レーザ誘起蛍光法による植物の生育状態の モニタリングに関する基礎的研究

正会員 高橋 邦夫 (木更津工業高等専門学校)
非会員 江森 康文 (金沢医科大学)
専門会員 石井 弘允 (日本大学理工学部)

非会員 峰内 健一 (木更津工業高等専門学校)
非会員 小林 智 (日本電気)

A Fundamental Study on Monitoring of the Growth State of Plants by Laser-Induced Fluorescence (LIF).

Member Kunio Takahashi, Non-member Ken-ichi Mineuchi

(Kisarazu National College of Technology)

Non-Member Yasufumi Emori (Kanazawa Medical University)

Non-member Satoshi Kobayashi (NEC), Fellow member Hiromitsu Ishii (Nihon University)

ABSTRACT

The laser-induced fluorescence (LIF) method is a useful technique to examine activities in the growing process of plants. In this investigation, a LIF system was devised using an optical multichannel spectrometer, and Ar laser and He-Ne laser lights for excitation. Fluorescence spectra were measured for intact leaves of rice plants with various amounts of nutrients, and rice chlorina mutant plants lacking in chlorophyll b and chlorophyll contents. The chlorophyll fluorescence spectra of rice leaves had two peaks at around 685nm (FII) and 740nm (FI) in relation to photosystem II and I, respectively. These chlorophyll fluorescence spectra showed changes depending on the chlorophyll contents and various amounts of the chlorophyll a/b ratio. The ratios of the two peaks (FI/FII) were proportional to the amount of chlorophyll contained in the rice plant leaves. we conclude that the measurement of laser induced fluorescence is a powerful method for the study of the activity of plants in the plant factory.

KEYWORDS : intact rice plant leaves, laser-induced fluorescence, chlorophyll content, chlorophyll fluorescence spectra, rice chlorina mutant, plant factory.

1. はじめに

植物生育は降雨、気温、日照時間や土壌の養分や水分などの生育環境によっておおきく左右されるが、農業や林業の分野では、植物の生育状態を把握するためのモニタリングシステムの実現をみておらずその研究開発が急がれている。また、近年我が国の農業への就労人口は減少の一途をたどっているばかりでなく、その高齢化も大きな問題になりつつあり、将来にわたって食料の安定供給対策を講じる必要性が強く認識されるようになってきている。この一つの解決手段として人為的に植物の栽培環境を制御できる植物工場に関する研究開発^{1)~7)}が進められ、葉菜類の一部では相当量が工場生産されている他、水稻の工場栽培に関する研究⁸⁾も始められているなど、広い分野にわたって研究開発が進められている。

しかし、現在行われている植物工場は、栽培植物の生育状態や品質をモニタリングするために多くの人手を要しており、今後、ますます発展が予想される植物工場の生産性の向上をはかるためには、植物の生育状態をモニタリングするための測定技術⁹⁾の研

究開発が不可欠である。そこで、筆者らは植物葉の光励起による蛍光スペクトルから生育状態をモニタリングする手法について検討した。

通常、光照射による植物葉から誘起される蛍光は、葉の中に蓄積された化合物や光合成反応を調べるための内在的プローブとなりえるものであり、植物葉の内部情報を与えてくれる。特に葉内のクロロフィルからの蛍光は、葉のクロロフィルの種類や量および生育環境すなわち光質や養分などの影響を受けやすい他、葉の活性とも密接に関係している。この蛍光を利用して植物の生育状態や生育環境によるストレスが植物に与える影響を調べるために、近年リモートセンシングの分野では、レーザ誘起蛍光法 (Laser-induced fluorescence method; LIF method)^{10)~15)}について研究が進められている。

そこで、この手法が植物工場において栽培される植物の生育状態のモニタリングにも応用できるものと考え、ArレーザとHe-Neレーザおよびオプティカルマルチスペクトルメータを組み合わせたLIF測定装置を試作した。

