

尿素葉面施肥가 Urease活性에 미치는 影響

洪鍾旭 · 李孝司

慶北大學校 農科大學 農化學科
(1980년 2월 21일 수리)

Effect of Foliar Spray of Urea on Urease Activity in various Plant Leaves

Jong-Uck Hong and Hyo-Sa Lee

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyugbook
National University, Taegu, Korea

Abstract

Changes of urease activity in plant leaves following foliar application of urea were investigated with soybean, rye, tomato, radish and cabbage which were actively growing in a field. In this experiment, the procedure of the enzyme assay included incubation of the reaction mixture at 60°C for 3 hr in order to inactivate heat unstable enzymes which may utilize ammonia produced by urease. The leaves with urea application showed somewhat higher urease specific activities for 2-4 days immediately after the foliar spray as compared with controls. The most difference of the specific activities between urea treatment and control was usually observed 2 days after urea application regardless of the plants. The difference of the specific activities disappeared completely 4 or 5 days following urea treatment. Protein contents in the leaves of soybean and tomato were increased for about 5 days after urea treatment, while no significant difference was found with rye, radish and cabbage. Urea application showed slightly lower ammonia concentration in the leaves which had higher urease activities. These results suggest that foliar spray of urea is very effective when nitrogen supply is required for rapid growth.

緒 論

尿素는 토양에 직접 살포됨은 물론 최근 열면살포의 효과가 인정되어 농업에서 多收獲을 목적으로 식물의 窒素源으로서 널리 이용되고 있다. 그래서 1950년대 부터 窒素 시비와 urease 효소에 대한 연구¹⁻⁴⁾가 활발하게 진행되었고 1960년대 부터는 토양에 함유되어 있는 urease의 특성과 역할에 대한 연구가 광범위하게 수행되었으며 최

근 여기에 대한 연구결과들을 Bremner와 Mulvaney⁵⁾가 집대성하여 발표한바 있다.

Urease는 살포된 窒素를 분해시켜 식물의 신진대사의 필요에 따라 이용 가능한 암모니아態 窒素 원으로 전환시키는 반응을 촉진시키는 효소이기 때문에 효소 활성은 식물 성장과 밀접한 관계가 있다⁶⁾. 그래서 지금까지의 많은 연구가 토양내 urease의 기원에 대하여 관심이 쏠렸고 토양 미생물의 urease 분비 및 미생물의 세포외효소(extr-

acellular enzyme)는 토양내 노소량과 밀접한 관계가 있음을 확인했다. 그러나 식물의 뿌리도 세포의 효소를 가지고 있다는 최근의 報告⁷⁾는 토양내 urease의 활성이 미생물로부터 由來된 효소에만 국한되지 않는다는 점을 의미하고 있다. 동시에 이 결과는 노소 시비에 따른 식물의 各部位에 존재하고 있는 urease활성 변화 특히 농업적으로 빈번히 사용되는 엽면 시비가 식물의 잎에 있는 urease에 어떤 영향을 미치는 가를 조사해 볼 가치를 부여했다. 그러나 엽면시비와 urease활성 변화에 관한 연구는 지금까지 사과나무 잎⁸⁾과 벼⁹⁾를 제외하고는 urease의 활성이 매우 낮기 때문인지 거의 수행되지 않고 있는 실정이다.

따라서 著者들은 포장에서 자라는 성장기에 있는 콩, 라이맥, 토마토, 무우 및 배추등에 노소를 엽면살포한 뒤 잎에 있는 urease의 활성 변화를 무처리구와 비교 검토하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料 및 植物生育方法

供試 재료로 콩(*Glycine max* L., 광교), 라이맥(*Secale cereale* L., 지방종), 토마토(*Lycopersicon esculentum* MILL, 대형복수), 무우(*Raphanus sativus* L., 진주대평) 및 배추(*Brassica Pekinensis* PURR, 흥농종묘서울배추)를 사용했다. 콩은 1980년 5월 10일에 포장에 파종하였고 토마토는 5월 14일 묘목을 이식시켰다.

