連載記事

「本学会のパラダイムと学術用語」 (第六回)

「その後の生体電位計測」

平間 淳司

(理事, 金沢工業大学工学部電気電子工学科 教授)

Subsequent Bio Electric Potential Measurement

Junji HIRAMA

(Department of Electrical and Electric Engineering, Kanazawa Institute of Technology)

1. はじめに

本誌連載「植物環境工学の研究展望」(第三回)では「生体電位の計測技術」として、差動増幅型(differential amplifier)の生体電位アンプ(bio electric amplifier)と計測技術の基本事項を紹介した¹⁾。今回は、「その後の生体電位計測」として、植物・茸・昆虫類を対象とした計測手法を主軸とした応用事例と今後の有効性を紹介する。動物・昆虫・植物などが生命活動を行っている、生体組織の細胞内部で極微弱(数mV～数100mV)な生体電位(bio electric potential)を誘発する。古くから生理学の分野では、これらの応答特性は生体電気生理として生理活性反応(bioactive reaction)の解明に役立ち生体工学(bioengineering)に応用されている。人間を例にすると、脳が活動すると脳波(electroencephalogram)、心臓の鼓動に伴って心電図(electrocardiogram)、筋肉の活動では筋電図(electromyogram)であり、臨床ではこれらの生体電位を計測することで医療診断に活用されている。近年、植物生理学や動物生理学分野への応用研究として注目され、特に植物の栽培における生育状態の監視や環境調節などへも応用されている。例えば、周囲温度、土壌水分量、光強度の変化で生体電位が変化し植物体が環境応答特性^{2,3)}を示す。植物体周囲の磁界(magnetic field)の変動での葉面電位(leaf electric potential)が応答し磁気変動を検知する傾向⁴⁾がある。光合成速度と生体電位応答とは関連性があり、生育環境調節に有効性が高い⁵⁾。機械的傷害で植物体内の電氣的シグナルが伝搬する実験⁶⁾や、葉面電位の日

周リズム(circadian rhythm)変動には、 K^+ イオンなどの生体内イオンや水の循環バランスが影響⁷⁾している、などである。なお、生体電位の発生メカニズムや代表的な計測事例については各種文献⁸⁻¹⁴⁾にて紹介されている。

一般に生体電位計測は、金属表面を銀・塩化銀(silver chloride: Ag / AgCl)処理を施した皿型のデイスポ電極や針型の金属電極や、先端部を数 μm 程度に細くした微小電極(microelectrode)とKCl溶液を用いた微少ガラス電極などを使用して、細胞膜(cell membrane)との分極(polarization)(微弱な直流電圧)を防止した方法で行われている。微弱な電気信号のノイズを減らして高いS / N比(signal to noise ratio)で記録するには、前置増幅器(pre-amplifier)を介して電気信号を増幅する。なお、生体電位アンプの詳細については、前回の「植物環境工学の研究展望」(第3回)生体電位の計測技術にて紹介¹⁾済みである。

2. 茸栽培

2.1 生体電位データから生育環境を調節する新たな茸工場の提案

茸(mushroom)は健康食品(health food)として需要が高まり、茸工場での人工栽培として、ここ数年で増加している。現在の茸工場での栽培環境調節は、栽培農家の経験と直感を生かして至適(optimal control)生育条件を決定することが多く科学的証拠は不足している。近年の研究では至適環境特性の多くが見出され生体電位と生育とは相関してい

ることが明らかにされつつある。今回は工学的見地から提案した SMA (Speaking Mushroom Approach) システムを使用して、マイタケ (*Grifola frondosa* Dicks. Fr. S. F. Gray) の栽培環境調節の自動化の例¹⁵⁾を紹介する。なお、本システムは長年にわたって多くの研究グループの研究対象である SPA (Speaking Plant Approach) の基本コンセプト¹⁶⁾に類似し、完全に自動化された環境制御システムである。茸は光合成に関与しないが、このシステムの生育環境調節パラメータの決定の基礎は、平間ら¹⁷⁾が光刺激 (light stimulation) に対して生体電位応答 (bio electric potential response) を最初に示したことからスタートしている。その後の研究で、400 ~ 500 nm の光刺激波長範囲 (青色域 LED) で最大の生体電位応答が得られることを見出し¹⁸⁾、そして光強度と生体電位との間に相関関係が示された。また、柳橋らは最大の生体電位応答は 18℃ から 22℃ の周囲環境温度範囲で最大値を示す温度依存性 (temperature dependency) を報告^{19, 20)}した。さらに、リズムミカルな光刺激変動が子実体 (fruit body) に及ぼす影響²¹⁾の調査や成長促進 (growth promotion) は照明の ON/OFF タイミングに影響²²⁾されることが示唆され、生体電位信号に現れる約 15 ~ 18 時間の生体リズム (biorhythm) 変動があることを明らかにした。また、12L12D (12 時間の明期、12 時間の暗期) の日長調節 (photoperiodic control) であったとしても、15 分と 30 分間隔の光の ON/OFF インターバル光照射が 24L0D の日長調節よりも優れた形態形成 (morphogenesis) をもたらした。