本装置による測定手法の妥当性を確保するために、将来的には

その重要性が最も高くなるものと予想される水稻の工場栽培への応用を考え、水稻葉を供試葉として、蛍光スペクトルの測定を行うとともに、その特徴を調べた。その結果、誘起蛍光スペクトルは、光化学反応系IIに由来する波長685nm付近と、主として光化学反応系Iに由来する波長740nm付近に2つのピークをもつとともに、波長700nm付近に谷をもった連続スペクトルを持っていること¹⁵⁾、両ピーク値はクロロフィル量によってかなり変化すること、両ピーク値の比がクロロフィル量と比例すること、この傾きは、植物の筋起波長によって変わる等の新たな知見を得た。

さらに、クロロフィル量がほぼ等しく、かつ葉色が似ていても葉内のクロロフィルの構成要素の変化した水稻葉（クロリナムュータント葉）では、栽培養分量を変えることによりクロロフィル量を変えてある供試葉とは、異なったスペクトルを示すことが分った。

したがって、この手法は、従来から使用されてきた植物葉を破碎し80%アセトン溶液で抽出し、分光光度計により吸収測定を行う Arnon の方法に比べ非破壊的であり、かつ非接触で短時間に多数の試料を測定できる他、同一植物について各生育段階ごとに連続してクロロフィル測定ができる等の特長を持っていること、さらにレーザ光のもつ単色性、指向性及び高光強度の特長を活かすことにより、植物工場内の植物の生育状態のモニタリング用測定システムへの応用も可能になることなどの特徴を有している。

本論文では、LIF 法を応用して試作した測定装置の概要、実験結果及び検討結果について述べるとともに、植物の生育状態のモニタリングシステムを実現できる見通しが得られたことを述べる。

2. 測定システム及び供試葉の概要

2.1 測定システムの概要

試作した LIF 測定装置の概略系統図を図1に示した。この測定装置は、図1に示すように光源部（A）、分光検出部（B）、データ処理部（C）で構成されている。

光源部（A）は、蛍光スペクトルの波長依存性を調べるうえで、光合成色素のクロロフィルbとカロチノイドに強い吸収帯がある

cw Ar レーザ（488nm, 3.5mW, GLG3028, NEC）とクロロフィルaに比較的強い吸収帯¹⁶⁾のある He-Ne レーザ（632.8nm, 5.0 mW, GLG5360, NEC）の2台を用い、中継ミラーの角度を調節することにより、レーザ光を供試葉の所望の位置に照射できるようにした。供試葉へ照射したレーザ光の強度は波長488nmのレーザ光で約500W/m²、632.8nmのレーザ光で約700W/m²に相当するが、この程度の照射光強度では、生葉に対するダメージはまったくなかった。レーザ光の照射時間は、蛍光測定と同期をとるために、MDS（Multipurpose Data Processing System）からの外部制御信号に同期させて電磁シャッタ（開孔の立ち上がり時間：0.7ms）を起動し、照射開始後の0.5秒間とした。

分光検出部（B）は、サンプルホルダ、蛍光検出用石英光ファイバ、分光器、I.I.（Image Intensifier）付ダイオードアレイ、MDS（Multipurpose Data Processing System、セキテクトロン、SK-296）で構成されている。レーザ光の照射により植物葉から誘起されたクロロフィルの蛍光は、植物葉へのレーザ光照射に伴い光合成反応が進行するにしたがい、その強度も時間の経過とともに変化（Kautsky 効果）¹⁷⁾するので、正確な蛍光スペクトル測定を行うためには、対象スペクトル領域全体にわたって、同時測定することが必要となる。このため分光システムは、植物葉からの蛍光を石英製光ファイバで取り込み、可視領域すべてで同時測定することを主に考えて波長分解能を多少犠牲にし、回折格子数の本数を減らし帯域幅328.9nmの波長領域（526.8nm～855.7nm）をカバーできるようにした。また、分光器（回折格子150本/mm、ブレース波長500nm、MC-25NP、リソー応用光学）と、回折格子からの光分散波長を検出するためのダイオードアレイ検出器（検出波長感度領域200nm～900nm、512素子、TN6133, Tracor Northern）を分光器の写真測光部を改良して設置した。その結果、ダイオード検出器1素子あたりの波長分解能は、0.64nmとなった。

