資 料

短寿命ラジオアイソトープの農学・生物学での利用の現状†

武長 宏

東京農業大学農芸化学科

156 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

Key Words: short-lived radioisotopes, photosynthate, speeds of translocation, denitrification, nitrogen-fixation, uptake and distribution, soil moisture movement, carbon-11-labelled methionine, molybdenum-99-di-trithiomolybdate

1. はじめに

^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F などの短寿命ラジオアイソトープ (RI) は、すでに医学分野では主に診断用として臨床に応用され、多くの成果が挙げられている。

短寿命 RI の農学・生物学分野でのトレーサ利用については、結田¹⁾ が総書の中で記述しているように、同一対象物に繰り返し投与できる、被曝線量や放射能汚染が少ない、放射性廃棄物の処理が簡単である、短寿命 RI の特性を活用した研究あるいは長寿命 RI との二重標識や同時投与が可能であるなど種々の利点を有している。しかし、短寿命 RI の製造とその利用の体制が十分整っていないこと、短日時の実験に限定されることなどが原因となり、医学分野などに比べて利用は著しく遅れている。今後、短寿命 RI の製造-利用の体制が総合的に整備されるに従って、農学・生物学分野でもこれを利用した新しい研究が進展するものと期待される。

著者はこのような現状を踏まえて、国内外における農学・生物学関連分野での短寿命 RI 利用の実態を把握するため、約50種の学術雑誌について研究例を調査したので、その概要を核種別に紹介する。

2. 短寿命 RI の利用例

2・1 ^{11}C (半減期 20.38分)

^{11}C を利用した研究は、植物では光合成と同化産物の移動に関するものが主体をなす。

光合成の研究での放射性炭素の使用は、1939年 Ru-

ben ら^{2)~4)} がサイクロトロンで B_2O_3 に 8 MeV の重陽子を照射して $^{11}\text{CO}_2$ を製造し、ムギ、ヒマワリ、クロレラに与えて光合成による取込みを調べたことに始まる。その後光合成の炭酸同化系に関する研究は、 ^{14}C のトレーサ利用によってカルビン回路が発見されるなど、著しい発展をとげた。

ところで ^{11}C を光合成に係わる研究に利用するにあたって、 $^{11}\text{CO}_2$ の製造が問題となる。More ら⁵⁾ は固体ホウ素をターゲットにして 2.75 MeV の重陽子を照射し、 $^{10}\text{B}(\text{d}, \text{n})^{11}\text{C}$ 反応で生じた ^{11}C を O_2 ガスで 600 °C の炉に送り、 CuO 金網上を通して $^{11}\text{CO}_2$ とする。 $^{11}\text{CO}_2$ は液体酸素トラップで混在するガスを分離するというポンプシステムを開発し、無担体 $^{11}\text{CO}_2$ を製造した。一方 Fares ら⁶⁾ はガス状 CO_2 あるいはドライアイスターゲットとして 35 MeV の陽子ビームを照射し、 $^{12}\text{C}(\text{p}, \text{d})^{11}\text{C}$ 反応で生じた ^{11}CO を空気中 650 °C、 $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ 中を通して $^{11}\text{CO}_2$ に酸化する方法を開発し、ワタ幼植物による $^{11}\text{CO}_2$ の同化と同化産物の移動速度の測定を行っている。

Moorby ら⁷⁾ は光合成産物の移動の研究に ^{14}C を使用した場合、放出される β 線のエネルギーが小さいために化学的な分析操作を必要とし、また半減期が長いために同一植物による反復実験が不可能なことを指摘している。そして医学利用サイクロトロンで B_2O_3 に重陽子を照射して $^{11}\text{CO}_2$ を製造し、照明下でダイズ幼植物に与えて光合成させたのち、茎に沿って配置した検出器で ^{11}C 同化産物の移動を追跡した。

光合成産物の移動速度について、Troughton ら⁸⁾ はトウモロコシ、トマト、コムギの単葉から $^{11}\text{CO}_2$ を光合成で取り込ませ、 ^{11}C 同化産物の移動速度を 1 日数回繰り返して測定し、トウモロコシ葉では 2.58-3.48 cm/分の値を得た。Fenson ら⁹⁾ もヒマワリの展開葉に

† Present Status of Applications of Short-lived Radioisotopes in Agriculture and Biology. Hiroshi TAKENAGA: Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture, 1-1, Sakuragaoka 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo 156.

$^{14}\text{CO}_2$ を光合成で同化させ、短期間の移動を追跡した結果、5分後に $^{14}\text{CO}_2$ 同化葉に近接した茎中に ^{14}C が検出され、15分以後は多量の ^{14}C が60–400 cm/時間の速度でマスフローによって移動した、また ^{14}C 同化産物の移動は茎部の氷冷処理によって遅延することを認めている。さらに彼らは10種の植物を供試して ^{14}C 同化産物の移動パターンを90分間にわたって調査し、マスフローが90分間一様に上昇するもの（ヒマワリ、アカザ、ノウゼンハレン、サツマイモ、トネリコ）、5–10分間マスフローがピークを維持したのち、減少するもの（トウモロコシ、ハマニソク）、明確なマスフローが認められないもの（エゾマツ、マツ）の3群に分かれることを報告している¹⁰⁾。また Troughton ら¹¹⁾ はトウモロコシの1枚の葉に2 cm 幅のリーフチャンバを装填し、 $^{14}\text{CO}_2$ を注入して局部的に同化させ、 ^{14}C 同化産物の移動速度と移動に及ぼす要因を調べた。移動速度は0.25–11 cm/分で、光の強さ、葉のショ糖濃度などに影響されるが、生育段階、葉齢、日照時間などには無関係であることを明らかにしている。Williams ら¹²⁾ も $^{14}\text{CO}_2$ をヒマワリの単葉から光合成で同化させ、 ^{14}C 同化産物の移動について1日3回、1か月間隔で2度、計6回同一植物体で実験を行い、移動の日変化を調べた。移動速度の日変化は少なく、 $^{14}\text{CO}_2$ 同化と ^{14}C 同化産物の移動との間の時間的ずれは、朝、夕ではほぼ等しく、かつ昼間に比較して少ないことを確認している。

