

クロロフィル蛍光計測によるトマト接ぎ木セル苗の光合成機能診断

誌名	植物環境工学
ISSN	18802028
著者名	坂井,義明 高山,弘太郎 仁科,弘重
発行元	日本植物工場学会
巻/号	23巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 101-106
発行年月	2011年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



クロロフィル蛍光計測によるトマト接ぎ木セル苗の光合成機能診断

坂井義明^{1,2}・高山弘太郎²・仁科弘重²¹ 井関農機株式会社 791-2193 愛媛県伊予郡砥部町八倉 1² 愛媛大学農学部 790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7Diagnosis of Photosynthetic Functions of Grafted Tomato Seedlings
with Chlorophyll Fluorescence Measurement TechniquesYoshiaki SAKAI^{1,2}, Kotaro TAKAYAMA² and Hiroshige NISHINA²¹ISEKI&CO., LTD., Yakura 1, Tobe-cho, Iyo-gun, Ehime 791-2193, Japan²Faculty of Agriculture, Ehime University, Tarumi 3-5-7, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan

Abstract

The chlorophyll fluorescence measurement technique can be used for evaluating photosynthetic functions of plants without actually sampling the plants. In this study, we applied two types of chlorophyll fluorescence measurement techniques: pulse amplitude modulation (PAM) chlorophyll fluorescence measurement (MINI-PAM) and chlorophyll fluorescence imaging (CF Imager), to evaluate the health of grafted tomato seedlings. We monitored changes in F_v/F_m of seedlings incubated under different light conditions: Light-treated (10 h/14 h [light/dark]) and Dark-treated (continuous dark), for 10 days. Dark-treated seedlings showed slight wilting on day 10. Total chlorophyll content of Dark-treated leaves slightly decreased during the 10-day treatment, but Light-treated and Dark-treated leaves did not differ significantly. F_v/F_m measured with MINI-PAM was almost constant for 10 days in Light-treated leaves, although F_v/F_m in Dark-treated leaves significantly decreased. Similar results were obtained with CF Imager. Absolute values of F_v/F_m measured with MINI-PAM were significantly higher than corresponding F_v/F_m values measured with CF Imager throughout the experiment. This result was probably due to CF Imager underestimating F_v/F_m because the imager's saturation pulse light intensity was not strong enough to saturate the plant's photosynthetic electron transport reaction. And the decrease in F_v/F_m of Dark-treated leaves was larger with CF Imager (60%) than with MINI-PAM (6%). Part of this difference could be attributed to changes in leaf angles caused by wilting. The results suggest that F_v/F_m imaging does not provide accurate F_v/F_m values but has greater sensitivity than MINI-PAM F_v/F_m measurement for detecting subtle changes in health of grafted tomato seedlings.

Keywords: diagnosis, imaging, photosynthesis, seedlings

はじめに

2010 年 12 月 8 日受付

2011 年 3 月 11 日受理

Corresponding author: Kotaro Takayama

(takayama@agr.ehime-u.ac.jp)

Speaking Plant Approach (以降, SPA) は, 様々なセンサを用いて植物の生体情報を計測して生育状態を診断し, それに基づいて生育環境を適切に制御するという環境制御コンセプトである¹⁻³⁾. 最近, SPA 技術の太陽光利用型植物工場

への導入が本格的に検討され始めた^{4,5)}。SPAに利用可能な植物生体情報計測技術は、植物体に触れることなく、また、一度に多数の植物体を対象とした計測が可能であることが望ましい^{5,6)}。

クロロフィル（以下、Chl）蛍光は、植物葉に吸収された光エネルギーのうちで、光合成反応に用いられず、熱としても放散されなかったものが、683 nm よりも長波長側にピークを持つ赤色光として再発光されたものである^{7,8)}。つまり、Chl 蛍光強度は光合成反応の状態によって変化するため、Chl 蛍光を正確に計測することにより、植物体に触れることなく、その光合成機能の状態を評価することができる^{7,8)}。さらに、Chl 蛍光を画像で計測することにより、一度に複数の植物体を対象とした光合成機能診断が可能になる^{6,9-11)}。このような特徴を持つ Chl 蛍光計測技術を用いて、我々はこれまでに太陽光利用型植物工場で栽培されているトマト群落を対象とした光合成機能診断が可能な Chl 蛍光画像計測システムを開発し¹²⁾、様々な植物診断を試みている^{13,14)}。さらに、Chl 蛍光画像計測技術を用いれば、個別のガス交換測定が困難なコケやシバなどの小型個体を対象とした局所部位レベルでの光合成機能解析も可能である^{15,16)}。