蛍光スペクトルの分光データは、512素子のダイオードアレイ検出器で検出された連続蛍光スペクトルデータを1ブロックとして、任意に設定した時間間隔で64ブロックのスペクトルデータ、すなわち512×64=32,678データを格納できるメモリブロック機能を持った MDS に一時的にメモリする。

データ処理部（C）は、コンピュータ、プロッタ、プリンタで構成されている。MDS にメモリされている測定データは、MDSより読みだし、データ処理部のマイクロコンピュータ（PC-9801 RX, NEC）で分光感度補正、積算、スムージング等の処理を行い X-Y プロッタやプリンタに記録するとともに、ディスクに保存した。また、蛍光スペクトルを正確に測定するため、この測定装置では、光学検出系を分光放射照度標準用タングステンハロゲンランプ（JPD-100-500-CS 型、ウシオ電機）を用いて分光感度の補正を行った。ここでは分光感度の補正方法として、この装置で分光

表1 水稻葉（農林8号）のクロロフィル量の測定結果。
Table 1 Chlorophyll content in rice wild-type plant leaves (Nourin-8) applied various amounts of fertilizer.

クロロフィル量の測定結果 (n mol/cm ²)																採取日
サンプル No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
生育条件	高濃度ポット	62.7	55.0	52.3	57.2	56.5										1991.10.30
		52.8	57.5	58.7				65.0					41.9			1991.12.26
	中濃度ポット				41.9	43.7	44.7	43.7	47.1							1991.10.30
					46.9	50.9	41.1	39.4								1991.12.26
低濃度ポット										33.2	30.5	19.6	23.0	11.9		1991.10.30
										15.7	8.83	9.98	7.14			1991.12.26

図1 LIF システム概略系統図。

A：光源部，B：分光検出部，C：データ処理部。
Fig.1 Blockdiagram of the LIF system.
A;Light source department, B;Spectrophotometry department, C;Data processing department.

放射照度標準用タングステンハロゲンランプの分光放射強度分布を測定した結果と、分光放射照度分布の標準データとから、波長ごとに両者の相対的な比をとり補正係数を求め、測定データを補正する方法を用いた。

2.2 供試葉の概要

実験に使用した供試葉は、水稻の代表的な品種の一つである農林8号及び光合成色素の構成要素（クロロフィルa、bの割合、光合成単位サイズ：光合成を行う1個の光化学反応系Iの反応中心P700の周囲に存在する集光性クロロフィル量）が農林8号と異なった水稻のクロリナミュータントのCMV-15とMGS-88¹⁸⁾の生葉を使用した。

クロロフィルにより吸収された光エネルギーで光合成反応を行うため、クロロフィル量は植物の活性を調べるうえで有効な指標となる。このため水稻（農林8号）は、200mlの育苗培土を入れたポットに1株ずつ植え温室内で2カ月生育させてから、実験3週間前に窒素：6.5%，リン：4.5%，カリウム：19%の成分比をもった肥料を3.0g与えて生育した高濃度供試葉、同じく3週間前に同一肥料を0.5g与えて生育した中濃度供試葉、及び肥料を与えないで生育した低濃度供試葉の3グループに分けて生育させた。CMV-15とMGS-88は200mlの育苗培土で2カ月間温室で生育させた。

供試葉には、上記要領で生育した農林8号から、1991年10月30日に15サンプル、1991年12月26日に13サンプル採取するとともに、その供試葉のクロロフィル量をArnonの方法¹⁹⁾によって測定し、その結果をまとめて表1に示した。表1の結果から、農林8号の供試葉のクロロフィル量は、高濃度供試葉で41.9～65.0nmol/cm²、中濃度供試葉で39.4～50.9nmol/cm²、低濃度供試葉で7.14～33.2nmol/cm²であり、クロロフィル量がかなり広い範囲にわたって分布していることが分かった。

