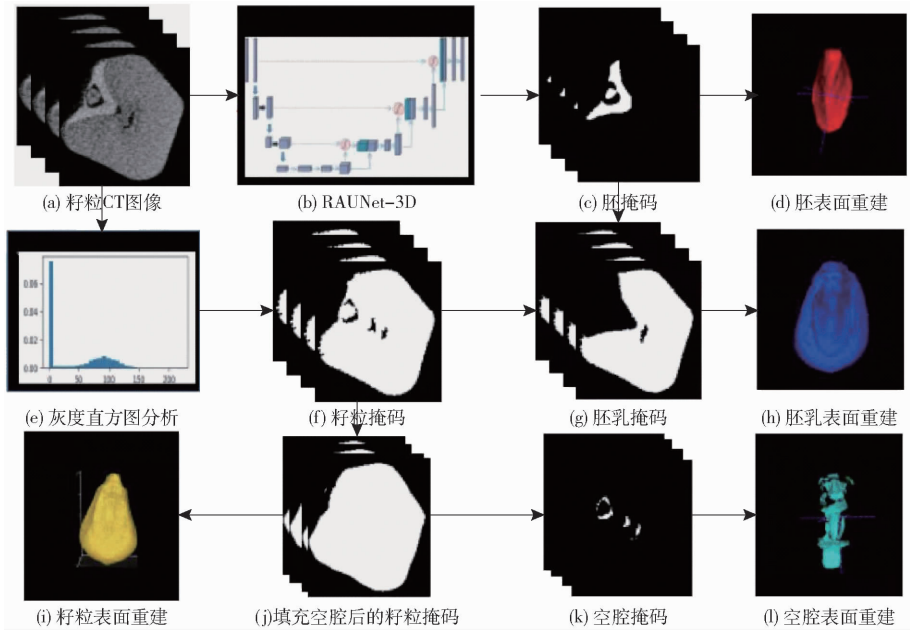


图 6 籽粒三维性状提取管道

Fig.6 3D structural analysis pipeline of corn kernel

2.3 籽粒表型提取

基于 CT 图像计算的籽粒及其内部结构的性状主要分为 2 类:像素灰度和几何形态。像素灰度反映物质对 X 射线的吸收特性^[30],可使用灰度均值和灰度标准差表示。籽粒胚和胚乳的掩码分别与原始图像进行“与”运算,可以得到籽粒胚和胚乳图像。用于计算灰度均值和标准差。灰度均值 G_M 和灰度标准差 G_{SD} 计算公式分别为

$$G_M = \frac{\sum_{i=0}^n g(i)}{n}$$
 (4)

$$G_{SD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (g(i) - G_M)^2}{n}}$$
 (5)

式中 $g(i)$ ——第 i 个体素的灰度
 n ——体素个数

几何形态性状包括表面积、体积以及粒长、粒宽和粒厚等。可以分别利用 MC 算法重建后的三维表面模型或者掩码的三维图像来计算。其中,籽粒、胚、胚乳和空腔的三维表面模型(图 6l、6k、6j、6i)分别是掩码(图 6g、6c、6d、6h)重建的结果,可用于计算表面积。计算过程为:设表面模型上单个三角形的顶点坐标分别为 $A_1(x_1, y_1, z_1)$ 、 $A_2(x_2, y_2, z_2)$ 、

灰度直方图分析,利用大津算法确定二值化阈值并获得籽粒掩码图像,进而生成籽粒外轮廓包围的掩码图像。最后,通过上述掩码间算术运算分别得到胚乳和空腔的掩码图像。在当前图像分辨率条件下,籽粒表皮与胚乳几乎融为一体,经过多次实验,将籽粒腐蚀 2 个像素可去除表皮。

$A_3(x_3, y_3, z_3)$,根据欧几里德公式计算三角形的边长为 a 、 b 和 c ,再由海伦公式计算三角形面积为 s 。三维表面模型的表面积为所有三角形面积之和 S 。计算式为

$$\begin{cases} a = \sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2 + (z_1 - z_2)^2} \\ b = \sqrt{(x_1 - x_3)^2 + (y_1 - y_3)^2 + (z_1 - z_3)^2} \\ c = \sqrt{(x_2 - x_3)^2 + (y_2 - y_3)^2 + (z_2 - z_3)^2} \\ p = \frac{1}{2}(a + b + c) \\ s = p(p - a)(p - b)(p - c) \\ S = \sum_{i=1}^n s \end{cases}$$
 (6)

根据目标掩码三维图像直接计算目标体积,计算公式为

$$V = C_{obj} V_{voxel}$$
 (7)

式中 C_{obj} ——掩码体素数
 V ——目标体积
 V_{voxel} ——单个体素体积,本文是 $27 \mu\text{m} \times 27 \mu\text{m} \times 27 \mu\text{m}$

