

# ナノマテリアルを用いた人と環境にやさしい持続的な精密農業の技術開発

筑波大学 生命環境系

木下 奈都子

## 1. はじめに

世界では現在、人口増加と気候変動、土壌劣化、生物多様性の喪失、そして感染症の蔓延といった複合的な問題が農業生産に深刻な影響を及ぼしている。国連食糧農業機関（FAO）によれば、世界人口の9人に1人が依然として慢性的な飢餓状態にあり、持続可能な開発目標（Sustainable Development Goals, SDGs）の目標2である「飢餓をゼロに（Zero Hunger）」の達成は風前の灯火であると報告されている。特に開発途上地域では、気候変動や病虫害の増加による収量の不安定化が、農業と食料供給の持続性を揺るがしている。

一方、日本を含む先進国においては、農業従事者の高齢化と減少が深刻である。2010年に205万人であった農業就業人口は、2019年には140万人を割り込み、平均年齢は68歳に達している。70歳以上が全体の約40%を占めるという現実、近い将来の農業基盤の崩壊すら示唆している。

このような背景のもと、農作物の生産性を脅かす要因のひとつが、病虫害、特にウイルスや昆虫による被害である。これらの病虫害による潜在的な収量損失は、FAOの推定によれば世界全体で年間25%にも上る。従来、農薬や組換え作物（GMO）などによる対策が講じられてきたが、耐性を持つウイルスや害虫の出現により、既存の対策の効果が低下しつつある。そのため、新たな作用機序をもつ植物保護技術の開発が強く求められている。

このような技術の一つとして、植物の電気生理的応答や遺伝子発現変化を利用した“植物バイオセンシング”が注目されている。植物は外部環境の物理的・化学的刺激に対して、イオンチャネルやポンプの活動を通じて膜電位を変化させると同時に、特定のストレス応答遺伝子の発現を誘導することが知られている。これらの応答を、電極による電位測定や、蛍光タンパク質を用いた遺伝子可視化により非破壊的に検出することが可能であり、植物が感知した環境変化をリアルタイムで可視化できる新しいセンシング技術としての可能性が広がっている。

近年では、こうした植物の電位変動や蛍光シグナル変化を指標とするバイオセンサーが、病虫害の早期検出、大気汚染物質への応答評価、温室管理、自動農薬散布など、多様な応用に向けて開発されつつある。

## 2. 早期の生物ストレスのモニタリング

植物は外界からの物理的・化学的刺激に対して、膜電位変化やシグナル伝達物質の生成を通じて応答し、それに応じた遺伝子発現を誘導することが知られている。これらの生理応答を非侵襲的に計測する方法として、(1) 葉面に配置した電極を用いた電位変化の検出、(2) ストレス応答性遺伝子の発現を蛍光タンパク質で可視化する遺伝子レポーター系の活用、という2つの手法が挙げられる。電位応答は即時性に優れ、蛍光可視化は遺伝子レベルでの特異性・選択性の高い応答を捉えることができる。これらを組み合わせることで、植物のストレス応答を多層的かつ時系列で可視化する統合的センシング系の構築が可能になる。

本研究では、高等植物における葉の空間的電位分布と、物理的・化学的刺激（切断、VOC）に対する電気応答の記録を行うとともに、ストレス応答性遺伝子の蛍光可視化実験を実施した。特に、オワンクラゲ由来の黄色蛍光タンパク質（YFP）を用いたレポーター系、ならびに細胞内二次メッセンジャーを可視化する蛍光レポーターを活用し、生物ストレスに対する時系列的な発現応答を解析した。

本研究は、植物の初期ストレス応答を電位・遺伝子・細胞内情報の3階層で統合的に捉えることを目的とし、将来的な植物バイオセンサーとしての応用可能性を評価するものである。

## 3. 細胞内のシグナル伝達機構のバイオイメージング

生物ストレスに応答して顕著に発現レベルが変化する遺伝子に関して、その遺伝子発現を制御するDNA配列をオワンクラゲに由来する黄色蛍光タンパク質に融合させてキメラ遺伝子を導入した野生型シロイヌナズナ植物系統を用いた。害虫としてはジェネラリスト害虫を用いた。作物としてはセンサー植物と同じシロイヌナズナを用いた。実験時には、2匹のジェネラリストとスペシャリスト鱗翅目昆虫を利用した。ジェネラリスト昆虫は、シルクメイトで飼育した。スペシャリストは小松菜で飼育した。撮影間隔は1h。12回繰り返し撮影を行った。得られたYFP画像について、8bit画像とし、閾値を統一して葉面の輝度を測定した。

