

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：53302

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23760375

研究課題名(和文) 茸子実体をバイオセンサとしたSPA型栽培システムの研究

研究課題名(英文) Study of SPA Cultivation Control System Based on Bio-Electric Potential Feedback from Mushroom

研究代表者

柳橋 秀幸 (YANAGIBASHI, Hideyuki)

金沢工業高等専門学校・電気電子工学科・講師

研究者番号：10553208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：当該研究ではSPA(スピーキング・プラント・アプローチ：植物との対話)型の植物工場の構築に必要な基礎的知見を探究し、以下の成果を得た。

茸培地(菌床)への電圧印加および遠赤外線照射、子実体(可食部)への近紫外線照射を試み、生長制御因子としての有効性を確認した。また、子実体構成成分の評価手段の一つとしての核磁気共鳴(NMR)緩和時間の有効性を示した。

これまでの研究成果を踏まえて、茸子実体の生体電気信号に基づいた自動環境制御によって生長を制御する新規の栽培システムを構築するとともに、環境制御に最適なパラメータを模索した。当該システムは実際の栽培工場に設置し、試験結果を踏まえて改良を施した。

研究成果の概要(英文)：In this study, basic knowledge for construction of SPA (Speaking Plant Approach) cultivation control system was explored and the following results were obtained.

Far-infrared irradiation and voltage application to medium and near ultraviolet irradiation to fruit body were tried and their validity was confirmed. Validity of component analysis with relaxation time of NMR as a growth evaluation means was also confirmed.

Based on the results and previous results, new type cultivation system to control environment automatically for growth promotion based on the bio-electric potential of mushrooms was constructed. The system was actually installed in mushroom factory and was improved based on the test results.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：SPA 茸 植物工場 自動環境制御 生体電位 生長制御

### 1. 研究開始当初の背景

気候に左右されることなく年間を通じて安定的に作物を栽培できるメリットから、植物工場が近年注目を集めており、企業の参入や国策による推進を背景に今後も普及が進むと考えられる。

工場で栽培される代表的な作物としては茸が挙げられ、日本は世界的にも茸の一大産地および消費地である。近年は海外での日本食ブームが見られ、その需要は増加の傾向を辿ると考えられる。しかしながら、茸の生態は未解明な点も多く、学術的研究が不足している。

研究代表者はこれまでに、光質や温湿度などの栽培環境に対する茸の生体電位応答特性と生長との関係について研究し、両者に密接な関係があることを見出した。茸は環境条件に応じて異なる電位応答を示し、電位応答が大となる環境条件では生長促進が認められた。試験的に生体電位が大きく変動する刺激を茸に与えたり、生体電位のバイオリズムに同期させて刺激を与えたりしたところ、生長促進の傾向を得た。

上記結果を踏まえ、植物工場において、ランダムに選定した作物供試体の生体電位をモニタリングし、その情報に基づき栽培環境を制御することで、出荷時期や形態の調整が可能であろうとの着想に到達した。この対話的栽培手法によって栽培した作物は新たなブランドとして、消費の促進にも繋がると考えた。学術的には、未踏領域である茸の生態を解明する好機となり、近年注目を集めている生体情報工学への寄与も大きいと考えた。植物工場の生産性およびブランド(理解)の向上、食糧危機や環境問題への対応など、社会的にもその貢献は大きいと考えた。

上述のような作物をバイオセンサとした対話型品質調整は、近年提唱されるSPA(スピーキング・プラント・アプローチ)の概念を実現するものであり、産学官ともに植物工場の普及および効率化に注力する現状を背景とし、研究に十分値するテーマであると考えた。

### 2. 研究の目的

当該研究の目的は、作物をバイオセンサとした植物工場における自動環境制御技術の基礎の確立である。当該研究では供試体として茸を採用し、まず栽培環境に対する生体電位応答特性と生長との関連性を従来以上に明らかにするとともに、生体電位を指標とした茸の形態形成や含有成分の制御の可能性を検討する。次に、これらの工程で蓄積されたデータを踏まえて、茸子実体をバイオセンサとしたフィードバック自動環境制御システムを構築する。システムは実際の栽培工場に設置し、現場レベルでのデータに基づくフィジビリティスタディを実施する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 培地側面への電圧印加実験

