

除草剤による植物の光合成機能障害の画像診断 —クロロフィル *a* 蛍光解析におけるインダクション法と 飽和パルス法の比較—

大政謙次・高山弘太郎・後藤英司

東京大学大学院農学生命科学研究科 113-8657, 文京区弥生 1-1-1

Image Diagnosis of Photosynthetic Injuries Induced by Herbicide in Plants —Comparison of the Induction Method with the Saturation Pulse Method for Chlorophyll *a* Fluorescence Analysis—

Kenji OMASA, Kotaro TAKAYAMA and Eiji GOTO

The University of Tokyo, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
Yayoi 1-1-1, Bunkyo, Tokyo 113-8657, Japan

Abstract

We have developed a new image analysis system, capable of quantitative analysis of two aspects of chlorophyll *a* fluorescence; i) the changes in intensity of chlorophyll fluorescence during dark-light transitions by the induction method, and ii) the chlorophyll fluorescence quenching by the saturation pulse method. With this system we analyzed the effects of an herbicide on the photosynthetic activity of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. Furthermore, stomatal conductance and assimilation rate were measured with a diffusion porometer.

Results showed that the photosynthetic injuries caused by the herbicide were detected by both fluorescence measurement methods. These injuries were also detected with the porometer as a decrease in stomatal conductance and assimilation rate. Information obtained by the induction method was effective for determining the site in the electron transport system which was damaged by the herbicide. The saturation pulse method could analyze the photosynthetic injuries more quantitatively than the induction method. However, the saturation pulse method required an evenly distributed high level of photosynthetic active radiation (PAR), which makes it difficult to apply to a large leaf area. In contrast, the induction method did not require such a high level of PAR for measurements, and was easier to use for a large leaf area. Consequently, simultaneous use of the saturation pulse method and the induction method enables detailed diagnosis of injuries of the photosynthetic system.

Keywords : chlorophyll, diagnosis, herbicide, fluorescence, imaging

緒 言

近年の作物生産分野における画像センシング技術の発達
はめざましいものがある¹⁻³⁾。実際、ポストハーベス

トの分野において、野菜や果実、穀物などの選別や加工
処理を自動化する目的で、新しい技術が開発され、広く
実用化されている^{2,3)}。また、非破壊・非接触で生体情
報を取得できる画像センシング技術の特徴を生かし、生
体画像情報を用いた植物障害診断を行う試みもなされて
いる⁴⁻⁷⁾。その例として、反射スペクトル画像計測によ
る植物の生長や可視害の診断⁴⁻⁶⁾、熱赤外画像計測によ

2000年 5月15日受付

2000年 11月27日受理

る気孔反応, 蒸散, その他のガス交換機能の診断^{1,4,6,7)}, クロロフィル蛍光画像計測による水ストレス障害⁸⁾, 低温障害⁹⁾, 紫外線障害⁹⁾, 大気汚染物質障害^{9,10)}などの診断があげられる。特に, クロロフィル蛍光画像計測は, 光合成反応中心から発せられる蛍光を計測するもので, 光合成反応の直接的な診断が可能であることから, 植物の不可視(生理機能)障害の画像診断技術として注目されている。

光合成機能の診断を目的としたクロロフィル蛍光画像計測の方法としては, 暗処理後に光照射をした時のクロロフィル *a* 蛍光の経時変化(インダクション現象)を解析する, インダクション法によるものが *Omasa et al.*¹⁰⁾ によって 1987 年に初めて開発された。その後, 明期条件下での光合成活性を定量的に評価することができる飽和パルス法が *Daley et al.*¹¹⁾ により, また, 野外で使用できるポータブル型のもの¹²⁾やレーザー励起(LIF; laser induced fluorescence)のもの¹³⁾も開発されるようになり, 植物障害の早期検知および植物不可視障害診断の方法としてさらに注目されるようになった。しかし, これまで, インダクション法と飽和パルス法の両方を同時に用いた光合成機能の画像診断は行われておらず, 二つの方法の特徴についても十分な知見が得られていない。

そこで, 本研究では, インダクション法と飽和パルス法を連続して行うクロロフィル蛍光画像計測システムを開発し, 除草剤による光合成機能障害の診断を例に, 二つの方法の特徴を明らかにするとともに, 双方の利点を生かした診断法について検討した。

材料および方法

1. 実験材料

除草剤として, 日常的に雑草駆除に使用されているネコソギエース(レインボー薬品, 成分: イソウロン(3-(5-ターシャリーブチル-3-イソオキサゾリル)-1, 1-ジメチル尿素)1.0%, DCBN(2, 6-ジクロロチオペンザミド)3.0%, DCMU(3-(3, 4-ジクロロフェニル)-1, 1-ジメチル尿素)6.0%, 鋳物質微粉等 90.0%)を使用した。本除草剤は, 通常雑草周辺の地面に直接散布して使用する。ネコソギエースに含まれる有効成分の生理的阻害作用は, ①イソウロン: 植物の根, 茎葉から吸収され, 光合成阻害により枯死, ②DCBN: 根や茎の生長点の細胞分裂阻害により枯死, ③DCMU: 生育期の茎葉に蒸散流にのって移行し, 光合成電子伝達系阻害により枯死である^{14,15)}。

