

太陽光を利用したスタンドオフ植物蛍光計測システムの開発：圃場・森林への応用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-06-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 増田, 健二 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00010245

太陽光を利用したスタンドオフ植物蛍光計測 システムの開発：圃場・森林への応用

増田健二

技術部 プロジェクト・安全支援部門

1. はじめに

太陽光により励起された植物から放出されるクロロフィル蛍光は、植物の光合成活動に直接結び付く情報を提供する。GOSAT など高分解能 FTIR を搭載した衛星観測により、地上植生からの蛍光が観測可能であることが報告されている^{[1],[2]}。地上計測では UAV^[3]や圃場上空に設置したクレーン^[4]をプラットフォームとして用いた植物蛍光計測法が提案されている。

我々は地上でのリモートセンシング計測により、野外の群落レベルで活用可能な植物蛍光計測法を開発している^{[5]-[7]}。光学望遠鏡、小型 CCD 分光器、および冷却 CCD カメラと狭帯域フィルターを用いた植物蛍光の遠隔計測システム開発の一環として、ここでは実験室において行った LED 光源を用いた植物葉の照射実験について報告する。赤外カットもしくは赤外透過の光学フィルターを用いることによって、微弱な蛍光信号と赤外域での強い反射と区別して観測することが可能になる。さらに、開発したスタンドオフ計測システムを利用し、屋外の圃場と森林を対象として数 10 m の距離から行った太陽光励起蛍光 (Solar Induced Fluorescence: SIF) 観測法の結果について報告する。

2. 実験室における蛍光スペクトル計測

実験室において LED (35 W) 光源を利用し、植物試料としてツゲ (*Buxus microphylla*) を用いて植物蛍光スペクトル計測を行った。Fig. 1 に LED のスペクトルを示す。ピークは 550nm にあり、700 nm より長波長域の強度は小さい (グレー線)。さらに、シアンフィルターとホットミラーを通過させることにより 620 nm より長波長域をカットした (点線)。740 nm 付近のピークは蛍光スペクトルであり、532 nm レーザー光励起の場合 (実線) と同様、葉表面からの強い赤外反射光を除去した蛍光が LED 光励起でも観測可能となった。

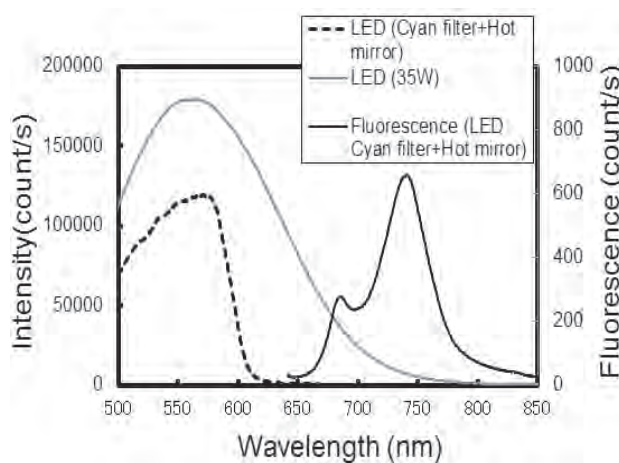


Fig. 1 Spectra of LED, LED with cyan filter, and halogen lamp.

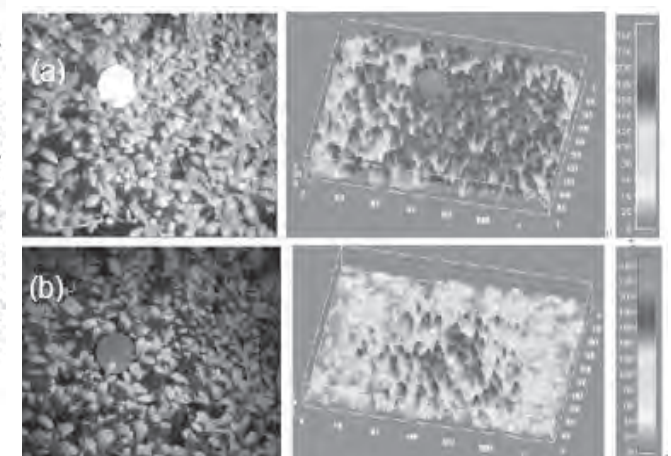


Fig. 2 Reflection and fluorescence images.

