

## C3

### 植物生葉からのレーザー励起蛍光スペクトル計測

– 植物診断用蛍光ライダーへの応用を目的として –

Measurement of Laser Induced Fluorescence from Intact Leaves

– for application to a vegetation monitoring –

畠 憲一郎, 斉藤保典, 野村彰夫

K. Hatake, Y. Saito, and A. Nomura

信州大学工学部

Faculty of Engineering, Shinshu University

**Abstract :** Laser induced fluorescence of leaves and its application to lidar vegetation monitoring were discussed. A third harmonic YAG laser ( 355nm, 10ns, 10Hz, 0.2mJ ) was used to induce fluorescence of intact leaves. The fluorescence emitted by the leaves was transmitted by an optical fiber to a monochromator and detected by an image intensified CCD detector. The spectra had peaks around 430nm, 530nm, and 600nm as well as chlorophyll fluorescence at 685nm and 740nm. It seems that fluorescence contains internal information about the health status of leaves and fluorescence monitoring technique has potential for providing early warning of plant disease.

## 1 はじめに

近年、大気汚染や森林伐採などによる環境破壊が地球規模で問題となっている。このため、植物の生育状態や植生を的確に診断する方法が望まれている。

植物からの生体情報を得る方法の1つとして、本研究では、レーザー励起蛍光計測 ( LIF : Laser Induced Fluorescence ) 法を用いてレーザー光照射により植物生葉から放出される蛍光の測定を行なっている。植物は、大気、水、土壌それぞれ個別の環境変化を総合変化として、凝縮された環境変化の情報を蓄えたまま生育する。植物葉は紫外光照射により、葉内クロロフィルや有機物の励起に伴う蛍光スペクトルを発生し、植生状況によって蛍光スペクトルの強度や形状は異なる。つまり、レーザー励起によって植物生葉内の有機物を積極的に誘発してその蛍光スペクトルを測定することにより、葉の内部情報を外的変化として現れる以前に知ることができるのではないかと考えられる。

本稿では、基礎的実験として数種類の植物を対象として LIF スペクトル計測を行い、植物診断への適応について検討を行なった。

## 2 実験装置

実験装置の概略図を Fig.1 に示す。励起光源には Nd:YAG レーザの第三高調波 ( 355nm, 0.2mJ, 10ns, 10Hz ) を用いた。レーザーにより照射励起された植物生葉からの蛍光スペクトルをバンドル型の光ファイバーに通し、イメージインテンシファイアー (II) 付きの CCD 分光計測器 ( PMA-10: 浜松ホトニクス ) を用いて計測した。計測波長範囲は 300nm ~ 800nm とした。蛍光スペクトルはコンピュータのディスプレイ上においてモニタリングしながら計測された。計測後、スペクトル解析などのデータ処理が行なわれる。

試料とした植物生葉は桜、ケヤキ、銀杏、猫柳、ポプラ、プラタナスなどで、猫柳(近くの犀川周辺に自生) 以外はいずれも信州大学工学部(長野市)のキャンパス内で採取されたものである。水を含ませたスポンジを用いて生きたままの状態を保つように工夫しながら、LIFスペクトル測定を行なった。採取後、植物の葉には全く手を加えず測定を行なった。

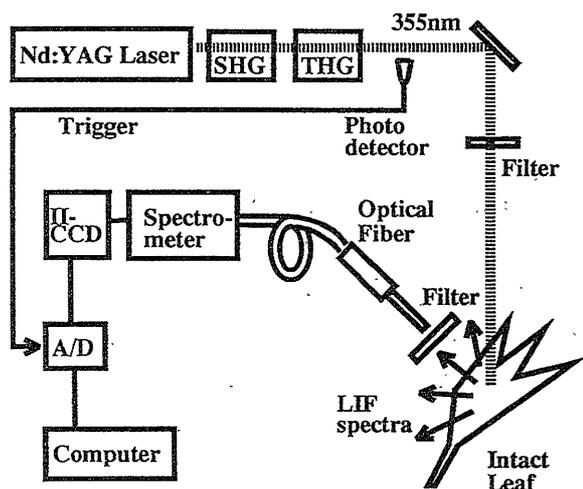


Fig.1 Experimental set up of LIF measurement system. To induce fluorescence of the leaf.

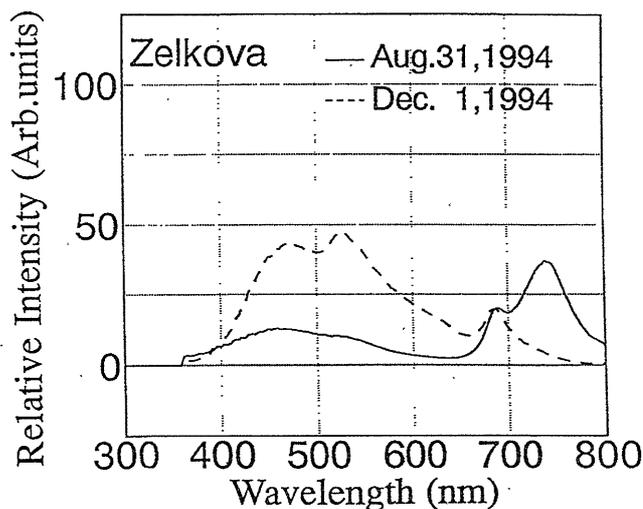


Fig.2 LIF fluorescence spectra of zelkova leaves : — Aug.31, 1994 (green leaf), --- Dec.1, 1994 (yellow leaf). Each spectrum is an average of five measurements.