植物材料として, インゲンマメ(*Phaseolus vulgaris* L.

cv. Shinedogawa, サカタ種苗)を用いた。インゲンマメは, 室温 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 日長 10 時間(光源は蛍光ランプを使用し, 葉面における光合成有効光量子束密度(以下 PPF)は $300 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)の人工光温室においてハイポネックス(ハイポネックス ジャパン)を 1000 倍に希釈した溶液を用いて水耕栽培した。発芽後 4~5 週間育てた後, 第 6 葉を葉柄から切断し, 約 60 分間葉柄を水に浸してならした後, 実験に用いた。なお, 葉柄の切断は水中で行い, 葉柄を常に水に浸した状態に保った。光合成蒸散ポロメーター(PP Systems CIRAS-1, PLC 標準キューベット)を用いて測定した, ならし処理後の気孔コンダクタンスおよび光合成速度の変化率は $\pm 5\%$ 以下であったため切断による影響は無視できた。

除草剤の投与は, 明期条件下でインゲンマメの葉柄をネコソギエース 1000 倍希釈液に浸し, 葉柄および葉脈を伝って蒸散流により葉内に除草剤が浸入するようにして行った。

2. クロロフィル蛍光画像計測システム

Fig. 1 にクロロフィル蛍光画像計測システムの概念図を示す。光源にはハロゲンランプ照射装置(Nicon Model PSM-11520)2 台を使用し, 一方を明期条件にするための励起光照射(PPFD $400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)用, もう一方を飽和パルス光照射(PPFD $4000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 照射時間は 2 秒間)用とした。飽和パルス光の強度は, 測定葉の光化学反応系を一時的に飽和させるのに十分な強度であった。両光源の制御は, 照射口に配置したシャッターをプログラムにより開閉して行

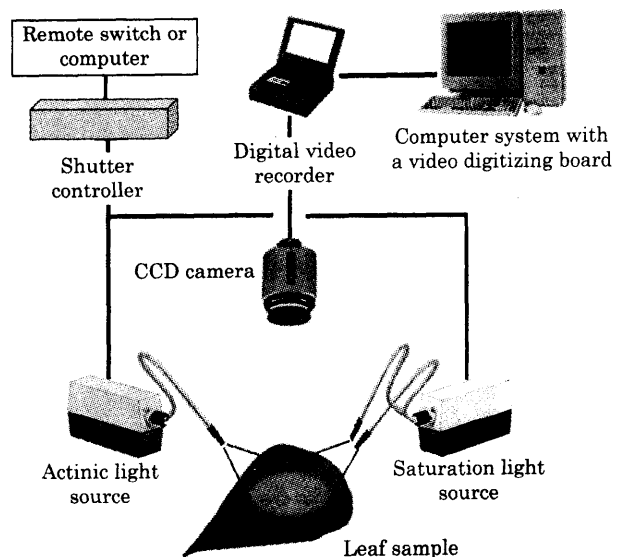


Fig. 1 Image instrumentation system for measuring chlorophyll *a* fluorescence

った。また、両光源の光照射口に、光学フィルター (Corning 4-96, 波長 $\lambda \leq 560$ nm と熱線カットフィルター) を装着し、測定葉面に照射される光を短波長光に限った。照射光は、光ファイバーにより測定葉面へ誘導され、画像撮影範囲 (1.0 cm \times 1.0 cm) に均一に照射されるようにした。

励起されたクロロフィル蛍光の撮影には、レンズ前面に光学フィルター (Corning 2-64, $\lambda \geq 665$ nm) とバンドパスフィルター (日本真空 W 型, 682.5 nm; 半値幅 10.5 nm; 最大透過率 47.5%) を装着した CCD カメラ (Sony FCB-IX 470) を用いた。CCD カメラの各設定は Gain: 3 dB, F: 1.4, Shutter: 1/60 (s), Night shot mode (カメラモジュールの赤外線カットフィルターを電氣的に off にし、赤外域を撮影可能にする機能): on, LED: off とした。CCD カメラが撮影した画像は、デジタルビデオレコーダー (Sony DSR-V 10, 以下 DV レコーダー) で連続的に録画した。DV レコーダーに記録した画像は、静止画キャプチャーボードを介してコンピュータに取り込み、白黒画像 (640 \times 480 pixels 8 bit 画像) に変換し、画質の改善のための補正処理を行った後、各種蛍光パラメーター画像およびクエンチングパラメーター画像の算出に用いた。

