



Title	ガスチャンバー法（同化箱法）および重量法による個葉の蒸散特性の評価
Author(s)	松尾, 奈緒子; 三木, 直子; 廣部, 宗
Citation	低温科学, 67, 137-142 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/2115/39111
Type	bulletin (article)
Note	2章 個体・環境の測定 3
File Information	67-022.pdf



[Instructions for use](#)

3. ガスチャンバー法(同化箱法)および重量法による個葉の蒸散特性の評価

松尾奈緒子¹⁾, 三木 直子²⁾, 廣部 宗²⁾

光合成活動に影響を与える要因の一つである葉の蒸散特性の評価法として, ガスチャンバー(同化箱)法による解析と重量法による解析がある。これらの解析は蒸散に関する種特性を評価する上で有効である。

Evaluation of transpiration properties by gas chamber and gravimetric methods

Naoko MATSUO (section 3.2), Naoko MIKI, Muneto HIROBE (section 3.3)

Gas chamber methods and gravimetric methods of dehydration from leaves can provide evaluation of transpiration properties, which are the factors affecting photosynthesis. These analyses would be suitable to evaluate inter-specific differences in transpiration properties in plant species.

3.1 はじめに

光合成活動に必要な CO₂ の取り込みと蒸散活動における H₂O の放出は, 主に同一経路である葉の気孔を介して行われる。この気孔の開閉は主に, 光, CO₂ 濃度, 葉の細胞の水分状態(水ポテンシャル)に制御されることから, 葉における蒸散(失水)は気孔の開閉を通じて光合成速度に少なからず影響を与える。ここでは蒸散特性についての測定方法のうち, ガスチャンバー(同化箱)法(gas chamber methods)と重量法(gravimetric methods)について概説する。ガスチャンバー法は, 近年, 測定機器の発展に伴い最も広く用いられており, また, 重量法は複雑で高額な測器が特に不要で歴史的に古くから用いられている方法の一つである。

3.2 ガスチャンバー法による蒸散速度と気孔コンダクタンスの測定

松尾 奈緒子

3.2.1 蒸散速度と気孔コンダクタンス

葉が光合成のため気孔を開くと, 気孔内外の水蒸気濃度勾配にしたがって細胞間隙から大気へと水蒸気が拡散していく。これが蒸散であり, 蒸散速度 E (mol m⁻²s⁻¹) は Fick の法則により次式のように表される。

$$E = g_{tw}(W_i - W_a) \quad (1)$$

ここで, g_{tw} は水蒸気拡散に対する全コンダクタンス (mol m⁻²s⁻¹), W_i は細胞間隙の水蒸気モル分率 (mol mol⁻¹), W_a は大気中の水蒸気モル分率 (mol mol⁻¹) である。水蒸気拡散に対する全コンダクタンス (g_{tw}) は気孔コンダクタンス (g_{sw}) および葉面境界層コンダクタンス (g_{bw}) とからなる。片面気孔の葉の場合, この水蒸気拡散に関する全コンダクタンス (g_{tw}) は次式で表せる。

$$\frac{1}{g_{tw}} = \frac{1}{g_{sw}} + \frac{1}{g_{bw}} \quad (2)$$

ここで, g_{sw} と g_{bw} はそれぞれ水蒸気拡散に対する気孔コンダクタンス (mol m⁻²s⁻¹) と葉面境界層コンダクタンス (mol m⁻²s⁻¹) である。葉面境界層とは葉の表面において摩擦により風速が減衰している空気層のことを言う。葉面境界層コンダクタンスは葉面境界層における水蒸気の拡散のしやすさを表し, その大きさは葉の形状や粗度, 葉のつく角度と風速によって決まる。なお, 光合成の際の二酸化炭素拡散に対するコンダクタンスは, 上述の水蒸気拡散に対するコンダクタンスと次のような関係にあることを注意しなくてはならない。静流条件での水蒸気分子の拡散係数は二酸化炭素分子の 1.6 倍となるので, 水蒸気に対する気孔コンダクタンス (g_{sw}) と二酸化炭素に対する気孔コンダクタンス (g_{sc}) との間には次式の関係が成り立つ。

$$g_{sc} = \frac{g_{sw}}{1.6} \quad (3)$$

ここで, g_{sc} は二酸化炭素拡散に対する気孔コンダクタンス (mol m⁻²s⁻¹) である。一方, 葉面境界層は強制対流条件であるため, 水蒸気分子の拡散係数は二酸化炭素分子の 1.37 倍となる。したがって, 水蒸気に対する葉面境

