

# コンピュータ画像処理によるアオムシコマユバチの蔵卵数の自動計測

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者	井川, 輝美 岡部, 秀彦
巻/号	32巻1号
掲載ページ	p. 6-12
発行年月	1988年2月

## コンピュータ画像処理によるアオムシコマユバチの 蔵卵数の自動計測<sup>1)</sup>

井川 輝美\*・岡部 秀彦\*\*

\* 東京大学教養学部

\*\* 繊維高分子材料研究所

Computer Vision System for Enumerating the Eggs of a Parasitic Wasp, *Apanteles glomeratus* L. Terumi IKAWA (College of Arts and Sciences, the University of Tokyo, Komaba, Meguro, Tokyo 153, Japan) and Hidehiko OKABE (Research Institute for Polymers and Textiles, Yatabe-Higashi, Tsukuba 305, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **32**: 6-12 (1988)

A computer vision system driven by a robot was developed to enumerate and measure the size and number of eggs of a parasitic wasp, *Apanteles glomeratus* L., which were scattered on a slide. The procedure is as follows. 1) The eggs were stained with methylene blue, the area of interest was circled with a wide yellow boundary line to reduce unnecessary scanning and the slide was overlaid on a transparent film dotted with a regular array of red markers to define the measurement frame in each scene. 2) The eggs, the boundary area and the markers could be distinguished from each other by their color. Then, the number and the size of the eggs were measured, even considering the overlap of two or more eggs. 3) The stage was driven by the robot to scan all the frames within the boundary area and the results of the measurements were accumulated in the supervising micro-computer. The results of the experiment showed that the reproducibility and accuracy of this system were as good as those achieved by human observation. The ability of the system to scan, enumerate and measure all the particles scattered in a large area can be easily applied to various objectives in different disciplines.

### 緒 言

蔵卵数の計測は昆虫の繁殖様式や産卵数調節などの研究に欠くことができない。われわれの研究対象とするアオムシコマユバチ *Apanteles glomeratus* L. の卵は長さ約 84~145  $\mu\text{m}$  で (松沢, 1958), 顕微鏡下の観察が必要であり, しかもムコ多糖蛋白質と推定される物質により互いに接着しており分離しにくかつ壊れやすい。その上成虫 1 頭当たり約 400~1,300 もの蔵卵数をもつので (北野, 1978), 卵の識別・計数はきわめて眼に負担の大きい仕事であった。そこで, われわれはまず卵の分離方法を確立し, さらにアオムシコマユバチ成虫の蔵卵数を自動計測するコンピュータ画像処理システムの開発を試みた。

一般に画像データの処理は多大な労力と時間を要することから, それを自動化する必要性と意義は大きい。ところが, 画像データは大きな情報量を持ち, その処理に

は膨大な記憶容量と計算量とが要求されるため, 人間の眼の代用となりうる画像処理システムの開発は容易ではなかった。しかし, 近年の IC・LSI 技術の急速な進歩に伴う演算速度の高速化によって, コンピュータ画像処理が広い領域で多種多様な情報の処理に汎用的に用いられる素地はいまや出来上がったといえよう。医学・生物学におけるコンピュータによる画像処理の試みは 1960 年代に白血球の分類の研究を先駆けとして始まり (INGRAM et al., 1968; MEGLA, 1973), それに続いて, 染色体の分類, 生体組織の計測など種々の画像情報の解析の自動化が進められてきた (コンピュータ画像処理の諸研究分野への応用については, 辻内編著, 1981)。応用昆虫学の分野においても, 種々の画像データの処理に次々に対応していく必要があり, 汎用的な画像処理システムを開発することは重要である。

多くの昆虫の蔵卵数は顕微鏡や写真の 1 画面に収まらず, また血球のように一定体積内の数を数えて全数を推

1) 本研究は日本応用動物昆虫学会第 31 回大会 (1987 年 4 月, 筑波) で発表した。  
1987 年 4 月 14 日受領 (Received April 14, 1987)

