

発芽及び春化処理過程における

コムギ胚の窒素代謝

その 1. 可溶性蛋白質の熱凝固及び等電点の変化について

寺 岡 宏

高等植物の発育は光週性の段階及びそれに先行するところの春化処理の段階の 2 つの時期に大別することが出来る。それ故に発育現象の解明を目的として、従来多数の研究が春化処理の面からもなされてきた。(1) これらの春化処理の研究は主として、春化処理によつて花芽形成に促進的に作用するホルモン様物質(例えばヴァーナリンのようなもの)が胚につくられることを仮定し、この物質の生成をめぐつて春化処理の現象を、いくつかの質的にことなる反応過程に解析しようとするものであつた。以上のような研究の結果、春化処理の過程についていくつかの反応図式が提出されている。(2,3,4,5,6)

以上のような研究方法とは別に、著者達は代謝生理学の立場から、生物体におけるすべての生理現象の根底には物質代謝が介在し、物質代謝の様式及びその調節機構の変化が生物体におけるすべての生理現象の変化を支配する主要なる要因であるとの考え方のもとに実験を行つてきた。即ち、胚の代謝系の存在様式の変化をとおして春化処理の機作を解明しようとするものである。胚の代謝系についてはすでに、呼吸系(7) 核酸(8) 蛋白質及び炭水化物(8) クロロゲン酸(9) 等を Merkmal としてその変化を追求し又胚の組織化学的研究(10) 等を通して春化処理のもつ生理的意義を研究してきた。此の論文においては、以上のような観点のもとに、春化処理による蛋白質の量的及び質的な変化を解明することを目的としてなされた実験の結果を報告する。

材 料 と 方 法

実験材料としては秋まきコムギ赤サビ不知 1 号を用いた。材料はウスブルン溶液で滅菌した後、26°C で発芽させた。春化処理は滅菌した種子を約 15~16 時間、26°C で浸水させた後、濾紙上で水分をとり、これを 2~4°C 中に 50~60 日間保存した。実験にはすべて胚乳から分離した胚を使用した。胚は発芽 2 日目以後及び春化処理の進行にともない、幼根を生ずるが、実験には幼根を切除し、胚盤、子葉、子葉鞘をふくむ部分を用いた。

窒素の定量は Lowry 法(11) を用いた。カリブレーションカーブは、胚の抽出液の窒素量を、フェノール法(12) によつて定量し、この測定値を基準として、Lowry 法による 660 m μ の吸光度を求めた。その結果、図 1 に示すようなカーブが得られた。図 1 のカーブから次の式が求められた。

$$N_{\mu g} = 58.3E \quad (E \text{ は } 660m\mu \text{ における吸光度})$$

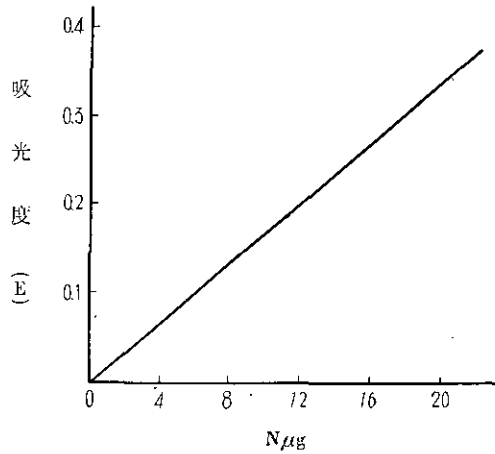
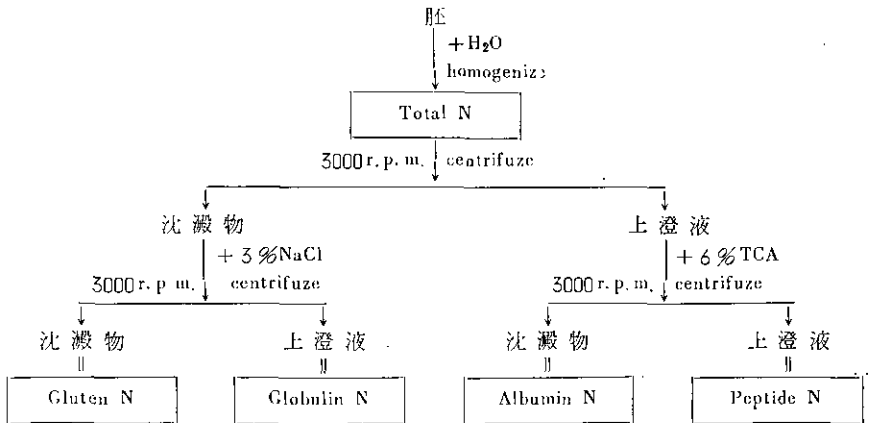


