

Czy SI może całkowicie zastąpić eksperta w analizie obrazów mikroskopowych?

w ramach projektu NCN 2019/33/B/NZ9/01305

pt. „Wykorzystanie naturalnej zmienności do identyfikacji genów przydatnych w hodowli odpornościowej na przędziorki.”

Prof. dr hab. Marcin Filipecki

Instytut Biologii

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

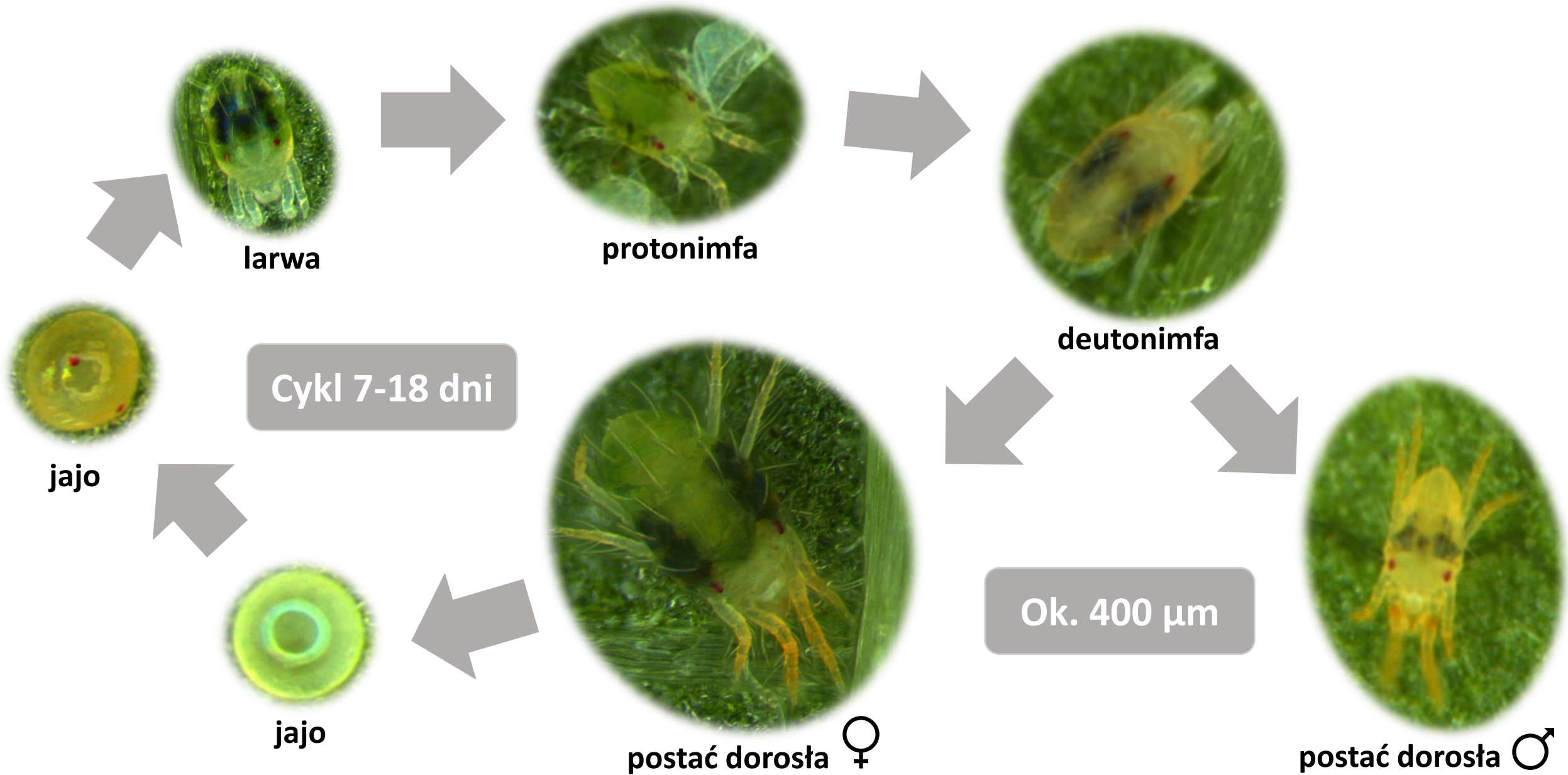


NARODOWE CENTRUM NAUKI



- 1. Przędziorek chmielowiec*
- 2. Naturalna zmienność podatności*
- 3. Identyfikacja genów*
- 4. hodowla odpornościowa*

Przędziorek chmielowiec - *Tetranychus urticae* Koch





Przędziorek chmielowiec jako szkodnik

liczne potomstwo

krótki cykl życiowy

odporność na środki chemiczne

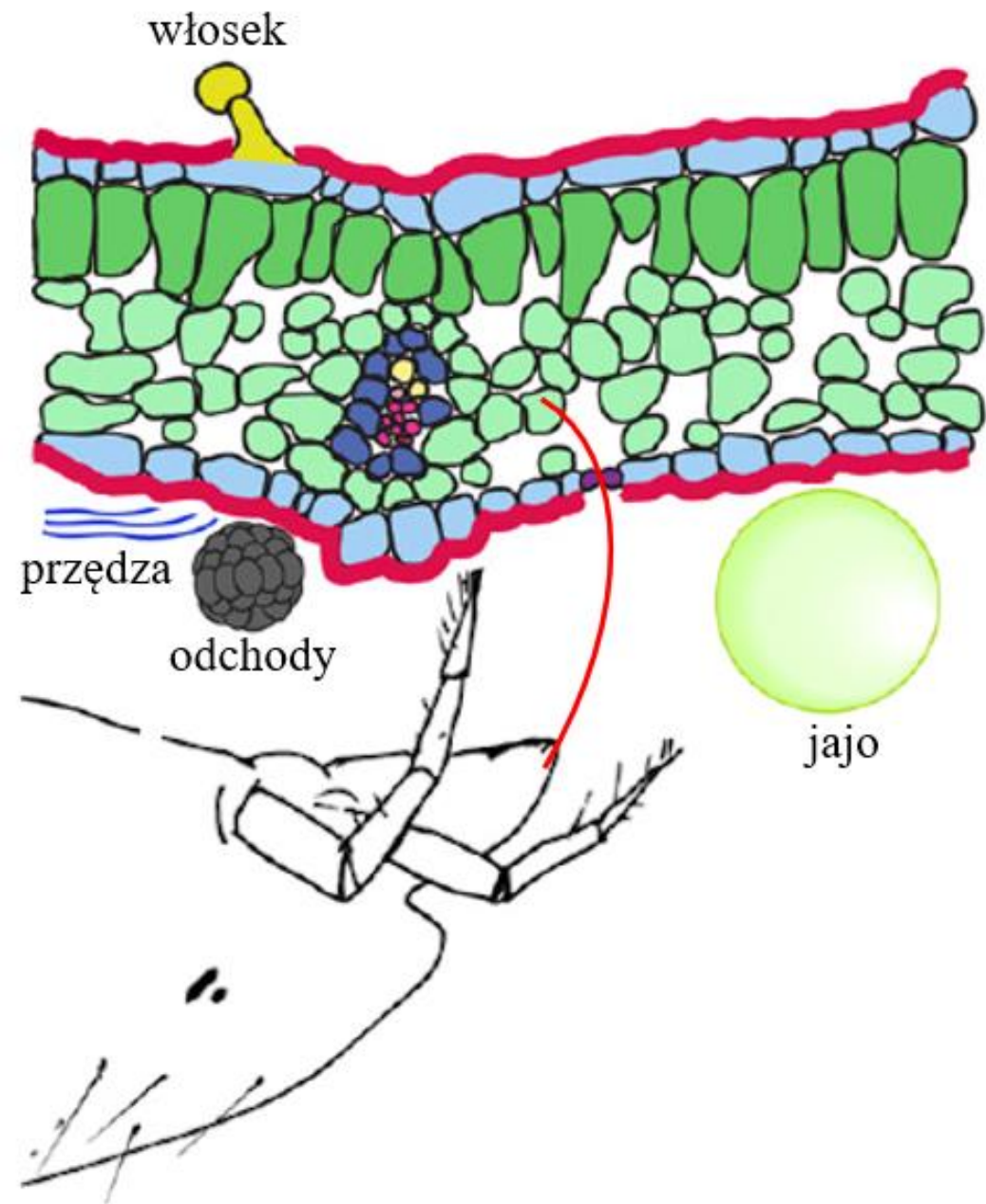
szeroki zakres występowania



**ISTOTNY SZKODNIK
W ROLNICTWIE**



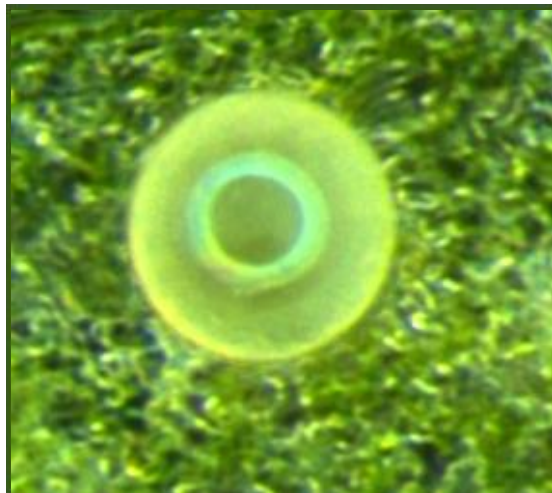
**środki owadobójcze
i roztoczobójcze**



Jak zmierzyć podatność rośliny na *T.u.*?