画質の改善のための処理に関して、CCD カメラおよび DV レコーダーにより撮影された画像 (原画像) は、

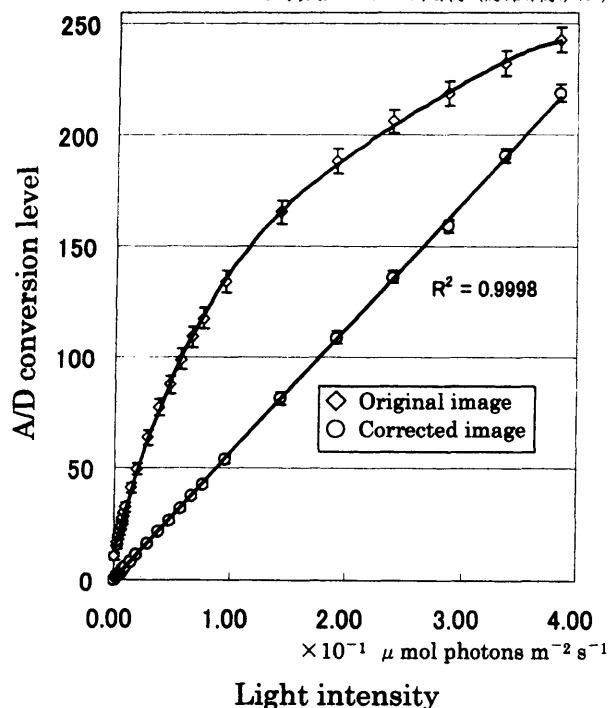


Fig. 2 Relationship between the intensity of fluorescence-like artificial light and the A/D conversion level of digital video image. The vertical bar indicates \pm SD.

ノイズ、シェーディング、 γ 特性等により、そのまま解析に用いることができないため、以下の補正処理を行った。ノイズについては、3 \times 3 pixels のメディアンフィルターにより除去した。また、シェーディングについては、定格強度の均一な人工蛍光を撮影して shading-master 画像を作成し、この shading-master 画像と原画像とのピクセル毎の比を求めることにより補正した。 γ 補正については、シェーディング補正で使用した shading-master 画像の A/D 変換平均値から γ 補正変換式を作成し、原画像の各ピクセルの輝度を補正した。

Fig. 2 に、原画像の A/D 変換値 (\diamond) および補正処理画像の A/D 変換値 (\circ) と人工蛍光強度との関係を示す。図において、補正処理により A/D 変換値と蛍光強度が一次直線的な関係に修正され、A/D 変換値と蛍光強度の相関係数が 0.999 以上、また、標準偏差の最大値が、原画像の 5.53 に対して、補正処理画像で 1.67 と改善された。

3. クロロフィル蛍光画像の計測および解析方法

本システムにおける照射光の経時変化、およびこれによって励起される蛍光強度の経時変化の概念図を Fig. 3 に示す。Fig. 3-A は蛍光強度の経時変化の模式図および蛍光画像の取得時点を示し、Fig. 3-B は照射光の経時変化を示す。Fig. 3-B において、SL は飽和パルス光照射、AL は励起光照射を示している。

測定葉を約 1 時間暗処理した後、暗期条件下にて飽和パルス光を照射し、照射中に F_m (①) 画像を取得した。その後、30 分間暗処理した後、励起光照射を開始し、明期条件にした。このとき、励起光照射開始から約 0.03 秒後に F_1 (②) 画像、約 0.2 秒後に F_D (③) 画像、約 1.0 秒後に F_P (④) 画像、約 2.0 秒後に F_S (⑤) 画像、約

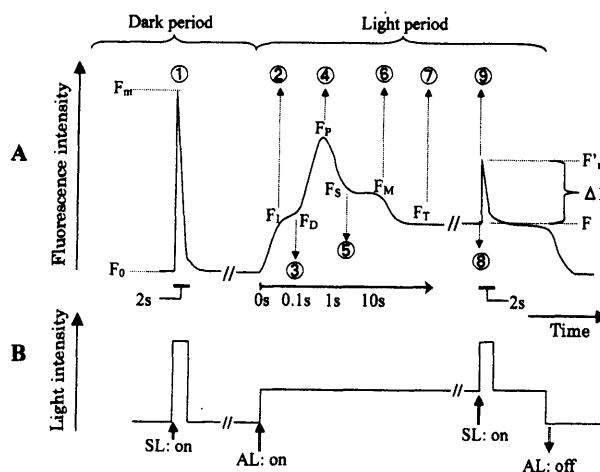


Fig. 3 Schematic diagram of chlorophyll fluorescence imaging measurement process.

8.0秒後に F_m (⑥: F_m (①)画像とは別)画像, 約5分後に F_T (⑦)画像を取得した。

F_1 画像~ F_T 画像(②~⑦画像)は, インダクション現象のO-I-D-P-S-M-T過程において, それぞれI, D, P, S, M, Tに対応しており, これらは光合成電子伝達系における特定の反応を表す画像である。インダクション現象において, O(F_0 画像: F_0 レベルの蛍光強度は微弱であり CCD カメラでの撮影は困難であるため, 本システムでは使用しない)~I(F_1 画像)は光化学系II (以下PS II)における初期電子受容体 Q_A の光還元, I(F_1 画像)~D(F_D 画像)は光化学系I (以下PS I)による Q_A の部分酸化, D(F_D 画像)~P(F_P 画像)はPS IIを介した水からの電子の流れによる Q_A の還元, P(F_P 画像)~S(F_S 画像)はPS Iの還元側の光活性化による Q_A の再酸化, さらにM(F_S 画像)~T(F_T 画像)はチラコイド膜を介した高エネルギー状態の生成を反映しているときされる¹⁶⁾。

