

# 研 究 報 告 書

## 「精密環境オミクスデータに基づく植物生産不安定性の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 27 年 12 月～平成 31 年 3 月

研 究 者: 福田 弘和

### 1. 研究のねらい

あらゆる食料生産において、「生産の安定性」は重要である。しかしながら、高い安定性を保証する基礎理論や技術(ノウハウ)は現在のところ十分に開発されているとは言えない。従来から「安定性を保証し、安定性を高める技術」については様々な農学研究や技術開発において広く議論されているが、安定性を崩壊させる「不安定性」の実態解明ならびにその体系的な研究は行われていない。生産安定性を高めるための根本的な基礎研究が必要である。

そこで本研究では、植物生産における『生産不安定性』の根本を解明することで、植物生産におけるリスクの回避または低減を目指す。本研究では、実用性、再現性、研究の効率性を重視し、人工光型植物工場(以下単に植物工場とする)において研究を実施する。植物工場も生産不安定性を引き起こす様々な要因に晒されており、植物体内の複雑・非線形な生理応答によって、生産不安定性が発生していると考えられる。またその要因や発生機構は植物工場に特有のものとなっていることがあり、フィールドとは異なる固有の基礎研究も必要となっている。

本研究では、現代的な研究手法である RNA-Seq 解析や画像処理技術、大規模データ解析を駆使して、「生産不安定性」の解明に挑戦する。精密な環境データとオミクスデータの時系列的な解析により、生理代謝を網羅的に解析し、最終的には遺伝子発現モデルによって不安定性を数理モデル化する。これにより、遺伝子発現モデルによって記述された生産不安定性の理論を整備し、その理論に基づいた「生産安定性」の設計の実現を目指す。

研究戦略として、次の 2 つのアプローチを同時に実施する。(1)データ駆動型アプローチ: 植物工場に特化したデータベースを構築し、環境データ・オミクスデータ・フェノームデータの統計解析を行う。これにより、生産不安定性の発見とその生物学的解明を行う。(2)不安定性理論アプローチ: 「コアダYNAMICS」である日周性(概日リズム)に着目し、生産不安定性を引き起こす生理応答の非線形性を数理モデル化することを行う。

本研究は最終的には、フィールドにおける栽培予測研究(頑健なモデル・シミュレーションの構築)、大規模施設園芸・太陽光利用植物工場・人工光型植物工場における栽培最適化研究など、各分野のビッグデータに含まれる「生産不安定性」の解析に貢献することを目指す。

### 2. 研究成果

#### (1)概要

本研究は、人工光型植物工場(大阪府立大学・植物工場研究センター量産実証棟(レタス日産 5,000 株))において研究を実施した。対象作物はレタス(リーフレタス)とした。

まず、研究テーマAとして「データ駆動型アプローチによる生産不安定性の発見と解明」を行

った。植物工場内の環境・オミクスのビッグデータを取得・解析することで、生産不安定性を引き起こす様々な要因を総合的に発見・解明する手法を開発した。栽培・生産管理の観点からは、①各栽培工程(緑化工程、育苗工程、栽培工程)におけるデータ取得(論文5)、②専用データベースの構築とデータ解析、③収益モデルの構築と支配パラメータの特定(論文4)、を行った。これにより、個々のパラメータがもたらす生産不安定性に対し体系的な取り扱いと定量的な比較が可能となり、さらに生産現場における支配パラメータの実測法ならびに収益向上アルゴリズムを提案することができた(特許2)。植物生理学の観点からは、④時系列トランスクリプトームを用いたレタスの概日リズムの基本特性の解析(論文1、3)、⑤1 時点サンプリングによる概日リズムの評価法の開発、⑥栽培の全工程における時系列トランスクリプトームデータの取得と解析、を行った。これにより、トランスクリプトームにおける概日リズムの診断による生育診断手法の基礎を構築することができた。

次に、研究テーマ B として「不安定性理論アプローチによる生産不安定性の数値モデル化」を行った。ここでは不安定性の解明の鍵として、生理代謝の非線形性に着目した。研究の切り口として、⑦概日リズムの非線形応答関数を精密に同定し(論文2)、⑧トランスクリプトーム統計モデルへの導入研究を行った。⑨得られた非線形応答関数に基づいて設計された概日リズムの破壊条件にて栽培試験を行い、有意に生育変化を引き起こすことを証明した。また、⑩概日リズムの破壊によるストレス付与法を新規に開発した(特許1)。

