

除草剤による植物の光合成機能障害の画像診断 —尿素系土壌処理剤が *in situ* のキュウリ葉に与える影響の解析—

高山弘太郎・大政謙次

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 Herbicides in Plants —Analysis of the Effects of Soil-Application Type Urea Herbicide on *in situ* Cucumber Leaves—

Kotaro TAKAYAMA and Kenji OMASA

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

Abstract

Using a developed chlorophyll (Chl) fluorescence imaging system, the photosynthetic effects of a commercially available soil-application type urea herbicide on attached *Cucumis sativus* L. leaves were analyzed.

Decreases in the stomatal conductance and the assimilation rate caused by the herbicide were detected with diffusion porometer measurements. However, a decrease in stomatal conductance was smaller than that in assimilation rate.

Photosynthetic injuries caused by the herbicide were detected with the Chl fluorescence imaging system. The inhibitions of primary electron transport in injured areas were detected from Chl fluorescence induction (CFI) images (Changes in intensity of Chl fluorescence during dark-light transition) taken by the CFI method. NPQ (non-photochemical quenching) and Yield (photosystem II photochemical efficiency) images were calculated from fluorescence images taken by the saturation pulse method. NPQ was reduced greatly in injured areas and NPQ images were useful to quantify the photosynthetic injuries. However, Yield was not reduced as much as the decrease in assimilation rate. This showed that Yield images were not suitable for diagnosis of the photosynthetic injuries of attached plant leaves caused by the herbicide.

Keywords : chlorophyll, diagnosis, fluorescence, imaging, urea herbicide

緒 言

クロロフィル蛍光は、植物の光合成反応中心から発せられる蛍光である。このため、植物葉のクロロフィル蛍光画像を計測することにより、葉面での不均一な光合成

活性に関する情報を非破壊・非接触で得ることができる。このような特徴を生かし、近年、クロロフィル蛍光画像計測を用いて、植物の光合成機能障害を診断する試みが盛んになされている。その例として、農薬障害¹⁾、水ストレス障害²⁾、低温障害²⁾、紫外線障害³⁾、大気汚染物質障害⁴⁾、ウィルス障害⁵⁻⁸⁾などの診断があげられる。

大政ら¹⁾は、最近、暗処理後に光照射を開始した後のクロロフィル蛍光強度の経時変化(Kautsky効果)を解析するインダクション法と、飽和パルス光の照射により、明期条件下での光合成の状態を解析する飽和パルス法を

2001年5月8日受付

2001年7月6日受理

大政謙次

E-mail: aomasa@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

併用したクロロフィル蛍光画像計測システムを開発し、両計測法の特徴を明らかにした。

しかし、これまで、インダクション法と飽和パルス法を同時に用いて、除草剤が *in situ* の植物に与える影響の診断を行った例はなかった。そこで、本研究では、大政ら¹⁾によって開発されたクロロフィル蛍光画像計測システムを用いて、市販されている尿素系土壌処理型の除草剤が、土耕栽培されているキュウリの葉に与える光合成機能障害の診断を行った。

材料および方法

1. 供試植物

供試植物として、キュウリ (*Cucumis sativus* L. cv. Hokushin, タキイ種苗)を用いた。キュウリは、パーミキュライト：パーライト：クレハ園芸培土が1:1:1 (v/v/v)の培地を充填した、直径12 cmのポリ鉢に播種し、発芽後、室温30°C/25°C (Day/Night)、湿度50%/70% (Day/Night)、明期10時間、光源には蛍光ランプを使用し、葉面におけるPPF (Photosynthetic Photon Flux)が300 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の人工光温室において、約4週間育成した。灌水を兼ねた養液(大塚ハウスB処方液1単位濃度)の供給は、1日2回(1回100 ml)とした。全ての実験は、ポリ鉢に生育している状態(*in situ*)で行った。

2. 除草剤とその処理方法

市販されている尿素系土壌処理剤として、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-ジクロロチオベンザミド)3.0%、DCMU(3-(3,4-ジクロロフェニル)-1,1-ジメチル尿素)6.0%、鉍物質微粉等90.0%>を用いた。本剤の有効成分とその生理的阻害作用は、i)イソウロン：茎葉における光合成阻害、ii)DCBN：根や茎の頂点分裂細胞における細胞分裂阻害、iii)DCMU：茎葉の光合成電子伝達系(PS II)における電子伝達阻害、などがあげられている^{9,10)}。除草剤処理は、本剤0.5 gをポリ鉢内の土壌表面に直接散布して行った。これは、本剤の使用方法に従ったものであり、通常の使用状況を再現していた。処理時間は約48時間とした。

