

基于Faster R-CNN的对虾生长性状表型高通量测定技术的建立及应用

鲍镇宁 于洋 李富花

THE ESTABLISHMENT AND APPLICATION OF A FAST PHENOTYPIC DETERMINATION TECHNIQUE BASED ON FASTER R-CNN FOR GROWTH TRAITS IN SHRIMP

BAO Zhen-Ning, YU Yang, LI FU-Hua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0490>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于微卫星标记的斑点叉尾家系鉴定技术及应用

ESTABLISHMENT AND APPLICATION OF PEDIGREE IDENTIFICATION TECHNIQUE FOR CHANNEL CATFISH BASED ON MICROSATELLITE MARKERS

水生生物学报. 2021, 45(2): 327–333 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.255>

蔗糖输入对凡纳滨对虾养殖系统真核微生物群落的影响

THE EFFECTS OF SUCROSE ON MICROEUKARYOTIC COMMUNITY IN THE SHRIMP AQUACULTURE SYSTEM

水生生物学报. 2021, 45(1): 172–181 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.142>

泥蚶G2代快速生长家系遗传结构的微卫星分析及其与生长性状的关联

MICROSATELLITE ANALYSIS OF GENETIC VARIATION IN THE FAST GROWTH FAMILIES OF THE 2<sup>nd</sup> GENERATION OF *TEGILLARCA GRANOSA* AND CORRELATION WITH GROWTH TRAITS

水生生物学报. 2018, 42(4): 681–689 <https://doi.org/10.7541/2018.084>

铜绿微囊藻对轮虫生命表参数和表型特征的影响

EFFECTS OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* ON THE LIFE-TABLE PARAMETERS AND PHENOTYPIC TRAITS OF ROTIFERS

水生生物学报. 2017, 41(6): 1362–1368 <https://doi.org/10.7541/2017.168>

异育银鲫易钓性的表型基础和生态结果及饥饿响应

THE PHENOTYPIC BASIS, ECOLOGICAL CONSEQUENCES AND FASTING RESPONSES TO ANGLING OF JUVENILE GIBEL CARP (*CARASSIUS AURATUS GIBELIO*)

水生生物学报. 2018, 42(4): 751–761 <https://doi.org/10.7541/2018.092>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2022.0490

## 基于Faster R-CNN的对虾生长性状表型高通量测定技术的建立及应用

鲍镇宁<sup>1,2</sup> 于洋<sup>1</sup> 李富花<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室, 青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 为提高对虾外部生长性状表型数据的获取效率, 利用拍照获得的对虾外部表型照片, 采用基于区域生成网络RPN(Region Proposal Networks)的Faster R-CNN(Faster Region-convolutional neural networks)深度学习神经网络, 通过对8400张对虾表型照片的学习和训练, 构建了快速识别对虾全长并输出位置信息的模型。该模型可识别图片中的对虾并以识别框的形式表示出具体的位置。对于不同角度拍摄的对虾, 模型生成识别框的长度或对角线长度与人工测量的对虾全长之间呈高度相关。研究以此建立了对虾全长性状表型数据高通量测定技术, 该技术的建立可以在对虾生长性状表型数据测定中节省人工测量的时间, 提高了对虾全基因组选择育种的效率。此外, 该模型的建立也为对虾头胸部长度及不同体节长度等其他外部表型数据的测定提供了新的思路, 为对虾生长性状表型组的建立奠定了重要基础。

**关键词:** 表型组; 计算机视觉; 深度学习; 对虾

中图分类号: Q-332

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)10-1576-09



我国是世界对虾养殖产量最高的国家, 也是世界对虾产品的主要贸易国。对虾养殖业是水产养殖的重要组成部分, 其产业的发展促进了对虾育种、养殖等一系列科学和产业研究的进步<sup>[1]</sup>。遗传育种是推动对虾产业发展的源动力, 种质的不断提高推动了产业的升级和转型。在过去的几十年中, 对虾的育种主要采用基于数量遗传学的传统选育技术, 该技术主要依据个体及其亲缘关系较近的个体表型信息进行遗传选育。随着生物技术和计算机技术的发展, 育种技术也向高通量、精准化方向发展, 新的技术包括分子育种技术和高通量表型测定技术已逐渐应用于作物和畜禽的育种中, 加速了育种的进程。在水产动物中, 伴随着经济物种如鲤<sup>[2]</sup>、草鱼<sup>[3]</sup>、虾夷扇贝<sup>[4]</sup>、栉孔扇贝<sup>[5]</sup>、黄颡鱼<sup>[6]</sup>和凡纳滨对虾<sup>[7]</sup>等基因组测序的破译, 分子育种取得了明显的进展<sup>[8]</sup>, 鉴定了包括生长发育、生殖和性别抗病和抗逆等重要经济性状相关分子标记、功能基因<sup>[9-11]</sup>, 并建立了高通量基因分型方法, 为加速遗传改良提供了重要数据和技术支撑。然而, 在表

型组和高通量表型测定方面, 相关研究较为滞后, 在对虾中的表型测定仍然以手工测定为主。

表型组学是对个体表型进行的系统研究, 它涉及生物学、数据科学、工程学和其他领域的跨学科研究<sup>[12]</sup>。在生物学研究中, 获得全面准确的表型数据如健康、疾病等指标对于结果的准确性至关重要<sup>[13]</sup>。表型的多样性由基因型与环境之间复杂的相互作用网络产生, 大量详细的表型数据是解析“基因型-表型”的基础, 因此, 发展高通量、精细化的表型数据获取技术十分必要<sup>[14]</sup>。近年来, 人工智能技术的发展极大提高了研究人员获取表型数据的效率, 而计算机视觉技术在其中起到了重要作用。计算机视觉(Computer vision, CV)技术利用相机和计算机代替人眼对目标进行识别、跟踪和测量等工作, 在水产动物研究领域, 基于手机拍照方法开展了鱼类体长、体重及肥满度的测定研究<sup>[15]</sup>, 该研究中使用的方法测量精度较高, 但是测定黄鳍体长时需要手工标记鱼体中线, 降低了测定的速度。研究人员也探索了水下摄影直接测

