

統計干渉法による植物の環境負荷に対する形態的応答のナノメータ計測

Ultra-high resolution plant growth measurement under environmental stress by statistical interferometry

プロジェクト代表者：豊岡 了 (大学院理工学研究科・教授)

Satoru Toyooka (Professor, School of Science & Engineering)

1. はじめに

本研究は、重点研究テーマ「環境影響化学物質のクロスメディア挙動の予測・評価のための統合的解析に関する研究」の一部を担うもので、植生を通じた独自の新規な環境影響評価技術の提案および実証研究である。プロジェクトメンバーは、研究代表者および研究協力者として門野博史助教授、三輪誠客員助教授（埼玉県環境科学国際センター研究員）で構成される。

植物は周りの環境条件に応じて様々な反応を示すことが知られている。環境条件は植物の生長生存にとって有利に働く場合もあれば、環境汚染のように負としてあるいはストレスとして作用する場合もある。一度発芽すると生存場所を変えることのできない植物は同じ場所であっても少しでも良い条件得るために茎を伸ばしたり、屈曲したり、回旋運動を示すなど様々な動態を示し環境に適用しようとする。

我々が特に注目しているのは環境汚染の影響である。近年、工業生産や人間活動の急速な増加に伴って大気汚染や水質汚染など様々な環境汚染が発生し、動植物に深刻な影響を与えている。環境汚染を抑制あるいは防止するには汚染の状況や影響を正確に把握することが重要である。研究代表者らは、環境が植物に与える影響を簡便にインフィールドでセンシング可能な光計測法の確立を目指して研究を行ってきた。光を用いた計測は非接触、無侵襲であることが利点であり我々の目的に適している。先に述べた植物の屈性や回旋運動などはマクロな運動であり古くから認識され研究されてきた。これに対して、光干渉法¹⁾を応用すれば光の波長レベルあるいはそれ以下のスケールで植物の動態を精密に観測することができる。このような干渉計測は工業材料などに対しては日常的に行われているが植物に対してはほとんど適用されていないのが現状である。

本稿では、レーザー光が植物の表面で散乱されることにより生じるレーザースペックルを利用した新しい超高感度干渉計測法^{2,7)}の原理を述べるとともにこれを用いた植物の活性状態や生長（伸長）モニタリング⁸⁾に関する我々の最近の研究成果を紹介する。この計測法ではスペックル場のランダム性に基づく新しい干渉計測法である統計的干渉法を用いて超高感度な計測を実現している。

2. 統計的干渉法の原理

図1に植物の生長計測に用いた実験光学系を示す。波長532nmのYAGレーザーから出射された光は2つの直交する直線偏光光に分けられ、焦点距離の位置に置かれたそれぞれのミラーから反射された光はレンズにより互いに平行にされ、サンプルを照射する。照明光は物体上の二点で散乱し、それぞれ独立なスペックルパターンを発生する。物体法線に対する観察角 $\theta = 60^\circ$ の位置に置かれたCCDカメラを通して、2つの独立したスペックルパターンの重ね合わせの結果生じるランダムな干渉パターンが計

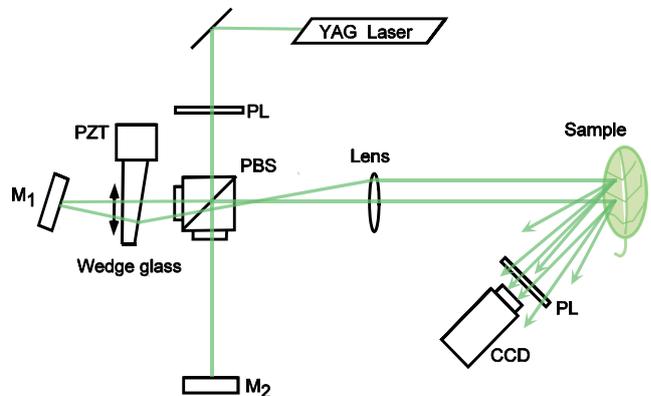


図1 植物の生長計測のための統計干渉光学系

算機に取り込まれる。CCD カメラの前面に方位角

45° にセットされた偏光版 PL は独立した2つのスペックル場の干渉成分のみを通過させる。実験条件を植物にとってより自然状態に近づけるため、生長に関与する波長付近の中心波長 660nm と 465nm の LED を用いて光を照射しながら計測を行った。葉の伸長情報を含む 532nm のレーザー光のみを CCD カメラで検出するために CCD カメラの前には干渉フィルタが挿入されている。