3. クロロフィル蛍光画像の解析手法

大政ら¹⁾によって開発されたクロロフィル蛍光画像計測システムを用いて、インダクション法と飽和パルス法による解析を行った。ここで、インダクション法は、インダクション現象(Kautsky効果：暗期条件下から明期

条件下へ移行した後のクロロフィル蛍光強度の経時変化)を計測する手法であり、特に光合成の光化学系における電子伝達状態の解析が可能である⁴⁾。一方、飽和パルス法は、飽和パルス光(PS IIにある全ての初期電子受容体 Q_A を一時的に還元状態にする強度の光)の照射により、クエンチング(クロロフィル蛍光強度を低下させる要因の総称)を光化学的クエンチング(photochemical quenching)と非光化学的クエンチング(non-photochemical quenching)に分離し、明期条件下での光合成の状態を解析する手法である^{8,11-13)}。

一連の計測は、以下の手順で行った¹⁾。キュウリ葉を約30分間暗処理した後、暗期条件下で飽和パルス光(照射時間2秒、PPF 4000 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)を照射し、照射中に F_m 画像を取得した。キュウリ葉から発せられるクロロフィル蛍光は、PPF 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の励起光照射で飽和したため(Fig. 1)、PPF 4000 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の光強度はPS IIの全ての Q_A を一時的に還元状態とするのに十分な強度であった。その後、約30分間暗処理し、励起光照射(PPF 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)を開始して明期条件へと移行した。明期条件移行から約0.03秒後を F_i 画像、約0.2秒後を F_D 画像、約1.0秒後を F_P 画像、約2.0秒後を F_S 画像、約8.0秒後を F_M 画像(飽和パルス法で計測した F_m 画像とは別)、約5分後を F_T 画像とした。 $F_i \sim F_T$ 画像はそれぞれインダクション現象のI~T過程に対応しており、光合成電子伝達系の特定の反応を示している¹⁴⁾。明期条件に順化し気孔が十分に開いた後、飽和パルス光を照射し、照

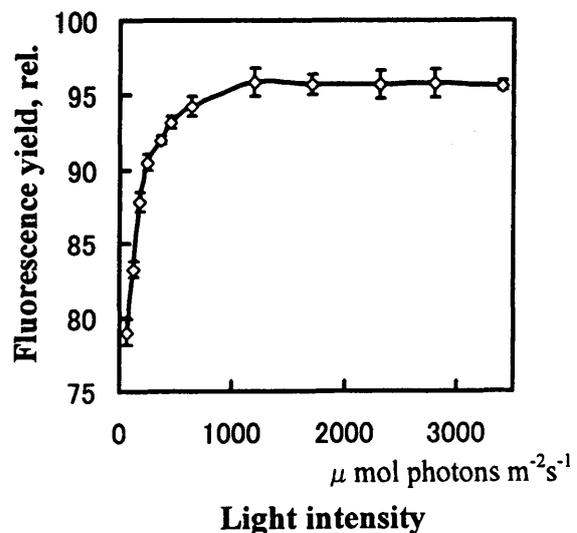


Fig. 1 Relationship between light intensity and Chl fluorescence yield from 6 cucumber leaves. Chl fluorescence yields were measured by MINI-PAM (WALZ). The vertical bar indicates \pm SD.

射直前に F 画像, 照射中に F'_m 画像を取得した。

全ての画像を撮影した後, 飽和パルス法では F_m , F , F'_m 画像を用いて NPQ (non-photochemical quenching) 画像および Yield (photosystem II photochemical efficiency) 画像を算出した。NPQ は, チラコイド膜を介した pH 勾配の形成, 電子伝達系の維持, 熱エネルギー発散などの非光化学的クエンチングと相関がある蛍光パラメーターであり¹⁵⁾, 算出には以下の式を用いた。

$$NPQ = (F_m - F'_m) / F'_m$$

Yield は, PS II における電子伝達速度 (electron transport rate) と相関がある蛍光パラメーターであり, 計測条件によっては, CO_2 固定速度と相関がみられる¹⁶⁾。

