

植物診断のための画像計測法に関する研究

大政 謙次

目次

第1章 緒論

- 1.1 本研究の背景
- 1.2 本研究に関連する従来の研究の概要
- 1.3 本研究の目的と内容

参考文献

第2章 植物葉の熱赤外画像計測

- 2.1 緒言
- 2.2 熱赤外画像計測システム
- 2.3 葉温の画像計測
- 2.4 葉温に含まれる生体情報の推定モデル
- 2.5 蒸散および気孔拡散抵抗の画像計測
- 2.6 汚染ガス吸収の画像計測
- 2.7 結言

参考文献

第3章 気孔の非破壊顕微画像計測

3.1 緒言

3.2 顕微画像計測システム

3.3 気孔開閉運動の連続観察

3.4 気孔開度の測定のための画像処理

3.5 結言

参考文献

第4章 葉面可視害のスペクトル画像計測

4.1 緒言

4.2 スペクトル画像計測システム

4.3 スペクトロラジオアナライザー

4.4 壊死状可視害の画像計測

4.5 水滲状可視害の画像計測

4.6 結言

参考文献

第5章 汚染ガス影響の診断への応用

5.1 緒言

5.2 汚染ガスに対する気孔反応の評価への応用

5.3 可視害発現のメカニズムの解明への応用

5.4 結言

参考文献

第6章 結論

謝辞

付録

A. 植物実験用環境制御装置の概要と特性

B. 環境制御装置を用いた植物のガス吸収速度の測定法

参考文献

第1章 緒論

1.1 本研究の背景

生物を研究対象とする分野では、生体からいかに多くの情報を得るかが学問の出発点になっている。古くから、各々の目的に応じて固有の技術が開発されてきたが、最近のエレクトロニクスの進歩は、得られる情報量を飛躍的に増大させた。特に、生体の二次元あるいは三次元の情報に非破壊で得ることを目的とした画像計測技術の発達には目覚ましいものがある(1-3)。医学の分野では、患者の診断のために表層像、顕微鏡像、X線像、RI像、超音波像などを対象とした計測技術が実用化されており、また、計算トモグラフィ(CT)の技術の発達に伴って、単に形態学的情報だけでなく機能的生理学的情報をもつ断層像も得られるようになってきた(1-3)。

植物を対象とした画像情報は、人工衛星や航空機からの広域リモートセンシングによって得られることが多い(4-6)。そして、得られたマルチスペクトル画像は、農作物の作付面積の調査や収量予測、さらに、植生や生態系の変遷などを調べるのに利用されている。最近、ランドサットにも農業や植生調査への利用を特に考慮した波長帯と約30mの解像度を有するTM (Thematic Mapper)が搭載されるようになり、この分野での利用の拡大が期待されている(7)。しかし、広域リモートセンシングにより得られる情報は、大規模な植物群落を対象としたものであり得られる生体情報には限界がある。

一方、植物個体あるいは小規模な群落を対象とした画像計測技術は、医学の場合と同様、より多くの生体情報を得ることを目的としており、生理学や生理生態学といった基礎研究の分野で生体反応のメカニズムを解明するのに役立つ(3,6,8-10)。そして、農学や環境科学などの応用分野において、これらの基礎研究で得られた知見に基づく画像計測技術を植物の生育状態や病虫害、生理障害、環境

汚染害などの診断に利用することが期待されている。しかし、このような植物個体あるいは小規模な群落を対象とした生育・生理反応の画像計測およびその処理手法の開発は、現在、その緒についたところで、植物生体から非破壊、非接触でいかに多くの生理情報を得るか、また、形状、繁茂状態、その他生育の特徴量を計測・評価する手法の開発研究の段階であるといえる。

1.2 本研究に関連する従来の研究の概要

最近、植物個体あるいは小規模な群落を対象として、生育・生理反応に関する情報を得ることを目的とした画像計測法に関する報告がいくつかみられるようになってきた。

植物の生長は、組織の細胞分裂と伸長により生じるが、その速度は、器官、部位により異なり、各生育ステージで変化する。Erickson and Silk (11)は、葉の各部位での生長速度と方向を計算機に連結したデジタル化装置で測定し、葉柄に近い部位の方が先端部よりも生長率が大きいこと、生長がほぼ等方性であることなどを報告している。Matsui and Eguchi (12)は、植物群落の生長状態の評価に、TVカメラを用いた画像計測技術を応用している。これは、植物葉の反射が $0.8 \sim 1.2\mu\text{m}$ の波長域で大きいことを利用して、湿った土など比較的この領域の反射の小さい場所で栽培している植物群落を簡単な二値化処理によって背景から抽出し、群落の葉面積、生体重、乾物量、草丈などを推定したものである。また、Gordon et al. (13)は、TVカメラを用いた実生の観察システムを開発し、その生長計測を行なっている。Onoe et al. (14)は、可搬型の X線CTを開発し、立木の年輪、すなわち材の生長計測に適用している。この方法は、立木の水分状態を調べるのにも有効である。

葉温は、光合成や呼吸などの生理反応を支配する主要な要因の一つであるが(15)、生体の水収支や物質輸送とも関連し生体情報として重要である(16,17)。

葉温分布は、物体の表面温度を得るために開発されたサーモグラフィを用いて計測される(18,19)。最近、橋本ら(8,20)は、医用の分野に先がけてサーモグラフィと計算機を接続した熱赤外画像計測システムを導入し、葉温画像のカラー表示と、葉温分布と気孔開度との関係を検討した。しかし、これらの研究は、葉温計測の域に止まり、気孔開閉運動や葉と大気とのあいだのガス交換量のような生体情報を映像化するには至っていなかった。

気孔開閉運動を調べるには、葉温分布から推定する方法だけでなく、生育している環境での植物の気孔を直接かつ連続的に観察することが必要である。しかし、従来の気孔の観察は、シリコンラバーなどにより気孔のレプリカを取り検鏡する方法(21)や走査型電子顕微鏡で観察する方法(22,23)により行なわれている。また、光学顕微鏡により直接観察する方法もあるが、生育環境下での高倍率の観察は困難で、通常、葉片を水や液体パラフィンに浸して検鏡するのが一般的である(24,25)。一方、気孔開度の測定は、観察者が定規で行なうのが一般的である。しかし、この方法は、気孔の輪郭を決めるのに経験と知識を必要とし、測定者によりばらつきが生じる。そして、輪郭が不鮮明な場合には、その誤差が増大する。そこで、デジタル画像処理により、輪郭が不鮮明な場合にも適用できる客観的な気孔開度の測定法が望まれていた。なお、植物の細胞の画像処理に関する研究は少なく Mineyuki et al.(26)の原子体の細胞器官の動きの解析と Telewski et al.(27)の実生の細胞の解析に適用した例がみられる程度である。

広域リモートセンシングの分野では、植生の活力度を評価するのにマルチスペクトル画像がよく用いられる(4,5)。また、TVカメラを用いた画像計測により植物群落の活力度を評価した報告もある(28)。しかし、これらの方法により得られた活力度は植物色素の含有量に関係すると考えられるが、その定義は曖昧である。そこで、植物色素と関連づけた評価法が必要とされるが、野外では、光条件や群落構造などが複雑に関係するので高い精度で群落の含有色素量を推定するのは現在のところ困難である。一方、野外調査や施設での実験において、含有色素量や可視害の程度を評価することがしばしば必要となる。しかし、現状では、これら

の評価は経験と知識に基づく観察によるのが一般的である(29)。そこで、客観的で、かつ大量のサンプル処理が可能な自動評価法の開発が必要とされている。

1.3 本研究の目的と内容

本研究は、前節で述べたような植物を研究対象とする分野の現状を踏まえ、植物診断に必要な気孔反応、蒸散、ガス吸収、可視害などの生体情報を得るための画像計測技術の開発を目的として行なわれた。

各章の構成は、第2章で葉温、気孔拡散抵抗、蒸散速度、ガス吸収速度などの生体情報の葉面分布を推定するための植物葉の熱赤外画像計測技術について述べる。また、第3章で植物が生育している環境での気孔開閉運動を連続的に観察し、その開度を求めるための顕微画像計測、第4章で、壊死状可視害および水滲の評価のためのスペクトル画像計測について述べる。第5章では、第4章までに述べた画像計測法を植物の汚染ガス影響の診断やメカニズムの解明に適用する。第6章では、本論文を要約し、結論を論述する。なお、付録として、本研究において使用した植物実験用環境制御装置の概要とこの装置を用いて植物のガス吸収速度を測定するための方法について述べる。

参考文献

1. Onoe, M., K. Preston Jr. and A. Rosenfeld (ed.) (1981) Real-Time Parallel Computing Image Analysis. Plenum Press, New York
2. 尾上守夫 (編) (1982) 医用画像処理 朝倉
3. 丹羽 登 (編) (1983) ライフサイエンスを測る オーム社
4. Reeves, R. (ed.) (1975) Manual of Remote Sensing. Vol. I and II. American Society of Photogrammetry, Virginia.
5. キャノンイメージ編集室 (編) (1975) Remote Sensing. 泰流社
6. 大政謙次 (1984) リモートセンシング 新農業システム総合技術 (高辻ら編) p.459-483 R&D プランニング
7. Salomonson, V.V. (1979) 地球観測衛星ランドサットD システム概要 宇宙開発事業団地球観測センター
8. 橋本 康・丹羽 登 (1978) 植物葉面情報の画像処理 画像工学コンファレンス論文集 9:51-54
9. 大政謙次・相賀一郎 (1981) 画像処理による植物の生育・生理反応の評価 遺伝 35(1):25-31
10. Omasa, K. and I. Aiga (1985) Image instrumentation for evaluating

the effects of environmental pollution on plants. In Encyclopedia of Systems and Control. (Ed. by M. Singh) Pergamon Press, Oxford (in press)

11. Erickson, R.O. and W.K. Silk (1980) The kinematics of plant growth. Sci. American 242(5):102-113
12. Matsui, T. and H. Eguchi (1978) Image processing of plants for evaluation of growth in relation to environment control. Acta Horticulturae 87:283-290
13. Gordon, D.C., I.R. Macdonald, J.W. Hart and A. Berg.(1984) Image analysis of geo-induced inhibition, compression, and promotion of growth in an inverted Helianthus annuus L. seedling. Plant Physiol. 76:589-594
14. Onoe, M., J.W. Tsao, H. Yamada, H. Nakamura, J. Kogure, H. Kawamura and M. Yoshimatsu (1983) Computed tomography for measuring annual rings of a live tree. Proc. IEEE. 71:907-908
15. Berry, J. and O. Björkman (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol.. 31:491-543
16. Raschke, K. (1960) Heat transfer between the plant and the environment. Ann Rev. Plant Physiol. 11:111-126

17. Monteith, J.L. (1973) Principles of Environmental Physics.
Edward Arnold, London
18. Schurer, K. (1975) Thermography in agricultural engineering.
Bibl. Radiol. 6:249-254
19. Horler, D.N.H., J. Barber and A.R. Barringer (1980) Effects of
cadmium and copper treatments and water stress on the thermal
emission from peas (Pisum sativum L.) : Controlled environment
experiments. Remote Sens. Environ. 10:191-199
20. Hashimoto, Y., T. Ino, P.J. Kramer, A.W. Naylor and B.R. Strain
(1984) Dynamic analysis of water stress of sunflower leaves by
means of a thermal image processing system. Plant Physiol.
76:266-269
21. Meidner, H. and T.A. Mansfield (1968) Physiology of Stomata. p.26-
48 McGraw-Hill. London
22. Turner, N.C. and G.H. Heichel (1977) Stomatal development and
seasonal changes in diffusive resistance of primary and regrowth
foliage of red oak (Quercus rubra L.) and red maple (Acer rubrum
L.). New Phytol. 78:71-81
23. Shiraishi, M., Y. Hashimoto and S. Kuraishi(1978) Cyclic variations
of stomatal aperture observed under the scanning electron micro-
scope. Plant Cell Physiol. 19:637-645

24. Stålfelt, M.G. (1959) The effect of carbon dioxide on hydroactive closure of the stomatal cells. *Physiol. Plant.* 12:691-705
25. Meidner, H. (1981) Measurements of stomatal aperture and responses to stimuli. In *Stomatal Physiology*. (Ed. by P.G. Jarvis and T.A. Mansfield) p.25-49, Cambridge University Press, Cambridge
26. Mineyuki, Y., M. Yamada, M. Takagi, M. Wada and M. Furuya (1983) A digital image processing technique for the analysis of particle movements: Its application to organelle movements during mitosis in Adiantum protonemata. *Plant Cell Physiol.* 24:225-234
27. Telewski, F.W., A.H. Wakefield and M.J. Jaffe (1983) Computer-assisted image analysis of tissues of Ethrel-treated Pinus taeda seedlings. *Plant Physiol.* 72:177-181
28. Eguchi, H., M. Hamakoga and T. Matsui (1979) Computer control of plant growth by image processing. *Environ. Control Biol.* 17:67-77
29. Chester, K.S. (1959) How sick is the plant? In *Plant Pathology* Vol.1 (Ed. by J.G. Horsfall and A.E. Dimond) p.99-142 Academic Press, New York

第2章 植物葉の熱赤外画像計測 (1-6)

2.1 緒言

植物の葉温は、光合成や呼吸などの生理反応を支配する主要な要因の一つであるが(7)、生体の水収支や物質輸送とも関連し、生体情報として重要である(8, 9)。Schurer(10)や Horler et al. (11)は、物体の表面温度を計測するために開発されたサーモグラフィを用いて葉温分布を計測し、葉温が葉の部位により異なることを示した。最近、橋本ら(12,13)は、走査型赤外線カメラと計算機を接続した熱赤外画像計測システムを導入し、葉温画像のカラー表示と、葉温分布と気孔開度との関係を検討した。しかし、これらの研究は、葉温計測の域に止まり、気孔反応や葉と大気とのあいだのガス交換量のような生体情報を映像化するには至っていなかった。そこで、これらの生体情報を葉温から推定し、映像化する手法について検討した。

2.2 熱赤外画像計測システム

熱赤外画像計測システムのブロック線図をFig.2.1に、概観をFig.2.2に示す。ここで用いた赤外線カメラは、対物面走査方式で、検出素子は、HgCdTe(8～13 μ m, 液体窒素冷却)である。赤外線カメラからの検出信号は、ビデオプロセッサで12ビット(256^H × 240^V, 量子化誤差 0.0125 $^{\circ}$ C)のデジタル信号に変換され、ノイズ処理を行なった後、ホスト計算機で解析される。なお、カメラから計算機への画像データの伝送は、計算機からの信号により制御される。また、処理結果は、ビデオプロセッサのディスプレイに表示される。

赤外線カメラの検出信号のノイズ処理は、積算平均化処理により行なった。た

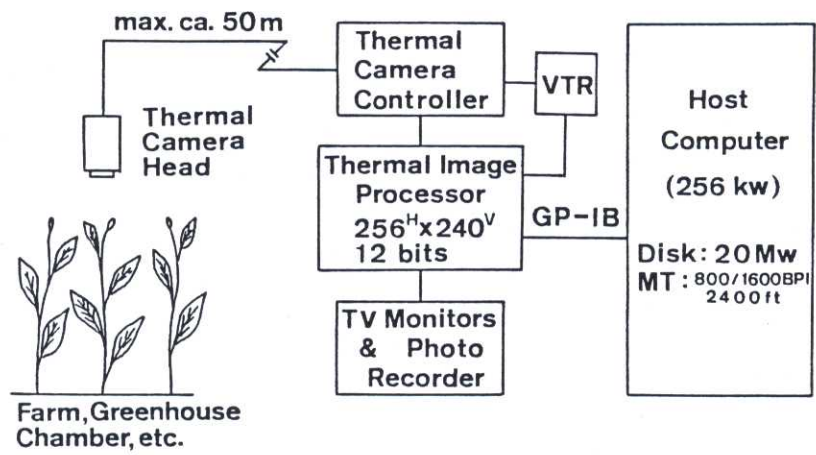


Fig.2.1 Block diagram of thermal image instrumentation system

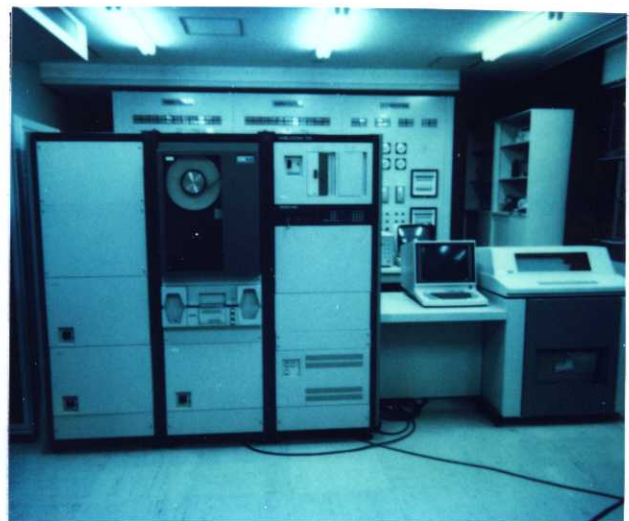


Fig.2.2 Photographs of the system

例えば、16回積算平均化処理の場合、常温の黒体の計測において、温度分解能、画像の均一性、ドリフトは、それぞれ、 0.05°C 、 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、 $\pm 0.05^{\circ}\text{C}/4\text{hr}$ であった。また、画像分解能は、黒体炉の表面を約 5°C 温度の異なる種々のスリットで覆って黒体炉とスリットの温度差を計測した結果、最も分解能が悪い格子状の温度分布の場合、計測誤差を 4% (0.2°C) 以内に納めようとする、1画面の画像の有効な画素数は $50^{\text{H}} \times 40^{\text{V}}$ 程度であった。(Fig.2.3)

2.3 葉温の画像計測

1) 測定原理と精度

葉面における赤外線分光放射強度 $R(\lambda, T)$ は、葉面が不透明であると仮定すると、葉面の熱放射と周囲環境からの放射の葉面反射との和で与えられる。

$$R(\lambda, T) = \varepsilon(\lambda, T) W(\lambda, T) + [1 - \varepsilon(\lambda, T)] E(\lambda, T_s) \quad (2.1)$$

ここで、 λ ; 波長、 $\varepsilon(\lambda, T)$; 温度 T の葉面の分光放射率、 $W(\lambda, T)$; 温度 T なる黒体の分光放射強度、 $E(\lambda, T_s)$; 温度 T_s なる周囲環境から葉面への分光放射強度。

有効波長域 $\lambda_1 \leq \lambda \leq \lambda_2$ なる赤外線検出器において、葉面からの放射強度 $R(\lambda, T)$ を計測すると、検出器の出力電圧 $V_T(T, T_s)$ は、次式で与えられる。

$$\begin{aligned} V_T(T, T_s) &= \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) R(\lambda, T) d\lambda \\ &\cong \bar{\varepsilon}(T) V_W(T) + [1 - \bar{\varepsilon}(T)] V_E(T_s) \end{aligned} \quad (2.2)$$

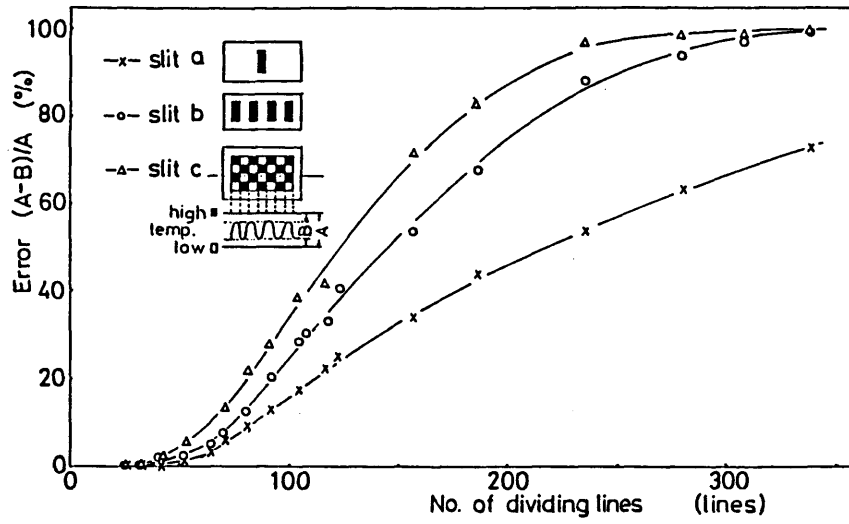


Fig.2.3 Relationships between image resolution and error in temperature measured with the system

ここで、 $f(\lambda)$; 赤外線カメラの検出器の放射-電気変換効率、内部増幅器の増幅率、気体、レンズ、フィルター等の透過および反射率等を考慮した係数、また平均放射率 $\bar{\epsilon}(T)$ 、および $V_w(T)$ 、 $V_E(T)$ は、次式で定義される。

$$\bar{\epsilon}(T) = \left[\int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \epsilon(\lambda, T) f(\lambda) W(\lambda, T) d\lambda \right] / \left[\int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) W(\lambda, T) d\lambda \right] \quad (2.3)$$

$$V_w(T) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) W(\lambda, T) d\lambda \quad (2.4)$$

$$V_E(T) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) E(\lambda, T_s) d\lambda \quad (2.5)$$

検出器の出力電圧 $V_T(T, T_s)$ は、装置で得られるので、平均放射率 $\bar{\epsilon}(T)$ および周囲環境からの放射強度に相当する電圧 $V_E(T)$ を前もって計測しておき設定してやれば、 $V_w(T)$ を得ることができる。

$$V_w(T) = \left[V_T(T, T_s) - V_E(T_s) \right] / \bar{\epsilon}(T) + V_E(T_s) \quad (2.6)$$

$V_w(T)$ は、温度 T なる黒体の放射を計測したときの検出器の出力電圧で定義されるので、黒体に対する校正曲線を求めておけば、 $V_w(T)$ から葉温 T を得ることができる。なお、 $f(\lambda)$ の特性の変化に対しては、基準黒体温度を常時モニターすることにより校正することができる。

実際に赤外線カメラにより植物温度を計測する場合、式(2.6)における平均放射率 $\bar{\epsilon}(T)$ および周囲環境からの放射強度に相当する電圧 $V_E(T)$ を知る必要がある。植物葉の平均放射率は、植物の種類や生育状態などにより若干異なるが、0.95~0.99の値が得られており、ほぼ1に近い(10, 14, 15)。植物が、群落をなししているような場合には、放射率の指向特性や多重反射の効果を考慮する必要がある。

るが、上記の値と同程度と考えるとよい。周囲環境からの放射の影響の程度は、式(2.1)によれば、放射率により変わるが、式(2.6)における電圧 $V_E(T)$ を環境からの放射強度に合わせて適切に調節することにより補正される。この操作により、植物温度を 0.1°C の精度で計測することが可能であった。

2) 計測例

植物温度は、先にも述べたように、熱環境要因や生理的要因により著しく変化する。また、植物の種類によっても異なる。Fig.2.4 に自然光型ファイトトロン温室内で、気温、湿度、風速などの環境要因が一定の条件下で生育しているハウレンソウの太陽光に面している葉と陰になっている葉の代表的な温度を示す。また、Fig.2.5 に、Fig.2.4 の矢印(↓)(A),(B)の時刻における葉温を画像計測した例を示す。太陽光に面している葉は温度が高く、陰になっている葉は温度が低い。日射量の変化に対応して葉温が急激に変化したが、その程度は、太陽光に面している葉の方が大きかった。Fig.2.5 の葉温画像によると、葉温の最高と最低で 5°C 以上の差がみられた。つぎに、同じ温室内で、種々の植物について計測した葉温画像から求めた最高葉温と気温との差をTable 2.1 に示す。日射量が一定であったにもかかわらず、植物が異なることにより約 7°C の差が認められた。これは、葉形の違いによる日射のあたる量、葉面境界層の違い、葉の気孔の構造や開度の違いなどが原因しているものと考えられる。このように、熱環境要因や生理的要因により変化する植物温度を計測するのに、赤外線カメラを用いた画像計測手法は極めて有効である。

2.4 葉温に含まれる生体情報の推定モデル

1) 植物葉の局所部位における物質輸送モデル

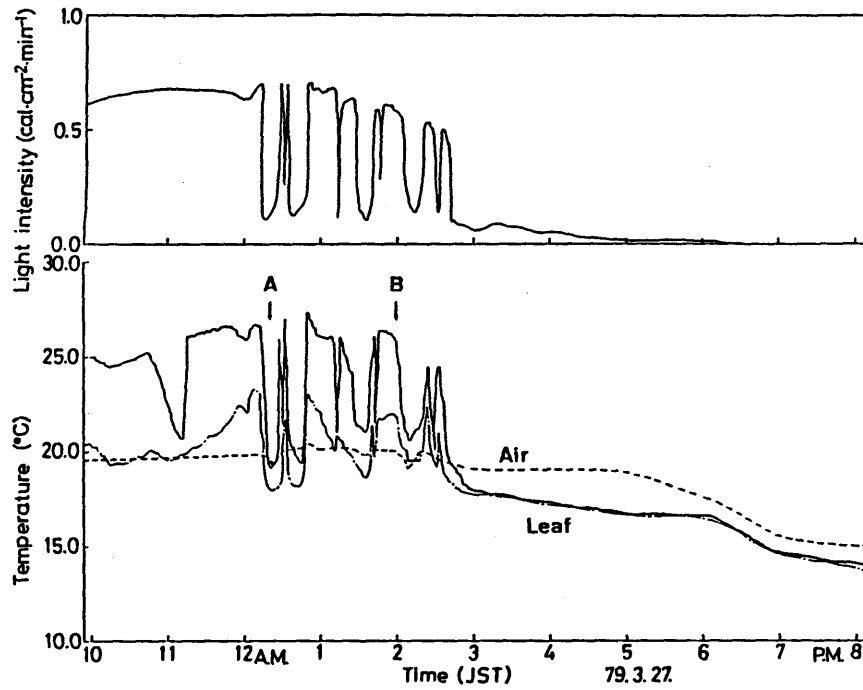
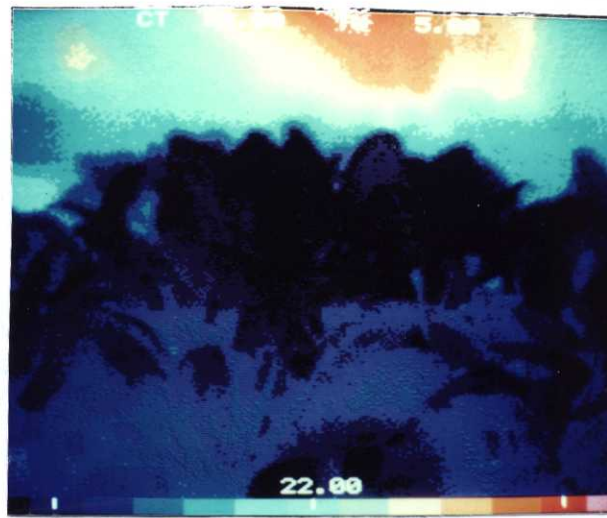
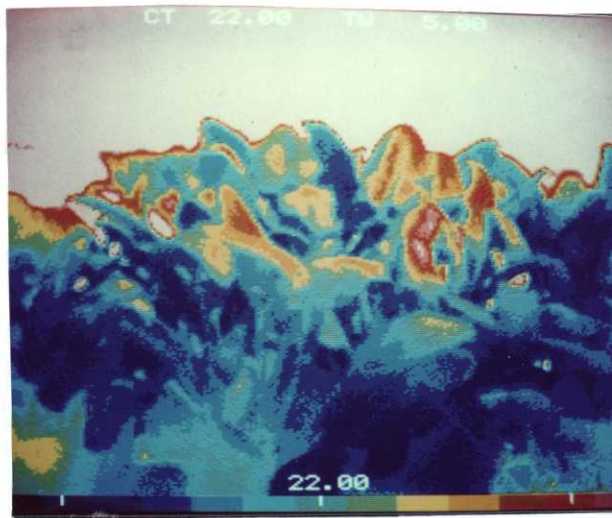


Fig.2.4 Leaf temperature of spinach plants in the greenhouse. —, a part of the leaf in the sunny place; ---, a part of the leaf in the shade. Environmental conditions: humidity, 70 %; wind velocity, ca. $0.4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$



19.5 24.5
°C
A



19.5 24.5
°C
B

Fig.2.5 Spatial distributions of leaf temperature at time points (A,B) in Fig.2.4.

