

根長測定への画像処理の応用

誌名	農業氣象
ISSN	00218588
著者	長野, 敏英 原, 道宏
巻/号	44巻1号
掲載ページ	p. 1-6
発行年月	1988年6月

根長測定への画像処理の応用

長野敏英*・原 道宏**

(* 東京農業大学総合研究所
** 岩手大学農学部)

An Application of Computer Graphics
for Root Length Measurement

Toshihide NAGANO * and Michihiro HARA **

(* NODAI Research Institute, Tokyo University of Agriculture,
Tokyo 156
** Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020)

1. 緒 言

植物の根の形態あるいは養分吸収に関する問題を取り扱う場合、根長を測定する必要が生じてくる。根長の測定方法としては直接的及び間接的方法がある。直接的方法としては、物差し等で一本一本の根を直接測定する簡単な方法、また間接的方法としては、シャーレ等に根を分散させ統計的手法によって根長を測定するニューマン法(Newman, 1966; Marsh, 1971; Rowse・Phillips, 1974)などがある。しかし、植物1個体の根長が数十メートル、数百メートルに及ぶ場合には、何れの方法を用いても非常な労力と時間を要し、根長測定は今なお困難な問題として残されている。

最近コンピュータを用いた画像処理装置が広く利用されるようになってきた。すでにコンピュータを用いての根長測定については Baldwinら(1971)、Voorheesら(1980)の報告があり、コンピュータ処理は精度的にも時間的にも非常に有効であるとの報告がなされている。しかしコンピュータを用いて根長測定を行なった場合、試料形態あるいはコンピュータ処理方法にともなって生じてくる測定精度についての重要な問題は十分に明らかにされていない。そこで本実験は画像処理装置による根長の測定方法、およびその測定精度について検討を行なった。

2. 材料および方法

根長の測定原理にはニューマン法を使用した。この方法は試料を試料皿に分散させ、さらにその上に既知長の針あるいは糸を分散させ、試料と針との交点数を求めれば試料皿中の全試料長は統計的に次式を用いて算出できる(Newman, 1966)。

$$R = \frac{\pi NA}{2H} \quad (1)$$

ここで、 R : 試料の全長

A : 試料皿の面積

N : 試料と針との交点数

H : 針の全長

測定方法は非常に簡単であるが、試料と針との交点数を数える作業に時間を要し、ニューマン法を使用する場合の一つの問題点となっている。そこで本研究では、ニューマン法を使用する場合、最も問題となる針の散布および試料と針との交点数のカウントに関する処理を画像処理装置(日本電気RSIPS-MS)を用いて行なった。画像処理システムによって多少異なってくるが、一般的な測定手順は次のようになる。

- 1) 供試体から根を取り出す。
- 2) 水を張った分散皿に根を分散させる。この際、できるだけ根の重なりがないように注意する。
- 3) 根の画像試料を作成する。画像データはテレビカメラまたはドラムスキャナから入力する。テレビカメラの場合には直接試料分散皿から根の画像データ

が入力できる。しかしドラムスキャナの場合には、分散皿上の根を写真あるいはフィルムに撮る必要がある。方法としては写真撮影、あるいは分散皿の底面が透明であれば、分散皿を直接複写機上に載せてコピーすれば画像試料が作成できる。この画像試料を作成する場合、必要に応じて根の染色あるいは背景の色を選択すれば、根と背景とのコントラストが強調でき、後の画像データの2値化処理に有利である。

4) 画像試料をコンピュータに入力する。画像データを2値化し、根と背景とを分離し試料長を測定する。

画像処理装置による測定は、針を散布させる代わりに画像処理装置の走査線(カラム軸)を針の代用として用い、試料と走査線との交点数をコンピュータでカウントし、(1)式を用いて試料全長を算出するシステムとした。実験に供した試料は実際の植物根の太さに合わせて直径0.3 mmの銅線、およびペンで描いた直線試料を用いた。シミュレーションによる検討は直線試料について行なった。方法は直線試料の長さ(L_n)、および試料が走査線(x 軸)になす傾斜角(θ_n)を測定し、直線試料の y 軸への投影長($\sin \theta_n \cdot L_n$)を求め(1)式から試料の長さ求めた。この場合、交点数を実数型として取り扱っているので走査線間隔は無限に密であると見せる。