Fig. 2 に、この LED 励起によるクロロフィル蛍光画像と反射光画像を示す。Fig.2 (a)は口径 200mm の天体望遠鏡を用い、距離 10 m から干渉フィルター（F550）により積分時間 200ms で撮影した反射光画像であり、葉の向きの影響が大きい。一方、Fig. 2 (b)は干渉フィルター(F740)を用いて積分時間 500ms で撮影した蛍光画像である。

3. 野外スタンドオフ蛍光計測

3.1 リモートセンシング計測システム

Fig.3 のように、数 10m の距離の植物葉の蛍光をリモートセンシング計測するシステムとして、微弱な蛍光を計測する必要があることから、集光能力を向上させるため、口径 200mm の天体望遠鏡及び高感度・高 S/N 比の冷却式 CCD 分光器（Ocean Optics QE65 PRO）を使用する。太陽スペクトル暗線（solar blind、O₂ 線：759～762 nm）域を利用する。技術的には、冷却式 CCD カメラ（BITRAN BU51LN）に狭帯域の干渉フィルター（F760）を取り付け葉面全体の蛍光分布画像を取得する。

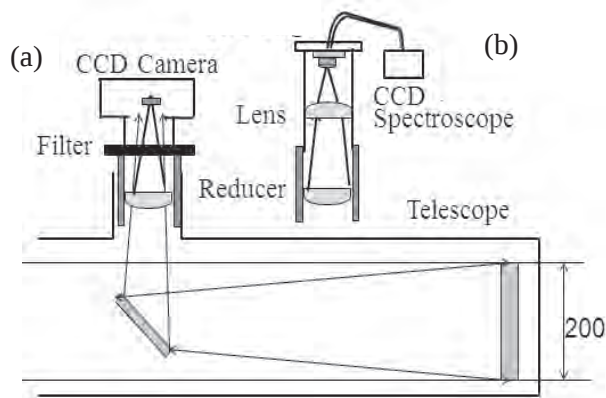


Fig. 3 Stand-off fluorescence detection system: CCD Camera and (b) CCD Spectrometer.

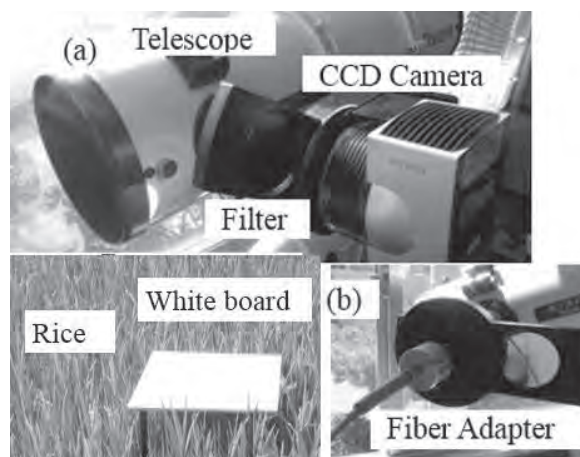


Fig. 4 Outdoor stand-off measurement of rice field.

3.2 イネのスタンドオフ蛍光計測

2015 年 8 月 4 日～7 日、京都大学農学研究科作物学研究室（白岩研）の圃場において、水田を対象として 15～30 m の距離から直達太陽光励起による植物蛍光スペクトル計測を行った（Fig.4）。イネの品種は、「コシヒカリ」などである。Fig. 5-6 に観測された蛍光強度スペクトルを示す。波長 760 nm 付近の酸素 A バンドの暗線を利用したクロロフィル蛍光強度 F は、従来法^[8]では（1）式に基づいて、蛍光のない基準表面と植生面の測定値の比較によって算出できる。

$$F(\lambda_{in}) = \frac{E(\lambda_{out}) \cdot L(\lambda_{in}) - L(\lambda_{out}) \cdot E(\lambda_{in})}{E(\lambda_{out}) - E(\lambda_{in})} \quad (1)$$

ここで、 λ_{in} , λ_{out} はそれぞれ酸素 A バンドの吸収強度が最大となる波長（760.68 nm）および A バンドのすぐ外側の波長（758.5 nm）を示し、 L はイネからのスペクトル（反射光＋蛍光）、 E はほぼ同じ位置に白板を置いたスペクトルを示す。

