植物のリズム運動に関する研究*

(第2報, 環境情報によるリズム生成挙動の計測)

山下 智 輝^{*1}, 三 輪 敬 之^{*1}

Rhythmic Motions of Plants

(2nd Report, Measurement of Formative Behaviour of Rhythms Induced by Environmental Informations)

Tomoki YAMASHITA and Yoshiyuki MIWA

We investigated mutual relationships between rhythmic motions of plant organs (roots and stems of peas (*Pisum sativum*)) and environmental informations by stimulating an organ with the LED light and the sound, using the newly developed measuring system. This system can record 3-dimensional motions of two plant organs automatically by image processing, and in this system the overhead crane was equipped with the light stimulating instrument or the sound stimulating instrument, which can locally stimulate the necessary part only. As a result, when the tip of a stem was stimulated with the blue light (470[nm]), it grew toward the light source as the amplitude of the rhythms increased. When stimulating a stem with the white noise for 1[h], the amplitude of rhythms in it grew bigger after stopping the stimulation. In addition, we found some correlations between rhythmic motions of the stimulated organ (stem) and the other organ (main root) when the tip of a stem was irradiated with the blue LED light.

Key Words: Biomechanics, Bio-Motion, Image Processing, Rhythm, Plant Organ, Biosystem, Environmental Information, Light, Sound

1. 緒 言

植物は動物と異なり、脳や感覚器官が存在しないにもかかわらず、例えば光屈性や重力屈性⁽¹⁾など、周りの環境に応じて自律的に生命活動を行っている。この点を情報システム論的な観点から明らかにするため、筆者らは植物器官の運動⁽²⁾におけるリズムに着目して、マメ科植物の根や葉などが示すリズムの関係性について調べてきた。その結果、主根と側根、根と葉、葉2枚、2個体の主根の示すリズムにいずれも相関性が存在することや、リズムが主根の障害物感知や主根同士のコミュニケーションに関係している可能性があることを先に報告した⁽³⁾。ここで、任意の器官に光、音などの様々な刺激を局所的に与えることによって、刺激を受けた器官のみならず、他の器官においてもリズムが生成されるかどうかを調べることは、環境情報が部分的に処理されるのか、あるいは他に伝達され共有されるのかといった、環境応答における部分と部分、部分と全体の関係付けに関する知見が得られる可能性がある。これは、地上部での環境の変化を地下部の根が把握するための情報の生成にも関係があり、極めて興味深い問題である。また、

リズム運動のメカニズムを検討する上でも各種の環境情報によるリズム生成の有無や変化挙動を明らかにすることは重要と考えられる。しかしながら、このような観点から環境情報と植物器官のリズム運動との関係について調べた研究例は計測方法の困難さもあって、これまでほとんど見当たらない。

そこで本研究では環境情報に対するリズム運動を総合的に調べるための植物器官3次元運動計測システムを新たに構築し、また、植物体の任意の位置に局所的な光、音刺激を印加するための装置をそれぞれ試作するとともに、それらを用いて、環境情報と根や茎などが示すリズム運動との関係性について調べた。以下、計測システム、各刺激装置の概要と得られた二三の実験結果について報告する。

2. 試作計測システムの概要

本システムは基本構成としては、前報と同様、計測対象周辺にてCCDカメラ(5倍の対物レンズを装備)4台を図1に示すように配置し、このうち隣り合った2台のCCDカメラを用いて、任意の器官先端部の画像を垂直2方向から取り込み、画像処理を施すことによって、時間変化に伴う微小な器官先端部の3次元運動軌跡を記録する方式を採用した。また、CCDカメラを上下左右方向に自動位置制御可

* 原稿受付 1997年9月19日。

^{*1} 正員, 早稲田大学理工学部(〒169-0072 東京都新宿区大久保3-4-1)。

Fig.1 Appearance of the measuring system

Fig.2 Appearance of the CCD camera positioner

能な移動装置を試作し、計測中では器官の運動に追尾するようにカメラの位置を自動制御することによって、計測点が生長等で視野から外れることなく連続的に計測を行うことが可能となっている。しかしながら、例えば光屈性に対する茎の挙動など、他の器官に比べて運動軌跡が大きい計測対象について従来のシステムを用いて実験を行うと、CCDカメラの焦点が固定方式であることから、場合によっては画像のピントがぼけて長時間安定した計測を行うことが困難であった。そこで、本システムでは上記の問題に対処するため、カメラの焦点合わせの自動化を図ることとし、それに伴い先に開発したCCDカメラ移動装置について前後方向にも位置制御できるよう移動機構を追加、改良した。図2にその外観を示す。

