韓國作物學會誌第14號 (1973. 11)
J. Korean Soc. Crop Sci., Vol.14 : 165-172

人蔘種子形成에 對한 生理化學的 硏究

Ⅳ. 高麗人蔘과 美國人蔘 및 高麗人蔘과 竹節人蔘 F_1의 花器 및 種子 形成過程에 있어서의 遊離아미노酸의 消長

黃 鍾 奎·梁 熙 天
全北大學校農科大學

Studies on the Physiological Chemistry of Flower Organ and Seed in Ginseng Plant.

Ⅳ. Variation of Free Amino Acids in the Flower and Seeds of the F_1 Plants of the Combinations *Panax ginseng*×*Panax quinquefolium* and *Panax ginseng*×*Panax japonicus*.

Jong Kyu Hwang and Hee Chun Yang
(*College of Agriculture, Jeonbug National Universiy*)

Summary

The sterile phenomenon is frequently found in the inter-species hybrids of ginseng as in other plants. It is known that among the hybrids between *Panax Ginseng* (PG) and *Panax Quinquefolium* (PQ), and between *Panax Ginseng* and *Paxax Japonicus* (PJ), PG×PJ is fertile only very rarely, while PG×PQ is always sterile. Therefore, in order to clarify the relationship between this sterility phenomenon and the metabolism of free amino acids, the changes of free amino acids through the formation of the flower organs and seeds of two hybrids, PG×PQ and PG×PJ were investigated by thin layer chromatography.

The results are summarized as follows:

1. Distinct differences in the quantity and number of free amino acids were recognized between PG×PQ, PG×PJ and their parent plants.

From the hybrid PG×PQ, 19 kinds of ninhyrin sensitive substances were detected in all. They were (1) 17 amino acids: alanine, valine, leucine, phenylalanine, proline, hydroxy-proline, serine, threonine, tyrosine, aspartic acid, glutamic acid, lysine, arginine, γ-amino butyric acid, β-alanine, cysteic acid and tryptophan, and (2) two amides: asparagine and glutamine. From the hybrid PG×PJ, in addition to the above 19 substances, methionine and one unknown substance were detected.

2. Generally, alanine, as partic acid, glutamic acid, cysteic acid and asparagine were detected in large amounts in the two hybrids as in PG, PG and PJ but it was a noticeable fact concerning these two hybrids that the largest quantity of asparagine was found at microspore satge and pollen mature stage.

3. The decrease of cysteic acid in the two hybrids at the red ripened stage was the same as in PQ and PJ but opposite to the change in PG.

The detection of methionine in PG×PJ was worthy of notice.

4. The change of proline was conspicuously different from that in their parent plants. It was detected as a trace of color at the microspore stage while asparagine was detected in the greatest amount at that time.

It is well known that the quantity of proline is closely related to the sterility of plant. This fact was also found true in the formation of ginseng seeds. It was reported as well that asparagine accumulated when proline decreased.

5. The deficiency of proline seemed to be closely related with the sterility of hybrids and with the degradation of pollen in anther.

6. The difference in the changes of free amino acids between the selfed lines of PG, PQ and PJ, and their hybrids seemed to be caused by the transformation of gene-action system by hybridization. On these phenomena along with proline metabolim and its physiological role in seed formation further studies are required.

緒　　言

種間 또는 屬間의 雜種에 있어서는 흔히 不稔現象이 일어나는데 人蔘의 경우도 例外가 아니어서 宮澤[22,23]에 依하면 優良品種을 育成할 目的으로 高麗人蔘, 美國人蔘, 竹節人蔘間의 交雜 育種을 試圖한 結果 高麗人蔘과 竹節人蔘間의 雜種에서만 아주 稀貴하게 種子를 얻을 수 있었고 그밖의 다른 組合에서는 전연 雜種 第二世代를 얻을 수가 없었다고 報告한바 있다 植物의 雜種不稔에 對해서는 많은 硏究가 이루어져 있는데 Brink와 Cooper[1,2,4,5,6]는 담배, 일년감, Petunia 等 가지科 植物의 雜種을 만들어 그들의 不稔에 對한 組織學的 觀察을 하였는데 合點基部에서 珠心基部에 걸친 組織이 異常發育을 하기 때문에 養分流入에 支障을 일으켜 胚嚢內가 一種의 飢餓狀態로 되기 쉬워서 胚發達 遲延 또는 破壞가 일어나기 때문이라고 하였고, Rappaport[26]와 Rappaport等[27] 그리고 Satina[28,29] 等은 *Datura* 屬 雜種間에서 癌組織이 發達되어 그것이 胚嚢을 抑壓하므로 胚乳와 胚를 破壞한다고 하였고 DNA, RNA 等이 蓄積含有되어 있음을 알아내어 이것들이 胚發達을 阻害할 것으로 생각하였다. Buell[3]은 패랭이꽃의 種間雜種(*Dianthus chinensis*×*D. plumaris*)와 *D. chinensis*의 自殖系와의 組織學的 差異를 比較하여 아마도 "生長物質이나 酵素의 均衡을 包含한 化學 調整에 異常을 일으켜서 雜種胚의 發育이 阻害될 것이라 하였고 黃[15]도人蔘의 種間雜種에 있어서 不稔의 原因은 交雜에 依한 Gene-action system의 再結合으로 生體代謝系에 混亂을 일으켜 配偶子 形成 細胞와 圍繞細胞間의 優劣關係가 顚倒되어 性的 缺陷을 가져오는데 있다고 考察하였다.

