

画像処理技術を活用した 形質評価のハイスクループット化 技術の開発

七夕 高也

農業生物資源研究所 農業生物先端ゲノム研究センター

e-mail: tanabata@computer.org

形質評価のハイスループット化技術の開発

- ・大量の形質データは新たな価値を与える可能性を持つ
- ・多種多様な形質評価への対応
- ・研究目標に必要な形質データをいち早く手に入れる
- ・開発コストと開発期間は重要な要素



ハイスループット形質評価技術の 開発事例の紹介

1. 生育モニタリングシステムの開発
2. 形質計測ソフトウェアの開発

フェノーム解析システム

1. LemnaTec (ドイツ)

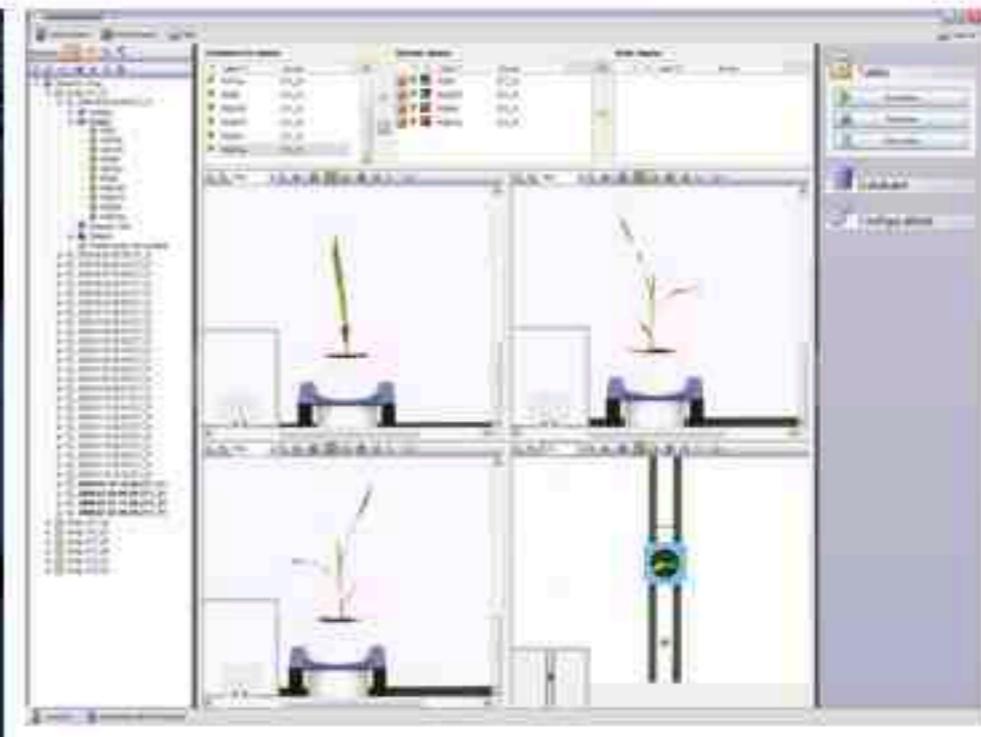
<http://www.lemnatec.com>

2. The Plant Accelerator (オーストラリア アデレード大)

<http://www.plantaccelerator.org.au/>



Scalyzer 3D Plant Phenotyping



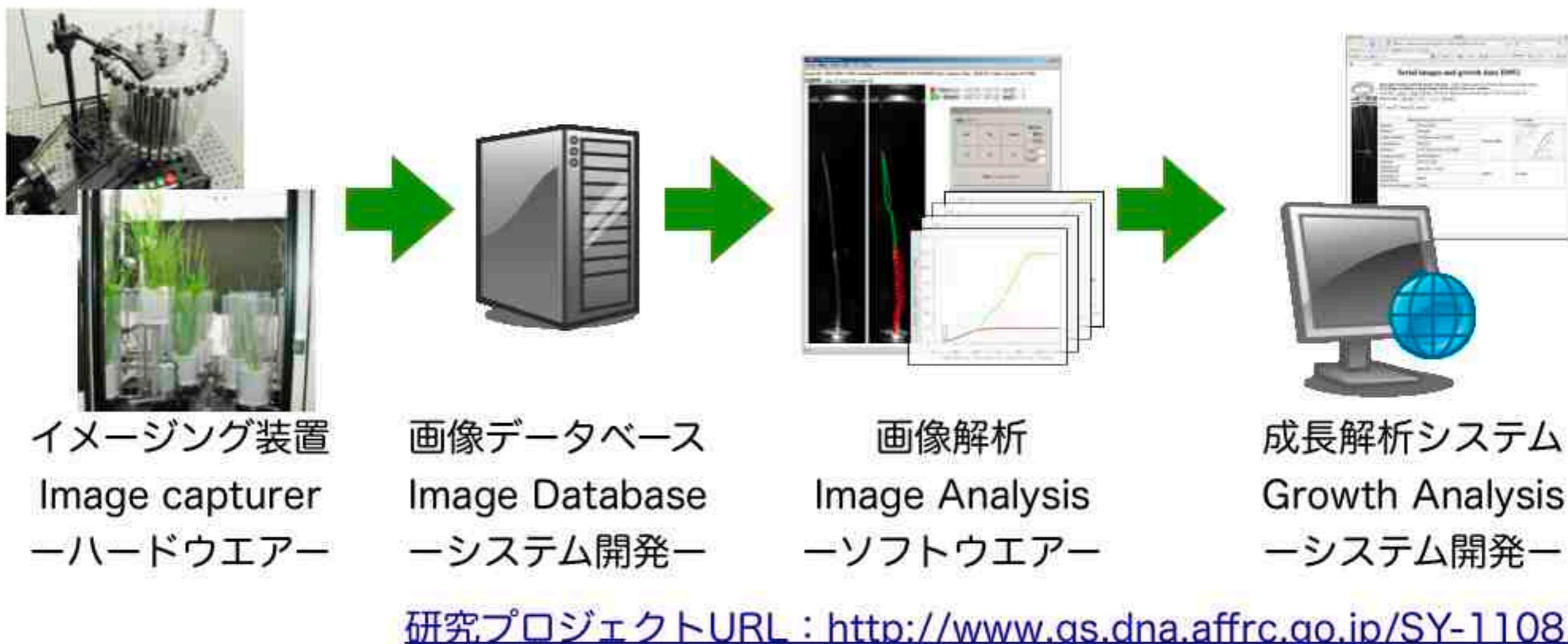
LemnaLauncher

画像処理技術を活用した多様な成長形質計測とハイスループット化の実現

イネ生育モニタリングシステムの開発

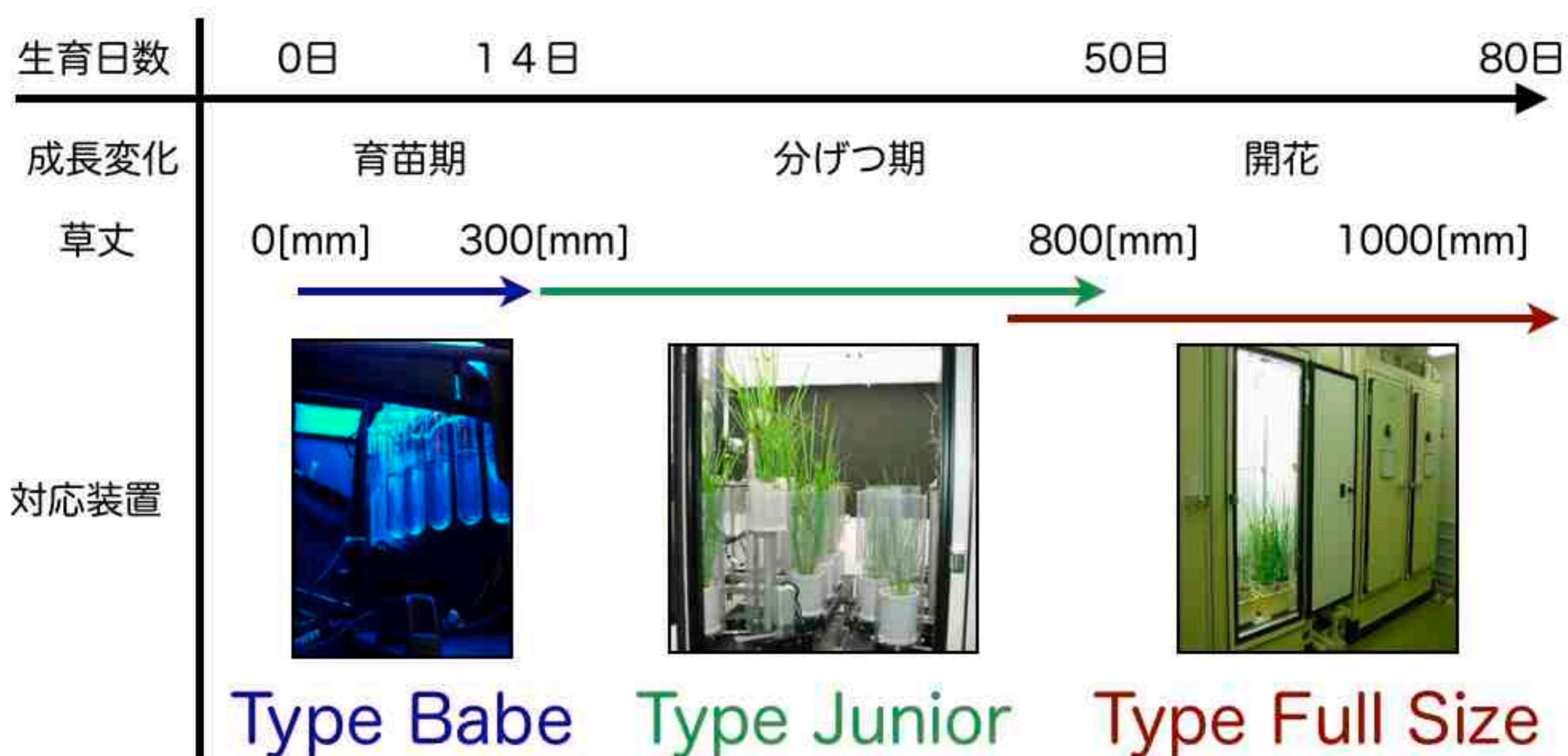
平成13-15年度 農水省PJ「イネゲノムシミュレータの開発」

- ・イネの個体成長を画像に記録するイメージング装置の開発
- ・画像から成長の変化量の計測（距離、面積、角度など）と成長解析を実現するソフトウェア、システムの開発

