

# 弱光などのストレスを受ける屋内樹木のレーザー誘起蛍光誘導 期現象の新たな解析法

誌名	農業気象
ISSN	00218588
著者	佐川, 美佳 蔵田, 憲次 高橋, 邦夫 ほか1名,
巻/号	60巻2号
掲載ページ	p. 123-131
発行年月	2004年6月

# 弱光などのストレスを受ける屋内樹木の レーザー誘起蛍光誘導期現象の新たな解析法

佐川美佳\*・蔵田憲次\*\*・高橋邦夫\*\*\*・福地健一\*\*\*

( \* 新菱冷熱工業株式会社  
\*\* 東京大学大学院農学生命科学研究科生物・環境工学専攻  
\*\*\* 国立木更津工業高等専門学校基礎学系物理学教室 )

## New Analyzing Method of Laser Induced Fluorescence Induction Kinetics for Indoor Trees with Low-Irradiation Stress

Mika SAGAWA\*, Kenji KURATA\*\*, Kuniō TAKAHASHI\*\*\* and Kenichi FUKUCHI\*\*\*

( \* Shinryo Corporation, Tsukuba, Ibaraki, 300-4247 Japan  
\*\* Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,  
Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657 Japan  
\*\*\* Kisarazu National College of Technology, Kisarazu, Chiba, 292-0041 Japan )

### Abstract

Laser induced chlorophyll fluorescence induction kinetics provides a simple and non-destructive method for making a diagnosis of indoor plants. This study aimed at developing new parameters related to the laser induced fluorescence induction kinetics for detecting stress imposed on indoor trees mainly due to low irradiation conditions. Evaluating new parameters required only 25 s for each measurement. The new parameters referred to the shape of the second maximum in the induction kinetics. In an experiment lasting over a year using *Cinnamomum camphora* both outdoors and in a chamber, two of the new parameters showed clear seasonal variations for the outdoor trees and almost constant values for the indoor trees. The values for the indoor trees differed according to the light environment of each tree. These results strongly suggested that the new parameters could be applicable to practical diagnosis of indoor trees.

**Key words:** Diagnosis, Indoor plants, Induction kinetics, Laser induced fluorescence method, Low-irradiation stress.

キーワード: 屋内植栽, 弱光ストレス, 診断, 誘導期現象, レーザ誘起蛍光法

### 1. はじめに

アトリウムに植物を植えて、快適な空間を創り出すことは、これまでもいくつか試みられている (Mori, 1992; Yamamoto and Doi, 1993; Arai, 1995)。我々は、日本の公園や庭に多く植栽される常緑広葉樹を使って、屋内公園をイメージするアメニティ空間を創造することを目指して研究を重ねている。

屋内植栽を維持する上での大きな問題点は、屋外と異なる環境条件にある。温湿度は空調によって年間ほぼ一定に保たれ、人に不快感を与えないよう風速はビル管理法により  $0.5 \text{ m s}^{-1}$  以下になるよう規定されている。外

光を積極的に取り込むと、熱負荷が大きくなって空調運転コストがかかるだけでなく、グレア (まぶしさ) が生じ快適な視環境を作れないなどの問題が生じる。そのため、屋内に取り込まれる外光の量は、植物の生育に十分な量にはならない。植物の状態が悪くなっても鉢物であれば交換することができるが、樹木の場合は交換も容易ではない。このような環境下で植物を維持するためには、専門家による、樹木の状態に合わせた剪定や薬剤散布、日頃の観察などが必要になってくる。こういった管理は、屋外植栽の管理より費用がかかる場合が多い。

この費用がアトリウム内における植栽管理の大きな問題になっている。そのため、費用削減策の1つとして、専門的知識や経験を持たない人々でも植物の状態を診断

できる技術の開発が望まれている。

屋内植栽における特徴的なストレスには、次の3つが考えられる。

- ① 植栽直後の極端な環境変化によるストレス
- ② 長期間にわたる弱光環境によるストレス
- ③ 季節変化のない環境によるストレス

我々はこれまでに、LIF (Laser Induced Fluorescence : レーザ誘起蛍光) 法によるクロロフィル蛍光の誘導期現象を用いて、樹木を診断することを試み、その有効性を確認した (Sagawa *et al.*, 2001 a, b)。

LIF 法を選んだ理由として、化学分析に比べ操作が簡単、非破壊で計測できること、励起光にレーザを使うことでリモートセンシングを視野に入れた診断装置の将来的な拡張が期待できることなどが挙げられる。LIF 法に関しては多くの研究成果があり、それらを応用できる可能性があることも選択理由の1つである。例えば、LIF 法を用いた生態画像計測 (Kim *et al.*, 1997; Takahashi *et al.*, 1998) や LIF 法のリモートセンシングへの応用 (Cerovic *et al.*, 1996; Saito *et al.*, 1997) などの研究がある。また、誘導期現象に関しては、Kautsky and Hirsch (1931) 以降、多くの研究集積がある (Schreiber *et al.*, 1978; Govindjee, *et al.*, 1981; Lichtenthaler *et al.*, 1986; Croxdale and Omasa, 1990 a, 1990 b)。

