

組織培養苗の自動選別及び  
ハンドリングに関する研究

海津 裕

<b>第 1 章 序章</b> .....	<b>1</b>
第 1 節  研究の背景.....	1
第 2 節  既往の研究.....	3
第 1 項  培養植物の自動生育情報解析.....	5
第 2 項  ロボットによる自動化.....	8
第 3 節  研究の目的.....	15
第 1 項  ラン実生無菌培養苗の自動移植及び自動選別システムの開発.....	15
第 2 項  サトウキビ組織培養苗の自動株分け及び自動選別システムの開発...21	
<b>第 2 章 ラン実生無菌培養苗の形状認識および自動移植</b> .....	<b>25</b>
第 1 節  本章の目的.....	25
第 2 節  実験試料および試作システム.....	25
第 1 項  ラン実生苗.....	25
第 2 項  試作システムの構成.....	26
第 3 項  画像処理装置.....	28
第 4 項  移植装置.....	30
第 3 節  画像認識アルゴリズム.....	32
第 1 項  画像処理の流れ.....	32
第 2 項  苗の抽出.....	33
第 3 項  メディアンフィルタ.....	36
第 4 項  投影面積の計測.....	36
第 5 項  等級の選別.....	37
第 6 項  苗の葉の展開方向の検出.....	38
第 7 項  苗の把持位置の検出.....	40
第 8 項  移植可能判定.....	41
第 4 節  ロボットマニピュレータの制御.....	43
第 1 項  ロボットのコントロール.....	43
第 2 項  マニピュレータのキャリブレーション（垂直方向）.....	43
第 3 項  関節の角度の決め方.....	45
第 4 項  画像とのキャリブレーション（水平方向）.....	46
第 5 項  指先の位置制御.....	48
第 5 節  エンドエフェクタの制御.....	49
第 1 項  エンドエフェクタの概略.....	49
第 2 項  形状記憶合金（SMA）.....	52
第 3 項  SMA ドライバ.....	53
第 4 項  ひずみゲージ.....	54
第 5 項  把持力の制御方法.....	55
第 6 節  移植方法.....	56
第 1 項  移植ステージ.....	56
第 2 項  指先の動かし方.....	58
第 7 節  実験方法.....	59
第 1 項  茎の圧縮実験.....	59
第 2 項  画像処理の評価.....	61
第 3 項  移植装置の評価.....	64
第 4 項  総合性能.....	65
第 8 節  結果および考察.....	66

第1項	茎圧縮実験の結果	66
第2項	画像処理の評価	67
第3項	移植装置の評価	74
第4項	総合性能	77
第9節	まとめ	79
<b>第3章</b>	<b>ラン実生無菌培養苗の画像処理による形状認識</b>	<b>81</b>
第1節	本章の目的	81
第2節	実験材料および装置	81
第1項	ラン実生苗	81
第2項	画像処理装置	83
第3節	画像認識アルゴリズム	84
第1項	境界線の表現方法	84
第2項	サンプリングの方法	86
第3項	離散的フーリエ級数展開	86
第4項	その他の特徴量	87
第4節	パターン認識アルゴリズム	88
第1項	マハラノビス距離	88
第5節	苗の測定結果	89
第1項	目視による形状の分類	89
第2項	苗の形状とフーリエ係数の分布	90
第3項	面積の分布	97
第4項	最大サンプル値の分布	99
第5項	平均サンプル値の分布	100
第6項	面積×最大サンプル値の分布	101
第6節	等級選別	103
第1項	等級選別の戦略	103
第2項	形状による未発達な苗の除去	104
第3項	大きさのパラメータによる等級選別	112
第7節	まとめ	113
<b>第4章</b>	<b>サトウキビ組織培養苗のロボットによる自動株分け</b>	<b>114</b>
第1節	本章の目的	114
第2節	実験材料および装置	116
第1項	サトウキビの苗	116
第2項	サトウキビ株分けシステム (SCSS)	118
第3項	株分けの方法	121
第4項	連続苗把持機構 (CSPM)	122
第5項	根部の切断及び洗浄	126
第6項	中間コンベアと個別苗把持機構 (SSP) による複数の苗の株分け	129
第3節	評価実験	135
第1項	CSPM によるセルトレイからの苗の取出し	135
第2項	SSS による株分け	135
第3項	苗の活着率	135
第4節	結果および考察	136
第1項	CSPM によるセルトレイからの苗の取出し	136

第2項	根部の切断および洗浄.....	136
第3項	SSPによる株分け.....	137
第4項	株分けに要した時間.....	139
第5項	苗の活着率.....	140
第5節	まとめ.....	141
<b>第5章</b>	<b>サトウキビ培養苗の画像処理による形状認識.....</b>	<b>143</b>
第1節	本章の目的.....	143
第2節	実験材料および装置.....	144
第1項	サトウキビ培養苗.....	144
第2項	画像処理装置.....	145
第3節	画像認識アルゴリズム.....	148
第1項	画像処理の流れ.....	148
第2項	茎の最下端点の検出.....	149
第3項	+1葉の肥厚帯検出.....	154
第4節	結果および考察.....	164
第1項	主茎の傾きの検出.....	164
第2項	茎の最下端点の検出.....	165
第3項	+1葉の肥厚帯検出.....	167
第4項	生長指標の算出.....	171
第5節	まとめ.....	173
<b>第6章</b>	<b>終章.....</b>	<b>175</b>
第1節	各章のまとめ.....	175
第2節	今後の課題.....	181
第1項	培養苗生産の自動化について.....	181
	<b>謝辞.....</b>	<b>184</b>
	<b>参考文献</b>	

# 第1章 序章

---

## 第1節 研究の背景

今日、数多くの農作物において、その苗の生産に、組織培養技術が用いられている(大澤, 1994). 1991年の農林水産省による調査によれば、わが国におけるイチゴの6割以上に組織培養によって育苗された苗が用いられている(小林, 1992). また、花卉では洋ランが89.9%, ガーベラが91.9%, リンドウが100%等その利用はさらに進んでいる. 現在においては、その利用はさらに高まっていると考えられる. 海外では、観葉植物に組織培養が盛んに用いられている(Zimmerman and Jones, 1991). またリンゴやモモ、サクランボ、ナッツ類といった温帯の果樹(Zimmerman, 1991), バナナやパイナップル、マンゴーなどの熱帯及び亜熱帯の果樹(Litz and Jaiswal, 1991)などにも組織培養苗が用いられつつある. その他には、野菜(Seckinger, 1991)や穀類(Redenbaugh, 1991), 森林用樹木(古在, 1999)(Thorpe et al., 1991), コーヒーやカカオなどの工芸作物(Dublin et al., 1991)などにも応用されている.

組織培養においては、植物は種子によって繁殖するのではなく、茎頂や腋芽などの組織を切り出し、無菌の培地で培養する事で、繁殖を行う(橋本, 2000). これによって、均質で、ウイルスに冒されていない高品質な苗を得る事が可能となる. これまでは栽培の難しかったランの大量増殖も可能となり、低価格化に大きく貢献している(山本, 1997)(楠本, 1997). 洋ランにおいては、無菌播種法といって、所謂組織培養とは異なるが、組織培養と同様の生産過程を経る方法も確立されており、商業化されている(楠本, 1997).

