

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03081

研究課題名（和文）ハイスルーブットフェノタイピングに向けた植物群落ファンクショナルイメージング

研究課題名（英文）Plant canopy functional imaging for high-throughput phenotyping

研究代表者

荊木 康臣（Ibaraki, Yasuomi）

山口大学・大学院創成科学研究科 ・教授

研究者番号：50242160

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、植物の表現型解析（フェノタイピング）における大量かつ高速解析を可能にする植物ファンクショナルイメージングの手法を開発することを目的として、画像を利用した葉面受光強度分布リアルタイムモニタリングシステムを開発し、クロロフィル蛍光の画像計測やセグメンテーション手法と組み合わせて、イチゴ群落表面においてPS2量子収率・電子伝達速度ETRをマッピングする手法を開発した。さらに、測定（画像化）範囲の拡大をめざし、安価なシステムで計測した光化学分光反射指数（PRI）を利用して、光合成に関する情報のより広範なマッピング手法を提案した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、植物の表現型解析（フェノタイピング）において、植物の光合成に関する機能形質の評価を可能にする、群落を対象とした画像解析手法を開発することを目的とし、安価な計測・撮影機器を利用して、植物の機能形質に関する情報を面的に取得することで、育種分野や栽培管理において有用となる手法の開発をめざした。その結果、反射画像を利用した葉面受光強度分布解析とクロロフィル蛍光画像計測・分光反射指数PRI画像計測を併用することで、群落表面への電子伝達速度等の光合成の情報に関するマッピングが可能となった。本手法は、栽培時の作物の光合成モニタリングや光合成の状態に基づいたスクリーニングへの活用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, in order to establish a plant functional imaging method that enables high-throughput phenotyping, an image-based real-time monitoring system for leaf surface PPF was developed. Combined use of the leaf surface PPF monitoring system and image measurement of chlorophyll fluorescence enabled us to map PSII quantum yield and electron transfer rate (ETR) properly on the strawberry canopy surface. Furthermore, to expand the measurement (imaging) area, we proposed a more extensive mapping method of information on photosynthesis using the photochemical reflectance index (PRI) measured by a low-cost system.

研究分野：生物環境情報工学

キーワード：クロロフィル蛍光 光化学分光反射指数PRI PPF PS2量子収率 光合成電子伝達速度 画像解析 イチゴ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、遺伝子解析技術は急激な進展を見せ、低コストで大量の遺伝子を解析することが可能になっている。さらに、ゲノム編集技術により、標的遺伝子のピンポイントでの改変の可能性も高まっており、育種技術における情報利用の重要性が増している。植物分野においても、ゲノム情報の比較から優良個体を選抜するゲノミックセレクションなどの大量遺伝情報を活用した最新の育種技術が利用できるようになってきた。しかし、遺伝情報と対応させるべき表現型の解析、すなわちフェノタイピングの効率の低さがボトルネックになっている。植物は生育環境にตอบสนองして形質を変化させる。よって、植物栽培時に、生育している植物個体や群落から大量の情報を非破壊かつ高速に取得する技術、すなわち、ハイスループットフェノタイピング技術の開発が望まれている。一方、近年の ICT やセンシング技術の発展により、植物の表現形質、特に形態や形状に関する情報の非破壊的な取得が可能になってきている。ドローンなどを利用した画像取得技術の向上や 3 次元画像解析手法の発展、さらには、深層学習など人工知能による画像認識分野でのブレイクスルーなどにより、ハイスループットフェノタイピング技術への画像利用が急激に進んでいる。このように形態的な形質に関しては、非破壊で大量のデータの取得が実現しつつある一方、光合成、ガス交換、代謝などの機能的な形質に関しては、ハイスループットフェノタイピング技術の基盤となる、非破壊・高速で情報を取得する方法の検討は立ち遅れており、手法の開発が望まれている。

また、フェノタイピングは、育種分野だけでなく、精密農業やスマート農業の実現においても重要な意味を持つ。ICT の進展により、生産現場で積極的に情報が活用されるようになった昨今、環境要素の計測・記録だけではなく、植物の生育に関する有用な情報をいかに非破壊的に取得、活用するかが、喫緊の研究課題となっている。機能形質まで含めたフェノタイピング技術は、表現型と環境要因の関連性の解析を可能にし、栽培技術のスマート化を強力に推進する生育情報取得手段となりうる。特に、簡便に機能形質に係るフェノタイピングが可能になると、光合成や生産力に関連した機能の発現を最大化する栽培方法の実践など、実際の栽培場面での積極的な活用も期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、植物の表現型解析(フェノタイピング)における大量かつ高速解析を可能にする植物ファンクショナルイメージングの手法を開発することを目的として、具体的には、以下を達成目標に研究に取り組む。