收稿日期: 2022-12-15; 修订日期: 2023-01-31

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA24030105)资助 [Supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA24030105)]

作者简介: 鲍镇宁(1997—), 男, 学士; 主要从事对虾分子遗传育种研究。E-mail: baozhenning@qdio.ac.cn

通信作者: 于洋(1987—), 男, 博士; 主要从事对虾分子遗传育种研究。E-mail: yuyang@qdio.ac.cn

量鱼类体长<sup>[16]</sup>的技术,结果显示测量的结果与鱼实际体长存在2 cm以上的平均误差,准确度需要进一步提高。在对虾中,前期报道了通过拍照和对照片上的点进行手工测量获得表型数据的方法<sup>[17]</sup>,但是该方法仍然需要人工标定测量点位置,测定效率较低。前期的自动化测量技术由于精度和效率上的限制,实际生产中大多仍采用较为低效的人工测量方式。

使用计算机视觉技术进行图像识别与个体表型测量时,计算机对于图像信息的理解仍停留在图像像素点的信息上,因此提高计算机识别的准确度关键在于提高计算机对图像识别的精度。近年来快速发展的深度学习技术为实现该目标提供了技术支持,深度学习(Deep Learning)是机器学习(Machine Learning)领域中一个新的研究方向,它能够通过神经网络将文字,图像和声音等数据转化为可以被计算机理解的数字特征。在图像识别领域,深度学习方法能够使计算机识别图像中各个区域的特征,从而更好地理解图片中包含的信息。目前已开发的如卷积神经网络CNN(Convolutional neural networks)、基于区域的卷积神经网络R-CNN(Region-convolutional neural networks)、快速的基于区域的卷积神经网络Fast R-CNN(Fast Region-convolutional neural networks),以及该系列网络继续发展而建立的更快速的基于区域的卷积神经网络Faster R-CNN<sup>[18]</sup>(Faster Region-convolutional neural networks)等深度学习网络结构在图像识别研究中表现出很高的准确率和识别效率。

本研究采用基于区域生成网络RPN(Region Proposal Networks)的Faster R-CNN算法,通过对数千张对虾照片进行学习和训练,构建快速识别对虾并输出位置信息的模型,并以此建立对虾生长性状表型高通量测定技术。研究建立的方法操作简单,测定准确率高,能够实现大量个体的快速测定,为

基于大数据的遗传性状解析和遗传育种提供技术支持。本文建立的模型也可迁移至其他水产生物的表型组测定研究中,为其他研究领域的表型组测定提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 对虾外部表型的获取

标准化的拍摄条件可以使拍摄的图片清晰且一致,降低神经网络结构的复杂度与训练难度。本研究中设定拍摄背景为纯色,且固定相机镜头与拍摄物距离在40 cm,相机像素为2000万。为了便于人工测量长度以验证自动识别的准确率,在拍摄背景中设置标准参照物,本研究的标准参照物为刻度尺。

本研究于2017年、2019年与2020年在渤海水产育种(海南)有限公司开展了不同家系的共同环境养殖测试。不同的家系个体在荧光标记后于同一养殖池中进行性状测试,养殖3个月后进行全长和体重测定,选取部分对虾进行拍照。在2017年共拍照获得420张对虾外部表型照片,用于训练和模型的构建,在2019年和2020也拍摄了俯视视角、侧视视角的对虾照片,用于模型识别效果的测试(图1)。

### 1.2 训练集照片的建立

训练集数据由拍摄的图片和对应的对虾位置信息构成,拍摄照片时尽可能使对虾的形态呈直线状。同时,为了提高神经网络的鲁棒性,在图像中加入刻度尺、水滴等在现场拍摄时易会出现的非对虾物体。相机拍摄图像为彩色高像素图片,为减少神经网络训练的负担,在训练前采用Python的PIL库和opencv库将图像进行压缩和灰度处理,降低神经网络学习的数据量,同时确保关键信息不丢失。本研究采用2017年拍摄的420张对虾照片作为训练集和验证集,以构建预测模型。拍摄的图片有两种类型:第一种为俯视视角拍摄的对虾图片,第二种为侧视视角拍摄的对虾图片。通过压缩后每

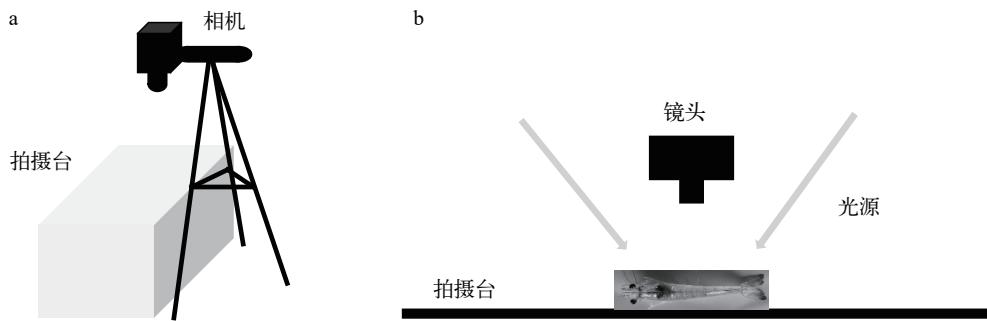


图1 对虾外部表型获取示意图

Fig. 1 Schematic diagram of obtaining the external phenotype of shrimp

a. 对虾外部表型获取设备模式图; b. 拍摄台角度模式图

a. model diagram of equipment for obtaining external phenotypes of shrimp; b. model diagram of the shooting platform

张图片分辨率由 $5472\times3648$ 变更为 $2736\times1824$ , 色彩由彩色变更为灰度图, 图片大小由5 Mb左右降至平均大小500 kb左右。之后利用MATLAB软件的Image labeler软件, 用长方形框选择照片中对虾所在的区域(以下称为‘ground-truth box’), 并提取标注对虾的长方形框四个角的坐标数据, 坐标以图片的左上角为原点, 坚直方向为x轴, 水平方向为y轴(图2)。

