

5. ケミカルシグナルを利用した大量発生予測手法開発

北村誠（沖縄県環境科学センター）

5-1. 背景

オニヒトデの初期生活史における「浮遊後期幼生（後期ブラキオラリア）から稚ヒトデへの着生現象」と「サンゴモ食期からサンゴ食期へ食性が変化する稚ヒトデの摂餌行動」に着目し、それぞれの現象を司る化学物質（着生誘引物質・摂餌行動刺激物質）の探索研究と、それら化学物質を用いた幼生・稚ヒトデトラップを開発し、将来のオニヒトデ大量発生予察手法としての利用を検討する。本年度の具体的な研究課題は、以下の3つである。

5-1-1. 後期ブラキオラリアの着生誘引物質の同定と探索

平成28年度質量分析結果から分子式の推定及び化合物ライブラリー検索を行った結果、5つの候補物質（ジゴキシゲニン、メバスタチン、ラタノプロスト酸、ピロフェオフィチンa、クロロフィルa）を決定し着生誘引試験を行った。しかし、どの候補物質も着生誘引活性を示さなかった。活性物質が微量であったため、質量分析結果から正確な分子量を導き出せなかったことが原因と考えている。そこで、着生誘引物質の量的供給を確保するため沖縄県北谷町砂辺（宮城海岸）沖でサンゴモを採集し、そのアルコール抽出、分離精製を行っている。

5-1-2. 稚ヒトデ（体長15mm～50mm）の摂餌行動刺激物質の探索

恩納村漁協提供養殖サンゴ（22.2kg）を使って、高濃度サンゴ抽出物を得た。これら抽出物質を用いてトラップ試験方法によって稚ヒトデの摂餌行動刺激誘引試験を行ったが、その誘引率（トラップ捕獲率）は満足するものではなかった。サンプル濃度の調整、稚ヒトデの栄養状態の向上など試みたが、誘引率は改善されなかった。そこで、トラップを用いず摂餌行動だけに着目した新たな室内試験方法の構築を行った。

5-1-3. 稚ヒトデの野外トラップ試験

砂辺沿岸における試験区で、約2ヶ月間で6個体のサンゴ食期稚オニヒトデの捕獲に成功した。

5-2. 方法

5-2-1. 着生誘引物質の同定

着生誘引活性を示す候補物質決定は以下の機器または方法を用いた。

- ・分子量：四重極飛行時間型質量分析計（Waters社、Xevo G2-XS QToF）
- ・分子式：MFSearcher（GUI 1.5.3）
- ・化合物ライブラリーからの検索：主にPubChem

これらの方法によって3つの購入可能な候補物質（ジゴキシゲニン、メバスタチン、ラタノプロスト酸）が決定し、以下に示す試験方法によりその物質が着生誘引するかを確認した。さらに、

購入不可能な候補物質（ピロフェオフィチン a）は、遠藤ら¹⁾が報告する方法にしたがって、エキストラバージンオリーブ油から抽出したものをを用いた。また、クロロフィル a は候補物質のピロフェオフィチン a の前駆物質として着目し、その着生誘引を試験した。

<着生誘引試験方法>

- ・試験水・水量・容器：人口海水・10mL・6穴プレート
- ・供試体：後期ブラキオラリア 5 個体/1 穴
- ・試料：6穴プレートに試料を添加し、真空ポンプで溶媒を蒸発させる。その後、10mLの人口海水を入れ、さらに幼生を添加する。
- ・試験時間：3日間（1日ごとに観察）
- ・活性評価：24時間経過後、幼生上部が体縮し、基盤のみとなる（着底板によってプレートに付着）。48時間経過後、管足が観察される。これら着生現象は、幼生の飼育状況によっても変化するので最低3日間は、観察を続けることとする。

5-2-2. 稚ヒトデ（体長 15mm~50mm）の摂餌行動刺激物質の探索

摂餌行動刺激物質探索のための活性試験方法を3つ示す。前年度報告のトラップを用いた方法を「トラップ試験方法（従来法）」とし、新たに「滴下試験方法」と「I字試験方法」を追加した。詳細は以下に示す。これら試験の誘引率を指標に恩納村漁協提供養殖サンゴ（22.2kg）を分離した。

（1）トラップ試験方法（従来）

試験に用いるトラップは、トラップ内部に生きたサンゴや寒天に溶かしたサンゴ抽出物質を添加したもの、また、コントロールとして空または寒天だけを添加したものを調整する。ランダムに稚ヒトデを配置した20L水槽に調整した各トラップを沈め試験開始とする。

十時間後にトラップ内に捕獲された稚ヒトデを数え誘引率を算出する。また、赤外線ビデオによる観察も行う（図3-5-1）。

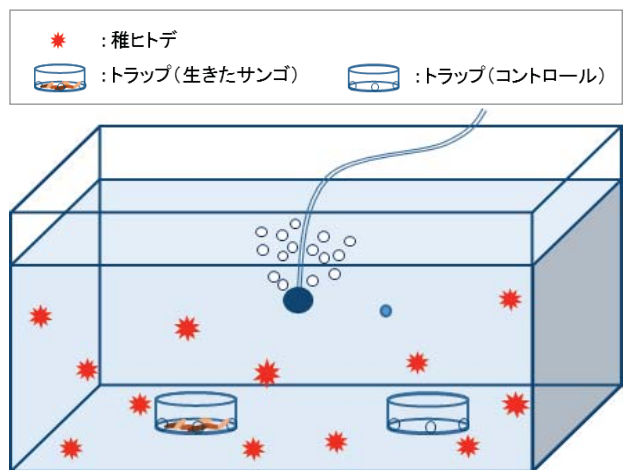


図3-5-1. トラップ試験の模式図.

(2) 滴下試験方法 (新規)

プラスチック容器(プラ船、縦×横×水深：500×340×40mm、海水容量：6.8L)の短辺側の2角から、それぞれサンゴ飼育海水とコントロール海水を滴下する(5~50mL/min)。稚ヒトデ(15個体)を対極の短辺に並べ試験を開始する。稚ヒトデの誘引活性は、動いた方向と距離によって評価するため、区分を4分割し経時ごとの稚ヒトデの位置を記録する(図3-5-2)。

滴下した海水に摂餌行動刺激物質が含まれていた場合、稚ヒトデは滴下している角(区分A)に誘引される。試験終了時間は120分とする。

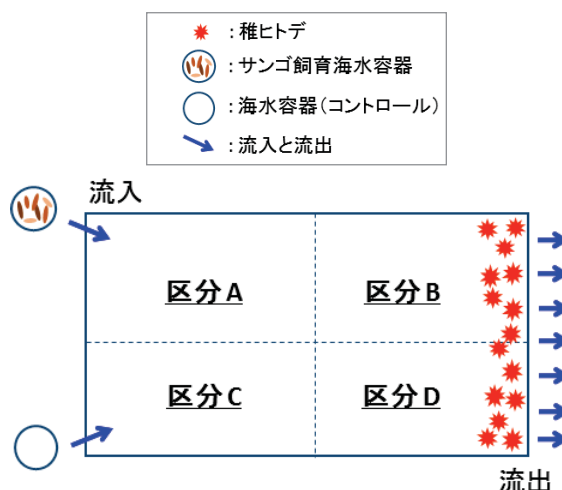


図3-5-2. 滴下試験の模式図.

(3) I字試験方法 (新規)

アクリル容器(縦×横×水深：600×100×10mm、海水容量：0.6L)の片側に生きたサンゴ片を設置する。同側から海水を流し(375 mL/min)、アクリル容器に一定の水流を与える。稚ヒトデ(3~5個体)は、流入側から40cmの距離に並べ試験を開始する(図3-5-3)。稚ヒトデの行動観察は、試験開始から10minごとに流入側からの距離を記録し30minを試験終了時間とする。また試験装置は、経時観察を除き遮光アクリル板(全光線透過率19%)で覆い遮光する。

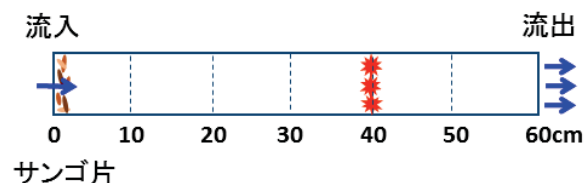


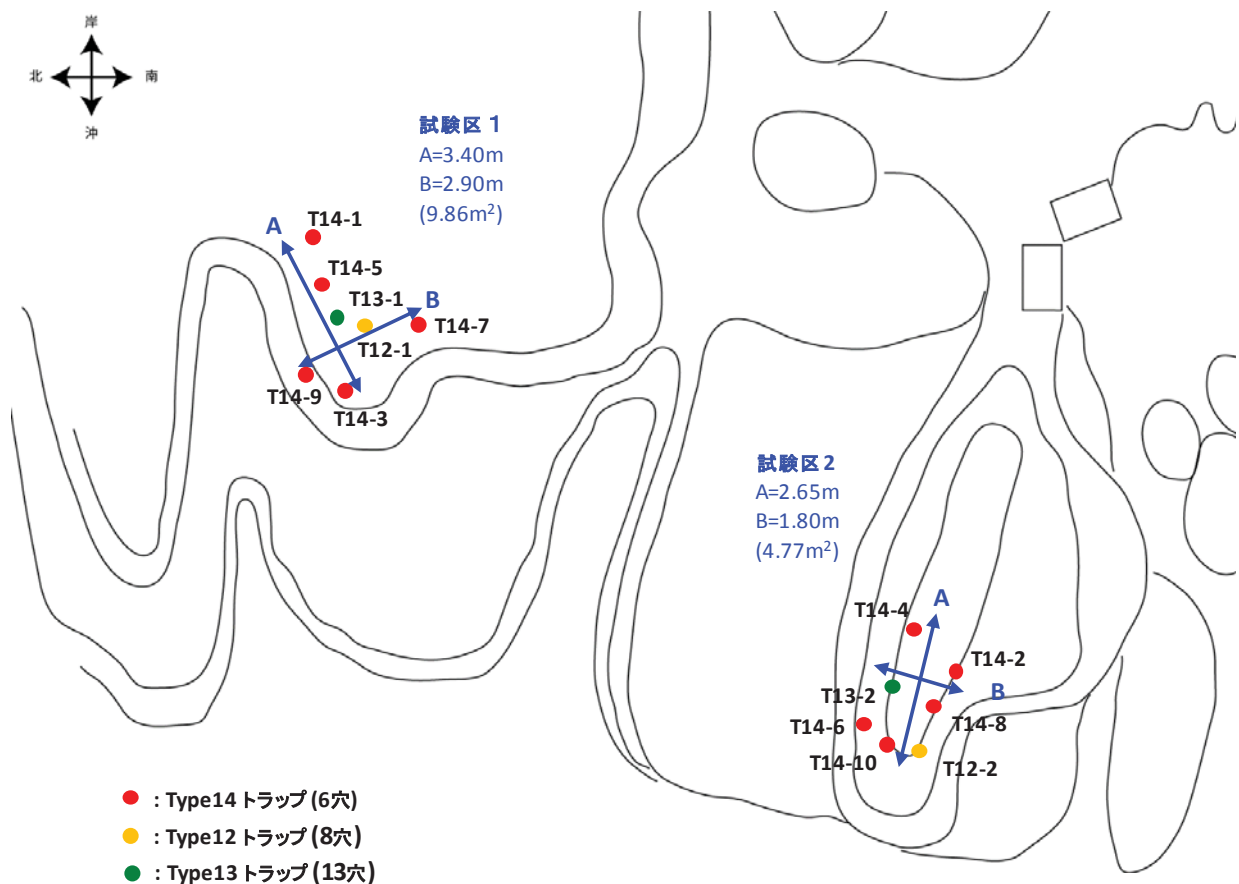
図3-5-3. I字試験の模式図.

5-2-3 稚ヒトデの野外トラップ試験

各試験に用いたトラップの構造及び特徴を表3-5-1に示す。また、トラップ設置地点及び試験条件を図3-5-4に示す。

表3-5-1. トラップの構造及び特徴.

名称	直径・高さ(mm)	形状	トラップ素材(蓋素材)	入口部構造(入口穴の個数)	側面穴(個数)
type14	90・36	丸型	透明アクリル(黒塗りポリスチレン)	テーパー付き入口(6), 3mm穴(66)付き導入部	中間3mm穴(>42), 下部2mm穴(>42)
type12	90・36	丸型	透明アクリル(黒塗りポリスチレン)	テーパー付き入口(8), 3mm穴(88)付き導入部	中間3mm穴(>56), 下部2mm穴(>56)
type13	175・40	丸型	半透明ポリプロピレン	フラット入口(13)	中間3mm穴(>120)



試験地点：沖縄県北谷町砂辺

試験期間：平成 29 年 5 月 26 日～7 月 27 日

水深：5.1～6.6m（試験区 1），7.9～8.7m（試験区 2）

誘引剤：生きたエダコモンサンゴ

観察及び誘引剤の入替え頻度：2 回/1 週間，1 回/1～2 週間

図 3-5-4. トラップ設置地点及び試験条件.