シロイヌナズナの蛍光レポーター系統に害虫を加害させ、YFPの時系列変化を定量解析した結果、細胞内シグナルは刺激初期から明確な蛍光変動が観察され、 $(F-F_0)/F_0$ 比の上昇は初期時点から顕著であった。対して、遺伝子発現プロモーター由来レポーターでは、刺激から1~2時間後にかけて段階的な上昇が見られた。統計的有意差を検定した結果、いずれの群においても初期値との差が1~3時間以降に有意であることが確認された。この結果は、遺伝子レベルと細胞内シグナルの時間軸的応答差を示すとともに、組織形態によっても応答の立ち上がりには差異があることを示している。

#### 4. 葉における空間的電位分布と刺激応答

植物は根や葉を通じて、光、温度、湿度、病原体、機械的刺激、化学物質など、環境からのさまざまな刺激に適応する能力を持つ。これらの応答にはホルモンや二次代謝産物による化学的伝達に加え、電気的信号も重要な役割を果たしている。植物の電気信号には、アクションポテンシャル (action potential)、バリエーションポテンシャル (variation potential)、および系統的電気信号 (systemic electrical signals) などが存在し、特定の刺激に応じた電位変化として植物体内に伝播する。これらは神経系を持たない植物において、迅速な全身的情報伝達を可能にする手段として進化的に獲得されたと考えられている。

植物電位の測定には、通常は表皮または葉肉細胞に電極を配置し、環境変動や処理に応じた電位変化を記録する非侵襲的手法が用いられる。従来、こうした植物電位測定は、学術的に電気シグナルの生理的意味や伝達経路を明らかにする目的で用いられてきたが、近年ではこの技術を環境センシング、ストレス診断、作物生育評価などの応用に発展させる試みが加速している。

一方で、植物電位測定にはいくつかの技術的課題も存在する。たとえば、使用する参照電極の材質や設置方法が結果に大きな影響を及ぼし、測定結果の再現性や比較可能性を損なうことがある。また、植物種や葉の位置、測定時の水分状態や環境条件によっても得られる電位分布が変化しやすく、信号の解釈に慎重を要する。本研究では、葉における電位の空間分布および物理刺激に対する電気的応答について探索的に解析した。特に注目したのは、(1) 葉の基部から先端にかけての電位傾斜の存在、(2) 参照電極の材質 (アルミニウム vs 白金) による電位極性の差異、(3) 葉への切断などの機械的刺激に対する一過的な応答である。

#### 5. 電位測定システム

電位測定には、多チャンネル対応の電圧ロガーを用い、3点チャンネル構成で測定を行った。各測定チャンネル (CH1~CH3) は、それぞれ葉の基部 (葉柄付近)、葉の中間部、葉先に対応する位置に電極を設置した。電極は銀メッキ導線 (外径 0.5 mm) を基材とし、表面を導電性ジェルで処理したうえで、葉表面に密着させた。

参照電極には、(1) アルミニウム箔を鉢土に挿入する方式、および (2) 白金線 (0.5 mm 径、10 cm 長) を同様に鉢土に設置する方式の2条件を用意し、それぞれの条件で同一の葉に対する電位記録を行った。すべての電位は参照電極との相対値として記録した。各実験の電位記録は、刺激前 3-5 分、刺激後 5-10 分を含む合計 10-15 分間にわたり連続的に行った。

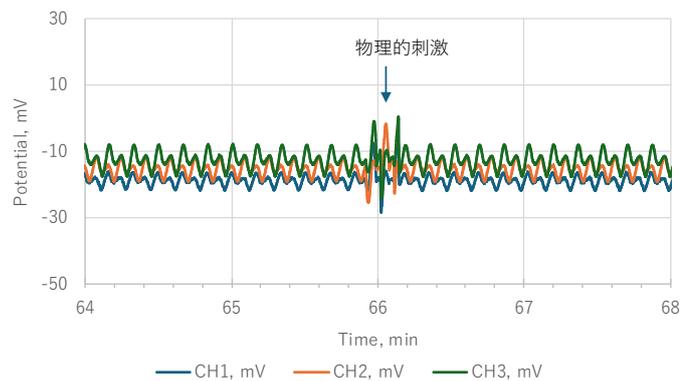
物理的刺激としては、葉中部において、事前にマーキングした部位をハサミで垂直方向に一回切断した。切断直後からの電位変化を記録した。水滴刺激：葉先に対しミリ Q 水を 1 滴滴下し、接触による電位応答を確認した。これらはウイルス媒介昆虫を含む、昆虫との相互作用のモデル相互作用である。