另外,矩形度和球形度分别用于衡量籽粒与球体、立方体的接近程度。粒长、粒宽和粒厚用籽粒表面模型的三维方向包围盒的 3 个边长表示(图 6i),

即最长边为粒长、次长边为粒宽、最短边为粒厚。本文籽粒表型提取效率为 10 s/粒,可以获得 23 项表型参数,如表 2 所示。

表 2 籽粒及其内部结构表型

Tab.2 Phenotypic traits of corn kernel and its inner structure

inner structure			
类型	表型指标	缩写	定义
籽粒	粒长/mm	Lk	籽粒包围盒最长边长度
	粒宽/mm	Wk	籽粒包围盒次长边长度
	粒厚/mm	Tk	籽粒包围盒最短边长度
	籽粒体积/mm ³	Vk	籽粒表面模型体积
	籽粒表面积/mm ²	Sk	籽粒表面模型表面积
	籽粒矩形度	Rk	体积与方向包围盒体积比
	籽粒球形度	SQk	体积与外接球体积比
	籽粒比表面积	SSAk	籽粒表面积与体积比
胚	胚体积/mm ³	Vemb	胚表面模型体积
	胚表面积/mm ²	Semb	胚表面模型表面积
	胚矩形度	Remb	胚体积与方向包围盒体积比
	胚球形度	SQemb	胚体积与外接球体积比
	胚占比	Pemb	胚体积与籽粒体积比
	胚灰度均值	GMemb	胚部 CT 图像灰度均值
	胚灰度标准差	GSDemb	胚部 CT 图像灰度方差
胚乳	胚乳体积/mm ³	Vend	胚乳表面模型体积
	胚乳表面积/mm ²	Send	胚乳表面模型表面积
	胚乳占比	Pend	胚乳体积与籽粒体积比
	胚乳灰度均值	GMend	胚乳部分的 CT 图像灰度均值
	胚乳灰度标准差	GSDend	胚乳部分的 CT 图像灰度方差
空腔	空腔体积/mm ³	Vcav	空腔表面模型体积
	空腔表面积/mm ²	Scav	空腔表面模型表面积
	空腔占比	Pcav	空腔体积与籽粒体积比

2.4 籽粒品种表型分析

获得 4 个品种籽粒的 23 个表型指标后,使用描述性统计方法调查各籽粒品种间的表型指标分布和差异情况;使用主成分分析 (Principal component analysis,PCA)算法提取表型指标的前两个主成分,并进行聚类分析;利用经典的机器学习分类模型,包括 K 近邻 (K-nearest neighbor, KNN)、支持向量机 (Support vector machines, SVM) 和 随 机 森 林 (Random forest, RF) 进行籽粒品种鉴定。上述分析分别使用 R 语言 (4.1.1) 和 Python (3.8.8) 实现,其中 PCA 分析使用 prcomp 函数,绘图使用 ggplot2 包,机器学习算法使用 sklearn 包。

3 结果与分析

3.1 表型管道性能评估

3.1.1 语义分割网络精度评估

籽粒胚的分割精度至关重要,直接影响籽粒内胚乳和空腔量化。首先在训练集上评估 UNet-2D、UNet-3D 和 RAUNet-3D 的语义分割模型精度。不同模型的训练损失值和训练精度如图 7 所示。三维语义分割模型 (UNet-3D 和 RAUNet-3D) 的训

练精度均高于二维语义分割模型 (UNet-2D),说明 3D 网络利用 CT 图像层间关系,有利于提高模型分割精度。另外,经典的三维语义分割模型 (UNet-3D) 收敛速度较慢,而改进后的 RAUNet-3D 模型能够更快收敛且精度更高。

