

## 直達太陽光励起による植物葉の蛍光スペクトル計測 システムの開発

メタデータ	言語: ja 出版者: 静岡大学 公開日: 2018-11-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 栗山, 健二 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10297/00025937">http://hdl.handle.net/10297/00025937</a>

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26340003

研究課題名(和文) 直達太陽光励起による植物葉の蛍光スペクトル計測システムの開発

研究課題名(英文) Development of a system for measuring solar radiation-induced fluorescence from vegetation leaves

研究代表者

栗山 健二 (Kuriyama, Kenji)

静岡大学・技術部・技術職員

研究者番号：80555417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：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太陽光誘起の植物蛍光計測法を開発している。装置の構成としては、光学望遠鏡に冷却CCD分光器を装着して可視・近赤外域のスペクトル計測を行うとともに、狭帯域フィルタを取り付けた冷却CCDカメラで画像としての植物蛍光強度分布を遠隔計測可能である。定量的な解析を行う目的で、植物と同時に白板の画像を取得し、スペクトル演算によりSIF強度を導出している。京都大学農学研究科のダイズとイネの圃場と森林総合研究所の山城観測地の森林において、距離数10 mでの計測から、直達太陽光誘起による植物蛍光スペクトル計測が可能であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：A stand-off system has been developed for observing solar-induced vegetation fluorescence on the canopy level. The system collects optical signals using a telescope, leading to the spectral measurement using a CCD spectrometer, as well as the two-dimensional measurement of the fluorescence intensity distribution by means of a cooled CCD camera. The spectrum of whiteboard taken simultaneously with that of vegetation canopy is used as a reference to extract the fluorescence intensity. The system has been tested both in laboratory and field experiments conducted at rice, soybean field and forest sites in Kyoto. It is found that the present approach based on the exact spectral shapes is useful for extracting weak fluorescence signals even under daylight conditions for rice, soybean and forest canopies.

研究分野：環境学

キーワード：太陽光励起植物蛍光 植生リモートセンシング 環境影響評価技術 クロロフィル蛍光画像 酸素Aバンド 群落測定

1. 研究開始当初の背景

GOSAT のフーリエ分光器 (TANSO-FTS) の酸素 A バンドのスペクトルデータからクロロフィル蛍光が検出され、地上計測での検証が必要となっている。本研究は、直達太陽光励起蛍光 (Solar-Induced Fluorescence, SIF) 法を用いた CCD 分光器によるクロロフィル蛍光強度スペクトル計測および CCD カメラによる二次元的なクロロフィル蛍光画像解析法の確立を目的として開始した。そのため、生育場所においてその場測定を行うことが可能となるよう、植物葉の SIF 法による分光リモートセンシング計測及び太陽光スペクトル中の暗線による (Fraunhofer Line-Discrimination, FLD) 法を用いた植物蛍光分布画像システムの開発を開始した。

2. 研究の目的

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つく情報を提供する。GOSAT など高分解能 FTIR を搭載した衛星観測により、衛星からの蛍光が観測可能であることが報告されている<sup>1,2)</sup>。

本研究では、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する。光学望遠鏡、小型 CCD 分光器、及び冷却 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を設計、製作した。野外での樹冠観測に先立ち、システムの性能を確認する目的で、実験室において LED 光源を用いた植物葉の照射実験を実施した。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を区別して観測が可能になる。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 SIF 観測を行い、樹冠レベルへの適用可能性を実証した。

3. 研究の方法

(1) 実験室における蛍光スペクトル計測

実験室 (暗室) において 35W の LED 光源を利用し、試料としてダイズ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。光源のピークは 550 nm にあり、700 nm より長波長域の強度は比較的小さい (点線)。さらにシアンフィルターとホットミラーを通過させて 620 nm より長波長域をカットした (赤線)。740 nm 付近のピークは蛍光スペクトル (緑線) であり、植物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. 2 に、ツゲを用いて観測された LED 励起による蛍光画像と反射光画像を示す。Fig. 2 (a) は口径 200 mm の天体望遠鏡を用い、距離 10 m から中心波長 550 nm、透過幅 10 nm の干渉フィルター (F550) により積分時間 200 ms で撮影した反射光画像であり、葉の向きの影

