

平成21年 5月31日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19780187

研究課題名（和文） テラヘルツ波イメージングを用いた植物生体情報計測

研究課題名（英文） Measurement of plant biological information with Terahertz-ray imaging

研究代表者

高山 弘太郎（TAKAYAMA KOTARO）

愛媛大学・農学部・講師

研究者番号：40380266

研究成果の概要：

テラヘルツ波は電波と光波の間に位置し、これまで植物生体情報計測にほとんど利用されてこなかった。本研究では、テラヘルツ波イメージング技術を用いて、植物体に付いた状態の生葉の環境応答に関連した生体情報の取得を試みた。結果として、葉齢および水ストレス状態のモニタリング、変動光環境下での気孔応答のモニタリング、植物ホルモン（ABA）による気孔閉鎖のモニタリングが可能であることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	0	2,400,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	300,000	3,700,000

研究分野：生物環境工学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：農業工学，植物応答，生体情報計測，植物診断

## 1. 研究開始当初の背景

高収量かつ高品質・高付加価値の農産物生産を実現するためには、植物の状態を的確に把握し、それに応じて適切に栽培環境を制御する必要がある。そのためには、第一に、植物の状態を正確に把握するための植物診断法を確立する必要がある。

SPA(Speaking Plant Approach)とは、モノ言わぬ植物の生体情報を、各種センサを用いて非破壊かつ非接触で取得し、それに基づいて植物を診断し、環境条件を植物の生育にとってより良い状態に制御する技術のことである。光合成と蒸散は、植物の生命活動にお

いて最も重要な機能であり、これらの機能のモニタリングはSPAにおいて最も重要な項目である。

光合成機能の非接触モニタリング技術として、クロロフィル蛍光計測法があげられる。クロロフィル蛍光とは、光合成の主色素であるクロロフィルaから直接発せられるピーク波長が683nm以上の赤色光である。クロロフィル蛍光は、葉に青色光を照射することで容易に励起され、ロングパスフィルタ（ $\lambda > 650\text{nm}$ など）を装着したCCDカメラを用いることで画像計測が可能となる。たとえば、光合成活性度（Fv/Fm）を画像計測することに

より光合成光化学反応における量子収率の葉面上での分布のモニタリングが可能である。ただし、光合成の基質である  $\text{CO}_2$  の葉内への取込みを律速している気孔の開度についての情報を得ることは困難である ( $\text{O}_2$  が 2%以下の嫌気条件を除く)。

気孔開度の非接触モニタリングには、放射温度計等を用いた葉温測定が有効である。環境条件をあらかじめ測定しておけば、熱収支式により蒸散速度のみならず気孔コンダクタンスの算出も可能である。さらに、サーモグラフィ等を用いて葉面における温度分布を画像計測することにより、葉面上での気孔開度 (気孔コンダクタンス) の分布のモニタリングが可能となる。しかし、植物葉は非常に薄いため、葉温は環境変化に敏感に応答して変化する。たとえば、明期条件下において、蒸散を行っている場合には、湿度の変化に敏感に応答して葉温が変化する。そのため、従来の葉温測定には、変動する環境条件下での気孔反応の解析が困難であるという弱点がある。

他方、新しい計測技術としてテラヘルツ波計測技術が注目されている。テラヘルツ波は電波と光波の間、すなわち周波数が  $0.1\text{THz} \sim 10\text{THz}$ 、波長に換算すると  $3000\ \mu\text{m} \sim 30\ \mu\text{m}$  の領域に位置し、従来未踏襲の領域とされてきたが、室温で動作する THz パルス波発生・検出素子が開発された結果、テラヘルツ時間領域分光法やそれを応用したイメージングなどの先端的計測技術が出現してきている。テラヘルツ波計測の特徴としては、①光に近い特性を持っており直進性が強い、②水や酸素により強い吸収を受ける、③ビームを鋭く絞れるため局所的な特性を評価できる等があげられる。

これらの特徴は、水分状態に応じて、葉のテラヘルツ波に対する透過性が変化することを意味しており、テラヘルツ波計測技術が植物生体情報計測手法として有望であることを示唆している。しかし、テラヘルツ波イメージングに関する国内外の研究は、光学的に不透明な物体内の内容物の非破壊検査 (封筒内の薬物検知など) や混合異種物質の識別 (癌細胞の検出など) といった視点のものが大半であり、生きた植物の生体情報計測に応用した事例は少ない。特に、変動環境下においてダイナミックに変化する光合成や蒸散などの植物生体情報をリアルタイムにモニタリングする試みはなされていない。