そこで、今後の生体電位計測の応用として子実体が種々の環境変化に応答する生体電位信号を生成するという最初の仮説²³⁾を積極的に導入して、生育制御の光照明タイミングを制御するためのバイオセンサとして使用できる SMA システ

ムを提案¹⁵⁾した。このシステムでは、前述のように外的刺激環境が茸の生体電位応答の諸特性を踏まえ、Fig. 1 に示すような茸工場内のランニングコスト削減と生産量 (production yield) 増大を目指し、栽培環境の至適制御システムの提案である。本システムは、一定の温度と湿度を維持しながら環境照明条件を調整するためのバイオフィードバックのメカニズムとして生体電位を使用している。例えば、茸の連続して計測される生体電位の挙動から種々のパラメータを求め、白色 LED や青色 LED の光提示を半自動で発光/消灯を制御させることで電力消費を低減させつつ、生長促進を狙った新たな生育環境制御である。

2.2 膜電位感受性色素を用いた細胞内に誘発する生体電位の膜電位伝搬特性の計測例

子実体の生体電位の微視的な発生および伝搬のダイナミクスの解明を目指し、膜電位感受性色素 (voltage-sensitive dye) を用いて光学的手法による細胞レベル (cellular level) での生体電位変化を膜電位伝搬 (membrane potential propagation) 特性として計測した事例²⁴⁾があ

Fig. 1 SMA システムによる茸工場のモデルの提案

例えば、茸の生体電位データから生育促進を狙った青色と白色 LED 光源を半自動で点灯制御である。生体電位の時系列データから電位変化のエネルギー成分やバイオリズム変動成分の強さを計算して光源制御を実行する。

Fig. 2 電気刺激直後の茸細胞内での吸光度変化

電位感受性色素を茸子実体の細胞内に浸透させ電気刺激を加えることで、生体電位の変化を光の吸光度変化として約 60 ms 毎の高速で 2 次元画像で撮影する。細胞膜間の電位伝搬特性が光学的手法で計測できる。図中の各ピクセルでの波長 700 nm の吸光度の時系列変化 (約 1 s 毎のデータのみを抽出) に吸光度が変化 (約 60 ms 毎) していることから、細胞膜間で生体電位変化の様子が推定できる。

る。すなわち、生体電位変動は子実体内部の細胞膜 (cell membrane) 間で誘発し信号伝搬が生ずる。電位感受性色素が細胞膜に取り込まれると、細胞内部の電位変化に対して光の吸光 (absorption) や蛍光 (fluorescence) の反応^{25, 26)}を示すので、一般に細胞の電位変化を非侵襲で捉えることができる。このように電位感受性色素を用いた電位伝搬の光学的計測 (optical measurement method) で細胞膜伝搬をリアルタイムに計測した例がある。これにより細胞膜内の信号伝搬特性 (signal propagation characteristic) を計測することで、生体電位の発生ダイナミクス (dynamics of generation) を検討している。Fig. 2 に示した例は、微弱な外部からのパルス電流刺激直後における波長 700 nm での光量変化が観測できたことから電位変化の様子を知ることができ、光学的変化が菌糸 (mycelium) 細胞の電位変化と断定できた。また、刺激による電位反応が細胞膜間を伝播する様子も確認できた。これにより、茸の光刺激の光波長依存性の生体電位応答特性の発生ダイナミクスを推定でき、今後の新たな生体電位計測の方法として注目できる。