Table 2.1 Maxima of leaf-air temperature difference

Plant species	Max. of leaf-air temperature difference
Dent corn	7.8 °C
Kidney bean	5.8
Castor bean	3.9
Radish	2.3
Tomato	2.2
Japanese radish	1.4
Eggplant	1.2
Rice plant	0.8

植物の葉が蒸散を行っているとき、水は気孔底の細胞壁で蒸発し、呼吸腔 (substomatal cavity)、気孔、葉面境界層を通して自由大気へと拡散する (Fig. 2.6)。蒸散のモデルについては、Bange(16) が Fick の法則に基づくモデルを提案して以来、数多くの報告がみられるが(9,17)、葉の局所部位における蒸散モデルとして確立していない。しかし、基本的には、葉の局所部位においても蒸散のフラックスは、自由大気と気孔底界面との間の水蒸気密度差とその間の拡散抵抗により支配されるので、ここでは、推定モデルにおけるパラメータを実験的に求めることができるようにとの観点から、葉の表裏の温度、気孔および境界層の状態を同じと仮定し、葉の局所部位における蒸散速度 W_x を次式で与えた。

$$W_x = 2 [X_{sx}(T_{ix}) - \phi X_s(T_a)] / (r_{wa_x} + r_{ws_x}) \quad (2.7)$$

ここで、 T_{ix} 、 $X_{sx}(T_{ix})$ 、 r_{wa_x} 、 r_{ws_x} は、それぞれ、葉の局所部位における葉温、飽和水蒸気密度、水蒸気拡散に対する境界層抵抗、気孔開度の指標である気孔拡散抵抗であり、 T_a 、 ϕ 、 $X_s(T_a)$ は、大気の温度、相対湿度および T_a °C の大気における飽和水蒸気密度である。

他方、光合成のための CO_2 や大気汚染環境下の汚染ガスは、水蒸気とは逆の経路を経て植物組織に至る。これらのガスの輸送モデルには、一般に植物組織における反応や移動などを考慮する必要がある (18,19)。ここでは、蒸散モデルと対比させるために、自由大気から気孔底界面に至るまでの輸送モデルを考え、植物組織における反応や移動などの影響は、気孔底界面でのガス濃度で代表させた。そして、葉の局所部位における汚染ガスの吸収速度 Q_x を次式で与えた。

$$Q_x = 2(P_a - P_{ix}) / (r_{ga_x} + r_{gs_x}) \quad (2.8)$$

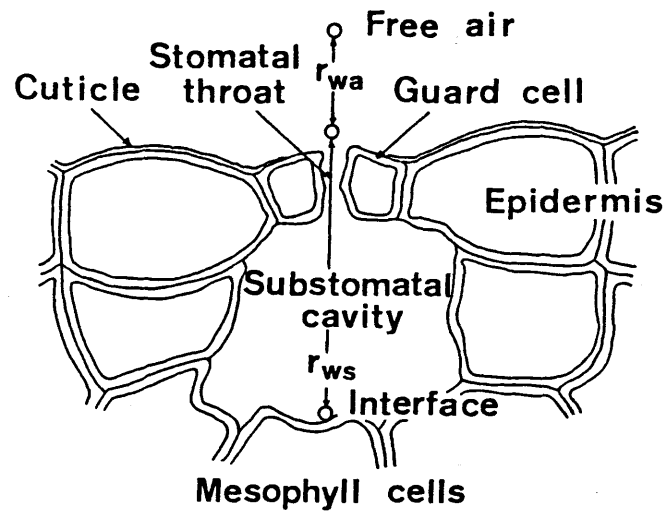


Fig.2.6 Schematic cross-section of a stoma

ただし、

$$r_{gax} / r_{wax} = (D_w / D_g)^{2/3} \quad (2.9)$$

$$r_{gsx} / r_{wsx} = D_w / D_g \quad (2.10)$$

ここで、 P_{ix} 、 r_{gax} 、 r_{gsx} は、それぞれ、 CO_2 あるいは汚染ガスに関する葉の局所部位における気孔底界面でのガス濃度、境界層抵抗、気孔拡散抵抗であり、 P_a は、大気中のガス濃度、 D_w 、 D_g は、それぞれ、大気中での水蒸気およびガスの分子拡散係数である。

2) 植物葉の局所部位における熱収支

葉温から気孔開閉運動、蒸散速度、ガス吸収速度などの情報を得るためには、葉の局所部位における熱収支について検討する必要がある。ここでは、葉の局所部位における熱収支を、先に述べた蒸散あるいは汚染ガス吸収モデルと対比して検討するために、表裏の温度が等しい薄く平らな葉を仮定し、次式で与えた。

$$c_l w_l dT_{ix}/dt = E_x + S_x - LW_x + M_x + G_x \quad (2.11)$$

ここで、 E_x 、 S_x 、 M_x 、 G_x 、 c_l 、 w_l 、 $t(s)$ 、 L は、それぞれ、葉の局所部位における純放射、対流による顕熱伝達、反応熱、他の部位からの熱伝導、比熱、重量、時間、蒸発の潜熱である。

式(2.11)において純放射 E_x は、

$$E_x = \alpha_p E_{sx} + \epsilon [E_{wx} - 2\sigma(273.15 + T_{ix})^4] \quad (2.12)$$

また、対流による顕熱伝達 S_x は、

$$S_x = 2\rho c_p (T_a - T_{lx}) / r_{ka_x} \quad (2.13)$$

で与えた。ここで、 E_{sx} 、 E_{wx} 、 r_{ka_x} 、 α_p 、 ε 、 σ 、 ρ 、 c_p は、それぞれ、葉の局所部位における環境からの短波放射（波長 $\lesssim 3\mu\text{m}$ ）、環境からの長波放射（波長 $\gtrsim 3\mu\text{m}$ ）、熱伝達に対する境界層抵抗、短波放射の吸収係数、長波の放射率、ステファン・ボルツマンの常数、空気の比重量、空気の定圧比熱である。

水蒸気の拡散と熱伝達に対する境界層抵抗の比 r_{wa_x} / r_{ka_x} は、境界層における熱輸送と物質輸送の相似性から、式(2.9)に対応して次式で与えた。

$$r_{wa_x} / r_{ka_x} = (\kappa / D_w)^{2/3} \quad (2.14)$$

ここで、 κ は、空気の温度伝導率である。

光合成や呼吸などの生理作用による反応熱 M_x は、通常、短波放射の2～3%以下である(8,9)。蓄熱 $c_l w_l dT_{lx}/dt$ は薄い葉の植物において、たとえば、 $0.2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ の葉温変化の場合、蒸散の潜熱や純放射の2～3%程度である。また、他の部位からの熱伝導 G_x は、 $0.5\text{cm}\phi$ の部位に周辺から $1^\circ\text{C}\cdot\text{cm}^{-1}$ の温度勾配で熱伝導が生じている場合を仮定すると5%程度である。通常、植物葉において、 $c_l w_l dT_{lx}/dt$ および G_x の値は、上記の場合に比べて同程度かそれ以下である。それゆえ、 M_x 、 G_x 、 $c_l w_l dT_{lx}/dt$ の項は無視することができ、式(2.11)は次式のように簡略化される。

$$E_x + S_x - LW_x = 0 \quad (2.15)$$

式(2.15)に、式(2.12)、式(2.13)を代入し、葉の局所部位における蒸散速度を求めると次式を得る。

$$W_x = [\alpha_p E_{sx} + \varepsilon \{ E_{wx} - 2\sigma(273.15 + T_{ix})^4 \} + 2\rho c_p (T_a - T_{ix}) / r_{ka_x}] / L \quad (2.16)$$

大気の温湿度、放射、気流などの環境条件を一定に保つとすれば、式(2.16)の右辺の変数は葉温 T_{ix} のみとなる。それゆえ、葉温以外のパラメータを前もって求めておけば、葉温を計測することにより蒸散速度を推定することができる。さらに、式(2.7) および式(2.14)より、気孔開度の指標である水蒸気拡散に対する気孔拡散抵抗 r_{ws_x} を推定することができる。

$$r_{ws_x} = 2 [X_{sx}(T_{ix}) - \phi X_s(T_a)] / W_x - [\kappa / D_w]^{2/3} r_{ka_x} \quad (2.17)$$

また、ガスの拡散に対する気孔拡散抵抗 r_{gs_x} および境界層抵抗 r_{ga_x} は、式(2.9)、式(2.10)および式(2.14)の関係より求めることができる。そして、ガスの吸収速度 Q_x は、ここで得られた値を式(2.8) に代入することにより推定することができる。

2.5 蒸散および気孔拡散抵抗の画像計測

1) 熱環境要因の調節

2.4 節で述べた推定モデルに基づき蒸散速度、気孔開度の指標である気孔拡散抵抗、ガス吸収量などの生体情報を高精度で推定し、映像化するためには、葉の周辺の気温、湿度、放射、気流などの熱環境要因を均一に調節する必要がある。本実験では、植物実験用環境制御装置(付録A参照)内に、葉を水平に固定する

ための固定装置と攪拌ファン(Fig.2.7)を設置し、熱環境要因の調節を行なった。葉は、葉形に切り抜かれた $20 \times 20 \text{cm}^2$ の合成樹脂の薄い板に接着され、Fig.2.7(a)のようにてぐす(釣糸)を張った固定面に置かれた。光源としては、約800 nm以上の熱線を除去する熱線カットフィルターを付けた陽光ランプを用いたが、葉面への短波放射の直達を防ぐために、光源と固定装置との間の空気層に散乱膜を入れた。また、装置内の壁面は、黒色のウールペーパーおよび寒冷紗で覆った。以上の処置により、固定装置にセットされた葉面での短波放射の分布は、平均値の $\pm 2\%$ 以内であった。また、乾面あるいは湿面状態の黒体モデル葉(黒色のウールペーパー)の温度分布を、気流の状態を調節することにより、葉のごく周辺部を除いて $\pm 0.2^\circ\text{C}$ 以内に保つことができた。このことは、局所境界層抵抗が葉面の部位の違いに関係なく、一定として取扱いうることを示している。なお、葉面の気流状態は、片側湿面のモデル葉の蒸散速度を重量法で測定し、両面が同じ値を示すように調節した。

2) 植物葉および黒体モデル葉の短波放射の吸収率と長波の放射率

播種後 3~6 週間のロシアヒマワリの葉と黒体モデル葉の短波放射の平均吸収率 α_p は、日射計(有効波長域; ca. $0.4 \sim 3\mu\text{m}$)を用いて計測した結果、ヒマワリ葉で 0.68 ± 0.03 、黒体モデル葉で 0.98 ± 0.02 であった。長波の平均放射率 ε は、赤外線カメラを用いて計測した結果、ヒマワリ葉、黒体モデル葉共に 0.98 ± 0.02 であった。なお、赤外線カメラの有効波長域は $8 \sim 13\mu\text{m}$ であるが、植物葉の分光反射特性が、 $3\mu\text{m}$ 以上においてほぼ一定であることから(14,15)、赤外線カメラでの計測により得られた値は、長波の平均放射率とみなせる。

3) 環境からの長波放射と境界層抵抗の推定

式(2.15)に式(2.12)、式(2.13)を代入すると次式の熱収支式を得る。

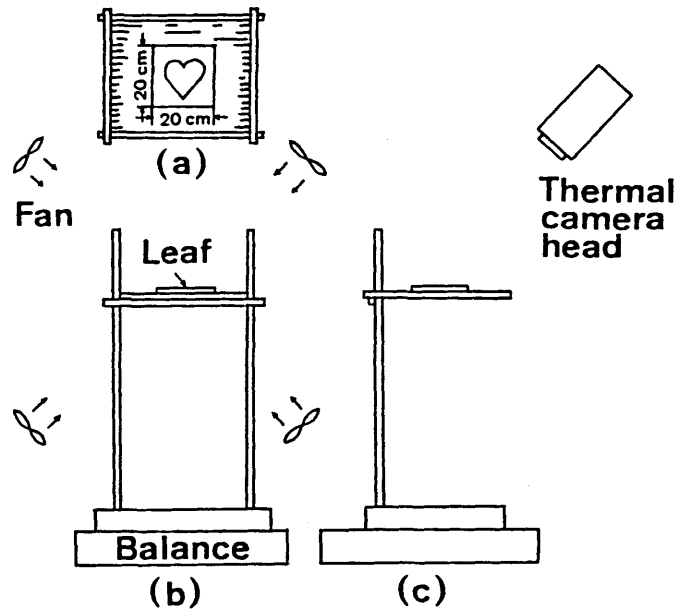


Fig.2.7 Schematic diagram of an apparatus for fixing a leaf. Environmental conditions on the leaf were maintained constant.

$$\alpha_p E_{sx} + \varepsilon E_{wx} - 2\varepsilon\sigma(273.15 + T_{ix})^4 + [2\rho c_p (T_a - T_{ix}) / r_{ka_x}] - LW_x = 0 \quad (2.18)$$

先に述べた環境要因の制御装置の特性から、固定装置にセットされた黒体モデル葉の葉温、蒸散速度、境界層抵抗、環境からの放射などは、葉面全域にわたって一定である。それゆえ、式(2.18)を一枚の葉の熱収支式と考えれば、葉温、蒸散速度および環境からの短波放射は直接計測できるので、乾面あるいは一様に湿らせた湿面状態の黒体モデル葉について計測されたこれらの値を式(2.18)に代入し、連立させて解くことにより環境からの長波放射 E_{wx} と熱伝達に対する境界層抵抗 r_{ka_x} を推定できる。この方法による推定精度を検討するために、 r_{ka_x} については、十分水を含ませた湿面状態の黒体モデル葉の葉温、蒸散速度等を計測し、式(2.14)を $r_{ws_x} = 0 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ と仮定した式(2.7) に代入して得られる次式により推定した値と比較した。

$$r_{ka_x} = 2 [X_{sx}(T_{ix}) - \phi X_s(T_a)] / [W_x (\kappa / D_w)^{2/3}] \quad (2.19)$$

Fig.2.8 にその結果を示す。式(2.18)により得られた値のほうが式(2.19)により得られた値に比べて小さい傾向があったが、その差は、 $0.1 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ 以内であった。他方、種々の r_{ka_x} の状態において、式(2.18)により推定される E_{wx} を比較したが、その差は、 $1 \times 10^{-4} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以内であった。

4) 画像計測例と精度

実際に赤外線カメラにより計測されたヒマワリ葉の葉温画像から蒸散速度および気孔拡散抵抗の葉面分布を求めた例をFig.2.9 に示す。葉温が高い部位すなわ

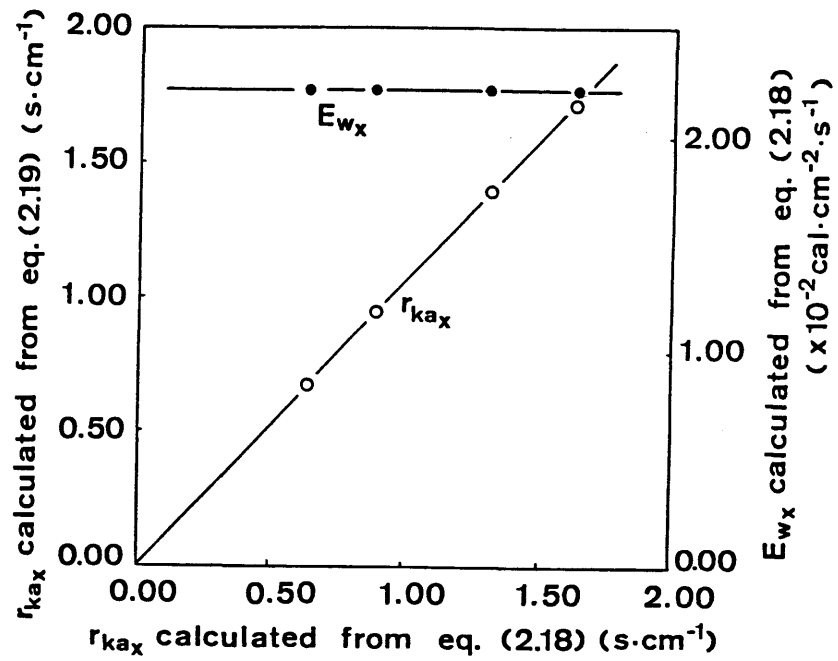


Fig.2.8 Accuracies in evaluating boundary layer resistance on the leaf to heat transfer (r_{kax}) and longwave radiation from environment (E_{wx})
 Conditions: $T_a=25.0^\circ\text{C}$, $\phi=59-62\%$ RH, $E_{sx}=2.91-3.01 \times 10^{-3} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

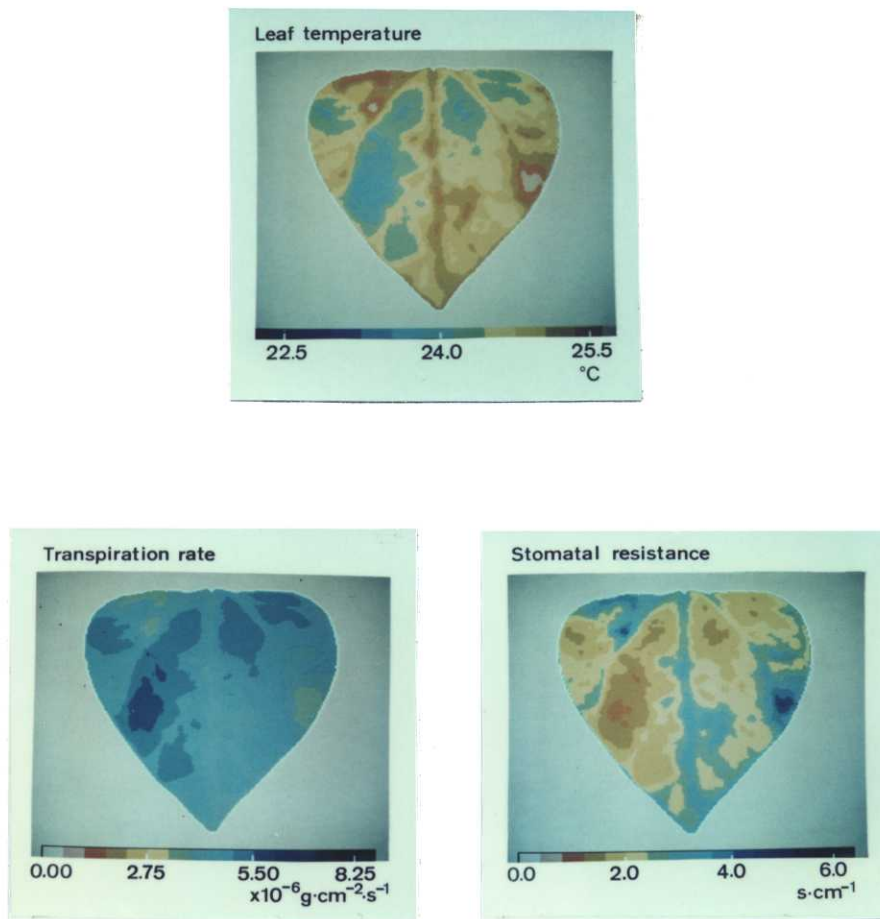


Fig.2.9 Spatial distributions of transpiration rate and stomatal resistance to water vapor diffusion evaluated from the leaf temperature image. Conditions: $T_a=25.0^\circ\text{C}$, $\phi=62\%$ RH, $E_{sx}=2.37\times 10^{-3} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (25klx), $E_{wx}=2.23\times 10^{-2} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, $r_{kax}=1.5 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$

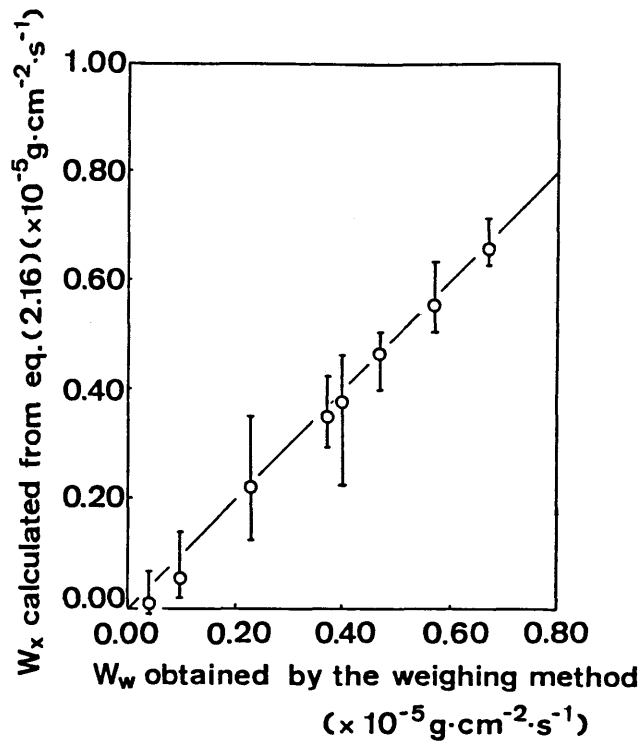
ち気孔拡散抵抗が大きい部位は、小さい（葉温が低い）部位に比べて気孔が閉じていることを示している。このため、蒸散速度も小さい値を示す。

蒸散速度と気孔拡散抵抗の推定精度を葉面の微小な各部位で検討することは困難であるので、一枚の葉について重量法により求めた値と比較した。その結果を Fig.2.10 に示す。Fig.2.10 (a) は、重量法により得られた蒸散速度 W_w と式(2.16)により推定された蒸散速度 W_x の比較である。 W_x は、葉温が葉の部位により異なるのである幅をもっており、図中ではその幅を記号 I で、葉面全体の平均値を \circ で表わした。 W_w は、葉1枚の平均値であるので、 W_x との比較は平均値で行なった。蒸散速度が、 $0.1 \times 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下の場合には葉に萎れが生じ、若干変色していた。このような場合を除けば、 W_w と W_x の平均値との差は、 $0.02 \times 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以内であった。Fig.2.10 (b) は、ここで得られた W_w と W_x を式(2.17)に代入し計算した水蒸気拡散に対する気孔拡散抵抗 r_{wsx} の比較である。 r_{wsx} が $10 \text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$ 以下の場合には、 W_w と W_x の平均値から得られた r_{wsx} の差は $0.3 \text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$ 以内であった。蒸散速度や気孔拡散抵抗の推定精度は、設定される環境条件により変わると予想されるが、ここで得られた結果から、通常の設定条件では十分な精度が期待できる。

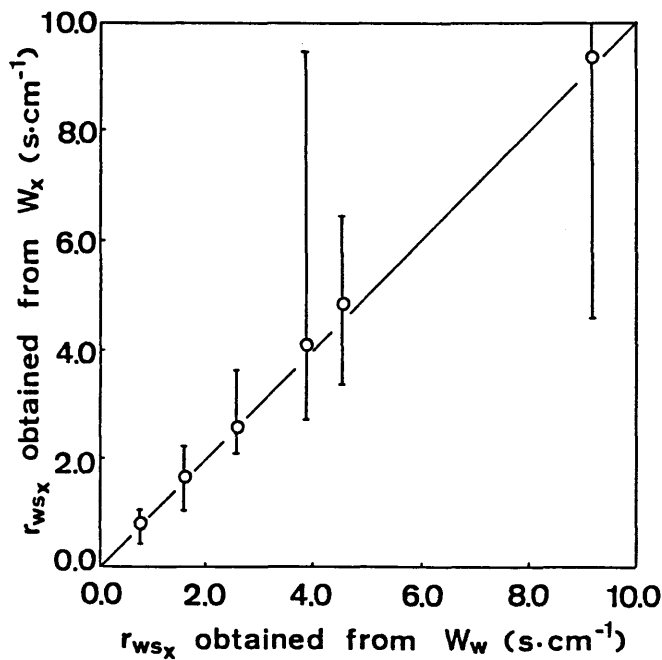
2.6 汚染ガス吸収の画像計測

式(2.8)により汚染ガス吸収速度を求めるためには、植物組織における代謝や移動を代表する気孔底界面でのガス濃度を求める必要がある。

Fig.2.11に10個体のヒマワリを植物実験用環境制御装置の中で $0.2 \sim 1.5 \text{ ppm}$ の SO_2 に約5時間暴露したときの SO_2 吸収速度 Q と蒸散速度 W の経時変化の関係を示す。ここで、 SO_2 吸収速度は付録Bの方法で、蒸散速度は重量法で測定した。図中での数字 (m_f) 1, 2, 3, ... は、 SO_2 暴露時間を表わし、時間は $30m_f + 15 \text{ min}$ ($m_f = 1, 2, 3, \dots$) で計算される。Fig.2.11において、1 と 1.5 ppm の濃度で、



(a) Transpiration rate



(b) Stomatal resistance

Fig.2.10 Accuracies in evaluating transpiration rate (W_x) and stomatal resistance to water vapor diffusion (r_{wsx}). Conditions and parameters: $T_a=24.9-25.4^\circ\text{C}$, $\phi=58-60\%$ RH, $r_{kax}=1.64 \text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$, $E_{sx}=3.01 \times 10^{-3} \text{ cal} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (ca.30klx), $E_{wx}=22.21 \times 10^{-3} \text{ cal} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

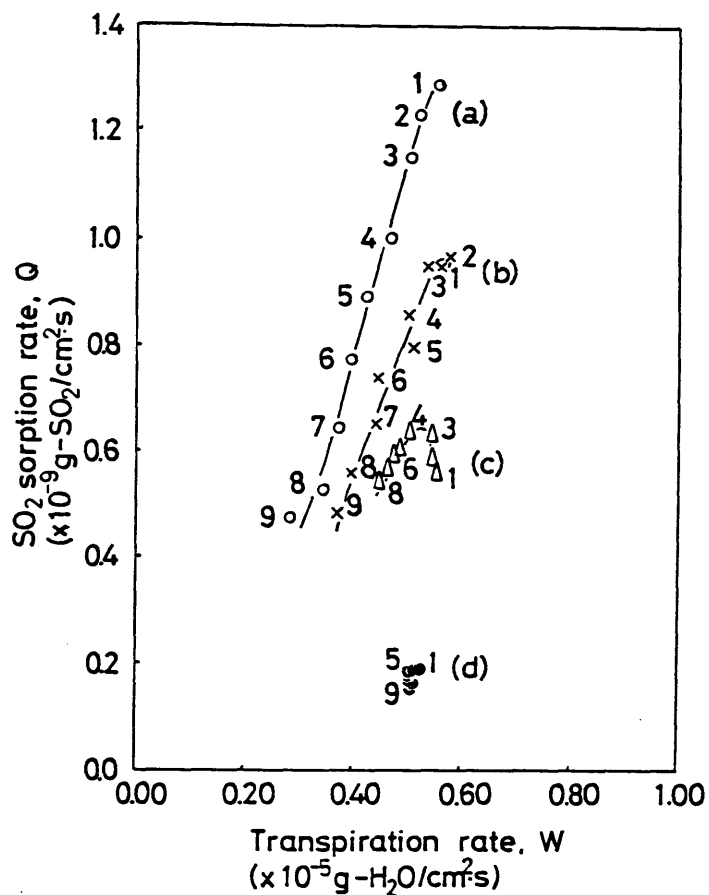


Fig.2.11 Relation with time between SO_2 sorption rate, Q and transpiration rate, W for four SO_2 concentrations. —○—denotes SO_2 concentration of about 1.5 volppm, —x—about 1 volppm, —△—about 0.65 volppm, —●—about 0.2 volppm. The fumigation time is calculated by $30m_F + 15$ min, where m_F indicates a number in the figure. Air temperature, $35\text{--}36^\circ\text{C}$; humidity, 65% RH; light intensity, 20klx.

