

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：82105

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20595

研究課題名（和文）Measurement of the mycorrhizal hyphal turnover through soil imaging: Resolving the image analysis bottleneck with AI

研究課題名（英文）Measurement of the mycorrhizal hyphal turnover through soil imaging: Resolving the image analysis bottleneck with AI

研究代表者

SCHAEFER Holger・Christian (SCHAEFER, Holger)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・研究員

研究者番号：80897231

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、人工知能（AI）を活用して土壌断面画像上の菌糸量を自動的に測定する手法を開発した。まず、自作の撮影装置を用いて土壌断面の高解像画像を撮り、画像の一部において菌糸を手動でマークした。マークした画像を用いて、AIが菌糸と土壌背景のピクセルを識別できるように学習を行った。学習させたAIの活用により、土壌断面画像の分析時間を数日間（手動分析）から数分（AIによる自動分析）に減らすことができた。また、AIによる自動画像分析の正確度は高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

殆どの樹木は菌根菌と共生し、炭素を糖類として菌根菌に供給するため、森林土壌における菌糸バイオマスの変動を明らかにすることが、森林炭素循環の動態の理解・予測に向けて重要である。本研究では、人工知能を活用して土壌断面画像における菌糸量変動を手動分析より十分に速く、正確に自動測定できる手法を開発した。開発した手法は森林土壌における炭素循環を定量化する今後の研究に役立つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this research project, an AI-based method for the automated measurement of the amount of hyphae on soil profile images was developed. For this, high-resolution images of a soil profile were taken with a self-developed imaging device. On part of the taken images, hyphae were marked manually. An AI was, then, trained with the manually marked images to differentiate between hyphal pixels and soil background pixels. By using the trained AI, the time to analyze soil profile images was reduced from several days (manual analysis) to only a few minutes (automated analysis). Further-more, the amount of hyphae on soil profile images was estimated with high accuracy.

研究分野：森林生態学、微生物生態学

キーワード：森林炭素循環 土壌微生物 菌根菌 菌糸 土壌断面撮影 画像分析 人工知能

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

殆どの樹木は菌根菌と共生関係を築き、資源交換を行う。菌根菌は宿主植物に土壌無機栄養素を提供する代わりに、植物に固定された炭素を供給される。その資源交換により、森林炭素固定量の20%程度が菌根菌に供給されることもある(Hobbie 2006)。菌根菌が供給される炭素量の大部分は、根外菌根菌糸(extraradical mycorrhizal hyphae, EMH)の生産・維持に利用される。よって、森林土壌におけるEMH系ターンオーバー、すなわち生産と分解によるEMHバイオマスの入れ替わりを明らかにすることが、森林炭素循環の動態の理解・予測に向けて重要である。

土壌におけるEMHターンオーバーを観測するために期待される手法として土壌断面の撮影をあげることができる。その手法では、土壌に埋設した撮影装置を用いて定期的に土壌断面を撮影し、撮影時点間の画像における菌糸量の増減を比較することで、EMHの生産量と分解量を推定する。しかし、森林土壌における菌糸長は樹木根の10~100倍であるため、手動操作による土壌断面画像の分析は時間が非常にかかる作業であり、疲労からくる人為ミスも生じやすい。こうした問題点を改善するために人工知能(AI)による画像分析の自動化が期待される。AIによる自動画像分析が近年樹木根に適用された(Wangら2019)が、菌糸については適用事例がまだない。

2. 研究の目的

本研究は、AIを活用した土壌断面画像の自動分析手法を開発し、EMHターンオーバーの観測を自動化することを目指した。具体的には、

- (1) 自作の高解像度撮影装置を用いて土壌断面を高頻度で撮影すること、
- (2) AIを活用して土壌断面画像における菌糸量を自動測定すること、
- (3) EMHターンオーバーと環境要因との関係の解明すること

を目指した。

3. 研究の方法

(1) 高頻度の土壌断面撮影を行うため、森林総合研究所関西支所構内に位置するコナラ林の土壌に透明な観測用ボックスを埋設した。撮影装置として、顕微鏡カメラを操作する自作のシステムを用いた。撮影は、6~10月の間に、細かいメッシュ・シートによって根の侵入を阻止した(腐生菌糸のみを撮影するため)土壌断面と阻止していない(EMHと腐生菌糸両方を撮影するため)土壌断面に対して行った。根の侵入を阻止した土壌断面と阻止していない土壌断面における菌糸量の比較からEMH量を推定することを試みた。