1) 三重大学大学院生物資源学研究所

2) 岡山大学大学院環境学研究所

界面コンダクタンス (g_{bw}) と二酸化炭素に対する葉面境界層コンダクタンス (g_{bc}) との間には次式の関係が成り立つ。

$$g_{bc} = \frac{g_{bw}}{1.37} \quad (4)$$

ここで、 g_{bc} は二酸化炭素拡散に対する葉面境界層コンダクタンス ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) である。

細胞間隙の水蒸気濃度 (W_i) を算出するには、細胞間隙が葉温において水蒸気飽和していると仮定する。ある温度における飽和水蒸気圧 ($e_s(T)$) の算出法としては、Smithsonian Meteorological Table (1984) による対応表や数種類の経験式が提案されている¹⁾。そのうちのひとつ Lowe (1971) の飽和水蒸気圧式によると、ある温度における飽和水蒸気圧 ($e_s(T)$) は次式で与えられる²⁾。

$$e_s(T) = 6.1078 + 4.4365 \times 10^{-1} T + 1.4289 \times 10^{-2} T^2 \\ + 2.6505 \times 10^{-4} T^3 + 3.0312 \times 10^{-6} T^4 \\ + 2.0341 \times 10^{-8} T^5 + 6.1368 \times 10^{-11} T^6 \quad (5)$$

ここで、 $e_s(T)$ は温度が摂氏 $T^\circ\text{C}$ のときの飽和水蒸気圧 (hPa) である。したがって、細胞間隙の水蒸気圧は葉温が $T_i^\circ\text{C}$ のときの飽和水蒸気圧 $e_s(T_i)$ となる。この $e_s(T_i)$ を大気圧 (P_a) で除した値が細胞間隙の水蒸気モル分率 (W_i) となる。

$$W_i = \frac{e_s(T_i)}{P_a} \quad (6)$$

また、大気水蒸気圧 (e_a) は次式により得られる。

$$e_a = \frac{Rh}{100} e_s(T_a) \quad (7)$$

ここで、 e_a は大気水蒸気圧 (hPa)、 Rh は相対湿度 (%), $e_s(T_a)$ は気温 $T_a^\circ\text{C}$ における飽和水蒸気圧 (hPa) である。大気水蒸気圧 (e_a) を大気圧 (P_a) で除した値が大気中の水蒸気モル分率 (W_a) となる。

$$W_a = \frac{e_a}{P_a} \quad (8)$$

細胞間隙水蒸気圧 ($e_s(T_i)$) と大気水蒸気圧 (e_a) の差を葉面における飽差 (Vapor pressure deficit, VPD) という。

$$VPD = e_s(T_i) - e_a \quad (9)$$

ここで、 VPD は飽差 (hPa) である。この飽差 (VPD) を大気圧 (P_a) で除した値が気孔内外の水蒸気モル分率差 ($W_i - W_a$) であり、(1) 式を見てもわかるように蒸散速度を決定する要因のひとつである。飽差が大きいつま、つまり大気が乾燥しているときは蒸散速度が大きくなる。しかし、飽差は気孔コンダクタンス (g_{sw}) の大きさ

