

P4

レーザー誘起蛍光法による植物生葉内クロロフィル蛍光寿命計測

-オゾン層減少による紫外線増加の植物影響が及ぼすシミュレーション実験-

Lifetime measurement of chlorophyll fluorescence of plants by Laser-induced fluorescence method

-Experimental simulation of ultra-violet effects on plants activities-

○中沢嘉明、竹内麻希子、村上拓史、小林史利、川原琢也、野村彰夫、斉藤保典

○Y.Nakazawa, A.Takeuchi, H.Murakami, H.Kobayashi, T.D.Kawahara,

A.Nomura and Y.Saito

信州大学工学部

Faculty of Engineering, Shinshu University

Abstract:

Disease process of plant (*Pharbitis hederacea Choisy*) under UV-B irradiation was monitored by lifetime measurement of Laser-induced fluorescence (LIF) method. An LIF lifetime measurement system was constructed with a 200fs, 660-nm laser and a time resolution of 30ps streak scope. Chlorophyll fluorescence lifetime of the plant's leaves was measured at 685nm and 735nm. The LIF lifetime at 685nm and 735nm was shorter during UV-B irradiation, and tended to recover to the normal one after quitting the irradiation. Relationship between the lifetime and the plant's activities was discussed.

1.はじめに

オゾン層減少による紫外線増加は、植物に成長阻害、枯死などの影響を及ぼす。これらの障害を目視で確認できる以前に検出できれば、その後の処置への迅速な対応が可能になる。我々は検出方法にレーザー誘起蛍光（LIF：Laser Induced Fluorescence）法を用いる事を検討してきた。本報告では応用の一つとして、蛍光寿命計測の植物障害診断への可能性について紫外線（UV-B）を照射させた生葉のクロロフィル蛍光寿命計測結果を基に検討した。

2.原理

レーザー誘起蛍光法はレーザー照射により分子から放出される蛍光を計測する手法であり、化学的手法を用いずに、非破壊で計測が可能である。

例えば蛍光寿命は、蛍光量子収率と、 $\phi_f = k_f \cdot \tau_f$ （ ϕ_f ：蛍光量子収率、 k_f ：蛍光速度定数、 τ_f ：蛍光寿命）の様な線形関係にあることが知られている¹⁾。

また、蛍光量子収率は生理活動と密接な関係を示し、活性度を表す指標であるため、蛍光寿命が短くなると蛍光量子収率は小さくなり、吸収した光が内部反応として効率良く使われていることになるので、活性度が良い状態と言える。この様に蛍光寿命を知ることで植物の生育状態や生理状態に関する様々な情報を得ることができる。

3.実験方法

実験装置の構成図を Fig.1 に示す。誘起光源には Ti：Sapphire レーザ励起の赤外域光パラメトリック増幅器の第2高調波（660nm、1.5mW、200fs、1kHz）を用いた。波長660nmはクロロフィル吸収波長に対応している。レーザー照射により誘起された植物生葉からの蛍光を光ファイバーで集光し、分光器で分光した後、ストリークスコープ（200~900nm、30ps）で検出した。ストリークスコープ及び分光器の制御、データ収集、解析はパソコンで行った。

サンプルは植物生育機で温度と日照量を制御させて育てたアメリカアサガオ（スカーレットオハラ）を用いた。UV-Bを2時間照射した生葉と通常なものを比較した。照射した紫外線量は長野市での、2000年7月30日12時~13時の1時間分の約6倍に相当する。

4.実験結果及び考察

蛍光寿命の解析はクロロフィル蛍光のピーク波長である 685nm、735nm について、蛍光の早い減衰成分 τ_0 及び遅い減衰成分 τ_1 の 2 成分で行った。 τ_0 の時間変化は両波長ともほとんど見られなかった。 τ_1 の時間変化を Fig.2 (a)、(b)に示す。横軸は紫外線照射からの経過時間、縦軸は蛍光寿命を表している。UV-B 照射した場合の τ_1 は、照射 4 時間後までの間に急激に短くなった。これは植物の光防御としての活性状態が高いものと考えられる。その後、UV-B の影響で蛍光寿命が多少長くなるものの、無照射サンプルより低い値を維持した。24 時間後に再び蛍光寿命が短くなるが、これは UV-B 照射で葉が枯死状態になり、水分欠乏が生じたものと考えられる。また、目視では照射から約 10 時間後に葉の表面に障害が見られた。