マイタケ供試体培地の植菌部分に針電極を挿入し、生体電位を計測する。針電極は塩化銀膜処理し、直径は0.5mm、挿入深さ30mm、誘導電極の正極と負極の間隔5mmとする。計測対象個体(マスタ供試体)より得られた培地の生体電位に基づき、別個体(スレイブ供試体)の培地側面に約20Vの電圧を印加する。図1は培地側面に電圧を印加するための圧迫式平板電極固定装置を示す。電極にはステンレスを用いる。

実験期間中は供試体を環境制御チャンバ内に配置し、温度18~19℃、湿度90~95%RH、二酸化炭素濃度400~800ppmに制御する。実験終了日には新鮮重、菌傘の高さと幅、色(JIS色名帳)を記録する。

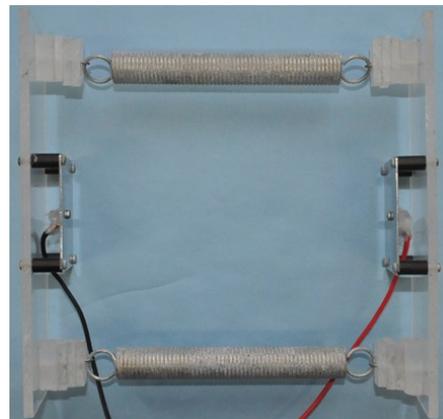


図1 圧迫式平板電極固定装置

#### (2) 培養期間中の遠赤外線照射実験

植菌直後のマイタケ供試体培地に遠赤外線を照射し、菌糸が培地に張り巡らされるまでの培養期間と、培地から子実体が発生するまでの発生期間の変化を調べる。

図2は遠赤外線照射実験系を示す。インキュベータ内に間仕切を隔てて植菌直後の培地を配置し、一方に遠赤外線ヒータからの遠赤外線を照射する。ヒータの表面温度は約75℃、培地との距離は150mmとする。庫内に各種環境センサを設置して、外部のPCで環境を記録する。

実験開始から培地の菌廻りまでの54日間はインキュベータ内環境を温度26℃、湿度60%RH、暗状態とする。次の原基形成開始から原基形成完了までの10日間は庫内環境を温度24℃、湿度60%RH、照度約50lxにて蛍光灯を12時間間隔で点灯消灯する。

原基形成完了後、遠赤外線照射を止め、照射培地、非照射培地ともに同一環境にて栽培し、子実体を発生させる。子実体発生は方法(1)と同一の環境制御チャンバで実施し、温度18~19℃、湿度90~95%RH、二酸化炭素濃度400~800ppm、青色LED光を光強度6W m<sup>-2</sup>にて、12時間間隔で点灯消灯する。実験期間中は定期的に培地正面上面の様子を写真撮影する。

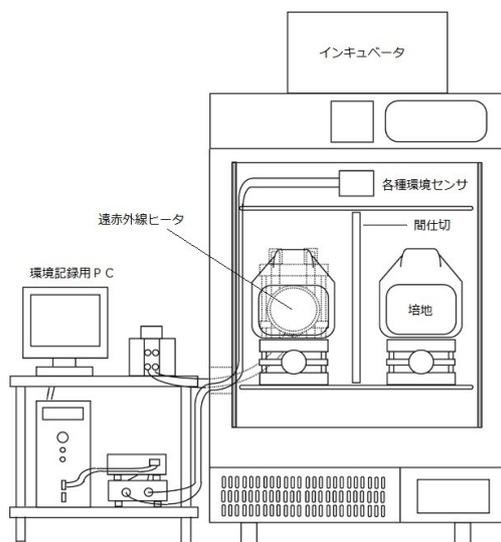


図2 遠赤外線照射実験系

### (3) 近紫外光に対する応答特性実験

茸子実体が青色域の光に大きな生体電位応答を示し、形態形成も良好となる従来の知見に基づいて、今回は近紫外域に対する生体電位応答を探る。

図3は生体電位計測系を示す。計測系はシールドボックス内側に菌床を入れる計測ボックスを置いた二重構造とし、外来雑音成分除去のためA種設置工事を施す。自作の差動型増幅器 (CMRR:120dB以上, S/N比約80dB) を生体電位の増幅に用いる。塩化銀膜を施した直径0.5mmの銀針を誘導電極とする。誘導電極の正極と負極はマイタケ供試体菌傘部, 不関電極は子実体と培地の境目に挿入する。挿入の深さは5mmとし、誘導電極の間隔は5mmとする。