にも影響を与える。飽差が増加するにつれて気孔コンダクタンス (g_{sw}) は低下し、飽差に対する応答は樹種や個体によって異なることが知られている³⁾。

3.2.2 ガスチャンバー法

蒸散速度の主な測定方法にはガスチャンバー (同化箱) 法と重量法がある。ガスチャンバー法の測定原理やシステムについては「2.2 個葉の光合成および呼吸測定システム」に詳細な解説があるので参照されたい。ここでは、ガスチャンバー (同化箱) 内に空気が一定の流量で流入・流出する開放系システムである携帯型光合成蒸散測定装置 (Li-Cor 社の LI-6400 など) を用いた測定について簡単に説明する。このシステムにおいて、空気の流れは葉が入ったチャンバーを通過する経路 (サンプル) とチャンバーを通過しない経路 (リファレンス) とに分岐する。チャンバー内の水蒸気のマスバランスは次式のように表せる。

$$LE = F_{out} W_{out} - F_{in} W_{in} \quad (10)$$

ここで、 L はチャンバー内の葉面積 (m^2)、 E は蒸散速度 ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、 F_{in} と F_{out} はそれぞれチャンバーに流入する空気とチャンバーから流出する空気の流量、 W_{in} と W_{out} はそれぞれチャンバーに流入する空気とチャンバーから流出する空気の水蒸気濃度 (mol mol^{-1}) である。流入した空気に蒸散による水蒸気が加わってチャンバーから出て行くので、チャンバーから流出する空気の流量 (F_{out}) は、

$$F_{out} = F_{in} + LE \quad (11)$$

となる。式 (11) を式 (10) に代入すると、蒸散速度 (E) は次式で得られる。

$$E = \frac{F_{in}(W_{out} - W_{in})}{L(1 - W_{out})} \quad (12)$$

携帯型光合成蒸散測定装置 (Li-Cor 社の LI-6400) では、赤外線ガスアナライザー (Infra Red Gas Analyzer: IRGA) で測定したサンプルとリファレンスの水蒸気モル分率を W_{out} と W_{in} としている。

蒸散速度 (E) と水蒸気拡散に対する全コンダクタンス (g_{tw}) の関係を示した (1) 式は空気中に水蒸気だけが存在する場合の式である。実際の空気中には二酸化炭素分子と水蒸気分子とが存在することを考慮すると、蒸散速度 (E) は次式のように表される⁵⁾。

$$E = g_{tw}(W_{out} - W_{in}) + \frac{W_{out} + W_{in}}{2} E \quad (13)$$

したがって、水蒸気拡散に対する全コンダクタンス (g_{tw}) は次式で得られる。

$$g_{tw} = \frac{E \left(1 - \frac{W_{out} + W_{in}}{2} \right)}{W_{out} - W_{in}} \quad (14)$$

水蒸気拡散に対する気孔コンダクタンス (g_{sw}) は (2) 式より、

$$g_{sw} = \frac{1}{\frac{1}{g_{tw}} - \frac{1}{g_{bw}}} \quad (15)$$

となる。(15) 式において、気孔コンダクタンス (g_{sw}) を求めるには葉面境界層コンダクタンス (g_{bw}) の値が必要となる。携帯式光合成蒸散測定装置ではチャンパー内の風速を一定に保っているため、葉面境界層コンダクタンスは一定であると仮定して装置ごとに設定された値をそのまま用いることが多い。このとき、両面気孔の葉では両面に葉面境界層ができるので、葉面境界層コンダクタンスは片面気孔の葉の2倍となることに注意する。ただし、3.2.1で述べたように葉面境界層コンダクタンスは葉の形状・粗度・角度によっても異なることにも注意しなくてはならない。そこで、紙などを使って実際の葉に似せたモデルを作り、それを水に濡らして一定時間にどれだけの水が蒸発するかによって葉面境界層コンダクタンスを求めることがある。

$$g_{bw} = \frac{E_p}{W_p - W_a} \quad (16)$$

ここで、 E_p は紙からの蒸発速度 ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、 W_p と W_a はそれぞれ紙の表面と大気の水蒸気モル分率 (mol mol^{-1}) である。

