トマトとキュウリ果実の生育・成熟に伴う 1-アミノシクロ
プロパン-1-カルボン酸 (ACC) 含量と
エチレン生成酵素活性の変化¹

寺井 弘文・水野 進

神戸大学農学部 657 神戸市灘区六甲台町1-1

Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and
Ethylene Forming Enzyme Activity in Growing and
Ripening Fruits of Tomato and Cucumber

Hirofumi TERAJ and Susumu MIZUNO

Faculty of Agriculture, Kobe University, Nada-ku, Kobe 657

Summary

This study was carried out to clarify the difference between climacteric and non-climacteric type fruits in their ethylene producing activity, especially in the pathway from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), during growing and ripening stages.

In tomato fruits harvested 28 and 34 days after anthesis, carbon dioxide production was stimulated when 10 ppm of ethylene was applied to the fruits for 24 hours. After the ethylene treatment, the carbon dioxide production decreased temporarily; thereafter, ethylene and carbon dioxide production increased in fruits harvested 28 days after anthesis but in fruits harvested 34 days after anthesis only ethylene production increased. In cucumber fruits harvested 5, 8, and 20 days after anthesis, carbon dioxide production was stimulated during treatment with 10 ppm of ethylene for 56 hours, but after the treatment, the rate was reduced to the pre-treatment level. Thereafter the rate of ethylene production only increased in fruits harvested 5 days after anthesis, which may have been due to the fruit decay.

To observe the effect of D-, L-methionine or ACC on ethylene synthesis, these reagents were fed to tissue slices of tomato and cucumber fruits at several growing or ripening stages. Ethylene forming enzyme (EFE) activity was estimated by the rate of ethylene production due to the addition of ACC. In tomato pericarp tissue the rate of ethylene synthesis was least at the mature green stage and was greater at immature and ripening stages. The addition of ACC stimulated ethylene production in tissue slices of tomato fruits at all stages. In tissue slices of cucumber fruits, ethylene synthesis was stimulated by addition of ACC, but the rate of ethylene synthesis did not vary greatly with the development stage of the fruit. When D- and L-methionine were applied, it was found that the D-isomer enhanced ethylene synthesis in cucumber tissue slices.

ACC content of tomato and cucumber fruits was measured at various stages. In tomato fruits the ACC content was least in fruits harvested 36 days after anthesis, and was greater in fruits harvested at immature or ripening stages, whereas in cucumber fruits it decreased with the advancement of fruit growth.

Propylene was administered to cucumber fruit tissue slices to elucidate whether this analogue of ethylene had any effect on the activity of EFE. After treatment with 1000 ppm of propylene for 42 hours, ACC was supplied to the tissue slices. The slices treated with propylene resulted in a greater production of ethylene than

¹ 1984年7月23日 受理

the untreated controls.

These results indicate that tomato fruits at ripening stage synthesize a larger amount of ethylene, due to an increase in ACC content and to sufficient activity of EFE. Cucumber fruits at the growing stage produce only a small amount of ethylene, due to a reduced ACC content, in spite of having sufficient EFE activity.

緒 言

果実をクライマクテリック型と非クライマクテリック型に類別するとき、一般に呼吸のクライマクテリック上昇の有無を指標とする。この呼吸の増加は、両型とも外部からのエチレンにより誘起させることは可能である。クライマクテリック型の果実は一度ある一定以上の時間と濃度のエチレンが与えられると、その後それを取り去っても果実自身でエチレンを生成し続け、高い呼吸のレベルを維持する。また、人為的なエチレン処理によらなくても、果実が成熟段階に達した時、自発的にエチレンの生成がなされる。一方、非クライマクテリック型の果実は外部からのエチレンが存在する時のみ呼吸が促進され、それを取り去ると、果実自身からのエチレン生成がほとんどなされないため、呼吸はもとのレベルにまで低下する。このように、クライマクテリック型と非クライマクテリック型の果実の最も顕著な違いの一つは、自己によるエチレン生成能力の差であると言える。

一方、最近エチレンの生合成について、その発生経路が Adams と Yang (1, 2) により詳しく研究され、methionine→S-adenosylmethionine (SAM)→1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)→ethylene が提唱されている。そしてその後、エチレン生成経路及びその調節機構について関心が寄せられ、多くの議論がなされるに至っている(22, 23)。筆者らは果実のlife cycleにおけるエチレン生成の調節機構を解明することを目的としているが、本研究はその一環として、クライマクテリック型と非クライマクテリック型の果実のエチレン生成機構の相違を知るため、トマトとキュウリ果実を用い、エチレン生成経路中 ripeing による変化が顕著な ACC からエチレンの過程に着目し、その活性の変化を果実の生育期間を通じて観察したものである。