标注后提取ground-truth box的四个角的坐标数据。将坐标数据, 标签名称(Label\_name), 对应图片名称, 图片的矩阵数据(图片像素长度、图片像素宽度、图片RGB通道数)等信息输出到“.xml”文件, 实现数据的批量获取。

### 1.3 训练数据集的增强

在实际测量过程中会出现对虾身体弯曲或对虾与照片边框不平行的情况, 因此会影响到识别的准确性。为了提高算法对不同弯曲度和不同方向摆放对虾识别的鲁棒性, 采用将部分图片进行旋转后作为增强数据进行训练, 具体操作如下: 将原有的数据集图片以中心为原点旋转若干角度生成新的图片, 并计算新生成图片中对虾的ground-truth box坐标。在图片旋转后, ground-truth box的四条边仍与图片的边框平行, 旋转后的照片, ground-

truth box的宽度会相应增加(图3)。通过对2017年拍摄的420张对虾照片进行不同角度的旋转以实现数据增强, 共获得8400张数据增强后的照片用于后续的训练。

### 1.4 基于深度学习的数据训练和对虾位置识别模型的建立

本研究中对对虾全长的标注为照片中包含对虾的最小矩形, 因此需要通过Faster R-CNN模型的深度学习建立识别图像中包含对虾的最小矩形的神经网络。通过计算矩形的长宽与对虾长度之间的线性关系来建立“图像-最小矩形-对虾长度”的换算方法, 从而建立对虾全长的测量方法。

Faster R-CNN网络主要包含4个部分: 特征提取层(Conv layers), 用于提取图片的特征信息; 区域生成网络层(Region Proposal Networks), 用于生成建议的目标区域; 目的区域池化层(Roi Pooling), 用于收集上一步生成的特征图和候选框并传输到后续网络; 分类层(Classification), 用于区分候选框的类别并通过二次锚点回归获得更精确的识别框。整体结构和每个部分功能简介(图4)。

#### 使用特征提取层(Conv layers)提取图片特征图

利用前期报道的VGG16模型<sup>[19]</sup>提取原始图像

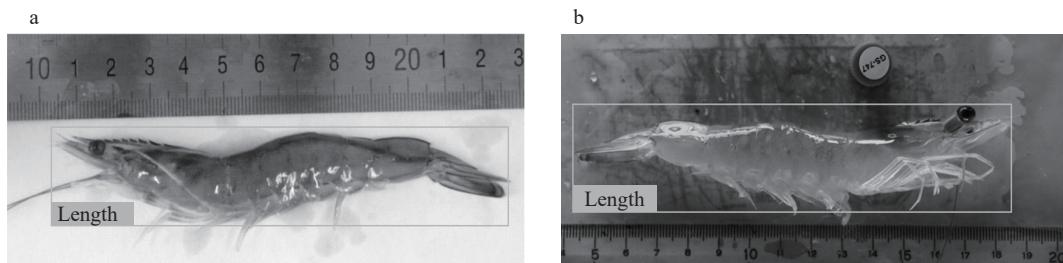


图2 利用MATLAB的Image labeler工具箱为图片标注label的示例

Fig. 2 The example of labeling shrimp in picture by Image labeler toolbox of MATLAB

a. 使用Image labeler工具进行标注示例; b. 对原始训练集图片进行翻转后的照片

a. the original picture labelled using Image labeler tool; b. flipping the original training pictures to increase the number of training sets

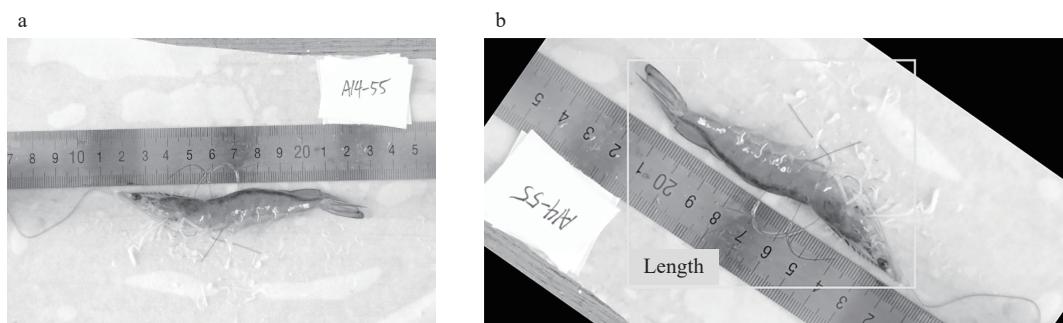


图3 训练集中的图片数据增强效果示意图

Fig. 3 The example of data enhancement in the photo of training data

a. 拍摄的原图像; b. 经旋转后的图片及ground-truth box示意图

a. the original photo; b. the rotated photo and the example of ground-truth box

的特征图。该模型共有13个卷积(Conv)层, 13个relu层, 4个池化(Pooling)层。其中卷积层核(Kernel\_size)设置为3且步长(Stride)为1, 在进行卷积的过程中进行扩边处理(Pad=1), 保证图像经过卷积后大小不变; 池化层核(Kernel\_size)和步长(Stride)均为2, 即经过每次池化的M×N矩阵会变为(M/2)×(N/2)大小。因此, 每张大小为M×N的图片经过特征提取层会生成大小为(M/16)×(N/16)并能够与原图相对应的特征图。

**使用区域生成网络层Region Proposal Networks (RPN) 生成候选框** 为了更精准地识别对虾图像区域, 研究采用区域生成网络(RPN)生成候选框, 主要包括以下几步:

(1)生成锚点(Anchor): 将任意大小输入的图片变形成800×600的大小, 并遍历通过特征提取层获得的特征图, 为每一个点都配备如图5所示的9种锚点作为初始的检测框。

(2)softmax函数判断锚点的属性: 给予每个锚点一个二进制的值。当一个锚点与制作的数据集中人工标记的区域重叠率(IoU)最高或者高于0.85时, 则其为正锚点(Positive anchor), 对其分配正标签; 如果重叠率低于0.3, 则其为负锚点(Negative anchor), 并分配负标签。除此之外, 非正非负的锚点对训练不产生影响。