本研究では、新しい蛍光算出法として、白板の反射スペクトルに、予め測定したイネの蛍光のない波長域の反射率を掛けて植生スペクトルにフィッティングさせ、実測との差分から蛍光スペクトルを算出する方法を提案する。従来法と比較するため、Fig.5 の測定に用いた 2 つの波長の平均値 759.5 nm のスペクトル強度を読み取る（Fig.6）。

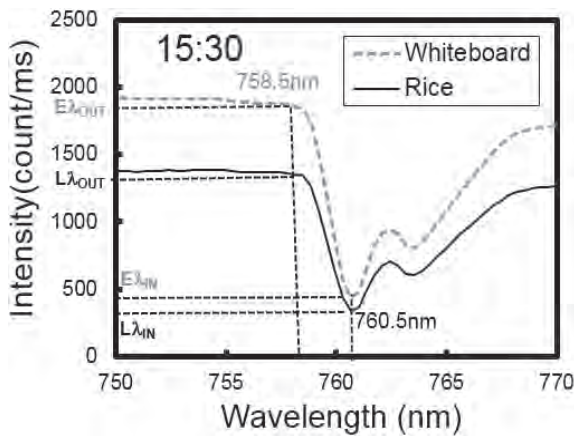


Fig. 5 Detection with a CCD spectrometer
15:30 on Aug. 5, 2015.

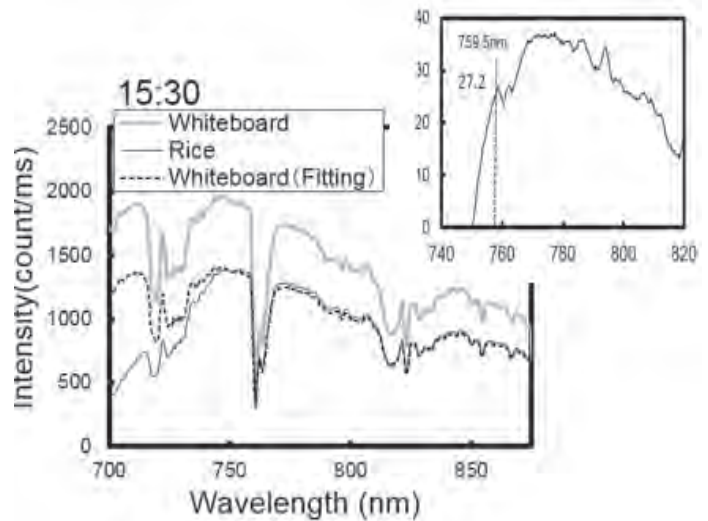


Fig. 6 Proposed Method (Spectral fitting).

Fig.7 は、太陽光励起によるクロロフィル蛍光分光画像である。CCD カメラの計測の場合、中心波長 760.68nm、透過幅が 1nm の狭帯域フィルターを用い、画像の右半分には白板を同時に撮影し、白板の強度に植物葉の反射率を掛けた数値を植物葉の反射強度として差し引くことで蛍光強度を見積もった。(a) が bitmap 画像、(b) が蛍光スペクトル強度 (Spectrum Scale) 画像である。

Fig. 8 に酸素 A バンドによるクロロフィル蛍光成 F の測定結果を示す。提案の方法と式 (1) による結果は、ほぼ一致している。また、CCD カメラの画像データの結果においても、pixel あたりの強度値が同じ傾向が見られた。

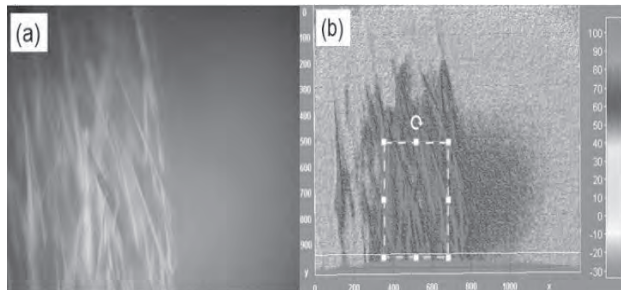


Fig. 7 Rice field imagery: (a) bitmap image and (b) fluorescence intensity calculated with the spectral fitting approach.