3. 結果および考察

3.1 シミュレーションによる検討

ニューマン法は理論的に試料が円のように傾斜角が 0° から 360° まで均等に分布する場合に正しい値を与える。しかし根等の一般試料は傾斜角均等性に関する条件を満たしていない。したがって、ニューマン法を用いてこのような試料の測定を行なった場合、試料の置き方すなわち試料と走査線との傾斜角によって、同一試料に対しても異なる測定結果が得られる可能性がある。円は最も理想とする試料形態であるが、これとは対照的に傾斜角均等性の条件が全く満たされていない1本の直線試料についてシミュレーションによる検討を行なった。試料は 1° 刻みで回転させ、計測長の変化を求めた。その結果、一本の直線では、試料の置き方によって測定値は実長の0倍から $\pi/2$ 倍までの広範囲に分布した。そこで試料の置き方による測定値の大きな変動に対して、なんらかの対応策が必要になってくる。一つの解決策として試料を一定角度の刻みで回転させ、それぞれの位置で測定し、その測定値の平均値を求める。すなわち回転操作によって人為的に試料の傾斜角均等性の条件を高める方法が考えられる。この点に関して、1本の直線試料を用いて検討

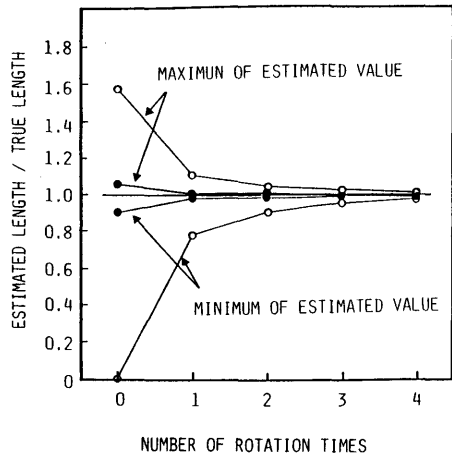


Fig. 1 Relationship between number of rotation times and estimated average value. The figures on the abscissa axis indicate the varying degrees of rotation of the sample image at which measurements were taken. Position 0 shows one time measurement of sample in the original position. Position 1 shows the average of 2 time measurements taken after rotating the sample 90° . Position 2 shows the average of 3 time measurements after rotating the sample 60° . Position 3 shows the average of 4 time measurements taken after rotating the sample 45° . Position 4 shows the average of 5 time measurements taken after rotating the sample 36° .

○—○ : a straight line
●—● : the sample that is showed in Fig. 2

を行なった。その結果をFig.1の白丸で示す。

すでに述べたように走査線方向が1方向であれば、試料の置き方によって測定値は実長の0倍から $\pi/2$ 倍まで変化する。しかし走査線の方向を2方向、すなわちある位置で測定し、次に試料を 90° 回転させ測定すれば、この2方向の測定値の平均値は、試料の置き方に関係なく実長の0.79倍から1.11倍の範囲に収まった。さらに試料を 60° 刻みで回転させ3方向で測定すれば、その平均値は実長の0.91倍から1.05倍の範囲内に収まった。この結果は、最も測定に適していない1本の直線試料でも、試料を回転させることによって、十分な精度で測定できることを示している。

次に、実際の試料にやや近いFig.2に示す線分試料(全長60.3 cm)についてシミュレーションによる検討を行なった。

結果をFig.1の黒丸で示す。走査線が1方向の場合でも測定値の変動幅は小さく、試料をどの様に置こうとも

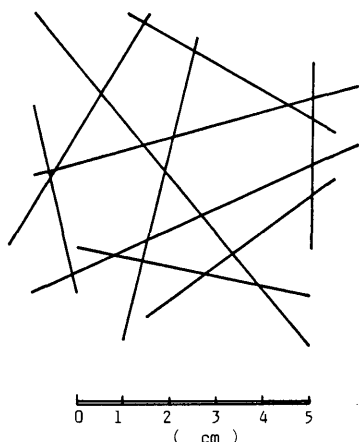


Fig. 2 The sample of straight lines that is used for the length measurement. The real length of sample is 60.3 cm.

