特殊環境化での植物育成を可能とする インテリジェント生産検証システムの構築

赤松 史光¹, 林 潤¹, 武石 裕行¹, 岡澤 敦司², 木村 泰裕³, 小林 昭雄^{3,4}

¹大阪大学大学院 工学研究科機械工学専攻 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1)

²大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科応用生命科学専攻 (599-8531 大阪府堺市中区学園町1-1)

³大阪大学 産業科学研究所新産業創成研究部門 (〒567-0047 大阪府茨木市美穂ヶ丘8-1)

⁴大阪大学 工学研究科付属サステナビリティ・デザイン・オンサイト研究センター (660-0095 兵庫県尼崎市大浜町1-58-6)

Design and Development of Intelligent Plant Growth System that Enables Growth Under Extreme Environmental Conditions

Fumiteru AKAMATSU¹, Jun HAYASHI¹, Hiroyuki TAKEISHI¹, Atsushi OKAZAWA²
Yoshiaki KIMURA³, and Akio KOBAYASHI^{3,4}

¹Department of Mechanical engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871

²Department of Applied Life Sciences, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Nakaku, Sakai, Osaka 599-8531

³The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, 8-1 Mihogaoka, Ibaraki, Osaka, 567-0047

⁴On-site Research Center for Sustainability Design, Osaka University, 1-58-6 Oohama-cho, Amagasaki, Hyogo, 660-0095

(Received July 13, 2016)

Plant growth is significantly affected by such environmental parameters as light, water, atmospheric composition and pressure, temperature, humidity, and nutrients. A higher growth rate for plants might be attained by modulating such environmental parameters, which also affect the plant's physiological responses and quality and quantity of metabolites. In this study, we designed and fabricated an environment-controlled chamber called a plant growing chamber (PGC) to offer a variety of growth conditions for plants. Our PGC modulates temperature, humidity, light intensity, light wavelength, air pressure, etc. Using it, we focused on atmospheric pressure to examine its effects on plant growth. We used an aquatic plant, *Spirodela polyrrhiza*, as a test plant and evaluated its growth rate under elevated-atmospheric pressure varying from 0.1 to 0.4 MPa. The effects of elevated pressure on the growth rate were analyzed by an imaging processor. The growth rate increased up to 1.25 times under 0.2 MPa, suggesting that photosynthesis can be improved under conditions of elevated pressure.

Key Words: Elevated pressure, Hyperbaric condition, Plant growing chamber, *Spirodela polyrrhiza*

1. はじめに

近年、化石燃料の枯渇や地球温暖化をはじめとする環境問題が地球規模の問題となっている。植物由来のバイオマス燃料は、“再生可能な自然エネルギー”、“膨大な資源量”、“カーボンニュートラル”といった利点があるため、化石燃料の代替燃料としてだけでなく、二酸化炭素の大量排出による地球温暖化問題をも解決できる燃料として注目されている。その一方で、植物由来のバイオマス燃料は、“発熱量が低い”、“安定供給ができない”、“コストが高い”などの問題点があるため、現在のところ、大規模な普及には至っていない。このうち、“発熱量が低い”、“安定供給ができない”といった問題は、植物自体に由来する問題であり、これらの問題を解決し、植物由来のバイオマス燃料をさらに普及させるた

めには、植物自体が潜在的に保持している特性を明らかにした上で、植物の持つ機能を増強する必要がある。植物の持つ機能を増強する手法は、遺伝子組換えを始めとして数多くの研究がなされているが、我が国においては、遺伝子組み換え技術の普及には大きな障壁があるために、植物の持つ機能を増強する手法として、植物に環境ストレスを加除する手法が着目されている¹⁾。

環境ストレスを加除する手法とは、植物を育成する環境の変化に対する植物応答を利用して植物自体を増強する手法であり、植物の育成環境を人為的に制御することで、植物の持つ機能を増強することができる。ここで、植物応答を引き起こす環境因子のことを環境ストレスという。環境ストレスには、大分すると生物環境ストレスと物理化学的ストレスがある。生物環境ストレスとは病原菌等から植物が攻撃を受けることに起因するストレス

