

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03545

研究課題名(和文)植物内の水分・栄養物質動態をin-situモニタリング可能な超小型維管束センサ

研究課題名(英文)Micro-scale plant vascular sensor for monitoring of sap dynamics and nutrients dynamics in plant shoots

研究代表者

下川 房男(Shimokawa, Fusao)

香川大学・創造工学部・教授

研究者番号：90580598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、MEMS技術をベースに、水分・栄養物質動態をin-situで観察可能な超小型維管束(道管流/師管流)センサを新規に提案し、擬似植物実験系やモデル植物を用いて、その基本動作検証に成功した。道管流センサでは、(1)微小流速測定、(2)高速応答性、(3)非破壊測定、(4)測定再現性等のセンサ性能に関する知見を取得し、提案したセンサの有用性を実証した。師管流センサでは、流れの向き(師管特有の転流現象に対応)や流速測定の実現性を確認するとともに、維管束(道管/師管)の位置判別機能によって師管位置を特定し、その情報をもとに、高純度な師管液の採取が可能なことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)： We newly proposed the microscale xylem-sap-dynamics (flow velocity) sensor that uses the measuring principle of the Granier method. We also fabricated micro-sensor chips for functional verification by using MEMS technology, and assembled them on a resin film for mounting on the epidermis of plants. Furthermore, we measured the sap dynamics by using a mimicked plant experimental setup and actual plant, and succeeded in measuring the flow velocity(0-500 $\mu\text{m/s}$). We also proposed the microscale phloem-sap-dynamics (flow velocity and direction) sensor, and confirmed the possibility of sap dynamic measurement in the actual plant shoots. We demonstrated the feasibility of a novel nutrients dynamics sensor that can conveniently identify the phloem positions and extract pure photosynthates samples in agricultural situations.

研究分野：マイクロ・ナノデバイス

キーワード：IoT スマート農業 センサシステム 水分動態センサ 栄養物質動態センサ

1. 研究開始当初の背景

作物、果樹の生産では、植物の生育状態に合わせて適切な時期に灌水や施肥補給を行なう必要があるが、現状、大半の農業現場では、無降雨日数に基づき、経験や勘に頼った灌水や養分補給が行なわれている。今後、植物工場等の施設植物生産が増加の一途を辿ることが予測されており、植物の生体情報に基づいて作物や果樹の水分制御や施肥管理が実現できれば、作物の生産性向上や高品質果実の安定生産に繋がることから、超小型の「維管束（道管流/師管流）センサ」の開発が顕在化している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、MEMS 技術を駆使して超小型「維管束（道管流/師管流）センサ」を実現すること、更にこれらのセンサを組合せ、従来測定できなかった植物の新梢末端や果柄等の末端・細部を含む植物全体での水分・栄養物質動態を明らかにするための基本データを取得することである。

3. 研究の方法

「道管流センサ」では、提案したセンサの基本性能を明らかにするとともに、実際の植物に装着可能なセンサ実装から、センサのシステム化を推進し、これを用いて植物環境（温度、湿度、CO₂、光量等）と植物生理（樹液流量等の水分動態）との関係を解き明かす学術データの取得を行う。また「師管流センサ」では、センサ単体での基本動作実験から、センサの有用性検証実験（①師管流の流れの方向や②その流量測定、③道管/師管の位置判別機能、④栄養物質の採取等）までを行なう。

4. 研究成果

(1) 道管流センサに関する主な成果

図1は、本研究で提案した道管流センサの概略構成である。グラニエ法を利用した水分動態の測定に加え、植物の生育に必要な栄養物質動態（肥料養分の多少と密接な関係にある硝酸態窒素）を直接測定可能な電気伝導率センサを付加した高機能センサである。