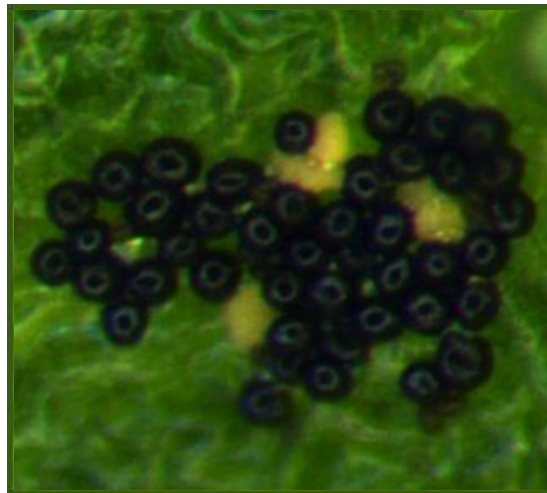
Żmudne liczenie/pomiary pod mikroskopem:

∅ 150 μm



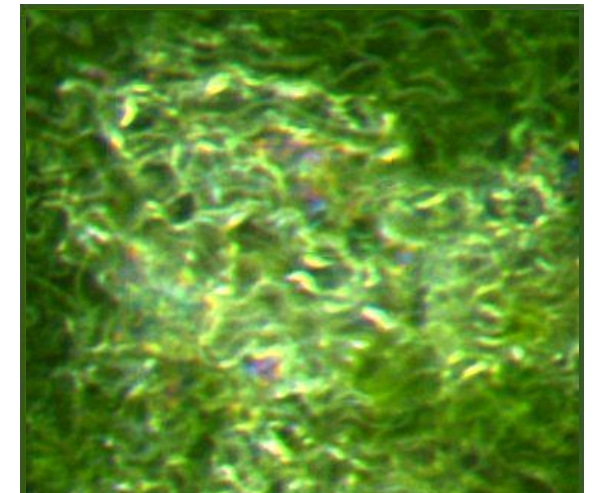
JAJO

pojedyncze: ∅ 20 μm
skupisko: 140 x 200 μm



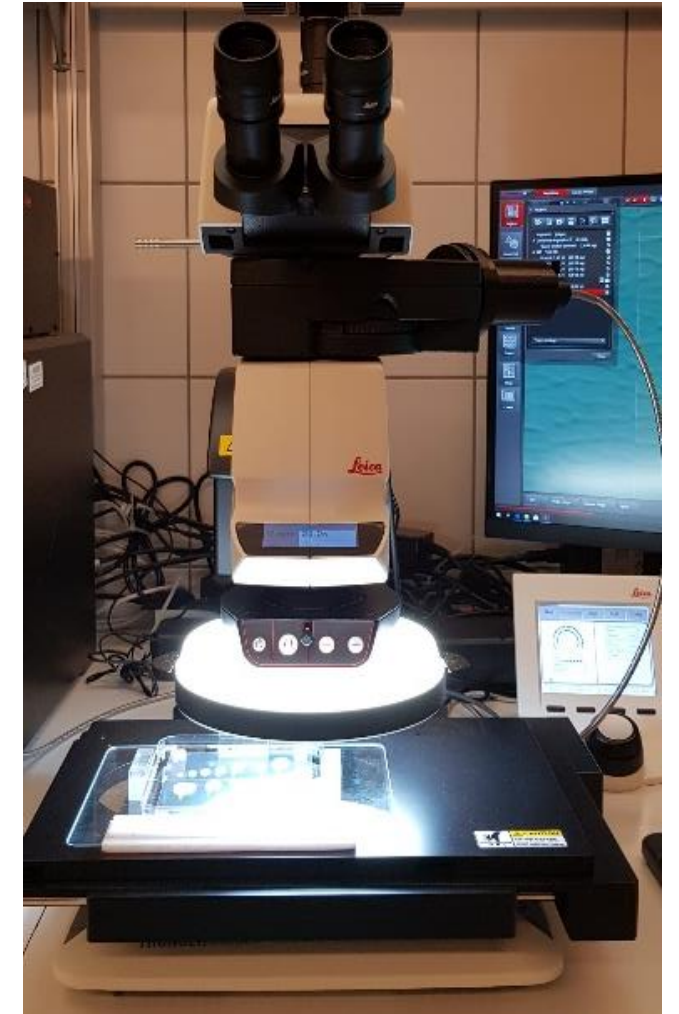
ODCHODY

0,2 – 4,8 mm

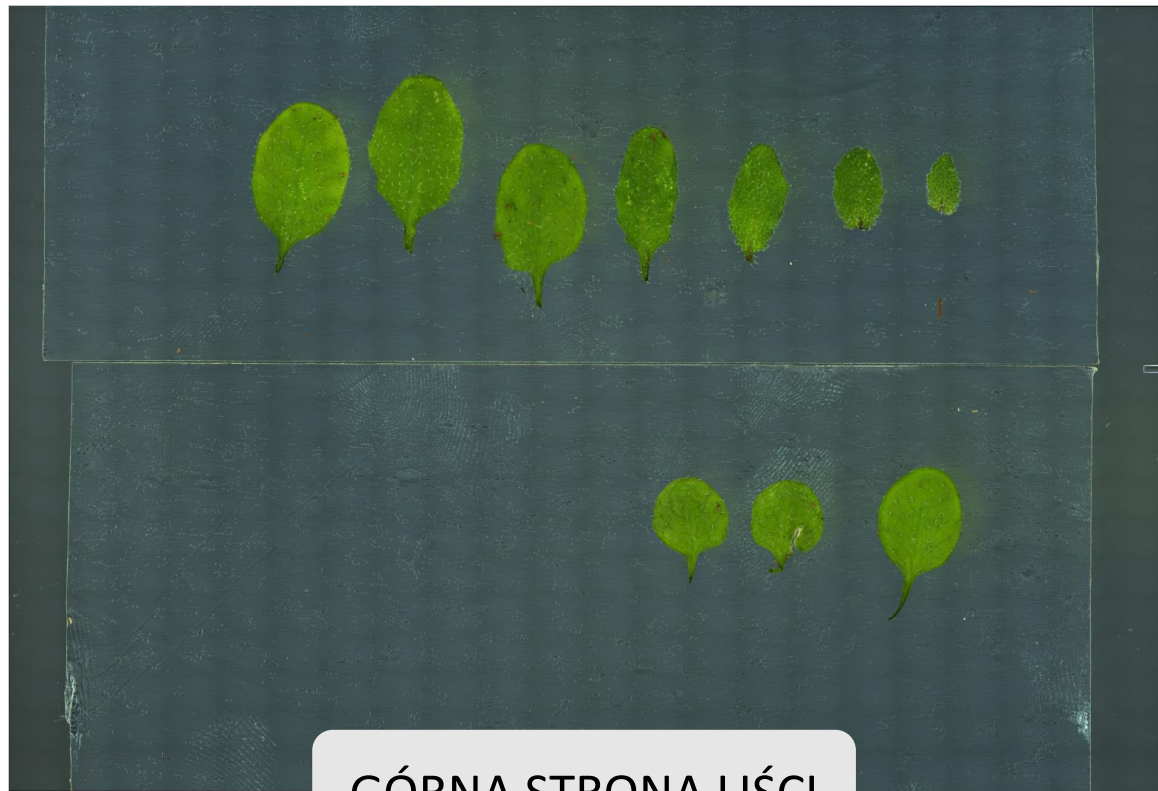


USZKODZENIA

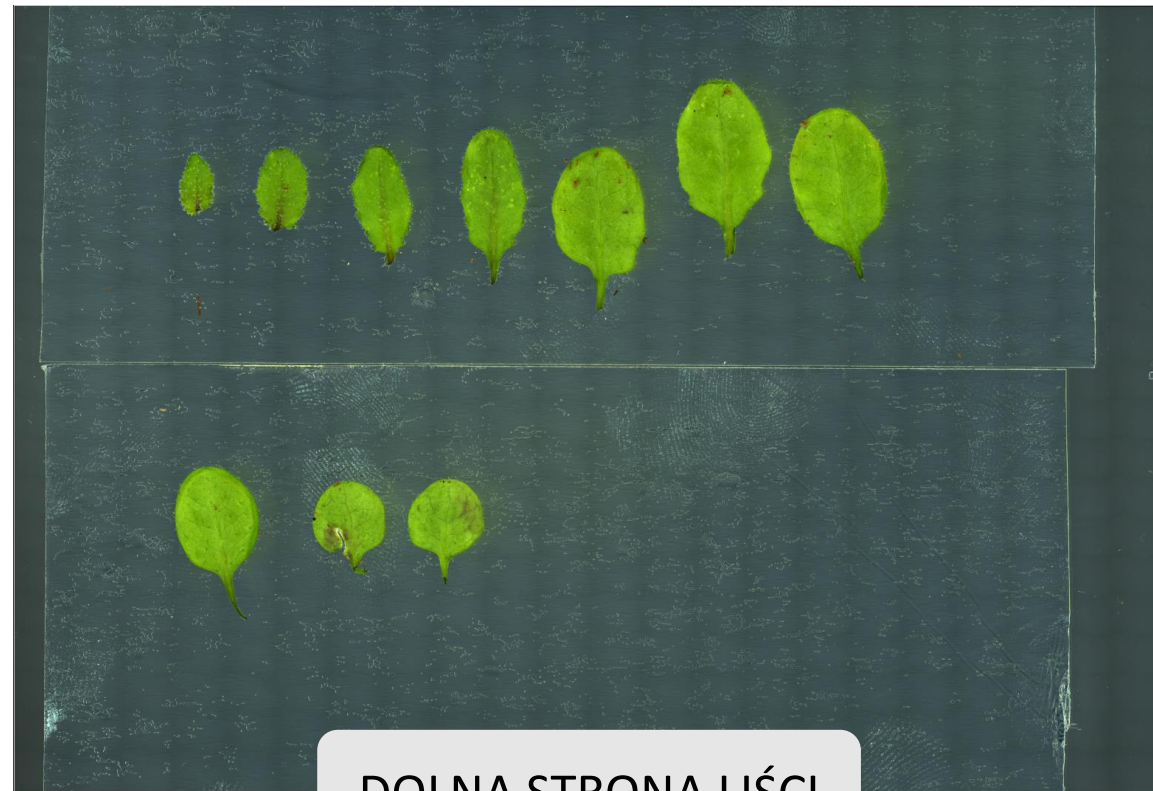
Wykonując skanowanie mikroskopowe możemy otrzymać obrazy, które odpowiednio powiększone ujawniają potrzebne obiekty



Charakterystyka otrzymanych obrazów



GÓRNA STRONA LIŚCI



DOLNA STRONA LIŚCI

około 3 GB

format TIF

„gładkie” łączenie pojedynczych zdjęć

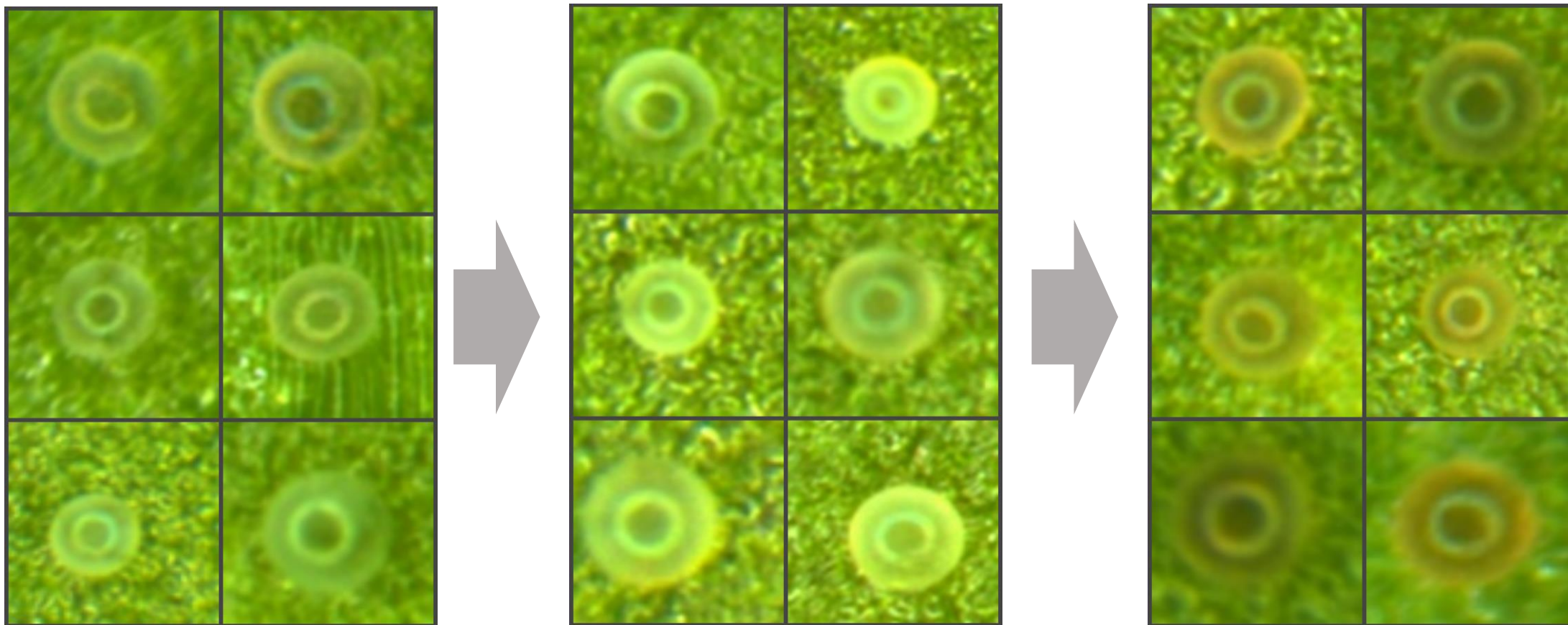