また、器官先端位置検出やカメラ位置補正など、計測における処理速度の向上や、計測システムの操作性の向上を図るため、先に開発した植物器官位置検出法を全面的に見直すとともに、Windows95で稼働する計測ソフトウェアを新たに試作した。前報では、器官先端位置検出手段として、器官先端部の画像に細線化処理を施し、画素の連結度から先端点を自動的に検出していたが、比較的丸みを帯びているエンドウ茎先端部について本手法を適用すると、細線化処理によって画像全体が収縮し、正確な位置検出が困難であった。そこで、丸みを帯びた形状から根先端部のように先鋭な形状まで、様々な形状に対応して正確な位置検出を

Fig.3 Process of detecting the tip position

Fig.4 Process of keeping the focal length as an organ grows

行う手段として、最短距離法によるパターン認識法⁽⁴⁾を採用した。すなわち、初期設定時に器官先端部周辺の図形(64×64画素)を参照パターンとして保存し、計測時にサンプリングタイムごとに参照パターンとの類似度から画像内の器官先端部を自動的に検出、さらに枠内図形の重心を求めることによって各画面での器官先端位置座標を算出することとした。この場合、図3に示すように、参照パターンとして標準パターンAの他に画素を一定量ずつ間引いてデータ量を1/4、1/16に減らしたパターンB(32×32画素)、C(16×16画素)の3種類を作成し、まずパターンCを画像左上より1ラインずつ走査させて類似度計算を行い、途中で類似度が高いと判断された地点に到達すると、その場でパターンBによる類似度計算を行い、その結果Bとの類似度が高いと判断されるとパターンAを用いて類似度計算を行うとい

Fig. 5 Constitution of the system

った、階層的パターンマッチングを実行することとした。これにより、標準パターンのみを用いて画像全体を検索する場合に比べて類似度の計算量が削減できることから、1器官につき約2[sec]以内に先端位置を検出することが可能となった。実際の計測では、各カメラからの映像（視野約7×7[mm]）が384×384画素の画像データとしてコンピュータに取り込まれる。また、器官先端部の動きに対応して器官先端部を囲う処理枠の一部が視野周辺部付近に到達すると、器官先端部が中心部に映し出されるようカメラの位置を自動的に補正する。さらに、焦点合わせに関しては、サンプリングタイムごとに焦点を合わせると処理が煩雑になることから、図4のように、1組2台のカメラのうち一方が横方向に位置補正した場合に、もう一方が同じ距離だけ前後方向に連動して位置補正を行うことによって、焦点距離をほぼ一定に保つこととした。以上により、根、茎、葉など任意の2つの植物器官の挙動について、最小1[mim]のサンプリングタイムで安定した連続計測を行うことが可能となった。図5に計測システムの構成を示す。

3. 試作刺激装置の概要

植物体の任意の部分に光、音刺激を加えるための装置をそれぞれ試作した。まず、光刺激装置は2個のリニアステッピングアクチュエータを用いることにより、上下方向に0°~90°照射角を変えることが可能である。また、光源は装置の小型軽量化を図るためLEDを用いることとし、さらに、青、緑、赤、赤外光などの特定の波長光に対する挙動変化について調べられるようにするため、各色LEDを16個格子状に配置してユニット化し、照射部において交換可能

Fig. 6 Appearance of the overhead crane

(a) Light stimulator

(b) Sound stimulator

Fig. 7 Appearance of the stimulating device

な構造とした。音刺激装置に関しては、スピーカからパイプを介して植物体に音を誘導する構造を採用した。これによりスピーカの磁気回路から発生する磁界の影響を除くことができる⁽⁵⁾。また、2個のステッピングモータによって音の出口を前後に±90°、左右方向に±45°変化させることが可能である。これらの刺激装置を図6に示すような天井部に設けられた3軸移動テーブルに取り付け、パソコンより遠隔操作することにより、水平方向245×245[mm]、上下方向130[mm]の範囲内で局所的な刺激を植物体の任意の位置に加えることが可能となった。試作した各装置の外観を図7に示す。

4. 実験結果

供試材としてエンドウなどのマメ科植物を用いた。これらの種子を暗所で約24時間流水に浸して発芽させた後、実験用アクリル樹脂製チャンバに設置して水耕栽培で生育させた。計測は試作した実験ボックス(1100×850×850

Fig.8 Rhythmic motion of a stem
(Stimulated with blue LED light [470nm])

[mm])内で行い、また、ボックス内の蛍光灯を点灯させて内部を昼光環境下(約1000[lx])に保ちながら、各種局所刺激に対する茎、根などの器官の挙動について主に調べた。