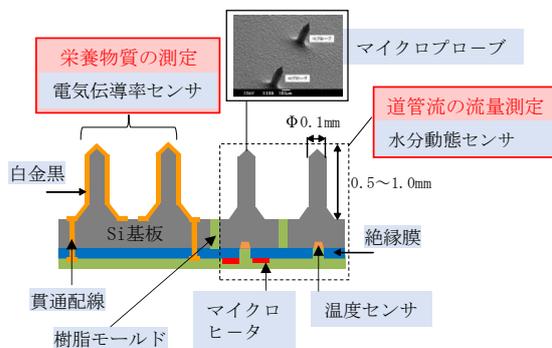


図1 提案した高機能道管流センサの概略構成

次に、製作した水分動態センサを用いて、植物体内の流速を測定するにあたり、その前

段階として、図2に示す疑似植物実験系を用いて、センサの基本特性を調べた。ここで、疑似植物実験系は、微小流量制御が可能なマイクロシリンジポンプと、植物の新梢末端部を模した直径φ数mm程度のマイクロチューブから成る。マイクロ電子天秤にて、同時に重量測定も可能である。

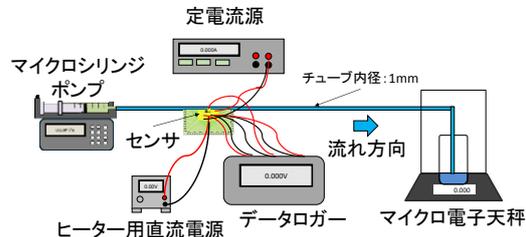


図2 疑似植物実験系の概略構成

図3は、上記の疑似植物実験系を用いて、取得したセンサ出力と流速（一般的な植物の流速範囲で取得）との関係である。図より、センサ出力値から、従来の市販のグラニエセンサと同様に、流速を容易に算出することができる。

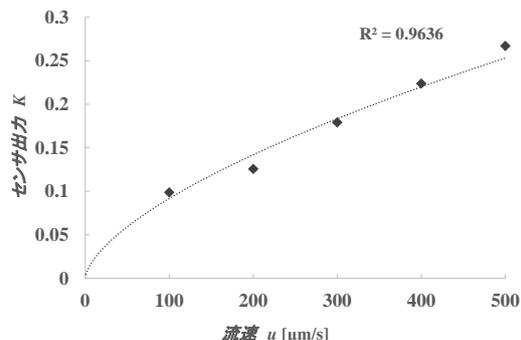


図3 水分動態センサのセンサ出力と流速との関係

更に、図4は、実際の植物へのセンサの簡便な装着と、外界環境の影響を極力受けることがなく、最終的には、屋外での使用に耐え得るセンサの実装法を模索し、実現したセンサチップのフィルム実装法である。チップは、ポリイミド製のフィルム上に塔際されており、信頼性のある樹脂材料でポッティングされている。水中暴露、機械的曲げ試験等の予備的な耐環境試験を行なったが、チップ実装前後での素子特性（温度センサ）に大きな変化がないことを確認することができた。

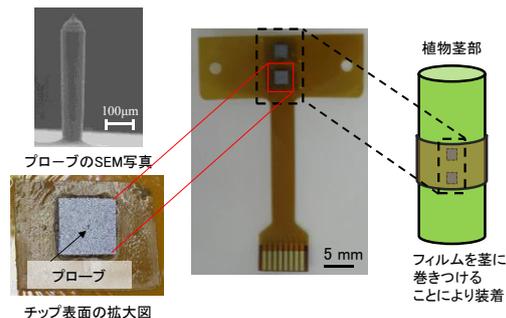


図4 製作したセンサチップとその実装法

また、図 5 は、観葉植物（ユーパトリウム、茎径φ2-3mm程度）を用いて、実験室内で、水分動態を測定した一例である。ここでは、植物への囲いを用いて、日中変化を人工的に再現し（夜：光照射なし/昼：光照射あり）、その際の流速変化を調べた。光照射のあり/なしにともない、植物体内を流れる樹液流の流速が変化している様子を確認することができた。また、一般の植物体内を流れる樹液流のオーダー（数十～数百μm/s）とも一致しており、かつバックグラウンドの変化や測定の再現性等から、製作したセンサにおいて、10μl/s程度の測定分解能が得られる見通しを得た。