測定値は実長の0.80倍から1.18倍の範囲内に収まる。試料を回転させ走査線を2方向とすれば、測定値は実長の0.97倍から1.03倍の間に収まり、測定精度は最悪の場合でも±3%の誤差内で計測可能であることを示している。走査線の方向をさらに3方向、4方向とすれば測定精度は更に上昇する。Baldwinら(1971)は画像処理装置(Quantimet)を用いて試料を20°刻みで回転させ、その平均値から試料長を求めた。しかし、Fig.1からも分かるように、走査線を1方向から2方向にした場合の改善度が最も顕著である。

3.2 画像処理装置による測定

画像処理装置を使用して円試料の測定を行なった。走査線間隔を変化させた場合の試料と走査線との交点数および計算結果をTable 1に示す。

走査線間隔によって測定値は異なってくるが、走査線間隔がある程度密であれば、正確な測定結果が得られる。Voorheesら(1980)はトウモロコシ・大豆の根長をコンピュータを用いて測定している。走査線は1方向であるが、精度の良い結果が得られたと報告されており、試料形態によっては走査線が1方向でも支障ないことを示している。

Table 1 The results measured for a circular sample of which the circumference is 13.3 cm.

DISTANCE BETWEEN SCANNING LINES : (cm)	NUMBER OF INTERSECTIONS :	ESTIMATED LENGTH (cm)
0.02	407	12.79
0.10	81	12.65
0.20	40	12.37
0.50	16	12.26
1.00	8	11.70
1.50	5	11.49

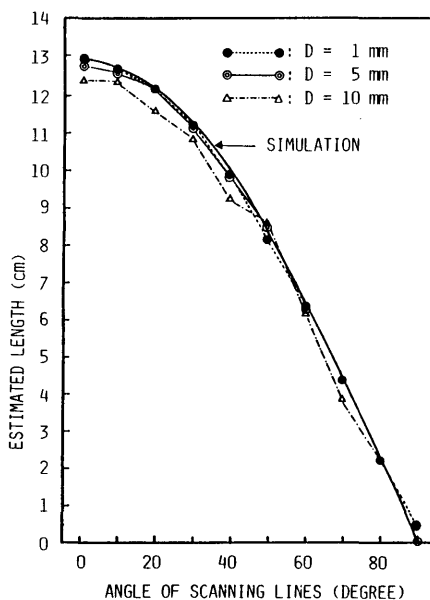


Fig. 3 Effects of rotating the scanning line on the measured value for a straight line. The continuous curve shows the value that is obtained theoretically. D is the distance between scanning lines. The sample length of line is 8.3 cm.

次に、画像処理装置を使用して1本の直線試料(長さ8.3 cm)の測定を行なった。試料を0°から90°まで10°刻みで回転させた場合の測定結果をFig.3に示す。

画像処理装置を使用する場合、走査線の方向を変化させることは困難である。そこでコンピュータに取り込んだ画像を回転させ、見かけ上走査線方向を変化させた。走査線間隔が疎になるに従って、測定値のバラツキは大きくなった。走査線に対して試料を垂直に置いた場合、測定値はシミュレーションの結果と同様に実長の約 $\pi/2$ 倍になった。走査線間隔を密にすることによって実際上・理論上精度は上がってくる。Fig.3の結果は、走査線間隔を5 mmとして処理しても精度上問題ないことを示している。次にFig.2に示した10本の直線試料の画像処理を行なった。その結果をFig.4に示す。

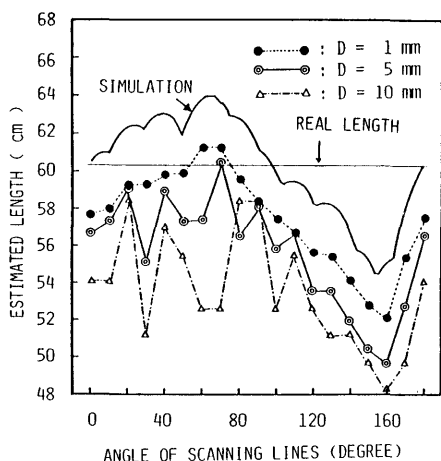


Fig. 4 Effect of rotating the scanning line on the measured value for the straight lines that is shown in Fig. 2. The continuous curve shows the value that is obtained theoretically. D is the distance between scanning lines. The real length of sample is 60.3 cm.

