

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660204

研究課題名(和文) 葉脈流観測を目的としたバイオスペckルセンサの開発

研究課題名(英文) Development of bio-speckle sensor for measurement of water status in leaf

## 研究代表者

福島 崇志 (Fukushima, Takashi)

三重大学・生物資源学研究科・准教授

研究者番号：00452227

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、農産生産管理における植物生理情報取得のため、葉脈流の流量・流速や揺らぎを観測可能な実用型バイオスペckルセンサの開発を目的とした。植物の葉を対象に、レーザ透過光を利用したレーザスペckル法を適用し、植物葉脈の解析を実施した。その結果、植物由来の特定のスペckル変動を分離・抽出するための解析手段の必要性と植物由来の特徴的なスペckル変動が確認された。今後は、スペckル変動の詳細な解析をもとに実用化に向けた計測装置の構築を目指す。

研究成果の概要(英文)：This study aims to develop the bio-speckle sensor that can detect the amount of the flow in leaf vein in an actual field, in order to understand the plant condition for agricultural production management. The flow of a leaf vein was analyzed by laser speckle method using transmitted laser beam. As a result, it would be needed to separate and extract the specific speckle variation according to each plant activities. And diagnostic speckle variation of plant origin was confirmed. A measurement device that can use in actual field based on the detailed analysis of speckle variations for plant would be developed in the future.

研究分野：農業情報

キーワード：レーザスペckル 葉脈 水動態 画像処理 周波数解析

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 精密農業を指向した生育情報センシングにおいては、クロロフィル蛍光法、リモートセンシングやハイパースペクトルイメージを有効活用し、農産物の高品質化や生産の効率化に向け技術開発が進んでいる。しかし、更なる生産精度向上を目指すには、植物成長および生産品質向上を強く支配する植物体内での水の動態を把握する必要がある。その中でも葉の蒸散のような日中の植物体の含水量を強く支配する要因を正確に評価することが望ましい。

(2) 現在の農業現場では、植物の生理・生育情報は、圃場・施設環境制御、品質管理および収量予測に不可欠なデータである。本研究では、栽培管理の基盤である水管理に直結する植物体の水動態に着目している。水動態の主要因として、葉の蒸散と根の吸水があり、前者は同化箱法あるいはポロメータ、後者は土壤水分センサ等を用いて評価される。しかし、前者はその支配要因である気孔開度が環境条件に敏感で計測時の同化箱内あるいはポロメータ内の水蒸気の変化にも反応してしまうこと、また後者は土中の根系の展開している箇所にセンサを設置することがポイントとなるなど、正確な計測を行うには高度な技術と知識が必要となる。

### 2. 研究の目的

(1) 精密農業では生産精度の更なる向上を目指し、現行の光合成活性や植生指標、収量予測情報に加え、より多くの植物生理・生育情報を多面的に評価することが必要である。葉の葉脈流は蒸散量や吸水量などの植物の水動態を表現するものと考えられており、間接的に葉の光合成速度、蒸散速度あるいはストレスなどの環境応答を反映する指標となる。しかし、農業現場においては、植物の水動態を非破壊かつ簡易に計測する方法はない。

(2) 申請者らはこれまでに種皮表面の微細構造の動的変化をとらえるため、レーザスペckル法を用いた研究を実施している。本手法は、一般的に対象表面の微少変動の計測に用いられるが、生体内の散乱粒子の流動や生体組織の屈折率変化など生体情報取得にも利用されバイオスペckルとも呼ばれる。本研究では、レーザスペckルを応用し、植物の水動態把握のため、レーザ光が透過し植物体内流動の計測がしやすく、葉の蒸散とも直結する葉脈流を対象に圃場で使用可能な実用型のバイオスペckルセンサの開発を目指した計測原理の構築を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) レーザスペckル法

レーザ光のようなコヒーレントな光で、粗面

を照射し、その反射光や透過光を観察した場合、図1に示すような明暗の粒状模様を観察することができる。粒状模様はスペckルパターンあるいはスペckルと呼ばれ、また粒状模様を作る現象はスペckル現象と呼ばれる。スペckル現象は、レーザ光が物体表面のミクロな凹凸でランダムに散乱され、各点からの散乱波が観察面(カメラなら撮像素子にあたる)の各点で重なり合わさって生じる干渉現象である。図1はスペckル形成原理を模式的に表したものである。スペckルパターンは、レーザを照射する表面の構成に関係なく、表面がわずかに動けばその動きに追従してスペckルパターンもまた変化する性質を持っている。この性質を利用し2次元信号処理等の手法により解析することで、対象の微小な動的現象も観察できる。

