



基于深度学习的微藻自动检测系统研究*

向睿捷^{1)**} 刘浩^{1)**} 路珍²⁾ 肖泽宇¹⁾ 刘海鹏¹⁾ 王寅初^{2,3)} 彭晓^{1)***} 严伟^{1)***}⁽¹⁾ 深圳大学物理与光电工程学院, 深圳市光子学与生物光子学重点实验室, 光电子器件与系统教育部/广东省重点实验室, 深圳 518060;⁽²⁾ 中国科学院烟台海岸带研究所, 烟台 264003; ⁽³⁾ 国家基础学科公共科学数据中心, 北京 100190)

摘要 **目的** 微藻养殖产业规模巨大, 在养殖过程中微藻易受杂菌和其他污染物的影响, 因此需要定期对微藻进行检测, 以确定其生长情况。现有的光学显微成像法和光谱分析法对实验人员、实验设备及场地的要求较高, 无法做到实时快速检测。为了实现实时快速检测, 需要一套检测要求低、速度快的实时微藻检测系统。**方法** 本文开发了一种基于深度学习的微藻检测系统, 通过搭建一套基于明场成像的显微成像设备, 使用采集的图像训练基于YOLOv3的神经网络, 并将训练好的神经网络部署到微型计算机, 从而实现了实时便携微藻检测。本文对特征提取网络进行改进, 包括引入跨区域残差连接机制和注意力选择机制, 另外还将优化器改为Adam优化器, 使用多阶段多方法组合策略。**结果** 加载跨区域残差连接机制时最高平均精度(mAP)值为0.92。通过与人工结果进行对比, 得到检测误差为2.47%。**结论** 该系统能够实现微藻实时便携检测, 提供较为准确的检测结果, 可以应用于微藻养殖中的定期检测。

关键词 微藻检测术, 明场显微术, 深度学习, 目标识别**中图分类号** TH742, TP183**DOI:** 10.16476/j.pibb.2022.0629

微藻是一类单细胞原生生物, 在多种水生环境中广泛分布^[1]。微藻的种类非常多, 其生长速度快, 数量巨大, 光合作用效率和单位面积产量均较高^[2], 可以反复再生。微藻含有大量不饱和脂肪酸、多糖、维生素等营养物质^[3]。微藻在自然环境中扮演重要的生产者角色, 为多种水生动物提供物质和能量来源。同时, 微藻作为重要的原材料, 在多个领域中发挥重要作用: 微藻富含蛋白质和维生素等物质, 可以用于制成食品、营养品、饲料^[4]及多种重要药物^[5]; 微藻的脂质含量高, 可以用于制造生物柴油^[6]; 通过发酵可产生醇类^[7]及氢气^[8], 减少因化石燃料带来的环境污染; 微藻对水中碳、氮、磷等常见元素具有良好的降解能力^[9], 也对重金属、微塑料等污染物有吸附处理的能力^[10-11], 可以用于废水处理; 用于废水处理后的微藻还可以用于生物燃料及一些营养素的制备^[12], 使微藻得到充分利用。

微藻在国内外都有大规模养殖, 市场规模不断扩大。目前中国是世界上最大的微藻生产国, 年产量超过10 000吨干重, 产值达到20亿美元^[13]。在

中国, 微藻产业布局广泛, 规模巨大, 应用丰富, 而微藻养殖是产业中重要的一环。养殖过程中, 微藻可能会受到杂菌入侵或异藻污染, 影响微藻的生长情况, 进而影响各种产物的纯度和质量。此外, 微藻养殖环境需要进行合理布置, 否则微藻会死亡或过度生长, 影响微藻养殖。因此, 需要实时对微藻的生长情况进行检测。通过定期提取养殖水样进行检测, 可以获取包括数量、种类在内的一系列信息, 以及及时调整养殖环境的各项条件, 做出相应应对措施。

传统微藻检测方法通过光学显微成像或光谱分

* 国家重点基础研究发展计划(2021YFF0502900), 国家自然科学基金(61975127, 31771584, 61835009, 42206144), 广东省高等学校科技创新(重点)项目(2021ZDZX2013), 广东省基础与应用基础研究项目(2022A1515011954, 2022A1515011845)和深圳市科技研究项目(JCYJ20220531102807017)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

彭晓 Tel: 0755-26903761, E-mail: pengxiao_px@szu.edu.cn

严伟 Tel: 0755-26903761, E-mail: weiyang@szu.edu.cn

收稿日期: 2022-12-30, 接受日期: 2023-04-14

析的方法进行检测。这些方法存在对人员、设备、时间等要求较高,难以实现实时实地对藻类进行检测。近年来,已经出现基于结合机器学习和深度学习的计算机视觉方法对微藻进行检测的方法^[14],如结合支持向量机、随机森林、人工神经网络^[15]、卷积神经网络^[16]等模型对采集到的微藻图像进行处理,对微藻进行识别与分类的方法。采用这些方法得到的效果较好,但对硬件水平要求较高,占用数据存储空间较大,难以在便携式设备上实现。本文搭建了一套便携式光学显微系统,开发了基于YOLOv3算法的卷积神经网络,将其部署到微型计算机上,实现了实时便携微藻检测。在YOLOv3算法的基础上,本文分别作了以下改进:a.引入跨区域残差连接机制,它将残差层处理前后的图像进行张量相加处理,提高神经网络对图像的处理能力;b.引入注意力选择机制,根据特征图的重要性调整权重,提高了神经网络对特征的提取能力和学习能力;c.引入加载跨区域残差连接机制提高了神经网络的处理能力,在此基础上,本文将原有优化器改为Adam优化器,通过结合历史梯度的变化结果和优化梯度下降过程,在加快收敛过程和增强学习能力等方面取得了良好的效果。

1 微藻光学检测方法

对微藻进行图像数据采集通常采集其形态信息或光谱信息。基于此,微藻的光学检测方法可以分为两类:光学显微成像法和光谱分析法。近年来,随着计算机技术的发展,逐渐出现了结合计算机视觉和深度学习技术的新型微藻检测方法。

1.1 传统光学检测方法

1.1.1 光学显微成像

光学显微成像是生物和医学领域常用的成像工具^[17-18],其在微藻领域也有广泛的应用。光学显微成像又分为明场显微成像、暗场显微成像、相衬成像、微分干涉成像、荧光显微成像等。明场显微成像使用白光光源均匀照明样品,使用物镜对物体进行成像;暗场显微成像在明场显微成像的基础上引入了一个环形光阑,有效滤除了背景光对图像信息的干扰,提高了成像质量;相衬成像在暗场显微成像的基础上,在光路中引入了一个相位片,将样品的相位信息转化为可以被观察到的振幅信息;微分干涉成像在暗场成像的基础上,将光源改为线偏振光,并在光路中引入两块沃拉斯顿棱镜以将偏振光分为两束,将样品从背景中区分出来;荧光显微成

像激发微藻本身的内源色素产生荧光,或使用荧光分子标记,激发荧光,实现对微藻样品的观察。

目前,国际上认可的标准检测方法是光学显微成像方法^[19]。但该方法有两个缺点:一是对实验人员有很高的要求,需要其具有高水平专业知识和大量工作经验,以保证检测与分类的准确率;二是该方法的效率低下,需要耗费大量时间进行检测分类。此外,荧光显微成像尤其需要复杂的实验仪器和高条件的实验场地,这使得荧光显微成像的实验条件和实验成本需求很高,不利于进行实时实地的微藻检测分类。