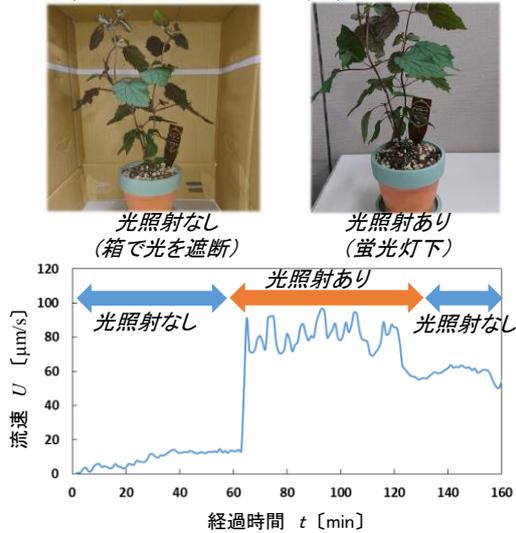


図 5 水分動態センサを用いた植物での評価の一例

更に、もう一つのセンサである栄養物質動態センサに関しては、製作したセンサチップの2本のマイクロプローブ上に絶縁膜を堆積した後、Au 薄膜、Au メッキを形成し、対向電極を構成して、電気伝導率（EC）の測定を試みた。その結果、市販の電気伝導率センサ（セル定数：約 550 程度）に対して、まだ十分ではないものの、セル定数を数千程度まで低減することで、植物体内の電気伝導率を測定可能な見通しを得ることができた。

以上のように、従来測定できなかった植物体内の新梢末端等の細部の樹液流速が測定可能なことが明らかとなったため、植物環境と植物生理（水分動態）との詳細な実験を行なうべく、多ch用センサ評価システム（ヒータ、温度センサ等の駆動電源付きロガー、同時測定



図 6 製作した多ch用センサシステムの外観と仕様

可能なセンサ:8ch)を製作し、気象器内や屋外での実験に供した。図 6 は、製作したセンサシステムの外観とその概略仕様である。

(2) 師管流センサに関する主な成果

図 8 に、本研究で提案した超小型師管流センサの概略構成と、このセンサチップ上に搭載し、各要素センサによって得られる植物の生体情報（①流れの向き、②流速、③維管束の位置情報（道管/師管の位置判別機能）、④師管液の採取）を纏めて示す。

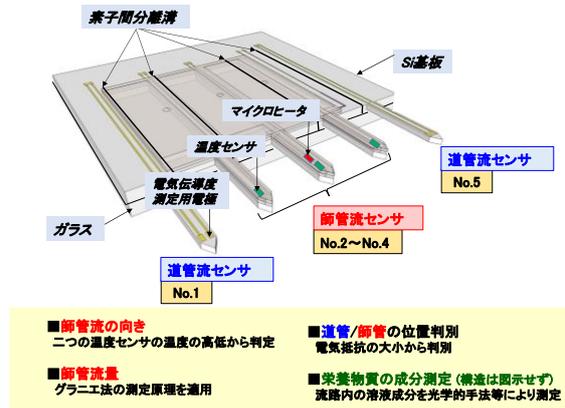
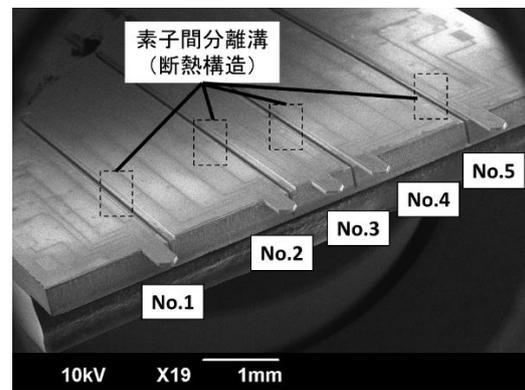
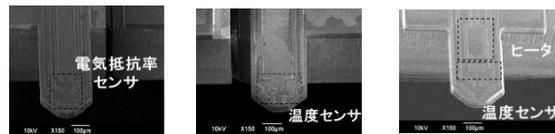