組織培養が商業化してから40年近くが経過し、その間、大量生産を目的として様々な取組みが行われてきた(Vasil, 1991). しかしながら現在なお、その生産工程は、実験室で行っていたやり方をそのまま、大規模化したものが多い. その工程の多くは手

作業で行われ、作業者は多大なる負担を強いられている。組織培養においては、現在培養容器として、細口フラスコが用いられる事が多い。これは少しでもコンタミネーションを防ぐための工夫である(古在, 1998)。しかしこれにより、機械化が困難となり、さらに人手に頼らなければならず、商品の価格が高いという悪循環を呈している(図 1)。しかし、作業が機械化され、人間が介在する事がなければ、そもそもコンタミネーション自体が発生する事が無い。コンタミネーションの発生が無ければ、容器の形状は自由になり、培養室全体を培養容器とすることも可能だと考えられる。現在の機械化を妨げている最も大きな要因の一つが、フラスコを始めとする容器の問題だとすれば、精度の高い機械を開発することで、正の循環が生まれ、安価で高品質な苗の生産が可能になると考えられる(図 2)。

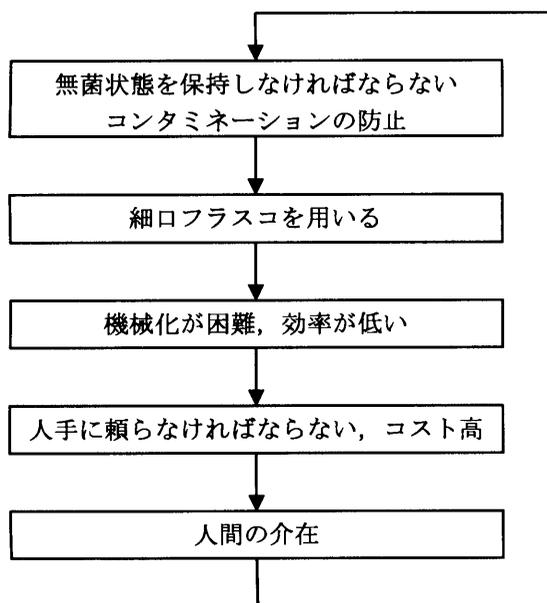


図 1 組織培養における負の循環

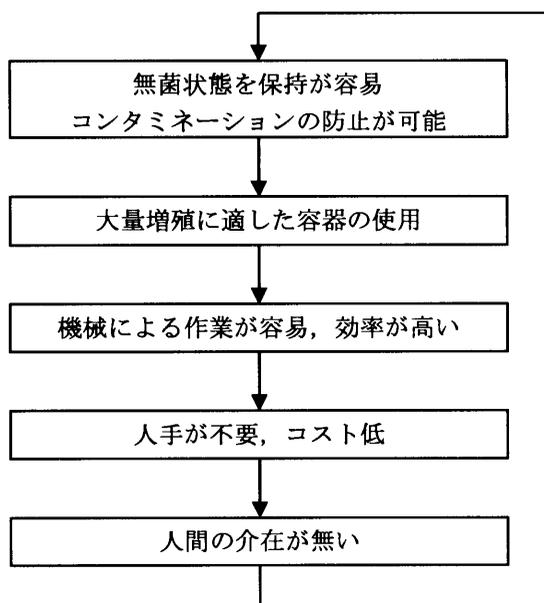


図 2 機械化による正の循環

## 第2節 既往の研究

先述の通り植物組織培養は、労働集約的な産業である。Chu (1994)は、組織培養苗の生産コストに占める人件費の割合を直接労務費と管理費を足し合わせて 63.8%と試算している(表 1)。

表 1 組織培養苗生産のコスト

Cost Components	Cost Per Unit (U. S. \$)	Percentage (%)
Direct Labor	0.078	48.8
Supervisor	0.024	15.0
Materials	0.015	9.4
Utilities	0.013	8.1
Depreciation	0.021	13.1
Other	0.009	5.6
Total	0.160	100%

(Chu, 1994)

表 2 組織培養苗生産の各工程に掛かるコスト

Cost Component	Cost Per Unit (U. S. \$)	Percentage (%)	Annual Cost of 20 Million Units Production (\$)
Washing	0.00864	5.4	172,800
Media	0.01552	9.7	310,400
Materials Transport	0.00464	2.9	92,800
Cutting/Planting	0.09632	60.2	1,926,400
Quality/Prod. Control	0.01360	8.5	272,000
Packing/Shipping	0.01376	8.6	275,200
Other	0.00752	4.7	150,400
Total	0.160	100.0	3,200,000

(Chu, 1994)

先進国においても、また発展途上国においても人件費が上がっていく中、これまでに多くの自動化への試みがなされてきた (Aitken-Christie, 1991) (Zandvoort and Holdgate, 1991) (Kozai et al., 1991). 表 2 に Chu (1994) による組織培養苗生産の各工程に掛かるコストの試算を示す. この表から見て明らかな通り、切断・移植の工程に全体の 60.2% と最も多くのコストが掛けられている. これは、この工程では、作業者がピンセットなどの道具を使って直接、植物体に触れ、切断位置や把持位置の特定や、植物体の生育診断、不要な組織の除去など高度な知的判断を行わなければならない、機械化が非常に困難なためである. しかしながら、この部分を機械化できれば組織培養苗の生産コストを劇的に低減させることが可能である. 本研究では、洋ランを対象としてこの工程を自動化することを試みる.

組織培養苗の生産では、*ex vitro*、すなわち外気中での順化、育苗工程にかかるコストを無視することはできない. 實山(1995)の調査によれば、サトウキビ組織培養苗の生産において、育苗工程に全体の 19% の工数がかけられている(図 3). この図で、「培養」とは苗の分割・継代などの主としてクリーンルーム内における作業、「培地作製」は試薬の調合や培地のオートクレーブなどの作業、「室内順化」は発根培養の終了した苗を室内順化する作業、「器具洗浄」は器具の洗浄、「育苗」は鉢上げや株分けなど主に温室内での作業を指している. 育苗作業にこれだけの工数が必要な理由は、組織培養苗は、もともと 1 つの外殖片から増殖し、狭いフラスコの中で密生して培養されるため、実際に製品として出荷するためには、必ず、育苗工程において株分け、すなわち苗を個別に分離する作業が必要となるためである. 株分け作業は、決して重労働ではないものの、培養工程における分割作業と同様に、繊細な植物体のハンドリングと知的判断を必要とする. 本研究においては、サトウキビの組織培養苗を対象として、株分け作業の自動化及び、選別の自動化を試みる.