さらに光合成の光化学反応で重要な光化学反応系Iの反応中心（P700）の量をフラッシュフォトリシス法²⁰⁾によって測定した。CMV-15とMGS-88は200mlの育苗培土で約2カ月間育て92年1月16日に葉色が同じような葉を3サンプルずつ採取し供試葉として使用した。CMV-15とMGS-88のクロロフィル量とP700量は農林8号と同じ方法で測定した結果、クロロフィル量とP700量及びクロロフィルa/b比の平均が各々CMV-15で24.6nmol/cm²、50.4pmol/cm²、9.4であり、MGS-88で22.3nmol/cm²、70.0pmol/cm²、100以上であった。この結果から、農林8号に比較して、かなり特徴をもった供試葉であり、農林8号との比較実験用として使用できることが分かった。

3. 実験結果及び検討

植物葉内には光合成に関与する色素蛋白としてクロロフィルa、bとカロチノイドが含まれているが、植物の光化学反応系内に含まれるクロロフィルaとbの割合（a/b比）は標準的な葉で約3程度であることが知られている。表1に示すように栽培養分量を変えて生育させ、クロロフィル量を変えてある供試葉（農林8号）についてArnonの方法によりクロロフィル量とクロロフィルのa/b比を測定し、その結果の1例を図2に示した。図2の結果が示すようにクロロフィル量が大幅に変化してもa/b比はほぼ3.3前後でほとんど変化が見られず、養分供給量の減少によって光化学反応系内に特別な変化が生じていないことを示している。このことから、今回の方法で生育した水稻葉を供試葉として使用し

ても問題がないものと考えている。

一方、栽培養分量を変えることによってクロロフィル量が増えたことは、光合成単位の数と光合成単位の数（P700の数）が影響すると考えられ、図3に示すようにクロロフィル量65

図2 水稻葉（農林8号）のクロロフィル量とクロロフィルa/b比の関係。
Fig.2 Relationship between chlorophyll a/b ratios and chlorophyll content in rice wild-type plant leaves (Nourin-8) applied various amounts of fertilizer.

図3 水稻葉（農林8号）のクロロフィル量と光化学反応系Iの反応中心（P700）量の関係。
Fig.3 Relationship between P700 and chlorophyll content in rice wild-type plant leaves applied various amounts of fertilizer.

nmol/cm²付近から40nmol/cm²付近までP700の量にほとんど変化がみられないため、この間で光合成単位が小さくなり、クロロフィル量40nmol/cm²以下ではクロロフィル量とP700が比例関係にあることから光合成単位の変化よりも光合成単位数の減少によるものと考えている。このような結果は生育時期を変えて生育し、12月26日に採取した供試葉でも同じような傾向を示していることから、再現性があるものと考えている。

このような供試葉を用いて植物生育にとって重要な青色領域のArレーザ（488nm）と赤色領域のHe-Neレーザ（632.8nm）を水

稲生葉に照射して蛍光スペクトルを測定し、その最大値を基準として規格化した相対値でデータを表示した。その結果の中から、水稻葉として標準的なクロロフィル量を有する12月26日の No.1

図4 水稻葉（農林8号）のクロロフィルによる蛍光スペクトル（——；Ar レーザ励起，-----；He-Ne レーザ励起）。

Fig.4 Chlorophyll fluorescence spectra of a rice wild-type plant leaf (Nourin-8). Fluorescence spectra were induced by the Ar laser (——) and the He-Ne laser (-----).