稚ヒトデトラップ設置区は、平成 28 年度（11/30、12/1）稚ヒトデ食痕調査で、その食痕数が比較的多かった地点付近を選択した。但し、稚ヒトデトラップ設置時は、平成 28 年度稚ヒトデ食痕調査時より、ヒトデの成長が進んでおり、11/30 や 12/1 に観察されたような密集食痕（10 個程度の食痕が半径 10cm 以内に密集している）は観察されていない。各トラップの設置は、稚ヒトデの密集食痕付近ではなく、トラップの座りのよい比較的平面な岩礁面を探し、そこに設置した。

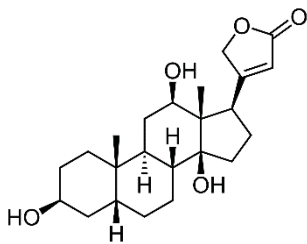
トラップは、設置後破損しない限り試験期間中、同位置に設置し続けた。観察時は、死亡したサンゴ片をピンセット等で取除き、新しいサンゴ片に取り替えた。また、サンゴ入替え時は全サンゴ片を新しいサンゴ片と入れ替えた。

5-3. 結果及び考察

5-3-1. 後期ブラキオウリアの着生誘引物質の探索と同定

質量分析結果から、それぞれの候補物質の分子式を MFSearcher を用いて決定した。すべての検索結果を別表 1 及び 2 に示す。その中から購入可能な候補物質として以下の i~iii) の化合物を決定した。iv) は購入できなかったためオリーブ油から抽出したものをを用いた。また iv) の前駆物質としてクロロフィル a (v) も選択した。以下、候補物質の詳細を以下に示す。

i) ジゴキシゲニン (Digoxigenin)

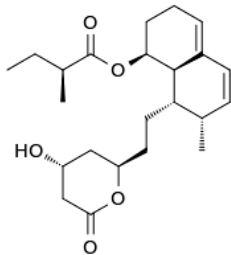


ジギタリス属の植物 *Digitalis orientalis* や *Digitalis lanata* の花や葉に存在するステロイド。

分子式：C₂₃H₃₄O₅

分子量：390.51

ii) メバスタチン (Mevastatin)

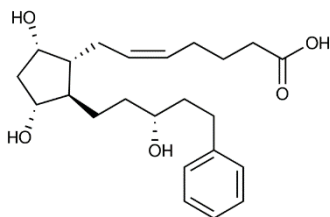


アオカビ *Penicillium citrinum* から単離された化合物。脂質降下作用、抗菌作用が知られている。

分子式：C₂₃H₃₄O₅

分子量：390.51

iii) ラタノプロスト酸 (Latanoprost acid)

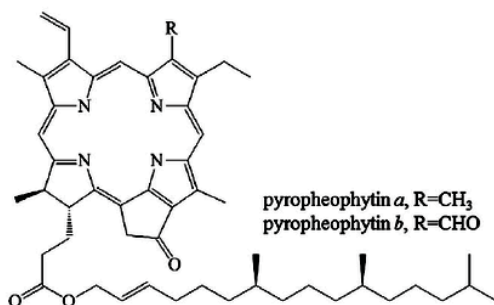


プロスタグランジン誘導体であるラタノプロスト（緑内障・高眼圧症の治療薬）の活性化体。

分子式：C₂₃H₃₄O₅

分子量：390.51

iv) ピロフェオフィチン a (Pyropheophytin a)



クロロフィル a の分解過程で、脱メトキシカルボン酸化された化合物がピロクロロフィル a。さらに脱マグネシウムイオン化された化合物がこのピロフェオフィチン a。

分子式：C₅₃H₇₂N₄O₃

分子量：812.6

v) クロロフィル a (Chlorophyll a)

これら化合物 i~v) の着生誘引試験結果を表 3-5-2 に示す。

表 3-5-2. 候補物質による着生誘引試験結果

	化合物名(濃度)	調整溶媒	添加量 (μL)	添加濃度 (M)	個体数*	観察結果		
						1day	2days	3days
i)	ジゴキシゲニン (10^{-3}M)	MeOH	10	10^{-6}	5	変化なし:5	変化なし:5	変化なし:5
ii)	メバスタチン (10^{-3}M)	MeOH	10	10^{-6}	5	変化なし:5	変化なし:5	変化なし:5
iii)	ラタノプロスト酸 (10^{-3}M)	DMSO	10	10^{-6}	5	変化なし:5	変化なし:5	変化なし:5
iv)	オリーブ油抽出物【ピロフェオフィチン a】 (濃度不明)	DMF	20	不明	5	上部体縮:5	死亡:5	
v)	クロロフィル a (10^{-3}M)	Acetone	10	10^{-6}	5	変化なし:5	変化なし:5	変化なし:5

* : 中後期ブラキオラリア(15日歳)

表 3-5-2 からいずれの候補物質も、オニヒトデ中後期ブラキオラリア幼生を稚ヒトデに誘引する効果は観察されなかった。オリーブ油抽出物には、幼生に対して毒性活性が現われたため、さらに抽出物添加量を 1/2、1/3、1/10、1/50 量に調整し試験した。その結果、1/3 量の濃度までは幼生に対する毒性が現われ、それ以下の濃度 (1/10、1/50 量) では、幼生になんの変化も与えなかった。

今回の MFSearcher による分子式の絞込みは、高分解能質量分析計による分析値のばらつきが大きく分子式の絞込みが大変困難であった。別表 1 及び 2 のように分子量マージンを $m/z = \pm 0.010$ とすると、Inducer B (1) では、25 通り、Inducer B (2) で 50 通りの分子式が考えられる結果となった。分析値のばらつきが小さく、分子量マージンを $m/z = \pm 0.002$ まで押さえれば、Inducer B (1) で 5 通り、Inducer B (2) で 10 通りの分子式となり、かなりの絞りこみが可能となる。これら高分解能質量分析値のばらつきは、測定するサンプル量に依存するため、活性物質の量的確保は今後の課題となる。NMR 測定には、質量分析よりさらに多くの量が必要となる。

活性物質の量を確保するため、現在まで行ったコブイシモ抽出物の分離過程の予備サンプル (各段階で約 1/10 量ずつ残っている) をすべて混合し、着生誘引試験を指標に再分離・精製した。その結果 4 つの分画に着生誘引活性が現われた。それら各 HPLC ピークの積分値 (254nm の吸光度) は、以前の活性物質 (Inducer A 及び B) 積分値の 500 倍程度大きいものであった。現在、これら各分画をさらに分離・精製している。

また更なる着生誘引物質の量的確保のため、沖縄県北谷町砂辺 (宮城海岸) 沖でミナマイシモ *Lithophyllum kotschyannum* (図 3-5-5) を 44kg 採取した。約 2 ヶ月間エタノールによる抽出を行い粗抽出物を得た。これら粗抽出物の分離・精製も行っていく予定である。



図 3-5-5. ミナマイシモ、砂辺沖(水深 2m).

5-3-2. 稚ヒトデ（体長 15mm~50mm）の摂餌行動刺激物質の探索

恩納村漁協提供養殖サンゴ（22.2kg）のエタノール抽出物をトラップ試験方法の誘引率を指標に分離を行った。分離スキームと各分画の摂餌行動刺激誘引率を図 3-5-6 に示す。

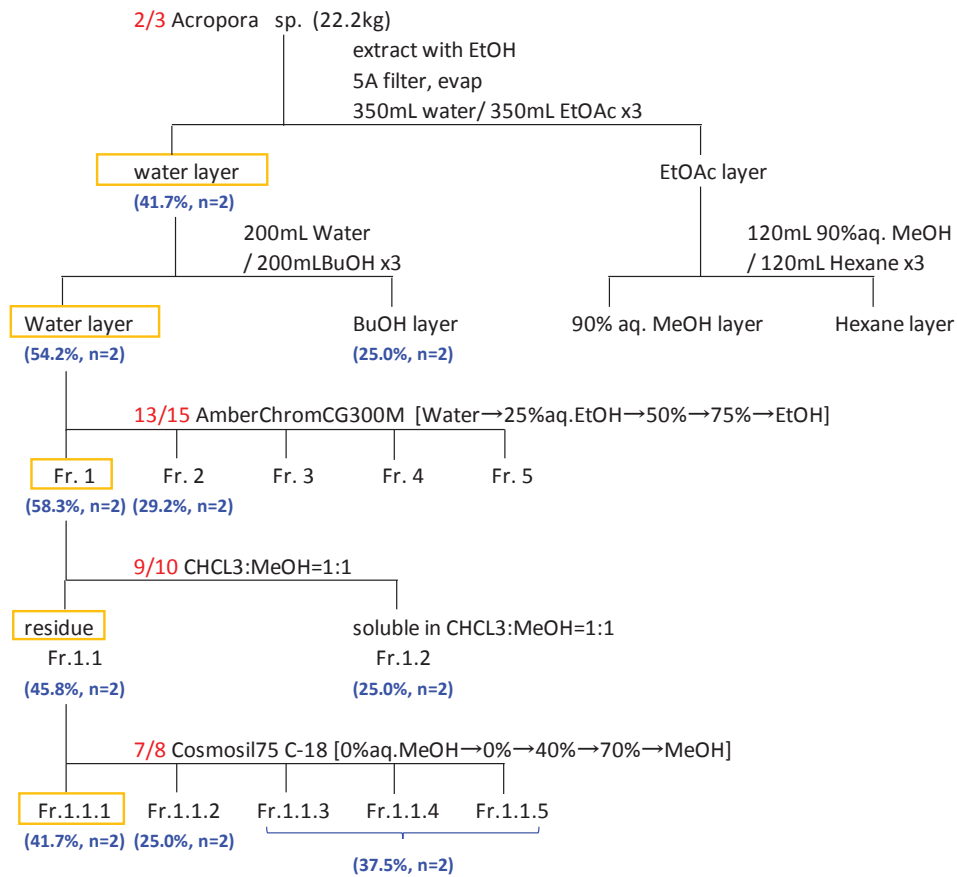
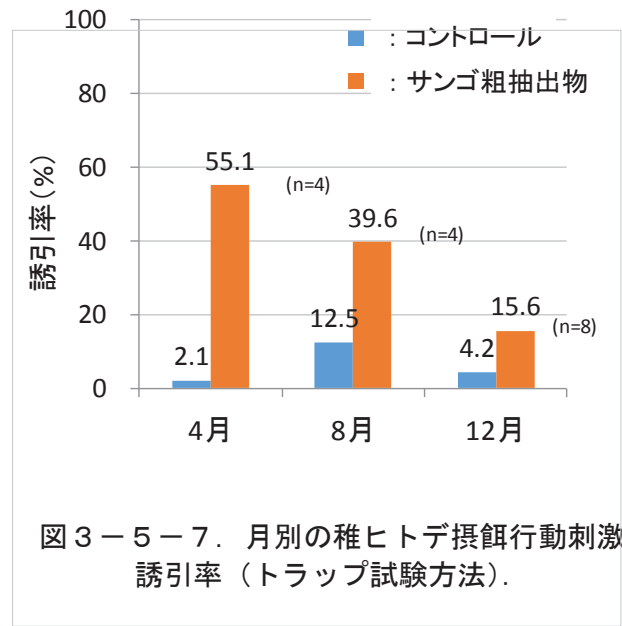


図 3-5-6. ミドリイシサンゴの分離スキームと各分画の摂餌行動刺激誘引率.

図 3-5-6 から判るように、どの分離段階においても誘引活性が一つの分画に局在することがない。化学的手法を用いた分離では、一番活性の強い分画を用いて次の分離を行うのが一般的であり、本研究の分離・精製もそれに従った。しかし、水・ブタノール分配、CG300M カラム、クロロホルム：メタノール（1：1）可溶化、ODS（C-18）カラムのいずれの分離方法でも、主活性分画（図 3-5-6 中 黄色枠）以外の分画に 20%以上の誘引率が観察されている（寒天だけを用いたネガティブコントロールの平均誘引率は 10.4% (n=10)）。これら結果から、稚ヒトデの摂餌行動には複数の誘引物質の関与が示唆される（平成 29 年 4 月までのトラップ試験結果）。

次に、トラップ試験方法を用いた月別の稚ヒトデ摂餌行動刺激誘引率を図3-5-7に示す。トラップ内の誘引物質は、すべて同じサンゴ粗抽出物質を用いているが、試験期間によって大きくサンゴ粗抽出物への稚ヒトデ誘引率が異なる結果となった。活性試験に用いた稚ヒトデは主に平成29年3月～5月に採取された個体を用いており、室内水槽で飼育される期間が長いほど稚ヒトデのサンゴ抽出物に対する誘引率が低下している。



これら8月や12月の低い誘引率は、粗抽出物質の寒天濃度を10から1000 μ L/2mL agarに調節しても改善されなかった。さらに高濃度な粗抽出物添加は、寒天への溶解性、試験海水の強い臭気等の理由で行わなかった (粗抽出物1000 μ L=生きたサンゴ重量11.1g)。

また室内飼育個体は、野外個体と比べ栄養状態が悪いと考え、12月に3週間生きたサンゴを切らすことなく室内飼育個体に与えた (通常は、2~3日で食べつくす量の生きたサンゴを毎週1回のペースで摂餌させる)。しかし、それら個体をトラップ試験に用いても、良好な誘引率の結果を得ることができなかった。

そこで新たな誘引試験として、稚ヒトデの入った容器にサンゴ飼育海水を直接滴下させる非常に単純な試験方法を検討した (滴下試験方法)。予備試験として、容器の水深 (試験海水量)、サンゴの重量 (誘引物質量)、サンゴ飼育海水の滴下速度などの条件を変化させた。その結果、試験海水容量6.8L (水深40mm)、生きたサンゴ約20g、サンゴ飼育海水滴下速度50mL/minの条件下で、16個体中9個体の稚ヒトデが、飼育海水滴下の直下に密に集まる現象が確認できた (試験開始25min経過後、区分A:10個体、B:3、C:2、D:1)。