図 8 提案した超小型師管流センサの概略構成

図 9(a)に、製作した超小型師管流センサのSEM 写真(全体図)と(b)～(d)に各プローブ部のSEM 写真(マイクロヒータや温度センサ部等)を示す。これより、カンチレバー型のマイクロプローブ上に所望の機能素子を塔際したセンサチップが形成できていることがわかる。



(a) 製作した師管流センサの全体図



(b) No. 1, 5 (c) No. 2, 4 (d) No. 3

図 9 製作した超小型師管流センサの全体と各プローブ部のSEM 写真

この超小型師管流センサにおいて、正確な温度測定には、マイクロヒータで発生した熱が、他のプローブに、Si 基板を通して伝達しないことが重要となる。そのため、断熱構造

がある場合と、断熱構造がない場合のセンサチップの熱分布をサーモグラフィを用いて調べた結果、断熱構造を形成することにより、中央のプロブの温度のみが高く（図8・図9 No. 3）、他のプロブの先端部は、ほぼ室温程度に維持されており、その効果を検証することができた（図10）。

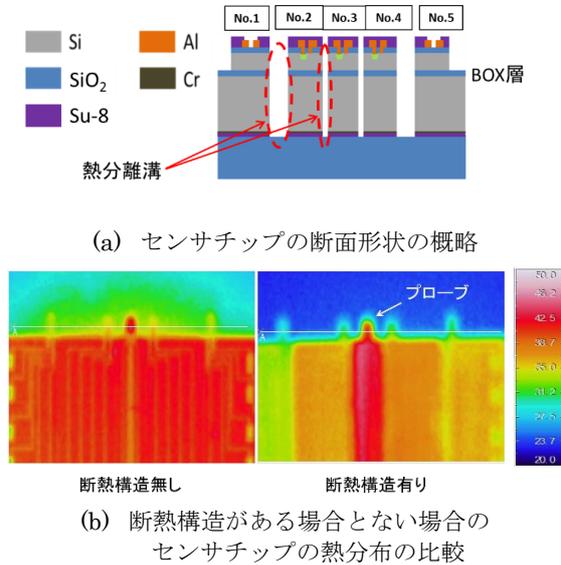


図10 センサチップの断面構造と断熱効果

次に、本研究の超小型師管流センサを用いて実現した①流れの向き、②流速、③維管束の位置情報（道管/師管の位置判別機能）、④師管液の採取の各実験結果を示す。

図11は、疑似植物実具警を用いて、測定した流れの向きに関する実験結果の一例である。温度センサ（No. 2）に対し、温度センサ（No. 4）の方が、常に高い温度を示していることから、No. 2 から No. 4 の方向に、水が流れていると判断することができる。これは、実際の流れの方向とも一致しており、本研究の超小型師管流センサの有用性が明らかとなった。維管束の一つの器官である師管には、転流現象があることが知られており、道管のように、根から植物末端の方向に一方向の流れるとは限らないが、提案したセンサにより、その判定をすることが可能となり、実植物においても確認することができた。

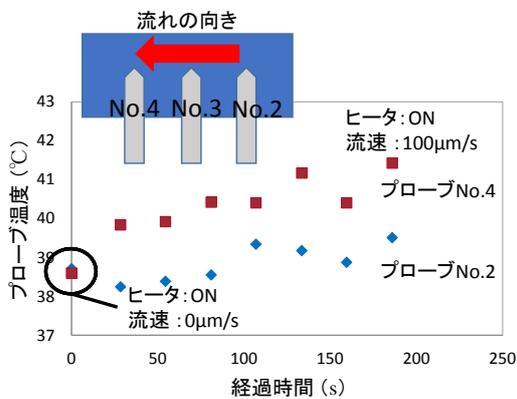


図11 流れの向きに関する実験結果

更に、流速に関する実験結果を、市販のグラニエセンサと比較して図12に示す。本研究のセンサは、市販のセンサ（松、桜等の高木で測定された実験結果を纏めた曲線、文献①）に比べて、プロブ部のサイズが1/10以下であるにも関わらず、ほぼ同程度のセンサ出力が得られること、また図10で述べた断熱構造の導入により、より高感度な測定が可能となった。