記録された電位時系列データは CSV 形式で取得し、Microsoft Excel および GraphPad Prism を用いて解析・グラフ化を行った。各チャンネルの電位変動はベースラインからの変化量 ( $\Delta$  mV) として算出し、刺激の直前 1 分間と直後 5 分間の平均電位差に基づき応答の有無を評価した。

## 6. 葉における空間的電位分布と参照電極材質の影響

葉における空間的な電位分布と参照電極材質の影響を明らかにするため、葉上に 3 点の測定電極 (CH1: 葉柄近傍、CH2: 葉中部、CH3: 葉先端) を配置し、鉢土に挿入した参照電極の材質をアルミニウムまたは白金に切り替えた条件下で電位を連続測定した。測定は同一個体・同一葉上で交互に実施し、各参照条件における電位の絶対値とチャンネル間勾配の違いを比較した。

アルミニウム参照電極を使用した場合、3 チャンネル間の電位は CH1 > CH2 > CH3 という傾向を示し、葉の基部から先端にかけて電位が段階的に減少する分布パターンが再現された。例えば、ある測定例では CH1 が +10.2 mV、CH2 が +5.3 mV、CH3 が +2.1 mV という値を示し、葉先で最も低い電位が記録された。この分布は複数個体間でも共通しており、葉の形態的勾配や生理的水分ポテンシャルの差異と関係する可能性が示唆された。



一方で、白金参照電極を使用した場合には、極性が完全に逆転し、CH3 > CH2 > CH1 の順で電位が増加するパターンが観察された。この変化は、測定系における参照電位の基準が電極材質により大きく変動することを示しており、測定値の絶対的な比較や符号の解釈には注意が必要であることを明確にした。

これらの結果は、植物の電位分布が単に葉の内部構造や代謝活動によって生じているだけではなく、外部測定系の電気化学的条件（特に参照電極の電極電位）に強く依存することを示している。また、白金とアルミニウムという電気化学的に大きく異なる材料を用いることで、測定系そのもののポテンシャルウィンドウが変化し、植物組織との間で形成される電位差に反転が生じたと解釈できる。

## 7. 切断刺激に対する一過性電位応答

次に、物理的刺激として葉中部への切断処理を行い、CH2（刺激部位に最も近いチャンネル）における電位変化を高時間分解能で追跡した。刺激の実施は、測定開始から4分後に葉中央を鋏で鋭く切断することで行い、刺激の瞬間を時系列データ上でマークした。

切断直後からCH2の電位は顕著な下降を示し、10秒以内に最大で $-2.5\text{ mV}$ の低下が記録された。この変動は急峻かつ鋭敏であり、応答開始から約90秒以内にほぼ基準値（ $+5.0\text{ mV}$ 前後）へと回復した。その波形は、一過性の変化でありながら遅延と持続性を併せ持つ「バリエーションポテンシャル」に類似しており、外部刺激に対する電気生理的情報伝達の初期応答として位置づけられる。

対照として、同一の測定におけるCH1（葉基部）およびCH3（葉先端）では、切断直後から5分間の間に顕著な変化は認められず、刺激に対する応答が空間的に局在していることが示された。これは、植物体内における電位変動が刺激部位に近い領域で局所的に発生し、その影響が電氣的に減衰あるいは遮断される構造的・機能的境界が存在することを示唆する。

さらに、同様の切断処理を複数個体に対して再現実施した結果、CH2での応答波形には再現性があり、刺激の種類と強度に対して一定の電位応答が引き起こされることが確認された。これにより、物理的損傷に対する植物の電気応答は、感受性と選択性を兼ね備えた信号源であることが強く示唆される。

この結果は、植物を非侵襲的に電氣的に監視することで、害虫加害や機械的ダメージの早期検出に利用できる可能性を支持する。また、感受部位の電極配置を工夫することで、損傷の空間位置を推定することも将来的には可能となる。

