

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：13904

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21350

研究課題名（和文）施設生産のためのカビリスク診断システムの開発

研究課題名（英文）Development of disease fungi risk detection system for Horticultural Production

研究代表者

高山 弘太郎（Takayama, Kotaro）

豊橋技術科学大学・工学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：40380266

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：施設生産における作物周年栽培では、気温および湿度の管理と連動して生じる病害性のカビへの対応が課題である。本研究では、浮遊孢子トラップツールで捕集したカビ胞子の顕微画像をオンサイトかつリアルタイムにAI技術（ディープラーニング）を用いて解析し、超初期段階でのカビ発生を検知するシステムの開発を試みた。愛媛県西予市のトマト生産施設を対象として、光合成計測、植物生体画像情報計測、週単位の生育把握を行い、病害リスクが高まるタイミングに合わせた浮遊孢子トラップ設置スケジュールを検討した。他方、浮遊菌の効率的捕集のための捕集方法を開発し、取得した顕微鏡画像に対して物体検知を行い微小細胞の自動検知に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の農業生産現場でのカビ検知は、植物上に繁殖したカビを目視で発見する方法が一般的であった。目視で確認できない場合には、リスクが考えられる葉の表面の付着物を綿棒で採取し、寒天培地で培養して形成されたコロニー数をカウントすることで、見えないカビリスクを評価していた。しかし、これらの方法はいずれも農業生産現場で求められるオンサイトかつリアルタイムのカビリスク把握技術としては不適切であった。本研究で開発したシステムを基盤としたカビリスク自動判定を用いることで、早期に防除が可能となり、被害と農薬使用量の最小化が実現できる。

研究成果の概要（英文）：In horticultural production such as greenhouses, dealing with disease-causing molds that occur in conjunction with air temperature and humidity control is challenging. In this study, we developed a system to detect mold outbreaks early by analyzing microscopic images of mold spores collected by a trap tool on-site using AI technology (deep learning). Photosynthetic measurements, plant growth imaging, and weekly growth monitoring were conducted at a tomato production facility in Seiyō City, Ehime Prefecture, to determine a floating spore trap installation schedule that matches the timing of increased disease risk. On the other hand, we developed a collection method for efficient collection of suspended spores and succeeded in automatic detection of microcells by object detection on the acquired microscopic images.

研究分野：植物診断計測工学

キーワード：画像計測 画像解析 ディープラーニング 環境工学 施設園芸 病害リスク検知

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

キュウリうどんこ病菌(以降、うどんこ病)は、キュウリの最も一般的な病害であり、温室等の施設における周年栽培では孢子が飛散することによって伝染を繰り返す。そのため、作物栽培施設内において、キュウリうどんこ病発生リスクを、可視的な被害(植物体表面の白色の菌糸体≒いわゆる“カビ”)が拡大する前の超初期段階で検知する技術を開発する必要がある。従来のカビ(キュウリうどんこ病菌を含む)の検知は、学術と農業生産の区別無く、目視での観察に基づいたものである。また、採取したカビを寒天培地等で培養し、形成されたコロニー数(CFU: Colony Forming Unit)を用いてカビリスクを評価する方法もあるが、いずれの方法も、農業生産現場で求められる On siteかつ Real time のカビリスク把握技術としては不適切である。うどんこ病菌は、植物体表面に孢子が着床して菌糸を伸ばして展開(菌糸体・孢子のうを形成)し、新たに形成された孢子が飛散して周囲にまん延する。このサイクルは1週間程度であると考えられるため、遅くともこの間に「発生の予兆」を正確に捉えて重点的な防除を行う必要がある。

本研究の最大の特徴は、空气中を浮遊する孢子を直接検知する点である。植物体上のカビの自動検知のためには、全ての植物体表面を画像計測する必要があり、実現不可能であるが、孢子については、気流によって温室内を浮遊するため、空気清浄器の様な装置(本研究で開発する浮遊孢子トラップ)でも捕集することが可能となる。これに、低廉化が進むIoT化されたデジタルマイクロスコープと実学への応用が進む先端的ディープラーニング(AI)技術を適用することで、On siteかつ Real time のカビリスク把握が可能となる。この技術は、カビの生活環の進展速度の高精度計測を可能にし、植物病理学分野におけるカビ感染実験の新計測法としての活用も期待される。