このことは、Chl 蛍光画像計測技術の施設園芸分野におけるさらなる利用拡大の可能性を示唆しており、特に、苗生産における品質評価・生育診断技術としても有望である¹¹⁾。そこで本研究では、接ぎ木トマト苗生産における品質評価ならびに生育診断に利用可能な Chl 蛍光計測技術の確立を目的とし、その第一段階として、Chl 蛍光画像計測法と太陽光利用型植物工場における光合成機能評価法としても広く利用されている PAM-Chl 蛍光計測法¹⁷⁻¹⁹⁾を用いて、異なる光条件下で生育させたトマト接ぎ木セル苗の光合成機能評価を行った。また、両計測法により得られる Chl 蛍光パラメータ (F_v/F_m) を比較し、苗生産における両計測法の有用性について検討した。

材料および方法

1. 供試植物と処理区

供試植物として、トマト 128 穴接ぎ木セル苗 (*Solanum lycopersicum* L., Momotaro faito × boranchi) を用いた。セル苗は、2008 年 1 月 11 日にベルグアース（株）から購入した。約 24 cm × 48 cm の苗トレイを、長辺の中央にて二等分し、同一の大きさの 2 つのトレイ (24 cm × 24 cm, 8 × 8 セル) を作製した (Fig. 1)。一方のトレイは、明期 / 暗期が 10 h / 14 h の Light 区とし、もう一方のトレイは、24 時間連続暗期条件下の Dark 区とし、セル苗の購入日から 10 日間、室温 20℃ / 15℃ (Day/Night)、湿度 60% / 45% (Day/Night) の実験

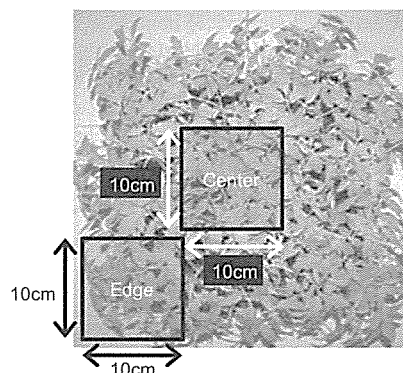


Fig. 1 Two square (10 cm × 10 cm) areas defined as Center and Edge on a 128-seedlings tray were imaged.

室内において生育させた。灌水は毎日 1 回行い、根域の土壌を十分に湿らせた。なお、Light 区の光源には蛍光灯（パルッククール色：FL15ECW, National（株））を用い、葉面における PPFD は $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (15000 lx) とした。また、トレイ内の位置の違いによるトマト苗の光合成機能の違いを把握するために、トレイの四隅のうちの 1 か所 (Edge in Fig. 1) と、中央部 (Center in Fig. 1) を測定対象領域とした。なお、各測定対象領域の大きさは約 10 cm × 10 cm であり、各領域内にトマト苗 9 個体 (3 × 3 セル) が含まれていた。

2. 測定項目

(1) カラー画像撮影と投影葉面積の算出

トマト苗の外観の変化を観察するために、トレイ中央の直上約 1 m の高さからデジタルカメラ (PowerShot S3 IS, キヤノン (株)) を用いてトレイ全体のカラー画像を撮影した。撮影は、実験室内の蛍光灯条件下で行った。さらに、撮影した画像から Adobe Photoshop 6.0 (Adobe Systems, Inc., USA) を用いて手動で植物葉領域を抽出し、直上から見た葉面積（以降、投影葉面積）を算出した。

(2) クロロフィルの定量

実験開始から 1, 3, 6, 9 日経過時に、トマト苗の葉の Chl 含量を測定した。各測定対象領域から葉を 6 枚ずつ採取し、デジタルカメラ (PowerShot S3 IS, キヤノン (株)) を用いて各葉の葉面積を測定した後、ハサミを用いて 1 枚毎に切断し、細かな葉片にして個別の試験管に入れた。この試験管に、N, N-ジメチルホルムアミド (N, N-Dimethylformamide, 和光純薬工業 (株)) 4 ml を注入し、これを気温 5℃ の冷蔵庫内（暗条件）に 24 時間静置して Chl を抽出した。得られた Chl 抽出液 3 ml をセルに分注し、分光光度計 (U-1100 日立レシオビーム分光光度計, (株) 日立製作所) を用いて、波長 646.8 nm, 663.8 nm および 750.0 nm における吸光度