4.1 光刺激下におけるリズム運動の変化 まず、各色光に対するリズム運動の変化について調べるため、発根後約10日前後経過したエンドウの茎先端部に光刺激を加えたときの茎先端部の挙動について計測を行った。なお、光源として、青色光受容色素の吸収スペクトル領域内に含まれる470[nm]の青色LED、フィトクロムの吸収スペクトルのピーク近辺にある660[nm]の赤色LED、さらに両吸収スペクトル領域に含まれない570[nm]の緑色LEDを用いた⁽⁶⁾。その結果、図8に示すように青色LED光(470[nm])を連続的に照射した場合、照射直後(実験開始3時間後に照射)から時間とともに振幅を約5[mm]程度までに徐々に増大させながら、光源に向かって周期2時間弱でリズムカルに回旋するのが確認された。これは、外界における光の方向を模索するがごとくりズム運動を行っていることを示すものである。一方、他の色のLED光を連続的に照射した実験例として、緑色光(570[nm])、赤色光(660[nm])印加時における茎先端部の運動軌跡について図9, 10に示す。この場合、両者においてリズムが現れている方向成分も存在するが、いずれも青色光照射時に比べ振幅は小さいばかりでなく、青色光のように振幅が増大していかないのが分かる。また、青色光照射時のように光源にむかって運動を行う様子は見られなかった。さらに、回旋周期においても違いが観察されたが、これが波長によるものかどうかは今のところ定かではない。茎のリズム運動が青色光を照射した場合とそれ以外の光を照射した場合において異なる挙動を示す

Fig.9 Rhythmic motion of a stem
(Stimulated with green LED light [570nm])

Fig.10 Rhythmic motion of a stem
(Stimulated with red LED light [660nm])

原因や機構については今のところ不明であるが、青色LED光によるサラダナの成長促進効果⁽⁷⁾や、青色LED光照射によるマイタケの生体電位上昇⁽⁸⁾など、最近になって青色LED光に対する他の植物生体反応も二、三報告されており、これらがリズム形成メカニズム解明への手がかりとなる可能性もあるように思われる。

次に、エンドウ茎先端部付近に刺激装置を用いて青色LED光を照射した場合の、茎と主根先端部の挙動について同時計測を行った。計測結果を図11に示す。茎に関しては刺激開始後図8で示した結果と同様、光源に向かいながらリズム運動を行っている様子が見られた。一方、主根に関しては、刺激開始前ではX軸方向のみにしか顕著にリズムが見られなかったが、刺激開始直後Y軸方向にも現れ始め、

螺旋を原型としたリズム運動が形成されていった。また、茎の水平2方向について、波形を図12, 13に示す区間に分割して基準波形とし、基準波形の始点を中心に ± 30 分以内の区間で根の波形との相互相関を個々に求めたところ、照射直後からX軸、Y軸の相関係数が徐々に高くなっていくのが認められた。また、相関係数のピークが基準波形の始点から ± 10 [min]以内に位置しており、位相関係があると見なされることから、両者の間にコヒーレントな関係が生成していることが分かる。この結果は、リズム運動が非線形性を有し、光環境の変化に伴う茎のリズム運動に根のリズム運動が引き込まれることにより、タイミングの揃ったリズムが個体全体として形成され、環境情報が共有されることを示唆するものである。

4.2 音刺激によるリズム運動の変化 最近、音楽による作物の栽培効果が話題になっており、音楽を利用した水耕栽培装置が市販されているばかりでなく、その植物工場への適応例もある⁽⁹⁾。しかしながら、植物の音に対する受容体は見つかっていないため、音刺激を感知しているかどうかは二三の研究例⁽¹⁰⁾はあるもののあまり明かではない。したがって、局所的な音刺激に対する植物の運動系について調べることは、先に述べた情報論的知見をもたらすばかりでなく、音に対する植物の受容様式を解明する上で意味あることのように思われる。そこで本研究では、音刺激に対するリズム運動の変化について調べることにした。なお、音源としては、まずは音刺激に対するリズム運動の変化の有無を調べるため、スペクトルが無限大であるホワイトノイズと、農作物の生長促進効果があるとされる市販の生長音楽(曲名:ソニックブルーム)を用いることにした。

まず、試作装置を用いて、発根後1週間程度経過したエンドウの茎先端部付近にホワイトノイズを1[h]印加したときの茎先端部の運動軌跡について計測を行った。結果を図14に示す。印加終了直後に各方向ともに周期約2時間程度のリズムが現れ、時間とともに振幅が増大していくのを見出した。これは、音刺激によってリズム運動が誘発されることを示すものである。しかしながら、この場合、光刺激のように音源の位置に向かっている様子は認められなかった。

