

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H00423

研究課題名（和文）概日リズムの攪乱に由来する植物生育不安定性とノンパラメトリック栽培環境最適化

研究課題名（英文）Plant growth instability originated from disturbance of circadian rhythm and optimization of nonparametric cultivation environment

研究代表者

福田 弘和（Fukuda, Hirokazu）

大阪公立大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90405358

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,000,000円

研究成果の概要（和文）：植物生産システムの高度自動化における生体内のノイズ増幅・不安定性を解明し、自動制御における安定性の確立を目指した。本研究は、(A)新規技術としてノンパラメトリック栽培環境最適化による不安定性の低減技術、(B)数理・情報学的基盤の確立（多重周期性と不安定性の数理モデル）、(C)生理学的機序の解明（生育不安定性の生理学的機序解明）、の3つの項目に対し研究を行った。結果として、(A)量産型人工光植物工場における改良型の生産フロー数理モデルを基にした概日リズムの攪乱による生育不安定性理論、(B)VR操作型ロボットのデジタルモデル開発、(C)生育と概日時計の連成モデルの開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、植物生産システムの高度自動化における生体内のノイズ増幅と不安定性のメカニズムを解明し、安定した自動制御システムの確立に寄与する点にある。不安定性の低減技術、数理モデルの構築、生理学的機序の解明により、植物生産の効率と品質が向上する可能性が示された。特に、概日リズムの攪乱による生育不安定性理論やVR操作型ロボットのデジタルモデル開発は、農業分野における新たな学術として重要である。社会的意義としては、これらの成果が実用化されることで、植物工場などの自動化システムだけに留まらず、持続可能な農業生産の推進、食料供給の安定化、そして農業従事者の労働負担の軽減が期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to elucidate the amplification of noise and instability within plant organisms in the advanced automation of plant production systems and to establish stability in automatic control. This research focused on three main aspects: (A) Development of a new technology to reduce instability through non-parametric cultivation environment optimization, (B) Establishment of mathematical and informatics foundations (mathematical models of multiperiodicity and instability), and (C) Elucidation of physiological mechanisms (clarification of the physiological mechanisms of growth instability). As a result, we achieved: (A) A theory of growth instability due to circadian rhythm disruption based on an improved production flow mathematical model in mass-production artificial light plant factories, (B) Development of a digital model for VR-operated robots, and (C) Development of a coupled model of growth and circadian clocks.

研究分野：農業工学

キーワード：植物工場 オミクス 不安定性 栽培環境最適化 フェノタイピング

1. 研究開始当初の背景

2010年代後半より、植物工場の国際競争が激化している。研究開発投資力が海外と比べ劣る中で、知財化に優れた「AI栽培ロボットによる自動化」の研究開発が重要となっている。さらに、慢性的な労働者不足は、これに拍車をかけている。産業課題と技術課題、そしてこれらの根底にある学術的課題を俯瞰すると、生物に特有の「生育不安定性」の解明が、「自動制御における安定性の確保」における鍵となっている。生育不安定性の要因は、種子の個体差(内部ノイズ)、環境の不均一性(外部ノイズ)、非線形環境応答や個体間における相互作用などである。現在、各要因に対し、ゲノム解析から時系列フェノタイプングなど、先端技術を総動員して研究が行われているが、生体安定性に対する進展は乏しく、大きな課題となっている。

植物工場においてレタスが突如生育不良を起こす例が知られる。非24時間周期の明暗サイクルにおける生理障害、30分にまで夜間を短縮した条件での生育異常、極弱の環境刺激による著しい生育低下などが生じる。これらはどれも、実際の生産現場において、天候不順や作業用照明によって断片的に発生し得る。また、これらはいわゆる一般的な栽培環境パラメータ(光質や温度など)とは異なる変化であり、時間軸上の変化(ノンパラメトリックな変化)と捉えられる。このように、ノンパラメトリック栽培環境最適化の必要性が示されているが、従来の知見では解明は難しい。