赤外線成分を除去したキセノン光を各種干渉フィルタに通すことで単色光として、360~700nmの波長(約20nm間隔, 20種)を菌傘上部に照射する。光強度は全波長で $2.3\text{W m}^{-2}$ 一定とする。

供試体への電極挿入後、生体電位を安定させるため24時間の暗状態を保ち、その後波長ごとに30分間隔の光の明滅を1回提示する。波長の提示順序はPCの関数によりランダム化する。最後の波長提示後に、最初に提示した波長の光を再提示することで再現性を確認する。

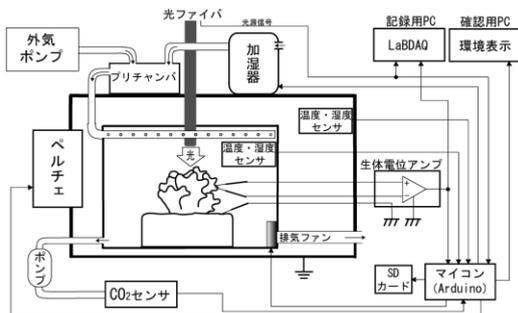


図3 生体電位計測系

### (4) 核磁気共鳴による形態形成評価

子実体の形態形成の新規評価手段として核磁気共鳴信号 (NMR) による緩和時間を検討する。緩和時間を指標とすることで、子実体内部の生体組成を簡易的に推定可能と考えられる。

図4に核磁気共鳴緩和時間観測システムの全景を示す。スピネコー発生装置より90度, 180度パルスを送り、RFコイル中の試料にRFパルスを送る。試料から発生した核磁気共鳴信号をローノイズアンプで増幅した後にオシロスコープで波形を観測することで緩和時間T1, T2を得る。今回の試料は赤色, 青色, 赤青混色の光照射にて栽培したマイタケ子実体をすり潰したものとする。T1緩和時間は生体細胞組織成分, T2緩和時間は組織成分中の水分量に関連し変化すると推測される。

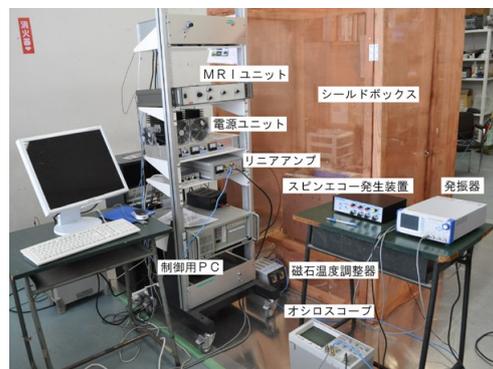


図4 核磁気共鳴観測システム

### (5) S P Aシステムの構築

茸子実体の生体電位情報に基づいて栽培環境を自動制御することで子実体の生長を制御するS P A式生育環境制御システムを構築する。システムの仕様は以下の通りである。

第一に、計測した直近特定時間分の生体電位から電位の傾きを計算し、あらかじめ設定された正負の傾きの閾値を超えた場合に光源をオン・オフする。第二に、湿度を一定間隔で意図的に変動させ、この変動に伴う生体電位変動を茸の生理活性度診断の指標として光源強度を調節する。第三に、収穫時期が近付いた茸子実体では自発性の生体電位変動 (バイオリズム) が減衰する知見に基づいて、茸の成熟期には菌傘部の色づきを良くするために光源の種類を変更する。

以上の仕様を満たす動作検証機を研究室レベルで構築し、生体電位と環境制御との連動の調整を重ねる。調整完了後、検証機の複製を製作し、実際の栽培工場に設置、実地試験する。実地試験にて得たデータに基づいてS P A式生育環境制御システムの実用性を検討する。また、電位計測中に針電極が脱落することで計測が中断する問題がこれまでに生じており、これを解消する機構も構築する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 培地側面への電圧印加実験