試料上の光照射2点間で相対的に ΔX の変位が生じると、観測面上で干渉する2つのスペックル場の間に

$$\Delta X' = \Delta X \sin \theta$$

の光路変化が導入される。この光路変化を求めることにより、2点間の歪みが求められる。物体が伸縮する際のランダムな干渉パターンは順次コンピュータに取り込まれる。その中から任意の3つの干渉画像

$$I_i = I_0(x) [1 + \alpha(x) \cos(\phi(x) + \psi_i)] \quad (i = 1, 2, 3)$$

を選択する。ここで $I_0(x)$ は平均強度、 $\alpha(x)$ はモジュレーション、 $\phi(x)$ はランダムなスペックル位相である。物体歪みに伴う3つの干渉画像の位相を ϕ_1 、 $\phi_2(=0)$ 、 ϕ_3 とする。しかしここでは、5つの未知数に対して3つの方程式しか与えられていない。そこで $-\phi_1 = \phi_3 = \phi$ と仮定し、スペックル位相 $\phi(x)$ について解くと、スペックル位相

$$\phi(x) = \tan^{-1} \left[\frac{I_1(x) - I_3(x)}{I_1(x) + I_3(x) - 2I_2(x)} \frac{\cos \psi - 1}{\sin \psi} \right]$$

が得られる。しかしこれは一般的には成り立たない仮定の下に導かれた‘見かけ上の’スペックル位相であり、‘真のスペックル位相’とは異なる。真のスペックル位相の PDF は十分発達したスペックル場に対して、光学系や物体表面のパラメータによらず $-\pi$ から π に渡って一様に分布することが知られている。この非常に安定した特性を統計的な意味で位相決定の基準として用いることができる。‘見かけ上の’スペックル位相のその PDF は ϕ_1 、 ϕ_3 が仮定の値からずれるにしたがって不均一になる。見かけ上のスペックル位相と真のスペックル位相 PDF との偏差から未知の位相項 ϕ_1 、 ϕ_3 を決定することが理論的に可能である。これにより物体の変位が求められる。これが STI の原理である。本手法の利点は統計的手法であるためにその計測精度は単に計算に用いられるデータ点数のみによって決定される点である。十分多くのデータ点数を用いることにより従来法をしのご制度を極めて簡単な光学系により実現可能である。また、スペックルを用いるため散乱性の表面を持つ物体に適用可能であり、特に生物試料の計測に適している。

3. 実験 (オゾン曝露による植物生長の影響)

オゾン曝露による植物生長の影響を計測するにあたり、次のような条件設定を行った。

- ・ 土壌を湿らせた状態の植物のサンプル(ニラ)の葉の先端から 1 cm を測定
- ・ 曝露オゾン濃度 : 0.09ppm, 0.12ppm(光化学スモッグ注意報発令基準値), 0.24ppm(光化学スモッグ警報発令基準値), 0.48ppm, 0.96ppm

Fig.2 は、曝露時間3時間、オゾン濃度を光化学スモッグ注意報の発令基準値である 0.12ppm で曝露した場合の生長速度計測の結果である。生長速度は5秒間に渡り葉の伸長を計測し、植物の葉の