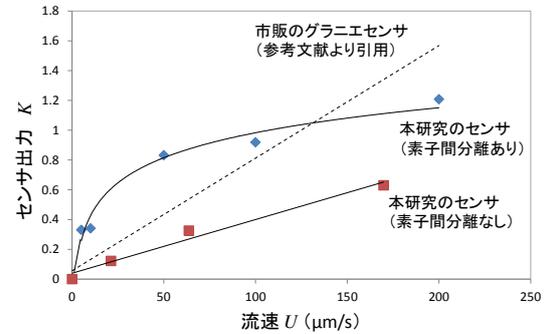


図12 流速測定に関する実験結果

次に、高純度な師管液の採取とそのためセンサに装着した位置判別センサに関する基本特性評価結果について述べる。

図13は、提案した高機能液採取デバイスの概略構成である。デバイスには、電気伝導率の大小により（道管流は水分やミネラルや無機物が多く含まれているため、師管流に比べて電気抵抗が低い）、道管/師管の位置判別を行う機能と、それをもとに師管液採取を行う機能が搭載されている。研究当初の予備実験では、管路構造の先端部に液採取口を設けていたが、植物体にセンサを挿入した際に、採取口に組織等が詰まる現象が見られたため、図13に示すように採取口は、管路の側壁部に形成することにした。また、より高純度な液採取を狙いに、道管と師管を完全に分離する構造体（Su-8厚膜樹脂）を新規に設けた。

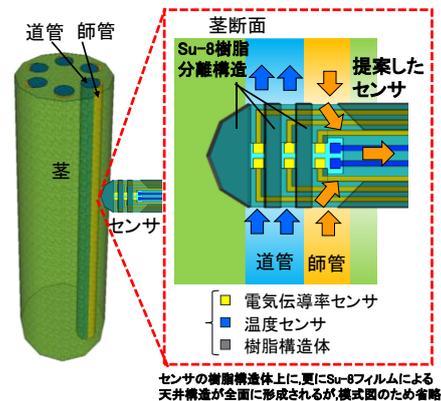


図13 高機能師管液採取デバイスの概略構成

図14に、製作した高機能師管液採取デバイスの外観を示す。尚、液採取口の寸法や、道管/師管位置、デバイスの厚み等は、きゅうりの新梢末端の茎径（φ数~5mm程度の場合の実際のサイズ）をもとに製作している。