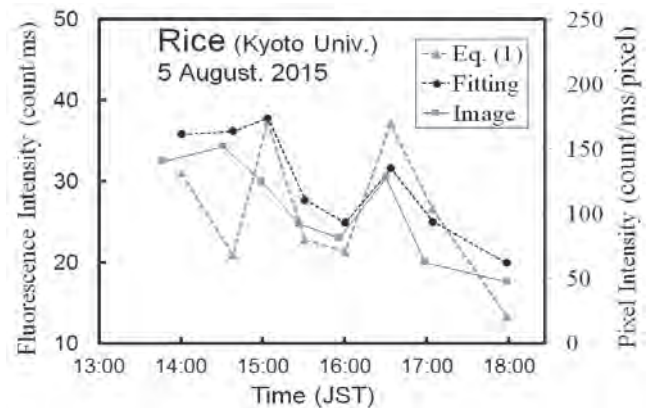


Fig. 8 Temporal changes in fluorescence intensity measured near the oxygen A-band with three different approaches.

3.3 森林 (コナラ) のスタンドオフ蛍光計測

2015 年 9 月 9 日~12 日、10 月 5 日~7 日に森林総合研究所の京都山城観測地において、奈良女子大学理学部村松研究室と共同で森林コナラ (*Quercus serrata*) の直達太陽光励起による蛍光計測を行った (Fig.9)。高さ 30 m の CO₂ 観測タワーに口径 95mm 天体望遠鏡を設置し、数 10 m の距離にある樹木 (コナラやアラカシ) を測定した。

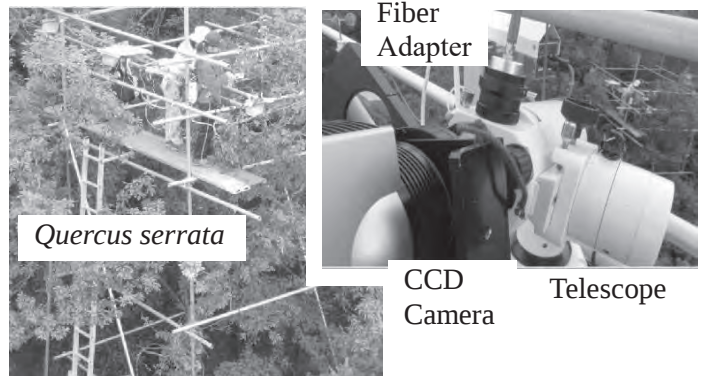


Fig. 9 Forest stand-off measurement.

Fig. 10 (a) の画像では、コナラの反射強度を白板（200×500 pixel）の反射強度にコナラの反射率を乗じることによって推定する。Fig. 10 (b) では、蛍光強度を全体の強度から反射強度を差分して求める。蛍光強度画像（500×500 pixel）から 1 pixel あたりの平均の蛍光強度値を求める。

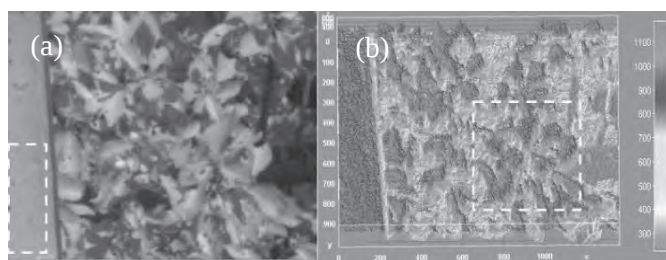


Fig.10 Chlorophyll fluorescence spectrum image.

Fig. 11 に示すように、太陽光の光合成有効放射量 (PAR) の変化に伴って、蛍光強度も変化している。Fig.12 は、蛍光強度 (F) と気孔コンダクタンス (Cond) を比較したグラフである。双方とも PAR に反応する指標である。光合成速度に関連する気孔コンダクタンス (Cond) および蛍光強度 (F) は午前中高くなり、その後 PAR の減少に伴って、双方とも減少していく。

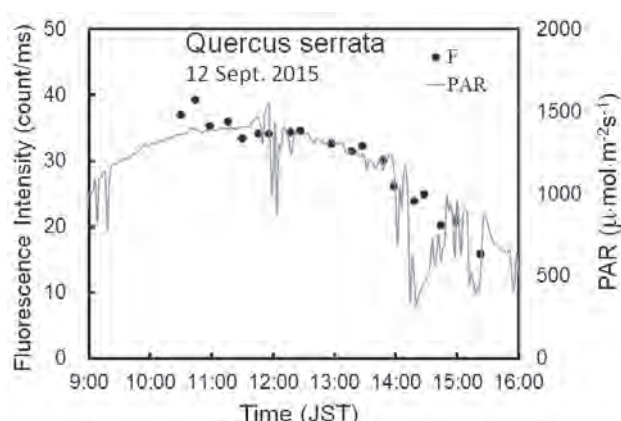


Fig.11 The decrease of SRIF intensity was observed with the decrease in PAR.