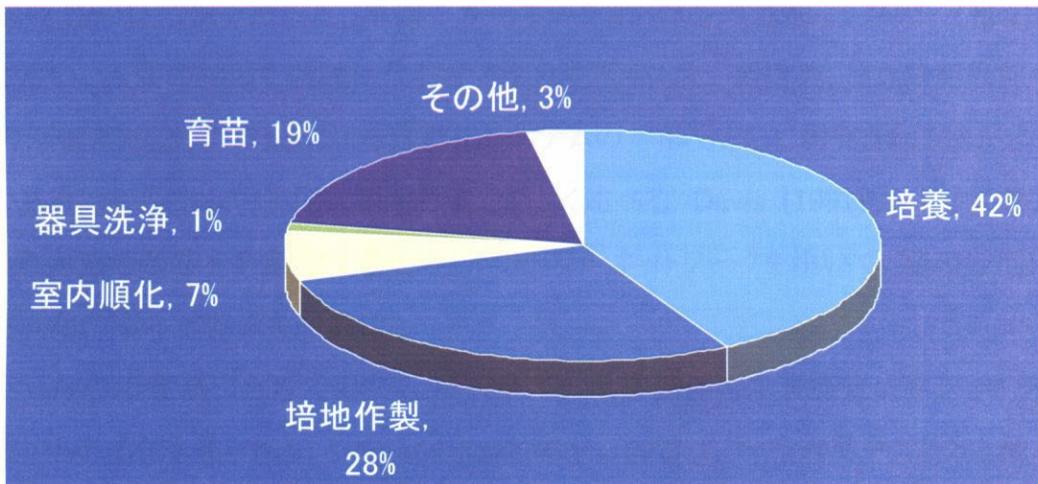


図 3 サトウキビ組織培養苗生産作業従事者の作業工数（延べ日数）割合

以下に、これまでに研究が行われてきた分野の中で、特に組織培養植物の生育情報解析とロボットによる自動化についての研究例を示す。

## 第1項 培養植物の自動生育情報解析

数や大きさ、長さ、健康状態等の培養植物体の生育情報は、実験レベルにおいても、また、商業的な生産システムにおいても重要な情報である。実験レベルにおいては、培地の成分や、ガス環境などを変化させたときの、生育の違いを計測する必要がある。また、苗生産会社では、植え継ぎの時期の決定や、生産量の予測などを行うため、生育状況を常にモニターする必要性がある。しかし、大量の培養植物体の生育調査は人手を必要とし、大変な作業である。そこで、画像処理をキー技術とした、生育計測システムに関する研究がなされている。懸濁培養液中の不定胚の品質を、画像処理によって計測する研究例が複数報告されている(Kurata, 1994)。Kurata and Shono (1992)は不定胚の境界線の曲率をフーリエ変換することで形状の特徴を表現した。また、画像のテクスチャーから推定する方法(Ibaraki and Kurata, 2001)が提案されている。Hamalainen et al. (1992)や、Harrell et al. (1992)は、不定胚の形状を画像で認識し、選別する自動システムを開発している。Harrell et al. (1992)は、認識のアルゴリズムとしてニューラルネットワークを用いた。また、コーヒーの不定胚の発芽能力を数値化するアルゴリズムが Ling (1996)らによって開発されている。

藤原(1991)は根を持った、単独のカーネーションの苗の選別を、ファジイ推論によって行い、人間の判断を機械に代替する手法を開発した。発根後、または発根前の苗条の画像解析は、ロボットによる自動化システムの一部として開発される例が多く見られる為、後述のロボット化に関する項で詳しく述べる。Davis (1991)は、キクの挿し穂による大量増殖法を自動化するため、ニューラルネットワークを用いて、苗の方向に左右されない節の認識法を発表した。

*In vitro* の培養途中だけではなく、*ex vitro* での幼植物体の生長測定にマシンビジョンが用いられる例も見られる。Ling and Ruzhitsky (1992)は、トマトの苗を、上方と側方から撮影し、上方画像から抽出した面積と周囲長が、苗の品質を良く表現していることを発見した。Kacira and Ling (2001)は、植物の健康と生長を、非接触でモニタリングする手法を開発した。このシステムでは、赤外線放射温度計やマシンビジョン、ロードセル、土壌水分計等を複合的に用いて、植物の状態を計測した。Tarbell and Reid (1991)は、トウモロコシの生長を、画像解析によって測定する研究を行った。Rigney and Klantzler (1989)は、商業的な育苗施設におけるマツの苗の自動選別を試みた。あらかじめ 1 本ずつに分けられた苗の茎の太さや、苗条の高さ、根の面積、苗条の面積、苗条と根の面積の比、茎径と高さの比(苗のたくましさ)などがマシンビジョンにより測定され、等級選別が行われた。Simonton and Pease(1990)は、ロボットシステムに用いることを想定して、ゼラニウムの挿し穂の形状認識を行った。葉や葉柄、茎の形状的な特徴を利用して、茎の長さや太さ、葉柄の向きなどを画像処理によって計算した。西ら(1997a, 1997b)は、キュウリの苗の画像認識を行い、2 次元画像から葉の位置や主茎の位置を推定した。清水と大下(1993)は、イネ等の被針型の葉を持つ植物を 2 方向からの撮影し、その伸長速度を計測した。また、清水と山崎(1995)は、同じように 2 方向から撮影した画像より、バーベナの伸長速度を計測し、昼夜間温度差(DIF)と日長が、伸長速度に与える影響について研究した。

Miyama et al.(1992)は一部分が隠れている葉の面積を求めるために、葉のエッジをスプライン曲線によって補完した。また、Sase et al. (1992) は、レタスの苗の品質評価にエキスパートシステムを用いた。

幼植物体の生長計測ではないが、農作物の形状計測に画像処理が用いられる例も多くある。Tao ら(1995)は、ジャガイモの形状計測を 2 値化画像の境界線形状を用いて行った。図形の重心から境界線まで線を引き、その線の長さの変化から形状の特徴を得た。その他、キュウリ果実の選別(松田ら, 1991)や、イチゴの形状を基にした等級選別に関する研究(永田ら, 1996a, 1996b, 1997) (木下ら, 1999a, 1999b, 1999c)などの研究例がある。これらはいずれも、対象物の輪郭形状に注目し、等級の選別や植物形状の認識を行ったものである。

## 第2項 ロボットによる自動化

ロボットによる自動化の対象となる作業は、切断や分離、移植などである。図 4に、植物組織培養の生産工程及び、ロボットが適用される可能性のある箇所を示す(岡本ら, 1992)。注目すべきなのは、生産工程の中に、増殖ならびに繁殖という繰り返しの伴う工程が存在することである。植物組織培養では、小さな組織を、多数の植物体にするため、分割、移植という作業を繰り返す必要がある。この作業が、最も人手のかかる作業であり、コストを引き上げる原因となっている。そこで、ここを自動化する事が、組織培養苗のコストを下げる上で最も効率的であると考えられる。ロボットは単独の作業を行うために開発される場合もあるが、作業工程の一部分のみを自動化しても、全体の生産性向上には必ずしもつながらない。そこで、培養室の管理や培養容器の管理、生産管理システム、自動培地供給システム等と複合的に開発されるケースが見られる。植物生産においてロボットが特にその能力を発揮するのは、個々の対象物が、その形状や位置、方向において多様性を有している場合だと考えられる。単純な培養容器の移動や、培養体の、判断を伴わない分割、移植であれば、わざわざ高価なロボットを用いる必要性はない。培養された苗条の切断箇所の決定や、把持位置の検出、等級の決定など、人間にとっても複雑な判断を高速になおかつ客観的に行えるセンサシステムがあつてこそ、動作及び動作手順において多自由度を有するロボットのメリットが生かされる。人間は、判断に必要な情報を主に視覚から得ている。これに倣いロボットシステムにおいてもマシンビジョンシステムによる画像解析が多く用いられている。