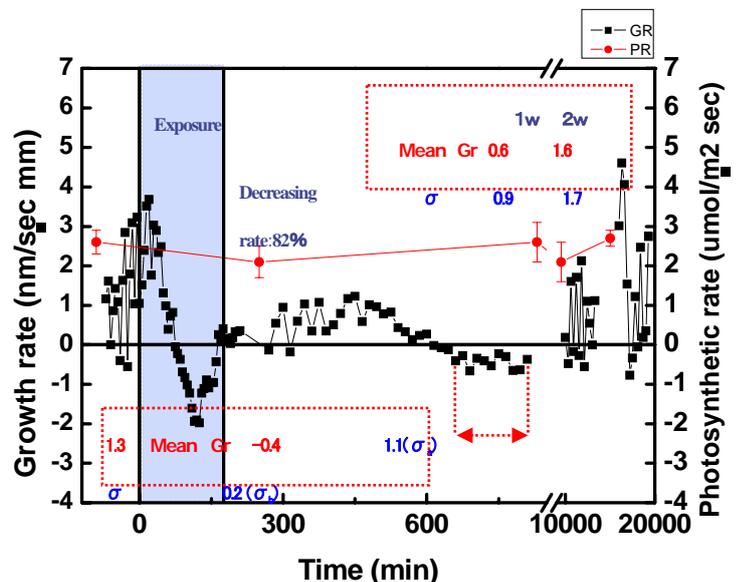


図2 植物の生長速度速度の時間変化

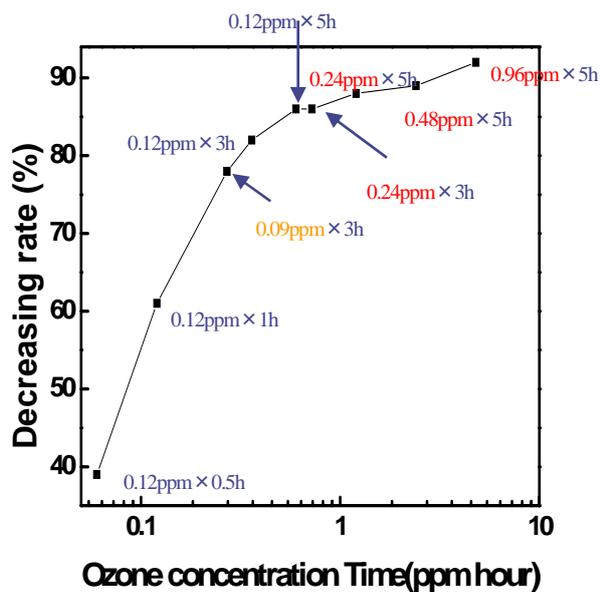


図3 曝露時間×濃度とゆらぎ低下率の関係

を調べた。オゾン曝露前の光合成速度は、 $2.8(\mu\text{ mol/m}^2\text{sec})$ であり、オゾン曝露後では $2.1(\mu\text{ mol/m}^2\text{sec})$ となり低下したが、生長速度変化と比べると変化は小さいことがわかる。

曝露後 10 時間では生長速度の回復は見られないが曝露後 1 週間後、2 週間後では成長速度のゆらぎはそれぞれ、 $0.9(\text{nm/sec mm})$ 、 $1.7(\text{nm/sec mm})$ となり回復していることがわかる。

さらにオゾン濃度と曝露時間を変化させて、実験を行い生長速度の低下率をプロットしたものを Fig.3 に示す。横軸は曝露量(=曝露時間×オゾン濃度)である。この図から曝露量とゆらぎ低下率との間には明らかな相関関係が認められる。

4. まとめ

秒単位という高い時間分解能でサブナノレベルという超高精細度計測可能な統計的干渉法を植物に適用することにより植物の生長速度が常にゆらいでいることが初めて明らかになった。この生長速度のゆらぎ(ナノメートルゆらぎ)に注目しオゾン濃度をニラに曝露する実験を行った。オゾンストレスの影響で生長速度のゆらぎは曝露前に比べ大きく低下することが確認された。オゾン濃度が濃いほど、つまり、ダメージが大きいほど生長率のゆらぎ低下率は大きくなった。

このようなレベルで植物の生長を計測した例は世界的にみても例がない。特に、ナノメータゆらぎ現象は草本類において、普遍的に見られる現象であり、植物の生命活動の本質に係わる現象であると考えられる。重点研究テーマである環境影響化学物質のクロスメディア挙動の予測・評価にとって基本的な計測法を提示するものとして、今後の展開を計画している。

5. 参考文献

- 1) H.Kadono, and S.Toyooka, "Statistical interferometry based on a statistics of speckle phase," Opt.lett., Vol.16, (1991),883-855.
- 2) H.Kadono, Y.Bitoh, and S.Toyooka, "Statistical interferometry based on fully developed speckle field: An experimental demonstration with noise analysis," J. Opt. Soc. Am A, Vol.18, (2001), 126

1 mmあたりの生長速度(nm/sec mm)である。曝露前の平均生長速度は $1.3(\text{nm/sec mm})$ であるのに対して、曝露を開始すると約 50 分後に急激に低下し平均生長速度はマイナスの値となった。マイナスの値は葉が収縮していることを意味する。さらに興味深い点として、曝露前の健康な状態では平均生長速度は決して一定ではなく大きくゆらいでいるのがわかる。これに対して、オゾン曝露すると大きくゆらぎが低下していることがわかった。ゆらぎ量すなわち生長速度の標準偏差は、曝露前は $1.1(\text{nm/sec mm})$ 、曝露後は、 $0.2(\text{nm/sec mm})$ となりゆらぎ低下率は、82%となる。オゾン曝露することによってゆらぎは劇的に小さくなることがわかった。光合成速度は植物の活性状態を評価する方法として従来から広く用いられている。本研究では統計的干渉法による生長計測と光合成速度との相関