響が大きくなっている。一方、Fig. 2 (b) は干渉フィルター (F740) を用いて積分時間 500 ms で撮影した蛍光画像である。

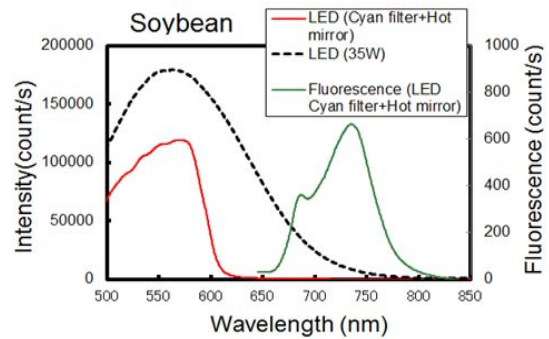


Fig. 1 Spectra of LED, LED with cyan filter, and halogen lamp.

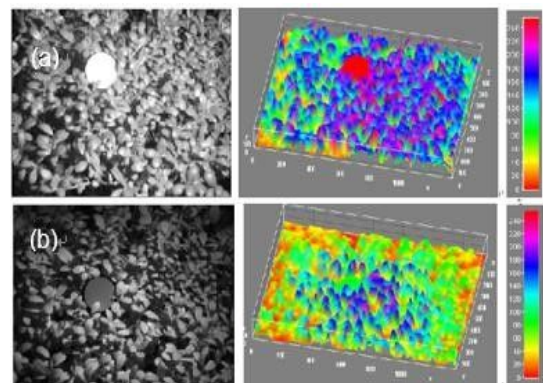


Fig. 2 Reflection and fluorescence images.

(2) リモートセンシング計測システム

数 10 m 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では、微弱な蛍光を集光して計測する必要がある。Fig. 3 のように、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) を使用するシステムを構築した。太陽スペクトル暗線 (solar blind、O<sub>2</sub> 線: 759 ~ 762 nm) 域を利用するため、冷却式 CCD カメラ (BITRAN, BU51LN) に中心波長 760.68 nm、透過幅が 1 nm の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。

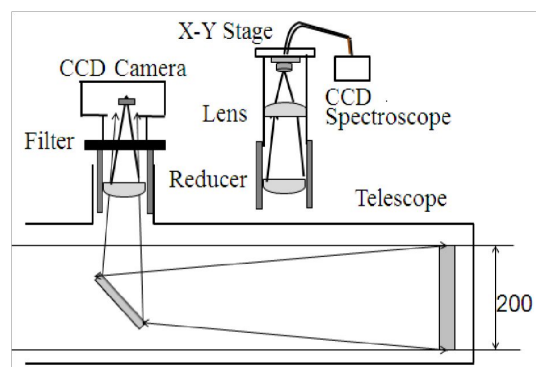


Fig. 3 Stand-off fluorescence detection system CCD Camera and (b) CCD Spectrometer.

#### 4. 研究成果

##### (1) イネのスタンドオフ蛍光計測

2015年8月4~7日、京都大学農学研究科作物学研究室(白岩研究室)の圃場において、イネを対象として15~30m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760nm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<sup>3)</sup>では次の式(1)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。

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

ここで、 $\lambda_{in}$ 、 $\lambda_{out}$ はそれぞれ酸素Aバンドの吸収強度が最大となる波長(760.68nm)およびAバンドのすぐ外側の波長(758.5nm)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反射光スペクトルを示す。

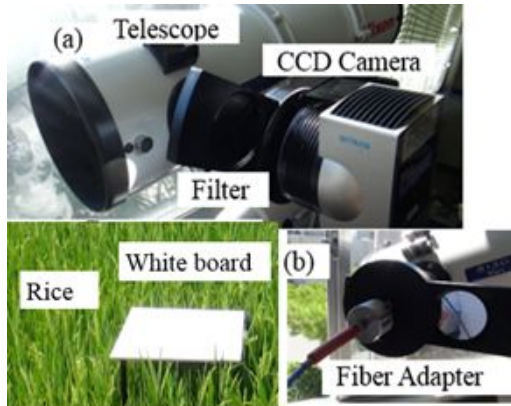


Fig. 4 Outdoor stand-off measurement of rice field

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759.5nmのスペクトル強度を読み取る(Fig. 6)。

