

H-007

## 分光画像計測を用いたオゾンストレスに対する葉応答の可視化

### Visualization of Leaves Response Caused by Ozone Stress Using Spectral Imaging Technique

岩崎 宏明†  
Hiroaki Iwasaki

宮澤 佳苗†  
Kanae Miyazawa

中内 茂樹†, ‡  
Shigeki Nakauchi

#### 1. はじめに

植物は人間や動物とは異なり、自ら移動することができないため、水、土壌、大気、日光などの取り巻く環境の影響や変化をシビアに受ける。その影響は、時には“ストレス”として植物にダメージを与える。近年、地球規模で増加している光化学オキシダントの主成分であるオゾン(O<sub>3</sub>)は、植物毒性を持つガス状大気汚染物質であり、植物の葉に人の眼で見える障害(可視障害)[1], [2]を引き起こすことから農作物や森林への影響が懸念されている[3]。これまでに植物のストレス反応に関して、植物がストレスを受けると可視障害のみならず不可視障害も生じるとする報告[4]の他、植物が水ストレスを受けてもその程度がある範囲内であれば、直接的な障害は生じないことも示されている[5]。すなわち、早期にストレス状態を検出できれば正常な状態に回復させることが可能であると考えられる。

こうした中で、これまで個葉の分光情報を用いた水の過不足によるストレス診断[6], [7]が活発に行われてきたが、オゾンによる影響を調べた例は少ない[4]。また、これまでは主に葉の1点の変化を計測するポイント計測[6]が行われていたが、この方法では葉全体の経時変化を見ることは困難である。

本研究では、植物がストレスから回復する機能を持つこと、またストレスが不可視障害をも発生させることに着目し、分光画像計測により植物が受けるオゾンストレスを可視障害が生じる前に検知・可視化することを目的とする。

#### 2. 実験方法

室内において、濃度約 200ppb のオゾンを受感性の比較的高いハツカダイコン[8]に暴露し、葉が可視障害へと変化する過程を計測・分析した。まず、900ml 容ポットに種子を蒔き、オゾン除去のための活性炭フィルタを取り付けたオープントップチャンバーで 38 日間育成した。その内の 2 個体を選び、一方は人工オゾン暴露装置(図 1)を使用し、人工的に高濃度のオゾンを植物に暴露し、オゾン暴露によって植物が変化する過程を分光画像システムにより計測した。もう一方は対照用としてオゾン暴露せずに計測を行った。分光画像測定システムは、400~1000nm の任意波長の光を透過させる音響光学チューナブルフィルタ(AOTF)、冷却近赤外モノクロ CCD カメラ、レンズで構成される(図 2)。ハロゲンランプで植物を照射し、葉の輝度画像を撮影した。測定波長は 400-1000nm とし、標準白色板の分光画像を用いて正規化し、分光反射率を求めた。

オゾン暴露実験手順を図 3 に示す。大きく分けて 2 回のオゾン暴露を行い、暴露後は大気環境下に植物を置き、経過観察を行った。オゾン暴露中に分光画像の撮影を図 3 に示す間隔で行った。ここでオゾン暴露実験開始時を 0 と定め、131 時間後までの変化を計測した。

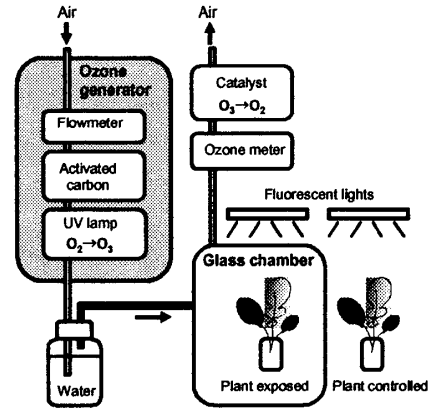


図 1: 人工オゾン暴露装置の概要

人工オゾン暴露装置はオゾン発生器、窒素酸化物除去部、オゾン暴露試験容器から構成される。外気をオゾン発生器に取り込み、紫外線を照射することでオゾンを発生させ、植物に光合成を行わせるため、蛍光灯(7200K)を照射した。