- 1) 画像を利用した葉面受光強度リアルタイムモニタリングシステムを開発する。
- 2) クロロフィル蛍光の画像計測と葉面受光モニタリングシステムを組み合わせ、群落表面において PSII 量子収率・電子伝達速度をマッピングする手法を開発する。
- 3) 光化学分光反射指数 (PRI) を利用して、光合成に関する情報のより広範なマッピング手法を検討する。
- 4) 上記の手法を総合的に利用するための解析システムを検討する。

3. 研究の方法

本研究では、まずモデル実験系を決定した後、今回のファンクショナルイメージング技術の基盤となる群落表面の受光強度分布を画像化するシステムの確立を図る。次に、PSII 量子収率の群落表面マッピング手法の開発をめざして、飽和光照射強度とクロロフィル蛍光量子収率の関係の把握とモデル化、モデルを利用した PSII 量子収率の推定手法の確立、PSII 量子収率と受光 PPFD から電子伝達速度のマッピングに取り組む。さらに、PRI 画像計測によるより広範な光合成に関する情報取得法の開発に取り組む。画像中の植物部の自動抽出および葉面積推定法を開発する。最終的には、上記の手法を総合的に利用するためのシステムを構築し、群落の機能形質の評価への応用法を検討する。

4. 研究成果

4 - 1 群落表面の葉面受光強度分布を画像化するシステムの開発

モデル植物としてイチゴを選定し、群落表面の受光強度分布をリアルタイムで画像化するシステムの確立をめざし、イチゴ個体群において、青緑透過フィルターを取り付けた COMS カメラで撮影した群落表面の特定波長域の反射画像における画素濃度値を葉面で実測した PPFD との対応を、画像撮影方法(撮影方向、距離、レンズの性能)や解析方法を変えながら、調査した。結果、イチゴ群落において、誤差 10%程度で葉面の PPFD を推定できる手法を開発することができた。なお、この際、解決すべき課題は、鏡面反射の影響をいかに抑えるかであったが、撮影方向を調整し、かつ、鏡面反射を起こしていると思われる箇所を、閾値処理等で画素単位で除くことで、実用的な手法とすることができた。

4 - 2 飽和光照射強度とクロロフィル蛍光量子収率の関係の把握とモデル化

クロロフィル蛍光測定から PS2 量子収率を求める手法においては、飽和光として照射した光

が実際に飽和強度(すべてのQAを閉じさせる強度)に達していない場合、測定されるPS2量子収率は、実際の値より低下する。この飽和強度の光を広範囲に照射することは難しく、クロロフィル蛍光画像計測の適用範囲の制限になっている。そこで、イチゴをモデル植物に、飽和光として照射した光の強度(PPFD)と測定されるPS2量子収率の実際の値に対する比率の関係を調査し、飽和光として照射した光のPPFDからPS2量子収率の低下比を求めるミハエル・メンテン型のモデル式を得た。これにより、クロロフィル蛍光によるPS2量子収率計測において、もし、飽和光として照射した光のPPFDが判れば、計測されたPS2量子収率を補正できるようになった。

4 - 3 クロロフィル蛍光計測によるPS2量子収率マッピング

飽和光照射時の葉面上での光強度(PPFD)を、4 - 1で開発したモニタリング手法により把握し、4 - 2で求めたモデル式を利用して、画像測定された蛍光量子収率の補正を行うことで、飽和光より低い強度の光を照射した場合でもPS2量子収率の算出(推定)が可能かを検討した。その結果、暗処理後のイチゴ葉に対して、市販のクロロフィル蛍光画像解析装置で測定したPS2量子収率は、適正な値である0.8より大きく低下している場合が認められたが、飽和光照射時に各葉が実際に受光しているPPFDを利用して補正することで、妥当な値のPS2量子収率を、個体群表面上にマッピングすることができた。さらに、作用光下においても、同様にPS2量子収率の補正が可能であった。図1に、画像計測されたPS2量子収率の補正結果の例を示す。