植物體의 窒素同化作用의 첫 主要 産物은 아미노酸이며 이것이 植物組織을 만드는 蛋白質을 만든다. 蛋白質을 組成하고 있는 아미노酸은 比較的 均一한데 反해서 植物細胞中의 遊離아미노酸은 植物의 種類 器管, 組織의 age에 따라 그 種類와 量에 큰 差異가 있다.

遊離아미노酸은 틀림없이 다른 炭素化合物과 平衡關係를 維持하고 있을 것이며 生理的 環境的 여러 要因들이 細胞中의 遊離아미노酸 組成을 調整하고 있을 것이다. 아미노酸中에는 蛋白質의 構成成分으로 되어 있는것이 23種으로 알려져 있으나 植物體中에는 蛋白質 構成成分이 아닌 이른바 Non-protein amino acid가 수많이 알려져 있으며[13] 人蔘 種子 形成時期에서도 몇 種類가 確認된바 있는데[16,18] 이들이 여러 複雜한 窒素化合物의 組成分 即 다른 아미노酸, alkaloid, 生長調節物質, Vitamin, 그밖에 아주 重要한 含窒素 植物組成分으로 合成과 分解에 中間物質이 되고 있을 것이므로 人蔘植物의 生殖器管의 遊離아미노酸에 對한 一連의 實驗을 進行中인데 本實驗에서는 *Panax ginseng*×*P. quinquefolium*(P.G×P.Q)와 *Panax ginseng*×*P. japonicus*(P.G×P.J)의 交雜種의 花器 및 種子 形成 期間中의 遊離아미노酸의 消長을 追究하므로써 交雜種의 不稔現象과 物質代謝와의 關連性을 밝히는 基礎的 知識의 一端으로 삼고자 한다.

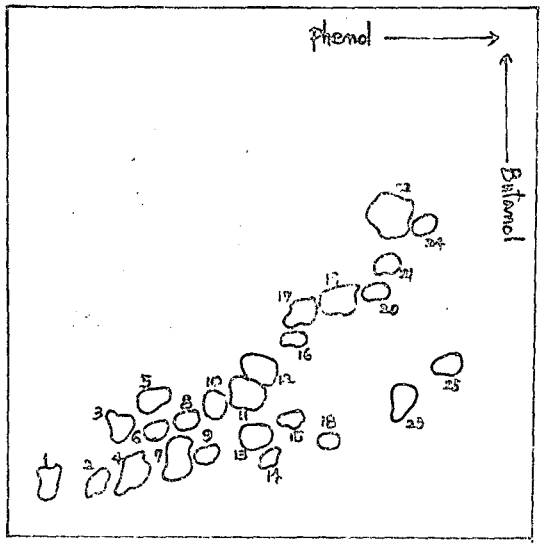
材料 및 方法

試料는 日本 長野縣 園藝試驗場 北御牧 特用作物試驗地에서 優良人蔘育種을 目的으로 栽培한 高麗人蔘과 美國人蔘의 交雜種(P.G×P.Q) 4年生과 高麗人蔘과 竹節人蔘의 交雜種(P.G×P.J) 3年生株에 着生한 花器를 6月 5日부터 10日間隔으로 7月 25日까지

Table 1. Free amino acids contained in flower organ and seed of P.G.×P.J and P.G×P.Q.