(3)锚点回归: 由上述过程生成的锚点即便IoU较高也可能不准确, 因此需要通过锚点回归进行修正, 锚点回归的目的是使生成的锚点逐渐趋近人工标记的区域。给定锚点向量 $A$ 以及人工标记的区域向量 $GT$ 为 $A = (A_x, A_y, A_w, A_h)$ 及 $GT = (G_x, G_y, G_w, G_h)$ , 那么锚点回归就是寻找一种变换, 使

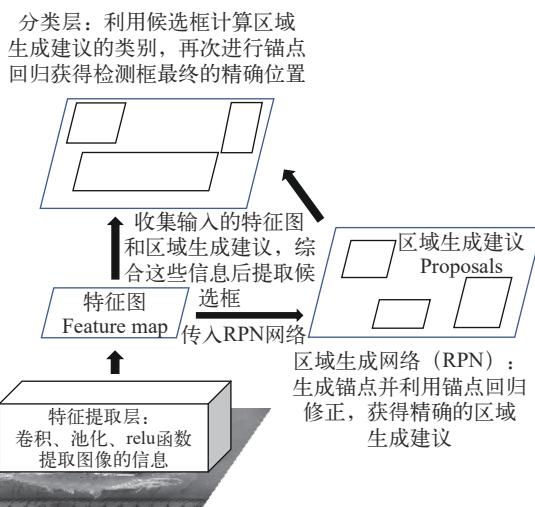


图4 Faster R-CNN网络结构图

Fig. 4 Network structure of Faster R-CNN

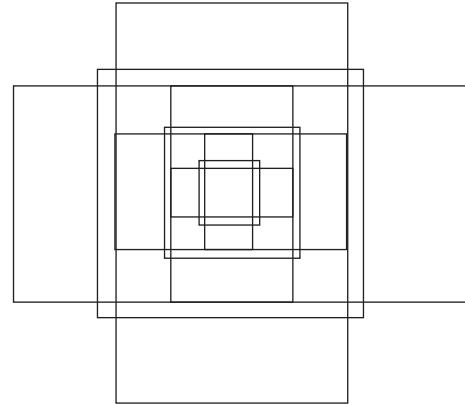


图5 锚点(anchor)示意图

Fig. 5 Schematic diagram of anchor

9个矩形共有3种形状, 长宽比为大约为{1:1, 1:2, 2:1}3种, 基本可以覆盖800×600的各个尺度和形状

There are 3 shapes of 9 rectangles, the aspect ratio is about {1:1, 1:2, 2:1}, which can basically cover all scales and shapes of 800×600

得:  $F(A_x, A_y, A_w, A_h) = (G_x', G_y', G_w', G_h')$ 。其中  $(G_x', G_y', G_w', G_h') \approx (G_x, G_y, G_w, G_h)$ 。

当输入的锚点与人工标记的区域相差较小时, 可以认为从锚点到人工标记的区域的变换是一种先在 $x, y$ 轴进行一定的平移后对锚点的长宽进行缩放的线性变换。即:

$$G_x' = A_w \cdot d_x(A) + A_x$$

$$G_w' = A_w \cdot \exp(d_w(A))$$

$$G_y' = A_h \cdot d_y(A) + A_y$$

$$G_h' = A_h \cdot \exp(d_h(A))$$

需要学习的为 $d_x(A)$ 、 $d_y(A)$ 、 $d_w(A)$ 和 $d_h(A)$ 这4个向量。

根据线性模型 $Y = WX$ , 把对应锚点的特征图组成的特征向量作为输入 $X$ , 所进行的变换作为参数 $W$ , 变换后的结果作为 $Y$ , 则可以得到:  $d_*(A) = W_*^T \cdot \phi(A)$

相对应的损失函数计算方式为:  $Loss = \sum_i |t_*^i - W_*^T \cdot \phi(A^i)|$

函数优化目标为:  $\hat{W}_* = \arg \min_{W_*} \sum_i |t_*^i - W_*^T \cdot \phi(A^i)| + \lambda \|W_*\|$

#### (4)区域建议层生成候选框:

按照上述步骤, 一个像素大小为800×600的图像将获得 $(800/16) \times (600/16) \times 9 \approx 17000$ 个的锚点, 这个数量较大, 且在这些锚点中负锚点占多数, 远大于训练所需数量。因此训练时只需选择其中256个锚点(正负锚点比例维持在1:1; 若正锚点数量不足

128, 再选择负锚点代替)进行后续的训练。

使用softmax函数对各个经锚点回归修正后的锚点进行打分, 提取得分高的锚点, 并去掉尺寸过于小和结果过于接近的锚点, 将筛选出的正锚点以及其回归的数据输出到目的区域池化层, 综合所有筛选后的锚点向量及其变换信息。

**通过目的区域池化层与分类层输出最终的识别框** 由于输入的图片在一开始经过了一次形变, 因此按照上述步骤输出的候选框大概率与被检测物体的真实比例不同。因此需要使用目的区域池化层将锚点缩放成正常尺寸, 并将前两步所得的特征图和对应候选框进行缩放, 输入至下一层判定目标类别, 从而获得检测框最终精确的位置信息。最后在分类层通过softmax函数计算每个候选框的类别和对应的概率, 并再次利用锚点回归的方式计算并输出最终的识别框。

### 1.5 对虾表型自动识别测试

测试的对虾照片为2019年12月和2020年8月在渤海水产育种(海南)有限公司拍摄的对虾表型图片, 拍摄的设备和方式与训练集和验证集照片一致。本次测试的图片有两种类型: 第一种为俯视视角拍摄的对虾图片, 第二种为侧视视角拍摄的对虾图片。

使用构建的对虾表型识别神经网络识别新拍摄对虾表型图像, 并输出长方形识别框的坐标。在俯视视角拍摄的对虾图片中, 对虾身体姿态较直, 因此识别框的长度与对虾的长度成比例关系。在侧视视角拍摄的对虾图片中, 在对虾身体姿态较为直的情况下, 识别框的长度依然与对虾的长度成比例。然而, 在侧视视角拍摄的照片中会遇到对虾身体弯曲的情况, 针对此照片需要对弯曲数据进行处理后获得准确结果。

