特集

バイオイメージング特集 I : デジタル画像処理 (器官から個体レベル)

個体レベルの成長計測のためのイメージングシステム

七夕高也 篠村知子

株式会社 日立製作所 中央研究所 (〒350-0395 埼玉県比企郡鳩山町赤沼2520)

Imaging system to measure whole plant growth in individual level

Takanari TANABATA and Tomoko SHINOMURA

Hitachi central research laboratory, 2520 Akanuma, Hatoyama, Saitama 350-0395, Japan

要旨 : ゲノム配列解読完了の次には、植物体の表現型の変化を網羅的に観察・計測し、個体レベルでの遺伝子の機能を定量的に測ることが求められている。本稿では、画像処理技術の動向を概説し、著者らの研究室で開発したイメージングシステムを用いて取得した時系列画像シリーズを用いて「長さ」「角度」「面積」の3つの項目の計測を実施した例を紹介する。長さ計測として、イネの発芽から第2葉伸長までの初期生育期を撮影した連続成長画像を用い、葉の伸長過程を詳細に解析した結果を紹介する。角度計測として、イネの第2葉葉身屈曲を撮影した連続画像を用い、植物ホルモンの生理活性と光の関係を解析した結果を紹介する。面積計測として、シロイヌナズナ野生株の生育を植物体の上部から撮影した連続画像を用い、葉の投影面積の計測による概日リズムを解析した結果を紹介する。画像技術の活用は、植物の個体レベルの表現型の網羅的解析の実現に有効であることを述べる。

Summary : With the completion of the rice genome sequencing project, the next major challenge is the systematic determination of gene function, then difficulties arise in the identification of a phenotype quantitatively that can be associated with the mutation. Here we overview the trend in image technology and its application for the phenotypic analysis process. We introduce our attempts to measure various parameters based on a series of growth images collected by newly developed automatic imaging system. First, the detailed measurement of leaf length in rice seedlings was carried out and presented. Second, the rice lamina inclination process was continuously analyzed and the effects of plant hormone and light on this response were discussed. Third, the leaf area of *Arabidopsis thaliana* was continuously measured, and a circadian rhythm of leaf movements was identified. We would like to discuss future aspects of image analysis and related technology for a complete understanding of a gene's function that will be realized only when genomic information can be associated with a phenotype at the organismal level.

Key words : image, growth, rice, arabidopsis thaliana, circadian rhythms, phytochrome

1. はじめに

2000年にシロイヌナズナ・ゲノムの (Arabidopsis Genome Initiative, 2000)、2002年にイネ・ゲノムの (Sasaki et al. 2002、Goff et al. 2002、Yu et al. 2002) 全塩基配列の解読完了が報告され、現在は遺伝子機能の網羅的解析へと研究がシフトしている。しかし、ゲノム配列情報の読み取りが機械化して自動化・高速化したほどには、植物個体レベルでの観察や計測方法は技術革新が進んでおらず、これまで研究者各々の時間と労力をかけて実施されてきた。

近年、シロイヌナズナの個体レベルでの遺伝子機能を解析することを目的として、標準品種の約2ヶ月間に渡る生育過程を人が観察し、30以上の生育段階に分類し、遺伝子突然変異体の生育過程と比較した結果が報告された (Boyes et al. 2001)。また、従来研究で主に扱われてきた質的な表現型ばかりでなく量的な表現型に関心が集まり、シロイヌナズナやイネのQTL解析により、種子の重量、バイオマス量、成長速度などを決める遺伝子座を特定する研究が進められている (El-Lithy et al. 2004、Yin et al. 2004)。しかし、従来の手法にもとづいた計測・解析手法では、(1) いつどこから分化が始まるかを正確に計測するために膨大な労力を要する、(2) 遺伝子変異体や組換え体を相互に比較する必要上、最低限数十個体以上の規模の解析を同時に行う必要がある、という課題があった。

