

魚類の種苗生産における計数処理自動化に関する調査研究

沓掛暁史*・佐藤辰雄*・鶴岡一廣*・尾上静正**・坂本進**・渡辺新吾**

*情報産業部・**大分県海洋水産研究センター

Research on Automatic Counting about Seed Production of Fishes

Akifumi KITSUKAKE*・Tatsuo SATO*・Kazuhiro TSURUOKA*・
Shizumasa ONOUE**・Susumu SAKAMOTO**・Shingo WATANABE**

*Information Technology Div.・**Oita Institute of Marine and Fisheries Science

要旨

本報告は、魚類の種苗生産における計数業務の効率化とそれに伴う種苗生産の安定化を図ることを目標とし、特に育成中または出荷時の稚魚と、顕微鏡下での餌料プランクトンとを計数対象として、それぞれの計数自動化処理装置を実現するための調査研究結果である。

稚魚計数処理においては、ビジョンチップを利用した計数処理が稚魚計数に有効であることを確認した。また稚魚計数に適する水路を設計するための予備実験として、市販のトイを用い稚魚および水流の様子を確認した結果、水路幅や斜度等水路試作のための指針を得た。

プランクトン計数処理においては、計数の前処理として画像処理を容易にするため、染色試薬と蛍光反応によるプランクトンの可視化実験を行った。数種の染色試薬の中から、プランクトンの運動の固定が可能で計数に有用なものを選定した。一方、計数対象のプランクトン培養水からは、蛍光反応を得られることが明らかになった。

1. はじめに

県下の海面魚類養殖業は、農林水産統計によると平成13年は14,889百万円を生産しており、県内海面漁業生産額(45,192百万円)の33%を占める重要な産業である。また、水産資源の維持増大のため各地でマダイ等の種苗放流が盛んに行われている。これらの種苗は、天然種苗に依存しているブリ、カンパチ養殖を除くとほとんどが人工的に種苗生産されている。

近年の不況による魚価低迷で厳しい状況にある養殖業の経営安定を図るため、および放流事業の継続拡大には、安定的に良質な種苗を安価に確保することが重要であり、種苗生産過程の自動化による省力化とコスト削減および安定生産が必要である。そこで本調査研究では、魚類の種苗生産における計数業務の自動化に注目する。具体的には、育成中および出荷時の稚魚と、顕微鏡下での餌料プランクトンとを計数対象とし、作業効率の向上とそれに伴う種苗生産の安定化を狙う。本年度は種苗生産の計数自動化を実現するため、稚魚計数については計数に適した撮像素子の検討と水路形状検討のための予備実験を、プランクトン計数については計数のための前処理に関する予備実験と計数アルゴリズムの調査等を行い、次年度以降の各計数装置実現のための課題の抽出を行う。

2. 稚魚計数装置

2.1 稚魚計数装置

稚魚計数装置は、稚魚育成途中の計数管理および種苗出荷時の尾数確認に有用である。現状での計数手法は、夜間、コアーによる柱状サンプリングによって魚数を推定算出する(水槽飼育中の稚魚期)、稚魚を魚網に取り目視にて計数する(30mm～出荷時)、重量から魚数を推定する(30mm～出荷時)というものである。これらはいずれも人手によるもので手間がかかるだけでなく、魚数の推定や目視のために正確ではない。販売種苗等については、選別を兼ねて1尾ずつ計数している。全数あるいは抽出サンプルをより正確・高速に計数することができれば、稚魚計数に要する時間が短縮され、人件費が削減でき、無駄なく生産・出荷することができる。

また、既存の魚数計数装置は、高価で装置自体大きなものが多い。ある製品はベルトコンベア上の魚を計数するもので、水の無い状態でも耐えられる魚種や成魚に適用することができても、わずかな負荷が生育に影響する魚種や稚魚には適用できない。魚道を通る魚に対して、超音波や光センサを用いた計数装置があるが、ゴミ等の異物をも計数する可能性がある。平成14年度即効型地域新生コンソーシアム事業では、市販のカメラで水路上の魚数を計数する装置を開発したが、俊敏な魚の動きを捉えられない場合があった。理想的な稚魚計数装置に