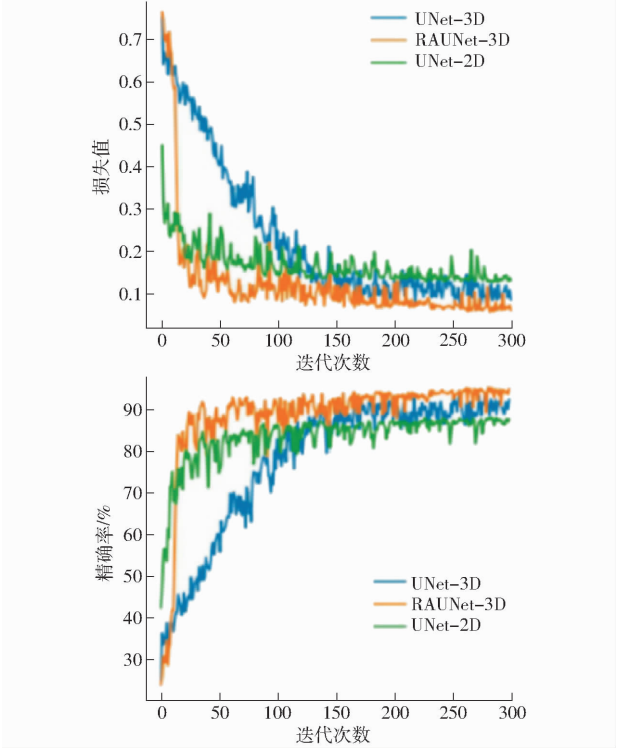


图 7 训练集上不同模型的损失值和精确率曲线

Fig.7 Loss and accuracy curves of different models on training sets

在测试集上评估 3 个模型的语义分割精度,分别采用 DICE 和 IoU 作为评价指标,结果如表 3 所示。整体上,三维语义分割模型比二维分割模型获得更高精度,RAUNet-3D、UNet-3D 和 UNet-2D 模型的 DICE 和 IoU 依次增大。图 8 比较了 UNet-2D、UNet-3D 和 RAUNet-3D 语义分割结果,图中上 3 行分别表示一个籽粒 CT 不同的层,第 4 行表示三维可视化结果,红圈表示 Unet-3D 和 RAUNet-3D 胚边缘部分分割效果对比。可以看出,由于 UNet-2D 语义分割模型仅考虑了单层 CT 图像特征,某些层上的分割结果容易出现过分割和欠分割现象。将逐层分割结果合并为三维分割掩码并进行三维渲染,可以发现存在大量噪点或孤岛。

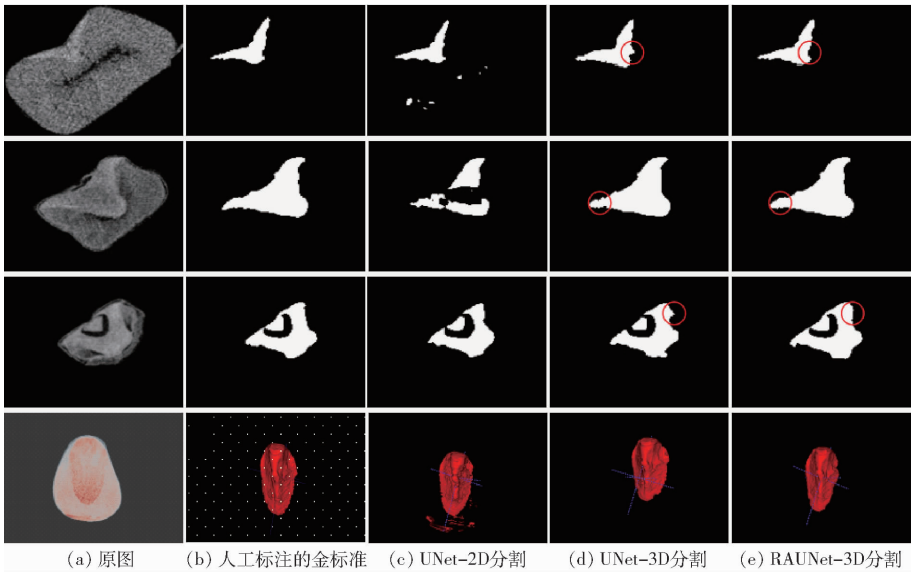
表 3 测试集上不同深度学习模型的精度对比

Tab.3 Accuracy comparison of different depth learning models on test set

模型	DICE	IoU
UNet-2D	0.886 1	0.795
UNet-3D	0.921 8	0.855
RAUNet-3D	0.933 6	0.875

由于 UNet-3D 和 RAUNet-3D 语义分割模型利用了图像层间关系,极大抑制了过分割和欠分割现象。RAUNet-3D 在特征合并时引入了注意力机制,相

较于 UNet-3D,对目标的边缘部分分割得更加精准。因此,本文在籽粒表型管道中集成 RAUNet-3D 模型用于提取籽粒胚。



(a) 原图 (b) 人工标注的金标准 (c) UNet-2D分割 (d) UNet-3D分割 (e) RAUNet-3D分割

图 8 不同模型分割结果比较

Fig.8 Comparison of segmentation results of different models

3.1.2 管道测量一致性评估

利用图 6 提出的表型计算管道,计算 4 个品种共 120 颗籽粒的 23 个表型指标。使用游标卡尺人工测量所有籽粒的粒长、粒宽和粒厚数据,采用决定系数 R^2 和均方根误差 (Root mean square error,

RMSE) 进行评估。

图 9 显示了粒长、粒宽和粒厚的本文方法测量值与人工测量值的关系。其中,粒长、粒宽和粒厚的 R^2 分别为 0.902、0.926 和 0.904, RMSE 分别为 0.325、0.253、0.258 mm。表明本文方法测量结果与