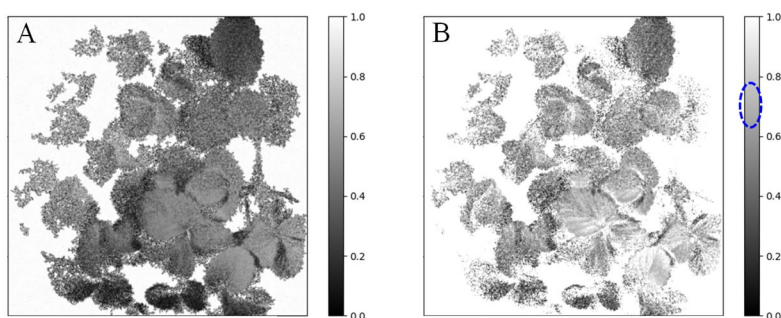


図1 イチゴ個体群に対して画像計測したPS2量子収率の補正例(A:クロロフィル画像計測装置で得たPS2量子収率画像、B:飽和光として照射された光のPPFDに基づいて補正したPS2量子収率画像)

4 - 4 クロロフィル蛍光計測による電子伝達速度マッピング

4 - 3の方法で補正された画像計測PS2量子収率と、作用光として照射されている光の葉面PPFD分布を用いて、光合成電子伝達速度ETRを、イチゴ個体群画像上にマッピングすることができた。画像内の数点において、携帯用クロロフィル蛍光測定装置により測定されたETRと比較した結果、概ね妥当なETRを算出できており(RMSE = 7.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、RMSPE = 12%)、本手法の有効性が確認できた。図2にイチゴ個体群上へのETRマッピングの一例を示す。

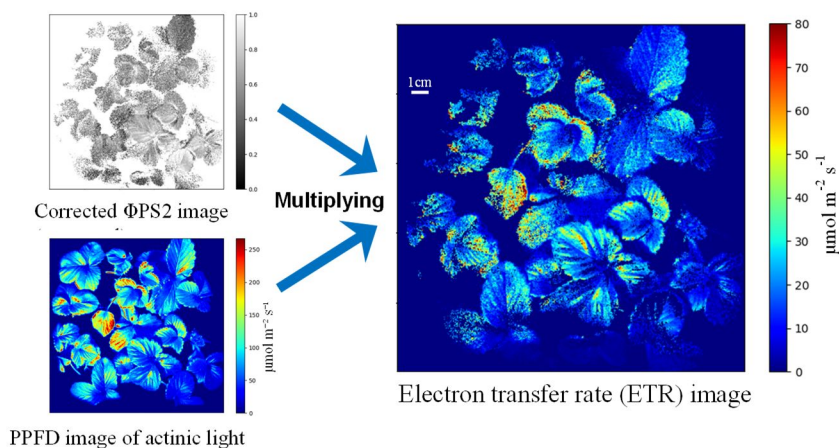


図2 イチゴ個体群上へのETRマッピングの一例

4 - 5 PRI画像計測による光合成に関する情報取得法の開発

市販のCMOSカメラ2台と光学フィルター(バンドパスフィルター)を組み合わせることで撮影した2つの波長域における反射画像から、画像演算によりPRI画像を取得する手法を確立した。位置合わせ手法、光学フィルターの特性に起因した入射角により変化する透過波長域の補正法などを検討し、ハイパースペクトルカメラ等で測定したPRIと同等の分布を得られることを確

認した。さらに、携帯用クロロフィル蛍光測定装置で測定した PS2 量子収率との関係を調査し、画像により PRI の変化を捉えることで PS2 量子収率の変化を評価できる可能性を示し、より広範な光合成機能評価の可能性を示した。また、太陽光下において、4 - 1 で確立した群落表面の光強度分布を求める手法と併用することで、光の強さと PRI の変動パターンの解析を行うことが可能であった。

4 - 6 群落画像からの植物部分の抽出と葉面積推定

画像中の植物葉部分の抽出に関しては、イチゴ群落に対して、ディープラーニングによる既存のセグメンテーション法 (DeepLab) を適用することで、比較的高い精度での抽出が可能であった。実際の栽培場面においても、十分な精度で、植物部分の抽出が可能であった。さらに、群落画像から、葉の重なりなどの群落構造に関する情報取得および群落としての受光態勢の評価のために、投影面積と実際の葉面積の比である葉面積変換係数の推定方法を検討し、畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を利用した手法を開発した。さらに、その手法を拡張し、植物の葉の量の情報である葉面積指数 LAI を、画像から推定する方法を開発した。本手法は、群落構造の評価だけでなく、群落 (個体) 光合成の評価への応用が期待できる。