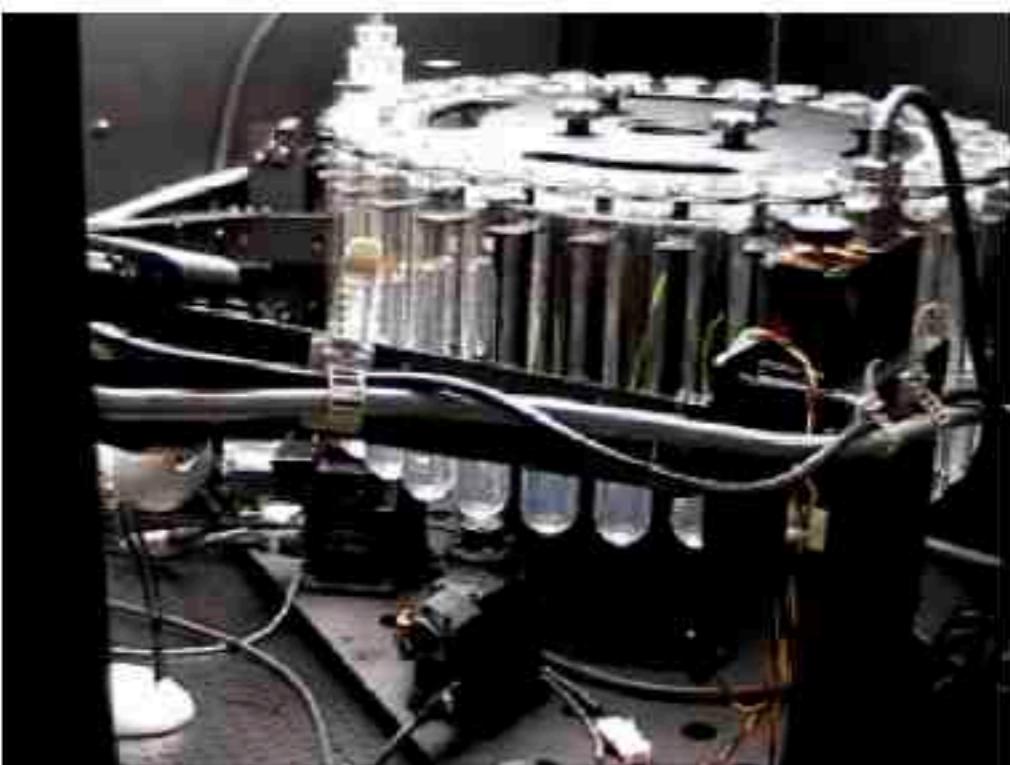


イメージング装置の開発

イネの全生活史に渡る形状、成長変化の網羅的計測と解析
成長時期の形状と研究目的に応じた装置を開発

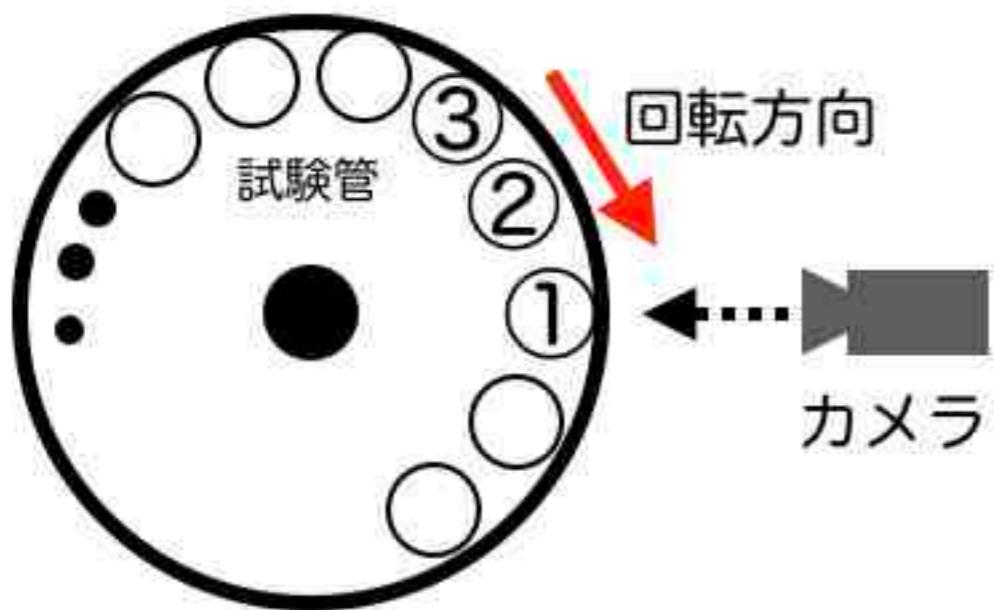


初期生育イメージング装置

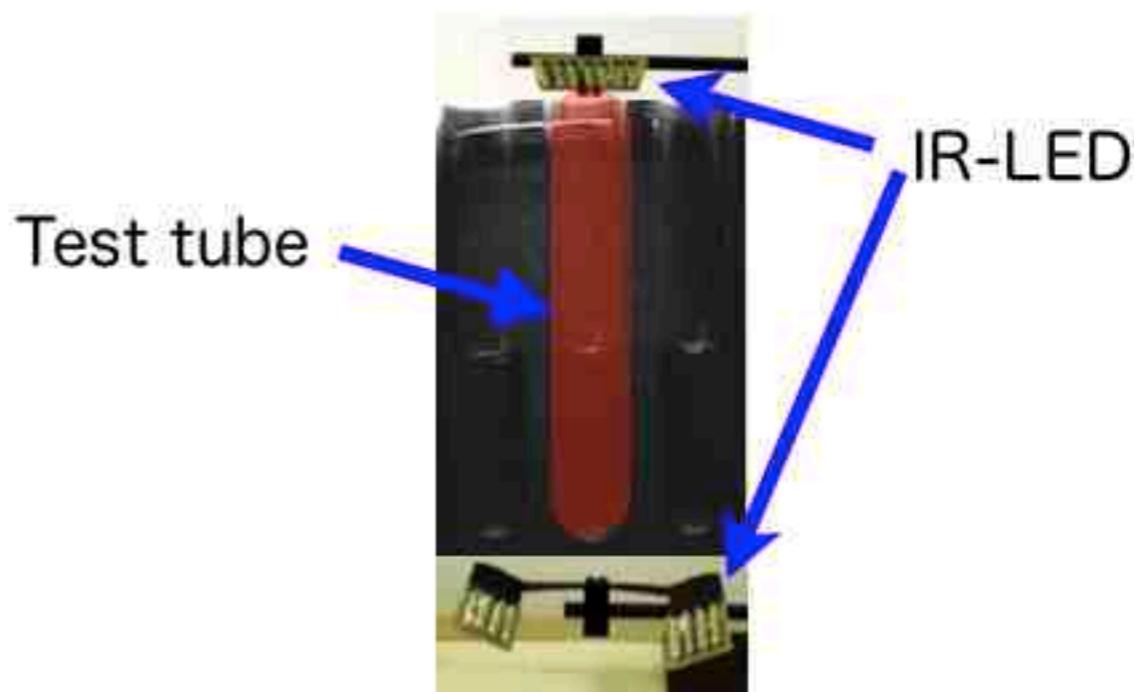


特徴

- 一度に30個体、10分間隔でイネの初期生育を画像記録
- 光受容体遺伝子解析のための暗所生育の成長画像記録



1. 回転搬送による撮影機構



2. 暗所生育撮影のための長波長LED照明装置

成長画像

10分間隔で個体全体の成長の様子を画像記録

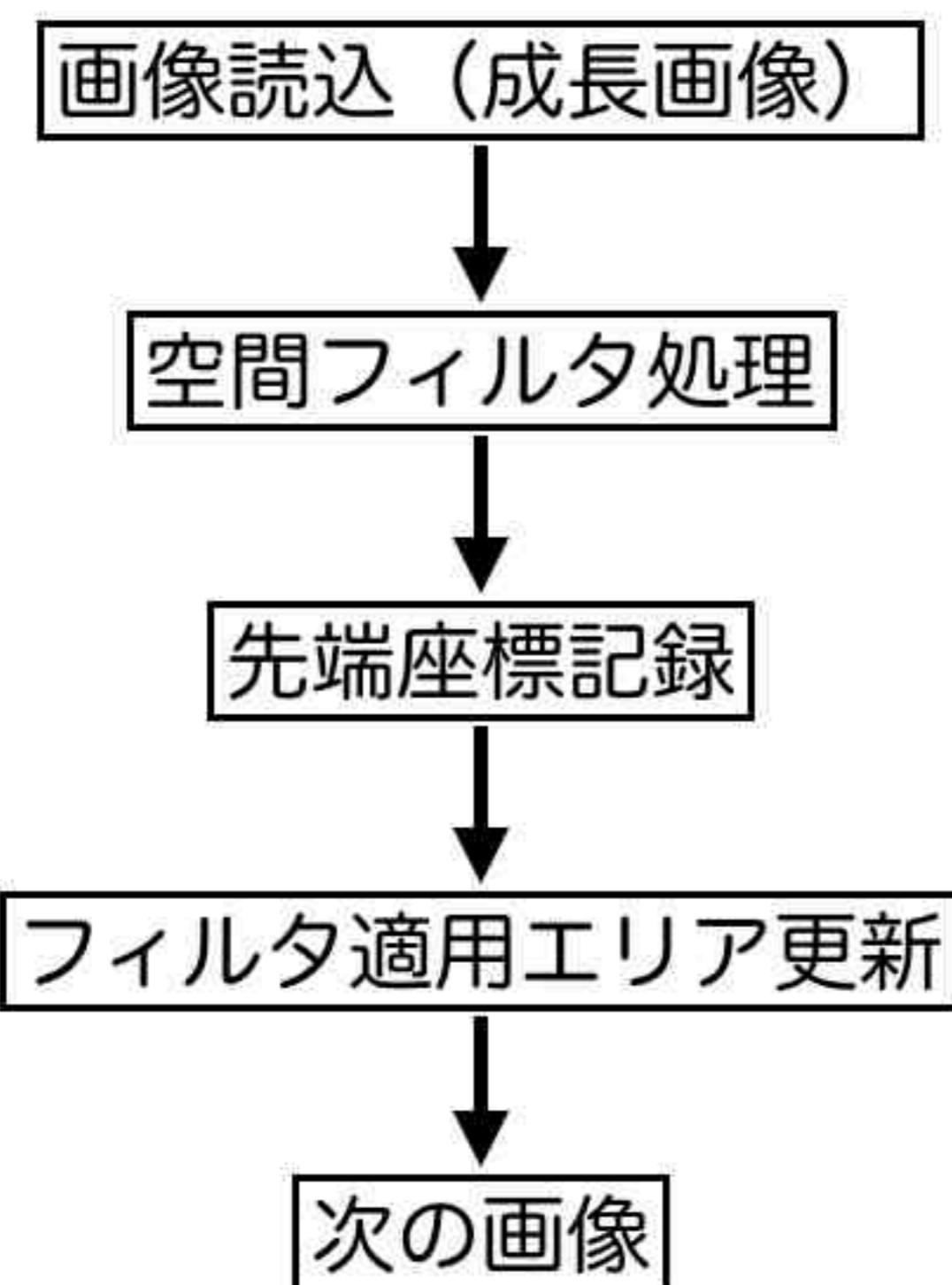
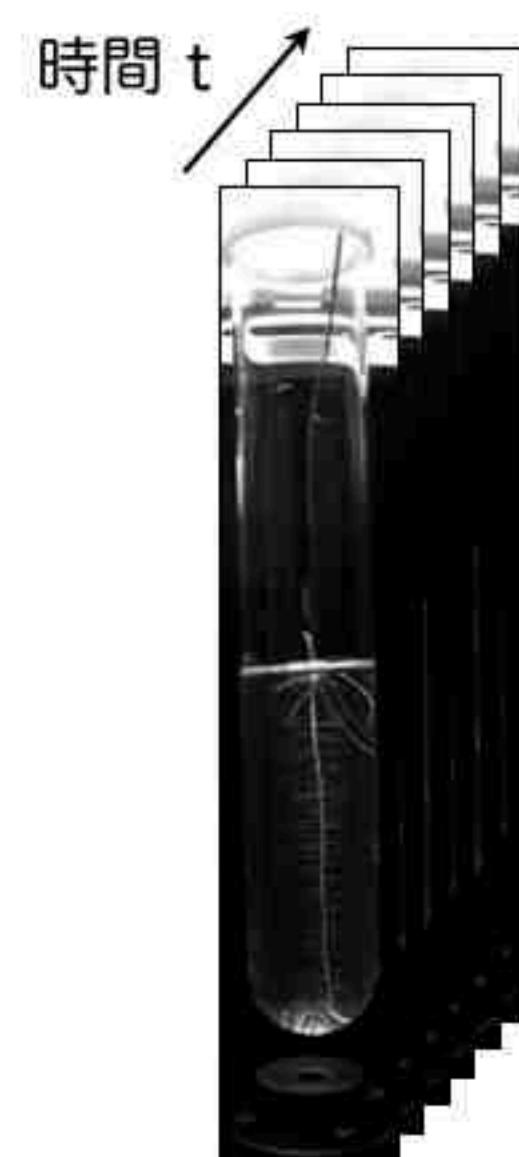
暗所での成長の様子を画像記録
(幼葉鞘の回旋運動)



Growth condition:

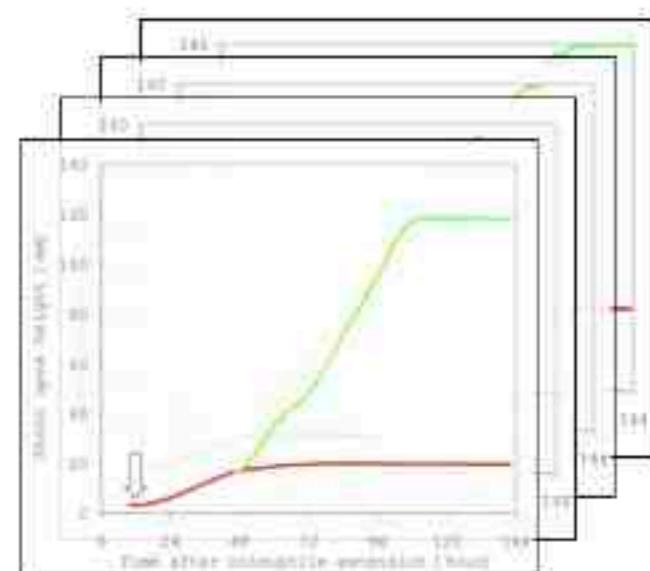
- 28 °C
- Darkness

葉の先端部自動検出処理



-1	-1	-1	-1	-1
-1	-1	1	-1	-1
-1	1	1	1	-1

検出に使う空間フィルタ



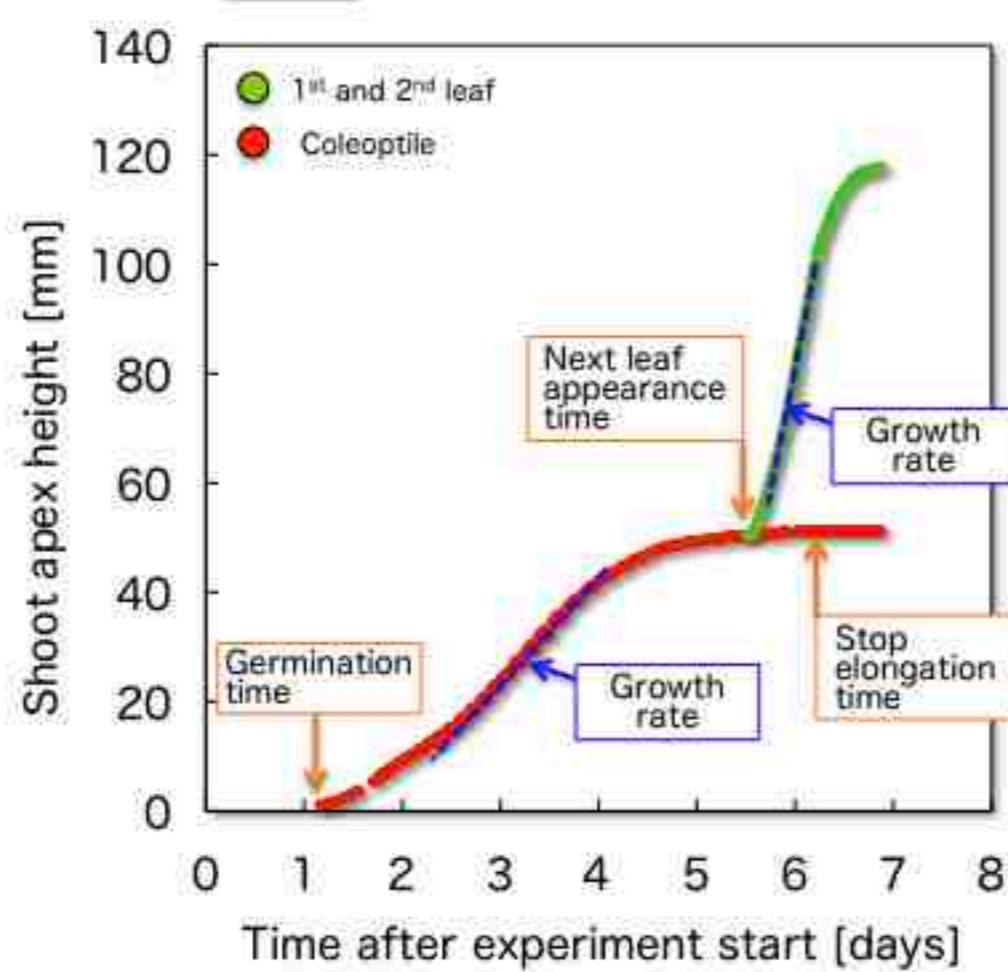
先端検出結果

先端検出結果から成長の連続的な 形状計測値を取得

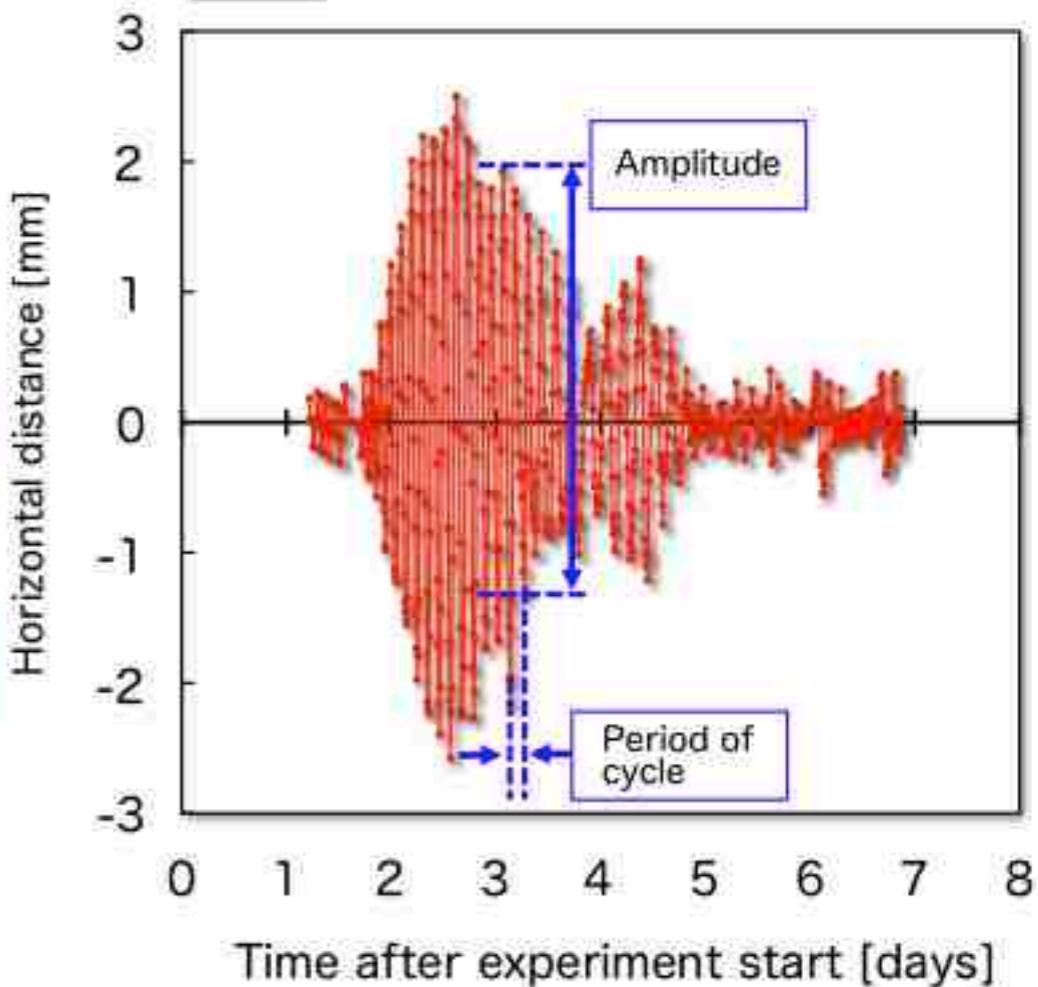
先端検出結果



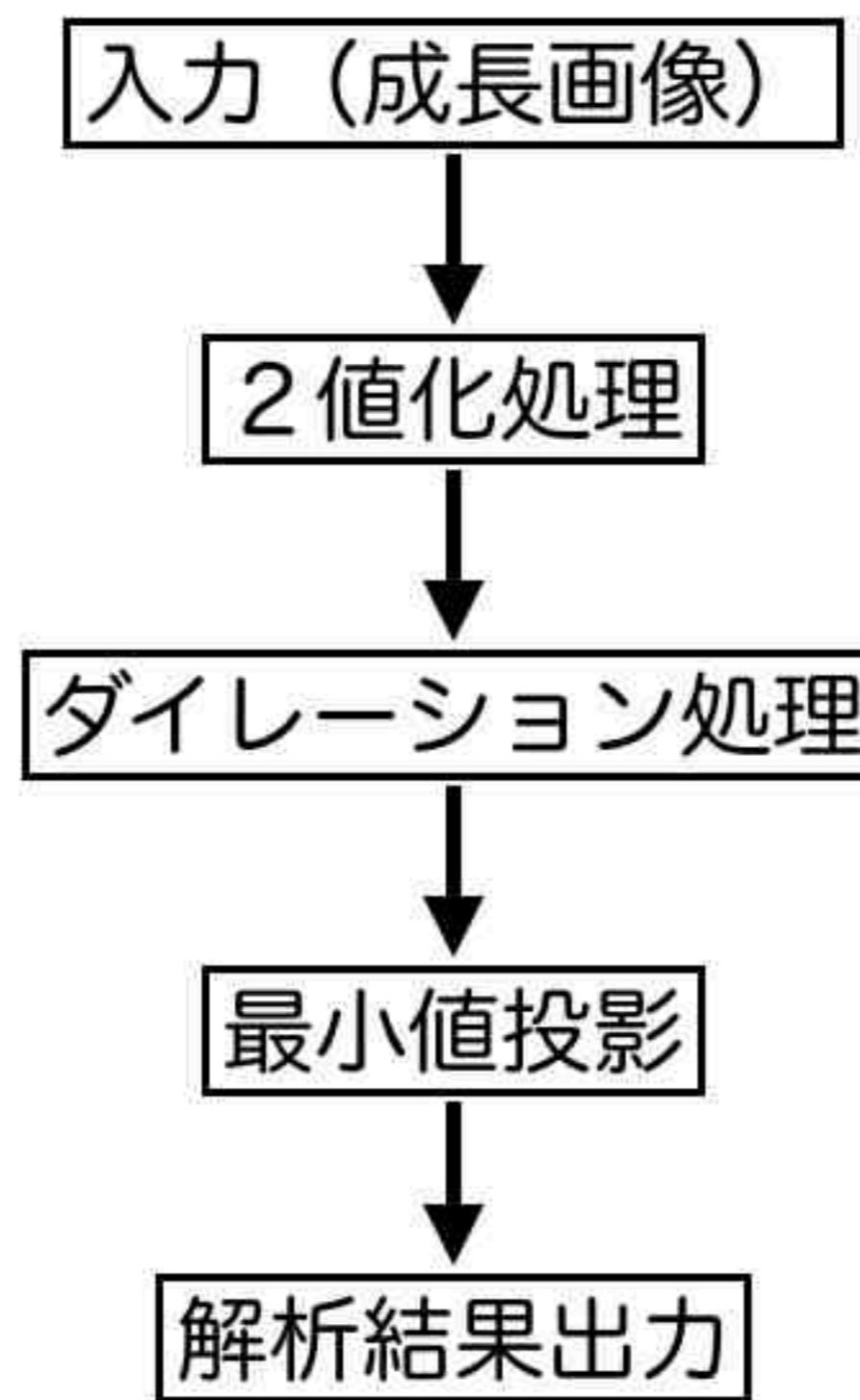
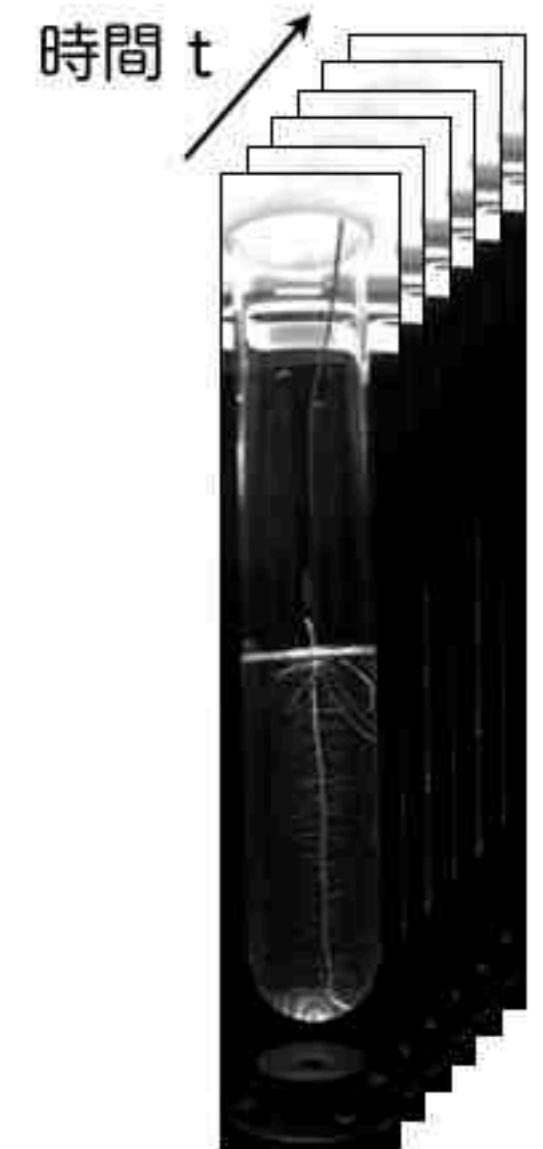
伸長パラメータ
(垂直方向成分)



回旋パラメータ
(水平方向成分)