1.1.2 光谱分析

光谱分析即对微藻中含有的某些色素的光谱进行分析,从而对微藻进行检测的方法。测量的光谱可以是吸收光谱也可以是荧光光谱。

对于吸收光谱,当光通过微藻液时,微藻色素会对不同波长的光有不同程度的吸收。通过测量吸收光谱,并对光谱数据进行分析,可以分析微藻液中微藻的种类、浓度等信息^[20]。吸收光谱与不同色素对不同波长光的摩尔吸光比、微藻浓度等变量都有关系,可以通过对光谱数据进行一定计算,得出吸收光谱与这些变量的关系,从而获得想要的信息^[21]。对于荧光光谱,可以通过提取样品中的色素后激发荧光^[22],也可以原位激发荧光^[23],然后对其光谱进行计算分析。

与光学显微成像相比,光谱分析的方法检测速度较快,但检测精度较低,对高浓度和杂藻掺杂的样品测量效果不佳,且光谱分析的方法对实验条件要求较高,因此不利于进行实时高通量检测,同时,该方法需要标准的光谱数据作为对比,若样品受到污染,检测精度将大大降低,若使用提取色素再激发荧光的光谱分析方法,处理过程复杂,处理时间漫长,无法做到实时高效微藻检测。

1.2 结合计算机视觉进行微藻检测

随着计算机技术的蓬勃发展,计算机视觉在多个领域得到广泛应用。计算机视觉处理图像速度快,在图像检测与目标识别等方面具有一定优势。传统的计算机视觉包括图像处理、特征提取与模型匹配算法、立体视觉等部分,通过引入机器学习技术,可以进一步提高计算机视觉处理图像的效率 and 准确率,可以完成更加复杂的任务。机器学习将提取出的图像特征输入神经网络模型进行,得到输出的目标检测数据。早期对微藻进行检测与分类仅通过处理图像并提取特征,使用简单的机器学习模型

进行训练,在特征和目标之间建立映射关系的方法实现^[24-25]。然而,这种方法具有一定的局限性。例如,提取的特征仅有轮廓形状、以灰度值分布表示的纹理等,训练效果不佳。因此,研究人员又提出了结合机器学习,对图像数据直接提取特征并建立映射的微藻检测方法。最初对图像进行傅里叶变换并提取特征向量并将其传入神经网络进行训练^[26],之后又出现了使用支持向量机的主动学习模型^[27]、结合混合特征向量^[28]、语义特征提取^[29]和支持向量机的分类模型与无监督分类模型^[30]等多种分类方法。机器学习需要对特征进行提取,仍需要进行图像分割、特征提取等多个复杂步骤。机器学习对图像数据图像的特征数据要求很高,泛化能力较差,且图像数据需要研究人员手动标注。因此,机器学习的应用仍然有一定的局限性。

1.3 基于深度学习的目标检测方法

近年比较热门的深度学习技术避免了机器学习的多个问题,因此结合深度学习对微藻进行检测分类的方法有广阔的应用前景。深度学习本质上也是一种机器学习的方法,但与机器学习不同的是,它将特征提取交给神经网络模型进行,避免了复杂的特征提取工作,应用范围更加广泛。深度学习引入了卷积神经网络(convolutional neural network, CNN),通过训练不断调整特征提取网络的参数,可以得到最适合的检测模型,收获比机器学习更好的效果^[31]。深度学习是近年来的热点研究方向,基于Mask-RCNN^[32]、Alex-Net^[33]等模型的微藻检测方法都有较高的准确率。目前深度学习在微藻检测方面的应用局限于单一藻类的检测,而对于多种藻类的检测分类的研究较少。因此,本论文将深度学习应用于多种藻类的检测分类。

2 神经网络模型

2.1 反向传播(BP)神经网络

在有监督的学习环境下,将梯度下降算法和多层前馈神经网络结合可以形成反向传播(back propagation, BP)神经网络^[34]。BP神经网络包括前向传播和反向传播两个部分。其中,前向传播将输入的数据经神经网络各层依次处理后输出。反向传播通过损失函数,将前向传播的结果与真实值对比,获得损失值,并根据损失值使用梯度下降算法调节神经网络中各节点连接函数的权重。重复这个训练过程,可以不断降低神经网络的损失值,提高神经网络的性能。训练结束后,使用未参加训练的

数据对神经网络进行评估。

对于BP神经网络而言,其中各层的连接是通过全连接方式来进行的。使用全连接层提取特征会引入大量的参数运算,使得BP神经网络需要处理大量数据^[35]。因此,BP神经网络对部署平台的性能要求很高,不利于神经网络训练的进行以及图像特征信息的提取。

2.2 卷积神经网络(CNN)

为了降低运算量,增加特征信息提取能力,使用卷积层代替全连接层对特征进行提取,形成了CNN^[36]。CNN一般由卷积层、池化层、全连接层相连组成。此外,需要引入一定的算法,构造CNN的具体结构。

在CNN中,卷积层对输入的数据进行特征提取。对于图像数据来说,卷积层采用卷积核对图像数据进行特征提取。卷积核是一个方阵,其大小 m 为奇数。通过使用卷积核依次对图像上的每个像素做卷积运算可以获得图像的特征图。对于彩色图像,它分为RGB 3个单色通道,因此需要对RGB 3个通道的每个通道单独进行卷积运算。通过使用小尺寸的卷积核可以提高特征图的局部感受野^[37]。卷积层提取的特征图输入池化层进行处理。在池化层中,特征图经过下采样过程,使用一定大小的窗口函数对特征图进行池化。窗口函数也是一个卷积核,但其对特征图的卷积过程并不是对每个像素进行,而是设定一定的步长。因此,在池化的过程中就会跳过单位步长的像素^[38]。这样做得到的特征图降低了尺寸,但在识别小尺寸目标时可能会导致特征信息丢失。为尽量减少特征信息丢失问题,本文将步长设定为2。窗口函数分为最大值池化和平均值池化两种。下采样过程增大了特征图局部感受野,聚合特征并降低了特征图的尺寸。经过多层卷积层和池化层后,由全连接层综合所有特征并输出。

前向传播时,各层之间使用激活函数连接。激活函数都是非线性函数,以在计算过程为线性的卷积神经网络引入非线性效应,增强学习能力。激活函数对加权求和后的结果进行计算并输出。常见激活函数有Sigmoid函数、tanh函数、Softmax函数及Relu函数等。其中,Relu函数相比其他函数,能够有效解决梯度消失现象^[39]。反向传播过程使用损失函数来计算最终输出与真实值之间的误差,称为损失值。通过一定的算法不断减小损失值,可使卷积神经网络的性能优化到最佳。最基本的算法是