### 3 実験結果と考察

Fig.2 にケヤキの夏と冬の LIF スペクトル変化例を示す。いずれも 685nm の強度で規格化されている。相対的な変化で議論すると、夏には 685nm と 740nm 付近に数 10nm のスペクトル幅を有する二つの大きなピークと、400nm ~ 650nm に幅広いスペクトルが現れるが、紅葉の時期ではそれぞれの強度比が逆転し、さらに短波長側は二つに分離したスペクトル形状を示した。光合成活動が活発な夏にはクロロフィル濃度が高く 685nm と 740nm 付近の成分が強くなる。紅葉から落葉の時期に近づくにつれ、クロロフィル以外の植物色素による成分が支配的になるためと思われる。

他の樹木生葉もほぼ同じようなスペクトル形状を示したが、それぞれの強度比やピーク波長は種類や月別・季節別変化を反映して微妙に変化した。<sup>1, 2)</sup> また紅葉時における葉の色と LIF スペクトルとの対応例(桜)を Fig.3 に示す。同一葉内に数種類の色が混在して現われているが、LIF スペクトルもそれぞれの箇所(色)で特徴ある形状を示した。とくに 400nm ~ 650nm でのスペクトル成分は紅葉時から落葉時にかけて形状が大きく変化することから、植物の老化や枯死に関する情報を含んでいるのではないかと考えている。これは葉内有機物が大きく関わっているものと考えられる。

6 種類の樹木生葉(全て落葉樹)についての年変化を Fig.4 に示す。樹木別に特徴的なスペクトル成分のピーク波長を選びだし、685nm で規格化した形で表してある。740nm のクロロ

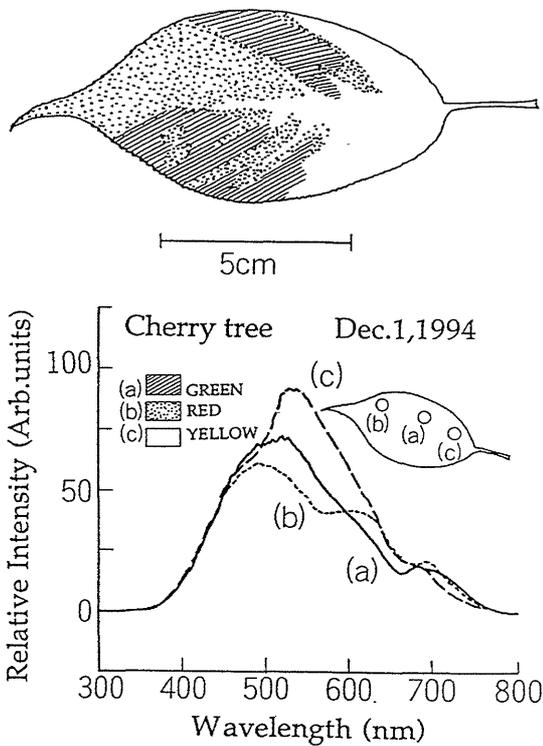


Fig.3 Fluorescence spectra of a three-colored cherry leaf.

フィルによるスペクトル成分は夏に大きく紅葉時に徐々に小さくなる。また、クロロフィル以外のスペクトル成分はその種類によりその強度比、形状が異なっている。全体的に紅葉時にかけて短波長側の成分が大きくなる傾向が見られるが、銀杏などのように特異的な形状の変化を示すものもある。このことは葉内の有機物の組成変化を敏感に反映していると考えられ、植物の種類などの判別への応用が可能である。

蛍光スペクトルと葉内有機物の種類との対応を検討するために非線形のカーブフィッティングの手法を用いて、観測スペクトルの成分分離を試みた。Fig.5は冬のケヤキの葉のスペクトルの成分分離を行なった結果である。685nmと700nmに見られるスペクトルはクロロフィルの影響を反映しているものと思われる。400nm～650nmのスペクトルを形成している成分には、NADPH (nicotinamide adenine

