ササユリ小球根の液体振とう培養における培地からの糖および無機イオンの吸収に及ぼす照明の影響とグルタミン添加による球根肥大促進

春木和久¹・細木高志²・名古洋治¹

¹ 島根県農業試験場 693-0035 島根県出雲市芦渡町

² 島根大学生物資源科学部 690-8504 島根県松江市西川津町

Effects of Illumination on Absorption of Glucose, Inorganic Ions and Glutamine from a Liquid-Shaking Culture Medium and Subsequent Enlargement of Small Lily Bulbs (*Lilium japonicum* Thunb.)

Kazuhisa Haruki¹, Takashi Hosoki² and Youji Nako¹

¹ Shimane Agricultural Experiment Station, Ashiwata-cho, Izumo, Shimane 693-0035

² Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504

Summary

The enlargement and nutrient absorption from a liquid-shaking culture with or without glucose by *Lilium japonicum* bulbs were investigated. Promotion of NH_4^+ , NO_3^- and H_2PO_4^- absorption by illumination occurred after one or two weeks in the medium, independent of glucose. Glucose absorption from the medium was promoted by illumination three or four weeks after treatments were started; a concomitant promotion of bulb enlargement was noted. These results indicate that nitrogen uptake was accelerated by illumination as well as bulb enlargement through the increase in glucose absorption.

The effects of glutamine supplement on the bulb enlargement and nitrogen uptake were investigated because it is absorbed more readily than inorganic nitrogen ions are. Bulb enlargement and absorption of total N were promoted by the presence of glutamine in the medium even in the dark. Thus, adding glutamine to the medium could substitute for illumination in promoting bulb enlargement; it would eliminate the need for light and, thereby, reduce the cost of bulb production by liquid-shaking culture.

Key Words: *Lilium japonicum*, liquid-shaking culture, illumination, nutrient absorption, glutamine.

緒言

筆者らは、液体振とう培養によるササユリ (*Lilium japonicum* Thunb.) 小球根の肥大促進法について検討してきた (春木ら, 1996a, 1996b). その過程で、照明条件と暗黒条件での球根の肥大状況を比較し、照明によって球根肥大が促進され、同時に、ブドウ糖、アンモニウムイオン、硝酸イオン、リン酸イオン、カリウムイオンの吸収量が増加していることを示した (春木ら, 1998). そして、照明時の球根肥大促進が、光合成による養分蓄積よりもむしろ光による糖の吸収促進の結果である可能性が示唆された。

in vitro で培養されている植物においては、照明により生育、光合成関連酵素活性、培地からのイオン吸収が影

響を受けることが示されている (梁ら, 1995; Kozai ら, 1995; Desjardins, 1995). また、照明条件下では、窒素成分の吸収が促進されるとともに、窒素成分の吸収に関係の深い硝酸還元酵素やグルタミン合成酵素が誘導され、活性が上昇することが報告されている (Frith, 1974; Vijayaraghavan ら, 1979; Rouby ら, 1995; Sakakibara ら, 1992). そこで、本実験では、糖添加培地と糖無添加培地を用い、照明が養分吸収に及ぼす影響について検討した。その結果、照明による窒素成分およびリン酸成分の吸収促進は糖の吸収促進に先行して観察されることが確認され、さらに、培地中の窒素成分の一部をグルタミンに代えて窒素成分吸収量を増加させることにより、暗黒条件でも球根肥大が促進されることが明らかとなったのでその結果を報告する。

材料および方法

1. 培地成分吸収量に及ぼす照明の影響

0.2% ゲランガム (和光純薬) で固化した Murashige-Skoog (MS) 培地 (Murashige・Skoog, 1962) を用いて明条件下 ($40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) で培養して得られた 1~2 g のササユリ小球を供試した。供試系統は, *in vitro* で保存しているササユリクローンの中から, 照明下で培養すると小球が緑色になりやすい 'Y1-07C' (島根県吉田村で採取) を用いた。