図5はマスタ供試体（電圧非印加側）とスレイブ供試体（電圧印加側）の形態形成結果の代表例を示す。スレイブ供試体ではマスタ供試体と比較して菌傘が広がらず、菌柄が伸長し、新鮮重（子実体収穫重量）は平均で約18%減少した。また、スレイブ供試体では原基の分化の開始時期の遅延が認められた。このことから、菌床培地側面への電圧印加には生長抑制の効果があると考えられ、負の生長制御の因子として応用できる見込みを得た。

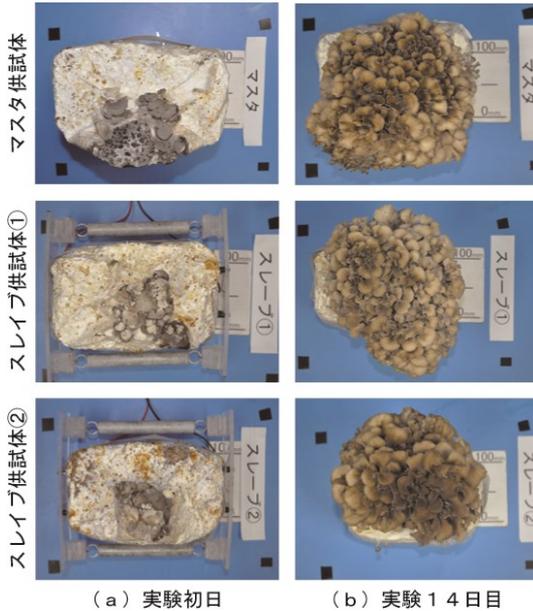


図5 電圧印加実験の形態形成結果

##### (2) 培養期間中の遠赤外線照射実験

図6は菌糸培養期間中の菌床培地への遠赤外線照射区と非照射区の熱画像を示す。照射区の培地側面の温度は非照射区と比較して高くなっており、遠赤外線照射による温度上昇効果が確認された。

図7は照射区と非照射区の形態形成結果を示す。原基形成完了日、子実体発生初日の実験63日目では照射区、非照射区の原基の大きさに差異は認められなかった。実験72日目では照射区よりも非照射区で菌傘の広がりが良好であったが、実験74日目以降は両者で逆転し、実験84日目の最終日には照射区での良好な形態形成が明確化した。菌柄の伸長については両者に差異はなく、新鮮重は非照射区と比較して照射区で6.7%程度の増収となった。これらの結果より、菌糸培養中期間中の菌床培地への遠赤外線照射は、生長促進を図る上で有効な因子となる可能性が示唆された。従来の研究では原基形成後の供試体に対し環境を提示することで生長制御を試みてきたが、菌糸培養段階（栽培初期）からの効率的な生長制御の可能性を得た有意義な結果であった。