## 8. 参照電極材質が電位測定に及ぼす影響

まず、参照電極として白金とアルミニウムを用いた際の電位極性の反転は、植物体内の電位差の絶対値が電極-植物間の電気化学的ポテンシャル勾配に依存していることを端的に示している。白金は標準電極電位が $0\text{ V}$ で電気化学的に安定であるのに対し、アルミニウムは $-1.66\text{ V}$ と強い還元性を示す。この差は鉢土中の水分、電解質、および接触界面の酸化還元反応に影響を与え、結果として植物体との間に形成される相対電位が異なる方向をとる可能性が高い。

従来、植物電位測定においてはAg/AgClなど安定な参照電極が用いられてきたが、本研究のように簡易的材料で測定を行う場合、得られるデータの符号や絶対値には慎重な解釈が必要である。特に、植物体内の生理的電位変化と、測定系に由来するアーチファクトとの識別は、バイオセンシング応用における再現性や機器設計に直結する課題である。したがって、今後は参照電極の材質に関して校正曲線の作成や複数電極の併用による相対比較など、標準化を進める必要がある。

## 9. 切断刺激に対する一過性電位応答

葉中部の切断刺激により、CH2 でのみ急峻かつ一過性の電位変動が観察された現象は、植物が外的損傷に反応して生理的に電気シグナルを生成する能力を有することを裏付けるものである。この応答波形は、アクションポテンシャル（AP）というよりは、持続時間が長く伝播性が限られることから、バリエーションポテンシャル（VP）に近いと考えられる。VP は、機械的損傷や焼灼、強い光刺激などにより誘導されることが知られており、その発生には細胞膜の破壊、カルシウム流入、活性酸素種の生成といった二次的シグナルが関与するとされる。

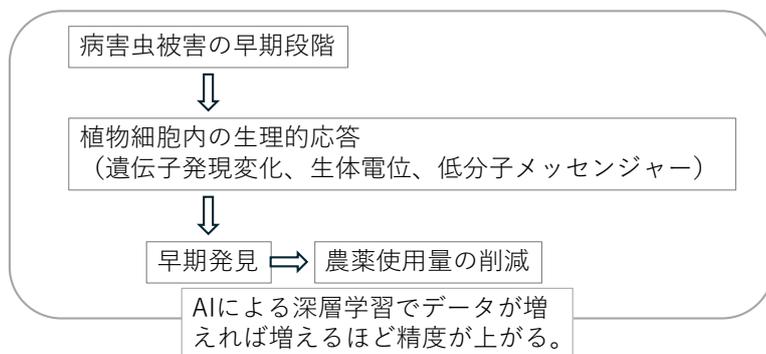
本研究では、CH1 および CH3 では明確な変動が観察されなかったことから、VP の発生と伝播には細胞間連絡構造（plasmodesmata）や維管束構造による制限があることが示唆される。加えて、植物種や葉の構造、刺激の種類によっても応答特性が変化することが知られており、今後の展開としては、異なる植物種・葉齢・刺激強度を統制した比較研究が有用である。

また、切断刺激に対する電位応答は、農業現場での虫害や風害などのストレス検出に転用可能である。リアルタイムでこれらの信号を検出することにより、損傷の早期発見や局所的対応（例：ピンポイント農薬散布）が可能となる。

植物電位の定量化と応用展開に向けて

本研究を通じて、植物の電位は刺激条件、測定構成、環境要因に応じて定量的かつ再現性のある変動を示すことが確認された。これは、植物を用いたバイオセンシングが、環境ストレスや病虫害検知の実用的ツールとして成立する可能性を強く支持する。とりわけ、本研究のような簡易構成による測定系でも応答性が得られることは、センサーデバイスの小型・低価格化、さらには IoT 技術との統合による現場実装にとって極めて有利である。

今後の展望としては、イオンチャネル阻害剤や膜電位可視化プローブとの併用によるメカニズム解明、時系列データの AI 解析による刺激分類・自動判定、多点ネットワークによる空間マッピング（病害の検出範囲と拡散方向の推定）などが考えられる。



持続的で自動な病虫害モニタリングと人と環境にやさしい農業

## 10. まとめ

本研究では、植物に対するストレス応答を多層的に捉えるために、葉の電気生理的变化（バイオ電位）と、遺伝子発現および細胞内シグナル伝達の可視化という2つの異なる観測系を組み合わせ、解析を行った。その結果、植物は物理刺激（切断）、および生物ストレス（害虫加害）に対して、部位特異的かつ時間依存的に電位および蛍光応答を示すことが明らかとなった。

電位測定においては、急性かつ一過性の電位変化が記録され、また電極材質による電位極性の違いも明確に観察された（図1）。これらは、植物の電気応答の再現性と、測定系の構成要素が応答性に与える影響の両方を示している。