であり、物理化学的ストレスとは、主に水、温度、湿度、光、圧力、大気組成成分、栄養分などが通常の状態とは異なることに起因するストレスである。物理化学的ストレスのうち、光ストレスを用いて植物の持つ機能を増強する手法では、短期間で植物全体の機能を増強することが可能であり、例えば、光ストレスにより、抗がん剤の原料となるアルカロイド等の2次代謝産物を、植物に多量に生成させることが試みられている²⁾。

植物は数億年間の進化の過程で極めて多様な環境を生き抜いてきた生物種である。したがって、潜在的に激しい環境変化に順応して生き延びるために必要な代謝系を有していると考えられる。しかし、現存する植物では、主として通常的环境下での生育に必要な遺伝子が発現していると推察される。植物の生育に関わる環境因子(温度、大気成分、圧力、水分、光等)を極限まで変動させた場合、植物がいかなる反応を示すかを明らかにすることは、植物生産性を高めるための知見を得るために重要である³⁻⁵⁾。植物の極限環境状態に対する応答の解析は、任意の生育条件を設定できる植物育成チャンバーを設計・製作することで達成できる。

本研究では、(1)圧力(全圧、二酸化炭素分圧、酸素分圧)、(2)湿度、(3)光(光質・光量)、(4)温度などを任意に変えられる植物育成チャンバーを設計・製作した。この植物育成チャンバーを活用することで、任意に環境制御したチャンバー内での植物の生育や形態変化を観察できると共に、植物の質的な変化、つまり代謝物の変動や遺伝子発現を解析することができる。また、通常発現していない遺伝子を同定し、活用することで植物機能を向上させることが可能となる。またその結果は、植物工場等での閉鎖系における有用物質生産(タンパク質、脂質、デンプン、セルロース、ビタミン、フェノール性物質等)の生産効率を飛躍的に向上させる可能性に繋がる¹⁶⁾。さらに、バイオマス燃料として好ましい特性を有する植物資源の生産⁷⁻¹⁰⁾、並びに、宇宙空間における食物の自給と酸素生産への適用も期待される¹¹⁾。

本報では、設計・製作した植物育成チャンバーの性能を評価することに加えて、同チャンバーを使用して、圧力環境に着目して植物の生育に与える影響を調べたので併せて報告する。現在までに、低圧環境下で植物を育成した際の植物応答に関する知見が報告されている¹²⁻¹⁴⁾。また、二酸化炭素濃度を上昇させた環境で植物を育成すると、光合成による二酸化炭素の吸収が促進されることが明らかとなっている¹⁶⁻¹⁸⁾。Andersenら¹⁶⁾は二酸化炭素濃度が上昇すると、ウキクサの光合成量が増加することを示した。一方で、外部から二酸化炭素を供給し、二酸化炭素分圧を高めることに比べて、全圧を高めることで二酸化炭素分圧を高めることは容易である。また、宇宙空間では大気が存在しないため、人工的に0.1 MPa(1気圧)の環境を生み出すことと、加圧の環境を作り出すことは装置的には大差がなく、全圧を高めることで効率的に目的にあった植物を育成することができれば、将来的には、宇宙開発においても有益な知見となる。すなわち、より少ないエネルギー投与量で効率的に植物を育成

できるか否かを検証し、有用物質の生産性を高めることを可能とする装置の実現に資するデータを集積するために、ウキクサ(*Spirodela polyrrhiza*)を用いて、大気を加圧した条件下での育成結果についても併せて報告する。

2. 対象植物および実験方法

本実験では、ウキクサを対象植物として用いた。ウキクサは、被子植物でありながら構造が単純で、小さな水生植物であるために、光や温度、圧力などの環境因子の制御がしやすい。さらに増殖が速いために、実験での使用に適した植物である。また、全ての葉状体が水面上、すなわち同一平面上に浮揚するために葉面積の計測が容易であるという利点がある。