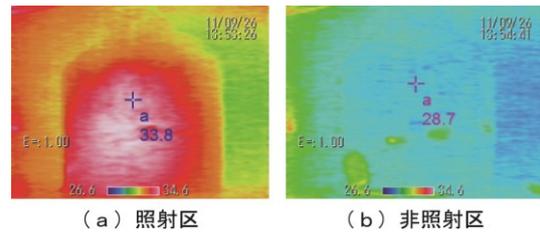


図6 照射区と非照射区の熱画像

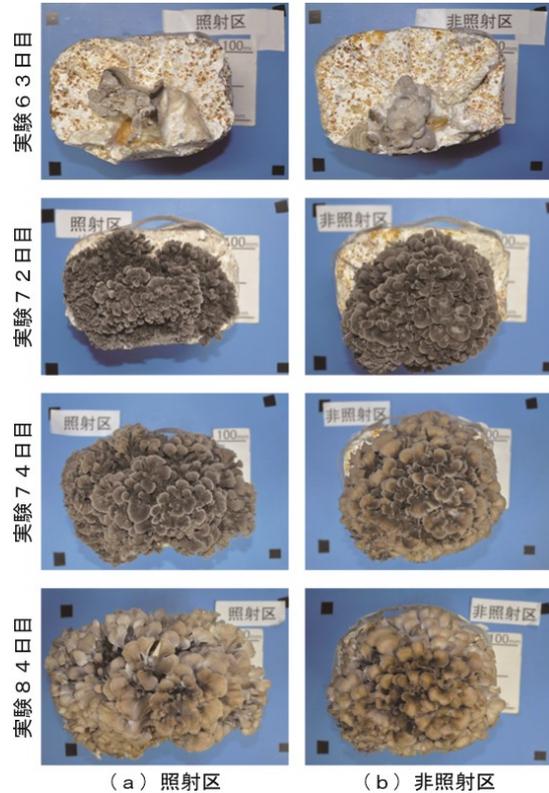


図7 遠赤外線照射実験の形態形成結果

##### (3) 近紫外光に対する応答特性実験

図8は光の波長に対する生体電位応答を示す。図中 $\delta ON$ 、 $\delta OFF$ は光の明滅の提示に対する生体電位の変動量をそれぞれ示す。図示のように、生体電位応答は今回新たに追加した360~380nmの波長の光で最大となった。これまでに、生体電位応答が大となる波長の光では良好な形態形成が得られている。近年、紫外域波長のLEDが普及し始めており、高効率、低消費電力を目的とした栽培工場への紫外光光源の応用が期待できる結果を得た。

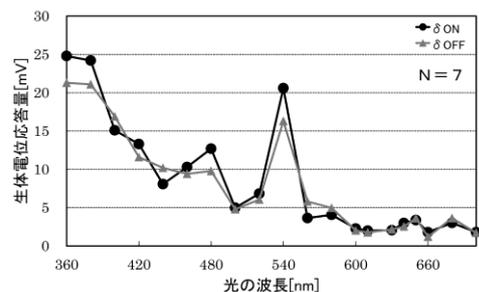


図8 光の波長に対する生体電位応答

#### (4) 核磁気共鳴による形態形成評価

図9は各種光源下で栽培した供試体試料の核磁気共鳴緩和時間を示す。青色光では赤色光や混色光と比較してT1, T2が小さくなり、赤色光と混色光ではT1, T2に大きな差異は見られなかった。また、各種子実体の菌傘軸長や菌柄長、新鮮重と緩和時間との相関性は認められなかった。

表1は光源と菌傘色（JIS色名帳）との関係を示し、図10は青色光および混色光における菌傘色の比較を示す。T1緩和時間が短かった青色光では菌傘の色が濃い灰色になり、他光源は明るめの赤茶色となった。T1緩和時間は生体細胞組織成分に関連していると推測され、色づきの違いによる成分組成の差異が緩和時間に影響を及ぼしたと類推される。また、赤色光、混色光による菌傘は孢子を落とす段階にあり乾燥気味にあった一方、青色光の菌傘は孢子を落とす前の段階で瑞々しい状態にあった。T2緩和時間は組織成分中の水分量に関連していると推測され、子実体の水分含有率の差異が緩和時間に影響を及ぼしたと類推される。以上のように、核磁気共鳴緩和時間による子実体内部の評価の可能性を得た。

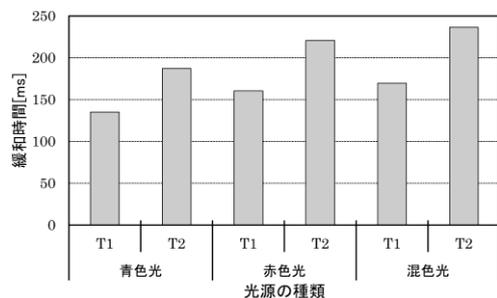
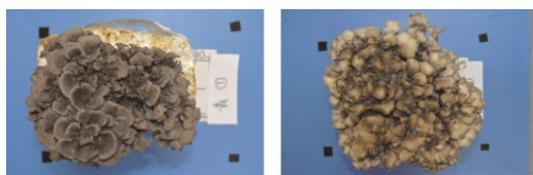