一方で現在、ICTを用いた大規模な生体計測技術(Phenotyping技術)の導入が急速に進んでいる。しかしながら、得られる高時間分解能の生育データは、非常に複雑であり、高度な解析技術が求められている。例えば、植物工場(育苗室)におけるレタス苗の成長における複雑な時系列データ(20分毎に撮影された動画)から、Optical Flow解析による成長ベクトルを指標として得た高時間分解能かつ長期間の生育データには、概日リズム(24時間周期)が観測されると同時に、空調や養液ポンプなどの機械的な振動周期(約1~3時間周期)も観測され、さらには室外機の稼働効率などを介して天候の変動(数日~数週間周期)と季節の変動(年周期)も観察され、多重周期性が確認される。このように、高時間分解能かつ長期間の生育データには、環境がもつ多重周期性とそれに対する植物の階層性(細胞・器官・個体レベル)が関与しており、数理・情報学的研究がより一層重要となっている。

このような背景を下に、植物生育不安定性のメカニズムの解明とノンパラメトリック栽培環境最適化としての基礎理論の構築が求められている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、第一に、環境ならびに生育時系列データの多重周期性に着目して、「植物の生育不安定性」を解明することである。そして第二に、従来の栽培環境パラメータの最適化問題とは区別し、新規に「ノンパラメトリック栽培環境最適化法」の枠組みを構築する。

目的の実現のために、応募者らが独自に提唱している「概日リズムの攪乱に由来する生育不安定化のメカニズム」を活用する。個々の細胞は概日リズムを持つが、その位相(各細胞の体内時刻)は往々にして数時間ズレており、細胞同士に時差がある。そして、この細胞同士の時差は“僅かな環境刺激”に対しても過剰に拡大する。細胞同士の時差が拡大し、細胞間の脱同期現象が生じると、生体内の恒常性が失われ、生育不良が生じる。これが「概日リズムの攪乱に由来する生育不安定化」のシナリオである。

本研究によって目指す新規学術は、時系列データの高精度解析法の基盤(概日~潮汐~年の多重周期性の統合モデル、多重周期性を効率的に扱うための機械学習用データベースの設計原理、生育不安定性の一般理論である。また、目指す革新的な農学技術は、生育安定性の数値シミュレーション技術、ノンパラメトリック栽培環境最適化による不安定性の低減技術、である。本研究チームの優れた成果である作物の時計遺伝子群の同定に関する知見を結集し、ノンパラメトリック栽培環境がもたらす生理学的影響も解明することを目的に行った。

3. 研究の方法

本研究では、生理学、数理科学、情報学、産業技術の専門家からなる異分野連携チームを編成し、植物工場を対象に研究を行う。また、“時系列解析と最適化”を中心とした理論的な研究計画としつつ、既存の時系列データを最大限利用し(レタス3条件456点、トマト12条件455点のRNA-Seqデータ等)、高いコストパフォーマンス性と実現可能性を確保する。手法については、「生理学」としてRNA-Seq解析からストレス解析、「数理科学」として多重振動モデルから数値シミュレーション、「情報学」としてはデータベースから機械学習、「農業工学」としては利益モデルから生体計測技術に至るまでとし、農学応用までのプラットフォームを構築できるよう総合的な研究開発とした。本研究によって目指す新規学術は、時系列データの高精度解析法の基盤(概日~潮汐~年の多重周期性の統合モデル、多重周期性を効率的に扱うための機械学習用デ

ータベースの設計原理、 生育不安定性の一般理論である。また、目指す革新的な農学技術は、生育安定性の数値シミュレーション技術、 ノンパラメトリック栽培環境最適化による不安定性の低減技術、である。本研究チームの優れた成果である作物の時計遺伝子群の同定に関する知見を結集し、 ノンパラメトリック栽培環境がもたらす生理学的影響も解明する。