kolekcja 1560 obrazów – łącznie około 10 TB

scalonych 450 pojedynczych obrazów
jednej strony płytki

Skoro pomiar podatności jest pracą **żmudną** i wymagającą eksperta (obiekty wyglądają różnie)

– trzeba zastosować SI

- Szczególnie gdy chcemy przeanalizować ok. **1000** roślin

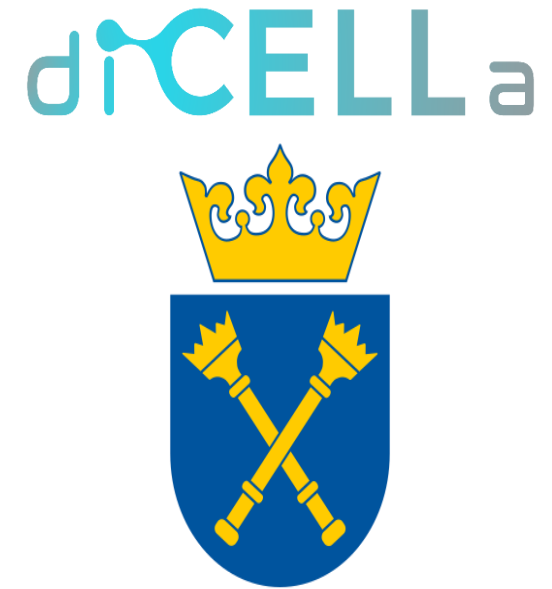


1. dzień

2. dzień

3. dzień

Program komputerowy MITESPOTTER



Moduły:

1. Menedżer obrazów mikroskopowych (skanów)
2. Identyfikacja i klasyfikacja liści każdej rośliny
3. Detekcja objawów (jaj, odchodów i uszkodzeń)
4. Wizualizacja wyników
5. Eksport danych

MITESPOTTER jest aplikacją sieciową napisaną w Pythonie z wykorzystaniem biblioteki Django.