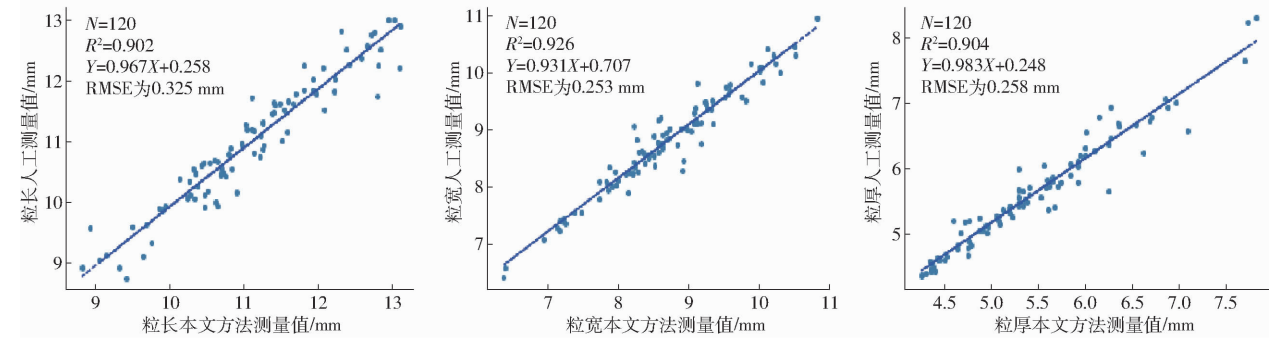


图 9 管道计算值与人工测量值比较(粒长、粒宽和粒厚)

Fig.9 Comparison between computed and manual measured values of kernel length, width and thickness

人工测量值具有较好的一致性。

3.2 籽粒性状统计分析

对 4 个品种 120 颗籽粒的所有表型指标进行初步统计分析,计算出各项指标的均值、标准差、最小值、中位数和最大值,如表 4 所示。4 个玉米品种籽粒的 23 项性状经过 Z-score 归一化处理,利用箱线图显示各个品种籽粒表型的分布差异(图 10),图中灰色、黄色、蓝色和红色分别表示空腔、胚乳、胚和籽粒表型指标。从每个品种中选择 2 颗典型籽粒,分别显示籽粒及其内部结构的三维形态差异(图 11),可以看出:①品种间籽粒空腔差异较大,XZD408 和

DH605 的籽粒空腔要远大于 JK968 和 NH5 品种的籽粒空腔。②品种间籽粒、胚、胚乳和体积表面积差异较大,XZD408 和 NH5 的籽粒个体、胚和胚乳的体积和表面积均较大,而 JK968 和 DH605 的籽粒个体、胚和胚乳的体积和表面积均较小。③DH605 的胚和胚乳的灰度均值比其它 3 个品种小,表明该品种籽粒的密度较小,对 X 射线的吸收较弱。④从粒形上看,JK968 和 NH5 偏扁平一些,球形度较小、矩形度较大。而 DH605 和 XZD408 偏圆一些,球形度较大、矩形度较小。⑤扁平籽粒的比表面积通常要大于圆形籽粒,相比于 DH605 和 XZD408,扁平的

表 4 籽粒表型的统计描述

Tab.4 Statistical description of kernel phenotypes

	表型指标	均值	标准差	最小值	中位数	最大值
籽粒	粒长/mm	10.775	1.021	8.842	10.630	15.299
	粒宽/mm	8.797	0.963	6.453	8.915	11.448
	粒厚/mm	5.708	0.881	3.846	5.610	8.734
	籽粒体积/mm ³	267.251	59.489	147.788	271.249	611.029
	籽粒表面积/mm ²	262.818	45.271	173.922	267.846	559.276
	籽粒矩形度	0.494	0.036	0.376	0.496	0.573
	籽粒球形度	0.416	0.105	0.211	0.402	0.692
	籽粒比表面积	0.996	0.075	0.817	0.992	1.242
胚	胚体积/mm ³	27.958	6.754	12.699	28.393	44.200
	胚表面积/mm ²	105.393	18.453	59.209	107.035	154.699
	胚矩形度	0.236	0.023	0.148	0.234	0.316
	胚球形度	0.088	0.026	0.044	0.083	0.180
	胚占比	0.105	0.013	0.057	0.106	0.130
	胚灰度均值	136.514	8.168	108.841	137.492	150.627
	胚灰度标准差	657.049	69.649	510.84	646.493	933.515
胚乳	胚乳体积/mm ³	215.669	48.712	121.732	220.500	530.918
	胚乳表面积/mm ²	312.705	65.456	197.328	314.173	713.499
	胚乳占比	0.808	0.026	0.742	0.810	0.872
	胚乳灰度均值	106.235	6.178	83.974	108.366	117.003
	胚乳灰度标准差	155.125	15.292	114.153	155.144	204.409
空腔	空腔体积/mm ³	4.116	3.455	0.184	3.162	17.084
	空腔表面积/mm ²	83.09	62.016	4.836	72.633	293.671
	空腔占比	0.015	0.011	0.001	0.012	0.057