엽면살포 실험은 식물이 왕성한 성장상태에 있을 때 적어도 1주일 이상 시료로 잎을 어느 個體로부터나 공급할 수 있을 만큼 성장한 식물로 행해졌다. 콩과 토마토는 7월 3일에 노소처리를 받은 잎으로 부터 실험결과를 얻었다. 라이맥, 무우 및 배추는 동년 8월 15일에 파종하였고 10월 31일에 노소 엽면살포로 시작된 실험에서 얻은 결과를 본 연구에서 인용했다. 시료는 일반적으로 노소처리구와 무처리구를 구별하여 가능한 한 많은 식물개체의 여러 위치로부터 임의적으로 채취하였다.

2. 노소 엽면살포 방법

노소처리구에는 노소 엽면살포시 가장 널리 사용되는 농도 0.5%(w/v)노소용액을 정명한 날을 택하여 잎이 흠뻑젖을 만큼의 양을 24시간 간격으로 2회에 걸쳐 살포하였다.

3. 효소용액 조제

식물의 잎을 채취하여 물로 깨끗하게 씻은 다음

잎 표면에 부착되어 있는 물기를 완전히 제거한 뒤 3g의 잎을 3ml의 0.1M Tris(hydroxymethyl)aminomethane(Tris)/maleate-1mM ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA)-0.1% 2-mercaptoethanol, pH 7 완충 용액으로 미리 어둠으로 식힌 유발에서 마쇄시켰다. 그러나 토마토의 경우는 3g의 잎을 5ml의 상기 완충용액으로 마쇄시켰고 마쇄된 粗液을 4점의 가제로 걸렀다. 가제를 통과한 濾液을 16,000Xg로 10분간 저온원심분리(4~6°C)시킨 그 상등액을 효소 활성 측정시료로 사용하였다.

4. Urease 효소 활성도 측정방법

식물의 잎으로 부터 추출된 효소조액 0.2ml(콩의 경우는 0.1ml)를 0.1M Tris/maleate-1mM EDTA, pH 7 완충용액에 0.5M urea가 녹아 있는 용액 1ml와 0.1ml(콩의 경우는 0.2ml)의 2-mercaptoethanol이 除外된 상기 완충용액으로 용량을 1.3ml로 맞춘 다음 그 혼합액을 30°C에서 17~18시간 정도 방치한 후 0.65ml의 2N H₂SO₄를 첨가시켜 효소 반응을 중단시킨 다음에는 Polacco와 Havir의 방법¹⁰⁾에 따라 암모니아 생성량을 Spectronic 20 비색계를 이용하여 Nessler 시약(ammonia Color reagent, Sigma)을 첨가 즉시 436nm에서 측정하였다. Blank에는 0.65ml의 2N H₂SO₄를 효소반응을 시키기 전에 반응용액에 첨가했다. 동시에 동일한 시료를 이용하여 30°C에서 일정시간 효소반응을 진행시키는 대신 효소와 기질 혼합용액을 60°C에서 3시간 반응시킨 후 30°C에서 15시간 정도 반응을 더 진행시킨 다음 암모니아 생성량도 측정하였다.

4. 효소반응용액의 암모니아량 측정

Urease 효소활성 측정법에서 처럼 효소조액 0.2ml(콩의 경우는 0.1ml)를 0.1M Tris/maleate-1mM EDTA, pH 7 완충용액에 0.5M urea가 녹아 있는 용액 1ml와 0.1ml(콩의 경우는 0.2ml)의 상기 완충용액의 혼합물에 0.65ml의 2N H₂SO₄를 첨가시킨 뒤 효소조액 대신 완충용액으로 용량을 맞춘 blank를 사용하여 암모니아량을 측정했다.