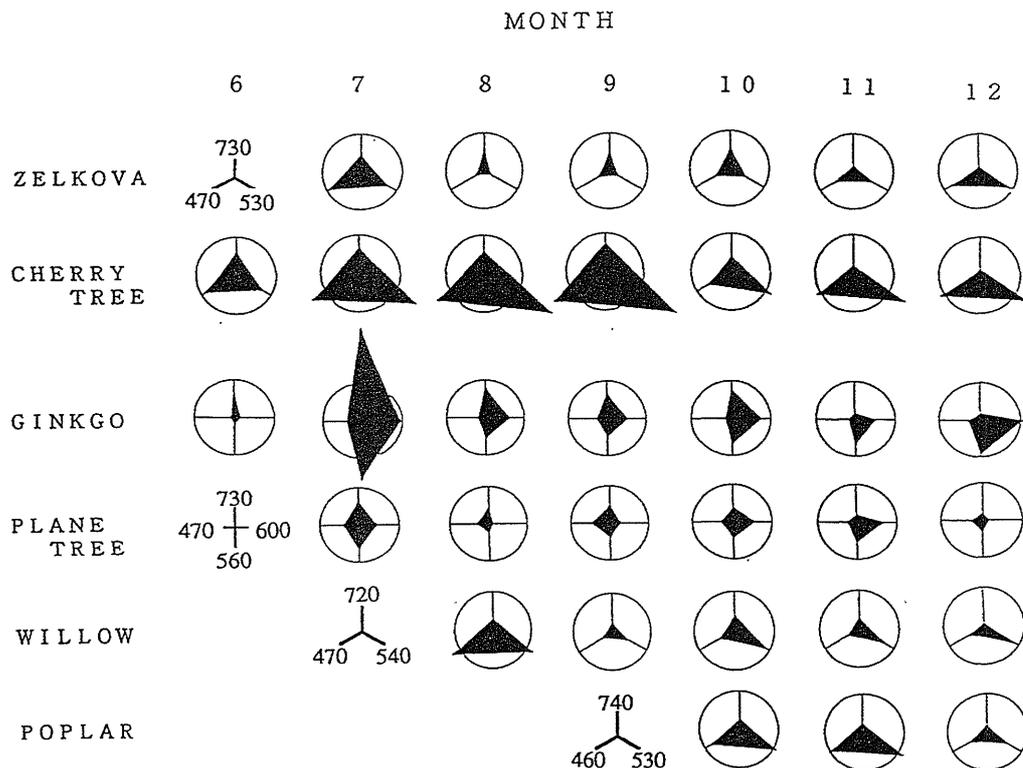


Fig.4 Seasonal changes of the fluorescence of plant species. The characteristic peaks are normalized relative to 685nm

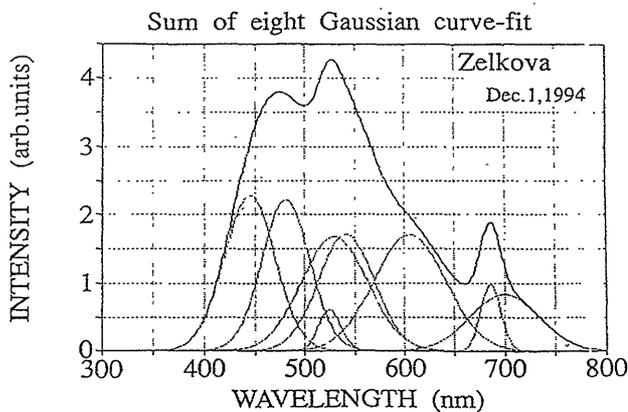


Fig.5 Sum of eight Gaussian curve-fit spectra. The peaks at 685nm and 700nm correspond to chlorophyll fluorescence.

diphosphate)、Trans- $\beta$ -carotene、Riboflavin、Vitamin  $K_1$  などの成分が挙げられるが<sup>3)</sup>、どの成分がどのスペクトルに対応して、どのように変化しているかは現在のところ明らかではない。これらの成分が生長過程や環境変化に伴い、どのように変化をしてこのような蛍光スペクトルを形成していくかの明がなされれば、計測スペクトルと健康時のスペクトルとのパターン認識などの処理や解析を行なうことにより、植物健康状態の把握や診断に役立つものと思われる。

#### 4 おわりに

レーザーによって励起された植物生葉からの蛍光は、植物の生育状態、個体差の情報を含んでおり、LIF法による植物診断法は植物の内部情報を知る上で有効な方法になる可能性が示された。特に、400nm～650nmのスペクトル成分は植物の生長状況の情報を含んでいると考えられる。葉内で生成される化合物と植物生葉からの蛍光情報の関係を明らかにすることが、植物診断などのモニタリングを行なうための課題になるとと思われる。

今後は、蛍光スペクトルの月別・季節別変化、環境変化、個体差などの計測を継続するとともに、ライダー型のレーザーアクティブリモートセンシング法への適応を検討していく予定である。

#### 参考文献

- 1) 斉藤, 畠, 野村, 鹿野, "植物生葉からのレーザー励起蛍光計測に関する基礎研究", 第42回応用物理学関係連合講演会予稿集, 30a-zp-8 (1995)
- 2) Y.Saito, K.Hatake, N.Sugimoto, A.Nomura, and T.Kano, "Laser Induced Fluorescence of Intact Leaves for Lidar Vegetation Monitoring", in Digest of CLEO/Pacific Rim '95. FN5, (Chiba, Japan, July 10-14, 1995)
- 3) 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)