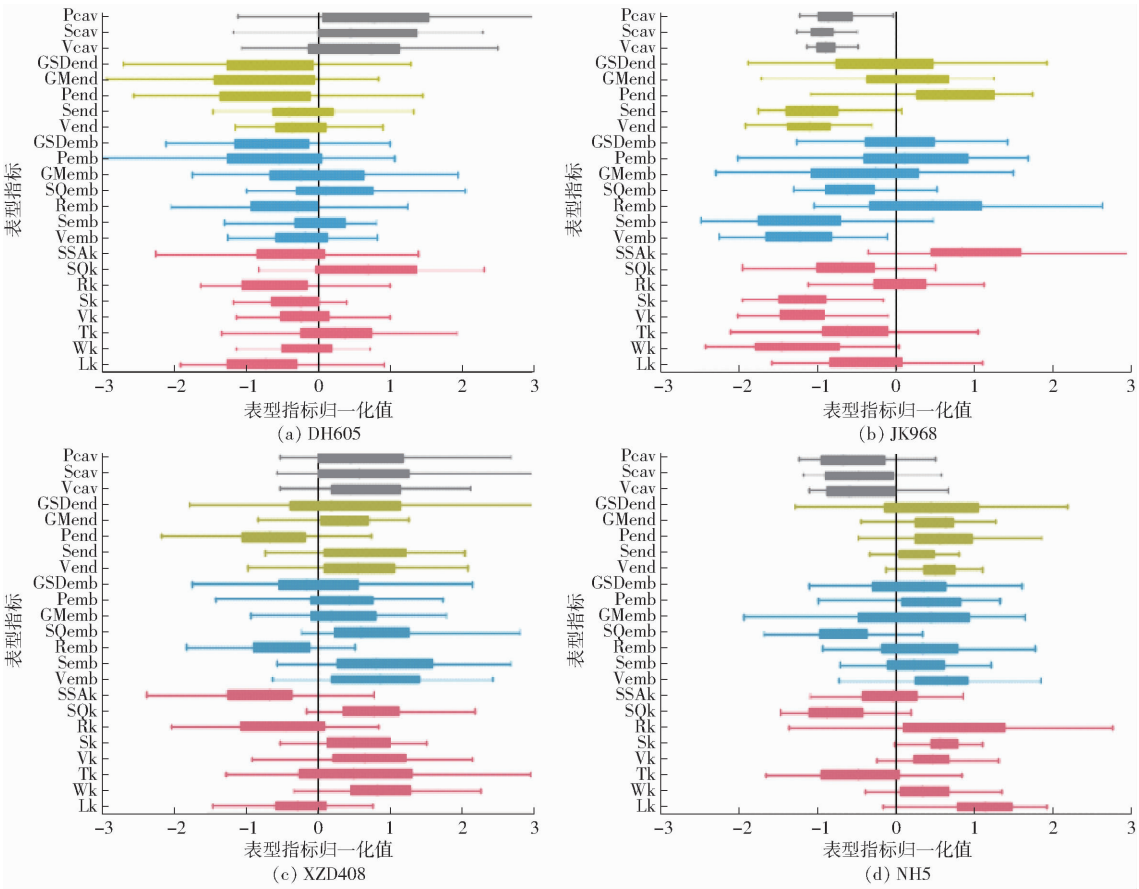


图 10 4 个品种的玉米籽粒表型箱线图

Fig. 10 Phenotypic boxplots of corn kernel of four varieties

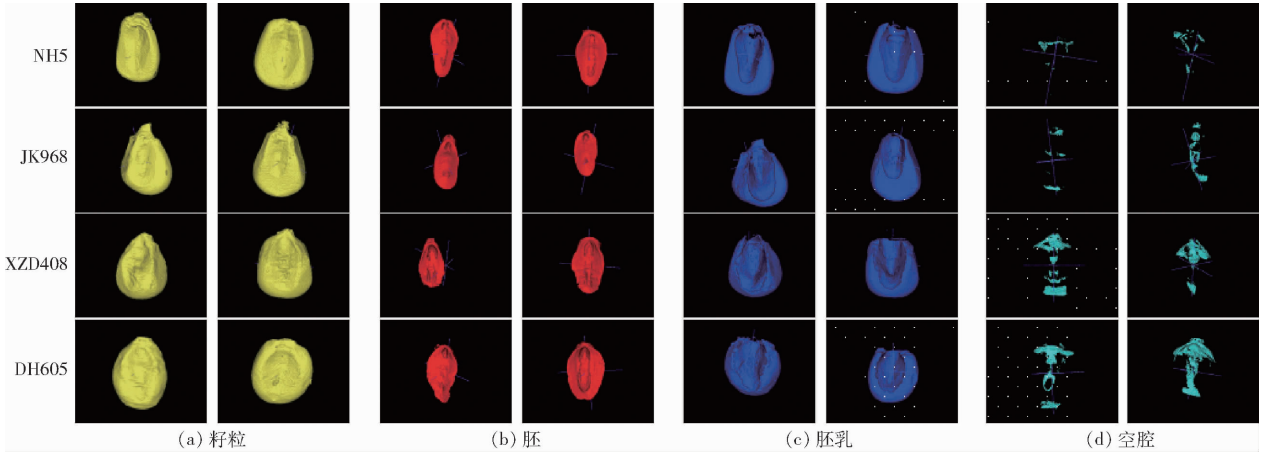


图 11 不同品种的玉米籽粒三维结构

Fig. 11 3D structures of corn kernels of different varieties

NH5 和 JK968 的比表面积较大。

3.3 籽粒表型鉴定

为了考察不同玉米品种籽粒表型间区分度,在所有籽粒的表型数据上进行 PCA 分析(图 12),得到的前两个主成分分别解释了 38% 和 21.5% 的表型变异。从图 12a 可以看出,第 1 个主成分和第 2 个主成分能很大程度上区分出 DH605、JK968、XZD408 和 NH5 品种的籽粒。从图 12b 可知,第 1 个主成分与籽粒的几何形态特征相关(比如粒长、粒宽、籽粒体积、胚体积、空腔体积、籽粒表面积、胚乳表面积和胚表面积),第 2 个主成分主要与籽粒胚和胚乳的 CT 灰度性状相关。

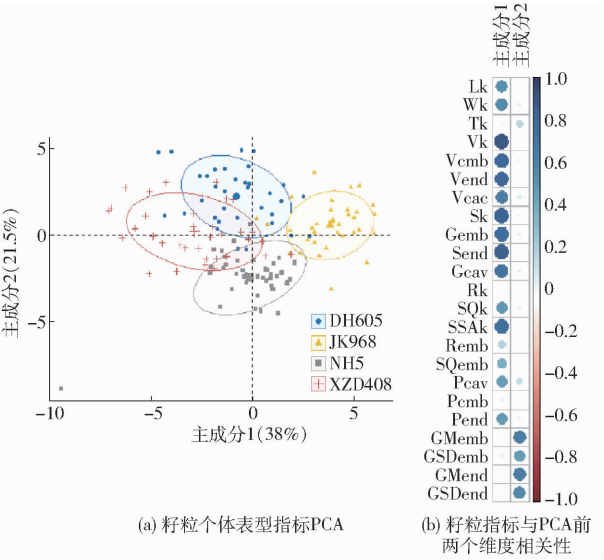


图 12 籽粒主成分分析

Fig. 12 PCA analysis of corn kernel

进一步利用 KNN、RF 和 SVM 训练 4 类玉米品种的籽粒分类器。采用 5 折交叉验证来优选分类模

型,3 类模型精度及平均精度如表 5 所示。其中 SVM 的平均识别精度最高,可达 90.4%。这表明,基于本文方法提取出的籽粒及其内部结构表型对不同品种籽粒的分类和鉴定具有价值。

表 5 不同机器学习模型的分类精度