2.3 生体内誘発電流を磁気変動特性として捉えた生体磁場計測例

先の研究で、茸の青色光刺激に応答した生体電位変化の上昇や下降を繰り返す現象は、子実体内部で生体電位が誘発し、これに伴い細胞内に極微弱な電流が流れ、その周辺に極微弱な生体磁場信号が発生すると考えられる。すなわち、茸に外的光刺激を与えると子実体の細胞内に極微弱電流 (weak current) が流れる。そこで、この微弱電流による極微弱磁場 (very weak magnetic field) を検出するために、超伝導量子干渉素子である SQUID (Superconductive QUantum Interference Device) センサを用いて生体磁気計測 (bio magnetism measurement) を試みた例がある。このシステムは超微弱磁気 (fT オーダ) を検知でき、近年脳外科の臨床診断用として脳磁図 (magnetoencephalography) で利用されている。ちなみに、日本本土の中央部の地磁気の強さは 40 ~ 50 μ T であり、このセンサはその約 10 億分の 1 の磁場感度を有する。松田ら²⁷⁾は生体電位変動を磁場変動として捉える新たな SQUID 計測システムを構築して、約 10 分間隔毎に茸子実体に青色 LED 光を照射したときに誘発する生体磁場計測を行った。Fig. 3 はその計測結果例を示し、光照射直後から約 5 分間に生体磁場が最大で 10 pT 上昇し、その後緩やかに下降に転じて照射直後の生体磁場信号の初期値まで推移している。次の光刺激提示でも類似した特長を示すことから、非接触非侵襲で間接的に生体電位の誘発状態を推定できる。このように生体電位の挙動を磁気変動の側面から

Fig. 3 マイタケの生体磁場信号強度の変化 (1 次トレンド成分除去済み)
茸の生体磁場観測用に試作した SQUID システムを用いて、青色光提示に連動して生体極微弱磁場変化が観測できる。子実体内部に電流が誘発して磁場を誘発している。

計測する新手法も考案されている。

3. 昆虫類の網膜電位計測

3.1 網膜電位信号に連動した物理的害虫防除 (physical insect pest control) の光源装置の開発例

昆虫の複眼 (compound eye) の網膜電位 (electroretinogram) (以後 ERG 信号と呼ぶ) 信号の光応答特性に連動した害虫防除光源 (insect pest control light source) による野菜類の加害防止を目指し、黄色 LED (Light Emitting Diode) 光源パネルを用いて、圃場 (field) にてキャベツ栽培現場で加害調査実験を実施した事例²⁸⁾を紹介する。

オオタバコガ (*Helicoverpa armigera*) とハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) などのヤガ類 (noctuid family) の複眼の ERG 信号は、450 nm ~ 600 nm の光刺激波長域で大きな反応を示し、高感度の光受容器 (photoreceptive organ, photoreceptor) の波長依存性 (wavelength dependency) が存在する。また、周期的な光刺激を与えた場合であっても、ERG 信号の応答特性には自発性ゆらぎ (spontaneous fluctuation) が観測できた。そこで、応用事例として ERG 信号の光刺激応答特性を踏まえ、黄色 LED 光源パネルを圃場内に設置してキャベツ栽培における加害調査を実施した。その結果、Fig. 4 に示すように無点灯区と点灯区との比較では、無点灯区のキャベツは加害が多く、点灯区は無点灯区の 1/7 ~ 1/8 に被害を低減できた。また、点灯区である周期的なパルス光となれ防止を目指したゆらぎ光とを比較すると、今回の例では両者には僅かな差で特段の差がないこともわかった。なお、消費電力 (power consumption) の観点から連続光に比べてパルスとゆらぎを

Fig. 4 キヤベツ畑での加害調査結果

無点灯区に比べて幼虫の発生数が大幅に減少している。黄色 LED 光源パネルを使用し「連続光」「パルス光」「1/f ゆらぎ光」で終夜照明した結果を示す。夜間照明で害虫が昼間と勘違いして成虫は行動抑制され、雄と雌の交尾阻害によって幼虫の発生が減少する。

含めた点滅光では、約 1/2 の省エネルギー (energy conservation) にも期待できた。

3.2 切り花キクの栽培現場での防除の今後の有効性

石倉ら^{29,30)}は、ヤガ類に対する ERG 信号の光応答特性を踏まえて、LED の持つ優れた光点滅の応答性を生かし、特に黄色 LED を用いて特定の明期と暗期の時間構造を設定し終夜パルス点灯させることで、ヤガ類には持続性の高い防除効果 (control effect)、すなわち行動抑制により交尾阻害 (mating disruption) を与え、キクには開花制御 (flowering control) 作用を低減させる画期的な物理防除光源装置の開発に成功した事例を紹介する。これらも昆虫類への生体電位計測の新たな応用である。ヤガ類の成虫 (imago) は光強度 1.2 mW m^{-2} 、明期 (light period) 10 ms および暗期 (dark period) 10 ms のパルス光照射 (pulsed lighting) でも ERG 信号には応答性が確認でき、防除光源装置としての有効性が高かった。この結果を踏まえて終夜照明 (all night lighting, overnight lighting) 下のキクは、光強度が小さい場合に明期と暗期が共に 10 ms のパルス光を採用すれば開花遅延 (flowering delay) も回避できた。また、光強度 (light intensity) は 19 mW m^{-2} と大きい場合は、明期 10 ms で暗期が 50 ms 以上ならば開花遅延が回避できた。なお、明期 20 ms、暗期 80 ms の終夜のパルス点灯でキクに寄生 (parasitization) したオオタバコガの幼虫 (larva) の数は減少した。Fig. 5 は 2009 年 9 月から 10 月の期間に兵庫県南淡路島の露地ギク圃場での防除実験結果を示す。光強度は約 20 mW m^{-2} 一定とし、連続光 (continuous lighting) およびパルス光 (明期 20 ms、暗期 80 ms) で終夜照明した場合のキクに寄生したオオタバコガ

