

# 植物の蛍光応答による環境ストレス研究

阿部 了<sup>1</sup>・高橋文穂<sup>2</sup>・奈倉理一<sup>3</sup>

1 大学院工学研究科電気電子工学専攻 (ebipost@ele.kanagawa-it.ac.jp)

2 電気電子工学科 (fumihot@ele.kanagawa-it.ac.jp)

3 電気電子工学科 (nagura@ele.kanagawa-it.ac.jp)

## Study on the Environmental Stress using the Fluorescent Response of Plants

Ryo ABE<sup>1</sup>, Fumiho TAKAHASHI<sup>2</sup>, Riiti NAGURA<sup>3</sup>

### Abstract

Plants are the only generation source of the oxygen on the earth, therefore the important existence for all living things on the earth. However, plants have been influenced greatly by the global environment pollution in recent years. The environmental pollution has never been measured though there is an analysis based on the reflection of plants at the near infrared region in one of the vegetation index methods from the satellite. Recently we have been developing the blue LED excited fluorescent method for measuring the health condition of plants. This method is very useful for monitoring the stress condition of plants.

In this paper, the method for measuring the influence of the environmental stress on plants using blue LED excited fluorescence method is described, and the reactions of plants are also discussed when the environmental stress is actually given.

Key Words: environmental stress, fluorescence, photosynthesis, vegetation, excitation

### 1. 背景

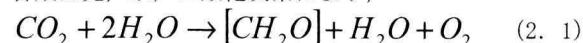
近年、高度経済成長により化石燃料の使用量が増加し、また工場や自動車などからの排気ガスの量も増加している。この影響で、大気汚染や地球温暖化、酸性雨などのいわゆる地球環境問題がクローズアップされている。また、フロンガスによるオゾン層破壊も生物にとって深刻な問題となっている。だが、この問題は人類だけの問題ではなく、植生に対しても多大な影響を与えている。

最近、地球観測衛星による植生リモートセンシングが盛んに行われているが、本論文では植物のストレス状態を観測する光計測手段として青色LED励起の植物蛍光法を開発したので、その結果について報告する。

### 2. 概要

#### 2.1 光合成<sup>[1]</sup>

光合成によるエネルギー変換は地球で唯一の酸素生成過程であり、最も重要なエネルギー供給過程である。光合成は光、水、二酸化炭素により、



の反応で、酸素、糖などの有機分子が生成される。光は葉の葉緑素などの色素により吸収され、光化学反応、電

子伝達、生化学反応のプロセスを経て、光合成となる。

#### 2.2 植物の吸光スペクトル<sup>[1]</sup>

一般的に植物は人の目には緑色に見える。これは図1に示すように、植物が短波長帯域と赤色帯の光を吸収し、緑色帯の光を反射するからである。また植物は近赤外の光を緑色帯の光に比べてかなり大きく反射する。衛星からの植生活性度計測は、このスペクトルを使用する。

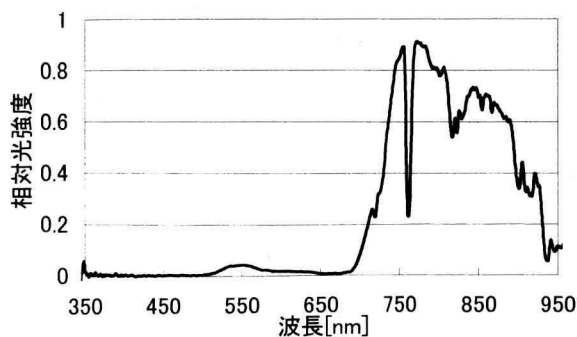


図1 緑葉の分光特性

図2に葉の光合成に作用する色素の吸光スペクトルを示す。植物の種類によっても異なるが植物の吸収スペクトルは概ねこのようになっており、緑葉の葉緑体であるクロロフィルは青色帯と赤色帯の光をよく吸収する。