定できるほど多数でもないということが特徴であり、全数調査のためには重複や数え落しのない走査システムが必要である。そこで、われわれの開発した画像処理システムはアオムシコマユバチの卵のプレパラート標本を作成し、それをマイクロコンピュータ制御のロボットによって操作される可動ステージ上に置いて、CCD TV カメラから画像処理装置に入力し全数調査を行うものである。その特徴は以下のとおりである。

1) 卵、プレパラート上の計数領域、走査制御用のマーカに異なる染色をほどこし、色彩画像処理によりそれぞれを認識・分離した。

2) ロボットと画像処理装置をコンピュータ制御することによってオンラインの画像データを用いたステージ移動制御ができ、さらに走査制御用のマーカの導入により重複や数え落しのない正確な走査が可能になった。

3) しかも、このシステムは、大部分をソフトウェアに依存していることから、プログラムの改変により、アオムシコマユバチに限らず種々の対象物の処理にも対応できる汎用性・発展性をもっている。

本文に入るに先立ち、本稿のご校閲を賜った東京大学木村武二教授、池庄司敏明助教授、嶋田正和博士、防衛医科大学校 芦田廣博士、標本作成にあたって貴重なご教示をいただいた東京大学放射線生物学研究室 嶋昭紘教授、成瀬清博士ならびに研究室の皆様深く謝意を表す。

### プレパラートの作成

雌成虫体内の卵を取り出し、卵をスライドガラス面上に分散させるには、卵巣・輸卵管の分解ならびに卵の分離が必要である。ここでは化学的解離法 (EDTA による 2 価イオンの除去と酵素処理によるムコ多糖蛋白質の分解) を採用した (黒田, 1974)。いくつかの酵素による予備実験を行い、比較的良好な結果が得られたトリプシン+EDTA の 0.01% PBS (-) 溶液を用いた。

スライドガラス上に雌蜂から取り出した卵巣のをせ、上記の溶液を加える。卵巣が分解し、卵が解離すれば、メチレンブルーの水溶液を少量加え、卵を青色に染める。スライドガラスを乾燥させた後蒸留水を少量加えスライドガラスを洗い、再び乾燥させ、キシレンを加えたオイキットを滴下しカバーガラスで覆う。つぎに、黄色の油性インクで卵の存在する領域をカバーガラスの上から囲む。この黄色の領域を走査する必要のない領域との境界領域とする。なお、卵はカバーガラス上の 25 mm × 25 mm の区画に入るようにする。

## 画像処理システム

### 1. 処理システムの概要

Fig. 1 に画像処理システムのハードウェア構成を示した。処理システムの概要は次のとおりである。

1) プレパラートは専用のキャリアー (後述) に載せて可動ステージ上に置き、下方から照明を与え、CCD TV カメラによって画像を入力する。

2) カメラ出力信号は高速画像処理装置 TOSPPIX-II (東芝) に送られ、ここでデジタル信号に変換され、カラー画像 (赤色 (R), 緑色 (G), 青色 (B) の 3 原色から成る) が画像メモリに格納される。画像メモリは 512 × 512 画素、濃淡値 8 bit 階調が 4 枚用意され、必要に応じモニタ TV に表示される。ここで入力された画像をおもに FORTRAN プログラムによって処理した。

3) TOSPPIX-II により得られた数値データはマイクロコンピュータ M343 (SORD) に転送され、ハードディスクに格納され、画像処理を含まない各種の演算はここで BASIC プログラムによって行われる。

4) M343 に制御されるロボット MOVE MASTER II (三菱) によってステージの移動が行われる。

5) このシステムでは画像入力→画像処理→処理データの転送→ステージ移動という操作が繰り返される。また、M343 が TOSPPIX-II, MOVE MASTER II から転送される種々の情報を判別して、システム全体を制御した。

### 2. キャリヤー・マーカの作成ならびに照明条件・処理画面の設定

可動ステージの定位置にプレパラートを置くために、卵の存在する領域に透過光の入る採光口を設けたキャリアーを作成した。つぎに、等間隔に並んだ 25 × 25 個の少し紫色の混じった赤色の円 (マーカ) を真上から写真でとりスライドフィルムを作成し、このフィルムをキャリアーの採光部分に貼付けた。したがって、画像が入力される際、卵 (青色)、マーカ (赤) そしてときには境界領域 (黄色) も同時に取り込まれる (Fig. 2, *Irpb*)。