(2) 菌糸量の自動観測にDeepLabv3+というニューラル・ネットワーク(以下AIという)を用いた。AIが菌糸と土壌背景のピクセルを識別できるように学習を行った。学習の教師データとして、手動で菌糸をマークした土壌断面画像を用いた。AIを活用した画像分析の正確度を手動画像分析の結果との類似度(Jaccard係数)で評価した。AIが検知した菌糸の長さはRhizoVisionExplorerというオープンソース・ソフトで自動測定した。

(3) 菌糸ターンオーバーを推定するため、2cm²の土壌断面面積において6~10月の間に発生した菌糸量を自動測定した。菌糸生産量と分解量は、撮影時点の間で生じた菌糸量変化から算出した。ターンオーバー動態と環境要因との関係を解明するため、気温と地温、日射量、土壌水分を観測する環境センサーを設置した。また、土壌サンプルからDNAを抽出し、次世代シーケンサーにより分析して分類を行い、撮影装置周辺の土壌における菌種の構成を明らかにした。

4. 研究成果

(1) AI画像分析に十分な解像度を持つ撮影装置(図1)と画像処理プログラムを開発した。具体的には、顕微鏡カメラを、ステップモーターと3Dプリンターで自作したパーツとを組み合わせ、土壌断面を走査して細い菌糸でも識別できる4万dpiの撮影装置を作成した(図1)。そして、小型コンピュータを用いて撮影装置の操作を自動化した。顕微鏡カメラの被写界深度が小さく、焦点の手動調整が困難であったため、土壌断面とカメラの間の距離を自動調整できるように撮影装置を改良した。顕微鏡カメラを走査して得られた小画像(撮影面積0.85×0.64mm)を自動的に接合し、接合部分の色などを自動調整して土壌断面全体の集成画像を作成する画像処理プログラムを作成した。撮影装置を土壌内に埋設した観測用ボックスで作動させ、土壌断面の高解像度画像(面積12cm²)の取得に成功した。



図 1: 開発した土壌断面撮影装置。

(2) 手動画像分析より十分に速い AI を活用した自動画像分析手法を開発した。具体的には、AI を、菌糸と土壌背景のピクセルを識別できるように学習できた。AI の活用により、取得した土壌断面画像の分析時間を数日間から数分に減らせることができた。AI を用いた自動画像分析の正確度、すなわち手動画像分析の結果との類似度は高かった (Jaccard 係数 > 0.8; 図 2)。