は、正確さ、高フレームレート処理、非接触性、（実用化時には低コスト、可搬性）が求められる。

2.2 ビジョンチップを用いた稚魚計数処理

高フレームレート処理が可能な撮像素子として、光検出器と処理回路を1チップに集積化したビジョンチップがある。その中でも特に、S³PEアーキテクチャに基づくビジョンチップ（以下S³PE-VC）は、画像処理の汎用性を有しながら1,000フレーム/秒の高速処理が可能な高性能視覚センサである⁽¹⁾⁽²⁾。そこで、高フレームレート処理が可能なS³PE-VCを用いて計数処理を実現し、これが稚魚の動きに対応可能かどうかの実験を行った。Fig.1は、S³PE-VCを用いた高速処理実験装置⁽⁴⁾である。透明なドラム上に、魚を模した図形をランダムに貼り付け、これを高速回転させる。LED照明光により生じた図形の影はCCTVレンズを通じ、S³PE-VCに投影される。なお、計数処理のための用いる画像は2値画像とする。

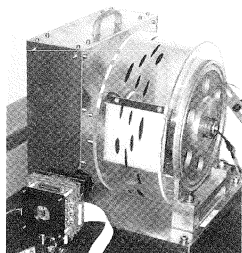


Fig.1 高速処理実験装置の外観

移動する対象を正確に計数するためには、視野内の対象各々へのラベリング処理とトラッキング処理の2段階の処理を用いる⁽⁵⁾。一般的にラベリング処理は計算量が膨大で多くの処理時間を要するが、ここではS³PE-VCの画素並列処理と高速演算の特徴を活かして、2分探索によるラベリング処理を実装し、高速処理を実現している。フレーム間のトラッキング処理も、S³PE-VCの特徴を活かしたSelf-Window法を用い、高速に実現可能である。視野内の対象すべてをトラッキング処理することで、新たに視野内に現れた対象を検出することが可能となる。そして、新しい対象に対してのみラベリング処理し、対象数を累積する。フレーム間で視野内に留まっている対象は、当然累積されない。

S³PE-VCに高速ラベリング処理と高速トラッキング処理を実装し、計数処理を実現した。Fig.1の装置と対称図形とを用いた実験にて、対象の移動速度が4.0m/s以下であれば、S³PE-VCで正確な計数処理が可能であることが明らかになった。これは60mm四方の視野を、対象が15msで通過する速度であり、目視では計数不可能である。実験では、1フレーム当たりの処理時間は1.6msと設定した。なお、S³PE-VCで計数可能な対象の移動速度

は、照明装置の照度と密接に関係する。照明が明るくなれば計数可能な対象の速度も速くなり、本装置に用いたLED照明の照度では4.0m/sであったことを追記する。

ところで、稚魚の遊泳速度は持続速度、中間速度、突発速度に分けられ、この中で突発速度がもっとも速い。稚魚計数時、狭い水路を泳ぐ稚魚は興奮状態であると考えると、体長30~60mmの稚魚の突発速度は0.3~0.6m/s前後と推測できる。これは、S³PE-VCで余裕を持って計測可能な速度である。

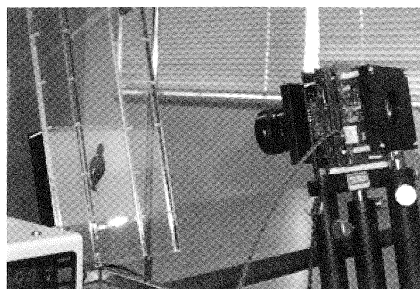


Fig.2 アクリル製水路による実験

また、アクリル製の水路（Fig.2）を用い、水路を通過する魚模擬物体の計数実験を行った。物体を約500mm上方から落下させると、通過する対象の向きに関わらずS³PE-VCで正しく計数する様子を確認できた。

