

電子顕微鏡写真 と 顕微鏡写真の焦点合成

長野市立古牧小学校
中沢 英明

I 電子顕微鏡の活用

1 電子顕微鏡写真の特徴

利点

- ① 光学顕微鏡より高倍率で観察できる。
- ② 被写体深度が深く、視野全体にピン트가あう。

欠点

- ① カラーでなく、白黒となってしまう。
- ② 観察する前の準備にやや時間がかかる。
- ③ 装置が高価(500万円位～)

何かの卵 75倍
笹の葉 気孔 3500倍
ケイシロ 7500倍
ユリの花粉 1000倍

2 色のないのは寂しい

電子顕微鏡写真に着色する方法
PC処理でつける方法がある

チャイロドクチョウの卵
カメムシの卵
NATIONAL GEOGRAPHICより

ちょっと難しそう

II 焦点合成の活用

顕微鏡で少しずつピン点をずらして撮影した54枚の写真を合成すると



1 顕微鏡写真撮影にあたって

(1) 光源

立体物を観察する場合は、透過光でなく、上から光を当てる必要がある。カー用品店で販売しているLEDチューブを軸にし、12VのACアダプターにつないで点灯すると良い。(2000円程度で製作できる)

双眼実体鏡
LEDチューブの軸を50枚入りDVDケースのふたに固定

顕微鏡体筒
LEDチューブの軸を対物レンズに通したり、横に置いて使用する

12V DCアダプター
100VコンセントにつないでLEDを点灯することができる

子どもが観察する場合は、100円ショップで売っているクリップ付きLEDライトが便利。これがあると、夏の葉の気孔や花粉を観察するときにも重宝する。

(2) デジカメ

① 焦点合成する場合には、撮影点が大幅にずれると合成しにくくなるので、デジカメを三脚で固定するか、顕微鏡用の接続アダプターを用意する必要がある。アダプターは4～12万円程度する。安いものは視野が狭くなる傾向がある。

一眼レフと顕微鏡をつなぐ接続アダプター

② 撮影した写真の明るさが変化しないように、撮影はオートでなくマニュアルで行う。絞りは開放、シャッター速度は試し撮りしてから固定する。

2 焦点合成の方法「CombineZM」の使い方

(1) ダウンロード、インストール
下記のURLからソフト「Full Version CombineZM.msi」をダウンロードする。
<http://hadleyweb.pwp.blueyonder.co.uk/CZM/News.htm>

(2) 顕微鏡写真の撮影

写真の深度と写真番号が一致するようにする。同じ方向に調節ねじを回しながら撮影していくことで、写真番号順に深度が深く、あるいは浅くなるようにする。観察物が動かないように注意しながら撮影する。

双眼実体顕微鏡では、焦点をずらしていくと画像が水平に移動するために、画像の周辺部で合成がうまくいかない。単眼の実体顕微鏡での撮影が望ましい。

③ 画像の保存
このソフトはカタカナなど日本語のフォルダ名やファイル名は認識しない。そのため、デスクトップやマイドキュメントに画像を保存せず、「Program Files」や別ドライブに半角ローマ字でフォルダを作って保存する必要がある。

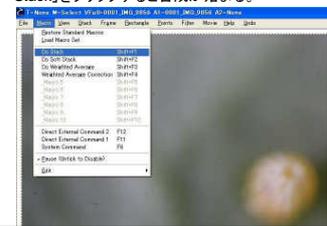
④ 「CombineZM」の操作手順
① 「CombineZM」の起動
インストールすると「CZM」のアイコンがあるので、それをクリックすると立ち上がる

② 画像の取り込み
「File」「New」をクリックするとフォルダが開く。画像を保存したフォルダを選びます。

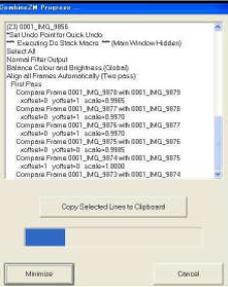



合成したいファイルを全て選択し「開く」を押す。このときも深度の順番に選択することが大切。

③ 画像の合成
取り込まれると画像が表示される。「Macro」の「Do Stack」をクリックすると合成が始まる。



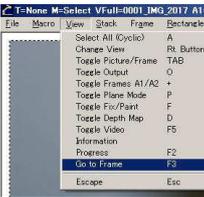
合成が始まると右のような画面が出てくる。



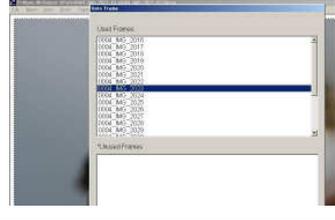
④ 画像の保存
合成が終わると、合成された画像が表示される。それを保存するには「File」の「Save FramePicture As」をクリックする。保存フォルダ名やファイル名は半角ローマ字とする。保存形式も選択でき、JPG形式の場合は、圧縮率も選ぶことができる。

大体これであまいく

⑤ 合成がうまくいかない場合
画像を取り込む順番を逆にする。それでもだめな場合は、手動で画像を連結させる。
⑥ 基準の画像を選択
画像を取り込んでから、「View」の「Go to Frame」をクリックする。



取り込んだ画像の中から、深度が中間のものを選択して「OK」をクリックする。

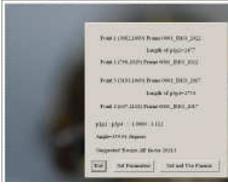


⑥ 合成する基準点を選択
画像の中で、識別しやすくてできるだけ離れた2点を選択する。その片方の点にマウスカーソルを合わせ「1」キーを押す。ダイアログボックスが開くので「Exit」を押す。次に、もう片方の点にマウスカーソルを合わせ「2」キーを押す。同時に操作する。この2点を基準に他の画像を連結していく。下の写真では複眼の両端の2点を選択した。



⑦ すべての画像を連携
他の画像で「View」の「Go to Frame」をクリックして選択する。基準の画像で「1」キーを押して選択した点と同じ位置に、マウスカーソルを合わせ「3」キーを押す。ダイアログボックスが開くので「Exit」を押す。

次に「2」キーで選択した位置にマウスカーソルを合わせ「4」キーを押す。ダイアログボックスが開くので「Set and Use Params」を押す。



次のダイアログボックスではパラメータを確認して「OK」を押す。これで基準の画像と連携される。

この「3」と「4」キーを使い操作をすべての画像に対して行う。

⑧ 画像の合成
「Macro」の「Do Stack」をクリックすると焦点合成される。



3 焦点合成した写真の例



モンシロチョウの卵
顕微鏡 対物4倍(20枚合成)



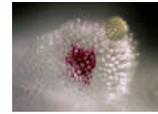
ヤマトシジミの卵
顕微鏡 対物10倍(10枚合成)



フタモンアシナガバチの蛹
実体顕微鏡 対物2倍(11枚合成)



アゲハチョウの複眼
実体顕微鏡 対物2倍(45枚合成)
写真周辺部はぼやけてしまう



アサガオのめしべの柱頭についた花粉
顕微鏡 対物10倍(23枚合成)



アサガオのめしべの柱頭についた花粉
顕微鏡 対物10倍(10枚合成)



アサガオのめしべ(花粉袋)と花粉顕微鏡
対物10倍(26枚合成)

おわりに

顕微鏡に取り付けたUSBカメラをPCにつなぎ、ピン
トをずらしていくと自動的に焦点合成するソフトが4
万円ほどで販売されている。どの程度の性能が確
かめ授業で活用できるようにしたい。



ヤマトシジミ



アオムシコマユバチ

本研究は、平成23年度財団法人長野県科学振興会の助成を受け実施しているものです