その課題を解決するひとつの方法として著者らは、画像及びその関連技術を有効活用する研究を進めている (七夕他 2003)。近年、画像を扱う技術が著しく発達し、ファックス、スキャナ、携帯電話といった工業製品は身近になり、工業生産分野では監視カメラや生産ライン自動化のための物体認識技術が進み、様々なところで画像技術が利用されている。こうした背景のなか、画像を利用して植物の表現型解析に必要な情報を取得する研究も活発になりつつある。例えば、カメラを植物体近傍に固定して、コンピュータ制御により一定時間間隔で撮影を行い、得られた画像を処理することにより、レタスの葉の投影葉面積 (柴田他 1993) やエンドウの葉や根の運動 (山下他 1995) が計測された。また、14台のビデオカメラを自動制御するシステムを作製し、シロイヌナズナの葉柄の開閉運動の概日リズムの解析が報告されている (Dowson-Day et al. 1999)。しかし、従来の研究の多くは一度に扱える植物個体数のごく限られる、画像からの計測に時間がかかるなどの理由で長期間に渡って連続的にデータ取得することが現実的でないなど、研究ツールとして利用する規模の実験をするにはまだまだ解決すべき課題も多い。

本稿では、植物体の生育過程における表現型の変化を網羅的に観察・計測し、個体レベルでの遺伝子の機能を定量的に測ることを目指す研究アプローチを紹介する。まず、植物の個体レベルの表現型計測に関連する画像技術の動向を概説する。次に、著者らの研究室で進めている網羅的な表現型成長解析のためのイメージングシステムの装置及びソフトウェアについて概説し、そのシステムを応用した解析例を紹介する。

2. 表現型計測のための画像関連技術動向

画像関連技術は、画像を撮影するための「ハードウェア」と、撮影した画像の加工を行うための画像処理「ソフトウェア」が共に刺激し合う形で進歩している (田村 2002、CG-ARTS協会 1997)。

ハードウェアにおいては、撮像素子の一つCCD (Charge Coupled Device) センサは1969年にアメリカのベル研究所のBoyleとSmithにより発明され、1978年にソニーが画素数11万画素のカメラを開発以降、画像の解像度を決める画素数の向上が急速に進み、現在では1000万画素以上の画素数を持つCCDで画像撮影が可能となっている (中島 2003、Nakashima et al. 2003)。画像撮影

のための良質で安価なハードウェアが利用可能となり、携帯電話のカメラに代表される汎用的なデジタルカメラは、撮影した画像を“人が見る”ための機能に特化し開発されてきている。従って、そのようなカメラを計測を目的とした撮影に用いようとする、画像の撮影方法の工夫や画像の校正が必要になる。例を挙げると、撮影した画像の周辺部に生じる幾何学的な歪みの発生という課題がある。これは、レンズ歪みに由来する。幾何学的な像の歪みは計測値の誤差に大きく影響するため、校正するための技術は、カメラキャリブレーションとして様々な方法が研究されている（出口 1993）。このような技術は、コンピュータビジョンの分野を中心に研究が進められており、画像の撮影から計測技術まで幅広く研究が進められている（松山他 1998）。

さらに画像処理技術の研究では、立体的な形状や空間配置の計測をめざして、3次元計測の様々な方式の研究が進められている（松山他 1998）。日浦らは、レンズのぼやけの現象を解析することで、カメラに写っている対象物の3次元形状の構築のための計測技術の開発を行っている（日浦他 1999）。この方式は、レーザー光などの光源を使わないで計測が行えるので、光照射による植物生育への影響を考慮する必要がない点で、将来植物の成長計測への応用が期待できる。以上紹介したように、計測目的に応じて利用可能な技術を適切に応用することで、植物の成長解析は精度と効率ともに飛躍的に向上する可能性があると考えられている。

画像処理ソフトウェアも、技術の進歩が著しい。現在、広く使われている汎用の画像処理ソフトであるNIH Image（National Institute of Health, フリーソフトウェア, URL[1]）やPhotoshop（Adobe® Photoshop®, Adobe Systems, San Jose, USA）では、あらかじめ長さの絶対値が分かっているスケール情報を元に、画像上でユーザーが指定した項目や部位をなぞることで、対話的に「長さ計測」「エリア計測」「角度計測」が実現できる。しかし、このようなソフトウェアを用いて長期間にわたる大量の画像データを扱おうとすると、膨大な繰り返し作業が必要となり、必ずしもユーザーにとって便利ではないので改良が必要である。個体レベルの網羅的な表現型解析を目指す場合、画像処理ソフトウェアに求められる機能は、（1）時間を追って少しずつ変化する形状を自動で認識し、形状情報を収集すること、（2）形状情報から、長さ、角度、面積の値を計測し、個体ごとに蓄積すること、（3）実験を重ねることで大量に蓄積する計測値や生育画像を容易に操作できること、である。