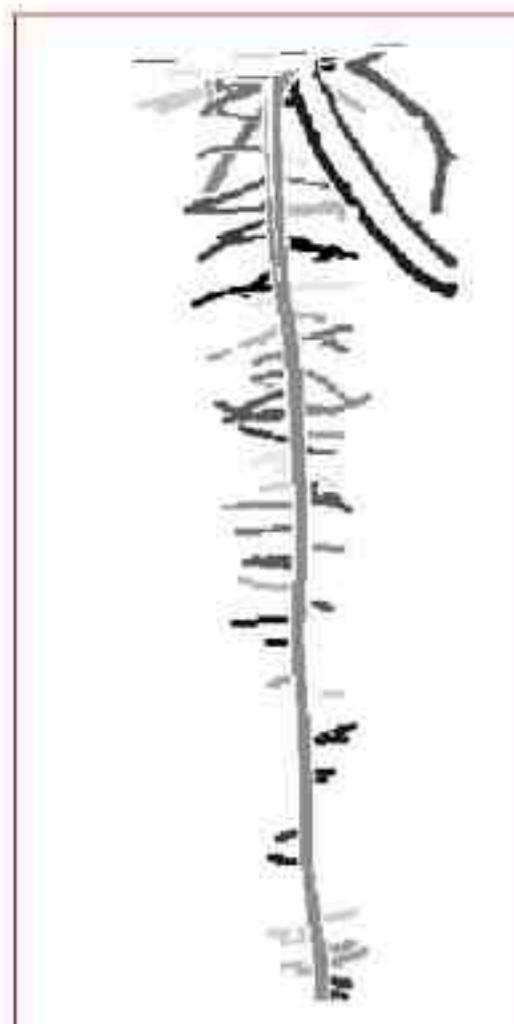


時系列解析を用いた根の形状計測



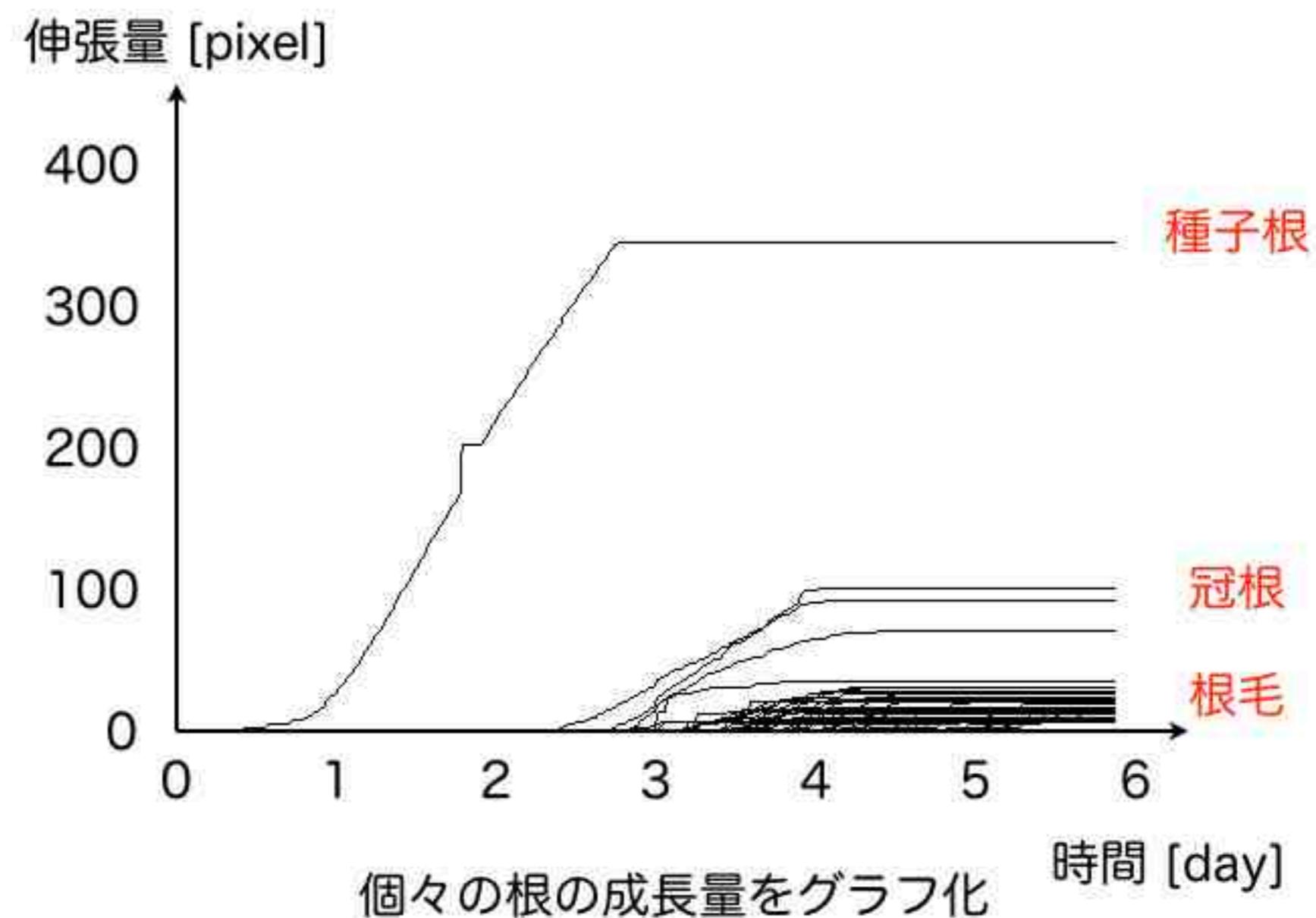
個々の根の計測値の取得

イネの根は、種子根→冠根→根毛
の順に成長する知見を利用



抽出した領域を
ラベル付け

個々の根の切り出し



初期生育イメージング装置開発

開発目標：長期間の繰り返し動作精度の保証

課題：回転機構、試験管固定方法

基本機能の検証

初号機
暗視撮影



暗視撮影

2号機
全周囲撮影



全方位撮影

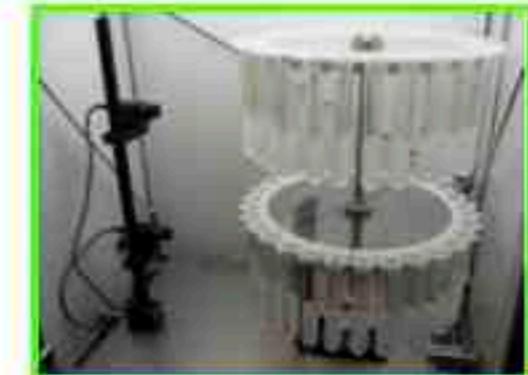
機能と操作性の向上

3号機
製品試作



長期間動作の
精度保証

4号機
ハイスループット



2段60本構成

全周囲撮影装置



立体的な形状計測手法の開発

詳細な形状形質取得のための撮影装置の開発

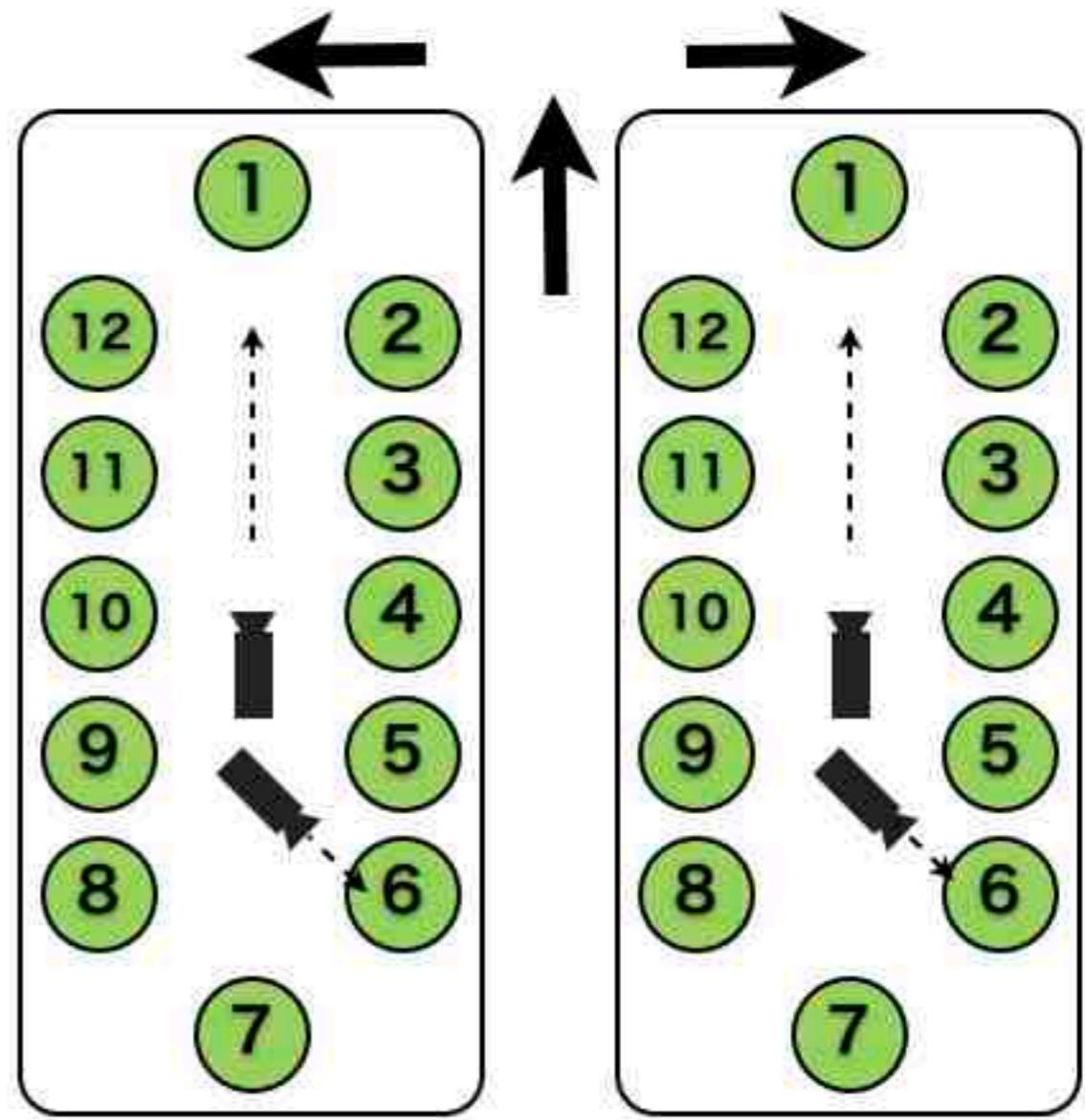


複数本の試験管の全周囲
からの撮影を実現する
搬送機構を開発



中期生育イメージング装置

イネの分けづ期の成長解析のための画像撮影機構の開発

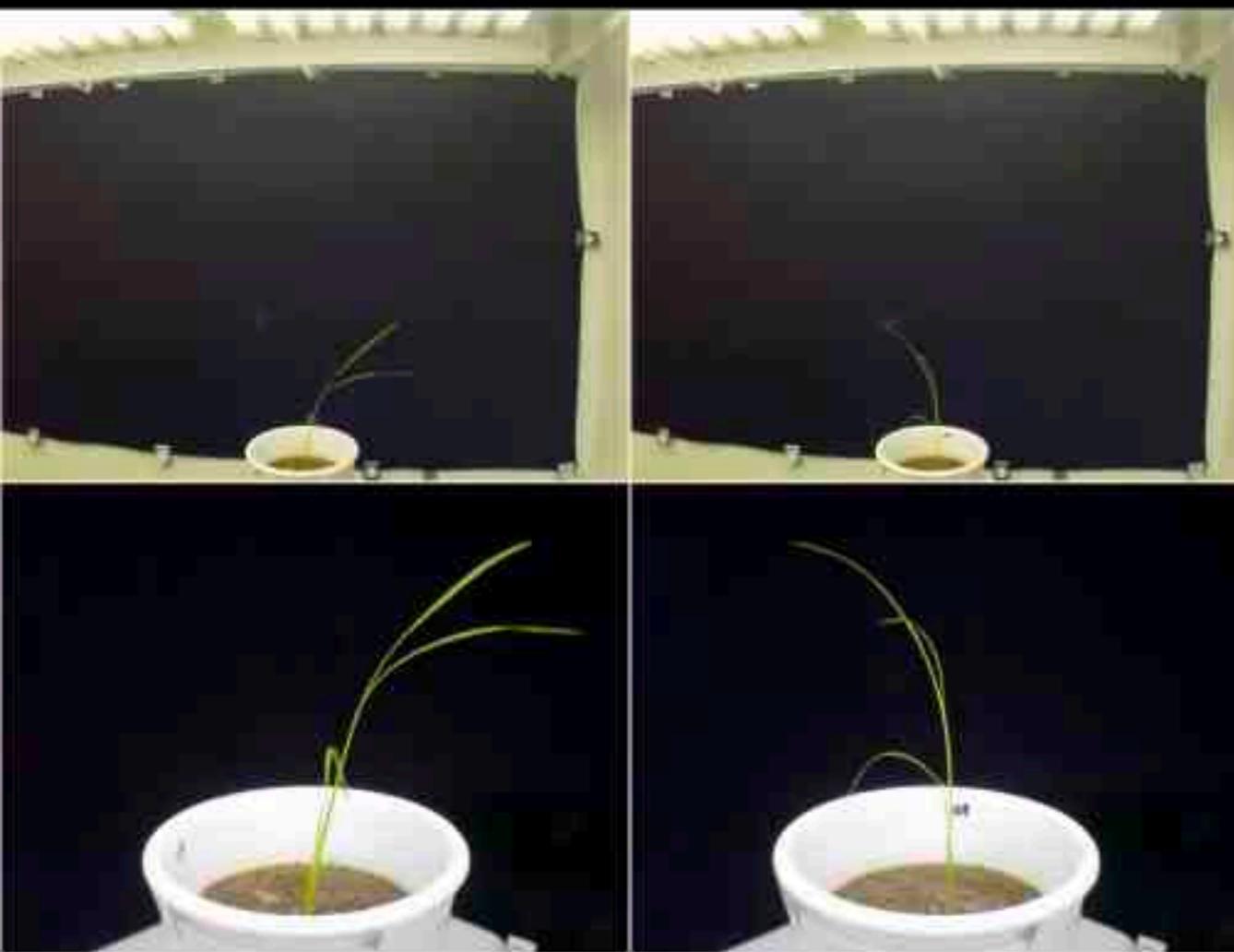


成長画像

Nipponbare

0°

90°



osphyB-5 mutant

0°

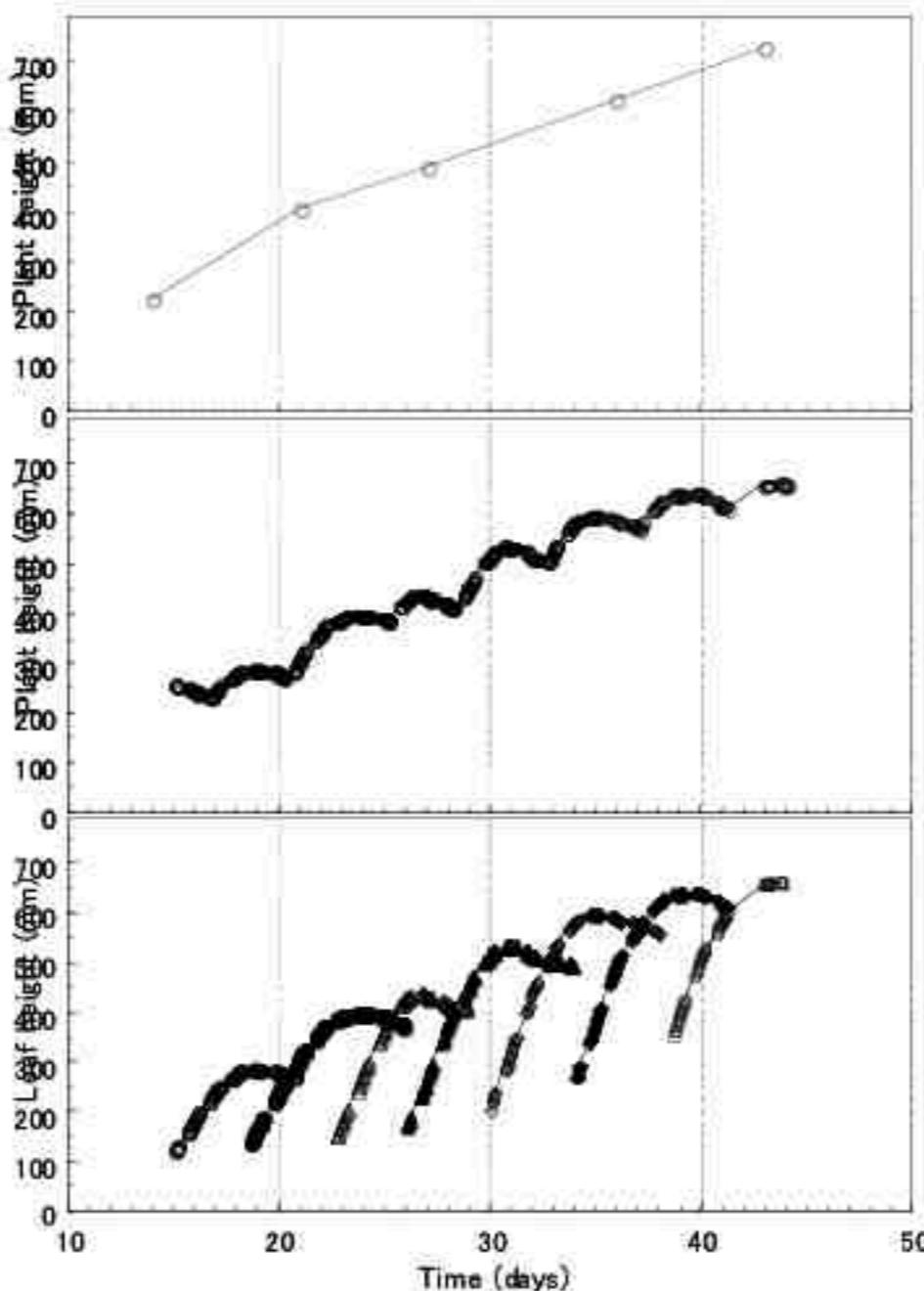
90°



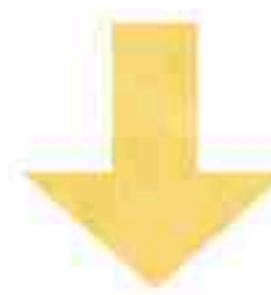
葉の伸長速度解析

画像より一枚一枚の葉の伸長速度計測を実現

草丈計測
従来法



草丈伸長速度
15mm/day



草丈計測
連続画像利用

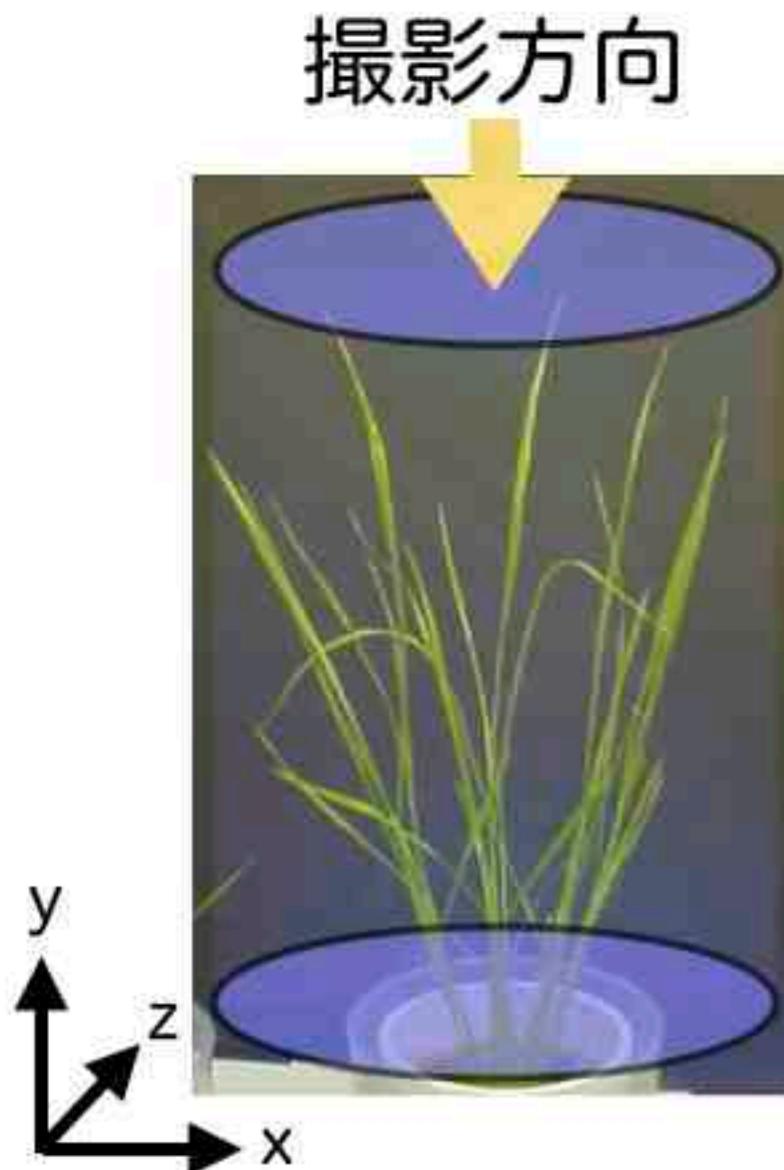
葉の伸長計測
連続画像利用

葉の伸長速度
80mm/day
(3.4 ± 0.3 mm/hour)

Ishizuka, T., Tanabata, T., Takano, M., Shinomura, T. 2005. Kinetic measuring method of rice growth in tillering stage using automatic digital imaging system. Environ. Control in Biol. 43:83-96.