図 1 コムギ胚抽出液窒素量の Lowry 法によるカリブレーションカーブ

胚の蛋白質の分割には、胚に水と海砂を加えてすりつぶし、この液の窒素量を Total N とする。この液を 3000 r. p. m. で約10分間遠心分離し、その上澄液に等量の 6% トリクロル醋酸を加える。これを再び 3000 r. p. m. で遠心分離し、沈澱した部分を Albumin N、上澄液の N 量を Peptide N とした。他方最初の遠心分離による沈澱物に 3% 食塩水を加えて、かくはんし、再び 3000 r. p. m. で遠心分離し、その上澄液の部分の窒素を Globulin N、沈澱物中の窒素を Gluten N とした。以上の窒素分割の操作を図示すれば下記のようなになる。



アルブミンの熱凝固量の定量には、種々の pH の 1/15 磷酸緩衝液 1 ml 中にアルブミン溶液 1 ml を加え、5 分間沸騰水中で加熱し、後 8 ml の水を加えて全量を 10 ml にする。これを遠心分離して上澄液の N 量を定量し、加熱前の N 量からの減少量を熱凝固量とした。

アルブミンの等電点の測定には、蛋白質が等電点附近で溶解度が極小になり、沈澱を生ずることを利用し、種々の pH の緩衝液中におけるアルブミンの沈澱の生成量を定量した。即ち 1/10 クエン酸緩衝液 5 ml 中にアルブミン溶液 0.5 ml を加え約 2 時間 0~2°C 中で冷却した後、遠心分離して、上澄液中の N 量を定量し、最初の N 量からの減少量を沈澱した蛋白質量として求めた。

結 果

1. 胚の窒素含量の変化

胚は発芽の進行にともない、急速な伸長生長を行い、それに対応して、全窒素量も急激に増加する。表1は発芽の進行にともなふ胚の窒素量の変化を示す。26°C発芽においては4日目頃で子葉

表 1 発芽コムギ胚における窒素含量 (胚20ヶ当りN μ g)

発芽日数	0	1	2	3	4	5
Total N	910	1420	1940	2470	4310	5950
Albumin N	480	870	1190	1578	2120	2535
Peptide N	50	200	370	490	1480	2315
Globulin N	133	192	235	300	590	960
Gluten N	247	158	145	105	120	140

鞘の伸長が停止し、4日目以後になると子葉鞘の先端を突き破つて、子葉の伸長が行はれる。この時期では胚乳中のNは殆んど胚に移行してしまい、更に子葉鞘中のアルブミンも減少して子葉中のアルブミンの合成に用いられる。3日目以後における胚盤、子葉、子葉鞘中におけるアルブミン対ペプチドの量比は表2に示すような値をとり子葉中ではアルブミンが又子葉鞘中ではペプチド

表 2 発芽コムギ胚におけるアルブミン・ペプチド含量比
(Albumin N/Peptide N)

発芽日数	3	4	5	6
子葉鞘	0.47	0.53	0.70	0.50
子葉	1.32	1.56	1.64	1.70
胚盤とその上部分	0.96	1.01	1.10	1.00

が優位を保っている。表1において発芽3日目以前と以後では胚の窒素量の変化に可成り特徴的な相違がみられる。即ち、3日目以前ではPeptide Nに比してAlbumin Nが優位をしめるが3日目以後においては急激にPeptide Nの増加がみられる。

他方春化処理50日間に胚のTotal N量は約2倍に増加し、発芽3日目のTotal N量に相当する状態に達する。しかし窒素の構成に関しては発芽3日目の胚と春化処理50日のものとでは可成りの相違を示す。即ち、Total Nに比してAlbumin Nの少いこと、Peptide N及びGluten Nの多いことなどが春化処理胚の特徴として指摘される。