暴露時間の経過に伴ってSO₂ 吸収速度も蒸散速度も共に減少する現象がみられた。その程度は、1ppmよりも1.5ppmの方が大きかった。また、0.65ppm でも顕著ではないがその傾向がみられた。可視障害として、1 と1.5 ppm においてネクロシスやクロロシスの前兆である葉表面での水滲現象やその後の葉の萎れ等の現象がみられた。これらの現象が発現し始めたのは、1.5ppmで暴露後 2時間、1ppm約 3時間経過した時点であった。Fig.2.11で得られた関係には、測定時におけるSO₂ 濃度の経時変化や蒸散速度の減少に伴う葉温上昇等の影響を含んでいる。そこで、これらの影響を除去するために Q/w' とガス濃度 P_a との関係として整理し直した。Fig.2.12にその結果を示す。 w' は、

$$w' = W / [X_s (T_l) - \phi X_s (T_a)] \quad (2.20)$$

より計算される。Fig.2.12によれば葉表面における水滲や葉の萎れ等の可視被害にかかわらず Q/w' と P_a の間に、近似的に $Q/w' \simeq 1.8 \times 10^{-3} P_a$ の関係が成立することが認められた。同様な方法で、主要な汚染ガスであるNO₂ およびO₃ についても Q/w' と P_a との関係を求めたところ、NO₂ で $Q/w' \simeq 1.4 \times 10^{-3} P_a$ 、O₃ で $Q/w' \simeq 1.5 \times 10^{-3} P_a$ の関係が成立した。(Figs. 2.13, 2.14)

以上の結果を式(2.7)、式(2.8)に代入し、気孔底界面でのガス濃度 P_{ix} を求めたところ、SO₂、NO₂、O₃ 共近似的に 0 ppmと仮定できることがわかった。このことは、これらの汚染ガスについては、植物体内での代謝、移動等の生理機能が、十分大きく、汚染ガスの吸収速度は、気孔拡散抵抗を含めた気相での拡散にのみ支配されることを示している。CO₂ については、光合成の機能が P_{ix} を零にする程大きくないが、多くの場合蒸散速度の変化と関係することが知られている(20,21)。なお、NOやCOを植物は、ほとんど吸収しない(3)。

Fig.2.15にFig.2.9の葉温画像から1ppm O₃ を暴露した場合を仮定して、ガス吸収の葉面分布を求めた例を示す。蒸散速度の場合と同じく、葉温が高い部位

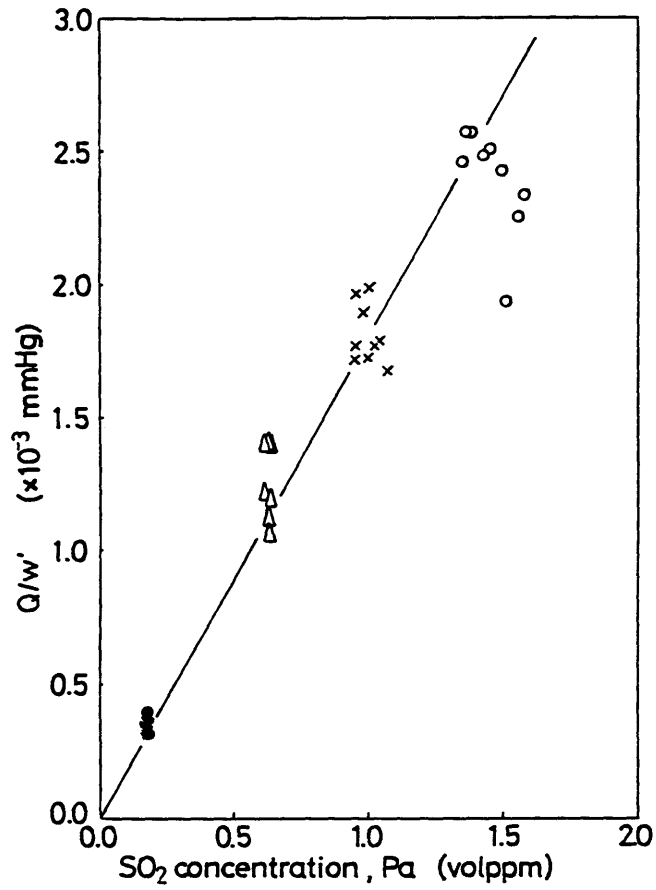


Fig.2.12 Relation between SO₂ concentration in the air, P_a and the ratio of SO₂ sorption rate to transpiration per unit difference in water vapor pressures, Q/w'

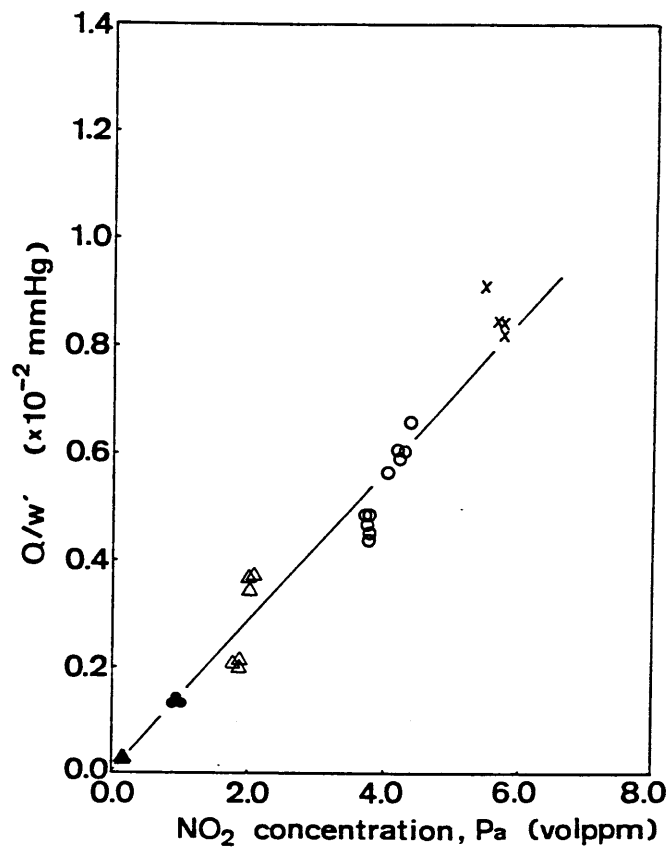


Fig.2.13 Relation between NO₂ concentration, P_a and the ratio of NO₂ sorption rate to transpiration rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere, Q/w'

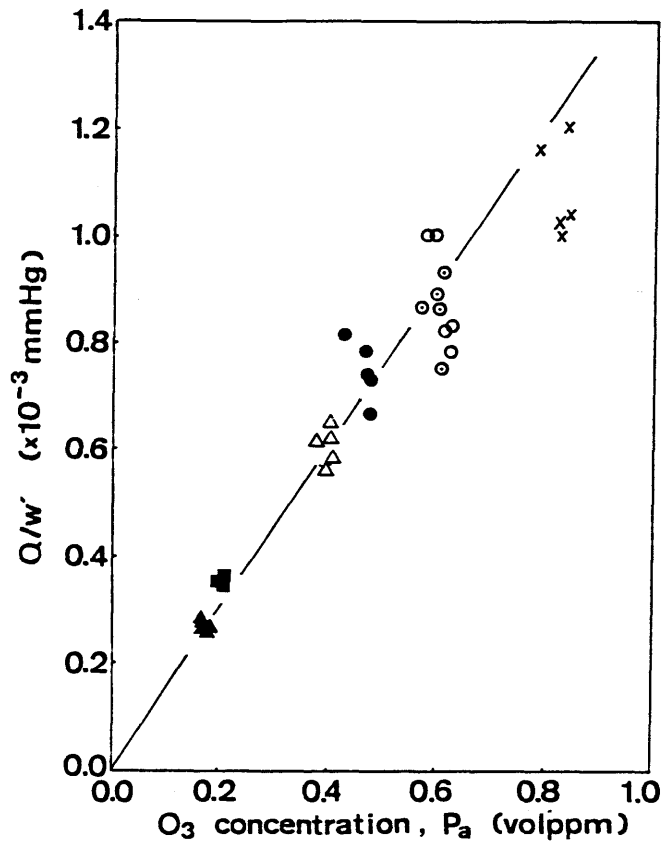


Fig.2.14 Relation between O_3 concentration, P_a and the ratio of O_3 sorption rate to transpiration rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere, Q/w'

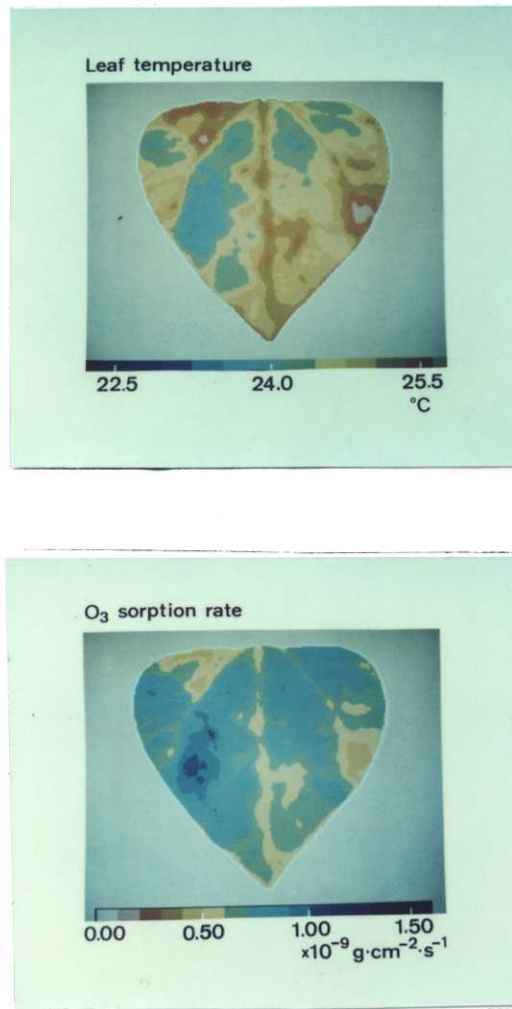


Fig.2.15 Spatial distributions of O₃ sorption rate evaluated from the leaf temperature image shown in Fig.2.9. O₃ concentration was 1 volppm.

で気孔が閉じているためにガス吸収量が少ない。

2.7 結言

本章では、葉温、気孔拡散抵抗、蒸散速度、汚染ガス吸収速度などの生体情報の画像計測のための熱赤外画像計測システムとその推定手法について述べた。そして、実際に、これらの生体情報を映像化する際の諸問題について実験的検討を行なった。そして、葉温、蒸散速度および水蒸気拡散に対する気孔拡散抵抗を $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $0.02 \times 10^{-5}\text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 $0.3\text{ s} \cdot \text{cm}^{-1}$ の精度で推定することができた。また、主要な汚染ガスである SO_2 、 NO_2 、 O_3 などの吸収速度の推定精度も、蒸散速度と汚染ガス吸収速度の推定モデルの相似性から、蒸散速度のそれに準ずるものと考えられた。

参考文献

1. 大政謙次・安保文彰（1978） 植物による大気汚染物質の収着に関する研究（Ⅰ）SO₂ の局所収着と可視障害発現との関係 農業気象 34:51-58
2. 大政謙次・安保文彰・名取俊樹・戸塚 績（1979） 植物による大気汚染物質の収着に関する研究（Ⅱ）NO₂, O₃ あるいはNO₂ + O₃ 暴露下における収着について 農業気象 35:77-83
3. 大政謙次（1980） 汚染された大気と植物とのあいだのガス交換 環境情報科学 9(2):77-80
4. 大政謙次・相賀一郎（1981） 画像処理による植物の生育・生理反応の評価 遺伝 35(1) 25-31
5. 大政謙次・安保文彰・相賀一郎・橋本 康（1981） 大気汚染環境下の植物の画像計測－熱赤外面像に含まれる生体情報の定量化について－ 計測自動制御学会論文集 17:657-663
6. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1981) A quantitative analysis of the relationships between O₃ sorption and its acute effects on plant leaves using image instrumentation. Environ. Control Biol. 19:85-92
7. Berry, J. and O. Björkman (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol., 31:491-543

8. Raschke, K. (1960) Heat transfer between the plant and the environment. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 11:111-126
9. Monteith, J.L. (1973) *Principles of Environmental Physics*. Edward Arnold, London
10. Schurer, K. (1975) Thermography in agricultural engineering. *Bibl. Radiol.* 6:249-254
11. Horler, D.N.H., J. Barber and A.R. Barringer (1980) Effects of cadmium and copper treatments and water stress on the thermal emission from peas (*Pisum sativum* L.): Controlled environment experiments. *Remote Sens. Environ.* 10:191-199
12. 橋本 康・丹羽 登 (1978) 植物葉面情報の画像処理 画像工学コンファレンス論文集 9:51-54
13. Hashimoto, Y., T. Ino, P.J. Kramer, A.W. Naylor and B.R. Strain (1984) Dynamic analysis of water stress of sunflower leaves by means of a thermal image processing system. *Plant Physiol.* 76: 266-269
14. Gates, D.M., H.J. Keegan, J.C. Schleiter and V.R. Weidner (1965) Spectral properties of plants. *Appl. Opt.*, 4:11-20
15. 滝内基弘・橋本 康 (1977) 放射温度計による葉温測定と植物生体情報との関連 計測自動制御学会論文集 13:482-488

16. Bange, G.G.J. (1953) On the quantitative explanation of stomatal transpiration. *Acta Bot. Neerl.*, 2:255-297
17. Gates, D.M. (1968) Transpiration and leaf temperature. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 19:211-238
18. Unsworth, M.H., P.V. Biscoe and V. Black (1976) Analysis of gas exchange between plants and polluted atmospheres, In *Effects of Air Pollutants on Plants* (Ed. by T.A. Mansfield) p.5-16
Cambridge University Press, Cambridge
19. O'Dell, R.A., M. Taheri and R.L. Kabel (1977) A model for uptake of pollutants by vegetation. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 27:1104-1109
20. Gaastra, P. (1959) Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxide, temperature, and stomatal diffusion resistance. *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen* 59:1-68
21. Boyer, J.S. (1971) Recovery of photosynthesis in sunflower after a period of low leaf water potential. *Plant Physiol.* 47:816-820

第3章 気孔の非破壊顕微画像計測 (1,2)

3.1 緒言

前章で述べた熱赤外面像計測により得られた気孔拡散抵抗画像の画素は、数十から数百の気孔の平均的な動きを与える。また、気孔拡散抵抗は、気孔開度の指標ではあるが、気孔の大きさ、数、呼吸腔の深さなどの要因にも影響される。それゆえ、環境変化に対する気孔開閉運動を調べるには、気孔拡散抵抗の映像化と合わせて、個々の気孔を直接観察することが必要である。しかし、従来の光学顕微鏡 (3-5) や走査型電子顕微鏡 (6,7) による手法では、植物の生育している環境での気孔開閉運動を直接かつ連続的に観察することは困難であった。そこで、高倍率で広い作動距離をもつ光学顕微鏡と高感度 SITカメラを組み合わせた遠隔操作の顕微画像計測システムを開発し、生育している環境での気孔開閉運動を植物生体を破壊することなく観察する手法について検討した。また、デジタル画像処理により、気孔の輪郭が不鮮明な場合にも適用できる気孔開度の測定法について検討した。

3.2 顕微画像計測システム

顕微画像計測システムのブロック線図をFig.3.1 に、概観をFig.3.2 に示す。このシステムは、高倍率(対物レンズ×50、拡大レンズ×3;TVモニター上で1600倍)で広い作動距離(対物レンズと葉のあいだの距離、13mm)をもつ光学顕微鏡、S20 のスペクトル感度特性をもつSITカメラ(解像度、600 TV lines; 図形歪、±2%以内;シェーディング、20%以内)、高解像度(約1000 TV lines)で歪の小さい(3%)TVモニター、および遠隔でカメラ感度、フォーカス、視野の

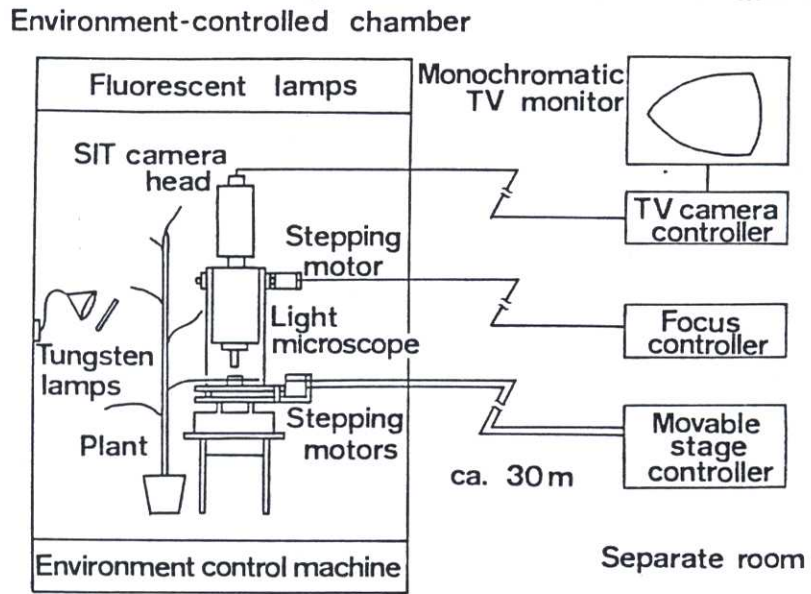


Fig.3.1 Diagram of the remote-control image instrumentation system with a light microscope

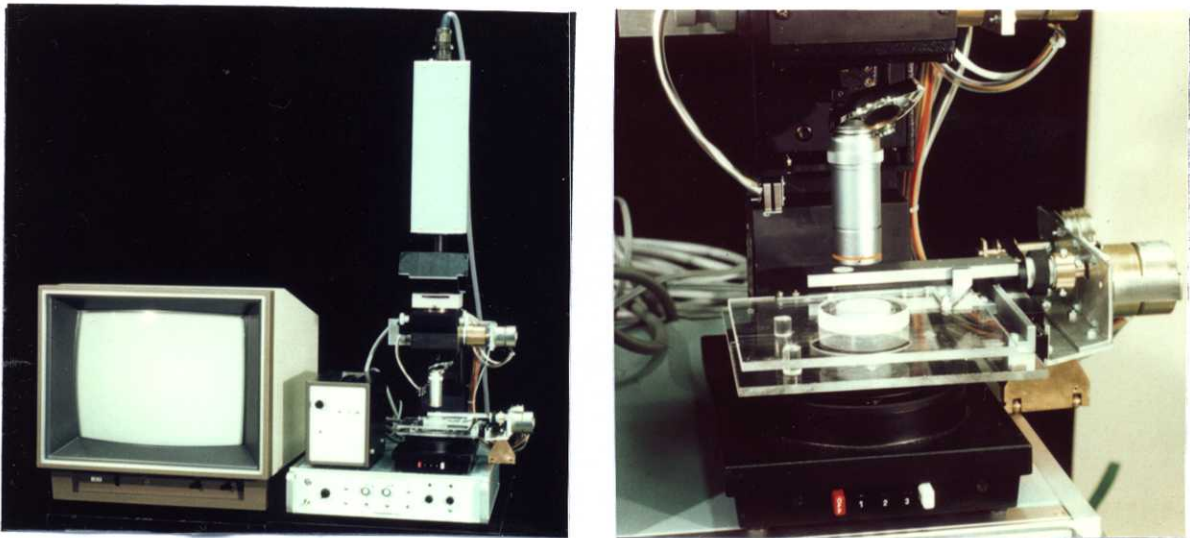


Fig.3.2 Photographs of the system

移動等を調整するためのコントローラーで構成される。顕微鏡のステージは、植物の生育環境を再現するために、葉とステージとの接触面積をできるだけ小さくし、葉の両面が周辺大気と同じ環境に保たれるように工夫した(Fig.3.3)。また、ステージをアクリルで作製し、光の透過にも配慮を加えた。観察は、通常周辺環境からの光で行ない、TVモニターにディスプレイされた画像を白黒フィルムに撮影した。なお、透過光での観察に限って日よけのカバー(B) およびハロゲンランプ(L) を用いた。

3.3 気孔開閉運動の連続観察

最初に、このシステムの性能について検討した。Fig.3.4 に、同一の気孔を反射光と透過光で撮影し、比較した例を示す。撮影は、まず反射光で行ない、その直後に透過光で行なった。結果は、反射光で撮影した気孔の開度と透過光でのそれとがほぼ一致していた。このことは、反射光での撮影においても気孔の central pore が見えていることを意味する。このシステムでは、反射光と透過光が混合している光条件でも気孔の観察が可能であったが、単一の光の方が明瞭な画像を与えた。気孔観察は、反射光、透過光共に約 $0.1\text{m W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 以上の光で可能であった。この光強度は、照射光で表わすと 2klx ($0.5\text{m W}\cdot\text{cm}^{-2}$) 程度で、SIT カメラの代わりに、接眼レンズを通して人間の目で観察する場合には、暗室で十分目を慣らした後でないと見えない程度の強度である。Fig.3.5 にテストチャートの顕微鏡写真を示すが、この結果から、このシステムは $1\mu\text{m}$ 以下の解像度であることがわかる。

次に、実際にこのシステムを用いて観察したソラ豆の気孔の光強度の変化に対する反応の例をFig.3.6 に示す。気孔のcentral poreの動きが明瞭に見える。このソラ豆は、 20°C 、70%に調節された環境制御装置内で生育していた。実験開始後 0分(a) の時点で、それまで 30klx であった光強度を 2klx に下げると、5分

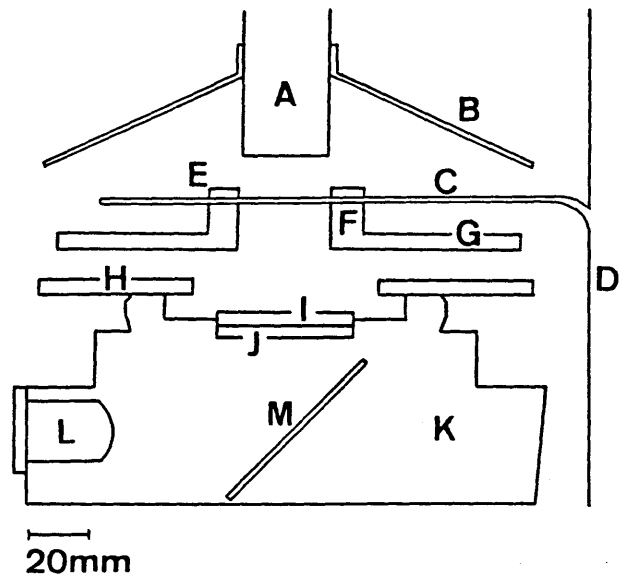


Fig.3.3 Schematic cross-sectional view of the microscope stage for holding an intact leaf. A, objective; B, shade cover; C, leaf; D, stem; E, holding ring; F, ring fixed to remote-control movable stage; G, remote-control movable stage; H, plate; I, heat absorbing glass filter; J, diffusing filter; K, base; L, halogen lamp; M, mirror

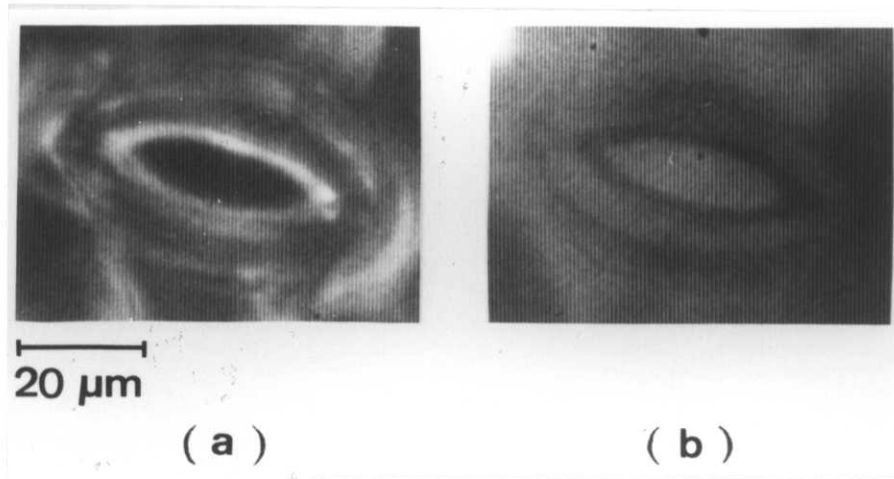


Fig.3.4 Microphotographs of an intact stoma observed with reflected or transmitted light using the image instrumentation system. (a) reflection image; (b) transmission image

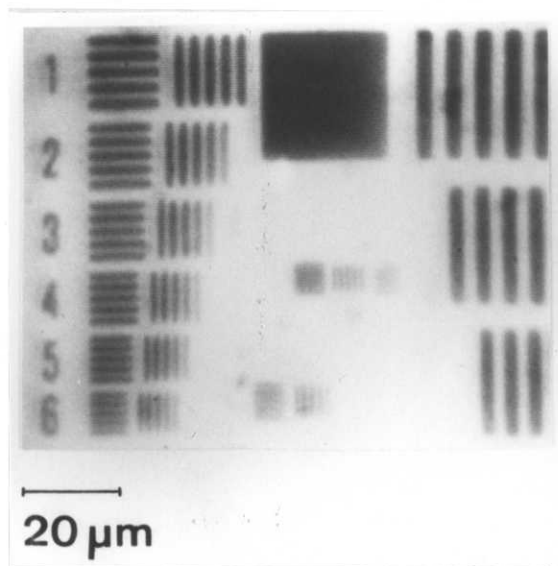


Fig.3.5 Microphotograph of test chart measured using the image instrumentation system.

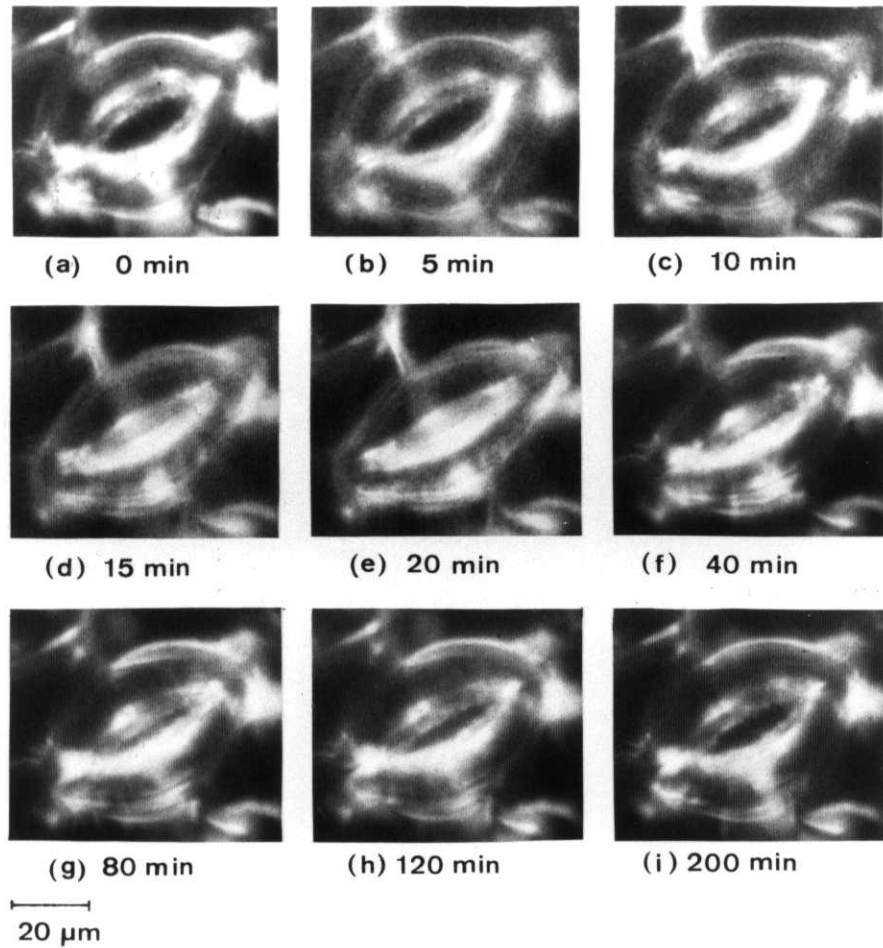


Fig.3.6 Microphotographs of responses of an intact stoma of an adaxial epidermis of a broad bean plant to illumination change. The time after the first illumination change is shown under the photographs. The illumination was changed from 30 to 2 klx at 0 min (a) and from 2 to 20 klx at 20 min (e).