その後, 明期条件を維持し, 蛍光強度が安定した後, 飽和パルス光を照射し, 照射直前に F (⑧)画像, 照射中に F'_m (⑨)画像を取得した。

F_m (①)画像, F (⑧)画像および F'_m (⑨)画像は, 飽和パルス法において各種クエンチングパラメーター画像を算出するのに用いる蛍光パラメーター画像である。 F_m 画像は暗期条件下において飽和パルス光を照射しPS II反応系のすべての電子受容体が還元された状態の蛍光強度, F 画像は明期条件下での定常蛍光強度, F'_m 画像は明期条件下において飽和パルス光を照射しPS II反応系のすべての電子受容体が還元された状態の蛍光強度を示している。これらの蛍光パラメーター画像を用いて, qP 画像, qN 画像, NPQ画像, Yield画像を算出する。

qP 画像は, PS IIにある酸化状態の Q_A の割合を示すクエンチングパラメーター画像であり, 以下の式によって求められる。

$$qP = \frac{(F'_m - F) / (F'_m - F'_0)}{(F'_m - F) / (F'_m - 0.2 \times F_m)} \quad (1)$$

ただし, F'_0 は, 暗期条件下において近赤外光を照射し, PS Iの光化学反応系を活性化し, 光化学反応系内の電子受容体を完全に酸化した状態での蛍光強度であり, $F'_0 = 0.2 \times F_m$ とおいた¹¹⁾。

qN 画像は, 葉緑体内のチラコイド内外のpH勾配形成, クロロフィル等の光合成色素が吸収した光エネルギーの熱エネルギーとしての発散, チラコイド膜エネルギーの増加を示すクエンチングパラメーター画像であり, 以下の式によって求められる¹⁷⁻¹⁹⁾。

$$qN = 1 - \frac{(F'_m - F'_0) / (F_m - F_0)}{(F_m - F'_m) / (0.8 \times F_m)} \quad (2)$$

ここで, $F_0 = F'_0 = 0.2 \times F_m$ とおいた¹¹⁾。

NPQ画像²⁰⁾は qN 画像とほぼ同義であるが, qN 画像に比べて熱エネルギーとしての発散の影響を大きく示すとされており, 以下の式により求められる。

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m \quad (3)$$

Yield(effective quantum yield)画像は, CO_2 固定率と相関がある蛍光パラメーターであり, 以下の式により求められる²²⁾。

$$Yield = (F'_m - F) / F'_m = \Delta F / F'_m \quad (4)$$

以上の各パラメーターはKooten and Snel²¹⁾に準拠し, 適宜これを改変したものをを用いた。

4. 光合成蒸散ポロメーターによる除草剤の影響の測定

除草剤がインゲンマメ葉の光合成に及ぼす影響を調べるために, 光合成蒸散ポロメーターを用いて, 気孔コンダクタンスおよび光合成速度の測定を行った。測定は, 成熟したインゲンマメ葉6枚に対して行った。葉面の一部(2.5 cm²)をリーフキュベットではさみ, 気孔コンダクタンスおよび光合成速度が安定した後, 約5分間の平均値をそれぞれ求めた。この測定をネコソギエース処理開始前, 処理20分経過後および処理60分経過後に行った。

結果および考察

1. インダクション法による解析

インダクション法により得られた蛍光画像をFig. 4に示す。Fig. 4-Aは植物本体から切断した直後の健康葉, Fig. 4-Bは健康葉の葉柄を明期条件下で, 約20分間ネコソギエース1000倍希釈液に浸したものである(以下, 障害葉)。Fig. 4に示した両者の可視画像からは, 障害を検知できなかったが, 蛍光画像では葉脈周辺にその影響が認められた。

Fig. 5は, 健康葉(○)および障害葉の健康部位(□)と障害部位(△)のインダクション曲線の典型的な例である。ここで, 各値はそれぞれの代表的な部位(5×5 pixels)の平均値である。また, 図中のI~TはそれぞれFig. 4の F_1 画像~ F_T 画像に対応している。健康葉と障害葉の健康部位では, P-S-M過程におけるクエンチングが, 自然光下で育成した正常葉のそれ¹⁰⁾と比較してやや小さい傾向はあったが, 典型的な蛍光誘導期現象がみられた。しかし, 障害部位ではこのような誘導期現象は認められなかった。なお, 健康葉においてP-S-M過程における

