



Title	植物のサイズと成長：成長解析
Author(s)	長嶋, 寿江
Citation	低温科学, 67, 113-118 光合成研究法. 北海道大学低温科学研究所, 日本光合成研究会共編
Issue Date	2009-03-31
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/39108
Type	bulletin (article)
Note	2章 個体・環境の測定 2. 個体から群落スケールのCO ₂ ガス交換 b. 群落の物質生産 b-2
File Information	67-019.pdf



[Instructions for use](#)

2. 個体から群落スケールのCO₂ガス交換

b. 群落の物質生産

b-2. 植物のサイズと成長——成長解析——

長嶋 寿江¹⁾

植物の成長は、光合成生産速度だけでなく、葉への分配など成長のしかたにも大きく影響される。本章では、成長を解析する方法と、それを行うための実験デザイン、測定方法について述べる。

Plant Growth Analysis

Hisae Nagashima

Because photosynthetic products are used to produce new assimilating organs, plant growth is influenced by biomass allocation as well as photosynthetic rate of individual leaves. A traditional method for analysing plant growth, including the experimental design and measurement methods, is outlined.

2.b-2.1 成長解析

植物は、光合成で得た産物をもとに根・茎・葉などの器官を新たに成長させ、それらがまた光や水・栄養の獲得を行い生産を行う、という拡大再生産的な成長を行う。そのため、最終的な成長量は、葉面積当たりの光合成生産速度だけでなく、得た産物をどのように各器官に分配するかなどの植物の成長のしかたによっても大きく左右される(図1)。植物の最終的なサイズは、農学的にも生態学的にも重大な関心事であるため、植物の成長を解析する様々な方法が開発されてきた。それらのうち標準的で最も広く使われる方法が、1900年代初期に作物学者ら¹⁻²⁾によって考え出された「成長解析(growth analysis)」と呼ばれる手法である³⁻⁵⁾。

成長解析では、成長が複利的で個体サイズに依存するという植物の特徴をふまえ、成長を相対成長速度(relative growth rate, RGR)で表す。

$$RGR = \frac{1}{W} \frac{dW}{dt} = \frac{d(\ln W)}{dt} [d^{-1} \text{ または } \text{week}^{-1}] \quad (1)$$

W は個体全体の乾燥重量(g)、 t は時間(day, weekなど)である。RGRはSGR(specific growth rate)と呼ばれることもある。農学的・生態学的に非常に有用な成長の指標である。理論上、 W は生きている部分の乾燥重量であるが、道管など生きていなくても機能している組織もあり、死んだ組織を区別して測定するのは実際の

でないため、通常は区別しない。しかし死んだ組織(材)が大きな部分を占める樹木などの場合は、生産が行われる組織や一年間の成長量を W とすることがある⁶⁻⁷⁾(森林の成長や純一次生産量の評価については、2a-3章を参照)。 W の変化量は、期間中の純同化量(=総同化量-呼吸量)からその期間に死亡した植物体部分を差し引いた値となる。純同化量に日内変動があることを考えると、1日が最小の測定間隔となる。

