エンバク冠銹病菌およびメダケ赤衣病菌胞子のカロチノイド色素

谷 利 一・内 藤 中 人*

Toshikazu TANI and Nakato NAITO : Carotenoid pigments of the spores
of *Puccinia coronata* and *Stereostroma corticioides*.

緒 言

糸状菌カロチノイドに関する Goodwin³⁾ の総説によると、Müller は 1886 年すでに同色素が銹菌夏胞子に存在する旨を報じ、ついで Bertrand ら¹⁾ (1892) も同様の見解を発表している。しかし最初にこれを同定、確認したのは Lederer⁹⁾ (1934) で、エンバク冠銹病菌夏胞子のカロチノイドを α -, β -, γ -carotene と断じた。この前後にも関連の報告は若干みられるが¹⁰⁾¹⁵⁾¹⁶⁾, ¹⁸⁾, 銹菌カロチノイドの研究はあまり進展しないままに終つていたところ、1950 年以降から近代的化学技術にもとづく研究が海外では相ついでいる²⁾⁷⁾⁸⁾¹⁷⁾¹⁹⁾。それによると、銹菌カロチノイドの主体は γ -, β -carotene で、とくに γ -carotene 含量の著しく高い点は、同色素が植物界では比較的まれでかつ含量も低いことと対比し注目されているようである。筆者らもエンバク冠銹病菌夏胞子、メダケ赤衣病菌夏胞子および冬胞子を供試してカロチノイド色素の同定、定量を試みたところ、最近における上述の傾向とほぼ一致したほか、銹菌からの検出を聞かない flavochrome, cryptoxanthin, lutein の 3 種キサントフィルが微量存在することも知つたので報告する。なお本報告の要は昭和 35 年度日本植物病理学会関西部会で発表した。また実験を援助された本研究室員松家昇氏に深謝の意を表する。

実験材料および方法

供試材料 エンバク冠銹病菌 (*Puccinia coronata* Corda) の夏胞子は、香川県木田郡三木町に発生した同一圃場の罹病葉から 1960 年 5 月 26~31 日に既報¹²⁾ に準じて採取し、一部はすぐに発芽処理した。すなわち径 9 cm のベトリ皿に約 10 ml の蒸留水を入れ、ベトリ皿 1 個あたり 10 mg ずつの胞子を水面に浮かべ室温 (20~27°C) に 16 時間放置すると、発芽管が互いに交錯して mat となる。これを汙別、汙紙にはさんで軽く圧搾、さらに真空デシケーターに納めて水分を除く。

* 香川大学農学部

メダケ赤衣病菌 (*Stereostroma corticioides* (Berk. et Br.) Magnus) の夏、冬両胞子はそれぞれ 1960 年 5 月 3~30 日、4 月 18~23 日に同じく三木町の竹藪数カ所から採取し、前者は 0.25 mm の篩、後者はピンセットでできるぎり不純物を除く。なお、冬胞子からの担子柄除去は困難なため、そのまま供試した。また分析開始までは (約 2~4 カ月間)、両菌とも供試材料はすべて真空デシケーター中に 0°C、暗黒下で貯蔵した。

色素の抽出 胞子を倍量の海砂とともに乳鉢でよく磨砕後ベンゾールで 2~3 回反覆抽出し、残部はさらに同一処理をくり返す。5 回目の磨砕後もベンゾールはなおいくぶん着色するが、含有カロチンは微量であつたから、4 回反覆後に全抽出液を合わせ分析に供した。まずベンゾールが約 10 ml になるまで減圧濃縮し、5% KOH-メタノールを加えて常温で 1 昼夜鹼化し、水洗して鹼化物を除き、ベンゾールを蒸発乾固してから石油エーテルを加え、アルミナカラムに展開する。なお試料の酸化を防ぐため、以上の操作はなるべく CO₂ 気流中で行なつた。

色素の分離 HNO₃ で洗滌、200°C、3 時間乾燥処理して活性化したメルク製ブロックマンのアルミナカラムおよびメタノールで不活性化した同カラムを単用または混用し、石油エーテル、エチルエーテルの種々濃度混合液で展開した。溶出色素は石油エーテルに溶解し、島津分光光度計 QB50 型で吸収スペクトルを測定した。その他の細部については実験結果の各項で述べる。