4. 研究成果

(1)概日時計の応答機構の解明

概日時計が環境サイクルに同期するプロセスを解き明かすためには、光や温度などの様々な同調因子に対する概日時計の位相応答曲線 (phase response curve (PRC)) を求める必要がある。しかしながら、PRC の測定には手間がかかるため、様々な同調因子に対する PRC を網羅的に解析することは困難とされてきた。また、得られた PRC のデータ点は個体差によるノイズを含むことが多く、しかも、データ数がそもそも不十分であり PRC が正確に求まらないことも多い。そこで、データ数を効率よく増やす方法や、1 回の実験だけで PRC を推定できる方法 (singularity response-PRC 法 (SR-PRC 法)) を開発した (図 1)。これらの方法は、PRC 測定の高精度化と高効率化に役立つだけでなく、概日時計が時計細胞集団としてどのような位相応答を経て環境サイクルに同期しているかを理解することにも役立つ画期的な方法である。

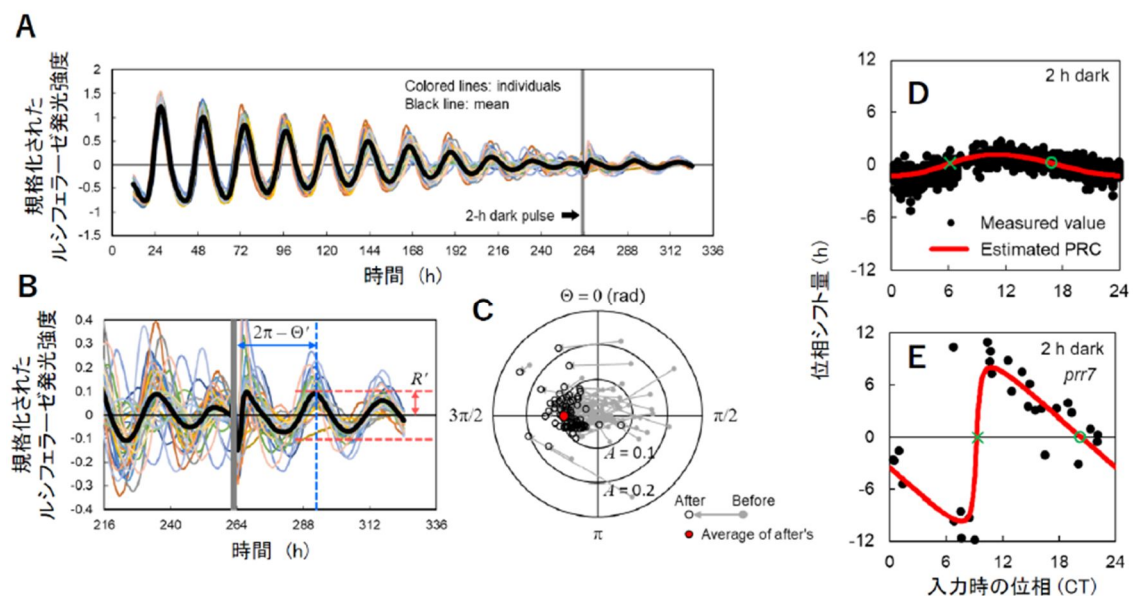


図 1 シングularity 応答による PRC の推定。(A) 遺伝子組換えシロイヌナズナ CCA1::LUC を用いて連続明条件下の概日リズムを計測し、 $t=262$ h に 2 時間幅の暗期パルスを与えた。(B) シングularity 応答の拡大図。カラー線と黒色線はそれぞれ各個体の概日リズムと平均値。(C) 入力の前における位相と振幅の関係。(D) 2 時間幅の暗期パルスに対する野生株の PRC。赤色の曲線は SR-PRC 法で推定した PRC。(E) 2 時間幅の暗期パルスに対する時計変異株 (*prr7*) の PRC。赤色の曲線は SR-PRC 法で推定した PRC。○印と×印はそれぞれ PRC における安定点と不安定点を示している (Masuda, et al., Nat. Commun. 2021 を改変)