春化処理46日目の種子を26°Cに移して、発芽させ、胚の窒素の変化をしらべた。表4はその結果を示す。春化処理を受けた胚は常温においてもその特徴を保持し、無処理の発芽胚とは可成りことなつた窒素の構成を示す。即ち、Total Nに比較して、Albumin Nが少く、Peptide N及びGluten Nが多い。

表 3 春化处理コムギ胚における窒素含量 (胚20ヶ当り N μ g)

春化处理日数	0	10	20	30	35	50
Total N	1280	1310	1405	1590	1800	2620
Albumin N	369	407	595	545	800	850
Peptide N	200	250	355	380	340	950
Globulin N	191	151	140	200	218	270
Gluten N	419	502	315	474	442	550

表 4 46日間春化处理コムギ胚の発芽過程における窒素含量

(胚20ヶ当り N μ g)

発芽日数	0	1	2	3	4
Total N	2050	2450	3100	3910	5100
Albumin N	640	740	1145	1250	1390
Peptide N	825	1220	1255	1960	2520
Globulin N	163	163	164	210	210
Gluten N	422	327	536	490	980

2. 胚のアルブミンの熱凝固性について

発芽過程及び春化处理過程における蛋白質の質的な変化を解明するための一つの方法として、種々の pH 溶液中での蛋白質の熱凝固の状態を調べた。胚のアルブミンは pH6.2 以上のクエン酸緩衝液中では殆んど熱凝固をおこさないが、pH 5.3 附近では全量が熱凝固する。又 pH 6.2 から pH 5.3 までの範囲では熱凝固をおこすものとおこさないものがある。例えば発芽 0 日の胚のアルブミンでは pH 5.29 では 100%, pH 5.70 では 68.8%, pH 5.85 では 11.1%, pH 6.10 では 0% の熱凝固率を示す。(図 2)

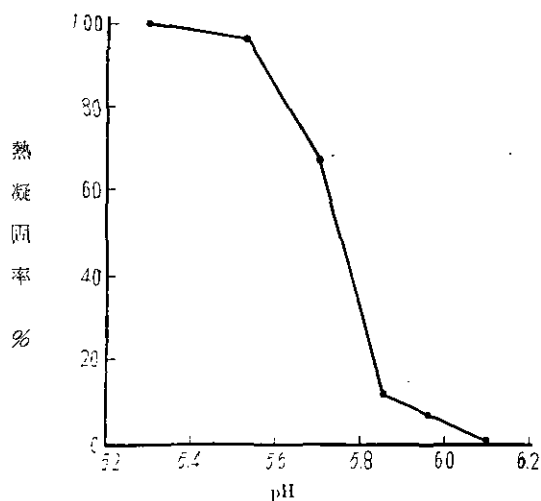


図 2 発芽 0 日コムギ胚アルブミンの熱凝固率

これらの結果から胚のアルブミンが均一な組成のものではないことがわかる。

以上の性質を利用して発芽過程におけるアルブミンの熱凝固率の変化を求めた。即ち pH 5.29 で凝固するアルブミン量をアルブミンの全量とし、これに対して、pH 5.52, pH 5.70, pH 5.85, pH 5.95, pH 6.10 で各凝固する量を比較した。結果は pH 5.29 での凝固量を 100% とし他の pH における凝固量を%でもって示した。