Amino acids \ Date	6.5		6.15		6.25		7.5		7.15		7.25	
Combination	P G × P J	P G × P Q	P G × P J	P G × P Q	P G × P J	P G × P Q	P G × P J	P G × P Q	P G × P J	P G × P Q	P G × P J	P G × P Q
Alanine	+	+	++	++	+	++	+	++	+++	+++	++	+
Valine	±	±	±	±	∓	±	±	±	±	±	±	±
Leucine	+	±	±	±	±	±	±	±	+	+	±	±
Phenyl alanine	∓	∓	±	±	−	∓	∓	∓	±	±	∓	−
Proline	∓	∓	±	∓	∓	∓	−	−	−	∓	−	−
Hydroxy proline	∓	∓	∓	±	−	∓	−	−	−	∓	−	−
Serine	+	+	+	±	±	±	±	±	+	±	±	±
Threonine	∓	−	−	∓	∓	±	−	∓	∓	−	−	−
Tyrosine	±	±	±	±	±	±	±	±	±	∓	±	∓
Aspartic acid	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+	+	±
Glutamic acid	+	+	++	+	+++	+	++	+	++	+	+	±
Lysine	±	∓	−	∓	∓	±	−	±	±	+	−	±
Arginine	−	±	±	−	±	−	−	∓	±	±	−	−
β-Alanine	−	−	−	−	−	∓	±	−	−	−	±	−
Cysteic acid	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±
Tryptophan	∓	−	∓	−	−	∓	−	∓	−	∓	∓	−
Asparagine	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+	∓	∓
Glutamine	++	+	+	±	+	∓	∓	±	−	∓	−	−
Methionine	−	−	−	−	−	−	±	−	±	−	±	−
γ-Aminobutyric	∓	−	−	±	−	−	±	−	∓	−	−	−
Unknown Y	−	−	∓	−	−	−	−	−	−	−	−	−

* − (absent) ∓ ± + ++ +++ ++++ (more definitely presented)



1. Cysteic acid
2. Cystine(Cysteine)
3. Aspartic acid
4. Lysine
5. Glutamic acid
6. Serine
7. Arginine
8. Glycine
9. Asparagine
10. Threonine
11. Alanine
12. β-Alanine
13. Glutamine
14. Histidine
15. Hydroxy proline
16. γ-Amino butyric acid
17. Tyrosine
18. Methionine sulfoxide
19. Valine
20. Methionine
21. Tryptophan
22. Leucine (Iso Leucine)
23. Proline
24. Phenyl alanine
25. Pipecolic acid

Fig. 1. Thin layer chromatogram of standard amino acids.

6回 採取한 것을 Ethanol로 抽出하여 第一報[16]에서와 같은 方法으로 調製하여 第2報[17]에서 처럼 Microcrystalline cellulose와 Silica gel의 混合薄層에 依한 Thin layer chromatography에 依해 遊離아미노