150 ml の液体培地を入れた 300 ml 容三角フラスコに小球を 8~10 個 (合計重量 12~15 g) ずつ入れ, 直径 10 mm の除菌フィルター付きのフィルム (サンキャップシート: 岩城硝子) でふたをして振とう培養 (巡回式 100 rpm) を行った。実験にはフラスコを各区 3 個ずつ用いた。培養条件は, 20℃ 暗黒条件および明条件とした。照明は, 白色蛍光灯を用いて $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で 1 日 14 時間行った。培地は前報 (春木ら, 1998) で示した球根肥大用培地 (BEM) を用い, 3% ブドウ糖添加区と糖無添加区をもうけた。培養 4 週間後に培地を更新し, その後さらに 2 週間培養した。

培養開始時を含めて 1 週間毎に球根生体重 (根および葉が発生した場合にはそれらも含む), 培地量, ブドウ糖, 硝酸イオン (NO_3^-), リン酸イオン (H_2PO_4^-), アンモニウムイオン (NH_4^+), カリウムイオン (K^+), マグネシウムイオン (Mg_2^+), カルシウムイオン (Ca_2^+) の濃度を前報 (春木ら, 1998) と同様にして測定し, それらの値を基にして, 各調査時における培地からの各成分の積算吸収量を算出した。

また, 培養終了時に培養球の一部を 120℃ で重量変化がなくなるまで加熱して乾物重 (DW) を測定し, 生体重 (FW) に対する割合 (DW/FW) を求めた。さらに, 他の一部を用いて Arnon 法 (辻, 1983) によりクロロフィル含量を測定した。

2. グルタミン添加が球根肥大に及ぼす影響

供試材料には, 前報 (春木ら, 1998) で用いたササユリ 'T2-11B' の小球 (0.1~0.2 g) を用い, 前述と同様にして液体振とう培養を行った。培地は, MS 培地の硝酸カリウムを 20 mM に変更し, リン酸二水素ナトリウムを 2.5 mM 添加したものを標準培地とした。さらに, グルタミン (Gln) 添加培地として, 標準培地の硝酸カリウムの代わりに 20 mM 塩化カリウムと 10 mM Gln を添加した培地を用いた (添加した窒素の合計は標準培地と等しい)。培地に添加する糖は 3% ブドウ糖とし, pH 5.8 に調整した後オートクレーブで滅菌した。なお, Gln は, 培地をオートクレーブ滅菌した後で, その水溶液をろ過滅菌して添加した。光条件は, 標準培地では照明 (前述と同条件) および暗黒, Gln 培地では暗黒のみとした。実験には 1 フラスコ当たり 10 個の小球を入れ, 各区 3 個のフラスコを用い

た。

培地更新は 15 日間隔で行い, 培地更新時と培養終了時に球根生体重, ブドウ糖, NO_3^- , H_2PO_4^- , NH_4^+ , K^+ , Gln の濃度および培地量を前述と同様に測定し, 各成分の吸収量を算出した。Gln 濃度の測定は, HPLC を用いて行った (春木ら, 1996b)。また, 培養終了時に前述と同様にして培養材料の一部を用いて乾物重と生体重を測定し, DW/FW の値を計算した。また, 同様にしてクロロフィル含量を測定した。

結 果

1. 培地成分吸収量に及ぼす照明の影響

培養開始時のフラスコ内の球根重量を 100% としてその後の球根重量の経時変化を第 1 図に示した。培地にブドウ糖を添加した区では無添加区に比べて培養開始直後から球根肥大が良好で, 6 週間後の培養終了時には 2 倍以上の値となった。球根肥大に及ぼす照明の影響は培養開始 3~4 週間後頃から認められ, ブドウ糖添加区では培養終了時には照明により 20% 程度球根重量増加率が上昇した。ブドウ糖無添加区では約 7% の増加となった。また, 照明の有無にかかわらず, ブドウ糖無添加区では根とともに葉の伸長が観察されたのに対して, ブドウ糖添加区では, 培養中に根がわずかに伸長したのみであった。

第 1 表に乾物重と生体重の比 (DW/FW) の値と培養終

Fig. 1. Effects of glucose (G) in liquid-shaking culture, under light (L) or dark (D), on fresh weight of *L. japonicum* bulbs. Relative fresh weight of bulbs was calculated based on the initial bulb weight. Glucose concentration in the medium was 0 or 3%, and the illumination period was 14 hours per day. The medium was renewed at 4-week intervals. Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

Table 1. Effects of glucose and illumination on DW/FW^z and chlorophyll content of bulbs grown in liquid-shaking culture.