さらに、研究テーマ C として「生産不安定性の汎用的評価手法の開発」を行った。ここでは、⑪植物生産安定化フローチャートの作成ならびに⑫太陽光利用植物工場のトマト葉トランスクリプトームデータにおける概日リズム診断手法を開発し、概日リズムに関する潜在的な生産不安定性を発見・回避・低減するための汎用的な評価手法の基礎を構築した。

## (2) 詳細

研究テーマ A「データ駆動型アプローチによる生産不安定性の発見と解明」

- ① データ取得： 生物データとして緑化室(クロロフィル蛍光画像 6000 株/日×611 日分)、育苗室(撮像領域 1224 株の時系列画像データ計 24 万枚(図 1))、栽培室(地上部生重量計 2000 株)、トランスクリプトームデータ(計 516 検体)を取得した。環境データとして、緑化室・育苗室・栽培室における温度・湿度・大気圧の時系列データ(3 年分)と、緑化室の照度分布(全空間)と育苗室における照度分布(1244 株分)を取得した。

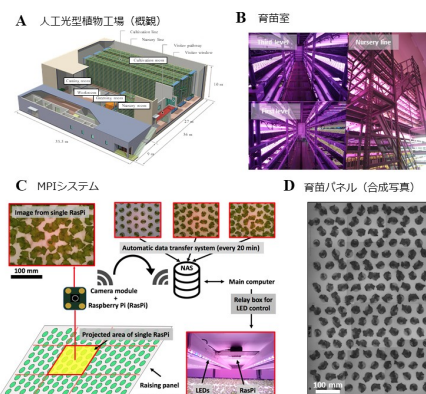


図 1 植物工場(育苗室)におけるデータ取得システム(論文 5)。

- ② 専用データベースの構築と解析： 上記①で得られたデータを格納し相関解析を行うための専用データベースを構築した。また、データ解析の結果、育苗工程が生産不安定性の鍵となるステージであることが判明した。

- ③ 収益モデルの構築と支配パラメータの特定：生産工程毎のコストと生重量分布の時間変化の実測値に基づき、最終的な収量ならびに標準的な売上値を算出する数理モデルを構築した。この数理モデルのパラメータ感度分析から、収益に影響を与えるパラメータ（支配パラメータ）の特定を行った。これにより、生産現場における支配パラメータの実測法ならびに収益向上アルゴリズムを提案した（論文4、特許2）。
- ④ 時系列トランスクリプトームを用いたレタスの概日リズムの基本特性の解析：本研究の基本コンセプトである「概日リズムの非線形性による生産不安定性」を生理学的に明らかにするために、計 516 検体からなるレタスの時系列トランスクリプトームデータの周期性解析を行い、251 個の遺伝子発現指標（contig）を得た。この 251 個の機能解析や、連続明条件ならびに明暗サイクル条件（12 時間明：12 時間暗）における標準的な動態を解析した。これらの解析によって、植物工場において栽培されるレタスの概日リズムを正確に分析する基盤を構築できた（論文1、3）。
- ⑤ 1 時点サンプリングによる概日リズムの評価法の開発：一般に、栽培条件や品種によってトランスクリプトームの数値やパターンが変化するため、1 時点だけのデータだけで概日リズムの位相（体内時計の内部時刻）を正確に推定することは困難である。これを克服するために、植物工場レタス（連続明、明暗サイクル）や、太陽光利用植物工場トマト（秋、冬、春）、そしてシロイヌナズナの複数の時系列トランスクリプトームデータを複合的に分析し、1 時点サンプリングによる概日リズムの評価法の開発を行った。これにより、最適なサンプリングを実現するための実験計画の指針（RNA-Seq 解析のための実験計画法）を開発できた。
- ⑥ 栽培の全工程における時系列トランスクリプトームデータの取得・解析：以上の④⑤の展開として、植物工場における全栽培工程（播種後 10 日目～収穫 38 日目）における 2 時間毎の RNA-Seq 解析（計 1323 株のサンプリング、計 384 の発現量データを取得）した。これにより、概日リズム不安定期の特定を実現するための、栽培の全工程における概日リズムの精密な解析を行った。