照明は下方からタングステンランプによって行い、照明条件を常に一定にするために標準試料を用いて各測定前に照明条件を調節した。

### 3. 卵、マーカ、境界領域の分離

卵の計数、計測フレーム (1 回の画像取込みで卵の計数の対象となる領域) の決定、境界情報の認識のためには、卵、マーカ、境界領域を識別することが必要である。この三つを抽出し、別々の画像メモリに格納する方

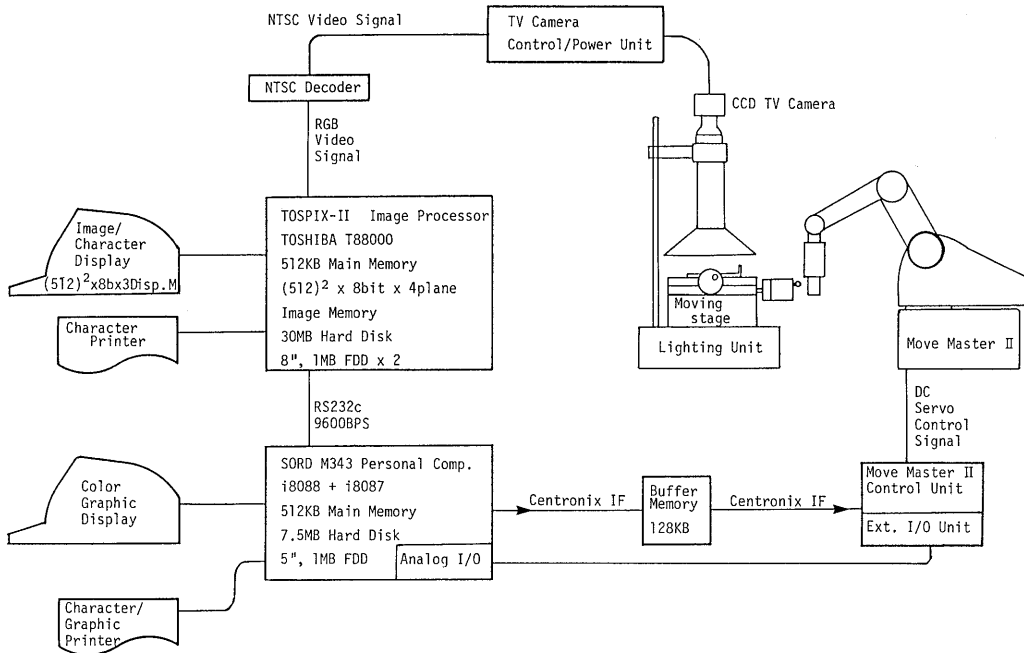


Fig. 1. Hardware configuration of the system.

法について述べる。Fig. 2 にその流れ図を示した。

卵，マーカー，境界領域を含む原画像を  $I_{rgb}$  とする (Fig. 2,  $I_{rgb}$ )。TV カメラに入射した光は，R, G, B 三原色の濃度を示す電気信号に変換され，TOSPIX-II において A/D 変換された後，それぞれ 3 枚の画像メモリに格納される。各画像メモリでは，画像は  $512 \times 512$  個の画素に分割され，さらに 1 個の画素には 256 階調 (0~255, 0 が黒，255 が白) の濃淡値が与えられる。実際の画像処理を行う部分は  $464 \times 464$  画素とし，この処理画面内に 4 個のマーカーが入るよう倍率等を調整した。この画像 (すなわち各画素の濃淡値に与える関数) を  $I_r, I_g, I_b$  とする (Fig. 2,  $I_r, I_g, I_b$ )。また，それぞれの画像において卵，マーカー，境界領域，背景に相当する部分の濃淡値を  $e_i, m_i, b_i, s_i$  ( $i$  は画像の添え字と一致) とする。