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は狭帯域の干渉フィルター(F760)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分 $F$ 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当りの強度値が同じ傾向が見られた。

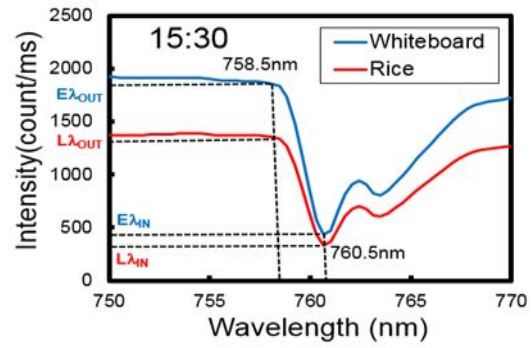


Fig. 5 Detection with a CCD spectrometer (15:30 on Aug. 5, 2015).

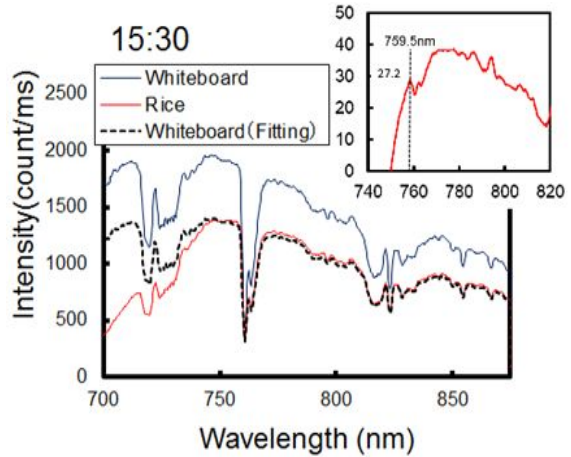


Fig. 6 Proposed Method (Spectral fitting)

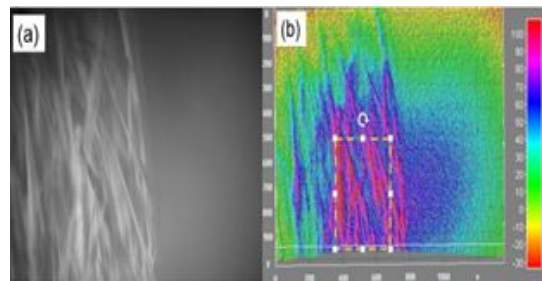


Fig. 7 Rice field imagery: (a) bitmap image and (b) fluorescence intensity calculated with the spectral fitting approach.

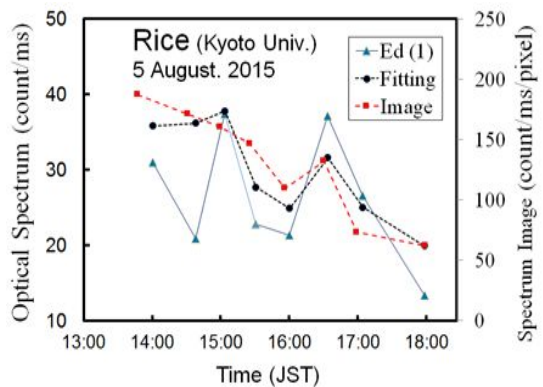


Fig. 8 Temporal changes in fluorescence intensity measured near the oxygen A-band with three different approaches.