Sieci neuronowe:

- **Uszkodzenia** – „semantic segmentation task” – każdy piksel jest klasyfikowany jako uszkodzenie bądź nie z zastosowaniem sieci FPN z enkoderem NFNet L1 .
- **Jaja i odchody** – „object detection problem” - zastosowano sieć Faster RCNN wykorzystującą początkowo Resnet50

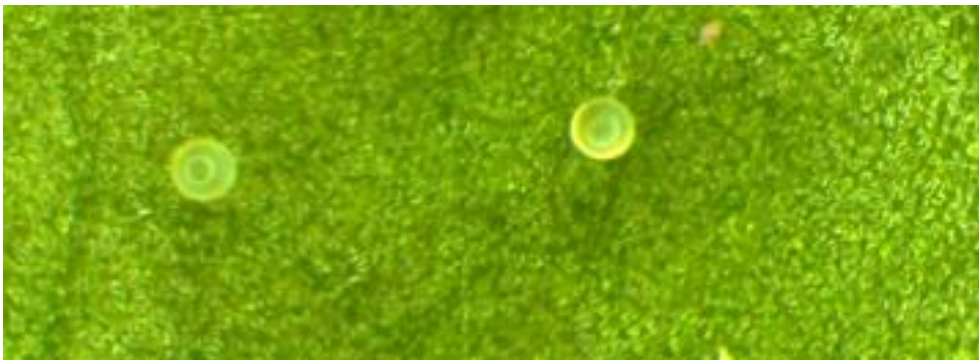
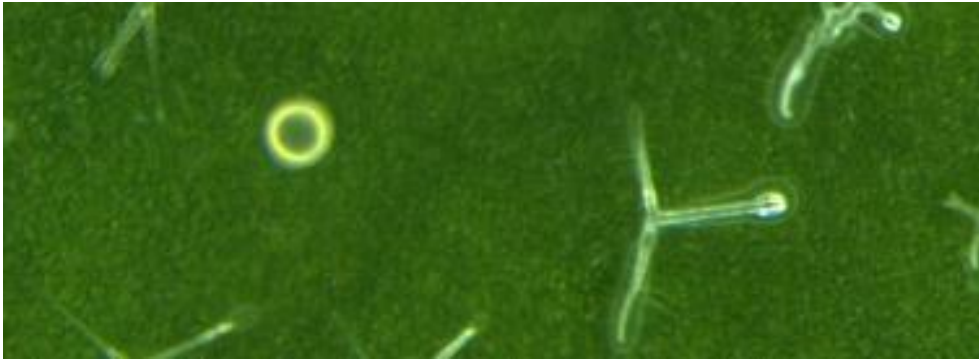
Do treningu sieci przygotowaliśmy (w formie masek na warstwie obrazu):

- Odchody - **964** zaznaczeń (5.98 mm²)
- Uszkodzenia - **1259** zaznaczeń (19.70 mm²)
- Jaja - **1718** zaznaczeń



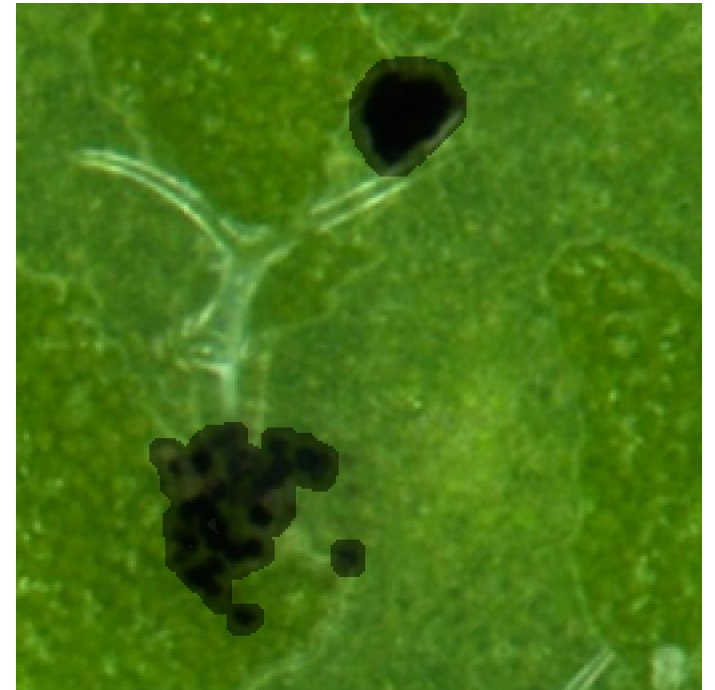
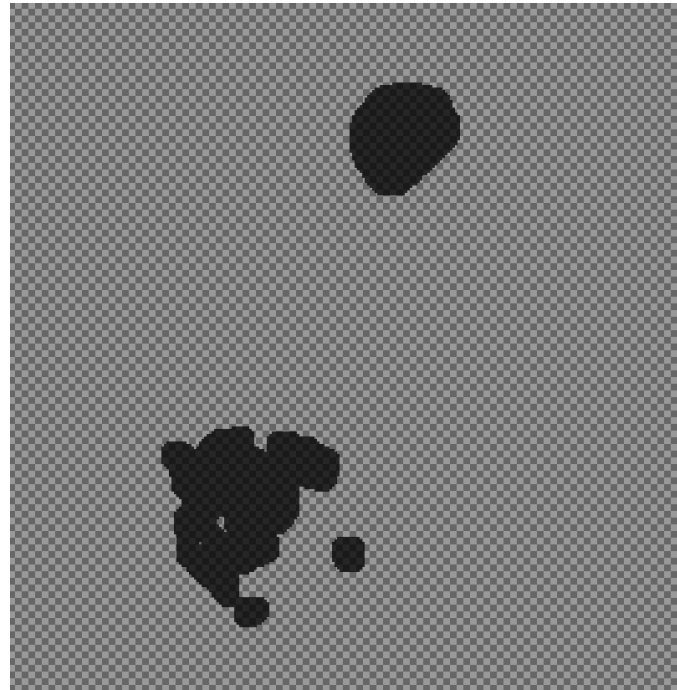
Tworzenie masek i „trenning” sieci - jaja

diCELLa Smart Masking



maski oddzielnie dla górnej i dolnej strony liści

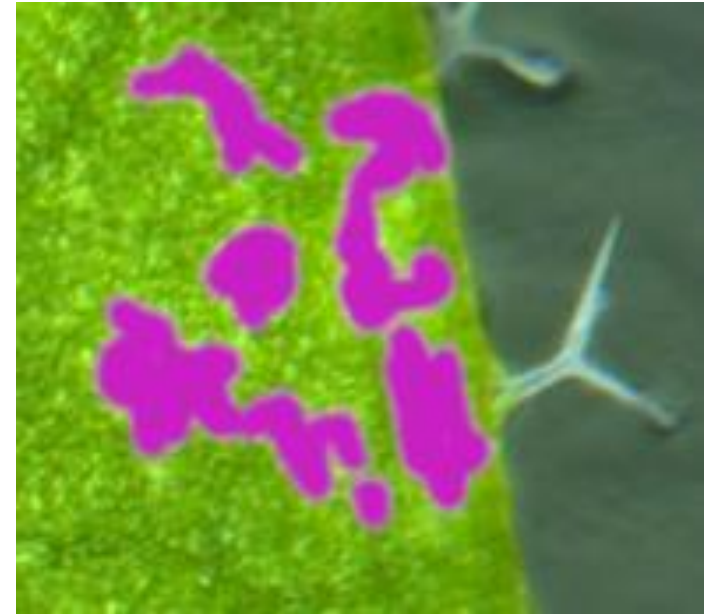
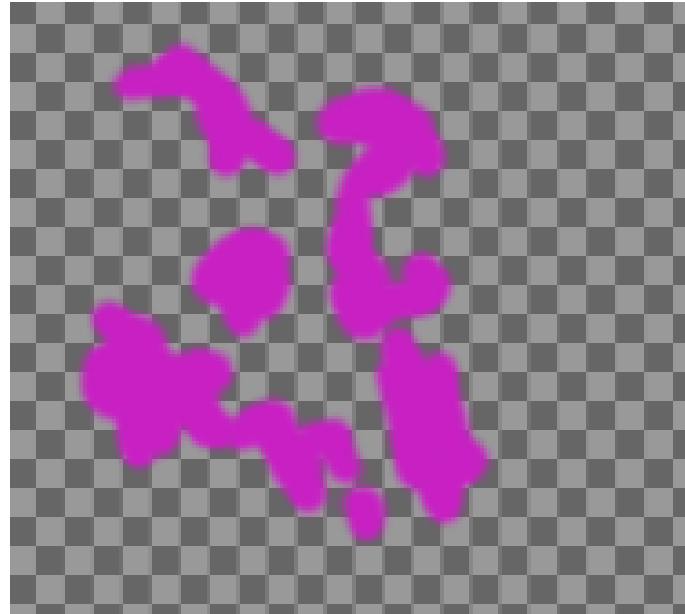
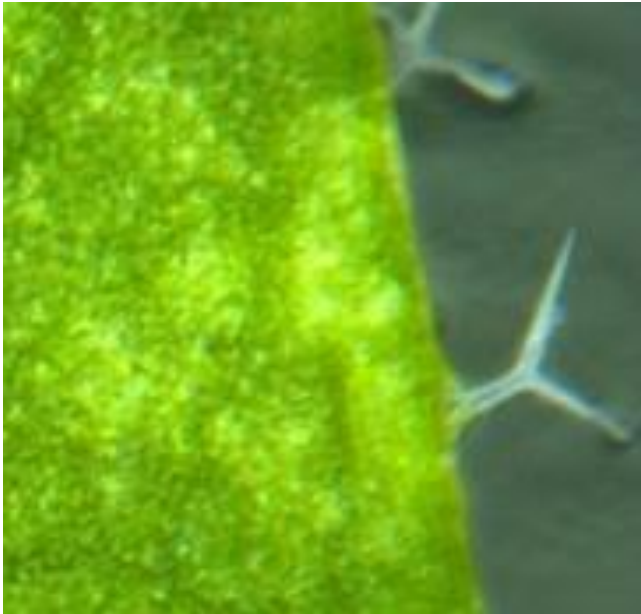
Tworzenie masek i „trening” sieci - odchody