もし全個体重に対する葉面積の割合が一定で、葉面積当たりの物質生産速度も一定であれば、RGRは一定の値

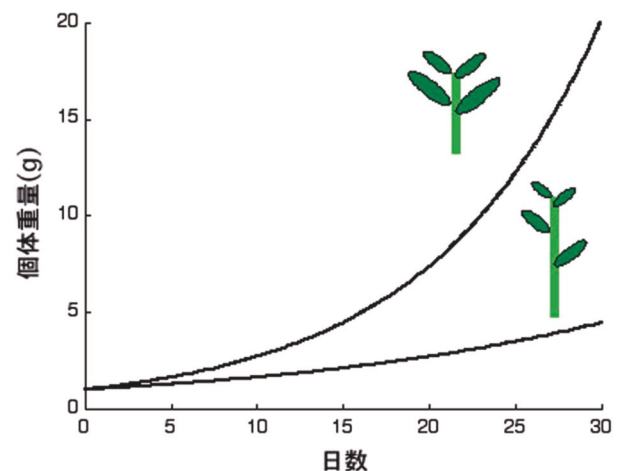


図1: 個体重に対する葉面積の割合(LAR)が2倍異なる仮定上の植物の成長。葉面積当たりの物質生産量(NAR)が一定の場合、LARが2倍になると相対成長速度(RGR)も2倍になる。図の植物は、初期重量を1g、RGRを0.1 day⁻¹(上の個体)、0.05 day⁻¹(下の個体)として計算。30日後には個体重量が4.5倍異なった。

1) 東北大学大学院生命科学研究所生態システム生命科学専攻機能生態分野

となり、植物の個体重は時間とともに指数関数的に増大する。一方、同化産物の葉への分配率や光合成速度が変化すれば RGR も変化する。RGR は以下のように「純同化速度 (net assimilation rate, NAR)」と「葉面積比 (leaf area ratio, LAR)」に分解される。

$$RGR = NAR \times LAR \quad (2)$$

$$NAR = \frac{1}{A} \frac{dW}{dt} [\text{g m}^{-2}\text{d}^{-1} \text{ または } \text{g m}^{-2} \text{ week}^{-1}] \quad (3)$$

$$LAR = \frac{A}{W} [\text{m}^2\text{g}^{-1}] \quad (4)$$

A は同化が行われる部分の面積であり、通常は葉面積 (m²) が用いられる。光合成を行う茎の表面積を含めたり、針葉など表面積を求めるのが困難な場合には葉の乾燥重量を代用することもある。また、植物体のクロロフィル量や葉窒素量、葉タンパク質量、カルボキシル化酵素量を代わりに用いることもできる。NAR は ULR (unit leaf rate) と呼ばれることもあり、葉の光環境や光合成能力に影響される。

LAR はさらに「比葉面積 (specific leaf area, SLA)」と「葉重量比 (leaf weight ratio, LWR)」に分解される。

$$LAR = SLA \times LWR \quad (5)$$

$$SLA = \frac{A}{W_L} [\text{m}^2 \text{ g}^{-1}] \quad (6)$$

$$LWR = \frac{W_L}{W} \quad (7)$$

W_L は葉など同化が行われる部分の乾燥重量 (g) である。SLA は葉の厚さや機械的支持組織の量に影響されるので葉の構造の指標とされる。種間や種内でも環境によって大きく異なる⁸⁾。種間の比較では葉の寿命と相関がある⁹⁾。SLA の逆数もよく使われ、SLW (specific leaf weight) あるいは LMA (leaf mass area) と呼ばれている ('specific' は 'per unit mass' を意味するため、SLW は名称として不適切であると指摘されている¹⁰⁾)。LWR は LWF (leaf weight fraction) と呼ばれることもある。

上記の分解により、植物の成長において、光合成などの生理学的性質の影響 (NAR) と植物の形態の影響 (LAR, SLA, LWR) を分けて評価することが可能となる。これらパラメーターを他の生育条件下や他種と比較することで、それら植物との成長の違いの原因を探ることができる。このような成長解析は、個体単位だけでなく、群落単位 (土地面積当たり) でも行える。

2.b-2.2 各パラメーターの算出

成長解析を行うにあたり上記のパラメーターを得るには、ある時間間隔において植物を刈り取り、個体全体や器官の乾燥重量、葉面積を測定する (破壊測定)。あるいは、同一個体について繰り返し非破壊的な測定を行い、別に刈り取った植物のデータから乾燥重量などを推定する (非破壊測定あるいは間接測定)。これらの測定は比較的容易で、成長解析の利点の一つである。一方、これら測定値から上記パラメーターを算出したり、パラメーターの違いを統計学的に評価するのは少し複雑である。パラメーターの算出方法には主に classical approach と functional approach がある³⁻⁵⁾。classical approach は成長解析が開発された当初から用いられている方法であるが、後に述べるようにいくつかの問題を含んでいるため、1960 年代に functional approach が開発された¹¹⁻¹²⁾。しかし、これにも別の問題があることがわかり、統計学的手法の改善もあって、近年 classical approach も見直されている¹³⁾。