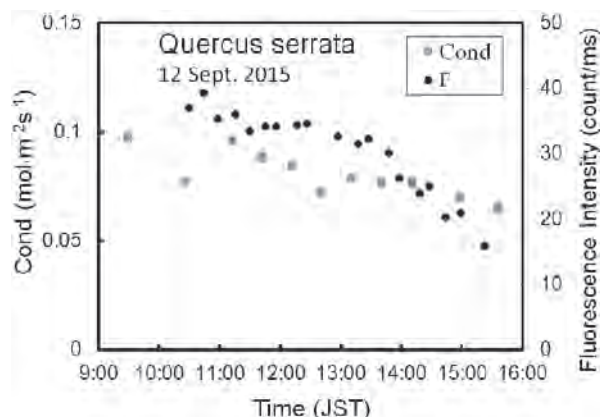


Fig.12 Comparison between stomatal conductance and intensity of fluorescence.

3.4 ダイズのスタンドオフ蛍光計測

2016 年 8 月 30 日～9 月 2 日、京都大学農学研究科作物学研究室（白岩研）のダイズ圃場において、15～30 m の距離から直達太陽光励起による植物蛍光スペクトル計測を行った (Fig.13)。ダイズの品種は、フクユタカなどである。Fig. 14 に、観測された蛍光強度スペクトルを示す。

スペクトル計測の特徴を利用した蛍光強度算出法として、屋外で同時に観測した白板の反射光スペクトルを植物葉からのスペクトルと比較する。825 nm より長波長側では植物蛍光が無視できるので、この波長域で植生の相対反射率を推定し、750～825 nm において実測との差分から蛍光スペクトルを算出する (Fig. 14)。太陽光誘起蛍光においては酸素 A バンドと水蒸気の吸収が見られ、これらの間にあって、クロロフィル吸収の影響を受けない波長 775 nm のスペクトル強度を読み取る。

Fig. 15 に、太陽光誘起によるクロロフィル蛍光分光画像を示す。CCD カメラによる計測の場合、酸素 A バンドに相当する中心波長 760.68 nm、透過幅が 1 nm の狭帯域フィルター (F760) を用い、画像の左端には白板を同時に撮影し、白板の強度に植物葉の相対反射率 (スペクトル計測による値) を掛けた数値を植物葉の反射強度として差し引くことで蛍光強度を見積もった。

Fig. 16 (a) は距離 20 m から干渉フィルター (中心波長 550 nm、幅 10 nm) により積分時間 30 ms で撮影した反射光画像であり、葉の向きの影響が大きく現れている。一方、Fig. 5 (b) は干渉フィルター (F760) を用いて積分時間 50 ms で撮影した蛍光画像である。テキストデータを積分時間で割ることによって、(count/ms/pixel) でカラースケールを決めている。

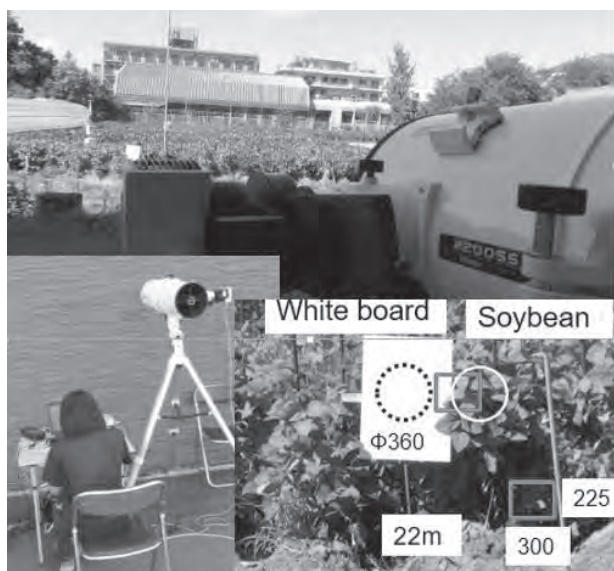


Fig.13 Stand-off measurement of a soybean field.