実験結果

1. 分離と同定

(1) **エンバク冠銹病菌夏胞子** 不活性アルミナ 20 g を充填した径 1 cm のカラムに、0.5 g の未発芽夏胞子試料から抽出した色素の石油エーテル溶液を添加し、まず吸着、通過の両区分にわけ、吸着区分を 40、ついで 70% エーテルで展開すると、前者で大部分の色素が、後者では橙黄の色素が溶出する。一方通過区分

は活性アルミナ20 gのカラムにすべて吸着され、これより5, 10%エーテルでそれぞれ橙, 橙赤の色素が溶出する。なお少しカラムに残る色素は100%エーテルで溶出し, 不活性アルミナから40%エーテルで溶出した色素と合わし(理由は考察で述べる), 減圧濃縮後

再び石油エーテルに溶かし, 活性アルミナ12, 不活性アルミナ8 gの混合カラムにとおす。これから5, 10, 15%エーテルで黄, 橙黄, 桃の色素がそれぞれ溶出し, さらに20, 40, 50, 70%エーテルで相異なる橙黄の色素が溶出する。

第1表 エンバク冠銹病菌夏胞子, メダケ赤衣病菌夏, 冬胞子の同定カロチノイド

カラムの種類	エーテル 添加量(%)	色調	吸 収 極 大 (m μ)		溶 出 物
			実 験 値	文 献 値	
活 性	5	黄褐	~425, 447, 475	425, 449, 475 ⁸⁾	β -carotene
	10	赤褐	438, 458, 488	434, 459, 490 ⁸⁾	γ -carotene
活 性 : 不 活 性 (12 : 8)	5	黄	~403, 426, 448	~401, 420, 446 ⁴⁾	flavochrome
	20~30	橙黄	~427, 450, 476	450, 474 ⁵⁾	cryptoxanthin
	70	〃	424, 446, 473	423, 446, 472 ⁵⁾	lutein

第2表 エンバク冠銹病菌夏胞子, メダケ赤衣病菌冬胞子の未同定カロチノイド

試 料	カラムの種類	エーテル 添加量(%)	色 調	吸 収 極 大 (m μ)
エンバク菌夏胞子	活 性 : 不 活 性 (12 : 8)	10	橙 黄	~425, 445, ~472
		15	桃	427, 450, 472
		40	橙 黄	405, 427, 450
		50	〃	425, 445, 470
	不 活 性	70	〃	425, 448, 475
赤衣病菌冬胞子	活 性 : 不 活 性 (12 : 8)	15	桃・黄・桃	405, 425, 445
		50	橙 黄	425, 436, 460
	不 活 性	70	〃	405, 425, ~450

第1図 同定カロチンの吸収スペクトル

A : β -carotene, B : γ -carotene

第2図 同定キサントフィルの吸収スペクトル

A : cryptoxanthin, B : flavochrome,
C : lutein

以上の各分離色素を石油エーテルに溶かし吸収スペクトルを測定した結果は第1, 第2表, および第1, 第2図のとおりである。分離色素のうち5種類は, その溶出順序と吸収極大がそれぞれ既知カロチノイドの文献値にはほぼ合致し(第1表), β -carotene は南瓜から単離したものとの混合展開でも一致した。中川¹⁴⁾によると flavochrome の吸光度は $424 m\mu$ よりも $446 m\mu$ のときやや大きい, 本実験では逆に $426 m\mu$ のほうが $448 m\mu$ よりもわずかに大きい(第2図)。しかし90%メタノールによる partition test は epiphasic で, 吸収極大も Goodwin⁶⁾ の値とはだいたい一致するので, 溶出順序をも考慮して一応 flavochrome に同定した。cryptoxanthin は90%メタノールで epiphasic で, 95%では石油エーテル, メタノールの両層に分配される。これは Goodwin⁴⁾ に一致し, 西洋トウガラシ果皮から分離したものとの混合展開でも一層をなす。lutein は90%メタノールで両層に等しく分配され95%では大部分が下層に, 一部が上層に移り, 南瓜から単離したものとの混合展開でも一致する。また, 1~5% エーテルで活性アルミナから溶出するとき β -carotene よりもさきに溶出する色素のないことから推して, α -carotene はないものと考え。 γ -carotene, flavochrome 間にも微量の色素帯があるようであつたが, γ -carotene から単離できなかつた。おそらく γ -carotene の異性体であろう。 γ -carotene 溶出にあつては, 考察で述べる理由から lycopene の混在をも想定し, あとのほうから溶出する色素の一部をとつてスペクトルを測定したが, $500 m\mu$ 付近には吸収極大がみられず, したがつて lycopene も存在しないと考える。