材料及び方法

材料としてトマト果実とキュウリ果実を使用した。トマト(‘Rutgers’, ‘福寿’)とキュウリ(‘青長四葉’, ‘新光A号’, ‘近成山東’)は本学の圃場で慣行法により栽培され、実験に供された。キュウリ果実は一部、市販品も使用した。

a) エチレン処理を行った果実からの炭酸ガスとエチレン生成

トマト果実(‘Rutgers’)は開花から28日と34日のも

のを、キュウリ果実(‘青長四葉’)は開花から5日(平均重24g)、8日(122g)及び20日(431g)のものを収穫し、通気下でエチレン処理をした。トマト果実は10ppmで24時間、キュウリ果実は同じく10ppmで56時間処理を行い、その後エチレンを含まない空気を流した。これらはいずれも20°C下で行った。果実より生成される炭酸ガスとエチレンはガスクロマトグラフィにより測定した。

b) 果実切片にメチオニンやACCを添加した時のエチレン生成

トマト果実(‘福寿’), キュウリ果実(‘新光A号’)のそれぞれの切片に、D型、L型のメチオニン(10mM)及び1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)の0.05, 0.1, 0.2mMの水溶液を添加し、エチレン生成への影響を調査した。なお、ACC添加によるエチレン生成能を便宜的にEFE(Ethylene forming enzyme)活性とした。トマト果実は開花後15日、28日、40日(mature green), 43日(pink), 46日(table ripe)のものを、キュウリ果実は同じく11日(平均重103g), 15日(524g), 20日(1061g)のものをを用いた。トマト果実は果頂部から果梗部にかけて縦に切断した幅5mmのpericarpの果肉切片を、また、キュウリ果実からは厚さ2~3mmの輪切り切片を調製した。それぞれほぼ大きさの等しい切片が均等に入るように分配し、約20切片を一区とした。切片は水溶液に浸漬後、大気圧から70mmHgまで減圧し(約6分)、それを2回行い、試薬の水溶液を吸収させた。また対照区には同様な方法により水を吸収させた。試薬を添加後水分をふきとり、600mlのガラス容器に密封し、20°C下でインキュベーションした。1時間ごとに容器内のガスを採取し、ボラパックQを用いたFID型ガスクロマトグラフィによりエチレン濃度を測定した。エチレン発生量は1時間ごとの容器内のガスの増加量から、1時間当たりの生成量として計算した。

c) 果実のACC含量の測定

トマト(‘福寿’)とキュウリ(‘近成山東’)の色々な段階の果実を収穫し、キュウリの一部を除き、1日間20°Cで貯蔵後、ACC抽出の材料とした。使用したキュウリの平均重量は開花6日で3.7g, 8日で101g, 11日で418gであり、24日のものは開花10日で収穫し、20°Cで

14日間貯蔵したものである。なお、このキュウリ果実は果皮の約 1/2 の面積が黄化していた。果実切片は b) と同様な手順で調製され、液体窒素で凍結された。その後、組織切片を10倍容の 80% エタノールを用いて 70°C (30 分間) 下で ACC を抽出した。摩砕及び遠心分離の後、上澄を 40°C 下で十分に乾固し水で溶解した。その水溶液をミリポアフィルター (pore size 1.0 μm) でろ過し、その一定量を ACC の定量に供した。ACC の測定は Lizada と Yang(18) の方法に準じて行った。

d) キュウリ果実切片にプロピレン処理をした場合の ACC からのエチレン生成

神戸東部市場より購入したキュウリ果実から切片を調製 (b) に準じる) し、あらかじめ 42 時間 1000 ppm のプロピレンを通気下で処理をした。その後、水または 0.1 mM, 0.5 mM の ACC の水溶液を、b) と同様に減圧吸収させた。なお、プロピレン処理区はインキュベーション中 (7 時間) 容器内が 1000 ppm になるようにプロピレンガスを注入した。一方、対照区として 42 時間空気流通下においた切片を用い、同様水または ACC を添加した。

結 果

a) エチレン処理を行った果実からの炭酸ガスとエチレン生成

第 1 図はトマト果実を開花から 28 日と 34 日目に採取し、エチレン処理を行い、その炭酸ガスとエチレン生成を測定したものである。34 日のものは mature green stage であった。エチレン処理により両区の炭酸ガスの生成は促進され、処理終了後やや減少した。開花 28 日の果実は貯蔵 3 ~ 4 日後からエチレンと炭酸ガス生成の増

Fig. 1. Changes in carbon dioxide and ethylene production of tomato fruits harvested at immature and mature green stages.