Tab. 5 Classification accuracy of different machine learning models						
模型	精度					平均值
	1	2	3	4	5	
KNN	84.1	91.8	80.1	92.3	95.7	88.8
RF	91.7	92.3	91.8	76.2	96.0	89.6
SVM	88.3	91.7	84.1	87.9	100	90.4

4 结论

(1) 针对基于 Micro-CT 的玉米籽粒表型分析中存在的扫描成像效率低、表型测量自动化和鲁棒性差等问题,提出了自动化玉米籽粒三维表型分析方法,快速解析玉米籽粒及其内部结构的 23 项表型,粒长、粒宽和粒厚的 R^2 分别为 0.902、0.926 和 0.904。对 4 个品种共 120 颗玉米籽粒进行测试,籽粒表型提取效率为 10 s/粒。

(2) 对批量籽粒进行扫描成像,使用 Watershed 算法从批量籽粒 CT 图像中拆分出每颗籽粒,提高了 Micro-CT 对籽粒的扫描通量。

(3) 基于残差连接和注意力机制的三维分割网络(RAUNet-3D)对籽粒胚的分割精度可达 93.4%,为计算籽粒胚和胚乳等内部结构性状提供依据。

(4) 籽粒及其内部结构的 23 项性状具有明显品种区分度,可用于玉米籽粒品种分类和鉴定。

参 考 文 献

[1] 张磊,谢小清,唐怀君,等. 玉米籽粒构型与产量和抗旱性的关系分析[J]. 新疆农业科学, 2021, 58(10): 1784-1790.
ZHANG Lei, XIE Xiaoqing, TANG Huaijun, et al. Maize grain configuration character: relationship with yield and drought