梯度下降算法,使用梯度来调整损失值,直至接近最小值。在梯度下降算法中,用学习率来表示对输入量每次的调整度。

2.3 YOLOv3目标检测算法及其改进

YOLO (You Only Look Once) 是一种目标检测算法,它包含特征提取、编码、解码3个部分。其中前两个部分在卷积神经网络中分别对应特征提取网络和编码器。解码部分则是使用解码器将神经网络处理图像的输出结果转化为图像中对目标的标记,输出标记目标位置的矩形框、标记目标类型和准确率作为预测结果。YOLO目标检测算法有多个版本,本文使用的是YOLOv3算法^[40],其特征提取网络为DarkNet53。YOLOv4^[41]在YOLOv3的基础上作出许多改进,但直接使用YOLOv4训练的神经网络模型在本文开发的系统中使用效果不佳,这可能是由于YOLOv4对于性能要求较高,系统无法满足。本文尝试保留YOLOv3的大部分结构,不使用YOLOv4的特征提取网络CSPDarkNet53,仅将编码器换为YOLOv4使用的编码器,它在YOLOv3的编码器基础上引入了空间金字塔池化(spatial pyramid pooling, SPP)^[42]和PAN-net^[43],以增强其多尺度检测的能力。

YOLOv3的特征提取网络对输入图像数据进行处理后,可以得到3种大小的目标框,用于标定目标位置、尺寸以及特征信息。每种目标框都是一个三维张量。3种目标框的大小与输入图像的尺寸以及目标的类别数量有关。如果输入图像的尺寸为 a ,目标类别为 b ,那么3种目标框的初始大小(由大到小) m, n, p 如式(1)~(3)所示:

$$m = \left(\frac{a}{8}, \frac{a}{8}, (b+5) \times 3 \right) \quad (1)$$

$$n = \left(\frac{a}{16}, \frac{a}{16}, (b+5) \times 3 \right) \quad (2)$$

$$p = \left(\frac{a}{32}, \frac{a}{32}, (b+5) \times 3 \right) \quad (3)$$

本文使用的输入图像为RGB三通道图像,尺寸为416×416。使用的藻类共4类,因此目标类别即4类。根据尺寸数据和目标类别数据,可以得到 (m, n, p) 分别为 $(52, 52, 27)$, $(26, 26, 27)$, $(13, 13, 27)$ 。由于 m 目标框长宽尺寸为 n 目标框的两倍, p 目标框的4倍,将输入图像按13×13的尺寸大小分为多个检测图。在每个检测图中,每个像素都设定以其为中心的3种初始大小的目标框。对于每一个框都需要9个变量来修正目标

框,又由于输入图像为RGB三通道图像,因此变量数为27个。每个框单一通道的9个变量中,一个用于描述置信度、两个用于描述目标框中心点偏移坐标 (t_x, t_y) 、两个用于描述目标框尺寸的变化比例 (t_h, t_w) 、5个用于描述目标类别。

置信度是一个位于0和1之间的值,用于描述目标框有多大的概率存在一个真实目标。该值越接近1,则目标框内存在一个真实目标的可能越大,反之则越小。在使用置信度时通常会设置一个阈值,若置信度高于该阈值,则认为该目标框内检测到物目标,反之则认为未检测到目标。以此区分目标框是否检测到目标。 t_x, t_y 分别表示目标框中心坐标在 x, y 两个方向相对初始目标框左上角坐标的偏移量。 t_h, t_w 分别描述最终目标框的长宽相对初始目标框的变化比例。若 (s_x, s_y) 为像素在其所属检测图中的坐标, (h, w) 分别为初始目标框的长和宽,则最终得到的目标框位 (s'_x, s'_y) 和长宽尺寸 (h', w') 的解码公式如下所示:

$$s'_x = s_x + \text{sigmoid}(t_x) \quad (4)$$

$$s'_y = s_y + \text{sigmoid}(t_y) \quad (5)$$

$$h' = h \times \exp(t_h) \quad (6)$$

$$w' = w \times \exp(t_w) \quad (7)$$

在求出目标框位置和长宽尺寸后,使用softmax函数对4个变量进行处理,分别得到目标属于4种微藻的概率。在得到所有的目标框之后,使用非极大值抑制将检测到同一个目标的多个目标框删除,仅留下一个置信度最高的目标框。至此一轮使用算法对CNN的训练完成。

本文CNN的特征提取网络使用的是DarkNet53特征提取网络,其结构如图1所示。输入图像进入DarkNet53后,首先进行卷积和下采样。使用32个卷积核提取图像中特征信息,再使用64个卷积核进行下采样。这个过程在提取特征再提取特征信息的同时降低了特征图尺寸。

在进行初步卷积下采样之后,将提取出的特征图经过多层由残差层和下采样层组成的模组继续提取特征。其中,残差层将特征图进行卷积标准化之后与其本身相加,用以增强卷积结果和特征图本身之间的联系。在DarkNet53中,在经过初步卷积和下采样层之后,特征图依次经过5个部分,分别为1、2、8、8、4个残差层与一个下采样层组成的模块。在整个特征提取过程中,在如图所示的3个位置获得编号为0、1、2的3个输出结果,用于后续