ここで比較すべき蛍光計測法の1つに PAM (Pulse Amplitude Modulation : パルス変調, Schreiber *et al.*, 1986; Moya *et al.*, 1992; Tobe and Omasa, 1999) がある。PAM は、光合成初期反応を光化学クエンチング、非光化学クエンチングに分けて計測でき、光合成研究手段として強力な手法である。しかし、本研究の目的は、光合成研究ではなく、診断手法の確立であるので、必ずしも PAM で得られるほどの精細な光合成の情報を必要としないこと、また、PAM では誘導期現象解析に必要な装置に加えて、飽和光照射などの機能が必要なので、LIF 法による診断装置の価格を PAM より低く抑えることが可能であることを指摘できる。

本研究の最終目的は、アトリウム内の植物の実用的な診断手法を開発することである。そのため、診断手法としての実用性の高さも重要な選択基準となる。ここで要求される診断手法の実用性とは、以下の諸点である。

- (1) 安価な装置であること、
- (2) 特別な技能・技術を要求しない装置であること、
- (3) ポータブルであること、
- (4) 計測に時間がかからないこと。

以上の点から、LIF 法の誘導期現象をみると、すべての点を満足する可能性を持っていることがわかる。(1) の

価格については、先に述べた PAM との比較に加え、蛍光画像を対象とせず、スポット計測に限定すれば、基本的に低価格に抑えることが可能である。(2), (3) に関しても、誘導期現象の解析手順および装置の簡単さから、問題はないと考えられる。

(4) の計測時間に関して述べる。誘導期現象を数値で評価する方法の1つに、植物の活性指標としてよく使われるパラメータ、*Rfd* 値がある (Lichtenthaler *et al.*, 1986)。しかし、*Rfd* 値の計測には約5分間の時間が必要であるので、本研究の観点からは計測にかかる時間が長く、適切なパラメータとはいえない。一方、我々は、それに代わるパラメータとして、誘導期現象の5~24秒間の減衰曲線を2階微分して得られた2つのパラメータを提案した (Sagawa *et al.*, 2001 a の *a* と *Ip*)。これらのパラメータは、弱光ストレスに関しては、光強度の違いによるストレスの程度をよく反映していたが、水ストレスに関しては、ストレスの有無は検知するが、ストレスの強弱による違いを検知するにはならず、改良の余地を残した。

そこで、本報では、誘導期現象を数値化する新たなパラメータを提案する。新たなパラメータは、短時間で算定できることが必要である。本研究が対象とする屋内植物は、主に弱光ストレスを受けているものと考えられる。また、低風速で環境の季節変化がないこともストレスとなっている可能性がある。新たなパラメータは、弱光ストレスをはじめとする屋内環境に起因するストレスを反映するものでなければならない。最終的には診断に用いることを想定しているが、本報では、提案したパラメータの挙動について報告する。

## 2. クロロフィル蛍光の誘導期現象の計測装置

クロロフィル蛍光の誘導期現象のポータブルな計測装置を製作した。最初に Dias I と名付けた装置を開発した。Dias I は、Fig. 1 (a) に示すように、三脚にレーザ、光電子増倍管、干渉フィルタを暗処理用リーフフォルダに取りつけた一体型だったが、計測前の暗処理に20分間/枚と時間がかかるため、その後改良して Dias II を製作した (Fig. 1 (b))。Dias II はスライド式カバーのついたクリップ (Heinz Walz, DLC-8) を使い、6枚同時に暗処理することが可能なシステムとした。クリップ以外をコンソールボックスに収納し、光ファイバ (住田光学ガラス, SOG-70) を介して励起光照射と蛍光計測を行った。樹木計測用に装置可動高さを得るために、励起光照射と蛍光受光用に3m長の光ファイバを使用した。Dias II のシステム概要を Fig. 2 に示す。