の供試葉を Ar レーザと He-Ne レーザで照射して誘起した蛍光スペクトルを図4に示す。この結果から、Ar レーザで照射した水稻生葉からの蛍光は、光化学反応系IIに起因する波長の685nm 付近のピークと、主に光化学反応系Iに起因する波長の740nm 付近のピークが存在し、そのピークの相対的な強度はほぼ同じであり、かつ2つのピークの間の700nm 付近に深い谷を持った連続スペクトルを有していることが分った。

一方、He-Ne レーザで照射したときの蛍光スペクトルは、Ar レーザのときと同様に685nm 付近と740nm 付近に2つのピークが現れるが、その2つのピークの相対的な強度に変化が見られ、Ar レーザ照射と比べ685nm 付近のピークより740nm 付近のピークが大きくなることが分った。また、660nm より短波長のスペクトルはカットフィルタによって除去できなかった He-Ne レーザ光の一部の影響が残っていることを示している。

この結果、水稻生葉からの蛍光スペクトルは照射波長に依存して変化することを示している。このことは、生葉内部の光吸収率が波長によって異なり、赤色光の吸収率が青色光より小さいため

図5 クロロフィル濃度の異なった水稻葉（農林8号）のAr レーザ照射による蛍光スペクトル。

-----；クロロフィル濃度65.0nmol/cm²，——；クロロフィル濃度39.4 nmol/cm²，——；クロロフィル濃度9.98nmol/cm²。

Fig.5 Chlorophyll fluorescence spectra induced by the Ar laser of nourin-8 rice plant leaves containing 9.98nmol/cm²(——), 39.4nmol/cm²(——) and 65.0nmol/cm²(-----) chlorophylls.

葉の内部まで入るので、誘起された短波長(685nm)の蛍光が光化学反応系I側に再吸収されて、長波長の蛍光が再誘起されることによるものと考える²¹⁾。また、同様の方法で養分供給量の変化によりクロロフィル量を変えた水稻の供試葉についての蛍光スペクトルの測定結果の中から、高濃度クロロフィル葉として65.0(nmol/cm²)、中濃度クロロフィル葉として39.4 (nmol/cm²) 及び低濃度クロロフィル葉として9.96 (nmol/cm²) の3例の結果を選び Ar レーザで照射した場合の測定結果を図5に示すとともに、He-Ne レーザで励起した場合の測定結果を図6に示した。図5と図6の

図6 クロロフィル濃度の異なった水稻葉（農林8号）のHe-Ne レーザ照射による蛍光スペクトル。

-----；クロロフィル濃度65.0nmol/cm²，——；クロロフィル濃度39.4 nmol/cm²，——；クロロフィル濃度9.98nmol/cm²。

Fig.6 Chlorophyll fluorescence spectra induced by the He-Ne laser of nourin-8 rice plant leaves containing 9.98nmol/cm² (——), 39.4 nmol/cm² (——) and 65.0nmol/cm² (-----) chlorophylls.

結果は、供試葉のクロロフィル量が少ないと、蛍光波長685nm 付近のピーク（FII）に比較して、蛍光波長740nm 付近のピーク（FI）が小さく、逆にクロロフィル量が多くなるに従ってFIIのピークに対してFIのピークが大きくなることを示している。これは、クロロフィル濃度が高くなると、FIIの蛍光が再吸収されて、FIの蛍光を誘起し増加させる働きにより、FIのピークが大きくなるものと考えられる^{22),23)}。

また、Ar レーザで照射した図5の結果と He-Ne レーザで照射した図6の結果を比較してみると、FIIとFIのピークの変化はAr レーザに比べ、He-Ne レーザで励起したほうが大きくなるこ

図7 水稻葉（農林8号）のクロロフィル濃度とF I /F II比の関係。

Fig.7 Relationship between F I /F II ratios and chlorophyll content of nourin-8 rice leaves.

とを示している。これは前述したように、葉内での光の吸収率が波長に依存して異なっているためと考えられる。

そこで、2つのピークの特徴に注目して、両ピーク値の比を $F I / F II$ として求めた結果の1例として、12月26日測定した13サンプルについての結果をまとめて図7に示した。図7の結果は、クロロフィル量と $F I / F II$ 比が良い比例関係を示しており、その傾きが、照射波長によって異なることを示している。