- resistance[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2021, 58(10): 1784 – 1790. (in Chinese)
- [2] 郭祯祥, 赵仁勇. 玉米硬度测定方法研究[J]. 粮食与饲料工业, 2002(12): 44 – 46.
GUO Zhenxiang, ZHAO Renyong. Corn hardness determination[J]. Cereal & Feed Industry, 2002(12): 44 – 46. (in Chinese)
- [3] 王金星, 李玉凤, 江浩, 等. 玉米籽粒内部组分低对比度透射图像精确分割研究[J]. 农业机械学报, 2020, 51(6): 238 – 247.
WANG Jinxing, LI Yufeng, JIANG Hao, et al. Accurate segmentation of low contrast transmission images of maize grain internal components[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(6): 238 – 247. (in Chinese)
- [4] DONG Pengfei, XIE Ruizhi, WANG Keru, et al. Kernel crack characteristics for X-ray computed microtomography (μ CT) and their relationship with the breakage rate of maize varieties[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(11): 2680 – 2689.
- [5] GUELPA A, PLESSIS A D, KIDD M, et al. Non-destructive estimation of maize (*Zea mays* L.) kernel hardness by means of an X-ray Micro-computed tomography (μ CT) density calibration[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(7): 1419 – 1429.
- [6] BERNARD A, HAMDY S, CORE L L, et al. 3D characterization of walnut morphological traits using X-ray computed tomography[J]. Plant Methods, 2020, 16(1): 115 – 126.
- [7] HU Weijuan, ZHANG Can, JIANG Yuqiang, et al. Nondestructive 3D image analysis pipeline to extract rice grain traits using X-ray computed tomography[J]. Plant Phenomics, 2020(3): 1 – 12.
- [8] WU Di, WU Dan, FENG Hui, et al. A deep learning-integrated micro-CT image analysis pipeline for quantifying rice lodging resistance-related traits[J]. Plant Communication, 2021, 2(2): 100165.
- [9] GOMEZ F E, JR G C, SHI F, et al. High throughput phenotyping of morpho-anatomical stem properties using X-ray computed tomography in sorghum[J]. Plant Methods, 2018, 14(1): 59 – 72.
- [10] ZHANG Ying, MA Liming, WANG Jinglu, et al. Phenotyping analysis of maize stem using micro-computed tomography at the elongation and tasseling stages[J]. Plant Methods, 2020, 16(1): 2 – 16.
- [11] 吴迪, 杨万能, 牛智有, 等. 小麦分蘖形态学特征 X 射线-CT 无损检测[J]. 农业工程学报, 2017, 33(14): 196 – 201.
WU Di, YANG Wanneng, NIU Zhiyou, et al. Non-destructive detection of wheat tiller morphological traits based on X-ray CT technology[J]. Transactions of the CSAE, 2017, 33(14): 196 – 201. (in Chinese)
- [12] SU L, CHEN P. A method for characterizing the panicle traits in rice based on 3D micro-focus X ray computed tomography[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2019, 166(1): 104984.
- [13] 司永胜, 曹珊珊, 张晓雪, 等. 基于 CT 图像的苹果苦痘病与磕碰伤识别[J]. 农业机械学报, 2021, 52(10): 377 – 384.
SI Yongsheng, CAO Shanshan, ZHANG Xiaoxue, et al. Recognition of apple bitter pit and bruise based on CT image[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(10): 377 – 384. (in Chinese)
- [14] ROUSSEAU D, WIDIEZ T, TOMMASO S D, et al. Fast virtual histology using X-ray in-line phase tomography: application to the 3D anatomy of maize developing seeds[J]. Plant Methods, 2015, 11(1): 55.
- [15] 赵欢, 王璟璐, 廖生进, 等. 基于 Micro-CT 的玉米籽粒显微表型特征研究[J]. 智慧农业(中英文), 2021, 3(1): 16 – 28.
ZHAO Huan, WANG Jinglu, LIAO Shengjin, et al. Study on the micro-phenotype of different types of maize kernels based on Micro-CT[J]. Smart Agriculture, 2021, 3(1): 16 – 28. (in Chinese)
- [16] 银学波, 明博, 侯俊峰, 等. 基于 X-ray μ CT 技术的玉米籽粒结构特征的粒位效应分析[J]. 农业工程学报, 2021, 37(7): 8 – 14.
YIN Xuebo, MING Bo, HOU Junfeng, et al. Effects of various grain positions of ear on the internal structural parameters of maize grain using X-ray μ CT[J]. Transactions of the CSAE, 2021, 37(7): 8 – 14. (in Chinese)
- [17] HOU Junfeng, ZHANG Ying, JIN Xiuliang, et al. Structural parameters for X-ray micro-computed tomography (μ CT) and their relationship with the breakage rate of maize varieties[J]. Plant Methods, 2019, 15(1): 167 – 172.
- [18] RONNEBERGER O, FISCHER P, BROX T. UNet: convolutional networks for biomedical image segmentation [C] // International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention. Springer International Publishing, 2015.
- [19] BADRINARAYANAN V, HANDA A, CIPOLLA R. SegNet: a deep convolutional encoder-decoder architecture for image segmentation[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, 2017, 39(12): 2481 – 2495.
- [20] ÇICEK Ö, ABDULKADIR A, LIENKAMP S, et al. 3D U-Net: learning dense volumetric segmentation from sparse annotation [C] // Proceedings of the 19th International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention, 2017.
- [21] MILLETARI F, NAVAB N, AHMADI S. V-Net: fully convolutional neural networks for volumetric medical image segmentation [C] // Fourth International Conference on 3D Vision (3DV), 2016.
- [22] SOLTANINEJAD M, STURROCK C J, GRIFFITHS M, et al. Three dimensional root CT segmentation using multi-resolution encoder-decoder networks[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2020, 29: 6667 – 6679.
- [23] GHAFFARI M, SOWMYA A, OLIVER R. Automated brain tumour segmentation using cascaded 3D densely connected U-Net[M]. Cham: Springer International Publishing, 2021: 481 – 491.