光合成産物の移動に影響を及ぼす諸因子に関する実験で、Pickard ら^{13), 14)} はヨルガオ幼植物について、凍結処理、 $^{14}\text{CO}_2$ 同化葉の酸素欠如や代謝阻害剤処理および根部の水ストレスなどの影響を調べ、代謝阻害剤や茎部の酸素欠如処理を除き、 ^{14}C 同化産物の移動はいずれも抑制されたと述べている。Bauermeister ら¹⁵⁾ は IAA 処理を施したコムギの葉の局部から $^{14}\text{CO}_2$ 、 $^{14}\text{CO}_2$ をそれぞれ光合成で取り込ませ、放射性炭素の移動を長、短時間にわたって追跡し、IAA は標識同化産物の移動の方向や速度に影響を与えないことを明らかにした。Thompson ら¹⁶⁾ もコムギ、トウモロコシの葉身の局部をあらかじめ代謝阻害剤で処理したのち、同部分に $^{14}\text{CO}_2$ 、 $^{14}\text{CO}_2$ を与えて光合成を行わせ、標識同化産物の移動を調べた結果、移動速度には影響はなかったとしている。このほか、デンジソウの $^{14}\text{CO}_2$ 同化葉やヒマワリ茎、葉柄部の N_2 ガス処理による ^{14}C 同化産物の移動阻害^{17), 18)}、寒冷および温暖環境から得たヒエの ^{14}C 同化産物の移動に及ぼす温度条件、 CO_2 濃度の影響¹⁹⁾ などが報告されている。

つぎに窒素代謝との関係について、Caldwell ら²⁰⁾ はアルファルファの葉部と根粒着生根との間の ^{14}C 同化産物の移動を調べた。移動速度は葉部0.5 cm/分、根部では0.3 cm/分を示し、根粒は ^{14}C 同化産物に対するシンクであった。また $^{12}\text{C}(\text{d}, \text{n})^{13}\text{N}$ 反応で製造した $^{13}\text{N}_2$ および $^{13}\text{NO}_3^-$ 、 $^{13}\text{NH}_4^+$ を根粒着生部と根にそれぞれ供与した。 $^{13}\text{N}_2$ ガスは照明下で根粒によって速やかに固定され、供与25–35分後に地上部で ^{13}N が検出された。 $^{13}\text{NO}_3^-$ 、 $^{13}\text{NH}_4^+$ も同じように吸収、移行されることが認められ、これら ^{13}N の移動速度は6–12 cm/分であった。Grodzinski ら²¹⁾ は $^{11}\text{B}(\text{p}, \text{n})^{11}\text{C}$ および CH_4 ガスをターゲットにして $^{12}\text{C}(\text{d}, \text{n})^{13}\text{N}$ 反応によって $^{14}\text{CO}_2$ 、 $^{13}\text{NH}_3$ をそれぞれ製造し、ハウチワメとヒマワリによる葉面吸収、移動を調べた。 $^{13}\text{NH}_3$ の取込みは、葉のグルタミン合成酵素/グルタミン酸生成酵素(GS/GOGAT) 経路によって生ずることを明らかにした。L-Methionine-D,L-sulphoximine (MSX) によるGSの阻害で $^{13}\text{NH}_3$ の吸収は減少したが、光合成による $^{14}\text{CO}_2$ 同化には影響はなかった。また葉からの ^{13}N および ^{14}C 標識同化産物の移行は、明、暗所下で供与葉の N_2 ガス処理で阻害されることを報じている。

このほか Hayden ら²²⁾ はヒマワリの ^{14}C 同化産物を1半減期以内の時間で抽出、分離、精製して別のヒマワリの茎に注入したところ、注入部から先端と基部に向かって主にショ糖の形態で移動したことを明らかにしている。また Minchin ら²³⁾ は水耕栽培したコムギ幼植物に光合成で $^{14}\text{CO}_2$ を同化させたところ、最初の200分以内に根へ移行した全 ^{14}C の30%以上が $^{14}\text{CO}_2$ として水耕液中に分泌された。このうちの約30%は根からの分泌物で、残りは根の呼吸に由来するものであるとしている。

動物に対する ^{14}C の利用例については、つぎの1論文しか見出せなかった。

Stålnacke ら²⁴⁾ は、(1)家畜のアミノ酸代謝や分布に関する知見は主として ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S などを用いた小動物での研究に基づいている、(2)これら長寿命 RI をトレーサとして大動物の研究に用いた場合、放射能汚染や対象動物を屠殺しなければならない等の問題が生じる。(3)ところが ^{14}C 標識アミノ酸を使用すれば、体の外から ^{14}C を追跡することが可能であり、また短半減期のゆえに放射能被曝、放射能汚染も少ない等の利点を指摘した。彼らは N_2 ガスに10 MeV の陽子ビームをあて、 $^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$ 反応で生じた ^{14}C を用いて L-[Me- ^{14}C]-メチオニンを合成した。合成に要した時間は照

射後 30-40 分, 化学的収量 65-90 %, 比放射能 400 MBq/ μ M, 純度 99.5% であった。これを体重 40-100 kg の雌ブタに約 37 MBq (1 mCi) 静注して肝臓, 筋肉, 腸における ^{14}C の分布状態を120分間ガンマカメラで追跡した。同時に血液, 吐気, 糞, 尿中の ^{14}C 量の変化を測定した。そして本実験から, ^{14}C は大形家畜の栄養の研究に有効な RI であると結論している。

2.2 ^{15}N (半減期 9.96分)

1959年 Carangal ら²⁵⁾はグラファイトをターゲットにして陽子または重陽子を照射して $^{15}\text{N}_2$ をつくり, $^{15}\text{NH}_4^+$ としたのち, 植物組織による短時間の代謝研究に使用した。そして適当な加速器が利用できるならば, ^{15}N は窒素代謝の研究に十分活用しうることを報告している。

ここで ^{15}N を用いた研究例をみると, 脱窒作用, 生物窒素固定, 植物による窒素の吸収, 代謝および動物における窒素の吸収, 分布の4項目に大別することができる。各項目ごとに研究例の概要を以下に記す。