(2) 森林（コナラ）のスタンドオフ蛍光計測  
2015年9月9~12日、10月5~7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において、直達太陽光励起による蛍光計測を行った。高さ30mのCO<sub>2</sub>観測タワーに口径95mm天体望遠鏡を設置し、数10mの距離にある樹木（コナラやアラカシ）を測定した。

Fig. 9 (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. 9 (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。

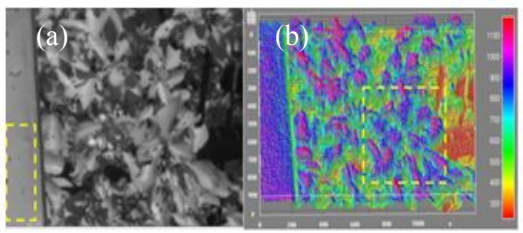


Fig.9 Chlorophyll fluorescence spectrum image

蛍光強度と太陽光の光合成有効放射量 (PAR)の日変化を比較した。Fig. 10 に示すように、太陽光の日変化で PAR が下がるのに伴って、蛍光強度も下がっていく。Fig. 11 は、光合成測定器 (Li6400) で測定した光合成速度 (Photo) と蛍光強度 (F) を比較したグラフである。CO<sub>2</sub> 濃度に関する光合成速度は、

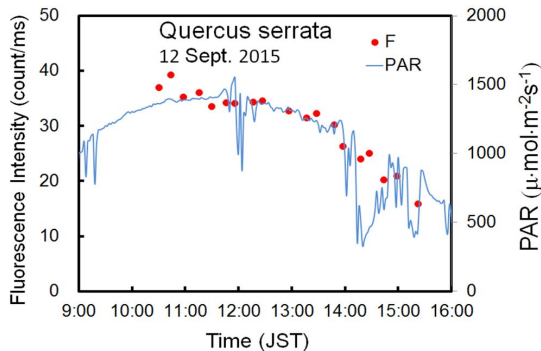


Fig. 10 The decrease of SRIF intensity was observed with the decrease in PAR

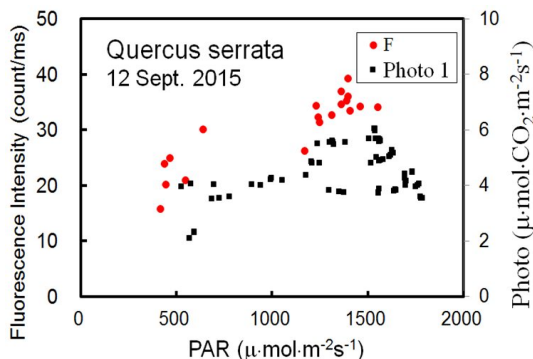


Fig. 11 Comparison between photosynthetic rate and intensity of fluorescence

PAR がある強度以上になるとほぼ一定になっていくが、蛍光強度は、PARの上昇するのにもなって高くなっていく。

### (3) ダイズのスタンドオフ蛍光計測

2016年8月30~9月2日、京都大学農学研究科作物学研究室（白岩研究室）のダイズ圃場において、15~30m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。ダイズの品種は、フクユタカなどである。Fig. 12 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. 12)。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。

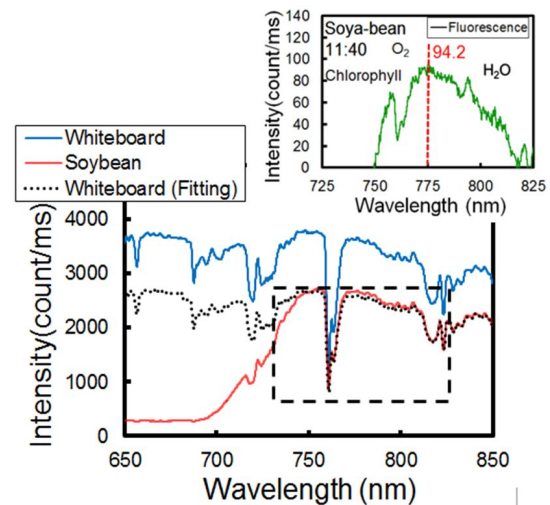


Fig. 12 Proposed method based on relative reflectance

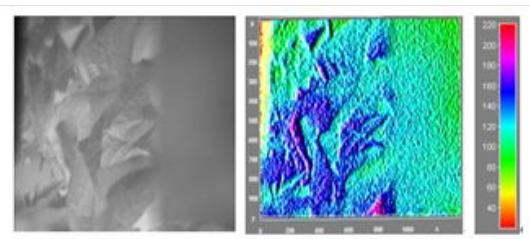


Fig. 13 Soyabean field imagery: (a) bitmap image (b) fluorescence intensity calculated by subtracting the reference spectra.