実際の計数装置利用環境下では、計数の阻害要因となる気泡や浮遊するゴミの影響が考えられる。アクリル製の水槽を用い、S³PE-VCによって気泡の撮像実験を行った。水槽内で気泡を発生させると、Fig.3のように気泡の影を検出した。気泡の径が大きくなり密度が疎であれば、S³PE-VCにて視野内すべての連結要素の面積を測定することにより、ある一定面積をしきい値に設定し気泡を雑音として除去することができる。Fig.3の画像においてS³PE-VCによる計数結果は、気泡の影響を受けずに「1」となることを確認できた。

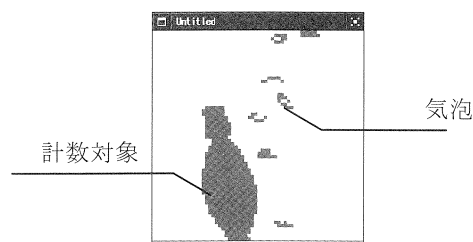


Fig.3 ビジョンチップでの撮像例（対象と気泡）

ただし、本実験でS³PE-VCに実装した計数処理は、対象が完全に分離していることを前提としている。そのため、カメラから見て対象が重なっていたり接触していたりすると正確に計数できない。今後の課題として、S³PE-VCの処理に接触している対象の分離処理を導入するか、水路を通過中に稚魚同士が接触しないような水路

の検討が必要である。

2.3 稚魚計数装置のための水路検討

稚魚計数を画像処理によって行う場合、カメラから見て稚魚同士が重なって一方が隠れたり、複数尾が接触し固まりになっていると誤計数の原因となる。そこで、稚魚が重ならないような水路を検討するための予備実験を行い、今後の水路試作の参考とする。

市販のトイを水路として、マダイ稚魚を実際に流し、その動きを確認する。トイは幅 40mm と 70mm, 110mm の角型トイと、丸型アクリルパイプを使用する。稚魚はバケツより直接水路へ投入し、水路を滑るように通過させる。その結果、水路の幅が 40mm と狭いとき、当然ながら稚魚同士の接触が起こりやすい。狭い水路を用いるならば、稚魚投入時に一尾ずつ分離して流れていく工夫が必要である。水路の角度については、斜度が小さいと魚体とトイとの間の摩擦により稚魚が途中で止まってしまふことがあった。また、稚魚と水とをほぼ垂直に落下する方法では、落下中に多量の気泡が発生し、魚影を確認するのが困難であった。斜度が大きくなると水面に落下する際、マサバ等の衝撃に弱い魚種だと魚体にダメージを与えることが懸念される。デジタルビデオカメラにて撮影した動画を確認すると、今回の実験では水路の斜度が 20~30 度で流すのが最も適当であった。

実験ではバケツからトイへ直接稚魚と海水を流し込んだが、こうすると流し始めたときに水流に逆らって稚魚が遡上し、流し終わるときに稚魚が固まってトイへ進入する。結果として水路上で固まりとなり、計数処理に不適な状態が発生する。今後は、稚魚の投入方法にも検討の余地がある。また特許を検索すると、本研究と同じく魚計数のために魚道を工夫したものがいくつかある。羽根付きのコンベアベルトを利用したもの（特願平 4-267996）や、活魚が重複して泳げないようにした水路（特願平 11-222518）などである。今年度は水路形状を確定するまでには至らなかったが、これらを参考に水路の検討を進める。

3. 餌プランクトン計数装置

3.1 餌プランクトン計数装置

海洋水産研究センターなどの試験研究機関では、孵化した稚魚の餌としてキートセロス等の植物プランクトンや、ワムシ、アルテミア等の動物プランクトンを育成しており、その生育状況や密度を調べるため顕微鏡下でプランクトンを計数する業務を行っている。これは毎日 1 人で 1~2 時間を要しており、業務の効率を改善するために自動計数装置が求められている。同様の業務は、種苗生産を行う研究施設や漁業公社、民間業者等においても