ウキクサはハイポネックス(Hyponex: 10N-3P-3K-0.05Mg-0.001Mn-0.005B, HYPONEX Japan, Co. Ltd.)を、水道水で1000倍希釈した養液中で培養した。光源は蛍光灯(27 W, OHM製)であり、光量は $65 \pm 5 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ で24時間連続照射した。生育環境の温度は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度は $70 \pm 5\%$ である(Table 1参照)。この条件で培養したウキクサを高圧環境下で育成し、圧力に対する応答を観察した。

高圧環境下でのウキクサの育成には、プラスチック製容器(容量140 mL, 縦: 84 mm, 横: 59 mm, 深さ: 32 mm)を4つ用いた。容器にはそれぞれにハイポネックスを1000倍希釈した養液を50 mL加え、培養容器中から無作為に選定したウキクサを、それぞれ4株植え継いだ。

プラスチック製容器は、4台の植物育成チャンバーに1つずつ設置した。プラスチック容器の設置位置は、植物育成チャンバーの上部蓋から155 mmの位置である。なお、植物育成チャンバーはプラスチック製容器を設置する直前に70%エタノールで殺菌した。柏木、米谷¹⁹⁾はウキクサが光合成に必要な光量は $60 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 程度であることを示し、葉温が上昇すると光合成量が低下することを示した。本研究では、葉温の上昇を抑制する目的で、光量を $62 \pm 3 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ とした。また、湿度を60%に制御した空気中、植物育成チャンバー内の空気を十分に置換した。なお、光量は光量計(PHR-5101, T&D製)を用いて、チャンバー内の植物を設置する位置で計測した。また、湿度の計測は露点計(HMT-334, VAISALA製)によって行った。なお、本研究で使用した露点計は、圧力の補正機能を保持しており、任意の圧力における湿度を計測することができる。4台の植物育成チャンバー

Table 1 Common experimental condition.

Plants	<i>Spirodela polyrrhiza</i>
Pressure (MPa)	0.1~0.4
Light source	Fluorescent light
Amount of Light ($\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$)	62 ± 3
Air temperature ($^\circ\text{C}$)	22 ± 2
Medium	Hyponex (diluted state: 1000)
Culture volume (mL)	50
Gas component	Air

内の圧力をそれぞれ、0.1から0.4 MPaに設定した。なお、実験を行った環境の温度は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ である。

実験開始後、24時間毎に葉面積の計測を行った。ウキクサの撮影は、植物育成チャンバー上部よりデジタルカメラ(DSC-HX5, SONY製)を用いて撮影した。撮影した画像より、画像処理ソフトを用いて葉面積を算出し、葉面積の増加率を用いて高压環境が植物育成に与える効果を相対的に評価した。なお、植物育成チャンバー内の空気は実験開始から24時間毎に置換を行った。その際、植物育成チャンバー内の圧力ははじめに設定した任意の圧力を維持している。

3. 結果および考察

3.1 植物の環境制御装置の開発

様々な生育環境因子を変化させた場合の植物の応答を観察するための装置を開発した。以下に開発した装置の詳細を述べる。

(1) 植物育成チャンバーとガス供給システム

植物育成チャンバーのサイズは、内径(ϕ)が170 mm、高さが330 mmである。植物育成チャンバーは、上部と側部をアクリル製とした。これは、植物の逐次観察が可能かつチャンバー内に光を供給するためである。上部のアクリル板は、肉厚15 mmのものを使用し、側部には、高速遠心注型成形により、肉厚15 mmの中空円柱を形成したアクリル円筒を使用した。また、底面はペルチェ冷却装置を用いて湿度制御を行うために、伝熱性能が高いアルミ板を使用した。なお、アルミ板は半径方向に傾斜を設けている。これは、ペルチェ冷却装置によって凝縮した空気中の水蒸気を植物育成チャンバーの底面の中心部分に収集するためである。さらに、上部のアクリル板および下部のアルミ板には、植物育成チャンバー内の圧力の計測やガスの置換、余剰水分を排出する目的で、1/4 RTのねじ穴をそれぞれ3つずつ設けた。それらのねじ穴のうち、上部の1つには圧力計(0.1~0.6 MPa (Gauge), 長野計器製)を取り付け、上部および下部の1つには、開閉バルブ(SS42-GS4, Swagelok製)を取り付け、他のねじ穴にはオスコネクター(SS400-1-4RT, Swagelok製)を取り付けた。これらをFig. 1に示すようにM10のボルトで連結した。なお、各部材の接合部には、ガスの漏れを防ぐ目的で、オーリングが挟み込まれている。