5. 단백질량 측정방법

시료에 포함되어 있는 간섭물질인 chlorophyll을 제거하기 위하여 Polacco의 방법¹¹⁾에 준하여 0.2ml의 50% trichloro acetic acid(TCA)와 0.1ml의 효소조액을 혼합시킨 후 원심분리시켜 상등액을 버리고 0.5ml의 acetone으로 단백질 침전물을 2회에 걸쳐 세척하여 Chlorophyll을 제거한 뒤

남은 갈색의 단백질 침전물을 1ml의 1N NaOH 용액에 완전히 녹였다. 완전히 용해된 단백질 시료를 일정량 취하여 Lowry 등의 방법¹²⁾에 의하여 파장 578nm에서 비색계를 이용하여 측정하였다.

結果 및 考察

노소 엽면살포에 따른 잎에 함유되어있는 urease 活性 變化에 대한 研究는 Shim 등⁸에 의하여 酵素의 活性도가 매우 낮기 때문에 酵素 測定의 感도가 가장 높은 方法中의 하나인 放射性 同位元素 測定法을 利用하여 뚜렷한 差異點을 보인것 이외는 지금까지 별로 문헌 상에 발표된 바 없다. 그래서 곡류중에서 콩과 라이맥, 채소류중에서 토마토, 무우 및 배추를 대상으로 노소 엽면살포가 앞에 있는 urease 活性에 미치는 영향을 成長期에 있는 식물을 이용하여 조사하였다. Fig. 1은 콩의 urease 比活性度 變化에 대한 노소 처리구와 무 처리구에서 얻은 결과를 나타내고 있다.

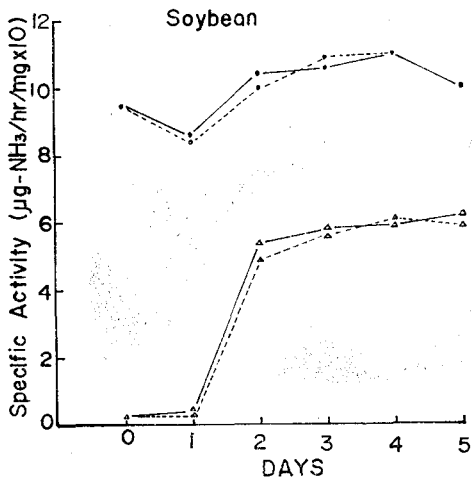


Figure 1. Effect of foliar application of urea on urease activity in soybean. Heat treatment (●-●) and no heat treatment (△-△) for the enzyme reaction mixtures. Solid lines represent urea treatment and dot lines no treatment of urea. Days indicate the time elapsed following foliar application of urea. The experimental conditions were same as described in the text. All data are average values of triplicate experiments.

本 實驗에서는 최근 Polacco 등¹⁰⁾이 콩의 조직 배양으로부터 分離된 urease의 活性를 측정할 方法을 그대로 이용하여 酵素 活性를 측정하였더니 특히 토마토의 경우에는 酵素 反應期間동안에 urease에 의한 암모니아의 生成대신 암모니아 감

소 현상을 보였다. 암모니아 감소 현상은 효소반응액이 암모니아를 이용하는 효소반응계도 포함하고 있을 가능성을 시사해주고 있다. 그래서 ureas 효소가 높은 온도에서 安定한 性質¹³⁾을 이용하여 효소 반응용액을 60°C에서 3시간 동안 放置하르로서 安定도가 낮은 효소들을 不活性化시킨 후에

Table 1. Effect of foliar application of urea on protein contents in the leaves*

Plant	Control (mg/ml)					Urea treatment (mg/ml)					Relativity (%)*											
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	5						
Soybean	6.5	14.0	13.8	14.0	14.8	14.8	14.0	14.0	14.8	16.3	6.5	14.5	16.7	15.5	15.8	16.8	100	1104	121	111	107	103
Rye	15.5	9.5	35.0	20.0	16.5	15.5	10.0	33.0	19.0	14.5	15.5	10.0	33.0	19.0	14.5	100	105	94.2	95.0	87.8	102	
Tomato	15.5	21.0	23.3	19.5	24.0	23.5	15.5	21.5	24.0	24.5	15.5	21.5	24.0	24.5	27.5	24.0	100	102	104	126	115	100
Radish	10.5	10.8	39.5	17.0	13.5	13.5	10.5	13.5	28.2	17.5	13.5	10.5	13.5	28.2	17.5	13.5	100	125	71.3	103	100	
Cabbage	13.5	11.5	25.0	14.0	13.5	13.5	13.5	13.0	24.0	14.5	12.5	13.5	13.0	24.0	14.5	12.5	100	113	96.0	104	92.5	