2.2.1 脱窒作用

Gersberg ら²⁶⁾はサイクロトロンで H_2O をターゲットにして14.5 MeV の陽子ビームを照射し, $^{16}\text{O}(\text{p}, \alpha)^{15}\text{N}$ 反応で高純度の $^{15}\text{NO}_3^-$ を製造した。これを水田の酸化層と還元層の土壌に加えて発生する ^{15}N 標識ガスを分析し, 短期間での脱窒速度の測定に初めて ^{15}N を使用した。また ^{15}N の検出感度は ^{15}N に比べて約 10^8 倍高く, 10分程度のインキュベーション時間と 10^{-6} μg オーダーの $^{15}\text{NO}_3^-$ の土壌への添加で $^{15}\text{N}_2 + ^{15}\text{N}_2\text{O}$ が検出できるので, 自然な状態での脱窒作用の測定が可能であるなど, ^{15}N 利用の利点を挙げている。Tiedje らのグループも $^{15}\text{NO}_3^-$ を用いて, アセチレン阻害法による脱窒の測定との比較²⁷⁾, 脱窒の研究に利用するための ^{15}N 標識イオンの製造および高純度 $^{15}\text{NO}_3^-$ の調製法の検討²⁸⁾, さらに脱窒による $\text{N}_2, \text{N}_2\text{O}$ ガス生成に及ぼす土壌 pH と担体 $\text{NO}_3^-, \text{NO}_2^-$ の添加量の影響²⁹⁾および脱窒における NO ガスの役割^{30), 31)}などについて実験を行っている。また Hollocher ら³²⁾は $^{15}\text{NO}_3^-$, $^{15}\text{NO}_2^-$ および $^{15}\text{NO}_2^-$ を用い, 次亜硝酸塩 $\text{N}_2\text{O}_2^{2-}$ の脱窒過程における位置付けと役割りについて脱窒菌 *Paracoccus denitrificans* の細胞懸濁液で調べ, $\text{N}_2\text{O}_2^{2-}$ は脱窒の中間産物ではないことを証明した。さらにこの脱窒菌は 10^{-5} mM 以下の低濃度 $^{15}\text{NO}_3^-, ^{15}\text{NO}_2^-$ に対し, 5-10 %を不揮発性代謝物に同化し, 90-95 %を N_2 ガスとして放出したが, 無機窒素を同化する主経路はアスパルターゼが関与した反応によるものと考

察している。

2.2.2 生物窒素固定

1961年 Nicholas ら³³⁾は医学研究用サイクロトロンで木炭をターゲットにして15 MeV 重陽子ビームを照射し, 生じた $^{15}\text{N}_2$ を窒素固定菌 *Azotobacter vinelandii* の細胞懸濁液およびセルフリー抽出液に吹き込んで, 窒素固定の測定に初めて ^{15}N を応用した。

生物窒素固定に利用するための $^{15}\text{N}_2$ 製造法について, Campbell ら³⁴⁾は粉末メラミンをターゲットに選り, サイクロトロンで50 MeV の陽子ビームを照射し, 生じた $^{15}\text{N}_2$ を He ガスで生物実験系に送り込む連続製造システムを開発した。この $^{15}\text{N}_2$ を用いて亜北極土壌から分離した微生物の窒素固定能を調べ, *A. vinelandii*に匹敵する固定能を有するものの存在を報じている。

非共生窒素固定での ^{15}N 利用については, Wolk ら³⁵⁾は $^{13}\text{C}(\text{p}, \text{n})^{13}\text{N}$ 反応で得た $^{13}\text{N}_2$ を藍藻 *Anabaena cylindrica* の懸濁液に通じ, 固定された ^{15}N の分布をオートラジオグラフィで調べた。ヘテロシストは好気条件下で繊維状細胞における固定窒素の約20%を固定し, 窒素固定の主要な場であることが示された。Thomas ら^{36), 37)}は藍藻の初期固定産物を同定するため, $^{15}\text{N}_2$ 固定後の *A. cylindrica* をメタノールと磨砕, 遠心分離, 上澄液を蒸発乾固, メタノールに再溶解, セルロース薄層電気泳動の迅速分離・同定法を開発した。この方法により, 60秒以内のインキュベーションでグルタミン Gln, グルタミン酸 Glu が検出された。また MSX の存在で Gln および Glu の生成が阻害されたことから, *A. cylindrica* による固定窒素は GS/GOGAT 経路で代謝されるものと考えた。ヘテロシストについても $^{15}\text{N}_2$ の初期固定産物として ^{15}N -Gln が検出され, GS 活性とニトロゲナーゼ活性 (C_2H_2 還元能) は共役していることが示された。またヘテロシストは $^{15}\text{NH}_3$ と Glu および NH_3 と ^{14}C -Glu からそれぞれ標識 Gln を生成したが, GOGAT 活性が低く, ^{15}N -Gln または ^{14}C - α ケトグルタル酸から放射性 Glu を生成する能力に欠けていることが明示された³⁸⁾。Meeks ら³⁹⁾はシアノバクテリアについて, ヘテロシストの有無と $^{15}\text{N}_2, ^{15}\text{NH}_4^+$ からの初期固定産物との関係を調べたが, いずれも ^{15}N -Gln が検出され, インキュベーション時間が増すに従って ^{15}N -Glu 量が増加した。また MSX による阻害の結果から, GS/GOGAT が関与していることが示唆された。しかし一部にはグルタミン酸脱水素酵素, アラニン脱水素酵素, トランスアミナーゼが関与していることも示された。このほ

か藍藻の窒素固定の研究の一環として、*A. cylindrica* による $^{15}\text{NH}_4^+$ の吸収と同化経路について実験し、初期代謝は主として GS/GOGAT 経路で行われ、グルタミン酸脱水素酵素やアラニン脱水素酵素の関与は小さいことを示した⁴⁰⁾。

共生窒素固定への ^{15}N の利用は、前記アルファルファの根粒着生根と葉部との間の標識同化産物の移動に関する研究²⁰⁾のほか若干の研究例がみられた。

Meeks ら⁴¹⁾ はダイズ幼植物根に着生した状態の根粒と分離した根粒を $^{15}\text{N}_2$ と短時間インキュベートし、初期固定産物として ^{15}N 標識 Glu, Ala, Gln を検出した。また両根粒の $^{15}\text{N}_2$ 固定が C_2H_2 の共存によって著しく阻害されたことなどから、固定窒素の同化は GS/GOGAT 経路によるものと報告している。

Schubert ら⁴²⁾ は非マメ科植物と根粒による共生窒素固定の研究で、ハンノキ幼植物根、根から分離した根粒および根粒着生根による $^{15}\text{NH}_4^+$ の同化パターンをダイズと比較した。無担体 $^{15}\text{NH}_4^+$ 液からハンノキ分離根粒に取り込まれた ^{15}N の92%が Gln, 8%が Glu に見出され、浸漬時間とともにほぼ同割合で吸収量は増加した。MSX や Azaserine などの阻害剤に対する反応から、ハンノキの根粒による $^{15}\text{NH}_4^+$ 同化は主としてグルタミン酸脱水素酵素の働きによるものであると述べている。