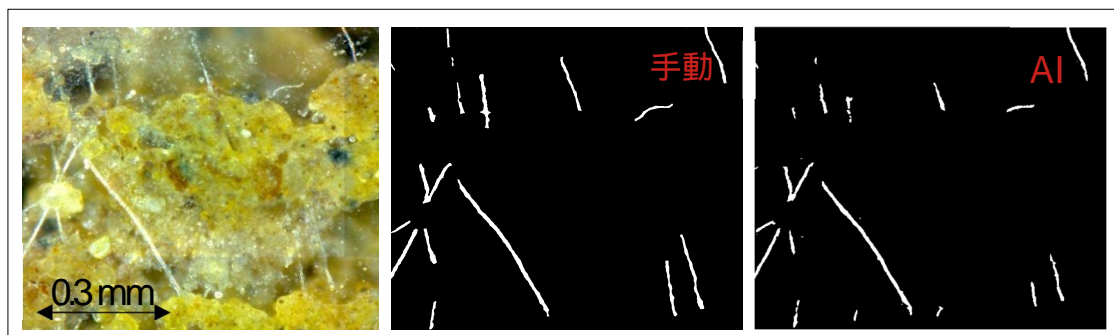


図 2：土壌断面画像において手動でマークした菌糸と AI に自動検出された菌糸の比較。

(3) 土壌断面画像菌糸の生産量と分解量は、6 月末にピークを示した (図 3)。なお、土壌が乾燥していた時期に、観測用ボックスと土壌断面の間に隙間が発生したため、菌糸の一部がしばらく測定できなかった。菌糸生産量・分解量の過大評価を防ぐため、隙間が発生していた時の土壌断面画像を解析から除外した。調査期間中の乾燥期が長く、菌糸生産量・分解量の算出に使用できた画像が少なかったため、EMH ターンオーバーと環境要因との関係を解明できなかった。また、樹木根の侵入を阻止した土壌断面において、菌糸束が多く発生し、根からの糖類供給を必要とする EMH がメッシュ・シートの外にある根から入り込んできたと考えられる。そのため、根の侵入を阻止した土壌断面と阻止していない土壌断面における菌糸量の比較から EMH 量を推定できなかった。土壌の DNA 分析では、根の侵入を阻止した土壌でも阻止していない土壌でも外生菌根菌 (*Russula sp.* など) と腐生菌 (*Mortierella sp.* など) が多く検出された。

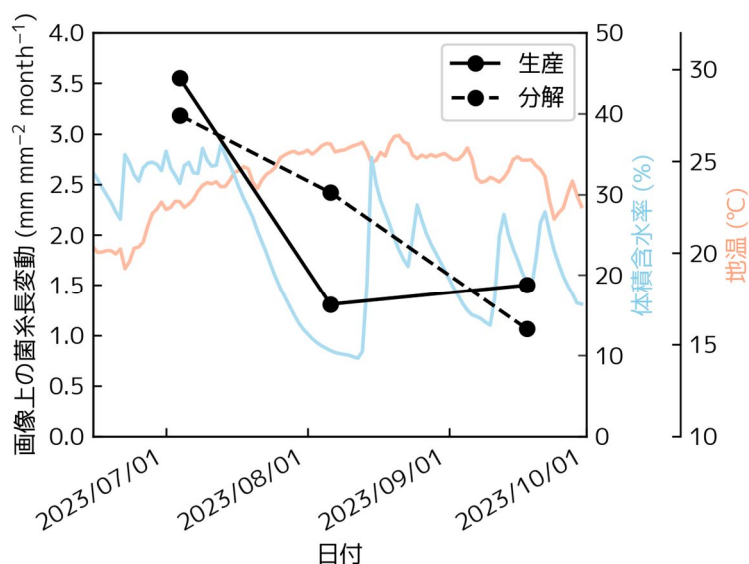


図 3：土壌断面画像上における菌糸生産と分解。

(4) 本研究では、初めて AI による自動画像分析を土壌断面画像における菌糸量測定に適用した。自動画像分析は手動画像分析より十分に速く、正確度も高かったため、開発した手法は土壌炭素循環を調査する国内外の研究に役立つと考えられる。しかし、土壌の乾燥が菌糸量測定に与えた支障を防ぐための方法、菌根菌糸と腐生菌糸の動態を分けて観測する方法については、更なる工夫が必要となる。

< 参考文献 >

- Hobbie, Carbon allocation to ectomycorrhizal[...], Ecology, 87 巻, 2006、563 - 569
Wang ら, SegRoot: A high throughput[...], Comput Electron Agr, 162 巻, 2019、845-854

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 SCHAEFER Holger
2 . 発表標題 Production and decomposition of mycorrhizal hyphae in Japanese cypress plantations
3 . 学会等名 The 2nd International Conference On Agricultural Science & Research, Chungnam National University (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 SCHAEFER Holger
2 . 発表標題 コンピュータ制御の顕微鏡を活用した土壌内菌糸の高解像度撮影の実現
3 . 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 SCHAEFER Holger
2 . 発表標題 菌根菌タイプが異なる林分における菌根菌糸の生産動態
3 . 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 SCHAEFER Holger
2 . 発表標題 Development of a low-cost high-resolution imaging device for the observation of hyphae in field soils
3 . 学会等名 British Ecological Society Annual Meeting 2023
4 . 発表年 2023年

1．発表者名 SCHAEFER Holger
2．発表標題 森林土壌中の菌糸ターンオーバー：土壌断面撮影とAI画像分析で追いつけるか
3．学会等名 第135回日本森林学会大会
4．発表年 2024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

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
---------	---------