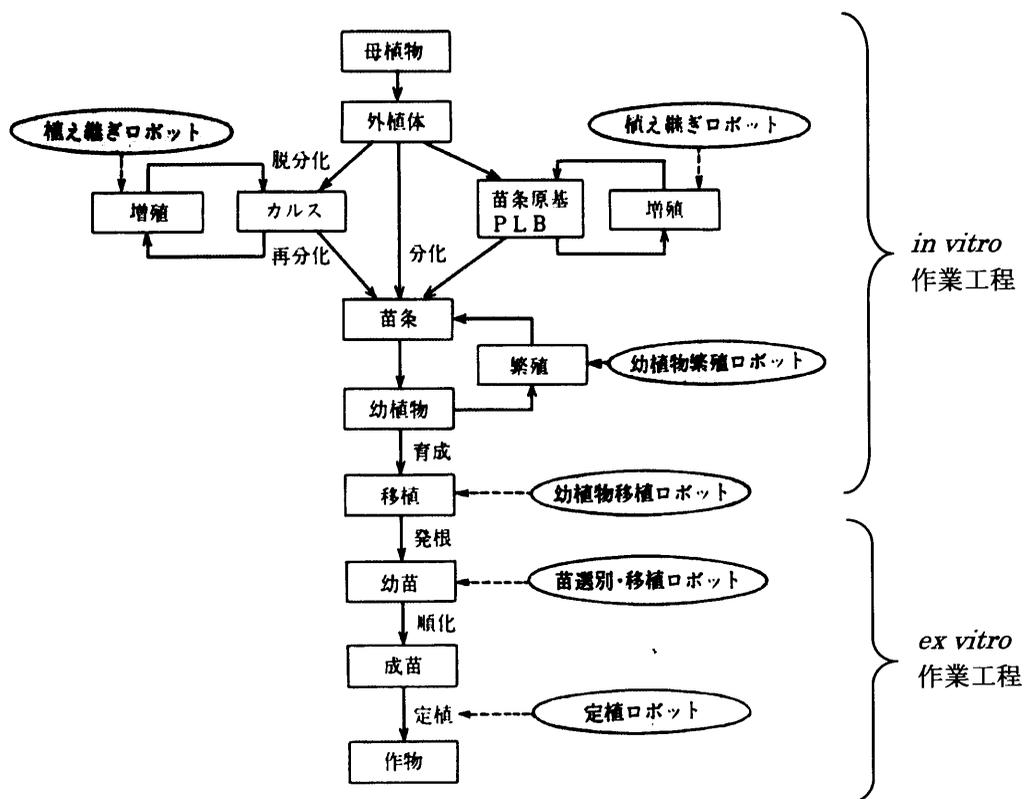


図 4 植物組織培養苗の生産工程とロボット化(岡本ら, 1992)

## 1. *In vitro* 作業の自動化

岡本らは数種類の植物組織移植ロボットについて報告をしている。

1) タバコカルスの自動移植に関する研究(岡本ら, 1989, 1990). この研究で筆者らはマシンビジョンによるカルス細胞塊の位置認識および、力フィードバック制御によるソフトハンドリングを試みた。エンドエフェクタのアクチュエータとして直流モータを用いたが、速度が遅く、位置決め精度が悪いため、把持に時間を要した。そこで、改良システムでは、ピンセット状のエンドエフェクタで把持する代わりに吸着パッドによりハンドリングを行うことを試みた。

2) 形状記憶合金を用いたエンドエフェクタに関する研究(岡本ら, 1991). 形状記憶合金は、軽量かつ通電過熱による変形と言う極めてシンプルな駆動方法を可能にす

る。髪の毛ほどのワイヤ状に加工された形状記憶合金は単位長さあたりの変形は、最大で 3%と小さいが、ワイヤを長くすることで、大きな動作ストロークを得る事ができる。この研究では、フィードバック制御則として、PID 制御とファジイ制御を試みた。その結果、ファジイ制御のほうが、パラメータの調整が容易で、オーバーシュートが少ないと言う結果を得た。指先の開く距離を制御の目標量として用い、把持力は指として用いている板ばねの復元力によって行った。

3) 形状記憶合金を用いたエンドエフェクタによるラン科植物プロトコーム移植ロボットに関する研究。マシンビジョンにより直径 0.5mm 大の微小なプロトコームを認識し、高速な移植を実現した(8 秒/1 個)。

4) サトウキビの *in vitro* での増殖過程における分割移植作業の自動化(岡本ら, 1998)。培養コンテナに苗条の塊が 2 つ存在する状態を想定し、まず、それぞれの塊の重心位置を培養容器の下から撮影した画像から解析する。その後、SCARA 型ロボットに取り付けた切断ブレードと把持部を兼ねたエンドエフェクタにより、片方の苗条の塊を中心から切断、把持し、新しい培地にそれぞれの部分を間隔を空けて置庄する。この作業を定期的に行うことで、サトウキビの増殖が可能となる。1999年には鹿児島県徳之島の南西糖業株式会社を中心とした第3セクター「徳之島さとうきび培養苗実用化推進機構」によって徳之島天城町瀬滝の奄美農業総合センターに実証プラントが作られた(松元, 2000)。図 5にロボットシステムのマニピュレータ部分を、図 6にこのロボットシステムで使用される専用の培養容器を示す。この培養容器の蓋は 8 角形をしており、空気圧のマニピュレータによる開閉を容易にしている。

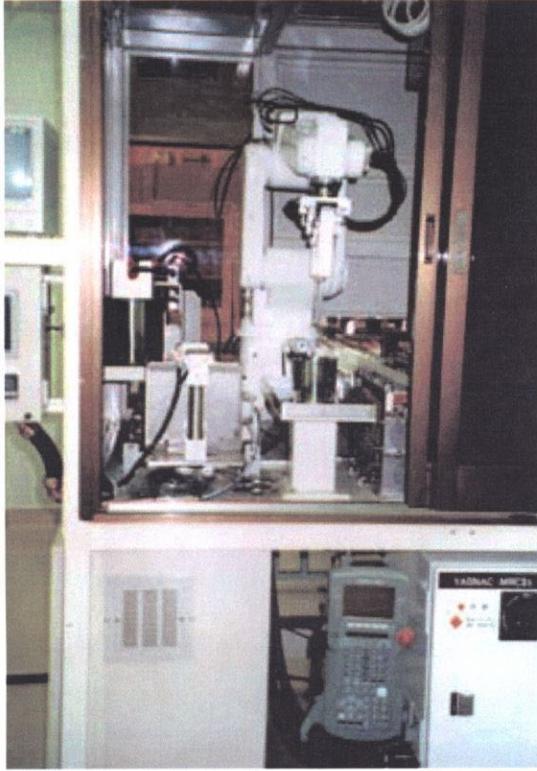


図 5 徳之島の組織培養苗移植ロボットシステム

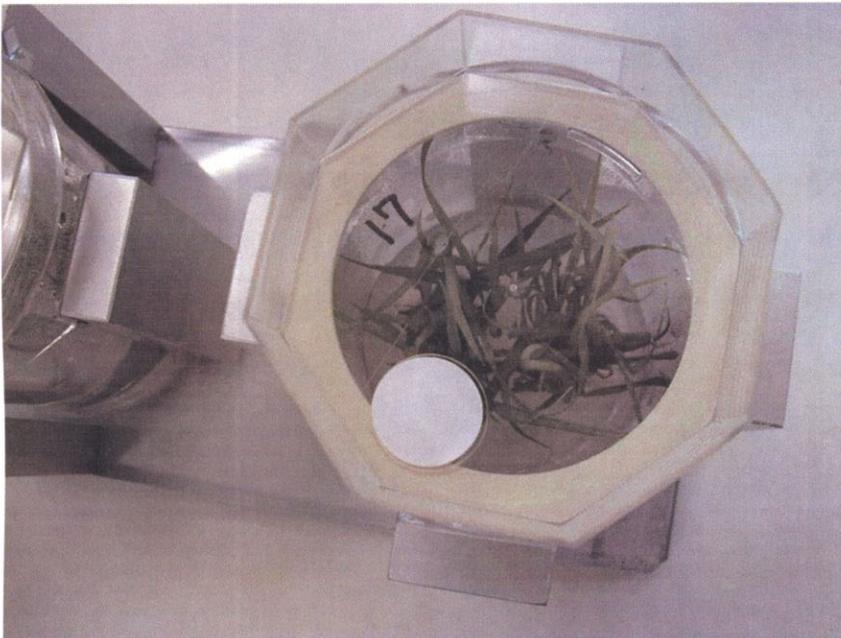


図 6 組織培養苗移植ロボットシステムで使用される培養容器

組織培養苗生産の自動化には、機械技術と植物栽培技術の双方の歩み寄りが不可欠であるが、Schaufler and Walker(1994)は、サトウキビの組織培養苗を、培養器中