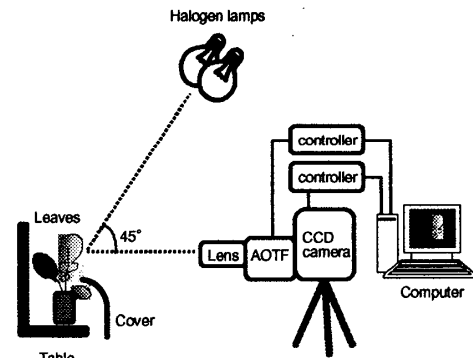


図 2: 分光画像計測システムによる植物撮影

音響光学チューナブルフィルタ(AOTF)、冷却近赤外モノクロ CCD カメラ、レンズ、及び AOTF と CCD カメラ制御用 PC を用いて撮影を行った。

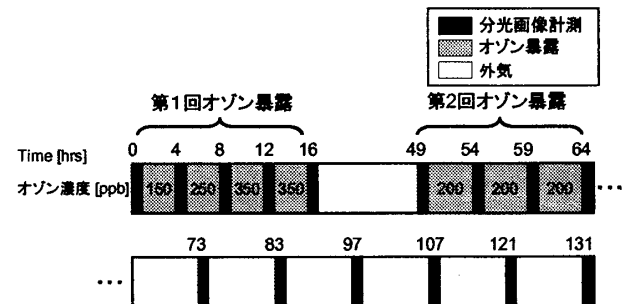


図 3: オゾン暴露実験手順の流れ

ハツカダイコンを実験室内で人工オゾン暴露装置を用いて大きく分けて 2 回暴露した。随時、分光画像計測を行い、計測後は大気環境下にハツカダイコンを設置した。

† 豊橋技術科学大学 工学部 情報工学系

‡ 豊橋技術科学大学 インテリジェントセンシング システムリサーチセンター

### 3. 解析方法, および結果

分光画像計測で得た膨大な分光反射率データから, 特に変化の激しい波長帯を人の眼で見える波長帯を RED (670-690nm), 人の眼で見えない波長帯を NIR (780-800nm) と定義し, 暴露前からの変化量である  $\Delta$ RED,  $\Delta$ NIR から葉応答の可視化を行った. また葉の中の特に変化の激しい部位 (可視障害が生じた部位) について経時変化を調べた (図4).

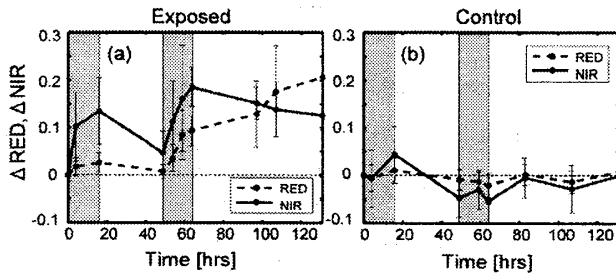


図4: オゾン暴露による葉の分光反射率の経時変化 (a)オゾン暴露した葉, (b)対照用の葉の変化. 第1回オゾン暴露 (0-16時間)では $\Delta$ REDより $\Delta$ NIRの変化が大きく, オゾン暴露を止めた間 (16-49時間)は,  $\Delta$ NIRが0に戻ろうとする変化が見られた. 第2回オゾン暴露 (49-64時間)では,  $\Delta$ REDが著しく増加し, 可視障害が59時間後に生じた. 可視障害が生じた後 (59-131時間)では,  $\Delta$ REDは増加し続け,  $\Delta$ NIRは減少した. 対照用の葉は0付近で変動しており, 著しい変化は見られない.

図4に示すように, オゾン暴露によってまず $\Delta$ NIRが大きく増加し, その後 $\Delta$ REDが増加する中で可視障害が生じ, 暴露をやめた後も $\Delta$ REDは増加し続ける, というダイナミックな変化を, 継続的な分光画像計測により捉えることができた. また可視障害が生じる前にオゾン暴露をやめると $\Delta$ NIRが元の状態に戻ろうとすることも分かった. これは植物の回復機能と推測できる.

図5に $\Delta$ NIR,  $\Delta$ REDを用いた葉の擬似カラー画像を示す. この結果から, 暴露4時間後に $\Delta$ NIRで変化の激しい部分は, 59時間後に可視障害が生じる周辺であることも分かった. 対照用の葉の変化は図4, 図5から著しく変化していないことが確認できる. つまり, 植物自身の変化でなく, オゾン暴露により上記の変化が葉に生じたと言える.