表3-5-3. 滴下試験結果 (繰返し4回). (個体数)

経過時間 (min)	稚ヒトデの移動先			
	区分A	区分B	区分C	区分D
0	0.0	7.5	0.0	7.5
60	3.8	5.5	1.5	4.3
120	4.5	5.0	2.3	3.3

その後、この誘引現象を再現するため、ほぼ同条件で本試験を行った。しかし、予備試験時に観察されたような短時間で、強い誘引活性は現われなかった (表3-5-3参照)。

滴下試験方法の予備試験時に現われた、短時間での強い誘引活性は、さらに減量した試験海水容量と明確な濃度勾配によって再現できると考え「I字試験方法」に着手した。I字試験方法で作製したアクリル容器は、滴下試験方法の海水容量のほぼ1/10となるように設計した。また、明瞭な濃度勾配をつけるため、生きたサンゴは試験容器に直接投入した（図3-5-8）。

14個体（A～N）の稚ヒトデを用いて試験した結果、9個体が20分以内に生きたサンゴにたどり着いた。2個体は30min経過後もほぼ移動せず、また3個体は生きたサンゴから逆の方向へ進行した（図3-5-9）。

今後さらに、流入海水量、生きたサンゴ重量等の検討を加え、より詳細な誘引率の判定が可能な試験の構築を行う。

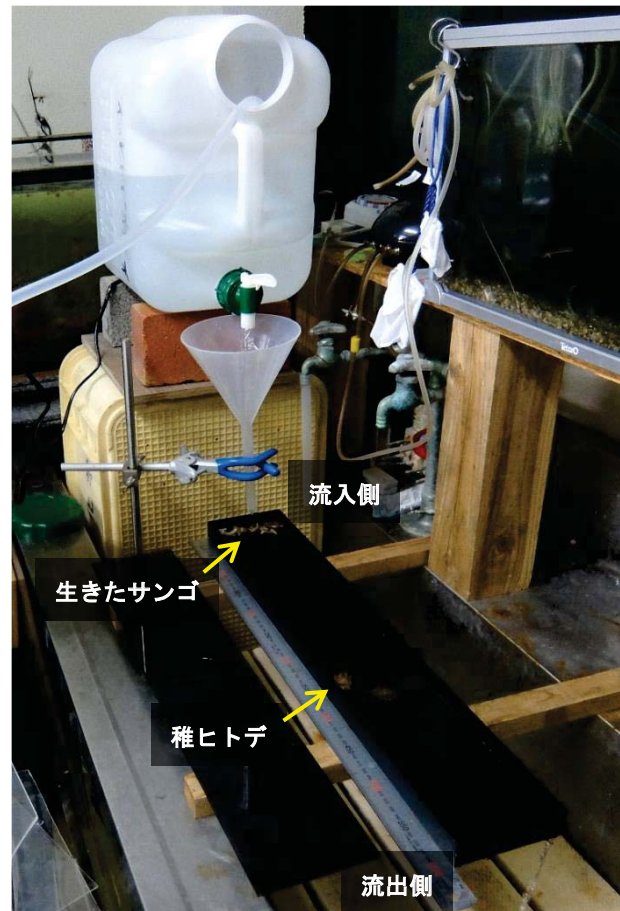


図3-5-8. I字試験装置.

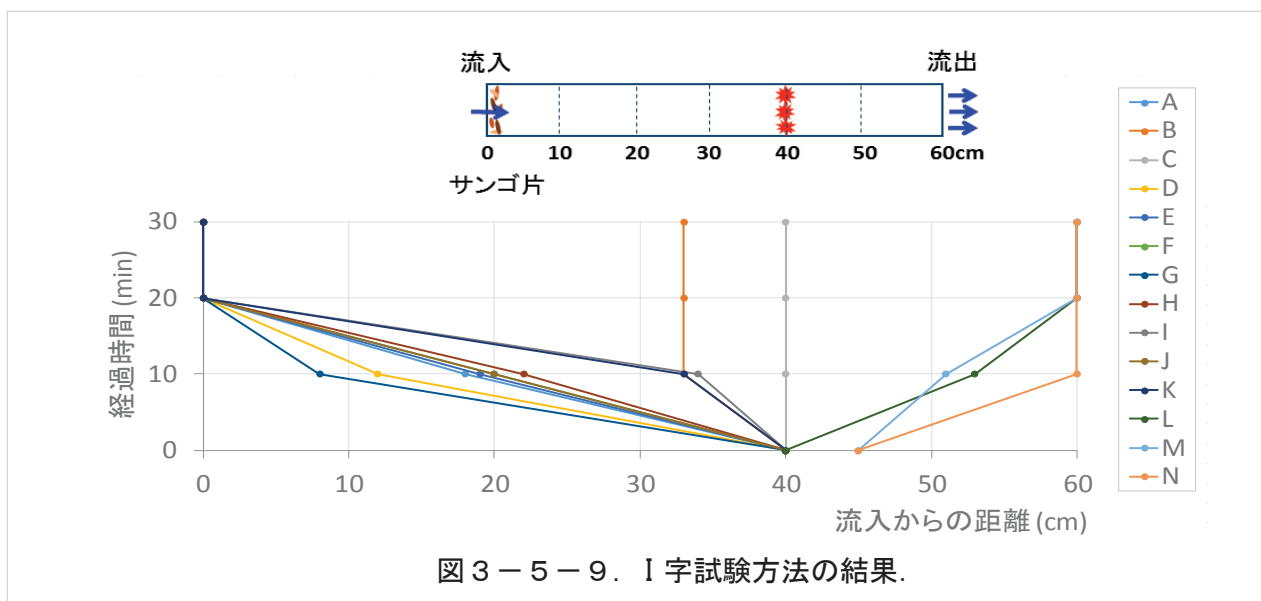
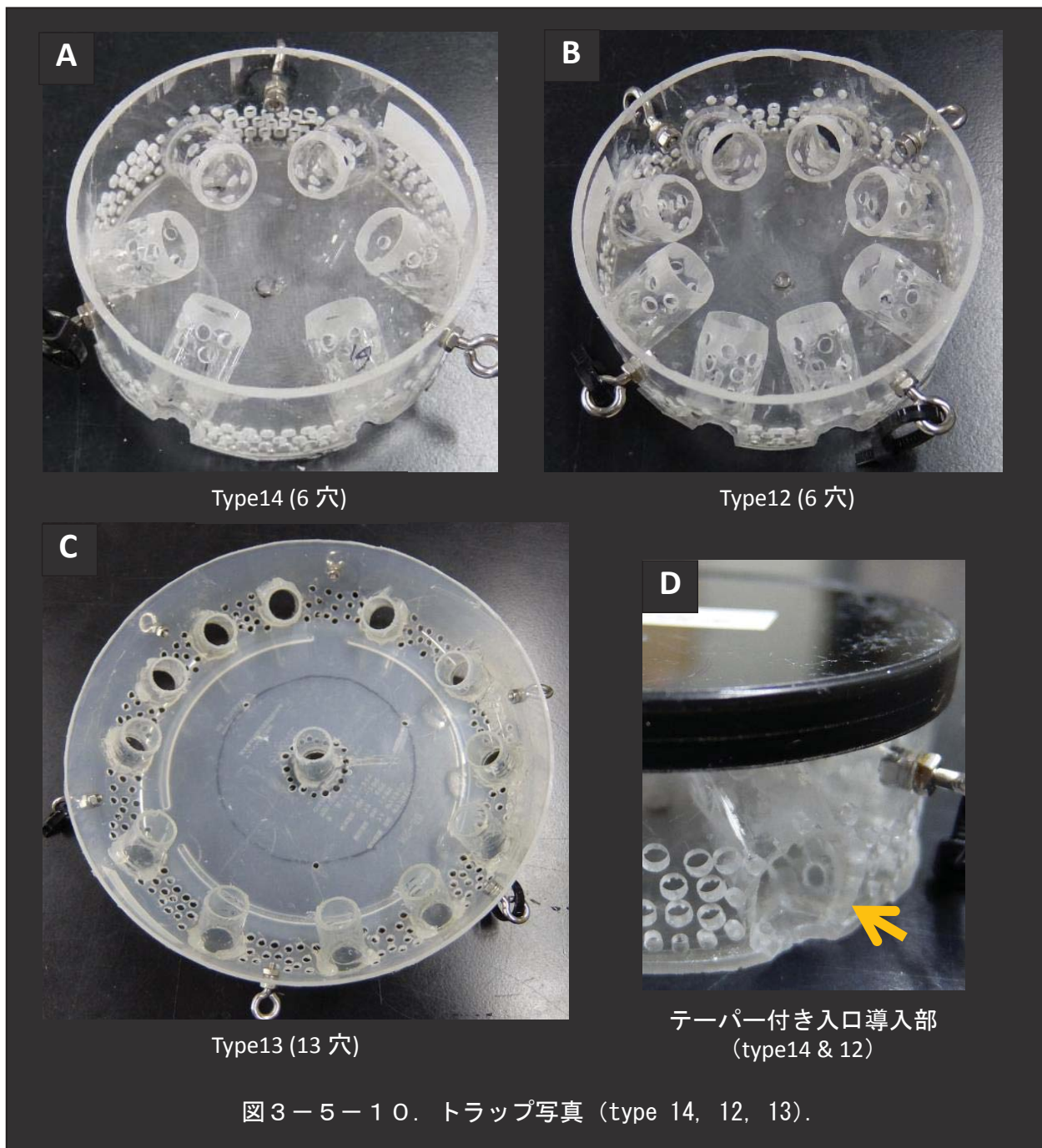


図3-5-9. I字試験方法の結果.

5-3-3. 稚ヒトデの野外トラップ試験

本年度は、平成28年度で得た知見をもとに、まずトラップ形状の検討を行った。トラップのデッドスペースを低減させる意味で、直径90mm（アクリル）の小型トラップを基本形の大きさとした。また、トラップ内と外における濃度勾配の重要性から、トラップ素材にメッシュを用いず、2mm厚のアクリル素材に直接穴を空け内部誘引物質の拡散を促した。またさらに物質拡散力を向上させるため、トラップ入口導入部を3個から6個（type14）と8個（Type12）に増加させたものをそれぞれ作製した（図3-5-10A, B）。基本形とは別に、多くの生きたサンゴを収容できるType13も参考のため作製した。Type13は、昨年度と同直径のトラップに比べ高さを1/3にし、トラップ内デッドスペースを低減させる工夫をした（図3-5-10C）。



当初誘引剤として恩納村漁協提供の養殖ウスエダミドリイシを使用する予定であった。しかし予備的な野外試験を行ったところ、長さ 5mm 以下に切断したウスエダミドリイシは、小型トラップ (type14, 12) 内で1週間以内にほとんど死亡することが観察された。これは、細かい切断と流量が少ないトラップ内環境の2つのストレスが原因と考えている。切断に強く、流れが停滞した環境にも強い造礁サンゴとしてエダコモンサンゴに着目し、予備試験を行った。その結果、トラップ設置後1週間程度ならほとんど白化も起こらないことが観察され、野外試験の誘引剤に決定した。コモンサンゴ属もミドリイシ属と同様、オニヒトデの嗜好性が高い造礁サンゴとして報告されている^{2,3)}。

次に type14 トラップを用いて、誘引剤 (生きたコモンサンゴ) の量と摂餌行動誘引率の関係を室内試験で確かめた (トラップ試験方法)。誘引剤を 20g 添加した場合の誘引活性率は 55.6% (n=3) と良好であった。さらに添加剤を 50g 添加した場合、誘引活性率は 60.4% (n=4) と上昇する。しかし、50g の切断されたコモンサンゴは、小型トラップで約 1/3 の体積を占める。したがって、これらかさ高いサンゴを足掛かりとして、一度捕獲された稚ヒトデがトラップから脱出する現象がビデオに観察された。よって野外における誘引剤は、20g 前後と決定した。

またビデオ観察により、直径 40mm を超える稚ヒトデがトラップ入口部まで誘引されながら、トラップ内に誘導されない現象が確認された。まるで管足で入口導入部直径を測って、入るべきか入らざるべきか迷っているような動作が観察された。これらヒトデを円滑にトラップ内に誘導するため、入口部をテーパ加工し、導入部直径を広げる工夫を施した (図3-5-1 OD, Type13 はトラップ素材の肉厚不足を原因に、このテーパ加工は行ってない)。これら作製したトラップの野外試験結果を表3-5-4に示す。

2ヶ月間、2試験区 (9.86m²、4.77m²) で14個のトラップを用いて試験を行った結果、6個体の稚ヒトデを捕獲することができた。各試験区、トラップの種類 (type14、12、13) 別における捕獲数に大きな違いはない。しかし、6月と7月は、捕獲数が大きく変化した (6月:5個体、7月:1個体)。