このほか Meeks ら^{43), 44)} の実験では、共生して生育中のツノゴケ *Anthoceros punctatus*-ネンジュモ *Nostoc* sp. 7801 を短期間 $^{15}\text{N}_2$ とインキュベートした結果、初期固定産物として多量の $^{15}\text{NH}_4^+$ が認められたが、インキュベート時間とともに減少した。また ^{15}N 標識有機産物の主体は Gln, Glu で、両者間に前駆体 Gln と生成物 Glu の関係が示唆された。 $^{15}\text{N}_2$ に由来する $^{15}\text{NH}_4^+$ の同化は、阻害剤の添加実験で GS/GOGAT 経路によることが示された。このことは宿主ツノゴケから分離したネンジュモやフリーリビングのものにも認められ、共生ネンジュモは固定 $^{15}\text{N}_2$ 由来の $^{15}\text{NH}_4^+$ の一部を同化し、他はツノゴケ組織に取り込まれて同化される。一方ツノゴケにおける $^{15}\text{NH}_4^+$ の同化は細胞内の NH_4^+ 濃度に左右され、低濃度では GS/GOGAT 経路、高濃度では GS, グルタミン酸脱水素酵素の独立した作用によるものと考えた。

2・2・3 植物による窒素の吸収、代謝

Skokut ら⁴⁵⁾ は窒素形態を異にした培地で育てたタバコ細胞に $^{15}\text{NH}_4^+$, $^{15}\text{NO}_3^-$ をそれぞれ供与し、 ^{15}N 標識有機産物の同定を試みた。各窒素形態培地の細胞による吸収 $^{15}\text{NH}_4^+$ および硝酸培地の細胞の吸収 $^{15}\text{NO}_3^-$

の初期同化産物は Gln で、インキュベート時間に伴って ^{15}N 標識 Glu と Ala が増加した。また $^{15}\text{NH}_4^+$ から Gln, $^{15}\text{NO}_3^-$ から Glu への ^{15}N の取込みが MSX で阻害されたことなどから、添加 $^{15}\text{NH}_4^+$ および $^{15}\text{NO}_3^-$ の還元によって生じた $^{15}\text{NH}_4^+$ の同化は、GS/GOGAT 経路によるものと考えた。Hanson ら⁴⁶⁾ は水ストレスを与えたオオムギ幼植物の葉身からの $^{15}\text{NH}_4^+$ 吸収で、30分後に添加 ^{15}N の80%が Gln, Glu を主体として水溶性画分に回収された。同じく $^{15}\text{NH}_3$ ガスを葉身に曝露したところ、 ^{15}N の4-22%が水溶性画分に検出されたが、 ^{15}N 標識 Gln, Glu の葉身から葉鞘への移動は正常オオムギに比べて少ないことなどを報告している。McNaughton ら⁴⁷⁾⁻⁴⁹⁾ もトウモロコシを供試して $^{15}\text{NO}_3^-$, $^{15}\text{NH}_4^+$ の吸収、移行に関する一連の研究を行っている。まず水耕栽培のトウモロコシ幼植物の根に吸収された $^{15}\text{NO}_3^-$ の一部は水耕液中に溶出されること、地上部への移行、分布の平衡速度は $^{15}\text{NO}_3^-$ 2分、 $^{15}\text{NH}_4^+$ 5分以内でそれぞれ達することを明らかにした。また $^{15}\text{NO}_3^-$ の吸収、移動に関連して、窒素を水耕液中のもの、根から容易に置換、溶出するもの、根に結合したもの、根から移動したものの、4つに区分し、その挙動を調べた。さらに水の動きとの関係について実験し、 NO_3^- の経根吸収は水の動きと連係したが、導管に放出される過程は無関係である。しかし、 NH_4^+ では根の吸収と導管への放出はいずれも水の流れと連係して行われるものと考察している。このほか Glass ら⁵⁰⁾ は $^{15}\text{NO}_3^-$ を用いてオオムギ幼植物根による NO_3^- 流入について実験し、 NO_3^- 欠如水耕液で育てた供試幼植物による NO_3^- 流入は、対照の約50%以下に低下したことを報告している。著者ら⁵¹⁾ も国立中野病院の協力を得て、ベビーサイクロトロンで $^{15}\text{NO}_3^-$ を製造し、水耕液に添加してキュウリ幼植物による経根吸収、移動を調べた。移動速度は約5.5 cm/分、吸収の日変化は15時>11時>20時>8時の順であった。

2・2・4 動物における窒素の吸収、分布

Witter ら⁵²⁾ は、 NO_3^- や NO_2^- は人間を取りまく環境に広く存在しているが、これらの動物体内における分布や代謝についての知見は比較的少ないことを指摘している。そこで H_2O をターゲットにしてサイクロトロンで11 MeV の陽子ビームを照射して $^{15}\text{NO}_3^-$ を製造し、これを Witter ら自身が経口摂取(2名)および静脈注射(1名)し、 $^{15}\text{NO}_3^-$ の体内での挙動、分布をコンピュータ連動の腹腔内カメラで追跡した。また別に幽門結索を施したラットに $^{15}\text{NO}_3^-$ を投与

し、 ^{15}N の分布状態を比較した。 $^{15}\text{NO}_3^-$ の胃からの吸収は比較的遅く、経口摂取または静注した ^{15}N は盲腸および大腸内に集積する傾向がみられた。またヒト、ラットとも体内に ^{15}N の一部を貯蔵する能力のあることが示された。ヒトの尿、回腸、糞中にみられる NO_3^- , NO_2^- の濃度の変化は、腸内細菌の働きによる硝酸化反応に基因するというよりも、本実験の体貯蔵の減少、 NO_3^- の腸内下降または腸内腔への分泌を示す結果から、十分説明できるものと述べている。

2.3 ^{18}F (半減期 10.98分)

^{18}F をはじめとして、 ^{77}Br などのハロゲン元素の短寿命 RI をトレーサとして農学・生物学分野に利用した研究例については、結田⁵³⁾が本誌の総説で詳細に紹介しているので参照されたい。

2.4 ^{24}Na (半減期 15.02時間)