3. 画像を利用した植物の個体レベルの成長解析研究動向

連続した画像記録を活用した植物の生育解析の初期の報告として、回旋運動の解析（Israelsson et al. 1967, Brown 1993）を目的とした報告が挙げられる。植物の成育を連続的に記録するための装置の研究として、Careらは、インゲンマメの葉の回旋運動における細胞の変化を記録するためのカメラシステムを開発した（Care et al. 1998）。

連続画像からの自動計測ソフトウェアの研究として、Baskinらは、オプティカルフローを使った時系列画像解析によりシロイヌナズナの根の細胞の成長する速度の計測を行った（Weele et al. 2003）。清水らは、エッジ検出の画像処理を使った葉の伸長速度を計測するソフトウェアを開発し、*Verbena bonariensis* の葉の伸長速度の計測を行っている（Shimizu et al. 1995）。Loomisらは、画像処理の物体認識の技術を利用し、根と葉の成長における形状計測モデルを構築し、シロイヌナズナの成長解析への適用を行っている（Loomis et al. 1997）。Thompsonらは、シロイヌナズナの根の先端部を顕微鏡を使って連続的に画像に記録する装置と根の先端形状検出の画像処理により、根の伸長における運動解析を行っている（Thompson 2004）。

ごく最近、空間的・時間的に高精度の計測を実施する研究例が報告されている。ミクロンオーダーの詳細な形状情報を記録するため、Kaminumaらはレーザーレンジファインダを使った3次元の計測装置を構築し、シロイヌナズナの成長過程の3次元形状計測を行っている (Kaminuma et al. 2004)。門野らは、光の干渉を利用した統計干渉法による計測法を提案し、秒単位という非常に短い時間間隔でサブナノメートルスケールでの植物の成長速度を計測する方式の研究を行っている (門野 2004)。これらの研究が植物の個々の表現型の計測に貢献することに間違いないが、今後は表現型全体の変化を統一的に理解するためのアプローチが重要である。その意味で、Heidaらによる遺伝子データから表現型データまでの種々の解析により生まれる多様なデータを統合したデータベースシステムの構築 (Heida et al. 2004) は、注目に値する。今後も多種多様なデータを効率よく扱うためのデータベースシステム研究は重要性を増すと考えている。

4. 時系列画像取得のためのイメージングシステム

著者らは、数十個体の植物の生育を発芽から開花に至るまでの長期間に渡って、自動記録し、その表現型の変化を捉えるための計測システムを提案し、開発を行ってきた。

図1 Aに、その概要を示した。開発の構成要素を3つにわけて段階的に開発した。すなわち、(1) 成長過程を画像として自動記録するための画像記録装置、(2) 記録した画像から葉や根の伸長速度、葉の形状変化、葉の新出時期や開花時期などの生育の変化が引き起こされるタイミングなどの表現型を画像から抽出し、データ化するための画像解析ソフトウェア、(3) 計測した様々なデータタイプ (長さ、角度、面積など) の表現型を統合し、遺伝子データと組み合わせて多次元の情報を統合して解析するためのデータベースシステム、の3要素である。

図1 B, Cに画像記録装置の外観写真を示した。対象とする植物体のサイズの違いによって初期生育用 (図1 B) と後期生育用 (図1 C) の2タイプを試作した。両タイプとも、カメラを固定し、観察対象の複数試料を搬送するという基本コンセプトは同じである。植物を栽培している容器ごと搬送装置に固定し、一定時間間隔でカメラの前に一つ一つ植物体を搬送し、画像撮影を自動で行う。多数個体の全生育過程を記録するためには、扱うすべての個体の前にカメラを固定すれば理論的には実現可能ではあるが、必要なコストやスペースを考えると、現時点では実用的ではない。本装置の構成は、一台のカメラで一度に複数個体の解析ができるため、カメラのコストを抑えられるばかりでなく、撮影条件や解析目的に応じたカメラを選択して交換ができる点に特徴がある。しかし、