## 2. 研究の目的

テラヘルツ波イメージングに関する従来の研究では、変動環境下においてダイナミックに変化する光合成や蒸散などの植物生体情報をリアルタイムにモニタリングした例は無く、テラヘルツ波計測技術を用いること

で、どのような植物生体情報の取得が可能なのかについても明確にはなっていない。

本研究では、テラヘルツ波計測技術を用いて、植物体に付いた状態 (attached) の生葉のダイナミックな環境応答、特に気孔応答を計測する技術の確立を目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では、まず、(1) 葉齢が異なる植物葉の水分状態とテラヘルツ波透過量の関係の確認、(2) テラヘルツ波透過画像計測システムを用いた水ストレス診断を行い、テラヘルツ波計測により取得可能な植物生体情報についての基礎的な知見を得た上で、植物体に付いた状態の生葉の環境応答に関連した生体情報の取得を試みた。具体的には、(3) 変動する光環境条件下での気孔応答のモニタリング、(4) 植物ホルモン (ABA) 塗布処理に対する気孔応答のモニタリングを行った。

## 4. 研究成果

(1) 葉齢が異なる植物葉の水分状態とテラヘルツ波透過量の関係の確認

イチゴ (*Fragaria* × *ananassa*, 紅ほっぺ) の成熟葉 (葉厚: 約 2.1 cm) および老化葉 (葉厚: 約 2.6 cm) から、直径 3.1 cm の円形の葉片を各 1 枚ずつ切り出し、この葉片の脱水過程におけるテラヘルツ波透過量の変化をモニタリングした。テラヘルツ波透過量の測定には、東北大学大学院農学研究科テラヘルツ生物学寄附講座小川研究室 (小川雄一 准教授) のミリ波~テラヘルツ波帯域透過スペクトル測定システムを使用した (図 1)。



図 1 ミリ波~テラヘルツ波帯域透過スペクトル測定システム

図 2 に、脱水処理前 (葉片切離直後) および 16 時間の脱水処理 (気温  $15 \sim 20^\circ\text{C}$  の実験室内に静置) 後の成熟葉および老化葉の透過スペクトルを示す。16 時間の脱水処理により、成熟葉の含水量は  $19.1\ \text{mg cm}^{-2}$  から  $11.3\ \text{mg cm}^{-2}$  へ、老化葉の含水量は  $21.6\ \text{mg cm}^{-2}$  から  $13.5\ \text{mg cm}^{-2}$  に低下した。この脱水処理により、テラヘルツ波透過率が著しく上昇することが確認された。また、脱水処理前および 16 時間脱水処理後において、波数  $10\ \text{cm}^{-1}$  から

100 cm<sup>-1</sup>の幅広い帯域にわたり、老化葉の透過率が、成熟葉のそれを下回る傾向が認められた。このことは、成熟葉よりも老化葉の方が、単位葉面積あたりの含水量が多いことによると考えられる。

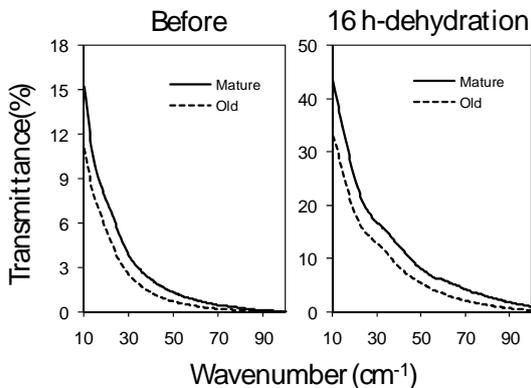


図2 脱水処理前後の成熟葉と老化葉の透過スペクトル

図3に、成熟葉(○および□)および老化葉(●および■)の脱水処理過程における単位体積あたりの含水量とテラヘルツ波透過率(波数: 30 cm<sup>-1</sup>および70 cm<sup>-1</sup>)の関係を示す。この結果は、特定の波数におけるテラヘルツ波透過率は、葉齢および葉厚とは無関係に、単位面積あたりの含水量によってのみ決まるということを示していた。