長寿命 RI の ^{24}Na (半減期 2.62年) がトレーサとして広く使用されているため、 ^{24}Na の利用例は少ない。そのうち、Haskell⁵⁴⁾, Hawkins ら⁵⁵⁾は野外において土壌中の不飽和水の縦方向の移動を追跡するため、 $^1\text{H} + \gamma (> 2.23 \text{ MeV}) \rightarrow ^1\text{H} + \text{n}$ の反応に基づいて、 D_2O をトレーサ、 ^{24}Na を 2.75 MeV γ 線源および遅中性子検出器から成る D_2O - ^{24}Na 法を開発し、野外の砂壌土での水の動きの測定に成功した。また ^{24}Na に代わる γ 線源について比較検討を加えた。

このほか Johanson ら⁵⁶⁾はトウモロコシ幼植物の中胚軸における Na と K の移動に関する比較研究で、Na は K よりも速やかに中心柱に取り込まれ、またより長く保持されることを認めた。そこで中胚軸を ^{22}Na であらかじめ2時間標識したのち、 ^{24}Na 液に移して21時間以上吸収させる操作を行い、中心柱に3つの Na プールが存在することを明らかにした。

2.5 ^{42}K (半減期 2.36時間), ^{43}K (半減期 22.3時間)

まず ^{42}K および ^{86}Rb (半減期 18.8日、長期間の実験のために ^{42}K の代替物として使用) のトレーサ利用については、すでに植物を対象にして多数行われている。エンドウの上胚軸切片による ^{42}K の能動的および受動的吸収、移行の研究⁵⁷⁾、エンバク子葉鞘細胞による ^{42}K , ^{22}Na , ^{36}Cl の吸収、移行のコンパートメント解析⁵⁸⁾、トマト茎から吸収させた ^{24}Na , ^{42}K , ^{86}Rb , ^{134}Cs の移動方向に関する研究⁵⁹⁾、オオムギ、インゲン幼植物の ^{42}K 吸収、移行に対する温度、Ca 共存の影響⁶⁰⁾、

インゲンの ^{42}K と ^{45}Ca およびカナダモ葉切片の ^{42}K と ^{36}Cl の吸収、移行に及ぼす光照射、温度、代謝阻害剤添加の影響^{61), 62)}、インゲン幼植物による ^{42}K , ^{32}P 二重標識リン酸カリウムの葉面および経根吸収⁶³⁾、アルファルファとエンバク幼植物による ^{42}K , ^{32}P の吸収における選択性⁶⁴⁾など、植物の養分吸収、移行に関連した研究に利用されている。このほかトウモロコシ幼植物の中胚軸および根による ^{42}K と ^{22}Na の吸収、分布の比較^{65), 66)}、塩生植物ハマツメクサによる ^{42}K , ^{22}Na の吸収、移行に関する研究^{67), 68)} などが報告されている。

K の挙動をより長期間追跡するための手段として、しばしば同族の ^{86}Rb が ^{42}K の代替に使用されている。両者間の類似性に関して、Smith ら⁶⁹⁾はトウモロコシ葉片による両者の吸収実験で、 ^{86}Rb の吸収は K の添加により、 ^{42}K の吸収は Rb 添加でいずれも競合的阻害を受けることを認め、両者は非常に類似した挙動を示すものとした。Jacoby ら⁷⁰⁾もインゲンの生育に伴う ^{42}K と ^{86}Rb の吸収パターンの変動および葉切片からの吸収に対する光の増進効果が両者間で類似していることを報告している。Drew ら⁷¹⁾もオオムギ幼植物の根分け法による吸収、移行の実験で、一部 ^{42}K の代替として使用した ^{86}Rb が ^{42}K と同一の行動をとることを認め、Jaschke⁷²⁾はカナダモによる ^{86}Rb の葉面吸収は ^{42}K に比べて低い値を示したが、吸収に対する光の増進効果、代謝阻害剤の影響などに差がないことから、 ^{86}Rb は K のトレーサとして代替できるとしている。

ところが Lauchli ら⁷³⁾はトウモロコシ切断根による ^{42}K と ^{86}Rb の短期間の吸収実験で、吸収速度($\mu\text{M}/\text{生体 g}/\text{時間}$)は ^{42}K 4.4, ^{86}Rb 5.1であった。導管滲泌液中に溶出する移動速度は ^{42}K 7.4, ^{86}Rb 6.5の値を示し、 ^{42}K のトレーサとして ^{86}Rb を代替した場合、吸収速度は約16%の過大評価、移動速度は逆に14%低く評価される。Ca の共存効果も両者間で若干傾向が異なることなどを報告している。Jacoby⁷⁴⁾⁻⁷⁶⁾は明・暗条件下でインゲン葉片に吸収させた ^{42}K , ^{22}Na , ^{86}Rb の分布をオートラジオグラフィで比較した。 ^{42}K は明・暗条件に関係なく組織に均一に分布したのに対し、 ^{86}Rb は暗所吸収では均一な分布を示したが、明条件で吸収した ^{86}Rb は気孔の周辺に集中分布した。なお ^{22}Na は主として導管組織に分布し、各イオン間に分布の差があることを示した。またインゲン葉片のイオン吸収に対する光の増進効果は、 ^{86}Rb では空气中、 N_2 気中で DCMU {3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-

dimethylurea}によって著しく阻害された。しかし ^{42}K については空気中では DCMU によって阻害されたが、 N_2 気中では DCMU 非感受性光効果で吸収増進がみられた。同じくインゲン葉片の葉肉細胞による ^{42}K の吸収は、 ^{86}Rb に比べて 6-10 倍多いことなどの実験結果を報告している。

結田ら⁷⁷⁾は K のトレーサとして ^{86}Rb を代替して利用することには限界があるとして、半減期が ^{42}K よりも長く、無担体で製造できる ^{42}K のトレーサ利用について比較検討を行った。サイクロトロンで Ar ガスをターゲットにして 10 MeV の α 粒子を照射し、 $^{40}\text{Ar}(\alpha, p)^{43}\text{K}$ 反応で ^{43}K を製造し、その性質を ^{42}K と比較した。また水耕および土耕栽培の水稲に ^{43}K または ^{42}K 標識塩化カリとして施用し、追跡可能時間を推定した。まず播種後 2 か月の水耕栽培の水稲では、 ^{43}K トレーサの追跡可能日数は 13.3 日、 ^{42}K は 5.4 日で、 ^{43}K が約 2.5 倍長かった。土耕栽培の登熟期の水稲では吸収が少ないため、 ^{43}K の追跡可能日数は 7.4 日に短縮されたが、 ^{43}K の施用量の増加などによって延長することは可能であると述べている。このほか ^{43}K を利用した研究例として、後記の Stout ら⁷⁸⁾ がトマト葉中の Mo の分布を ^{43}K と比較した実験、Levi⁷⁹⁾⁻⁸¹⁾ によるインゲン幼植物の ^{43}K , ^{22}Na , ^{86}Rb , ^{134}Cs その他の吸収、移行に関する一連の研究がある。