的目标识别及分类过程。编号0的输出通道数为1 024, 对应最小尺寸的特征图; 编号1的输出通道数为512, 对应的特征图尺寸为编号0的2倍; 编

号2的输出通道数为256, 对应的特征图尺寸为编号1的2倍。

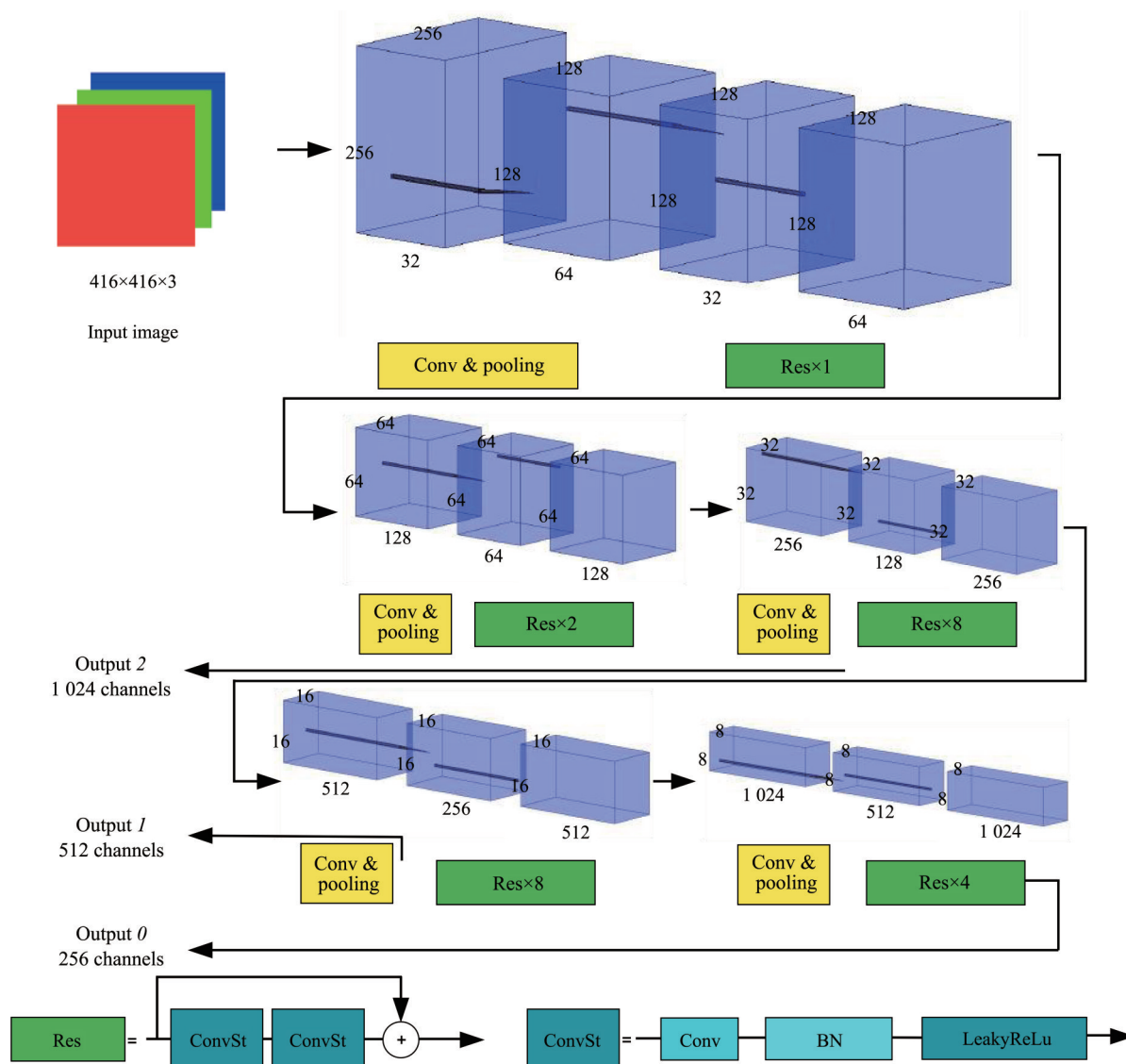


Fig. 1 Structure of DarkNet53 feature extraction network (plot with NN-SVG^[44])

Res: residual, Conv: convolution, BN: batch normalization.

在对CNN的编码输出结果进行解码得到最终结果之前, 需要对模型经过多轮训练, 以尽可能使神经网络对输入图像的目标识别与分类性能达到最佳。在每一轮训练结束后, 需要使用损失函数计算损失, 以调整神经网络的参数。将输出结果与真实目标框的参数通过损失函数得到损失。损失为置信度损失、位置损失和分类损失3个部分的和。其中, 置信度损失为真实值与输出结果之间的二元交叉熵, 位置损失为真实值与输出结果的坐标损失与长宽损失的和, 类别损失为各类别与输出结果类别

的二元交叉熵的和。通过计算出每个目标对于3种尺寸的目标框损失值之和, 可以使用优化算法进行反向传播, 进行模型训练。

为了在训练过程中综合衡量CNN的性能, 需要引入除损失值外的指标。常用的指标有准确率 (precision)、召回率 (recall)、F1值和平均精度 (mean average precision, mAP) 值等。其中, 准确率和召回率通常是矛盾的, 需要一个参数综合考虑准确率和召回率。本文采用mAP值作为综合衡量CNN性能的指标。通过观察mAP值随训练轮次的

变化可以了解神经网络的训练状况和当前性能。

训练过程中, 需要将初始图像数据制作为数据集对卷积神经网络进行训练。在数据集中, 所有图像数据按 8 : 1 : 1 的比例分为训练集、验证集和测试集。训练集直接用于神经网络的训练, 作为输入图像; 验证集则在一轮训练结束后, 通过反向传播过程调整神经网络的参数; 测试集则在每轮训练过程结束后用于评估神经网络的性能, 仅用于评估, 不参与神经网络的训练过程。

2.4 跨区域残差机制和注意力选择机制

如图 2 所示, 跨区域残差连接机制是将输入残差层之前的特征图和经残差层处理后的特征图进行张量相加, 将得到的新特征图作为输出的机制。使用此机制输出的特征图与原来未使用此机制输出的特征图尺寸是相同的, 因此可以直接用于后续目标识别和分类。

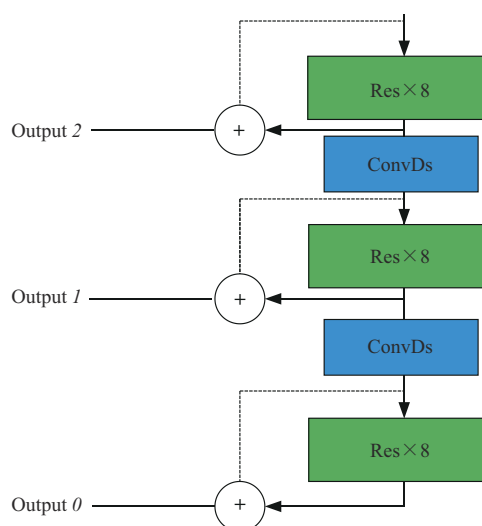


Fig. 2 Structure of cross-region residual connctcions

Res: residual, ConvDs: convolution downsample, BN: batch normalization.

注意力选择机制根据各个特征图的重要性调整权重, 它增加重要特征图的权重并降低次要特征图的权重, 以提高特征提取能力和 CNN 对目标的学习能力。本文使用的注意力选择机制结构基于 CBAM (convolutional block attention module)^[45] 构建。输入的特征图首先经过通道最大值池化和通道平均池化获得各通道的最大值和平均值, 然后经过两次卷积可以完成注意力选择过程 (图 3)。之后, 根据权重对输入特征图进行卷积, 得到单通道的权重选择图。将权重选择图与空间池化之前的特征图

相乘, 得到注意力选择后的特征图。

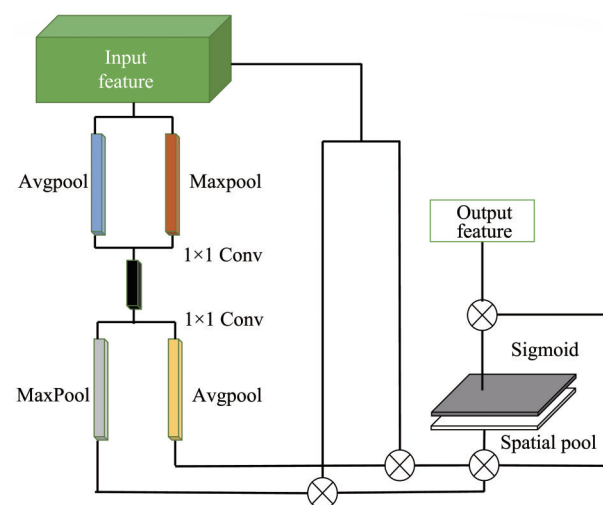


Fig. 3 Structure of attention selection

Avgpool: average pooling, Maxpool: maximum pooling, Conv: convolution.

3 基于深度学习的微藻自动检测系统

本文设计了一套光学显微成像系统并结合深度学习技术实现微藻的快速自动检测, 详细情况如下。

3.1 微藻培养与样品制备

实验过程中, 本文使用了 4 种微藻: 小球藻 (*Chlorella* sp.)、集胞藻 (*Synechocystis* sp. PCC6803)、三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 以及紫球藻 (*Porphyridium cruentum*)。这 4 种微藻由中国科学院烟台海岸带研究所合作课题组提供。

4 种微藻的培养环境如下: 三角褐指藻的培养温度为 16~17℃, 光量子强度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; 其余 3 种微藻的培养温度为 23℃, 光照强度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。光照周期均为 12L : 12D, 均用标准的 f2 培养基培养。

微藻样品制备过程如下: 各取 100 μl 4 种微藻样品加入 400 μl 蒸馏水混合均匀, 得到 4 种微藻的稀释液。取 4 种稀释液各 100 μl 全部混合均匀, 得到 400 μl 混合液。取适量混合液滴在载物台的凹槽中, 用盖玻片压平。静置 5 min, 待微藻样品液沉降完毕即可进行显微成像。对于每种微藻样品液, 更改物镜视野获取 10 张分辨率为 1 760×1 180 的图