(2)レタス生育における光・温度の複合サイクル条件の影響解明

本研究では、リーフレタス (*Lactuca sativa* L.) の生育における光・温度の複合サイクル条件がどのように影響するかを詳細に解明した。特に、光と温度のサイクルにタイムラグが存在する場合の影響を実験的に調査し、リーフレタスの概日リズムへの影響を明らかにした (図 2)。この実験により、光と温度の複合サイクルが植物の生理学的プロセスにどのように作用するかについて、新たな知見が得られた。

さらに、SR 法 (ステップ応答法) を用いて、リーフレタスの概日リズムが光や温度にどのように応答するかを定量化する応答関数を求めた。この応答関数を用いることで、タイムラグが生育に及ぼす影響を理論的に推定する新しいモデルを開発することに成功した。このモデルは、光と温度の変動が植物の成長と発達に与える影響を予測するための強力なツールとなる。本研究の成果は、将来的により効率的で環境に適応した栽培技術の開発に寄与することが期待される。

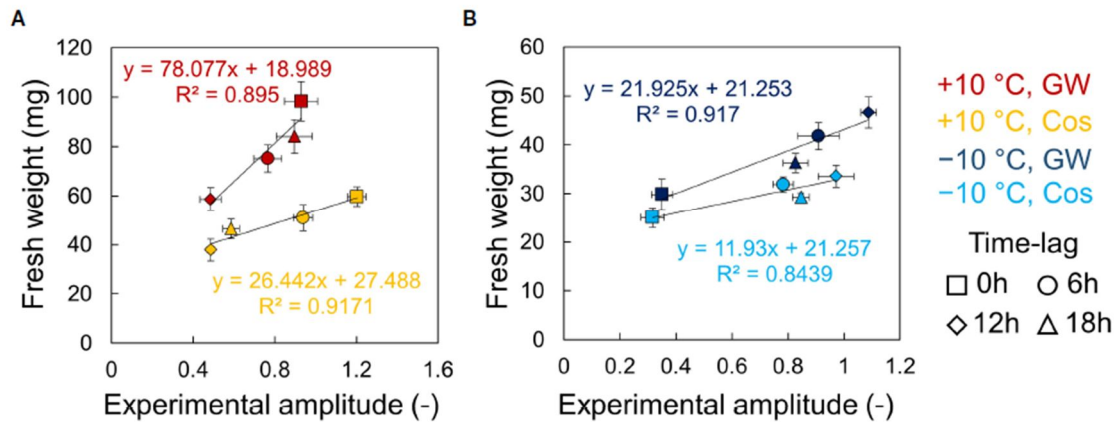


図 2 L/D = 12/12 時間および 12 時間±10°C サイクル条件下におけるリーフレタス (*Lactuca sativa* L.) の生体重と時計遺伝子 *AtCCA1* リズムの関係。(A, B) 生体重と+10°C (A) および-10°C (B) における振幅との関係。誤差線は標準誤差を示す。実線は回帰線を示す。R2 の値は決定係数を示す (Masuda, et al., Front. Plant Sci. 2022)。

(3) ノンパラメトリック栽培環境最適化としての基礎理論の構築

生産安定化の一般論を展開し、体系的な技術開発の着眼点を整理することで、概日時計に関する今後の研究を「生産安定化フローチャート」として体系化した。生産安定化フローチャートにおける概日時計制御理論の直接的な組み込みは、モデルとして仮定した代謝不安定性 Γ の回避や利用における概日時計 ϕ の制御が該当する。さらに、多くの生理応答が概日時計の位相に依存しているため、制御入力 I による支配パラメータ y^* の制御においても、概日時計制御理論は重要となる。また、間接的な組み込みとしては、最適な生物状態 y^* とそれを導く最適な環境 x^* の算出や、苗診断における概日リズム情報の利用などがある。図 3 は大阪府立大学植物工場研究センター C 棟 (レタス日産 6,000 株) の育苗室において、小型コンピュータの Raspberry Pi を複数台用いたカメラシステムを設置し、20 分毎に画像取得を行い、時系列画像の画像解析により将来の成長予測を行ったものである。オプティカル・フロー解析により個体毎に葉の展開ベクトル $N_k(t)$ を導出し、その展開ベクトル $N_k(t)$ の特徴量を用いて機械学習により 18 日後の成長予測を行った。展開ベクトルのベクトル長と角度は複雑に変動しているが、24 時間のリズム成分を含む。このリズム成分を特徴量として用いることで、機械学習における計算負荷を軽減することができた。このように、機械学習で重要となる特徴量エンジニアリングにおいても概日時計の知見は有用となった。