2.6 ^{25}Mg (半減期 21.0 時間)

^{25}Mg をトレーサ利用した研究例は少なく、著者が調査した範囲ではつぎの 2 例に過ぎなかった。

植物を対象にしたものでは、Ellsworth ら⁸²⁾ のクロフィルの生合成に関する研究がある。暗所で発芽、生長させて黄化したコムギの葉の磨砕、抽出液に ^{25}Mg を添加して、 Mg -プロトポルフィリン画分への取込みを追跡している。

動物についての研究では、Field ら⁸³⁾ が Mg 欠乏食および正常食で飼育したラットに ^{25}Mg +担体 Mg を腹腔内注射し、22 時間にわたり ^{25}Mg の挙動を追跡した。 Mg 欠乏食ラットの血漿中の ^{25}Mg 濃度、比放射能は投与 0.33 時間後に最高となり、その後急減した。 ^{25}Mg の体内蓄積は、肝臓、心臓、腎臓が高く、脳がほぼ中間、筋肉、大腿骨、下顎骨は低い傾向を示した。また Mg 欠乏食ラットの ^{25}Mg は正常食のものに比べ、腎臓、心臓、肝臓、脳で高く、下顎骨では低い値を示したが、このような ^{25}Mg の組織別の吸収、蓄積の差違は、 Mg 欠乏食での飼育過程で失われた Mg の補充のほか他に他の要因が関与しているものと推察し

ている。

2.7 ^{64}Cu (半減期 12.70 時間)

Brams ら⁸⁴⁾はミカン園に発生した銅過剰障害に対処するため、銅はくを用いて原子炉で $^{62}\text{Cu}(n, \gamma)^{64}\text{Cu}$ 反応で ^{64}Cu を製造し、水耕栽培したオレンジ幼植物に硝酸塩として添加し、 ^{64}Cu の根部への蓄積速度や蓄積 ^{64}Cu の酸による溶出割合の測定および根中における分布状態の調査などを行った。水耕液の Cu 濃度 0.6 ppm で、最初の 0-15 分間の ^{64}Cu 吸収は一定速度で行われたが、15-180 分間の吸収は曲線を描いた。水耕液の Cu 濃度が 0.3-1.2 ppm 範囲では、60 分間の吸収は濃度とともに直線的に増加したが、コロイド状リン酸 (200 メッシュ以下、0.1% 懸濁液) の前処理によって根の ^{64}Cu 吸収は無処理の約 12% に減少した。また 0.1 N HCl で根から溶出される ^{64}Cu 量は根中の全 ^{64}Cu 量に比例した。このほか Cu による根の形態変化、導管細胞壁の不規則変形などを顕微鏡観察して報告している。

2.8 $^{93\text{m}}\text{Mo}$ (半減期 6.95 時間), ^{99}Mo (半減期 66.02 時間)

1948 年 Stout ら⁷⁸⁾は植物の微量必須元素の 1 つである Mo の吸収、移行の研究に放射性 Mo を初めて使用した。サイクロトロンで ZrO_2 をターゲットにして α 線を照射し、 $^{90}\text{Zr}(\alpha, n)^{93\text{m}}\text{Mo}$, $^{90}\text{Zr}(\alpha, n)^{99}\text{Mo}$ の反応で生成した $^{93\text{m}}\text{Mo}$, ^{99}Mo を抽出、分離、精製して標識 MoO_4^{2-} を調製した。これを水耕液に加えてトマト幼植物による吸収と移行を追跡した結果、標識 MoO_4^{2-} は根に速やかに吸収されて地上部へ移行したが、移行は水耕液のリン酸塩によって促進された。また葉中における標識 Mo の分布をオートラジオグラフィによって ^{43}K と比較した結果、 Mo は主として葉脈間に分布し、 Mo 欠乏によって誘導されたクロロシスの部分と一致したため、両者間に関係があるものと推察した。Kannan ら⁸⁵⁾もインゲンとイネの幼植物について、 $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ の経根および葉面吸収、移行を ^{86}Rb と比較した。インゲンの $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ 吸収は ^{86}Rb とほぼ同程度であったが、地上部への移行は少なかった。また両者は葉面吸収され、 $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ は主として茎、根部へ下方移動したのに対し、 ^{86}Rb は頂芽、根端などの生長部位へ移動した。イネの根による $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ は、根の CaSO_4 処理によって抑制された。また切断根による $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ 吸収は代謝阻害剤の添加によって著しく阻害されたことから、 MoO_4^{2-} は根に積極的に吸収され

るものと考えた。さらに MoO_4^{2-} の吸収は Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} の存在で減少し, Fe^{2+} によって促進されることなどを明らかにした。

動物については Mason ら^{86), 87)}が反芻動物にみられるモリブデン誘導銅不足血症, モリブデン中毒症に関する一連の研究に ^{99}Mo を使用している。 $\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$ に H_2S を通じて ^{99}Mo 標識テトラチオモリブデン酸塩 (^{99}Mo -TTM) を調製し, 十二指腸カニューレを通して雄ヒツジに投与した。血漿セルロプラズミンの *p*-フェニレンジアミン, *o*-ジアニンジンに対するジアミンオキシダーゼ活性は ^{99}Mo -TTM の投与によって阻害された。一方 ^{99}Mo は血漿中へ速やかに取り込まれ, 初期には主としてトリクロル酢酸 (TCA) 不溶画分に存在したことから, オキシダーゼ活性の阻害はこの TCA 不溶 Mo の濃度と関係があるものと推察した。またセルロプラズミンの Cu 補欠分子団の挙動に変化が生じ, TCA 処理でタンパクとともに沈殿した。この TCA 不溶性 Cu の出現は TCA 不溶性 ^{99}Mo の濃度と関係があり, ジアミンオキシダーゼ活性の阻害とも一致することが見出された。別に硫黄添加飼料で飼育した雄ヒツジの第1胃に $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ を注入したところ, 血漿中に速やかに吸収され, 主として TCA 可溶画分に取り込まれた。この TCA 可溶画分および不溶画分中の ^{99}Mo は注入後 15-20 時間で最高に達し, 可溶画分の ^{99}Mo はその後急減した。また血漿中の ^{99}Mo をセファデックス G25 カラムクロマトグラフにかけ, ジチオン, トリチオモリブデン酸, タンパク結合モリブデン酸を検出した。先の ^{99}Mo -TTM を第1胃に注入あるいは静注した結果, 血漿中にタンパク結合態および TCA 不溶性の ^{99}Mo として多量存在することなど, 反芻動物における Mo の吸収とチオモリブデン酸の生合成について報告している。