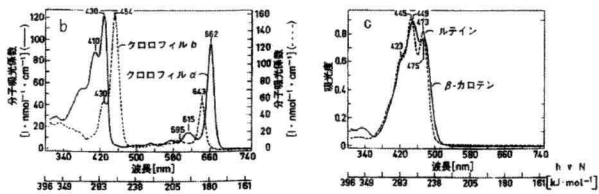


図2 色素の吸光スペクトル

2.3 植物の蛍光<sup>[1][2][3]</sup>

クロロフィル分子は光を吸収すると電子が励起される。励起された電子エネルギー準位の遷移過程を図3に示す。

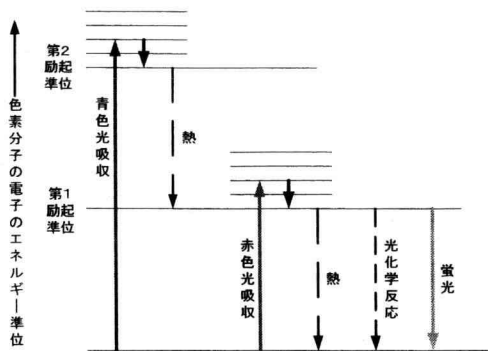


図3 クロロフィルの電子エネルギー準位の遷移

青色光は赤色光より波長が短いためエネルギーが高く第2励起準位まで遷移する。第2励起準位まで遷移した電子は熱を放出しながら第1励起準位まで下がる。ここからは赤色光を吸収したときと同じ状態となり、第1励起状態から熱、光化学反応、そして蛍光としてエネルギーを放出し、基底状態へと戻る。これが植物の蛍光現象の流れである。

図4に青色LEDの発光スペクトル及び青色光吸収による蛍光のスペクトルを示す。クロロフィルからの蛍光は685nmの赤色光と740nmの近赤外光から成る。

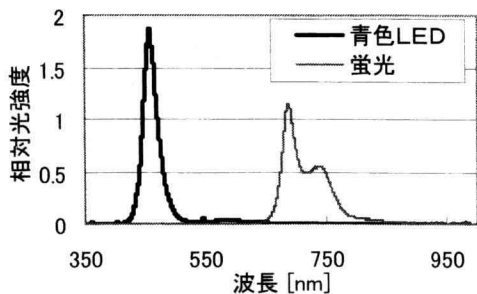


図4 青色LEDと蛍光の分光特性

図5に熱帯植物のカラジウム (学名: *Caladium*) の葉の一部分 (約5mm×5mm) の画像応答を示す。こ

れは日本TI社のインパクト方式カメラ (型番: MC681SPD) で撮像した画像で、(a)はフィルタ無しで光源を青色LED、ゲインを1として接写撮像し、暗い部分が緑色で明るい部分が白色となっている。(b)は685nmのバンドパスフィルタを使い光源を青色LED、ゲインを1000倍にして撮像したものである。(c)も同様に740nmのバンドパスフィルタを通して撮像したもので、(b)と(c)はともに(a)と対照的になり、白色の部分が暗く、緑色の部分が明るくなっている。これは緑色の部分はクロロフィルがあり光合成をして蛍光を放ち、白色の部分はクロロフィルがなく光合成を行っていないことを示している。このことから葉緑体であるクロロフィルから蛍光が生成していることがわかり、光合成が葉の緑色部分で行われていることがわかる。



(a)フィルタ無し (b)685nm (c)740nm

図5 蛍光の画像応答

2.4 環境ストレス

植物にも人間や動物と同様にストレスがある。特に植物は外的要因からストレスを受けるので、地球環境問題と密接な関わりがある。例を挙げると、温暖化や冷害による温度ストレスや大気汚染による大気ストレスなど、さまざまな要因で植物はストレスを受ける。本稿では、光の照射条件によるストレスと温度によるストレスについて述べる。

3. 実験

植物蛍光への環境ストレスの影響を計測するための実験手法を図6に示す。植物の葉を固定し、青色LEDとアバランシェフォトダイオードを葉に対して45°の位置に設置する。LEDの前には図7の特性の近赤外カットフィルタを置き、LED光の蛍光計測への影響を軽減する。実験で使用する685nmと740nmのバンドパスフィルタの透過特性を図8に示す。