### 1.6 对虾表型数据计算方法的建立和相关性分析

训练数据和测试数据均使用Adobe Photoshop软件中的标尺工具手工测量对虾的全长, 对虾的全长为额剑到尾尖的长度。如果对虾的身体姿态较为弯曲, 则采用分别测量头胸部长度、腹部长度及尾部长度后相加的方法获得全长。

将手工测量的数据与自动识别获得的识别框长度进行回归分析, 确立二者之间的关系, 并使用该关系式验证新的测试图片, 利用皮尔森相关系数计算手工测量值与自动识别结果的相关性。

## 2 结果

### 2.1 对虾俯视视角图片训练数据自动识别结果分析

手工标定的俯视视角拍摄的照片共210张, 从中随机取40张俯视视角拍摄的原始对虾图片作为

验证集, 将剩余的170张照片进行翻转和旋转形成上千张的增强数据作为训练集进行训练, 建立了俯视视角的自动识别模型。训练数据自动识别结果显示识别框与对虾所在区域基本重合。

使用40张2019拍摄的对虾俯视视角照片进行模型的测试, 测试结果如图6所示, 识别框基本包含了对虾所在区域。识别框长度与人工测量的对虾长度相关性为0.976(图7)。

将机器识别像素长度与人工测量长度数据进行回归分析, 得到回归方程为:

$$y = 0.901x + 127.66$$

式中,  $y$ 为人工测量对虾全长,  $x$ 为识别框长度。

### 2.2 对虾侧视视角图片训练数据自动识别结果

手工标定的侧视视角照片共210张。从中随机

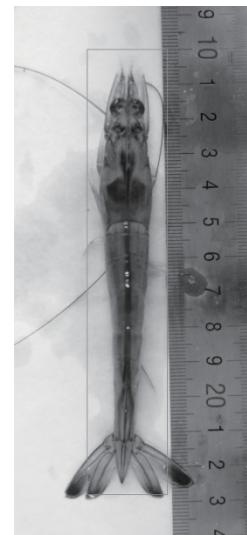


图6 俯视视角对虾全长表型自动识别结果示意图

Fig. 6 The results of automatic phenotype recognition of shrimps from vertical view and the correlation with manual measurement

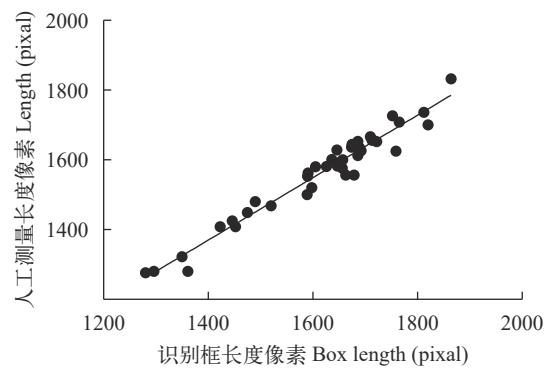


图7 测试集图像识别框像素长度与用人工测量的对虾长度之间的线性关系图

Fig. 7 Linear relationship plot between the pixel length of the recognition frame of the test set image and the length of the shrimp measured manually

取100张侧视视角拍摄的原始对虾图片作为验证集, 将剩余的110张照片进行翻转和旋转形成的上千张的增强数据作为训练集进行训练, 建立了侧视视角的自动识别模型。训练数据自动识别结果显示识别框与对虾所在区域基本重合。

在侧视视角的测试数据中, 对虾身体呈不同程度的弯曲, 对于弯曲程度较小的照片, 识别框长度与全长的相关性高。对于弯曲程度较大的样品, 其识别框长度与对虾全长相关性减弱。进一步分析发现, 由于对虾的身体姿态不同, 在神经网络产生识别框时会有不同的长宽比。将识别框的对角线长与长之比定义为 $K$ 值, 根据神经网络的设计, 识别框的产生是基于趋近包含对虾的最小矩形框这一目标, 因此 $K$ 值的大小可以代表对虾的弯曲或倾斜程度。将每张照片的 $K$ 值与照片中对虾倾斜程度进行比对后发现,  $K$ 值小于1.04的图片对虾呈直线状态, 使用识别框的长度与对虾长度之间的比例计算

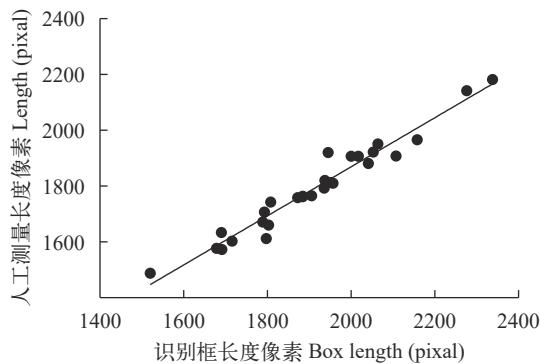


图8 侧视视角中 $K$ 值小于1.04图片识别框长度与手工测定长度的线性关系

Fig. 8 Linear relationship between the automatically measured box length and the manually measured length for lateral view pictures with  $K$  value less than 1.04

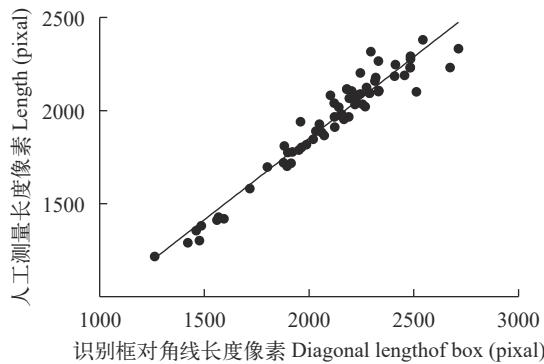


图9 侧视视角中 $K$ 值大于1.04图片识别框对角线长度与手工测定长度的线性关系

Fig. 9 Linear relationship between the automatically measured box diagonal length and the manually measured length for lateral view pictures with  $K$  value more than 1.04