試験区1及び2は、平成28年度 (11/30、12/1) 稚ヒトデ食痕調査によってサンゴモ食期稚ヒトデの食痕調査が行われている⁴⁾。試験区1を含む調査範囲Iでは15の密集食痕、試験区2を含む調査範囲IIIで17の密集食痕が確認されており、かなり高密度にサンゴモ食期の稚ヒトデが生息していると考えられる (調査期間2日、ダイバー4人による調査結果)。この稚ヒトデ食痕調査では、平成29年1月26日と27日にすべての食痕から稚ヒトデの採集がなされている。したがって、サンゴモ食期稚ヒトデ採集後4ヶ月経過した同地点にサンゴ食期の稚ヒトデをターゲットとしたトラップを設置したことになる。このことから type12、13、及び14トラップは、サンゴモ食期食痕が多数観察される海域において、確実に稚ヒトデを捕獲できることが判った。しかし、今回の捕獲数がこの海域でのサンゴ食期稚ヒトデの密度を表しているかどうかは、現段階では判らない。

5-4. 今後の予定

①後期ブラキオラリアの着生誘引物質の同定と探索

分離された砂辺沖のミナミイシモ粗抽出物質による着生誘引試験を実施し、それら活性を指標にさらに精製を進め、着生物質の解明を目指す。

②稚ヒトデ（体長 15mm～50mm）の摂餌行動刺激物質の探索

「I字試験方法」の誘引試験を確立し、摂餌行動刺激物質のさらなる探索を行い、物質解明を目指す。

5-5. 5年間のまとめ

5-5-1. 後期ブラキオラリアの着生誘引物質の同定と探索

グアム島で採集されたコブイシモから、後期ブラキオラリアに対する着生誘引物質の探索を行い、HPLCによって単一物質にまで精製できた。しかしながら活性物質が微量であったため、質量分析計結果から物質の同定は出来なかった。現在、量的供給を可能にするため砂辺沖のミナミイシモから着生誘引物質の単離・構造決定を行っている。

5-5-2. 稚ヒトデ（体長 15mm～50mm）の摂餌行動刺激物質の探索

室内における「トラップ試験」により、複数の化学物質が稚ヒトデの摂餌行動に関与していることが判った。また「I字試験」による誘引試験は、「トラップ試験」で誘引率が低下した稚ヒトデを用いても、短時間で強い誘引現象が観察できることが判った。

5-5-3. 稚ヒトデのトラップ開発

様々なトラップを試作し室内試験した結果、稚ヒトデ導入部を6個及び8個有した小型円筒トラップ（Type 14及び12、直径90mm）が、高い稚ヒトデ捕獲率と低いトラップからの脱出率を合わせ持つ構造であることが判った。

5-5-4. 稚ヒトデの野外トラップ試験

砂辺沖において2ヶ月間（平成29年6月～7月）、2試験区（9.86m²、4.77m²）で14個のトラップ（Type 12、13及び14）を用いて試験した結果、6個体の稚ヒトデを海洋で捕獲することができた。

<参考文献>

- 1) 遠藤泰志ら, *日本油化学会誌*, 47, 1225-1232 (1998)
- 2) Goreau, T.F., *et al.*, *Bulletin of Marine Science*, 22, 113-152 (1972)
- 3) Colgan, M.W., *Ecology*, 68, 1592-1605 (1987)
- 4) 沖縄県環境部自然保護課, 平成28年度オニヒトデ総合対策事業, pp. 162-185 (2016)

Inducer B (1)

Observed [M+Na]⁺= 413.2329
[M+K]⁺= 429.2373

Adduct	Observed MS for MFSercher	Mass (calculated)	DB Name	margin(m/z)	Formula [*]	Exact Mass	difference	Hit No. in PubChem	Hit No. in Aldrich	Remarks
[M+Na] ⁺	413.2329	390.2429	pubchem	0.010	C20H38O5S	413.23321640	-0.0003	342	0	
			pubchem		C21H42S3	413.23408542	-0.0012	19	0	unlikely
			pubchem		C13H30N10O4	413.23437060	-0.0015	1	0	
			pubchem		C24H30N4O	413.23118269	0.0017	4,254	2	unlikely
			pubchem		C21H34N4O5	413.23455382	-0.0017	199	0	
			pubchem		C24H38S2	413.23071429	0.0022	627	0	
			pubchem		C16H34N6O3S	413.23053108	0.0024	0	0	
			pubchem		C14H26N14	413.23570801	-0.0028	2	0	unlikely
			pubchem		C16H38O10	413.23571852	-0.0028	14	0	
			pubchem		C23H34O5	413.22984528	0.0031	6,994	26(3)	including Steroid etc
			pubchem		C17H34N4O6	413.23705593	-0.0042	41	0	
			pubchem		C21H32N3O4	413.22850261	0.0044	934	0	
			pubchem		C18H38N4O5S2	413.23792494	-0.0050	2	0	
			pubchem		C18H30N8O2	413.23839334	-0.0055	25	0	
			pubchem		C27H34S	413.22734316	0.0056	13,585	0	
			pubchem		C19H30N6O3	413.22715995	0.0057	503	1(0)	
			pubchem		C19H38N2O2S2	413.22669155	0.0062	9	0	
			pubchem		C20H32N5O3	413.23973600	-0.0068	158	0	
			pubchem		C18H34N2O7	413.22582254	0.0071	86	0	
			pubchem		C14H38N4O6S	413.24042706	-0.0075	2	0	
			pubchem		C22H34N2O4	413.24107867	-0.0082	3,134	2(0)	
			pubchem		C30H30	413.22397204	0.0089	45,904	1(0)	unlikely
			pubchem		C23H30N6	413.24241608	-0.0095	10,507	0	
			pubchem		C22H34N2O2S	413.22332042	0.0096	345	0	
			pubchem		C14H30N8O5	413.22313721	0.0098	2	0	

* : C, H, N, O, S only

Inducer A' (1)

Observed [M+H]⁺= 407.2938
[M+Na]⁺= 429.2265

adduct	Observed MS for MFSercher	Mass (calculated)	DB Name	margin(m/z)	Formula [*]	Exact Mass	difference	Hit No. in PubChem	Hit No. in Aldrich	Remarks
[M+H] ⁺	407.2938	406.2860	pubchem	0.010						
[M+Na] ⁺	429.2265	406.2365	pubchem	0.010						

Inducer A' (2)

Observed [M+H]⁺= 813.5831
[M+Na]⁺= 835.5542

adduct	Observed MS for MFSercher	Mass (calculated)	DB Name	margin(m/z)	Formula [*]	Exact Mass	difference	Hit No. in PubChem	Hit No. in Aldrich	Remarks
[M+H] ⁺	813.5831	812.5753	pubchem	0.010						
[M+Na] ⁺	835.5542	812.5642	pubchem	0.010	C45H80O12	835.5541991	0.000001	2	0	
	835.5542				C58H72N2O	835.5536860	0.000514	1	0	
	835.5542				C50H76N4O3S	835.5530344	0.001166	1	0	
	835.5542				C42H72N10O6	835.5528512	0.001349	2	0	
	835.5542				C48H68N12	835.5528113	-0.004011	2	0	
	835.5542				C40H80N2O14	835.5501764	0.004024	1	0	
	835.5542				C53H72N4O3	835.5496633	0.004537	7	0	
	835.5542				C43H80N4O8S	835.5589076	-0.004708	1	0	
	835.5542				C51H76N2O6	835.5595593	-0.005359	4	0	pyropheophytin a
	835.5542				C37H72N12O8	835.5488284	0.005372	2	0	
	835.5542				C52H76O7	835.5483259	0.005874	7	0	
	835.5542				C44H76N8O4S	835.5602451	-0.006045	1	0	
	835.5542				C52H72N6O2	835.5608967	-0.006697	1	0	
	835.5542				C40H76N8O9	835.5627472	-0.008547	1	0	
	835.5542				C48H72N6O5	835.5456405	0.008559	5	0	
	835.5542				C48H80N2O6S	835.5629304	-0.008730	3	0	
	835.5542				C40H76N8O7S	835.5449889	0.009211	2	0	
	835.5542				C56H76O4	835.5635820	-0.009382	3	0	
	835.5542				C47H76N2O9	835.5443031	0.009897	10	0	

* : C, H, N, O, S only

Inducer B (2)

Observed [M-H] = 529.1666

[M+CL] = 565.1367

別表 2

adduct	Observed MS for MFSercher	Mass (calculated)	DB Name	margin(m/z)	Formula*	Exact Mass	difference	Hit No. in PubChem	Hit No. in Aldrich	Remarks
[M-H]-	529.1666	528.1588	pubchem	0.010	C35H30O52	529.16653113	0.0001	23	0	
	529.1666		pubchem		C27H26N6O45	529.16634791	0.0003	222	0	
	529.1666		pubchem		C35H22N4O2	529.16699952	-0.0004	11	0	
	529.1666		pubchem		C19H22N12O7	529.16616469	0.0004	2	0	
	529.1666		pubchem		C27H34N2O353	529.16587951	0.0007	5	0	
	529.1666		pubchem		C19H30N8O652	529.16569630	0.0009	1	0	
	529.1666		pubchem		C22H30N2O13	529.16751261	-0.0009	14	0	
	529.1666		pubchem		C34H26O6	529.16566211	0.0009	918	0	
	529.1666		pubchem		C26H30N2O85	529.16501050	0.0016	134	0	
	529.1666		pubchem		C23H34N2O852	529.16838163	-0.0018	11	1(0)	
	529.1666		pubchem		C23H26N6O9	529.16885002	-0.0023	97	0	
	529.1666		pubchem		C31H30O65	529.16903324	-0.0024	935	0	
	529.1666		pubchem		C16H26N12O75	529.16953582	-0.0029	1	0	
	529.1666		pubchem		C24H30N6O452	529.16971904	-0.0031	84	0	
	529.1666		pubchem		C32H34O153	529.16990226	-0.0033	9	0	
	529.1666		pubchem		C23H30N8O153	529.16319419	0.0034	1	0	
	529.1666		pubchem		C38H26O5	529.16316000	0.0034	13	0	
	529.1666		pubchem		C24H22N10O5	529.17018744	-0.0036	7	0	
	529.1666		pubchem		C30H22N6O4	529.16297678	0.0036	85	0	
	529.1666		pubchem		C32H26N4O25	529.17037065	-0.0038	66	0	
	529.1666		pubchem		C17H30N12O253	529.17040484	-0.0038	1	0	
	529.1666		pubchem		C30H30N2O352	529.16250839	0.0041	79	0	
	529.1666		pubchem		C22H26N8O65	529.16232517	0.0043	22	0	
	529.1666		pubchem		C19H34N2O135	529.17088374	-0.0043	1	0	disaccharide with OSO ₂
	529.1666		pubchem		C40H22N2	529.17102226	-0.0044	150	0	
	529.1666		pubchem		C22H34N4O553	529.16185677	0.0047	15	0	
	529.1666		pubchem		C27H30O11	529.17153535	-0.0049	322	0	
	529.1666		pubchem		C29H26N2O8	529.16163937	0.0050	328	0	
	529.1666		pubchem		C22H42O455	529.16138838	0.0052	3	0	
	529.1666		pubchem		C21H30N4O105	529.16098776	0.0056	5	0	
	529.1666		pubchem		C20H30N6O95	529.17222115	-0.0056	28	0	
	529.1666		pubchem		C28H34O652	529.17240437	-0.0058	369	0	
	529.1666		pubchem		C21H38O953	529.16051936	0.0061	6	0	
	529.1666		pubchem		C28H26N4O7	529.17287276	-0.0063	333	3(0)	
	529.1666		pubchem		C26H26N8O152	529.15982306	0.0068	6	0	
	529.1666		pubchem		C41H22O	529.15978887	0.0068	5	0	
	529.1666		pubchem		C20H34O145	529.15965034	0.0069	5	0	
	529.1666		pubchem		C29H30N4O252	529.17374178	-0.0071	92	0	
	529.1666		pubchem		C26H34N454	529.15935466	0.0072	10	0	
	529.1666		pubchem		C33H26N2O35	529.15913726	0.0075	62	0	
	529.1666		pubchem		C29H22N8O3	529.17421018	-0.0076	34	1(0)	
	529.1666		pubchem		C25H22N8O6	529.15895404	0.0076	13	0	
	529.1666		pubchem		C37H26N25	529.17439339	-0.0078	83	0	
	529.1666		pubchem		C25H30N4O552	529.15848565	0.0081	279	0	
	529.1666		pubchem		C16H30N6O14	529.17472326	-0.0081	1	0	
	529.1666		pubchem		C24H34O115	529.17490648	-0.0083	13	0	
	529.1666		pubchem		C24H26N4O10	529.15761663	0.0090	56	0	
	529.1666		pubchem		C25H38O653	529.17577549	-0.0092	12	0	
	529.1666		pubchem		C24H34O952	529.15714823	0.0095	36	0	
	529.1666		pubchem		C25H30N4O75	529.17624389	-0.0096	216	0	

*: C, H, N, O, S only

6. サンゴ礁モニタリングロボット等の研究開発

平成 27 年度からの新規テーマとして、「サンゴ礁モニタリングロボット等の研究開発」を実施した。主な目的は、潜水では困難な水深帯のモニタリングおよびモニタリングの省労力化等であり、4 つの研究テーマを実施してした。

サンゴ礁モニタリングロボット等の研究開発の研究分担.