で 2 枚のプレートに挟み、その生長方向を制限することで、認識や分割を容易にする栽培技術を開発した。Schaufler and Walker(1995)はまた、そのプレートに挟まれた複数本の苗のそれぞれの茎の位置を画像処理によって検出した。苗は、2 次元方向のみに重ならず伸長することで、画像処理が容易になった。Wang et al.(1998)は、茎検出のアルゴリズムを発展させて、ハフ変換(Duda and Hart, 1972)を用いることでより良い検出精度を得た。Wang et al. (1999) は検出した位置情報を元に、複数の苗を個別に分離するロボットシステムを作った。

Morimoto et al. (1992) は、ミニバラを対象として、その培養工程を自動化するロボットシステムを開発した。ミニバラの培養体は、二つのグリッパによって把持されて、節ごとに切断されて新しい培地に移植された。

Holgate and Zandvoort (1992)は、カバノキ科の植物の組織培養の自動化を行うロボットシステムを開発した。このシステムでは、まず逆さに吊るされた複数の節を持つ苗条を、3 方向から撮影し、コンピュータアルゴリズムによりその切断箇所を決定する。その後、CO<sub>2</sub> レーザにより苗条を切断する。切断する節のおおよその位置は手動で決定するが、その後の切断箇所は自動的に決定される。レーザの出力を100~125W に調節することで、周りの組織やその後の生長に影響を与えないという結果が得られた。また、Brown (1992)は、シンゴニウムとキクの組織培養の自動化を目的として、ロボットシステムを開発した。培養容器のハンドリングロボットや、培養容器を横から切断するレーザシステム、2 種類の植物の切断移植を行うエンドエフェクタなどが開発された。シンゴニウムでは、エンドエフェクタに取り付けられたブレードによる切断、また、キクについてはレーザによる切断が試みられた。レーザによる切断は、非接触であることや刃の殺菌が必要ないことなどの利点があるとの結果が得られた。McFarlane (1991)もまた、キクを対象として、移植のロボット化を目的としたマシンビジョンの研究を行っている。照明を対象物の後ろから当て、植物の影の像を解析し、茎の部分を抽出し、把持位置の推定を行った。植物の奥行きについては考慮されていない。

マシンビジョンによらない方法として、輪竹と木名瀬(1988)は、カーネーションの増殖を目的としたロボットシステムの開発を行った(Fujita and Kinase, 1991)。このシステムの特徴は、レーザスキャンによるレンジファインディングで苗の位置推定及び形状認識を

行う点と、垂直多間接型ロボットに取り付けられた、エンドエフェクタによってソフトハンドリングを行う点である。通常は、カメラから入力される二次元の画像から、その位置や形状を認識するのに対して、空間上の三次元の位置情報を用いることで、より柔軟性のあるシステムが実現した。対象としたカーネーションの苗は、葉身が細いため、節の位置推定を容易に行う事ができた。

三輪ら(1988)は、間隔を空けて寒天培地中に植えられている苗条の位置検出を、電波を用いて行う方法を開発した。寒天培地に 10KHz のパルスを印加し、各々の苗条が発信する電波を、エンドエフェクタに貼り付けたアンテナによって検知し、その位置を推定した。エンドエフェクタは、コイル状の SMA (形状記憶合金)ワイヤに通電加熱することで把持、昇降を可能としている。SMA ワイヤはコイル状にすることで、コンプライアンス性を持たせる事ができた。

苗条が芝のように横方向に増殖する場合には、その分割移植には、これまでに説明したような知的な判断機能は必要としない。岩崎(1991)はクワ科のベンジャミナなどの大量増殖を自動化するロボットシステム「TOMOCA」を開発した。これは、複数の苗条が繁茂した塊を、決められた位置で矩形に裁断、移植するシステムである。一時間あたり 2160 本の植物片を移植する能力を備えている。

植物組織培養には様々な形態の増殖法があるが、苗条での増殖ではなく、ユリ球根のりん片による増殖の自動化に取り組んだ例もある。三輪(1991)は、テッポウユリを対象として、球根の個別供給や根部の除去、りん片の剥離、培地への植え付けを自動化するシステムを開発した(Takayama et al., 1991)。アイデアに満ちた機械的なメカニズムにより複雑な工程を連続的に行う事ができた。

## 2. *Ex vitro* 作業の自動化

*Ex vitro* 作業の自動化は、*in vitro* でのそれと比べて、比較的易しいと考えられる。これは、作業環境を無菌化する必要が無いからである。しかし、実際にこれまで培養植物体の室内順化における自動化の試みについての研究例は無い。その一方で、園芸の分野では、実生苗を対象とした移植・管理の自動化や、接木の自動化、ゼラニウムやキクのように挿し穂によって増殖する植物の増殖の自動化に取り組んだ例がある。坂上(1994a, 1994b, 1995a, 1995b, 1995c)は、葉菜類の露地移植苗生産を対象に、施

設内における播種や苗接触刺激、苗灌水、不良苗除去、苗運搬などの諸作業の自動化を試みた。作業装置は、トレイをまたぐような形に設計されており、レールの上を移動しながら、前述の作業を行う。Ting et al.(1990a, 1990b)は、プラグ苗の移植を目的として、SCARA型ロボットを用いたロボットシステムの最適設計と、移植用のエンドエフェクタの開発を行った。エンドエフェクタは植物に直接触らずにハンドリングが行えるように、2本の針が培養土の部分に突き刺さり苗全体を持ち上げる構造としている。この2本の針による苗のセルトレイからの取り出しは、その後、野菜苗自動移植機に応用されている。Kutz et al.(1987)は、垂直多間接型ロボットを用いたプラグ苗の移植システムの設計をコンピュータシミュレーションによって行った。Kutz et al.(1994)はまた、プラグ苗の自動移植に用いる、エンドエフェクタの改良を行い、光電センサによる欠株の判定を行った。接木の自動化については、まず、鈴木ら(1995a, 1995b)、小林ら(1996a, 1996b)による一連の接木ロボットに関する研究が挙げられる。この研究では、手作業で行われている接木作業をそのまま機械化することを試み成功を収めた。現在では数社から接ぎ木ロボットが販売されている(三代, 1997)。また、Honami et al.(1992)や西浦ら(1998, 1999a, 1999b, 1999c)はプラグ・イン方式と言う新しい接ぎ木の手法を用いた自動化システムの研究を行った。Simonton(1990b)は、ゼラニウムの挿し穂を自動的に整形し、移植するシステムを開発した。門田ら(1998a, 1998b)は花卉のうち日本で最も生産量の多いキクを対象として、その整形、移植を行うロボットシステムを開発した。近藤ら(1999)は、やはりキクを対象として、その挿し穂を水面に浮かべ、マシンビジョンで認識して分離する機構を開発した。これらの研究によって得られた幼植物体のハンドリングに関する様々の知見や、開発された機構は将来的に、組織培養苗生産の *ex vitro* 工程の自動化に応用することが可能であると考えられる。

植物をハンドリングの対象としたロボットでは、センサやマシンビジョンなどの知的判断部の性能向上によってのみ、システム全体の性能が向上すると考えられがちだが、判断を過信するあまり、逆にノイズなどの外乱に弱く、ロバスト性が損なわれる恐れも十分にある。エンドエフェクタやその他のハンドリング機構などの、センサ以外のメカニズムを改良することの重要性も非常に高いと言う事が言える。