第2表記載の未同定区分は必ずしも単一色素ではなく, 同一試料を用いて実験しても再現性が不十分であつた。 γ -, β -carotene に比べると量的にもはるかに少なく, おそらく胞子内で, あるいは人工的に分離過程で生成された, カロチノイドの分解中間産物であろう。

発芽処理16時間の試料についても, 1回に0.7gを供試して未発芽胞子の場合同様アルミナカラムで展開分離してみたところ, β -, γ -carotene, flavochrome, cryptoxanthin, lutein の5種色素は発芽前胞子同様に検出された。しかし未同定区分のほうは, カラムクロマトグラフィーが比較的類似していたのみで, 吸収極大は一致しないものが多かつた。したがつて, 未発芽胞子に検出された未同定区分の色素が発芽胞子にも存するか否かは明らかでない。

(2) 赤衣病菌冬胞子 1回あたり4~8gの胞子材料から抽出した色素を, 不活性アルミナ20gのカラムに石油エーテルで展開して, まず通過, 吸着の両区分とし, 微量の吸着区分はエーテルで溶出して未同定区分とする。通過区分はさらに活性12, 不活性アルミナ8gの混合カラムに石油エーテルで展開後, 吸着色素を5, 15, 30, 50, 70%エーテルで順次溶出して5種類の色素をえ, 通過色素はさらに活性アルミナに吸着後, エンバク菌夏胞子の場合にしたがい5, 10%エーテルで2色素を溶出した。これら各溶出区分の示す吸収極大から(第1, 第2表), β -, γ -carotene, flavochrome, cryptoxanthin, lutein の5者はエンバク菌夏胞子と同様に本菌冬胞子でも確認できた。しかし未同定区分の色素については, 後述のとおりエンバク菌夏胞子に比べ含量がかなり低い関係上3区分にしか分別できなかつたから, エンバク菌夏胞子との異同は明らかでない。

(3) 赤衣病菌夏胞子 1回に4gの胞子材料を供試して前項冬胞子に準じ分離したが, 不活性アルミナカラムの吸着区分はこの場合も微量であつたから, 同じく未同定区分とした。活性, 不活性アルミナの混合カラムからは, 5, 30% エーテルでそれぞれ黄, 橙黄の色素が, また70%エーテルで橙黄の色素が溶出する。このうち30, 70%エーテルの溶出区分はともに微量のため両者を合わせて吸収スペクトルを測定したところ, その極大値420, 448, $475 m\mu$ は cryptoxanthin, lutein 両者(第1表)のはば中間値に相当するから, 溶出条件をも考慮してそれぞれ cryptoxanthin, lutein と同定した。一方活性アルミナからは, 5, 10%エーテルでそれぞれごく微量の橙黄色素, 多量の橙赤色素が溶出する。このうち前者は, 微量のため吸収スペクトル測定は不能であつたが, 溶出条件から β -carotene と考える。また γ -carotene, flavochrome の存在は吸収曲線, partition test などから判定した。

以上の結果から, 供試3胞子はすべて少なくとも β -, γ -carotene, flavochrome, cryptoxanthin, lutein の5種カロチノイド色素を有するといえよう。

2. 定 量

前項にしたがいカロチノイド色素を定量的に分離溶出して吸光度を分光光度計で測定し, 既知のE値から3種供試菌の絶乾胞子における含有量を算出するとともに, エンバク菌夏胞子のみについては発芽前後における含量をも比較した。ただし β -, γ -carotene, cryptoxanthin のE値は Goodwin⁴⁾ より引用し, flavochrome, lutein, 未同定区分の色素については Good-

win⁶⁾ にしたがって $E \frac{1\%}{1cm} = 2500$ を用いた。なお中川¹⁴⁾ は flavochrome の吸光度を $446 m\mu$ で測定しているが、本実験では既述のとおり $426 m\mu$ に吸収極大があつたので、この波長で測定した。各色素の測定波長と E 値は第 3 表のとおりである。