Maski oddzielnie dla górnej i dolnej strony liści

maski odchodów we wszystkich rozmiarach

Tworzenie masek i „trening” sieci - uszkodzenia



Maski oddzielnie dla górnej i dolnej strony liści

maski wyłącznie dla „jasnych” uszkodzeń

A A_1_III_1_K1_14/8 adaxial leaf side BACK

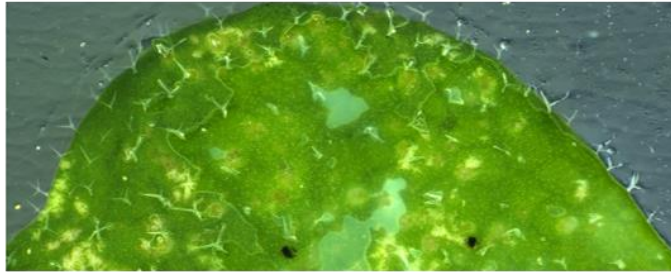
B Results

Damaged area: 1584116	SAVE
Number of eggs: 14	HIDE/DISPLAY MARKS
Egg detection significance level: 0,8	SHOW DAMAGES
Number of feces: 12	SHOW EGGS
Feces area: 7403	SHOW FECES
Feces detection's significance level: 0,5	

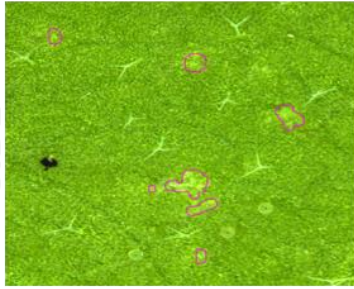
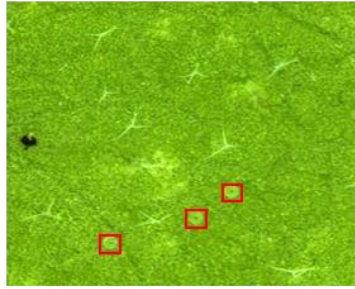
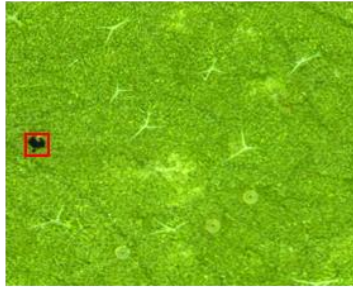
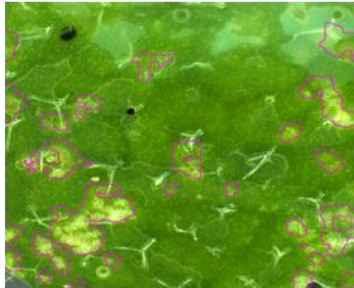

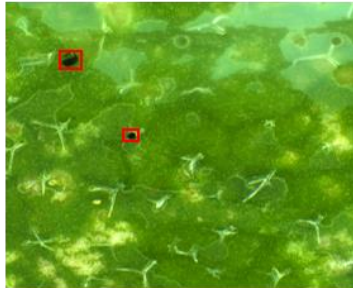
C Expanded view

<< >>

FIT IN WINDOW



D

	FEEDING SYMPTOMS	EGGS	FECAL PELLETS
ABAXIAL SIDE			
ADAXIAL SIDE			

Czy MITESPOTTER jest dokładny/efektywny?

- Walidacja wewnętrzna programu - podział zestawów treningowych na trzy grupy w proporcji 80-10-10 i obliczanie współczynnik IOU (Intersection Over Union) dla poprawnie zdefiniowanych **pikseli**:
 - jaja na stronie abaksialnej liścia (spód) 99%
 - Jaja na stronie adaksialnej liścia (góra) 100%
 - Odchody 98%
 - uszkodzenia 93%
- Walidacja konceptualna dotyczyła porównania detekcji obiektów na liściach nie użytych do wcześniejszych analiz pomiędzy programem i ekspertem.
 - Jaja – program wykrywał w zależności od liścia od 92% to 105% obiektów wykrytych przez eksperta
 - Powierzchnia odchodów: 101% on individual leaves (ułamkowe różnice pomiędzy liśćmi);
 - Powierzchnia uszkodzeń: 96% do 107%

WNIOSKI:

1. Mitespotter działa **równie dobrze jak ekspert** na roślinach rzodkiewnika zaatakowanych przędziorkiem.
2. program można użyć do analizy **dużych** zestawów danych, do których należałoby zatrudnić kilku ekspertów (mogących różnie liczyć).

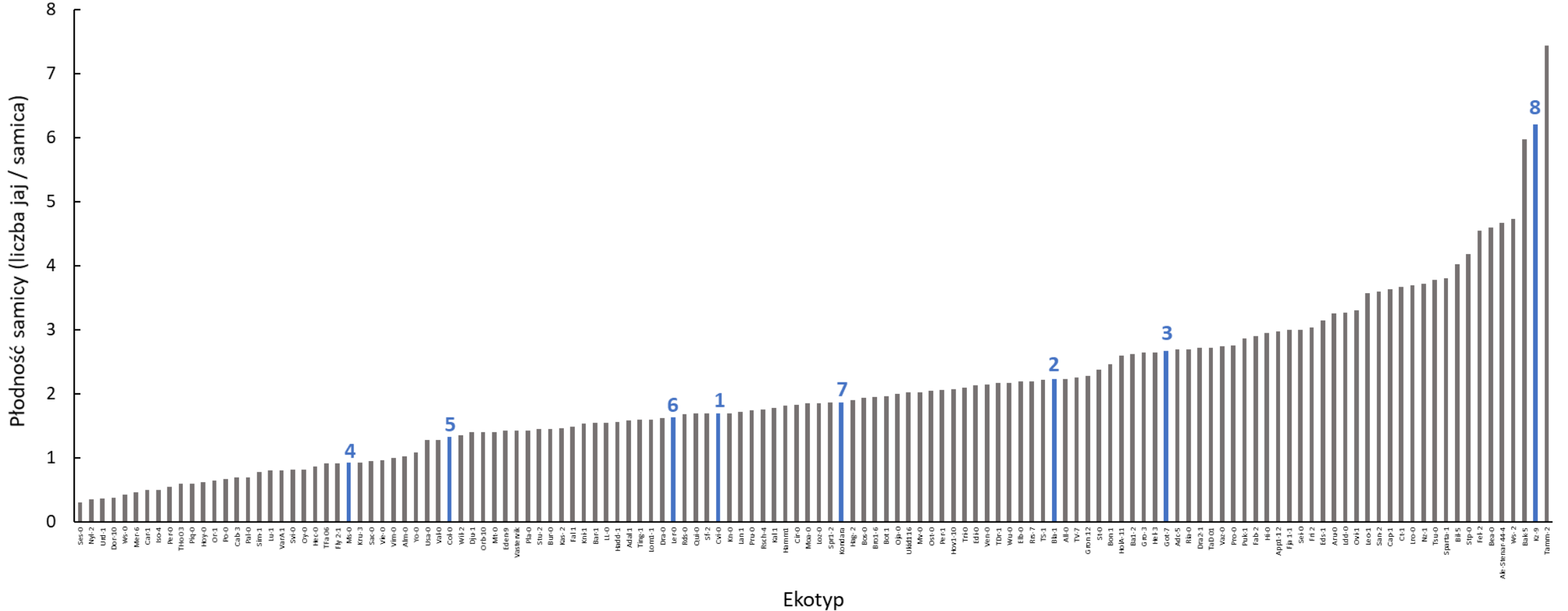
Zastosowanie MITESPOTTERA: Badanie ekotypów rzodkiewnika pospolitego pod kątem podatności na *T.u.*

- zgromadzono nasiona 136 ekotypów (różnicowanie genetyczne)
- Dostępne dane o sekwencjach geneomowych (w ramach projektu 1001 genomów).