メチレンブルーによって，濃い青に染まった卵は，R 成分の光をよく吸収し，逆に，マーカー (赤)，境界領域 (黄色) ならびに背景 (無彩色) は，R 成分の光をほとんど透過する ( $e_r < m_r, b_r, s_r$ )。したがって， $I_r$  の画素の濃淡値のヒストグラムをとると，卵およびマーカー，境界領域，背景に相当する二つのピークが現われるので，このピークの中間付近を閾値として 2 値化 (定められた閾値を境界として，任意の画素の濃淡値を 0 または 255 とする操作) を行うと，卵が濃淡値 255，他の部分が

濃淡値 0 となり卵を分離できる。画像  $I_r$  を 2 値化した結果を画像  $B_r$  とする (Fig. 2,  $B_r$ )。

黄色の境界領域は，G 成分より B 成分をよく吸収し ( $b_g > b_b$ )，逆に，卵は B 成分より G 成分の光をより多く吸収する ( $e_g < e_b$ )。一方，赤のマーカーと無彩色の背景は  $I_g, I_b$  でほぼ同様の濃淡値を示す ( $m_g \approx m_b, s_g \approx s_b$ )。したがって，

$$I_y = I_g - I_b \quad (\text{ただし, } I_g < I_b \text{ なら } I_y = 0) \quad (1)$$

とすれば， $I_y$  (Fig. 2,  $I_y$ ) では，マーカー，卵および背景に当たる部分の濃淡値のヒストグラムは 0 周辺にピークをもち ( $e_y, m_y, s_y \approx 0$ )，境界領域に当たる部分のみがそれよりやや明るい部分にピークをもつ ( $0 < b_y$ )。このことから，閾値をその中間付近に設定し，2 値化すれば境界領域が濃淡値 0，それ以外が濃淡値 255 となる。 $I_y$  を 2 値化した結果を画像  $B_y$  とする (Fig. 2,  $B_y$ )。

つぎに，線形結合により，

$$I_m = I_g + 2.0 \times I_y - I_r + 255 \quad (2)$$

とすれば (ただし，最大濃淡値  $< 256$  となるよう正規化する)， $I_m$  ではマーカーが最も低い濃淡値をもつ ( $m_m < e_m, b_m, s_m$ ) ため，2 値化によってマーカーを抽出することができる。 $I_m$  を 2 値化した画像を  $B_m$  とする (Fig. 2,  $B_m$ )。

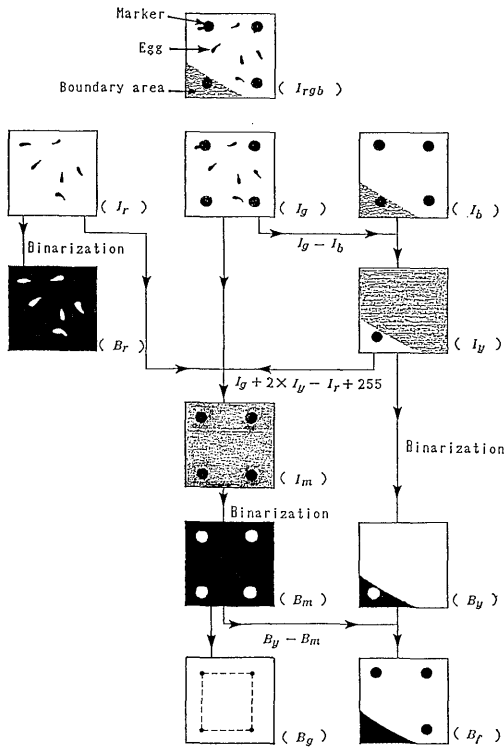


Fig. 2. Flow chart of color image processing to separate eggs, markers and boundary area, respectively.  $I_{rgb}$ : scheme of original image showing eggs, markers and boundary area.  $I_r$ ; red,  $I_g$ ; green, and  $I_b$ ; blue component images of  $I_{rgb}$ .  $B_m$ : binarized image of  $I_m$ , (the eggs are separated).  $I_y$ :  $I_g - I_b$ .  $I_m$ : linear combination of  $I_g$ ,  $I_y$ , and  $I_r$ .  $B_m$ : binarized image of  $I_m$ , (the markers are separated).  $B_g$ : ● shows the barycenter of each marker. The frame in which counts must be performed is defined as the area surrounded by the broken line.  $B_y$ : binarized image of  $I_y$ , (the boundary area is separated).  $B_f$ :  $B_y - B_m$ , (the grey level of the markers is 0 as well as that of the boundary area).