Dias I, II に共通な仕様を次に示す。励起光源には

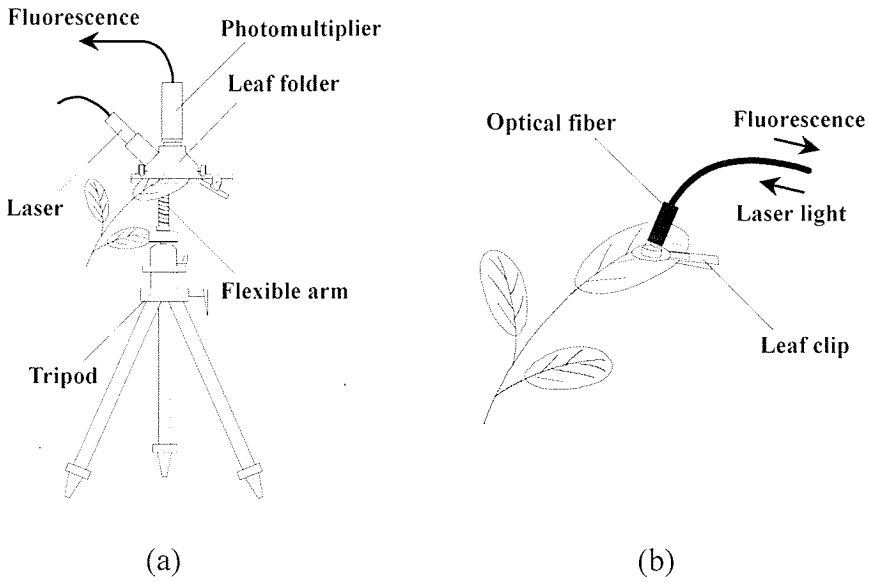


Fig. 1. Sample folders of two LIF-systems. (a) Dias I ; (b) Dias II.

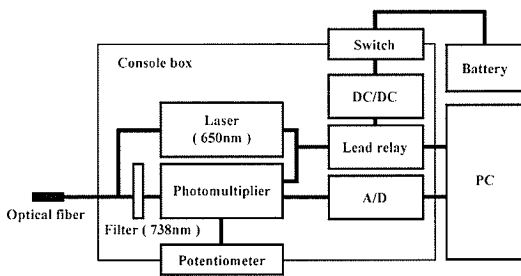


Fig. 2. Block diagram of Dias II.

cw 半導体レーザー (アブライドテクノ, MINI-650F-10, 中心波長 650 nm, 出力 1.0 mW) を用いた。葉からの蛍光は、干渉フィルタ (日本真空光学, 直径 20 mm $\phi$ , 中心波長 738 nm, 半値幅 3.5 nm, 透過率 84%) を通して、光電子増倍管 (浜松ホトニクス, H5784-01) で検出した。予備試験ではクロロフィル *a* からの 685 nm 付近の蛍光と本実験で計測する 738 nm 付近の蛍光ではほぼ同様の誘導期現象が得られることを確認した。そこで、励起光と波長域が異なり迷光の影響を少なくできる 738 nm を選択した。光電子増倍管からの信号は A/D 変換し、3 ms 間隔でデータを取り込んだ。計測の ON/OFF およびデータの取り込みはパソコン (NEC, VarsaPro VA60J) で制御した。

Fig. 1 に示す Dias I, II の試料固定部の重量について述べる。Dias I はリーフフォルダとレーザーおよびフォ

トマルチプライヤを合わせて 700 g あるが、これらを三脚に固定することによって計測上の安定性を高めた。Dias II で用いたリーフクリップは 3.7 g である。ともに実用的な構造と重量であった。

Dias I と II は誘導期現象の計測上、正常に作動した。Dias II は Dias I に比べ、12 サンプルあたりの計測作業時間をおよそ 1/5 に短縮することができた。

### 3. 誘導期現象の数値評価

#### 3.1 評価指標

新たな診断用パラメータとして、Fig. 3 に示す OIDPSMT で表されるクロロフィル蛍光の誘導期現象における M の盛り上がり形状を検討した。前述の *Rfd* 値の算定に必要な T までの計測は約 5 分程度の時間がかかるが、M の盛り上がりの解析は 25 秒以内で可能だからである。M の盛り上がり形状を数値評価するために必要な各点および領域を次のように定義した。

- (1) Ms 現象 P 以降の直線的な変化が、異なる傾きを示し始める点
- (2) Me Ms から蛍光強度曲線へ引いた接線の接点
- (3) MM 2 点 Ms, Me 間の蛍光強度曲線と線分 MsMe で囲まれる領域

MM の形状を以下の 3 要素で評価することとした。

- ① 線分 MsMe の傾き
- ② 2 点 Ms, Me の座標間の距離
- ③ MM の高さ (蛍光強度曲線上の任意の点 (x, y) か

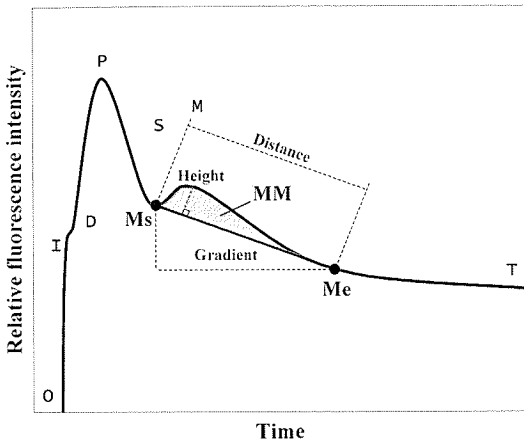


Fig. 3. Laser induced chlorophyll fluorescence induction kinetics. The fluorescence rise from O via I and D to P and decline via S and M to the steady-state fluorescence T. O: origin; I: intermediate; D: dip; P: peak; S: first steady-state; M: maximum; T: terminal state. Ms is the point at which the slope of the kinetics curve deviates from that of the nearly straight line from point P. Me is the point of contact of the tangent line from Ms. MM is the area bounded by line segment MsMe and induction kinetics curve. MM-shape is analyzed by three parameters, the gradient of line segment MsMe, the distance between points Ms and Me, and the maximum depth of MM.