この測定結果から、クロロフィル濃度 (x) と $F I / F II$ 比 (y) の関係式を一次式でフィッティングして求めると、Ar レーザ照射の場合で

$$y = 0.372 + 0.193x \text{-----}(1)$$

となり、決定係数 $R^2 = 0.958$ であり、He-Ne レーザ照射の場合で

$$y = 0.325 + 0.343x \text{-----}(2)$$

となり、決定係数 $R^2 = 0.968$ となった。通常、統計学では決定係数が0.7以上のときには高い相関性をもつことがいわれており²⁴⁾、このことから両者の決定係数が0.95以上となったことは、非常に信頼度の高い結果であると考えられる。

通常の植物葉内のクロロフィル a/b 比は、約3前後の値を示している。このような植物葉においては、(1)式と(2)式の結果より、レーザ誘起蛍光のスペクトル計測により求めた $F I / F II$ 比から、クロロフィル量を高い精度で測定できることが分り、レーザ誘起蛍光法を用いたクロロフィル量の計測方式が成り立つことを明らかにできた。

そこで次に、植物葉のクロロフィルによる蛍光スペクトルが葉内のクロロフィル量以外にも影響される要因が存在するか否かを調べるために、光合成色素の構成要素が異なる供試葉としてクロロフィル b が一部欠損しクロロフィル a/b 比が10前後で、光化学反応系 I の反応中心 (P700) 量が標準的水稻葉と比べわずかに減少した水稻のクロリナミュータントの CMV-15 と、クロロフィル b がほとんど欠損しクロロフィル a/b 比が100以上で、P700 量が標準的水稻葉とほとんど変わらない水稻のクロリナミュータントの MGS-88 とを用いて Ar レーザで照射して誘起された蛍光スペクトルを測定した。測定に使用した2つの供試葉のクロロフィル量を Arnon の方法で測定した結果は、ともに約23 (nmol/cm²) 前後であった。この2つの水稻葉と同じ程度のクロロフィル量をもつ水稻葉として、10月30日採取したサンプルの中から、クロロフィル量が23.0 nmol/cm² の No.14 の供試葉を選び、この供試葉と CMV-15 及び MGS-88 について、Ar レーザで照射して誘起した蛍光スペクトルの結果をまとめて図8に示した。図8の結果は、クロロフィル b の欠損によりクロロフィル a/b 比が大きくなると700nm 付近の谷が浅くなり、かつ F II のピーク位置が長波長側に、F I のピーク位置が短波長側にわずかにシフトしているが、F II と F I のピーク値がほぼ同じであった。これに比べ養分処理によりクロロフィル量が減少した供試葉は、F II と F I のピーク間の700 nm 付近の谷が CMV-15 や MGS-88 より深く、F II のピーク値に対して F I ピークの高さがかなり小さくなっている。ピーク値 F II、F I の高さから700nm 付近の谷の高さ Fv との差と Fv の比 ($F II - Fv$)/Fv と ($F I - Fv$)/Fv の値は、図8に示した農林8号(光合成サイズ;487)で0.79と0.32, CMV-15 (光合成サイズ;499)で0.51と0.56, MGS-88 (光合成サイズ;319)で0.15と0.23になった。光合成サイズが同じような農林8号と CMV-15 でも、この比に大きな差が現れた。この差は、光化学反応系 II 側にクロロフィル b が多く含まれることから、クロロフィル a/b 比 (農林8号;3.29, CMV-15;10) が色素間のエネルギーランスファに影響

図8 光合成色素の構成要素が異なった水稻葉 (—; クロロフィル濃度約23nmol/cm²の農林8号, ---; CMV-15,; MGS-88) の Ar レーザによって誘導された蛍光スペクトル。

Fig.8 Chlorophyll fluorescence spectra induced by Ar laser of nourin-8 (—), CMV-15 (---) and MGS-88 (.....) rice plant leaves containing approximately 23nmol/cm² chlorophylls.