行われる。ここでの計数装置には、成育データの信頼性を高めるための正確さ、作業効率を向上するため処理の高速性が求められる。半透明のプランクトンを画像中で認識・計数することは非常に困難であり、画像処理を容易にする工夫が必要である。

3.2 画像による計数のためのプランクトンの可視化

今年度は染色と蛍光により、計数が容易になるような画像が取得可能か検討する。染色実験は主に、形状が複雑で計数が困難なシオミズツボワムシについて行う。また、キートセロスとシオミズツボワムシについては蛍光可否を確認し、分光蛍光光度計にて励起波長と蛍光波長を測定する。

Table 1 と Fig.4 に、シオミズツボワムシの染色実験結果を示す。どの染色液でも着色できたが、一部の染色液でワムシの動きを固定ができなかった。計数時にワムシが運動するとそれが計数誤差につながるため、今後、計数処理の検討では、固定可能な染色液についての画像のみ取り扱う。

Table 1 シオミズツボワムシの染色実験結果

染色試薬	染色	固定	画像例
ルゴール液(従来の固定液)	○	○	(1)
ルゴールエオシン溶液	○	○	(2)
0.1%エリスロシンB溶液	○	×	--
ルゴール+ 0.1%エリスロシンB溶液	○	○	(3)
ニュークリステイン	○	×	--

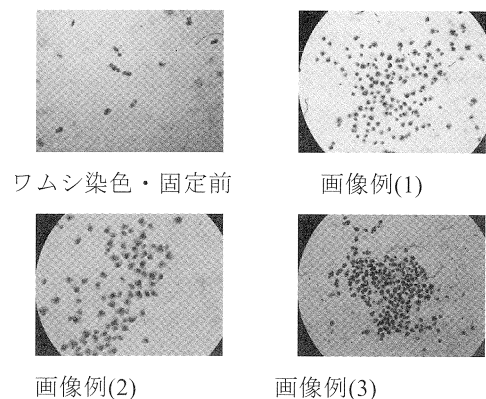


Fig. 4 シオミズツボワムシの染色画像

また、キートセロス培養水とシオミズツボワムシ培養水、クロレラ培養水の 3 種に近紫外線を照射すると蛍光を発することを、蛍光顕微鏡による目視にて確認した。分光蛍光光度計にて励起波長と蛍光波長を測定すると、いずれも励起波長 298nm で 598nm の蛍光を発した。ただし、シオミズツボワムシ培養水には餌としてクロレラが混入しており、ワムシに取り込まれたクロレラが蛍光

を発していたのか、クロレラ単体が蛍光を発していたのか、現時点では区別ができていない。ワムシの体内に蛍光が確認できれば、蛍光画像と同一の顕微鏡画像とを比較し、計数対象のワムシとそれ以外（クロレラやワムシ卵、ゴミ等の異物）との区別が可能と考えられる。

3.3 プランクトン計数処理についての調査

プランクトンの計数には、コロニーカウンターや血球計数装置の転用が考えられるが、これらは非常に高価であり手軽に利用できるとは考えにくい。実体顕微鏡の接眼部にカメラを取り付け、画像処理により計数結果をモニタできれば、比較的安価に装置を構成することが可能と考えられる。計数方法については、顕微鏡の視野内で計数対象しか存在しないのであれば、連結対象をラベリングし計数する手法や、高次局所自己相関に基づく特徴を用いた計数手法などが提案されており、これらを活用することが可能である。

しかし、日常の計数業務で収集したプランクトン顕微鏡画像をみると、ワムシやアルテミアの場合はその形状が複雑であることから、卵そのものやゴミなどと計数対象とを判別することが難しい。文献によると、ワムシの判別・計数について、ワムシの周囲長やモーメント、独自の形状計数を用いて計数精度を向上させた例⁶⁾があり、これが参考になると考える。