(图8)。 $K$ 值大于1.04的照片中对虾身体姿态绝大多数都是弯曲或者倾斜的, 则使用识别框的对角线长度与对虾长度的比例计算(图9), 过于弯曲或倾斜的对虾照片( $K>1.3$ )不进行分析。

对于机器识别像素长度与人工测量长度的关系, 将数据根据 $K$ 值分为两组后分别进行回归分析, 得到回归方程为:

(1) $K<1.04$ 时:

$$y = 0.879x + 110.45$$

式中,  $y$ 为人工测量的对虾长度,  $x$ 为识别框长度。

(2) $K>1.04$ 时:

$$y = 0.875x + 101.85$$

式中,  $y$ 为人工测量的对虾长度,  $x$ 为识别框对角线长度。

从回归结果来看, 以 $K=1.04$ 为分界线, 识别框的长度和对角线长度分别与人工测量的对虾长度呈高度正相关。该结果表明使用上述分类计算法测量对虾长度具有一定可行性。

### 2.3 预测数据的结果分析

俯视数据的预测模型为上一步得到的回归公式。随机取2019年12月和2020年8月在渤海水产育种(海南)有限公司拍摄的100张俯视视角照片进行自动识别和预测分析, 预测数据的分布和手工测定数据的分布如下图所示(图10), 经皮尔森相关性检验结果显示相关系数为0.965。

侧视数据的预测模型为上一步得到的回归公式随机取2019年12月和2020年8月在渤海水产育种(海南)有限公司拍摄的100张侧视视角照片进行自动识别和预测分析, 其中 $K<1.04$ 的照片32张, 预测相关性系数为0.974(图11),  $K$ 值 $>1.04$ 的照片68张, 相关系数为0.967(图12)。线性回归结果显示二者之间的回归系数均较高, 因此该分类计算方式具有一定的可行性。

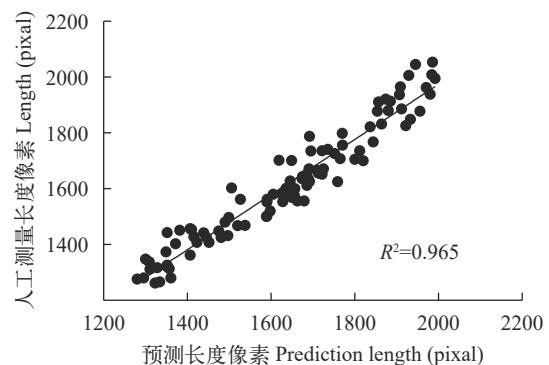


图10 自动识别数据和手工测定数据的线性关系图

Fig. 10 Linear relationship between automatically measured data and manually measured data

### 3 讨论

解析生物体“基因型-表型”关系是阐明性状遗传机制和开展分子育种的基础<sup>[20]</sup>,相较于基因分型技术的快速发展,表型组获取技术发展相对滞后。在农业研究领域,表型组技术研究主要集中在畜牧和作物,其中包括对动物的外部表型、心率及植物的叶绿素、分蘖数等多个指标的测量<sup>[21, 22]</sup>,在水稻中依据特征点选取法开展了株型指标的计算机辅助测量<sup>[23]</sup>,并基于图像滤波技术进行了水稻谷粒数量的自动化测量<sup>[24]</sup>。此外,在小麦中也有基于数字图像的小麦群体整齐度测量方法研究和基于群体图像的田间麦穗计数及产量预测方法的相关报道<sup>[25, 26]</sup>。尽管畜禽和作物上的表型测定方法可以给水产动物的表型组研究提供借鉴和指导,但是水产动物生境和性状的特殊性使得其表型测定的难度更大。水产动物在水下活动,水下测定对测量设备的防水

性能要求高,并且要避免其他干扰物的影响,水产动物尤其是鱼类和虾类的游动能力强,活体测定的难度大,离水测定时,需要注意水产动物的状态,避免应激引起动物的死亡。

近年来,水产动物的表型自动化测定研究引起了科研人员的重视,利用计算机视觉自动进行表型组测定解决了上述获取水产动物表型组时的技术难点,且操作较为简便,符合一线育种工作的需求。但是在实际应用过程中难以兼具高通量与高精度,且测量一种表型的技术很难迁移到其他表型中。如利用鱼体中线测量鱼类长度技术的实质是将人工测量鱼体长度转化为计算机识别人工标记的鱼体中线后自动测量,虽然将测量的步骤自动化,但是无法省去每次测量时人工标记鱼体中线的工作。因此自动化识别目标并自动输出测定结果,对于提高测定通量至关重要。

在图像识别领域,深度学习的方法可以让计算机学习到图像中各个区域所具有的特征,从而更好地理解图片中包含的信息。目前已开发的如R-CNN, Fast R-CNN等深度学习网络结构在图像识别工作中表现出了很高的准确率,但是这些方法在寻找目的位置时会由于图片较大而花费较长的遍历时间。而Faster R-CNN的方法引入了区域生成网络,通过生成锚点并进行锚点回归的方法取代在图片上遍历寻找目标区域的方法,尽可能地缩短训练时间,提高了识别效率。

本文根据对虾育种测定的需求,研发了基于Faster R-CNN的对虾生长性状表型高通量测定技术,该技术充分考虑了效率、准确度与可迁移性三个关键技术特点。在效率方面,训练完成后的神经网络可对标准化拍摄的对虾照片进行快速识别,并输出识别框的长度和宽度,进一步根据识别框对角线长度和长度的比 $K$ 值自动化输出对虾长度,省去了人工添加测量标记的时间,提高了测量效率。在准确度方面,本文建立的神经网络模型通过对数千张训练集照片进行学习,能够较为准确地提取照片中所包含的对虾信息特征,对于相似的照片也能够准确识别。对于测试集照片,神经网络的自动测量数据与人工测量数据之间具有高度相关性( $R^2 > 0.95$ )。使用建立的模型进行应用时,其同样准确识别出图片中对虾的位置,测定结果与人工测定结果同样具有高度相关性( $R^2 > 0.95$ )。