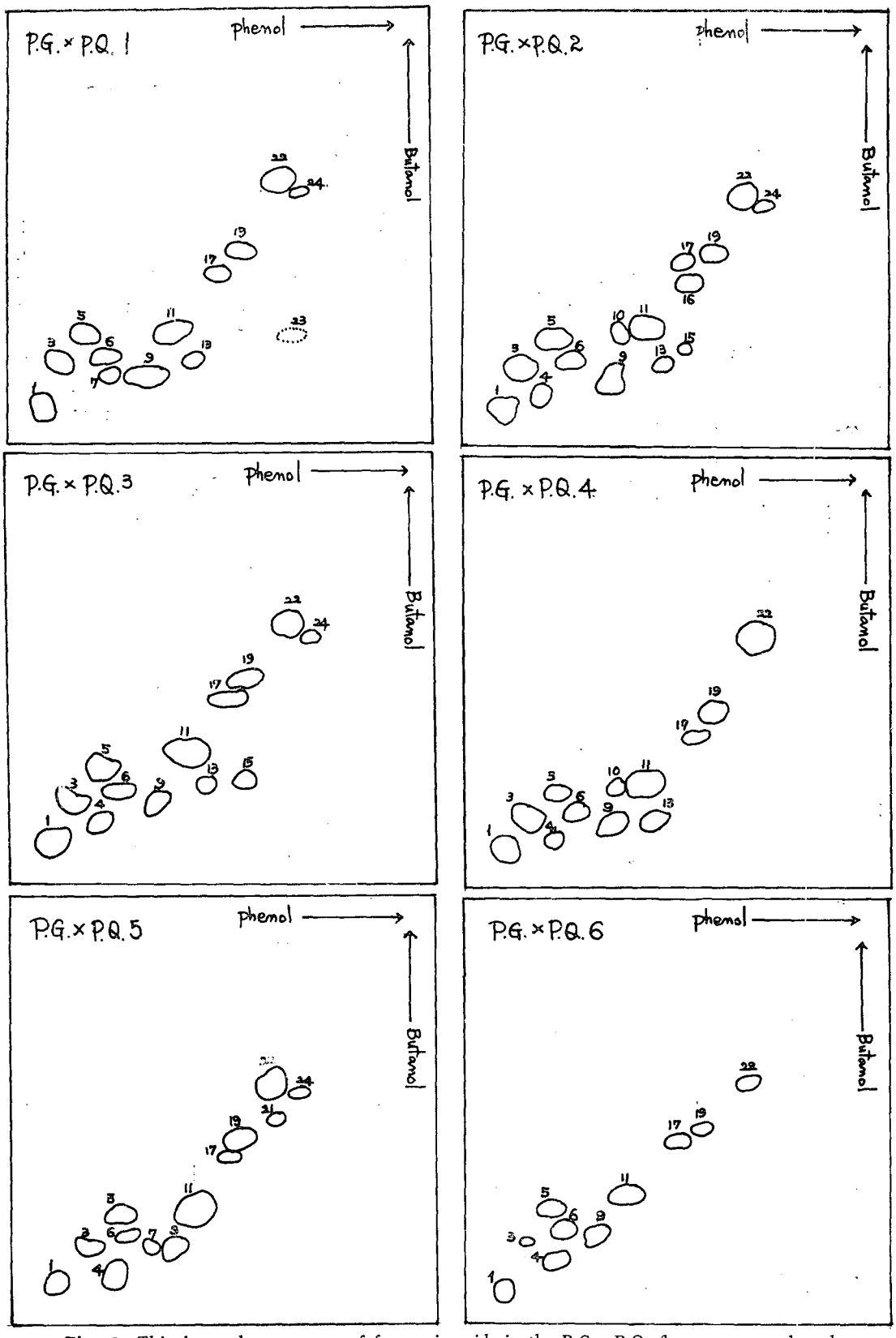


Fig. 2. Thin layer chromatogram of free aminoacids in the P.G.×P.Q. flower organ and seed at the six different growth stages.