[16] 方鹏,郝宏运,李腾飞,等. 基于注意力机制和可变形卷积的鸡只图像实例分割提取[J]. 农业机械学报, 2021, 52(4): 257 - 265.
FANG Peng, HAO Hongyun, LI Tengfei, et al. Instance segmentation of broiler image based on attention mechanism and deformable convolution[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(4):257 - 265. (in Chinese)

[17] 姜红花,张传银,张昭,等. 基于 Mask R - CNN 的玉米田间杂草检测方法[J]. 农业机械学报, 2020, 51(6):220 - 228, 247.
JIANG Honghua, ZHANG Chuanyin, ZHANG Zhao, et al. Detection method of corn weed based on Mask R - CNN[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(6):220 - 228, 247. (in Chinese)

[18] 陈燕,朱成宇,胡小春,等. 基于改进 Unet 的小麦茎秆截面参数检测[J]. 农业机械学报, 2021, 52(7):169 - 176.
CHEN Yan, ZHU Chengyu, HU Xiaochun, et al. Detection of wheat stem section parameters based on improved Unet[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(7):169 - 176. (in Chinese)

[19] LI J, XU H, YU Y, et al. Intelligent analysis technology of bamboo structure. Part I: the variability of vascular bundles and fiber sheath area[J]. Industrial Crops & Products, 2021, 174: 114163.

[20] ZHOU F, HUANG J, LIU W, et al. Multiscale simulation of elastic modulus of rice stem[J]. Biosystems Engineering, 2019, 187:96 - 113.

[21] ZHAI L, WANG F, YAN A, et al. Pleiotropic effect of GNP1 underlying grain number per panicle on sink, source and flow in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11:933 - 946.

[22] HE K, GKIOXARI G, DOLLAR P, et al. Mask R - CNN [J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, 2017, 42(2):386 - 397.

[23] KIRILLOV A, WU Y, HE K, et al. PointRend: image segmentation as rendering[C]//IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2020:9796 - 9805.

[24] LIN T Y, DOLLÁR P, GIRSHICK R, et al. Feature pyramid networks for object detection [C] // IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition(CVPR), 2017: 936 - 994.

[25] GUOC, FAN B, ZHANG Q, et al. AugFPN_improving multi-scale feature learning for object detection[C]//IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition(CVPR), 2020: 12595 - 12604.

[26] YU J, JIANG Y, WANG Z, et al. UnitBox: an advanced object detection network [C] // Proceedings of the 24th ACM International Conference on Multimedia, 2016: 516 - 520.

(上接第 253 页)

[24] 渠建洲,冯文豪,张兴华,等. 基于全基因组关联分析解析玉米籽粒大小的遗传结构[J]. 作物学报, 2022,48(1):203 - 214.
QU Jianzhou, FENG Wenhao,ZHANG Xinghua,et al. Dissecting the genetic architecture of maize kernel size based on genome-wide association study[J]. Acta Agronomica Sinica,2022,48(1):203 - 214. (in Chinese)

[25] LI X, WANG M, ZHANG R,et al. Genetic architecture of embryo size and related traits in maize[J]. The Crop Journal, 2022, 10(1): 204 - 215.

[26] NEUBERT P, PROTZEI P. Compact watershed and preemptive SLIC: on improving trade-offs of superpixel segmentation algorithms[C]//22nd International Conference on Pattern Recognition (ICPR). IEEE Computer Society, 2014.

[27] OTSU N. A threshold selection method from gray-level histograms[J]. IEEE Transactions on Systems Man & Cybernetics,2007, 9(1):62 - 66.

[28] SABELLA P. A rendering algorithm for visualizing 3D scalar fields[J]. Computer Graphics,1988,22(4):51 - 58.

[29] LORENSEN W E, CLINE H E. Marching cubes: a high resolution 3D surface construction algorithm[J]. ACM Siggraph Computer Graphics,1987:163 - 169.

[30] BARCELON E G, TOJO S, WATANABE K. X-ray computed tomography for internal quality evaluation of peaches[J]. Journal of Agricultural Engineering Research,1999,73(4):323 - 330.