以上の操作の後、さらに

$$B_f = B_y - B_m \text{ (ただし, } B_y < B_m \text{ なら } B_f = 0) \quad (3)$$

を行うと、出力画像  $B_f$  においては、 $B_m$  において濃淡値 255 の値をとっていたマーカーに相当する部分が 0 の値をとることになる (Fig. 2,  $B_f$ )。したがって、この演算により、計測フレームの任意の辺が境界領域で覆われる場合にはその辺上の画素はすべて濃淡値 0 となる。

#### 4. 1 フレーム内での卵のカウント

この項では、計測フレームを決定し、その領域内にある卵を認識・計数する手続きについてのべる。

#### (1) マーカーの発見と重心の転送

M343 から開始命令が送られると、TOSPPIX-II は画像を取り込み、その画像からマーカーを抽出する処理を行う。その際、マーカーが少なくとも 1 個取り込まれていれば、重心の座標を算出する。その座標をもとに、M343 は処理画面を 4 等分したそれぞれの画面にマーカーが 1 個ずつ入るようステージ位置を再調整する指令を Move Master II に送る。

マーカーは次の手順で検出する。すなわち、 $I_m$  を 2 値化した画像  $B_m$  において、濃淡値 255 の連結成分 (同じ濃淡値の画素が連結した領域) を検出し面積を測定する。該当する連結成分が存在しない、あるいは、最大連結成分の面積が定められた閾値以下であるときはマーカーが検出されなかったとして、M343 に異常事態を伝える。最大連結成分の面積が閾値以上であれば、その重心の座標を算出し、M343 へ送る。

#### (2) 計測フレームの決定

Move Master II によるステージの位置調整が終ると、M343 から TOSPPIX-II にフレーム決定命令が送られる。TOSPPIX-II は再度画像を取り込み、3. で述べた画像処理を実行する。そしてまず、計測フレームを決定するためマーカーの抽出された画像  $B_m$  においてマーカーの重心座標  $F_i (x_i, y_i) (i=1 \sim 4)$  を算出して M343 に転送する。この 4 点を結んでできる四角形の内部を計測フレームとする (Fig. 2,  $B_f$ )。

さらに、このフレームに接続する 4 近傍のフレームとの境界接続状態を調べるため、フレームの 4 辺それぞれについて境界情報を求める。すなわち、境界情報の抽出された画面  $B_f$  において、線分  $F_i F_{i+1}$  (ただし、 $F_5 = F_1$ ) 上の画素の濃淡値を調べ、それがすべて 0 であるか否かの情報を各線分について求め、M343 に転送する。なお、0 でない画素をもつ辺が少なくともひとつあるフレームは走査すべきものとみなされる。これらの情報を受け取ると、M343 は卵の識別・計数命令を TOSPPIX-II に送る。境界情報は M343 に記憶され、走査すべきフレームが存在するか否か、存在するとすればつぎにどのフレームを走査すべきかが判定される。もし、走査すべきフレームが存在すれば、M343 は次のフレームへ移動するよう Move Master II に指令を送る。その際、ステージの移動幅は  $F_i (i=1 \sim 4)$  の位置およびこれまでのステージの移動量と画像におけるマーカーの移動画素数との比をもとに、つぎに走査するフレームでの格子中心 (4 点の重心座標の平均値) が処理画面のほぼ中心に来るよう調節される。この比は毎回の移動ごとに画面中心と格