2.b-2.2.1 Classical [interval] approach

2 つの測定時点の間の期間の平均的な値を求める。瞬間式 (式 1, 3-4, 6-7) を積分し、それを測定間隔の時間で割った値となる (表 1)。RGR の場合は、

$$RGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} \quad (8)$$

となる。破壊測定を行った場合は、各測定時のいくつかの個体の平均値を式 (8) に代入することになるが、そのときに、W の平均値 (\bar{W}) ではなく $\ln W$ の平均値 ($\overline{\ln W}$) を代入する。そうでないと、母集団の真の平均 RGR 値からの偏り (bias) が生じるおそれがある¹⁴⁾。

RGR の計算には問題はないが、その他のパラメーターでは少々問題が生じる。例えば、NAR の計算では、積分するにあたり W と A の関係、あるいは、W と t の関係と A と t の関係が必要となる。W と A の間に直線関係を仮定するケースが多いが、実際には二次式や指数関数の方がその関係をよく記述している場合もあるかもしれない。どの関数を選ぶかによって、算出される NAR の値は異なる (表 2)。LAR においても、A/W と t の関係、あるいは、A と t の関係と W と t の関係がわからないと計算できない。多くの場合、LAR は時間と共に直線的に変化すると仮定されているが、この場合、NAR の計算で仮定した W と A の関係と矛盾してしまう¹⁵⁾。また t₁ と t₂ における値の平均値を直接、瞬間の式 (4) に代入するのも誤りである。したがって、classical approach を用いるときは、これら算出に問題のあるパラメーターは、各

表 1：成長解析のパラメーター (Chiariello and Mooney 1989²⁹⁾ より)

パラメーター	単位	瞬間的	Classical*	Functional	
相対成長速度 (RGR, SGR, R)	d ⁻¹ w ⁻¹	$\frac{1}{W} \frac{dW}{dt}$	$\frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$	$\frac{df(t)}{dt}$ ただし $f(t) = \ln W$	$\frac{1}{f(t)} \frac{df(t)}{dt}$ ただし $f(t) = W$
純同化速度 (NAR, ULR, E)	g m ⁻² d ⁻¹ g m ⁻² w ⁻¹	$\frac{1}{A} \frac{dW}{dt}$	$\frac{1}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} \frac{1}{A} \frac{dW}{dt} dt$	$e^{(g(t) - g(t_1))} \frac{df(t)}{dt}$ ただし $g(t) = \ln A$	$\frac{1}{g(t)} \frac{df(t)}{dt}$ ただし $g(t) = A$
葉面積比 (LAR, F)	m ² g ⁻¹	$\frac{A}{W}$	$\frac{1}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} \frac{A}{W} dt$	$e^{(g(t) - f(t))}$	$\frac{g(t)}{f(t)}$
比葉面積 (SLA)	m ² g ⁻¹	$\frac{A}{W_L}$	$\frac{1}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} \frac{A}{W_L} dt$	$e^{(g(t) - h(t))}$ ただし $h(t) = \ln W_L$	$\frac{g(t)}{h(t)}$ ただし $h(t) = W_L$
葉重量比 (LWR)		$\frac{W_L}{W}$	$\frac{1}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} \frac{W_L}{W} dt$	$e^{(h(t) - f(t))}$	$\frac{h(t)}{f(t)}$

W, 乾燥重量 (g); t, 時間; A, 葉面積 (m²); W_L, 乾燥葉重量 (g).

* W, A, W_L の間に特定の関係を仮定しない一般的な表現.