第 3 表 同定カロチノイドの E 値

色 素	波長($m\mu$)	$E \frac{1\%}{1cm}$
β -carotene	447	2590
γ -carotene	458	2760
flavochrome	426	2500
cryptoxanthin	450	2460
lutein	446	2500

第 4 表 エンバク冠銹病菌夏胞子の発芽に伴うカロチノイドの消長(発芽処理16時間)

		β -carotene	γ -carotene	flavo-chrome	crypto-xanthin	lutein	未 同 定 区 分	計
含 有 量 ^{*1}	発 芽 前	1.06	1.61	0.027	0.085	0.020	0.110	2.91
	発 芽 後	0.38	0.86	0.0018	0.029	0.0058	0.110	1.40
	減 小 率 ^{*2}	73.6	65.2	60.0	74.6	77.5	0.0	67.5
含 有 率 ^{*3}	発 芽 前	36.4	55.3	0.9	2.9	0.7	3.7	100.0
	発 芽 後	27.1	61.3	1.3	2.1	0.4	7.8	100.0

*¹ 絶乾胞子 1 g 中の mg*² (発芽前-発芽後)/発芽前 $\times 100$ *³ 全カロチノイドに対する百分率

第 5 表 メダケ赤衣病菌胞子の各カロチノイド含有量

		β -carotene	γ -carotene	flavo-chrome	crypto-xanthin	lutein	未 同 定 区 分	計
含 有 量 ^{*1}	冬胞子	0.038	0.093	0.0031	0.0088	0.0033	0.010	0.147
	夏胞子	痕 跡	0.0014	微 量	微 量	微 量	0.00097	0.00287
含 有 率 ^{*2}	冬胞子	24.0	59.7	2.0	5.6	2.1	6.6	100.0
	夏胞子	—	59.2	—	—	—	40.8 ^{*3}	100.0

*¹ 絶乾胞子 1 g 中の mg*² 全カロチノイドに対する百分率*³ γ -carotene 以外の全カロチノイド

考 察

エンバク菌夏胞子のキサントフィル分離過程において、吸着能を異にする 2 カラムに分配された色素を合わし混合カラムで再展開したが、実験結果の考察にさきだち、まずその理由にふれておきたい。同胞子からの抽出色素は石油エーテルで一部が不活性アルミナカラムに吸着するのみで、大部分の通過色素を次に活性 12 : 不活性 8 の混合カラムで展開しても同様の結果となり、さらに活性アルミナにとおすとはじめて全色素が上部にとどまる。この中には石油エーテルだけで溶出する色素はないが、その約 9 割を占める γ -, β -carotene を 10 % エーテルで溶出後も微量の色素が残る。吸着力の異なる上述の 3 種カラムに少量ずつ吸着する色素を順次高濃度のエーテルで分離すると、溶出カラムが異

2 ~ 6 回同一実験をくり返したところ、含有量の少ない色素では分析値が必ずしも一致しなかつた。しかし区間の傾向は各回とも同様であつたから、ここには平均値のみを示す(第 4, 第 5 表)。すなわち、3 胞子とも γ -carotene が全カロチノイド色素の約 6 割を占めて最も多く、赤衣病菌夏胞子を除いては β -carotene これにつぎ、両カロチンに比べると他の色素ははるかに少ない。また各色素とも、赤衣病菌のほうがエンバク菌よりも含量は低く、赤衣病菌でも夏胞子は冬胞子より少ない。さらにまた、エンバク菌夏胞子では各色素とも、発芽処理 16 時間後すでに発芽前含量の約 6 ~ 7 割を失なつている。

なるのに吸収スペクトルの一致するものがあり、かつこれを活性 12 : 不活性 8 のカラムで混合展開しても色素帯は一層である。本事実から同一色素が 3 カラムに少量ずつ吸着するものと解されたが、さらに確認のため、南瓜と西洋トウガラシから単離したキサントフィルを 2 種カラムに展開してそれぞれの吸着、溶出条件を調べてみたところ、lutein は不活性カラムから 40 % エーテルで、活性 12 : 不活性 8 のカラムからは 70 % エーテルで溶出し、また cryptoxanthin は不活性、混合カラムからそれぞれ 10, 30 % エーテルで溶出した。すなわち、前記エンバク菌の色素展開にあたり溶出カラムの吸着能が異なるのに同一スペクトルを示した色素と、溶出条件が全く一致している。以上の結果から、本実験のようにキサントフィル含量がカロチンの約 1/50 にすぎぬ試料をアルミナカラムで分離する場