後(b)には気孔が閉じ始め、15分後(d)には、完全に閉じた。20分(e)の時点で光強度を2 klxから20 klxに上げると、その15分後に再び気孔が開き始め180分後(i)には実験前の約75%の開度に回復した。以上の結果は、このシステムが、生育している植物の環境変化に対する気孔反応の連続観察に有効であることを示している。また、このシステムを用いれば、気孔反応と周辺の細胞の変化との関係も調べることができよう。

3.4 気孔開度の測定のための画像処理

1) 画像処理の手順

輪郭が不鮮明な気孔の開口面積、長さ、幅を求めるための画像処理の手順をFig.3.7に示す。その手順について述べると、

(i) TVモニターを撮影することにより得られたネガフィルムをFSS (flying spot scanner) を用いて $256^H \times 256^V$ 8bit のデジタル画像 $f(x,y)$ ($x,y=0,1,\dots,N-1$)に変換する。

(ii) フーリエ変換後の原点が変換面の中心にくるように $f(x,y)$ のフーリエ変換 $F(u-N/2, v-N/2)$ ($u,v=0,1,\dots,N-1$)を求める。

$$F(u-N/2, v-N/2) = (1/N) \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{N-1} (-1)^{x+y} f(x,y) \times \exp[-j2\pi(ux + vy) / N] \quad (3.1)$$

(iii) $F(u-N/2, v-N/2)$ に二種類のハニングのフィルターをかけ、その後、それぞれについて逆フーリエ変換をする。これは、 $f(x,y)$ に含まれるTVモニターの走査線を除去すると、気孔のcentral poreの輪郭を強調するためのunsharp masking 処理に用いるだけ画像を得るための処理である。

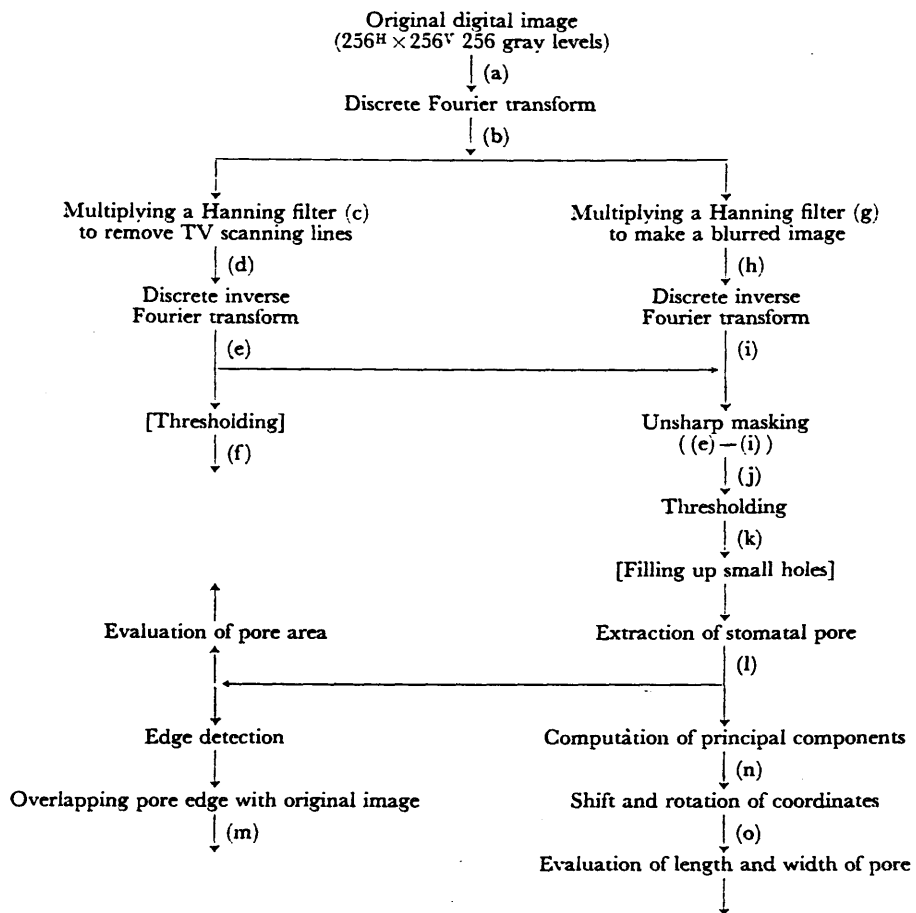


Fig.3.7 Flow diagram of digital image processing for evaluating width, length and area of a stomatal pore.

ハニングのフィルター $H(u-N/2, v-N/2, f_c)$:

$$H(u-N/2, v-N/2, f_c) = \begin{cases} 0 & \text{if } f_{uv} \geq f_c \\ 0.5 [1 + \cos(\pi f_{uv} / f_c)] & \text{if } f_{uv} < f_c \end{cases} \quad (3.2)$$

ただし、 $f_{uv} = [(u-N/2)^2 + (v-N/2)^2]^{1/2}$

逆フーリエ変換 $g(x', y', f_c)$:

$$g(x', y', f_c) = (1/N) (-1)^{x+y} \sum_{u=0}^{N-1} \sum_{v=0}^{N-1} (-1)^{u+v} H(u-N/2, v-N/2, f_c) \times F(u-N/2, v-N/2) \exp [j2\pi(ux + vy) / N] \quad (3.3)$$

ただし、 $x' = x - N/2$ および $y' = y - N/2$

(iv) TV走査線を除去した画像を $g(x', y', f_{c1})$ 、ぼけ画像を $g(x', y', f_{c2})$ とすれば、unsharp masking画像 $g_u(x', y')$ は、

$$g_u(x', y') = g(x', y', f_{c1}) - g(x', y', f_{c2}) \quad (3.4)$$

で与えられる。さらに、 $g_u(x', y')$ を閾値 T で二値化し、前もって指定した気孔のcentral poreの領域 $g_T(x', y')$ だけを抽出する。

$$g_T(x', y') = \begin{cases} 1 & \text{if } g_u(x', y') \geq T \text{ at appointed stoma} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3.5)$$

ここで、二値化の閾値は、unsharp masking後の画像において零の近傍で、抽出されたporeの領域が楕円形を保つ最大値として一意的に決定される。なお、原画像の画質が悪い場合には、抽出されたpore領域に小孔が生じるので、孔を埋める処理を施す。

(v) 気孔の開口面積 A_r は、抽出されたporeの画素数を数えることにより求めることができる。

$$A_r = k^2 A \quad (3.6)$$

ただし、

$$A = \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} g_T(x', y')$$

ここで、 k は倍率の補正係数である。

気孔の開口幅 l_a および開口長 l_b は、抽出されたporeの直交する二つの主成分に対するヒストグラムから求めることができる(Fig.3.8)。ここで、主成分 X 、 Y は次式で与えられる。

$$X = (x' - x_0) \cos \theta + (y' - y_0) \sin \theta \quad (3.7)$$

$$Y = -(x' - x_0) \sin \theta + (y' - y_0) \cos \theta \quad (3.8)$$

ただし、

$$x_0 = (1/A) \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} x' g_T(x', y')$$

$$y_0 = (1/A) \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} y' g_T(x', y')$$

$$\theta = 0.5 \tan^{-1} [2S_{xy} / (S_{xx} - S_{yy})]$$

$$S_{xx} = \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} (x' - x_0)^2 g_T(x', y')$$

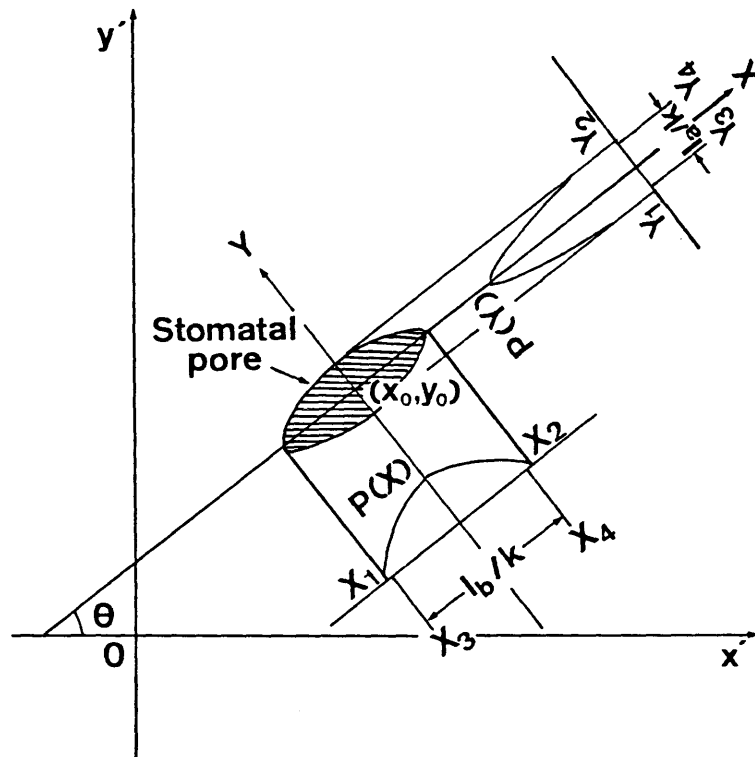


Fig.3.8 Conception for evaluating width and length of a stomatal pore

$$S_{yy} = \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} (y' - y_0)^2 g_T(x', y')$$

$$S_{xy} = \sum_{x'=-N/2}^{N/2-1} \sum_{y'=-N/2}^{N/2-1} (x' - x_0) (y' - y_0) g_T(x', y')$$

また、 $P(X)$ 、 $P(Y)$ を X 、 Y に対するヒストグラムとすれば、 l_a および l_b は次式で与えられる。

$$l_a = k (Y_4 - Y_3) \quad (3.9)$$

$$l_b = k (X_4 - X_3) \quad (3.10)$$

ただし、 $X_1 \sim X_4$ 、 $Y_1 \sim Y_4$ は次式で定義する。

$$P(X_1) = P(X_2) = 0 \quad X_2 > X_1$$

$$P(Y_1) = P(Y_2) = 0 \quad Y_2 > Y_1$$

$$\sum_{x=x_1}^{x_3} P(X) = \sum_{x=x_4}^{x_2} P(X) = 0.005 A \quad X_4 > X_3$$

$$\sum_{y=y_1}^{y_3} P(Y) = \sum_{y=y_4}^{y_2} P(Y) = 0.005 A \quad Y_4 > Y_3$$

気孔の開度 k_i は、開口幅 l_a を十分開いた pore の開口長すなわち最大開口長 $l_{b \max}$ で除した値 $l_a / l_{b \max}$ で定義する。

2) 処理例および精度

Fig.3.9 にFig.3.7 の処理手順に基づいて得られた一連の結果を示す。デジタル原画像(a)には、TVモニターの走査線が観察され、これが、フーリエ変換像(b)の特定の周波数成分($u \approx 68$)に表われた。これらの成分は、気孔の形の情報を含む低周波成分から容易に分離できた。分離するためのフィルターとして、 $f_c = 60$ のハニングのフィルター(c)を用いた。原画像に、このフィルターをかけた後の結果が(d)であり、その逆フーリエ変換像が(e)である。(e)においてTV走査線が除去されているのがわかる。しかし、この画像を濃度レベルに対して単純に二値化したのでは、気孔のcentral poreの領域を抽出することはできない(f)。また、微分やラプラシアンにより領域を抽出する手法があるが、この場合には、有効ではない。そこで、TV走査線を除去した後の画像にunsharp masking処理を施した。unsharp masking処理に用いたぼけ画像(i)は、原画像のフーリエ変換像(b)に、 $f_c = 10$ のハニングのフィルター(g)をかけることにより得られた結果(h)を逆フーリエ変換した。unsharp masking後の画像(j)は、poreの輪郭が強調され、poreとその周辺の細胞のコントラストが増大した。それゆえ、指定されたporeの領域を二値化処理により周辺の細胞から容易に分離することができた。(k)は、二値化処理後の画像で、(l)は、抽出されたporeの領域である。原画像にporeの輪郭を重畳表示した結果が(m)である。この結果は、この一連の処理によって正確にporeの領域を抽出できることを示している。気孔開口面積は、抽出されたporeの画素を計数することにより求めることができた。また、気孔の開口長と開口幅は、poreの領域の主成分(n)に対して座標軸を移動・回転し(o)直交する二つの主成分に対するヒストグラムを求めることにより得られた。

デジタル原画像の画質は、TVモニターに表示された画像それ自身、フィルムの現像、FSSの状態、その他に依存し、気孔開度の測定精度に影響を与える。それゆえ、同じ気孔開度であるが画質の異なる10枚の原画像と気孔開度、画質共に異なる画像を用いて、気孔開度の測定精度を検討した。Table.3.1に同一の気孔開度を持つ10枚の画像の気孔の開口面積、長さ及び幅を測定したときの標準誤差を示す。開口面積、長さ及び幅の標準誤差は、それぞれ、 $10\mu\text{m}^2$ 、 $0.3\mu\text{m}$ 、 0.3

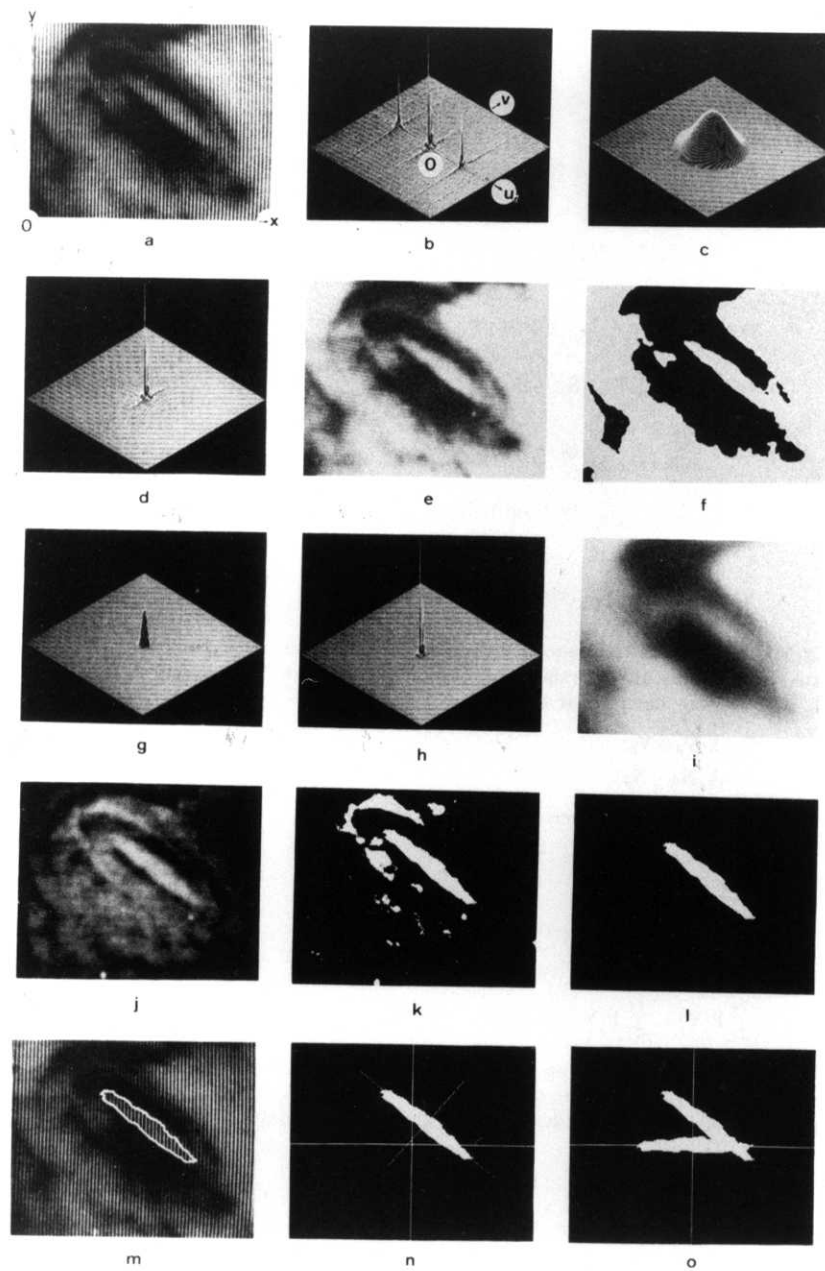


Fig.3.9 Sequence of digital image processing for evaluating stomatal aperture according to the flow diagram in Fig.3.7. (a) to (o) correspond to those in Fig.3.7. The coordinates are shown in (a) for (x,y) and (b) for (u,v) .

μm であった。Fig.3.10は、気孔開度、画質共に異なる原画像に、抽出されたporeの輪郭を重畳表示したものである。画質が悪い場合にも、この手法により正確な輪郭の抽出が可能なのことがわかった。

3.5 結言

本章では、植物の生育している環境での気孔開閉運動を直接かつ連続的に観察するために開発した遠隔操作の顕微画像計測システムと気孔開度を測定するためのデジタル画像処理手法について述べた。このシステムは、生育環境を再現するために、顕微鏡のステージが工夫されている。また、高倍率（TVモニター上で1600倍）で広い作動距離（13mm）をもつ光学顕微鏡と、暗い光条件下（照射光で2klx程度）での観察を可能にするためのSITカメラを使用している。さらに、カメラ感度、フォーカス、視野の移動等を遠隔で調整することができる。一方、気孔の開口面積、長さ、幅は、デジタル画像処理により、それぞれ $10\mu\text{m}^2$ 、 $0.3\mu\text{m}$ 、 $0.3\mu\text{m}$ の標準誤差で求めることができた。また画質の悪い顕微鏡像においてもこの手法は有効であった。

Table 3.1 Accuracy in the evaluation of area, length, and width of a stomatal pore.

	Area	Length	Width
Mean value	433 μm^2	34.1 μm	16.4 μm
Standard error	10	0.3	0.3

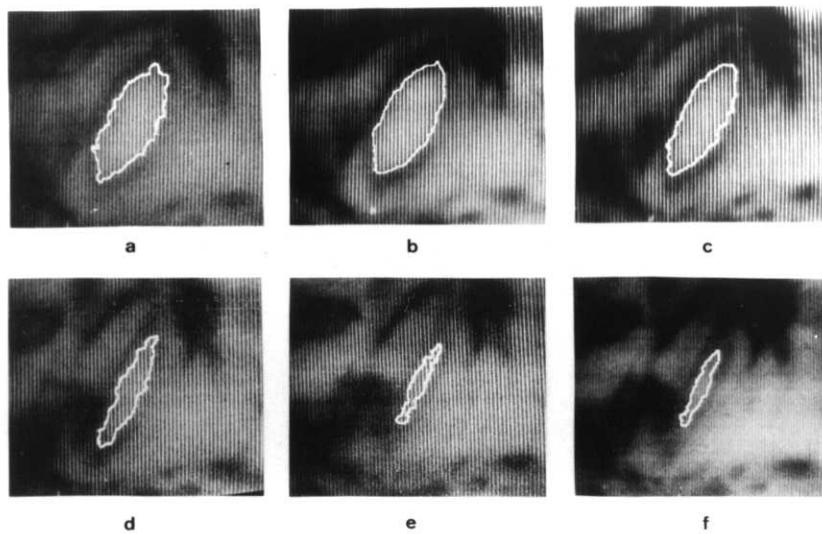


Fig.3.10 Pore edges extracted from different stomatal images.

参考文献

1. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1983) Observation of stomatal movements of intact plants using an image instrumentation system with a light microscope. *Plant Cell Physiol.* 24:281-288
2. Omasa, K. and M. Onoe (1984) Measurement of stomatal aperture by digital image processing. *Plant Cell Physiol.* 25:1379-1388
3. Meidner, H. and T.A. Mansfield (1968) *Physiology of Stomata.* p.26-48 McGraw-Hill, London
4. Meidner, H. (1981) Measurements of stomatal aperture and responses to stimuli. In *Stomatal Physiology.* (Ed. by P.G. Jarvis and T.A. Mansfield) p.25-49 Cambridge University Press, Cambridge
5. Stålfelt, M.G. (1959) The effect of carbon dioxide on hydroactive closure of the stomatal cells. *Physiol. Plant.* 12:691-705
6. Turner, N.C. and G.H. Heichel (1977) Stomatal development and seasonal changes in diffusive resistance of primary and regrowth foliage of red oak (*Quercus rubra* L.) and red maple (*Acer rubrum* L.) *New Phytol.* 78:71-81
7. Shiraishi, M., Y. Hashimoto and S. Kuraishi (1978) Cyclic variations of stomatal aperture observed under the scanning electron microscope. *Plant Cell Physiol.* 19:637-645

第4章 葉面可視害のスペクトル画像計測 (1-4)

4.1 緒言

壊死状可視害（ネクロシスとクロロシス）は、植物に発現する病状の中で最も顕著なものであり、古くから病虫害、生理障害、環境汚染害などの診断に用いられてきた（5-7）。また、大気汚染などによる急性障害では、その初期症状として水滲が発現し、その後の壊死状可視害を導くことが知られている（6,7）。これらの葉面可視害の評価は、程度の評価と症状の認識・識別に分けられるが、観察による評価が最も一般的である。そこで、客観的で、大量のサンプル処理が可能な自動計測法の開発が必要とされる。ここでは、壊死状可視害の程度の評価と水滲の検出のスペクトル画像計測による評価法について検討した。

4.2 スペクトル画像計測システム

スペクトル画像計測システムのブロック線図を Fig.4.1に、概観をFig.4.2に示す。画像センサーとして、シリコンビジコン（分光感度、0.4～1.1 μm ；解像度、500 TV lines；図形歪、 $\pm 1\%$ ；シェーディング、10%以下）とカルニコン（0.4～0.75 μm ；700 TV lines； $\pm 1\%$ ；10%以下）を用いた。そして、TVカメラヘッドに、マルチスペクトル画像を得るための回転式フィルターホルダー（最高4枚フィルターを取り付け可能）を装着した。画像センサーからの信号は、TVイメージプロセッサで8ビット（512^H × 480^V）のデジタル信号に変換され、ノイズ除去やシェーディング補正などの前処理を行なった後、ホスト計算機に転送される。イメージプロセッサは、基本処理が、ハードウェア化されており、これらの処理をリアルタイムで行なうことができる。また、カメラから計算

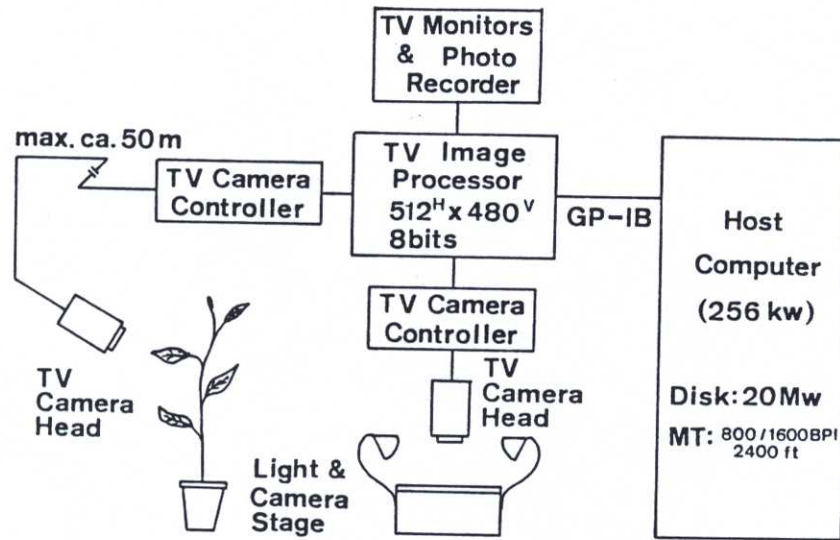


Fig.4.1 Block diagram of spectral image instrumentation system.

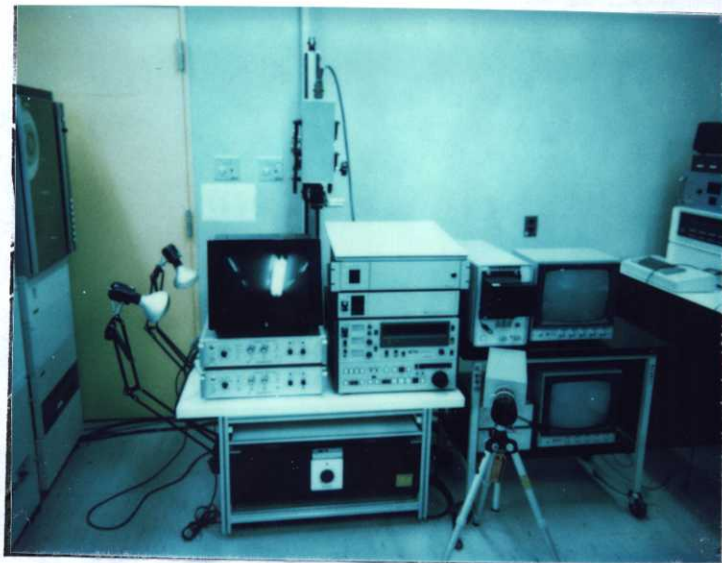


Fig.4.2 Photograph of the system.

機への画像データの伝送は、計算機からの信号により制御され、一連の処理は自動化されている。

4.3 スペクトロラジオアナライザー

カメラヘッドに装着するフィルターを選定するためには、植物葉の反射スペクトル特性を調べる必要がある。Fig.4.3 は、この目的のために開発したスペクトロラジオアナライザーのブロック線図で、Fig.4.4 はその概観である。この装置は、0.25~0.90 μm を1秒、0.85~2.5 μm を5秒で走査する回析格子の分光器および分光器の制御と測定データの解析のための信号処理器に分かれる。分光器は、検知器としてフォトマル(0.25~0.90 μm)とPbSセル(0.85~2.5 μm)を用い、感度とS/Nの向上のために検知器を冷却している。この分光器の測定精度は、0.25~0.90 μm で $\pm 1\text{nm}$ 、0.85~2.5 μm で $\pm 3\text{nm}$ であり、迷光は 1×10^{-4} である。分光器への光の導入は、オプティカルファイバーにより行なわれ、先端にミラー集光器あるいは積分球アタッチメントを取り付けることができる。集光器は、離れた場所にある植物の反射スペクトル特性の測定に、また、積分球アタッチメントは、内蔵の標準光源と積分球を用いて正確な葉の分光反射率や透過率を求めるのに使用される(Fig.4.5)。信号処理器は、現場での操作性を考慮して、データ収集および解析に必要な基本処理機能を内蔵させ、CRTとの対話形式で処理が可能ないように設計した。測定されたデータは、標準光源の検定値データに基づき自動校正され、カセットMTに保存される。また、弱光下の測定に対してデータ積算収集機能を有し、分光器のスリット幅の選択と組み合わせて、測定光量に対するダイナミックレンジを拡大させた。さらに、測定データ間の四則演算、係数の乗算、指定された波長領域のエネルギーの計算などの機能を付加した。

Fig.4.6 に、0.45~0.7 μm で約18%の反射率を有する反射板を積分球アタッチメントを用いて測定したときの結果を示す。このアタッチメントを用いれば、

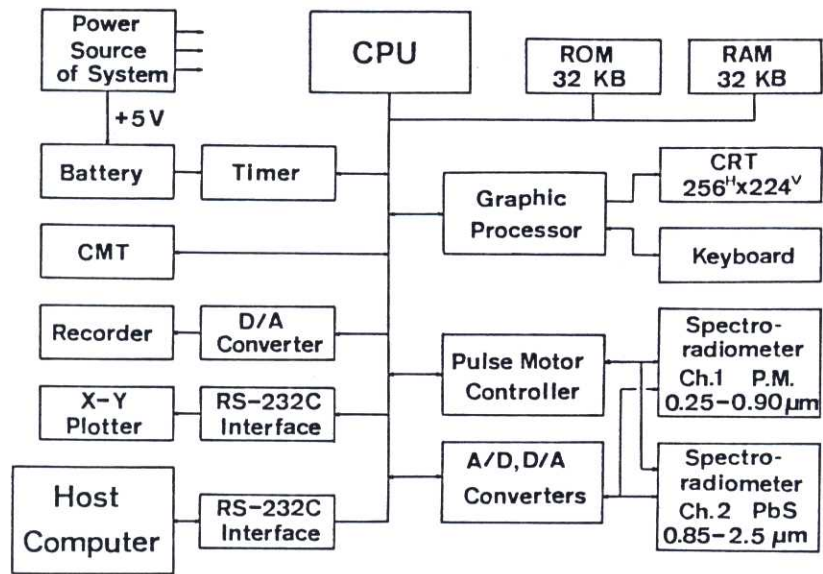


Fig.4.3 Block diagram of spectroradioanalyzer.