在可迁移性方面,本研究中对虾的长度均由输出的识别框的信息换算而成,但识别框中可包含的信息不仅限于对虾全长。本研究在制作训练集时人工标记的区域是包含对虾所在区域的最小矩形,

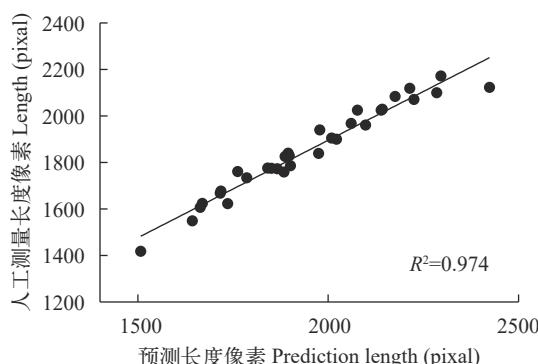


图 11 侧视视角 $K$ 值小于1.04的图像预测长度和手工测定数据的线性关系图

Fig. 11 Linear relationship between prediction length and manually measured data of the image with  $K$  value less than 1.04 in the side view

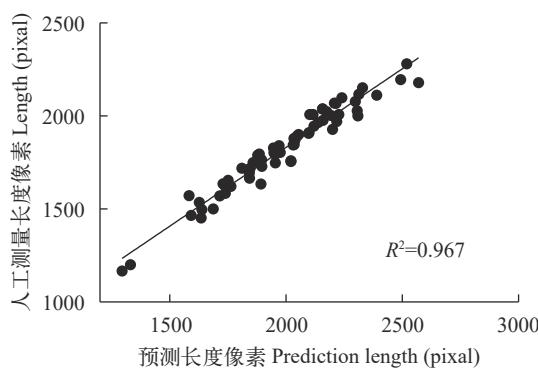


图 12 侧视视角 $K$ 值大于1.04的图像预测长度与人工测量长度之间的线性关系图

Fig. 12 Linear relationship between prediction length and manually measured data of the image with  $K$  value more than 1.04 in the side view

因此输出的是对虾全长数据。我们还可根据测量的需求来调整训练集中ground-truth box所代表的区域。例如,需要测量对虾的头胸部长度时可以将包含对虾头胸部的最小矩形作为ground-truth box。

本文所使用的神经网络结构在获取对虾生长性状表型具有较高的准确率,但是在研究中我们也发现极少数测定结果与真实值相差较大( $>0.5$  cm)。通过分析计算长度与人工测量长度误差较大的图片发现,该误差是部分图片的识别框大小比实际对虾大小差异大导致。该部分错误可能是由于人工制作训练集时ground-truth box未能完全贴合包含对虾所在区域的最小矩形导致,也有可能是训练集中ground-truth box包含刻度尺等物体可能影响神经网络学习结果。针对该问题,需要不断丰富训练集的数据量,使用更多的照片进行神经网络构建,逐步完善神经网络,从而进一步提高测定的准确率。

#### 4 结论

本研究利用快速拍照和计算机自动识别技术,建立了基于Faster R-CNN的对虾生长性状高通量测定技术,并在育种测试数据中进行了应用。本研究建立的技术具有测定速度快,准确率高的特点,有效解决了对虾表型测定耗时长,难以实现高通量的问题,也减少了人工测定对对虾带来的损伤,对提高对虾遗传育种通量具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Chen W H, Ning L. Summary of present situation and relative research of Chinese shrimp industry [J]. *Fisheries Economy Research*, 2008(2): 21-27. [陈文汉, 宁凌. 中国对虾产业现状及相关研究综述 [J]. 渔业经济研究, 2008(2): 21-27.]
- [2] Xu P, Zhang X F, Wang X M, et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio* [J]. *Nature Genetics*, 2014, **46**(11): 1212-1219.
- [3] Wang Y P, Lu Y, Zhang Y, et al. The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation [J]. *Nature Genetics*, 2015, **47**(6): 625-631.
- [4] Wang S, Zhang J B, Jiao W Q, et al. Scallop genome provides insights into evolution of bilaterian karyotype and development [J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2017(1): 120.
- [5] Li Y L, Sun X Q, Hu X L, et al. Scallop genome reveals molecular adaptations to semi-sessile life and neurotoxins [J]. *Nature Communications*, 2017(8): 1721.
- [6] Gong G R, Dan C, Xiao S J, et al. Chromosomal-level assembly of yellow catfish genome using third-generation DNA sequencing and Hi-C analysis [J]. *GigaScience*, 2018, **7**(11): 120.
- [7] Zhang X J, Yuan J B, Sun Y M, et al. Penaeid shrimp genome provides insights into benthic adaptation and frequent molting [J]. *Nature Communications*, 2019(10): 356-369.
- [8] Zhang X J, Zhou L, Gui J F. Biotechnological innovation in genetic breeding and sustainable green development in Chinese aquaculture [J]. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2019, **49**(11): 1409-1429. [张晓娟, 周莉, 桂建芳. 遗传育种生物技术创新与水产养殖绿色发展 [J]. 中国科学: 生命科学, 2019, **49**(11): 1409-1429.]
- [9] Yu Y, Wang Q C, Zhang Q, et al. Genome scan for genomic regions and genes associated with growth trait in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Marine Biotechnology*, 2019, **21**(3): 374-383.
- [10] Zhang G S, Li J, Zhang J J, et al. A high-density SNP-based genetic map and several economic traits-related loci in *Pelteobagrus vachelli* [J]. *BMC Genomics*, 2020, **21**(1): 700.
- [11] Zhang Q, Yu Y, Wang Q C, et al. Identification of single nucleotide polymorphisms related to the resistance against acute hepatopancreatic necrosis disease in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* by target sequencing approach [J]. *Frontiers in Genetics*, 2019(10): 700.
- [12] Bilder R M, Sabb F W, Cannon T D, et al. Phenomics: the systematic study of phenotypes on a genome-wide scale [J]. *Neuroscience*, 2009, **164**(1): 30-42.
- [13] Burton P R, Hansell A L, Fortier I, et al. Size matters: just how big is BIG? Quantifying realistic sample size requirements for human genome epidemiology [J]. *International Journal of Epidemiology*, 2009, **38**(1): 263-273.
- [14] Houle D, Govindaraju D R, Omholt S. Phenomics: the next challenge [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2010, **11**(12): 855-866.
- [15] Chen B S, Sun Y Z, Hu J, et al. Body length, weight and condition factor measurements for fish using android smartphone [J]. *Fishery Modernization*, 2013, **40**(5): 58-63. [陈柏松, 孙英泽, 胡婧, 等. 基于安卓智能手机的鱼类长、体重及肥满度的测定研究 [J]. 渔业现代化, 2013, **40**(5): 58-63.]
- [16] Wang Z Y, Zhang G S, Bao L, et al. Feasibility of measurement of fish body length using underwater photogrammetry [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, **33**(2): 251-257. [王振宇, 张国胜, 包林, 等. 利用水下摄影测量技术测量鱼类体长的可行性研究 [J]. 大连海洋大学学报, 2018, **33**(2): 251-257.]
- [17] Zhang Q, Wang Q C, Yu Y, et al. Correlation of morphometric attributes to net weight and fillet yield of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, **49**(3): 9-661. [张倩, 王全超, 于洋, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)形态性状与净肉重和出肉率的关系 [J]. 海洋与湖沼, 2018, **49**(3): 9-661.]
- [18] Ren S, He K, Girshick R, et al. Faster R-CNN: Towards Real-time Object Detection with Region Proposal Networks [C]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. June 6, 2016, IEEE, 2016: 1137-1149.