図1 時系列画像による成長計測のためのイメージングシステム

A 固体ごとの生育過程を記録し、表現型計測を行うためのシステムコンセプト

B イネの初期生育を画像に記録するための自動画像取得装置

C イネの栄養成長期の成長を画像に記録するための自動画像取得装置

試料搬送装置は毎回同じ撮影位置に試料を運ぶ性能が要求された。さらに本装置においては、植物の光受容体の解析を行うために必要な「暗視撮影」にも対応できるようカメラの機種を選定し、950nmのIR光源を用いた照明を装置に組み込んでいる。これらの結果、一台のカメラであたかも数十個体の植物体の前にカメラを固定していっせいにインターバル撮影を実施したかのような時系列画像を取得できることを確認した（参考URL [2]）。

5. 連続成長画像を使った長さ計測

画像取得装置を用いて集めた一連の時系列画像を使って、イネの初期生育における葉の伸長解析を進めている。

日本晴（*O. sativa* L. ver “Nipponbare”）を暗所で7日間生育し、IR光源を用いてその間の成長画像を10分間隔で撮影・収集した。連続成長画像を使って、図2Aの写真に示すように、葉の先端部の位置と種子の中心位置との水平方向（a）及び垂直方向（b）の距離を計測した。その経時変化を示したものが図2B、Cである。成長の先端点と基部の座標から、伸び（図2B）と左右の振れ幅（図2C）をプロットするという、比較的単純な計測であるにもかかわらず、得られたグラフからはさまざまな情報を読み取ることができる。図2Bの伸長パラメータからは、各器官（ここではイネ子葉鞘及び第1葉）それぞれについて、伸長を開始した時刻、伸長が停止した時刻、その間の伸長速度及び伸長していた時間を読み取ることができた。図2Cの回旋パラメータからは、子葉鞘が回旋した回数、回旋振幅の変化及び振幅の周期の計測値を読み取ることができた。従来、多く生理学実験では、技術的な困難から途中経過を詳しく計測することはまれであった。本解析手法によれば一度に多くのパラメータの変化を追跡することができる点は、遺伝子機能の多面的な解析に適していると考えている。この結果や他の実験結果から、イネ初期生育の個体レベルの成長解析は、10分おきのデータ取得により、ほぼ連続的な生育過程をたどることができると分かった。

特に強調したい点は、この方式では、すべての個体が、いつ、どのような変化を示すのかをもれなく記録しているため、個体レベルの成長の厳密な計測ができる点である。例えば、個体ごとにばらつきのある発芽時刻を、見かけ上同一の時間軸上の原点に補正したデータとしてそろえることができる。これにより、従来しばしば生理学的アプローチで問題になってきた「個体ごとの生育のばらつき」という誤差要因のうち、少なくとも発芽のタイミングのずれに起因する因子については、補正することができることを意味している。通常、誤差の大きい計測値の統計処理を行う場合は、母数（ここでは試料数）を多くすることでデータの信頼性を向上させる方法がしばしば用いられている。しかし、遺伝子突然変異体や遺伝子組換え体の解析では得られる種子数が少ない場合も多く、母数を増やせない問題に突き当たる。そのような材料に限ってしばしば発芽がばらつくこともよく経験することで、少数の個体でも信頼性の高いデータが得られる可能性が高い点で、本アプローチは有効であると考えている。

6. 連続成長画像を使った角度計測

植物ホルモンの一種であるブラシノステロイドの代表的な生理活性は、イネの葉身屈曲の促進であることはよく知られている（Fujioka et al. 2004、横田 2002）。葉身屈曲試験では、通常暗所で生育させたイネの第2葉を切り出して一定の前処理の後に、試験すべき試料を溶かした溶液中に浸し、数日後の葉身の屈曲角度を計測するやり方が一般的である（Takeno et al. 1982、Fujioka et al. 1998）。著者らはこの葉身屈曲過程を連続的に画像として記録して計測した。

A

図2 長さ計測によるイネ初期生育伸長解析の例

生育画像の葉の先端座標を画像処理技術を使って検出し、先端座標の情報をつかって、イネの初期生育における伸長と回旋運動の解析を行う。

実験サンプル: *O. sativa* L. ver “Nipponbare”

栽培光: 暗所

栽培温度: 28℃

B

伸長パラメータ
(垂直方向の変位)

C

回旋パラメータ
(水平方向の変位)