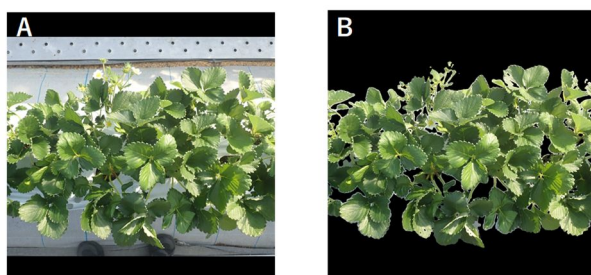


図3 ハウス栽培されているイチゴ群落画像 (A) に対するセグメンテーション手法による植物部分の自動抽出 (B)

4 - 7 システムの統合化と今後の展開

本研究で開発したファンクショナルイメージングシステムの概要を図 4 に示す。クロロフィル蛍光画像計測と葉面 PPFD 画像計測を組み合わせ、群落表面への PS2 量子収率のマッピング、さらには、作用光の PPFD 画像計測も併用することで、電子伝達速度 ETR をマッピングする。測定範囲に関しては、クロロフィル蛍光画像解析では、今のところ、数十 cm 四方の群落表面へのマッピングが可能である。PRI の画像計測からは、PS2 量子収率や電子伝達速度 ETR の変化に関する情報をより広範囲で取得することができる。これらの手法は、栽培時の作物の光合成の状態に関するモニタリングだけでなく、群落から個体を分割するようなセグメンテーション手法と連携することで、光合成の状態に基づいたスクリーニングへの活用が期待できる。