Glucose	Light condition	DW/FW	Chlorophyll ^y ($\mu\text{g} \cdot \text{gFW}^{-1}$)
3%	Light	0.21a ^x	189a
	Dark	0.22a	97b
—	Light	0.14b	165a
	Dark	0.16b	106b

^z Dry weight/Fresh weight.

^y (Chlorophyll a + Chlorophyll b) / Fresh bulb weight.

^x Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

了時のクロロフィル含量を示した。ブドウ糖添加区では照明の有無にかかわらず DW/FW の値は 0.21~0.22 でほぼ等しかった。ブドウ糖無添加区では 0.14~0.16 でブドウ糖添加区に比べて低くなった。クロロフィル含量は照明区の方が高く、有意差が認められた。

培養開始時の球根生体重 1 g に対する、ブドウ糖、 H_2PO_4^- 、 NH_4^+ 、 NO_3^- および全窒素 (NH_4^+ と NO_3^- の合計) の積算吸収量について、その経時変化を第 2 図に示

した。ブドウ糖吸収量は、培養開始 4 週間後頃から照明区で多くなり始め、培養終了時には暗黒区に比べて有意差はなかったものの、平均値で約 25% 多くなった。 H_2PO_4^- 吸収量は、培養開始直後から照明区で多い傾向がみられ、その後差がしだいに拡大した。また、培養開始 4 週間後まではブドウ糖添加区に比べて無添加区で H_2PO_4^- 吸収量が多かったが、その後ブドウ糖添加照明区で H_2PO_4^- の吸収量が急速に増加して、培養終了時には設定区中最高の値を示した。 NH_4^+ 、 NO_3^- および全窒素吸収量も同様な傾向を示し、培養開始 2 週間後頃から照明区で増加した。また、窒素成分の吸収量は、ブドウ糖添加区で無添加区より多く、ブドウ糖添加照明区では培養開始 4 週間後頃から急速な増加を示した。 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} は、初代培養 4 週間と継代培養 2 週間の培養期間中に濃度低下はほとんどみられなかった (データ省略)。

2. グルタミン添加が球根肥大に及ぼす影響

培養開始時の球根重量を 100% としてその後の球根重量の経時変化を第 3 図に示した。標準培地では、培養開始 4 週間後頃から暗黒条件に比べて照明条件で球根肥大が良好になり、しだいにその差は大きくなった。Gln 添加区では暗黒条件で培養したにもかかわらず、標準培地照明区とほぼ同様な球根重量増加傾向を示した。

Fig.2. Effects of glucose (G) in liquid-shaking culture, under the light (L) or dark (D), on the cumulative absorption of glucose, H_2PO_4^- , NH_4^+ , NO_3^- and total nitrogen per g fresh weight of bulbs at the start of culture. The values were calculated weekly based on the medium volume, concentration of each component and initial bulb weight. Glucose concentration in the medium was 0 or 3%, and illumination period was 14 hours per day. The medium was renewed at 4-week intervals. Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

Fig. 3. Effects of adding glutamine (Gln) to liquid-shaking culture medium on fresh bulb weight of *L. japonicum*. Relative fresh weight of bulbs was calculated based on the initial bulb weight. Bulbs of A and B were cultured in the modified MS medium containing 20mM KNO₃ and 2.5mM NaH₂PO₄ in the light (L) or dark (D). Bulbs of C were cultured in the modified MS medium containing 20mM KCl and 10mM glutamine in place of KNO₃ in the dark. The medium was renewed at 2-week intervals. Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

Table 2. Effects of illumination and glutamine on DW / FW^z and chlorophyll content of bulbs grown in liquid-shaking culture.

Light condition	Glutamine	DW / FW	Chlorophyll ^y ($\mu\text{g} \cdot \text{gFW}^{-1}$)
Light	—	0.26a ^x	143a
Dark	—	0.25a	62b
Dark	+	0.23b	40b

^z Dry weight / Fresh weight.

^y (Chlorophyll a + Chlorophyll b) / Fresh bulb weight.