Fig. 1 Intelligent plant growth chamber.

ガス供給システムは、上述の独自開発した植物育成チャンバーに、圧縮空気ボンベ、レギュレーター(GF2-2510-RX-V, YUTAKA製)、クリーンフィルター(CF3-02, IAC製)、開閉バルブ(SS42-GS4, Swagelok製)、圧力タンク(10 L, ユニコントロールズ製)、露点計(HMT-334, VAISALA製)を、ステンレスチューブ(直径: 1/4 inch, 肉厚1 mm, Swagelok製)および、フレキシブルチューブ(1/4 inch, 肉厚1.1 mm, Swagelok製)により連結させて構成した(Fig. 2参照)。本装置により、最高で0.6 MPaの高压環境を実現することができる。

(2) 流入ガスの湿度制御

気孔の開閉は植物の光合成・呼吸に必要な酸素や二酸化炭素を、細胞に行き渡らせるためのガス交換に重要な機能である。この気孔の開閉は湿度条件に大きく左右されうる⁴⁾。そこで、異なる湿度条件での植物の高压環境に対する応答を観察するために、流入ガスの相対湿度を任意に制御することができる仕様とした。

高湿度環境を実現するために、ガスを供給する経路に圧力容器(容量: 10 L)を設置した。圧力容器内には1 L程の蒸留水が溜められており、供給ガスは圧力容器の底部から供給されて蒸留水中でバブリングされることで、ガス中に水蒸気が供給される。その結果、装置を導入しない場合の相対湿度は5%以下であるのに対し、この装置を導入した系では、ガス流速を調節することで相対湿度を35~95%の範囲で制御可能とした。

(3) 光量制御

前述のように、本研究で作成した植物育成チャンバーは外部から光を供給できるように設計した。光源には蛍光灯を用いて、光量制御は植物育成チャンバーと光源との距離を任意に調節することで $0 \sim 100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\text{s})$ の範囲で制御することを実現した。また、光質は使用する光源を変更することにより制御することができる。

(4) 温度制御

初期状態の温度は流入させる気体の温度で決まる。またチャンバーの外気温度を制御することで、植物チャンバー下部のアルミ板を通じて温度調節が可能である。

Fig. 2 Piping diagram of the plant growing system to regulate environmental parameters.

3.2 チャンバーの性能評価試験

本実験では、製作したチャンバーの性能評価試験を実施した。以下に実施概要と結果を示す。

本実験では、チャンバー内の環境を変化させた時の、圧力、気温、湿度、二酸化炭素濃度および酸素濃度の保持能力を評価した。

(1) 圧力変動の評価

実験では、圧力の初期設定値を0.2 MPaおよび0.4 MPaに設定し、チャンバー内の圧力を一定時間毎に計測した。なお、実験で使用したガスは、圧縮空気(相対湿度が5%以下)および、圧縮空気を圧力タンク内でバブリングすることで、湿度を $80 \pm 5\%$ まで上昇させたガスである。Fig. 3に、各圧力における、一定時間経過後のチャンバー内の圧力値を示す。Fig. 3より、圧縮空気を使用した場合は圧力変動が見られないことがわかる。一方で、高湿度ガスを使用した場合は、時間が経過するに従って圧力の変動が見られるが、その変動幅は初期圧力の $\pm 5\%$ 程度であり、十分に圧力を保持できていることがわかる。以上より、24時間経過した後も十分に圧力を保持できていることが確認された。