### 4. 結論

本研究では, 従来のポイント計測では困難であった, オゾンによる可視障害部位の分光反射率の経時変化を観測することができた. 特に, 人の眼には見えない情報を持つ $\Delta$ NIRによって, 可視障害が生じる前にストレスの検知・可視化できる可能性が示唆された. また, 可視障害が生じる前にオゾンストレスから解放させると, 元の状態に戻る機能 (ホメオスタシス) が働くこと確認でき, 本手法を用いて早期にストレス状態を検知できれば, 可視障害の低減が可能であると言える.

これまでの予備実験より, 愛知県の大気環境下でも可視障害が生じることを確認しており, 今後, in situでの植物ストレス診断へと発展させる予定である.

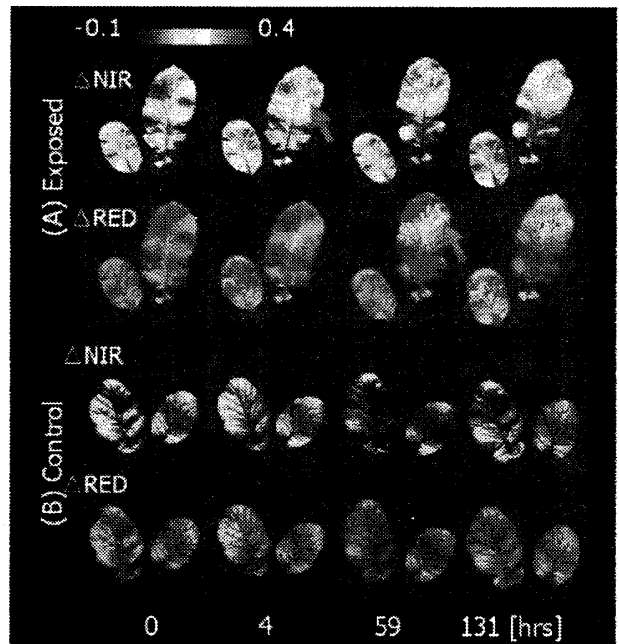


図5: 葉の擬似カラー画像 ( $\Delta$ NIR,  $\Delta$ RED) (A)オゾン暴露した葉, (B)対照用の葉の変化. (A)の $\Delta$ RED変化を見ると, 59時間後に矢印の先が大きく変化している. これは可視障害が生じたのを意味している.  $\Delta$ NIRの変化を見ると, 4時間後に可視障害が生じた部分が著しく変化している. 対照用の葉は変化していない.

### 参考文献

- [1] J. W. Gregg, C. G. Jones and T. E. Dawson, "Urbanization effects on tree growth in the vicinity of New York City," *Nature*, 424, 183-187, 2003.
- [2] K. Novak, J. M. Skelly, M. Schaub, N. Kräuchi, C. Hug, W. Landolt and P. Bleuler, "Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland," *Environ Pollut.*, 125(1), 41-52, 2003.
- [3] I. Nouchi, "Agricultural countermeasures for avoiding crop injury from ozone in Japan," *J. Agric. Meteorol.*, 59, 59-67, 2003.
- [4] Gausman H.W., Escobar D.E., Rodriguez R.R., Thomas C.E., Bowen R.L., "Ozone Damage Detection in Cantaloupe Plants," *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 44, 481-485, 1978.
- [5] Levitt, J., "Responses of Plant to Environmental Stresses", Academic Press, New York and London, pp.697, 1972.
- [6] J. Peñuelas and I. Filella, "Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status," *Trends in Plant Science*, 3, 151-156, 1998.
- [7] S. Aario, H. Kauppinen, O. Silvén and K. Viilo, "Imaging spectroscopy of greenhouse plants for vitality estimation," *ICVS 03, International Workshop on Spectral Imaging*, pp. 49-55.
- [8] T. Izuta, H. Miyake and T. Totsuka, "Evaluation of air-polluted environment based on the growth of radish plants cultivated in small-sized open-top chambers," *Environ Sci.*, 2, 25-37, 1993.