Fig. 4 から分かるように、試料の回転に対する測定値とシミュレーション値の変動傾向は類似している。しかし画像処理装置によって求めた測定値はシミュレーション値に比べて全体的に過小評価されている。Fig. 4 の測定平均値は走査線間隔 (D) が 1 mm ではシミュレーション値の 0.96 倍、また D が 5 mm では 0.93 倍、 D が 10 mm では 0.89 倍と走査線間隔が疎になるに従って測定値は過小評価される傾向が生じた。

つきに Fig. 5 に示す根を模倣した直径 0.3 mm、全長 100 cm の銅線試料の画像処理を行なった。Fig. 6 にその測定結果を示す。

使用した試料は直線試料と異なり、走査線に対する試料の傾斜角はかなり均一化されている (Fig. 5 参照)。しかし、Fig. 6 から分かるように、試料の置き方によって測定値は実長の 0.86~1.03 倍の範囲内で変動した。このことは、かなり均一に分散されていると思われる実際の試料についても走査線を 1 方向だけでなく、2 方向、3 方向と回転させ、試料の置き方による測定誤差を軽減する必要があることを示している。また画像処理による測定値は走査線間隔を疎にしていくと前例と同様に実長に比べて過小評価される傾向がある。走査線間隔 (D) が 1 mm の場合、18 方向の測定平均値は実長の 0.94 倍、 D が 5 mm で 0.91 倍、 D が 10 mm で 0.8 倍と走査線間隔が過疎になるにしたがい測定値は小さくなった。これらの原因の一つとして走査線間隔による測定誤差が考えられる。走査線間隔は疎くすれば試料との交点数も減少していく。またそれに伴って実数を整数で近似する際の誤差



Fig. 5 The sample of curved lines that is used for the length measurement. The real length of sample is 100 cm.

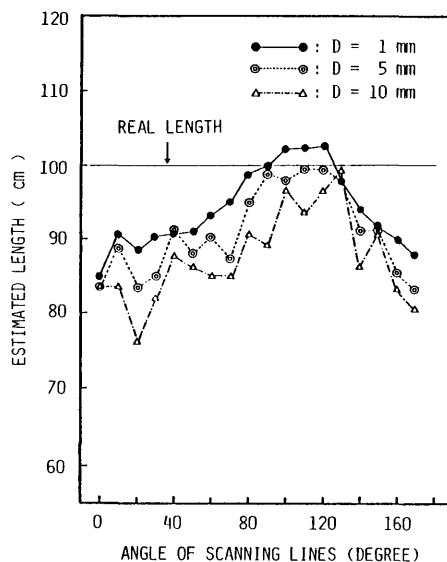


Fig. 6 Effect of rotating the scanning line on the measured value for the straight lines that is shown in Fig. 5. D is the distance between scanning lines.

のために、統計的平均値は変わらないとしても標準偏差は大きくなると考えられる。例えば、走査線に直交する直線試料の長さが走査線間隔の 6.7 倍の場合、交点が 6 となる確率が 30%、7 となる確率が 70% ということになり、1 回毎の測定でそれだけ誤差が生じてくる。したがって、10 本の線分では常に最大 10 点の交点数の違いを生ずる可能性がある。画像処理装置を用いて測定した場合、これら走査線間隔から生ずる交点数の誤差によ

て、実際の試料長に比べて過小評価される可能性がある。さらに画像処理による測定値が過小評価される原因としては、試料間での重なりがある場合である。すなわち走査線が試料の重なった点上を走査した場合、コンピュータは重なりを判別できず交点を1とカウントする。従って試料間の重なりによって生ずるこの誤差は走査線間隔を密にしても消去できない。これは画像処理による測定方式の1つの大きな欠点であるといえる。

測定に要する処理時間は非常に重要な問題であるが、これは測定システムによって大きく異なってくる。測定時間は2.材料および方法で述べた1~3)の過程で最も時間を要する。4)の処理時間は画像処理システムによって大きく異なってくる。今回使用したシステムでは、画像データを2方向(90°回転)で計測した場合、5分前後の処理時間を要する。ただし走査線間隔は処理時間にほとんど影響しなかった。この処理時間も画像データを走査線方向と同様にY軸方向で処理できるようにプログラムを改良すれば画像データの回転も不要となり処理手順・時間が短縮できる。

4. む す び

画像処理装置を使用して線分試料の長さの測定を行なった。測定原理はニューマン法を用い、試料と走査線の交点数から試料長を求めた。シミュレーションおよび画像処理装置による方法を用い線分試料測定の精度等について検討を行ない、次のことが明らかになった。