開放系的气体チャンパー法には上述のシステムの他にも、乾燥空気を流してチャンパー内の湿度を一定に保つタイプがある (Li-Cor 社の LI-1600 など)。これは、チャンパー内の湿度を湿度計でモニタリングし、蒸散により水蒸気濃度が上昇すると乾燥空気を送り込み、チャンパー内の湿度を一定に保つよう調節するという仕組みである。このときの湿度と乾燥空気の流量から蒸散量を算出する。

また、閉鎖系的气体チャンパー法 (Decagon Device の SC-1 など) もある。閉鎖型のチャンパーに葉を挟み、チャンパー内の水蒸気濃度の上昇速度から蒸散速度を算出している。このシステムではチャンパー内の湿度が上昇するにつれて蒸散速度が低下してしまったり、チャンパー内の湿度が大気よりも高い状態で葉を挟むと蒸散速度がうまく測定できないなど問題点があり、注意が必要である。

引用文献

- 1) R. List, Smithsonian Meteorological Tables, Smithsonian Inst. Press., Washington DC, USA, 1984.
- 2) P. R. Lowe, J. Appl. Meteor. **16** (1976) P.100-103.
- 3) E.-D. Schulze & A. E. Hall, Physiological Plant Ecology II. Encyclopedia of Plant Physiology Vol 12B., eds. O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, H. Ziegler, Springer, Berlin Heidelberg New York, 1982, P.181-230.
- 4) P. D. Jarman, J. Exp. Bot. **25** (1974) P.927-936.
- 5) S. von Caemmerer & G. D. Farquhar, Planta **153** (1981) P.376-387.

3.3 重量法による蒸散特性の評価

三木 直子・廣部 宗

3.3.1 重量法

(1) rapid-weighting method

重量法にもいくつかの手法があるが、大きくは2種類に分けることができる。一つは植物体の採取後に直ちに重量を短時間計測し、採取直後の重量の減少速度から、その植物体のおかれた自然条件下における採取時の蒸散速度を算出するものである。重量法において最もシンプルな手法であり、rapid-weighting method^{1,2)}と呼ばれる。この測定法は、採取後の数分間の蒸散速度は採取前の蒸散速度と有意な差は無いという仮定の基に成り立っている。しかし、供試植物によって傾向が異なる可能性があるため採取前と採取後の値についてガスチャンパー法等を用いて確認をした方がよい。また、葉に近い部分で植物体を採取した場合、採取直後の蒸散速度が一時的に増加する「IVANOV effect」³⁾と呼ばれる現象も時折確認されていることから、採取にあたってはシュート単位などの方が好ましい。蒸散速度は採取個体の重量の減少速度から求められ、目的に応じて単位乾重、単位生重、あるいは単位葉面積あたりでの解析も可能である。

[測定手順と解析]

植物体は採取後、吸水させずに直ちに切り口にワセリンを塗り、空の広口バイアル瓶に入れて重量を測定する。植物体採取後から測定開始までの間隔および測定間隔はできるだけ短くし (30 秒から1分程度)、10分から20分ほど測定する。対象となる植物体の自然条件下における採取時の蒸散速度を求めることが目的であることから、測定は植物体がおかれていた自然条件下において行う必要がある。供試する植物体のサイズによって異なるが、シュート単位ほどのサイズの測定では最小目盛り0.1

mg で風防付きの電子天秤が好ましい。

得られた生重量の変化データから、積算失水量の採取直後の変化曲線を得ることができる。積算失水量は時間経過に伴い測定後数分は直線的に増加するが、その後は曲線的な増加を示す。そのため、直線的な増加が認められる部分における直線回帰の傾きから蒸散速度を求めることができる。一般的には直線的な増加は5分から10分程度認められるが、供試植物によって異なる可能性があることから10分から20分程度測定を継続してその範囲を見極めた方がよい。