氏名	所属	担当テーマ	研究概要
武村 史朗	沖縄工業 高等専門 学校	10~30m の水深帯で使用可能な水中モニタリングロボット等の開発	サンゴ礁のモニタリング手法であるマンタ法を深場で実施するため、海底との距離計測・保持機能及び障害物回避機能等を有した水中ロボット等の開発
高橋 悟	香川大学	サンゴ礁モニタリング画像からサンゴ被度及びオニヒトデ食痕の自動検出技術の開発	サンゴ礁モニタリングの自動化技術の開発 ・ 画像内の生きたサンゴの抽出と画面上の割合算出 ・ 画像内のオニヒトデの食痕の抽出と画面上での割合算出
川端 邦明	日本原子 力研究開 発機構		
相良 慎一	九州工業 大学	サンゴ礁モニタリング画像からオニヒトデの自動検出技術の開発	サンゴ礁モニタリングは通常、熟練した調査員によって行われるものの、その労力は多大である。このため、画像から自動的に算出できる技術の開発を行う。 ・ 画像内のオニヒトデの抽出
鈴木 剛	東京電機 大学	サンゴ礁定点観測システムの開発	サンゴの産卵やオニヒトデ等の遠隔監視 ・ サンゴ礁での定点観測技術や通信技術等の開発

6-1. 10~30m の水深帯で使用可能な水中モニタリングロボット等の開発

武村 史朗（沖縄工業高等専門学校）

6-1-1. 目的

従来、人が行っていたマンタ法による水中モニタリングを水中ロボットで行うための、機器開発、要素機能の実装を行う。本ロボットの仕様は大まかに以下のものとする。

1. ~5ノット（1ノット=約0.5m/s）で曳航可能
2. 深度30mまで利用可能
3. 障害物回避機能（上下）、高度維持機能を有す
4. カメラ搭載、水温計測機能搭載

これらの仕様を満たす水中ロボットの設計、製作を行なった。プールで水中ロボットのピッチ角制御、深度維持制御の曳航基礎実験を行なった。プール実験では、人力で曳航していることから速度約2ノット（約1m/s）での曳航しかできていないが、水中ロボットの深度変更、水中ロボットのピッチ角維持の機能は実現できていると判断している。プール実験の後、いくつかのハードウェア・ソフトウェアの改善を行ない、海実験を行なった。海実験で、さまざまな課題が抽出され、平成29年度はその改善を行なうための設計・製作を行った。

6-1-2. 曳航型水中ロボットの設計・製作（昨年度まで）

ダイバーが曳航されながら調査を行うマンタ法は、曳航速度が2~3ノット（1m/s ~ 1.5m/s）程で、水深5m~7mの海域を調査する。また、数分毎に停止し、ダイバーがサンゴの被度等を記録する時間もあり短時間での広範囲調査、比較的深い深度での調査には向かない。そのためダイバーを水中ロボットへ置き換え、効率よく水中調査を行えるように以下の3点を目標とし設計を行った。

- ・ 浅海域を5ノット（2.57m/s）で曳航（図3-6-1）
- ・ サンゴの被度をカメラ映像で記録するため、海底面との距離を一定に保つ
- ・ 障害物を回避するための移動機構

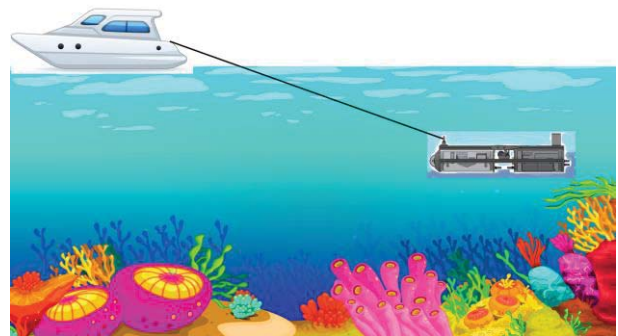


図3-6-1. 曳航型水中ロボットでの調査イメージ。



図3-6-2. 製作した曳航型水中ロボット。



図3-6-3. 海実験の様子。

図3-6-2に製作した曳航型水中ロボットを示す。図3-6-3は平成28年度に瀬底島近海で海実験した際の様子である。

6-1-3. 曳航型水中ロボットの改善（今年度）

プール実験では横波が無いため、図3-6-2で製作した曳航型水中ロボットでの実験では、それほど問題が顕在してなかったが、海実験でさまざまな問題点が見えてきた。そこで、以下の改善を行なうため、部品の設計・製作を行った。

A. 主翼と尾翼の角度を検出する

ロボットの状態を深度計と姿勢角度（ピッチ角）で把握し、ロボットを操作することを想定していたが、遠隔操作による高度維持には、主翼と尾翼の角度を検出しなければいけないので、主翼と尾翼の角度を検出できるよう設計を行った。

B. 水中ロボットがロール回転（進行方向に対して回転）した

プール実験では横方向からの力を受けることがなかったが、海ではその影響を知ることとなった。往復曳航実験のため、船を180度回転したときに横方向の力の影響を受け、姿勢が安定しなくなった。垂直尾翼を下にもつける、などの機体の改善を行った。

C. カメラなどが入っている前方部のアクリル容器のみ漏水した

電源系が入っている後方部のアルミ容器は漏水していなかったことから、蓋の防水方法に問題は無い。アクリルドーム部のカメラ撮影部のシールに問題があるため、シールの仕方を変えた。

D. 水中ロボットの海底からの高度5mに対応する

海底からの高度2~3mでは従来のレーザーモジュールを使う方法でレーザーの確認はできたが、高度5mを測ることはできない。そこで、超音波センサを使った高度計測に取り組んだ。

上述した項目より、A、B、Dに関して新たな部品を製作した。Cに関してはシールの仕方を変えることで対応する。

（1）曳航型水中ロボットの追加機構（A、B）

上記Aの昨年度までの機構は深度計（または高度計）・姿勢センサからの姿勢角度情報で制御することを想定していたため、主翼と尾翼の角度検出機構はつけていなかった。自動制御と遠隔操作の同時併用が望ましいと考え、遠隔操作用に主翼と尾翼の角度を検出する機構を追加した。主翼・尾翼の角度検出のために新たな軸を作成し、耐圧容器内へマグネットカップリング（磁石による継ぎ手）を介してポテンショメータ（角度検出器）と連動させて、翼の角度を検出する。現在、機構の組上げは終わり、角度データが取り込めるよう、電装系・プログラムの作成を行なっている。図3-6-4、5は主翼・尾翼の追加機構のCAD図を示している。(b)側の図にある追加の機構が角度検出のためのものである。

上記Bの解決のため、図3-6-2には無い下側の垂直尾翼を作成した（図3-6-6の赤い資格枠で囲まれた部分）。

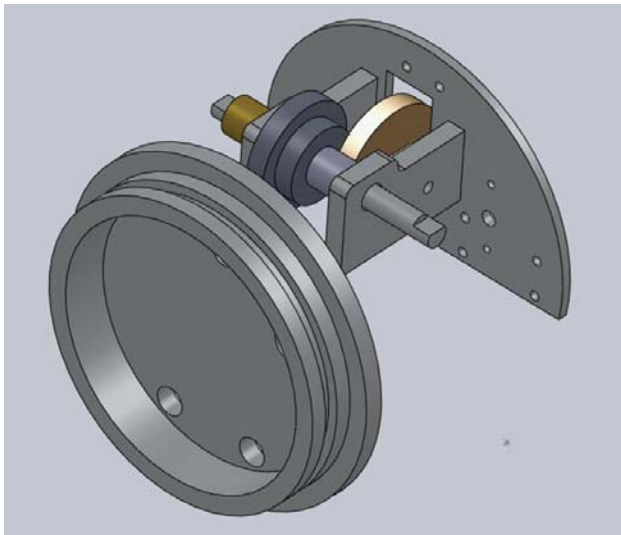


図3-6-4(a). 改善前の主翼の機構.

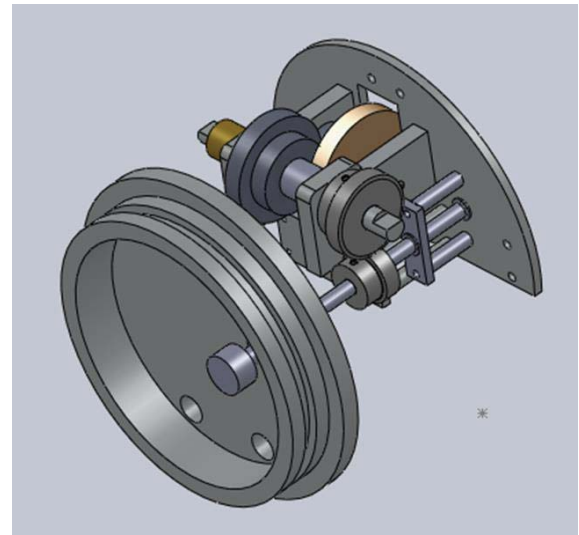


図3-6-4(b). 改善後の主翼の機構.

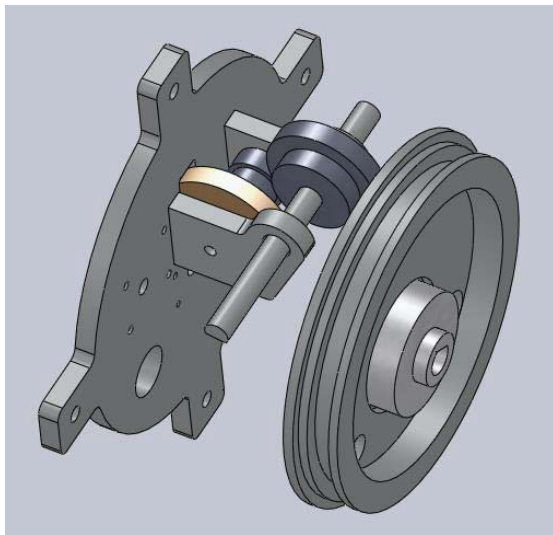


図3-6-5(a). 改善前の尾翼の機構.

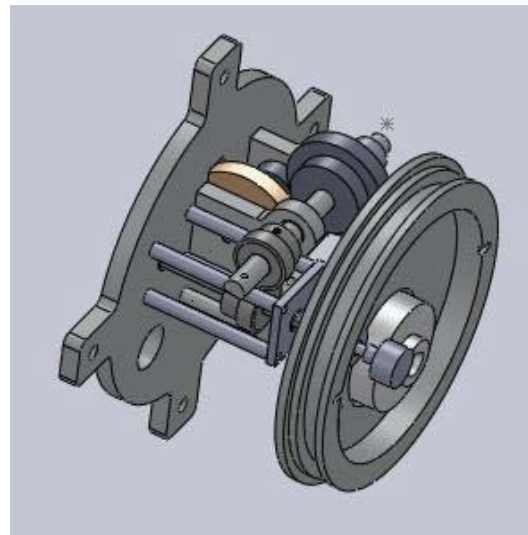


図3-6-5(b). 改善後の尾翼の機構.



図3-6-6. 垂直尾翼の追加.

ここで、角度検出機構の動作確認を行なった実験について述べる。図3-6-7(a)のようにホワイトボードに20度の位置を印刷した物を貼り付け、主翼を20度に傾けたときに角度検出機構で検出した角度をパソコン画面上で確認する。

図3-6-7(b)は主翼角度のパソコン画面の表示である。表示された主翼角度は20.9度と表示されており、若干の誤差は確認されるものの、実用上問題無い程度の誤差と思われる。-20度でも同様の実験を行ない、同様の実験結果を得られている。

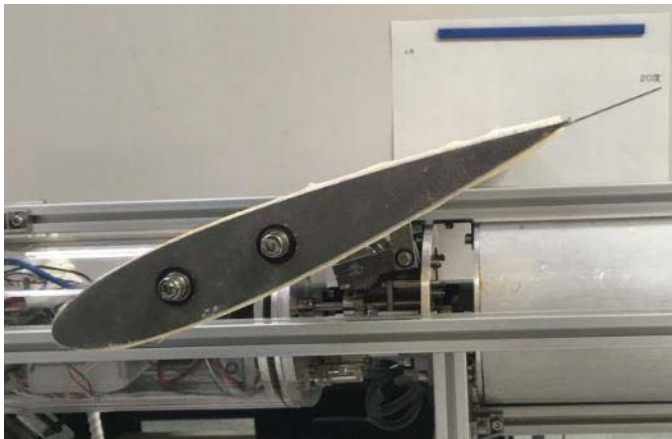


図3-6-7(a). +20度 に傾けた主翼.

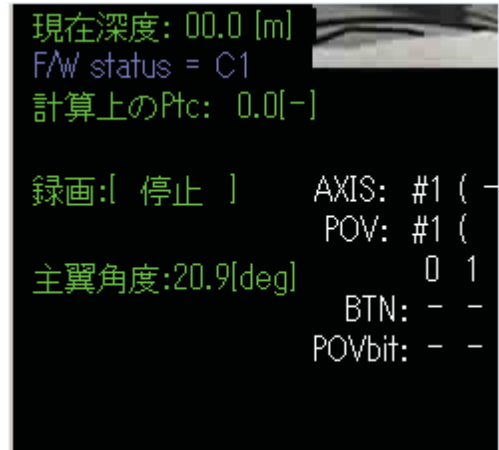


図3-6-7(b). 主翼角度のパソコン画面.

(2) 超音波センサモジュールの開発 (D)

水中で海底からの高度を図るための超音波センサを用いたモジュールの開発を行なっている。図3-6-8は開発中の超音波センサモジュールである。外容器は塩ビパイプを使用して安価な材料としている。本体内の装置は(図3-6-8左から)、乾電池、無線機器+マイコン、電池ボックスとスイッチ、センサを内蔵している。無線(パッチアンテナ使用)で水中ロボット本体内に高度情報を伝えている。乾電池・無線を内蔵とすることで新たなコネクタを必要とせず、防水を容易にしている。



図3-6-8. 開発中の超音波センサモジュール.