A

実験開始直後

6時間後

12時間後

図3 連続成長画像を使った角度の経時変化の計測

A 第2葉葉身の屈曲変化の連続成長画像の一部

B 連続成長画像を使って計測した葉身と葉鞘のなす角度の時間変化を表すグラフ

B

条件: 連続赤色光下、カスタステロン 0.0001ppm

サンプル

WT: *O. sativa* L. ver “Nipponbare”

phyA mutant: phytochrome A deficient mutant (osphyA-2, Nipponbare background) (Takano et al. 2001)

実験条件

栽培光: 連続赤色光

栽培温度: 28℃

カメラ: DVC-1312C (DVC(USA))

(清水原図)

実験方法は、暗所で生育したイネの第2葉切片を、葉身屈曲を引き起こすのに十分な濃度のカステロン (0.0001ppm) の水溶液を張ったシャーレ内に固定し、2日間培養している期間中、シャーレの真上からデジタルカメラを使って5分間隔で画像を取得した。材料は、日本晴とフィトクロムA (以下、*phyA*) 欠損株 (Takano et al. 2001) を用い、培養中は赤色光を連続照射した。

図3Aに、取得した連続画像の一例 (実験は5分間隔で撮影、写真は6時間ごとの画像) を示した。取得した画像から、第2葉切片の葉身と葉鞘のなす角度の計測を行った。図3Bがその結果である。日本晴は、培養直後から葉身の屈曲が始まっているのに対し、*phyA*欠損株の場合、培養開始後、約6時間程度は屈曲が引き起こされなかった。また、日本晴は培養開始後約20時間目に屈曲が完了したが、*phyA*欠損株は、6時間後から屈曲開始し、約24時間後に屈曲が完了した。この計測結果から、培養終了時 (36時間目) の屈曲角度は、日本晴も*phyA*欠損株もほぼ同じ値であった (図3B)。しかし、培養中の角度の変化率や屈曲の開始と終了のタイミングが異なっていることから、調べた光条件とカステロン濃度においては、*phyA*の欠損により葉身屈曲への反応がある程度抑制されていることが示唆された。しかし、その抑制の程度は、培養後36時間目の角度計測だけでは見逃してしまう可能性が高いことがわかる。

以上のように、連続成長画像を使った計測によって、屈曲の時間変化率、実験開始後の屈曲開始と終了までの時間及び屈曲しつつづけている時間など、計測項目に時間の要素を加えた評価によって、第2葉の葉身屈曲を様々な視点から解析し、より詳細な反応メカニズムの解析につなげられるものと考えている。

7. 連続成長画像を使った面積計測

シロイヌナズナ野生株の成長過程を記録した時系列画像を用いて葉の面積を計測することにより、葉柄運動の概日リズムが解析できた例を紹介する。

実験方法は、シロイヌナズナをポットに播種した後、長日 (16時間明期、8時間暗期) の条件で栽培した。その間、植物体の真上から2時間間隔で画像撮影を行い、連続成長画像を収集した。暗期の撮影は、撮影の間だけ数分間の撮影光源 (白色蛍光灯 約 9.0Wm^{-2}) の照射を行った。実験終了後、撮影した連続成長画像から葉の画像部分を切り出し、その領域のピクセル数から葉の投影面

図4 連続成長画像を使った葉面積の経時変化の計測

A 24時間、12時間、6時間、2時間ごとの葉面積の計測結果

B 撮影画像の一部。(a) 20日2:00の撮影画像、(b) 20日14:00の撮影画像。

サンプル及び計測条件

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)

デジタルビデオカメラ (EVI-D30, SONY、有効画素数約38万画素)

(石塚原図)

積を求めた。結果を図4Aに示す。各グラフでは、発芽後19日目から23日目までの葉面積の変化を示しており、上から順にそれぞれ24時間、12時間、6時間、2時間間隔でプロットした結果である。24時間ごとの計測結果では、葉面積はほぼ一定の速度で増加しているように読み取れた。しかし、計測の時間間隔を短くするに従って、葉の面積が周期的に変化する様子が明らかになった。2時間間隔のプロット（図4A一番下）では、暗期に入ってから約2時間後に一日の最小面積となるが、その後増加し、明期に入ってから約6時間後に最大の面積となることが分かった。最大面積を示す時点と最小面積を示す時点の画像（図4B）から、この周期性はシロイヌナズナの葉柄の概日リズムによる上下運動に伴う投影葉面積の変化を反映していることが分かった。