子中心との検出誤差により補正され、より正確な値がシステムに学習されていく。

### (3) 卵の識別ならびに計数

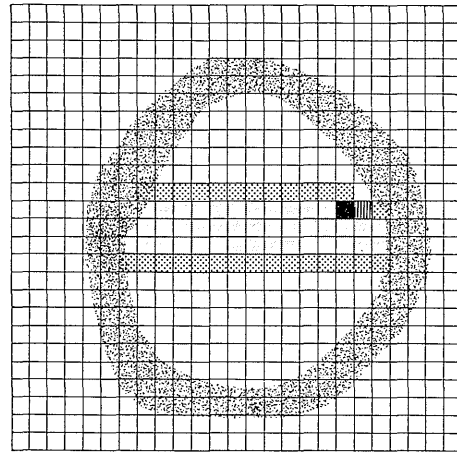
M343 から卵の識別・計数開始命令が送られると、TOSPIX-II は決定された計測フレームの座標をもとに画像  $B_r$  を処理し卵の認識・計数に移る。最初に、 $B_r$  にある濃淡値 255 の連結成分のラベリング (画像内の各連結成分に番号をつけること) を行い、ラベル番号順に各連結成分について次の測定を行う。1)  $x, y$  座標の最大値および最小値  $X_{max}, Y_{max}, X_{min}, Y_{min}$ , 2) 重心座標  $G(x_g, y_g)$ , 3) 面積  $S$ 。

まず、 $X_{max}, Y_{max}, X_{min}, Y_{min}$  によって、処理画面の辺縁部にかかっている連結成分は処理の対象から除外される。つぎに、重心座標  $G(x_g, y_g)$  が計測フレームの四角形の内部にあるか否かを判定し、内部にあるもののみを実際にこのフレーム内で数えるべき卵とする。

プレパラートを作成する際、完全に酵素分解されなかった卵巣・輸卵管やその内部の物質が薄い青色に染色され、その一部が 3. で述べた色彩画像処理を経ても除去されず画像  $B_r$  の連結成分となることを現時点では避けることができなかつた。しかし、これらの塵の多くは通常卵と比べてごく小さく、面積  $S$  を比較することにより除去した。

プレパラート作成時に酵素処理により卵が完全に分離されていれば、卵の計数のためにはここまでの操作で処理対象から外されなかつた連結成分数を数えればよい。しかし、卵同士が重なり合う状態が低い頻度であるにせよ生じることと、今後さらに卵の発育状態などの 1 個体ごとのデータをとることを可能にするため、個々の連結成分を取り出して測定することを以下の手続きで行った。

測定しようとする連結成分全体を含みしかも辺縁部にかからない最小の画面すなわち始点  $(X_{min}-1, Y_{min}-1)$  ならびに終点  $(X_{max}+1, Y_{max}+1)$  の処理画面を設定する。ラベリングの結果、各連結成分にはラベル番号と対応した濃淡値が該当画素に与えられているので、この画面内で濃淡値指定による 2 値化を行えば個々の連結成分をとりだすことができる。アオムシコマユバチの卵はサイズのばらつきが大きく、卵の重なりの有無を連結成分のサイズによって判別することはできない。そこで、暫定的に次の手順により卵の数を決定することとした。まず処理画面内の連結成分を細線化し、つぎにその端点を抽出する。卵は細長い柄杓を呈するため 1 個の卵では通常端点は 2 個検出されるはずなので、端点の個数  $N_t$  を



■: frame being scanned.    ▨: frames to be scanned.  
▤: Next frame to be scanned.    □: frames already scanned.  
▧: Boundary area.

Fig. 3. Frames for scanning with boundary area.

調べ、卵数  $N_e$  を、

$$N_e = \frac{N_t}{2} \quad (\text{ただし、} N_e \text{ が半整数のときは切り捨て。})$$

とする。この操作により、比較的大きな塵が画像処理の過程において残っていたとしても、塵は縦横比が小さく通常端点の数が 1 となるため、この時点でも除去することができる。測定された端点数  $N_t$  と面積  $S$  のデータは M343 に転送され、 $N_e$  の計算はここで行われる。

処理画面内でラベリングされた連結成分の測定がすべて終了すると、TOSPIX-II から M343 へ現フレーム内走査終了が報告され、TOSPIX-II は受信待ちの状態へ戻る。未走査フレームが存在するとき M343 は命令を TOSPIX-II へ送り、4-2. 以降の操作が繰り返される。