### 2. 研究の目的

うどんこ病は、温室内の環境を適切に制御することで抑制が可能である。我孫子ら(1979)は、「気温 15°C~28°Cの間で起こり 30°C以上では発病しない」「乾燥条件下に比べ高湿度条件下又は葉表面が水で濡れている条件下ではうどんこ病の被害が軽微であった」と報告している。しかし、結露の程度(大きさ、結露にさらされた時間)とうどんこ病の関係は明らかになっていない。そこで本研究では、結露頻度の違いがうどんこ病に及ぼす影響の評価を行った。研究開発2-1として結露条件とカビの感染拡大の確認を行った。他方、既往のカビ検出技術は専門家の目による観察や環境要因からの予測が行われている。しかし、大規模な生産現場では人の目での観察や画像計測で植物体表面に着床し、菌糸を伸ばして展開する菌糸体の状態を観察することは不可能である。そこで本研究ではカビの生活環であるカビの分生孢子に注目し、研究開発2-2として温室内を飛散しているカビの分生孢子を直接捕集する浮遊孢子トラップの作成を行った。具体的には、作物栽培施設内において、うどんこ病菌の孢子の顕微画像をAI技術(ディープラーニング)により解析し、うどんこ病発生リスクを可視化する。

### 3. 研究の方法

#### 研究開発1: 結露とカビ感染の関係の確認

Fig. 1-1 に本実験で使用した国立研究開発法人物質・材料研究機構(NIMS)が開発したモイスチャーセンサの写真(A)と模式図(B)を動作原理(C)示す。モイスチャーセンサはプラスチック容器にモジュール、センサが内蔵されており、本研究では定常状態の電流値から電流値が上昇し、ピークが確認された場合、結露を検知したと見なす。また、モイスチャーセンサにはLTE ルーターが接続されており、1分間隔のデータをオンライン上に自動アップロードが可能である。なお、栽培条件の温湿度制御には人工気象器((内寸(mm)W670×D565×H1100)LPH-411PFD-SP型、(株)日本医科器械製作所)を用い、人工気象器内の気温、相対湿度はおんどり(RTR-576-S、(株)T&D)で計測した。また、人工気象器内の空気を攪拌するために攪拌用ファン(MB863-B、オリエンタルモーター(株))を用いた。結露区ではモイスチャーセンサの出力値が $10^{-11}$ を超える薄い水膜程度の結露が生じる条件を再現できたため、結露区と同様の気温・湿度でありながら人工気象器の温度制御により結露が生じない区を対照区とした。これら両区でうどんこ病菌を人為的に接種したキュウリを育成し、結露とうどんこ病の感染拡大の関係を評価した。

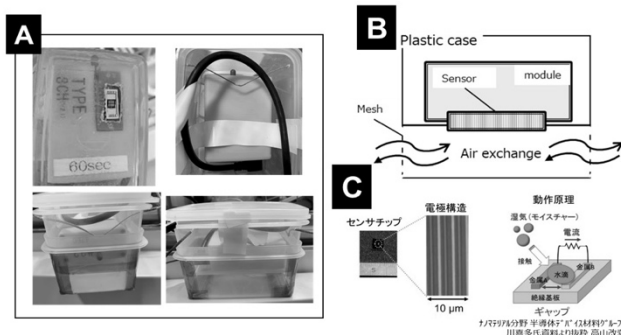


Fig. 1-1 センサの外観(A)、構造(B)と動作(C)の模式図

## 研究開発2: 画像計測による新評価法の検討

新評価法として、空気中に浮遊するカビの浮遊胞子を捕集し、顕微鏡観察により捕集された胞子数をカウントする浮遊胞子トラップ—顕微画像カウント法を開発した。Fig. 1-2 に本研究で開発した浮遊胞子トラップの写真と模式図を示す。中央部が空洞(φ14 mm)のペトリ皿(φ35 mm)に底面からカバーガラスを貼り付け、カバーガラスとペトリ皿の段差にグリセリンゼリーを流し込み浮遊胞子をトラップする構造とした。また3Dプリンタを用いてペトリ皿に小型ファン(D02X-05TS1 02, 日本電産(株))と空気の流入側にメッシュ(0.84 mm)を固定したものを浮遊胞子トラップとした。なお、顕微鏡観察にはオールインワン蛍光顕微鏡(BZX-800, (株)キーエンス)を用いた。