3. おわりに

農学・生物学分野における短寿命 RI の利用は, 種々の制約があって長寿命 RI の利用状態に比べて少ない。しかし今回見出された研究例の中からは, 各短寿命 RI の特性をたくみに応用した独創的な研究内容, 研究方法が随所に認められた。

著者が調査した学術雑誌の種類, 論文数は, 農学・生物学分野の多種, 膨大な論文のうちのごく一部であり, かつ調査範囲の偏りや論文の見落としなどがあるものと思われる。したがって, この拙文が農学・生物学の研究への短寿命 RI 利用の実状を正しく表わしているかどうかは疑問であるが, 今後農学・生物学の各分

野で利用するさいに役立ててもらえれば幸である。

文 献

- 1) 結田康一:「農学・生物学におけるアイソトープ実験法」(麻生末雄, 他編著), pp.312-320, 養賢堂, 東京(1982)
- 2) Ruben, S., Kamen, M.D., Hassid, W.Z. and DeVault, D.C.: *Science*, **90**, 570-571 (1939)
- 3) Ruben, S., Hassid, W.Z. and Kamen, M.D.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **61**, 661-663 (1939)
- 4) Ruben, S., Kamen, M.D. and Hassid, W.Z.: *ibid.*, **62**, 3443-3455 (1940)
- 5) More, R.D. and Troughton, J.H.: *Photosynthetica*, **7**, 271-274 (1973)
- 6) Fares, Y., DeMichele, D.W., Goeschl, J.D. and Baltuskonis, D.A.: *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **29**, 431-441 (1978)
- 7) Moorby, J., Ebert, M. and Evans, N.T.S.: *J. Expt. Bot.*, **14**, 210-220 (1963)
- 8) Troughton, J.H., Moorby, J. and Currie, B.G.: *ibid.*, **25**, 684-694 (1974)
- 9) Fenson, D.S., Williams, E.J., Aikman, D. et al.: *Can. J. Bot.*, **55**, 1787-1793 (1977)
- 10) Thompson, R.G., Fenson, D.S., Anderson, R. R. et al.: *ibid.*, **57**, 845-863 (1979)
- 11) Troughton, J.H., Currie, B.G. and Chang, F. H.: *Plant Physiol.*, **59**, 808 (1977)
- 12) Williams, E.J., Dale, J.E., Moorby, J. and Scobie, J.: *J. Exp. Bot.*, **30**, 727-738 (1979)
- 13) Pickard, W.F., Minchin, P.E.H. and Troughton, J.H.: *ibid.*, **29**, 993-1001 (1978)
- 14) Pickard, W.F., Minchin, P.E.H. and Troughton, J.H.: *ibid.*, **29**, 1003-1009 (1978)
- 15) Bauermeister, A., Dale, J.E., Williams, E.J. and Scobie, J.: *ibid.*, **31**, 1199-1209 (1980)
- 16) Thompson, R.G. and Dale, J.E.: *Can. J. Bot.*, **59**, 2439-2444 (1981)
- 17) Jahnke, S., Stöcklin, G. and Willenbrink, J.: *Planta*, **153**, 56-63 (1981)
- 18) Fenson, D.S., Thompson, R.G. and Alexander, K.G.: *J. Exp. Bot.*, **35**, 1582-1594 (1984)
- 19) Potvin, C., Goeschl, J.D. and Strain, B.R.: *Plant Physiol.*, **75**, 1054-1057 (1984)
- 20) Caldwell, C.D., Fenson, D.S., Bordeleau, L. et al.: *J. Exp. Bot.*, **35**, 431-443 (1984)