### 5. フレーム走査アルゴリズム

初期状態では、プレパラートのカウント領域のほぼ中心部がカメラの視野にはいるよう、ステージ、キャリアおよびプレパラートの計測部分の位置があらかじめ調節されている。ここでまず 4 個のマーカが処理画面内に入り、しかも計測フレームの格子中心が画面の中心に位置するようにステージ位置の微調節が行われる。つぎにその画面にあるフレームを出発点として以下の手順で全測定領域が重複なく走査される (Fig. 3)。

1) 走査開始位置を (12, 12) とする。

2) M343 は TOSPIX-II から転送された境界情報を判定し、上下左右 4 近傍のフレームが走査すべき領域をもっていることが判明した場合それを記憶する。

Table 1. Means, standard deviations and coefficient of variation of egg counts performed by using TOSPIX-II and by human observation

Sample No.	No. of Eggs Counted by			
	TOSPIX-II		human observation	
	Mean C.V.	(s.d.) (%)	Mean C.V.	(s.d.) (%)
I	194.3	(6.66)	189.7	(2.89)
	3.43		1.52	
II	309.3	(18.5)	300.3	(4.10)
	6.00		1.40	
III	348.0	(5.29)	344.0	(1.73)
	1.52		0.50	
IV	385.0	(8.66)	400.0	(4.58)
	2.23		1.15	
V	456.7	(5.51)	455.7	(5.69)
	1.21		1.25	
VI	850.0	(8.66)	834.0	(10.4)
	1.10		1.25	

3) つぎに、同じ列 ( $j$ ) で端から順に調べていき、計測すべきフレームが在れば、そこで走査を開始する。それが存在しない場合、あるいはひとつの列 ( $j$ ) 内での測定がすべて終了すれば、走査すべきフレームの存在する最も近い列に移動する。もし、最近列がふたつ在るとすれば上方を優先する。ここで、2) へ行く。

4) 走査すべきフレームがどこにも存在しない場合、走査開始位置に戻って終了する。

走査終了後、M343 は全走査領域のハードコピーおよび、走査フレーム数、全走査領域内の連結成分数ならびに卵数を打ち出し、同時にこれらのデータはハードディスクに保存される。

#### 画像処理装置による計測の再現性と精度の評価

画像処理装置による計測の再現性と精度を評価するために、次の実験を行った。6枚の標本を作成し、各プレートについて1日1回、合計3回卵数を計測した。それぞれの標本の計測値の変動係数を求めて TOSPIX-II による計測の再現性の評価を行った。一方、顕微鏡下でマーカーを用いて、目視により一日のうちに同じ標本を連続して3回走査・計数し、TOSPIX-II によって計測した値と比較することにより精度を評価した。その結果を Table 1 に示した。なお、標本1枚の計測に要する時間は目視では約20~30分、TOSPIX-II では約45~90分(150~350フレーム)であった。

TOSPIX-II による計数では、照明条件などの調節は各繰返しのために新たに行ったわけであるが、Table 1 の結果からみる限り同一標本の計測日の違いによる変動

は許容できる範囲であり、照明条件などの調節の若干の相違からくると思われる誤差は無視できると考えられる。また、TOSPIX-II と目視による計測値はよく一致した。目視による計数のほうが変動係数が小さい傾向にあるのは、同じ実験者が3回連続して同じ標本を計測したのがひとつの理由と考えられる。

#### 考 察

目視による計測ミスの主要な原因は、標本全体を走査する時の二重数えや数え落しであるが、TOSPIX-II では標本の走査に際しての計数ミスはないと言ってよい。また卵が1個独立して存在する場合も、2個以上重なっている場合も端点数によって概ね正しく数えることができる。TOSPIX-II の計測における最大の問題は、色彩画像処理および面積や端点数によるふるい落としの後でも若干の塵が卵と誤認されることである。この点に関しては、ソフトウェア・標本作成法両面からの改良が必要である。