## 第3節 研究の目的

本研究での目的は、近年発展目覚ましい画像処理技術(画像処理標準テキストブック編集委員会, 1997a)と、半導体のハンドリングや機械の組み立てなどでは必要不可欠な存在であるロボット(佐藤, 1998)(楠田, 1999)を用いて、植物組織培養の自動化を行うものである。具体的な研究対象として、ランの実生無菌培養苗と、サトウキビの組織培養苗を用いた。それぞれ、形状も育苗方法も異なるが、共通するアプローチとして、1)塊としての苗条ではなく、個々の苗のハンドリングを行うこと、2)画像処理を用いて、生育情報を抽出し選別を行うアルゴリズムを開発すること、3)ロボットとエンドエフェクタを用いて軟弱な幼苗を傷つけずに取り扱うこと等が挙げられる。以下にそれぞれの対象に対して、本研究が明らかにしようとする点を述べる。

### 第1項 ラン実生無菌培養苗の自動移植及び自動選別システムの開発

洋ランは、日本人に人気のある鉢物である。高級感があり個人の観賞用だけでなく、贈答用として好まれることから、その他の観葉植物や花卉類と比べ高価である(農林水産省統計情報部, 2001)。そのため、生産者の設備投資への意欲が高い事が推測される(半田, 1996)。ランのように最終製品の単価が高い場合、高価なロボットシステムを導入することに対して抵抗が少ないと考えられる。そこで、ランを研究の対象として採用した。

ラン幼苗の栽培は一般に2種類の方法がある(竹内, 1990)。1つは、茎頂栽培であり、もう1つは無菌播種によるものである。茎頂栽培によって作られた苗は茎頂(メリステム)を培養した、遺伝的に均一な形質をもつ栄養系の集団(クローン)ということで、メリクローンと呼ばれている(楠本, 1997)(駒嶺ら, 1990)。ラン類では茎頂からプロトコーム様体(protocone like body, PLB)を誘導する方法がよく使われる。今回の研究では無菌播種による実生苗を対象とする。無菌状態で発芽させた実生苗は主に品種改良のために利用されているが、メリクローン増殖技術の普及が遅れているファレノプシスやデンドロビウムのような品種では、苗生産の方法としても用いられている。

実生苗を栽培する方法は生産者によって異なるが、図 7にその一例を示す(木谷, 1993). ラン科植物の種子は胚乳が無いため、自然状態ではカビの一種であるリゾクトニア菌と共生し、この共生菌から養分の補給を受けることによって発芽生育する(市橋, 1997). この場合発芽する個体数が非常に少なく、生長もきわめて遅い. そこで、無菌播種法という方法を用いて苗を栽培する. 無菌播種法とは、寒天培地上にラン種子を播種してプロトコームの生成を誘導し、これを適期に植え継いで発芽率を高め、生育の促進を図るものである. その育苗方法は植物組織培養と非常に似通っている. ランは早いものでは播種後1~3週間前後で細長い種子(長さ 0.5~1.0mm)の胚の部分が肥大し、種皮を破って中央が球形に膨らみ淡緑色のプロトコームが形成される. プロトコームはまず分裂組織を形成し、その部分はやがて茎頂となり葉の分化が起こる. その後に根が分化する. 普通の植物ではこの段階までは種子の中で完了しているのだが、ラン科植物では発芽した後に完了する. この点で、無菌培養法は、胚培養と言う事ができよう. プロトコームを新鮮な培地に移植して、発芽、発根させて、2~5cmの草丈の植え出し用苗に生長したら鉢上げする. また、プロトコームを液体回転培養するとプロトコームのまま増殖されプロトコームの塊となる. 塊がある程度大きくなったら、分割して植え継ぎ、再び回転培養して増やすことも可能である.