Yield の算出には以下の式を用いた。

$$Yield = (F'_m - F \times Ratio) / F'_m$$

ここで Ratio は, 励起光および飽和パルス光の照射強度の比から算出した⁶⁾。上記の蛍光パラメーターは Kooten and Snel¹⁷⁾ に準拠し, 適宜これを改変した。なお, 一連の計測は, ネコソギエース処理前と処理後 48 時間経過時に同一葉, 同一個所に対して行った。

4. 光合成蒸散ポロメーターによる除草剤の影響の測定

除草剤がキュウリ葉の光合成に与える影響を調べるために, 光合成蒸散ポロメーター (PP Systems CIRAS-1, PLC 標準キュベット) を用いて, ネコソギエース処理前と処理後 48 時間経過時に気孔コンダクタンスおよび光合成速度を測定した。測定は, 明期条件下 (PPF $300 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) で成熟したキュウリ葉 6 枚に対して行い, 葉面の一部 (2.5 cm^2) をリーフキュベットで挟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 分間の平均値を求めた。

結 果

1. 可視障害の観察

ネコソギエース処理による可視障害の有無を調べるために, デジタルスチルカメラを用いてキュウリ葉の可視画像を撮影した。Fig. 2 にネコソギエース処理前 (Fig. 2-A) と処理後 48 時間経過時 (Fig. 2-B) の可視画像を示す。これらの可視画像において, 可視障害はみられなかった。

2. インダクション法による解析

Fig. 3 に, インダクション法によって得られたネコソギエース処理前 (Fig. 3-A) と処理後 48 時間経過時 (Fig. 3-B) のインダクション画像を示す。ネコソギエース処理前には, 葉面全体に一樣なインダクション現象がみられた。一方, ネコソギエース処理後の F_i , F_D 画像では,

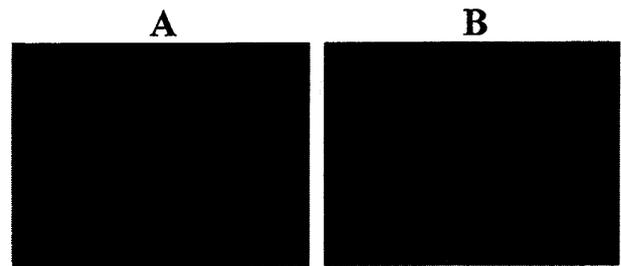


Fig. 2 Visual images obtained before (A) and 48 hours after (B) Nekosogiace treatment. There were no visible injuries after the treatment.

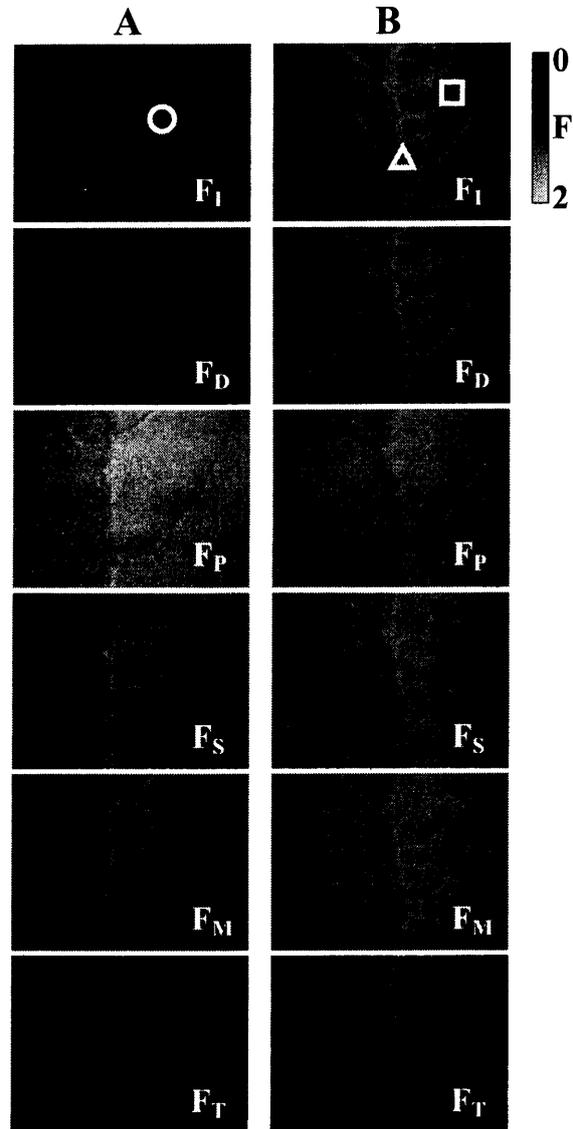


Fig. 3 Chl fluorescence induction images at characteristic CFI transient levels (I, D, P, S, M, and T) of an attached cucumber leaf obtained before (A) and 48 hours after (B) Nekosogiace treatment. Gray scale indicates relative Chl fluorescence intensity.