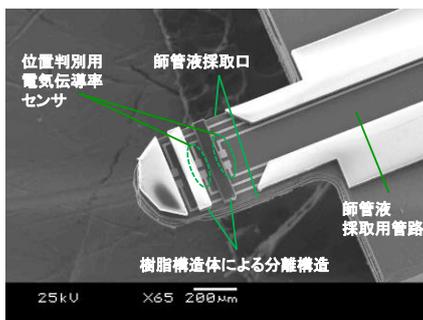


図 14 製作した高機能師管液採取デバイスの外観

次に、電気伝導率センサと考案した樹脂構造体による分離構造によって、植物の道管/師管位置を正確に判別できることを示す。

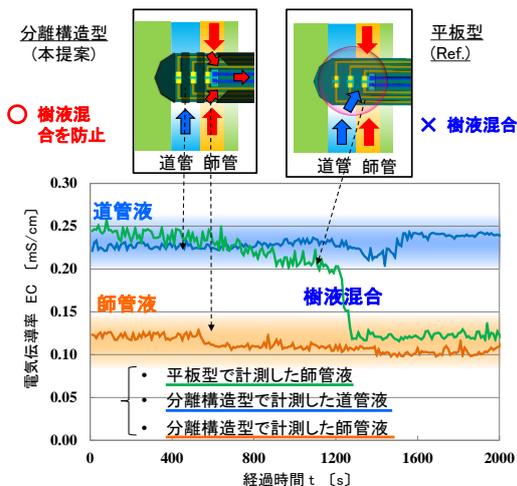


図 15 電気伝導率センサを用いた位置判別実験結果

図 15 は、図 14 の師管液採取デバイスをきゅうりの茎に挿入し、道管液/師管液の電気伝導率を 30 分程度に渡りモニタリングした結果である。平板型では、液の混合が見られるが、樹脂の分離構造を設けることにより、道管/師管ともに安定した電気伝導率の値を示すことがわかる。このことは、提案した高機能師管液採取デバイスにより、現状の EDTA 法やアブラムシ口針切断法では、本質的な課題が多い中で (高純度、非破壊、全ての植物体への適用性、オンサイトの長期測定の実現)、高純度な師管液が採取可能な見通しが得られた。

最後に、図 16 に、提案したデバイスを用いて、師管位置を特定した後、師管液を採取した際の様子を示す。毛管現象によって、溢れ

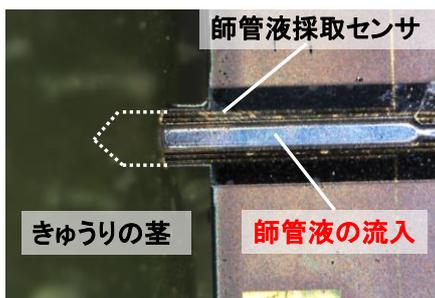


図 16 提案したデバイスによる師管液採取の様子

出た師管液が、管路に流入する様子を確認することができた。現時点では、定量化までには至っていないが、成分分析手法の一つである液体クロマトグラフィを用いることで、光合成産物である糖 (ショ糖, ブドウ糖, 果糖) の含有を確認することができた。

(3) 国内外における位置づけとインパクト

従来、道管流の計測に関しては、グラニエ法を用いた直径 $\phi 10\text{cm}$ 以上の高木等の測定や茎熱収支法を用いた直径 $\phi 8\text{mm}$ 程度の植物の測定程度であったが、本研究のセンサの適用により、植物末端や器官等のこれまで直接測定できなかった細部 (直径 $\phi 1\text{mm}\sim 5\text{mm}$) の流速測定できることがモデル植物実験等により明らかとなった。その実現性を明らかにしたインパクトは大きい。

更に、師管流の計測に関しても、単一のセンサにおいて、①師管流の流れの方向や②その流速測定、③道管/師管の位置判別機能、④栄養物質の採取等を行える機能集積化した例はなく、基本動作検証により、センサの有用性を実証した意義は、極めて大きい。特に、液採取デバイスの 2 件の国際会議発表 (*IEEE Sensors 2016*, *IEEE Transducers 2017*, 何れも採択率 40-50%) では、何れも Best Paper Finalist にノミネートされ (各々, 33 件/617 件, 9 件/333 件), 独創性・有用性があり, 学術的にも極めて高い水準と認められたことは, その裏づけの一つである。

(4) 今後の展望

今後は、本研究で提案した道管流センサの高機能化・高性能化を追求し、学術的には、植物環境と植物生理との関係を解き明かすデータを系統的に取得していく必要がある。また実用的には、植物の生育状態に合わせて適切な時期に灌水や施肥補給を行なうための重要な情報を提供し、最終的には作物の収量増大や高品質果実の安定生産に繋げることを目指す。更に、師管流センサにおいては、特に師管液採取デバイスを多くの研究機関での基礎的実験に供するプロトタイプとして完成させ、先端的な植物科学の分野のみならず、育種や栽培、植物環境管理等、植物フェノミクス分野への展開を目指した研究を推し進める予定である。

<引用文献>

① Granier, A (1996) Sap flow measurement using the radial flowmeter technique, *INRA-d'Ecophysologie Forestière*, Champaenoux

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

① Y. Yano, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Phloem-sap-dynamics sensor device for monitoring photosynthates transportation in plant shoot, *Japanese Journal of Applied Physics*, a peer-reviewed paper, Vol. 57 (2018)

067001-1-067001-7,DOI:10.7567/JJAP.57.067001.