* All data are average values of protein contents in crude homogenates obtained from triplicate experiments.

A: Day indicates the time elapsed following foliar application of urea to the leaves.

B: Relativity refers to the percentage of the values obtained from urea treatment to those from control.

계속 urease 반응을 시킨 다음 암모니아 생성량을 측정하였더니 Fig. 1에 나타난 바와 같이 효소활성이 약 2배가량 높았다. 여기에 나타난 효소활성 증가는 熱處理區와 無處理區를 比較해 보았을 때 효소반응의 온도 의존성과는 크게 관련없었다. 따라서 본 연구에서는 60°C에서 3시간동안 효소반응액을 열처리하는 과정을 포함하는 urease 활성 측정법을 사용하였다.

콩의 경우에는 Fig. 1에서 보는바와 같이 효소반응時 熱處理에 구애됨 없이 urease 比活性도가 노소를 잎에 1次 살포한 後 24시간 경부터 증가하는 傾向을 보였고 노소 용액을 2次 살포 後 24시간 더 경과한 다음에는 무처리구와 비교했을때 약 6%까지 증가한 다음 이후 감소하여 무처리구水準까지 도달했다.

反面 Table 1에 나타난 바와 같이 총 단백질량은 노소 처리에 의하여 最高 25% 程度 증가하였고 이 값은 urease 비활성도 增加率보다 훨씬 높다. 이 結果는 노소 엽면 살포가 잎내의 urease 生合成만 選擇的으로 誘導하지 않고 많은 다른 단백질의 生合成도 同時에 促進시켰음을 말해 주고 있다.

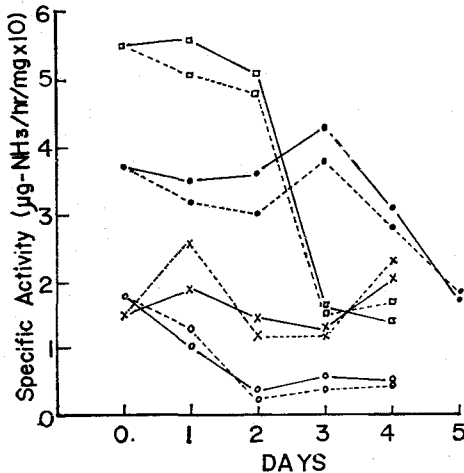


Figure 2. Effect of foliar of urea on urease activity in various plants. Rye (□-□), tomato (●-●), radish (X-X) and cabbage (○-○). Solid lines represent urea treatment and dot lines no treatment and dot lines no treatment of urea. Days indicate the time elapsed following foliar application of urea. All data are average values of triplicate experiments.

라이맥의 경우도 Fig. 2에 표시된 것 처럼 노소 1次 살포 후 urease 비활성도가 24시간 경과하였을 때 무처리구와 비교하여 노소 처리구에서 현격

한 증가를 보였으며 3일 이후 부터는 큰 차이를 찾아 볼 수 없었다. 단백질 량의 변화는 콩의 경우와는 달리 본 실험 기간 동안에는 노소 처리구와 무처리구간에 유의성 있는 차이는 발견하지 못했다. 이것은 urease의 기질인 노소가 라이맥에서는 보다 선택적으로 urease의 生合成을 誘導시켰음을 의미하고 있다.