像, 用于制作图像数据集进行神经网络的训练。

3.2 光学显微成像系统搭建

实验过程中使用的光学显微成像系统是基于明场显微成像原理搭建, 主要分为照明光路和成像光路两部分。照明光路由白光光源和准直光路组成(图4), 其中白光光源是白光LED, 产生白色照明光, 经过准直光路后变为均匀照明光, 用于照明微藻样品液。成像光路由载物台、物镜、反射镜、成像透镜以及图像采集设备组成。载物台用于存放微藻样品液, 使用盖玻片按压, 将螺旋藻液限制在样品台的凹槽内, 以便于成像。物镜使用一块20倍物镜(型号PLN20X, 奥林巴斯), 用于对螺旋藻进行成像。反射镜用于转折光路, 方便图像采集。成像透镜是一块消色差胶合透镜(型号MAD418-A, 麓邦光电), 将物镜收集的图像信息投影到成像设备上。图像采集设备是一台CMOS工业相机(型号MV-SUF401GC, 迈德威视), 可拍摄最高 2048×2048 分辨率的彩色图像。将相机通过USB与计算机相连, 可使用相关配套软件获得其采集的螺旋藻图像, 并使用微型计算机对图像进行处理, 输出结果。控制系统为一部微型计算机

(Raspberry Pi4 model B)。

本实验中使用的数据集经过图像采集、预处理等过程制作。首先取3.1中制作的4种微藻样液各 $20 \mu\text{l}$, 加入 $320 \mu\text{l}$ 蒸馏水混合均匀。从 $400 \mu\text{l}$ 微藻液中取适量微藻液, 使用搭建的光学显微成像系统进行成像, 将获得的微藻图像分割为尺寸为 416×416 的图像。使用labelimg软件对图像进行手动标记, 标记出每个目标的真实目标框(图5)。标记结束后软件为每个图像新建一个同名xml文件, 以记录各目标框的信息。这些信息包括目标框的左上角和右下角坐标、目标框内目标的种类。一共使用了500张分割好的图片作为数据集, 其中400张为训练集, 50张为验证集, 50张为测试集。这些图像经过一定的预处理, 包括随机裁剪、翻转、对比度调整等方法。

数据集制作完成后即输入神经网络中进行训练。训练开始时, 初始学习率设为0.000 1, 进行200轮训练。当训练进行到100轮时, 学习率降为初始学习率的10%, 进行到150轮时, 学习率降为初始学习率的1%。

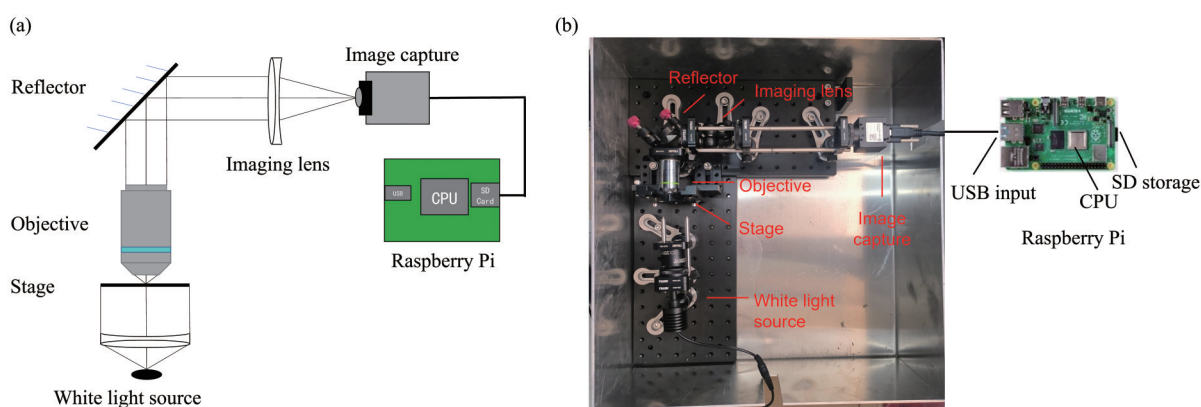


Fig. 4 Schematic diagram (a) and structural image (b) of the microscopy imaging system

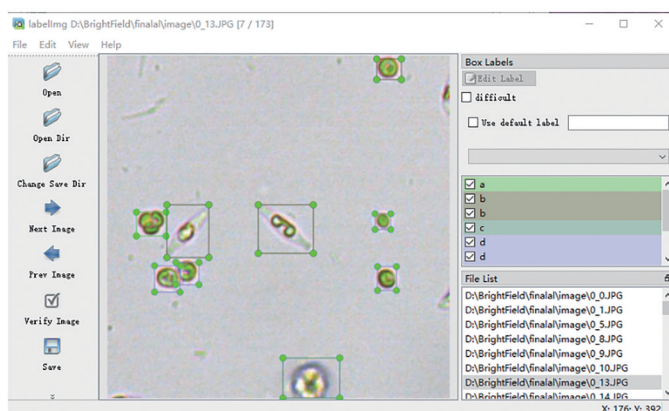


Fig. 5 Image labeling using labelimg

3.3 结果与改进

使用3.2中制作的数据集和训练方式进行训练,

训练结果如图6所示。其中,前4轮训练时神经网络尚处于不稳定状态, mAP 值无法计算。

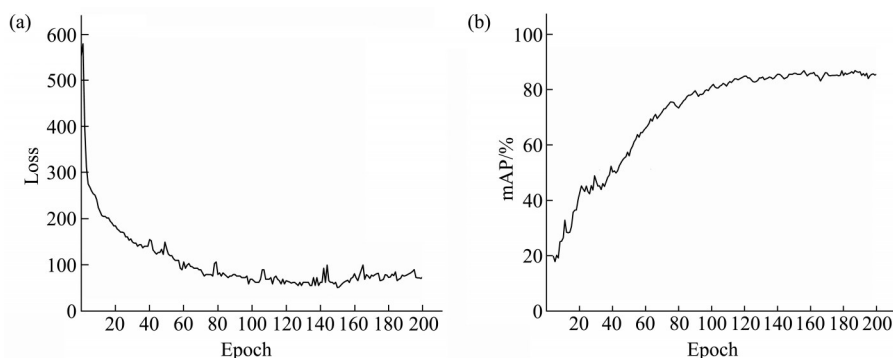


Fig. 6 Curves of loss (a) and mAP value (b) of the convolution neural network

由图6a可知,神经网络的损失值在初始阶段快速降低,经过一定轮次的训练之后,损失值的降低变缓,并最终在一定范围内上下波动。这说明神经网络可以有效提取输入图像的特征,并将目标用目标框标记出来。由图6b可知,在训练的初始阶段, mAP 值快速增长。在训练到约50轮时,神经网络的 mAP 值增长放缓,并开始出现上下波动。在训练到200轮后,神经网络的 mAP 值和损失值在一定范围内上下波动,但整体上没有明显变化。此时可以认为神经网络已经达到最好的训练效果,若继续训练,神经网络不再进行“学习”过程,而是转为“记忆”过程。在此过程中,神经网络会出现过拟合现象,因此在200轮停止训练。最高的 mAP 值在191轮出现,为0.84。该 mAP 值说明,即使卷积神经网络已经训练到接近最好效果,其性能仍然未达到足以准确识别微藻的要求(mAP 值在0.9附近)。因此,需要对卷积神经网络的结构和目标检测算法进行一定的改进。