表 2：classical approach における W と A の関係を仮定した NAR の計算式 (Radford 1967¹⁵⁾, Chiariello and Mooney 1989²⁹⁾ より)

W と A の関係	NAR の式
$W = c + bA$	$\left(\frac{W_2 - W_1}{A_2 - A_1}\right) \left(\frac{\ln A_2 - \ln A_1}{t_2 - t_1}\right)$
$W = c + bA^2$	$\frac{2(W_2 - W_1)}{(A_2 + A_1)(t_2 - t_1)}$
$W = c + bA^\alpha$	$\left(\frac{\alpha}{\alpha - 1}\right) \left(\frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}\right) \left(\frac{A_2^{\alpha-1} - A_1^{\alpha-1}}{A_2^\alpha - A_1^\alpha}\right)$
$W = c + bA + dA^2$	$\frac{b(\ln A_2 - \ln A_1)}{t_2 - t_1} + \frac{2d(A_2 - A_1)}{t_2 - t_1}$

測定時の瞬間値として提示するほうがよいかもしれない。あるいは、W, W_L, A の測定値からこれらの値の間関係式を導く必要がある。

このような問題の他にも、測定時点間での RGR の変動 (fluctuation) が大きく、生育期間を通した傾向がつかみにくいといった問題がある⁴⁾。変動の原因は、例えば、時点 t₂ に大きな値のはずれ値があった場合、t₁-t₂ 間の RGR は大きめに出来る一方で、t₂-t₃ 間の RGR は小さめに出来る、といったことである。これは、各測定時点で最大値と最小値を取り除くというデータのトリミングを行うことである程度避けられる。

さらに、パラメーターの値の違いを統計学的に評価するのが難しいという問題がある。破壊測定の場合、成長量の反復個体間のばらつきがわからないため、RGR や NAR の分散を直接求めることができず、通常の統計学

的手法が使えない。この問題に対して古くからとられている対策は pairing という方法で、ある測定時点の個体を別の測定時点の個体と組にして同じ個体とみなして計算する手法である。ランダムに選んだり、W の順位が同じ個体を選んだりする。実験開始前に似たようなサイズの個体をあらかじめグルーピングしておく方法もある³⁾。個体サイズが比較的均一であれば有効かもしれないが、いずれの方法でも反復個体間のばらつきを実際と異なって評価してしまう可能性がある。ランダムに組んだ場合は過大評価、同順位で組んだ場合は過小評価してしまうかもしれない。2つめの方法は、統計学的定理を用いて各測定時の W のばらつきから RGR の分散を計算して推定する方法である¹⁶⁻¹⁷⁾(後述)。この場合 pairing は不要である。この分散値をもとに、t 検定を行ったり、パラメーターの標準誤差や 95% 信頼限界を求めることができる¹⁸⁾。しかしながら、この方法でも分散を過大評価してしまうおそれがある¹⁹⁻²⁰⁾。W₁ と W₂ が独立であることを仮定しているため、ランダムに個体を組にすることと実質上変わらないからである。なお、上記の方法で、パラメーターの標準誤差、95% 信頼限界を算出するプログラム (Excel ファイル) が Annals of Botany の Web ページからダウンロードできる (Hunt *et al.* (2002)¹⁸⁾, supplementary data)。3つめの方法は、RGR に関してのみ使える方法だが、分散分析を用いる方法である²¹⁾。ln W を従属変数とし、処理 (あるいは種など) と時間の 2つを独立変数として解析を行い、処理と時間の相互作用が有意かどうかを調べる。有意であれば処理間で RGR

に違いがあるといえる。この方法の場合、測定間隔が一定であることが必要である。一定でない場合は共分散分析（時間を共変量とする）が使えるだろう。

2.b-2.2.2 Functional [polynomial, dynamic] approach

各測定で得た W , A , W_L の測定値を時間 t の多項式などの関数で回帰し、そこから成長解析の各パラメータを算出する方法である^{4),22)}。例えば、 $Y=b_0+b_1X+b_2X^2+\dots+b_nX^n$ にて $Y=\ln W$, $X=t$ として回帰を行い、回帰式を $X(=t)$ で微分すると RGR の式が得られる。その他のパラメータについても容易に求まる（表 1）。回帰式ではステップワイズ法を用いて有意になる項を選択する²³⁾。また回帰式の統計値をもとに各パラメータの 95%信頼限界を求めることができる。関数としては多項式がよく使われ、その他にも様々な関数が使われたが、リチャーズ関数やスプライン曲線が当てはまりがよいことが示されている²⁴⁻²⁵⁾。

