

令和元年5月14日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19309

研究課題名（和文）スペckルパターンの分離・抽出・識別によるプラントアクティビティの提案

研究課題名（英文）Proposal of plant activity due to decomposition and identification of speckle pattern

研究代表者

福島 崇志（Fukushima, Takashi）

三重大学・生物資源学研究科・准教授

研究者番号：00452227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：最新の栽培技術において、高品質・高収量生産を目指すには、光合成活性、蒸散量、病気予察など植物生理・生体情報の取得が不可欠である。本研究では、植物組織内および細胞内で発生する複数の植物応答の把握を目的に、バイオスペckルにおける解析手法の検討と植物生理応答へのレーザー光波長の影響を明らかにした。また、葉緑体動態がスペckル変動要因の一つであることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後さらなる高品質・高収量生産を目指すには、気温、日射などの周囲環境の情報に加え、栽培作物自身の植物の状態情報が不可欠である。本研究では、その一助となる計測技術を構築するため、レーザーを利用した植物状態計測について、計測システムの構築ならびに解析方法についてこれまで明らかにされていない点を成果として得た。

研究成果の概要（英文）：For Japanese smart-agriculture (new agriculture for labor-saving and high-quality products by utilizing advanced technology such as a robot technology and ICT), it's needed to utilize the information of plant conditions to accomplish the high-quality and yield increase. The analysis method for bio-speckle and the influence of the wave length of the laser for the objective plant were examined to detect the plant response caused in the plant tissue and plant cell in this study.

研究分野：農業工学

キーワード：バイオスペckル レーザ光波長 葉緑体動態

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) Speaking Plant Approach (SPA) 技術やスマート農業において、高品質・高収量生産を目指すには、光合成活性、蒸散量、病気予察など植物生理・生体情報の取得が不可欠である。しかしながら、植物生理情報の取得に関して一般の農家が利用できるような安価・簡易な装置は現状ない。また、光合成活性や蒸散量などそれぞれ単一の指標のみでは環境変化に対する植物応答を説明するのは難しく、複数の指標から総合的に説明付ける必要があるが、前述のように植物生理情報を総合的に把握する現場対応型のシステムは存在しない。そこで、複数の植物応答を総合的に評価できる指標を提案することで、栽培の高度化・効率化に資する指針提供やデータ収集におけるコスト面で大きなメリットが得られる。

(2) 研究代表者らはこれまでに、植物体の微細構造の動的変化を捉えるために、レーザスペckル法を用いた研究を実施してきた。本計測システムでは、植物葉に対して透過光を利用したスペckル画像を取得している。そのため、植物葉内の層状組織もしくは各組織細胞の挙動を積算するような、複数の植物応答が混在する複雑なスペckル変動が確認された。これらを新たな計測・解析手法により分離・抽出することで、複数の植物生理情報を含む一つのスペckル画像から、統合的な植物生理指標を提供できる。また、光計測技術は一般的に IT との親和性が高く、非接触・非破壊の計測を可能とする。中でもレーザスペckル法は、原理的に低出力レーザと一般的なカメラのみで構成される安価なシステムであり、他の植物生理計測システムに比べ、実用性の点で有利である。

### 2. 研究の目的

(1) 前章の背景を受け、本研究では、植物組織内および細胞内で発生する複数の植物応答を把握できるスペckル動画像から、それぞれのパターンを分解・抽出・識別する計測原理を構築し、植物生理情報の新たな総合的指標“プラントアクティビティ”を創出することを目的とする。

(2) 植物細胞内運動では、特に青色光の強弱によって葉緑体定位運動が誘導されることが知られている。また、種によっては特定光波長により原形質流動が励起されることが確認されているが、必ずしも植物全般が同様の現象を有していない。本研究では、青・赤色光に加え、比較対象としての緑色光の半導体レーザを用いた植物葉細胞への照射実験を実施する。観察には、既往の研究で使用してきたダイズの若葉を用い、表皮細胞もしくは葉肉細胞を組織片サンプルとして準備し、光学顕微鏡によりレーザ光照射時の細胞運動の観察およびスペckル変動の特徴量を導出する。

### 3. 研究の方法

#### (1) レーザスペckル法

レーザスペckル法とはミクロな動態を捉えることのできる手法である。図1にレーザスペckル法のイメージ図を示す。レーザなどのコヒーレント光を物体に照射すると、対象粗面の凹凸やその内部の散乱粒子群によって光が散乱し、カメラなどの撮像素子上で干渉すると、スペckルと呼ばれる斑点の干渉模様が形成される。このスペckルのパターンは対象のミクロな構造変化や内部散乱粒子群の動態に追従して変化・変動することが知られている。スペckルパターンを連続的に撮影した画像(スペckル画像)の輝度値変動を解析することで動作を検出できる。