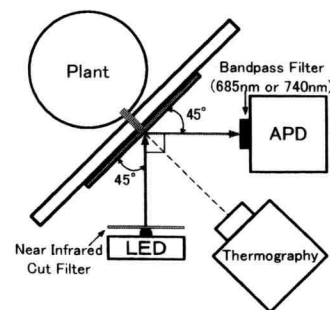


図6 蛍光計測のシステム図

蛍光計測を行う前に、条件を統一させるため、まず20分間LEDの光を葉に当てた後30分間暗所に置く。その後LEDの光を当てて蛍光をペンレコーダにより測定する。また、実験は蛍光測定システムを恒温恒湿槽内で行い温度・湿度を一定にし、サーモグラフィにより正面方向から葉温を監視する。

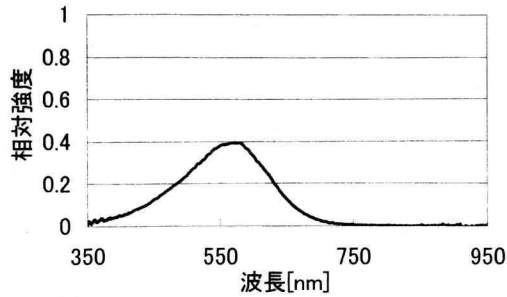


図7 近赤外カットフィルタの透過特性

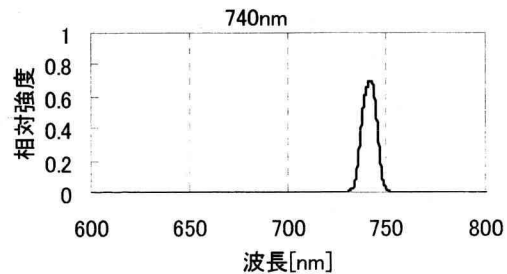
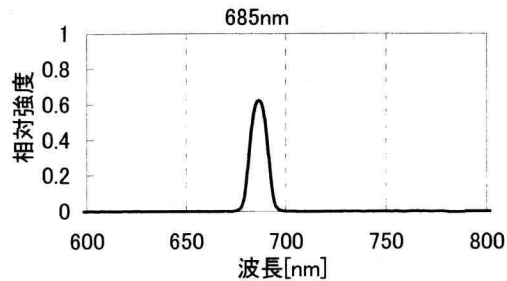


図8 バンドパスフィルタの透過特性

図9は実際に計測した青色LED励起時点からの蛍光強度の時間変化である。この結果から740nmの蛍光のほうが強いことがわかる。

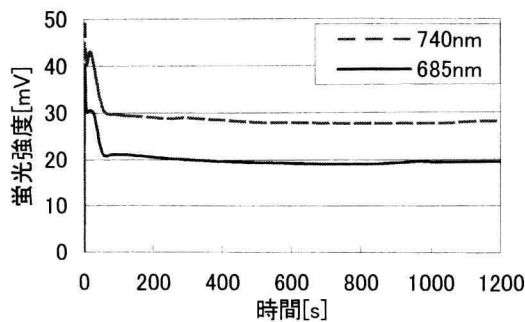


図9 685nmと740nmの比較

### 3. 1 暗所時間による植物への影響

植物は光を受けることで光合成し、糖などの有機分子を得る。では光を当てない時間を変化させると植物の健康状態はどうなるのだろうか。また、蛍光はどう変化するのであろうか。次の実験をして検討する。

暗所ストレスの実験は蛍光計測前の暗所に置く時間を、0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5時間と変化させて蛍光を計測する。温度・湿度は20℃・40%に設定する。実験には、ポトス・ライム (学名: *Epipremnum aureum* cv "Lime") を使用する。

### 3. 2 温度ストレス<sup>[1][4]</sup>

植物は変温性生物であり、温度による影響が大きい。したがって植物によって温度に対する構成的適応が大きく発達しているのも当然といえる。つまり高温地域の植物は高温に適しており、低温には弱く、低温地域の植物はその逆である。酵素の構造や機能は温度に強く依存し、そのため光合成に大きな影響をもたらす。また、温度は植物にとって季節の変化や生育のための重要な情報源である。温度は植物の生育に密接に関わっている。

温度ストレスの実験では温度環境を恒温恒湿槽により葉温を0, 10, 20, 30, 40℃に設定し、それぞれの状態で蛍光測定を行う。実験前の暗所条件は30分とする。実験には、ポトス・ライム、カラジューム、白菜 (学名: *Brassica campestris*) を使用する。