シロイヌナズナの概日リズムの研究は、これまで光周性に関わる遺伝子発現（Millar 2004, Millar et al. 1992）や葉柄の開閉運動（Dowson-Day et al. 1999）などを指標に解析されてきた。本研究は、葉面積を時系列に計測するという画像解析に適した指標によっても概日リズムを効率的に計測できる可能性を示唆している。

8. おわりに

植物の生育に伴う表現型をもれなく解析することを目指し、装置開発及びソフトウェアを開発した。これにより、成長過程をもれなく画像に記録し、画像を活用してさまざまな植物の生育特性の変化を経時的に計測できることを実証した。

今後、さらに画像処理技術を活用することで計測作業の自動化が進み、これまで実現不可能だった、多種多様な植物のさまざまな環境条件での連続成長画像と成長データを大量に保管し、各研究者が必要に応じて読み出して利用するようなデータベース構築も夢ではなくなっている。近い将来、さまざまな遺伝子情報と成長データの比較や、多様な環境下での成長データの比較が、コンピュータ上で簡便に実施できるシステムが実現し、表現型解析に大きく役立つものと考えている。

謝辞

イメージングシステム開発について肥後健一博士（独立行政法人農業生物資源研究所）の、イネの光受容体解析研究について高野誠博士（独立行政法人農業生物資源研究所）の、ブラシノステロイドの生理活性研究について横田孝雄教授（帝京大学理工学部）の御助言と御討論に深謝する。実験データの取得と解析について、石塚徹、清水久代、日坂久美子、渡辺智子各位の協力を得たことに感謝する。本研究の一部は、農林水産省の国家プロジェクト課題番号 SY1108, IP-1006の委託を受けて実施した。

引用文献

- Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. Nature 408: 796-815.
- Boyes, D. C., Zayed, A. M., Ascenzi, R., McCaskill, A. J., Hoffman, N. E., Davis, K. R., and Gorch, J. (2001) Growth stage-based phenotypic analysis of Arabidopsis: a model for high throughput functional genomics in plants. Plant Cell 13: 1499-1510.
- Brown, A. H. (1993) Circumnutations: from Darwin to space flights. Plant Physiol 101: 345-348.
- Care, A.-F., Nefed'ev, L., Bonnet, B., Millet, B., and Badot, P.-M. (1998) Cell Elongation and