Fig.4.4 Photograph of the analyzer.



Fig.4.5 Attachment with light source (tungsten halogen lamp) and integrating sphere for measuring reflectance and transmittance of the leaf.

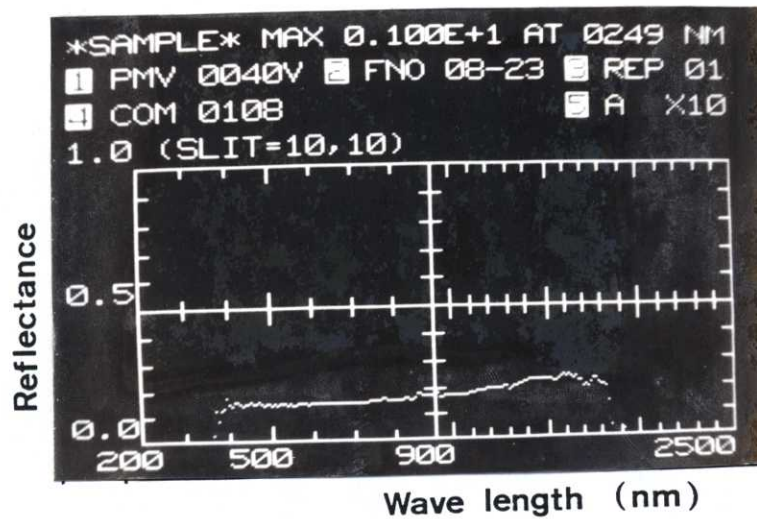


Fig.4.6 Measurement of a standard reflection board with 18% reflectance in visible rays.

0.45～0.7 μm での反射率を約3%の誤差で測定でき、0.4～1.8 μm の波長域の測定に有効である。一方、ミラー集光器での測定は、オプティカルファイバーの透過特性に依存するが、UVグレードのファイバーと近赤外域での水による吸収のないファイバーを組み合わせれば、0.25～2.3 μm の波長域での測定が可能である。

4.4 壊死状可視害の画像計測

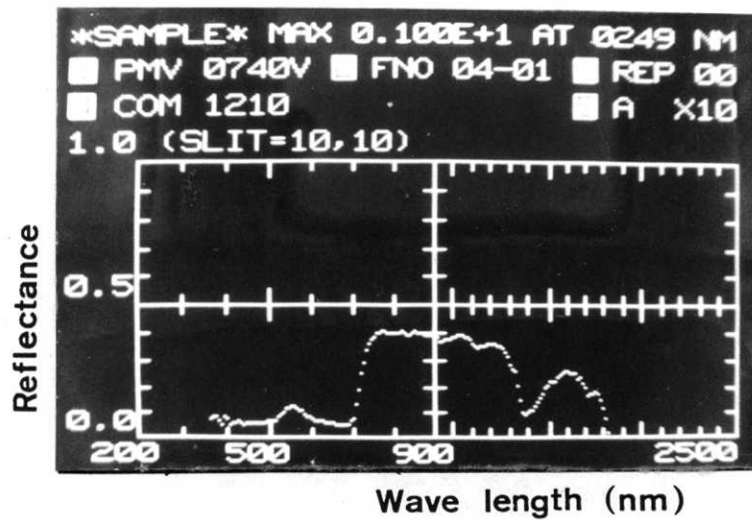
大気汚染ガスによる壊死状可視害葉の写真をFig.4.7に示す。この写真において、 SO_2 および NO_2 被害葉には比較的ブロードな障害が発現し、 O_3 被害葉には斑点状の薄い障害が発現しているのが観察される。これらの症状は、一般に、病虫害、生理障害、その他の環境汚染害などにおいてもみられる。それゆえ、ここでは壊死状可視害の画像計測の対象としてこれらの大気汚染害を扱う。

Fig.4.8に、スペクトロラジオアナライザーで測定した正常葉と被害葉の典型的な分光反射率を示す。正常葉においては、0.7 μm 以下で植物色素の吸収により反射率が小さい。また、1.4 μm で反射率が小さくなるのは水の吸収による。しかし、被害葉では、これらの波長域の反射率が大きくなる。そこで、Fig.4.9に示すような透過特性をもつ干渉フィルターを用いて壊死状可視害の評価に有効な波長域の選定を行なった。実際には、一定の光条件の標本撮影装置(Fig.4.1参照)にヒマワリの葉片(2×2 cm^2)を固定し、葉面からの反射を上述の5種類の干渉フィルターを通してシリコンビジコンカメラで計測し、その濃度平均値を計算した。

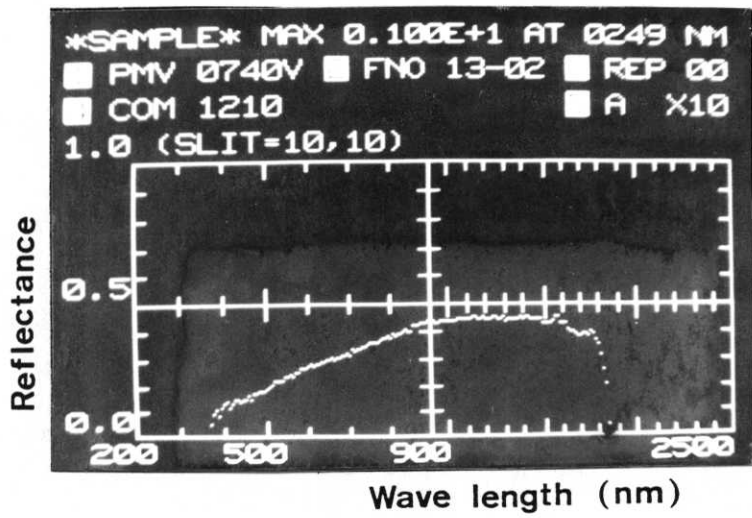
Fig.4.10に正常葉と SO_2 および NO_2 被害葉の正常領域と被害領域のスペクトル特性を示す。正常葉と被害葉の正常領域の濃度平均値は0.45～0.90 μm のすべての帯域で一致していた。しかし、被害領域の濃度平均値は、0.45 μm 、0.55 μm および0.67 μm の帯域において、正常領域のそれと大きく異なっていた。このことは、 SO_2 および NO_2 被害葉の障害の程度は、スペクトル画像を閾値濃度により正常領



Fig.4.7 Photographs of typical acute SO_2 -, NO_2 - and O_3 -injured leaves of sunflower plants.



A



B

Fig.4.8 Reflectances of healthy and damaged leaves measured with the analyzer. A, healthy leaf; B, damaged leaf

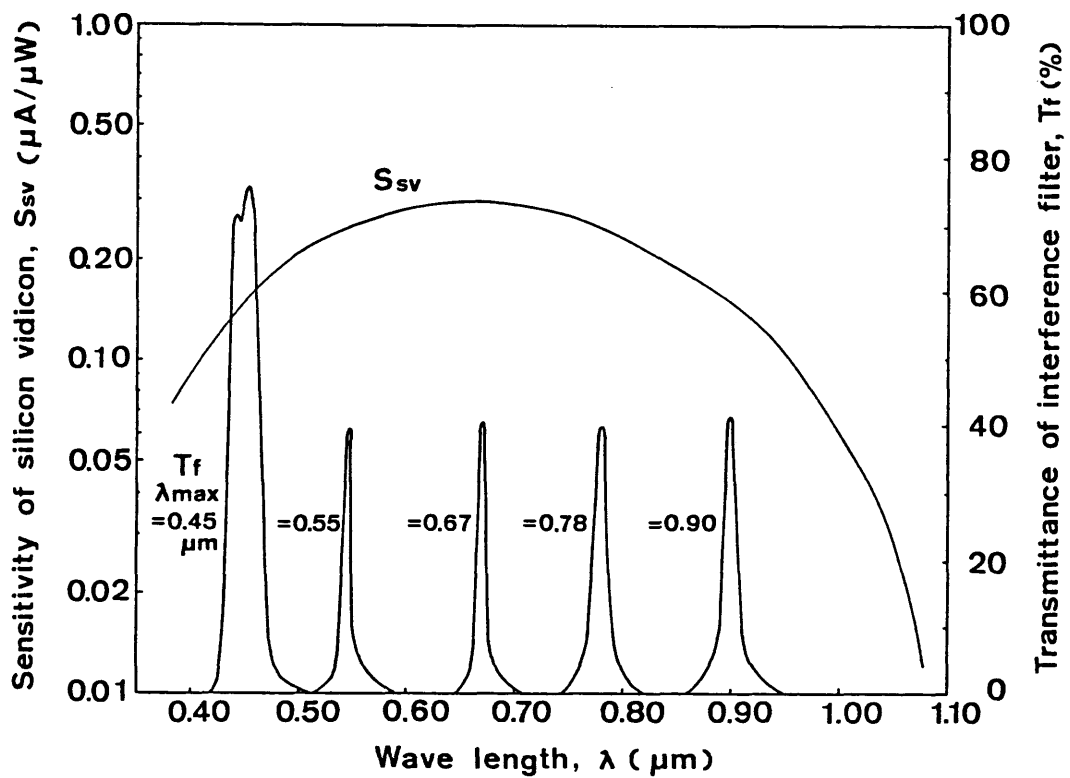


Fig.4.9 Spectral characteristics of silicon vidicon camera and interference filter.

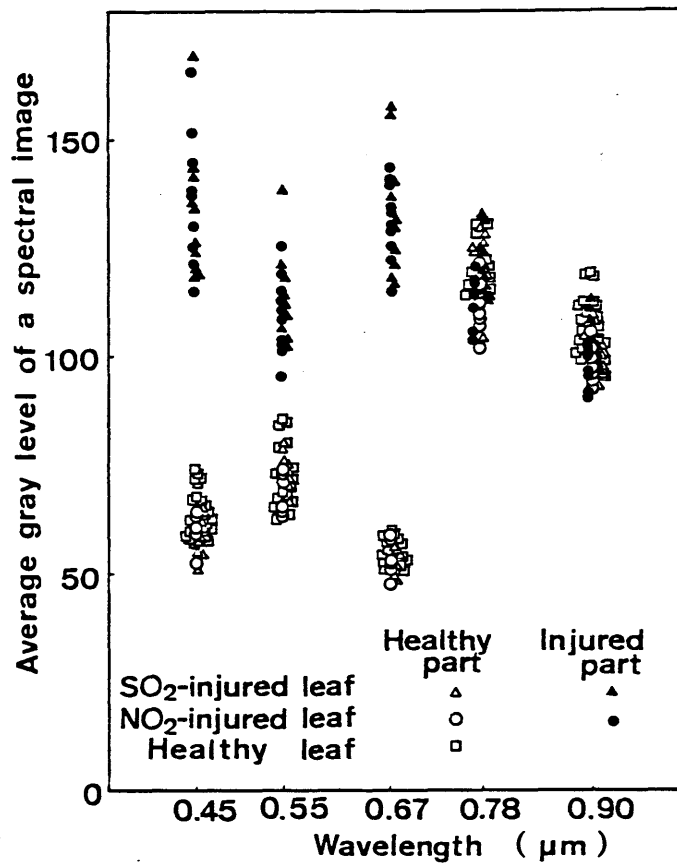


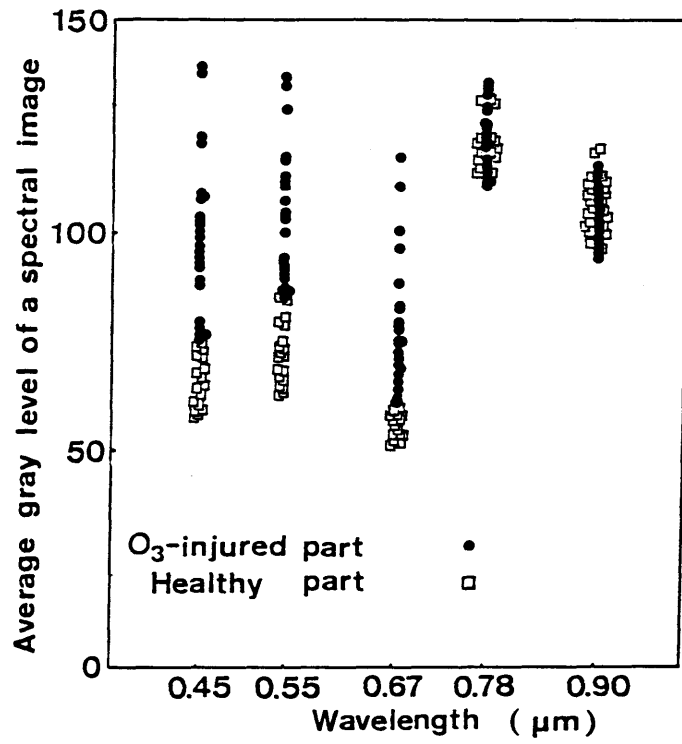
Fig.4.10 Spectral characteristics of the average gray levels of healthy, SO₂-injured and NO₂-injured parts of sunflower leaves. These data were measured by the silicon vidicon camera with filters shown in Fig.4.9.

域と被害領域に二値化し、葉面積に対する被害領域の面積比を求めることにより評価できることを示している。この場合、スペクトル帯域は、正常領域および被害領域の濃度平均値の差が大きく、正常領域の標準誤差が小さい $0.67\mu\text{m}$ 帯域が最も有効である(Table 4.1)。二値化のための閾値濃度 G_{sh} は、 $0.67\mu\text{m}$ の帯域の正常領域の濃度平均値 G_{av} および標準誤差 G_{se} から $G_{sh} = G_{av} + 4G_{se}$ で与えるとよい。この場合、 $G_{av} = 53.5$ 、 $G_{se} = 3.7$ であるので $G_{sh} \simeq 70$ である。

他方、 O_3 被害葉の場合は、 SO_2 や NO_2 被害葉のように、被害領域と正常領域が二値的に分かれるのではなく、斑点状の障害として出現するので、被害領域の面積比を指標とした評価よりは、スペクトル画像の濃度平均値を指標とした方が有効である(Fig.4.11)。このような障害は、植物色素の分解により起こり、その主要色素の一つはクロロフィルである。そこで、ヒマワリ試料葉の全クロロフィル含有量 C_{hi} と種々の帯域のスペクトル画像の濃度平均値 G_{av} あるいはバンド比 B_r との関係性を調べた。Fig.4.12は、 C_{hi} と G_{av} の関係性である。 $0.55\mu\text{m}$ の帯域で C_{hi} と G_{av} に線形関係があることがわかる。クロロフィルは、 $0.67\mu\text{m}$ の帯域に特有の吸収帯があることが知られている。しかし、この帯域ではクロロフィル含有量が少ない場合 ($10\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$) には、近似的に線形関係を示すが、それ以上だとランバート・ベールの法則からも理解できるように線形関係を保持しない。このことは、 $0.45\mu\text{m}$ の帯域においてもいえる。このため、反射の大きい $0.55\mu\text{m}$ の帯域の方が有効となる。 $0.78\mu\text{m}$ と $0.90\mu\text{m}$ の帯域ではクロロフィル含有量とまったく相関がない。Table 4.2 に C_{hi} と G_{av} あるいは B_r との相関関係を示す。最も相関が高いのは、 $B_r = 0.55/0.90$ の場合で、相関係数は -0.95 、回帰直線は、 $C_{hi} = -69.6 B_r + 82.6 (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$ で与えられた。なお、この回帰直線をもとにクロロフィル含有量を推定する際の標準誤差は $4.2\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ である。バンド比を求めた方が相関係数が高くなるのは光源や画像センサーに原因するデータのばらつきを二波長の画像の比をとることにより補正できるからである(Fig.4.13)。ここでの結果から、この補正のための波長として $0.90\mu\text{m}$ が有効であることがわかった。以上の結果から O_3 被害葉の障害の程度は、 $B_r = 0.55/0.90$ で求めた回帰直線

Table 4.1 Mean value and standard error of gray levels of all SO₂- and NO₂-injured and healthy parts at each band of 0.45, 0.55 or 0.67 μm .

Wavelength μm	Healthy part		Injured part	
	Mean value	Standard error	Mean value	Standard error
0.45	61.3	6.2	134.4	18.9
0.55	71.9	7.1	111.9	11.7
0.67	53.5	3.7	132.3	15.5



g.4.11 Spectral characteristics of the average gray levels of healthy and O₃-injured parts of sunflower leaves.

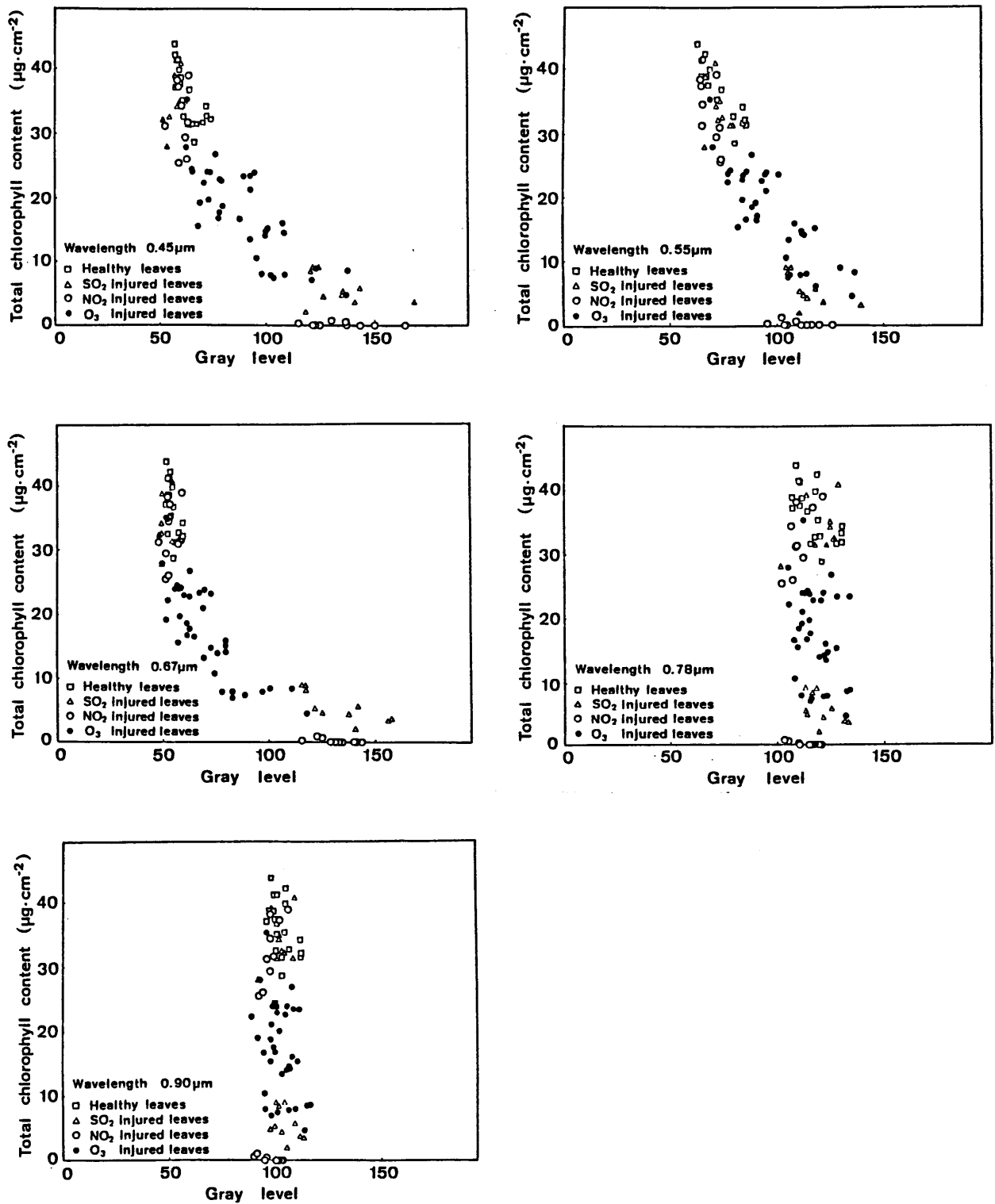


Fig.4.12 Relationships between total chlorophyll content and gray level at different spectral images.

Table 4.2 Correlation coefficient and standard error which indicate the relationship between total chlorophyll contents of healthy and O₃-, SO₂- and NO₂-injured parts and the average gray levels of the spectral images or the band ratios of the images.

Wavelength of image or band ratio	Correlation coefficient	Standard error
0.45 μm	-0.91	5.6 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
0.55	-0.89	6.1
0.67	-0.87	6.7
0.78	-0.09	-
0.90	0.03	-
0.45/0.90	-0.93	5.1
0.55/0.90	-0.95	4.2
0.67/0.90	-0.88	6.4
0.78/0.90	-0.20	-
0.45/0.78	-0.91	5.7
0.55/0.78	-0.91	5.8
0.67/0.78	-0.86	6.9
0.45/0.67	0.16	-
0.55/0.67	0.60	10.9
0.45/0.55	-0.78	8.5

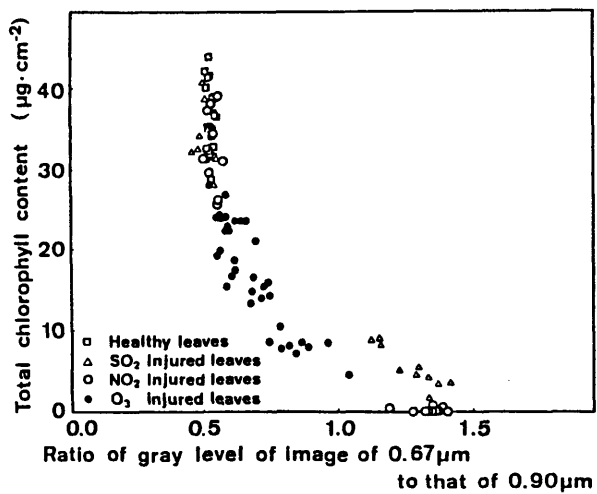
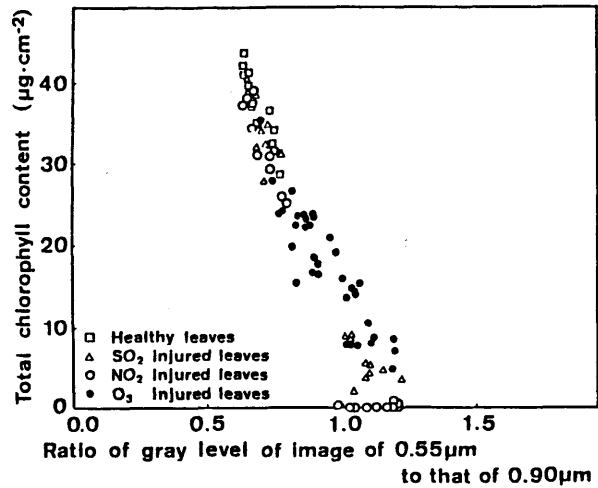
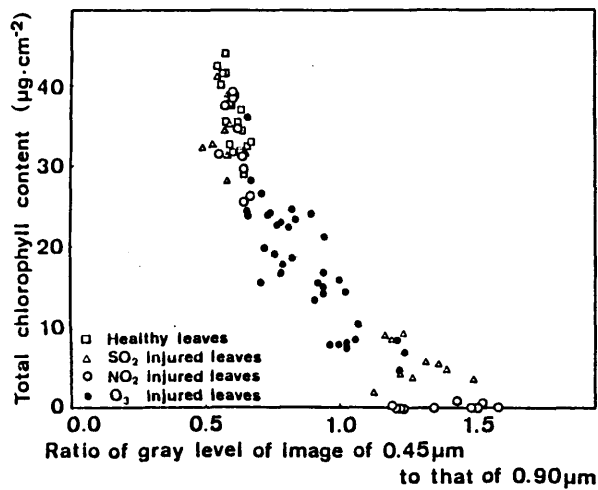


Fig.4.13 Relationships between total chlorophyll content and band ratio of different spectral images.

により被害葉のクロロフィル含有量を推定し、正常葉の平均含有量(ヒマワリで $36.1\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 、標準誤差 $4.3\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) に対する比から評価できる。なお、 C_{hi} と B_r との回帰直線は植物の種類により異なるので、前もって求めておく必要がある。

一般に、病虫害、生理障害、環境汚染などにより生じる壊死状可視害は、上記の二つの症状が混合している場合が多い。それゆえ、現場では、ここで述べた二つの手法を併用することが必要であろう。

4.5 水滲状可視害の画像計測

汚染ガスに被曝した植物の可視害は、水滲、萎れといった初期状態から、ネクロシス、クロロシスといった壊死状可視害へと進行する。ここでは、鏡面反射スペクトル画像計測により、可視害の最も初期の段階である水滲状態を検出する手法について検討した。

水滲は、汚染ガスに原因して、細胞の浸透圧や細胞膜の透水性が増大することにより、葉の表面に水が滲出し、光沢が生じる現象である。この現象は、傾めから観察すると表面の水の鏡面反射により認識することができる。そこで、計測対象とする植物葉を、葉形にくり抜いたプラスチック板に接着固定し、光照射角度およびカメラ角度を葉面に対して、それぞれ約 30° に設定し検出することを試みた(Fig.4.14)。カメラヘッドの前に装着する干渉フィルターの帯域と偏光フィルターの角度は、水滲が発現した状態で、Fig.4.14のカメラヘッドの代わりにミラー集光器を取り付けたスペクトロラジオアナライザーで測定した。その結果を Fig.4.15に示す。この図の縦軸は、汚染ガスに被曝する前の葉面反射に対する水滲発現時の反射の増加率で表わされており、増加率が大きい方が、水滲検出に適していることを意味している。この結果から、干渉フィルターは、クロロフィルの吸収に関係する $0.67\mu\text{m}$ の帯域、また、偏光フィルターは偏光角が 0° の場合が

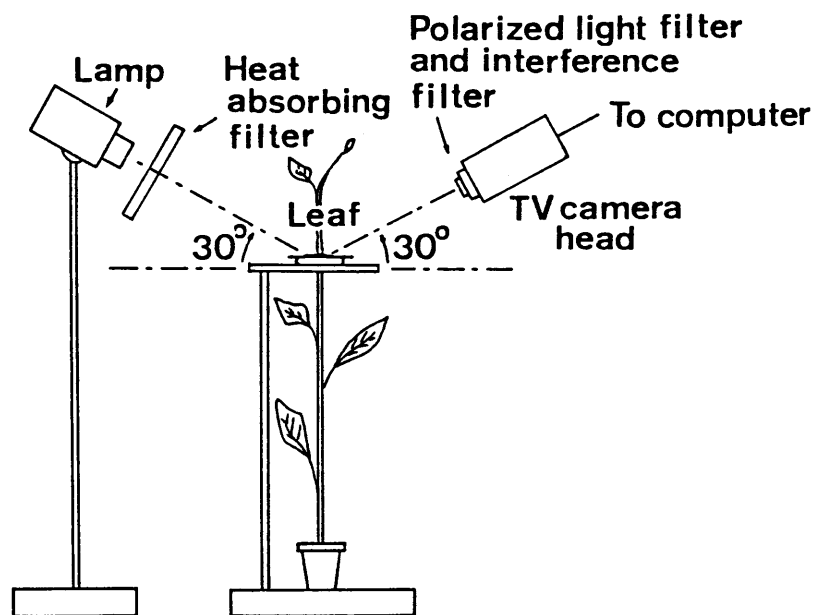


Fig.4.14 Schematic diagram for image instrumentation of polarized spectral reflection.