葉の運動解析のための時空間画像解析

イネの成長を上部から捉え空間上の葉の広がりを記録



成長画像



実験条件

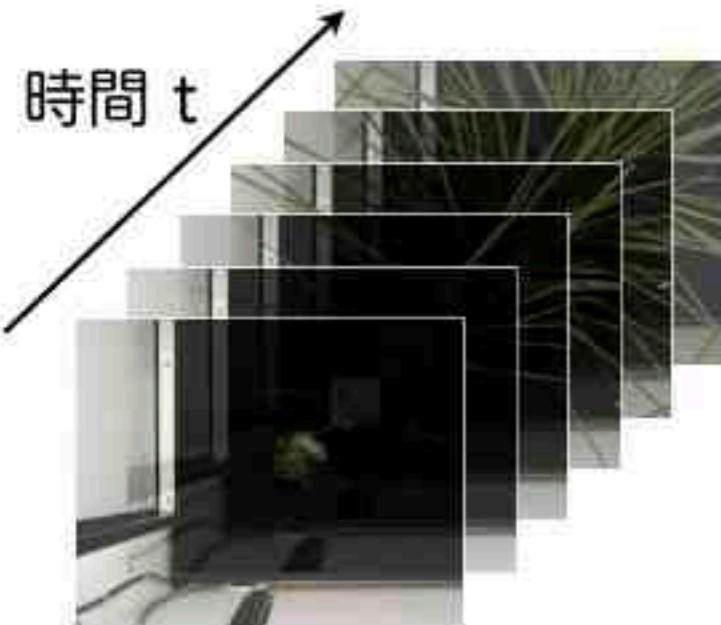
材料：日本晴

照明条件：日中14時間、夜間10時間

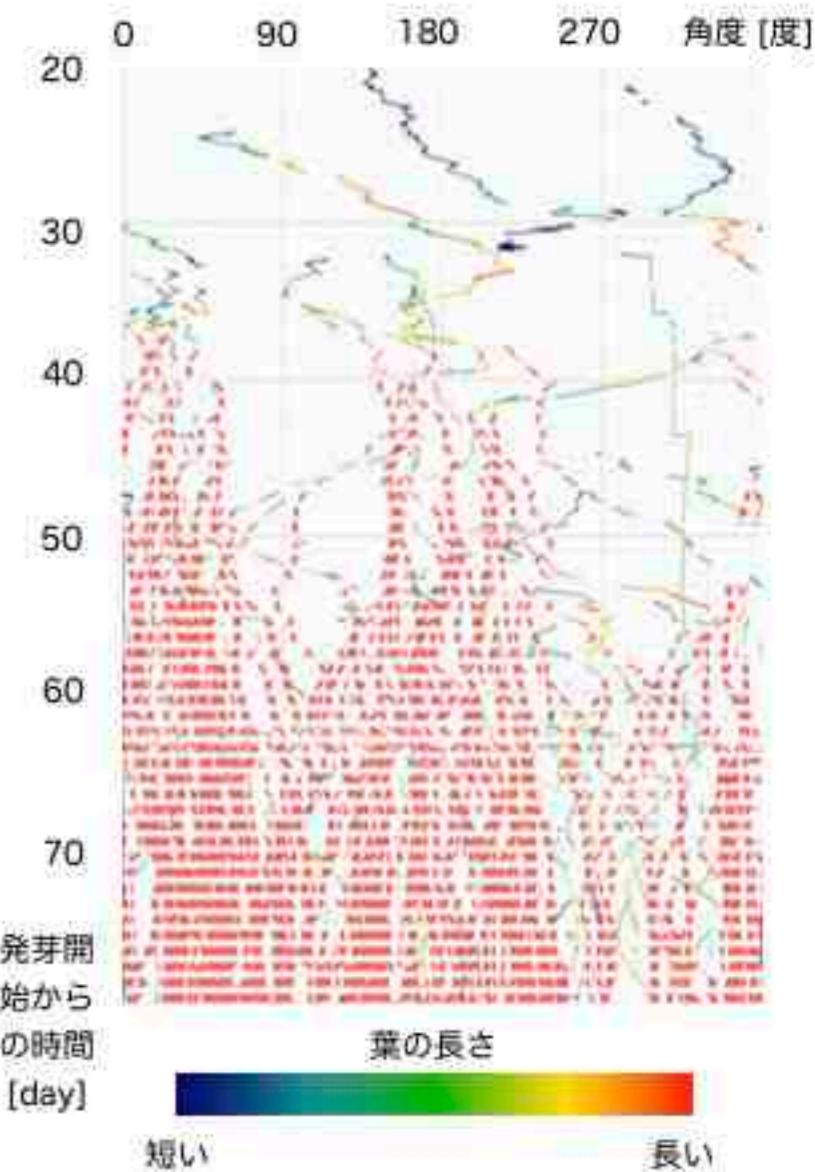
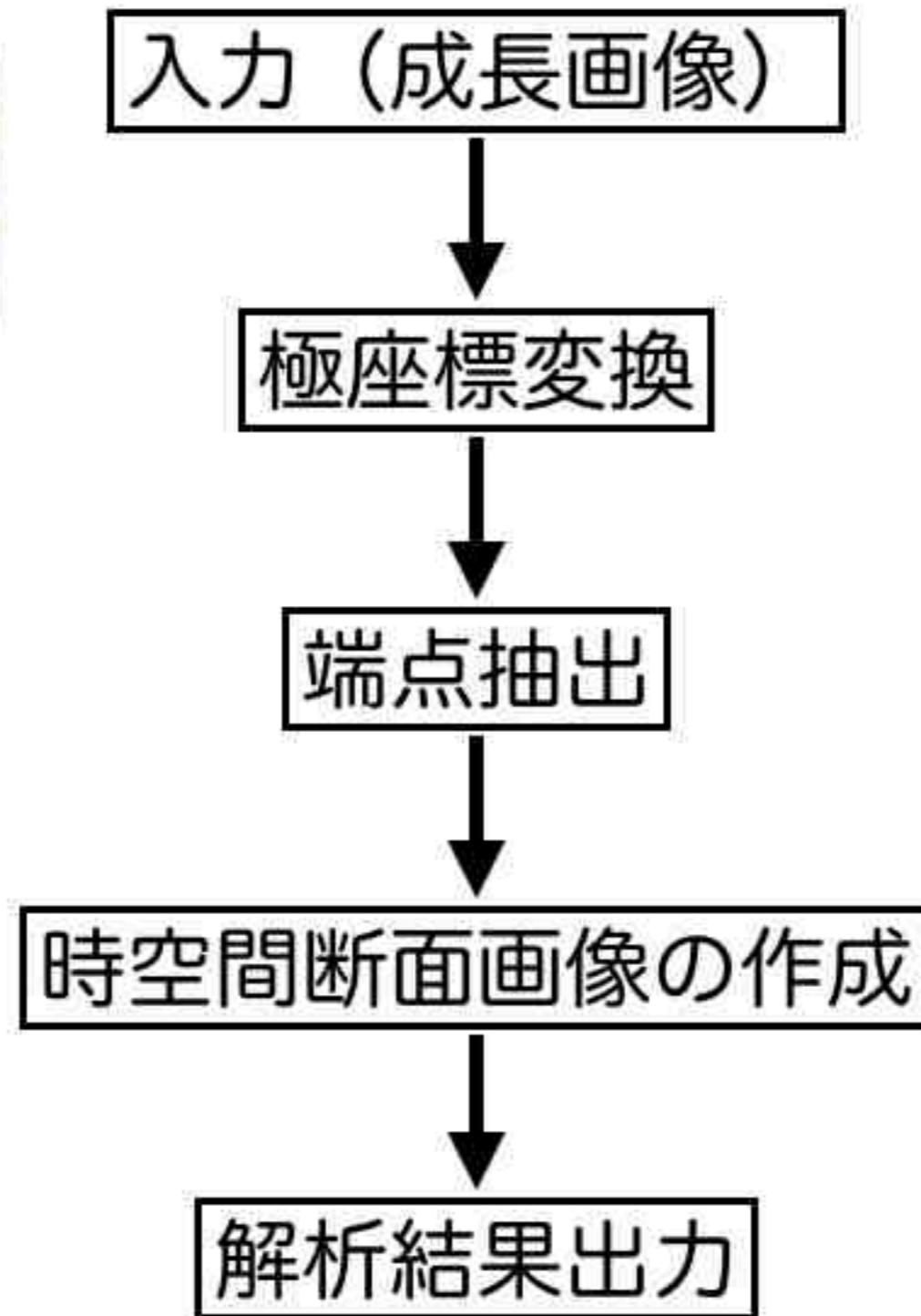
撮影間隔：30分（夜間は2時間）

撮影期間：発芽誘導より20日目0時0分から79日目23時30分 計2,880画像

葉の運動解析のための時空間画像解析



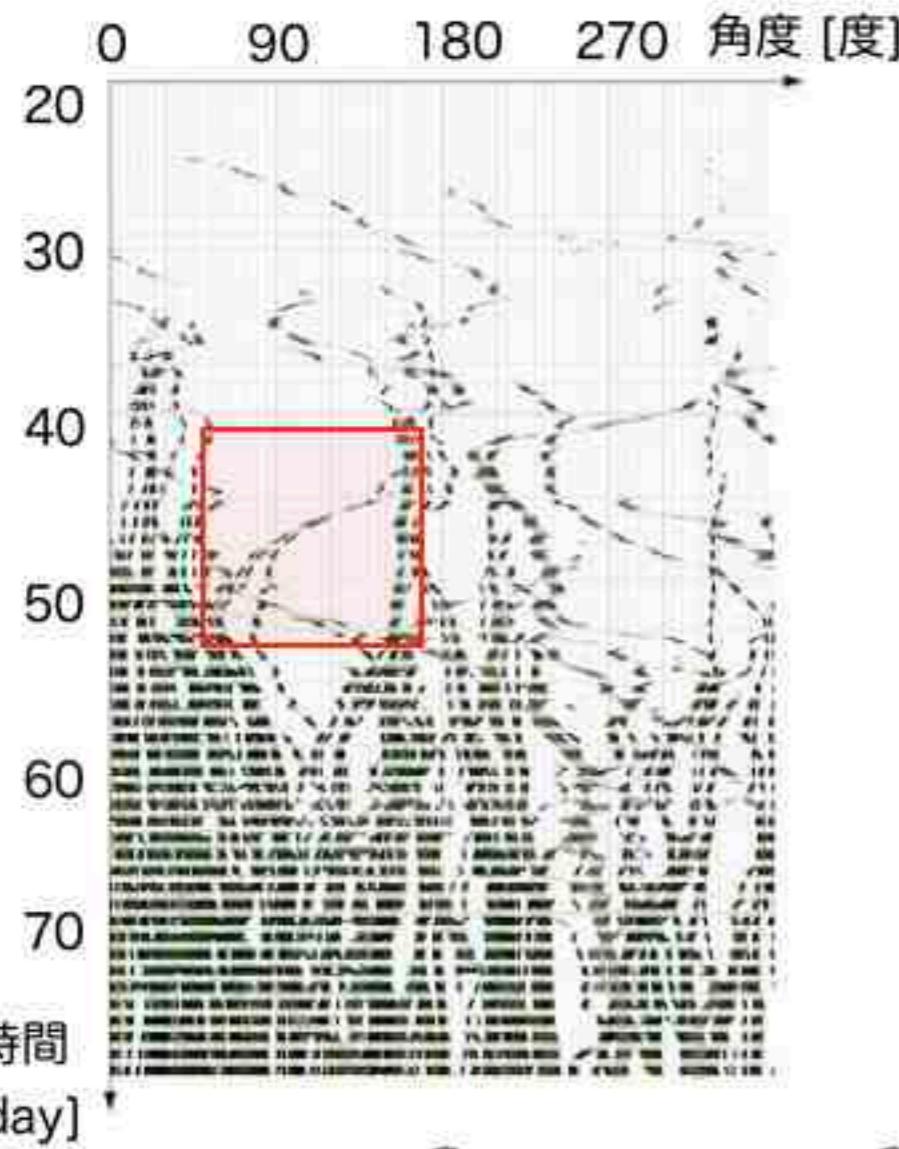
成長画像



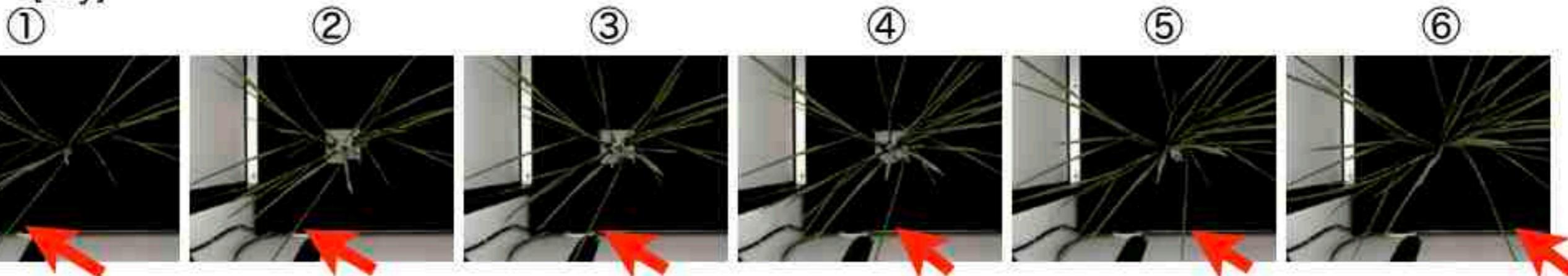
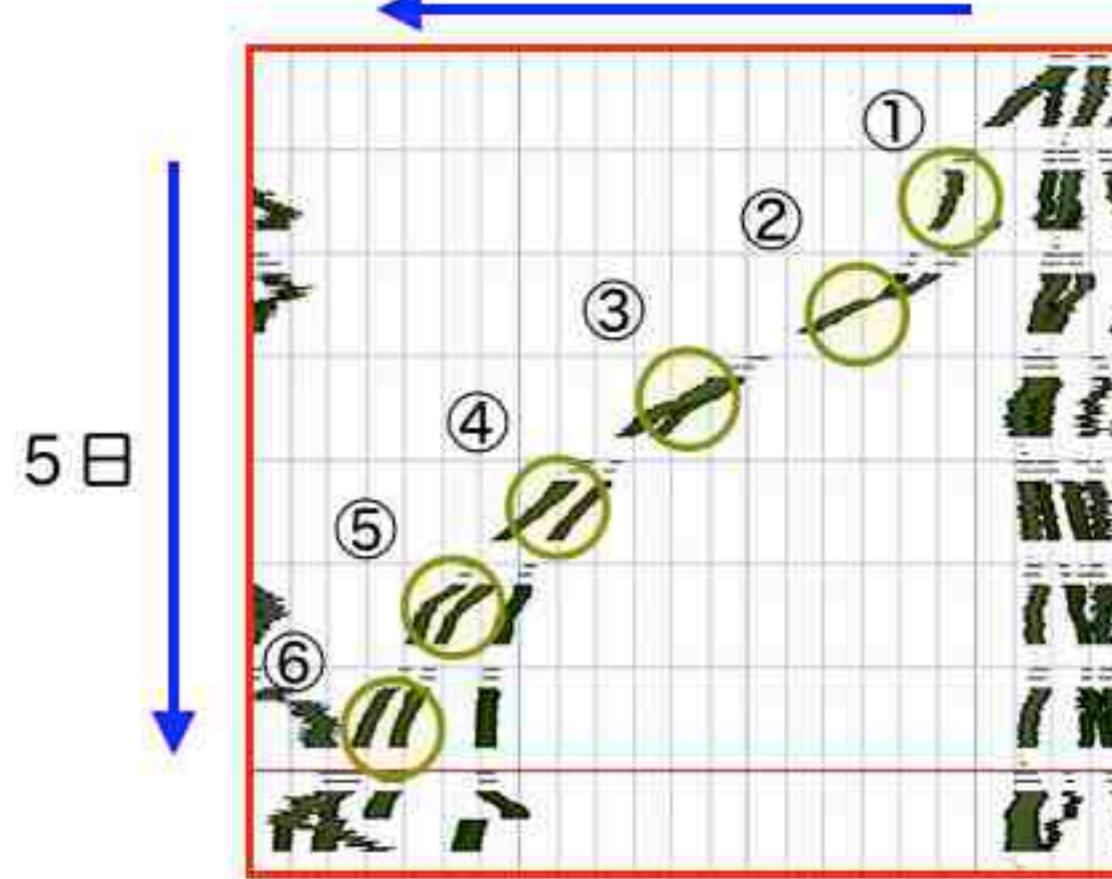
解析結果
(時空間断面画像)

時空間断面画像

葉の回転方向の動きが横軸、時間を縦軸に表現



反時計回りに 75 度回転



システム開発と研究成果をつなげる

1. 研究目的の明確化

新たな研究へと切り開く可能性を秘めているが、研究目的を明確化しシステム開発と同調して進めないと研究成果につながりにくい

2. 解析ソフトウェアの開発力

装置開発と同時に解析手法・ソフトウェア開発が重要
画像解析技術に加えデータ管理・データハンドリング
など周辺技術の開発整備が必要

ハイスループット形質評価技術の 開発事例の紹介

1. 生育モニタリングシステムの開発
2. 形質計測ソフトウェアの開発

形質計測ソフトウェアの開発

研究者の研究活動とともに開発を進める

1. 専用ソフトウェアを開発

利用者と開発者で研究目的を共有

利用者の研究環境に応じた最適なソフトを開発

画面表示など可能な限り要望を実現

2. 作業全体を見渡し導入効果の高いソフトを提案

画像解析技術、情報デバイスの活用

開発ソフトの紹介

1. 画像解析による形状計測

器官等の形状計測の自動計測

2. 圃場における形質評価

携帯端末を使ったデータ入力作業の効率化

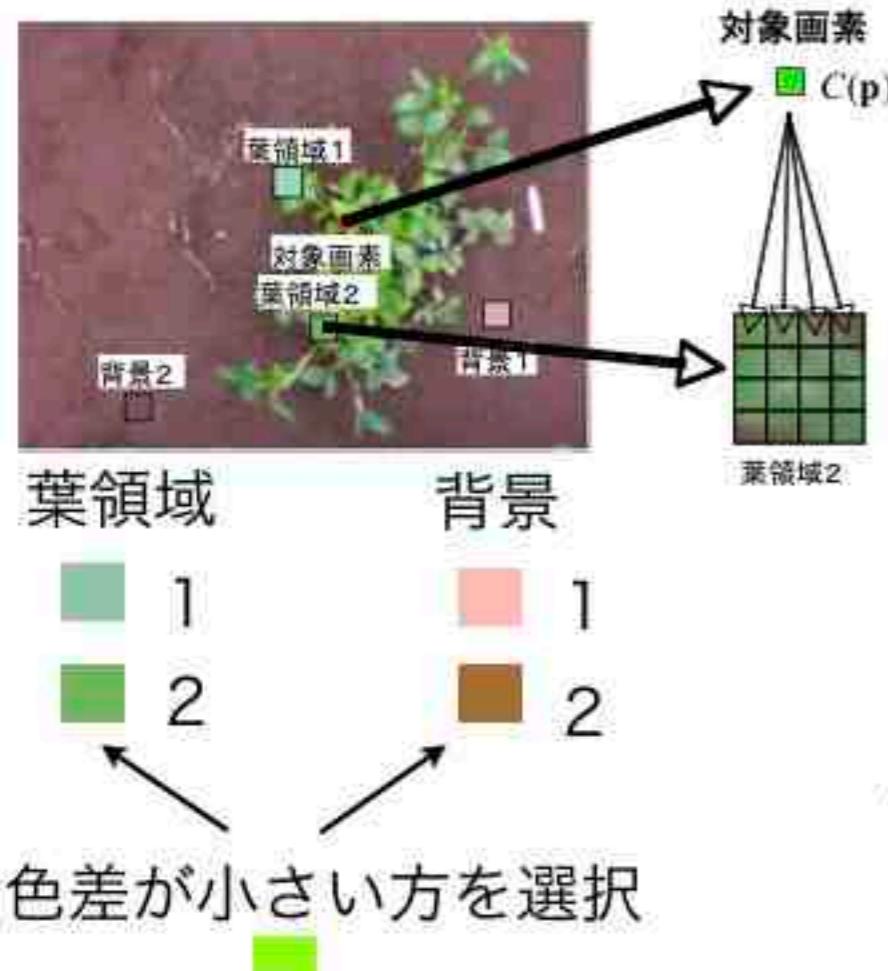
3. その他

タッチパネルを使った計測作業の効率化

1. 画像解析による形状計測

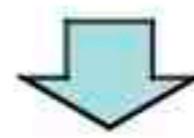
(1) 葉面積計測手法の開発

背景が均一でない画像から葉の部分を認識する手法を開発
圃場で撮影する画像でも安定して葉を認識



$$d_n(\mathbf{p}, (x, y)) = \sqrt{\sum_{C \in [R, G, B]} (C(\mathbf{p}) - C_n(x, y))^2}$$