本文在卷积神经网络和目标检测算法的基础上对使用的特征提取网络进行了一定的改进,之后使用改进后的特征神经网络进行训练,以进一步达到要求。注意到YOLOv4在YOLOv3的基础上引入了注意力机制并更改了残差连接的机制,本文使用两种方法分别进行改进,分别在残差层中引入跨区域残差连接机制和引入注意力选择机制。

分别使用加载跨区域残差连接机制和加载注意力选择机制的DarkNet53特征提取网络进行训练。其中,前者将输出进行残差连接,后者将DarkNet53的残差层增加CBAM。将两种神经网络

加载之前的数据集进行训练。训练过程略有改动,在训练过程中,初始学习率仍为0.0001,但前20轮将学习率设为初始学习率的50%。从第21轮开始,学习率恢复初始学习率。在训练轮次达到100轮时,学习率调整为初始学习率的10%。在训练轮次达到150轮时,学习率调整为初始学习率的1%。与此同时,使用2.3中使用的卷积神经网络(特征提取网络为原有DarkNet53)以本文的训练方式进行训练,作为对照。在训练的前4轮,神经网络处于不稳定状态,无法进行 mAP 值的计算。从第5轮开始计算每轮训练结束后的 mAP 值作为训练结果,如图7所示。

可以认为,加载注意力选择机制对原有卷积神经网络并没有明显的优化作用,而加载跨区域残差连接机制有一定的优化作用。基于加载跨区域残差

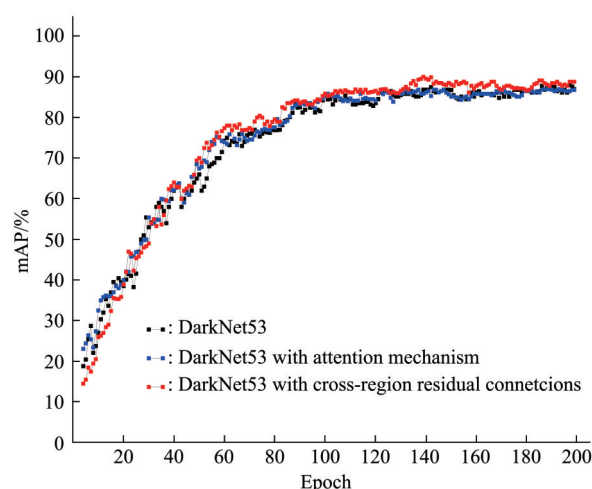


Fig. 7 Curves of original and improved convolution neural networks

连接机制的 DarkNet53, 本文进行了进一步优化, 将卷积神经网络中原进行反向传播时使用的优化器改为 Adam 优化器^[46], 并使用多阶段多方法组合策略。除此之外, 其他训练条件保持不变。训练结果如表 1 所示。与加载跨区域残差连接机制的 DarkNet53 相比有一定提高。

当 CNN 的训练结束后, 可以将其部署在微型计算机上。部署过程中, 由于微型计算机性能和存储容量的限制, 对 CNN 进行一定的模型优化, 在

尽量降低对神经网络的性能损失的前提下缩小神经网络的尺寸, 提高对图像的处理速度。优化后, 根据微型计算机的运行环境加载神经网络。

部署完成后, 使用新制的微藻液样品对系统性能进行测试。微藻样品制备完成后, 使用本系统进行微藻识别分类。拍摄一张原始图像输入系统对, 经过处理后, 以多张尺寸为 416×416 的照片输出结果, 部分输出结果如图 8 所示, 使用目标框将不同类型和尺寸的微藻分类标记。

Table 1 Traning results of original and improved convolution neural networks

Backbone	mAP maximum	Epoch at maximum
DarkNet53	0.88	197
DarkNet53 with attention selection	0.87	181
DarkNet53 with cross-region residual connetcions	0.90	173
Using Adam optimizer based on DarkNet53 with cross-region residual connetcions	0.92	179

使用微藻显微检测系统可以有效检测出 4 种藻类并分类, 使用对应大小的目标框将其在图像中标注出来, 准确率较高 (图 8)。另外, 图片中有部分预测集胞藻的目标框概率较低。推测出现这种现象的原因是系统检测到了保留部分特征的死亡集胞藻。对于一些离焦微藻, 系统并没有检测出, 这可能是因为制作数据集时, 并没有对离焦微藻进行标

注。系统对各种尺寸的气泡和异物都有较好的区分能力, 没有出现将其误检为微藻的情况。

在系统处理完成后, 获取系统对模型的统计数据, 得到结果为小球藻 12 个、集胞藻 218 个、三角褐指藻 15 个以及紫球藻 8 个。使用人工对同一张原始图像进行计数, 对比可以发现: 小球藻全部检出, 没有误检; 集胞藻漏检 5 个, 均为离焦漏检, 误检 1 个, 将一个离焦微藻误检为集胞藻; 三角褐指藻没有漏检, 但是将一个离焦微藻误检为三角褐指藻; 紫球藻全部检出, 没有误检。基于以上数据, 按公式 (8) 计算系统每种藻类检测结果的相对误差, 并对每种藻类检测结果的相对误差取平均值, 作为系统误差的最终结果。其中 x' 代表人工计数结果, x 代表系统处理结果。经过计算, 得到本系统的检测误差为 2.47%。

$$\delta = \frac{|x' - x|}{x'}$$

(8)

4 结 论

为了满足对微藻养殖过程中定期实时检测生长状况的需求, 弥补传统光学检测方法的不足, 本文提出一种基于深度学习的微藻显微检测系统。系统基于深度学习搭建卷积神经网络, 使用目标检测算法对微藻进行显微检测。系统基于明场成像原理搭建, 将训练好的神经网络部署在微型计算机上, 具有小型化便携特点, 可以对微藻进行实时检测, 具有一定的应用意义。

本文使用 YOLOv3 目标检测算法, 使用

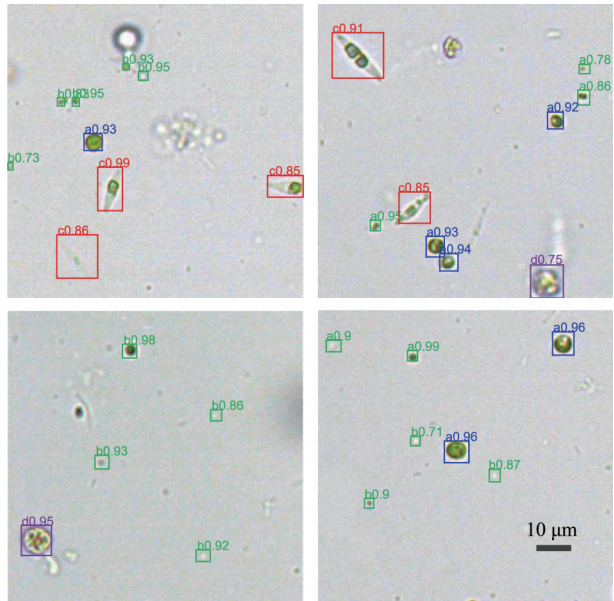


Fig. 8 Output of the microalgae microscopy detection system

Blue box and label a: *Chlorella* sp. Green box and label b: *Synechocystis* sp. PCC6803. Red box and label c: *Phaeodactylum tricornutum*. Purple box and label d: *Porphyridium cruentum*. Numbers after each label indicate precision of detection.

