

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2018～2020

課題番号：18KT0088

研究課題名(和文) 微小光学デバイスを用いた組織・細胞レベルでの植物生理応答モニタリング技術の開発

研究課題名(英文) Development of the micro-optical devices for monitoring plant activities at the tissue and cellular levels

研究代表者

久保 稔 (Kubo, Minoru)

熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・特任講師

研究者番号：30342778

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：作物栽培において、日々変化する自然環境に適切に対応するために、これまで日照、温度などの環境条件の情報収集が行われているが、作物の成長具合などの生育条件の収集技術は限られていた。そこで本研究課題ではこれらの取得を目的とした組織・細胞レベルで行う植物モニタリングデバイスの開発を行った。CMOSセンサとLED光源を配置し、Wi-Fiによる操作並びにデータ取得が可能な非侵襲型の微小光学デバイスを開発した。このデバイスを植物の葉の表面に設置したところ、葉の気孔の開閉長時間、リアルタイムでモニタリングすることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国における農業従事者の減少や高齢化は重要な問題であり、これを克服するためには、農作業における負担を軽減する必要がある。そのうち、これまでの経験に頼った農作業を効率的に行うためには、植物の環境と生育情報を取得し、その情報を活用することで対策が可能である。これまで作物の生育情報を組織・細胞レベルで取得するには、顕微鏡などの大掛かりな装置が必要であったが、私たちが開発した微小光学デバイスを活用することで、野外で様々な植物で組織・細胞レベルの作物の生育情報をリアルタイムで取得することが可能となり、農作業の負担が軽減されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：It is important for crop cultivation in the field to collect their growth information in order to properly respond to environmental changes, although there has been limited technology to collect information on growth conditions at the tissue and cell levels. In this study, we developed a non-invasive micro-optical device with CMOS sensors and LED light sources, which can be operated by Wi-Fi. By attaching the device on the surface of a plant leaf, we succeeded in monitoring the opening and closing of leaf stomata for a long time in real time.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：微小光学デバイス 非侵襲 リアルタイムイメージング 植物生理応答モニタリング 組織・細胞レベル 環境応答 ICT

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

我国においても農業従事者の減少および高齢化は喫緊の社会問題である。要因として 農作業が重労働であること、安定した収入が得られにくいこと、刻々と変化する環境要因への適切な対応が必要なこと、などが挙げられる。その中でも については、農業従事者の経験的な対応に頼る部分が大きく、これが農業従事者の新規参入を阻む足かせとなっている。その状況を克服するために近年、フィールドサーバやソーシャルネットワークサービス (SNS) などを用いて作物栽培における様々なデータを収集・解析し、農作業の効率化を行う情報通信技術 (ICT) の利用が進んでいる。天候や気温、降水量など環境情報の収集においては、様々なサービスがすでに利用可能な状況にある一方で、栽培作物の生育情報の収集は、植物の大きさや葉の展開時期、病原菌の感染による葉の枯死や害虫による食害などのマクロ的な外見の情報以外、現状では利用できていない。これらの生育情報は環境情報との時間的なズレがあるため、環境変化に迅速な対応するためには植物が組織・細胞レベルで応答する生理活性をリアルタイムでモニタリングする必要がある。その中でも植物内の生理活性情報は、磁気共鳴画像法 (MRI) や陽電子放射断層撮影法 (PET) を利用して実測されているが、大がかりな装置、設置場所、汎用性などの問題でフィールドでの使用は難しい。そこで日常的に学際的な研究分野の先端研究に接している研究代表者と研究分担者は、それぞれの専門分野である植物生理学・分子生物学と電気電子工学を活用することにより、今後の少子高齢化社会に対応した農業技術革新に貢献できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究課題では、小型化・汎用化が可能な微小光学センサを用いて植物の組織・細胞レベルでの水輸送や病原菌感染などによる免疫応答を検知する(1)組織・細胞レベルでの植物生理活性モニタリングデバイスの開発を行う。また、植物における設置場所や使用条件を決定するために、(2)植物の生理活性モニタリングデバイスの動作検証を行う。さらに、環境応答や免疫応答における次世代シーケンシングを用いた網羅的遺伝子発現解析によるデータとモニタリングデバイスによるデータを用いて(3)植物の生育情報を用いた多変量解析とモニタリングデバイスの最適化を行うことで、モニタリングデバイスデータと相関の高い植物の乾燥や免疫応答の要因を決定する。将来的にはフィールドでの利用を視野に入れ、フィールドサーバによる栽培作物の環境情報と本課題による生理活性モニタリングデバイスによる生育情報を統合し作物育成状況の予測システムを構築することで、農作業の効率化への貢献を目指す。

3. 研究の方法

(1) 組織・細胞レベルでの植物生理活性モニタリングデバイスの開発

本研究では、植物に対して低負荷かつ長期計測可能な着脱可能な非侵襲型の微小光学センサを開発する。

開発するモニタリングデバイスでは、搭載する LED 光源からの透過光を用いた経時的変化の観察を行う。デバイスから得られる情報をもとに画像解析を行うことで、植物における組織・細胞レベルのイメージングを行う。そのために、LED 光

源波長域や CMOS センサーの性能特性を決定する。

(2) 植物の生理活性モニタリングデバイスの動作検証

植物における設置部位や使用条件を決定するために、広く利用されている実験植物のシロイヌナズナに加え、栽培作物モデルであるトマトや木本植物モデルのポプラを用いて、葉表面にある気孔の開閉変化の検出を行うことで、様々な植物に適したモニタリング条件を検討する。