$C(\mathbf{p})$: 原画像のピクセル \mathbf{p} の画素値
 $C_n(x, y)$: サンプル n の座標 (x, y) における画素値



平均色差

$$\frac{1}{32 \times 32} \sum_{x=0}^{31} \sum_{y=0}^{31} d_n(\mathbf{p}, (x, y))$$



A. 原画像



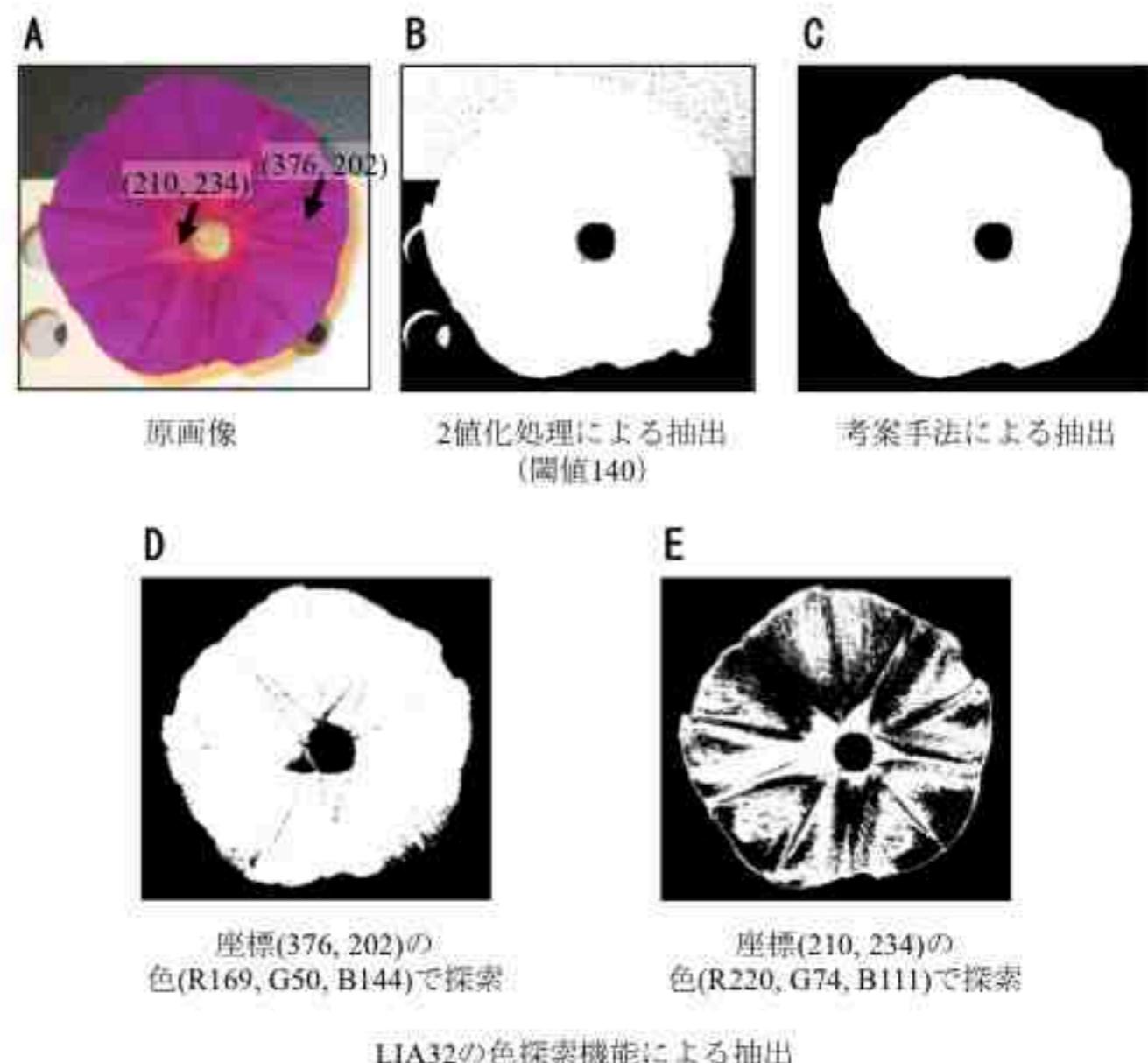
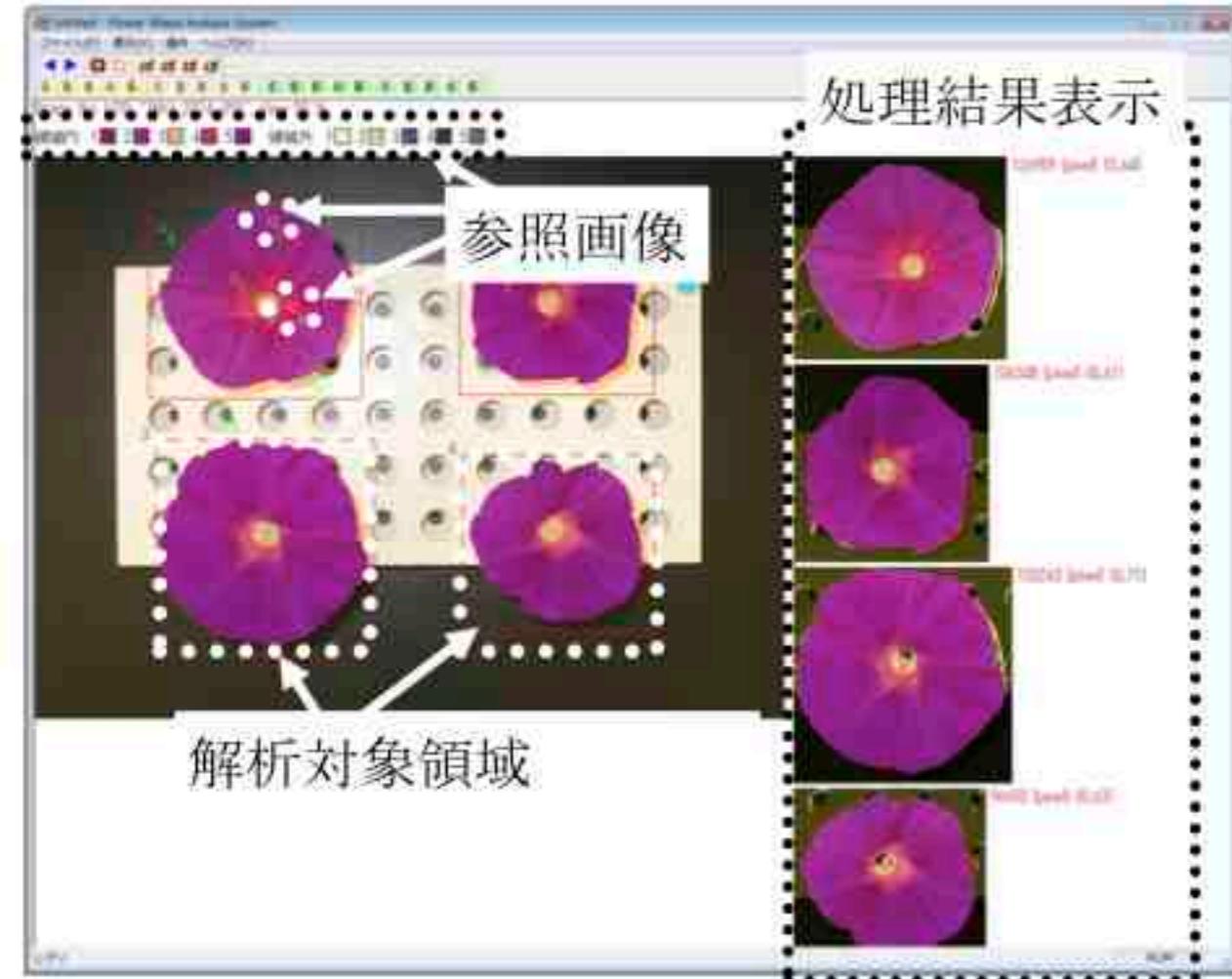
C. 考案手法で処理した結果

対象画素

七夕 高也, 山田 哲也, 清水 悠介, 篠崎 良仁, 金勝 一樹, 高野 誠, "植物器官のデジタル画像面積を効率的に計測できる領域抽出ソフトウェアの開発", 園芸学研究, Vol.9, pp.501-506 (2010)

(2) 面積計測ソフト

フォルダ内の画像を順次処理し、大量画像を手軽に解析
画像処理のためのパラメータ設定が不要

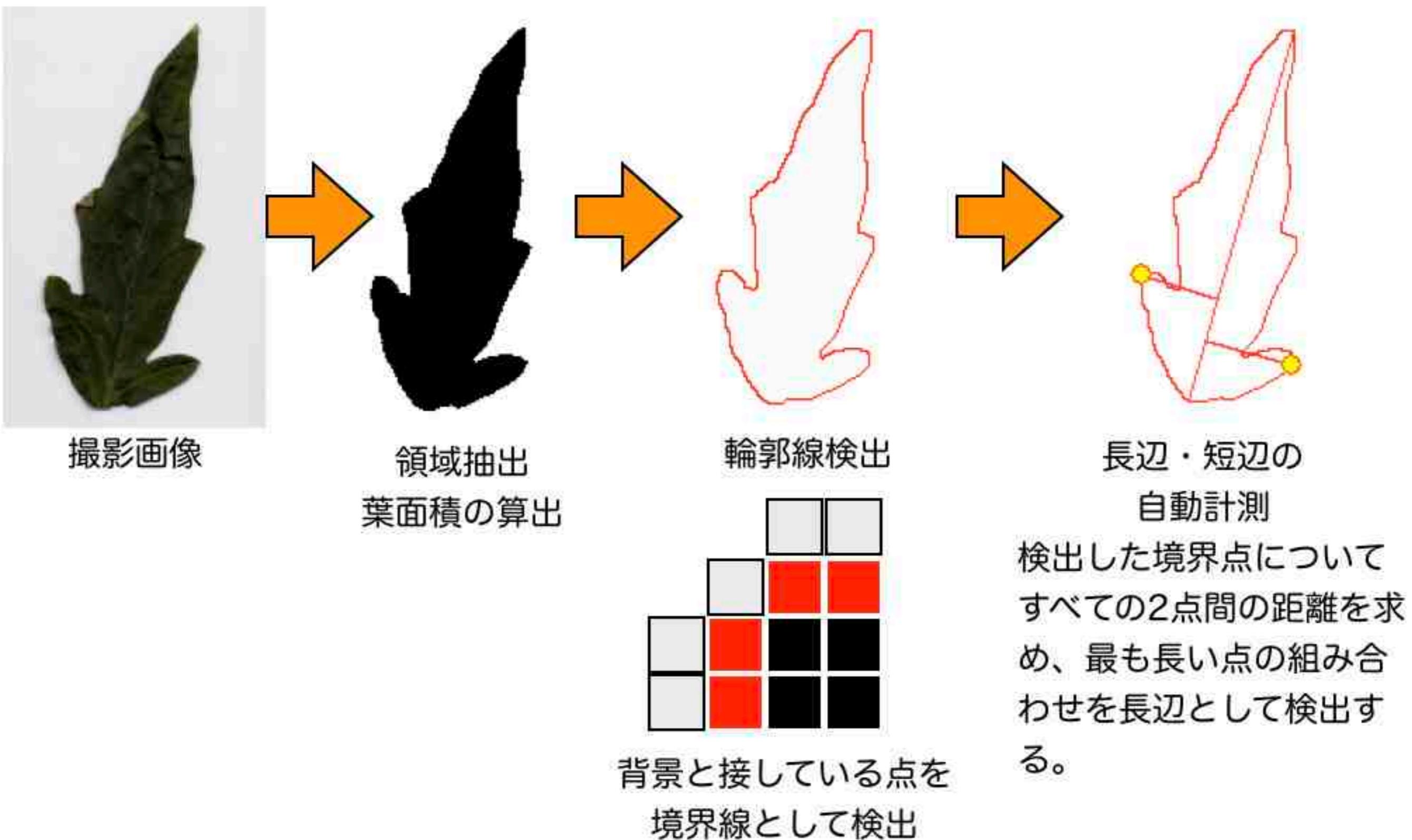


(3) トマトの葉の形状値計測

面積計測ソフトで開発した領域抽出手法に形狀解析機能を追加



形状解析手法の開発

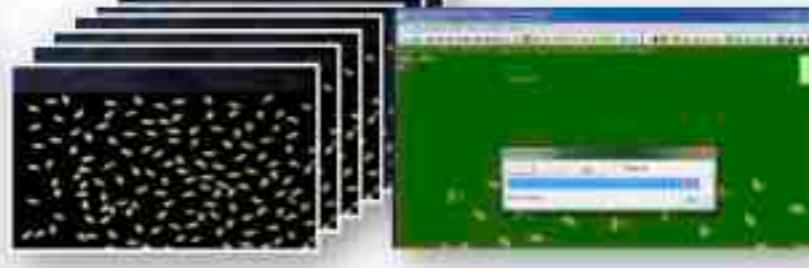


(4) ハイスループット粒径計測

(1) ~ (3) に芒や埃除去の手法を追加
画像撮影から計測値を得るまでの効率化を実現



スキャナに種子を広げて撮影
1 画像（系統）あたり 2~5 分



撮影した画像の自動解析
1 画像あたり 5 分程度



結果出力
CSV ファイル

種子

画像撮影

画像

画像解析

計測値

形質値の比較
QTL 解析

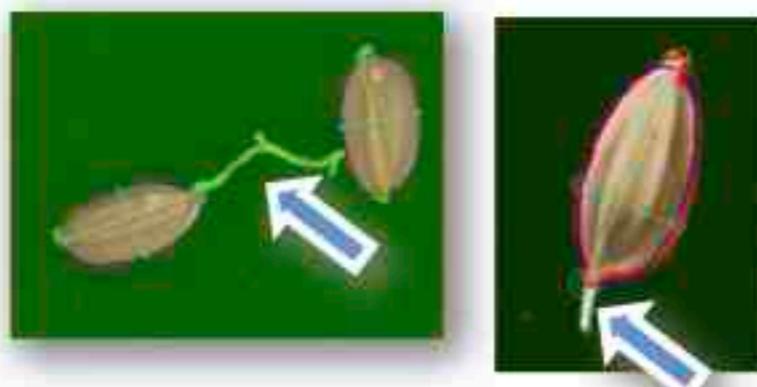
種子の自動認識

すべての種子を自動認識
色差判別手法を使った認識精度の
高い解析手法を考案



芒や埃の自動除去

画像処理の膨張・収縮処理を活用
した芒や埃の自動除去機能を考案



計測項目



項目
1 面積 [mm ²]
2 周囲長 [mm]
3 長さ [mm]
4 幅 [mm]
5 長幅比
6 円形度
7 重心と交点の距離 [mm]
8 近似楕円の長辺 [mm]
9 近似楕円の短辺 [mm]
10 近似楕円の長幅比
11 近似楕円の扁平率
12 色 (L*a*b 表色系)