(2) 二酸化炭素濃度変動の評価

様々な濃度の二酸化炭素ガスを使用して、チャンバーの二酸化炭素濃度変動を評価した。チャンバー内の二酸化炭素濃度は、実験開始直後および、24時間経過後にガスクロマトグラフ(CP4900, Varian製)を用いて分析し、実験開始直後の二酸化炭素濃度からの変動を解析することで、チャンバーの二酸化炭素を保持する能力を評価した。各二酸化炭素濃度に対して4回ずつ実験を行い、4回の平均値を解析結果とした。結果として、二酸化炭素濃度は最大で16 ppm程増加した(Table 2参照)。変化率は最大4%程度であり、本チャンバーは、高濃度二酸化炭素を使用した場合でも、十分にその環境を保持することができた。

(3) 酸素濃度変動の評価

空気を使用してチャンバーの酸素濃度変動を評価し

Fig. 3 Change of pressure with experimental time.

Table 2 Amount of CO₂ concentration in the chamber at 0 and 24 hour and the changing rate.

	Experimental time hour		Changing rate %
	0	24	-
CO ₂ Concentration (ppm)	429.2	445.5	3.8
	768.4	776.0	1.0
	1155.8	1155.6	0.0

た。チャンバー内の酸素濃度は、実験開始直後および、24時間経過後にガスクロマトグラフ(CP4900, Varian製)を用いて分析し、実験開始直後の酸素濃度からの変動を解析することで、チャンバーの酸素濃度を保持する能力を評価した。実験は4回行い、4回の平均値を解析結果とした。結果として、酸素濃度は20.72%から20.65%に変化し、変化率は0.36%程度であった。このことから、本チャンバーは、十分に酸素濃度を保持できることがわかった。

(4) 温度・湿度変化の評価

実験では、チャンバー内上段、下段の温度、チャンバー内湿度、チャンバー外気温および、チャンバー外湿度を一定時間毎に計測した。なお、計測には、デジタル温湿度計を用いた。また、チャンバーは恒温室に設置されており、恒温室はエアコンによって21°Cに制御されている。Fig. 4に実験結果を示す。Fig. 4より、チャンバー内の気温は、チャンバー外気温に比べて、チャンバー下段で2°C、上段で、4°C程度高くなることがわかる。これは、チャンバー上段の方が、光源に近いためであると考えられる。また、24時間でのチャンバー内の温度変化は1°C未満であり、十分に温度が保持されていることがわかる。

チャンバー内のチャンバー内の湿度は、24時間で最大4%程度変動した。チャンバーの外部の湿度は50%程度でチャンバー内湿度に比べて低いにもかかわらず、チャンバー内湿度は24時間にわかって大きな変動はないことから、十分に保持できていることがわかる。

以上の実験結果より、本研究において設計、製作したチャンバーを使用して、十分に環境制御をすることがで

Fig. 4 Change of temperature with experimental time.

きていることがわかる。本実験では、この環境制御システムを用いて、圧力がウキクサの成長速度に与える影響を評価した。

3.3 ウキクサの育成および成長速度の評価

上記の装置(植物育成チャンバー)を用いて、植物の高圧環境への応答の1つとして、ウキクサの生育速度を検証した。前述したように、ウキクサは増殖速度が速く、また葉状態が同一平面上に浮揚しているために計測が容易である。ウキクサの生育状態は葉状態の総面積(葉面積とする)および葉状態数(Frond number)で評価した^{20,21)}。実験では24時間毎に葉面積を計測し、生育初日からの増加率で評価を行った。また、24時間毎に撮影したウキクサの画像より、ウキクサの葉状態数を求め、各圧力による、葉状態数に変化が生じるかどうかを検証した。結果として、葉面積の増加率は圧力が0.2 MPaのときに最大となり、常圧の場合の1.25倍であることが示された(Fig. 5参照)。これは、高圧環境下で育成することで二酸化炭素分圧が高くなり、光合成が促進されたためであると考えられる。

