

画像解析による根長と根の直径の測定—その2.理論編—

東北大学大学院農学研究科 木村和彦
kimura@bios.tohoku.ac.jp

画像解析で根の長さや直径を測定する方法を考案し、前号の“その1”では実際の測定方法を解説した。“その2”では理論を述べ、さらにその1で足りなかった点について補足する。

根長の測定原理

これまでの方法は、ランダムな配置を前提にしていたので配置による誤差が大きかった。これに対し、本方法ではランダムな配置の必要性をできるだけ小さくし、根の配置による誤差を非常に少なくしたことが特長である。以下、これまでの方法も解説しながら原理について述べる。

一本の直線 AB を図 1.1 に示した。正方形の一つ一つは画素と呼ばれ、単純にはディスプレイ上の点の一つと考えていただきたい。画像で直線を表すのはこの画素の集まり (■) である。これらの画素は連続しており、ある画素と隣の画素との連結を、縦横 (●) および斜め (○) に分類し、それぞれをまとめて再配置を行ない (図 1.2)、斜め方向の連結数 N_d と縦横方向の連結数 N_o を基に直線 AB の長さを推定する方法を考えることにする。

ピタゴラスの定理から求める長さを L_1 とすると、下記の式で表される。

$$L_1 = [N_d^2 + (N_d + N_o)^2]^{1/2}$$

この方法は間違いがないのだが、後に述べる欠点があるので実用的ではない。

最も単純な方法は、 $(N_d + N_o)$ から推定するものである。これは、画素数だけから推定する方法と本質的には同じであり、この方法での長さを L_2 とすると下の式で計算される。

$$L_2 = 1.1107 (N_d + N_o)$$

係数の 1.1107 は直線があらゆる方向に(実質は $0 \sim 45^\circ$)ランダムにあるとの仮定で導かれ (Dorst and Smeulders, 1987; Smit et al., 1994; Tanaka et al., 1995)、方向性は考慮されていない。

そこで、斜めの成分と縦横の成分に分けた方法が考案され、代表的な方法での長さ L_3 は、

$$L_3 = 0.948[\sqrt{2} N_d + N_o]$$

で表される。 $[\sqrt{2} N_d + N_o]$ は直線 AD の長さや直線 DB の長さの和であり、フリーマンのチェーンコード長さとも呼ばれている。このままでは明らかに過大評価するので、やはりランダムな配置を前提として補正を行なったのが L_3 である (Kupla, 1977)。

今回考案した方法は、直線 BD の中点 E を用いて、長さを $AE + EB$ で表すものである (図 1.3)。すなわち、長さを L_4 とし、下の式で表す (Kimura et al., 1997)。

$$L_4 = [N_d^2 + (N_d + N_o/2)^2]^{1/2} + N_o/2$$

L_2, L_3, L_4 の方法で求めた一本の直線の長さの角度による違いを図 2 に示した。 L_4 の方法はほとんどの場合過大だが、誤差が最も少ないことが解る。この方法では、極端な場合には方向を揃えてサンプルを配置しても誤差は最悪でも 3% にすぎない。さらに、サンプルを揃えて並べる場合は、根をスキャン方向に水平あるいは垂直に並べれば理論的な誤差がない。従って、画像入力時に根を並べる方向に気をを使う必要性はほとんど無く入力の手間が非常に楽になる。

さて、次に L_1 の欠点を直線が 2 本の時で考えてみる。 L_1 で考える場合は、まずそれぞれの直線に分離した上でそれぞれの長さを計算しなければならない (例えば、図 3.1 での AF と FB)。しかし実際の根を考えた場合、どこからどこまでを直線とするのかの判定が非常に困難なため L_1 で考えるのは無理である。もし、直線に分離することなく適用すると (Pan and Bolton, 1991)、過少評価することになる。図 3.2 で示すと、二本の直線を分離せずに長さを求めると直線 AB の長さを求めることになり、明らかに $AF + FB$ の長さよりも短いことがわかる。Pan and Bolton の論文でもこの欠点は指摘されており、斜めの画素の頻度が同じになるようにサンプルを配置しこの誤差が出ないようにしなさいと述べている。

直径の推定の原理

これまで、直径の最大値(Lebowitz, 1988)や平均値(Pan and Bolton, 1991)を求める方法が提案されてきた。根は直径の異なるものが混在しているので、直径毎の長さを求めることが望まれる。ライン交差法を長さだけでなく直径の測定にも利用した方法も提案されている(Kirshhhof, 1992)。しかし、直径を根があるラインを交差した画素数から長さを求めており、過大評価の可能性が大きいかつ配置による誤差が大きいという問題点があった。

今回採用した方法は、エッジ消去を繰り返せば直径が細いものから消去されるということに基づいている。エッジとは、対象物（ここでは根）の画素のうち縦あるいは横の画素に背景を持つもので定義される。何回かエッジ消去を繰り返せばある直径以下の画像は消え、残った画像の根はある直径より大きいものであり、その画像の長さはある直径より大きい根の長さとなる。これを順次繰り返せば、直径毎の長さがわかることになる。