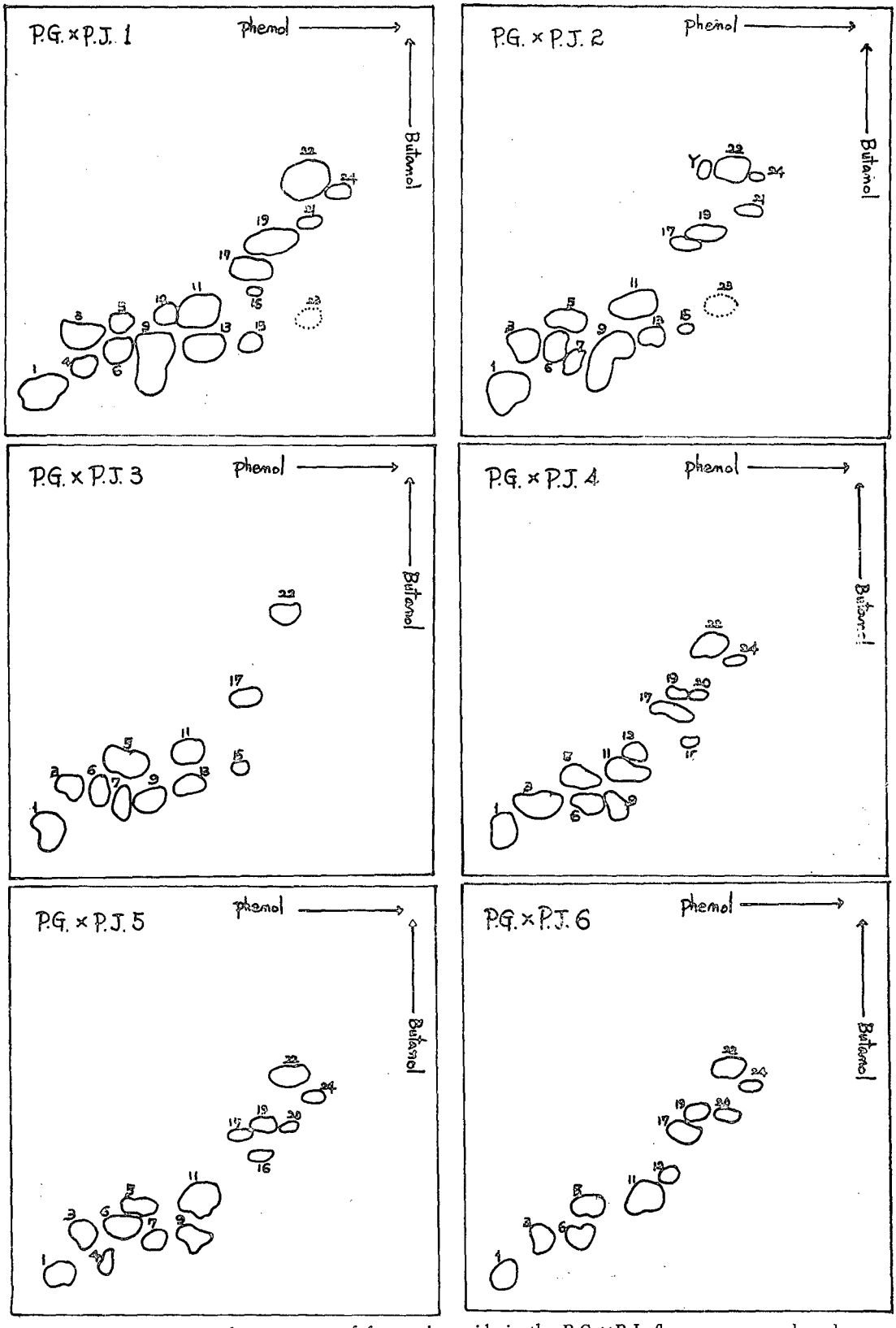


Fig. 3. Thinlayer chromatogram of free amino acids in the P.G.×P.J. flower organ and seed at the six different growth stages.

酸을 分離 同定하였다.

結果 및 考察

두가지 交雜種의 試料에서 檢出된 遊離아미노酸 및 아마이드의 chromatogram은 서로 그 pattern이 類似하며 그들의 兩親이 나타내는 pattern과도 類似하나 spot의 種類나 크기 呈色度는 여러가지 點에서 特異한 變化가 있다.

分離 檢出된 遊離아미노酸의 chromatogram과 그들의 肉眼에 依한 크기와 呈色度에 따른 强度는 Fig. 2와 Fig. 3 그리고 Table 1에 나타낸 바와 같은데 P.G.×P.Q.에서 19種, P.G×P.J.에서 21種의 Ninhydrin 陽性 spot를 確認하여 이것을 Rf値와 呈色度 그리고 standard 아미노酸의 chromatogram(Fig. 1)과 比較하여 同定하였다. P.G.×P.Q.에서는 Alanine, Valine, Leucine, phenyl alanine, Proline, Hydroxy proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Aspartic acid, Glutamic acid, Lysine, Arginine, β-Alanine, Cysteic acid, Tryptophan, Asparagine, Glutamine과 γ-Amino butyric acid를 P.G.×P.J.에서는 上記한것 外에 Unknown Y와 Methionine을 檢出하였는데 Unknown Y는 P.J.의 경우에서도 나타난바 있었다.[18] 全體的으로 보아 始終明瞭하고 뚜렷한 spot를 나타낸 主要 아미노酸은 Alanine, Aspartic acid, Glutamic acid, Cysteic acid와 Asparagine으로 P.G.나 P.Q. 및 P.J.에서와 같은데 그 增減에는 差異가 있다. Alanine은 全體的으로 보아 交雜種이 그들의 兩親의 경우보다 그 量(spot의 크기와 濃度)이 적으나 두 交雜種 사이의 時期別 增減 傾向은 같으며 Aspartic acid와 Glutamic acid, Cysteic acid 그리고 Asparagine의 時期別 增減 傾向도 같은데 Asparagine이 小胞子期와 花粉成熟期에 最多量으로 나타난것은 이들 兩親의 경우에 보지 못했던 特異한 일이다. 紅熟期에서 Cysteic acid의 減少는 P.Q., P.J.의 경우와 類似한데 P.G.의 경우와는 反對되는 現象이며 P.G.×P.J.의 경우 Methionine이 檢出된 것은 特異하다.

Proline의 spot는 그들의 兩親에서의 경우와는 顯著한 差가 있어 小胞子期에서 아주 微弱한 呈色(Isatin 確認에서도)을 나타내는데 이것은 1次元 展開後에 Isatin을 噴霧함으로써 더욱 明瞭하게 確認할 수가 있다.(Fig. 4) 한편 小胞子期를 中心으로 한 Proline과 Asparagine의 關係를 보면 Table 2와 같은데 交雜種의 경우는 Proline이 微量 存在하거나 痕跡의 spot를 나타낸데 반해 Asparagine의 spot가 가장 크고 强한 呈色을 나타내어서 그들의 兩親의 경우와는 反對되는 現象을 보이고 있다.

