

研 究

画像解析による根長と根の直径の測定—その1. 実践編—

東北大学大学院農学研究科 木村和彦

画像解析で根の長さや直径を測定する方法を考案した。特徴は、1. フリーの画像解析ソフトを使用する(ソフト代が無料)、2. 根の配置による誤差がないので根をランダムに置く必要がない、3. 直径別の長さが求められる、である。”その1”では実際の測定方法を、次号の”その2”では理論を述べることにする。

画像解析装置

ハードウェアはMacintoshである。どの機種でも動作するが、高速なPowerMacintoshを推奨する。RAM(メモリー)は画像サイズの3倍プラス20Mbyte以上必要である。A4サイズで300dpi(0.0847mmピッチ)の画像は約7.6Mbyteであるから、約50MbyteのRAMは必要となる。また、動作の安定性の面から仮想メモリはオフに設定する。

使用するソフトウェアはNIHImageである。これは、米国国立衛生研究所で開発されたもので、各種の画像解析に広く用いられている。オリジナルの入手先は<http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>である。国内では、anonymous ftpでftp.nig.ac.jp/pub/mac/NIH_image/から入手できる。なお、nigのサイトにはNIHImageの日本語マニュアルもある。

マクロプログラムなど

測定のためには著者が作成したマクロプログラムとフィルターファイルが必要である。入手方法は<http://www.tohoku.ac.jp/kimura/>を参照するか、著者に連絡頂きたい。

画像入力装置と入力方法

通常の根長測定のための装置としては、解像度の点からイメージスキャナーが良い。もちろん他の入力装置でも可能であるが、後述の校正が必要となる。

根は、水洗後メチルバイオレットで染色し、水を深さ数mmに入れた透明の亚克力バット上に広げ、このバットをスキャナーに載せ入力を行なう。なお、このままでは画像の背景と根のコントラストが不足するので、照明ユニット(透過原稿アダプター)をつけ上部から照明を当てるとよい。

画像入力は、スキャナーに付属のソフトウェアを用いて行う。取り込みモードは、白黒256階長がよい。解像度は、水稻根を対象とする場合で300dpiは必要である。300dpiは一画素の長さが0.0847mmであり、水稻の場合では一次根の太さは推定できるが、二次根は太さが0.1mm程度であるので正確な太さは解らず一次根との区別ができる程度の解像度である。なお、画像ファイルを保存するときの形式としてはTIFF形式を選択する。

解像度の単位dpiはdot per inchの略で、1インチ(2.54cm)あたりのドット(画素)数を示したものである。この値が高いほど精密な画像が得られるが、長さの計算には300dpiで十分である。解像度を上げると解析に時間がかかる。理論的には解像度を2倍にすると、計算時間は4倍以上になる。

画像解析の前準備

まず、配布されている NIHImage をインストールする。さらに、著者が作成したマクロプログラムと必要なファイルを NIHImage のフォルダーにコピーする。その後、NIHImage が使用するメモリーの割り当てを行う。そのサイズは、画像サイズの 3 倍プラス 300kbyte 程度である。さらに、NIHImage 内部でのバッファメモリーの割り当てを行う。こちらは、画像サイズと同じサイズを割り当てれば良い。設定を有効にするため、NIHImage を終了し再び起動する。この作業は一度行なえばよい。

NIHImage を起動後、Special メニューから LoadMacro コマンドを実行し、著者の作成したマクロプログラムを指定する。これは、NIHImage を起動する毎に行なう。

画像解析での計測—前処理—

NIHImage を起動し、入力した画像ファイルを開く。図 3 のような根の画像ウィンドウが現れる。画像上の十字カーソルをマウスで動かすと Info ウィンドウに X, Y 座標とともに Value に 0~255 の値が表示される。この値は画素値と呼ばれ、色が濃い根の部分は高く逆に明るい背景の部分は低い値を示す。

さて、人間の目では根と背景の部分は認識できているが、コンピュータにはその区別はまだできていない。そこで、画素値がある値（しきい値）以上の部分を根と見なして値を 255（黒）に変換し、それ以下を背景として値を 0（白）に変換する二値化処理を行なう。そのため、Options メニューから Threshold コマンドを指定する。すると、根の画像ウィンドウは白と黒からなる画像に変化する。しきい値は LUT ウィンドウ内でマウスをクリックしながら動かすと変化し、Info ウィンドウの Thresh に値が表示される。根と背景が最もよく分離できる値になったら、Process メニューの Binary コマンド内のサブコマンド Make Binary でしきい値を確定する。これで二値化画像が出来上がる。