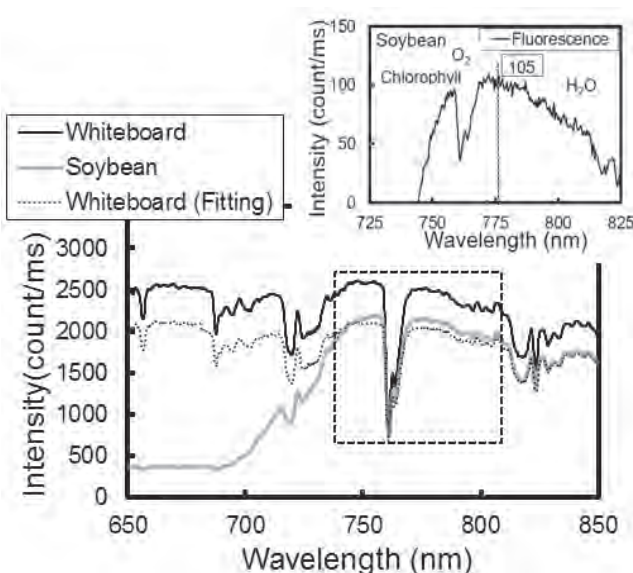


Fig. 14 Proposed method based on relative reflectance.

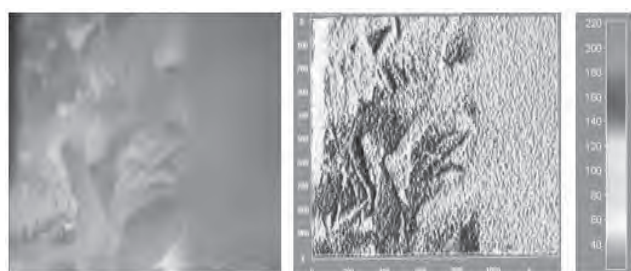


Fig. 15 Soyabean field imagery: (a) bitmap image (b) fluorescence intensity calculated by subtracting the reference spectra.

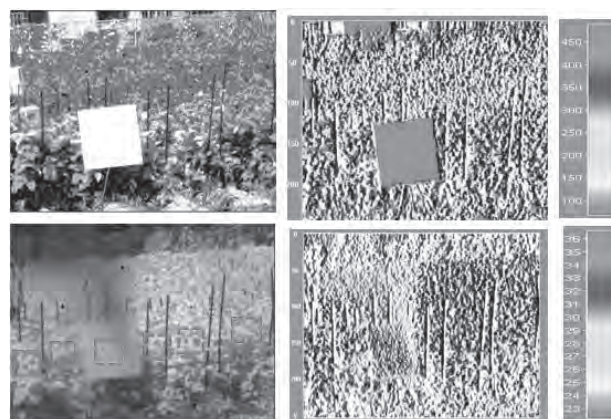


Fig. 16 Reflection and fluorescence images.

京都大学農学研究科のダイズ圃場では、列ごとに異なる品種のダイズが植えられており、Fig.5 (b) の赤枠に左から番号を付け、提案方法と CCD カメラの画像データの蛍光強度の比較を行った。結果においても、提案方法と画像データの画素あたりの強度値が同じ傾向が見られた (Fig.17)。

4. まとめ

実験室における蛍光成分 F の計測では、シアンフィルターとホットミラーを用いることにより、620nm より長波長をカットして、赤外反射の影響を除去して純粋の蛍光スペクトルを観測することが可能になる。

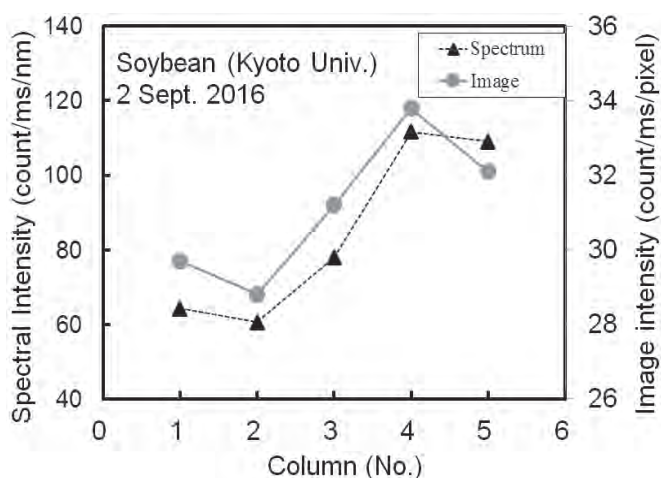


Fig. 17 Fluorescence intensity for different breeds as compared in the spectral and image analysis.