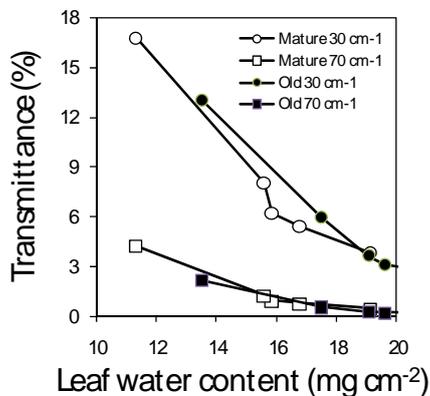


図3 脱水処理過程における葉の含水量とテラヘルツ波透過率の関係

(2)テラヘルツ波透過画像計測システムを用いた水ストレス診断

葉面における含水量の分布を、より高空間分解能で解析するために、テラヘルツ波長帯(0.95THz)の光源を使用した高空間分解能テラヘルツ波透過画像計測システム(図4)を用いて、葉面におけるテラヘルツ波透過量の分布を解析した。本システムは、テラヘルツ波(0.95THz)発生装置、トリガ発生装置、チョッパー、集光ミラー、集光レンズ、ボロメータ検知器、受信信号用アンプ、制御用PCから構成されている。なお、本測定に関して

も、東北大学大学院農学研究科テラヘルツ生物工学寄附講座 小川雄一 准教授に協力を頂いた。

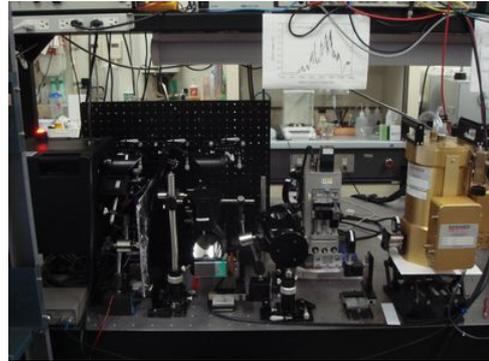


図4 高空間分解能テラヘルツ波透過画像計測システム

図5に、水ストレス処理前後の同一イチゴ葉のテラヘルツ波透過画像を示す。同一画像内にリファレンス領域を設け、この領域の輝度が同一となるように補正を行った。なお、水ストレスは、葉柄を空気中で切断し、その後、17時間実験室内に静置することにより付与した。水ストレス処理前の単位葉面積当たりの重量は23.6 mg cm<sup>-2</sup>であり、ストレス処理後の単位葉面積あたりの重量は15.6 mg cm<sup>-2</sup>であった。

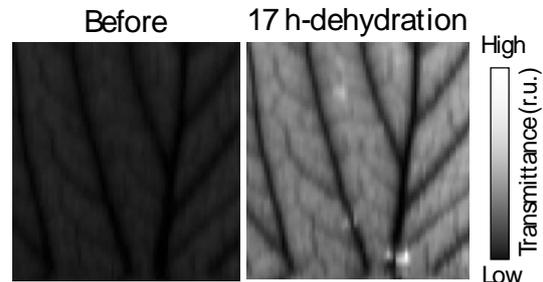


図5 水ストレス処理前後のイチゴ葉のテラヘルツ波透過画像

テラヘルツ波透過画像では、透過量が大きい(明るい)葉面領域ほど水分を含んでおらず、透過量が小さい(暗い)領域ほど水分を多く含んでいることを示している。水ストレス処理により、葉面の平均テラヘルツ透過量は3.9倍になっており、テラヘルツ波画像計測により水ストレス診断が可能であることが確認された。なお、水ストレス処理前後の両画像において、葉面上に枝分かれて伸びる領域は葉脈であり、この領域には、水ストレス処理後であっても多くの水分が含まれていることを示している。

図6に、切断処理による葉面におけるテラヘルツ透過量分布の変化の様子を示す。カッターを用いて、主葉脈を切断する方向に約3 cmにわたり切れ込みを入れた。この切れ込みは、切断処理から5時間経過後のテラヘルツ

透過量画像（図 6 右側）の中段付近に白色直線として確認される。なお、葉柄は画像の下方方向にあり、画像下方方向（基部）から上方方向（先端部）に向けて水が供給される。