2. 囲場での形質評価のハイスループット化

葉面積計測のための撮影装置と解析ソフトウェアを開発

2005年：アカクローバーの葉面積計測システム

屋外撮影システム



囲場で画像撮影

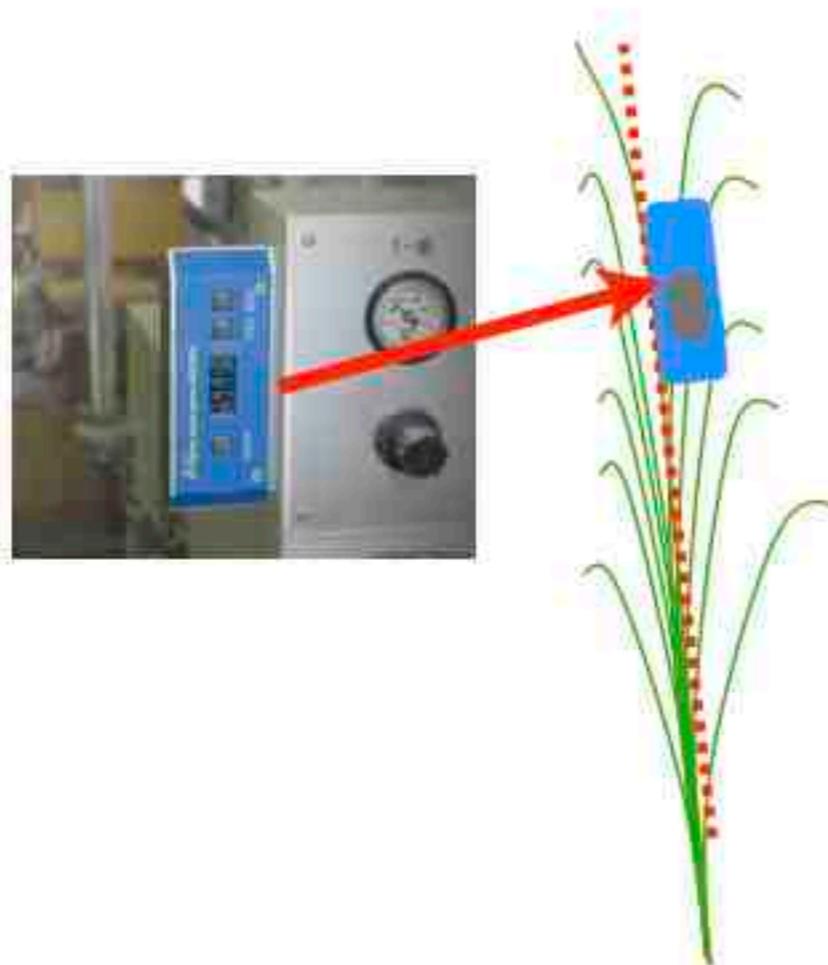
葉面積計測ソフトウェア



研究室で計測作業

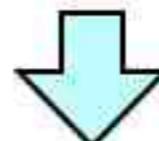
圃場栽培のイネ葉身傾斜角度の計測

デジタルアングルメータを使ったイネの葉の角度計測
計測データの記録作業とデータ整理の負担は大きい



デジタルアングルメータ
を使った葉の角度計測*

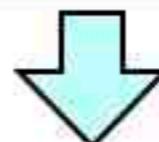
(1) メータを葉に当てる



(2) メモリを読み取る



(3) 野帳（紙）に記録



(4) 電子化（Excel等を
使った入力作業）

計測作業における
計測値の記録・整理
にかかる負担

計測手順

画像を使った計測技術の検討

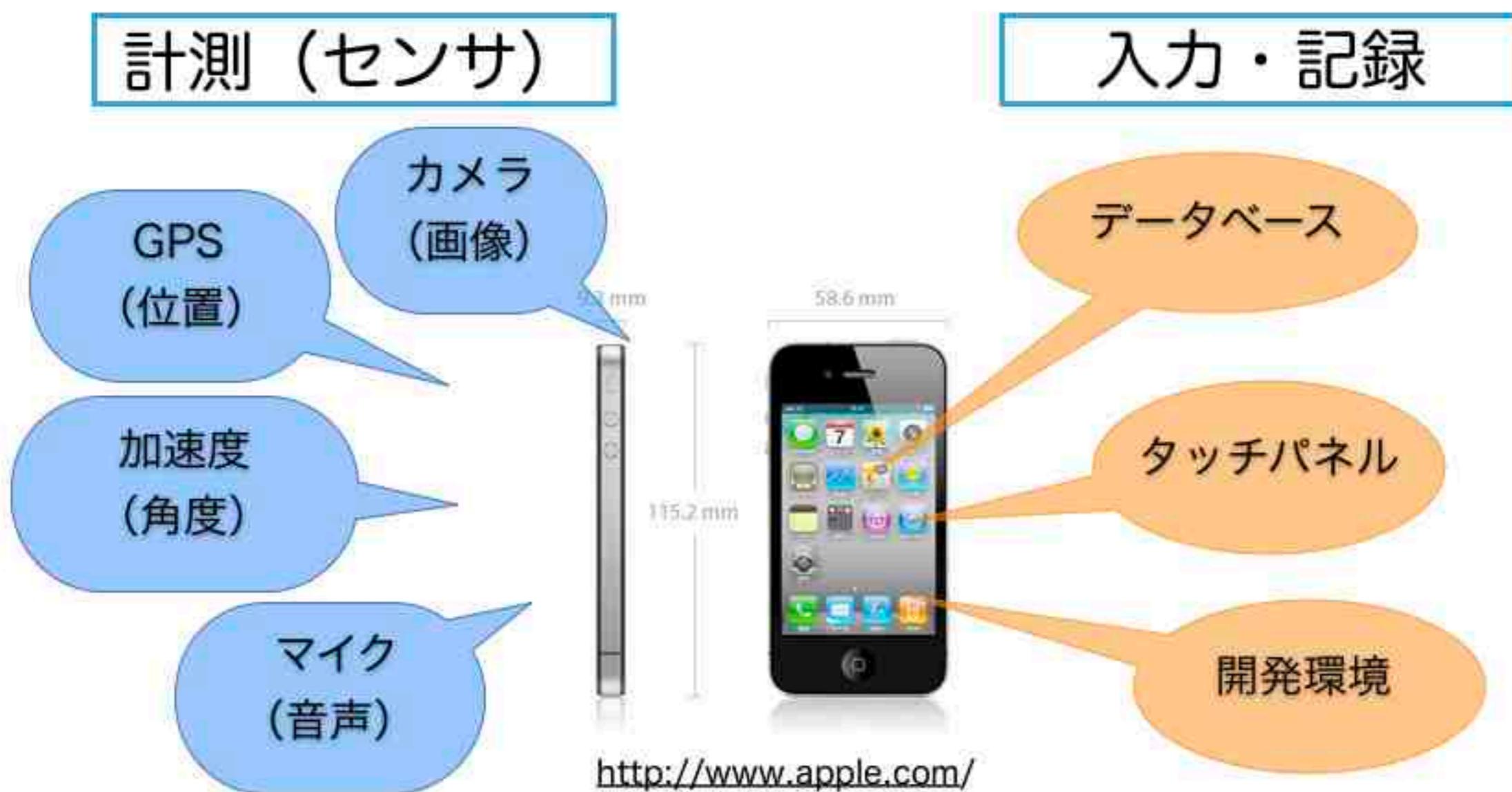
1. 画像から葉身の角度を効率よく計測するソフトを開発
2. 圃場でデジタルカメラを使い画像撮影
3. 従来法との比較で解析に十分な精度の計測値が得られることを確認
4. 画像撮影の作業負担が大きく計測に時間がかかる

角度計測ソフトウェア



スマートフォンの活用

1. 計測に活用できるセンサを内蔵
2. 操作性・可搬性に優れている
3. 専用ソフトウェアを開発できる機能を搭載



イネ葉身傾斜角度の計測ソフト

- ・本体内蔵の加速度センサを使った角度計測
- ・画面のボタンを押すだけで角度値と計測時刻を記録

圃場で計測記録



研究室でデータ解析

ID	IND	SD	OID	ANGLE	GX0	GY0	GX2	GY2	MTIME
1	20110822	31.60237	0.408691	-0.64034	-0.67947	2011/8/22 20:58			
2	20110822	41.16702	0.408627	-0.52161	-0.86701	2011/8/22 20:58			
3	20110823	18.73967	0.258354	-0.63122	-0.44206	2011/8/23 14:06			
4	20110824	15.79046	0.238953	-0.03445	-0.40166	2011/8/24 8:39			
5	20110824	32.77253	0.40304	-0.70819	-0.41408	2011/8/24 8:39			
6	20110824	41.20488	0.656311	-0.72130	-0.16949	2011/8/24 8:39			
7	20110828	8.40386	0.111763	-1.03252	-0.36699	2011/8/28 15:54			
8	20110828	19.82331	0.342194	-0.95847	-0.35548	2011/8/28 15:54			
9	20110929	32.757240	0.06917	-0.99067	-0.52301	2011/9/29 15:54			
10	20110929	18.056574	0.3276684	-0.96896	-0.34167	2011/9/29 15:55			
11	20111001	16.78045	0.22247	-0.70398	-0.59679	2011/10/1 17:46			
12	20111001	24.40428	0.32613	-0.30687	-0.60342	2011/10/1 17:46			
13	20111001	24.93857	-0.34395	-0.72061	-0.56201	2011/10/1 17:46			
14	20111012	20.240403	0.337006	-0.86874	-0.20143	2011/10/12 10:28			
15	20111012	39.811467	0.586105	-0.66609	-0.42706	2011/10/12 10:28			
16	20111012	55.588329	0.790543	-0.51183	-0.31036	2011/10/12 10:28			
17	20111012	34.60688	0.552187	-0.7061	-0.24864	2011/10/12 10:28			
18	20111012	38.57068	0.606293	-0.77119	-0.26551	2011/10/12 10:28			
19	20111012	49.52917	0.791962	-0.59528	-0.29616	2011/10/12 10:28			
20	20111012	18.18823	0.287623	-0.82279	-0.22187	2011/10/12 10:28			
21	20111012	47.26348	0.728602	-0.56074	-0.38958	2011/10/12 10:28			
22	20111012	22.76482	0.360382	-0.90912	-0.21103	2011/10/12 10:28			
23	20111012	32.16496	0.252421	-0.83348	-0.3156	2011/10/12 10:28			
24	20111012	21.25793	0.295609	-0.94164	-0.19002	2011/10/12 10:28			
25	20111012	4.216253	0.088813	-0.94028	-0.24219	2011/10/12 10:28			
26	20111012	83.65462	0.120089	-0.96606	-0.10535	2011/10/12 10:28			
27	20111012								