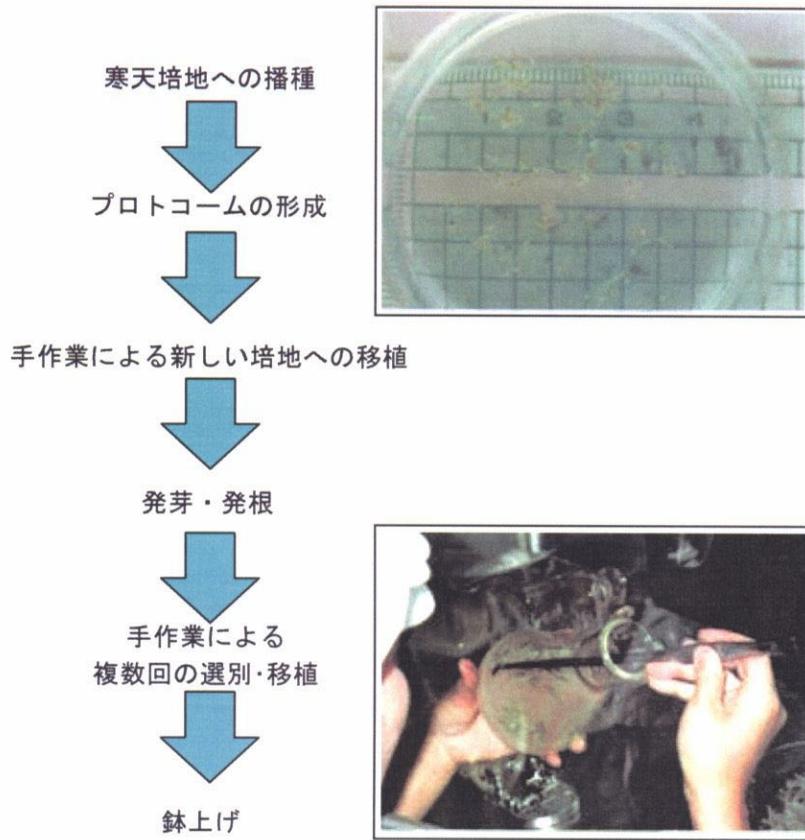


図 7 従来の実生繁殖法（無菌播種法）

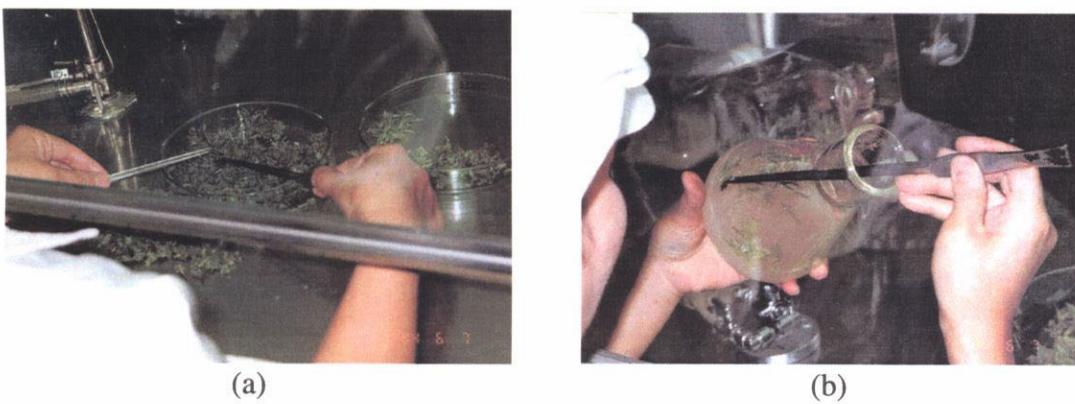


図 8 メリクロン苗の生産

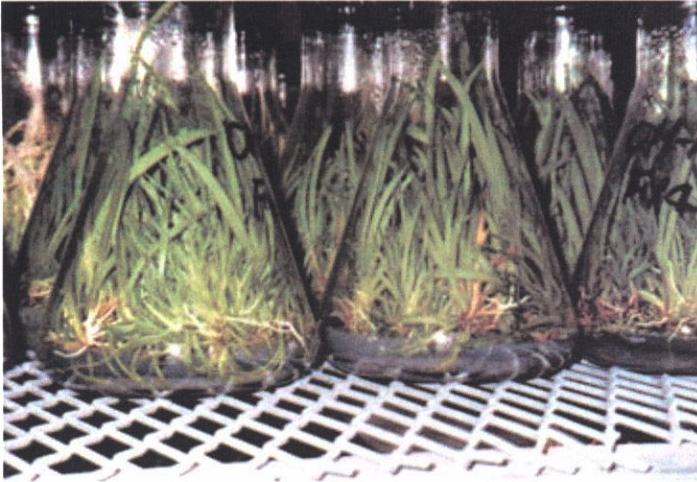


図 9 出荷前のメリクロン苗

従来の方法において、最も労力を要するのが、移植作業である。図 8(a)は、培地で培養した苗を一旦、容器から取り出して、分割している様子である。また、図 8(b)は、新しい培地に苗同士の間隔を空けて移植しているところである。ランの苗は、図 9のようにフラスコに入った状態で生産農家に販売されるのだが、出荷前の最後の移植において、苗はその生長を揃えるために、大きさ別に選別され、同数ずつフラスコに移植される。これは、無菌培養された苗は、各個体によってその生長の度合いが大きく異なるためである。鉢上げの際の移植は、苗がかなり大きくなってから、しかも有菌状態で行われるためそれほど重労働とはいえない。しかし、プロトコームの移植や小さな幼苗の継代はクリーンベンチのような無菌状態で行わなければならない、熟練者にとっても神経を要する大変な仕事である。そこで、この二つの作業を自動化するシステムを提案する。

図 10に本研究で提案する、ラン実生苗の育苗工程を自動化するシステムの概要を示す。岡本ら(1993)は寒天培地に播種されたシランのプロトコームを移植するロボットを開発した。この研究では、ランのプロトコームは間隔を空けて移植された。幼苗は、成苗として出荷されるまで、複数の移植を必要とする。これは先述したとおり、ランの苗が寒天培地の栄養を吸収することで、培地の栄養分が枯渇するためと、苗が生長するためより広いスペースを必要とするためである。手作業で行われる分割・移植作業には以下の作業が必要である。

- (a)培養容器からの苗の取り出し
- (b)苗の分離
- (c)苗の形状と大きさに基づいた選別
- (d)正常な生長を行っていない苗の破棄
- (e)新しい培地への大きさ別の移植

上記の作業のうち、(b)の苗の分離は、苗が狭い培養容器で育てられて密集していることから必要とされる。本研究では、苗があらかじめプロトコーム移植ロボットによって間隔を空けて移植されていることを想定し、個別の苗の培地中での方向と位置を検出することと、実際にロボットを用いて取り出すこと、取り出した苗を自動的に選別すること、新しい培地に移植することを目的とする。無菌培養されたランの苗は、その生長が個体によって大きく異なる。そこで、最終製品の生長を揃えるために培養段階での選別が不可欠である。しかし、小さな苗の大量の選別作業は大変煩雑である。重量や、葉の長さなどの決まった基準はなく、作業者の勘と経験に任されている。この作業を自動化すれば、選別を客観的にかつ高速に行うことが可能である。さらに、移植作業も自動的に行う事ができれば、省力化や低コスト化、高品質化に貢献できると予想される。

本論文の第2章では、移植ロボットシステムの開発について、第3章では、自動選別アルゴリズムの開発について述べる。

従来は培養容器にフラスコが用いられてきた。しかし、フラスコは入り口が狭く、機械化に適しているとは言えない。そこで、機械化をする際には、もっと入り口が広く、一つの容器にたくさんの苗が入るものが望ましい。大量苗生産の方法としてフィルムをガラスやプラスチックの代わりに培養容器の素材に用いた研究例がある(Tanaka et al., 1992)。これにより、培養容器の大きさを柔軟に変えることが可能になる。また、CO<sub>2</sub>を培養器内に取り入れることによって、有菌状態での培養が可能になり、大きな培養容器を使用する事ができる(古在, 1999)。

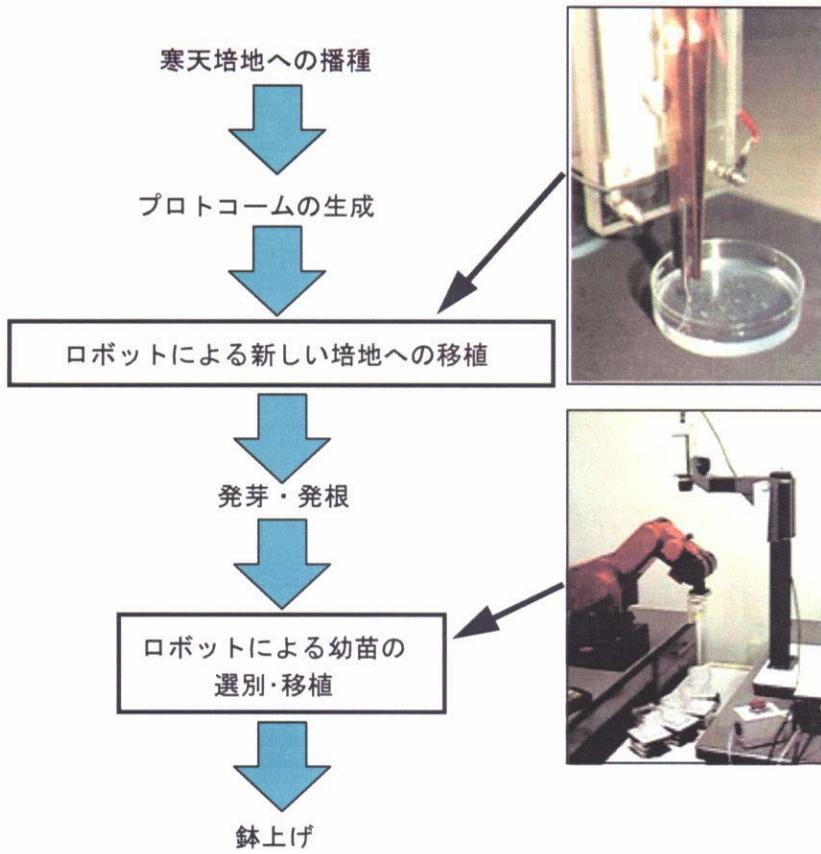


図 10 ロボットを用いた実生繁殖法

## 第2項 サトウキビ組織培養苗の自動株分け及び自動選別システムの開発

世界的に見ると、サトウキビは大変重要な農産物の一つである。その収穫物は、砂糖の原料となるのみではなく、アルコールやその他の化学製品の原料として用いられている。ブラジルにおいてはサトウキビから生産されたエチルアルコールが自動車の燃料に使用されている(農畜産業振興事業団企画情報部, 2001)。また、その絞りかすであるバガスは、高いカロリーを有するバイオマス燃料である。製糖工場では、このバガスを燃焼させることで、工場全体の電力をすべて賄っているばかりか、余剰電力を売電している。また、フィルターケーキと混ぜて有機肥料としても使われている。近年では、そのバガスを炭化させて、畑に還元することで、大気中の CO<sub>2</sub> の固定を行う研究もおこなわれている(上野ら, 2001)。