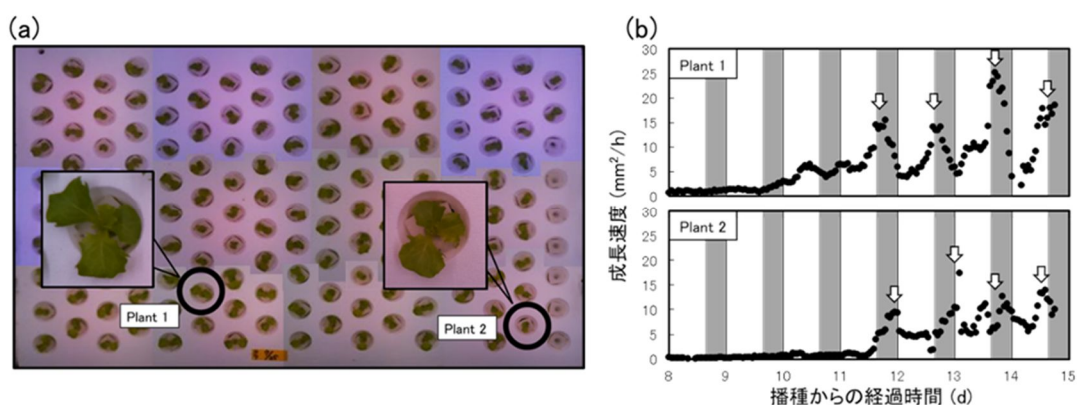


図 3 人工光型植物工場における育苗期の成長リズム

(a) 育苗パネルの全体画像は播種後 8 日目、拡大画像は播種後 15 日目の画像。(b) 苗画像から算出した成長速度・面積拡大速度を成長速度とみなした。大阪府立大学植物工場 C 棟の育苗室リーフレタス (cv. Batavia)。(福田, 植物環境工学, 2019)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 福田弘和、増田亘作	4. 巻 28
2. 論文標題 時計細胞集団の同期状態に着目した位相応答曲線の効率的な測定方法	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 時間生物学（日本時間生物学会誌）	6. 最初と最後の頁 94～101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kosaku Masuda, Hirokazu Fukuda	4. 巻 36
2. 論文標題 Unstable Phase Response Curves Shown by Spatiotemporal Patterns in the Plant Root Circadian Clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 432-441
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/07487304211028440	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Kosaku, Yamada Tatsuya, Kagawa Yuya, Fukuda Hirokazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Time Lag Between Light and Heat Diurnal Cycles Modulates CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATION 1 Rhythm and Growth in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1～10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.614360	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Kosaku, Tokuda Isao T., Nakamichi Norihito, Fukuda Hirokazu	4. 巻 12
2. 論文標題 The singularity response reveals entrainment properties of the plant circadian clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1～7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-21167-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 TANIGAKI Yusuke、MORIYUKI Shogo	4. 巻 32
2. 論文標題 Oscillating Gene Expression Analysis by Long-term Sampling of Plant Factory Lettuce	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Shokubutsu Kankyo Kogaku	6. 最初と最後の頁 160 ~ 164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2525/shita.32.160	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 NAGANO Shogo、TANIGAKI Yusuke、FUKUDA Hirokazu	4. 巻 58
2. 論文標題 Nondestructive Estimation of Circadian Time in Harvested Green Perilla Leaves Using Hyperspectral Data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environment Control in Biology	6. 最初と最後の頁 91 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2525/ecb.58.91	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takaho UENO, Shogo NAGANO, Shogo MORIYUKI, Taiki HAYASHI, Hirokazu FUKUDA	4. 巻 60
2. 論文標題 Optimized Excess-Green Image Binarization for Accurate Estimation of Lettuce Seedling Leaf-Area in a Plant Factory	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environment Control in Biology	6. 最初と最後の頁 153-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2525/ecb.60.153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 福田弘和