端末を計測対象にあて画面のボタンを
押すだけで計測と記録を実行

端末をPCに接続すると即時に計測
結果が表計算ソフトに読み込み可能

出穂調査への応用

- ・大規模系統群の出穂日の調査簿
- ・圃場での記録と研究室でのデータ入力を迅速に実行

圃場で記録



研究室でデータ解析

個体番号・品種名 平均日数 各個体の出穂日

個体番号	品種名	平均日数	各個体の出穂日
6-2	コシヒカリ	100.1	100.1
6-2	コシヒカリ	102.5	102.5
6-2	コシヒカリ	103.5	103.5
6-2	コシヒカリ	103.8	103.8
6-2	コシヒカリ	104.0	104.0
6-2	コシヒカリ	107.0	107.0
6-2	コシヒカリ	107.2	107.2
6-2	コシヒカリ	108.5	108.5
6-2	コシヒカリ	108.8	108.8
6-2	コシヒカリ	109.2	109.2
6-2	コシヒカリ	109.5	109.5
6-2	コシヒカリ	109.6	109.6
6-2	コシヒカリ	109.9	109.9
6-2	コシヒカリ	110.2	110.2
6-2	コシヒカリ	110.3	110.3
6-2	コシヒカリ	110.4	110.4
6-2	コシヒカリ	110.5	110.5
6-2	コシヒカリ	110.6	110.6
6-2	コシヒカリ	110.7	110.7
6-2	コシヒカリ	110.8	110.8
6-2	コシヒカリ	110.9	110.9
6-2	コシヒカリ	111.0	111.0
6-2	コシヒカリ	111.1	111.1
6-2	コシヒカリ	111.2	111.2
6-2	コシヒカリ	111.3	111.3
6-2	コシヒカリ	111.4	111.4
6-2	コシヒカリ	111.5	111.5
6-2	コシヒカリ	111.6	111.6
6-2	コシヒカリ	111.7	111.7
6-2	コシヒカリ	111.8	111.8
6-2	コシヒカリ	111.9	111.9
6-2	コシヒカリ	112.0	112.0
6-2	コシヒカリ	112.1	112.1
6-2	コシヒカリ	112.2	112.2
6-2	コシヒカリ	112.3	112.3
6-2	コシヒカリ	112.4	112.4
6-2	コシヒカリ	112.5	112.5
6-2	コシヒカリ	112.6	112.6
6-2	コシヒカリ	112.7	112.7
6-2	コシヒカリ	112.8	112.8
6-2	コシヒカリ	112.9	112.9
6-2	コシヒカリ	113.0	113.0
6-2	コシヒカリ	113.1	113.1
6-2	コシヒカリ	113.2	113.2
6-2	コシヒカリ	113.3	113.3
6-2	コシヒカリ	113.4	113.4
6-2	コシヒカリ	113.5	113.5
6-2	コシヒカリ	113.6	113.6
6-2	コシヒカリ	113.7	113.7
6-2	コシヒカリ	113.8	113.8
6-2	コシヒカリ	113.9	113.9
6-2	コシヒカリ	114.0	114.0
6-2	コシヒカリ	114.1	114.1
6-2	コシヒカリ	114.2	114.2
6-2	コシヒカリ	114.3	114.3
6-2	コシヒカリ	114.4	114.4
6-2	コシヒカリ	114.5	114.5
6-2	コシヒカリ	114.6	114.6
6-2	コシヒカリ	114.7	114.7
6-2	コシヒカリ	114.8	114.8
6-2	コシヒカリ	114.9	114.9
6-2	コシヒカリ	115.0	115.0
6-2	コシヒカリ	115.1	115.1
6-2	コシヒカリ	115.2	115.2
6-2	コシヒカリ	115.3	115.3
6-2	コシヒカリ	115.4	115.4
6-2	コシヒカリ	115.5	115.5
6-2	コシヒカリ	115.6	115.6
6-2	コシヒカリ	115.7	115.7
6-2	コシヒカリ	115.8	115.8
6-2	コシヒカリ	115.9	115.9
6-2	コシヒカリ	116.0	116.0
6-2	コシヒカリ	116.1	116.1
6-2	コシヒカリ	116.2	116.2
6-2	コシヒカリ	116.3	116.3
6-2	コシヒカリ	116.4	116.4
6-2	コシヒカリ	116.5	116.5
6-2	コシヒカリ	116.6	116.6
6-2	コシヒカリ	116.7	116.7
6-2	コシヒカリ	116.8	116.8
6-2	コシヒカリ	116.9	116.9
6-2	コシヒカリ	117.0	117.0
6-2	コシヒカリ	117.1	117.1
6-2	コシヒカリ	117.2	117.2
6-2	コシヒカリ	117.3	117.3
6-2	コシヒカリ	117.4	117.4
6-2	コシヒカリ	117.5	117.5
6-2	コシヒカリ	117.6	117.6
6-2	コシヒカリ	117.7	117.7
6-2	コシヒカリ	117.8	117.8
6-2	コシヒカリ	117.9	117.9
6-2	コシヒカリ	118.0	118.0
6-2	コシヒカリ	118.1	118.1
6-2	コシヒカリ	118.2	118.2
6-2	コシヒカリ	118.3	118.3
6-2	コシヒカリ	118.4	118.4
6-2	コシヒカリ	118.5	118.5
6-2	コシヒカリ	118.6	118.6
6-2	コシヒカリ	118.7	118.7
6-2	コシヒカリ	118.8	118.8
6-2	コシヒカリ	118.9	118.9
6-2	コシヒカリ	119.0	119.0
6-2	コシヒカリ	119.1	119.1
6-2	コシヒカリ	119.2	119.2
6-2	コシヒカリ	119.3	119.3
6-2	コシヒカリ	119.4	119.4
6-2	コシヒカリ	119.5	119.5
6-2	コシヒカリ	119.6	119.6
6-2	コシヒカリ	119.7	119.7
6-2	コシヒカリ	119.8	119.8
6-2	コシヒカリ	119.9	119.9
6-2	コシヒカリ	120.0	120.0
6-2	コシヒカリ	120.1	120.1
6-2	コシヒカリ	120.2	120.2
6-2	コシヒカリ	120.3	120.3
6-2	コシヒカリ	120.4	120.4
6-2	コシヒカリ	120.5	120.5
6-2	コシヒカリ	120.6	120.6
6-2	コシヒカリ	120.7	120.7
6-2	コシヒカリ	120.8	120.8
6-2	コシヒカリ	120.9	120.9
6-2	コシヒカリ	121.0	121.0
6-2	コシヒカリ	121.1	121.1
6-2	コシヒカリ	121.2	121.2
6-2	コシヒカリ	121.3	121.3
6-2	コシヒカリ	121.4	121.4
6-2	コシヒカリ	121.5	121.5
6-2	コシヒカリ	121.6	121.6
6-2	コシヒカリ	121.7	121.7
6-2	コシヒカリ	121.8	121.8
6-2	コシヒカリ	121.9	121.9
6-2	コシヒカリ	122.0	122.0
6-2	コシヒカリ	122.1	122.1
6-2	コシヒカリ	122.2	122.2
6-2	コシヒカリ	122.3	122.3
6-2	コシヒカリ	122.4	122.4
6-2	コシヒカリ	122.5	122.5
6-2	コシヒカリ	122.6	122.6
6-2	コシヒカリ	122.7	122.7
6-2	コシヒカリ	122.8	122.8
6-2	コシヒカリ	122.9	122.9
6-2	コシヒカリ	123.0	123.0
6-2	コシヒカリ	123.1	123.1
6-2	コシヒカリ	123.2	123.2
6-2	コシヒカリ	123.3	123.3
6-2	コシヒカリ	123.4	123.4
6-2	コシヒカリ	123.5	123.5
6-2	コシヒカリ	123.6	123.6
6-2	コシヒカリ	123.7	123.7
6-2	コシヒカリ	123.8	123.8
6-2	コシヒカリ	123.9	123.9
6-2	コシヒカリ	124.0	124.0
6-2	コシヒカリ	124.1	124.1
6-2	コシヒカリ	124.2	124.2
6-2	コシヒカリ	124.3	124.3
6-2	コシヒカリ	124.4	124.4
6-2	コシヒカリ	124.5	124.5
6-2	コシヒカリ	124.6	124.6
6-2	コシヒカリ	124.7	124.7
6-2	コシヒカリ	124.8	124.8
6-2	コシヒカリ	124.9	124.9
6-2	コシヒカリ	125.0	125.0
6-2	コシヒカリ	125.1	125.1
6-2	コシヒカリ	125.2	125.2
6-2	コシヒカリ	125.3	125.3
6-2	コシヒカリ	125.4	125.4
6-2	コシヒカリ	125.5	125.5
6-2	コシヒカリ	125.6	125.6
6-2	コシヒカリ	125.7	125.7
6-2	コシヒカリ	125.8	125.8
6-2	コシヒカリ	125.9	125.9
6-2	コシヒカリ	126.0	126.0
6-2	コシヒカリ	126.1	126.1
6-2	コシヒカリ	126.2	126.2
6-2	コシヒカリ	126.3	126.3
6-2	コシヒカリ	126.4	126.4
6-2	コシヒカリ	126.5	126.5
6-2	コシヒカリ	126.6	126.6
6-2	コシヒカリ	126.7	126.7
6-2	コシヒカリ	126.8	126.8
6-2	コシヒカリ	126.9	126.9
6-2	コシヒカリ	127.0	127.0
6-2	コシヒカリ	127.1	127.1
6-2	コシヒカリ	127.2	127.2
6-2	コシヒカリ	127.3	127.3
6-2	コシヒカリ	127.4	127.4
6-2	コシヒカリ		

調査の様子

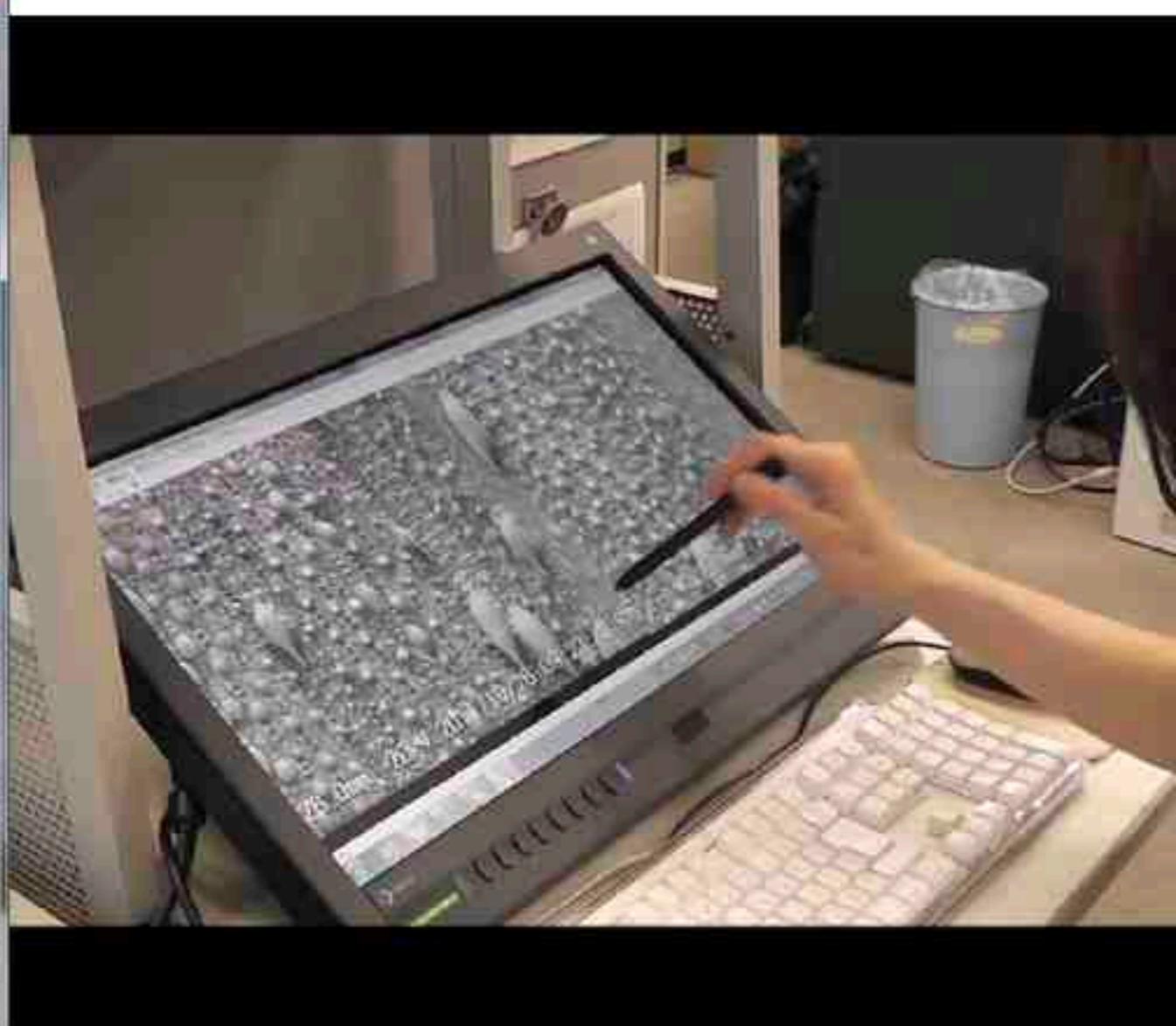
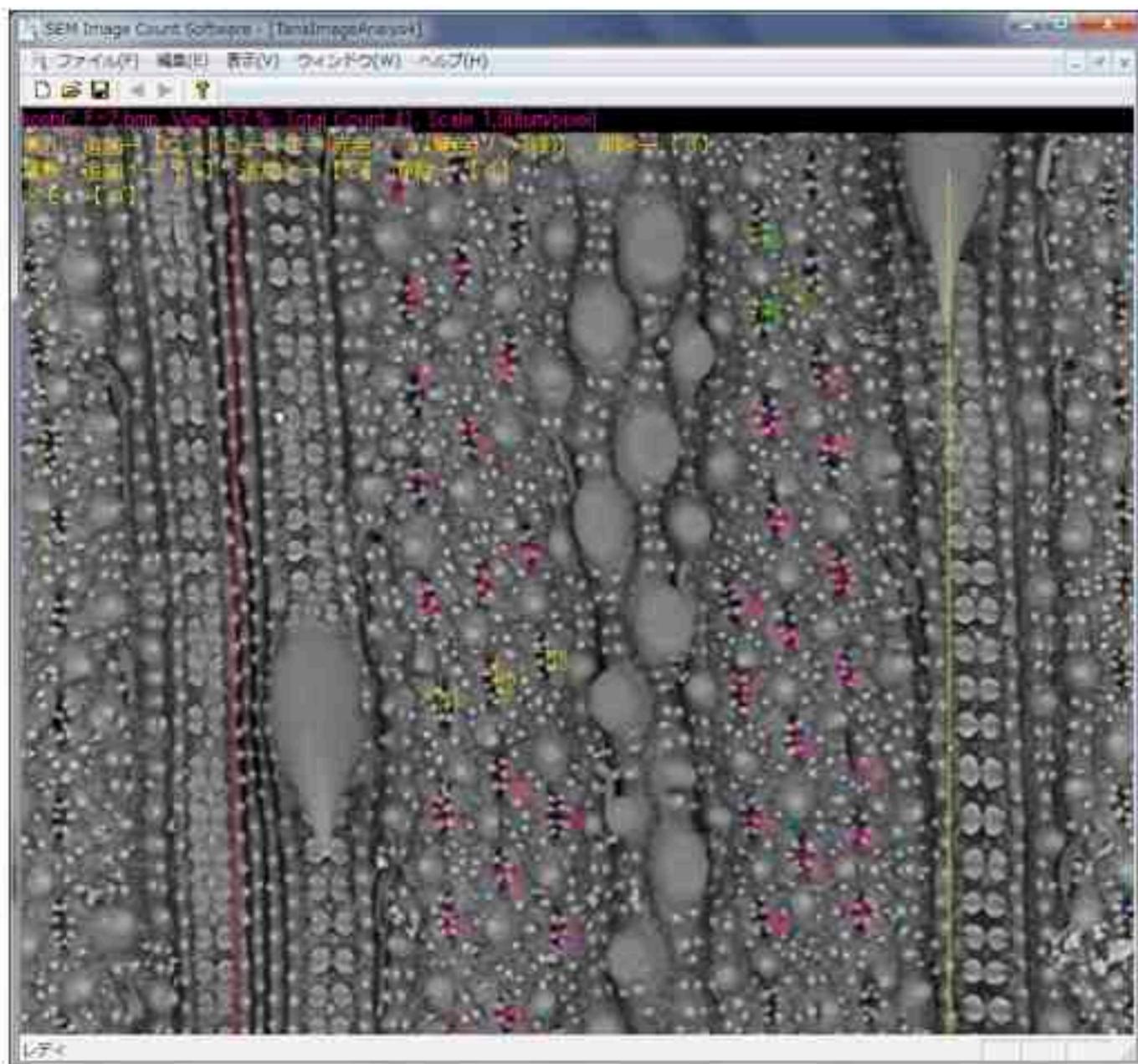
2011年夏10,000個体の
出穂調査に活用



タッチパネルモニタを活用した気孔数計測

電子顕微鏡で撮影した画像中の気孔数をカウント

自動認識技術にかわりタッチパネルを使ったシステムを提案



効率よくソフトウェアを開発する工夫

1. 開発リソースの再利用

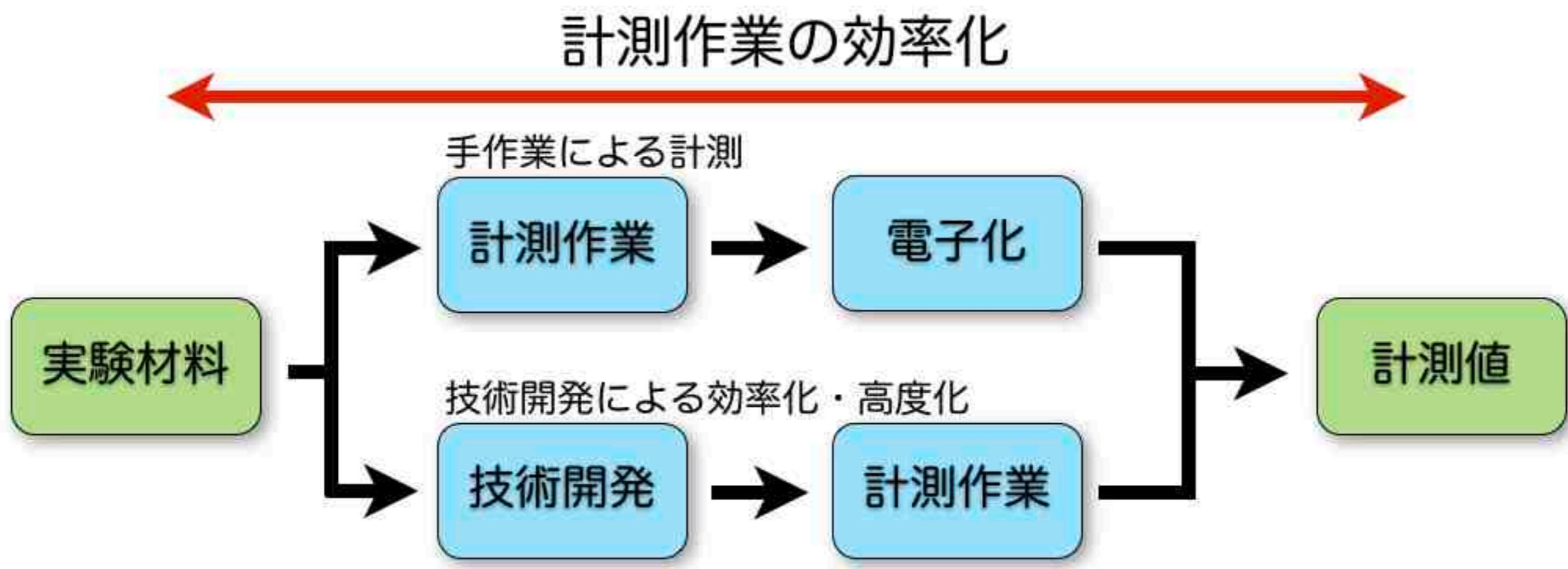
開発したソフトで共通的に使える機能は部品化（クラスライブラリ）し再利用

2. 汎用ライブラリなどの活用

OpenCV (Open Source Computer Vision) などフリーソフトウェアの活用による開発効率の向上と高機能化を実現

形質評価のハイスループット化技術の開発

- ・計測値を得るまでにかかる作業全体を見渡した技術開発が重要
- ・利用者と開発者が協調した共同開発を通じて実用的な計測技術につながる



問い合わせ

七夕 高也

tanabata@computer.org