(3) 植物の生育情報を用いた多変量解析とモニタリングデバイスの最適化要因の探索

植物の栽培過程における次世代シーケンシングによる環境応答や免疫応答における遺伝子発現解析によるデータとモニタリングデバイスによるデータを用いて多変量解析を行う。これにより気孔開閉と環境応答に相関の高い遺伝的要因を特定する。この結果を用いてそれぞれの生育情報の取得に適したモニタリングデバイスへ改良する。

4. 研究成果

(1) 組織・細胞レベルでの植物生理活性モニタリングデバイスの開発

植物に対して着脱可能で長期計測可能な非侵襲型の微小光学センサを開発するために、1) CMOS センサ、2) LED 光源、3) デバイス固定、4) 無線化の条件検討を行った。

1)では、当初、使用予定だった自作の CMOS センサでは画素サイズが大きく、モノクロ撮影に特化していたため、植物の組織・細胞の詳細な画像取得が難しいことがわかった。そこで、市販のより微細な画素サイズのカラー CMOS センサを採用した。2)では植物の生理応答に影響が少ないと考えられる緑色光 LED を搭載し、光源位置を多点化することで、撮像ノイズを除去する手法を導入した。3)では、搭載する LED 光源からの透過光を用いて葉表面上の細胞を観察するため、このデバイスを植物の葉に固定する必要がある。そこで、様々な種の植物において、葉にダメージを与えない最大限の圧力を見積もるために、葉のせん断応力の測定を行った。4)では、上記のデバイスに Wi-Fi モジュールを装着し、その画像をタブレット端末およびスマートフォンへ無線により転送し、リアルタイムで観察できることを確認した。これらの条件を備えた微小光学デバイスを試作し、ツククサ科植物のトラディスカンティアの葉表面を撮影し、その表皮にある気孔が解析可能な解像度で取得できることを確認した。

(2) 植物の生理活性モニタリングデバイスの動作検証

平成30年度開発した植物生理活性モニタリングデバイスにおいて、トラディスカンティアの葉のタイムラプス撮影を行った。植物の葉の表面には、気孔と呼ばれる穴があり、この開閉により、蒸散による水分の排出および根から水の吸い上げ、光合成に必要な二酸化炭素の取り込みを調整している。よって、気孔の開閉をモニタリングすることは、植物体内の水の移動、光合成能とリンクしたリアルタイムな生体活動を取得することになると考えられる。葉表皮に存在する気孔が明瞭に観察され、HD 画像を毎分取得するタイムラプス撮影に成功した。この画像を解析したところ、撮影期間において撮像のズレなどは観察されなかった。また、一部の気

孔について、開閉する様子が観察された。これらのことから、この植物生理活性モニタリングデバイスが、気孔の開閉のモニタリングに有効であることが示唆された。しかし、光源部における LED 基盤の発熱の影響で、資料の葉に若干の変色等、影響が見られた。そこで、ヒートシンクを搭載した LED 光源を開発し、それを用いて撮影を行った結果、前者で見られた葉の変色は観察されなくなった。また、デバイスに搭載した Wi-Fi を介して、植物生理活性モニタリングデバイスの開始終了、撮像条件の変更、が行えることを確認した。加えて、ラップトップ PC やスマートフォンで、取得画像のリアルタイムモニタリングが遠隔で行えることも確認した(図)。



図 微小光学デバイスにより撮影した葉表面画像をスマートフォンでモニタリングした

(3) 植物の生育情報を用いた多変量解析とモニタリングデバイスの最適化要因の探索

昨年度までに試作し実証実験を行った植物生理活性モニタリングデバイスを用いて、環境条件の変化に迅速に応答する植物葉における気孔開閉のモニタリングを行った。植物の葉にデバイスを固定し、HD 画像を毎分取得するタイムラプス撮影を行ったところ、気孔が開閉する様子を撮影することに成功した。また、Wi-Fi を介した長時間リアルタイムモニタリング画像を活用した植物の生理活性状況の解析法の開発に着手した。今後、葉の気孔開閉情報を長期間に渡り取得し、環境センサによる温度、光量、湿度情報と次世代シーケンスにより取得した網羅的遺伝子発現解析データを統合的に解析することで、生育条件と相関の高い気孔開閉要因を明らかにし、微小光学デバイスを用いた作物生育予測システムの開発を計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 久保 稔、春田 牧人、澤 進一郎、太田 淳、出村 拓
2. 発表標題 組織・細胞レベルでの植物生理活性モニタリングデバイスの開発
3. 学会等名 日本植物学会84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Makito Haruta
2. 発表標題 A small plant growth monitoring device for agriculture use
3. 学会等名 Bio4Apps2018/2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 植物センシングデバイスおよびリアルタイム植物モニタリングシステム	発明者 春田牧人、久保稔、 水本旭洋、太田淳、 笹川清隆、出村拓、	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-181055	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>CES2020への出展について https://www.naist.jp/pressrelease/2019/12/006454.html</p> <p>イノベーションストリームKANSAI2020 https://umekita2nd-isk.com/narascience-univ/</p>
--

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	春田 牧人 (Haruta Makito) (40733663)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教 (14603)	

	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
研究協力者	出村 拓 (Demura Taku)		
研究協力者	太田 淳 (Ohta Jun)		

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