## 4. 結果

### 4. 1 暗所時間による植物への影響

暗所実験の結果のそれぞれの蛍光強度の最大点と収束点をプロットした結果を図10に示す。収束点はどの時間もほとんど変化はないが、最大点の方は時間が長くなるにつれ蛍光強度が大きくなり、4, 5時間辺りで蛍光強度の変化が収束する。

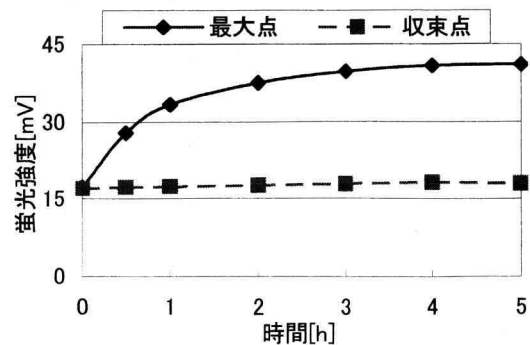
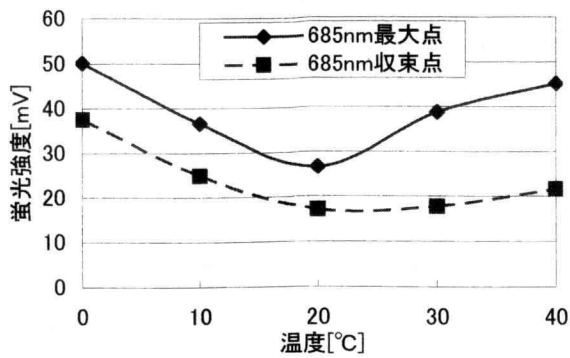


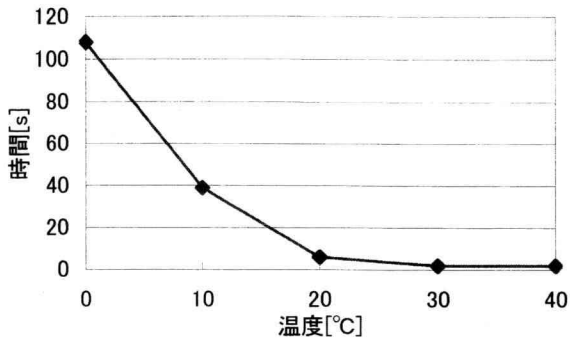
図10 ポトス・ライムの暗所時間による蛍光の変化

### 4. 2 温度ストレス

ポトス・ライム、白菜、カラジュームのそれぞれの温度ストレスの実験結果を図11, 12, 13に示す。これらのグラフは蛍光の時間変化の中の最大点、収束点及び最大となるまでの時間を、横軸を温度にプロットしたものである。