実は、しきい値の微妙な違い結果に大きく影響する。とくに、水稻の二次根のような 0.1 mm 以下の根の場合は背景と区別しにくく注意が必要である。著者は、Threshold コマンドの前に DensitySlice コマンドを使っている。これは、選択した画素値の範囲を赤く表示するもので、LUT ウィンドウ内に出てきた赤の範囲の最大値を 254 とし最小値を少しずつ小さくしていく。Binary コマンドでは白と黒しかないが、このコマンドでは元の画像がそのまま見えているので最小値を小さくしていきながら赤の部分が広がり、色の薄い根も徐々に選択される様子が良く分かる。さらに値を小さくしていくとノイズが多くなるので適当な値を選ぶ。ここで選んだ最小値を Threshold のしきい値とする。

以上の操作で得られた画像のノイズが大きかったり細い根が選択できない場合は、画像のコントラストが十分でない場合が多い。その時は、二値化の前に Process メニューの Sharpen コマンドを行なうとしきい値の決定が楽になる。これでもうまくいかない場合は、画像入力時の設定のうち、明度とコントラストを調整して再度画像入力を行なう（図 1 参照）。

画像解析での計測—計測—

計測は、Special メニューに登録されたコマンドで行なう。コマンドの TotalLength は全長だけを求め、Length&Width は根の直径毎の長さを求めるものでフローを図 2 に示す。A4 サイズ、300dpi の画像の解析時間は、著者の Power Macintosh 8500/150 の場合、前者では

数十秒で後者では10分程度であった。後者の場合は、数多くのファイルを自動的に処理するようにマクロプログラムを作成してあり、夜帰宅前にプログラムをスタートさせ朝までには数十の画像ファイルを処理するようにしている（メニューコマンドに登録されている Main を参照）。

1画素の長さはスキャナーの解像度より求めている。しかし、スキャナー以外では1画素の長さを手で入力する必要がある。その場合は、スケールを画像に入力しておいて校正する必要がある。校正は、AnalyzeメニューのSetScaleコマンドを使って行い画像上の指定された二点間の距離を入力すればよい。なお、解像度の単位をdpiにしておくこと。

Length&Calculationの途中経過を図4に示す。結果はResultWindowに表示され、結果の一例を図5に示す。1行目が全長を示し、cm単位で示してある。2行目以降に直径ごとの長さが示してある。右のカラムが直径をmm単位で示し、この値より直径が大きいものの長さが真ん中のカラムに示してある。左のカラムには真ん中のカラムの値の直前の値との差が示してあり、例の場合では、直径が0~0.08mmの根が16.10cmあることになる。以下は同様である。

画像解析の精度

誤差は各段階で生ずる。最初の段階でかつ大きな問題は、画像入力時に根同士が接触である。完全な交差は問題がないが、広い範囲での接触は当然短く測定される。

次の段階は二値化のいき値の決定であり、これについては既に述べた。

解析そのものの精度は根長については0~3%の誤差が予想されるが、これはある方向に揃えて並べた場合であり実際の測定での誤差はほとんど無いと考えてよい。例えば、図4.9では根はランダムに置かれていないが誤差は1%程度である。従来のライン交差法などのランダムな配置が前提の方法では、角度による誤差が-20~+10%程度ある。

直径の解析の精度は、二つの問題点がある。一つは、解像度が根の直径に対して粗い点であり、具体的には先に述べた通りである。これは、画像入力時の解像度を上げることで解決するが、必要メモリーも解析時間もかなり必要になる。もう一つは、直径の解析の前提が根のランダムな配置でありそのため、-20~+10%の誤差がある点である。解決には、根の直径でもランダムな配置を前提としない計算方法が必要がある。現在、著者はその方法を開発中であり、別の機会に発表したい。