ソフトウェア面からの改良は、塵と卵を正確に識別することであり、いくつかの方法が考えられるが、卵の縦横比の分布を求め、それから外れるものを除くことがもっとも有効であろう。標本作成法を改良することがさらに根本的な解決となるが、今回は個々の標本の質より手法の簡便さを優先し、短時間に標本作成する方法を採った。蔵卵数を計数する程度であれば、現在の方法で目的が達成されるケースが多いであろう。しかし、標本の塵のおもな原因であると思われるムコ多糖蛋白質をよりよく除去する方法あるいは卵を選択的に染色する方法を今後開発する予定である。

次のフレームへの移動も含めて1フレーム当りの測定時間は15~30秒で、とくに時間を要するのは、次の過程である。1) ステージ移動(汎用多関節ロボットによって行われるため、自動ステージより移動速度が遅い)。2) ロボットのアームの動きによるステージの揺れをなくすため各フレームの測定開始前に3秒間の静止期間をとっている。3) 各連結成分を個別に細線化する過程。

したがって、プログラム制御可能な自動ステージの導入、ロボットの設置台の改良および細線化を含まない卵の認識法の開発等により測定時間は非常に短縮されるはずである。しかし、いずれにせよ目視では計数データ以外の情報を個々の卵について得ようとすれば非常に時間と労力を要するのに対し、画像処理装置では細線化に比べ他の処理(たとえば、色彩処理や面積・長さ等の計測)はきわめて短時間でできるため、現状とあまり変わらない

い時間で多様な情報を得ることができる。それは、われわれのシステムでは、各連結成分を個別に取り出して測定を行うため、プログラムの改変によりいかようにも情報の種類を増やすことができるからである。たとえば、アオムシコマユバチの卵巣からはふ化幼虫が観察されることがあるが (IKAWA, unpublished data), 標本染色法の改変により、これらの卵の発生過程も追跡することが可能であろう。

われわれは、これまでに述べた点の改善を図り、今後以下の事柄に主眼をおいて標本作成法、ソフトウェア等の開発を試みる予定である。1) この全数調査用のシステムを今後種々のデータの計測に応用する。2) 個別の連結成分についてさらに詳しい情報を得る。3) プレパラートをステージに載せ、測定が終了したら新しいプレパラートと取り替える作業をロボットによって自動化する。

### 摘 要

アオムシコマユバチの産卵数の自動計測を行うため、画像処理装置、汎用多関節ロボット、マイコン等によるシステムを開発し、以下に述べる方法で一枚のプレパラート上に散在する卵の計数を行った。すなわち、1) 卵は青く染め、必要な領域のみを走査するため、黄色い境界線で囲み、各視野での計測フレームを確定するため、格子状に配列した赤い点 (マーカー) を描いた透明フィル

ムを重ねてステージに載せる。2) 卵、境界線、マーカーは色の差により弁別し、各フレーム内で卵を (卵同士の重なりも考慮して) 計数・サイズ測定する。3) ロボットでステージを駆動することにより境界線内のすべてのフレームを走査し全卵数を求める。このシステムによる測定結果は肉眼による計数値とよく一致した安定した値を与え、再現性・精度ともに十分実用に耐えると思われた。

### 引 用 文 献

- 北野日出男 (1978) アオムシコマユバチ *Apanteles glomeratus* L. の産卵活動と寄主探索行動について. *Kontyu (Tokyo)* **46**: 152—161.
- 黒田行昭 (1974) 動物組織培養法: モダンバイオロジー. シリーズ 23. 東京: 共立出版, 406 p.
- INGRAM, M., P.E. NORGREN, K. PRESTON, Jr. (1968) Automatic differentiation of white blood cells. *In: Image Processing in Biological Science* (D.M. RAMSEY ed.), Berkeley, Calif.: Univ. of Calif. Press, pp. 97—117.
- 松沢 寛 (1958) アオムシコマユバチの生態に関する研究. 香川大学紀要 **3**: 1—125.
- MEGLA, G.K. (1973) The LARK automated white blood analyzer. *Acta. Cytol.* **17**: 3—14.
- 辻内順平 編著 (1981) 応用画像解析. 東京: 共立出版, 434 p.