②A. Ono, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Pure photosynthates extraction sensor device with highly-precise phloem/xylem position identification, IEEE SENSORS JOURNAL, a peer-reviewed paper, Vol.18(4), 2018,pp.1739-1746.DOI:10.1109/JSEN.2017.2787112.

③小林剛, 種子田春彦, 高等植物の道管流・師管流計測技術と生態学における展開, 日本生態学会誌, 査読有, Vol. 66, 2016, pp. 439-446.

④越智誠, 小林剛, 下川房男他, MEMS 技術を用いた超小型道管流センサ, 日本生態学会誌, 査読有, Vol. 66, 2016, pp. 465-475.

〔学会発表〕(計4件)

①R. Izumi, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Biological information (pH/EC) sensor device for quantitative monitoring plant health conditions, IEEE SENSORS 2017, a peer-reviewed paper, DOI:10.1109/ICSENS.2017.8234170.

②A. Ono, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Highly pure phloem-sap-extraction sensor device for direct component analysis of nutrition in plant shoot, IEEE TRANSDUCERS 2017, a peer-reviewed paper, DOI:10.1109/TRANSDUCERS.2017.7994369.

③A. Ono, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Microscale phloem sap extraction sensor device for measuring biological information in plant branches, IEEE SENSORS 2016, a peer-reviewed paper, DOI: 10.1109/ICSENS.2016.7808532.

④A. Ono, T. Kobayashi, F. Shimokawa et.al., Microscale phloem sap dynamics measurement sensor device for monitoring the transport of nutritive substances in plant shoots, 29th International Microprocesses and Nanotechnology Conference(MNC), a peer-reviewed paper, 2016,10P-7-94.

〔産業財産権〕

○出願状況(計3件)

名称: 維管束液計測センサ
発明者: 小野 瑛人, 下川 房男, 小林剛, 他
権利者: 同上

種類: 特許
番号: PCT/JP2017/035407
出願年月日: 2017年9月29日
国内外の別: 外国

名称: 維管束液流速センサ, および維管束液流速センサの製造方法
発明者: 中田 匡祐, 下川 房男, 小林剛, 他
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特願 2017-046926

出願年月日: 2017年3月13日
国内外の別: 国内

名称: 樹液流捕集装置の製造方法
発明者: 下川 房男, 小林剛, 他
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特願 2015-204604
出願年月日: 2015年10月16日
国内外の別: 国内

○取得状況(計4件)

名称: Plant water dynamics sensor
発明者: F.Shimokawa, T. Kobayashi et.al.
権利者: 同上
種類: 特許
番号: US 9,857,391 B2
取得年月日: 2018年1月2日
国内外の別: 外国(米国)

名称: 植物水分動態センサ
発明者: 下川 房男, 小林剛, 他
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許第 6083745 号
取得年月日: 2017年2月3日
国内外の別: 国内

名称: Plant water dynamics sensor
発明者: F.Shimokawa, T. Kobayashi et.al.
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 2015212258
取得年月日: 2017年1月27日
国内外の別: 外国(オーストラリア)

名称: 植物水分動態センサ
発明者: 下川 房男, 小林剛, 他
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許第 5946142 号
取得年月日: 2016年6月10日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者
下川 房男 (SHIMOKAWA Fusao)
香川大学・創造工学部・教授
研究者番号: 90580598

(2) 研究分担者
高尾 英邦 (TAKAO Hidekuni)
香川大学・創造工学部・教授
研究者番号: 40314091

小林 剛 (KOBAYASHI Tsuyoshi)
香川大学・農学部・准教授
研究者番号: 70346633