また、局所的な音刺激下における器官の相互関係性について調べるため、生長音楽を茎先端部付近に30[min]印加したときの茎と主根の挙動について調べた。まず、図15に、音刺激を加えない状態で5時間計測を行った結果について示す。この場合、主根に関しては約0.5[mm]程度の振幅、約2時間前後の周期でリズム運動を行っている一方、茎に関しては各方向とも目立ったリズムが観察されなかった。その後、計測を一時中断し、計測開始から3時間後に音刺激を与えるよう計測条件を再設定して同様の計測を行った。

Fig.11 Rhythmic motions of a stem and a root
(Stimulating a tip of a stem with blue LED light)

Fig.12 Cross-correlation between a stem and a root
shown in Fig.11 (X-direction, Reference-wave: Stem)

Fig.13 Cross-correlation between a stem and a root
shown in Fig.11 (Y-direction, Reference-wave: Stem)

その結果、図16に示すように、茎に関しては図14と同じく、刺激中断後に周期2時間前後のリズムが時間とともに活発化していった。一方、根に関しては、音刺激中断直後に先の光刺激の場合と異なり、振幅が減衰する傾向を示した。

Fig.14 Rhythmic motion of a stem
(Stimulated with white noise)

これは、茎先端部付近で受けた刺激によって、根のリズム運動が抑えられたのではないかと想像される。仮にそうであるならば、音刺激下においても器官相互間で情報が伝達される可能性が考えられるが、音刺激によってリズムが抑制されるのかどうかは、音の種類、印加時間などの影響について今後調べる必要があろう。

5. 結 言

本論文をまとめると以下ようになる

- (1) 様々な環境情報に対して、根、葉、茎など任意の2つの器官が示すリズム運動を長時間にわたって自動的に調べられる3次元運動計測システムを開発した。また、植物体の任意の部分に光、音刺激を印加できる刺激装置をそれぞれ考案開発した。
- (2) マメ科植物の茎先端部に青色光を照射したところ、光源を探索するようにリズム運動を行いながら、光源に向かって生長した。また、光刺激を茎先端部に与えた場合、茎のリズム運動と直接刺激を受けてない主根のリズム運動とのコヒーレントな関係が生成されていくことを示した。
- (3) 刺激装置を用いて茎先端部に音刺激を印加したところ、印加中断直後にリズム運動が現れ、音刺激によってリズムが生成されることを見出した。また、音刺激による茎のリズム運動が根の方に伝達する可能性を示した。
- (4) 以上の結果から環境情報に対し、リズム運動は各器官で個々に独立して行われるのではなく、植物体全体として環境情報を共有するように協調的に行われるものと考えられる。

最後に本研究を遂行するにあたり、多大なる協力をいた

Fig.15 Rhythmic motions of a stem and a root
(Before stimulating a stem with the sound)

Fig.16 Rhythmic motions of a stem and a root
(Stimulating a stem with the sound)

だいた、当時の卒論学生柏岡隆夫君に深甚なる感謝の意を表する。

文 献

- (1) 清水清, 植物の運動, (1979), 4, ニュー・サイエンス社.
- (2) 例えば, Darwin. C. (渡辺仁 訳), 植物の運動力, (1987), 237, 森北出版.
- (3) 三輪敬之, 山下智輝, 植物のリズム運動に関する研究 (試作3次元運動計測システムによる葉と根を対象としたリズム現象の測定), 機論, 62-596, C (1996), 1433-1438.
- (4) 河田聡, 南茂夫, 科学計測のための画像データ処理 (1994), 207, CQ出版.
- (5) 榑橋康博, 三輪敬之, 永利裕志, 長谷浩文, 生物の音刺激応答性に関する研究—その1: 植物を対象とした音刺激生育装置の開発—, 機論, No. 95-1 (1995-3), 322-323.
- (6) 新免輝男, 現代植物生理学4環境応答, (1991), 22, 朝倉書店.
- (7) 高辻正基, 釜谷慎太郎, 榑橋康博, LED栽培における光周期の効果, 植物工場学会, 8-2 (1996), 119-121.
- (8) 小川智行, 三浦宏康, 平間淳司, 宮本紀男, 弘田憲史, 光刺激による茸 (舞茸) の生体電位反応 (第1報), 植物工場学会, 9-2 (1997), 89-92.
- (9) Carlson. D, Sonic Bloom 資料, Scientific Enterprise Inc., Minnesota, U.S.A.
- (10) 例えば, 三輪敬之, 榑橋康博, 笹川雅之, 音刺激下における植物の葉表面電位変化挙動について, 生物環境調節, 30-1 (1992), 29-35.