を測定し, Porra *et al.*²⁰⁾ の式を用いて抽出液中の Chl *a* および Chl *b* 濃度 ($\mu\text{g ml}^{-1}$) を求めた。次に, Chl 抽出液 (4 ml) 中に含まれる総 Chl 量 (μg) を求め, これを試験管に入れた葉の葉面積 ($2.8 \sim 6.9 \text{ cm}^2$) で除することで単位葉面積あたりの総 Chl 含量 ($\mu\text{g cm}^{-2}$) を算出した。

(3) PAM-Chl 蛍光測定装置を用いた F_v/F_m 計測

PAM-Chl 蛍光測定装置 (MINI-PAM, Heinz Walz GmbH, Germany) を用いて, 各測定対象領域の葉それぞれ 20 枚を対象として, 暗期最小 Chl 蛍光収率 (F_0) および暗期最大 Chl 蛍光収率 (F_m) を測定し, 次式を用いて F_v/F_m を算出した。

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

F_v/F_m は, 光合成光化学系Ⅱにおける光合成電子伝達効率を表す代表的な Chl 蛍光パラメータである^{7,8)}。測定は, 約 1 時間の暗処理を行った後 (暗処理は Light 区のみ), 暗条件を維持した状態で行った。測定は, 葉固定用クリップを用いて測定対象葉を固定し, 葉面に対する飽和パルス光の入射角をほぼ 0° に維持した状態で行った。葉面における飽和パルス光の光強度は PPFD $10000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 照射時間は 0.8 秒であった。

(4) Chl 蛍光画像計測装置を用いた F_v/F_m 画像計測

Fig. 2 に Chl 蛍光画像計測装置を用いた F_v/F_m 画像計測の様子を示す。Chl 蛍光画像計測装置 (CF Imager, Technologica Ltd., UK) を用いて, 測定対象領域の F_v/F_m 画像を計測した。約 1 時間の暗処理の後, 苗トレイを Chl 蛍光画像計測装置の計測室内に入れて計測した。トマト苗の葉面の高さの水平面における飽和パルス光の強度は PPFD $6400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であり, 照射時間は 0.8 秒間であった。

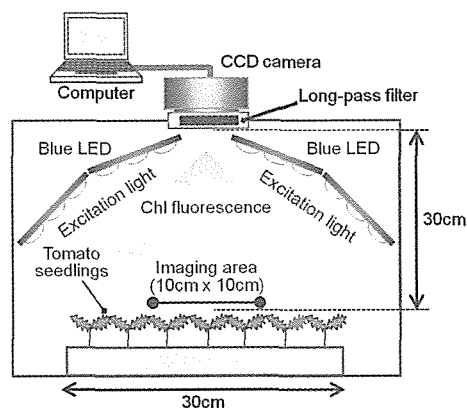


Fig. 2 Schematic diagram of chlorophyll fluorescence imaging system for tomato seedlings. Blue LED panels provide modulated measuring light and saturation light pulse.

結 果

Fig. 3 に, Light 区および Dark 区の外観の変化を示す。Light 区では, 実験期間中に目視で判別できるほどの変化はなかった。一方, Dark 区では, 処理開始から 6 日目に葉のしおれが確認され, 9 日目には, わずかな黄化や明確なしおれが観察された。Fig. 4 に, 苗トレイの投影葉面積の変化を示す。Light 区は, 実験期間中 $1106 \sim 1276 \text{ cm}^2$ のほぼ一定の値を維持していたが, Dark 区は, 実験開始から 4 日以降に, Light 区と比較して低い値を示すようになり, 10 日目には実験開始時の約 75% (911 cm^2) まで低下した。この値は, 同日の Light 区の 71% であった。

Fig. 5 に, Light 区 (Center および Edge) と Dark 区 (Center および Edge) の葉の Chl 含量の変化を示す。Light 区では実験期間中に大きな変化は認められず, さらに, Light-Center と Light-Edge との間で Chl 含量において有意差は認められなかった。また, Dark 区においても, Dark-Center と Dark-Edge との間で, Chl 含量に有意差は確認されなかった。