近接リモートセンシング技術を利用して、圃場の群落におけるクロロフィル蛍光量とそれに関連するパラメータを取得することにより、植物のストレス状態だけでなく葉群の量とその光合成活性の把握をすることが理論的に可能である。そのために、人為光でなく太陽光の自然条件下において発生する蛍光量の評価技術を確立する。さらに、屋外で長期間にわたって継続的に蛍光信号を取得できる近接リモートセンシング撮像装置を製作し、圃場レベルでの継続的な観測を実現する。また、太陽光励起による蛍光 (SIF) 計測法システムの新たな提案となっており、SIF 計測法を生態系レベルの CO₂ 吸収量の推定に生かすことが期待されている。

酸素 A バンドを利用した SRIF 法では、白板による反射強度に植物葉の反射率を掛けた反射成分を取り除き、蛍光強度を近似的に導出する方法を提案した。酸素 A バンドによるクロロフィル蛍光成分 F の測定において、文献[8] の式(1)と提案の方法、画像データより求めた結果がほぼ一致した。

森林のコナラの蛍光計測では、光合成蒸散測定装置 (LI-6400) のデータとの比較を行った。気孔コンダクタンスおよび光合成速度は光合成有効放射量 (PAR) の変化や蒸散による気孔を開こうとする反応の指標である。

(謝辞) 本研究は、平成 26~28 年度科学研究費 (学術研究助成基金助成金)・基盤研究 C (課題番号 26340003) の助成を受けた。

参考文献

- [1] Guanter, L., Alonso, L., Gómez-Chova, L., AmorósLópez, J., Vila, J., Moreno, J., 2007: Estimation of solar-induced vegetation fluorescence from space measurements, *Geophys. Res. Lett.*, 34, L08401, doi:10.1029/2007GL029289.
- [2] Frankenberg, C., Butz, A., Toon, G.C., 2011: Disentangling chlorophyll fluorescence from atmospheric scattering effects in O2 A-band spectra of reflected sun-light, *Geophys. Res. Lett.*, 38, L03801, doi:10.1029/2010GL 045896.
- [3] Zarco-Tejada, P. J., González-Dugo, V., Berni, J.A.J., 2012: Fluorescence, temperature and narrow-band indices acquired from a UAV platform, *Remote Sensing of Environment* 117, 322-337.
- [4] Daumard, F., Champagne S., Fournier, A., Goulas, Y., Ounis, A., Hanocq, J.-F., Moya, I., 2010: A Field platform for continuous measurement of canopy fluorescence, *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, 48, 3358-3368.
- [5] Masuda, K., Saito, H., Mabuchi, Y., Manago N., Kuze, H., 2014: Stand-off measurement of solar radiation induced vegetation fluorescence using oxygen A-band, 2993-2996, *IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS 2014) Quebec*.
- [6] Kuriyama (Masuda), K., Manago, N., Saito, H., Kuze, H., 2015: Optical remote sensing of vegetation fluorescence on the canopy level under insolation, *International Symposium Remote Sensing (ISRS 2015)*, A8(Oral), paper #34, National Cheng Kung University (NCKU).
- [7] 栗山 (増田) 健二, 眞子直弘、本間香貴, 久世宏明, 2016: 太陽光を利用した群落レベルでのスタンドオフ植物蛍光測定, *日本リモートセンシング学会 第 61 回 (平成 28 年度秋季) 学術講演会論文集*, 新潟テレサ S-5, DVD.
- [8] Meroni, M., Rossini, M., Guanter, L., Alonso, L., Rascher, U., Colombo, R., J. Moreno, J., 2009: Remote sensing of solar-induced chlorophyll fluorescence: Review of methods and application., *Remote Sensing of Environment* 113, 2037-2051.