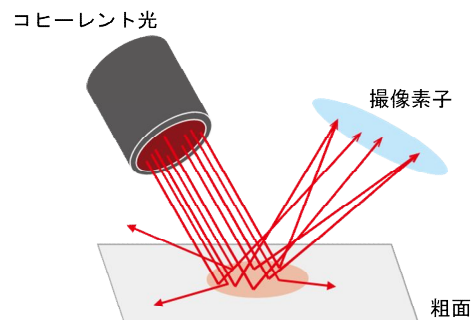


図1 レーザスペckル法の原理

#### (2) レーザ光波長の違いによるスペckル変動の差異

レーザスペckル法は単色でかつ可干渉性を有するレーザ光を照射する光センシング技術である。本手法を植物体に適用する場合は、照射光によってそれぞれ異なる植物生理現象が起こり、それに伴って得られるスペckルも異なるということが考えられるが、本手法における光の影響を明らかにした文献はほぼ見受けられない。本研究では波長の異なるレーザ光を照射し、得られるスペckル変動の差異を調査した。また植物体内で起こる原形質流動に着目しスペckル変動を引き起こす要因の一つを明らかにした。

#### (3) 光色の違いによる葉緑体動態の観察システム

本計測では、植物生体内の動的現象として、葉緑体動態に着目し、対象をオオカナダモとした。はじめに、光色の違いによる葉緑体動態の差異を確認するため、以下のシステムにおいて細胞観察を実施した。観察には顕微鏡 (ECLIPSE E100、Nikon) を用いた。光源には顕微鏡付属ライトを用い、カラーフィルタ (赤色光: #89-813、Edmond optics 株式会社、青色光: #89-763、Edmond optics 株式会社) によって波長

を選択した。波長はそれぞれ、赤色光：600～670 nm、青色光：427～513 nm である。撮影には CMOS カメラを使用した。画像は画素数 640×480 pixel とし、取得時間は 1 回の撮影につき 30 秒のインターバル撮影を 30 分間とした。

#### (4) スペックル撮影システム

波長の違いによるスペックル変動の差異を調査するため、異なる波長のレーザー光を照射した際のスペックル変動を解析した。レーザーは半導体レーザー（波長：685 nm、450 nm、フotonリサーチ株式会社）を用いた。このレーザーをオオカナダモ葉に照射し、透過光によるスペックル画像を CMOS カメラ（k4、カトウ光研株式会社）で取得した。画像は画素数 320×240 pixel とし、取得時間は 1 回の計測につき 1 fps、20 分間とした。

### 4. 研究成果

#### (1) 細胞観察結果

図 2 に細胞観察の画像を示す。赤色光の場合、光照射開始直後、光照射開始 30 分後、双方において、葉緑体は細胞内全体で確認され、葉緑体の分布に変化は見られなかった。一方青色光の場合、照射直後は葉緑体が細胞内全体に分布していたが、30 分後では細胞壁に沿うよう存在していた。つまり赤色光では細胞内動態として一次流動のみを行っていたが、青色光では二次流動が誘発されたという結果になった。

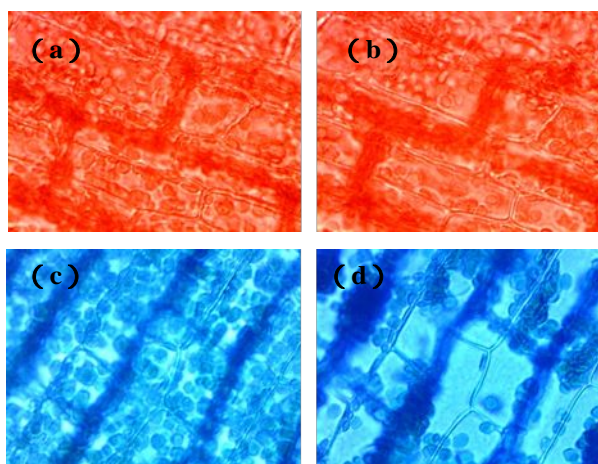


図 2 異なる光照射時の葉緑体動態

(a) (c): 照射直後、(b) (d): 照射 30 分後

#### (2) スペックル変動解析結果

図 3 に解析値をプロットした結果を示す。赤色光の場合、計測開始直後に値のゆるやかな上昇が確認され、その後比較的安定した。青色光の場合、赤色光の結果と比較して、計測開始直後に値の急激な上昇が確認された。また青色光の場合のみ、一部値の急激な変動がみられた。