Fig. 5 ヤガ類 (ハスモンヨトウ) の幼虫の寄生虫数の比較 (光強度は約 20 mW m^{-2})

左: 連続照明区。中: パルス照明区 (明期間; 20 ms, 暗期; 80 ms)。右: 照明無区。照明区ではいずれも加害が少ない。

の幼虫数を示す。このようにパルス光区や連続光区の一部でわずかな寄生数は見られたが、無処理区と比較して少なく、露地ギク圃場での害虫防除の有効性が確認されている。なお、この時のパルス光の採用は、ヤガ類の成虫に照射光を常時視認させ「慣れ現象」を防止している。このように、キクの開花反応からの観点からは、連続光の終夜照明下では著しい開花遅延が発生するところ、パルス光によってそれを回避できる大きなメリットがある。さらにパルス光は省エネ対策にもなる利点がある。このような結果は、昆虫類の網膜電位の計測データに基づく新たな発展的な成果である。

4. 最後に

本報告では、各種外的刺激環境変化によって植物・茸・昆虫などから誘発する微弱な生体電位の諸特性を活かし、植物工場や茸工場での栽培現場、あるいは圃場での害虫防除へ応用事例を紹介した。これにより、今後も生体電位の新たな計測技術の更なる応用が期待されている。

引用文献

- 1) 平間淳司, 「植物環境工学の研究展望」(第三回) 生体電位の計測技術. 植物環境工学. 30: 207-214. 2018.