ら線分 MsMe におろした垂線の長さの最大値)

### 3.2 計算手順

2点 Ms, Me を求める手順を以下に述べ、Fig. 4 にその概略を示す。

#### (1) 近似曲線を得る

- ① 平滑化: レーザ照射から 24 秒間の曲線は、移動平均 (多項式適合法: Savitzky-Golay 法) によって平滑化した。
- ② 多項式近似: 曲線の前半部 (1.5~15 秒区間) と後半部 (3~25 秒区間) を、おのおの回帰結果の良好な 9 次式  $f(x)$ ,  $g(x)$  で近似した。

#### (2) 点 Ms を求める

- ① 極大値算出:  $f(x)$  を 2 階微分し、微分値が極大を示す点の x 座標 Ms' を求めた。
- ② 補正: Fig. 5 (a) のような曲線パターンでは、Ms' が下流側に求められ、MM が算出されない場合がある。そのため Ms' を基準に、次の手順で Ms を

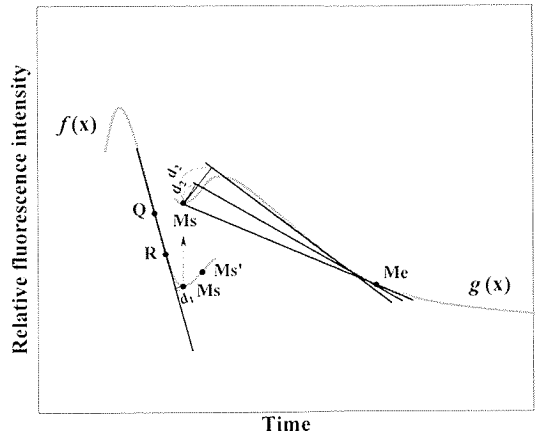


Fig. 4. Schematic illustration for determining points Ms and Me. For details, see the text.

求めた。直線 QR を求め、 $f(x)$  との距離  $d_1$  が充分に大きくなる点 ( $d_1 > 0.008$ ) を Ms とした。ただし、点 Q ( $Ms' - 1.5$  秒,  $f(Ms' - 1.5$  秒)), 点 R ( $Ms' - 1.0$  秒,  $f(Ms' - 1.0$  秒)) とする。

#### (3) 点 Me を求める

$g(x)$  上にある任意の I 点とその近傍の点 (2 点の x 座標間の長さ = 0.003 秒) を通る直線を求め、直線と点 Ms との距離  $d_2$  が 0 に最も近くなる点 ( $d_2 < 0.003$ ) を Me とした。

### 3.3 計算例

前述の手順で求めた MM の代表的なパターンを Fig. 5 に示す。Fig. 5 (e), (f) については、MM が存在しないため 2 点 Ms, Me を求めず、P 以降の傾きのみを求めた。

## 4. 実験

上記の Dias I, Dias II およびパラメータの有効性を調べるために下記の実験を行った。実験は 2001 年 7 月~2002 年 9 月、つくば市内で実施した。樹高約 2.5 m のクスノキ (*Cinnamomum camphora*) 4 本を、赤土、小粒赤玉土および福島パーミキュライトを均等混合した用土を入れた FRP 製のプランタ (内寸 580 L × 580 W × 480 H) に植えた。実験条件を Table 1 に示す。屋外に置いた 2 本をおのおの OUT1, OUT2 とした。残り 2 本はグロースチャンバ (3,600 L × 3,600 W × 7,000 H) 内に置いた。チャンバ内の環境条件は空調されたアトリウムの間年平均温湿度である 24°C, 40% RH に設定し、メタルハライドランプ (MITSUBISHI/OSRAM, MLBOC250F-U) と 3 波長型蛍光灯 (MITSUBISHI/OSRAM, FHF32EX-N) を用いて光を照射した。1 日