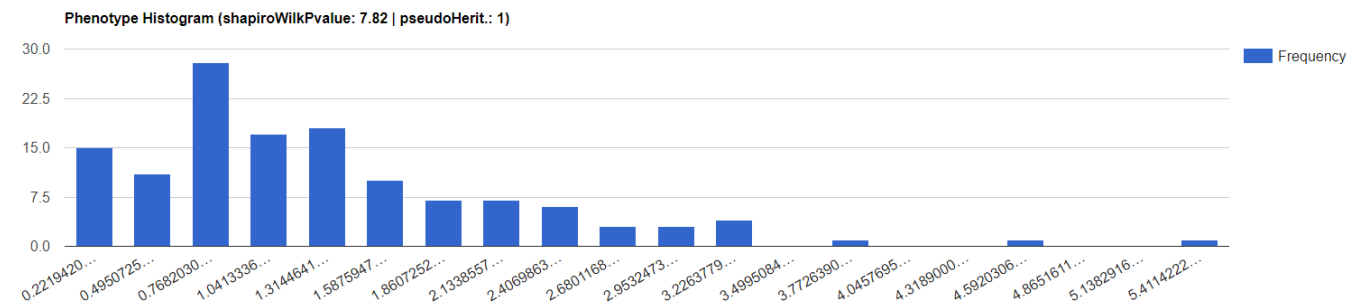
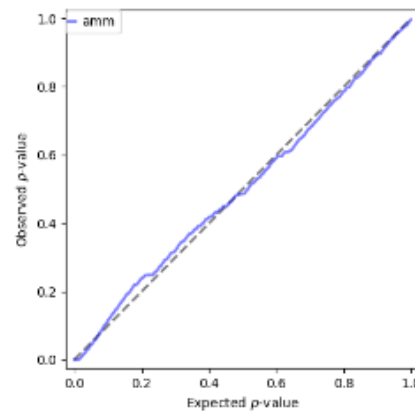
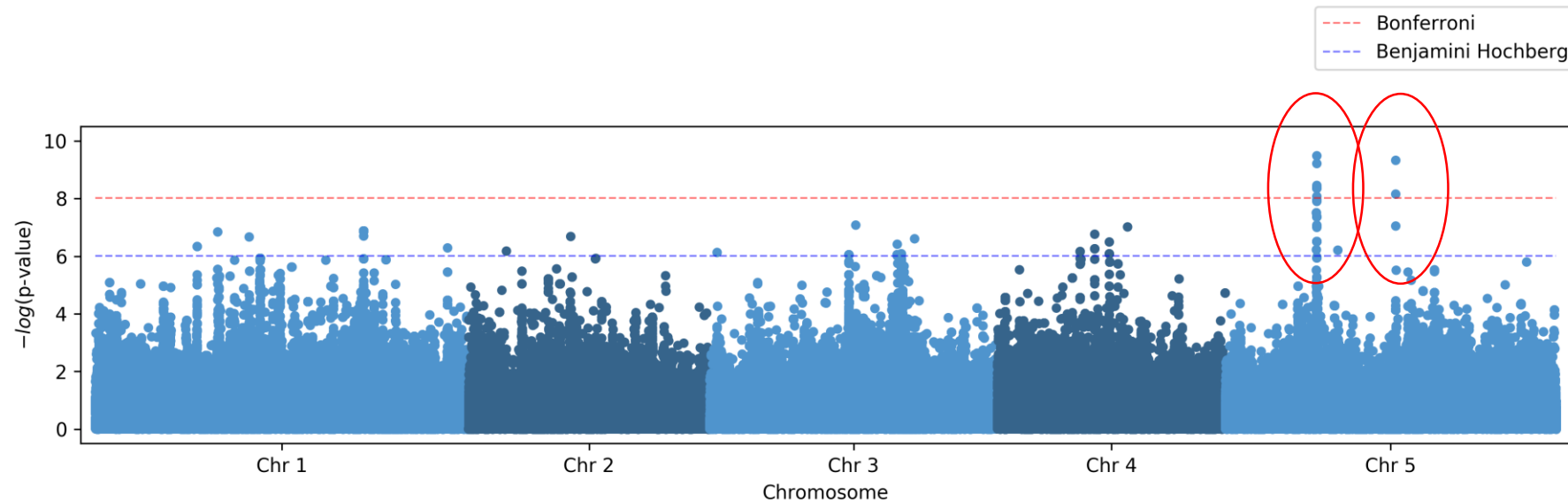


Zastosowanie MITESPOTTERA: Podatność wśród badanych ekotypów

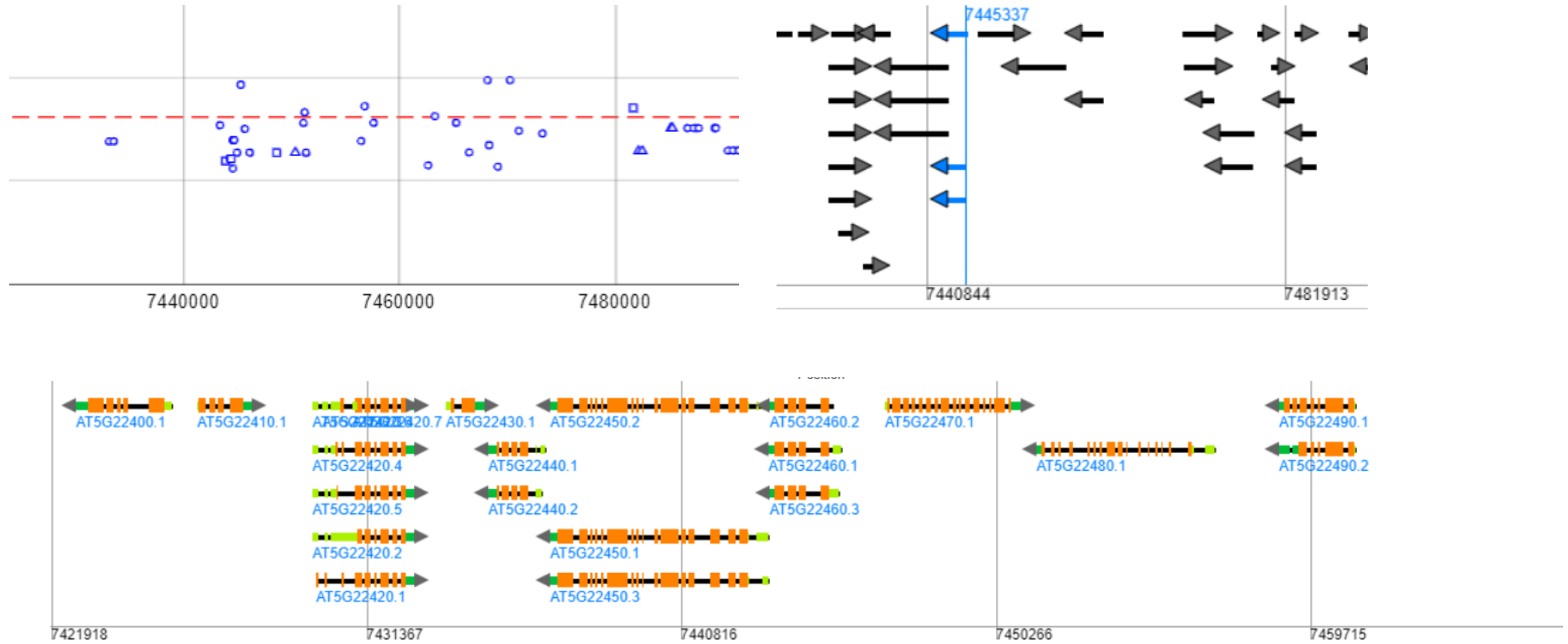
Średnia płodność samicy przedziorka chmielowca



Precyzyjnie zmierzona zmienność cech w populacji zsekwencjonowanych linii pozwala na zastosowanie genonowych analiz asocjacyjnych - GWAS.