合には、吸着能の弱いカラムに当然吸着してしまうはずのキサントフィルが一部しか吸着せず残余はカロチンとともに通過し、吸着力の強いカラムではじめてカロチンと分離するにいたると考えた。これが上述分離法を採用した根拠である。これに反し赤衣病菌胞子では、含量がさらに低いためか石油エーテル溶出後の不活性カラムにキサントフィルがほとんど検出されなかつたので、混合カラム吸着部のみから分離定量した。

供試3胞子とも、カロチノイド色素としては γ -carotene が最も多く、エンバク菌夏胞子、赤衣病菌冬胞子では β -carotene がこれにつぐ。この傾向は、Irvine⁹⁾ がエンバク冠銹菌を含む4種銹菌夏胞子で、また Wolf ら¹⁰⁾, Smits ら¹⁷⁾¹⁸⁾ が *Gymnosporangium juniperi-virginianae* の pycnial lesion, aecial stage, telial gall につき分析した結果やコムギ黒銹病菌夏胞子における同色素の主体が β -, γ -carotene であるとの Hougén ら⁷⁾ の見解にだいたい一致しており、赤衣病菌夏胞子に β -carotene がほとんど検出されなかつたのはむしろ例外ともいえよう。他のカロチノイドに比べ β -carotene 含量の比較的高い例は、高等植物のみでなく銹菌以外の糸状菌でも少なくない。しかし γ -carotene は高等植物ではまれで含量も低いとされており、銹菌以外の菌類にも検出されているが他のカロチノイドに比べるとやはり含量は高くないようであるから、カロチノイドの主成分が γ -carotene でしかもその含量が高いということは、銹菌の一特性に算えられよう。既知の銹菌カロチノイドに、そのほか lycopene, α -carotene がある。このうち lycopene はコムギ黒銹病菌など6種の銹菌夏胞子⁷⁾⁹⁾, *Cantharellus cibarius* などの5種キノコ²⁾ に検出されているのでとくに注意を払ったが、検出できなかつた。キサントフィルはカロチンに比し微量のためか、銹菌胞子についてはわずかに、rhodotorulin らしいもの¹⁰⁾ の抽出例がエンバク冠銹菌で知られているにすぎず、本実験でも供試3胞子にごく微量のflavochrome, cryptoxanthin, lutein を認めたにとどまる。このうち cryptoxanthin は *Dacryomyces stillatus* からすでに分離されているが⁹⁾, 他の2種色素に関しては糸状菌からの検出例を知らない。

Irvine ら⁹⁾ がエンバク冠銹病菌夏胞子で調べた γ -, β -carotene の各含量 1.09, 0.37 mg/g に比べると、本実験の分析値 1.61, 1.06 mg/g はやや高い。赤衣病菌の夏、冬胞子はそれぞれエンバク菌夏胞子の1/500, 1/1,000 程度にすぎず、ともに著しく低い。同氏らはまた、6種夏胞子における肉眼的色調の差異は主とし

てカロチン含量によるもので、色素の種類にはほとんど左右されないと考えた。本実験でも、3種胞子の色調と濃さには肉眼的差異がみられるにもかかわらず、カロチノイドの種類はほぼ一致しているから、この点のみからすれば Irvine らの見解を支持するようにみえる。しかし、胞子を反覆磨砕して10回以上ベンゾール抽出してもかなりの着色が残り、すなわちカロチノイド以外の色素も少なくないと推定されるから、胞子色調のカロチン含量との関連は、カロチノイド以外の色素の研究が今後さらに進展した上で、あらためて検討さるべきであろう。