^x Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

DW/FW の値とクロロフィル含量を第2表に示した。DW/FW の値は、標準培地照明区および暗黒区では0.25~0.26でほぼ等しく有意差はなかったが、Gln添加暗黒区では0.23でやや小さな値になった。クロロフィル含量は照明区で高く、暗黒区では照明区の1/2以下であった。

培養終了時までのブドウ糖、H₂PO₄⁻、K⁺、NH₄⁺、NO₃⁻、Glnおよび全窒素(NH₄⁺、NO₃⁻およびGlnの合計)の積算吸収量を第4図に示した。なお、全窒素量は、

GlnにはNH₂が2個含まれているのでGln=2NH₄⁺としてNH₄⁺のモル数に換算して表示した。ブドウ糖とH₂PO₄⁻の吸収量は球根重量にほぼ対応し、標準培地照明区とGln添加暗黒区がほぼ等しく、標準培地暗黒区との間に有意差が認められた。K⁺でも同様の傾向がみられたが、有意差はなかった。NH₄⁺吸収量は標準培地暗黒区およびGln添加暗黒区はほぼ同程度で、標準培地照明区に比べて有意に低かった。NO₃⁻吸収量は、標準培地照明区では、標準培地暗黒区より4割程度多かった。Gln添加暗黒区ではNO₃⁻吸収量は低下し、標準培地暗黒区の1/2程度であった。しかし、Gln添加暗黒区的全窒素吸収量は、Glnが多量に吸収されたために、標準培地暗黒区の約2倍、標準培地照明区の約1.5倍程度になった。

考 察

前報(春木ら, 1998)において、暗黒条件に比べて明条件で球根肥大が優れる原因の一つとして、照明により養分吸収が促進されることが示唆された。そこで、養分吸収の差を明瞭に検出するために、照明によって球根が緑色になりやすく、葉緑体発達の養分吸収に対する影響が検出しやすいと思われるクローンを用い、さらに、150 mlの培地量に対して培養密度がやや高いと思われる合計12~15gの球根で実験を開始した。

培養終了時におけるブドウ糖無添加区の球根の一部から測定したDW/FWの値は0.14~0.16であり、培養材料にした固形培地での培養球根の値0.24(春木ら, 1996a.)から大幅に低下した。これらのDW/FW値と生体重から、培養開始時における球根の生体重1g当たりについて、培養開始時と終了時の球根乾物重を推定すると、ブドウ糖無添加照明区では0.24gおよび0.21g、ブドウ糖無添加暗黒条件では0.24gおよび0.22gであり、いずれも減少傾向を示した。これに対して、培養終了時におけるブドウ糖添加区のDW/FW値0.21~0.22をもとにして、培養開始時球根生体重1g当たりについて、培養終了時における推定乾物重を計算すると、照明区では0.45g、暗黒区では0.39gとなり、培養開始時の0.24gと比較して、乾物重の増加を伴った球根肥大が行われていることが示された。このように、培地にブドウ糖を含まない場合には、暗黒条件下ばかりでなく照明条件下においても乾物重の増加がみられないことは、ササユリ小球根の液体振とう培養においては、照明による光合成は球根肥大にほとんど寄与していないという前報(春木ら, 1998)の結果を支持している。

H₂PO₄⁻吸収量は、培養前半にはブドウ糖無添加区でブドウ糖添加区よりも大きい傾向が認められた。本実験では、ブドウ糖無添加区においては、培養後に乾物重が減少する傾向と培養中に葉と根の伸長が観察されており、球根中の貯蔵養分を消費して発芽や発根などの新たな形態形成が行われているものと推定される。その結果、細胞

Fig. 4. Effects of glutamine in liquid-shaking culture medium on cumulative absorption during 10 weeks of culture with glucose, H_2PO_4^- , K^+ , NH_4^+ , NO_3^- , glutamine and total nitrogen per g fresh weight of bulbs at the start of culture. The conditions of A, B and C are the same as those in Fig. 3. The values were calculated based on the medium volume, concentration of each component and initial bulb weight. Total N was calculated on molarity base of the concentrations of NH_4^+ , NO_3^- and glutamine (2NH_4^+). Different letters indicate significant differences by Duncan's multiple range test (5% level).