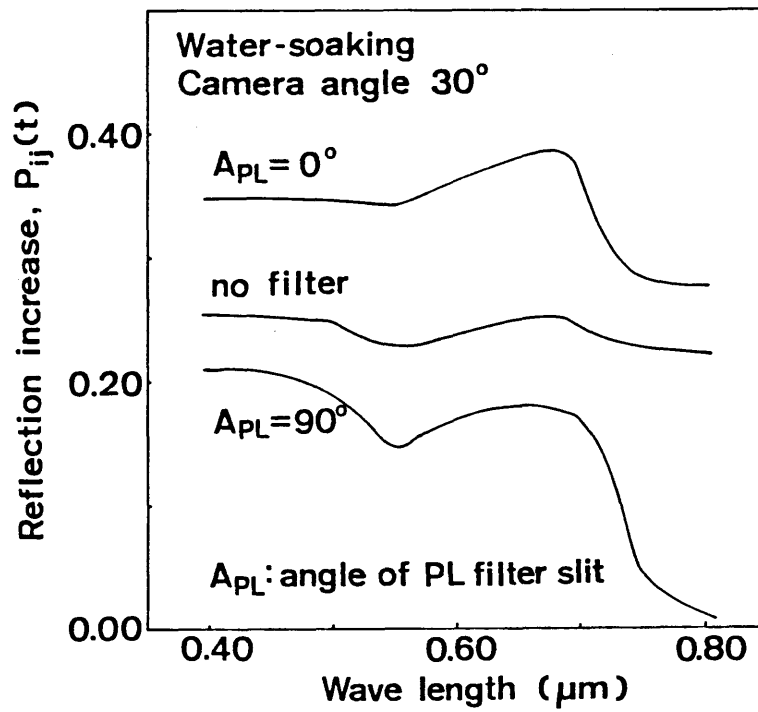


Fig.4.15 Spectral characteristics of reflection increase $P_{ij}(t)$ in water-soaking stage.

最も有効であることがわかる。Fig.4.16に用いた TV カメラの撮像管（カルニコ）と干渉フィルターのスペクトル特性を示す。計測された偏光スペクトル画像は、以下の手順に従って処理した。

葉の鏡面反射の濃淡画像を S 、 S の中の画素 (i, j) の濃度値を S_{ij} とする。各画素での正常葉に対する被暴葉の反射の増加率 $P_{ij}(t)$ を次式で与える。

$$P_{ij}(t) = [S_{ij}(t) - S_{ij}^0] / S_{ij}^0 \quad (4.1)$$

ここで、 S_{ij}^0 、 t は、それぞれ、汚染ガス暴露前の正常葉の各画素での濃度値、暴露開始後の経過時間である。 $P_{ij}(t)$ が P_{Sh} 以上の領域を障害発現領域と定義すると、障害発現領域の画素数 $N(t)$ は、

$$N(t) = \sum n_{ij}(t), \quad (4.2)$$

ここで、

$$n_{ij}(t) = \begin{cases} 1 & : P_{ij}(t) \geq P_{Sh} \\ 0 & : P_{ij}(t) < P_{Sh} \end{cases}$$

さらに、葉全域の画素数を A とすると、葉の障害発現領域の面積比は、

$$K(t) = N(t) / A \quad (4.3)$$

となる。また、葉の障害発現領域の反射の平均増加率 $X(t)$ は次式で与えられる。

$$X(t) = [\sum n_{ij}(t) P_{ij}(t)] / \sum n_{ij}(t) \quad (4.4)$$

計測された鏡面反射画像 $S_{ij}(t)$ には、葉面の各部位の反射角や光源からの距離の違いにより濃度値にばらつきが生じる。この問題は、障害発現領域を求める

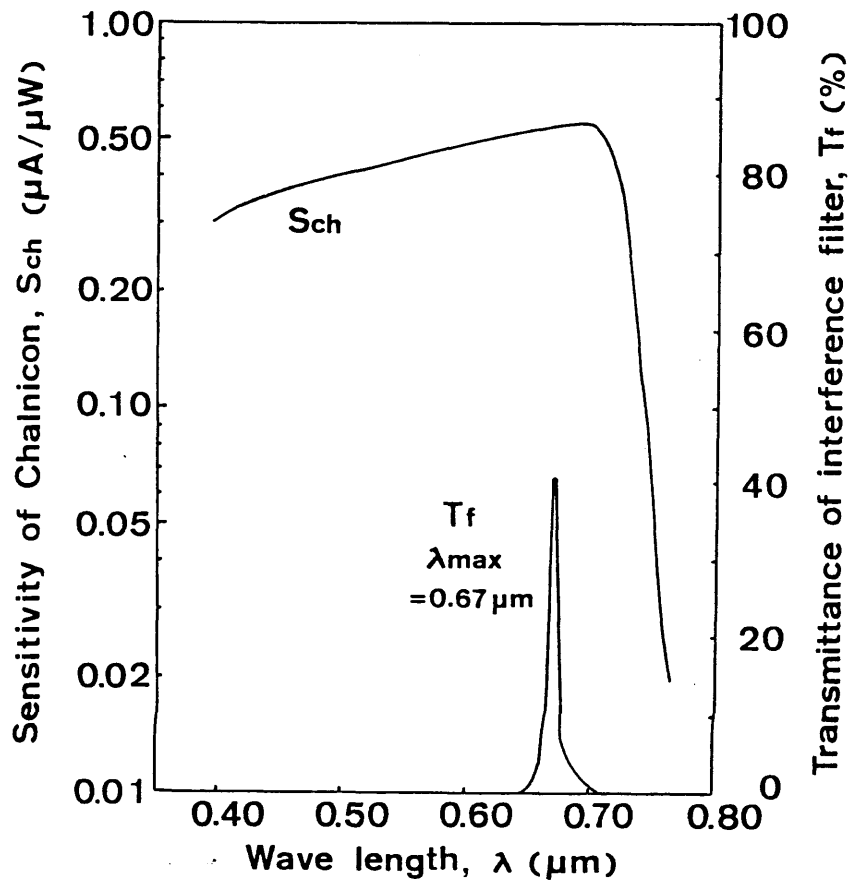


Fig.4.16 Spectral characteristics of Chalnicon and interference filter.

ことを困難にするが、式(4.1)で定義される反射の増加率という指標を導入することにより改善される(Fig.4.17)。Fig.4.17の $P_{ij}(0)$ において $K(0)$ が 1%以下になるような P_{sh} は 0.2である。そこで、 $P_{ij}(t) \geq 0.2$ の領域を障害の発現領域と定義する。Fig.4.18に $P_{ij}(t)$ 画像と抽出された水滲発現領域の例を示す。

鏡面反射の画像処理については、江口ら(8)により、偏光画像レフレクタンスで障害を評価する手法が提案されている。しかし、この手法は、反射特性の補正が行なわれておらず、また、水滲の検出を目的としたものではない。ここで述べた手法は、汚染ガスによる可視障害の初期症状である水滲の検出とその程度の評価に有効であった。

4.6 結言

本章では、葉面の壊死状可視害と水滲状可視害のスペクトル画像計測のための計測システムとその処理手法について述べた。

壊死状可視害の程度の自動計測には、 $0.67\mu\text{m}$ の帯域のスペクトル画像により、葉面積に対する被害領域の面積比を求める手法と、 $0.55\mu\text{m}$ と $0.9\mu\text{m}$ のスペクトル画像のバンド比からクロロフィル含有量を推定する手法とを併用することが有効であることがわかった。一方、水滲状可視害の検出には、 $0.67\mu\text{m}$ の帯域で偏光フィルターの角度を 0° として鏡面反射を画像計測する手法が有効であった。また、式(4.1)で定義される反射の増加率を指標とすることにより、葉面の各部位の反射角や光源からの距離の違いにより生じる反射特性のばらつきを補正することができ、水滲発現領域を正確に抽出することができた。

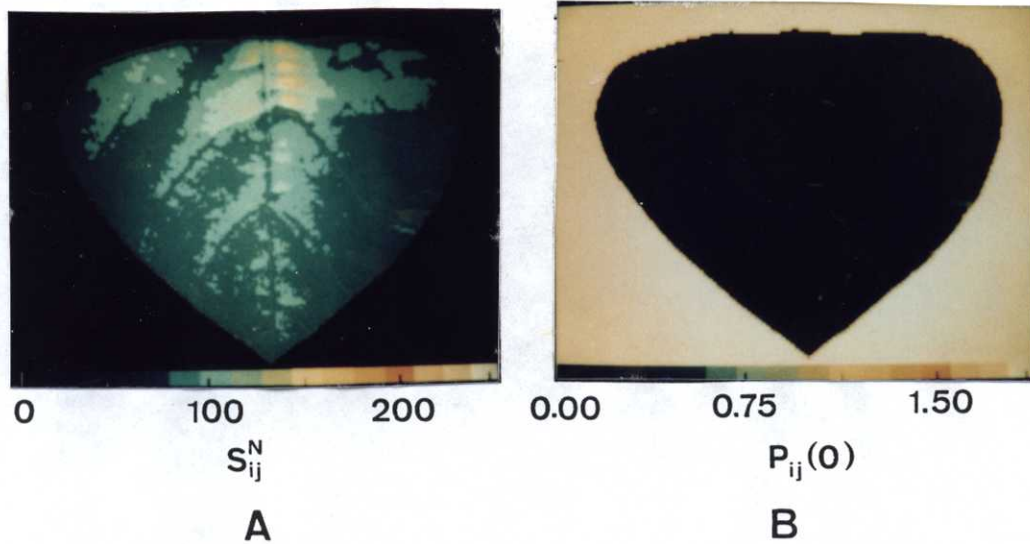


Fig.4.17 Polarized reflection image before SO_2 exposure (A) and improved image (B).

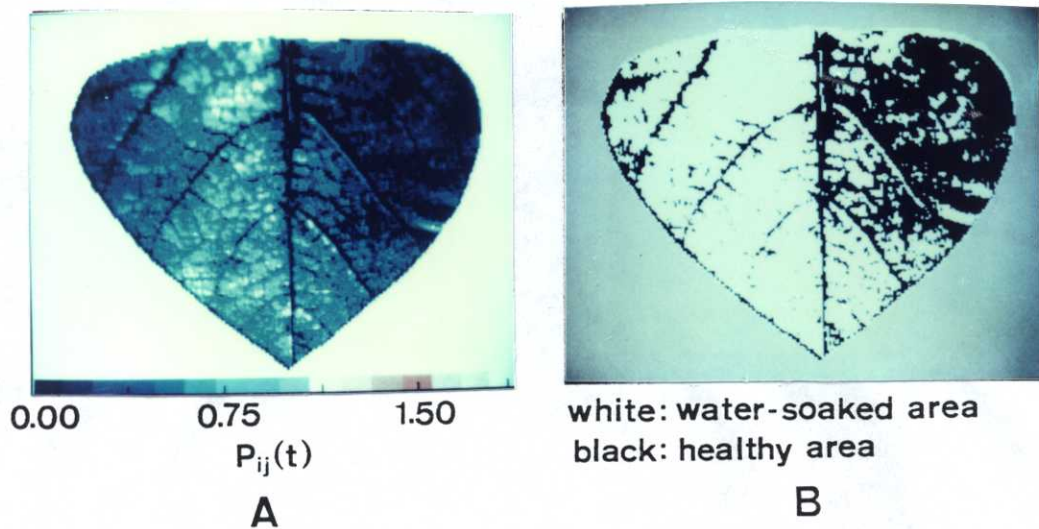


Fig.4.18 Water-soaked area (B) extracted from an image of reflection increase (A).

参考文献

1. Omasa, K., I. Aiga and Y. Hashimoto (1983) Image instrumentation for evaluating the effects of air pollutants on plants. In Technological and Methodological Advances in Measurement, Vol.3 (Ed. by G. Striker, K. Havrilla, J. Solt and T. Kemeny) p.303-312 North Holland Publishing Co., Amsterdam
2. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1984) Image instrumentation of plants exposed to air pollutants (4) Methods for automatic evaluation of the degree of necrotic and chlorotic visible injury. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., Jpn. 66:99-105
3. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1984) Image instrumentation of plants exposed to air pollutants (5) Evaluation of early visible leaf injury by polarized spectral reflection image. Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud., Jpn. 66:107-112
4. Omasa, K. and I. Aiga (1985) Image instrumentation for evaluating the effects of environmental pollution on plants. In Encyclopedia of Systems and Control. (Ed. by M. Singh) Pergamon Press, Oxford. (in press)
5. Chester, K.S. (1959) How sick is the plant? In plant Pathology, Vol.1 The Diseased Plant. (Ed. by J.G. Horsfall and A.E. Dimond) p.99-142 Academic Press, New York

6. Jacobson, J.S. and A.C. Hill (ed.) (1970) Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: A Pictorial Atlas. Air Pollution Control Association, Pittsburgh
7. Mudd, J.B. and T.T. Kozlowski (ed.) (1975) Responses of Plants to Air Pollution. Academic Press, New York
8. Eguchi, H., M. Hamakoga and T. Matsui (1982) Digital image processing in polarized light for evaluation of foliar injury. Environ. Exp. Botany. 22:277-283

第5章 汚染ガス影響の診断への応用 (1-6)

5.1 緒言

大気汚染の植物影響に関する研究は、生理・生化学のレベルから作物学や生態学のレベルまで幅広く行なわれている (7-9)。そして、これらの研究によって得られた知見が、汚染ガス影響の診断に利用されている。しかし、汚染ガスにより生じる植物体内での生理・生化学的な反応と個体レベルで現われる症状を結びつけることはなかなか困難であった。例えば、葉面に発現する壊死状可視害の症状は、第4章で述べたように汚染ガスの種類により異なるが、その原因は、説明する手段がなかったために明らかにされていなかった。また、汚染ガスに対する気孔反応についてもわかっていないことが多い。ここでは第4章までに述べた画像計測法が、これらの問題の解明に有効であることを示す。そして、また、植物個体を対象とした汚染ガスの影響度を診断するための客観的なデータを提供することを示す。

5.2 汚染ガスに対する気孔反応の評価への応用

1) 気孔開度と気孔コンダクタンスとの関係

熱赤外画像計測により得られた気孔拡散抵抗が、実際の気孔開度とどのような関係にあるかを調べた。まず、正常な植物葉の表裏の気孔の開口幅と気孔コンダクタンス ($1/\text{気孔拡散抵抗}$) との関係を図5.1に示す。実験は、まず、葉の1.5cmφの領域の約35個の気孔を顕微画像計測システムを用いて観察し、即座にその領域の気孔コンダクタンスをポロメーターを用いて測定した。これを、同じ

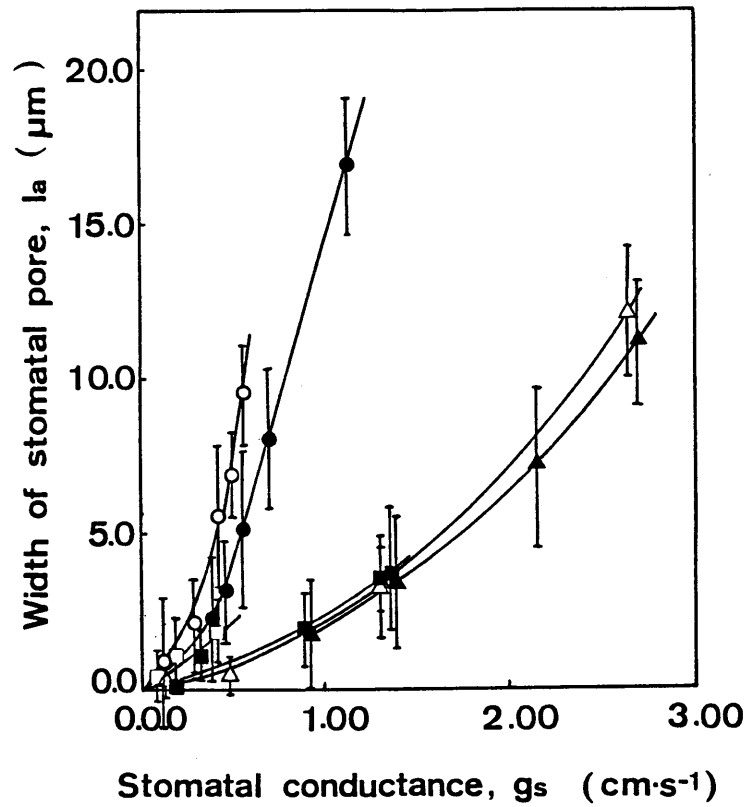


Fig.5.1 Relationships between l_a 's of the stomata of adaxial or abaxial epidermis of various intact plants and their stomatal conductances (g_s). Symbols represent mean values of the l_a and vertical bars indicate \pm standard error. \circ , broad bean adaxial epidermis; \bullet , broad bean abaxial epidermis; \triangle , sunflower adaxial epidermis; \blacktriangle , sunflower abaxial epidermis; \square , tomato adaxial epidermis; \blacksquare , tomato abaxial epidermis.

領域を対象として、光強度を変えて繰り返した。同じ領域で測定した気孔の開口幅の平均値と気孔コンダクタンスのあいだには、正の相関関係が認められた。しかし、その回帰曲線は、植物の種類や表裏の違いにより異なっていた。Table. 5.1 に、Fig.5.1 に示した領域での気孔の密度と気孔の開口長の平均値を示す。密度と開口長が大きい値をもつ植物ほど気孔コンダクタンスの最大値も大きかった。

次に、汚染ガス (SO_2) に被曝したヒマワリの気孔の開口幅と気孔コンダクタンスとの関係をFig.5.2 に示す。実験は、Fig.5.1 の場合と同様の方法で、ある領域での関係を光強度を変えて測定し、その後、一定の光強度の下で SO_2 を暴露し、同じ領域での関係を調べた。水滲や萎れなどの障害が現われるまでは、光強度を変えた場合と同じ回帰曲線上にあったが (A)、障害の発現後は、一致しなかった (B)。

以上の結果から、熱赤外面像計測により得られた気孔拡散抵抗は、通常の生育時あるいは、汚染ガス暴露下でも障害の発現前までは、気孔反応の指標として有効である。しかし、障害発現後は、直接観察によらざるえないことがわかった。

2) 汚染ガスに対する気孔反応

熱赤外面像計測により得られたヒマワリ葉の気孔拡散抵抗の葉面分布の SO_2 による変化の例をFig.5.3 に示す。 SO_2 暴露前に $0.4\sim 1.4 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ であった気孔拡散抵抗が、 SO_2 暴露後 5分以内に増加し始め、60分で $0.7\sim 3.2 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ になった。葉脈の近くは、葉肉部分に比べて、概して気孔閉鎖が早かった。このことは、 SO_2 に対する気孔の感受性が葉の部位により異なることを示しており、興味ある知見である。なお、60分の SO_2 暴露期間中、葉面に可視障害は現われなかった。

Fig.5.4 は、 SO_2 暴露により可視害が生じない領域の気孔反応を顕微画像計測により直接観察した例である。約60分の SO_2 暴露で、気孔は単調に閉鎖した(a~c)。暴露終了後、気孔は一時的に完全に閉じたが(c~d)、その後、ゆっくりと元

Table 5.1 Density of stomata (n_s) and mean value of $l_{bmax}[E(l_{bmax})]$ in the same areas as Fig.5.1.

Plant species	Kinds of epidermis	Density of stomata (n_s) (pieces/mm ²)	Mean value of $l_{bmax}[E(l_{bmax})]$ (μm)
Sunflower	adax	86.6	30.1
	abax	76.8	35.9
Broad bean	adax	17.7	31.1
	abax	34.7	31.9
Tomato	adax	24.8	11.6
	abax	77.8	14.5

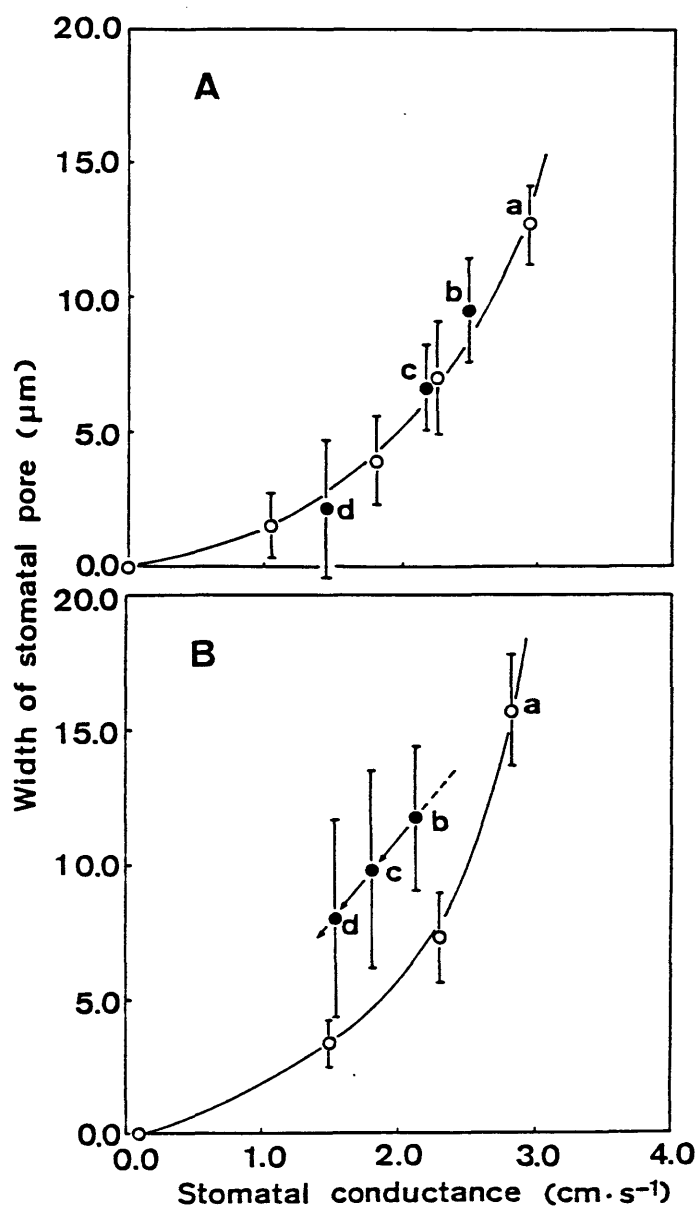


Fig.5.2 Relationships between widths of the stomatal pore in undamaged and damaged regions and their stomatal conductances. A, undamaged region; B, damaged region. ○, data measured at different light intensities before SO₂ exposure; ●, data after the exposure. (a) to (d) show time courses after the exposure in order. Environmental conditions: air temperature, 25.0°C; relative humidity, 60%; light intensity, 600 μE·m⁻²·s⁻¹ during exposure to SO₂; SO₂ concentration, 1.0 μl·l⁻¹ (A) and 2.0 μl·l⁻¹ (B).

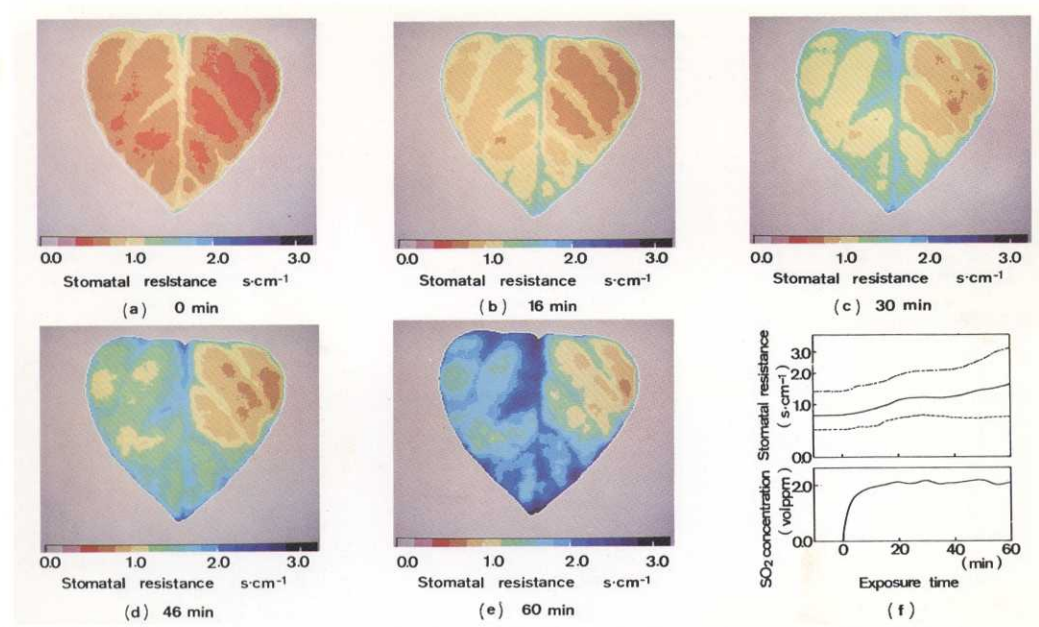


Fig.5.3 Changes in distribution of stomatal resistance to water vapor diffusion on a leaf during exposure to ca. 2 volppm SO₂. (a) to (e) show distribution patterns of the stomatal resistance at given periods of exposure. (f) shows changes with time of maximum (---), minimum (-----) and mean (—) stomatal resistances and SO₂ concentration during the exposure. Environmental conditions: air temperature, 25.0°C; humidity, 62% RH; shortwave radiation, 2.37×10^{-3} cal·cm⁻²·s⁻¹; longwave radiation, 2.23×10^{-2} cal·cm⁻²·s⁻¹; illumination, 25 klx; boundary layer resistance to heat transfer, 1.5 s·cm⁻¹.

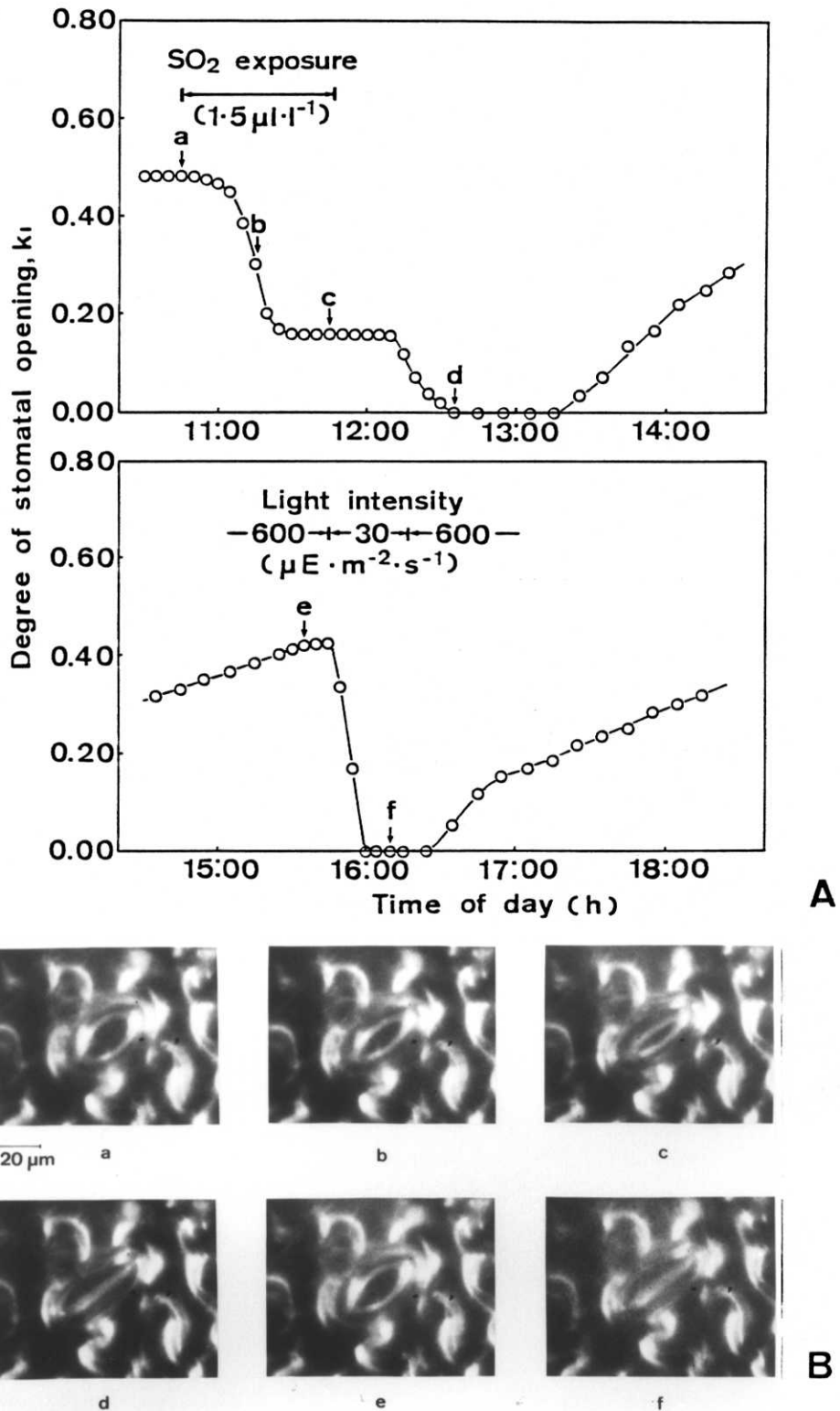


Fig.5.4 Typical response to SO_2 of a single stoma in the undamaged region. (a) to (f) in B correspond to time points ("a" to "f") in A. Environmental conditions: air temperature, $25.0^\circ C$; relative humidity, 60%; light intensity, $600 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$.