この結果は、高圧環境下での植物育成の高効率化の可能性を示している。また、各圧力における葉状態数の増加率を算出したところ、0.4 MPaにおいて、葉状態数が低下する傾向が見られたが、0.3 MPaまでは、差は見受けられなかった(Fig. 6参照)。このことから、0.3 MPa程度の高圧環境では、ウキクサは良好な状態で育成することができると思われるが、それ以上の高圧環境下では、生育阻害が生じている可能性が示唆された。

4. 結 論

本研究では、植物の潜在能力を開拓するために、植物育成システムの開発を行い、開発したシステムにおいて、圧力、湿度、温度、光量等を制御することを可能とした。また、本装置を用いて、ウキクサを高圧環境で育

Fig. 5 Increasing ratio of leaves area at different pressure.

Fig. 6 Increasing ratio of frond number at different pressure.

成し、ウキクサの生育状態を検証した。その結果、0.2 MPaにおいて、ウキクサの成長速度は最大となり、高圧環境で育成することで、植物を高効率に育成することが示唆された。今後、細胞内構成成分の変化や光合成活性の詳細を調べることで、増殖率向上の機構の解明が期待される。

参考文献

- 1) T. Morimoto, T. Torii, and Y. Hashimoto: Control Eng. Practice **3/4** (1995) 505.
- 2) M. Asano, K. Harada, T. Yoshikawa, T. Bamba, and K. Hirata, Biosci. Biotech. Biochem. **74** (2010) 384.
- 3) 横沢 正幸: 日本土壌肥科学雑誌 **74** (2003) 229.
- 4) 久野 春子, 新井 一司: 日本緑化工学誌 **28** (2002) 20.
- 5) H. Sasaki, M. Fukuyama, T. Onoue, T. Suyama, and T. Shoji: J. Grassland Science. **48** (2002) 12.
- 6) 高山 真策, 米良 信昭, 秋田 求: 植物環境工学 **24** (2012) 224.
- 7) 農林水産省農林水産技術会議事務局(編): バイオマス変換計画光琳 **103** (1991).
- 8) 小宮山 宏, 迫田 章義, 松村 幸彦: バイオマス日本 **130-135** (2003) 152.
- 9) 赤松 史光, 林 潤, 小林 昭雄: 機械工学を生かしたインテリジェントバイオマス生産検証システムの構築, 第6回バイオマス科学会議発表論文集 (2011) 6.
- 10) 環境省地球環境局: 事業者からの温室環境効果ガス排出量算定方法ガイドライン (2003) 43.
- 11) 橋本 博文: 日本惑星科学会誌 **20** (2011) 125.
- 12) H. L. Gohila, R. A. Bucklina, and M. J. Correll: Advances in Science Research. **45** (2010) 823.
- 13) E. Goto, H. Ohta, K. Iwabuchi, and T. Takakura: J. Agric. Meteorology, **52** (1996) 117.
- 14) Y. Tanga, S. Guo, W. Dong, L. Qin, W. Ai, and S. Lin: Advanced in Space Research **46** (2010) 751.
- 15) 石神 靖弘, 後藤 英司: 低圧環境における植物の生育. 植物環境工学 **20** (2008) 228.
- 16) I. H. Andersen, C. Dons, S. Nilsen, and M. K. Haugstad: Photosynthesis Res. **6** (1985) 87.
- 17) H. Poorter: Plant Ecol. **104/105**, 77, 1993.
- 18) W. J. Arp: Plant Cell Environ. **14** (1991) 869.
- 19) 柏木 良明, 米谷 俊彦: 地理学評論 **66A** (1993) 235.
- 20) 後藤 英司: アグリフォトニクス—LEDを利用した植物工場をめざして—, CMC出版 (2008) 111.
- 21) W. S. Hillman: Botanical Review **27** (1961) 221.