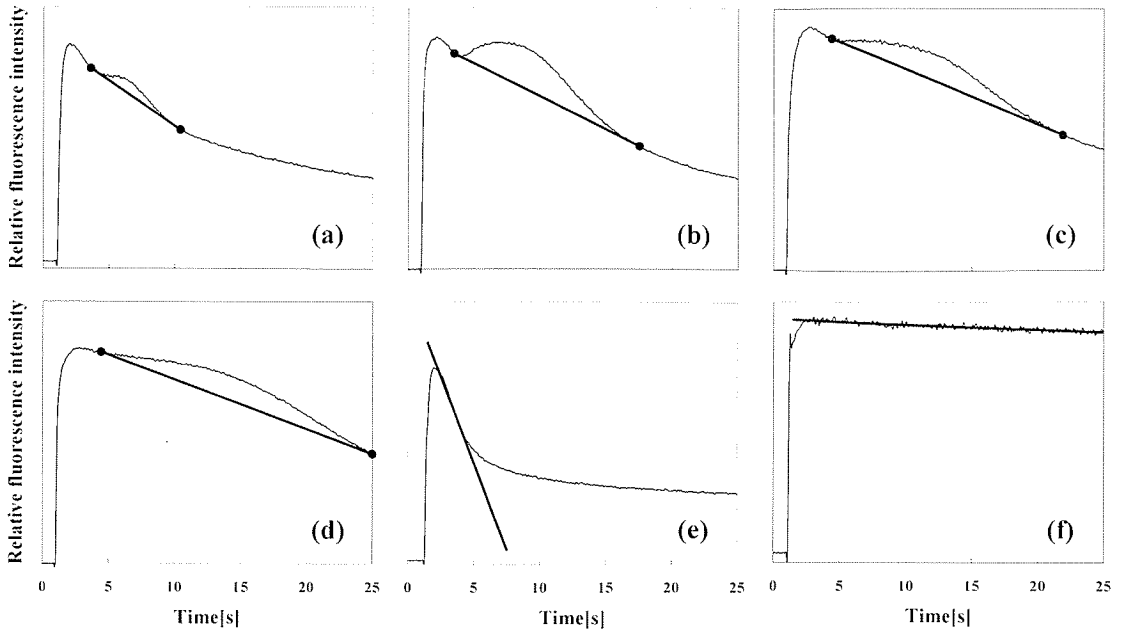


Fig. 5. Several examples of the tangent lines.

Table 1. The experimental conditions.

Tree code	Place	Temperature (°C)	RH (%)	PPFD at the sides of canopy ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Number of samples (/tree)
OUT1	outside	non-control	non-control	non-control	5
OUT2					5
CH300	chamber	24	40	300	10
CH50				50	10

の明期は 6~18 時とした。1 本は樹冠側面に  $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の光を照射した (以後 CH300), もう 1 本は  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  を照射した (以後 CH50)。以上の 4 本について, 1 年 2 カ月にわたってクロロフィル蛍光の誘導期現象を計測した。2002 年 6 月までは Dias I を, それ以降は Dias II を使用した。Dias I, II のどちらも葉に 20 分間の暗処理をした後に励起光を照射し, 照射開始から 24 秒間の誘導期現象を計測した。また, 必要に応じて色彩色差計 (ミノルタ CR-200) によって色差を計測し誘導期現象との比較を行った。

計測は, 各樹木において, 照明が直接当たる直下の葉を計測対象葉と決めてマーキングし, 1~2 週間ごとに計測した。対象葉が落葉した場合は, 近辺の似通った形の葉を新たな計測対象葉とした。実験中, CH300 に白さび病が発生した。対象葉に病害の徴候を確認した場合は, 近辺の似通った形で変色していない葉を新たな計測

対象としたが, 病害の影響で葉の黄化が始まった 2002 年 5 月以降のデータは, 信頼性に欠けるため参考値とする。

## 5. 結 果

### 5.1 年間の変化

Fig. 6~8 に年間の誘導期現象の変化を MM の傾き, 距離, 高さで表した結果を示す。実験開始後の経過をみると, OUT1~2 は MM の形状に季節変化がみられたのに対して, CH300, CH50 は実験期間中ほとんど変化がみられなかった。OUT1~2 の季節変化は, 線分 MsMe の傾きにおいて, 最も明確に確認することができた。

### 5.2 環境条件の違い

CH300 と CH50 の違いを, 線分 MsMe の傾き (Fig. 6) と 2 点 Ms, Me 間の距離 (Fig. 7) で確認することが

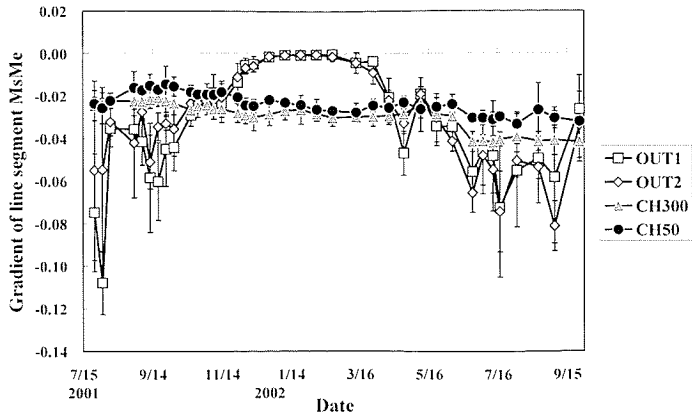


Fig. 6. Changes in the gradient of line segments MsMe. The vertical bar indicates  $\pm$ SD.