- 2) 新保達也, 大藪多可志, 長谷川有貴, 広林茂樹, 竹中幸三郎. 生活空間における温度変化に対する植物生体電位応答特性. 電気学会論文誌. 125(E(6)): 253–258. 2005.
- 3) 新保達也, 大藪多可志, 広林茂樹, 竹中幸三郎. コミュニケーションを目的とした植物生体電位の環境認知. 電気学会論文誌. 124(E(12)): 470–475. 2004.
- 4) 宮本紀男, 深見 正. 植物が示す神秘的電磁気現象. 電気学会誌, (113(6)): 469–472. 1993.
- 5) Ando K, Hasegawa Y, Maekawa H, Katsube T. Analyzing bioelectric potential response of plants related to photosynthesis under blinking irradiation. IECE Trans. Electron., E91–C(12): 1905–1090. 2008.
- 6) Wildon DC, Thain JF, Minchin PEH, Gubb IR, Reilly AJ, Skipper YD, Doherty HM, O'Donnel PJ, Bowles DJ. Electrical signaling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant, *Nature*. 360: 62–65. 1992.
- 7) 田沢 仁, 新免輝男, 三村徹朗. 植物細胞の電位発生. 静電気学会誌. 113(6): 469–472. 1993.
- 8) 青木幸一, 森田雅夫, 堀内 勉, 丹羽 修. 微小電極を用いる電気化学測定法. 電子情報通信学会, 東京. 28–69. 1998.
- 9) 岡本 尚, 岸本卯一郎, 柴岡孝雄, 千田 貢, 田沢 仁 編. 植物電気整理研究法. 学会出版センター. 東京. 11–72. 189–240. 1983.
- 10) 大藪多可志, 勝部昭明 編. 植物生体電位とコミュニケーション. 海文堂, 東京. 5–134. 2009.
- 11) Gelle A, Lautner S, Flexas J, Fromm J. Environmental stimuli and physiological responses: The current view on electrical signalling. *Environmental and Experimental Botany*. 114: 15–21. 2015.
- 12) Barlow PW. Reflections on 'Plant neurobiology'. *Bio Systems*. 2813: 1–16. 2008.
- 13) Le Mouel JL, Gibert D, Poirier JP. On transient electric potential variations in standing tree and atmospheric electricity. *C. R. Geoscience*. 342: 95–99. 2010.
- 14) Lautner S, Grams TEE, Matyssek R, Fromm J. Characteristics of electrical signals in poplar and responses in photosynthesis. *Plant Physiology*. 138: 2200–2209. 2005.
- 15) Oguntuyinbo B, Hiram J, Yanagibashi H, Matsui Y, Ozawa T, Kurahashi A, Shimoda T, Taniguchi S, Nishibori K. Development of the SMA (Speaking Mushroom Approach) environmental control system: Automated cultivation system characterization, *Environ. Control Biol*. 53: 55–62. 2015.
- 16) 橋本 康. 太陽光植物工場における俯瞰的化学技術の流れー植物生体情報 (SPA: 植物学) と栽培プロセスのシステム制御 (工学)ー. 植物環境工学. 25: 57–64. 2013.
- 17) 平間淳司, 野寺正浩, 濱本智朗, 高橋直樹, 三浦宏康, 宮本紀男, 弘田憲史. ボックに 1/f ゆらぎを付加した光刺激による葉面電位の挙動. 植物工場学会誌. 9: 15–18. 1997.
- 18) 小川智行, 三浦宏康, 平間淳司, 宮本紀男. 光刺激による茸 (舞茸) の生体電位反応 (第1報). 植物工場学会誌. 9: 103–106. 1997.
- 19) 柳橋秀幸, 松田真人, 原田健一, 平間淳司, 宮本紀男, 西堀耕三, 大平安夫. 光刺激による茸 (舞茸) の生体電位反応 (第3報)ー周囲温度と生体電位との関係ー. 植物工場学会誌. 15: 94–97. 2003.
- 20) 平間淳司, 柳橋秀幸, 松田真人, 石田 良, 宮本紀男. 光刺激による舞茸の子実体の生体電位応答と形態形成との関係. 電気学会論文誌 C. 122(9): 1679–1685. 2002.
- 21) 柳橋秀幸, 松田真人, 平間淳司, 宮本紀男, 西堀耕三, 大平安夫. 光刺激による茸 (マイタケ) の生体電位応答 (第4報)ー子実体および培地内部のリズム変動特性ー. 植物工場学会誌. 16: 193–197. 2004.
- 22) 柳橋秀幸, 平間淳司, 坂本香織, 宮本紀男. 光の波長と環境温度がナメコの生体電位および形態形成に及ぼす影響. 植物環境工学. 17: 11–18. 2005.
- 23) 平間淳司, 松岡大輔, 松井良雄, 西堀耕三. 光源制御をマイタケの生体電位の自発性リズム変動に連動させた茸栽培の試み. 植物環境工学. 20: 90–97. 2008.
- 24) 柳橋秀幸, 平間淳司, 宮本紀男. 膜電位感受性色素を用いた子実体内部における電位伝播の光学的計測. 植物環境工学. 18: 255–260. 2006.
- 25) Grinvald A, Salzberg BM, Chohen LB. Simultaneous recording from several neurons in an invertebrate central nervous system. *Nature*. 268: 140–141. 1977.
- 26) Kamnino K, Sato Y, Sato K, Mochida H. A measurement and analysis method using voltage-sensitive dyes. *J. Physiological Society of Japan*. 61: 94–134. 1999.
- 27) 松田真人, 平間淳司, 柳橋秀幸, 宮本紀男, 足立善昭, 西堀耕三, 大平安夫. マイタケにおける光照射時の自発性極微弱磁場信号計測. 植物工場学会誌. 16: 20–23. 2004.
- 28) 平間淳司, 関 憲一, 細谷直輝, 松井良雄. 黄色 LED 光源を用いた物理的害虫防除装置の試作ーヤガ類の行動観察結果ー. 植物環境工学. 19: 34–40. 2007.
- 29) 石倉 聡, 平間淳司, 野村昌史, 山下真一, 東浦 優, 岩井豊通, 二井清友, 山中正仁. 黄色 LED パルス光を用いた秋ギクの害虫防除光源装置の開発ー開花の遅延を回避できる光照射技術ー. 植物環境工学. 22: 167–174. 2010.
- 30) 石倉 聡, 後藤丹十郎, 平間淳司, 山下真一, 野村昌史, 尹 丁梵. 黄色 LED パルス光を用いた秋ギクの害虫防除光源装置の開発ー秋ギク生産に適用可能な放射照度の範囲の特定ー. 植物環境工学. 24: 244–251. 2012.

※ 用語のリストは日本生物環境工学会のホームページに掲載しています。次の URL を参照して下さい。

<http://jsabees.org/tterms>