functional approach の利点は、上記の classical approach の問題が回避できることである。また、期間平均を求める classical approach と異なり、ある時点のパラメータ値を知ることができるという利点もある。一方で問題もある。一つは、多項式を用いる場合であるが、なかなか測定期間全てにわたって満足に回帰できないという点である。次数の選択が難しく、次数が低いとデータの傾向に比べて単純すぎ（underfitting）、高いと特に曲線の両端付近で大きくはずれ（overfitting）、その結果 RGR や NAR が深刻にずれる²⁶⁾。しかしこのような問題はリチャーズ関数やスプライン曲線を使うことで解決するかもしれない。もう一つの問題は、回帰式による Y の予測値の 95%信頼限界は、 $X(=t)$ の平均値付近では狭いが両端に近づくにしたがって広がることである²¹⁾。このため測定期間の初めや終わり付近では、95%信頼限界の範囲が広がってしまい、統計学的な違いが検出されにくくなる。

2.b-2.3 実験デザイン

classical approach と functional approach のどちらを用いるかによって、適切な実験デザインは異なる。classical approach で、破壊測定を行う場合は、測定時の個体サイズのばらつきを抑え、長い測定間隔で、反復個体数を多くとることが重要である^{3),24)}。 $\ln W_1, \ln W_2$ が標準偏差 $\sigma_{\ln W}$ の正規分布に従いサンプル数も同じであると仮定した場合、統計学的定理から求めた classical approach の RGR の標準誤差は以下となる²⁴⁾。

$$S_{RGR} = \frac{\sqrt{2} \times \sigma_{\ln W}}{(t_2 - t_1) \times \sqrt{n}} \quad (9)$$

W のばらつき ($\sigma_{\ln W}$) が大きかったり、測定間隔 ($t_2 - t_1$) や反復数 (n) が小さいと RGR の標準誤差が大きくなる。 W のばらつきを抑える工夫としては、実験開始前に平均的でない個体をあらかじめ取り除いたり、同じく開始前に小さい個体と大きい個体のサブグループに分けたりすることが行われている²⁷⁾。測定データを得た後に各測定時の最大と最小のデータを除く方法もあるが、統計テストを行うときにその手順を調整しなくてはならない²⁸⁾。測定間隔が短いと誤差が大きくなる理由は、ばらつきのあるデータで 2 点間のスロープを推定するときの間隔が短いほど不正確になることから理解できる。したがってこれらのことから、例えば、ある限られたサンプル個体数で、ある期間の RGR (期間平均) を知りたいときは、測定時点を増やすよりも、減らして (期間の最初と最後の 2 回)、一回の反復数を増やした方がよい。測定間隔を短くとする場合は、 W のばらつきを小さくするか、反復個体数を多くとることに気をつける必要がある。1 週間以下の測定間隔で反復個体数が 6 というのは明らかに不十分である²⁴⁾。一方、測定間隔を長くとする場合は、NAR などの他のパラメータの推定に問題が生じる場合がある。 W と A などの間に仮定した関係式が実際と違って来るかもしれないからである。経験的には、葉面積が 2 倍になる期間よりも短い測定間隔であれば、異なる関係式で計算しても NAR の違いは小さい (< 5%)³⁾。それ以上に測定間隔を長くする場合は、 W と A や W_L との関係把握のために、期間の途中でいくつか個体を刈り取ることが勧められている²⁴⁾。

functional approach では、逆に、一回の反復数は小さくてもよいから、測定間隔を短くし測定回数を増やすのがよい²²⁾。一定の測定間隔で一定の反復個体数が望ましい。一般的には、週に 2-3 回の頻度で、一回の測定につき 5-10 個体ずつが適当である。