토마토 잎내의 urease 비활성도도 노소 살포 후 24시간 경부터 증가하기 시작하였으며 2차 살포 후 뚜렷한 증가(20%)를 보인 후 앞의 두 경우와는 달리 2일간 더 높은 urease 활성도를 노소 처리구에서 유지된 다음 5일 경부터 무처리구와 비슷한 수준에 도달되었다. 그러나 이러한 결과는 토마토의 開花期 以前에서만 볼 수 있었고 열매가 맺기 시작할 즈음에 엽면 살포를 시도한 실험에서는 정확하고 일관된 urease 활성도를 측정할 수 없었다. 이런 현상은 urease 활성도가 식물의 생리적 상태 변화에 따라 크게 좌우되고 있음을 의미하고 있다. 아울러 본 시험기간 5일 동안에 나타난 urease 비활성도와 단백질 량의 상당한 변동은 성장기의 식물의 생리적 상태의 급변의 결과일 런지도 모른다.

무우와 배추의 경우는 urease의 비활성도가 콩의 1/5 정도에 지나지 않을 만큼 낮았고 노소 1차 살포 후 24시간 경에는 urease 비활성도는 오히려 노소 무처리구 보다 감소하였다. 그러나 노소 2차 살포 후 24~48시간 동안은 충분히 효소활성 증가를 식별할 수 있었다. 이들 결과는 무우와 배추에서는 urease 誘導時間이 노소 또는 암모니아態 窒素源이 유도하는 餘他 단백질 生合成 유도시간 보다 길거나 노소 1차 살포량만으로는 기질의 농도가 urease의 生합성을 유도할 수 없을 만큼 낮을 경우에는 가능하다고 생각된다. 노소 처리에 의한 무우 및 배추의 잎내 단백질 량의 약 20% 증가는 위의 가능성 가운데서 前者가 중요한 要因이라면 노소 처리구와 무처리구간의 urease 비활성도 감소율이 약 20% 정도 될 것으로 판단되는데 본 실험결과(Fig. 3)들은 이 假定과 거의 일치하였다.

이상의 결과들은 사과나무 잎⁸⁾을 고농도의 노소용액(10%)에 접촉시켰을때 보다 Fig. 3에 나타난 바와 같이 urease 비활성도 증가 정도(6~60%)는 훨씬 낮았으나 엽면 살포 후 24~48시간경에 urease 비활성도가 현저하게 증가한다는 사실은 일치하였다. urease 비활성도 증가 정도의 차

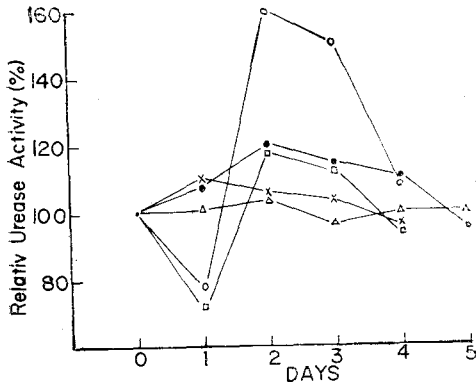


Figure 3. Changes in relativity of urease activity. Soybean (△-△), rye (x-x), tomato (●-●), radish (□-□), and cabbage (○-○). The relativity was calculated with the data shown in Fig. 1 and 2 as the percentage of urease activities from the leaves with urea treatment to those from the leaves without urea treatment.

이는 일내에 흡수된 노소의 량에 의하여 起因되었거나 식물간의 노소에 의한 urease활성 증가도가 같지 않기 때문에 생길가능성이 있다고 생각된다.

Urease활성은 효소반응의 생성물인 암모니아에 의하여 저해 받는다는 사실이 Hoare와 Laidler¹⁴⁾에 의하여 밝혀졌고 Matsumoto등¹⁵⁾은 Jack Bean을 사용하여 암모니아 용액을 일속으로 스며들게 하였을 때 일내의 urease 활성을 저하시켰다고 報告했다. 그래서 노소 처리구와 무처리구간의 urease 활성 차이가 효소 粗液의 암모니아 농도 차이에 의한 것인지를 구명하고자 효소반응용액 자체의 암모니아 량을 측정하였다.