The tomato fruits were treated with 10 ppm of ethylene for 24 hours and stored at 20°C.

The fruits harvested 28 days after anthesis, (immature green stage) $\bullet$ — $\bullet$ — CO_2 , $\circ$ — $\circ$ — C_2H_4 , 34 days after anthesis,

(mature green stage) $\blacksquare$ — $\blacksquare$ — CO_2 , $\square$ — $\square$ — C_2H_4

Fig. 2. Changes in carbon dioxide and ethylene production of cucumber fruits harvested at three different growing stages.

The cucumber fruits were treated with 10 ppm of ethylene for 56 hours and stored at 20°C.

The fruits harvested 5 days after anthesis,

$\bullet$ — $\bullet$ — CO_2 , $\circ$ — $\circ$ — C_2H_4

8 days after anthesis, $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ — CO_2 , $\triangle$ — $\triangle$ — C_2H_4

20 days after anthesis, $\blacksquare$ — $\blacksquare$ — CO_2 , $\square$ — $\square$ — C_2H_4

The cucumber fruits harvested 5 days after anthesis decayed within 7 days after the beginning of experiment.

加があった。開花 34 日の果実は実験開始時ですでにエチレンの生成があり、またエチレン処理後の炭酸ガス生成には大きな変化が認められなかった。またキュウリ果実について同様な実験を行い、第 2 図に結果を示した。キュウリ果実はエチレン処理により炭酸ガスの生成が促進され、その変化は果実が若いほど顕著であった。エチレン処理後はいずれの果実も炭酸ガスの生成は減少し、再び増加することはなかった。開花 5 日の果実にエチレン生成がみられたが、同時に腐敗も認められた。他の 2 区についてはエチレン生成はほとんど観察されなかった。

b) 各 stage の果実切片にメチオニンや ACC を添加した時のエチレン生成

種々の生育段階の両果実切片について、D 型や L 型のメチオニン及び ACC を添加し、エチレン生成への影響を調査した。その結果を、トマト果実について第 3 図、キュウリ果実について第 4 図に示した。それぞれの対照区には水処理を行った。トマト果実切片のエチレン生成は、対照区では開花 40 日 (mature green) で最も少なく、追熟が進んだものは著しく増加した。それに 10 mM の D 型、L 型のメチオニンを添加したところ、対照区に比べほとんど促進されることはなかった。ACC を添加したもので、0.05 mM ではほとんど影響はなく、0.1 mM 以上で促進効果が認められた。キュウリ果実 (第 4 図) は生育段階による変動はトマト果実ほど大きくなかったが、全般的に開花 11 日のものはどの処理区もインキュベーション中に発生量が低下しがちであった。メチオニン

Fig. 3. Changes in ethylene production of tomato fruit slices (5 mm thickness) treated with D- or L-methionine, or ACC at several growing stages. Days after anthesis : 40 ; Mature green, 43 ; Pink, 46 ; Table ripe. The slices prepared from tomato pericarp were incubated in a sealed 600 ml vessel at 20°C after the treatment with D- or L-methionine, or ACC. The gas sample was withdrawn from the vessel every one hour during 6 hours of incubation.

Fig. 4. Changes in ethylene production of cucumber fruit slices (2~3 mm thickness) treated with D- or L-methionine, or ACC at several growing stages. The conditions of incubation and sampling method of the gas from the vessel were the same as described in Fig.3.