2. 発表標題 複雑環境下における概日時計の振舞いを支配する「位相応答場」の基礎研究
3. 学会等名 日本生物環境工学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田彬人・福田弘和
2. 発表標題 概日時計細胞集団に対する光照射を用いた位相特異点生成についての数値解析
3. 学会等名 日本生物環境工学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福田弘和
2. 発表標題 植物概日時計の位相応答場技術
3. 学会等名 第39日本植物バイオテクノロジー学会（堺）大会・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田彬人・福田弘和
2. 発表標題 局部刺激で誘起する概日時計の位相特異点に関する数理モデル解析
3. 学会等名 第39日本植物バイオテクノロジー学会（堺）大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥山瑞生，福田弘和
2. 発表標題 植物工場レタスの葉面積から概日リズムを算出する手法における U-net 法の検証とmask r-CNN の実装
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本風太, 福田弘和
2. 発表標題 位相応答の逆問題を用いた化学物質作用タイムラグ推定方法の精度評価
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池田和輝, 福田弘和
2. 発表標題 植物栽培用の培地中における周期的な大気圧変動シグナルの貫通性の評価
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hirokazu Fukuda
2. 発表標題 A platform technology for analysis and control of the plant circadian clock under complex environments
3. 学会等名 The XX CIGR World Congress 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 青山尚暉, 八木亮太, 福田弘和
2. 発表標題 植物細胞格子における位相応答場を構築する位相応答シミュレーターの開発
3. 学会等名 食料農業工学会関西支部
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田彬人, 福田弘和
2. 発表標題 植物の側根形成時における概日リズムの乱れについての研究
3. 学会等名 食料農業工学会関西支部
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田島優介, 藤本風太, 福田弘和
2. 発表標題 薬剤投与による主観的昼と夜の比率変化に関する数理モデル解析
3. 学会等名 食料農業工学会関西支部
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 豊嶋悠斗, 奥山瑞生, 福田弘和
2. 発表標題 画像処理による植物細胞間接触面積の算出方法
3. 学会等名 食料農業工学会関西支部
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中綸, 増田亘作, 福田弘和
2. 発表標題 シロイヌナズナの葉における概日リズムの不均一な位相応答の計測
3. 学会等名 第 27 回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田竜也, 増田亘作, 香河悠也, 福田弘和
2. 発表標題 光と温度の日周サイクルにおける位相差が植物の生育へ与える影響
3. 学会等名 第 27 回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 香河悠也, 増田亘作, 山田竜也, 福田弘和
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける概日時計の振幅を増大させる最適な明暗サイクル波形の検討
3. 学会等名 第 27 回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福田弘和
2. 発表標題 概日時計シンギュラリティから見た栽培環境の新たな設計
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会・シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪公立大学 工学研究科 機械系専攻 バイオ生産システム工学研究グループ
<https://www.omu.ac.jp/eng/bioproduction/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	徳田 功 (Tokuda Isao) (00261389)	立命館大学・理工学部・教授 (34315)	
研究分担者	永野 惇 (Nagano Atsushi) (00619877)	龍谷大学・農学部・教授 (34316)	
研究分担者	峰野 博史 (Mineno Hiroshi) (40359740)	静岡大学・グリーン科学技術研究所・教授 (13801)	
研究分担者	高山 弘太郎 (Takayama Kotaro) (40380266)	豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13904)	
研究分担者	谷垣 悠介 (Tanigaki Yusuke) (80757154)	県立広島大学・生物資源科学部・講師 (25406)	
研究分担者	森 直哉 (Mori Naoya) (40804050)	玉川大学・学術研究所・助教 (32639)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関