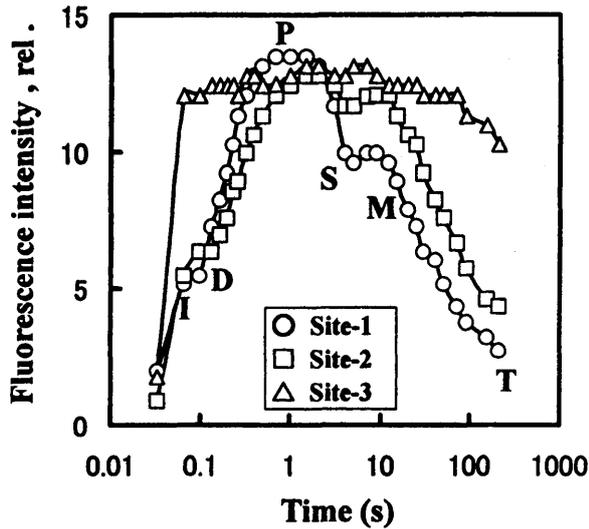


Fig. 4 CFI transients of an attached cucumber leaf before (Site-1: ○; interveinal area) and 48 hours after (Site-2: □; interveinal area, Site-3: △; area located near a large vein) Nekosogiace treatment.

葉脈周辺部に蛍光強度が高い部位がみられた。その後、 F_p 画像ではこの部位を確認できなくなったが、続く F_s , F_m , F_t 画像では徐々にこの部位を確認できるようになった。

Fig. 4 に、特徴的なインダクション現象がみられた部位の蛍光強度の経時変化(インダクション曲線)を示す。Site-1(○ in Fig 3-A)は処理前の葉脈と葉脈の間の部位、Site-2(□ in Fig 3-B)は処理後の葉脈と葉脈の間の部位、Site-3(△ in Fig 3-B)は処理後の葉脈周辺部とした。インダクション曲線は一連のインダクション画像から作成し、蛍光強度は各部位の近傍 5×5 pixels の平均蛍光強度とした。なお、Fig. 4 の I~T は、それぞれ $F_I \sim F_T$ 画像 (Fig. 3) の取得時点に対応している。Site-1 は、健康なキュウリ葉の典型的なインダクション曲線を示していた⁴⁾。Site-2 では、Site-1 と比較して、i) ID 過程におけるクエンチングの減少、ii) DP 過程における蛍光強度の立ち上がりの遅延、iii) PSM 過程において蛍光強度が高く維持される等の現象がみられた。Site-3 では、IDP 過程がみられず、Site-1 の I 時点で既に P レベルの蛍光強度を示していた。その後も蛍光強度は高い値に保たれ、典型的な PSMT 過程はみられなかった。

3. 飽和パルス法による解析

Fig. 5 に、飽和パルス法によって得られたネコソギエース処理前 (Fig. 5-A) と処理後 48 時間経過時 (Fig. 5-B) の蛍光画像 (F_m , F , F'_m), NPQ 画像, Yield 画像を示す。NPQ および Yield 画像中の ○, □, △ は、それぞれ Site-1, 2, 3 を示している。 F_m 画像では、除草剤

