

# 新農業環境工学

— 21世紀のパーспекティブ —

日本生物環境調節学会編



東京

株式会社

養賢堂発行

## クロロフィル蛍光計測による光合成機能診断

小西 充洋・大政 謙次

[Chl 蛍光誘導期現象, 飽和パルス法, 蛍光スペクトル, 蛍光画像, 非破壊計測]

クロロフィル (以下 Chl) 蛍光誘導期現象の計測: Chl 蛍光計測は, 1931 年の Chl 蛍光誘導期現象 (Kautsky effect) の発見以降, 非破壊・非接触の計測手法として, 光合成反応系の機能解析や診断に用いられてきた. Chl 蛍光誘導期現象とは, 暗処理された植物葉に一定強度の光を照射した際にみられる Chl 蛍光強度の経時的变化である. この変化は一般に O-I-D-P-S-M-T という過程をたどり, この曲線は Chl 蛍光誘導期曲線とよばれる. O-I は光化学系 II における初期電子受容体  $Q_A$  の還元, I-D は光化学系 I 等による  $Q_A$  の部分酸化, D-P は水からの電子の流れによる  $Q_A$  の還元, P-S-M-T はチラコイド膜をはさんだ pH 勾配の生成や炭酸固定反応の活性化などを反映しているとされる<sup>2)</sup>. したがって, Chl 蛍光誘導期曲線の解析により, 植物に対する様々な環境ストレスが光合成電子伝達のどの部分に影響しているかを診断できる. また, 最近では PPF (Photosynthetic Photon Flux) 約  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の強い光を照射した際に O-(K)-J-I-P という多相の増加過程がみられることが報告されている.

飽和パルスによる計測: Chl が吸収した光エネルギーは光合成に使われるほか, 熱や蛍光等として放散される.  $Q_A$  が完全に還元するのに十分な強度のパルス光 (約  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上,  $1 \sim 2 \text{ s}$ ) を照射すると, 光合成電子伝達経路は一過的に飽和するが, pH 勾配の生成や酵素活性に与える影響は非常に小さく, 熱放散活性は変化しない. この特性を利用して, 暗期条件下と明期条件下での蛍光計測を行うことにより, 蛍光収率変化 (クエンチング) を光化学的クエンチングと非光化学的クエンチングに分離できる. これを飽和パルス法とよぶ. この方法では, 光合成機能に関する有用なパラメータが数多く考案されており, 特に  $\Phi_{\text{PSII}}$  と NPQ は光合成機能診断に頻繁に用いられる. 暗期条件下での飽和パルス光照射時の蛍光収率を  $\Phi_{\text{Fm}}$ , 明期条件下での飽和パルス光照射時の蛍光収率を  $\Phi_{\text{Fm}'}$ , 明期光による蛍光収率を  $\Phi_{\text{F}}$  とすると,  $\Phi_{\text{PSII}} = (\Phi_{\text{Fm}'} - \Phi_{\text{F}}) / \Phi_{\text{Fm}'}$ ,  $\text{NPQ} = (\Phi_{\text{Fm}} - \Phi_{\text{Fm}'}) / \Phi_{\text{Fm}}$  と表される.  $\Phi_{\text{PSII}}$  は光合成電子伝達の量子収率を表し, 光合成速度 ( $\text{CO}_2$  吸収速度) と高い相関を示す. また, NPQ は熱放散活性の大きさに対応して変化する<sup>2)</sup>. さらに, 変調パルス光 ( $0.6 \sim 20 \text{ kHz}$ ,  $3 \mu\text{s}$ ) を用いて, 特定の周波数の蛍光のみを計測する方法がよく用いられる (PAM: Pulse Amplitude Modulation). こ

の方法では、計測のための変調パルス光強度を大きくしても PPF を小さくできるので ( $0.15 \sim 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、変調パルス光による蛍光クエンチングは無視できる。また、特定の周波数で計測された蛍光強度を太陽光の強度よりも大きくできる。このため、太陽光下での蛍光収率の計測と  $\Phi_{\text{PSII}}$  や NPQ などの蛍光パラメータの解析が可能である<sup>2)</sup>。さらに、暗期条件下での最小蛍光収率  $\Phi_{\text{F0}}$  を得ることもできる。

蛍光スペクトル計測：常温での Chl 蛍光は主に光化学系 II から発し、ピーク波長は約 685 nm および 730 nm である。また、植物葉の蛍光は Chl 蛍光以外に、主に細胞壁や液胞から発する 450 nm 付近にピークをもつ蛍光と、フラビン色素等から発する 520 nm 付近に肩をもつ蛍光がある。これらの蛍光計測の光源としてよく用いられるレーザは、距離による減衰が小さく、強度の大きい光を照射できるので、遠距離からの蛍光計測への利用が期待されている (LIF: Laser Induced Fluorescence)<sup>2)</sup>。また近年、分光蛍光光度計によって多数の励起波長に対する蛍光スペクトルが網羅的に調べられている<sup>1)</sup>。

蛍光画像計測：励起光源と CCD カメラを組み合わせたシステムにより、Chl 蛍光誘導期現象や飽和パルス蛍光 (蛍光パラメータ)、蛍光スペクトルなどの画像計測が行われている。蛍光画像計測では、スポットによる蛍光計測ではわからない葉面における不可視障害の分布や移行の様子を調べることができる<sup>1)</sup>。

#### 引用文献

- 1) Omasa, K. and K. Takayama, (2002) ed. Omasa, K., H. Saji, S. Youssefian and N. Kondo, 'Air Pollution and Plant Biotechnology': 287-305.
- 2) 高山弘太郎・大政謙次 (2003) 監修, 竹内 均, 「地球環境調査計測事典第一巻 陸域編」: 742-748.