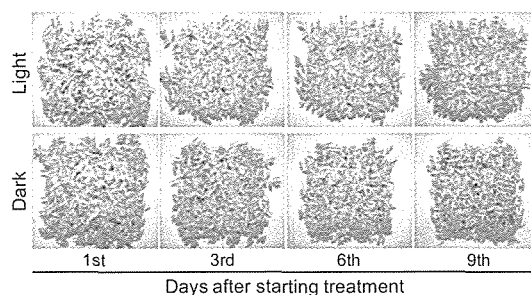


Fig. 3 Changes in the visual appearance of Light and Dark treatments. Digital color images were captured with a digital still camera.

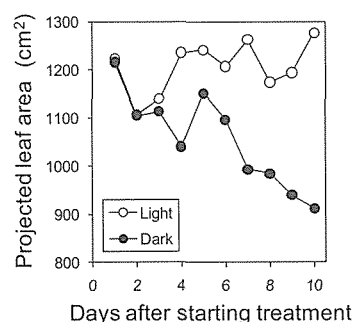


Fig. 4 Changes in projected leaf area of Light and Dark treatments. The projected leaf area was calculated by measuring the number of green pixels of the digital color image shown in Fig. 2.

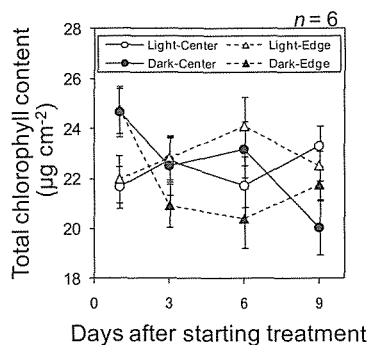


Fig. 5 Changes in leaf total chlorophyll content of Light (Light-Center and -Edge) and Dark (Dark-Center and -Edge) treatments. Bar indicates S. D. of the mean ($n = 6$).

($p > 0.05$, Tukey HSD). なお, Dark-Center では実験開始後 1 日目と 9 日目の間に有意な低下 ($p < 0.05$, Tukey HSD) が確認された。

Fig. 6 に, Light 区 (Center および Edge) と Dark 区 (Center および Edge) の PAM-Chl 蛍光測定装置を用いて測定した F_v/F_m の変化を示す。Light-Center および Light-Edge の F_v/F_m は, 実験期間中 0.74 ~ 0.77 の間の値を維持していた。なお, Light 区の Center と Edge の F_v/F_m を比較すると, Center が Edge よりも低くなる傾向が認められ, 実験開始から 3 日間は有意差 ($p < 0.05$, Tukey HSD) が認められた。Dark 区では, 実験開始後 2 日目以降に Light 区よりも F_v/F_m が有意 ($p < 0.05$, Tukey HSD) に低くなり, さらに, 5 日目以降には F_v/F_m が大きく低下し, 実験開始後 10 日目には Dark-Center で 0.69 ± 0.006 (S.E.), Dark-Edge で 0.71 ± 0.003 (S.E.) まで低下していた。なお, Dark 区の F_v/F_m に関

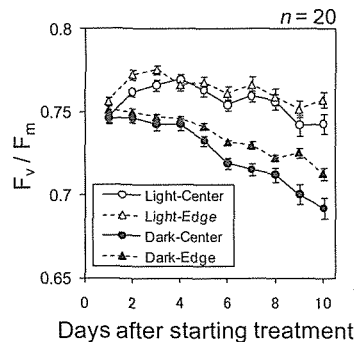


Fig. 6 Changes in F_v/F_m measured with MINI-PAM of Light (Light-Center and -Edge) and Dark (Dark-Center and -Edge) treatments. Bar indicates S.D. of the mean ($n = 20$).