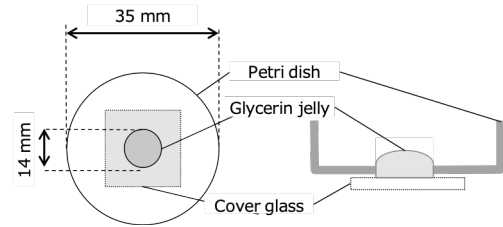


Fig. 1-2 開発した浮遊胞子トラップの模式図

## 4. 研究成果

### 研究開発1: 結露とカビ感染の関係の確認:

対照区は人工気象器によって一時間置きに温度制御を行い湿度は設定上限の90%とした。結露区に対し対照区では相対湿度10%程度低い値を示したが80%程度を推移しており、高湿度条件での結露条件の違いについて実験可能であることを示唆した。愛知県の商業的キュウリ栽培温室モイスチャーセンサを設置して計測した結果を示す。14:00頃にモイスチャーセンサの出力値にピークが確認された。この結果は実際の商業的キュウリ栽培温室においても結露の検知が可能であることを示唆しており、結露の機会が増えるタイミングに合わせてカビリスク評価を行うことが推奨されることを確認した。

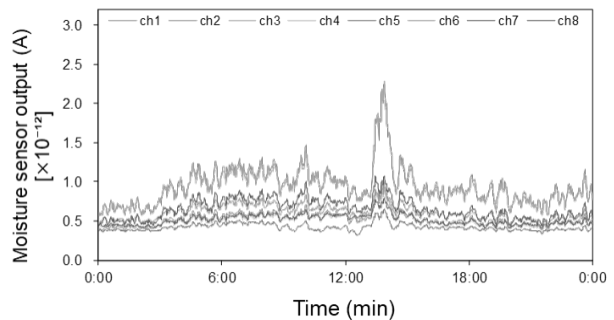


Fig. 1-3 キュウリ生産温室における結露検知の様子

### 研究開発2: 画像計測による新評価法の検討

Fig. 1-4 に、本研究で開発した浮遊胞子トラップの分生胞子の捕集能力の確認の様子写真(A)と得られた顕微鏡画像(B)を示す。うどんこ病菌に感染したキュウリ苗から筆で分生胞子を掬い取り浮遊胞子トラップの吸気部に振りかけた。うどんこ病菌の分生胞子が顕微鏡画像で視認でき、浮遊胞子トラップで分生胞子を捕集できることを確認した。

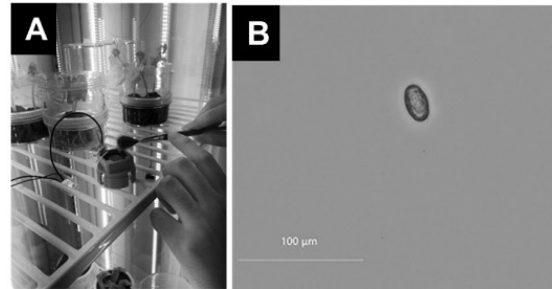


Fig. 1-4 胞子トラップの様子(A)と胞子の顕微鏡画像(B)

Google 画像検索 API(Google Custom Search API)を用いて画像を収集した。収集した画像18478枚からうどんこ病菌が写っている52枚を取得し、学習に用いる教師画像(42枚)とした。これらにアノテーションを付与(210個の対象物をマニュアルでラベリング)した上で、38枚(全画像の90%)を学習に用い、残りの4枚(全画像の10%)を検証に用いてモデルを作成した。物体検出アルゴリズムとして、YOLOv3(Redmon and Farhad, 2018)をkerasで実装したkeras-yolo3(Githubより取得)を使用した。なお、少数データセットでの学習となるため、COCOデータセットで事前学習済みのモデルに対して転移学習を行った。次に、M-416およびM-832を用いて、モデル作成時(学習および検証)に用いた画像とは別の10枚の画像(目視で確認した対象物は62個)を対象として検出を行った。Fig. 1-5に、検出結果画像の例を示す。適合率は69%、再現率は84%、F値は76%であった。これらの結果は、分生胞子の自動検出が可能であることを示唆していた。