#### 研究テーマ B「不安定性理論アプローチによる生産不安定性の数理モデル化」

- ⑦ 概日リズムの非線形応答関数の精密な同定：概日リズムは光などの環境パルス入力に応答するが、その応答は入力時の概日リズムの位相に依存する。この依存性は位相応答曲線（PRC）として計測され、概日リズムの基礎特性として知られる。既往研究では、生理代謝を管理する概日リズムの応答性、すなわち PRC がノイジーであり、しかも同定に時間がかかるため、研究の進展を妨げていた。特に、作物への応用は非常に困難な状況であった。本研究では、RPC を高速同定し、しかも高精度に同定する新規の手法を開発した（図 2、論文2）。この成果により、作物の PRC 同定のための重要な基礎を得ることができた。

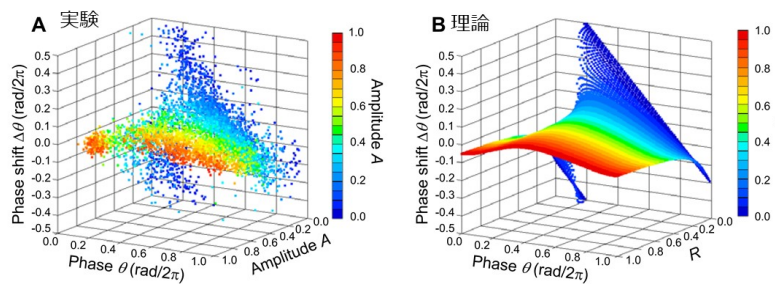


図 2 新規に開発した PRC 同定手法。個体リズムの振幅(細胞間同期率)が新たな変数として追加された(論文 2)。

- ⑧ トランスクリプトーム統計モデルへの導入研究： 先行研究(Nagano, et al. Cell 2012)のイネ・時系列トランスクリプトーム統計モデルにおいて、概日リズムの重要性が明らかにされていた。しかし、概日リズムの項は「周期 24 時間」と固定されており、概日リズムがもつ柔軟な環境応答性(位相応答)は議論できていなかった。本研究では、上記④⑤⑦により、概日リズム項の改良提案を行った。
- ⑨ 概日リズムの破壊条件における栽培試験： 得られた PRC に基づいて設計された概日リズムの破壊条件(24 時間周期で入力される極短時間暗期条件)にてレタスの栽培試験(計 996 株)を行った。これにより、概日リズムの破壊条件により生育不良が生じることを証明した。これは、植物工場における暗期の作業灯点灯などの軽微な光刺激であっても、生育不良を引き起こす可能性があることを示す結果であり、植物工場に特有の生産不安定性の一例として検討した。
- ⑩ 概日リズムの破壊によるストレス付与法の開発： 得られた PRC に基づいて概日リズムの破壊条件(細胞間の脱同期によるスパイラル波の発生条件)を設計する理論を構築し、レタスの水ストレスに対する応答を実証した(特許1)。

#### 研究テーマ C「生産不安定性の汎用的評価手法の開発」

- ⑪ 植物生産安定化フローチャートの作成： 本フローチャートは、「植物生産システムの利益モデル」を始点とし、「パラメータの同定・分析」、「生産不安定性の評価」、「生産不安定性への対策」を経由し、「収量の安定化、利益の最大化・安定化」を終点とした。「生産不安定性への対策」において(i)最適運用技術、(ii)回避技術、(iii)利用技術を定義した。本フローチャートにより、生体計測(フェノタイピング)、個体差低減(苗診断)、育種の位置づけを整理した。
- ⑫ 太陽光利用植物工場のトマト葉トランスクリプトームデータにおける概日リズム診断手法の開発： 愛媛大学植物工場ならびに静岡大学栽培施設(峰野博士との共同研究)において、様々な季節(秋、冬、春)における時系列トランスクリプトームデータを取得し(計 197 検体)、生産施設ならびに季節、品種に依存せずに安定して概日リズムを示す 59 個の遺伝子を特定した。これにより、生産現場に利用可能な汎用的な概日リズム評価手法を構築した。⑪と合わせて、概日リズムに関する潜在的な生産不安定性を発見・回避・低減するための汎用的な評価手法の基礎を構築できた。



### 3. 今後の展開

- ・ フィールド・施設園芸における潜在的な生産不安定性を発見・回避・低減するための汎用的な評価手法の開発

まずは、環境ゆらぎ（気候変動に伴う長期トレンドと不規則変動の周波数・振幅）に対する概日リズムの非線形応答を解明し、フィールド・施設園芸における成長のばらつきを引き起こすメカニズムの数理モデル化を行う。次にその数理モデルに基づく、概日リズムの正常化の手法（環境調節、栽培計画の見直しなど）の理論を構築する。