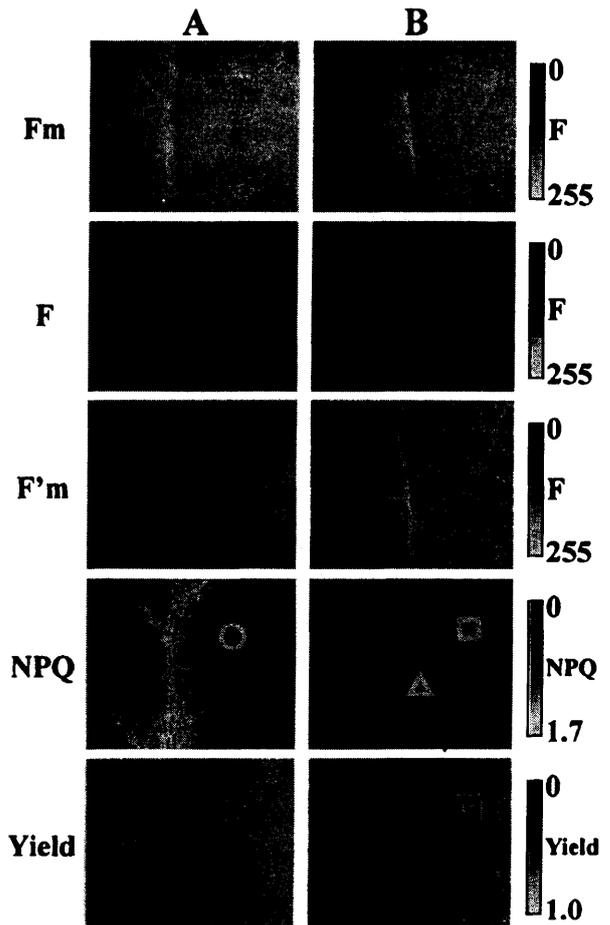


Fig. 5 Chl fluorescence, NPQ, and Yield images of an attached cucumber leaf obtained before (A) and 48 hours after (B) Nekosogiace treatment. ○, □, and △ in NPQ and Yield images represent Site-1, 2, and 3 labeled in Fig. 4. Gray scales indicate relative Chl fluorescence intensity, NPQ value, and Yield value, respectively.

による影響はみられなかった。 F 画像では、葉脈周辺部における蛍光強度のわずかな上昇がみられた。 F'_m 画像では、葉脈周辺部における蛍光強度の明らかな上昇がみられた。NPQ 画像では、葉脈周辺部で NPQ の著しい低下がみられた。Yield 画像では、葉脈周辺部で Yield の低下がみられた。

Table 1 に、Site-1~3 の NPQ および Yield を示す。それぞれの値は各部位の近傍 5×5 pixels の平均値とした。NPQ は、Site-1 の 0.65 に対して、Site-2 で 0.36、Site-3 においては 0.05 と著しく低下していた。一方、Yield は、Site-1 で 0.63、Site-2 で 0.61、Site-3 でも 0.40 と、NPQ に比べて低下率が小さかった。

4. 光合成蒸散ポロメーターによる測定結果

Table 2 に、ネコソギエース処理前および処理後 48 時間経過時の気孔コンダクタンスと光合成速度の測定結

Table 1 NPQ and Yield values in Site-1 (○ in Fig. 5), Site-2 (□ in Fig. 5), and Site-3 (△ in Fig. 5). Values are means of 5×5 pixels ±SD.

	Site-1	Site-2	Site-3
NPQ	0.65±0.04	0.36±0.05	0.05±0.02
Yield	0.63±0.07	0.61±0.05	0.40±0.07

Table 2 Stomatal conductance and assimilation rate before and 48 hours after Nekosogiace treatment. Values are means of 6 leaves ±SE.

	Time after the commencement of herbicide feeding	
	0 hour	48 hour
Stomatal conductance (mmol m ⁻² s ⁻¹)	183.3±8.3	155.1±19.0
Assimilation rate (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	12.8±0.3	3.8±1.1

果を示す。処理前の気孔コンダクタンスおよび光合成速度は、C₃植物が示す値として適当であり¹⁸⁾、このとき、気孔が開いて光合成が活発に行われていたことを示していた。処理後には、処理前と比較して、気孔コンダクタンスで約15%、光合成速度で約70%の低下がみられた。この結果は、ネコソギエース処理により、気孔がわずかに閉鎖し光合成速度が急激に低下したことを示していた。なお、ネコソギエース処理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、処理前と比較して大きかったが、これは障害部位の不均一な分布のため、測定個所により障害の程度にばらつきがあったためであると考えられた。

考 察

大政ら¹⁾は、葉柄から切断したインゲンマメ葉に、葉柄からネコソギエース希釈溶液を急激に吸収させた場合、蛍光画像で本実験のネコソギエース処理後48時間経過時と同程度の障害が確認された時点で、気孔コンダクタンス(約47%)と光合成速度(約55%)がほぼ同じ割合で低下したと報告している。このとき、光合成速度低下には、ネコソギエースによる直接的な光合成障害に加え、これに伴う気孔の閉鎖が大きく関与したと考えられた。これに対して、*in situ*のキュウリに根からネコソギエースをゆっくりと吸収させた場合、光合成速度は約70%も低下したが、気孔コンダクタンスは約15%しか低下しなかった。このとき、光合成速度低下の要因は、気孔閉鎖の影響もあるが、主にネコソギエースによる光合成反応系の直接的な障害にあると考えられた。このような障害は、ネコソギエースが*in situ*のキュウリ葉に与える特徴的な光合成機能障害であると考えられた。