DarkNet53 特征提取网络。经过初步测试发现,神经网络对微藻的检测性能不足,因此对其进行一定的改进。通过分别引入跨区域残差连接机制和注意力选择机制,发现跨区域残差连接机制能够提高神经网络的 mAP 值至最高 0.90。在此基础上,将优化器由原有梯度下降算法改为 Adam 优化器,并使用多阶段多方法组合策略,将 mAP 值进一步提高到最高 0.92。使用未参与训练的测试图像进行测试,得到其误差为 2.47%。考虑到本系统大大提高了检测速度,对检测条件的要求低,这一误差是可以接受的。综上所述,本文提出的微藻显微检测系统具有检测精度较高,检测速度较快,设备便携的特点。

参 考 文 献

- [1] Zheng X Q, Duan X D, Tu X, *et al.* The fusion of microfluidics and optics for on-chip detection and characterization of microalgae. *Micromachines*, 2021, **12**(10): 1137
- [2] Liu J Y, Zeng L H, Ren Z H. Recent application of spectroscopy for the detection of microalgae life information: a review. *Appl Spectrosc Rev*, 2020, **55**(1): 26-59
- [3] Torres-Tiji Y, Fields F J, Mayfield S P. Microalgae as a future food source. *Biotechnol Adv*, 2020, **41**: 107536
- [4] Amorim M L, Soares J, Coimbra J, *et al.* Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, **61**(12): 1976-2002
- [5] Zhuang D L, He N, Khoo K S, *et al.* Application progress of bioactive compounds in microalgae on pharmaceutical and cosmetics. *Chemosphere*, 2022, **291**: 132932
- [6] Banerjee S, Ghosh D, Pandit C, *et al.* Microalgal pandora for potent bioenergy production: a way forward?. *Fuel*, 2023, **333**: 126253
- [7] Jiang Y G, Xiao P, Shao Q, *et al.* Metabolic responses to ethanol and butanol in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biotechnol Biofuels*, 2017, **10**: 239
- [8] Ahmad A, Banat F, Alsafar H, *et al.* Algae biotechnology for industrial wastewater treatment, bioenergy production, and high-value bioproducts. *Sci Total Environ*, 2022, **806**(2): 150585
- [9] 周浩媛,陈军,盛彦清. 微藻技术在污水处理中的应用与展望. *环境科学与技术*, 2020, **43**(11): 160-171
Zhou H Y, Chen J, Sheng Y Q. *Environ Sci Technol (Wuhan, China)*, 2020, **43**(11): 160-171
- [10] Ubando A T, Africa A D M, Maniquiz-Redillas M C, *et al.* Microalgal biosorption of heavy metals: a comprehensive bibliometric review. *J Hazard Mater*, 2021, **402**: 123431
- [11] Ugya A Y, Meguellati K, Aliyu A D, *et al.* Microplastic stress induce bioresource production and response in microalgae: a concise review. *Environ Pollut Bioavailability*, 2022, **34**(1): 51-60
- [12] Aditya L, Mahlia T M I, Nguyen L N, *et al.* Microalgae-bacteria consortium for wastewater treatment and biomass production. *Sci Total Environ*, 2022, **838**: 155871
- [13] 高风正,秦松,葛保胜. 中国与欧洲微藻产业概况及生物质精准应用. *海洋科学*, 2022, **46**(9): 146-158
Gao F Z, Qin S, Ge B S. *Mar Sci (Beijing, China)*, 2022, **46**(9): 146-158
- [14] Ning H W, Li R, Zhou T. Machine learning for microalgae detection and utilization. *Front Mar Sci*, 2022, **9**: 947394
- [15] Otálora P, Guzmán J L, Acién F G, *et al.* Microalgae classification based on machine learning techniques. *Algal Res*, 2021, **55**: 102256
- [16] Cao M Y, Wang J S, Chen Y T, *et al.* Detection of microalgae objects based on the improved YOLOv3 model. *Environ Sci Process Impacts*, 2021, **23**(10): 1516-1530
- [17] 黄仰锐,郭勇,杨志刚,等. 光诱导角膜交联及检测技术的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2021, **48**(3): 246-262
Huang Y R, Guo Y, Yang Z G, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(3): 246-262
- [18] 郭勇,严伟,黄仰锐,等. FPGA 技术在生物医学成像中的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2020, **47**(6): 483-497
Guo Y, Yan W, Huang Y R, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2020, **47**(6): 483-497
- [19] Liu F G, Zhang C Y, Wang Y Y, *et al.* A review of the current and emerging detection methods of marine harmful microalgae. *Sci Total Environ*, 2022, **815**: 152913
- [20] 骆巧琦,高华,周治东,等. 一种快速准确的微藻生物量估算法. *植物生理学报*, 2021, **57**(1): 216-224
Luo Q Q, Gao H, Zhou Z D, *et al.* *Plant Physiol J*, 2021, **57**(1): 216-224
- [21] Xu Z P, Jiang Y M, Ji J L, *et al.* Classification, identification, and growth stage estimation of microalgae based on transmission hyperspectral microscopic imaging and machine learning. *Opt Express*, 2020, **28**(21): 30686
- [22] Castaldello C, Gubert A, Sforza E, *et al.* Microalgae monitoring in microscale photobioreactors via multivariate image analysis. *ChemEngineering*, 2021, **5**(3): 49
- [23] Wang G H, Dong J D, Li X, *et al.* The bacterial diversity in surface sediment from the South China Sea. *Acta Oceanol Sin*, 2010, **29**(4): 98-105
- [24] Thiel S U, Wiltshire R J, Davies L J. Automated object recognition of blue-green algae for measuring water quality-a preliminary study. *Water Res*, 1995, **29**(10): 2398-2404
- [25] Pech-Pacheco J L, Alvarez-Borrego J. Optical-digital system applied to the identification of five phytoplankton species. *Mar Biol (Berlin, Ger)*, 1998, **132**(3): 357-365
- [26] Dannemiller K, Ahmadi K, Salari E. A new method for the segmentation of algae images using retinex and support vector machine. 2015 IEEE International Conference on Electro/Information Technology, 2015: 361-364
- [27] Blaschko M B, Holness G, Mattar M A, *et al.* Automatic *in situ*