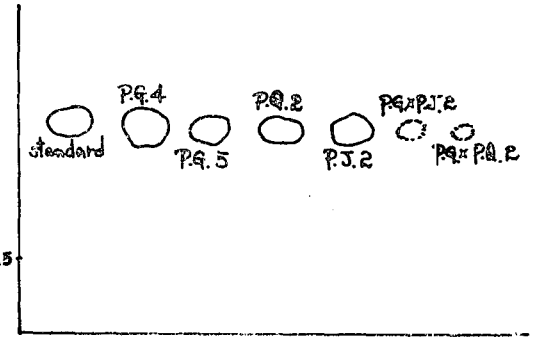


Fig. 4. One dimensional chromatograms of proline in microspore stage.

Table 2. Comparison of proline and asparagine at microspore stage

	Proline	Asparagine
P.G.	卌	+
P.Q.	卄	+
P.J.	卌	+
P.G.×P.Q.	干	卄
P.G.×P.J.	土	卌

Proline量과 花粉의 稔性과의 關係에 對해서 이미 Fukazawa[11] 深澤·三滕[12] Khoo Stinson[21], 細川等[14]이 밀이나 옥수수, 사탕무우에 對한 實驗에서 雄性不稔葯과 正常葯 사이에서 언제나 認定하고 있으며 片山[20]는 水稻의 半數體나 染色體 不對合個體, 尾崎·田井[24], 尾崎等[25]은 水稻의 生理的 不稔이나 감자의 非結實性 品種等에서와 같이 雄性不稔 以外의 不稔葯과 正常葯 사이에서도 認定하고 있다. 또한 主로 이런 遺傳的 要因에 起因한 不稔現象外에도 藤下[8]나 Ito[19]는 가지科의 菜蔬나 강낭콩, 메론, 그리고 水稻를 高溫이나 低溫으로 處理함으로써 空虛花粉을 形成시켜 그 葯의 아미노酸 組成을 檢出한 結果 비슷한 結果를 報告하고 있다. 이런 硏究 結果를 綜合해보면 成熟한 葯組織에 含有되어 있는 Proline의 量과 花粉의 稔性과는 密接한 關係가 있는데 이런 關係가 人蔘種子의 形成에서도 볼 수 있다. 交雜種에 있어서 Proline이 缺乏 될때 Asparagine이 蓄積되는 것은 Fukazawa[11]의 밀과 옥수수의 경우나 Khoo等[21]의 옥수수의 경우 그리고 Ito[19]의 水稻의 경우에 Proline의 減少와 Asparagine의 增加 關係와 비슷한 傾向을 보였는데 이것은 아마도 Proline과 Asparagine 사이에는 무슨 代謝的 關聯性이 있는 것

으로 생각되나 不稔의 경우 Asparagine의 增加를 보지 못했다는 報告도 있다.[7,9,10]

交雜種 花器 및 種子 形成 過程에서 가장 分明한 것은 그 兩親들의 경우와는 달리 Proline이 微量밖에 存在치 않는다는 것인데 지금까지의 많은 硏究 結果를 살펴보면 交雜에 依한 不稔 乃至 結實不能의 原因을 Proline의 過少에 依한것으로 보며 本硏究에서도 Proline이 葯의 花粉 退化와 重要한 關係를 가지고 있지 않나 推察된다. 그러나 Proline의 合成이나 蓄積이 이루어지지 않아서 다시말하면 Proline이 退化되기 때문에 花粉이 退化되는 것인지 또는 Proline의 合成이나 蓄積을 妨害하는 條件이 있어서 間接的으로 花粉이 退化되는지, 또는 反對로 花粉이 退化되어 버리기 때문에 Proline의 量이 적어지는 것인지 그 因果關係는 알수 없다. 또한 Proline의 合成이나 蓄積, 그리고 다른 物質로의 轉化나 分解에 關與하는 酸素系의 不調問題等까지도 더 깊은 硏究가 必要하다.

그外에 Cysteic acid, Methionine 및 Glutamine 等의 消長이 P.G. P.Q. P.J. 等의 自殖系와 그들과의 雜種 사이에 있어서 相當한 差異를 가져오는것은 交雜에 依한 Gene-action system의 變革에 따른 結果라고 推察되는 것으로 Proline과 더불어 보다 깊은 調査를 必要로 한다고 생각된다.