Table 2에서 보는 바와 같이 암모니아 함량은 노소 처리 후 24~48시간 경과한 식물의 효소조액에서 약간 낮은 경향을 보였으나 이 정도의 암모니아 농도 차이는 urease 활성도의 변화에 대한 경향을 조사하는 데는 큰 영향을 주지 않을 것으로 판단된다. 만약 효소조액의 암모니아 농도가 urease 활성을 아주 예민하게 정비례적으로 저해한다면 urease 비활성도는 효소조액의 암모니아 농도에 의하여 크게 좌우될 것이 기대되는데 토마토의 경우를 예를 들면 암모니아 농도간의 차이는 무려 2.5배나 되나 효소비활성도는 큰 차이를 보여주고 있지 않다. (Table 2와 Fig. 2 참조) Table 2에 나타난 암모니아 농도들은 Matsumoto등¹⁵⁾의 결과가 식물로부터 분리된 어느 urease효소이나

Table 2. Effect of foliar application of urea on ammonia concentrations in the leaves*

Plant	Control (mM)					Urea treatment (mM)					Relativity (%)							
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	5		
Soybean	4.8	4.1	6.3	4.4	5.5	3.4	4.8	3.4	6.0	3.9	5.5	3.4	100	82.9	95.2	88.6	100	100
Rye	5.8	6.3	6.3	3.9	6.3	6.3	5.8	6.0	3.4	3.9	6.3	6.3	100	95.2	58.9	100	100	100
Tomato	4.8	2.9	7.5	5.8	5.5	4.3	4.8	2.4	6.7	5.3	5.5	4.3	100	82.7	89.3	91.3	100	100
Radish	2.9	2.9	3.4	2.6	1.9	1.9	2.9	2.4	3.3	2.6	1.9	1.9	100	82.7	97.0	104	100	100
Cabbage	3.4	4.0	3.9	3.4	3.1	3.1	3.4	4.1	3.6	3.4	3.1	3.1	100	102	92.3	100	100	100

* All data on the table are represented as average values of ammonia concentrations contained in the enzyme reaction mixtures obtained from triplicate experiments.

A: Day indicates the time elapsed following foliar application of urea to the leaves.

B: Relativity refers to the percentage of the values obtained from urea treatment to those from control.

적용된다면 urease의 활성을 적어도 50% 이상 저해할 수 있기 때문에 본 실험에서 얻은 효소비활성도는 암모니아를 제거한 뒤에는 훨씬 높아질 것이 기대되나 암모니아가 어느정도 효소활성에 영향을 미치는 가를 각 식물로부터 분리 정제된

효소의 특성을 조사해야만 정확한 판단이 가능해진다. 그리고 노소 처리 후 일반적으로 24~48시간 동안에 나타난 식물 체내 암모니아 농도 감소는 노소 처리에 의한 urease 활성증가가 결과적으로 암모니아 생성을 촉진시킬 경우 식물 체내 신진대사의 평형을 유지하기 위하여 잎내에 있는 암모니아 이용 효소들의 필연적인 활성 증가와 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다.

이상의 결과들은 노소는 식물의 잎속으로 아직도 잘 알려지지 않은 吸收機作을 통하여 들어가면 식물간에 효소의 활성정도의 차이는 있겠지만 잎에 있는 urease에 의하여 암모니아로 분해되고 생성된 암모니아가 식물의 단백질합성에 필요한 질소원으로 사용되어 식물의 성장을 촉진시킨다는 주장^{16,17)}과 부합된다. 아울러 토양에 살포된 노소도 뿌리를 통하여 어느 정도의 흡수는 있을 것이고 뿌리에 존재하고 있는 효소의 생합성을 위해서 처럼 유도시켜 토양내에 있는 질소원을 효율적으로 이용할 수 있도록 식물이 적응할 것이 기대된다.