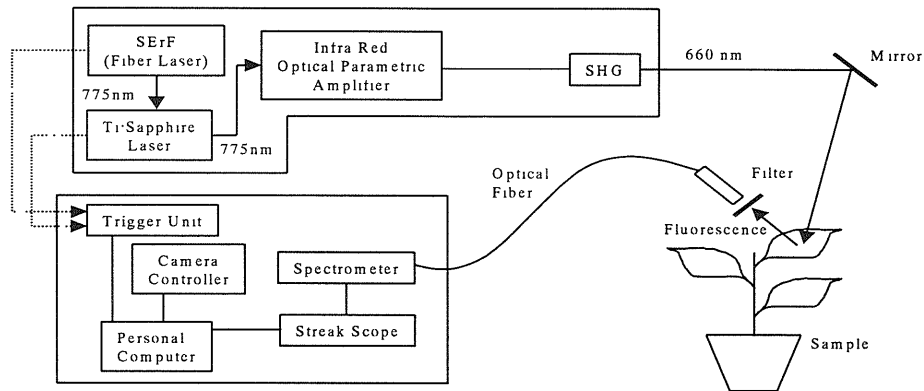


Fig.1 Laboratory configuration of LIF lifetime measurement system

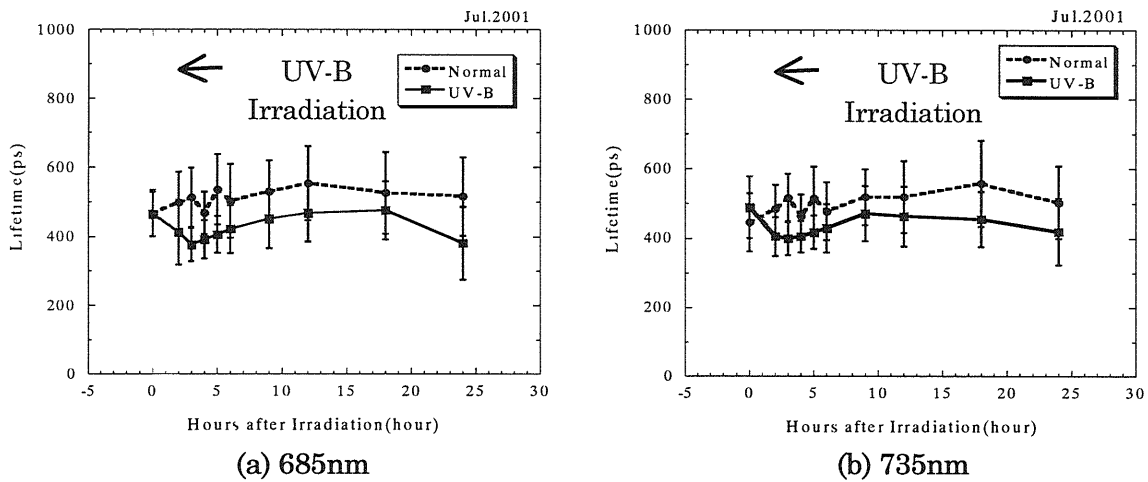


Fig.2 Hours variation of LIF Lifetime

5.終わりに

アサガオ生葉を用いて紫外線増加シミュレーション実験を行い、蛍光寿命の時間変化を調べた。その結果、紫外線照射と同時に蛍光寿命に変動が表れ、本手法による可視障害発現以前の非常に早い段階での植物診断の可能性が得られた。

参考文献：

- 1) I. Moya et al., "Remote sensing of time-resolved chlorophyll fluorescence and back-scattering of laser extinction by vegetation ", EARSeL (European Association of Remote Sensing Laboratories) Adv. Remote Sensing 3, 188-197, 1995.