図9 光源と緩和時間との関係

表1 光源と菌傘色との関係

光源	菌傘色
青色	赤みを帯びた黄みの黒 10TR
赤色	緑みを帯びた黄みの明るい灰色 7.5Y
混色	黄みの黒い灰色 5Y



(a) 青色光 (b) 混色光  
図10 青色光と混色光の菌傘色の比較

#### (5) S P Aシステムの構築

##### ①生体電位に基づいた基本制御

図11はS P Aシステムの基本制御アルゴリズムを示す。図(a)は生体電位に基づく実効値の変動を示す。閾値を下回る場合はほかの制御よりも優先して光源を点灯することで生体生理の活性化を図る。図(b)は生体電位の傾きの変動を示す。閾値を跨ぐ変動に伴い光源を制御することで、バイオリズムに同期した光刺激提示を実現する。また、(a)の補助的な光源制御を果たす。図(c)は長区間の生体電位のFFTのパワースペクトル変動を示す。枯死期が近付くと数値が変化する知見から、閾値を下回った場合に青色から白色LEDに光源を変更し、収穫のため菌傘の形態形成を促す。図(d)は短区間のパワースペクトル変動を示す。生体電位の変動が活発なときには光強度を抑制し、システムの省電力化を図る。

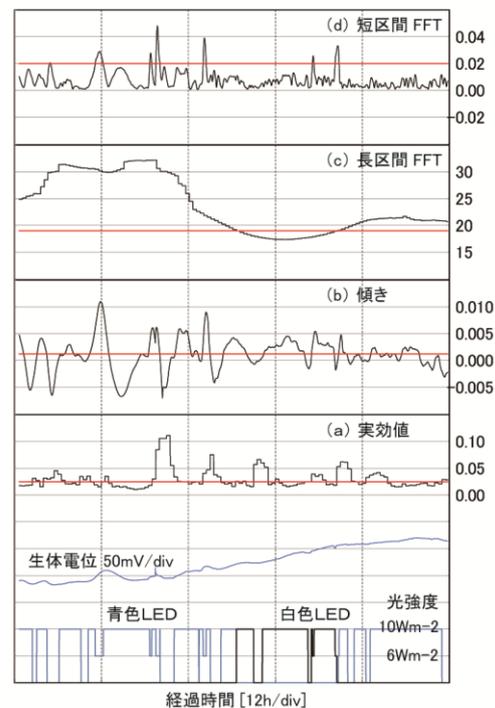


図11 S P Aの制御アルゴリズム

##### ②栽培工場における実地試験

S P Aシステムに供するパラメータ確立のため、栽培工場で実地試験を実施した。表2は試行パラメータを示す。12L12D制御の蛍光灯を対照区に、生体電位計測対象のマスター株に基づく点灯制御の蛍光灯とLED光源（青+白）を試験区に設定した。

図12は実地試験結果を示す。試験区での新鮮重は対照区よりわずかに増加し、消費電力量は試験区の蛍光灯で12%、LED光源で56%程度削減された。これより、S P Aシステムの省電力効果が期待される。今後は設定パラメータの絞り込みに取り組み、生長促進と省電力を両立する効果的条件の確立に取り組みたい。

表2 実地試験の試行パラメータ

試験区分	対照区	試験区①	試験区②
光源	蛍光灯		LED(青+白)
制御方式	12L12D	SPA(マスタ供試体生体電位)	
温度[°C]	18±1		
湿度[%RH]	高湿度:95, 低湿度:90, ±5, 切替1800[sec]		
供試体数	86	92	90
閾値	傾き[mV/h]	RMS[mV/min]	長区間FFT[dB]
	0.6	0.26	17.5
	RMS計算区間	RMS計算間隔	短区間FFT[arb]
	120	30	0.03

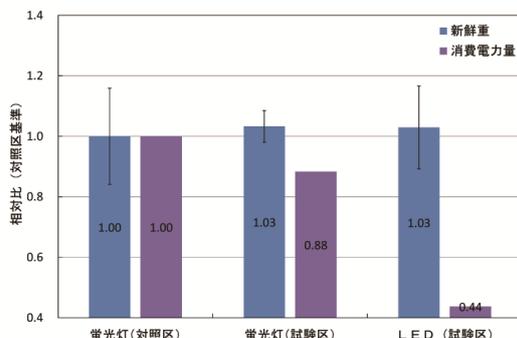


図12 SPAシステムの実地試験結果

### ③光源セクタ機能の追加

システム動作試験の結果、生体電位計測の中断によって正常な環境制御が不可能になる不具合が確認された。当該問題解消のため、複数チャンネルで生体電位を計測し、最も変動の活発なチャンネルを参照して環境制御に資する機能を追加した。

