# 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と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 Power Macintosh 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/ http://www.agri.tohoku.ac.jp/soil/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 に入れた透明のアクリルバット上に広げ、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2 56 階長がよい。解像度は、水稲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、水稲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。

# 画像解析での計測ー前処理ー

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Va lue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、水稲の二次根のような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、Thereshold 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 ウィンド内に出てきた赤の範囲の最大値を 254 とし最小値を少しづつ小さくしていく。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くにしたがって赤の部分が広がり、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 Sharp en 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)。

# 画像解析での計測ー計測ー

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

# 根の研究(Root Research) 7, 8-11 (1998)

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 Mai n 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るため、-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。

File Open 画像 (Sharpen) Skeleton 連結方向毎の (DensitySlice) 連結数計算 Threshold 長さ計算 Make Binary 画像からエッジ消去 ┘ TotalLength エッジがなければ終了 or Length&Width 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)

根の研究	(Root	Research)	7,	8-11	(1998)
------	-------	-----------	----	------	--------

		Results		
	Length	TotalLeng	Hidth	<b>A</b> .
1.	27.58	27.95	0.00	
2.	16.1D	11.48	0.08	
а.	6.54	4.94	0.15	
4.	2.80	2.14	0.30	
5.	0.27	1.87	0.45	
6.	1.40	0.40	0.60	
7.	0.40	0.00	0.75	
а.	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	
95.	0.00	0.00	0.00	
17.	0.00	0.00	0.00	
19.	0.00	0.00	0.00	
19.	0.00	0.00	0.00	
20.	0.00	0.00	0.00	
				Ŧ
4				- PD

図5. 結果の表示