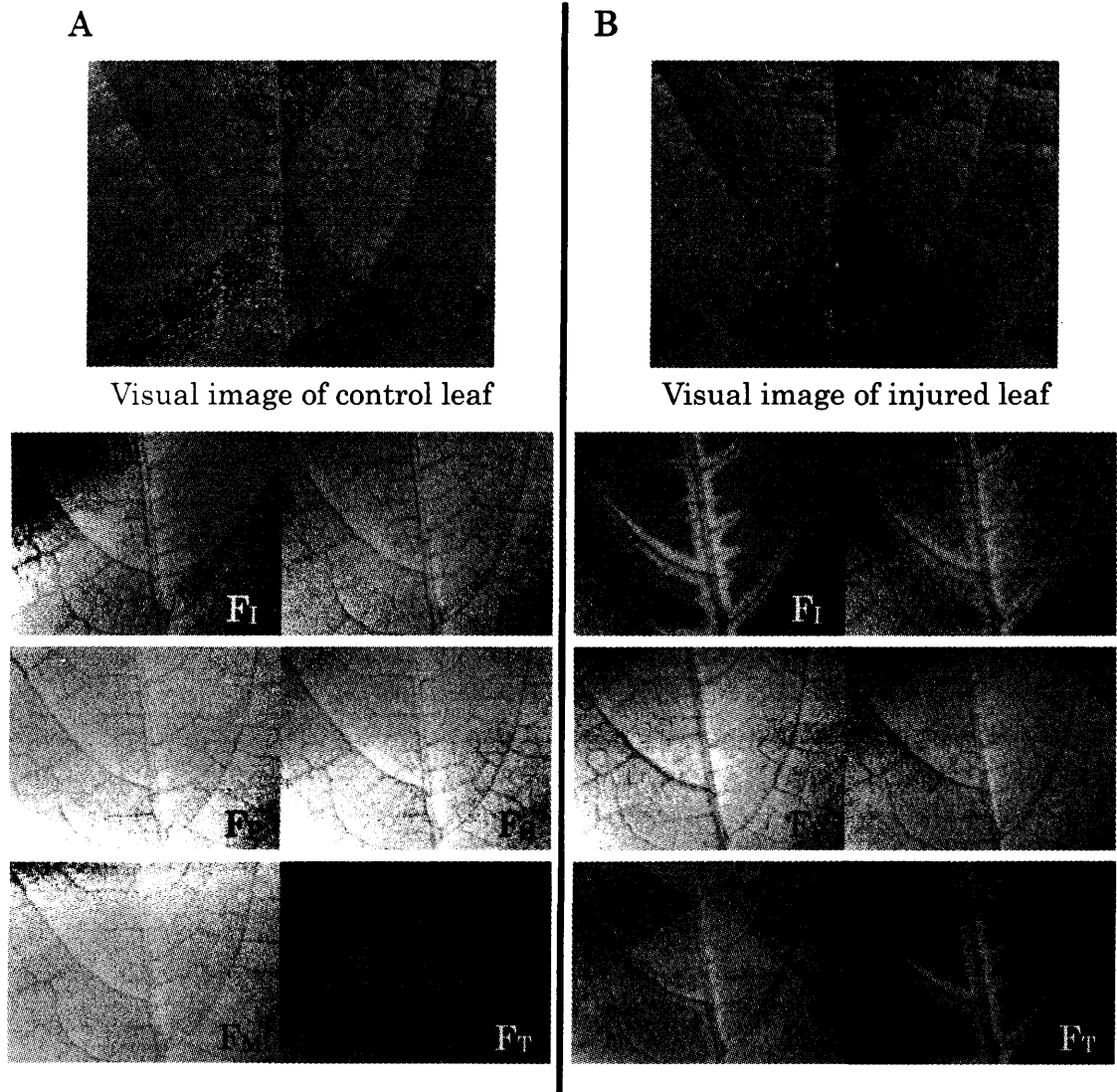


Fig. 4 Chlorophyll fluorescence images obtained by the induction method. A: control leaf, B injured leaf. F_1 - F_T images correspond with ②-⑦ in Fig. 3.

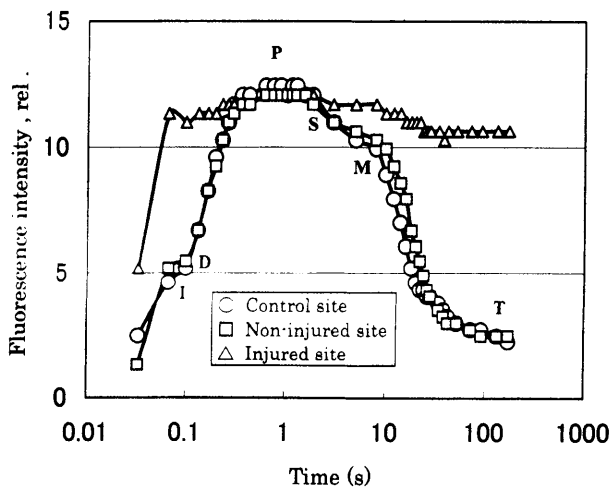


Fig. 5 Chlorophyll fluorescence induction curves of the control leaf and the injured leaf. Characteristic transient levels (I, D, P, S, M, T) correspond with F_1 - F_T images in Fig. 4.

クエンチングが小さい理由は明確ではないが、インゲンマメ育成環境(人工光下育成, 光強度, 昼夜温制御等)によるものではないかと考えられる。

Fig. 4 と Fig. 5 から, ネコソギエースの影響を詳細にみる. Fig. 4 の F_1 画像および F_D 画像において, 蒸散流によりネコソギエースが葉脈伝いに浸入し障害を引き起こすことが示された. また, Fig. 5 において障害部位の I-D 過程が消滅し, 蛍光強度が P レベルに直接移行していた. これは, 障害部位において PS II から PS I の間の電子伝達が阻害されていることを示す典型的なインダクション曲線であった²³⁾. つまり, 障害部位では, ネコソギエースの尿素系成分(イソウロンおよび DCMU)によって PS II から PS I の間の電子伝達が阻害され²⁴⁾, O~I(F_1 画像)における初期電子受容体 Q_A の光還元以降 Q_A の酸化がほとんど行われないうこと, さらに I(F_1