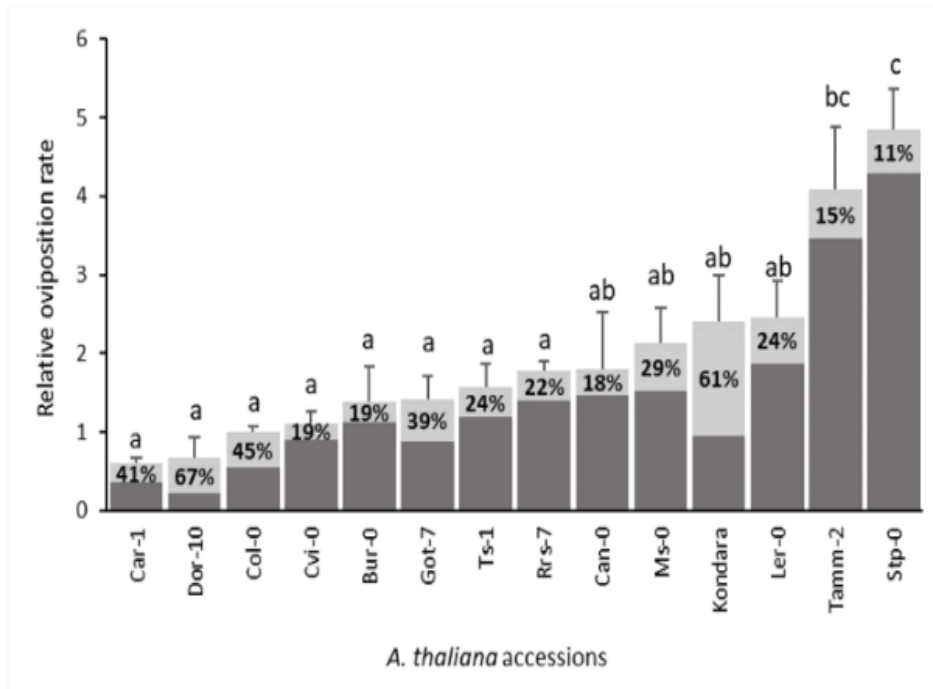


Precyzyjnie zmierzona zmienność cech w populacji zsekwencjonowanych linii pozwala na zastosowanie genonowych analiz asocjacyjnych - GWAS.