切断処理前には均一であったテラヘルツ透過量が、切断処理から 5 時間経過後には、切断部よりも先端側の透過量が、基部側の透過量よりも高くなっていることがわかる。このことは、切断処理により、基部から先端部への水供給が妨げられていることを検知したものと考えられる。この結果は、テラヘルツ波計測技術により、葉面における不均一な水供給のモニタリングが可能であることを示唆している。

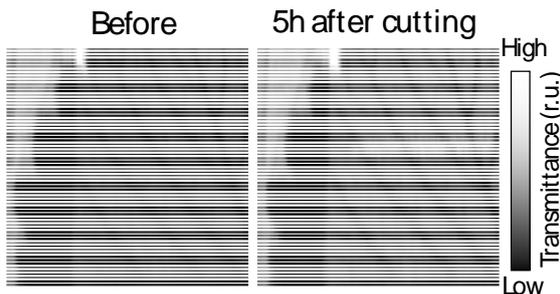


図6 切断処理による葉面におけるテラヘルツ波透過量分布の変化

同様の水ストレス処理を別のイチゴ葉に対して施し、その影響をクロロフィル蛍光画像計測により評価した。クロロフィル蛍光の画像計測には、研究代表者が製作した計測システムを使用し、光合成活性度 (Fv/Fm) 画像を計測した。その結果、水ストレス処理前後で大きな違いは認められなかった (Data not shown)。これは、水ストレス処理を実験室内で行ったこともあり、光合成反応系がほとんど影響を受けなかったためであると考えられる。

### (3) 変動する光環境条件下での気孔応答のモニタリング

テラヘルツ波 (94 GHz) 透過量を計測することで、光環境変化 (暗期条件から明期条件への移行) に対する気孔開度の変化 (気孔運動) のモニタリングが可能か否かについて検討した。

気孔開度の指標として葉温を計測した。葉温は、葉に入射するエネルギーと葉から外界へと放出されるエネルギーのバランスによって決定される。したがって、環境条件が一定の場合、葉温は蒸散速度によって変化する。具体的にいえば、蒸散速度が大きいと、葉からの潜熱伝達量が大きくなるため葉温は低くなり、逆に、蒸散速度が小さいと葉温は高くなる。なお、蒸散と葉温の関係に大きな影響を与える気温と湿度は、測定中一定となるように室内空調を手動で操作して制御した。

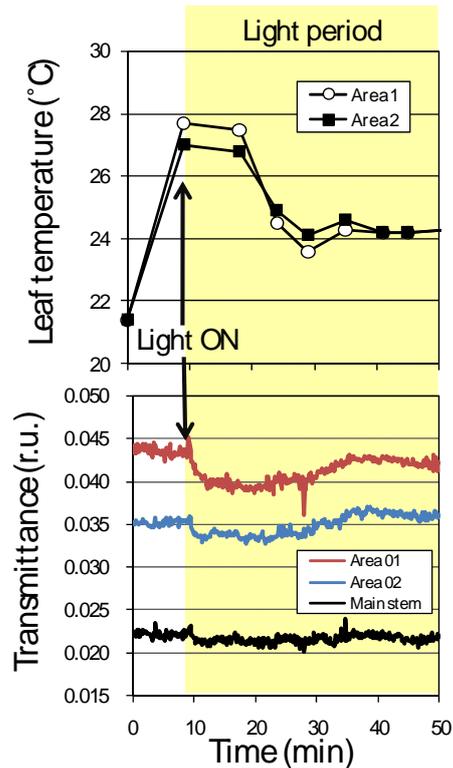


図7 光環境変化 (暗期条件→明期条件) による葉温およびテラヘルツ波透過量の変化

図 7 に、約 1 時間暗処理した葉に光照射を開始し、暗期条件から明期条件へ移行させたときの葉温 (上図) とテラヘルツ波透過量 (下図) の経時変化を示す。葉脈を含まない同一葉面上の異なる 2 点 (Area 1 および Area 2) を測定対象とした。なお、テラヘルツ波透過量に関しては、主葉脈 (Main stem) における透過量も同時に測定した。