図13はチャンネル選択の原理を示す。当該機能は、SPAシステムにおける光源制御に最も有力なチャンネルの特定指標として、特定区間における光源点灯時間と明滅回数をを用いる。セクタ区間をシフトしながら区間中の光源点灯時間と明滅回数の合算値が大きいチャンネルを選択することで、常時生体電位(活動)が活発な供試体を指標とした環境制御を実現できる。

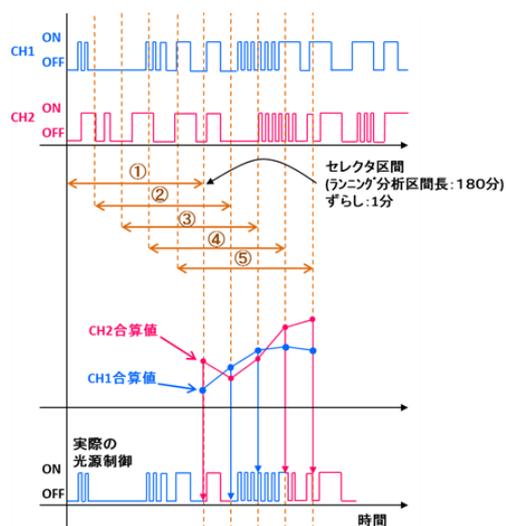


図13 チャンネル選択の原理

図14は実際のSPAシステム起動画面を示す。画面上から順に光源セクタバー、実際の光源点灯状態、CH1の傾き計算結果および光源制御状態、CH2の結果と状態を示す。セクタバーには両チャンネルの光源制御の合算値(光源点灯時間と点滅回数のポイント換算値)が表示され、バー中央を超えたチャンネルに基づいて光源制御する。図示のように、合算値に基づくチャンネルの切替(実際の光源点灯状態の青→赤→青)に成功し、SPAシステムの安定化を図ることができた。

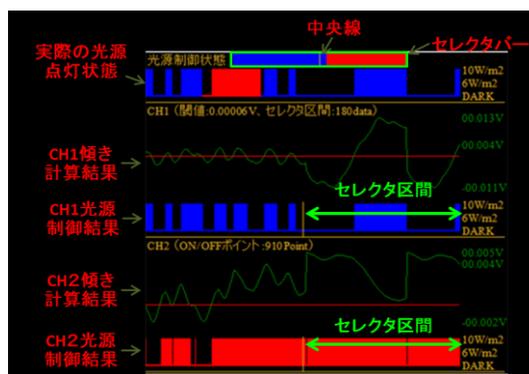


図14 SPAシステム起動画面

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 8 件)

①オグントインボ・ボラジ, 小澤紀王, 平間淳司, 柳橋秀幸, 松井良雄, 倉橋敦, 下田隆史, 谷口真, 西堀耕三: マイタケの生体電位応答特性に基づいたSMA (Speaking Mushroom Approach) 方式による生育環境制御—栽培現場での試行実験—, 日本生物環境工学会2013年大会, 2013. 9. 5, 香川県高松市 (香川大学幸町キャンパス)

②小澤紀王, オグントインボ・ボラジ, 平間淳司, 柳橋秀幸, 松井良雄, 西堀耕三: マイタケ培養期の遠赤外線照射が子実体形成に及ぼす影響, 日本生物環境工学会2013年大会, 2013. 9. 5, 香川県高松市 (香川大学幸町キャンパス)

③Bolaji Oguntoyinbo, Hideyuki Yanagibashi, Junji Hiram, Yoshio Matsui, Toshio Ozawa, Keiju Kawabata, Atsushi Kurahashi, Takefumi Shimoda, Makoto Taniguchi, Kouzou Nishibori: SMA (Speaking Mushroom Approach) Environmental Control System Hardware Design: Automated Cultivation Control System Based on Mushroom Bioelectric Feedback, The 2013 IFAC Bio-Robotics Conference, 2013. 3. 29, Osaka, Japan

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳橋 秀幸 (YANAGIBASHI, Hideyuki)  
 金沢高専・電気電子工学科・講師  
 研究者番号: 10553208