"謝辭" 本 實驗을 위하여 試料의 供與와 여러가지 便宜를 提供해주신 日本 長野縣 園藝試驗場 宮澤洋一氏에게 感謝하는 바이며 實驗을 도와준 白源台, 全哉哲君에게 謝意를 表하는 바이다.

摘 要

種間, 屬間의 雜種에서는 흔히 不稔現象이 일어나는데 人蔘의 경우도 例外가 아니어서 高麗人蔘(*Panax ginseng*: P.G.)과 美國人蔘(*Panax quinquefolium*: P.Q.) 그리고 竹節人蔘(*Panax japonicus*: P.J.) 間의 交雜育種에서 P.G.×P.J.에서만 아주 稀貴하게 種子를 얻을수 있고 다른 結合에서는 전혀 雜種 第二世代를 얻을 수가 없었다고 하므로 本實驗에서는 P.G.×P.Q.와 P.G.×P.J.의 交雜種의 花器 및 種子形成中의 遊離아미노酸의 消長을 追究하므로써 不稔現象과 物質代謝와의 關連性의 一端을 밝히고저 한다.

1. 두 交雜種의 試料에서 檢出된 遊離아미노酸의 Chromatogram은 서로 類似한 pattern을 나타냈으며 그들의 兩親이 나타내는 pattern과 類似하나 spot의 種類나 크기 呈色度는 여러가지 點에서 特異한 變化가 있다. P.G.×P.Q.에서 19種, P.G.×P.J.에서는 21種의 spot를 檢出하였는데 前者에서 Alanine, Valine, Leucine, Phenyl alanine, Proline, Hydroxy proline, Serine, Threonine, Tyrosine, Aspartic acid, Glutamic acid, Lysine, Arginine, β-Alanine, Cysteic acid, Tryptophan, Asparagine, Glutamine, γ-Amino butyric acid를 確認하고 後者의 경우는 上記한것 外에 Methionine과 한개의 未知 spot를 얻었다.

2. Alanine, Aspartic acid, Glutamic acid, Cysteic acid와 Asparagine이 全體的으로 보아 主體를 이루고 있는 것은 P.G. P.Q. P.J.에서와 같으나 Asparagine이 小胞子期와 花粉成熟期에 最多量으로 나타나는 것은 이들의 兩親의 경우에는 보지 못했던 特異한 일이다.

3. 紅熟期에 Cysteic acid가 減少되는것은 P.Q. P.J.의 경우와는 類似하나 P.G.의 경우와는 反對되는 現象이며 P.G.×P.J.에서 Methionine이 檢出된것도 特異하다.

4. Proline은 그들의 兩親의 경우와는 顯著한 差異가 있었는데 小胞子期에서 아주 微弱한 呈色을 나타낼뿐이며 이때에 Asparagine의 spot가 가장 크고 强한 呈色을 나타내었는데 이제까지의 여러 硏究 結果를 綜合해 보면 Proline의 量과 花粉의 稔性과는 아주 密接한 關係가 있으며 이런 關係가 人參 種子 形成에서도 나타나고 있다. 또한 Proline이 缺乏될때 Asparagine의 蓄積이 있다는 많은 報告도 있다.

5. 交雜種에서의 結實不能의 原因을 Proline의 過少에 依한 것으로 보며 Proline이 葯의 花粉退化와 重要한 關係를 가지고 있을 것으로 推察된다.

6. 그밖에 여러 아미노酸의 消長이 P.G. P.Q. P.J. 等의 自殖系와 그들과의 雜種사이에 있어서 相當한 差異가 생기는것은 交雜에 依한 Gene-action system의 變革에 따른 結果라고 推察되는 것으로 Proline의 代謝 및 生理的 影響과 더불어 보다 깊은 調査가 必要한 것으로 생각된다.

Ⅳ. 引用文獻

1. Brink, R.A. and D.C. Cooper. 1944. The antipodals in relation to abnormal endosperm behavior of *Hordeuem*×*Secale cereale* hybrid seeds. Genetics 29 : 391-406.

2. ————and————. 1947. The endosperm in seed development. Bot. Rev. 13: 423-541.

3. Buell, Katherine M. 1953. Developmental morphology in *Dianthus*. III Seed failure following

interspecific cross. Amer. Jour. Bot. 40(3): 116-123.