各測定時点で W のばらつきが小さいことが望ましいことから、成長解析を行うには、コントロールされた均一な生育条件で植物が育つのが望ましい。人工気象室、温室、実験圃場、野外の自然条件、となるにしたがってその条件から離れる。特に野外の自然条件に生育する植物個体の破壊測定による成長解析は難しい²⁹⁾。発芽時期の違いや微環境、生物間相互作用によって、個体サイズや成長速度は個体間で大きく異なる。各測定時にランダムに個体を選ぶとサイズのばらつきは非常に大きいものになるだろう。相互被陰などの結果生育期間中に死亡する個体は破壊測定では把握できないので、RGR を過大評

価するおそれもある。また根などの地下部を回収するのが難しい。

集団の代表値でなく、個々の個体の成長のバリエーションに興味がある場合は、非破壊的な間接測定を行う。植物サイズの間接的な評価については Ondock & Kvet (1971)³⁰⁾ に詳しい。

2.b-2.4 植物体サイズの測定

乾燥重量は、送風乾燥機で重さが変わらなくなるまで乾燥させてから求める。デンプンなどの非構造炭水化物(TNC)が呼吸で失われるのを防ぐためには、凍結乾燥が最もよいが、あまり実際的ではない。酵素を変性させるために乾燥機で最初 60–90 分間 100°C にした後に 70°C にすると、呼吸による損失が凍結乾燥と同程度になる^{31–32)}。TNC は、最初から 70°C で乾燥させた場合は 25%、室温 (27°C) で乾燥させた場合は 40% 減少し得る³¹⁾。乾燥重量の TNC 濃度は、葉では日内変動して最大 10% 前後、根や茎、小枝では 30–50% までである^{33–34)}。乾燥機から取り出した後は、結露を防ぐためすぐデシケーターに移し、そこで冷却する。

葉面積は、自動葉面積計 (LI-COR 社、林電工など) や、パーソナルコンピューターと市販のスキャナー、画像解析ソフトのシステムを用いて測定できる。後者では、スキャナーで葉の画像を取り込み、画像解析ソフトでその面積を測る。100 dpi 以上の解像度で画像を取り込めば、自動面積計と同程度の精度で測定できる。画像解析ソフトには、フリーウェアとして、NIH Image (<http://rsbweb.nih.gov/nih-image/>) や ImagJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>)、LIA32 (<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/%7Eshinkan/LIA32/index.html>) などが公開されている。

2.b-2.5 おわりに

成長解析は考案されてすでに 100 年が過ぎるが、植物の成長の環境応答や種間比較など、研究の最初のステップとして現在もお頻繁に使われる手法である。比較的近年でも、成長が速い植物 (fast-growing species) と遅い植物 (slow-growing species) の違いをもたらす最も大きな原因が SLA であることや³⁵⁾、上昇した大気 CO₂ 濃度下では、SLA の低下のために成長はわずかしこ促進されないことなど³⁶⁾、重要な知見を我々にもたらしている。その簡便さと重要性から、これからも使用され続けるであろう。