クロロフィル蛍光画像の計測結果から、障害が葉脈を

中心に広がっていることがわかった。これは、土壌表面に散布したネコソギエースが、灌水により根部へ到達し、根から植物体内へ吸収され、蒸散流によって葉内に運ばれて障害を引き起こしたことを示していた。このような障害進行過程は、大政ら¹⁾の実験結果から予測された通りであった。

インダクション法による解析結果からネコソギエースの影響を詳しくみた。ネコソギエース処理前のキュウリ葉のインダクション画像は、葉面全体における正常な電子伝達反応を示していた¹⁴⁾。一方、Site-3では、IDP過程がみられず、蛍光強度がPレベルに直接移行していた。これは、ネコソギエースの尿素系成分(イソウロンおよびDCMU)により、この部位のPS II~PS I間の電子伝達が阻害されていることを示していた^{9,10,19)}。その結果、チラコイド膜を介した高エネルギー状態が形成されないため、PSMT過程において蛍光強度が高く保たれたものと考えられた¹⁴⁾。この障害は、大政ら¹⁾が、葉脈周辺部で確認した障害と同じ障害であった。

次に、Site-2に関して、i) ID過程におけるクエンチングの減少は、PS IによるQ_Aの酸化速度の低下、ii) DP過程における蛍光強度の立ち上がりの遅延は、PS IIを介した水からの電子の流れによるQ_Aの還元速度の低下、iii) PSM過程の蛍光強度が高く維持されるという現象は、主にチラコイド膜を介した高エネルギー状態の形成機能の低下、を示していた^{14,19)}。このような障害は、葉柄から切断したインゲンマメ葉を用いて、葉柄からネコソギエース希釈溶液を急激に吸収させた場合¹⁾には、認められなかった障害であり、Site-3でみられた光合成機能障害への移行段階の障害であると考えられた。

飽和パルス法による解析結果から、ネコソギエースの影響を詳しくみた。F_m画像で障害が認められなかったのは、暗期条件下での飽和パルス光照射により、葉面全

体の Q_A が全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したためであると考えられた^{12,13,20}。F 画像 (Fig. 3 の F_T 画像とほぼ同義) でみられた葉脈周辺部の蛍光強度のわずかな上昇は、この部位において吸収した光エネルギーを蛍光として放出する割合が高くなっていることを示していた^{12,13}。F_m' 画像でみられた葉脈周辺部の蛍光強度の明らかな上昇は、この部位において非光化学的クエンチング形成機能が低下していることを示していた¹⁹。

なお、励起光強度とキュウリ葉のクロロフィル蛍光収率の関係性を調べた結果、PPF 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の励起光照射で蛍光収率が飽和した (Fig. 1)。このことは、*in situ* のキュウリ葉を供試植物とする場合、従来^{5-8,12,13}よりも弱い飽和パルス光強度でも飽和パルス法による計測が可能であることを意味していた。

NPQ 画像では、非光化学的クエンチングの不均一な分布を明確に認めることができた。Site-1 と比較して、Site-2 では約 45%、Site-3 では約 92% の NPQ の低下がみられた (Table 1)。これは、Site-2, 3 の順で、非光化学的クエンチングの形成機能が低下していることを示しており^{8,11,15,20}、Site-2 の障害が Site-3 の光合成障害への移行段階の障害であることを示唆するものであった。なお、大政¹¹によると、葉柄から切断したインゲンマメ葉を用いた実験では、移行段階にある障害は認められていない。このことは、段階的な障害の発現が *in situ* の植物葉に特徴的な現象であることを示唆していた。NPQ 画像による診断結果は、光合成蒸散ポロメーターによる光合成速度の測定結果 (Table 2) と合致していた。これは、NPQ 画像が、尿素系土壌処理剤による光合成速度低下の診断に有効であることを示していた¹¹。

ネコソギエース処理前 (Fig. 5-A) の NPQ 画像において、葉脈周辺部に NPQ が高い部位がみられたが、これは主に計測中に生じた凹凸による影の影響であると考えられた。葉面の形状変化は、*in situ* の植物葉を対象とした計測時に発生しやすく、市販の PAM (パルス振幅変調) クロロフィル蛍光測定器等を用いて NPQ の算出を行う場合などには、この点について特に注意すべきである。