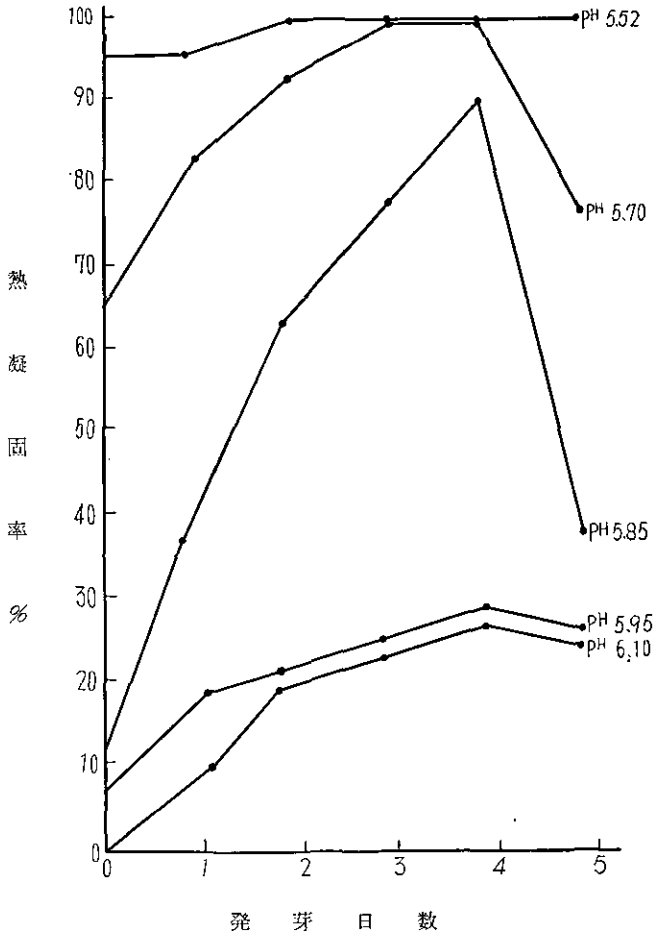


図3 発芽胚アルブミンの種々の pH 溶液中における熱凝固率

図3の結果から発芽過程にあつては、発芽の進行にともない、pH 5.85 ~ pH 5.95 の範囲内で熱凝固するアルブミンが増加することが特徴的なこととしてみられる。

表5は発芽過程における子葉、子葉鞘、胚盤とその上部をふくむ部分について、アルブミンの熱凝固率の変化を示したものである。3日目以後の胚にあつてはアルブミンの大部分は子葉に存在し、この部分の変化が全体の変化を大きく支配する。

発芽過程における以上の結果を対照として、春化処理過程におけるアルブミンの熱凝固率の変化

表 5 発芽コムギ胚のアルブミンの熱凝固率 (%)

胚の部分 発芽日数	胚			子葉			子葉鞘		
	3	4	5	3	4	5	3	4	5
pH 5.29	100	100	100	100	100	100	100	100	100
pH 5.52	100	100	100	100	100	100	100	100	100
pH 5.70	100	100	82	97	100	95	100	96	74
pH 5.85	100	96	82	80	88	80	75	62	44
pH 5.95	95	84	67	9	14	23	19	38	26
pH 6.10	45	32	15	9	14	13	13	8	9

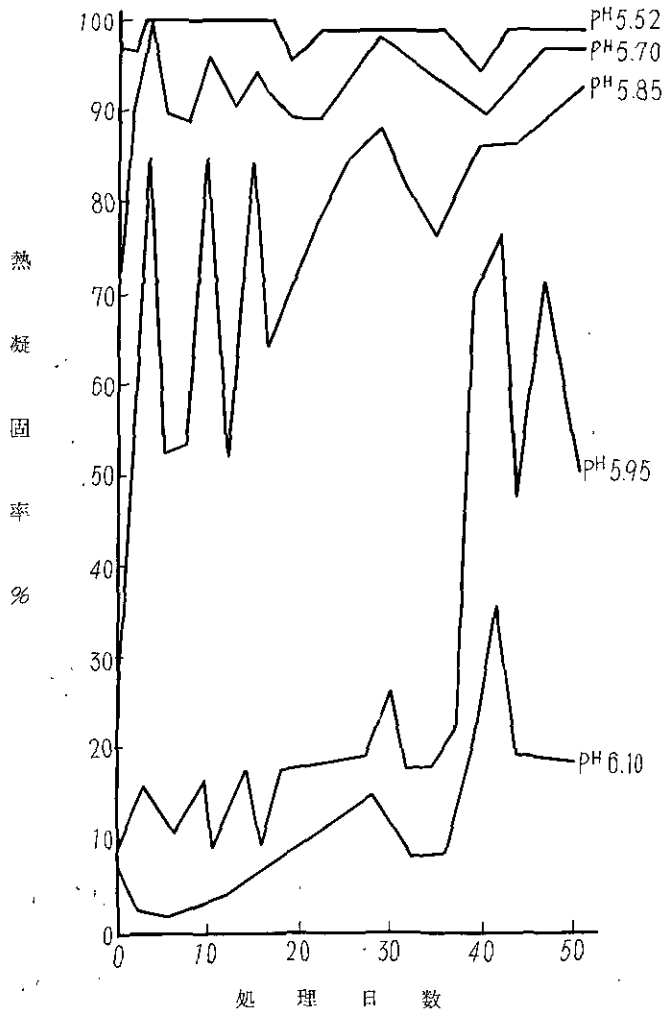


図 4 春化処理胚アルブミンの種々の pH 溶液中における熱凝固率

を求めた。結果は図 4 にみられるように、春化処理の初期には pH 5.85 で熱凝固をおこすアルブミン量の増加がある。これは発芽過程にみられる現象と同じものである。しかし春化処理の進行に