葉温の経時変化 (図 7-上) に注目すると、光照射開始直後に急激な上昇がみられたが、光照射開始から 20~30 分経過すると、次第に低下し、その後はほぼ一定の値を維持していた。これは、暗期条件下で閉鎖していた気孔が、光照射開始から 20 分程度経過すると次第に開き始め、蒸散が活発に行われるようになることを示していた。

テラヘルツ波透過量の経時変化 (図 7-下) に注目すると、主葉脈の透過量 (黒線) は光環境変化に関係無く、ほぼ一定の値を維持していたが、Area 1 (赤線) および Area 2 (青線) の透過量は、光環境変化への応答が認められた。具体的には、光照射開始によりいったん低下した後、20 分後から 40 分後にかけて再び上昇していた。この変化は、葉温の変化に対応していた。この結果は、テラヘルツ波透過量を連続計測することにより、気孔開度の変化や、それによる葉内水分状態の微小な変化をモニタリングできる可能性を示唆していた。

#### (4)植物ホルモン (ABA) 塗布処理に対する気孔応答のモニタリング

アブシジン酸 (ABA) は気孔閉鎖を誘導する植物ホルモンである。ここでは、明期条件に置かれた葉面に ABA ( $10^{-3}M$ ) 溶液を塗布 (ABA 処理) して気孔閉鎖を誘導し、このときのテラヘルツ波透過量の経時変化を測定した。

図 8 に、ABA 処理後の葉温 (上図) とテラヘルツ波透過量 (下図) の経時変化を示す。葉脈を含まない同一葉面上の異なる 2 点を測定対象とし、一方に ABA 塗布処理を施して ABA 処理区 (ABA treated) とし、他方を対照区 (Control) とした。なお、テラヘルツ波透過量に関しては、主葉脈 (Main stem) における透過量も同時に測定した。

葉温の経時変化 (図 8-上) に注目すると、塗布した ABA 溶液が乾いた後 (25 分以降)、ABA 処理区の葉温が対照区よりも高くなっていった。これは、ABA 処理区の気孔開度が低下し、蒸散が滞ったためであると考えられる。

一方、テラヘルツ波透過量の経時変化 (図 8-下) に注目すると、35 分時点まで ABA 処理区と対照区に顕著な違いは認められなかったが、その後、ABA 処理区の透過量が高く維持される傾向が認められた。このとき、主葉脈の透過量も対照区と同様にわずかに低下する傾向を示していた。これらの結果は、ABA 処理区の透過量が長く維持されていたことが、気孔開度の低下等の影響を反映したものである可能性を支持するものである。

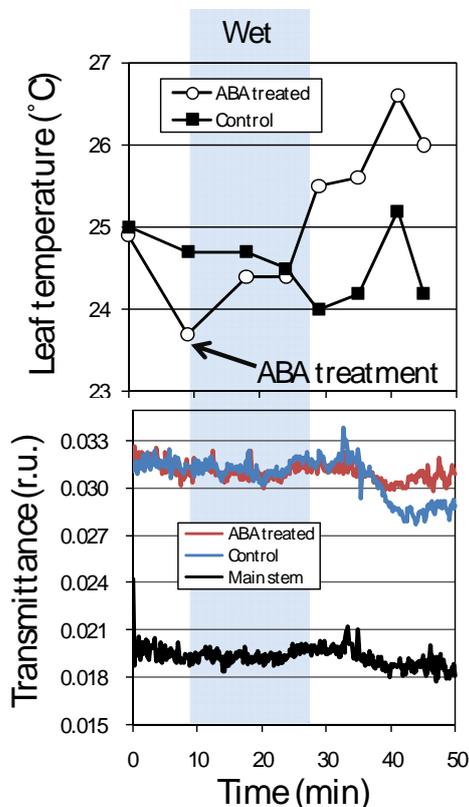


図 8 植物ホルモン(ABA)溶液塗布処理後のテラヘルツ波透過量の経時変化

#### (5)まとめ

本研究で確立を目指しているテラヘルツ波計測による気孔応答のモニタリングは、厳密な環境制御が不要であるという点で、極めて有効な植物生体計測手法になり得ると考えられる。テラヘルツ波計測値と各種植物生体情報の対応関係を正確に解析するために、より厳密に制御された環境条件下での高精度な実証試験が必要である。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

高山 弘太郎 (TAKAYAMA KOTARO)

愛媛大学・農学部・講師

研究者番号：40380266