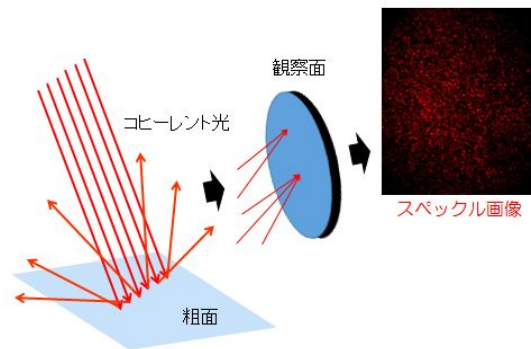


図1 レーザスペckル法の概要

#### (2) 画像相関法による葉脈流の定量化(図2)

動画処理において、対象の画像上の動きを追跡する方法は、一般に対応検索法と濃度勾配法に大別される。前者は、2つの連続するフレーム間で何らかの特徴量を求め、それを用いて対応付けを行う手法である。これに対して濃度勾配法は、濃度勾配を持つ画像が動いた場合に、動きと濃度勾配・時間差分の間に一定の関係があることを利用して動きを推定するものである。対応検索法に比べ濃度勾配法は、処理が容易で計算量が少なく、対応付けの必要がない等の特徴を持つが、フレーム間移動量が大きくなるにつれて精度が低下する。また、情報源として画像の時間的・空間的微分値を用いるためにノイズの影響を受けやすいという欠点を持つ。そこで本研究では、レーザスペckル法とも相性が良い、対応検索法の1つである画像相関法を用いて葉脈内水動態の追跡を行った。画像相関法はノイズに強く安定した推定が行えるなどの特徴を持っており、なだらかな変化を持つテクスチャシーンに有効である。

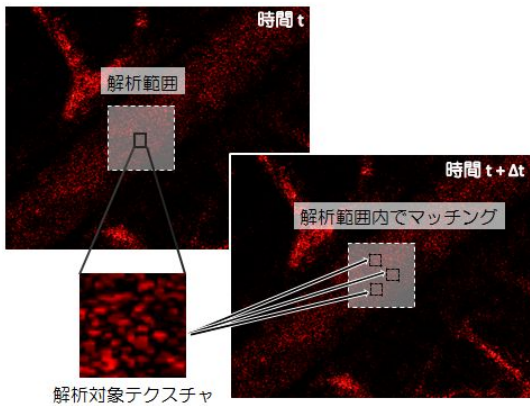


図2 画像相関法の概略図

### (3) ダイズ葉のスペックル変動の周波数解析

上記(2)における解析では、後に述べるが解析が非常に困難であることが明らかとなった。そのため、得られたスペックル変動をピクセル単位でつぶさに観察することで葉脈流の定量化を試みた。図3にあるように、スペックルの距離が近ければ2つのスペックル間にかけて同じ流れ(振動)が少しずれて伝わると仮定した。流れによって生じたスペックルの輝度値の変化もまた、同じような波形として出ると考えられる。そして、2つの信号の類似性を確認するために使用される相互相関関数を用いることで、波形の位相のずれ、つまり時間のずれを求める。この時間のずれと、波形を調査するスペックル間の距離から葉脈流の流れの速度を算出した。

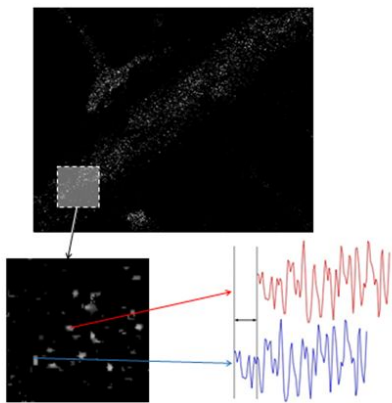


図3 スペックル変動の周波数解析

### (4) 計測システム

図4に実験装置を示す。対象の葉(ダイズ: 品種フクユタカ)の下側から、レーザー光(波長: 635nm、出力 4.4mW)を透過させ、マイクロズームレンズを取り付けたハイスピードカメラで捉えスペックル画像を出力した。カメラは三脚に固定した。フレームレート 100fps で数秒間の画像を取得し、得られた画像(画素数: 1280×1040pixel)を数値解析ソフトウェア MATLAB によるオリジナルプログラムで解析をした。レーザースペックル法は対象の微小動きまで捉えてしまうため、葉が

振動しないようにする必要があるのである。そのため、プラスチックとスポンジゴム、磁石を用いて葉がつぶれない程度で挟み込むような固定器具を作成した。また、太陽光の下で実験をするとハイスピードカメラ



図4 実験システム概要

の感度が低いためレーザー光を撮影しにくくなる。さらに風の影響もあるため、暗幕を用意し、その中で撮影をした。

本実験で使用するダイズは、三重大学農場で慣行栽培に則り栽培した。乾燥状態~湿潤状態での水動態の違いを観測するために、ダイズの水分的状態を4種類用意した。TDR法で土壌水分を調節し、TDR40、45、50、52(値が高い程乾燥状態を示す)の4種類を3株ずつ用意した。土壌水分の調整は測定日前日から開始した。葉脈の動態を観測すると同時に、気孔伝導度、蒸散量、水ポテンシャル、葉面積なども計測した。