(2) 失水曲線法

重量法におけるもう一つの手法として、乾燥に伴う失水曲線 (water loss curve, あるいは leaf drying curve) を用いた解析がある。失水曲線は採取した植物体を一度十分に飽和させた後、制御した一定の環境条件下において、失水による重量変化を比較的長時間 (5時間から10時間程度) 連続的に測定することで得ることができる。これは前者とは異なり、各供試材料における specific な潜在的蒸散能の評価を行うものである。

Fukuda⁴⁾ および Hygen^{5,6,7)} は失水曲線を基に気孔蒸散速度とクチクラ蒸散速度を分けることを試みた。採取した植物体を人工光の下で強制的に蒸散させることにより、失水による重量変化曲線を作成することができる。重量は一定の環境条件下において時間経過に伴い指数関数的な減少を示す。そのため、時間経過に対する植物体の含水率の対数変化をプロットすると、測定開始時の飽和条件下では含水率は直線的に低下し、やがて曲線的な低下に変わり、その後、再度直線的な低下を示す。彼らはこの傾きの変化に失水に伴う気孔閉鎖が関わっていると考え、最初の直線段階を気孔開度が最大で開度に変化が見られない stomatal phase, 次の曲線的な変化の段階を気孔の閉鎖が起こっている closing phase, そして最後の直線的な段階を気孔が閉じ終わった cuticular phase であるとした。

[測定手順と解析]

植物体は採取後、直ちに水中において水切りし、切り口を水で満たした容器に入れ一晩十分に吸水させ飽和させておく。切り口にワセリンを塗り、空の広口バイアル瓶に入れ強光条件下に置き、一定間隔 (例えば1分から2分間隔) で重量変化が安定するまで (5時間から10時間程度) 重量を測定する。供試する植物体のサイズによって異なるが、葉やシュートを用いる場合には最小目盛り0.1 mg の電子天秤を使うとよい。室内の環境条件は気孔を十分に開く上で適した条件に制御する必要がある (例

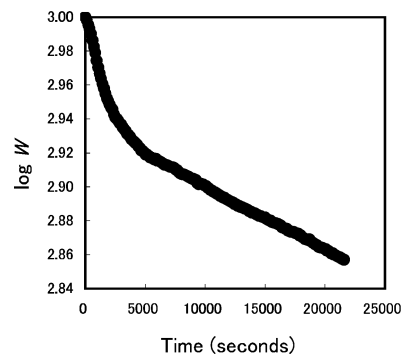


図1: 含水率の対数値の経時変化 (*Betula platyphylla* var. *japonica* で作図)

例えば、気温=25°C、湿度=50%、PFD=500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

得られた生重量の変化データ (w) を、試料の測定開始時 (initial) の生重を 1000 mg としたときの値 (W ; 含水率 (千分率)) に変換し、 $\log W = f(t)$ の片対数グラフを作成する (図1)。この片対数グラフから視覚的に stomatal phase, closing phase, cuticular phase を区別し、stomatal phase, cuticular phase それぞれにおける蒸散速度を算出し、気孔蒸散速度およびクチクラ蒸散速度を求める。

気孔の開閉は植物の乾燥に対する応答特性として非常に重要であることから、この手法はこれまで蒸散速度としか扱っていなかったものを、気孔応答を考慮し気孔蒸散とクチクラ蒸散に分けて評価する試みとして価値が高い。しかしながら、この手法は各 phase の境界を視覚的に区別することから主観的であると指摘せざるを得ず、また算出方法が複雑であることも無視できない。

3.3.2 失水曲線を用いた新たな評価法の可能性

ここで、水の損失に対して、完全に気孔を閉鎖することのできる植物を想定した場合、以下のような評価が考えられる。

乾燥に伴う植物体の重量減少は葉における蒸散量を表している。したがって、植物体の蒸散量 (TT) は気孔蒸散量 (TS) とクチクラ蒸散量 (TC) の和として表される。

$$TT = TS + TC \quad (1)$$

気孔コンダクタンスは乾燥に対して指数関数的に低下することが報告されている⁸⁾。したがって、気孔は時間経過とともに同じ割合で閉じると仮定すると、ある時刻 t において開いている気孔数 (X_t) は以下のように表される。