参考文献

- 1) V. H. Blackman, *Ann. Bot.* **33** (1919) p. 353.
- 2) C. West, G. E. Briggs, & F. Kidd, *New Phytol.* **19** (1920) p.200.
- 3) G. C. Evans, *The Quantitative Analysis of Plant Growth*, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1972.
- 4) D. R. Causton & J. C. Venus, *The Biometry of Plant Growth*, London, Edward Arnold, 1981.
- 5) R. Hunt, *Basic growth analysis*, London, Unwin Hyman, 1990.
- 6) F. T. Ledig, *Proceeding of the Third North American Forest Biology Workshop*, eds C. P. P. Reid & G. H. Fechner, Fort Collins, Colorado State University, 1974, p.166.
- 7) D. G. Brand, G. F. Weetman, & P. Rehsler, *Ann. Bot.* **59** (1987) p.45.
- 8) H. Poorter & A. Van der Werf, *Inherent Variation in Plant Growth: Physiological Mechanisms and Ecological Consequences*, eds H. Lambers, H. Poorter, & M. M. I Van Vuren, Leiden, Backhuys Publishers, 1998, p.309.
- 9) P. B. Reich, M. B. Walters, & D. S. Ellsworth, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **94** (1997) p.13730.
- 10) P. G. Jarvis, *HortSci.* **20** (1985) p.812.
- 11) A. J. Vernon & J. C. S. Allison, *Nature* **200** (1963) p.814.
- 12) A. P. Hughes & P. R. Freeman, *J. Appl. Ecol.* **4** (1967) p.553.
- 13) H. Poorter, *Physiol. Plant.* **75** (1989) p.237.
- 14) W. A. Hoffmann & H. Poorter, *Ann. Bot.* **80** (2002) p. 37.
- 15) P. J. Radford, *Crop Sci.* **7** (1967) p.171.
- 16) J. Kvet, J. P. Ondok, J. Necas, & P. G. Jarvis, *Plant Photosynthetic Production: Manual of Methods*, eds Z. Sestak, J. Catsky, & P. G. Jarvis, The Hague, Dr W. J. Junk Publisher, 1971, p.343.
- 17) J. C. Venus & D. R. Causton, *Ann. Bot.* **43** (1979) p.633.
- 18) R. Hunt, D. R. Causton, B. Shipley, & A. P. Askew, *Ann. Bot.* **90** (2002) p.485.
- 19) D. R. Causton, *Ann. Bot.* **67** (1991) p.137.
- 20) D. R. Causton, *Ann. Bot.* **74** (1994) p.513.
- 21) H. Poorter & C. Lewis, *Physiol. Plant.* **67** (1986) p.223.
- 22) R. Hunt, *Plant Growth Curves: The Functional Approach to Plant Growth Analysis*, London, Edward Arnold, 1982.
- 23) R. Hunt & I. T. Parsons, *J. Appl. Ecol.* **11** (1974) p.297.
- 24) H. Poorter & E. Garnier, *J. Exp. Bot.* **302** (1996) p.1343.
- 25) B. Shipley & R. Hunt, *Ann. Bot.* **78** (1996) p.569.
- 26) A. D. Nicholls & D. M. Calder, *New Phytol.* **72** (1973) p. 571.
- 27) D. M. Whale, H. Heilmeyer, & H. Milbrodt, *Ann. Bot.* **56** (1985) p.631.
- 28) V. Barnett & T. Lewis, *Outliers in Statistical Data*,

- Chichester, Wiley and Sons, 1978.
- 29) N. R. Chiariello, H. A. Mooney, & K. Williams, *Plant Physiological Ecology: Field Methods and Instrumentation*, eds R. W. Pearcy, J. Ehleringer, H. A. Mooney, & P. W. Rundel, London, Chapman and Hall, 1989, p.327.
- 30) J. P. Ondock & J. Kvet, *Plant Photosynthetic Production: Manual of Methods*, eds Z. Sestak, J. Catsky, & P. G. Jarvis, The Hague, Dr W. J. Junk Publisher, 1971, p. 392.
- 31) C. A. Raguse & D. Smith, *J. Agri. Food Chem.* **13** (1965) p.306.
- 32) D. Smith, Removing and Analyzing Total Non-structural Carbohydrates from Plant Tissue, Madison, Research Division, College of Agricultural and Life Sciences, University of Wisconsin, Research Report 41, 1969.
- 33) H. A. Mooney & W. D. Billings, *Am. J. Bot.* **47** (1960) p.594
- 34) H. A. Mooney & B. Bartholomew, *Bot. Gaz.* **135** (1974) p.306
- 35) H. Lambers & H. Poorter, *Adv. Ecol. Res.* **23** (1992) p. 187
- 36) H. Poorter & M. L. Navas, *New Phytol.* **157** (2003) p. 175