画像)~D(F_D 画像)における PS I による Q_A の部分酸化もほとんど行われていないことを示している¹⁶⁾。

続く F_P 画像では、健康部位での Q_A の多くが一時的に還元された状態となり、クロロフィルが吸収した光エネルギーの大部分がクロロフィル蛍光として放出されるため、健康部位と障害部位の蛍光強度の差がなくなり、障害が認識できなくなった。その後、明期定常状態に近づくにつれ、徐々に障害を検知できるようになった(F_S 画像~ F_T 画像)。これは、健康部位では連続的な励起光照射により、チラコイド膜を介した高エネルギー状態が生成されるにつれて蛍光強度が徐々に減少するが^{16,23)}、これに対して障害部位では光合成電子伝達系の阻害により、チラコイド膜を介した高エネルギー状態が生成されず蛍光強度が高い状態のまま保たれたためである²³⁾。Fig. 5 において、障害部位のクロロフィル蛍光強度が、健康部位の S-M-T の時刻になっても P レベルからほとんど変化していないことから同様のことがいえる。

2. 飽和パルス法による解析

Fig. 6 に、飽和パルス法により得られた蛍光パラメーター画像(F_m 画像, F 画像, F'_m 画像), およびこれらの画像から算出したクエンチングパラメーター画像(qP 画像, qN 画像, NPQ 画像, Yield 画像)を示す。Fig. 6-A は健康葉, Fig. 6-B は障害葉の画像である。

蛍光パラメーター画像に関して、 F_m 画像以外の全画像で障害を検知することができた。 F_m 画像において障害を検知できなかったのは、暗期中の飽和パルス光照射によって健康部位および障害部位の Q_A がすべて還元された状態となり、吸収した光エネルギーのほとんどを蛍光として放出するので、健康部位と障害部位が同じ蛍光強度になったためである^{23,25)}。

F 画像は、Fig. 4 の F_T 画像とほぼ同義の画像である。F 画像において、健康部位では植物葉が明期に適応し、 Q_A の酸化による光化学的クエンチングやチラコイド内外の pH 勾配形成、吸収した光エネルギーの熱エネルギーとしての発散、チラコイド膜エネルギーの増加による非光化学的クエンチングのために蛍光強度が低くなっているが、障害部位では非光化学的クエンチングがみられず、蛍光強度が高い状態に保たれていた^{23,25)}。

F'_m 画像において、健康部位では非光化学的クエンチングにより、飽和パルス光照射中にもかかわらず蛍光強度が低く、障害部位では非光化学的クエンチングが形成されず、吸収した光エネルギーの大部分を蛍光として放出するため蛍光強度が高い状態になった^{23,25)}。

クエンチングパラメーター画像に関して、qP 画像および Yield 画像では障害をあまり検知できなかった。こ

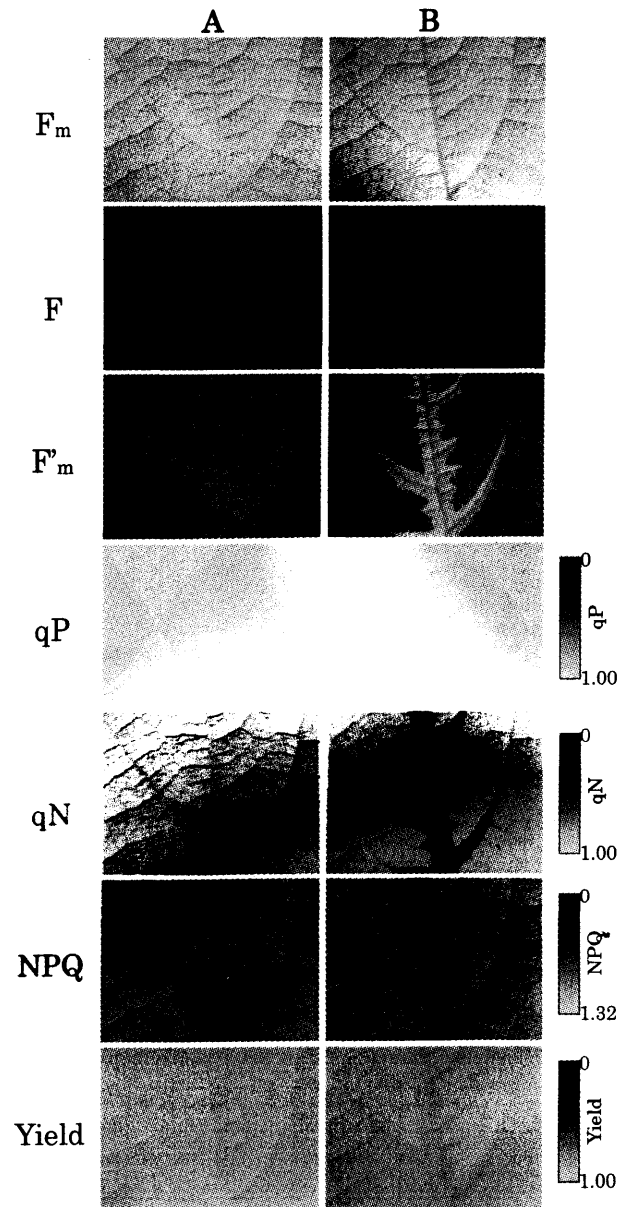


Fig. 6 Chlorophyll fluorescence images (F_m , F and F'_m images correspond with ①, ⑧ and ⑨ in Fig. 3) and calculated quenching parameter images (qP, qN, NPQ and Yield) obtained by the saturation pulse method. A: control leaf, B: injured leaf. Bars indicate the calculated values, respectively.