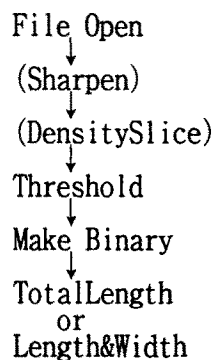


図1. 画像解析のフロー

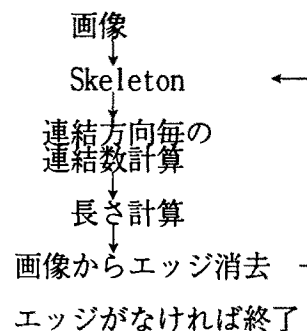


図2. マクロプログラムのフロー

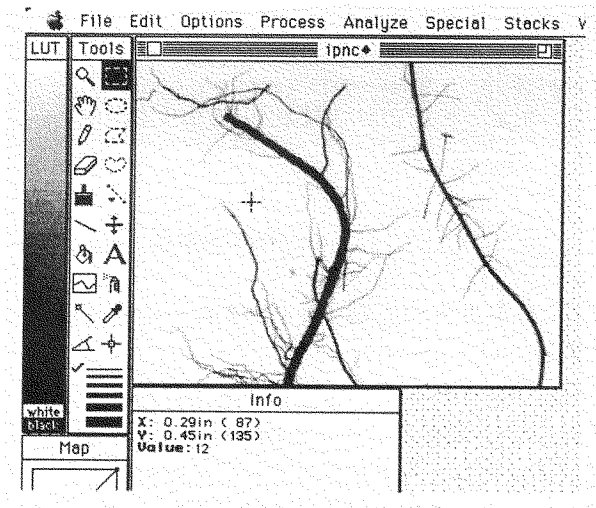


図3. 画像を読み込んだところ

Results			
	Length	TotalLeng	Width
1.	27.58	27.58	0.00
2.	16.10	11.48	0.08
3.	6.54	4.94	0.15
4.	2.80	2.14	0.30
5.	0.27	1.87	0.45
6.	1.48	0.40	0.60
7.	0.40	0.00	0.75
8.	0.00	0.00	0.00
9.	0.00	0.00	0.00
10.	0.00	0.00	0.00
11.	0.00	0.00	0.00
12.	0.00	0.00	0.00
13.	0.00	0.00	0.00
14.	0.00	0.00	0.00
15.	0.00	0.00	0.00
16.	0.00	0.00	0.00
17.	0.00	0.00	0.00
18.	0.00	0.00	0.00
19.	0.00	0.00	0.00
20.	0.00	0.00	0.00

図5. 結果の表示

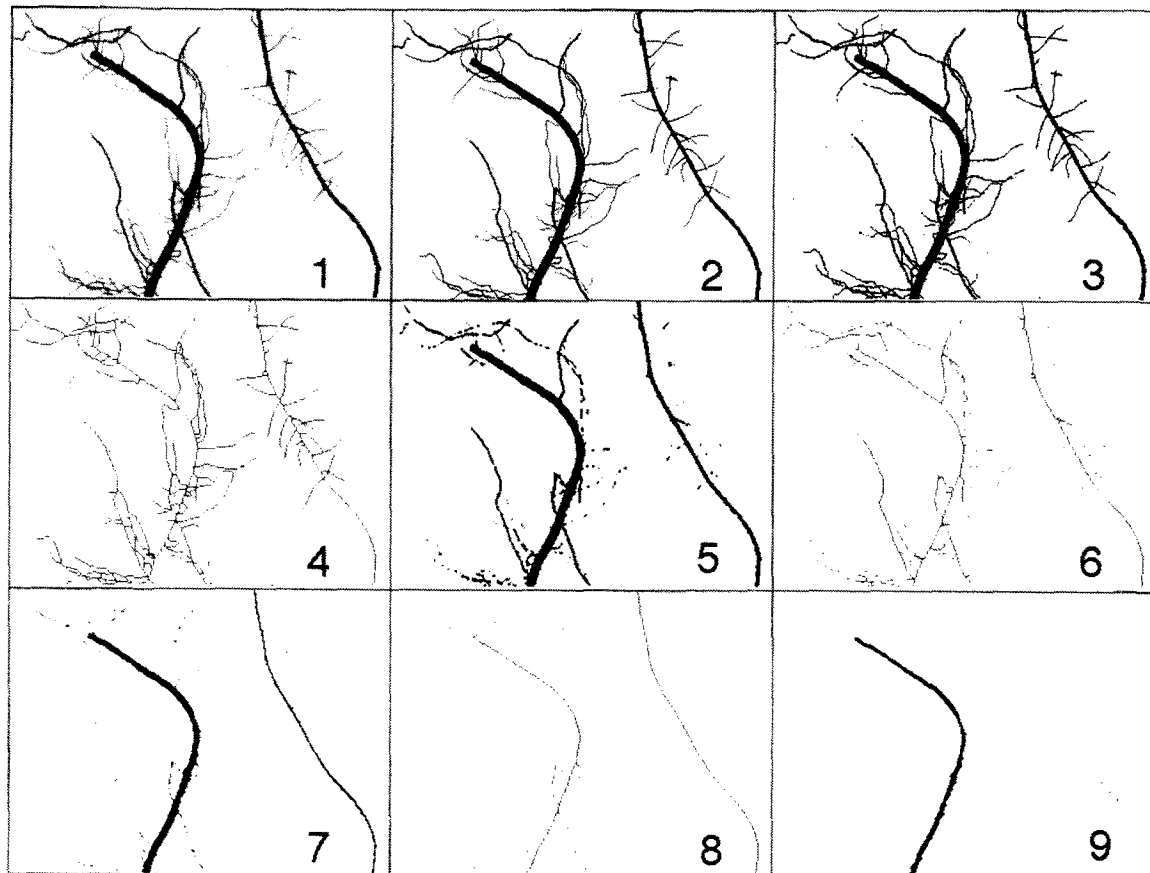


図4. 解析の経過 (1.読み込んだ画像、2. sharpen 処理、3. 二値化、4. 細線化
5. エッジ消去後、6. 細線化後、7. エッジ消去後、8. 細線化、9. エッジ消去)