処理はD型に促進効果が認められ、L型は効果がなかった。ACCは0.05mMで促進効果があり、濃度の増加とともにその効果は増した。

c) 両果実の生育・成熟に伴うACC含量の変化

第5図及び第6図は、トマト及びキュウリ果実の生育段階によるACC含量の変化を調査したものである。トマト果実のACC含量は開花36日のもので最小となり、その後熟度の進展とともに増加の傾向にあった。それに対し、キュウリ果実のACC含量は生育段階が進むにつ

れて減少し、含量もトマト果実に比べ低かった。

d) キュウリ果実切片にプロピレン処理をした場合のACCからのエチレン生成

植物組織内でACCがエチレンに変化する時、エチレン類似物質により影響を受けるかどうかを調べることを目的として、キュウリ切片にプロピレン処理を行った。第7図はその結果を示したもので、プロピレン処理をした切片にACCを与え、エチレン生成と炭酸ガスの生成を測定した。対照区(水処理区)はプロピレン処理により炭酸ガスの生成は促進された。しかし、エチレン生成

Fig. 5. Change in ACC content of the pericarp of tomato fruits at growing and ripening stages. MG: Mature green, B: Breaker, LP: Light pink, TR: Table ripe, OR: Over ripe.

Fig. 6. Change in ACC content of cucumber fruits at several growing stages.

にはほとんど影響がみられなかった。ACC を添加したものでは、プロピレン処理によるエチレン生成は 0.1 mM でわずかであったが、0.5 mM 区では顕著に促進された。

考 察

無傷のトマトとキュウリ果実を用い、エチレン処理による炭酸ガスとエチレンの生成を段階の異なる果実で調査した。トマト果実では、開花28日のものはエチレン処理終了後、エチレン生成とともに炭酸ガス生成の増加があった。しかし、34日のMG (mature green) のものではエチレン生成の増加は認められたものの、エチレン処理終了後の顕著な炭酸ガス発生量の増加はなかった。トマト果実はチェリモアやマンゴウに比べ呼吸のクライマクテリック上昇は小さく(5)、本実験におけるMGの果実においても顕著なクライマクテリック上昇は認められなかった。一方、キュウリ果実はエチレン処理後炭酸ガス生成の再増加はなく、エチレン生成は開花5日の果実の腐敗に伴うものであり、健全な果実によるエチレン生成はほとんどなかった。このように無傷の状態では、ト

Fig. 7. Effects of propylene treatment on ethylene and carbon dioxide production in cucumber fruit slices (2~3 mm thickness) during a 7 hours incubation at 20°C. $\circ$ — $\circ$ C_2H_4 , $\bullet$ — $\bullet$ CO_2 . A thousand ppm of propylene was treated to the cucumber fruit slices for 42 hours before addition of ACC, and also during incubation with ACC in the vessel.

マト果実はエチレン処理により緑熟段階以前の収穫でもエチレンを生成し、キュウリ果実は健全なものではエチレン処理によっても顕著なエチレン生成が行われないことが示された。

そこで、両果実のエチレン生成の能力の相違を詳しく調べることを目的とし、それぞれの果実の色々な生育段階の切片に、エチレン前駆物質を与え、エチレン生成への影響をみた。トマト果実の水処理区において、15日や28日のものでもエチレン生成があった。これら未熟な果実切片からのエチレン生成は、いわゆる傷害エチレン(12, 13, 14)であろうと思われる。また同様に、キュウリ果実の対照区(水処理区)のエチレン生成も、無傷の果実ではエチレン生成がほとんどないところから、切片調製に伴う傷害エチレンと考えられる。しかし、開花43日、46日のトマト果実はそれぞれ、pink stage, table ripe stage であることから、これらの生成エチレンは成熟によるものも含まれているものと推測される。

メチオニンを添加した場合、トマト果実ではD型、L型いずれもエチレン生成に対して顕著な効果はなく、キュウリ果実ではD型のみ促進効果が認められた。生物を構成しているアミノ酸はL型であり、一般にD型は存在しないと言われている。また、トレーサーの実験からL型のメチオニンがエチレンの前駆物質であることが確認

されている(3, 4)。しかし、L-メチオニンは一般的に必ずしも顕著なエチレン生成につながるとはかぎらず(7)、寺井ら(21)はキュウリ果実切片で、D-メチオニン、D-フェニルアラニンに、Satoh ら(20)はオナモミの子葉において、D型のロイシン、スレオニン、メチオニン、エチオニン、バリン、フェニルアラニンにエチレン生成の促進効果が、それぞれの各L型のアミノ酸に比べてより大きいことを報告している。また、D型のアミノ酸は生体内で malonylation されることが知られており(15, 16, 19)、ACC も malonylation により malonyl ACC (MACC) になる(8, 11)ことから、Liu ら(17)はこのようなD型のアミノ酸のエチレン生成の促進効果は、ACC から MACC が合成されるのを抑制することと関連があることを示唆している。一方、ACC 添加によるエチレン生成の促進は、トマト切片では 0.1mM 以上で、キュウリ切片では 0.05mM 以上で ACC の濃度が増すにつれ多くなり、トマトでは ripening の段階よりむしろ未熟な段階で添加効果が高く、キュウリではどの stage でもほぼ同じレベルまで促進された。Cameron ら(7)はトマトとキュウリ果実を含む十数種の青果物に ACC を与え、エチレン生成への影響をみたところ、トマトは red stage より breaker stage のほうが促進される傾向が著しく強かった。