- [19] Simonyan K, Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition [EB/OL]. 2014: arXiv: 1409.1556. <https://arxiv.org/abs/1409.1556>
- [20] Zhou J, Tardieu F, Pridmore T, et al. Plant phenomics: history, present status and challenges [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2018, **41**(4): 580-588. [周济, Tardieu F, Pridmore T, 等. 植物表型组学: 发展、现状与挑战 [J]. 南京农业大学学报, 2018, **41**(4): 580-588.]
- [21] Cole J B, Eaglen S A E, Maltecca C, et al. The future of phenomics in dairy cattle breeding [J]. *Animal Frontiers*, 2020, **10**(2): 37-44.
- [22] Furbank R T, von Caemmerer S, Sheehy J, et al. C<sub>4</sub> rice: a challenge for plant phenomics [J]. *Functional Plant Biology*, 2009, **36**(11): 845-856.
- [23] Meng J, Chen W F. Computer aided rice plant type measurement [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2006, **34**(7): 1313-1314. [孟军, 陈温福. 计算机辅助水稻株型指标测量方法研究 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(7): 1313-1314.]
- [24] Hua S, Xu Z F. Digital measurement method of rice grain based on image filtering technology [J]. *Hans Journal of Agricultural Sciences*, 2018, **8**(11): 1299-1306. [华珊, 徐志福. 基于图像滤波技术的水稻谷粒数字化测量方法 [J]. 农业科学, 2018, **8**(11): 1299-1306.]
- [25] Shan C G, Liao S H, Liu B, et al. Study of measurement method of population uniformity of wheat based on digital image [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2008, **28**(5): 819-823. [单成钢, 廖树华, 刘宾, 等. 基于数字图像的小麦群体整齐度测量方法研究 [J]. 麦类作物学报, 2008, **28**(5): 819-823.]
- [26] Li Y N, Du S W, Yao M, et al. Method for wheatear counting and yield predicting based on image of wheatear population in field [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018, **34**(21): 185-194. [李毅念, 杜世伟, 姚敏, 等. 基于小麦群体图像的田间麦穗计数及产量预测方法 [J]. 农业工程学报, 2018, **34**(21): 185-194.]

## THE ESTABLISHMENT AND APPLICATION OF A FAST PHENOTYPIC DETERMINATION TECHNIQUE BASED ON FASTER R-CNN FOR GROWTH TRAITS IN SHRIMP

BAO Zhen-Ning<sup>1,2</sup>, YU Yang<sup>1</sup> and LI FU-Hua<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** High-throughput genotyping and phenotyping are the key techniques for efficient and precise breeding. Compared with genotyping technology, the development of high-throughput phenotyping is relatively slower. In breeding of aquatic animals, especially for shrimp, the phenotypic data of the external growth traits are mainly obtained by manual measurement, which needs high labor intensity with low efficiency. In recent years, the rapid development of deep learning has provided technical support for high-throughput phenotyping. In order to improve the efficiency of obtaining phenotypic data of external growth traits of shrimp, we applied a Faster R-CNN (Faster Region-convolutional neural networks) model based on Region Proposal Networks (RPN) to automatically identify the body length of shrimp. Based on the training to 8400 shrimp photos, the model could rapidly identify and output location information of shrimp, and the total lengths of shrimp were accurately measured. For the shrimp photos taken in vertical view, the length of the recognition frame was highly correlated with the manually measured full length of the shrimp. For the photos taken in side view, some individuals of shrimp were in bent shape which will affect the correlations. We found that the ratio of the diagonal length of the recognition frame to the length (K value) could represent the degree of bending of the shrimp. Further analysis illustrated that the shrimp is straight in the picture and the length of the recognition frame is highly correlated with the full length of the shrimp when the K is less than 1.04. However, most of the shrimp in the photo is bent, and the diagonal length of the recognition frame is highly correlated with the full length of the shrimp, when the K is greater than 1.04. Consequently, we established a high-throughput technique to determine the full-length of shrimp. The establishment of this technique can save time in comparison to manual measurements on the shrimp phenotype and improve the efficiency of genomic selection breeding of shrimp. In addition, the establishment of this model also provides a new idea for the determination on the other external phenotypic data of shrimp, such as cephalothorax length and body segment lengths in shrimp, and lays an important foundation for the establishment of phenomics data in shrimp.

**Key words:** Phenotype; Computer vision; Deep learning; Shrimp