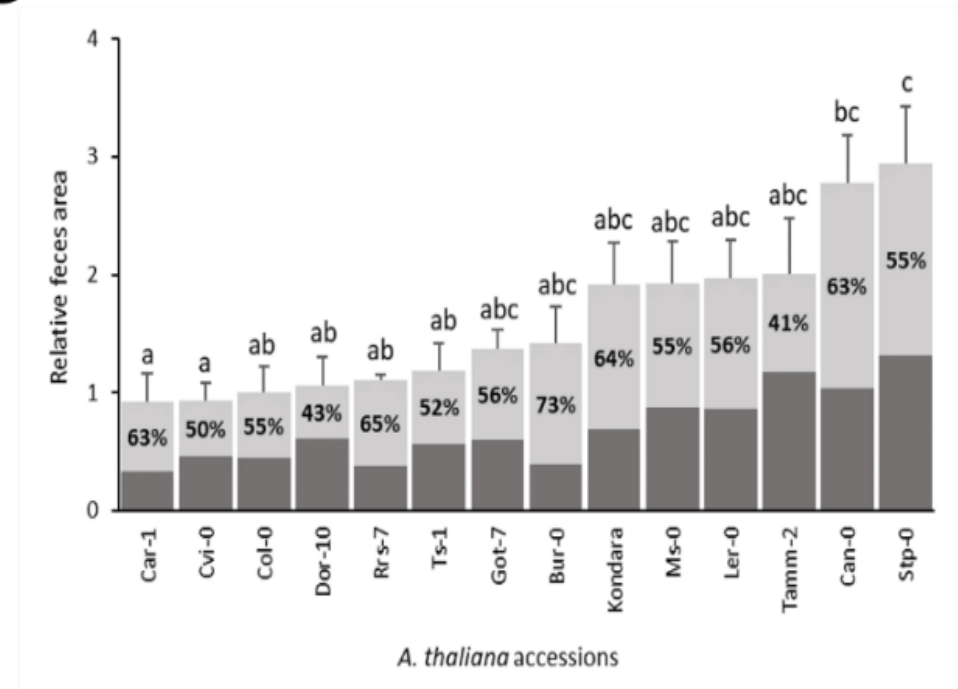


Zastosowanie MITESPOTTERA: Rozmieszczenie jaj i odchodów na stronie liścia

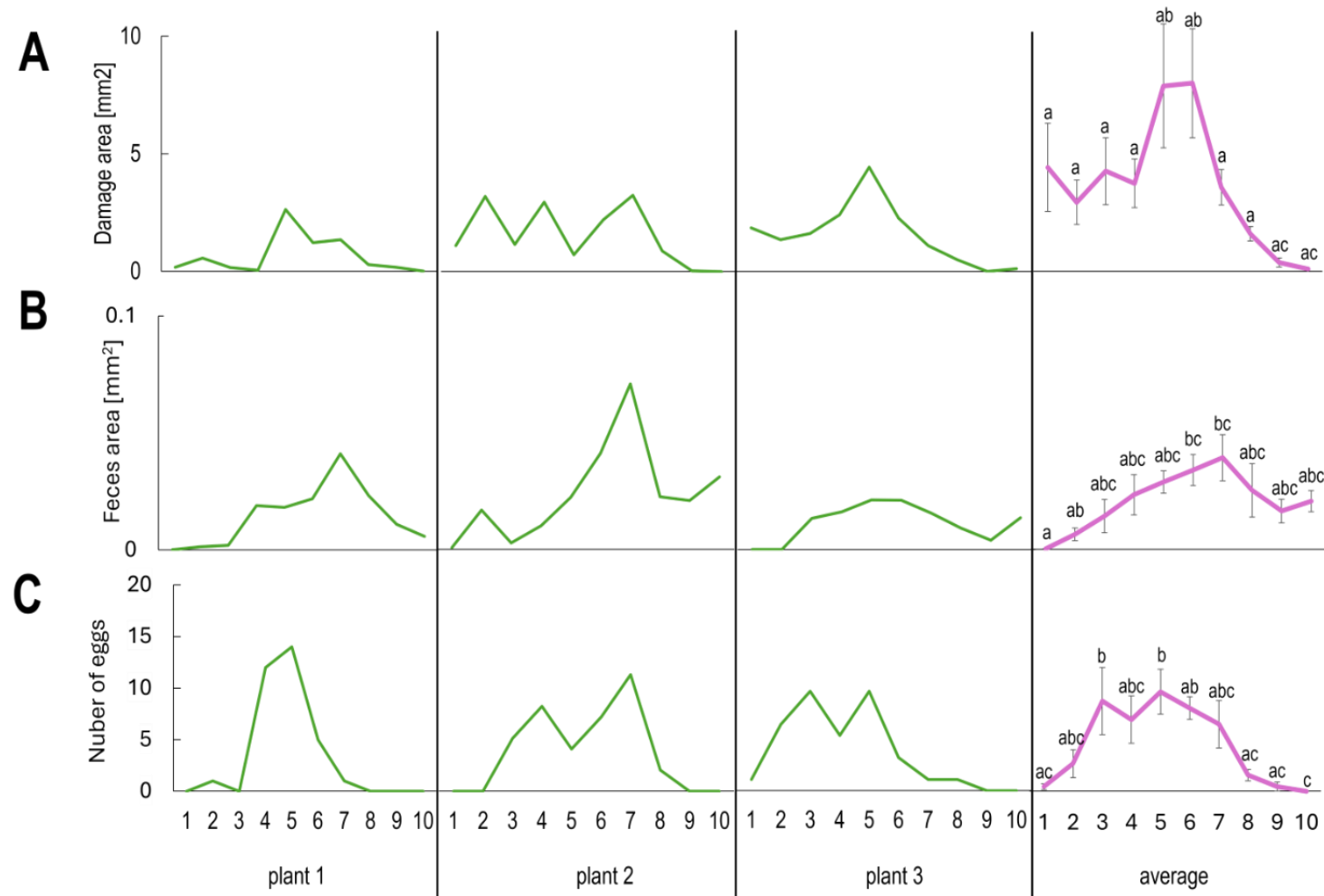
A



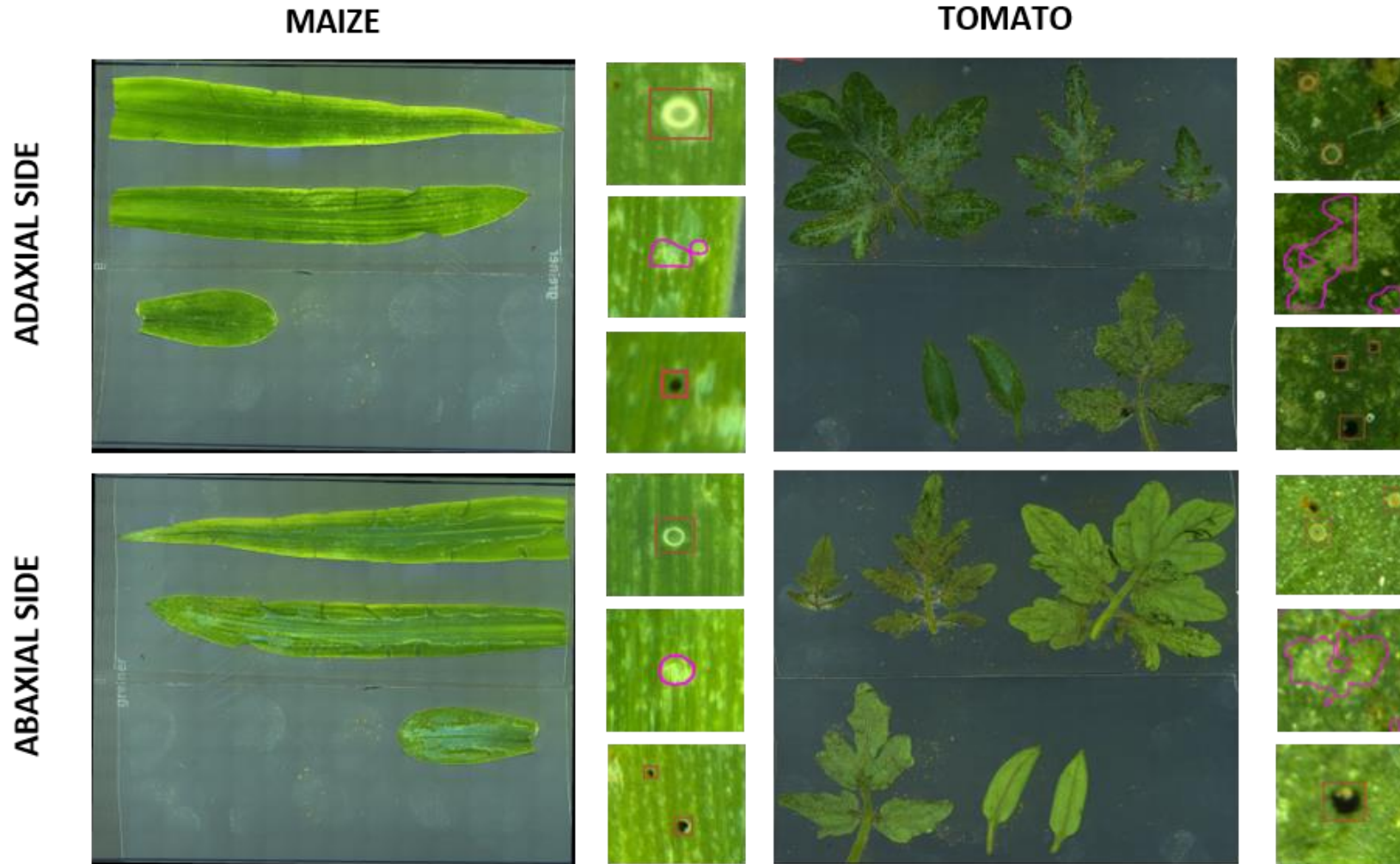
B

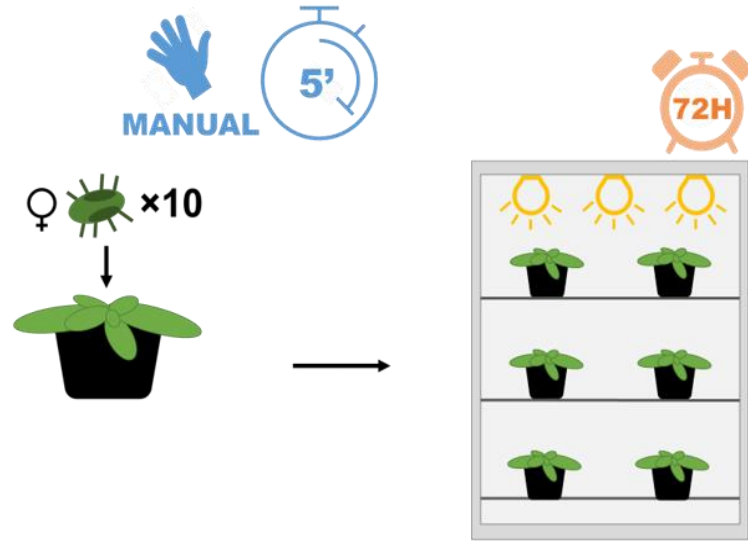
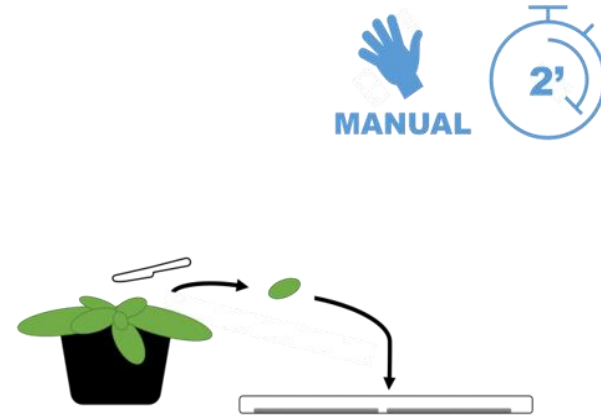
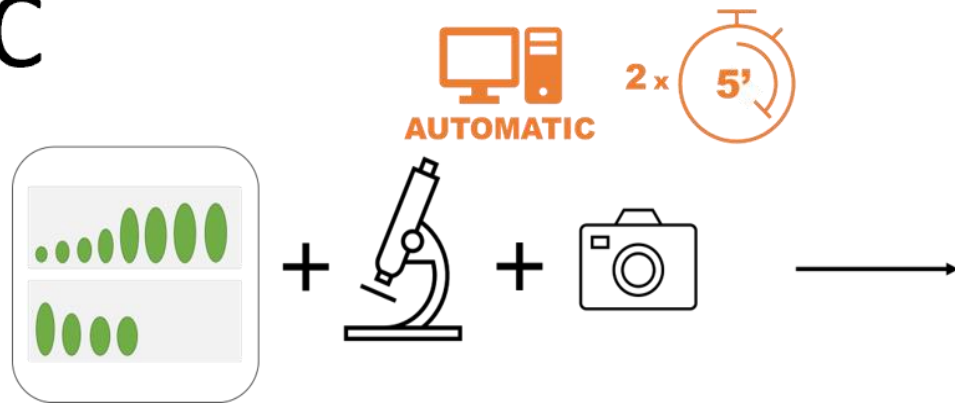
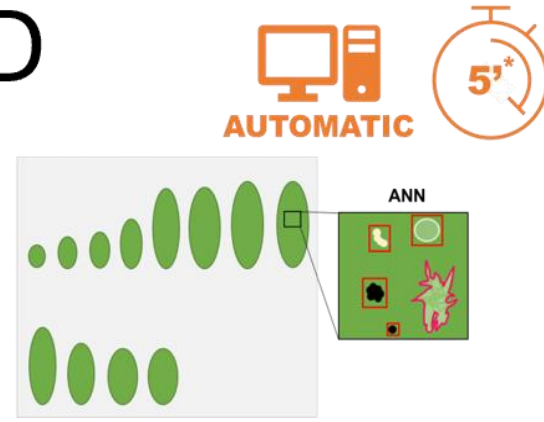


Zastosowanie MITESPOTTERA: Rozmieszczenie objawów na kolejnych liściach rozety – Wiek? Skład? Parastychia?



Zastosowanie MITESPOTTERA: Inne gatunki, inne cechy



A**B****C****D**

Podsumowanie

Czy SI może całkowicie zastąpić eksperta
w analizie obrazów mikroskopowych?

Tak – pod warunkiem, że człowiek go dobrze nauczy.

Zespół i współpracownicy

**Anna Wlazło, Ewelina Złotkowska, Ewa Siedlecka,
Paulina Dziosa, Ewa Iwańska,**

**Anna Barczak-Brzyżek,
Małgorzata Kielkiewicz-Szaniawska, Hanna Załęska**


**Krzysztof Misztal, Jacek Hajto
i inni pracownicy startupu**



diCELLa



NARODOWE CENTRUM NAUKI



Dziękuję za uwagę!