れは、算出に用いた蛍光パラメーターである F と F'_m が障害部位で互いに变化しているからである。これに対し、qN 画像および NPQ 画像では、障害を明確に検知することができた。これらの画像は、障害部位における非光化学的クエンチングの不形成を定量的に示していた^{12,20)}。

3. インダクション法と飽和パルス法の比較

インダクション法では、葉脈周辺部における光合成電

子伝達系の阻害を検知することができた²³⁾。さらに、障害部位と健康部位のインダクション曲線(特にI-D-P過程)を比較することによって、光合成電子伝達系のなかの障害部位がPS IIとPS Iの間にあることがわかった。この情報は、葉脈周辺部の障害が、主にネコソギエースの尿素系成分(イソウロンやDCMU)によって引き起こされたものであると診断するのに有効であった^{23,24)}。また、インダクション法を用いて除草剤による光合成機能障害の画像診断を行った例はなかったが、本研究によって、飽和パルス法¹²⁾と同様にインダクション法でも蒸散流による葉脈に沿った障害の進行を検知できることが示された。

一方、飽和パルス法では、インダクション法で可能であったPS IIからPS Iの間にある電子伝達阻害部位の特定まではできなかった。しかし、飽和パルス法には、飽和パルス光を照射し、PS IIのすべての電子受容体を光還元したときの最大蛍光強度(暗期条件下では F_m 、明期条件下では F'_m)を基準として、これらの最大蛍光強度と明期定常状態での蛍光強度(F)との相互比較や明期・暗期それぞれの最大蛍光強度同士の相互比較により、明期定常状態での光合成反応を定量的に評価することができるパラメーターが多く開発されているという特徴がある。このため、qN画像およびNPQ画像において、葉面における光合成機能障害の程度を定量的に評価することができた。また、この診断結果は $(1-qN)^{26,27)}$ が光合成の阻害程度と相関を示すという報告¹¹⁾を支持するものであった。しかし、 CO_2 固定率と相関があるとされるYield画像^{22,25)}の計測結果は、条件によっては CO_2 固定率の低下を検出しにくいことがあることを示しており、市販のPAM(パルス振幅変調)蛍光測定装置を用いてYieldを指標とした光合成機能診断を行う場合などに注意を要することを示していた。

以上から、クロロフィル蛍光画像計測による植物の光合成機能障害の画像診断では、光合成電子伝達系のなかの障害部位を特定することができるインダクション法と、

障害程度を定量的に評価することができる飽和パルス法を併用した診断法が有効である。

4. 光合成蒸散ポロメーターによる測定結果

ネコソギエースがインゲンマメ葉の光合成に及ぼす影響を確認するために、ネコソギエース処理開始前、処理20分経過後および処理60分経過後の気孔コンダクタンスと光合成速度を測定した結果をTable.1に示す。

処理20分経過後には、処理開始前と比較して気孔コンダクタンスの平均値で約47%、光合成速度の平均値で約55%の低下がみられた。処理60分経過後には、障害部位が葉面の95%以上となり、気孔は閉じて光合成もほとんど行われていない状態であった。処理20分経過後の気孔コンダクタンスおよび光合成速度の標準誤差が処理開始前および処理60分経過後と比較して大きいが、これは障害部位が葉脈に沿って分布しているため、測定個所(リーフキュベットによって選択される個所)によって健康部位と障害部位の含まれる割合が一定ではなかったことによると考えられる。なお、約60分間のネコソギエース処理において、可視障害は検知されなかった。

光合成蒸散ポロメーターによる気孔コンダクタンスおよび光合成速度の測定結果は、除草剤の浸入によるインゲンマメ葉の光合成活性の低下を検知していた。この結果はインダクション法と飽和パルス法による解析を支持するものであった。

おわりに

本研究で開発したクロロフィル蛍光画像計測システムにおいて、ネコソギエースによる不可視障害はインダクション法および飽和パルス法のどちらでも検知可能なものであった。インダクション法では、PS IIとPS Iの間に光合成電子伝達系の障害部位があることを特定でき、葉脈周辺部の障害が主にネコソギエースの尿素系成分によって引き起こされたものであると診断することができ

Table 1 Changes in stomatal conductance and assimilation rate after the commencement of herbicide feeding. The values are means of 6 leaves \pm SE. There was no visible injury during 60 minutes.