ともない、pH 5.95 で熱凝固をおこす蛋白質が増加してくる。これは発芽過程においてはみられない春化処理による特徴的な現象である。

次に春化処理30日、34日、42日の各種子を 27°C で発芽させた場合の発芽過程におけるアルブミンの熱凝固率の変化を求めた。

表 6 春化処理胚アルブミンの発芽過程における熱凝固率

(+, ++, +++, は肉眼的に観察した凝固の程度を示す。-は凝固しない場合)

	pH 5.29	pH 5.52	pH 5.70	pH 5.85	pH 5.95	pH 6.10
処理30日	+++	+++	+++	++	+	-
" 発芽1日	+++	+++	+++	++	-	-
" " 3日	+++	+++	+++	++	-	-
処理34日	+++	+++	+++	+++	+	-
" 発芽1日	+++	+++	+++	+++	-	-
" " 3日	+++	+++	+++	+++	+	-
処理42日	+++	+++	+++	+++	++	-
" 発芽1日	+++	+++	+++	+++	-	-
" " 3日	+++	+++	+++	+++	+	-

表 6 の結果が示すように、春化処理30日の胚のアルブミンは pH 5.95 でわづかに熱凝固をおこすが、これを 27°C で発芽させるとき、pH 5.95 での熱凝固性は失われ、無処理の発芽胚のアルブミンが示すのと同様の熱凝固の状態を示す。しかし、春化処理34日及び42日の胚のアルブミンは 27°C 発芽の3日目以後に pH 5.95 での熱凝固性を示す。これは春化処理による影響が処理34日以後には不可逆的なものとなり、無処理の発芽胚のアルブミンとは質的に異なつた状態に達したことを示すものである。

3. 胚のアルブミンの等電点の変化について

アルブミンの熱凝固率の変化が蛋白質のどのような変化に起因するものであるかは解明しにくい。蛋白質の等電点の変化が熱凝固率の変化と何らかの関連を有するのではないかと考えられる。以上の観点から蛋白質の質的な変化を解明する一つの方法として等電点の変化を求めた。

胚のアルブミンは pH 4.0 では殆んど全量が沈澱するが、pH 5.4 以上では殆んど沈澱を生じない。例えば発芽20時間目の胚のアルブミンは図 5 に示すような水素イオン濃度の変化にともなふ沈澱量の変化を示す。

表 7 は発芽過程におけるアルブミンの沈澱の生成量の変化を示す。結果は pH 4.0 での沈澱の生成量を 100% とし、各 pH における沈澱の生成量をこれに比較して%で示してある。沈澱の生成量が約 50% 以上の場合には、肉眼的に蛋白質の凝固がみとめられる。表 7 の結果をもととして 50% の沈澱量を示す pH 値を計算すると、発芽 1 日では pH 5.2、2 日目 pH 5.1、3 日目 pH 4.9、4 日目 pH 4.8、5 日目 pH 4.8 となり次第に酸性側に移行してゆくのが見られる。これは発芽の進行にともな