$$X_t = X_0 \times e^{-kt} \quad (2)$$

ここで、 X_0 は全気孔数、 k は気孔閉鎖に関する定数である。

ある時刻 t における気孔蒸散速度 (TS_t) は以下のように表される。

$$TS_t = S \times X_t, \quad (3)$$

ここで S は気孔一つあたりの蒸散速度である。式 (2) と式 (3) より、

$$TS_t = S \times X_0 \times e^{-kt} = TS_{\max} \times e^{-kt}, \quad (4)$$

ここで、 TS_{\max} は最大気孔蒸散速度である。また、 TS は TS_t (4) の積分値であるので、

$$\begin{aligned} TS &= \int_0^{\infty} TS_t dt = \int_0^{\infty} (TS_{\max} \times e^{-kt}) dt \\ &= TS_{\max} \times \left(-\frac{1}{k} \times e^{-kt} + C\right), \end{aligned} \quad (5)$$

C は積分定数。

時刻 $t=0$ のとき、 TS は 0 であることから、

$$TS_{\max} \times \left(-\frac{1}{k} \times e^0 + C\right) = 0, \quad C = \frac{1}{k} \quad (6)$$

式 (5) と式 (6) より以下の式が得られる。

$$TS = TS_{\max} \times \left(-\frac{1}{k} \times e^{-kt} + \frac{1}{k}\right) = \frac{TS_{\max}}{k} (1 - e^{-kt}) \quad (7)$$

クチクラ蒸散速度 (Tc) は一定で時間変化がないと仮定すれば、クチクラ蒸散量 (TC) は次のように表すことができる。

$$TC = Tc \times t \quad (8)$$

式 (1)、式 (7)、および式 (8) より、採取した植物体の蒸散量 (TT) の時間変化は以下のように表すことができる。

$$TT = TS + TC = \frac{TS_{\max}}{k} (1 - e^{-kt}) + Tc \times t \quad (9)$$

測定手順は Fukuda⁴⁾ および Hygen^{5,6,7)} とほぼ同様であるが、彼らは解析において、採取した植物体の生重の変化曲線を用いたのに対し、我々が提案するこの評価法では積算失水量の変化曲線 (図 2) を用いる。図 2 では単位葉面積あたりの積算失水量の変化を示しているが、目的により単位乾重、あるいは単位生重あたりでの解析も可能である。各積算失水量の変化曲線に対し式 (9) を当てはめると TS_{\max} 、 Tc 、 k の 3 つのパラメータを客観的に得ることができる。実際に、数種の植物 (*Artemisia sphaerocephala* ; 落葉半灌木 [中国の温帯ステップにお