ACC の含量の変化は、トマト果実では切片のエチレン生成の傾向とほぼ一致した。キュウリ果実では生育段階の進展とともに減少し、しかもその含量は少なく、トマト果実の場合と異なる傾向にあった。Hoffman ら(9)はアボカド、バナナ、トマトで、Kende ら(13)はトマトで、Bufer ら(6)はカーネーションで、追熟や老化に伴うエチレン発生とともに ACC の含量変化があることを報告しており、それらの結果と本実験におけるトマト果実とはほぼ同様の傾向となった。

今までのことから、生育段階の変化に伴うトマトとキュウリ果実の ACC 含量と、ACC を添加した場合のエチレン生成、すなわち EFE 活性の変化の相違がわかった。そこで、次に非クライマテリック型に属しエチレンの生成も少ないキュウリ果実の切片でも、エチレンにより EFE 活性が促進されるのかどうか調査した。しかし、エチレン処理中に組織から生成するエチレンを測定するのは不都合であるため、エチレン類似物質として、プロピレンによる処理を行い EFE 活性への影響をみた。その結果、プロピレン処理によってキュウリの EFE の活性が促進されることが明らかとなった。Hoffman ら(10)は未熟なカンタロープの組織切片で、エチレン処理によって EFE の活性が促進されることを報告している。

以上のことから、クライマテリック型のトマト果実と非クライマテリック型に属するキュウリ果実におけるエチレン生成の相違を EFE 活性と ACC 含量の面から考えると、トマトは追熟に伴う ACC の蓄積があり、それが EFE の働きによってエチレンに変換されるのに対し、キュウリは EFE の活性は十分存在し、またエチレン類似物質によってもそれは増大するものの、組織内では ACC の含量は少なく、その結果エチレンの生成が制限されるものと思われる。

摘 要

本研究はクライマテリック型のトマト果実と非クライマテリック型のキュウリ果実を用い、エチレン生成の相違をエチレン生合成経路の面から知るため、ACC からエチレンの過程をその果実の生育期間を通して調査したものである。

開花後 28日(未熟)と 34日(mature green)のトマト果実にエチレン処理(10 ppm, 24 hr)をした。その結果、炭酸ガスの生成は促進され、処理終了により一時減少した。貯蔵期間中、28日の果実はエチレンと炭酸ガス生成の増加があった。34日の果実はエチレン生成の増加はあっても顕著な炭酸ガス生成の増加はなかった。キュウリ果実(開花 5日, 8日, 20日)はエチレン処理(10 ppm, 56hr)によりどれも炭酸ガスの生成が促進されたが、処理終了後は減少し、以後健全な果実ではエチレンと炭酸ガス生成の増加は認められなかった。

各種の生育段階の両果実の切片に D型、L型のメチオニン及び ACC を添加して、エチレン生成への影響をみた。ACC の添加によるエチレン生成の促進を EFE (Ethylene forming enzyme, エチレン生成酵素)活性とした。トマト果実切片ではどの処理区においても mature green stage でエチレンの生成は最も少なく、未熟時と追熟過程で多かった。ACC を添加したものはエチレン生成が促進された。キュウリ果実切片でも ACC を添加すると、エチレンの生成は促進された。しかし、生育段階による大きな差異は認められなかった。メチオニンについては、キュウリ切片において D型のみ促進効果がみられた。

両果実の ACC 含量を生育段階を追って調査した。トマトでは mature green stage で最少であり、未熟時にやや多く、追熟時に増加した。キュウリ果実では生育段階の進展とともに減少した。

ACC からエチレンの過程にエチレンが影響するかどうかを調べるため、キュウリ果実切片にエチレン類似物質であるプロピレン処理をした。その後 ACC を添加したところ、プロピレン処理をしたものはしないものに比