を及ぼしていることが考えられる。また、MGS-88では光合成サイズが農林8号と CMV-15 に比べ小さく、クロロフィル a/b 比 (MGS-88;100以上) も大きく異なることが、この変化に影響したものと考えられる。この結果、葉内の光合成色素の構成要素に変化が生じると、通常葉のときに得られたクロロフィル量と $F I / F II$ 比の関係がくずれ、蛍光スペクトルの二つのピーク F I と F II の間の谷の深さに顕著な変化が現れ、通常葉の場合と異なった変化を示した。つまり、蛍光スペクトルは、クロロフィル量だけに依存して変化するものではないことを示している。一方、葉色はクロロフィルの量と密接な関係があり、クロロフィルの量の大きな判断に利用されるが葉内の光合成色素の構成要素等に関する情報はまったく得ることができない。しかし、図7と図8の結果は、植物葉の蛍光スペクトルを測定することにより、クロロフィル量だけでなく、植物葉内の光合成色素の構成要素に関する情報も得られることを示しており、蛍光スペクトルの測定により、植物の生育状態を、把握できる可能性があることを示している。

これらの結果から、レーザ誘起蛍光法を応用した測定システムにより、植物の生育状態を判断する上で重要なクロロフィル量を測定できるとともに、植物生育の環境の変化等による葉内の光合成色素の構成要素の変化も測定できる可能性があることが明らかになり、この測定手法が、今後発展が期待されている植物工場において、植物の生育状態のモニタリング用計測システムとして利用可能な一方式になるものと考えている。

4. あとがき

レーザ誘起蛍光法を用いて、植物の生育状態のモニタリング用測定方法を確立するために、青色の Ar レーザと赤色 He-Ne レーザの2つの照射用レーザ光源を用いた測定装置を試作し、あらかじめ栽培養分量を変えてクロロフィル濃度を変化させた水稻生葉を供試葉として、レーザ誘起蛍光スペクトル計測を行うとともにその特徴を調べた。さらにクロロフィルからの蛍光スペクトルがもつ情報を調査する目的で、光合成色素のクロロフィル a、b や P700 量の構成要素の異なった水稻生葉を供試葉として用いて、Ar レーザ照射による蛍光スペクトルを測定するとともに、栽培養分を変えて得られたクロロフィル量が同じような農林8号の水稻生

葉からの蛍光スペクトルとの相違を調べた。

その結果、農林8号の生葉のクロロフィルによるレーザ誘起蛍光スペクトルは、光化学反応系IIに起因する波長685nm付近と、主に光化学反応系Iに起因する波長740nm付近にピークをもち、かつ波長700nm付近に谷をもった連続スペクトルであることが分った。また、この2つのピークの比(FI/FII)が植物葉のクロロフィル量と比例関係にあり、その傾きは、照射波長によって変わるが、ともにクロロフィル量との相関性が非常に高いことが明らかになった。さらにクロロフィル量が同じようなクロリナムュータントの水稻葉でも、葉内の光合成色素の構成要素が異なるものでは、蛍光スペクトルに違いがあることが分った。

これらの結果から、レーザ誘起蛍光法を応用した測定手法により、植物の生育状態を判断するために必要なクロロフィル量の測定ができる他、その応答の分析から葉内の光合成色素の構成要素に関する情報も得られることが明らかになった。

これらのことから、今回試作したLIF測定装置を使用することにより、植物の生育状態や、葉内の内部情報を非破壊・非接触でモニタリングできる測定システムを実現できる見通しが得られたものと考えている。

今後の課題として、植物工場などで多く栽培される葉菜、花菜、花木についてもクロロフィル量と蛍光スペクトルに関する基礎データを収集し、スペクトルの解析方法についても検討を行へば植物工場内で栽培される植物の生育状態のモニタリングや植物の品質管理を行うために必要な植物工場用の計測システムの実用化が期待できるものと考えている。