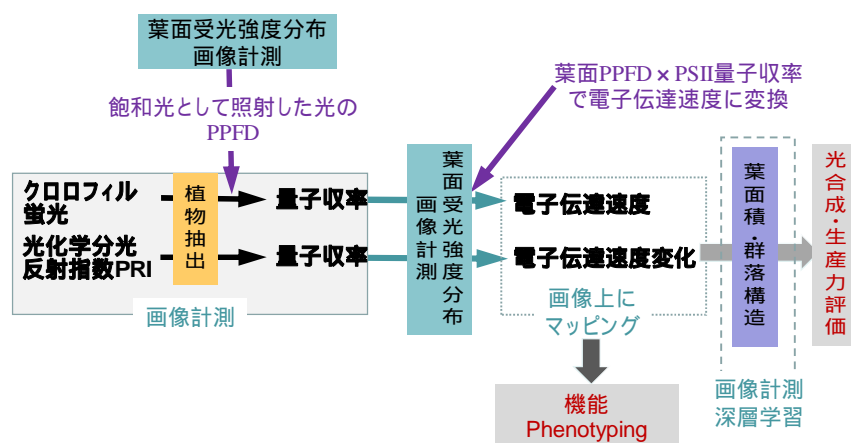


図4 本研究により開発した植物ファンクショナルイメージングの概念図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 佐伯知範・荊木康臣	4. 巻 35
2. 論文標題 作物ファンクショナルイメージングに関する研究 -葉面光強度分布画像解析の活用-	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 中国四国の農業気象	6. 最初と最後の頁 4-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 佐伯知範、荊木康臣, Liu Tongxin	4. 巻 34
2. 論文標題 クロロフィル蛍光画像計測による PS 量子収率マッピング	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 中国四国の農業気象	6. 最初と最後の頁 8-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 本田龍樹, 荊木康臣, 佐合悠貴	4. 巻 34
2. 論文標題 深層学習を用いた画像からの LAI 推定 投影面積比と推定値の関係	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 中国四国の農業気象	6. 最初と最後の頁 10-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Tongxin, 荊木康臣	4. 巻 33
2. 論文標題 イチゴ葉のクロロフィル蛍光測定における飽和光照射強度と PSII量子収率の関係	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 中国四国の農業気象	6. 最初と最後の頁 6-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Yasuomi Ibaraki
2. 発表標題 Image-based plant monitoring for vertical farming
3. 学会等名 Verifarm2023 Second international workshop on vertical farming, May 23-24, Chengdu, China (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐伯知範、荊木康臣
2. 発表標題 光化学分光反射指数PRI画像計測による面的な光合成評価に向けた基礎的研究
3. 学会等名 日本生物環境工学会2022年福岡大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荊木康臣
2. 発表標題 AIを活用した画像解析技術の花き生産への活用
3. 学会等名 農研機構西日本農業研究センター問題別研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荊木康臣
2. 発表標題 AI画像解析の園芸作物生産での活用
3. 学会等名 日本農業気象学会2023年全国大会OS (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐伯知範、荊木康臣
2. 発表標題 作物ファンクショナルイメージングに関する研究 -画像計測による電子伝達速度ETRの妥当性の検討-
3. 学会等名 日本農業気象学会2023年全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹内廉、荊木康臣、原田浩介、重藤祐司
2. 発表標題 深層学習を用いた画像からのLAI推定 -ハウス栽培イチゴへの応用-
3. 学会等名 日本農業気象学会2023年全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田代菜菜、佐合悠貴
2. 発表標題 群落条件における個体光合成速度の推定に基づいたリーフレタス成長モデルの構築，
3. 学会等名 2021年度日本生物環境工学会オンライン次世代研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 植木朋実、荊木康臣、重藤祐司、鶴山 淨真
2. 発表標題 栽培画像を利用した作物植被率評価に関する研究
3. 学会等名 日本農業気象学会2022年全国大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 佐伯知範, 荊木康臣, LIU TONGXIN
2. 発表標題 クロロフィル蛍光画像計測による電子伝達速度マッピングに関する 研究
3. 学会等名 日本農業気象学会2022年全国大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 本田龍樹, 荊木康臣, 佐合悠貴
2. 発表標題 深層学習を用いた画像からのLAI推定 栽培現場での応用に向けた検討
3. 学会等名 日本農業気象学会2022年全国大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Tashiro K. and Sago Y.
2. 発表標題 Development of a leaf lettuce growth model in a plant factory.
3. 学会等名 The 6th Priority Universities Symposium, Online, 23 February, 2022
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 本田龍樹・荊木康臣・佐合悠貴
2. 発表標題 深層学習を用いた画像からのLAI推定 入力画像の影響
3. 学会等名 日本農業気象学会2021年全国大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 LIU TONGXIN・荊木康臣
2. 発表標題 飽和光が照射できない場合のクロロフィル蛍光画像計測に関する研究
3. 学会等名 日本農業気象学会 2021年全国大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tashiro K. and Sago Y.
2. 発表標題 Development of a growth model of leaf lettuce in a plant factory: Estimation of photosynthetic rate per plant in a community condition.
3. 学会等名 International Symposium on Agricultural Meteorology 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tashiro K. and Sago Y
2. 発表標題 Local light irradiation to inner leaves for improving productivity of butterhead lettuce in plant factory
3. 学会等名 International Symposium on Agricultural Meteorology 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuomi IBARAKI, Keach MURAKAMI, Nana NUMATA
2. 発表標題 LAI estimation from a single image of plant canopy
3. 学会等名 Greensys 2019 - International Symposium on Advanced Technologies and Management for Innovative Greenhouses (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荊木康臣, 本田龍樹, 沼田菜那, 佐合悠貴
2. 発表標題 深層学習を用いたLAI推定に関する研究
3. 学会等名 日本生物環境工学会2019年全国大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村郁也, 荊木康臣, 重藤祐司, 宇佐川恵
2. 発表標題 収量予測に向けた画像解析による作物の植被率評価
3. 学会等名 2019年日本農業気象学会中四国支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田代菜菜, 佐合悠貴
2. 発表標題 リーフレタス成長モデルの構築に向けた同化箱法による光合成速度の評価
3. 学会等名 2019年日本農業気象学会中四国支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本田龍樹, 荊木康臣, 佐合悠貴
2. 発表標題 深層学習を用いた画像からのLAI推定 - 異なる植物種への適用 -
3. 学会等名 日本農業気象学会2020年全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田代菜菜, 佐合悠貴, 澤春奈
2. 発表標題 リーフレタス成長モデルの構築に向けた個体および個葉における光合成速度の評価
3. 学会等名 日本農業気象学会2020年全国大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鮫島良次編 (分担執筆)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文永堂出版株式会社	5. 総ページ数 320
3. 書名 農業気象学入門－第4章 農業生産と気象 9. 情報技術の利用	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐合 悠貴 (Sago Yuki) (20648852)	山口大学・大学院創成科学研究科 ・准教授 (15501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------