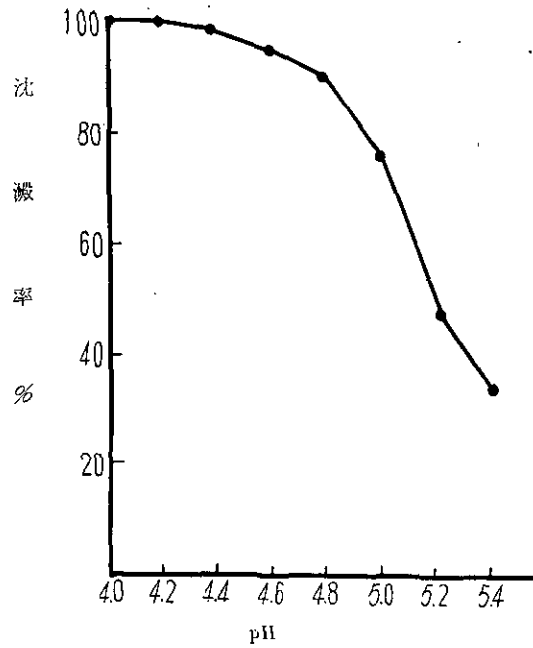


図 5 発芽20時間胚アルブミンの種々の pH 溶液中における沈澱率

表 7 発芽コムギ胚アルブミンの種々の pH 溶液中における沈澱の生成率 (%)
(pH 4.0 の沈澱量を 100% とした値)

発芽日数	1	2	3	4	5	6
pH4.0	100	100	100	100	100	100
pH4.2	100	97.5	97.0	98.5	100	94.5
pH4.4	98.6	95.5	92.1	94.6	95.0	92.0
pH4.6	94.5	90.5	82.8	86.0	80.0	88.0
pH4.8	89.0	84.8	55.5	46.5	49.5	53.2
pH5.0	75.0	73.0	33.1	36.2	49.5	46.6
pH5.2	46.1	36.3	26.0	26.0	43.5	40.0
pH5.4	30.2	27.6	25.0	28.6	38.5	40.0
50%沈澱を生ずる pH	5.17	5.12	4.85	4.78	4.79	4.90

い胚のアルブミンの等電点が次第に酸性側に変化してゆくことを示すものである。

次にアルブミン溶液の pH を酸性側に 0.2 変化させるときに生ずる沈澱量を発芽過程の胚のアルブミンについて求めた。pH の変化は pH 5.4 から pH 4.0 までの間で、最初 pH 5.4 における沈澱量次に pH 5.4 ~ pH 5.2, pH 5.2 ~ pH 5.0, pH 5.0 ~ pH 4.8, pH 4.8 ~ pH 4.6, pH 4.6 ~ pH 4.4, pH 4.4 ~ pH 4.2, pH 4.2 ~ pH 4.0 の各範囲内において pH 0.2 の変化にともなふ沈澱の生成量を定量した。結果は表 8 に示してある。

表 8 発芽胚アルブミンの種々の pH 溶液中における沈澱の生成量 N μ g/30E

発芽日数 pH	1	2	3	4	5
~ 5.4	110	118	142	214	390
5.4 ~ 5.2	58	37	5	0	50
5.2 ~ 5.0	105	157	40	57	60
5.0 ~ 4.8	55	50	127	78	50
4.8 ~ 4.6	22	26	153	293	260
4.6 ~ 4.4	15	22	53	68	155
4.4 ~ 4.2	5	7	29	29	35
4.2 ~ 4.0	0	11	16	6	0

表 8 の結果にみられるように pH 5.4 での沈澱量は発芽の進行にともない次第に増加する傾向を示すが、しかし他の特定の pH 範囲内における沈澱の生成量はこれと異なり、或る特定の時期に最高値を示しその後は減少する傾向を示す。この沈澱の最高値を示すピークは発芽過程の進行と規則的な関係を示し、発芽 1 日目には pH 5.4 ~ pH 5.2 の沈澱量がピークを示し、2 日目には pH 5.2 ~ pH 5.0、3 日目 pH 5.0 ~ 4.8、4 日目 pH 4.8 ~ 4.6、5 日目 pH 4.6 ~ 4.4 と発芽 1 日の経過にともない pH 0.2 づつ酸性側で沈澱するアルブミンがそのピークを示すようになる。

以上の結果を対照として次に春化処理過程における胚のアルブミンの等電点の変化を求めた。

表 9 春化処理コムギ胚アルブミンの種々の pH 溶液中における沈澱の生成率 (%)

(pH 4.0 の沈澱量を 100 とした値)