の状態まで回復した(d~e)。この状態の気孔は、光強度の変化に対して正常に反応し、通常の開閉機能を取り戻した。

他方、可視害が生じる場合の隣接した気孔の反応の例をFig.5.5 に示す。水滲の発現前、Fig.5.4 にみられたような気孔の単調な閉鎖ではなく、水滲の発現に関係して複雑な動きを示した。特に、発現の直前に一時的に気孔が開く現象がみられた。このような現象は、気孔の顕微画像計測によって始めて認識された。

5.3 可視害発現のメカニズム解明への応用

1) 可視害の進行の評価

汚染ガスにより発現する可視害は、まず水滲が発現し、その後、その部位が萎れ、ネクロシス、クロロシスへと進行することが知られている(7,10)。そこで、スペクトル画像計測の手法を用いてその進行の状態を調べた。Fig.5.6 に4.5 節で述べた手法により求めたSO₂ に被曝したヒマワリ葉における障害発現領域の面積比 $K(t)$ と障害発現領域の反射の平均増加率 $X(t)$ を示す。また、Fig.5.7 に可視害の各ステージの顕微鏡写真を示す。これらの写真は、それぞれ、Fig.5.6 の A~D の時点の状態に対応している。Fig.5.6 において、暴露後40分を経過した時点から急激に $K(t)$ が大きくなったことがわかる。これは、被曝に伴い葉面に水滲が急激に発現したことを示している。約70分の時点 (B)で、 $K(t)$ は最大値を示したが、その後、減少し(B~C)、一定値になった(C~D)。Fig.5.8 に、A~D の時点での抽出された可視害発現領域を表わす二値化画像を示す。なお、参考のために Fig.5.9に、Dの時点で撮影されたカラー写真を示す。以上の結果から、壊死状可視害の発現は、水滲の発現と密接に関係するが、水滲発現領域でも壊死状可視害に至らない領域があることが認識された。このことは、また、壊死状可視害の発現が水滲の程度と関係することを示している。

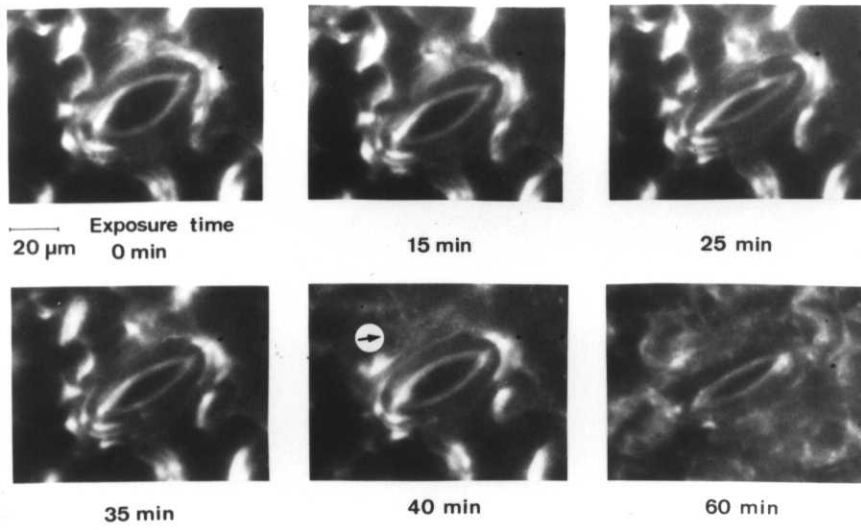
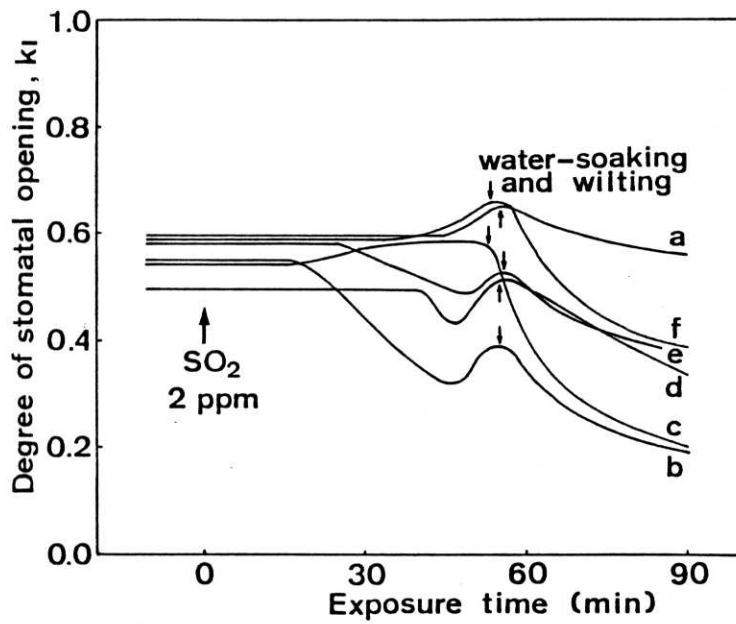


Fig.5.5 Stomatal responses to SO_2 in the damaged region. The arrows (\downarrow in A and \blacktriangleright in B) show when water-soaking began to appear. Environmental conditions were the same as those in Fig.5.4.

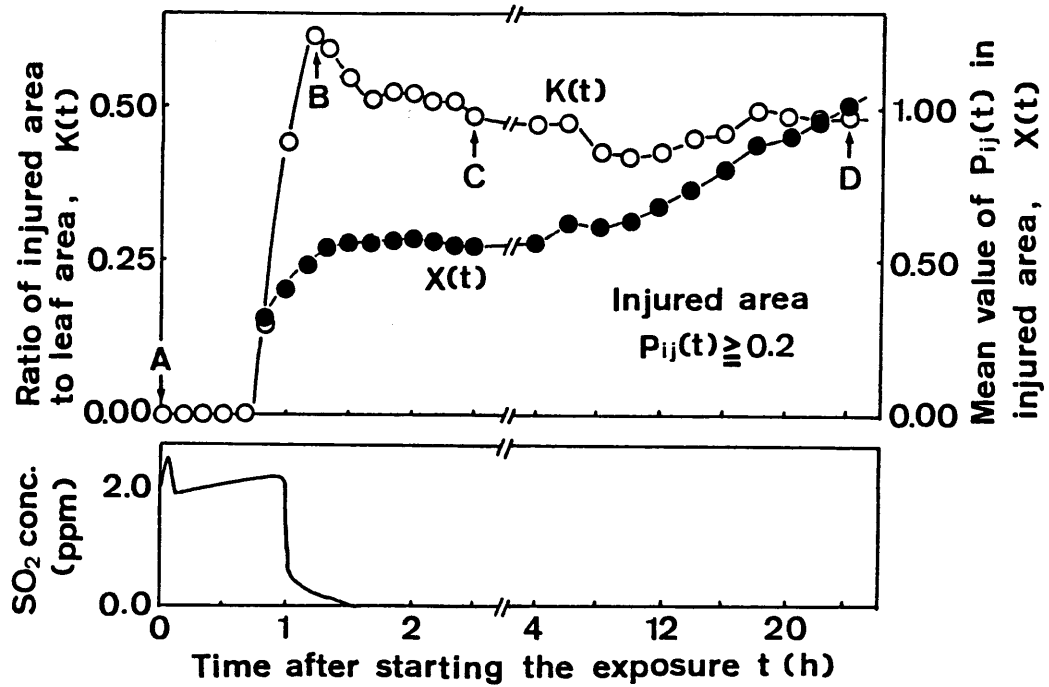


Fig.5.6 Changes in $K(t)$ and $X(t)$ of a leaf after the exposure to ca. 2 volppm SO_2 . Typical stage of visible leaf injury: A, health; B, water-soaking; C, wilting; D, necrosis and chlorosis.

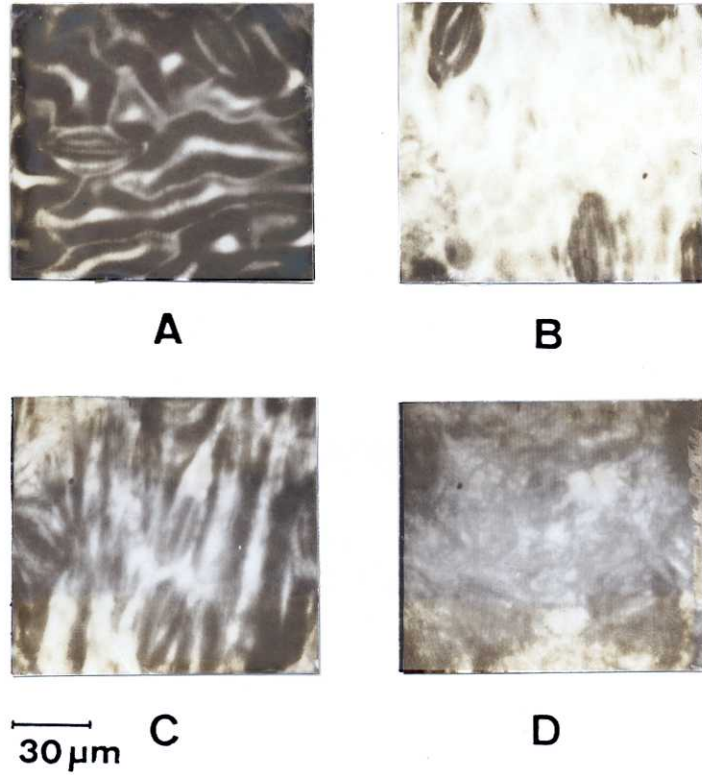


Fig.5.7 Microphotograph in each stage (A,B,C,D) shown in Fig.5.6

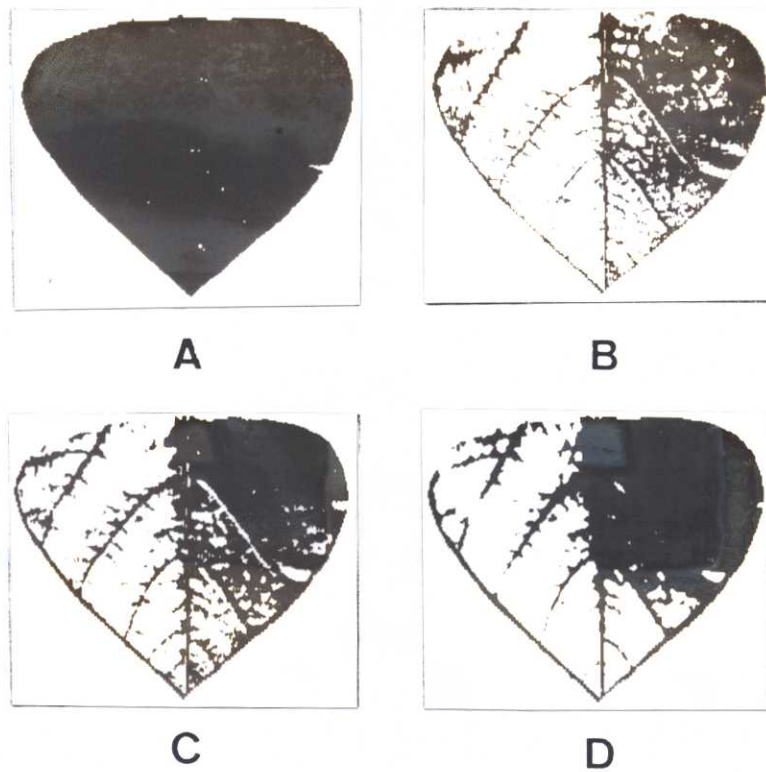


Fig.5.8 Two-valued image of the leaf divided into healthy area (black) and injured area (white) by $P_{sh}=0.2$ in each stage (A,B,C,D) shown in Fig.5.6.



Fig.5.9 Necrotic visible injury photographed one day later.

2) 葉位別可視害の評価

壊死状可視害の程度は、植物種、エイジ、生育環境、その他で異なることが知られている(7,10)。ここでは、ヒマワリ葉のエイジ、すなわち、葉位別可視害の程度を 4.4節で述べた手法を用いて評価した。Fig.5.10に、SO₂ に被暴したヒマワリ個体における葉位別の葉面積に対する被害領域の面積比を求めた例を示す。この結果は、上位葉に比べて下位葉に障害が発現していることを示している。Fig.5.11に、O₃ に被暴したヒマワリ個体の葉位別のクロロフィル含有量と正常葉に対する比を求めた例を示す。SO₂ の場合と同様、下位葉の方が上位葉に比べて可視害の程度が大きかった。

以上の結果は、SO₂ や O₃ に対する葉の抵抗性を調べる上で重要な知見を与える。壊死状可視害のスペクトル画像計測の手法の導入により、障害の程度の比較が客観的に行なえるようになった。

3) 汚染ガスの吸収と可視害発現との関係

葉面に発現する壊死状可視害の症状と汚染ガスの吸収との関係を熱赤外画像計測の手法を用いて検討した。Fig.5.12は、SO₂、NO₂、および O₃ に、それぞれ被暴したヒマワリ葉で、60分間に吸収された汚染ガスの積算吸収量と当該葉に暴露 1日後に発現する壊死状可視害を対比させたものである。SO₂ と NO₂ の場合は、積算ガス吸収量がある閾値をこえた部位に、急性の可視害が発現しているのがわかる。このことは、SO₂ および NO₂ については、ガス吸収を支配する気孔反応などの要因が、葉の可視害と密接に関係していることを示している。前述の水滲と壊死状可視害発現の関係を総合して考えると、ガス吸収が一定の閾値をこえた領域に水滲が発現し、その後、壊死状可視害に至ることがわかる。しかし、O₃ の場合には、積算ガス吸収量と可視害のあいだには必ずしも直接の関係がみられな

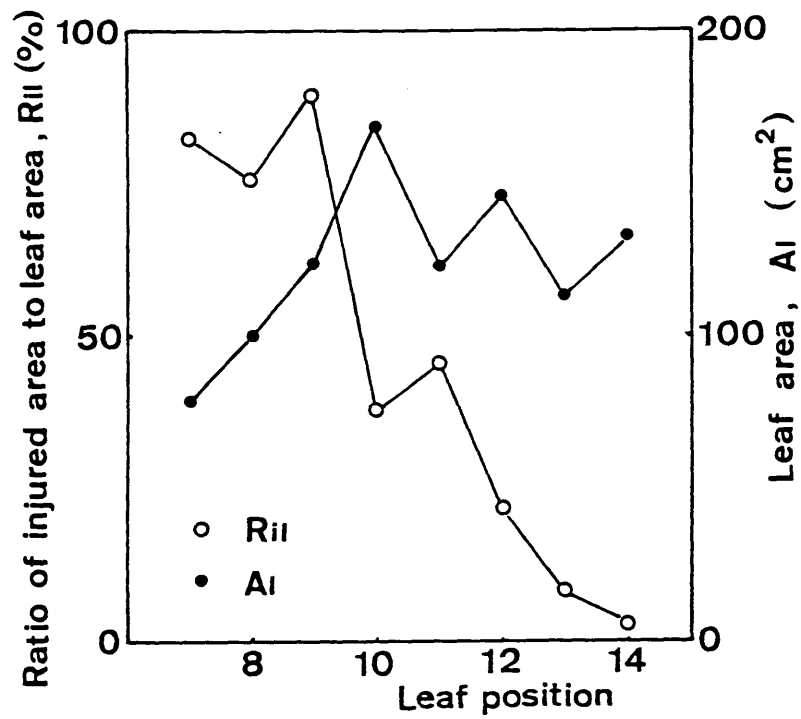


Fig.5.10 An evaluation of degree of visible injury in different leaf positions of a sunflower plant exposed to SO_2 .

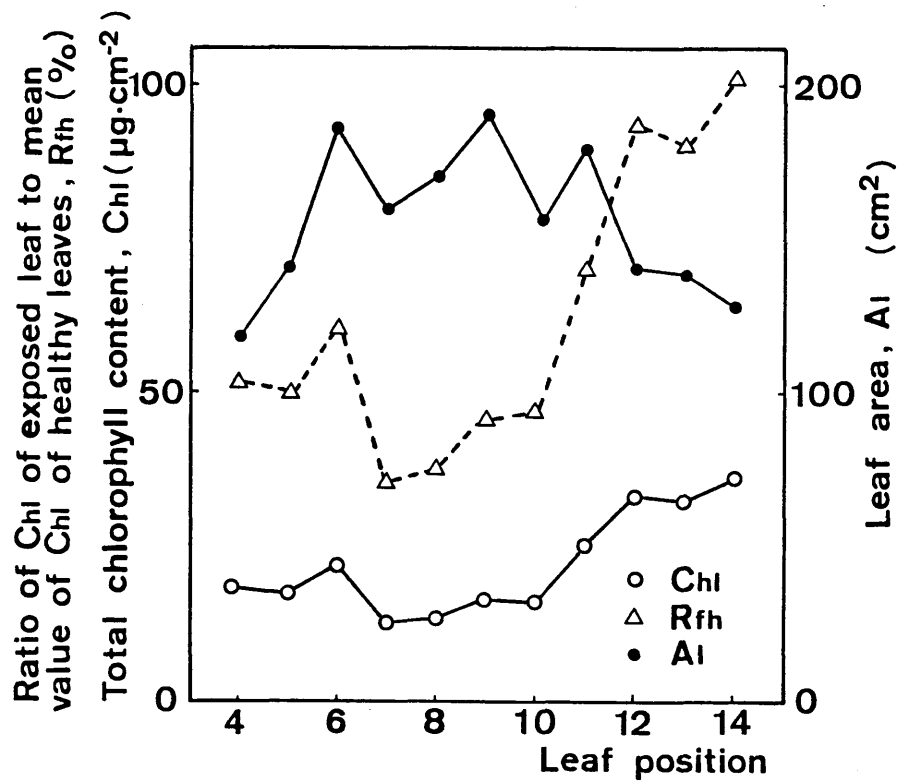


Fig.5.11 An evaluation of degree of visible injury in different leaf positions of a sunflower plant exposed to O₃.

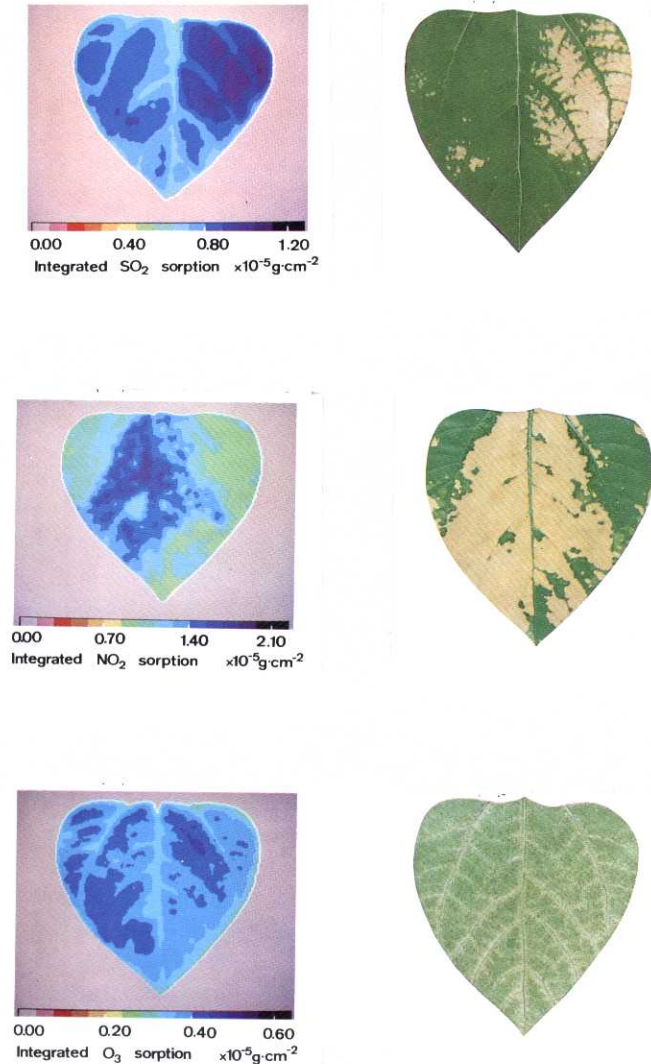


Fig.5.12 Relationships between spatial distributions of integrated sorptions of SO_2 , NO_2 and O_3 and the visible injuries photographed one day later. The exposures were carried out during 60 min. Environmental conditions: air temperature, 25.0°C ; humidity, 62% RH; shortwave radiation, $2.37 \times 10^{-3} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; longwave radiation $2.23 \times 10^{-2} \text{ cal}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; illumination, 25 klx; boundary layer resistance to heat transfer, $1.5 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$.

い。このことは、 O_3 による可視害の発現がガス吸収を支配する要因だけでなく、植物体内の他の何らかの生理的要因に影響されることを示している。

5.4 結言

本章では、前章までに述べた画像計測法が、汚染ガスの植物影響の診断に有効であることを示した。具体的には、汚染ガスに対する気孔反応について、影響の診断に利用できる新しい知見が得られた。また、可視害についても、 SO_2 と NO_2 で、ガス吸収量が、ある閾値をこえた部位に水滲が発現し、その後、壊死状可視害に至るという重要な知見が得られた。さらに、ガス吸収量を支配する要因の一つとして気孔反応が重要であることもわかった。ここで、述べた画像計測法は、また、汚染ガス吸収量や気孔反応、可視害障害などの、汚染ガスによる影響の定量的評価法として有効であった。

参考文献

1. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1981) A quantitative analysis of the relationships between SO₂ or NO₂ sorption and their acute effects on plant leaves using image instrumentation. Environ. Control Biol. 19:59-67
2. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1981) A quantitative analysis of the relationships between O₃ sorption and its acute effects on plant leaves using image instrumentation. Environ. Control Biol. 19:85-92
3. Omasa, K., I. Aiga and Y. Hashimoto (1983) Image instrumentation for evaluating the effects of air pollutants on plants. In Technological and Methodological Advances in Measurement. Vol.3 (Ed. by G. Striker, K. Havrilla, J. Solt and T. Kemeny) p.303-312 North Holland Publishing Co., Amsterdam
4. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1983) Observation of stomatal movements of intact plants using an image instrumentation system with a light microscope. Plant Cell Physiol. 24:281-288
5. Omasa, K., and M. Onoe (1984) Measurement of stomatal aperture by digital image processing. Plant Cell Physiol. 25:1379-1388
6. Omasa, K., Y. Hashimoto and I. Aiga (1984) Image instrumentation of plants exposed to air pollutants (5) Evaluation of early

visible leaf injury by polarized spectral reflection image.
Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud. Jpn. 66:107-112

7. Mudd, J.B and T.T. Kozlowski (ed.) (1975) Responses of Plants to Air Pollution. Academic Press, New York
8. Unsworth, M.H. and D.P. Ormrod (ed.) (1982) Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture. Butterworths, London
9. Koziol, M.J. and F.R. Whatley (ed.) (1984) Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism. Butterworths, London
10. Jacobson, J.S. and A.C. Hill (ed.) (1970) Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: A Pictorial Atlas. Air Pollution Control Association, Pittsburgh

第6章 結論

本論文は、植物の生育・生理反応に関係する情報の中で特に重要な葉温、気孔反応、蒸散、ガス吸収、色素含有量、水滲、細胞の変形などを評価するための画像計測法に関する研究である。以下に、本論文の各章を要約する。

第1章は「緒論」であり、本研究を実施するにいたった背景、経緯、意義、および研究の課題について述べた。また、論文の構成を明らかにした。

第2章は「植物葉の熱赤外画像計測」と題し、第2.1節で植物葉の熱赤外画像計測の意義や背景について述べた。第2.2節では、熱赤外画像計測システムの概要について述べ、温度分解能、画像分解能、画像の均一性、ドリフトなど計測システムの特徴について検討した。第2.3節では、このシステムを用いて葉温を計測する際の原理と精度について検討した。また、実際に植物群落の葉温分布を計測し、通常の生育環境下での葉温と環境との関係について述べた。第2.4節では、葉面の熱およびガス輸送に関する理論的検討を行ない、葉温画像から気孔開度の指標である気孔拡散抵抗、蒸散速度、ガス吸収速度などの生体情報の葉面分布を推定するモデルについて検討した。第2.5節では、実際に蒸散速度および気孔拡散抵抗の葉面分布を計測する方法について検討した。具体的には、熱赤外画像計測システムを用いて、葉面の境界層抵抗や放射を正確かつ簡単に測定でき、一定に調節する方法について論じた。また、推定モデルを解くために必要なその他のパラメータを実験的に検討するとともに、蒸散速度と気孔拡散抵抗の葉面分布の測定精度について論じた。第2.6節では、実際に、汚染ガス吸収速度の葉面分布を計測する方法について検討した。具体的には、付録Bに詳述する方法により測定した植物の汚染ガス吸収速度と重量測定により得られた蒸散速度との関係を第2.4節で述べた推定モデルを用いて検討した。そして、植物は、障害が発現するまでは SO_2 、 NO_2 、 O_3 などの主要な汚染ガスを体内で十分に代謝する能力を有し、推定モデルの境界条件としての気孔底界面でのガス濃度を零と仮定できる

ことを示した。そして、これらの実験的検討により得られた結果に基づいて汚染ガス吸収速度の葉面分布を推定した。第2.7節では、第2章で得られた結論を要約した。

第3章は、「気孔の非破壊顕微画像計測」と題し、第3.1節で気孔の非破壊顕微画像計測の意義や背景について述べた。第3.2節では、植物が生育している環境での気孔開閉運動を連続的に観察するために開発した遠隔操作の顕微画像計測システムの概要について述べた。第3.3節ではシステムの画像解像度、感度、その他の特性について検討した。また、実際に光照射に対する気孔反応の連続観察を行ない、操作性や実用性についても検討した。第3.4節では、TVモニターを撮影して得られた気孔の写真（ネガフィルム）を画像処理し、気孔開度を測定する手法について検討した。具体的には、TV走査線の除去と気孔の輪郭が不鮮明な場合の画像強調のためのフーリエ変換によるフィルター処理、二値化処理の閾値の標準化、主成分分析を用いた気孔のPoreの長さや幅の測定などについて論じた。また、この手法の精度について、種々の開度や画質の異なる試料を用いて検討した。第3.5節では、第3章で得られた結論を要約した。

第4章は、「葉面可視害のスペクトル画像計測」と題し、第4.1節で、葉面可視害のスペクトル画像計測の意義や背景について述べた。第4.2節では、可視から近赤外に感度をもつTVカメラに干渉フィルターを装着したスペクトル画像計測システムの概要について述べた。第4.3節では、生育している植物の葉の近紫外から近赤外領域（分光器の分光範囲、0.25～2.5 μm ；積分球アタッチメント使用時、0.4～1.8 μm ）の分光反射率や透過率を簡単に測定するために開発したスペクトロラジオアナライザーの概要について述べ、さらに実際に葉の分光特性を測定する際の問題点を検討した。第4.4節では、壊死状可視害の程度を評価するための画像計測法の検討を行なった。具体的には、正常葉と被害葉の分光特性の違いから、壊死状可視害葉では、植物色素の一つであるクロロフィルが分解していることを示した。この知見に基づき、実際にTVカメラを用いてクロロフィル含有量を計測するための撮像管や干渉フィルターの選定を行なった。また、