分裂が盛んになり、その際に必要な H_2PO_4^- (Amino ら, 1983; 小島, 1993) がブドウ糖添加区に比べて多く吸収されたものと考えられる。

一方、窒素成分は、全培養期間を通して、ブドウ糖無添加区に比べて添加区で吸収量が多かった。窒素代謝には NH_4^+ の受容体であるカルボン酸が必要であることが知られており (小川, 1991), その原料となる糖が十分供給されているブドウ糖添加区で無添加区に比べて窒素成分吸収量が多くなったものと考えられる。

ブドウ糖吸収量は、培養開始後3週間頃までは照明区と暗黒区でほぼ等しく、4週間目以降に照明区での吸収量が多くなり始めた。これは、照明による球根重量増加促進効果が観察され始めるのとほぼ同時期であり、球根肥大促進と培地からのブドウ糖吸収量の増加がほぼ対応していることを示している。これに対して、 H_2PO_4^- および窒素成分は、培養開始2週間後頃から、ブドウ糖吸収量増加に先行して明条件で吸収量が増加する傾向があることが明らかとなった。しかし、培地へ添加する H_2PO_4^- 濃度を検討した実験で、 H_2PO_4^- 吸収量が増加した場合でも球根肥大は影響されないことが明らかとなっており (春木ら, 1996b), 照明によって H_2PO_4^- 吸収量が増加して

も、球根肥大促進に直接影響するとは考え難い。従って、光によって球根肥大が促進される過程では、光による窒素成分吸収量の増加が関与している可能性が考えられる。

植物の窒素代謝に重要な働きをしている硝酸還元酵素の活性は光によって誘導されることが知られており (Frith, 1974; Vijayaraghavan ら, 1979; Rouby ら, 1995), この酵素誘導が光による窒素成分吸収促進の要因の一つとして考えられる。また、本実験においては、暗黒条件で培養した球根では、明条件で培養した球根に比べて、培養終了時にはクロロフィル含量の大幅な低下が認められた。このことから、照明条件と暗黒条件では、細胞内の窒素代謝関連酵素の存在する葉緑体 (Mohr・Schopfer, 1995) の発達に大きな差のあることが推定される。特に、本実験では、照明によって緑色になりやすいクローンを用いたため、照明条件と暗黒条件で葉緑体発達に大きな差が現れたものと考えられる。従って、照明による球根肥大促進は、窒素代謝関連酵素の活性が上昇することによる窒素成分の吸収増加によって、球根中の栄養条件、特に含有窒素成分の量が増加し、それに伴ってデンプンの蓄積につながるブドウ糖の吸収が増加した結果である可能性が強く示唆される。

ハダカムギの水耕栽培において水耕液に NO_3^- とアミノ酸を窒素源として加えるとアミノ酸が速く吸収されることが示されている(森, 1979). また, ワサビ不定胚(春木・山田, 1993)およびササユリ小球根(春木ら, 1996b)の液体振とう培養において, 培地に添加した Gln は無機窒素成分よりも吸収が速いことが観察されている. そこで, 暗黒条件において, 培地に Gln を添加して窒素成分の吸収を増加させた場合の球根肥大を標準培地を用いた照明条件における培養と比較した.

Gln 添加暗黒区では, NO_3^- の吸収量は大幅に低下し, また, NH_4^+ の吸収量も標準培地照明区より劣り, 標準培地暗黒区とほぼ同程度であったが, 多量の Gln が吸収されたため, 全窒素吸収量は標準培地照明区より大きな値を示した. そして, Gln 添加暗黒区では, DW/FW の値がやや小さくなったものの, 生体重の経時変化は, 照明区とほぼ同様な推移を示し, 標準培地暗黒条件に比べて明らかに球根重量が増加した. 従って, Gln 添加による窒素成分吸収増加は, 照明の作用と同様に, 暗黒条件においても球根肥大に対して促進効果を示すものと考えられる. 従って, 以上の結果からも, 照明条件下では光により窒素成分の吸収が促進され, その結果ブドウ糖吸収量が増加し, 球根肥大促進につながった可能性が支持される.

組織あるいは器官培養によって種苗生産を行う場合には, 生産コストの低減が重要な問題である. 生産コストに影響を与えるものの中で, 照明は, 設備や電気料金によって培養球根の生産コストを上昇させる要因となっている. 本実験で明らかとなったように, Gln を添加することによって照明の効果を代替できることから, コスト削減に利用できる可能性が期待される.

摘 要

液体振とう培養におけるササユリ小球根の照明による肥大促進と養分吸収を, ブドウ糖添加培地および無添加培地を用いて検討した.