抄 錄

본 실험에서는 尿素 葉面施肥에 의한 잎내 urease 효소의 活性度에 미치는 영향을 콩, 라이맥, 토마토, 무우 및 배추를 供試材料로 사용하여 조사하였다. urease 活性度의 정확한 측정을 위하여 酵素粗液에 포함되어 있는 암모니아 이용 효소 중에서 熱에 약한 효소의 不活性化를 피하고져 효소 반응액을 60°C에서 3시간 동안 처리시켰다.

노소 처리를 받은 잎에서 urease 比活性도가 노소 無處理區에서 보다 엽면살포 후 일반적으로 2내지 4일 동안에는 약간 높은 傾向을 보였다. 노소 처리구와 무처리구 간의 효소비활성도 차이는 어느 식물에서나 노소 처리 후 48시간 경과하였을 때 가장 두드러지게 나타났다. 콩과 라이맥의 경우에는 각각 6%와 10% 정도 높았고 토마토와 무우에서는 약 20%정도, 배추에서는 60%정도의 차이가 있었다.

단백질의 함량은 콩과 토마토의 경우에는 노소 처리구에서 엽면살포 후 약 5일 동안 對照區에 비해 높은 水準을 유지했으나 라이맥, 무우 및 배추에서는 본 실험기간 동안에는 큰 차이를 보이지 않았다. 잎내의 암모니아 농도는 urease 활성이 증가된 노소 처리구에서 오히려 약간 낮은 값을 보였다.

以上の 실험결과들은 노소의 엽면살포시 식물의 잎속으로 吸收되어 들어간 노소가 urease의 생합성을 誘導하여 빨리 窒素源인 노소를 식물 성장에 필요한 다른 대사물로 전환시켜 결과적으로 단기간내에 식물의 生育狀態 改善을 촉진시킨다고 사료된다.

謝 辭

본 연구는 1980년도 문교부 연구조성비의 지원으로 수행되었습니다.

參 考 文 獻

1. Boynton, D., Margolis, D., and Gross, C.R.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 62 : 135 (1953)
2. Cain, J.C.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sic., 67 : 279 (1956)
3. Dilley, D.R., and Walker, D.R.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 79 : 121 (1961)
4. Mitsui, S., and Kurihara, S.: Soil Sci. Plant Nutri., 8 : 219 (1962)
5. Bremner, J.M. and Mulvaney, R.L.: In 'Soil Enzymes,' R.G. Burns (ed.), Chap. 5, Academic Press, N.Y. (1978)
6. Dilley, D.R. and Walker, D.R.: Plant Physiol., 36 : 757 (1951)
7. Parija, P.G. and Mahapatra, B.: Current Sci., 46 : 680 (1977)
8. Shim, K-K, Splittstoesser, W.E. and Titus, J.S.: Physiol. Plant, 28 : 327 (1973)
9. Matsumoto, H., Yasuda, T., Kobayashi, M. and Takahashi, E.: Soil Sci. and Plant Nutri., 12 : 33 (1966)
10. Polacco, J.C. and Havir, E.A.: J. Biol. Chem., 254 : 1707 (1979)
11. Polacco, J.C.: Plant Physiol., 58 : 350(1976)
12. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: J. Biol. Chem., 193 : 265 (1951)
13. Sumner, J.B.: In The Enzymes: J.B. Sumner & K. Myrback (ed.), 1 (2) : 873, Academic Press, N.Y. (1951)
14. Hoare, J.P. and Laidler, K.J.: J. Amer. Chem. Soc., 75 : 866 (1953)
15. Matsumoto, H., Hasegawa, Y., Kobayashi, M. and Takahashi, E.: Physiologia Plantarum, 21 : 872 (1968)
16. Reinbothe, H. and Mothes, K.: Annu. Rev. Plant Physiol., 13 : 129 (1962)
17. Bollard, E.G.: Symp. Soc. Exp. Biol., 13 : 304 (1959)