一方、Yield 画像では障害の診断は難しかった。ネコソギエース処理により光合成速度は約 70% も低下したが、Yield は、Site-1 と比較して、Site-2 で約 3%、Site-3 でも約 37% の低下にとどまっていた (Table 1)。この結果は、条件によっては Yield 画像^{12,13}を CO_2 固定速度の指標として使用できない場合があることを示唆していた¹¹。

結 論

クロロフィル蛍光画像計測により、尿素系土壌処理剤が *in situ* の植物に与える光合成機能障害の早期診断を行うことができた。インダクション法と飽和パルス法の併用により、光合成電子伝達系における電子伝達阻害個所の特定と障害程度の数値評価が可能であることが改めて確認された。また、尿素系土壌処理剤は、*in situ* の植物に対する長時間の処理でも、葉柄から除草剤の希釈溶液を急激に吸収させた場合¹¹と同様に、尿素系成分による電子伝達系阻害が主な殺草作用として有効であることがわかった。

一方、診断の過程で、葉柄から切断したインゲンマメ葉を用いた場合¹¹にはみられなかった、進行途中の光合成機能障害や、気孔閉鎖を伴わない光合成速度低下など *in situ* の植物に特徴的な現象を検知できた。これは、*in situ* の植物を実験材料とし、実際の除草剤の使用状況を再現して光合成機能障害の診断を行うことの意義を確認するものであった。また、植物種によって、従来よりも弱い強度の飽和パルス光を用いた飽和パルス法による計測の可能性が示唆された。このことは、計測範囲の拡大を意味し、今後の光合成機能障害の画像診断において有効な知見を与えた。

近年、市販の PAM クロロフィル蛍光測定器を用いて Yield を測定し、光合成速度を簡単に求める方法が注目されている。しかし、本研究において、Yield は CO_2 固定速度の指標とならない場合があることが確認された。実験者はこの点について十分な注意を払う必要がある。

引用文献

- 1) 大政謙次, 高山弘太郎, 後藤英司: 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 α 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—, 植物工場学会誌, 13(1): 29-37 (2001)
- 2) 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)
- 3) 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)
- 4) 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)
- 5) Balachandran, S., Osmond, C. B. and Daley, P. F. : Diagnosis of the earliest strain-specific interactions between tobacco mosaic virus and chloroplasts of tobacco leaves *in vivo* by means of chlorophyll fluorescence imaging, *Plant Physiol.*, 104 : 1059-1065 (1994)
 - 6) Rolfe, S. A. and Scholes, J. D. : Quantitative imaging of chlorophyll fluorescence, *New Phytol.*, 131 : 69-79 (1995)
 - 7) Scholes, J. D. and Rolfe, S. A. : Photosynthesis in localized regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*) : quantitative imaging of chlorophyll fluorescence, *Planta*, 199 : 573-582 (1996)
 - 8) 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)
 - 9) 本田 博・赤塚尹巳・佐藤仁彦・近内誠登 : 新農薬学概論, 朝倉書店, pp. 1-194 (1993)
 - 10) 香月繁孝・数賀山靖・後藤宋玄 : 農薬便覧・第8版, 農山漁村文化協会, pp. 1-1108 (1995)
 - 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) Genty, B. and Meyer, S. : Quantitative mapping of leaf photosynthesis using chlorophyll fluorescence imaging, *Aust. J. Physiol.*, 22 : 277-284 (1994)
 - 13) Meyer, S. and Genty, B. : Heterogeneity of leaf CO₂ assimilation during photosynthetic induction, *Plant Cell and Environment*, 19 : 1349-1358 (1996)
 - 14) 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)
 - 15) 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)
 - 16) 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)
 - 17) Kooten, O. V. and Snel, J. F. H. : The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology, *Photosyn. Res.*, 25 : 147-150 (1990)
 - 18) Jones, H. G. : Plants and microclimate, Cambridge university press, pp. 1-428 (1992)
 - 19) Govindjee : Sixty-three years since Kautsky : Chlorophyll a fluorescence, *Aust. J. Plant Physiol.*, 22 : 131-160 (1995)
 - 20) Krause, G. H. and Weis, E. : Chlorophyll fluorescence and photosynthesis : The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42 : 313-349 (1991)