最後に、今回の実験にあたり援助や助言をしてくださった農林水産省生物資源研究所主任研究官狩野広美博士、小泉美香氏に感謝いたします。

参 考 文 献

- (1) 高辻正基：21世紀のハイテク農業—植物工場—，裳華房（1992）
- (2) 橋本康：植物環境制御入門，オーム社（1987）
- (3) 橋本康：インテリジェント農業—その過去，現在，未来，計測と制御，Vol.33，pp.817—822（1994）
- (4) 高辻正基：植物工場の理論 SHITA Technology No.1 日本植物工場学会，（1993）
- (5) 高辻正基：山中正宣：レーザ—植物工場の可能性，応用物理，63，pp.1127—1130（1994）
- (6) 菅原修一：白河フーズの植物工場，SHITA REPORT No.9，p.56—62（1995）
- (7) 大江正温：ハイテク花工場，SHITA REPORT No.9，p.63—70（1995）
- (8) 池田恭一郎，高辻正基：イネ植物工場の実現性，SHITA REPORT No.9，p.28—41（1995）
- (9) 大政，近藤，井上：植物の計測と診断，朝倉書店，（1992）
- (10) E. W. Chappelle, F. M. Wood, Jr., J. E. McMurtrey III and W. W. Newcomb: Laser-induced fluorescence of green plants. 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation, Appl. Opt., 23, pp.134—138（1984）
- (11) H. K. Lichtenthaler, M. Lang and F. Stober: Laser-induced blue fluorescence and red chlorophyll fluorescence signatures of differently pigmented leaves, In Proceedings of the 5th International Colloquium-Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing, p.727—730（1991）
- (12) K. Takahashi, T. Nakamura, M. Koizumi, H. Kano and S. Suzuki: Laser induced fluorescence of growing camphor tree leaves: influence of chlorophyll content on LIF spectral signature, In Proceedings of the 5th International Colloquium-Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing, P.753—756（1991）
- (13) 高橋，峰内，中村，小泉，狩野：落葉樹のレーザーアクティブフルオレッセンスの季節変化，日本リモートセンシング学会第13回学術講演会論文集，p.153—156（1992）
- (14) A. Rosema, G. Cecchi, L. Pantani, B. Radicatti, M. Romuli, P. Mazzinghi, O. Van Kooten and C. Kliffen: Monitoring photosynthetic activity and ozone stress by laser induced fluorescence in trees, INT. J. Remote Sensing, 13, No.4, pp.737—751（1992）
- (15) K. Takahashi, K. Mineuchi, H. Kobayashi, N. Sakurai, A. Komatsu, M. Takahashi, T. Nakamura, M. Koizumi and H. Kano: Spectral changes of laser induced Chlorophyll fluorescence in crop leaves by temperature, Air-pollutants and genetic inheritances, In Proceedings of the 6th International Colloquium-Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing, p.961—968,（1994）
- (16) 稲田勝美編著：光と植物生育，養賢堂 p.80（1984）
- (17) 加藤栄，佐藤和彦：光合成の機作，共立出版，p.114—126（1979）
- (18) H. Kano: Photosynthetic unit size and the efficiency of photoreactions in intact leaves of rice chlorina mutants. Plant Physiology (Life Science Advances) 6, pp.259—264（1987）
- (19) D. I. Arnon, : Plant Physiol., 24, pp.1—15（1949）
- (20) N. Kastura, M. Koizumi, H. Kano and K. Inada: Japan Jour. Crop Sci., 57(1), pp.199—204（1988）
- (21) K. Takahashi, K. Mineuchi, T. Nakamura, M. Koizumi and H. Kano: A system for imaging transverse distribution of scattered light and chlorophyll fluorescence in intact rice leaves, Plant, Cell and Environment, 17, pp.105—110（1994）
- (22) 峰内，高橋，中村，小泉，狩野：老化に伴う葉内の入射光とクロロフィルの蛍光の垂直分布変化，本更津工業高等専門学校紀要，27，p.69—74（1994）
- (23) 高橋，小泉，狩野，中村，江森：レーザ—励起による各種植物からの発光，日本写真測量学会平成2年度秋季学術講演会発表論文集，p.99—104（1990）
- (24) 稲垣，山根，吉田：統計学入門，裳華房，p.40（1993）

（受付日1995年6月12日／採録日1995年9月5日）