日本における砂糖の生産量は、世界の総生産のわずか 0.13% である(FAOSTAT, 2002)。これは、鹿児島県や沖縄県等の南方の島々等の、日本のわずかな地域においてのみその栽培が行われているためである。しかしながらそこに住む人々にとって、サトウキビ生産と、製糖業は、農業と工業が結合した重要な産業であり、地域経済に計り知れない恩恵を施している(松元, 2001)。過去 10 年間にわたって、鹿児島県におけるサトウキビの収穫面積は減少しており、工場の規模に見合った原料の確保が困難となっている。そのため徳之島においてはいくつかの工場が閉鎖に追い込まれている。その原因は、担い手の高齢化や、離農の他、高収益作物への作付け転換、機械化の遅れによるものである。このような状況の中、安価な種苗を大量に供給できる新しい種苗生産技術の開発が試みられている。その一つはメリクロン技術を利用した方法である(照屋ら, 1999a)。この技術は鹿児島県の南西糖業株式会社を中心として開発が行われている(田場ら, 1998)。また、沖縄県においては、側枝苗による大量育苗システムの実用化が進められている(入嵩西ら, 1998)。側枝苗とは、サトウキビの梢頭部を切断した蔗茎を水耕培地に挿し、節から発生した側枝を苗として用いる技術である。

サトウキビは、アグロノミッククロップス(以下 AC)の中で唯一、商業的に組織培養が行われている作物である(Redenburgh, 1991)。これはすなわち、米や小麦、大麦など

多くの AC が種子繁殖している一方で、サトウキビは、もともと栄養繁殖を行っているためである。その為、組織培養の技術が適用しやすいことがその理由として挙げられる。

サトウキビは、イネ科に属する多年生草本で、ジャガイモやサツマイモのように栄養器官で繁殖をする。通常は、二節苗と呼ばれる、成熟した茎を二節ずつ切ったものを畑に直接植え付けて栄養繁殖させる(宮里, 1986a)。種子繁殖は交配育種の際に用いる以外は滅多に行われぬ。しかし栄養繁殖では、ウイルスに感染する確率が高く、収量を下げる原因となる(Redenburgh, 1991)。一方、組織培養によって育苗された苗を採苗用に用いると、従来の二節苗と比較して、大量かつ良質の二節苗を得る事ができる。サトウキビの組織培養苗は直接製糖の原料としては用いられず、圃場で栽培され、そこから得られる二節苗を種苗として用いることとしている。組織培養によって得られた種苗の特徴は、従来の苗に比べて発芽率が高く、分けつが旺盛であり、生育が良好なことである。このことにより、種苗確保面積を最大で35%まで縮小することが可能であり、その分収穫面積を拡大することが期待できる(田場ら, 1998)。また単位面積あたりの収量は20%程度増加することが報告されている(照屋ら, 1999b)。もう一つのメリットは、組織培養を用いると繁殖効率が高いため、新品種の素早い普及が可能になることである。

サトウキビは製糖の原料として用いられる工芸作物なので、その単価は非常に低い。また、慣行の二節苗が4円/本であるのに対し、組織培養苗は1本65円と大変高価である(沖縄農業試験所 経営研究室, 2000)。徳之島においては、2000年度から組織培養苗の販売が始まりその売上は順調に伸びている(1999年115,200本, 2000年156,722本, 2001年169,266本)。だが、現在の価格は組織培養苗の生産者側に利益が全く出ないものである。サトウキビの組織培養苗の生産を地域の新しいビジネスとして定着させ、徳之島だけではなく、周辺の島々にも今後一層の普及を図るためには、大量生産方法の開発及び、それに伴う生産コストの低減が不可欠である。

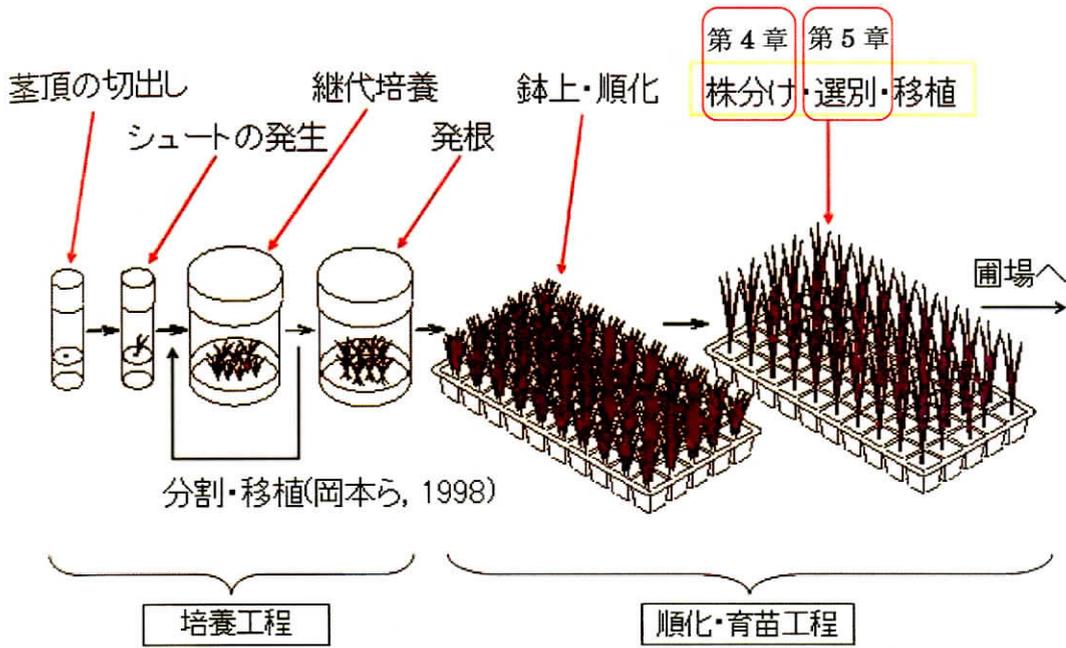


図 11 サトウキビ培養苗生産の自動化

図 11に生産工程を簡単に示す。サトウキビの苗条は、苗条の根元での分けつによって水平方向に増殖する。手作業で分割、移植を行う場合、苗条の塊を適当な大きさに切り分けて新しい培地に移植する。この作業は、苗条が希望の数になるまで繰り返される。通常、1つの茎頂から2000本の苗条が生産される。岡本ら(1998)は、この作業を自動化するロボットシステムを開発した。希望の本数まで増殖された苗条は発根培地で発根し、その後培養土に移植され温室で育苗される。2ヶ月ほどの順化を受けた苗条は、株分けされて大きさ別に選別される。数が多く、繊細な作業の必要な株分け作業は、自動化が望まれている。この作業を自動化することによって、培養工程と育苗工程の両方において最も人手がかかっている箇所を機械に置き換えることができ、コストダウンが期待できる。株分けと言う作業は、サトウキビだけに限った作業ではない。およそ、全ての組織培養される植物は鉢植えのような最終製品となるまでに必ず、行わなければならない作業である。しかしながら複雑に絡み合った小さな植物体の分離を自動化することは困難であり、これまでに研究例はあまり見られない。特に、根が張っていて強固に接合した苗条の分離に関する研究例は無い。本論文では、サトウキビの苗の単価が低いことを踏まえ、できるだけ高度な判断を必要とせず、

連続的に苗の株分けを行うことが可能な、ロバスト性の高いロボットシステムを構築することを目的とする。これは、人間が実際に株分けを行う際、視覚情報よりもむしろ株分けを行っている指の感覚に重きを置いている点に注目したためである。一方株分け後の選別については、苗条の形状特徴量が重視されるため、マシンビジョンによる生長度の計測を行う。第4章で、株分けシステムについて、第5章で選別アルゴリズムについて述べる。