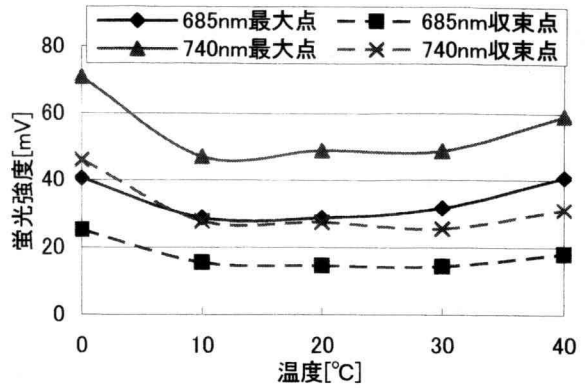


(a) 温度による蛍光の変化

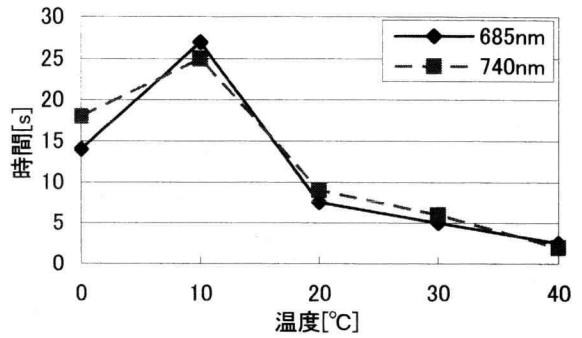


(b) 各温度で蛍光強度が最大になる時間

図 1 1 ポトス・ライムの温度ストレス実験結果

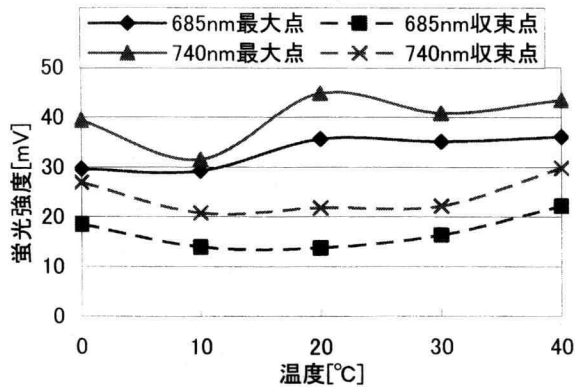


(a) 温度による蛍光の変化

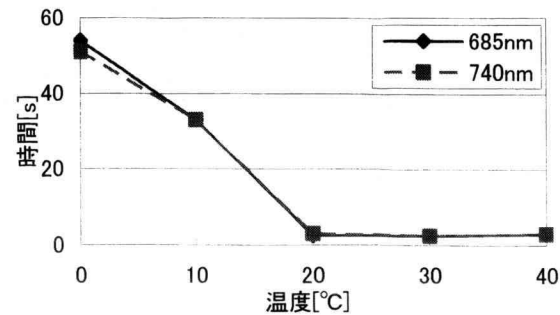


(b) 各温度で蛍光強度が最大になる時間

図 1 3 カラジュームの温度ストレス実験結果



(a) 温度による蛍光の変化



(b) 各温度で蛍光強度が最大になる時間

図 1 2 白菜の温度ストレス実験結果

## 5. 考察

### 5. 1 暗所時間による植物への影響

図 1 0 の結果から、暗所に置く時間によって蛍光強度が変化することが確認することができた。このことから、暗所条件によって植物にストレスが加わることが考えられる。また 4, 5 時間で暗所ストレスの影響が収束することがわかる。

### 5. 2 温度ストレス

図 1 1, 1 2, 1 3 の結果から植物によって温度による蛍光強度変化が異なることがわかる。これは植物の適正温度によるものと考えられる。常温植物のポトス・ライムは 20 °C 付近で蛍光強度が最小レベルとなり、冬の植物である白菜は 10 °C で最小レベルとなる。また、熱帯植物のカラジュームは 10 °C から 30 °C にかけて蛍光強度が弱くなっていることが確認できた。この結果から植物の適正温度が測定でき、温度によるストレスの影響がわかった。

## 6. まとめ

(1) カラジュームの葉の画像応答から、葉による蛍光の発光現象を確認できた。また、葉の中でも葉緑素のクロロフィルがある緑色の部分から蛍光が放出され、クロロフィルがほとんどない白色の部分からは蛍光が放出されないことがわかった。

(2) 暗所に置く時間が植物に影響することが判明し、また暗所時間が 5 時間くらいで蛍光強度が収束することが

わかった。

(3)温度によって蛍光強度が変化すること、また植物によって蛍光の時間的応答が異なることが判った。これにより、温度のストレスが植物の適正温度によって変化することが実証できた。

これらの結果から、植物は外的要因からストレスを受け、このストレスが植物蛍光に影響することが確認できた。しかし、ストレスによる蛍光への影響を実証することはできたが、今後の課題として、その蛍光からストレスを定量的に測定できていないので、今後明らかにしていきたい。

## 7. 参考文献

- [1]Hans Mohr and Peter Schopfer(網野真一, 駒嶺穆訳):植物生理学 pp.155-156,p534 シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社 2002
- [2]太田次郎, 石原勝敏, 黒岩澄雄, 清水碩, 高橋景一, 三浦謹一郎:植物の生理 pp.5 株式会社朝倉書店 1991
- [3]高橋邦夫, 峰内健一, 中村時久, 江森康文:レーザ誘起蛍光法による生葉からの蛍光生体情報の抽出に関する基礎研究 pp.2-13 日本リモートセンシング学会誌 Vol.16 No.1 1996
- [4]旭正:植物の機能 pp.135-139 株式会社岩波書店 1991