- 1) 測定値は試料の形態によって異なってくるが、走査線の方向によってかなり変動する。
- 2) 走査線の方向性によって生ずる測定値の変動は、試料皿、あるいは走査線の方向を回転させて測定し、それぞれの測定値の平均値を採用すれば、試料の形態・置き方によって生じてくる測定誤差を軽減できる。
- 3) 走査線の方向数を増加させていけば、試料の形態・置き方によって生じてくる測定誤差を軽減できる。しかし1方向から2方向への改善度が最も顕著である。
- 4) 画像処理装置を用いての測定値は、シミュレーション

ン値に比べて数パーセント小さな値になった。画像処理値が過小評価される原因の一つは、試料が重なっている点上を走査線が走査した場合に生ずる交点数誤差である。

- 5) 走査線間隔が密になればなるほど測定精度は上昇する。走査線間隔は10mm以下、理想的には5mm前後が望ましい。
- 6) 画像処理システムを用いない場合には、複写機を用いて根の試料をコピーし、さらにこのコピー上に1cm方眼紙を複写する。この方眼の入った根の試料を用いて、根と方眼の罫線との交点を数えれば画像処理と同様に試料長が求められる。根と罫線との交点を数える場合、コンピュータに比べてかなりの計測時間を必要とする。しかしコンピュータ処理では困難な、根の重なり、あるいは根と背景とのコントラストが不十分な試料でも、目では容易に処理できると言う大きな利点がある。

この研究を行なうにあたり、種々御教示頂いた東京農業大学の稲葉繁教授に感謝する。また画像処理装置は東京大学農学部生物環境システムセンターを使用させていただいた。関係各位に厚く御礼申し上げる。

引用文献

- Baldwin, J. P., Tinker, P. B. and Marriott, F. H. C., 1971: The measurement of length and distribution of onion roots in the field and the laboratory. *J. Appl. Ecol.*, 8, 543-554.
- Marsh, B. a^lB., 1971: Measurement of length in random arrangements of lines. *J. Appl. Ecol.*, 8, 265-267.
- Newman, E. I., 1966: A method of estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.*, 3, 139-145.
- Rowse, H. R. and Phillips, D. A., 1974: An instrument for estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.*, 11, 309-314.
- Voorhees, W. B., Carlson, V. A. and Hallauer, E. A., 1980: Root length measurement with a computer-controlled digital scanning microdensitometer. *Agronomy Journal*, 72, 847-851.

Summary

There has been much descriptive work carried on plant root systems in the past, but quantitative studies have lagged behind equivalent work on plant tops, probably because of the practical difficulties of measuring root lengths. Root length has normally been measured by excavating soil and washing out roots, and then using a map measuring wheel, a ruler or the Newman method on the cleaned roots or photograph of them. The measurement methods of root length are very simple,

but they require a great deal of labor and a lot of time.

The technique of image analysis has come to be more widely used in recent years. The measurement of the root length is made by using an image analyzing computer. The basic principle employed here is after the Newman method. It relates root length to intersections between roots and randomly oriented straight lines according to:

$$R = \frac{\pi NA}{2H}$$

where R is an estimated root length in an area A , N is the number of intersections between roots and randomly oriented straight lines, and H is the total length of the lines.

A root photographic image which is put into a computer, is separated into the "black" roots and the "white" background. The randomly oriented straight lines are replaced by scanning lines of image analyzing computer.

The results obtained by the present experiments can be summarized as follows:

The estimated value of a sample differed with the direction of the scanning lines. This variation depends on that the Newman method holds in a strict sense only when the scanning is done in a randomly oriented manner. The inaccuracy which comes from using a computer can be improved by rotating a sample image which is taken in the computer.

The accuracy of this system is related to the distance between the scanning lines. The narrower the distance is, the closer the measured value approaches the true value.

When we adopt this measuring method using a computer or hand-operated, it is necessary that the following conditions be satisfied.

- 1) In the process of measuring a sample, the number of rotation times of the sample must change more than twice. However two rotation times of the sample are adequate for the accuracy of the measurement and in practical application. Therefore the length of the sample can be estimated at the average of 2 times measurements taken after rotating the sample 90°.
- 2) The distance between scanning lines must be less than 10 mm.