図3-6-9に超音波センサモジュールを使った距離計測の基礎実験を示す。プールで行なっている。0.5~6mまで対象物との距離を変化させたときの電圧値の推移を示している。本実験より2~6mの範囲で距離を計測できることがわかった。人の手で移動させたときに距離が測れることは試しているが、水中ロボットに実装した状態での計測は行っていない。

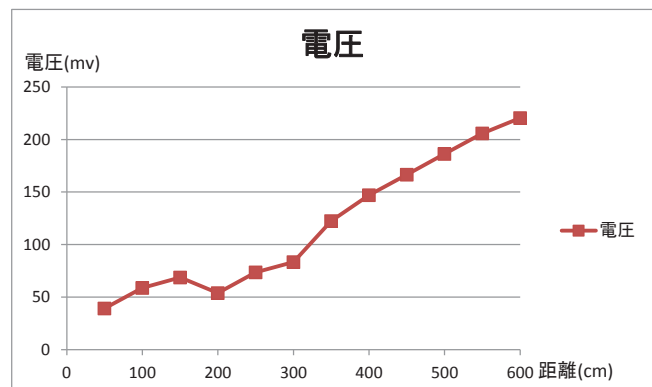


図3-6-9. 超音波センサを用いた距離計測.

(3) まとめ

平成 28 年度は、深度 10m 程度の海域で実験をし、真直ぐ曳航した際には、きちんと曳航されていたのは確認した。往復曳航実験のため、船を 180 度回転したときに水中ロボットは海中に留め、連続して実験を行っていた。2 回目以降の曳航実験の際に、ロボットの姿勢が安定しなかったのは、船の回転時の影響もあったと考えている。しかしながら、実際の運用に近い形で姿勢安定性を高めるために、様々な改良の必要性を感じ、昨年度の海実験を元にして、平成 29 年度はこれまで設計・製作を行ってきた。主翼の角度が計測できることを確認した。垂直尾翼下側の部分を製作し、装着を行なった。高度 5m を維持するため、高度を計測する超音波センサモジュールを製作し、水中で 2~6m の計測ができることを確認した。

6-2. サンゴ礁モニタリング画像からサンゴ被度及びオニヒトデ食痕の自動検出技術の開発

高橋 悟（香川大学）・川端 邦明（日本原子力研究開発機構）

サンゴ礁には海洋生物の約 25%が生息し、海洋生態系の基盤として重要な役割を担っている。しかし、サンゴ礁生態系の脆弱性は高く、近年の地球温暖化や開発による土壌流出等の影響によるサンゴの白化現象が世界規模で観測されている。これらのことから、サンゴ礁の保全に向けた状態観測が急務であり、研究グループでは、ダイバーに代わる海中ロボットによる長期的・広範囲に渡るサンゴ礁モニタリングシステムの構築を目指す。その中で、本研究テーマに従い、海中ロボットにより取得した画像からサンゴの種類別検出することを目的とする。

本報告では、サンゴの種類別検出手法としてテクスチャ解析と線形判別分析を用いた手法を述べる。特に、線形判別分析を用いた種類別検出に向けた新たな判別アルゴリズムを紹介する。この判別アルゴリズムにおいて、1つ目の判別器によりテクスチャが類似するクラス1とクラス1とは異なるテクスチャを持つクラス2に分類することにより誤判別される領域数の軽減と従来検出できなかった枝状サンゴの検出を行い、その検出精度向上を行った。実際、提案する判別アルゴリズムによる枝状サンゴの判別正答率が 56.8%となり、正答率はやや低いものの枝状サンゴの検出を可能とした。他の卓状サンゴ等の判別正答率については、次に示す。

本報告では、サンゴが持つテクスチャに着目し、テクスチャ解析と線形判別分析によるサンゴの検出・識別を実施する。表 3-6-1 にその解析・判別手順を示す。Step 1 から Step 3 の処理により、海中画像中の物体を数値化し、各物体が持つ数値を用いて、最終的に線形判別分析にて、サンゴの種別を決定する。

表 3-6-1. サンゴ検出のアルゴリズム.

Step 1	前処理 1) グレースケール変換 2) 局所領域分割
Step 2	濃度共起行列算出
Step 3	Haralick の 14 特徴量算出
Step 4	線形判別分析

このとき、鍵となる Step は Step 4 である。ここで、海中画像中の物体を次の 4 クラスに分類し、考察する。サンゴの分類を考える上で、ミドリイシ科に属する卓状サンゴ（クラス A）、ミドリイシ科に属する枝状サンゴ（クラス B）、ミドリイシ科以外の科に属するサンゴ（クラス C）、岩礁や砂地等（クラス D）とする。特に、Step 4 の線形判別分析の際にサンゴの種類別検出に向けた新たな判別のための特徴空間上の分割イメージを図 3-6-10 に示す。この判別アルゴリズムは、はじめに海中画像を判別器 A によりクラス 1 とクラス 2 に分類し、判別器 B によりクラス 1 をクラス A

とクラスCに分類する。そして、判別器Cによりクラス2をクラスBとクラスDに分類することで実施する。この分類手法を取ることで、前回までより判別正答率を向上させることが可能となった。

表3-6-2. サンゴ検出のアルゴリズム.

```

for(i=0;i<a;i++){
  if( $g_A(u)<0$ ){
    class.lab[i]=class1;
  }
  else{
    class.lab[i]=class2;
  }
  if(class.lab[i]==class1){
    if( $g_B(u)>0$ ){
      class.lab[i]=classA;
    }
    else{
      class.lab[i]=classC;
    }
  }
  else if(class.lab[i]==class2){
    if( $g_C(u)<0$ ){
      class.lab[i]=classB;
    }
    else{
      class.lab[i]=classD;
    }
  }
}

```

The liner discriminant function $g(u)$ divides the feature space into two groups.

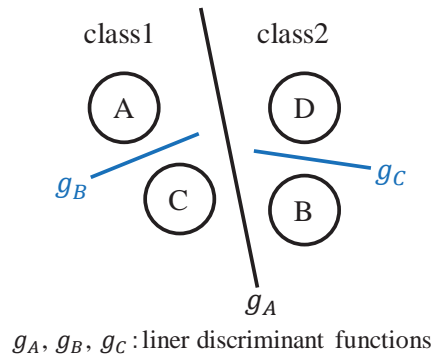


図3-6-10. 判別イメージ.

次に、実験結果の一例を示す。各図における赤色はクラスA、緑色はクラスB、青色はクラスC、無色はクラスDの領域を表す。まず、入力画像を図3-6-11に示す。判別器Aにより入力画像をクラス1とクラス2に判別した結果を図3-6-12を表し、4クラスへの判別結果を図3-6-13に示す。図3-6-12において、赤色がクラス1、無色がクラス2を表す。



図3-6-11. 入力画像.

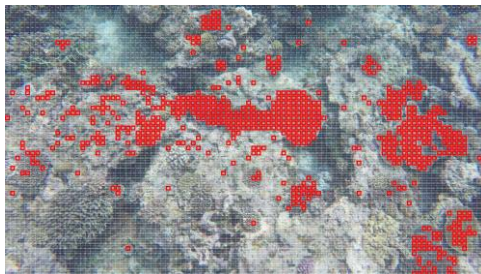


図3-6-12. 判別器Aの結果.

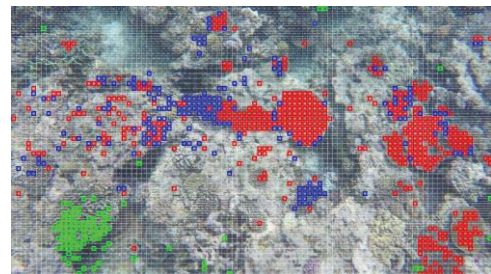


図3-6-13. 判別結果画像.

このとき、判別アルゴリズムによる判別正答率は次の表3-6-3の結果となる。

表3-6-3. 提案手法による判別正答率.

	クラスA	クラスB	クラスC	クラスD	総領域数
クラスA	204	0	0	41	245
クラスB	0	50	0	38	88
クラスC	60	0	39	131	230
クラスD	208	44	169	4200	4621
判別正答率	83.3%	56.8%	17.0%	90.9%	5184

表3-6-3から1つの判別器による判別では検出が難しいクラスBの検出が提案する判別アルゴリズムによる判別により可能となったことが言える。

今後の展開として、実験結果からわかるように、クラスBの判別率が56.8%、クラスCの判別率が17.0%と検出精度がまだ低いことが言える。については、判別手法や他の手法を検討し、検出精度の向上を行う。さらに、今回はハマサンゴ科やハナヤサイ科等の科に属するサンゴをクラスCとして判別を実施した。しかしながら、各科の判別が可能になればサンゴの状態観測に向けより有意義なデータが取れるため、科毎に新たに分岐を増やしサンゴを検出・識別する必要がある。

6-3. サンゴ礁モニタリング画像からオニヒトデの自動検出技術の開発

相良 慎一（九州工業大学）

モニタリング画像から自動的にオニヒトデを検出する方法として、AdaBoost 型カスケード識別器を用いた機械学習による方法と、画像処理アルゴリズムによる方法の二通りで検討を行ってきた。機械学習の検出精度向上を進めるとともに、さらなる検出精度向上のため、最終年度では、機械学習による認識結果に画像処理アルゴリズムによる方法（針状突起物検出）を適用した、図3-6-14に示すオニヒトデ検出技術の開発を行った。

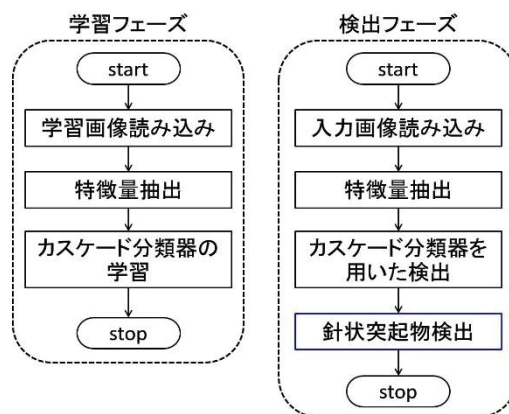


図3-6-14. 開発検出技術のフロー。

図3-6-14において、カスケード識別器（分類器）は強分類器をカスケード結合しており高い分類性能をもち、強分類器としては、分類精度が高く、学習後の解析が容易である AdaBoost を採用した。また、学習および検出に用いる画像特徴量としては、明度変化に頑健な Multi-scale Block Local Binary Pattern (MB-LBP) 特徴量を採用した。さらに、検出過程においてさまざまなサイズの検出枠を用いており、一般にこれらの検出枠は重複するので、重複度 (T) が大きい枠のみ残すようにした。

機械学習による方法においては、これまで、高解像度学習用画像の使用、誤認識領域の追加学習および強分類器個数増加が認識率向上に寄与することを明らかにするとともに、誤認識領域の追加学習および強分類器個数増加を施した結果により、認識率が向上することを確認した。なお、検出枠重複度の選定が試行錯誤的となり、T=20 など大きな値を取らざるを得なかった。そこで、最終年度では、重複度の設定値抑制を目的として、機械学習と並行して検討を行った画像処理アルゴリズムによる方法の付加を行った。

初年度に開発した画像処理アルゴリズムによる方法は、次の手順のように、オニヒトデの特徴であるトゲの検出を目指したものである(図3-6-15)。

- (1) 読み込んだ RGB 画像を GRAY 画像に変換
- (2) コーナー(鋭角エッジ)抽出
- (3) エッジ抽出
- (4) 鋭角エッジ周辺の矩形領域内のエッジ走査

(5) 矩形領域内の線分の両端座標取得

(6) 鋭角エッジの角度計算、(7) 角度がある閾値以下であれば特徴量とする

(8) 特徴量が多く見られる領域にオニヒトデがいると判断。

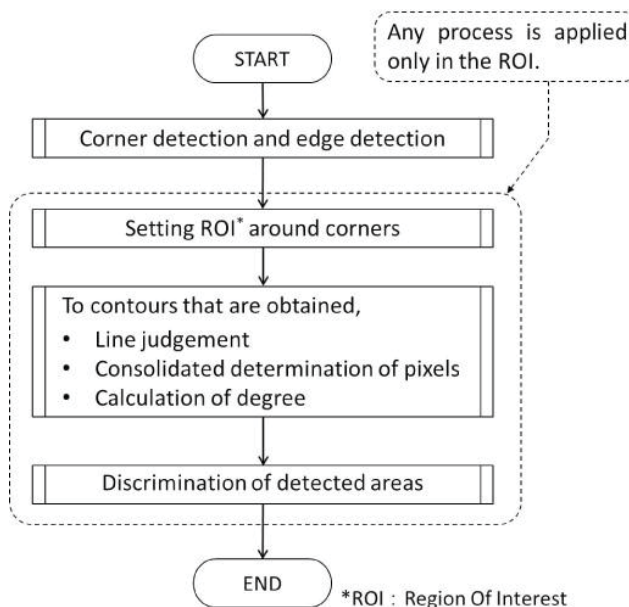


図3-6-15. アルゴリズムの流れ。

表3-6-4のパラメータを適用した機械学習による認識結果および、画像処理アルゴリズムの適用結果を、それぞれ図3-6-16と17に示す。これらの結果より、機械学習による認識結果に画像処理アルゴリズムによる方法を適用することにより、重複度を抑制しても検出精度が向上することが分かった。

残された課題としては、

- ・マンタ法により得られた動画を用いた検証
- ・オニヒトデの側面が撮影されている多数の学習用画像の取得

などが挙げられるが、開発技術は、誤認識が少なく、かつ、オニヒトデを高精度に検出できると考えられる。

表3-6-4. 機械学習用パラメータ.