照明による NH_4^+ , NO_3^- および H_2PO_4^- の吸収促進は, 培地中の糖の有無にかかわらず培養 1~2 週間後から観察された. 一方, 照明によるブドウ糖添加培地からのブドウ糖吸収促進効果は培養 3~4 週間後からみられ, ほぼ同時期に照明による球根肥大促進効果も現れた. この結果から, 照明条件下では, 照明により窒素成分吸収が促進され, その結果ブドウ糖吸収量が増加し, 球根肥大が促進されることが示唆された.

そこで, 培地に他の窒素成分よりも吸収が早いことが知られているグルタミンを添加した場合の球根肥大と培地からの窒素成分吸収について検討した. その結果, 暗黒条件においても, 照明条件と同様にグルタミン添加培地では, 窒素成分の吸収増加とともに球根肥大の促進が観察された. 従って, グルタミン添加により, 培養時のコスト削減に役立つ可能性が期待される.

引用文献

- Amino, S., T. Fujiwara and A. Komamine. 1983. Synchrony induced by double phosphate starvation in suspension culture of *Catharanthus roseus*. *Physiol. Plant.* 59: 393-396.
- Desjardins, Y. 1995. Factors affecting CO_2 fixation in striving to optimize photoautotrophy in micropropagated plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 1: 13-25.
- Frith, G. J. T. 1974. Light stimulated activity of nitrate reductase in apple roots. *Plant Cell Physiol.* 15: 153-155.
- 春木和久・山田員人. 1993. 不定胚培養系によるワサビのクローン増殖. 島根農試研報. 27: 19-40.
- 春木和久・山田員人・細木高志・太田勝巳. 1996a. 液体振とう培養におけるササユリ小球根の生育に及ぼす糖および温度の影響. 園学雑. 65: 363-371.
- 春木和久・山田員人・細木高志・太田勝巳. 1996b. 液体振とう培養におけるササユリ小球根の生育に及ぼす窒素源, リン酸イオンおよび硫酸イオンの影響. 園学雑. 65: 387-396.
- 春木和久・細木高志・名古洋治. 1998. 液体振とう培養におけるササユリ小球根の培地からの養分吸収と肥大に及ぼす照明の影響. 園学雑. 67: 106-111.
- Kozai, T., B. R. Jeong, C. Kubota and Y. Murai. 1995. Effects of volume and initial strength of medium on the growth, photosynthesis and ion uptake of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlet in vitro. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 63-71.
- 小島邦彦. 1993. 植物組織培養の栄養学. p.32-36. 朝倉書店. 東京.
- Mohr, H. and P. Schopfer. 1995. *Plant Physiology* p.181-183. Springer-Verlag, Berlin.
- 森 敏. 1979. 有機体窒素と無機体窒素の共存条件下での植物の窒素吸収能について(第2報). $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ グルタミン, $[\text{2,3-}^3\text{H}]$ アルギニンおよび $^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$ の共存培地からいずれを優先的に吸収するか. 土壌肥科学雑. 50: 49-54.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- 小川人士. 1991. 高等植物培養細胞種における $\text{NH}_4^+_{\text{m}}/\text{NO}_3^-_{\text{m}}$ 代謝比の比較. 玉川大学農学部研究報告. 31: 123-140.
- Rouby, M., F. Ponce-Villacis and A. Cordoba. 1995. Regulation of nitrate reductase activity by nitrate during light-dark transition in detached oat leaves. *Plant Cell Physiol.* 36: 1399-1403.
- Sakakibara, H., S. Kawabata, T. Hase and T. Sugiyama.

1992. Differential effects of nitrate and light on the expression of glutamine synthetases and ferredoxine-dependent glutamate synthase in maize. *Plant Cell Physiol.* 33: 1193-1198.
- 辻 英夫. 1983. グリーニング(緑化). p.21-55. 勝見允行・増田芳雄編. 実験生物学講座 16 植物生理学[Ⅱ]. 丸善. 東京.
- Vijayaraghavan, S. J., S. K. Sopory and S. Guha-Mukherjee. 1979. Role of light in the regulation of the nitrate reductase level in wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Cell Physiol.* 20: 1251-1261.
- 梁 燦錫・古在豊樹・富士原和宏. 1995. 光独立栄養培養条件下におけるイチゴ培養小植物体の純光合成速度および生長に及ぼす培地の初期無機イオン組成および初期総無機イオン濃度の影響. *生物環境調節.* 33: 71-77.