	Time after the commencement of herbicide feeding		
	0 min	20 min	60 min
Stomatal conductance ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	174.3 \pm 16.6	91.7 \pm 21.1	31.0 \pm 3.1
Assimilation rate ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$)	12.8 \pm 0.2	5.7 \pm 1.1	0.9 \pm 0.2

た。また、飽和パルス法では qN 画像や NPQ 画像において、葉面における光合成機能障害の進行程度を定量的に評価することができた。これによって、両計測法の併用による診断が有効であることが示された。

さらに、飽和パルス法は、その測定に強光(飽和パルス光)の測定対象面への均一な照射が必要なため、広い範囲の計測は困難であるが、インダクション法は、測定に必要な光強度が飽和パルス法の 1/10 程度ですむため、比較的広い範囲の葉面の計測が可能である。この点からも、クロロフィル蛍光画像計測による植物の光合成機能障害の診断において、両計測法の併用は有効であろう。

引用文献

- 1) 橋本 康：バイオシステムにおける計測・情報科学，養賢堂，pp.1-265(1990)
- 2) 石川 豊：ポストハーベストにおける画像計測の応用，計測自動制御学会誌 計測と制御 2, 37: 91-94(1998)
- 3) 岡野利明，星 岳彦，竹内利信，中西美一，大政謙次，坂上 修，山田眞裕，加茂幹男：農業における新しい情報化技術，農業電化協会，pp.1-215(2000)
- 4) 大政謙次：画像計測とリモートセンシング，大政謙次，近藤矩朗，井上頼直編：植物の計測と診断，朝倉書店，pp.155-193(1988)
- 5) 大政謙次：植物生産における生体画像情報の利用，岡野利明，星 岳彦，竹内利信，中西美一，大政謙次，坂上 修，山田眞裕，加茂幹男：農業における新しい情報化技術，農業電化協会，pp.73-92(2000)
- 6) Omasa, K. and Aiga, I.: Environmental measurement: Image instrumentation for evaluating pollution effects on plants, Pergamon Press, pp. 1516-1522(1987)
- 7) Omasa, K.: Image instrumentation methods of plant analysis, In: Linskens, HF. and Jackson, JF.(Eds.), Modern Methods of Plant Analysis, 11, Springer-Verlag, pp. 203-243(1990)
- 8) Omasa, K., Maruyama, S., Matthews, M. A. and Boyer, J. S.: Image diagnosis of photosynthesis in water-deficit plants, IFAC Workshop Series, 1991 No1, pp. 383-388(1991)
- 9) Omasa, K. and Shimazaki, K.: Image analysis of chlorophyll fluorescence in leaves, In: Hashimoto, Y., Kramer, P. J., Nonami, H. and Strain, B. R.(Eds.), Measurement Techniques in Plant Science, Academic Press, pp. 387-401(1990)
- 10) Omasa, K., Shimazaki, K., Aiga, I., Larcher, W. and Onoe, M.: Image analysis of chlorophyll fluorescence transients for diagnosing the photosynthetic system of attached leaves, Plant Physiol, 84: 748-752(1987)
- 11) Daley, P. F., Raschke, K., Ball, J. T. and Berry, J. A.: Topography of photosynthetic activity of leaves obtained from video images of chlorophyll fluorescence, Plant Physiol, 90: 1233-1238(1989)
- 12) Osmond, C. B., Daley, P. F., Badger, M. R. and Lüttge, U.: Chlorophyll fluorescence quenching during photosynthetic induction in leaves of *Abutilon striatum* dicks. Infected with abutilon mosaic virus, observed with a field-portable imaging system, Bot. Acta, 111: 390-397(1998)
- 13) Omasa, K.: Image instrumentation of chlorophyll *a* fluorescence, SPIE, 3382: 91-99(1998)
- 14) 本田 博，赤塚尹巳，佐藤仁彦，近内誠登：新農業学概論，朝倉書店，pp.1-194(1993)
- 15) 香月繁孝，数賀山靖，後藤宋玄：農業便覧・第8版，農山漁村文化協会，pp.1-1108(1995)
- 16) 島崎研一郎：クロロフィル蛍光の測定法，大政謙次，近藤矩朗，井上頼直編：植物の計測と診断，朝倉書店，pp.73-77(1988)
- 17) Schreiber, U.: Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer, Photosyn. Res., 9: 261-272(1986)
- 18) Schreiber, U., Schliwa, U. and Bilger, W.: Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer, Photosyn. Res., 10: 51-62(1986)
- 19) Bilger, W. and Schreiber, U.: Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves, Photosyn. Res., 10: 303-308(1986)
- 20) Bilger, W. and Björkman, O.: Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*, Photosyn. Res., 25: 173-185(1990)
- 21) Kooten, O. V. and Snel, J. F. H.: The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology, Photosyn. Res., 25: 147-150(1990)
- 22) Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R.: The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, Biochim. Biophys. Acta, 990, 87-92(1989)
- 23) Govindjee: Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll *a* fluorescence, Aust. J. Plant Physiol, 22: 131-160(1995)
- 24) 竹松哲夫：除草剤研究総覧，博友社，pp.1-721(1982)
- 25) Genty, B. and Meyer, S.: Quantitative mapping of leaf photosynthesis using chlorophyll fluorescence imaging, Aust. J. Plant Physiol, 22: 277-

- 284(1995)
- 26) Horton, P. and Hague, A. : Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching, *Biochim. Biophys. Acta*, 932 : 107-115(1988)
- 27) Weis, E. and Berry, J. A. : Quantum efficiency of photosystem II in relation to "energy"-dependent quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochim. Biophys. Acta*, 894 : 198-208 (1987)