Fig. 13 に、ダイズの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 の狭帯域干渉フィルター(F760)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. 14 は、ダイズのクロロフィル蛍光強度の日変化のグラフである。赤線が分光器のスペクトルデータ、青線が CCD カメラの画像データ、点線が光合成有効放射量(PAR)であり、日変化によって PAR が下がっていくのに伴って蛍光強度も下がっていく傾向が見られる。

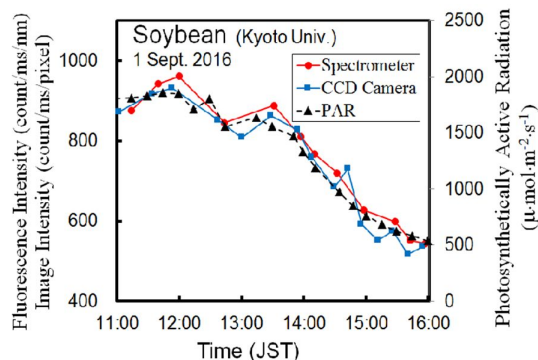


Fig.14 Temporal change of the SIF and PAR intensity

#### (4) 成果の位置づけと今後の展望

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粹の蛍光スペクトルを観測することが可能になった。

酸素 A バンドを利用した SIF 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<sup>3)</sup>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。

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 計測法を樹冠レベルでのストレス計測や  $\text{CO}_2$  吸収量の推定に生かすことが期待されている。

#### <引用文献>

- 1) L. Guanter *et al.*: Geophys. Res. Lett., 34, L08401, doi:10.1029/2007GL029289 (2007).
- 2) C. Frankenberg *et al.*: Geophys. Res. Lett., 38, L03801, doi:10.1029/2010GL045896 (2011).
- 3) M. Meroni *et al.*: Rem. Sens. Environ., 113, 2037-2051 (2009).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Kenji Masuda (Kuriyama), H. Saito, Y. Mabuchi, N. Manago, Hiroaki Kuze: Stand-off measurement of solar-radiation induced vegetation fluorescence using oxygen A-band, IGARSS IEEE International, 査読有, 2014, 2993-2996, DOI:10.1109/IGARSS.2014.6947106

〔学会発表〕(計 25 件)

1. Kenji Kuriyama, *et al.*: Stand-off measurement of solar induced fluorescence from vegetation canopies: application to field and forest, International Symposium on Remote Sensing (ISRS) 2017, 2017.5.17-19, 名古屋大学(愛知県名古屋市)
2. 栗山健二 他: 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, 第 64 回応用物理学会春季学術講演会, 2017.3.14-17 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
3. Kenji Kuriyama, *et al.*: Ground-based spectral measurements of chlorophyll fluorescence from vegetation canopies, The 7th Indonesia Japan Joint Scientific Symposium (IJSS) 2016, 2016.11.20-24, 千葉大学(千葉県千葉市)
4. 栗山健二 他: 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, 2016.11.1-2, 新潟テルサ(新潟県新潟市)
5. Kenji Kuriyama *et al.*: Spectral image measurement of chlorophyll fluorescence using the oxygen A band: application to rice field and forest, ISRS 2016, 2016.4.20-22, Korea Jeju.
6. Kenji Kuriyama *et al.*: Optical remote sensing of vegetation fluorescence on the canopy level under insolation, ISRS2015, 2015.4.22-24, Taiwan Tainan.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

栗山 健二 (Kuriyama, Kenji)  
静岡大学・技術部・技術職員  
研究者番号: 80555417

### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号:

### (3) 連携研究者

久世 宏明 (Kuze, Hiroaki)  
千葉大学・環境リモートセンシング研究センター・教授  
研究者番号: 00169997

### (4) 研究協力者

( )