赤色光の場合、細胞観察では一次流動のみが観察され、時間経過によって細胞内の様相に大きな変化はない。そのためスペックル解析は変動が小さいという結果になったと考えられる。青色光の場合、細胞観察では二次流動が観察され、時間経過に伴って大きな様相の変化がみられた。そのためスペックル解析でも変動が大きいという結果になったと考えられる。異なる波長の光が影響し、細胞内での原形質流動の様子が変化した結果、スペックル変動に差異がみられた。つまり原形質流動の様子が異なればスペックル変動も異なるため、原形質流動がスペックル変動に関わっていることが示唆された。

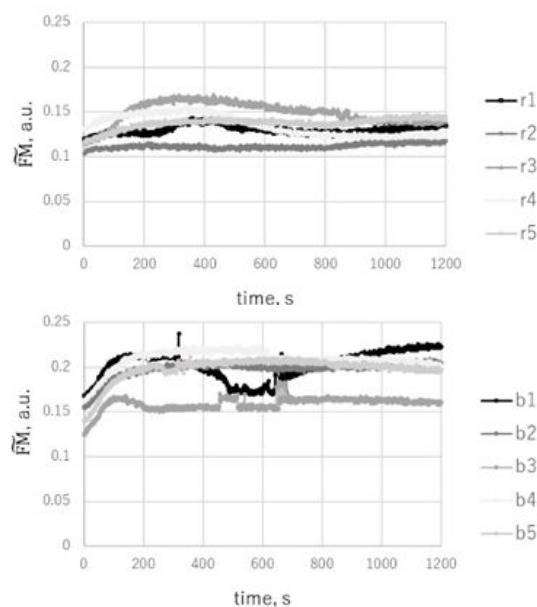


図 3 異なる光照射時のスペックル変動解析値  
上：赤色照射、下：青色照射

#### (3) 主な成果のまとめ

本研究では、植物体を対象としたレーザースペックル法で懸念されるレーザー光波長の違いによる応答性の違いを把握するため、植物体内で起こる原形質流動に着目し、波長の異なるレーザー光を照射し、得られるスペックル変動の差異を調査した。加えて、葉緑体動態がスペックル変動要因の一つであることが示唆されており、今後、植物生理応答の解析において有用な知見となった。

### 5. 主な発表論文等

#### [雑誌論文](計 2 件)

稲垣陽介, 福島崇志, 藤川実香, 長菅輝義, 滝沢憲治, 佐藤邦夫, レーザ光波長の違いによるスペックル変動の差異, 農業食料工学会関西支部報, 査読無, 125, 2019, 25-26.  
東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 稲垣陽介, ダイズ葉の水分流出に伴うバイオスペックル変動の解析, 農業食料工学会関西支部報, 査読無, 123, 2018, 45-46.

〔学会発表〕(計 6件)

藤川実香, 福島崇志, 稲垣陽介, 長菅輝義, 滝沢憲治, 佐藤邦夫, バイオスペックルにおけるスペックル変動と葉緑体動態の関係, 農業食料工学会関西支部例会, 2019.

稲垣陽介, 福島崇志, 藤川実香, 長菅輝義, 滝沢憲治, 佐藤邦夫, レーザ光波長の違いによるスペックル変動の差異, 農業食料工学会関西支部例会, 2018.

Fukushima T., Y. Inagaki, K. Nagasuga, K. Sato, N. Higashi and T. Sato, Development of sensing device for plant conditions utilizing laser speckle method, The 9th ISMAB, 2018.

稲垣陽介, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 東直志, バイオスペックル変動の要因解明を目指した植物細胞観察, 農業食料工学会関西支部例会, 2018.

東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 稲垣陽介, 植物葉動態のバイオスペックル特性, 生物環境工学会中部支部, 2017.

東直志, 福島崇志, 長菅輝義, 佐藤邦夫, 稲垣陽介, ダイズ葉の水分流出に伴うバイオスペックル変動の解析, 農業食料工学会関西支部例会, 2017.

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 長菅 輝義

ローマ字氏名: (Nagasuga, Kiyoshi)

所属研究機関名: 三重大学

部局名: 大学院生物資源学研究科

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 80515677

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、研究者個人に帰属されます。