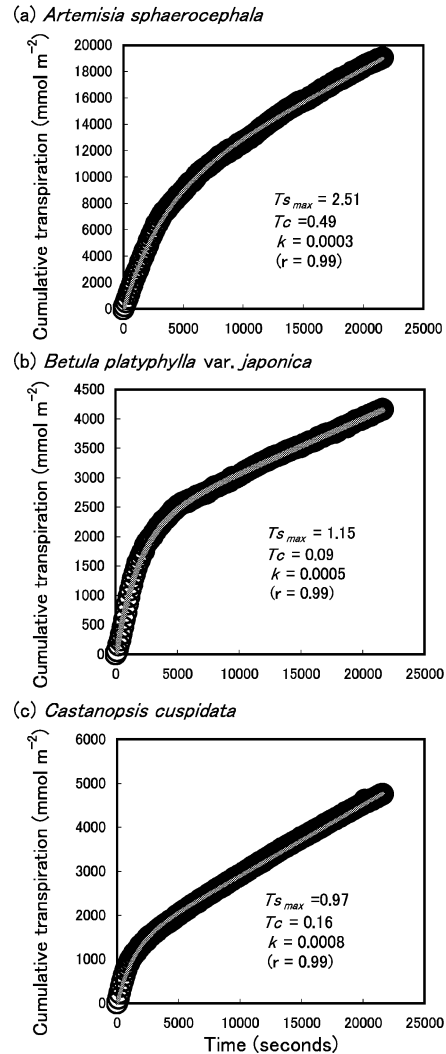


図 2 : *Artemisia sphaerocephala* (a), *Betula platyphylla* var. *japonica* (b) および *Castanopsis cuspidata* (c) の単位葉面積あたりの積算失水量の経時変化 (フィッティングには Kaleidagraph 4.0; Synergy Software Technologies, Inc., Reading, PA を使用した。また、図中における各パラメータの単位は TS_{\max} および Tc は $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 k は s^{-1} である。)

いて一般的な種], *Betula platyphylla* var. *japonica* ; 落葉広葉樹 [冷温帯の代表的樹種], *Castanopsis cuspidata* ; 常緑広葉樹 [暖温帯の代表的樹種]) にこの式 (9) を適用してみると、曲線全体において非常によく当てはまっているように思われる (図 2)。ただし、この評価は、完全に気孔を閉鎖することのできる植物を想定している点に気をつけなければならない。実際には Tc の中に残余の気孔蒸散速度、つまり気孔を最大限閉じても閉じきれなかったために生じる気孔蒸散速度がわずかながら含まれている場合があるため、気孔が閉じきっているかどうかを実体顕微鏡、あるいはスンプ法等により確認した方がより正確な評価が可能である。スンプ法とは

検鏡材料（ここでは植物体の葉面）にスンプ液（酢酸アミルエステル）を塗布したスンプ板（セルロイド板）を貼り付けて乾燥させ作成したレプリカを用いて、検鏡材料の表面構造を顕微鏡で観察する方法のことである。 k についてはいずれの場合も乾燥に対する気孔の反応速度を表しているが、確認の結果、わずかながら気孔が閉じきっていなかった場合は、 $T_{S_{max}}$ は「気孔の開閉により調節可能な範囲内での最大気孔蒸散速度」、 T_c は「クチクラ蒸散速度と気孔を最大限閉鎖しても生じてしまう気孔蒸散速度の和」を表していることになる。この場合、気孔蒸散速度とクチクラ蒸散速度の完全な分離とはならない。しかしながら、いずれの場合においても、これら3つのパラメータは植物生理に関する分野において非常に有意義な生理特性を表現しており、高い利用価値があるだろう。

3.3.3 失水曲線を用いた評価の意義

失水曲線はある一定の制御条件下における水分供給の無い状態での脱水過程を表現している。そのため、この曲線の形は乾燥に対する気孔応答だけでなく、供試植物体の貯水量によっても影響を受ける。したがって、この

曲線から、個葉レベルあるいはシュートレベルといった各レベルにおいて、蒸散に関する種特性を評価することが可能であると同時に、供試植物体のサイズを様々に変化させることにより、気孔応答といった蒸散特性に対して貯水量が与える影響についても評価が可能だろう。また、失水に伴う水ポテンシャルの変化とも関連づけた解析を行うことにより、蒸散特性および貯水評価の上で更に発展的な解析も可能となるだろう。

引用文献

- 1) B. Huber, *Ber. dtsh. bot. Ges.* **45** (1927) p.611.
- 2) L. A. Ivanov, *Lesn. Zh.* **48** (1918) p.1.
- 3) L. A. Ivanov, *Ber. deut. bot.* **46** (1928) p.306.
- 4) Y. Fukuda, *Pflanzenforsch.* **10** (1935) p.1.
- 5) G. Hygen, *Physiologia Plantarum* **4** (1951) p.57.
- 6) G. Hygen, *Physiologia Plantarum* **6** (1953) p.106.
- 7) B. Slavik, *Methods of studying plant water relations*, ed. B. Slavik, Springer-Verlag, New York, (1974) p.236.
- 8) A. R. Nejad, and U. Meeteren, *Physiologia Plantarum* **125** (2005) p.324.