葉の可視害領域と正常な領域を識別し、その面積比を求める手法についても検討した。第4.5節では、正常葉と水滲発現葉の偏向反射特性に基づき、葉の水滲検出のための鏡面偏向スペクトル画像計測法の検討を行なった。その中で、水滲計測の精度を高めるための画像処理手法について論じた。第4.6節では、第4章で得られた結論を要約した。

第5章は、「汚染ガス影響の診断への応用」と題し、第5.1節で、第4章までに述べた画像計測法のこの分野への応用の意義や背景について述べた。第5.2節では、気孔開度の指標である気孔コンダクタンス(1/気孔拡散抵抗)と実際の気孔開度との関係を種々の植物葉や障害発現状態について求め、第2章で述べた気孔拡散抵抗の画像計測法の有効性を確認するとともに、直接観察の併用の必要性を論じた。また、汚染ガスに対する気孔反応について、熱赤外画像計測および顕微画像計測の両面から検討し、汚染ガスに対する気孔反応に関する新しい知見とそのメカニズムについて論じた。第5.3節では、鏡面偏向スペクトル画像計測法を用いて、SO₂により発現する可視害の進行の状態を評価し、そのメカニズムについて検討を加えた。また、SO₂とO₃により発現する異なったタイプの壊死状可視害をスペクトル画像計測により評価した。そして、可視害の葉位別発現の程度の違いについて論じた。さらに、熱赤外画像計測法を用いて、汚染ガス吸収の葉面分布と壊死状可視害発現との関係について検討し、汚染ガスの可視害発現に対する作用機作について述べた。また、SO₂とNO₂については、この方法が、可視害発現の予測に有効であることを示した。第5.4節では、第5章で得られた結論を要約した。

その他付録として、本研究において使用した植物実験用環境制御装置の概要について述べた。また、第2.6節において、植物のガス吸収速度に関するデータを得るために用いた環境制御装置によるガス吸収速度の測定法について論じた。

本論文で検討した画像計測手法は、第5章において述べたように、大気汚染環境下の植物の気孔反応や被害の診断およびそのメカニズムの解明に有効であった。そして、一般の環境汚染害や病虫害、生理的障害などの診断や予測にも利用でき

るものと考えられる。また、今後、フィールド調査やリモートセンシングによる
広域評価の手法を開発するための重要な知見を与える。

謝辞

本研究をまとめるにあたり終始御指導を賜った東大生産技術研究所尾上守夫所長に深湛の謝意を表します。また、学生時代から多大の御指導・御援助を賜った千葉工大工学部丹羽登教授、東京農工大農水産系連合大学院創設準備室長船田周教授、愛媛大農学部橋本康教授にあわせて深く謝意を表します。また、国立公害研究所に入所以来、本研究に御理解いただき御指導・御援助いただいた近藤次郎所長を始め歴代の所長および企画官、直接の上司である佐治健治郎技術部長、相賀一郎室長、その他職場の先輩、同僚諸氏に感謝の意を表します。あわせて、画像計測システムを開発するにあたり協力を受けた日本電子（株）、三菱電機（株）、浜松ホトニクス（株）、日本分光工業（株）、ソニー（株）、および（株）オプトリサーチの関係諸氏に謝意を表します。

付録

A. 植物実験用環境制御装置の概要と特性 (1)

実験に用いた国立公害研究所のファイトトロンのガス暴露キャビネットの概観をFig.A.1に示す。またTable A.1に、この装置の基本性能の一覧を示す。この装置の特徴は、複合状態で環境基準値前後のガス濃度を長時間維持し、温湿度・光などの環境要因もふくめて、汚染ガスの植物影響を解析できる点にある。

Fig.A.2に、装置の構成を示す。この装置は、新鮮空気処理装置、植物のガス暴露実験室であるグロースキャビネットおよび排気処理装置で構成される。換気用新鮮空気は、外気を新鮮空気処理装置内の空調機、活性炭・マンガン両フィルターなどを通して取り入れる。換気回数は、D1~4のダンパによって調整でき、装置内で発生する反応生成物を除去するために、0~280回/hまで可変である。

Fig.A.3に、この装置の制御システムの系統図を示す。このシステムは、電算機制御とそのバックアップとしてのアナログPID調節計による制御が可能である。温湿度制御についてみると、外気をフィルターを通して取り入れた後、外気の変化に伴う空調負荷分だけ操作し、さらに循環してきた空気と混合し、キャビネット内の冷却および除湿器で一度冷却除湿ベースを作り、最終的に外乱や目標値変化に対して追従性の良い電気ヒータと、蒸気加湿による加熱加湿操作で制御するシステムである。他方、ガス濃度制御についてみると、ガスボンベあるいはO₃発生器からの供給ガスが、電算機あるいはアナログ調節計からの指示に従って質量流量調節装置によって調節操作される。低濃度のガスを高精度に自動制御する場合、検出部として用いるガス分析計を、信頼性・応答性・検出感度の面から検討する必要がある。Table A.2に、運転実績から求めたガス分析計の性能を示す。分析計の校正は、校正用の標準ガスを質量流量計によって標準空気希釈する方式で常時行っている。Fig.A.4に、複合汚染の状態におけるガス濃度のプログラ

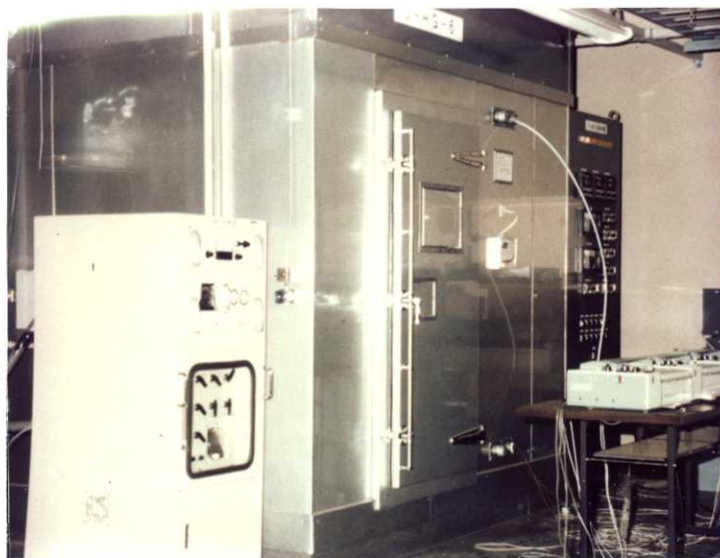
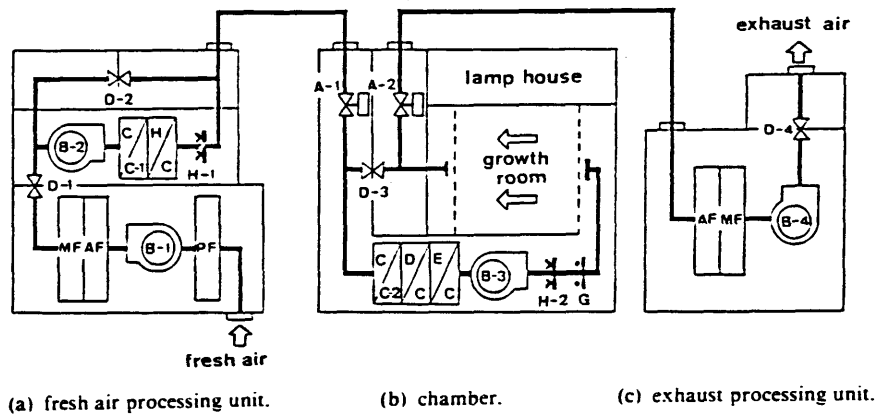


Fig.A.1 General view of the growth cabinet for air pollutant exposure

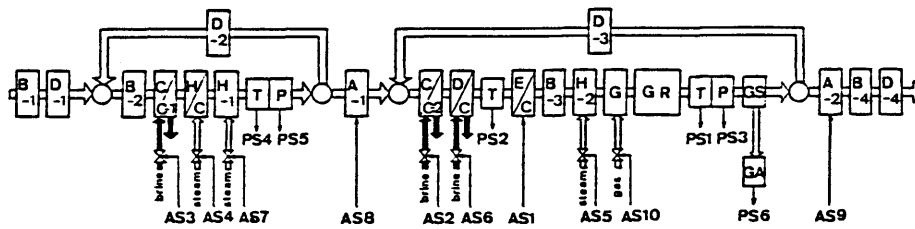
Table A.1 Characteristics of the growth cabinet for air pollutant exposure.

		characteristics
temperature	range	15-40°C
	deviation	$\pm 0.1^\circ\text{C}(\text{max})$
	distribution	$\pm 0.3^\circ\text{C}(\text{max})$
humidity	range	50-80%RH
	deviation	$\pm 1\%RH(\text{max})$
	distribution	$\pm 2\%RH(\text{max})$
gas concentration	range	refer to range of gas analyzers (Table A.2)
	deviation	SO ₂ $\pm 3.2\text{ppb}(\text{at } 0.05\text{ppm})$ NO ₂ $\pm 0.6\text{ppb}(\text{at } 0.05\text{ppm})$ O ₃ $\pm 0.2\text{ppb}(\text{at } 0.01\text{ppm})$ CO ₂ $\pm 1.4\text{ppm}(\text{at } 450\text{ppm})$ HC $\pm 10\text{ppb}(\text{at } 0.2\text{ppm})$
wind	mean velocity	0.2m/s
	distribution	$\pm 0.1\text{m/s}(\text{max})$
lighting		max 40klx
ventilation		0-2,800m ³ /h

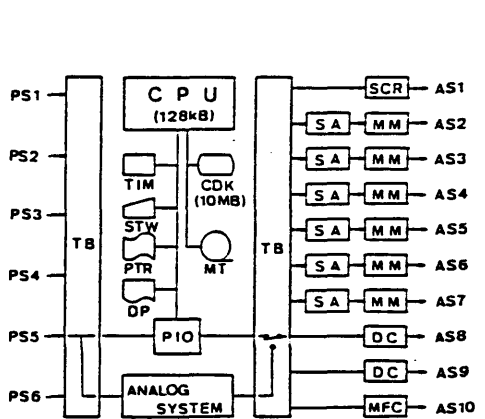


- | | | | |
|------|----------------------|------|-----------------------|
| A: | automatic damper | E/C: | electric heating coil |
| AF: | active carbon filter | G: | gas jet unit |
| B: | blower | H: | steam jet unit |
| C/C: | cooling coil | H/C: | heating coil |
| D: | manual damper | MF: | manganese filter |
| D/C: | dehumidifying coil | PF: | pre-filter |

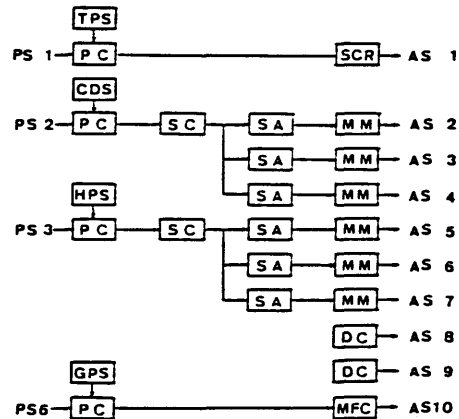
Fig.A.2 Sectional view of the growth cabinet for air pollutant exposure.



(a) diagram of the air flow.



(b) diagram of the computer control system.



(c) diagram of the analog back up system.

- | | | | |
|------|-------------------------|------|--|
| A: | automatic damper | MFC: | mass flow controller |
| B: | blower | MM: | modutrol motor |
| C C: | cooling coil | MT: | magnetic tape recorder |
| D: | manual damper | PIO: | process I/O interface |
| D C: | dehumidifying coil | PTR: | paper tape reader |
| E C: | electric heating coil | SA: | servo-actuator |
| G: | gas jet unit | SCR: | SCR electric manipulator |
| GA: | gas analyzer | STW: | system typewriter |
| GR: | growth room | CDS: | set station for cooling and dehumidifying base |
| GS: | gas sampling unit | GPS: | program set station for gas concentration |
| H: | steam jet unit | HPS: | program set station for humidity |
| H C: | heating coil | PC: | PID controller |
| P: | psychrometer | SC: | signal converter |
| T: | resistance thermometer | TPS: | program set station for temperature |
| CDK: | cartridge disk | | |
| CPU: | central processing unit | | |
| DC: | damper controller | | |
| DP: | dot printer | | |

Fig.A.3 System diagram of the growth cabinet for air pollutant exposure.

Table A.2 Characteristics of gas analyzers.

	NO, NO ₂	SO ₂	O ₃	CO ₂	HC
principle	chemiluminescence	pulse fluorescence	chemiluminescence	NDIR	FID
range (ppm)	0.05-10.0	0.1-10.0	0.01-2.0	500-2,000	1-50
noise (ppb)	2	4	0.5	1 (ppm)	10
zero drift (ppb/day)	0.25	1.0	0.4	1 (ppm/day)	20
span drift (ppb/day)	0.5	1.0	0.5	2	20
response time (min)	2.0	3.5	1.0	0.1	0.1

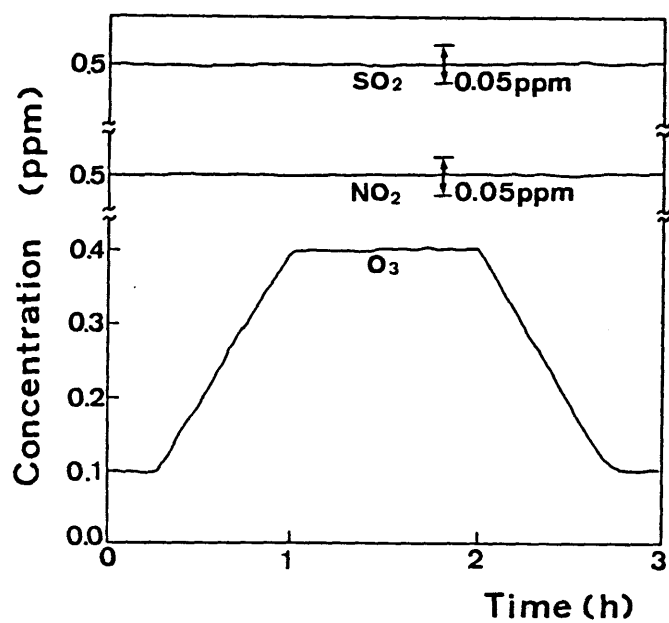


Fig.A.4 An example of the program control of SO₂, NO₂ and O₃ in the growth cabinet.

ム制御の例を示す。

つぎに、この装置の人工光源について述べる。太陽光は、時々刻々変化するもので、実験の再現性を得るためには、人工光源を用いる必要がある。現在市販されているランプのうち、キセノンランプおよび特殊なメタルハライドランプのスペクトルは、可視光線域で太陽光のスペクトルに近似している。ここでは、ハロゲン化スズの発光スペクトルを利用したメタルハライドランプを用いている(400W×24灯)。そして、赤外線域は、植物の生育に不必要であり、植物温度を、異常に上昇させる原因になるので、これを防止するために酸化鉄を含むリン酸ガラスを、熱線カットフィルターとして用いている。Fig.A.5 に、フィルターの分光透過率曲線、フィルターの有無による光源のスペクトル特性を示す。フィルターによって赤外線は大部分除去される。なお、キャビネット内壁面は、光量を稼ぐためにステンレス鋼が用いられている。また、ランプハウス内には、ランプ保護のため30℃前後に空調されている。

B. 環境制御装置を用いた植物のガス吸収速度の測定法 (2)

植物のガス吸収速度を測定するための環境制御装置内における汚染ガスの流れをFig.B.1 に示す。装置内の空気の動特性が完全混合モデルであると仮定すると、ガス収支は次式で表わされる。

$$d(V C_d) / dt = F_i C_i - F_d C_d - P - R - D + U \quad (B-1)$$

ただし、 V ；チャンバー内容積， F_i ；新鮮空気取り入れ量， F_d ；排気量， C_i ；新鮮空気のガス濃度， C_d ；チャンバー内ガス濃度， P ；植物のガス吸収速度， R ；反応速度， D ；外乱， U ；ガス供給量， t ；時間。装置内の汚染ガスの反応には、ガス相互間の反応、熱交換器によるガス吸収、壁面へのガス吸着等

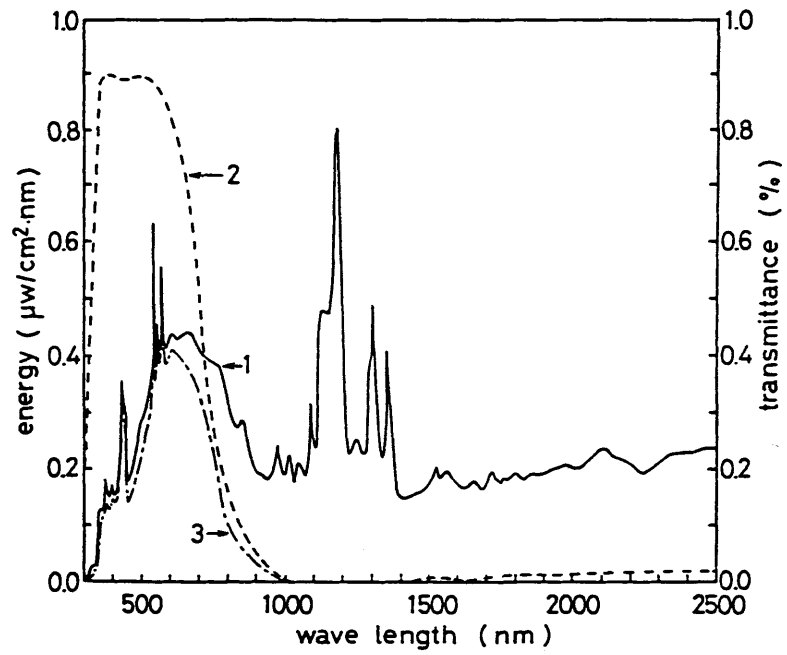


Fig.A.5 Spectral characteristics of light

1. characteristic of stannous halide vapor lamps (Toshiba-Yoko Lamp)
2. characteristic of cut off filter for infrared spectrum
3. characteristic in growth room

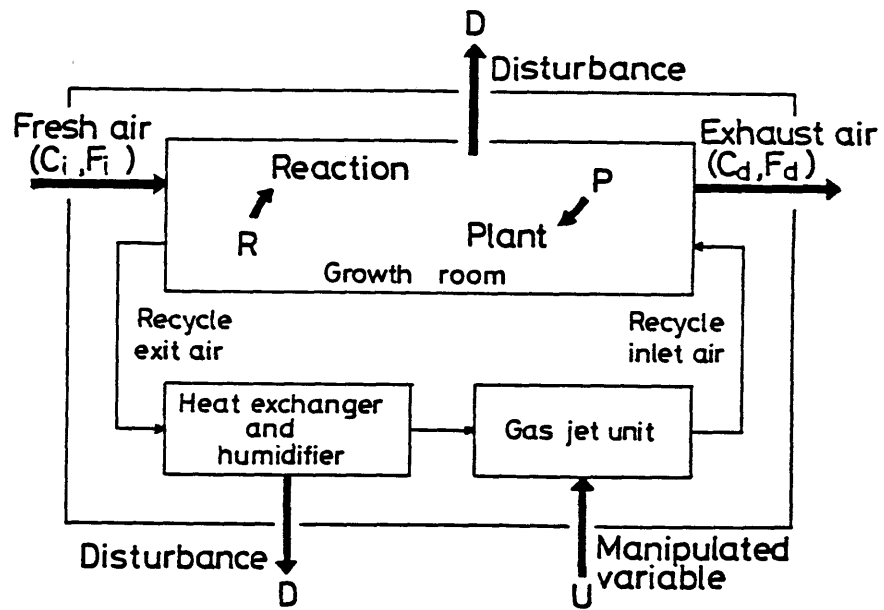


Fig.B.1 Schematic diagram of the material balance of air pollutants in an environmental control chamber.

- C_i : gas concentration of fresh air
- C_d : gas concentration of room and exhaust air
- F_i : air flow rate of fresh air
- F_d : air flow rate of exhaust air
- R : reaction rate which depends on gas concentration
- P : gas sorption rate of plants
- U : manipulated variable
- D : disturbance

が考えられるが、反応系の複雑さから、一般にこれらのガス反応を正確かつ詳細な反応モデルとして確定することは困難である。そこで、簡便的に、ガス濃度に依存し、再現性のある反応を反応項R，その他を外乱項Dと考える。Rは、実験により求められるが、N成分ガス($C_d^1, C_d^2, \dots, C_d^N$)による反応の場合、一般に次式で表わされる。

$$R \equiv R(C_d^1, C_d^2, \dots, C_d^N) \quad (B-2)$$

式(B-2)を考慮して、式(B-1)を状態Sの近傍でテーラー展開し、2次以上の項を無視することにより線形化し、偏差をそれぞれ、 ΔC_i 、 ΔC_d^i 、 ΔP 、 ΔD 、 ΔU で表わせば次式を得る。

$$V d \Delta C_d / dt = F \Delta C_i - F \Delta C_d - \Delta P \\ - \sum_i \left[\partial R / \partial C_d^i \right]_s \Delta C_d^i - \Delta D + \Delta U \quad (B-3)$$

ただし、添字Sは状態Sでの値、 ΔC_i 、 ΔC_d 、 ΔP 、 ΔD および ΔU はN成分ガスの中で測定対象となるガス成分での値を示す。また、 $F_i = F_d = F$ とし、 F 、 V は一定と仮定する。

植物のガス吸収速度の測定法としては、式(B-3)を用いて、装置内のガス濃度変化 ΔC_d^i から推定する手法と供給量の変化 ΔU から推定する手法が考えられる。ここでは、ガス濃度変化から推定する手法、特に、測定対象のガスを一定量供給し、装置内のガス濃度が十分定常になった後、植物を搬入し、その後のガス濃度変化から推定する手法を用いた。この場合、供給量が一定に制御されるので、 $\Delta U = 0$ である。さらに、新鮮空気に含まれる汚染ガスがフィルターにより十分に除去される場合には、 $\Delta C_i = 0$ である。今、状態Sを植物を搬入する前の定常状態と仮定すれば、 ΔP 、 ΔC_d^i 、 ΔD 等は、植物を搬入した後の定常状態からの偏差を表わす。以上の点を考慮し、式(B-3)より、植物のガス吸収速度の変化量

ΔP を求めると次式を得る。

$$\Delta P = -F \Delta C_d - \sum_k \left[\partial R / \partial C_d^k \right]_s \Delta C_d^k - V d \Delta C_d / dt - \Delta D \quad (B-4)$$

ここで、状態 Sすなわち植物を搬入する前の定常状態において、植物のガス吸収速度 PはP=0 であるので上記のガス吸収速度の変化量 ΔP は、ガス吸収速度と同義である。

実際に装置を用いてガス吸収速度を測定する場合には、対象となるガス成分についての反応項 $\sum_k \left[\partial R / \partial C_d^k \right]_s \Delta C_d^k$ と外乱項 ΔD を実験により十分に検討する必要がある。そして、反応項については、 $\left[\partial R / \partial C_d^k \right]_s$ を前もって求めておき、ガス吸収速度の測定の際に使用する。他方、外乱項については、その原因を調べ、 $\Delta D=0$ と仮定できるような対策を施す。その他、 ΔC_d を測定する際の分析計のノズルに対する対策が必要である。ここでは、計算機で処理するために便利な、次式のデジタルフィルターを用いる。

$$\Delta C_{d,h} = \left[(2 T_c - \tau) / (2 T_c + \tau) \right] \Delta C_{d,h-1} + \left[\tau / (2 T_c + \tau) \right] (\Delta C_{d,h} + \Delta C_{d,h-1}) \quad (B-5)$$

このフィルターは、アナログ系での時定数 T_c の 1 次遅れフィルターをデジタル化したものである。ただし、 τ は、サンプリング周期、添字 h は、サンプリング時点 hでの値であることを示す。以上の点を考慮し、植物のガス吸収速度を測定する際必要なガス吸収速度の推定式を求めると次式を得る。

$$\Delta P_{\bar{h}} = -F \Delta C_{d,h} - \sum_k \left[\partial R / \partial C_d^k \right]_s \Delta C_{d,h}^k - V (\Delta C_{d,h} - \Delta C_{d,h-1}) / \tau \quad (B-6)$$

ここで、サンプリング周期 τ は、プロセスおよびフィルターの遅れに対して十分小さい値をとる。

上記の原理に基づいて、実際に植物のガス吸収速度を測定する場合の具体的な測定手順をFig.B.2に示す。植物を搬入し、ガス吸収速度を測定する以前に、空調方式、換気風量、化学反応速度定数等を決定する必要がある。空調方式はSO₂の様に冷却除湿の影響が定量的に再現性のとれないガスの場合には、温湿度の制御を多少犠牲にしても冷却除湿を用いない空調方式を選択する必要がある。しかし、NO₂ + O₃の場合の様に冷却除湿を含めたガス反応に再現性がある場合には、冷却除湿を用いた空調方式の選択が可能である。換気風量は、反応を伴わないガスのガス収支から推定する。化学反応速度定数は、測定対象とするガスの反応を十分検討する必要がある。これらの特性把握を行なった後、チャンバー内のガス濃度が定常になっているかどうかを確かめ、植物を搬入し、測定を開始する。測定終了後、植物を搬出し、ガス濃度が、植物搬入前の状態に回復することを確認する。回復しない場合には、原因を確かめ再度実験を繰り返す。以上の測定法を用いて植物のガス吸収速度を10%以内の誤差で求めることができた。

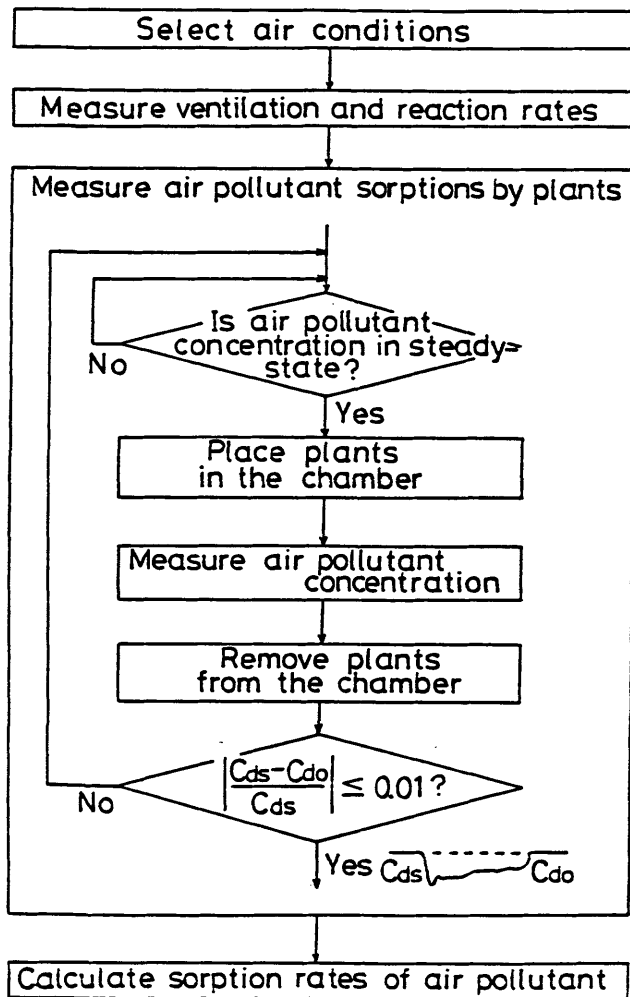


Fig.B.2 Flow chart for simultaneous measurement of air pollutant sorptions. C_{ds} and C_{do} in the figure denote gas concentrations in steady-state. C_{ds} is the initial value and C_{do} is the value after plants are removed from the chamber.

参考文献

1. 相賀一郎・大政謙次・松本 茂 (1982) 環境庁国立公害研究所ファイトトロンとそのエネルギーの供給システム 空気調和・衛生工学 56:741-751
2. 大政謙次・安保文彰・相賀一郎 (1979) 環境制御装置内植物のNO₂ およびO₃ 収着速度の同時測定法について 農業気象 35:31-40