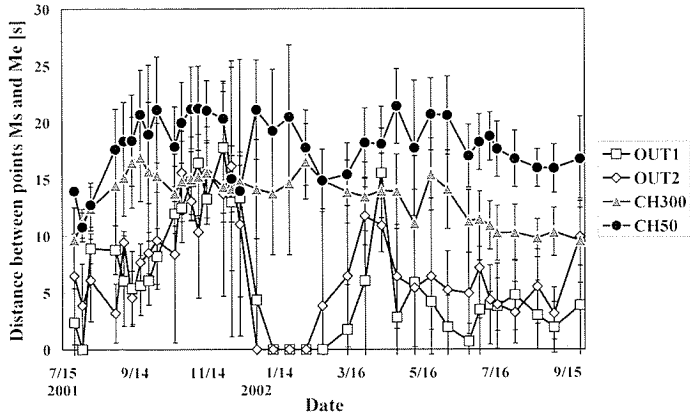


Fig. 7. Changes in the distance between points Ms and Me. The vertical bar indicates  $\pm$ SD.

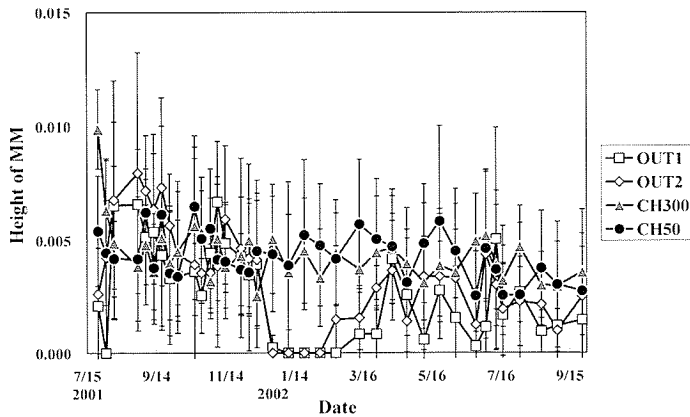


Fig. 8. Changes in the maximum height of MM. The vertical bar indicates  $\pm$ SD.

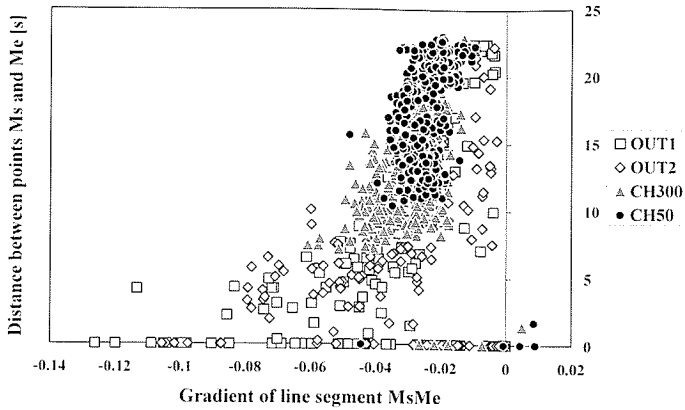


Fig. 9. Relationship between the gradient of line segments MsMe and the distance between point Ms and Me.

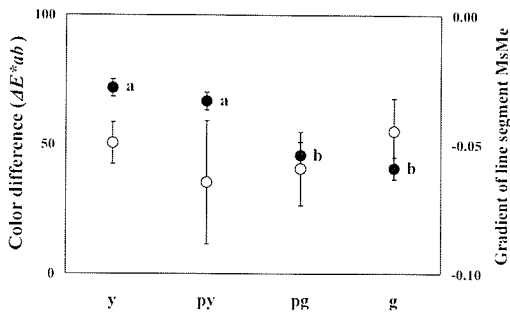


Fig. 10. Effects of disease on color difference and gradient of line segment MsMe. ● : the color difference, ○ : the gradient of line segment MsMe, y: yellow leaf, py: yellow part of diseased leaf, g: green leaf, pg: green part of diseased leaf. The vertical bar indicates  $\pm$ SD. a, b: different letters mean significant difference at  $P < 0.05$ .