- identification of plankton. 2005 Serenth IEEE Workshop on Applications of Computer Vision, 2005, **1**: 79-86
- [28] Schulze K, Tillich U M, Dandekar T, *et al.* PlanktoVision-an automated analysis system for the identification of phytoplankton. BMC Bioinf, 2013, **14**: 115
- [29] Coltelli P, Barsanti L, Evangelista V, *et al.* Water monitoring: automated and real time identification and classification of algae using digital microscopy. Environ Sci Process Impacts, 2014, **16**(11): 2656-2665
- [30] Göröcs Z, Tamamitsu M, Bianco V, *et al.* A deep learning-enabled portable imaging flow cytometer for cost-effective, high-throughput, and label-free analysis of natural water samples. Light Sci Appl, 2018, **7**: 66
- [31] Li J, Wang L W, Guo Y, *et al.* Study on aberration correction of adaptive optics based on convolutional neural network. Photonics, 2021, **8**(9): 377
- [32] Ruiz-Santaquiteria J, Bueno G, Deniz O, *et al.* Semantic versus instance segmentation in microscopic algae detection. Eng Appl Artif Intel, 2020, **87**: 103271
- [33] Salido J, Sánchez C, Ruiz-Santaquiteria J, *et al.* A low-cost automated digital microscopy platform for automatic identification of diatoms. Appl Sci, 2020, **10**(17): 6033
- [34] Rumelhart D E, Hinton G E, Williams R J. Learning representations by back-propagating errors. Nature, 1986, **323**(6088): 533-536
- [35] Vogl T P, Mangis J K, Rigler A K, *et al.* Accelerating the convergence of the back-propagation method. Biol Cybern, 1988, **59**: 257-263
- [36] Ajit A, Acharya K, Samanta A. A review of convolutional neural networks//Singh K J, Shynu P G. 2020 International Conference on Emerging Trends in Information Technology and Engineering (ic-ETITE). Vellore: IEEE, 2020: 1-5
- [37] Chaib S, Liu H, Gu Y F, *et al.* Deep feature fusion for VHR remote sensing scene classification. IEEE Trans Geosci Remote Sens, 2017, **55**(8): 4775-4784
- [38] O'Shea K, Nash R. An introduction to convolutional neural networks. arXiv, 2015. doi: 10.48550/arXiv.1511.08458
- [39] Albawi S, Mohammed T A, Al-Zawi S. Understanding of a convolutional neural network//Bayat O, Aljawarneh SA, Carlak H F. 2017 International Conference on Engineering and Technology (ICET). Antalya: IEEE, 2017: 1-6
- [40] Redmon J, Farhadi A. YOLOv3: an incremental improvement. arXiv, 2018. doi: 10.48550/arXiv.1804.02767
- [41] Bochkovskiy A, Wang C, Liao H Y M. YOLOv4: optimal speed and accuracy of object detection. arXiv, 2004. doi: 10.48550/arXiv.2004.10934
- [42] He K M, Zhang X Y, Ren S Q, *et al.* Spatial pyramid pooling in deep convolutional networks for visual recognition//Forsyth D A. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence (IEEE TPAMI). New York: IEEE, 2015: 1904-1916
- [43] Wang W H, Xie E Z, Song X G, *et al.* Efficient and accurate arbitrary-shaped text detection with pixel aggregation network//Lee K M, Forsyth D A, Pollefeys M, *et al.* Proceedings of the IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV). Seoul: IEEE, 2019: 8440-8449
- [44] Lenail A. NN-SVG: publication-ready neural network architecture schematics. J Open Source Softw, 2019, **4**(33): 747
- [45] Woo S H, Park J, Lee J Y, *et al.* CBAM: convolutional block attention module//Ferrari V, Hebert M, Sminchisescu C, *et al.* Proceedings of the European Conference on Computer Vision (ECCV). Munich: Springer, Cham, 2018: 3-19
- [46] Kingma D P, Ba J. Adam: a method for stochastic optimization. arXiv, 2014. doi: 10.48550/arXiv.1412.6980

Research on Automatic Microalgae Detection System Based on Deep Learning*

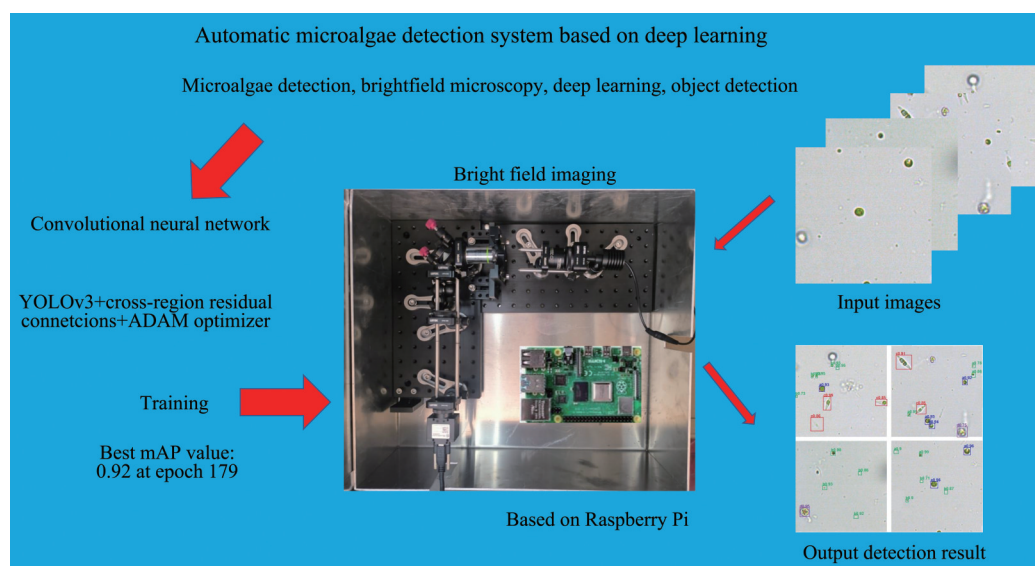
XIANG Rui-Jie^{1)**}, LIU Hao^{1)**}, LU Zhen²⁾, XIAO Ze-Yu¹⁾, LIU Hai-Peng¹⁾, WANG Yin-Chu^{2,3)},
PENG Xiao^{1)***}, YAN Wei^{1)***}

⁽¹⁾College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen Key Laboratory of Photonics and Biophotonics, Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Ministry of Education and Guangdong Province, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China;

²⁾Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China;

³⁾National Basic Science Data Center, Beijing 100190, China)

Graphical abstract



Abstract Objective The scale of microalgae farming industry is huge. During farming, it is easy for microalgae to be affected by miscellaneous bacteria and other contaminants. Because of that, periodic test is necessary to ensure the growth of microalgae. Present microscopy imaging and spectral analysis methods have higher requirements for experiment personnel, equipment and sites, for which it is unable to achieve real-time

* This work was supported by grants from the National Key R&D Program of China (2021YFF0502900), The National Natural Science Foundation of China (61975127, 31771584, 61835009, 42206144), the Key Project of Department of Education of Guangdong Province (2021ZDZX2013), the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2022A1515011954, 2022A1515011845), and Shenzhen Science and Technology Program (JCYJ20220531102807017).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

PENG Xiao. Tel: 86-755-26903761, E-mail: pengxiao_px@szu.edu.cn

YAN Wei. Tel: 86-755-26903761, E-mail: weiyang@szu.edu.cn

Received: December 30, 2022 Accepted: April 14, 2023

portable detection. For the purpose of real-time portable microalgae detection, a real-time microalgae detection system of low detection requirement and fast detection speed is needed. **Methods** This study has developed a microalgae detection system based on deep learning. A microscopy imaging device based on bright field was constructed. With imaged captured from the device, a neural network based on YOLOv3 was trained and deployed on microcomputer, thus realizing real-time portable microalgae detection. This study has also improved the feature extraction network by introducing cross-region residual connection and attention mechanism and replacing optimizer with Adam optimizer using multistage and multimethod strategy. **Results** With cross-region residual connection, the mAP value reached 0.92. Compared with manual result, the detection error was 2.47%. **Conclusion** The system could achieve real-time portable microalgae detection and provide relatively accurate detection result, so it can be applied to periodic test in microalgae farming.

Key words microalgae detection, brightfield microscopy, deep learning, object detection

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0629