繰り返したエッジ消去の一例を図4に示した。図4.4で3回エッジ消去を行なっているが、ここで画像が消える。この直径 W は、 Θ が $0 \sim 45^\circ$ の時に a をエッジ消去で消去される長さとして以下の式で求められる。

$$W = \text{abs}(a \times \cos \Theta)$$

配置によって Θ が異なるが Θ を推定する良い方法がないのでランダムな配置を前提として考え、平均的な $\cos \Theta$ として 0.900 を用いた。これは、L2 での係数 1.1107 の逆数に相当する。また、1 度のエッジ消去では 2 画素分が消去されると考えてよい。従って n をエッジ消去の回数とすると下式になる。

$$W = 2 \times n \times 0.900$$

この式の問題点はランダムな配置を前提としているので角度による誤差が大きい点であり、図2のL2と同様な誤差がある。現在、この点を改良した方法を開発中である。

なお、上の考え方に従えば最小の幅は 2 画素分であるが、最小の線幅が 1 画素分のものを別に認識するようにプログラムを追加してある。前号の図4.5を見ていただくとエッジ消去ではなく、線幅が 1 の物だけが消えていることがお解りいただけるであろう。

直径の推定の場合の分解能は、300dpi(0.0847mm ピッチ)の画像で $0.0847(\text{mm}) \times 2 \times 0.9 = 0.15(\text{mm})$ 程度である。改良した方法を用いれば、解像度は向上するがそれでも 0.08mm 程度である。水稻の一次根の直径は約 0.5 mm、二次根のそれは 0.1mm 程度であり、直径を正確に求めるには解像度は十分とは言えない。これは、入力装置にイメージスキャナーを使う限界である。しかし、一次根と二次根それぞれの長さを求めるのには十分な解像度であると考えている。

前号の補足

問い合わせの多い点について、補足をさせていただきます。

まずこの画像解析を Windows で行なう方法については、アメリカの SCION Corporation が作成している NIH Image の windows 版、Scion Image を推奨する。現在、Beta2 version が出ている(~~http://www.scion.com~~ <http://www.scioncorp.com> 参照)。私が作成したマクロはそのままでは動かず、若干の変更を行なう必要がある。詳細は、<http://www.bios.tohoku.ac.jp/kimura>

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/soil/kimura> をご覧頂きたい。ただし、完全に動く保証はないのでご了承ください。

イメージスキャナー以外の入力方法、例えば顕微鏡写真や CCD カメラからの入力画像について問い合わせを頂いている。これらの画像でも、通常の画像形式で保存してあれば OK である。ただし、画像の解像度の校正を行なう必要がある。それには、予め画像にスケールを写しておき、SetScale コマンドで校正を行ない単位を Inches にして保存しておけば良い。

引用文献

- Dorst L and Smeulders A W M. 1987. Length Estimators for Digitized Contours. *Comput Vis Graph Im Proc* 40:311-333.
- Kimura K et al. 1997. Measurement of root length and width using image analysis system. *In Plant nutrition for sustainable food production and environment*. Eds. Ando T et al. pp 683-684. Kluwer Academic Publishers.
- Kirchhof G. 1992. Measurement of Root Length and Thickness using a hand held computer scanner. *Field Crops Res* 29:79-88.
- Kulpa Z. 1977. Area and Perimeter Measurement of Blobs in Discrete Binary Pictures. *Comput Vis Graph Im Proc* 6:434-454.
- Lebowitz R J. 1988. Digital image analysis measurement of root length and diameter. *Environ Exp Bot* 28:267-273.
- Pan W L and Bolton R P. 1991. Root Quantification by Edge Discrimination Using a Desktop Scanner. *Agron J* 83:1047-1052.
- Smit A L et al. 1994. Automated measurement of root length with a three-dimensional high-resolution scanner and image analysis. *Plant Soil* 158:145-149.
- Tanaka S et al. 1995. Easily Accessible Method for Root Length Measurement Using an Image Analysis System. *Jpn J Crop Sci* 64:144-147.

参考文献

- Box J E J. 1996. Modern Methods for Root Investigations. *In Plant roots:the hidden half*. Ed. Waisel,Y, Eshel,A and Kafkafi,U. pp 193-237. Marcel Dekker, New York.
- Chikushi J et al. 1990. A new method for measurement of root length by image processing. *Biotronics* 19:129-135.
- Dowdy R H et al. 1995. Quantification of the length and diameter of root segments with public domain software. *Commun Soil Sci Plant Anal* 26:459-468.
- Harris G A et al. 1989. Automated Quantification of Roots Using Simple Image Analyzer. *Agron J* 81:935-938.
- Rasband W S et al. 1995. A public Domain Image Processing Program for the Macintosh. *Microbeam Analysis Society Journal* 4:137-149.
- Russ J C. 1994. *The image processing handbook*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton. p 155.
- Smucker A J M et al. 1987. Image Analysis of Video-Recorded Plant Root Systems. *In Minirhizotron Observation Tubes: Methods and Applications for Measuring Rhizosphere Dynamics*, ASA Special Publication no. 50. Ed. Taylor H M. pp 67-80. American Society of Agronomy, Madison.
- 村上敏文, 米山忠克. 1988. 画像解析法を利用した根長の測定. *NARC 研究速報* 5:33-37.