できた。光の少ない CH50 では、CH300 に比べ傾きが緩やかで、距離が長くなることがわかった。高さ (Fig. 8) には有意な差をみることはできなかった。

線分 MsMe の傾きと 2 点間の距離における相関を Fig. 9 に示す。傾きと距離はまったくの独立したパラメータではなく、緩やかな相関があることがわかった。

### 5.3 病害の検出

CH300 における病害の影響をクロロフィル蛍光の誘導期現象で検出できるかどうかを調べるために、黄葉 (y)、病害葉の黄部 (py) と緑部 (pg)、緑葉 (g) について、おのおのの葉 12~15 枚の誘導期現象と色差を計測した (Fig. 10)。色差に有意差があるにもかかわらず、MM の傾きには差がみられなかった。距離、高さでも同

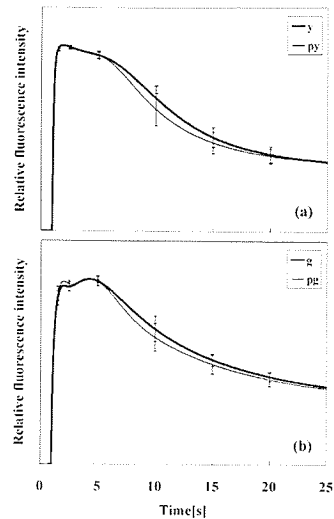


Fig. 11. Differences in the chlorophyll fluorescence induction kinetics of diseased leaves. For y, py, g and pg, see Fig. 10 caption. The vertical bar indicates  $\pm$ SD.

様であった。そこで、誘導期現象の曲線を見ると (Fig. 11), MM の最大高さの出現時間に差が認められた。しかし、出現時間の差が確認できるのは、葉色の違う場合のみであり、y と py の間、g と pg の間に差はみられなかった。

## 6. 考 察

### 6.1 環境条件の影響

自然環境下における MM の形状は、季節によって変化することがわかった。これは、葉内のクロロフィル含



量と蛍光スペクトルとの相関に関するこれまでの知見 (Lichtenthaler *et al.*, 1982; Takahashi *et al.*, 1995; Gitelson *et al.*, 1999; Subhash *et al.*, 1999) と蛍光スペクトルの季節変化の知見 (Mineuchi *et al.*, 1999) から、クロロフィルやその他色素の葉内含量の季節変化を反映した結果といえる。

季節変化のない環境下では、少なくとも1年の間は誘導期現象に関する提案したパラメータは大きく変化しないことが明らかとなった。新旧葉の入れ替わる時期は別途考慮する必要があるが、この結果から、屋内における通常状態では誘導期現象を定期的にモニタリングし、その中で生じた変化を検知することで生育状態の変化を把握できる可能性が示された。CH300とCH50の比較結果から、MMの傾きが緩やかに、距離が長く変化したときを生育状態の悪化と捉え、その変化の検出によって、診断できる可能性がある。屋内植栽では、葉が美しく保たれている点が重要視されるため、葉に重点を置いた生育診断は实际的であり、有用性が高い。

以上の季節変化の有無と光環境の違いによるMMの傾き、2点Ms, Me間の距離の違いは、この2つのパラメータの生育診断への応用の可能性を強く示唆している。しかし、今回の実験では、病気の発生を除いて、樹木は実験期間中、正常に維持されていたため、ストレスを受けてパラメータが変化していく過程を明示できず、診断パラメータとしての有用性の最終確認までにはいたらなかった。

## 6.2 誘導期現象による診断の限界

5.3項の結果から、クロロフィル蛍光の誘導期現象では、病害の影響を検出することは困難と考えられる。個葉の部分的な色素変化は、あくまでも該当箇所に限られた光合成機能の変化にとどまり、色素が変化しない箇所では独立して光合成機能が維持される。光合成がクロロプラスト単位で行われる機構から考えても当然の結果であるが、このことは、個葉単位でクロロフィル蛍光の誘導期現象を計測する場合に充分考慮すべき、診断の限界といえることができる。

## 7. ま と め

屋内植栽における植栽管理費用の低減する、経験や知識のない人でも容易に使える実用的な植物診断システムの基盤技術の確立を目指し、屋内で想定される弱光を主とした環境ストレスの影響を反映する新しいパラメータを提案した。

誘導期現象は、蛍光強度曲線が盛り上がる箇所MMを定義し、MMの傾き、距離、高さの3点で評価した。

MMを解析した結果、屋外と光・温湿度が制御され

た環境下での年間変化の違いを明らかにすることができた。その結果から、屋内環境ではクロロフィル蛍光の誘導期現象を定期的、継続的にモニタリングすることで樹木の生育状態の変化を捉えられる可能性が示唆された。