銹菌カロチノイドの生理的意義については、現在のところほとんど不明であるが、趨光性とは密接な関係があるとも古くからいわれている³⁾。筆者ら¹¹⁾がさきに観察したエンバク冠銹病菌夏胞子の発芽時にみられる背日性についても、銹菌に比しカロチン含量の著しく低い他菌では同現象がほとんど観察されていないことを併わせ考えるならば、同機構の解明にはやはりカロチンとの関連をまず追究すべきであろう。また同菌およびスズメノテッポウ銹菌夏胞子が寒天培地に形成する発芽管, substomatal vesicle, infection hypha の橙黄色色素は検鏡下では自己消化とともに順次全く消失する旨を述べておいたが¹³⁾, 本実験でも発芽処理16時間ですでに、発芽前カロチノイド含量の約7割を消失しており、しかもその減りかたは各色素ともほぼ一様である。*Puccinia graminis tritici* の胞子、付着器におけるカロチンは還元状態であるに対し、発芽管では酸化状態で存するというが¹²⁾, いずれにせよカロチノイド色素も菌になんらかの形で利用されるのかも知れない。

摘 要

(1) エンバク冠銹病菌(*Puccinia coronata* Corda) 夏胞子, メダケ赤衣病菌夏胞子 (*Puccinia corticioides* (Berk. et Br.) Magnus) および冬胞子を供試し、カロチノイド色素の同定定量を行なった。

(2) 供試3胞子とも、 γ -carotene が全カロチノイドの約6割を占めて最も多く、赤衣病菌夏胞子を除くと β -carotene これにつぎ、そのほか flavochrome, cryptoxanthin, および lutein も検出されたが、両カロチンに比しその含量は著しく低い。また、エンバク冠銹病菌に比べメダケ赤衣病菌の各色素含量ははるかに低く、赤衣病菌でも夏胞子は冬胞子より少ない。

(3) エンバク冠銹病菌夏胞子は発芽処理16時間ですでに、発芽前カロチノイド含量の約7割を消失す

る。

(1960. 12. 20 受理)

引用文献

- 1) Bertrand, G. and Poirault, G. (1892). Compt. Rend. Acad. Sci. [Paris], 115 : 828.
- 2) Dickinson, S. (1955). Ann. Bot., 19 : 161~171.
- 3) Goodwin, T. W. (1952). Bot. Rev., 18 : 291~316.
- 4) Goodwin, T. W. (1952). Biochem. J., 51 : 458~463.
- 5) Goodwin, T. W. (1953). Ibid., 53 : 538~540.
- 6) Goodwin, T. W. (1954). Ibid., 58 : 90~94.
- 7) Hougen, F. W., Craig, B. M. and Ledingham, G. A. (1958). Can. J. Microbiol., 4 : 521~529.
- 8) Irvine, G. N., Golubchuk, M. and Anderson, J. A. (1954). Can. J. Agr. Sci., 34 : 234~239.
- 9) Lederer, E. (1934). Compt. Rend. Soc. Biol., 117 : 1083~1085.
- 10) Lederer, E. (1938) : Bull. Soc. Chim. Biol. 20 : 611~634.
- 11) 内藤中人, 谷利一 (1959). 香川大農学報, 11 : 181~186.
- 12) 内藤中人, 谷利一, 佐藤芳久 (1959). 日植病報, 24 : 234~238.
- 13) 内藤中人, 谷利一, 奥村良松 (1960). 香川大農学報, 12 : 84~92.
- 14) 中川昌平, 辰巳忠次 (1960). 日農化誌, 34 : 310~314.
- 15) Newton, M. and Johnson, M. (1927). Phytopath., 17 : 711~725.
- 16) Newton, Johannson, H. and Johnson, T. (1935). Ibid., 25 : 30.
- 17) Smits, B. L., Mitchell, H. L. (1951). Science, 113 : 296~297.
- 18) Smits, Peterson, W. J. (1942). Ibid., 96 : 210~211.
- 19) Wolf, F. T. and Wolf, F. A. (1955). Experimentia, 11 : 179~180.

Summary

Some qualitative and quantitative studies of the carotenoid pigments were made with uredospores of *Puccinia coronata* Corda, uredospores and teleutospores of *Stereostroma corticioides* (Berk. et Br.) Magnus. The major pigment of all samples is γ -carotene, constituting about 60 per cent of total carotenoids, and β -carotene comes next excepting uredospores of the latter species in which only a trace of it is present. Small amounts of flavochrome, cryptoxanthin and lutein are also detected in all the spores examined. The level of each carotenoid of *S. corticioides*, especially in uredospores, is considerably lower than that of *P. coronata*. In germinated uredospores of *P. coronata* which have been kept on the surface of water for 16 hrs. at 20°-27°C, the amount of total carotenoids is only about 30 per cent of that before germination.

(Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki, Kagawa, Japan)