しても Center が Edge よりも低くなる傾向がみられ, 実験開始後 6 ~ 10 日目には有意差 ($p < 0.05$, Tukey HSD) が確認された。

Fig. 7 に Chl 蛍光画像計測装置を用いて計測された Light 区 (Center および Edge) と Dark 区 (Center および Edge) の F_v/F_m 画像の変化を示す。Light 区の Center と Edge には明確な変化は認められなかったものの, 実験開始後 6 日目と 9 日目の F_v/F_m 画像において, F_v/F_m が低い葉が確認された (white arrows in Fig. 7). Dark 区では, Center および Edge において, 実験開始後 3 日目には F_v/F_m が低い葉が確認され (white arrows in Fig. 7), 6 日目から 9 日目にかけて F_v/F_m が低い個体数が顕著に増加していた。

Fig. 8 に F_v/F_m 画像から算出した Light 区 (Center および Edge) と Dark 区 (Center および Edge) の F_v/F_m 値の変化を示す。Light 区の F_v/F_m は, 実験期間中 0.46 ~ 0.54 のほぼ一定の値を維持していた。一方, Dark 区の F_v/F_m

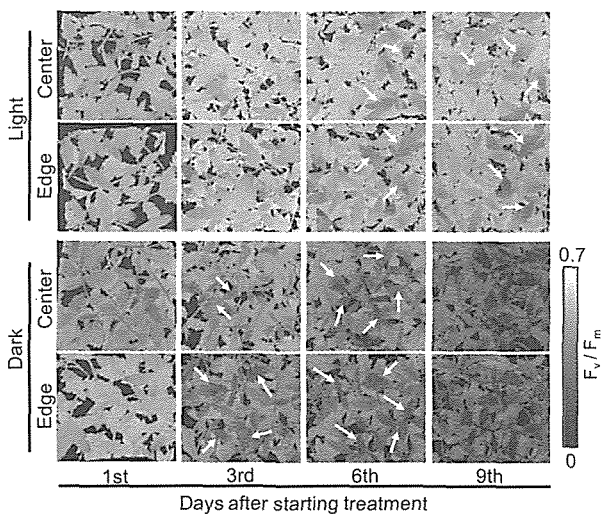


Fig. 7 Changes in F_v/F_m image of tomato seedlings in the areas of Light-Center and -Edge and Dark-Center and -Edge. Gray bar indicates the value of F_v/F_m .

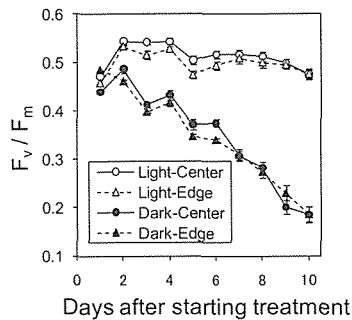


Fig. 8 Changes in F_v/F_m , measured with chlorophyll fluorescence imaging system, of Light (Light-Center and -Edge) and Dark (Dark-Center and -Edge) treatments. The values are the mean values of F_v/F_m images shown in Fig. 6.

は、実験開始後1日目はLight区と同程度であった(0.44～0.48)が、3日目以降に低下が始まり、10日目には0.19程度まで低下した。なお、Light区およびDark区のどちらにおいても、Centerの F_v/F_m とEdgeの F_v/F_m との間に明確な差は確認されなかった。

考 察

Dark区において、実験開始後4日目から顕著になった投影葉面積の低下(Fig. 3およびFig. 4)は、恒常的な暗条件のために光合成が行われず、葉にしおれが生じたためであると考えられる。また、Dark区では、実験開始後9日目に、葉の黄化が観察され、このとき、Dark-Centerにおいて総Chl含量が有意に低下(● in Fig. 5)していたことから、一部の葉の黄化は主としてChlの分解によるものと考えられる。ただし、実験開始後9日目のLight区とDark区の総Chl含量には有意差がなかったことから(Fig. 5)、本実験で観察された暗条件下における苗個体の生育状態の急激な悪化には、Chlの分解以外の要因も大きく影響しているものと考えられる。また、総Chl含量に有意差が認められないDark-CenterとDark-Edgeにおいて、前者の F_v/F_m が後者よりも有意に小となった(Fig. 6)が、この理由としては、両測定対象領域における蒸散量の違いによって生じた水分状態の違いなども考えられるが、本実験では直接的な要因を特定するには至らなかった。

次に、PAM-Chl蛍光測定装置とChl蛍光画像計測装置の両方で、Dark区における F_v/F_m の低下(Fig. 6およびFig. 8)が確認された。これは、恒常的な暗条件下での生育により、葉の光合成活性度が低下することを示していた。この結果は、Chl蛍光計測により F_v/F_m を継続してモニタリングす