較して、より多くのエチレン生成があった。

以上のことから、トマトとキュウリ果実のエチレン生成の相違は、EFE 活性の強弱よりむしろ ACC の含量が制限因子となっているものと思われた。

引用文献

- ADAMS, D. O. and S. F. YANG. 1977. Methionine metabolism in apple tissue. *Plant physiol.* 60 : 892—896.
- ADAMS, D. O. and S. F. YANG. 1979. Ethylene biosynthesis : Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76 : 170—174.
- BAUR, A. H. and S. F. YANG. 1969. Precursors of ethylene. *Plant Physiol.* 44 : 1347—1349.
- BAUR, A. H., S. F. YANG, H. K. PRATT and J. B. BIALE. 1971. Ethylene biosynthesis in fruit tissues. *Plant Physiol.* 47 : 696—699.
- BIALE, J. B. and R. E. YOUNG. 1981. Respiration and ripening in fruits-retrospect and prospect. p. 1—39. In : J. FRIEND and M. J. C. RHODES (eds.) *Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables.* Academic Press, London, New York, Tront, Sydney, San Francisco.
- BUFLER, G., Y. MOR, M. S. REID and S. F. YANG. 1980. Changes in 1-aminocyclopropane-1-carboxylic-acid content of cut carnation flowers in relation to their senescence. *Planta* 150 : 439—442.
- CAMERON, A. C., C. A. L. FENTON, Y. YU, D. O. ADAMS and S. F. YANG. 1979. Increased production of ethylene by plant tissues treated with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *HortSci.* 14 : 178—180.
- HOFFMAN, N. E., J. R. FU and S. F. YANG. 1983. Identification and metabolism of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid in germinating peanut seeds. *Plant Physiol.* 71 : 197—199.
- HOFFMAN, N. E. and S. F. YANG. 1980. Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105 : 492—495.
- HOFFMAN, N. E. and S. F. YANG. 1982. Enhancement of wound-induced ethylene synthesis by ethylene in preclimacteric cantaloupe. *Plant. Physiol.* 69 : 317—322.
- HOFFMAN, N. E., S. F. YANG and T. McKEON. 1982. Identification of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor in higher plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 104 : 765—770.
- HYODO, H. and T. NISHINO. 1981. Wound-induced ethylene formation in albedo tissue of citrus fruit. *Plant Physiol.* 67 : 421—423.
- KENDE, H. and T. BOLLER. 1981. Wound ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in ripening tomato fruit. *Planta* 151 : 476—481.
- KONZE, J. R. and G. M. K. KWIATKOWSKI. 1981. Rapidly induced ethylene formation after wounding is controlled by the regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthesis. *Planta* 151 : 327—330.
- LADEŠIĆ, B., M. POKORNY and D. KEGLEVIĆ. 1970. Evidence for D-configuration of N-malonylmethionine, the metabolite of D-methionine in *nicotiana rustica*. *Phytochem.* 9 : 2105—2107.
- LADEŠIĆ, B., M. POKORNY and D. KEGLEVIĆ. 1971. Metabolic patterns of L- and D-serine in higher and lower plants. *Phytochem.* 10 : 3085—3091.
- LIU, Y., N. E. HOFFMAN and S. F. YANG. 1983. Relationship between the malonylation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and D-amino acids in mung-bean hypocotyls. *Planta* 158 : 437—441.
- LIZADA, M. C. C. and S. F. YANG. 1979. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal. Biochem.* 100 : 140—145.
- ROSA, N. and A. C. NEISH. 1968. Formation and occurrence of N-malonylphenylalanine and related compounds in plants. *Can. J. Biochem.* 46 : 797—806.
- SATO, S. and Y. ESASHI. 1980. D-amino-acid-stimulated ethylene production in seed tissues. *Planta* 149 : 64—68.
- 寺井弘文・水野 進・蔡 龍銘. 1984. キュウリ果実切片のエチレン生成に対する methionine と 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid の効果. *神大農研報.* 16 : 55—60.
- YANG, S. F. 1981. Biosynthesis of ethylene and its regulation. p. 89—106. In : J. FRIEND and M. J. C. RHODES (eds.) *Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables.* Academic Press, London, New York, Tront, Sydney, San Francisco.
- YANG, S. F. 1983. Mechanism and regulation of ethylene biosynthesis. p. 133—151. In : T. AKAZAWA, T. ASAHİ and H. IMASEKI. (eds.) *The new frontiers in plant biochemistry.* Japan Scientific Societies Press, Tokyo.