画像サイズ (pixel)	Positive 画像数	Negative 画像数	強分類器個数	重複度
100×100	7000	9000	30	5

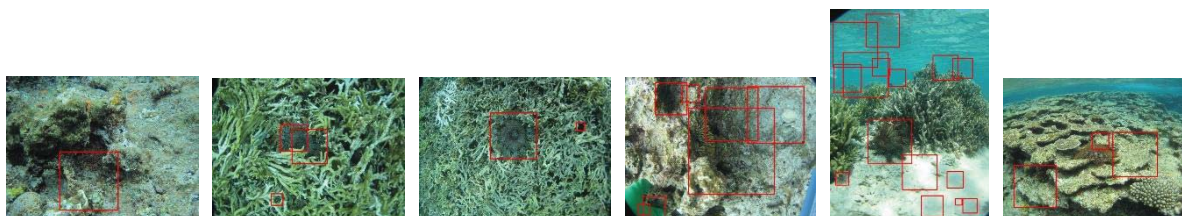


図3-6-16. 機械学習による認識結果.

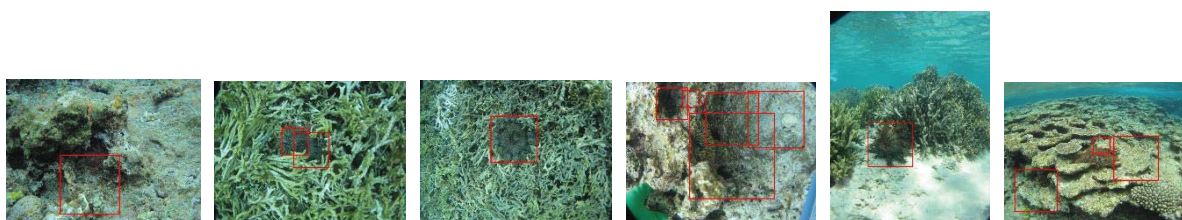


図3-6-17. 機械学習による認識結果に画像処理アルゴリズムを適用した結果.

参考文献：峠本穂博，”カスケード分類器を用いたオニヒトデ検出技術の開発 -針状突起物に着目した手法を付加した検出精度改善法-”，平成29年度九州工業大学大学院工学府機械知能工学専攻知能制御工学コース修士論文，2018

6-4. サンゴ礁定点観測システムの開発

鈴木 剛（東京電機大学）

6-4-1. 目的

近年、海水温の上昇による白化現象や、オニヒトデ等による浸食被害などの大規模発生の問題から、サンゴ礁生態系の保全が急務となっている。保全のための活動計画や対応策の立案などには、サンゴの状態変化とその環境要因の長時間かつ継続的な観測が必要不可欠である。現状では、主としてダイバーら人手による観測が行われているが、これには潜水時の肉体的・精神的負荷などによる様々な制限がある。

そこで、本研究では、センサネットワーク技術を用いた海洋生態系観測・記録支援システムを提案している。本システムは、定点観測センサノードと移動センサノードから構成される。定点観測センサノードを対象領域の複数地点に設置し、各センサノードが任意の周期で並列的・継続的に定点観測を行う。定点観測センサノードで観測できない箇所等は、移動センサノードを操作して情報収集を行う。

本研究テーマでは、サンゴの定点観測に用いる定点観測センサノードの開発、実地機能試験、および、データ収集とその評価を目的とする。本報告では、前回からの進捗として2018年1月の実地機能試験について述べ、さらに、これまでの研究のまとめとして、システム開発の成果と現状での課題について述べる。

6-4-2. 定点観測センサノードの開発

前回の報告で述べたように、さらに定点観測センサノードの設置性の向上および水密性の強化を図るため、システム構成を変更した。図3-6-18に改良した定点観測センサノードの外観を示す。改良点は、次のとおりである。

- 円筒面／平面固定構造の併用による水密性の向上
- 撮影画像鮮明化のためのハイパスフィルタの搭載
- 通信ユニットおよびセンサユニット間の通信ラインの検討
- ハードウェアの構成変更に伴うソフトウェアの変更



図3-6-18. 定点センサノード外観。

6-4-3. 定点観測センサノードの機能試験

(1) 通信ユニットーセンサユニット間の通信の検討

通信ユニットーセンサユニット間での、コネクタレスの通信の検討を行った。本センサノードは、センサユニットで取得した画像および各センサデータを通信ユニットに送信し、通信ユニットのGPSデータと合わせて基地局に送信する（後述、図3-6-27）。前年度までは、この通信を、水中コネクタで接続された水中LANケーブルを介して行っていたが、センサノードおよびケーブルが常に水流で揺動するためコネクタ部に負荷がかかり、浸水する状況が多かった。そのため、水中でのコネクタレスでの通信について検討した。

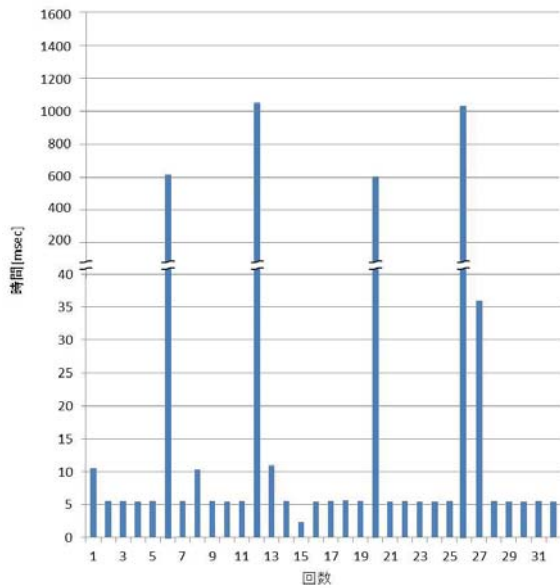
Wireless Line（株式会社ルミカ）は、水中でのWi-Fi通信を補助するケーブルである。水中に配置したWi-Fi無線機器にWireless Lineを近づけることで、通信延長ケーブルと同様の効果を得られる。定点観測センサノードの通信ユニットとセンサユニットの各容器外側にWireless Lineを固定し、Wireless Lineを介して容器内部の無線機器間の通信を補助することで、容器を密閉した状態での水中通信を行う。ここでは、本システムで想定するデータ通信にWireless Lineが利用可能か、その特性を調べるために地上と水中での通信状態を確認した。通信ユニットには、無線LANアダプタを2台接続し、1台は基地局とのネットワークを構成し、1台はセンサユニットとのネットワークを構成した。

通信状態の比較のために、両ユニットを地上に置いて通信した場合と、実際の運用時のように通信ユニットを海上に、センサユニットを海中に配置した場合の通信状態を、通信ユニットからセンサユニットに対してiwconfigコマンドおよびpingコマンドを用いて調べた。なお、各コマンドの設定はデフォルト値である。

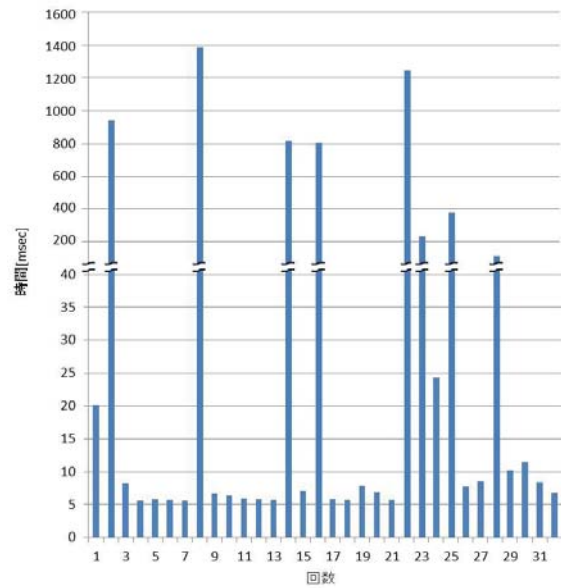
表3-6-5にiwconfigの結果を示す。また、図3-6-19にpingコマンドの実行結果における、パケット送受信の時間の例を示す。これより、Wireless Lineを介して、水中での通信が可能となっているが、地上に比べ海中ではパケットの送受信に時間がかかる回数が増えていることから、通信が不安定になっていることが分かる。そのため、Wireless Lineの利用では、定期的な通信状態の確認や受信データの検証などを行う必要がある。

表3-6-5. iwconfigコマンド実行の結果.

回数	Link Quality		Signal Level		Noise Level	
	地上	海中	地上	海中	地上	海中
1	93/100	84/100	84/100	36/100	0/100	0/100
2	95/100	50/100	82/100	24/100	0/100	0/100
3	91/100	70/100	80/100	26/100	0/100	0/100
4	99/100	65/100	84/100	28/100	0/100	0/100
5	98/100	46/100	83/100	20/100	0/100	0/100



(a) 地上



(b) 海中

図3-6-19. ping コマンド実行の結果.

(2) 定点観測センサノードによるデータ収集

改良した定点観測センサノードを用いて、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設（沖縄県国頭郡本部町瀬底島）にてデータ収集実験を行った。なお、実験では地上基地局との通信が不安定だったため、今回は、センサノード内のストレージにデータを保存し、回収後に確認した。

2018年1月9日(木)17:00～10日(金)15:00まで、図3-6-20に示すサンゴを対象に定点観測センサノード(SN02)を設置してデータ収集を行った。実験では、動作確認のために、間欠動作間隔を20[min]とし、各動作時で3[sec]毎に30回のデータ収集を行った。

実験より、設定時間でのデータの取得および保存が確認できた。取得したデータの例を図3-6-21、22に示す。図3-6-21はCSVファイルとして保存された取得データである。画像データ名には画像を取得した日時が付けられており、また、取得データの各行が画像と同時刻のデータとなっている。ただし、今回の実験では温度センサのプロープの故障により、温度データが異常値を示している。図3-6-22(a)～(c)は、それぞれ白色LED照明による画像、青色LED照明による蛍光画像、レーザポインタを照射した画像である。蛍光画像は、サンゴの育成面積の計測に用いる。サンゴの生存している部分でのみ起こる蛍光特性を利用し、サンゴの蛍光画像から蛍光領域を検出し、サンゴ全体の外形に対する蛍光領域を算出することで、生育部分の計測を行う。また、レーザスポット光は、カメラ単眼での、カメラからサンゴまでの距離計測に用いる。

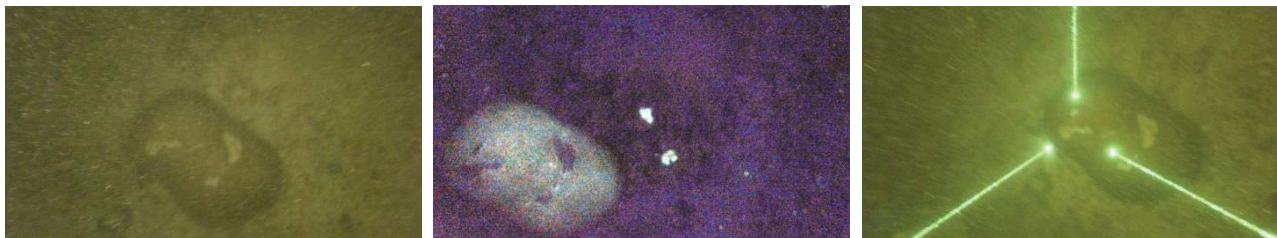


図3-6-20. 対象サンゴ.

定点SN ID	温度 [°C]	Roll [deg]	Pitch [deg]	加速度			画像データ	
				x軸 [m/s ²]	y軸 [m/s ²]	z軸 [m/s ²]	ファイル名	サイズ [byte]
SN02-SU	-40	-5.1	55.3	-0.82	-0.05	0.44	SN02-SU.2018.01.09_20.28.06.000001.LEDWhite.jpg	173338
SN02-SU	-40	-7.2	61.8	-0.88	-0.06	0.43	SN02-SU.2018.01.09_20.28.20.000001.LEDWhite.jpg	179635
SN02-SU	-40	2.7	51.9	-0.79	0.03	0.4	SN02-SU.2018.01.09_20.28.35.000001.LEDWhite.jpg	172032
SN02-SU	-40	-27.5	77.9	-0.98	-0.1	0.49	SN02-SU.2018.01.09_20.28.50.000000.LEDWhite.jpg	187380
SN02-SU	-40	0	53.7	-0.81	0	0.41	SN02-SU.2018.01.09_20.29.05.000001.LEDWhite.jpg	171649

GPSデータ (GPRMCフォーマット)												
\$GPRMC	111933	A	2638.1493	N	12751.9472	E	0.62	142.48	90118			D*65
\$GPRMC	111934	A	2638.1493	N	12751.9471	E	0.52	142.33	90118			D*6E
\$GPRMC	111935	A	2638.1494	N	12751.9469	E	0.42	146	90118			D*64
\$GPRMC	111937	A	2638.1498	N	12751.9464	E	0.23	143.43	90118			D*62
\$GPRMC	111939	A	2638.1498	N	12751.9465	E	0.1	114.67	90118			D*69

図3-6-21. 取得データ例.