ることで、トマト接ぎ木セル苗の光合成機能の数値評価が可能であることを示唆していた。なお、PAM-Chl蛍光測定装置で測定された F_v/F_m の値が約0.75であり、一般的な植物葉の F_v/F_m (約0.83)⁷⁾よりも低かったが、これは、供試植物であるトマト苗が弱光条件下で育苗されていたことなどが原因で、光化学反応系における光利用能力が低かったためではないかと考えられる。

また、実験期間中、PAM-Chl蛍光測定装置の F_v/F_m は、Chl蛍光画像計測装置の F_v/F_m よりも常に高い値であった。Light区を例にとると、実験期間中のPAM-Chl蛍光測定装置の F_v/F_m が0.74～0.77であったのに対し、Chl蛍光画像計測装置の F_v/F_m は0.46～0.54と約33%低かった。これは、Chl蛍光画像計測装置の飽和パルス光強度が、測定対象領域内の全ての葉の光合成電子伝達反応を飽和させるには不十分であったため、 F_m を過小に評価し、その結果として F_v/F_m が過小評価されたものと考えられる。

さらに、Dark区における実験期間中の F_v/F_m の低下率は、PAM-Chl蛍光測定装置では、実験開始時の値から約6%(Fig. 6)、Chl蛍光画像計測装置では、実験開始時の値から約60%(Fig. 8)低下しており、前者よりも後者の方がDark区における苗の生育状態の変化を感度良く検知していた。これは、Dark区において実験開始後4日目以降にしおれが生じたが(● in Fig. 4)、Chl蛍光画像計測では、このしおれによって葉面に対する飽和パルス光の入射角が大きくなり、単位葉面積あたりの飽和パルス光強度がより小さくなったため、トマト苗個体群全体の F_v/F_m がさらに小さく評価されたものと解釈される。一方、PAM-Chl蛍光測定装置を用いた F_v/F_m 測定では、葉固定用クリップを用いて測定対象葉を固定し、葉面に対する飽和パルス光の入射角をほぼ0°に維持した状態で測定を行うため、しおれなどの個体形状の変化(Fig. 3およびFig. 4)が F_v/F_m の測定値に直接的な影響をおよぼすことは無いと考えられる。

Chl蛍光画像計測によって得られた F_v/F_m 画像では、実験開始後3日目に、Dark区において F_v/F_m が顕著に低い葉を検知していた(Fig. 7)。この結果は、接ぎ木セル苗を対象としてChl蛍光画像計測を行うことにより、1個体レベルでの光合成機能不全の検知が可能であり、この特徴を利用することで、他個体よりも光合成機能が劣る個体の早期発見と摘出の自動化が期待される。

なお、本実験結果の再現性を確認するために、トマト128穴接ぎ木セル苗(*Solanum lycopersicum* L., 'Mairokku × Magunetto')を用いて、2007年8月31日～9月10日に行った実験でも、本実験結果と同様のDark区における F_v/F_m の低下を確認している(Data not shown)。

摘 要

PAM-Chl 蛍光計測法および Chl 蛍光画像計測法を用いて、恒常的な暗状態と明期 (PPFD $200 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) / 暗期が 10 h/14 h の異なる光条件下で生育させたトマト接ぎ木セル苗の光合成機能の変化を評価した。その結果、計測法の違いを問わず、 F_v/F_m をモニタリングすることで、Chl 含量の低下を伴わないわずかな光合成機能の変化を検知することができた。さらに、Chl 蛍光画像計測法により得られる F_v/F_m 画像を用いることで、他個体よりも光合成機能が劣る個体の検出が可能であることが示された。しかし、Chl 蛍光画像計測では、計測対象に十分な強度の飽和パルス光を照射できないために F_v/F_m を過小評価することや、しおれ等の苗の個体形状の変化が F_v/F_m 値に影響を及ぼす可能性があることが指摘された。このことは、Chl 蛍光画像計測により得られるトマト苗個体群の F_v/F_m 値が、個体群を構成している個葉の光合成機能とは直接的に関係しない要素により変化するという問題点を提起している。しかしながら、この特徴は、Chl 蛍光画像計測が、トマト苗個体群の生育状態の変化を、PAM-Chl 蛍光計測よりも高い感度で検知できることを示しており、Chl 蛍光画像計測の植物診断技術としての有用性を否定するものではない。