また、特定波長光に蛍光を発するプランクトンを蛍光画像として取得し、蛍光画像と同一の顕微鏡画像とを比較することにより、計数対象のワムシとそれ以外（クロレラやワムシ卵、ゴミ等の異物）との区別が期待できる⁶⁾。さらに、数十万オーダーの計数を行うキートセロス等の植物プランクトンに関しては、培養水サンプル自身の色相や、近紫外線照射による蛍光光度を計測することによって、プランクトン数を推定する手法も考えられる。

4. おわりに

本年度の研究では、稚魚とプランクトンとを計数対象として、それぞれの計数自動化処理装置を実現するための調査研究を行った。

稚魚計数処理においては、実験により S³PE-VC を利用した稚魚の高速計数処理への有用性を確認できた。また計数に適した水路を検討するため、市販のトイを用いて稚魚および水流の様子を確認した結果、水路幅や斜度等水路試作のための指針を得ることができた。ただし、市販のトイに稚魚を流すだけでは稚魚が固まりとなって流れ落ちるため、このままでは計数処理に不向きである。今後実用化のために、稚魚の重なりや水流、気泡に起因する誤計数をどのように回避（S³PE-VC 内での処理または水路の工夫）するかを引き続き検討する。実用化に向

けて具体的には、次年度中にビジョンチップ他周辺装置に対し防水対策を施し、簡易水路を用いての試作装置を作成、実験を行いたい。

プランクトン計数処理においては、画像処理を容易にするため試薬による染色実験を行い、あわせて顕微鏡下のプランクトン画像を収集した。プランクトンの運動が固定できた染色試薬については、撮影条件を変えた様々な画像を収集し、これらを用いて今後画像処理プログラムを作成する。また計数を容易にするため、植物および動物プランクトン培養水について蛍光反応を測定した結果、これらが近紫外線により蛍光を発することが分かった。蛍光画像の活用により、計数対象とゴミ等の異物との切り分けが期待できるため、次年度中に蛍光画像を計数に活用することが可能か判定したい。

実用化を目指す自動計数装置は、魚類と同様の生産工程を持つ甲殻類等の種苗生産にも応用できる。本調査研究で想定する計数装置を即効的に活用できるのは、県内では大分県海洋水産研究センターと大分県漁業公社、日本栽培漁業協会上浦事業場がある。その後、県内大手 5 経営体の海産魚類の種苗生産業者、さらに全国では沿海各都道府県の公設水産試験場や漁業公社、および日本栽培漁業協会（16 カ所）や多くの民間種苗生産施設等への活用が見込まれる。今年度の調査研究結果を基にして、稚魚および顕微鏡下の餌プランクトンに対する計数実験を進め、試作品の開発と低コストでの実用化に向けた課題解決に向けて取り組んでいきたい。

参考文献

- 1) 鏡慎吾,小室孝,小川一哉,石井抱,石川正俊:“64×64 PE を集積した超並列ビジョンチップとそのシステム開発”,第4回システム LSI 琵琶湖ワークショップ, pp. 271-274,2000.
- 2) 小室孝,石川正俊:“PE 結合機能を持つ汎用デジタルビジョンチップの設計”,信学技報,pp. 9-16,2001.
- 3) 沓掛暁史,佐藤辰雄,鏡慎吾,小室孝,石川正俊:“ビジョンチップの高速検査計測への適用”,第19回日本ロボット学会学術講演会,1F31,2001.
- 4) 渡辺義浩,小室孝,鏡慎吾,石川正俊:“ビジョンチップを用いた動画画像統計解析とそのリアルタイム計測への応用”,計測自動制御学会 第20回センシングフォーラム資料,pp. 325-330,2003.
- 5) 神奈川県ほか:“水産用生物映像処理方法および処理システム”,特許公開番号 8-271447.
- 6) 熊谷道夫:“プランクトン蛍光の画像解析自動処理システムの開発”,計算科学技術活用型特定研究開発推進事業研究報告会予稿集 平成12年.