- ・ 植物工場における AI ロボット技術の基礎研究

植物工場は2018年よりコンビニ等の業務用市場分野からの投資が相次いでおり、植物工場の技術は産業界で急速に発展するものと思われる。10年後には、AI搭載の作業ロボット（移植、定植、収穫の各作業ロボット）が導入され、AIについて一貫した情報処理を行う植物工場「AI コンシステンシー植物工場」の出現が予想される。一方で、植物工場分野における国際競争は激化しており、数年～10年後における国際競争力の維持は不透明である。このような背景の下、産学連携における基礎研究の推進が必要であり、特にAIロボットのアルゴリズムに関わる基礎研究が重要である。例えば、収益の最大化と安定化を実現するための生体診断・生体制御技術の基礎研究が重要であり、今後の研究として実施する。

### 5. 主な研究成果リスト

#### (1) 論文(原著論文)発表

1. Takanobu Higashi, Koh Aoki, Atsushi J. Nagano, Mie N. Honjo, Hirokazu Fukuda. Oscillatory analysis of the lettuce transcriptome under constant light and light-dark conditions. *Frontiers in Plant Science*, 2016, Vol.7, 1114(1-10).
2. Kosaku Masuda, Ryota Kitaoka, Kazuya Ukai, Isao T. Tokuda, Hirokazu Fukuda. Multicellularity enriches the entrainment of *Arabidopsis* circadian clock. *Science Advances*, 2017, Vol. 3, no. 10, e1700808.
3. Mari Takeoka, Takanobu Higashi, Atsushi J. Nagano, Hirokazu Fukuda. Estimation of the circadian phase by oscillatory analysis of transcriptome in plants. *Environmental Control in Biology*, 2018, 56(82), 67-72.
4. Shogo MORIYUKI, Hiroaki KANEDA, Yusaku MIYAGI, Nobuhiro SUGIMURA, Hirokazu FUKUDA. Profit Models Based on the Growth Dynamics of Lettuce Populations in a Plant Factory. *Environmental Control in Biology*, 2018, 56(4) 143-148.
5. Shogo Nagano, Shogo Moriyuki, Kazumasa Wakamori, Hiroshi Mineno, Hirokazu Fukuda. Leaf Movement Based Growth Prediction Model Using Optical Flow Analysis and Machine

Learning in Plant Factory. Frontiers in Plant Science, 2019, 10:227. doi: 10.3389/fpls.2019.00227.

## (2)特許出願

研究期間累積件数:2 件(公開前の出願件名については件数のみ記載)

1.

発 明 者: 福田弘和、関直基、谷垣悠介、山川浩延

発明の名称: ストレス耐性植物の製造方法

出 願 人: 公立大学法人大阪府立大学

出 願 日: 2017/3/30

出 願 番 号: 特願 2017-068474

2.

発 明 者: 福田弘和、守行正悟、山川浩延、糸賀和義

発明の名称: 植物の生産方法

出 願 人: 公立大学法人大阪府立大学

出 願 日: 2017/8/29

出 願 番 号: 特願 2017-164480

## (3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

### 発表

- Antony Dodd, Hirokazu Fukuda. How plants sense and respond to environmental cycles. 日本学術会議公開シンポジウム・2017 CIGR World Workshop symposium, 松山, 2017/9/2.

### 受賞

- 福田弘和, 日本生物環境工学会, 学術賞「植物工場における概日時計の計測と制御に関する基盤的研究」2018 年 9 月 19 日

### 書籍

- Editors: MASAKAZU ANPO, HIROKAZU FUKUDA, TERUO WADA. PLANT FACTORY USING ARTIFICIAL LIGHT Adapting to Environmental Disruption and Clues to Agricultural Innovation. Elsevier, 2018/10/15.

### 報道・プレスリリース等

- 「解剖先端拠点 苗選び、空調「稼げる技術」」 福田弘和, 増田昇. 日経産業新聞 2017/2/21.
- 「植物体内時計の柔軟な環境適応能力を明らかに～植物栽培における体内時計の高度計測制御技術の開発に期待～」大阪府立大学・JST 共同プレスリリース, 2017/10/4.
- 「体内時計の機序解明」 福田弘和, 徳田功. 化学工業日報, 2017/10/12.

- ・ 「植物生産における概日時計のシステム科学」 福田弘和, 科研費 NEWS, 2018/3/19.