処理日数	4	10	14	16	20	24	28	38	43
pH 4.0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
pH 4.2	100	98.5	98.5	98.5	97.5	97.7	98.0	100	98.2
pH 4.4	100	96.5	96.5	98.0	93.8	95.8	90.8	95.8	93.0
pH 4.6	95.1	92.0	90.5	91.0	88.9	89.5	82.0	85.5	78.4
pH 4.8	88.3	88.0	83.5	84.5	80.7	75.0	47.8	40.0	34.6
pH 5.0	79.7	79.0	71.5	64.5	50.0	38.5	28.2	34.3	27.3
pH 5.2	46.4	59.5	40.5	32.5	31.2	29.9	25.4	34.3	27.3
pH 5.4	29.7	35.7	29.8	28.0	29.5	24.1	25.4	27.0	21.8
50%沈澱を生ずる pH	5.18	5.28	5.14	5.09	5.00	4.94	4.79	4.76	4.73

表 9 の結果は pH 4.0 でのアルブミンの沈澱量を 100% とし、pH 4.0 から pH 5.4 までの各 pH 値における沈澱の生成量をこれに比較し% で示したものである。表 9 の結果にみられるように、春化処理の進行にともない、胚のアルブミンの等電点は次第に酸性側に移行してゆくのがみられる。

次に表 8 の方法と同様にアルブミン溶液の pH を酸性側に 0.2 変化させるとき生ずる沈澱の生成

量を春化処理過程にわたって求めた。pH の変化の範囲も上記発芽過程の場合と同様 pH 5.4 から pH 4.0 までの間である。

表10 春化処理胚のアルブミンの種々の pH 溶液中における沈澱の生成量 N μ g/30E

処理日数 pH	4	10	14	16	20	24	28	38	43
~ 5.4	90	127	97	105	118	96	120	190	140
5.4 ~ 5.2	50	85	37	17	7	8	0	30	36
5.2 ~ 5.0	100	68	100	119	75	49	13	20	22
5.0 ~ 4.8	27	34	40	75	123	146	93	40	30
4.8 ~ 4.6	22	13	22	26	32	58	162	320	280
4.6 ~ 4.4	13	16	20	25	20	25	40	70	100
4.4 ~ 4.2	0	7	6	3	15	6	33	42	30
4.2 ~ 4.0	0	5	5	5	10	11	11	12	12

表10の結果にみられるように、春化処理過程においても、発芽過程の場合と同様に、胚の生理的 Age の進行にともない次第に酸性側で沈澱を生ずる蛋白質のピークが表はれてくる。

考 察

コムギ胚に及ぼす春化処理の生理学的な影響を窒素代謝の面から解明することを目的として、胚の窒素含量、アルブミンの熱凝固及び等電点の変化について実験を行った。これらの結果から明らかにされたことは、等電点の変化のように、春化処理過程と発芽過程の間には質的な相違がなく、互いに共通な現象が進行する場合と、アルブミンの熱凝固の状態や胚の窒素組成のように両者の間には質的に相違した現象が行はれる場合との二通りがあることである。これらのことから春化処理の過程を発芽過程の単なる時間的に引きのばされた型と考えることも又発芽過程と全く質的に相違した影響のみを強張することも共に一面的な考えであると言える。しかしいづれにしても春化処理の過程において、胚の窒素代謝が低温の条件の下で進行し、更に部分的には発芽胚のそれと異なる状態を示すといふことは、窒素代謝の動的な存在状態を物語るものであり、春化処理の生理的機作に何らかの意義を有するものであらうと考えられる。

胚の窒素の構成において春化処理胚では、アルブミン窒素に対してペプチド窒素が多いことがみられた。これは窒素代謝における分解の合成に対する優位性を示すものと考えられる。このような分解の優位性を示す結果は炭水化物代謝においてもみられたことである。春化処理によつて与えられたこのような性質は不可逆的なものとなり、春化処理を受けた胚が27°Cにおいて発芽する時にも胚の代謝系に影響を及ぼす要因として作用する。

春化処理過程における蛋白質の熱凝固率の変化については、春化処理5日目頃までに生ずる変化は発芽5日目までにみられる変化と全く同様である。しかし処理30日目頃になつてはじめて春化処

理による特有の変化がみられるようになる。春化処理 30 日の胚ではこの特徴は可逆的な状態であり、この胚を低温から常温の条件に移すことによつて消失する。それに対して 34 日目以後になると春化処理の影響は不可逆的なものとなり、常温に移すことによつても、この特徴は消失しない。即ちこの段階になつて始めて、其の後の發育に何らかの影響を及ぼす、春化処理の効果が確立するものと考えられる。一般に春化処理の過程をいくつかの可逆的な段階に細分する Schema が提出されているが (3, 4) 以上の結果から処理 30~34 日の期間がこれに相当するものと推察される。