4. Cooper, D.C. and R.A. Brink, 1940, Somato plastic sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridization. Genet. Vol. 25: 593-617.
5. ————and————. 1940. Partial self-incompatibility and the collapse of fertile ovules as factors affecting seed formation in alfalfa Jour. Agri. Res. 60: 453-472.
6. ————and————. 1944. Collapse of the seed following the mating of *Hordeum jubatum*×*secale cereale*. Genet. 29: 370-390.
7. Edwardson, J.R. and M.K. Corbett 1961. Asexual transmission of cytoplasmic male sterility Proc. Nat. Acad. Sci. 47: 390-396.
8. 藤下典之. 1963. 低溫による花粉 花と葯組織に食まれる 遊離アミノ酸との關係. 園藝學會秋期大會研究發表要旨 20.
9. Fujishita, N. 1964. Cytological, histological and physiological studies on the pollen degeneration I. On the free amino acids with reference to pollen degeneration in male sterile vegetable crops. (In Japanese with an English summary) J. Jap. Soc. Hort. Sci. 33: 133-139.
10. Fujishita, N. 1965. Cytological, histological and physiological studies on the pollen degeneration. II. On the free amino acids with reference to pollen degeneration caused by low temperature in fruit vegetable crop. (In Japanese with an English summary) J. Jap. Soc. Hort. Sci. 34: 34-44.
11. Fukazawa, H. 1954. On the free amino acids in anther of male sterile wheat and maize. Jap. J. Genet. 29: 135-137.
12. 深澤廣祐, 三藤勝弘. 1956. 異質細胞質による雄性不稔コムギの アスパラギンとプロリン. 科學 26: 313-314.
13. George C. Webster. 1965. Nitrogen metabolism in plant. John Weather Hill, Inc., Tokyo p. 26
14. 細川定治, 津田用彌, 或田竹雄. 1963. てん菜の雄性不稔現象に關 する 組織化學的 研究. 育種學 13; 117-124.
15. 黃鍾奎. 1969. 人蔘의 種間雜種(*Panax ginseng*×*P. quinquefolium*)의 發生學的 研究—特히 結實不能의 原因에 關하여— 韓作誌 5: 69-86
16. _____, 梁熙天. 1973. 人蔘 種子 形成에 對한 生理化學的 研究. Ⅰ. 花器 및 種子形成 過程에 있어서의 遊離아미노酸의 消長. 韓國育種學會誌 5(1): 37-45.
17. _____, _____. 1973. 人蔘種子形成에 對한 生理化學的 研究. Ⅱ. 催芽過程中에 있어서의 遊離아미노酸의 消長. 投稿中(韓國育種學會誌)
18. _____, _____. 1973. 人蔘種子形成에 對한 生理化學的 研究. Ⅲ. 美國人蔘 및 竹節人蔘의 花器 및 種子形成過程에 있어서의 遊離아미노酸의 消長. 投稿中(韓國育種學會誌)
19. Ito, Nobuo. 1972. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plant. Proc. Crop. Sci. Soc. Jap. 41(1): 32-37.
20. 片山 平. 1961. 水稻の不稔性と遊離アミノ酸, 特に プロリンとの關係. 育種學 11: 291-294.
21. Khoo, H. and H.T. Jr. Stinson. 1957. Free amino acid differences between cytoplasmic male sterile and normal fertile anthers. Proc. Nat. Acad. Sci. 43: 603-607.
22. 宮澤洋一. 1963. 藥用人蔘試驗成績 長野縣 農試北御牧 藥用人蔘試驗地, 27-28.
23. 宮澤洋一. 1964. 試驗成績 長野縣 園試北御牧 特作地, 83-91.
24. 尾崎清, 田井喜三男. 1957. 不稔の生化學的 研究(1) 花粉中の Proline に ついて. 日土肥學會講演要旨 第3集, 40.
25. 尾崎清, 田井喜三男, 五島皓. 1962. 植物の 花粉中の 遊離アミノ酸に ついて. 農及園 37: 1340.
26. Rappaport, Jacob. 1948. Embryo inhibitors in water extracts of ovular tumors of *Datura* Amer. Jour. Bot. 35: 812.
27. Rappaport, J., S. Satina and A.F. Blakeslee. 1950. Extract of ovular tumors and their inhibition of embryogrowth in *Datura*. Amer. Jour. Bot. 37: 586-595.
28. Satina, S.J. Rappaport and A.F. Blakeslee. 1950. Ovular tumors connected with in cmpatible cross in *Datura*. Amer. Jour. Bot. 57: 576-586.
29. Satina, S. and A.F. Blakeslee. 1953. Fertilization in the incompatible crosses *Datura stramonium*×*D. metal*. Bull. Torrey Bot. Club 62: 301.