- Revolving Movement in *Phaseolus vulgaris* L. Twining Shoots. *Plant Cell Physiol* 39: 914-921.
- Dowson-Day, M. J., and Millar, A. J. (1999) Circadian dysfunction causes aberrant hypocotyl elongation patterns in *Arabidopsis*. *Plant J* 17: 63-71.
- El-Lithy, M. E., Clerkx, E. J., Ruys, G. J., Koornneef, M., and Vreugdenhil, D. (2004) Quantitative trait locus analysis of growth-related traits in a new *Arabidopsis* recombinant inbred population. *Plant Physiol* 135: 444-458.
- Fujioka, S., and Yokota, T. (2003) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annu Rev Plant Biol* 54: 137-164.
- Fujioka, S., Noguchi, T., Takatsuto, S., and Yoshida, S. (1998) Activity of brassinosteroids in the dwarf rice lamina inclination bioassay. *Phytochemistry* 49: 1841-1848.
- Goff, S. A., Ricke, D., Lan, T. H., Presting, G., Wang, R., et al. (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* 296: 92-100.
- Heida, N., Hasegawa, Y., Mochizuki, Y., Hirokawa, K., Konagaya, A., and Toyoda, T. (2004) TraitMap: an XML-based genetic-map database combining multigenic loci and biomolecular networks. *Bioinformatics* 20 Suppl 1: I152-I160.
- Israelsson, D., and Johnsson, A. (1967) A Theory for Circumnutations in *Helianthus annuus*. *Physiologia Plantarum* 20: 957-976.
- Kaminuma, E., Heida, N., Tsumoto, Y., Goto, N., Nakazawa, M., Toyoda, T., Konagaya, A., and Matsui, M. (2004) Computational phenomics: Systematic quantification of 3D morphological traits of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 45 Suppl: S149.
- Loomis, J. J., Liu, X., Ding, Z., Fujimura, K., Evans, M. L., and Ishikawa, H. (1997) Visualization of plant growth. In *Visualization '97*, Proceedings: 475-478, 580.
- Millar, A. J., Short SR, Chua NH, Kay SA (1992) A novel circadian phenotype based on firefly luciferase expression in transgenic plants. *Plant Cell* 4: 1075-1087.
- Millar, A. J. (2004) Input signals to the plant circadian clock. *J Exp Bot* 55: 277-283.
- Nakashima, K., Shinoda, S., Konishi, Y., Sugiyama, K., and Hori, T. (2003) New concept high-speed and high-resolution color scanner. *Electronic Imaging 2003 ; Sensors, Cameras, and Applications for Digital Photography Applications V*: 5017-5036.
- Sasaki, T., Matsumoto, T., Yamamoto, K., Sakata, K., Baba, T., et al. (2002) The genome sequence and structure of rice chromosome 1. *Nature* 420: 312-316.
- Shimizu, H., and Heins, R. D. (1995) Computer-vision-based system for plant growth analysis. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 38: 959-964.
- Takano, M., Kanegae, H., Shinomura, T., Miyao, A., Hirochika, H., and Furuya, M. (2001) Isolation and characterization of rice phytochrome A mutants. *Plant Cell* 13: 521-534.
- Takeno, K., and Paris, R. P. (1982) Brassinosteroid-induced bending of the leaf lamina of dwarf rice seedlings : An auxin-mediated phenomenon. *Plant Cell Physiol* 23: 1275-1281.
- Thompson, M. V., and Holbrook, N. M. (2004) Root-gel interactions and the root waving behavior of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 135: 1822-1837.

- Van der Weele, C. M., Jiang, H. S., Palaniappan, K. K., Ivanov, V. B., Palaniappan, K., and Baskin, T. I. (2003) A new algorithm for computational image analysis of deformable motion at high spatial and temporal resolution applied to root growth. Roughly uniform elongation in the meristem and also, after an abrupt acceleration, in the elongation zone. *Plant Physiol* 132: 1138-1148.
- Yin, X., Struik, P. C., and Kropff, M. J. (2004) Role of crop physiology in predicting gene-to-phenotype relationships. *Trends Plant Sci* 9: 426-432.
- Yu, J., Hu, S., Wang, J., Wong, G. K., Li, S., et al. (2002) A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* 296: 79-92.
- CG-ARTS協会 (1997) イメージプロセッシング (画像処理標準テキストブック), 1-367.
- 門野 (2004) 統計干渉法による植物を通じた環境計測, 応用物理, 73: 772-775.
- 横田 (2002) ブラシノステロイド, 新しい植物ホルモンの科学 小柴、神谷編, 講談社サイエンティフィック: 119-138.
- 柴田、岩尾、高野 (1993) 画像処理による自動成長計測装置の開発, 生物環境調節31: 29-35.
- 七夕、石塚、篠村 (2003) 遺伝子機能解析における画像処理システム, 電子情報通信学会誌2003年12月号: 945-948.
- 田村 (2002) コンピュータ画像処理, 株式会社オーム社, 1-336.
- 出口 (1992) カメラキャリブレーション手法の最近の動向, 情報処理学会研究報告: コンピュータビジョンとイメージメディア 1992-082: 1-8.
- 中島 (2003) 連載技術解説カラーデバイスと画像・信号処理1.3 スキャナーと画像・信号処理, 画像電子学会誌 32: 279-285.
- 日浦、松山 (1999) 構造化瞳をもつ多重フォーカス距離画像センサ, 電子情報通信学会論文誌D-II J82-D2: 1912-1920.
- 松山、久野、井宮 (1998) コンピュータビジョン: 技術評論と将来展望, 株式会社新技術コミュニケーションズ, 1-268.
- 山下、三輪 (1995) 複数の植物器官を対象としたリズム運動自動計測システムの開発, 植物工場学会誌 7: 224-232.

参考URL

- [1] NIH Image Home Page, <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/Default.html>
- [2] The Rice Growth Monitoring System for The Phenotypic Functional Analysis, <http://www.gs.dna.affrc.go.jp/SY-1108/>