また、本手法の限界として、葉の部分的な色素変化を引き起こす病害の影響検出には向かないことが明らかとなった。

今後は、今回有用性が強く示唆されたパラメータが診断パラメータとして有効であることを最終確認する予定である。

## References

- Arao, K., 1995: The building facility of KANSAI international airport passenger terminal. *Heating Piping Air Conditioning*, **33** (8), 52-59.
- Cerovic, Z. G., Goulas, Y., Gorbunov, M., Briantais, J.-M., Camenen, L. and Moya, I., 1996: Fluorescence of water stress in plants: Diurnal changes of the mean lifetime and yield of chlorophyll fluorescence, measured simultaneously and at distance with a  $\tau$ -LIDAR and a modified PAM-fluorimeter, in maize, sugar beet and Kalanchoë. *Remote Sens. Environ.*, **58**, 311-321.
- Croxdale, J. G. and Omasa, K., 1990a: Chlorophyll *a* fluorescence and carbon assimilation in developing leaves of light-grown cucumber. *Plant Physiol.*, **93**, 1078-1082.
- Croxdale, J. G. and Omasa, K., 1990b: Patterns of chlorophyll fluorescence kinetics in relation to growth and expansion in cucumber leaves. *Plant Physiol.*, **93**, 1083-1088.
- Gitelson, A. A., Buschmann, C. and Lichtenthaler, H. K., 1999: The chlorophyll fluorescence ratio F735/F700 as an accurate measure of the chlorophyll content in plants. *Remote Sens. Environ.*, **69**, 296-302.
- Govindjee, Downton, W. J. S., Fork, D. C. and Armond, P. A., 1981: Chlorophyll *a* fluorescence transient as an indicator of water potential of leaves. *Plant Sci. Lett.*, **20**, 191-194.
- Kautsky, H. and Hirsch, A., 1931: Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Naturwissenschaften*, **19**, 964.
- Kim, M. S., Krizek, D. T., Daughtry, C. S. T., McMurtrey, J. E., Sandhu, R., Chappelle, E. W., Corp, L. A. and Middleton, E. M., 1997: Fluorescence imaging system: Application for the assessment of vegetation stresses. *SPIE*, **2959**, 4-12.
- Lichtenthaler, H. K., Buschmann, C., Rinderle, U. and Schmuck, G., 1986: Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. *Radiat. Env. Biophys.*, **25**, 297-308.
- Lichtenthaler, H. K., Kuhn, G., Prenzel, U.,

- Buschmann, C. and Meier, D., 1982: Adaptation of chloroplast-ultra-structure and of chlorophyll-protein levels to high-light and low-light growth conditions. *Z. Naturforsch.*, **37c**, 464-475.
- Mineuchi, K., Takahashi, K., Komatsu, A. and Tatsumoto, H., 1999: Seasonal variation of laser induced fluorescence spectra in tree leaves. *Environ. Technol.*, **20**, 633-638.
- Mori, I., 1992: Tokyo Bay Hotel Tokyu. *Kenchiku Gijyuthu*, **1**, 168-171.
- Moya, I., Guyot, G. and Goulas, Y., 1992: Remotely sensed blue and red fluorescence emission for monitoring vegetation. *J. Photogram. Remote Sens.*, **47**, 205-231.
- Sagawa, M., Kurata, K., Takahashi, K. and Mineuchi, K., 2001a: Detecting long-term low-irradiance stress and water stress of trees with laser-induced fluorescence measurements. *J. Agric. Meteorol.*, **57** (1), 41-48.
- Sagawa, M., Kurata, K., Takahashi, K. and Mineuchi, K., 2001b: Changes in laser induced fluorescence and sugar content of tree leaves with dark treatment. *J. Agric. Meteorol.*, **57** (1), 49-54.
- Saito, Y., Hatake, K., Nomura, E., Kawahara, T. D., Nomura, A., Sugimoto, N. and Itabe, T., 1997: Range-resolved image detection of laser-induced fluorescence of natural trees for vegetation distribution monitoring. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **36**, 7024-7027.
- Schreiber, U., Schliwa, U. and Bilger, W., 1986: Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosyn. Res.*, **10**, 51-62.
- Schreiber, U., Vidaver, W., Runeckles, V. C. and Rosen, P., 1978: Chlorophyll fluorescence assay for ozone injury in intact plants. *Plant Physiol.*, **61**, 80-84.
- Subhash, N., Wenzel, O. and Lichtenthaler, H. K., 1999: Changes in blue-green and chlorophyll fluorescence emission and fluorescence ratio during senescence of tobacco plants. *Remote. Sens. Environ.*, **69**, 215-223.
- Takahashi, K., Mineuchi, K., Emori, Y., Kobayashi, S. and Ishii, H., 1995: A fundamental study on monitoring of the growth state of plants by laser-induced fluorescence (LIF). *J. Illum. Eng. Inst. Jpn.*, **79** (11), 86-92.
- Takahashi, K., Mineuchi, K., Emori, Y., Kobayashi, S. and Ishii, H., 1998: Study of a method of measuring the transverse distribution of illuminating laser light and laser-induced chlorophyll fluorescence in plant leaves using a micro-fluorescence imaging (MFI) system. *J. Light Vis. Env.*, **22** (1), 53-62.
- Tobe, K. and Omasa, K., 1999: Leaf age dependence of chlorophyll fluorescence parameters in water-stressed leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Meteorol.*, **55** (2), 155-163.
- Yamamoto, A. and Doi, A., 1993: Higashitotsuka Education Center Annex. *Re*, **7** (84), 81-85.