一方、蛍光可視化系（*Arabidopsis thaliana*）では、細胞内二次メッセンジャーに由来する即時的な蛍光変動、およびストレス応答性遺伝子プロモーターに由来する1~2時間の遅延を伴う段階的な蛍光上昇が確認された。この応答の差異は、細胞内シグナル伝達と転写制御の階層的な時系列特性を反映していると考えられる。

また、 $(F-F_0)/F_0$ 比の変化量と立ち上がり時点は応答モデルごとに異なり、組織処理などの形態的要因によっても感受性が変化することが統計解析から示唆された。このことは、植物体の局所的構造や害虫の食害様式が、ストレス検出の閾値や波形に影響を与える可能性を示している。

以上の知見から、植物はストレス刺激に対して電位変化という初期的かつ即時的な応答と、遺伝子発現という中・後期の段階的応答の両方を発揮しており、これらは異なる時間軸・感受性・選択性をもって作用する補完的な指標であると結論づけられる。両系統を統合的に利用することで、植物のストレスセンシングはより高精度かつ多面的な情報取得が可能となる。

将来的には、これらの手法を用いた植物バイオセンサーにより、病虫害・乾燥・大気汚染といった環境ストレスのリアルタイムかつピンポイントな検出が可能となり、スマート農業や都市緑化モニタリングへの応用が期待される。多点測定やAI解析との統合により、植物自身を「生きたセンサー」とする環境情報ネットワークの構築が現実味を帯びてきたといえる。

## 謝辞

本研究は（公益財団法人）天野工業技術研究所、2024年研究助成を受けて実施されました。ここに深くお礼申し上げます。

## 参考文献

1. Fromm, J., & Lautner, S. (2007). Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant, Cell & Environment*, 30(3), 249-257.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01614.x>
2. Volkov, A. G. (Ed.). (2006). *Plant electrophysiology: Theory and methods*. Springer. <https://doi.org/10.1007/3-540-32726-6>
3. Zimmermann, M. R., & Mithöfer, A. (2013). Electrical long-distance signaling in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 8(7), e25631.  
<https://doi.org/10.4161/psb.25631>
4. Salvador-Recatalà, V., Tjallingii, W. F., & Farmer, E. E. (2014). Real-time, in vivo intracellular recordings of caterpillar-induced depolarization waves in sieve elements using aphid electrodes. *New Phytologist*, 203(2), 674-684.  
<https://doi.org/10.1111/nph.12806>
5. Toyota, M., Spencer, D., Sawai-Toyota, S., et al. (2018). Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science*, 361(6407), 1112-1115. <https://doi.org/10.1126/science.aat7744>
6. Baldwin, I. T., Halitschke, R., Paschold, A., von Dahl, C. C., & Preston, C. A. (2006). Volatile signaling in plant-plant interactions: "Talking trees" in the genomics era. *Science*, 311(5762), 812-815.  
<https://doi.org/10.1126/science.1118446>
7. Masi, E., Ciszak, M., Santopolo, L., et al. (2009). Spatiotemporal dynamics of the electrical network activity in the root apex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(10), 4048-4053.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0811226106>
8. Zimmermann, M. R., Maischak, H., Mithöfer, A., Boland, W., & Felle, H. H. (2009). System potentials, a novel electrical long-distance apoplastic signal in plants, induced by wounding. *Plant Physiology*, 149(3), 1593-1600.  
<https://doi.org/10.1104/pp.108.133827>
9. Krol, E., Dziubinska, H., Stolarz, M., & Trebacz, K. (2006). Effects of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula*. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 331-340.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00670.x>
10. 大澤啓二・中西俊男. (2003). 植物電気信号による情報伝達の可視化とその利用. *生物物理*, 43(4), 175-180. <https://doi.org/10.2142/biophys.43.175>

## ナノマテリアルを用いた人と環境にやさしい持続的な精密農業の技術開発

筑波大学 生命環境系 助教 木下奈都子

[目的] 省労力かつ省資源な技術で早期に病害虫を検出し、農薬の使用量を削減する

[内容] 病害虫被害を受けた際の植物細胞内での生理的な変化を可視化する技術で早期の病害虫被害を検出できる技術を開発する

[成果] 遺伝子発現と生体電位の変化を計測実験から、病害虫被害又はそのモデルによって反応する生理的な変化を検出することができた。