- 21) Grodzinski, B., Jahnke, S. and Thompson, R.G.: *ibid.*, **35**, 678 - 690 (1984)
- 22) Hayden, D.B., Fenson, D.S. and Thompson, R.G.: *Can. J. Bot.*, **58**, 100 - 107 (1980)
- 23) Minchin, P.E.H. and McNaughton, G.S.: *J. Exp. Bot.*, **35**, 74 - 82 (1984)
- 24) Stålnacke, C.G., Jones, B., Långström, B. et al.: *Br. J. Nutr.*, **47**, 537 - 545 (1982)
- 25) Carangal, A.R. and Varner, J.E.: *Plant Physiol.*, **34**, S-xi (1959)
- 26) Gersberg, R., Krohn, K., Peek, N. and Goldman, C.R.: *Science*, **192**, 1229 - 1231 (1976)
- 27) Smith, M.S., Firestone, M.K. and Tiedje, J. M.: *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, **42**, 611 - 615 (1978)
- 28) Tiedje, J.M., Firestone, R.B., Firestone, M.K. et al.: *ibid.*, **43**, 709 - 715 (1979)
- 29) Firestone, M.K., Firestone, R.B. and Tiedje, J.M.: *Science*, **208**, 749 - 751 (1980)
- 30) Firestone, M.K., Smith, M.S., Firestone, R.B. and Tiedje, J.M.: *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, **43**, 1140 - 1144 (1979)
- 31) Firestone, M.K., Firestone, R.B. and Tiedje, J.M.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **19**, 10 - 16 (1979)
- 32) Hollocher, T.C., Garber, E., Cooper, A.J.L. and Reiman, R.E.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 5027 - 5030 (1980)
- 33) Nicholas, D.J.D., Silvester, D.J. and Fowler, J.F.: *Nature*, **189**, 634 - 636 (1961)
- 34) Campbell, N.E.R., Dular, R., Lees, H. and Standing, K.G.: *Can. J. Microbiol.*, **13**, 587 - 599 (1967)
- 35) Wolk, C.P., Austin, S.M., Bortins, J. and Galonsky, A.: *J. Cell Biol.*, **61**, 440 - 453 (1974)
- 36) Thomas, J., Wolk, C.P., Shaffer, P.W. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **67**, 501 - 507 (1975)
- 37) Wolk, C.P., Thomas, J., Shaffer, P.W. et al.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 5027 - 5034 (1976)
- 38) Thomas, J., Meeks, J.C., Wolk, C.P. et al.: *J. Bacteriol.*, **129**, 1545 - 1555 (1977)
- 39) Meeks, J.C., Wolk, C.P., Lockau, W. et al.: *ibid.*, **134**, 125 - 130 (1978)
- 40) Meeks, J.C., Wolk, C.P., Thomas, J. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 7894 - 7900 (1977)
- 41) Meeks, J.C., Wolk, C.P., Schilling, N. et al.: *Plant Physiol.*, **61**, 980 - 983 (1978)
- 42) Schubert, K.R., Coker III, G.T. and Firestone, R.B.: *ibid.*, **67**, 662 - 665 (1981)
- 43) Meeks, J.C., Enderlin, C.S., Wycoff, K.L. et al.: *Planta*, **158**, 384 - 391 (1983)
- 44) Meeks, J.C., Enderlin, C.S., Joseph, C.M. et al.: *ibid.*, **164**, 406 - 414 (1985)
- 45) Skokut, T.A., Wolk, C.P., Thomas, J. et al.: *Plant Physiol.*, **62**, 299 - 304 (1978)
- 46) Hanson, A.D. and Tully, R.E.: *ibid.*, **64**, 467 - 471 (1979)
- 47) McNaughton, G.S. and Presland, M.R.: *J. Exp. Bot.*, **34**, 880 - 892 (1983)
- 48) Presland, M.R. and McNaughton, G.S.: *ibid.*, **35**, 1277 - 1288 (1984)
- 49) McNaughton, G.S. and Presland, M.R.: *ibid.*, **36**, 177 - 189 (1985)
- 50) Glass, A.D.M., Thompson, R.G. and Bordeleau, L.: *Plant Physiol.*, **77**, 379 - 381 (1985)
- 51) 武長 宏, 結田康一, 野崎 正, 他: 土肥要旨集, 29集, p. 54 (1983)
- 52) Witter, J.P., Gatley, S.J. and Balish, E.: *Science*, **204**, 411 - 413 (1979)
- 53) 結田康一: *Radioisotopes*, **26**, 736 - 742 (1977)
- 54) Haskell, C.C. and Hawkins, R.H.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **28**, 725 - 728 (1964)
- 55) Hawkins, R.H., Overman, R.F. and Corey, J. C.: *ibid.*, **35**, 199 - 201 (1971)
- 56) Johanson, J.G., Cheeseman, J.M. and Enkoji, C.: *Plant Physiol.*, **73**, 159 - 164 (1983)
- 57) Macklon, A.E.S. and Higinbotham, N.: *ibid.*, **45**, 133 - 138 (1970)
- 58) Pierce, W.S. and Higinbotham, N.: *ibid.*, **46**, 666 - 673 (1970)
- 59) Wolterbeek, H. Th., van Luipen, J. and de Bruin, M.: *Physiol. Plant.*, **65**, 467 - 475 (1985)
- 60) Resnik, M.C., Lunt, O.R. and Wallace, A.: *Soil Sci.*, **108**, 64 - 73 (1969)
- 61) Drew, M.C. and Biddulph, O.: *Plant. Physiol.*, **48**, 426 - 432 (1971)

- 62) Jeschke, W.D.: *Planta*, **103**, 164 - 180 (1972)
- 63) Okuda, A. and Yamada, Y.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **8**, 14 - 18 (1962)
- 64) Lambert, R.G. and Linck, A.J.: *Plant Physiol.*, **39**, 920 - 924 (1964)
- 65) Johanson, J.G. and Cheeseman, J.M.: *ibid.*, **73**, 153 - 158 (1983)
- 66) Cheeseman, J.M.: *Physiol. Plant.*, **64**, 243 - 246 (1985)
- 67) Cheeseman, J.M., Bloebaum, P.D. and Wickens, L.K.: *ibid.*, **65**, 460 - 466 (1985)
- 68) Cheeseman, J.M. and Wickens, L.K.: *ibid.*, **67**, 7 - 14 (1986)
- 69) Smith, R.C. and Epstein, E.: *Plant Physiol.*, **39**, 992 - 996 (1964)
- 70) Jacoby, B., Abas, S. and Steinitz, B.: *Physiol. Plant.*, **28**, 209 - 214 (1973)
- 71) Drew, M.C. and Saker, L.R.: *Planta*, **160**, 500 - 507 (1984)
- 72) Jeschke, W.D.: *ibid.*, **91**, 111 (1970)
- 73) Läuchli, A. and Epstein, E.: *Plant Physiol.*, **45**, 639 - 641 (1970)
- 74) Jacoby, B.: *ibid.*, **55**, 978 - 981 (1975)
- 75) Jacoby, B.: *Physiol. Plant.*, **35**, 1 - 4 (1975)
- 76) Jacoby, B. and Nissen, P.: *ibid.*, **40**, 42 - 44 (1977)
- 77) 結田康一, 川原崎裕司, 渋谷政夫, 野崎 正: 土肥誌, **51**, 57 - 60 (1980)
- 78) Stout, P.R. and Meagher, W.R.: *Science*, **108**, 471 - 473 (1948)
- 79) Levi, E.: *Physiol. Plant.*, **21**, 213 - 226 (1968)
- 80) Levi, E.: *ibid.*, **23**, 811 - 819 (1970)
- 81) Levi, E.: *ibid.*, **23**, 871 - 877 (1970)
- 82) Ellsworth, R.K. and Lawrence, G.D.: *Photosynthetic*, **7**, 73 - 86 (1973)
- 83) Field, A.C. and Smith, B.S.: *Br. J. Nutr.*, **18**, 103 - 113 (1964)
- 84) Brams, E.A. and Fiskell, J.G.A.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **35**, 772 - 775 (1971)
- 85) Kannan, S. and Ramani, S.: *Plant Physiol.*, **62**, 179 - 181 (1978)
- 86) Mason, J., Lamand, M. and Kelleher, C.A.: *Br. J. Nutr.*, **43**, 515 - 523 (1980)
- 87) Mason, J., Kelleher, C.A. and Letters, J.: *ibid.*, **48**, 391 - 397 (1982)
-