引用文献

- 1) Udink ten Cate AJ, Bot GPA, van Dixhoorn JJ. Computer control of greenhouse climates. *Acta Hort.* 87: 265–272. 1978.
- 2) Hashimoto Y. Computer control of short term plant growth by monitoring leaf temperature. *Acta Hort.* 106: 139–146. 1980.
- 3) Hashimoto Y. Recent strategies of optimal growth regulation by the speaking plant concept. *Acta Hort.* 260: 115–121. 1989.
- 4) 仁科弘重, 田中道男, 石川勝美, 松岡孝尚. 知能的太陽光植物工場の新展開 [3] 植物工場研究開発拠点の先行例と技術形成・人材育成. *農業および園芸*. 85(3): 388–396. 2009.
- 5) 高山弘太郎, 野並 浩. 知能的太陽光植物工場の新展開 [5] 生理生態の計測と新展開. *農業および園芸*. 85(5): 563–571. 2010.
- 6) 高山弘太郎, 仁科弘重, 大政謙次. 施設園芸・植物工場におけるイメージセンシング. 大政謙次編著, *農業・環境分野における先端的画像情報利用—ファイトイメージングからリモートセンシングまで—*. 農業電化協会, 東京. 21–34. 2007.
- 7) Krause GH, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 313–349. 1991.
- 8) Govindjee. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll a fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 131–160. 1995.
- 9) Omasa K, Shimazaki K, Aiga I, Larcher W, Onoe M. Image analysis of chlorophyll fluorescence transients for diagnosing the photosynthetic system of attached leaves. *Plant Physiol.* 84: 748–752. 1987.
- 10) Daley PF, Raschke K, Ball JT and Berry JA. Topography of photosynthetic activity of leaves obtained from video images of chlorophyll fluorescence. *Plant Physiol.* 90: 1233–1238. 1989.
- 11) 高山弘太郎, 仁科弘重. 施設園芸における植物診断のためのクロロフィル蛍光画像計測. *植物環境工学*. 20(3): 143–151. 2008.
- 12) Takayama K, Nishina H, Mizutani K, Arima S, Hatou K, Miyoshi Y. Chlorophyll fluorescence imaging for health condition monitoring of tomato plants in greenhouse. *Acta Hort.* 2010.
- 13) 高山弘太郎, 伊與木壮史, 仁科弘重, 有馬誠一, 羽藤堅治, 上加裕子, 三好譲. クロロフィル蛍光画像計測によるトマトサビダニ害の早期検知. In: 日本生物環境工学会 2010 年大会講演要旨. 京都. 9 月 8 日–10 日. 28–29. 2010.
- 14) 高山弘太郎, 伊與木壮史, 仁科弘重, 有馬誠一, 羽藤堅治, 上加裕子, 三好譲. クロロフィル蛍光画像計測によるトマト個体の水ストレス早期検知. In: 日本生物環境工学会 2010 年大会講演要旨. 京都. 9 月 8 日–10 日. 246–247. 2010.
- 15) 高山弘太郎, 仁科弘重, 坂井義明. クロロフィル蛍光画像計測法によるハイゴケ (*Hypnum plumaeforme*) の光合成機能解析. *Eco-Engineering*. 19(1): 49–57. 2007.
- 16) 高山弘太郎, 仁科弘重, 成原貴博, 長野洋文, 高倉 直. クロロフィル蛍光計測法によるシバ (*Zoysia matrella* Marr.) 群落の光合成速度の定量評価. *Eco-Engineering*. 19(2): 95–101. 2007.
- 17) Willits DH, Peet MM. Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato : laboratory and greenhouse comparisons. *J. AMER. SOC. HORT.SCI.* 126(2): 188–194. 2001.
- 18) 高山弘太郎, 石神靖弘, 後藤英司, 久枝和昇, 仁科弘重. 大規模ガラス温室内のトマト群落におけるクロロフィル蛍光パラメータ (F_v/F_m), SPAD 値およびクロロフィル濃度の垂直分布の解析. *植物環境工学*. 18(4): 277–283. 2006.
- 19) 高山弘太郎, 仁科弘重, 久枝和昇, 末岐 剛, 原田 聡. 太陽光利用型植物工場のトマト群落における光合成機能の空間分布の解析. *植物環境工学*. 22(4): 175–180. 2010.
- 20) Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 975: 384–394. 1989.