### 4. 研究成果

(1) 画像相関法によるスペックル画像の解析(図5)では、葉脈に沿った流れが確認されなかった。撮影したスペックル変動は、葉脈の流れのみの動きだけではなく、流れによって生じた他の動きも含んでいる。植物が水を運ぶために用いられる導管は、水を運ぶ際に振動をすると考えられる。また、植物の構造上、篩管には伴細胞が存在する。植物細胞内に存在する葉緑体は、光が弱い時は細胞表面上に存在し、強い光の時では細胞核の周りにその位置を変える。これらの他にも、細胞内の原形質流動や細胞間同士の水の移動が原因になっていると考えられる。葉脈の流れの定量化のためには、これらの外乱の影響を除去するため、流れ由来もしくは他の生理活動由来のスペックル変動を特定し、それらを選択に抽出するためのフィルタもしくは計算アルゴリズムを提供する必要がある。

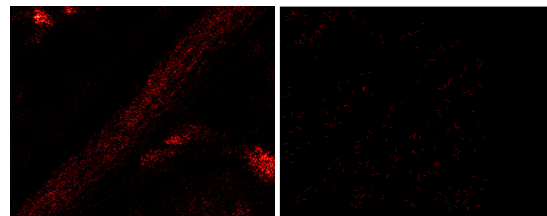


図5 左: 葉のスペックル画像, 右: 画像相関法による解析画像

(2) 画像相関法による葉脈動態の観測は難しく、事前にスペックル変動の特性を理解す

る必要がある。そこで、1pixel ごとのスペックル変動の特性の周波数解析を実施した。周波数解析の結果では、スペックル変動に0~1Hz 内にピークが多く見られた(図6)。これらは固定具由来や装置の電氣的ノイズによる変動周波数とは異なり、植物由来の変動であると考えられた。しかしながら、原因を特定するまでには至っていない。植物の生体電位の研究では、植物体への接触により同様の周波数応答が確認されているが、どのようなメカニズムで応答が現れるのかは不明である。

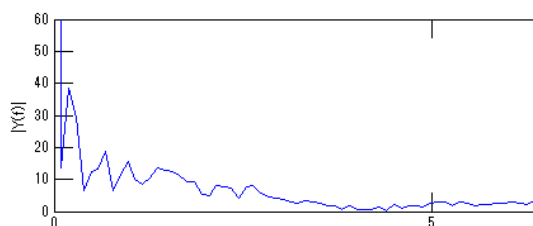


図6 1画素のスペックル変動のPSD  
(横軸は周波数)

(3) 前項の解析結果より、周波数応答の類似性を利用した水動態の解析を行った。一般的に報告のある転流速度は0.11~0.3mm/sとされている。今回計測した葉の主脈では、この速度に近い値が算出された。それに対して、側脈では速度が0.0712、0.0281、0.062mm/sと一般的に言われる転流速度より低く算出された。一般的な転流速度は、葉ではなく茎の師管で計測された速度であること・師管内の養分などの速度であって導管での水の速度では無いことから、今回の解析結果の正確性は判断できない。

(4) 本研究成果では、植物葉を対象に透過光を利用したレーザスペックル法において、得られるスペックル変動の複雑さが解析を困難にする点が明らかとなった。そのため、植物由来のスペックル変動を適切に解析することが重要である。スペックル変動の周波数解析においては、0~1Hzの周波数帯において、特徴的な変動が確認され、この点の詳細に調べることで今後新たな植物反応が明らかとなる可能性がある。さらには、植物の生理活動特定の周波数応答と光によるその誘導を組み合わせることで、特定の植物活動の解析の可能性も示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### 〔雑誌論文〕(計 1件)

東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 有田悠人. レーザスペックル法による葉の観察. 農業食料工学会関西支部報, 査読無, 119, 57-58. 2016.

### 〔学会発表〕(計 6件)

東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 有田悠人. レーザスペックル法による植物動態計測 — 葉柄部を対象とした計測の検討 —. 農業食料工学会関西支部第135回例会. 神戸大学(兵庫県・神戸市). 2016.3.2.  
東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 有田悠人. レーザスペックル法による葉の観察. 農業食料工学会関西支部例会. ヤンマーミュージアム(滋賀県・長浜市). 2015.10.10.  
有田悠人, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 東直志. レーザスペックル法による葉脈内流速の計測. 農業環境工学関連5学会 2015年合同大会. 岩手大学(岩手県・盛岡市). 2015.9.14-18.

### 〔図書〕(計 0件)

### 〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)  
取得状況(計 0件)

### 〔その他〕

ホームページ等  
三重大学生物資源学部 応用環境情報学研究室.  
<http://www.bio.mie-u.ac.jp/kanky/joho/control/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福島 崇志 (FUKUSHIMA, Takashi)  
三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授  
研究者番号: 00452227

### (2) 研究分担者

長菅 輝義 (NAGASUGA, Kiyoshi)  
三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授  
研究者番号: 80515677

### (3) 連携研究者

なし