(a) 白色 LED 光下 (b) 青色 LED 光下蛍光画像 (c) レーザスポット光画像
(画像補正有)

図3-6-22. 撮影画像(夜間)の例.

また、図3-6-23は、今回の実験場所であり、上記取得したGPSのデータをGoogle Mapに反映したものである。



図3-6-23. 実験場所.

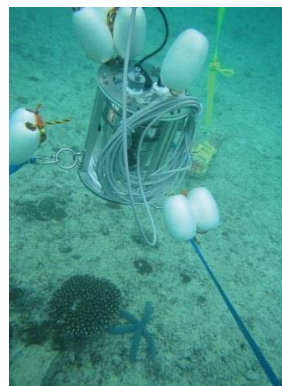


図3-6-24. 対象サンゴと定点観測センサノード.

次に、複数地点でのデータ収集を目的として、2018年1月10日(金)13:30~15:00まで定点観測センサノード(SN01)を設置し、データ収集実験を行った。対象とするサンゴと定点観測センサノード設置の様子を図3-6-24に示す。この実験では間欠動作は行わず、1[sec]間隔で連続してデータ収集を行った。

定点SN ID	温度 [°C]	Roll [deg]	Pitch [deg]	加速度			画像データ	
				x軸 [m/s ²]	y軸 [m/s ²]	z軸 [m/s ²]	ファイル名	サイズ [byte]
SN01-SU	24.34	-60	60.9	-0.87	-0.42	0.34	SN01-SU.2018.01.10_14.19.01.000001.LEDWhite.jpg	413707
SN01-SU	24.34	-40.7	59.8	-0.86	-0.33	0.33	SN01-SU.2018.01.10_14.19.11.000001.LEDWhite.jpg	393566
SN01-SU	24.35	-45.7	62.2	-0.88	-0.33	0.37	SN01-SU.2018.01.10_14.19.21.000001.LEDWhite.jpg	409364
SN01-SU	24.35	-41.9	59.8	-0.86	-0.34	0.34	SN01-SU.2018.01.10_14.19.31.000001.LEDWhite.jpg	414051
SN01-SU	24.35	-43.2	56.9	-0.84	-0.37	0.35	SN01-SU.2018.01.10_14.19.41.000001.LEDWhite.jpg	408020

GPSデータ (GPRMCフォーマット)											
\$GPRMC	51901	A	2638.158	N	12751.9282	E	1.05	244.48	100118		D*66
\$GPRMC	51911	A	2638.1564	N	12751.925	E	1.12	243.14	100118		D*6A
\$GPRMC	51921	A	2638.158	N	12751.9269	E	0.59	237.47	100118		D*62
\$GPRMC	51931	A	2638.1549	N	12751.9281	E	0.47	216.63	100118		D*6A
\$GPRMC	51941	A	2638.1568	N	12751.9269	E	0.45	226.58	100118		D*61

図3-6-25. 取得データ例.



(a) 白色 LED 光下

(b) 青色 LED 光下蛍光画像

(c) レーザスポット光画像

図3-6-26. 定点観測センサノードの取得画像例.

図3-6-25に定点観測センサノード(SN01)の取得データ、図3-6-26に取得画像を示す。ただし、日中では、青色LEDを用いてもサンゴの蛍光発光が弱いため、白色LEDによる画像と変化はない。実験より、同領域における、定点観測センサノードによる複数地点でのデータ収集が可能であることを確認した。

今回の実験では、改良により水密性が向上し、浸水等は見られなかった。また、センサノードを継続的に設置し、夜間および複数地点でのデータ収集も可能であった。一方で、潮汐による水位の変化に伴いセンサノードの姿勢が変化し、搭載カメラの視点が対象サンゴから離れ、対象を撮影できない時間帯が生じた。今後、潮汐や水流の影響などによる姿勢変化時の対応を検討する必要がある。

(3) 定点観測センサノード開発と現状の課題

定点観測センサノードの開発では、サンゴ生態学および環境工学の研究者や調査ダイバーへのヒアリング調査、および、センサネットワークの技術的要件を基に仕様を求め、定点観測センサノードの機能として、情報処理、情報収集、通信、自立駆動、防水耐圧、姿勢補正、さらに、センサノードの設置やメンテナンスなどの容易性、などが必要となることを確認した。それに基づき、これまでに定点観測センサノードを設計試作し、実地機能試験を行いながら、情報収集機能におけるカメラの視認性、無線通信特性、通信ユニットの水密性、センサノードの設置容易性などについて検討し、機能を改良してきた。

本システムの全体像を図3-6-27に示す。また、システムの運用としては次のようなシナリオを想定している。

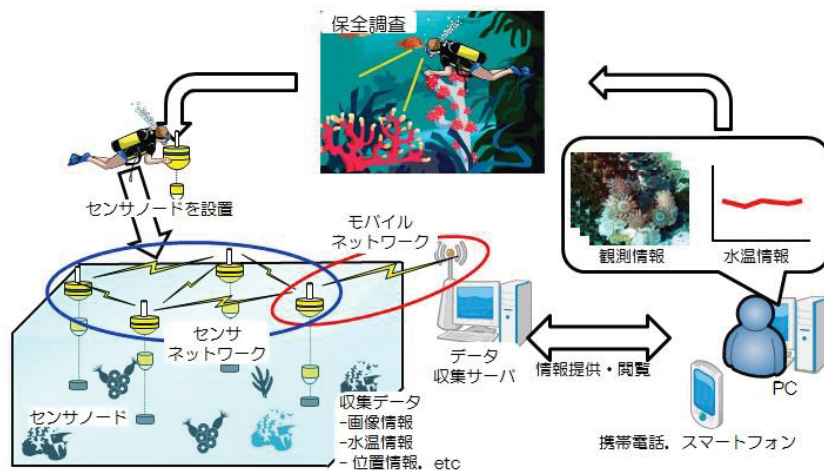


図3-6-27. サンゴ礁定点観測システムの概念.

- 1) 調査船などに複数台の定点観測センサノードを搭載し、観測箇所へ運搬する。
- 2) 観測対象領域あるいは観測対象となるサンゴ（礁）の上部に、観測目的に応じた台数・粒度でダイバーが定点観測センサノード群を分散配置する。
- 3) 定点観測センサノード群は、調査者の設定した任意の時間周期で継続的に画像および水温などの水中環境観測情報を取得する。また、センサノード自身の状態計測を行う。
- 4) 定点観測センサノードの状態および観測データは近隣のセンサノードを介したマルチホップ伝送によりデータ収集サーバに集約され、公開される。
- 5) 調査者はインターネット等のネットワークを介してサーバにアクセスし、観測データを閲覧する。また、センサノードの状態を確認し、設置個所にて定期的にセンサノードの状態確認およびバッテリー交換などのメンテナンスを行う。

これまでの開発で、定点観測センサノードのハードウェアおよびソフトウェアは、初期の仕様を満たすものが完成した。これにより、任意の設定時間での間欠動作による画像データを含む海中情報の収集、複数地点での同時データ収集、データ収集サーバへの保存などが行える。現在のセンサノードの構成とソフトウェア動作を図3-6-28、図3-6-29に示す。

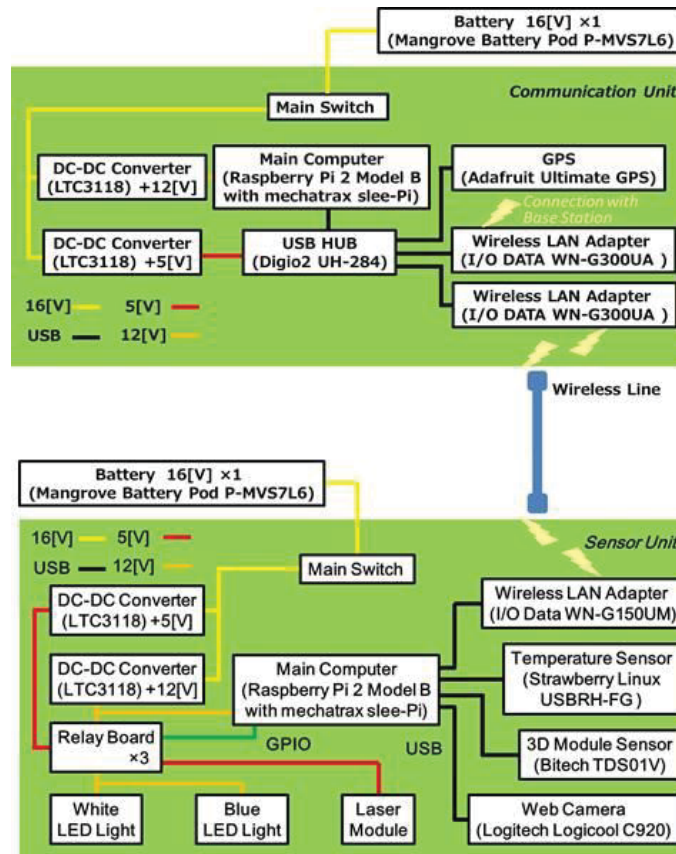


図3-6-28. センサノードのシステム構成.

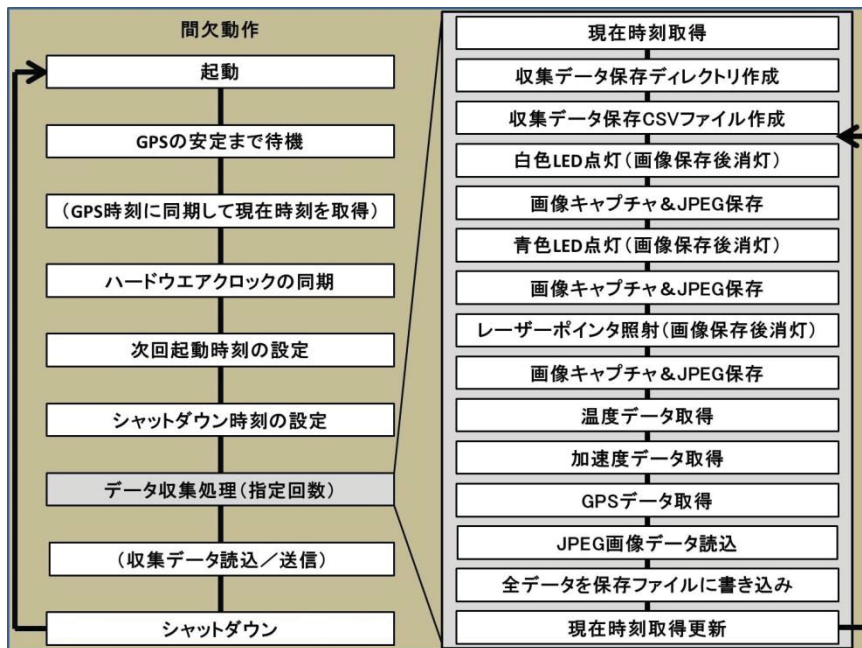


図3-6-29. 定点観測センサノードの動作.

残る課題は、主にシステム運用に係わる部分であり、次のものが挙げられる。

(1) 定点観測センサノードの設置方法の検討

本システムは、オンデマンドで対象領域に容易に設置できることが望ましい。現在は、図3-6-30のように錘とベルトでセンサノードを海底に固定しており、比較的簡単に設置しているが、そのために次項に示す問題も起こしやすい。センサノードを簡単に設置・回収できる設置方法の検討が必要である。



図3-6-30. 設置の様子.

(2) 海中状態変化の影響の軽減

天候等の影響による波の変化や、潮汐の影響による水位の変化などにより両ユニットが揺動等するため、撮影対象のサンゴからカメラの視界が外れる時間帯が発生する。また、海中に舞うシルトなどの影響により視認性の低下も発生する。(1)の設置方法も含め、海中状態の変化を検出し、それに対応してデータを収集する方法について検討が必要である。

(3) 長時間、複数地点観測データの収集と解析

現状ではセンサノードの機能試験のために短時間での間欠動作でデータ収集を行った。今後、実際の観測目的に応じた動作設定を行い、複数地点での長時間の観測を行うとともに、得られた観測データからサンゴおよび海中の状態を統合的に解析・評価する手法を検討する必要がある。

(4) 観測データの閲覧

観測データの閲覧に関しては、観測データのデータベース化およびWebブラウザを用いた閲覧システムを別の研究テーマで扱っている。観測データをデータベースに登録する等、本システムとの統合を図る。

以上の課題を解決しつつ、実際の運用への検討を進める必要がある。

本報告では、サンゴの保全活動支援を目的とした定点観測システムの開発について述べた。システムを構成する定点観測センサノードの開発について述べ、2018年1月5日～11日に実施した実地機能試験について報告した。実験により、センサノードの機能確認とデータ収集を行った。

また、本研究テーマのまとめとして、定点観測システムの全体像と現在のシステム構成、残された課題について述べた。現在、定点観測センサノードのハードウェアおよびソフトウェアについては仕様を満たし、データ収集が可能である。運用面についての検討を進めることで実用的なシステムとして稼働したい。

最後に、本研究テーマにおいて、沖縄県および日本の重要な海洋環境であり、また、財産でもあるサンゴの保全に係わる研究に取り組む機会を得られ、システムの開発を行えたことに深く感謝します。