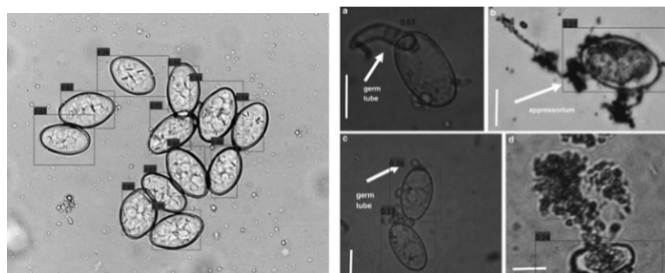


Fig. 1-5 AIによる胞子の自動検出の様子

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 S. Toda, T. Higuchi, T. Kanoh, T. Sakamoto, N.Fujiuchi, K. Takayama	4. 巻 55(32)
2. 論文標題 Practical use of Deep Learning-Based Daily Stem Elongation Measurement of Tomato Plants in Two Commercial Greenhouses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IFAC-PapersOnLine	6. 最初と最後の頁 113-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ifacol.2022.11.124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nurmalisa Moliya, Tokairin Takayuki, Kumazaki Tadashi, Takayama Kotaro, Inoue Takanobu	4. 巻 12
2. 論文標題 CO2 Distribution under CO2 Enrichment Using Computational Fluid Dynamics Considering Photosynthesis in a Tomato Greenhouse	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 7756 ~ 7756
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/app12157756	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 加納 多佳留、戸田 清太郎、海野 博也、藤内 直道、仁科 弘重、高山 弘太郎	4. 巻 34
2. 論文標題 トマト個体群を対象としたつり下げ型多元的植物生体画像情報計測ロボットの開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Eco-Engineering	6. 最初と最後の頁 37 ~ 44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11450/seitai kogaku.34.37	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 加納 多佳留、戸田 清太郎、海野 博也、藤内 直道、仁科 弘重、高山 弘太郎	4. 巻 34
2. 論文標題 トマト個体群を対象としたつり下げ型多元的植物生体画像情報計測ロボットの開発	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Eco-Engineering	6. 最初と最後の頁 37 ~ 44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11450/seitai kogaku.34.37	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 S. Toda, T. Higuchi, T. Sakamoto, T. Kanoh, N. Fujiuchi, H. Nishina, K. Takayama	4. 巻 1337
2. 論文標題 Deep learning model for monitoring daily tomato plant growth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 283 - 288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17660/ActaHortic.2022.1337.38	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kotaro Takayama
2. 発表標題 Plant Growth Monitoring for Intelligent Environmental Control in Greenhouse
3. 学会等名 SCIS&ISIS2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kotaro Takayama
2. 発表標題 High-resolution plant growth monitoring for intelligent environmental control in greenhouse
3. 学会等名 日蘭園芸セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高山弘太郎
2. 発表標題 高精度フェノタイピングに基づくイチゴ培地レス栽培技術の確立
3. 学会等名 アグリビジネス創出フェア「イノベーション創出強化研究推進事業セミナー」 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高山弘太郎
2. 発表標題 高精度フェノタイピングに基づくイチゴ培地レス栽培技術の確立
3. 学会等名 日本養液栽培研究会およびNPO法人日本養液栽培研究会 2022年度総会・第92回オンライン大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. Takayama
2. 発表標題 High-resolution plant growth monitoring for intelligent environmental control in greenhouse
3. 学会等名 international symposium of citrus and subtropical climate fruits 2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲葉一恵, 川喜多 仁, 小本和貴, 加納多佳留, 藤内直道, 仁科弘重, 高山弘太郎
2. 発表標題 モイスチャーセンサを用いたキュウリ葉における結露リスクの把握
3. 学会等名 農業情報学会2020年度年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 キュウリの光合成・蒸散のリアルタイム計測と栽培管理への利用
2. 発表標題 高山弘太郎
3. 学会等名 施設園芸新技術セミナー・機器資材展 in 佐賀（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仁科弘重, 高山弘太郎
2. 発表標題 AIを活用した農業
3. 学会等名 日本学会議 in山口 公開講演会「AI戦略の地方への展開 - 大学におけるデータサイエンス教育と地域連携」(招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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	八丈野 孝 (Yaeno Takashi)  (10404063)	愛媛大学・農学研究科・教授  (16301)	
研究分担者	藤内 直道 (Fujiuchi Naomichi)  (90791210)	愛媛大学・農学研究科・助教  (16301)	

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		
マレーシア	マレーシアサインズ大学		