発芽及び春化処理過程における蛋白質の等電点の酸性側の変化については伊東(13)、山崎(14)、Wort (15, 16) らの報告があり、本論文における結果とも一致する。発芽過程と春化処理過程の間で蛋白質の等電点の変化に関し、現象的に類似した関係がみられたことは両者の関係を解明する上に大切な事柄であると考えられる。即ち発芽 5 日間で生ずる変化が春化処理過程では約 43 日間にわたつて行はれた。そして春化処理過程において生じた変化を発芽期間の変化と時間的に対応させると、発芽 1 日目が春化処理 10 日目、発芽 2 日目が春化処理 16 日目、発芽 3 日目が春化処理 24 日目、発芽 4 日目が春化処理 38 日目、又発芽 5 日目が春化処理 43 日目に相当することが観察された。これらのことは春化処理胚の窒素代謝の生理的 Age の進行を示すものである。以上の結果から、おおよそそのこととして春化処理 8~9 日目が発芽過程 1 日に相当することが指摘される。

結 論

1. 発芽過程及び春化処理過程における、秋まきコムギ胚の窒素量及びその組成の変化を明らかにした。春化処理胚は発芽胚に比較してアルブミンに対するペプチドの割合が多い。又この特徴は春化処理胚を 27°C で発芽させた場合にも消失することなく、保持されている。更に春化処理胚では発芽胚に比較してグルテンの含量も多い。

2. 発芽過程及び春化処理過程における、秋まきコムギ胚のアルブミンの熱凝固性の変化を明らかにした。即ち発芽胚のアルブミンは発芽の進行にともない pH 5.85 における熱凝固率が増加するが pH 5.95 においては殆んど熱凝固を示さない。これに比較して、春化処理胚では、春化処理の進行にともない、最初は pH 5.85 における熱凝固率が増加し、次に処理 30 日目以後になると pH 5.95 における熱凝固が行はれるようになる。この特徴は始めは可逆的であるが、その後春化処理の進行にともない、不可逆的なものとなり胚を常温にもどしても消失しなくなる。

3. 発芽過程及び春化処理過程における、秋まきコムギ胚のアルブミンの等電点の変化を明らかにした。両過程ともその進行にともないアルブミンの等電点は酸性側に变化する。その変化のし方は両過程において共通な様式を示す、そして発芽胚にあつては 5 日間で生ずる変化が春化処理胚では約 45 日間にわたつて緩慢に行はれる。これらの変化を 2 つの過程について対比させることにより、発芽胚における 1 日目が春化処理胚においては約 8~9 日間に相当するものであることが推察された。

文 献

1. Murneck, A. E., and Whyte, R. D., "Vernalization and Photoperiodism" (1948)
2. Lang, A., and Melchers, G., *Planta*, 33, 653—702 (1943)
3. Purvis, U. N., and Gregory, F. G., *Ann-Botany (London)*, 16, 1—21 (1952)
4. Bakburzyeu, H. L. van de Sande, *Landbouwk. Tijdschr.*, 55, 533—48 (1943) ; *Ver slag Landbouwk. Ondirzaek.*, 53, 4B, 145—212 (1947)
5. Napp-Zinn, K., *Planta*, 50, 177—210 (1957)
6. Napp-Zinn, K., *Planta*, 52, 229—34 (1958)
7. 宇佐美, 外, *生物科学*, 特集号, 45, (1955)
8. 寺岡, 宇佐美, *生物科学*, 特集号, 15, (1956)
9. 寺岡, 宇佐美, *生物科学*, 特集号, 30, (1957)
10. 寺岡, *北星短大紀要*, 6, 55, (1960)
11. Lowry, O. H., et al, *Jour. Biol. Chem.*, 193, 265, (1951)
12. 八木, 奥田, *蛋白質, 核酸, 酵素*, 4—2, 57, (1959)
13. 伊東, *日本作物学会紀事*, 22, 1—2, 83, (1953)
14. 山崎, *東海, 近畿, 農試報告* 3, 31—47, (1956)
15. Wort, D. J., *Plant Physiol.*, 15, 137—41 (1940)
16. Wort, D. J., *Botan. Gaz.*, 102, 725—37 (1941)