

鳥取県東部地域ナシ園土壤中の銅含量が ナシ枝葉の無機組成に及ぼす影響

長井武雄*・藤山英保*・渡辺 悟*・安松 智*

昭和52年8月31日受付

Effects of the Copper Content of Orchard Soils on the Mineral Component of Water Sprouts in Japanese Pear Orchards in the Eastern District of Tottori Prefecture

Takeo NAGAI,* Hideyasu FUJIYAMA,* Satoru WATANABE* and Satoru YASUMATSU*

The minor metal elements of soils and water sprout, which were sampled from various pear orchards situated in the eastern district of Tottori Prefecture, were quantitatively examined and compared with those of the chlorotic disorder of Japanese pear trees occurring in the older orchards.

The extraction of minor metal elements from the normal and injured orchard soils was performed with 1 N ammonium acetate (pH 4.5). The injured orchard soils were rich in copper and poor in iron as compared with the normal orchard soils. The inferior and superior limits of soluble copper and iron contents of the injured orchard soils were 30 and 50 ppm, respectively. The contents of manganese and copper in the leaves increased as the soil copper increased. On the contrary, the contents of calcium and iron in the leaves reduced as the soil copper increased more than 20 or 30 ppm. Compared with the green leaves, the chlorotic leaves were low in a ratio of active iron to nitrogen and were high in both the copper and manganese contents.

These results indicated that an excess of copper in the injured orchard soils played an important part in appearance of the chlorosis.

緒 言

こ、数年来、鳥取県東部地域の古い二十世紀ナシ園で、新梢の伸長期に葉の黄化現象が問題になっている。¹⁾これに関して、筆者らが調査した河原町の事例によると、^{1,2)}クロロシス葉を生じた果樹の根圏土壤中には、銅(ボルドー液由来と思われる)が多量に集積している。砂耕法によって高濃度の銅を供給し、これによる梨苗木の無機要素吸収とクロロシス発現の状況を検討した結果から、クロロシス発現には根圏土壤中の銅が土壌的要因として、

無視できない影きょうを与えていると推定されている。³⁾

そこで、本研究では鳥取県東部地域22ヶ所の二十世紀ナシ園を対象に、土壤中の鉄、マンガンおよび銅含量と枝葉の無機組成を調査し、土壤中に多量に集積した銅が樹体による無機要素の吸収と、クロロシスの発現に及ぼす影きょうについて検討することにした。

材料および方法

- (1) 供試土壌および分析法
調査対象として鳥取市(湖山町, 津の井, 妙徳寺),

*鳥取大学農学部農芸化学科作物栄養学研究室

岩美郡(国府町, 福部村), 気高郡(青谷町, 気高町), 八頭郡(河原町, 郡家町, 八東町)内の, 開園後3年から60年におよぶ22ヶ所の二十世紀ナシ園をえらんだ。

土壌採取は1976年8月中・下旬に行なった。一般的には, それぞれの果樹園で樹勢を代表していると思われる標準木をえらび, その主幹から2mの地点を標準点として, 深さ50cmまでの層を10cm毎に採取した。また, 10ヶ所の果樹園で程度の差はあったが, 徒長枝にクロロシス葉を生じた果樹が認められた。この果樹園の場合には, 標準地点とともに障害樹の主幹から2mはなれた地点の土壌(以下クロロシス土壌と称す)をも採取した。

土壌の分析は風乾細土を用いて行なった。それぞれ置換性塩基含量, pH 4.51 N酢酸アンモニウム(以下1 N酢安と略記す)可溶性鉄(Fe), マンガン(Mn), 銅(Cu), 亜鉛(Zn)含量, および熱塩酸(S.G. 1.10)可溶性Mn, Cu含量を定量した。このうち, 1 N酢安可溶性のものは, 風乾細土10gに100mlの1 N酢安(pH 4.5)溶液を加え, 1時間振とうしたのち, 濾過して得た液をそのまま原子吸光法で定量した。この場合の原子吸光分析に用いた標準液の溶媒は, 抽出液と同一のものを使用した。また, 熱塩酸可溶性のものは抽出液をそのまま脱塩水で希釈して, 原子吸光法によって定量した。

(2) 枝葉の採取と分析法

土壌試料の採取と同時に, 標準木から5~6本の徒長枝を採取した。きり取った枝の中心から先端部と基部に分け, それぞれについて, 葉と枝を2.5%酢酸水, ついで脱塩水で洗浄したのち60℃で乾燥した。ただし, 枝はあらかじめ長さ1cmほどに細断してから乾燥した。

葉および枝の乾燥物を粉末にし, 全窒素(N)はその一定量をサルチル酸・硫酸混液で分解したのち, ネスラ

一法で比色定量した。他の要素については, 試料粉末を湿式分解し, それぞれリン(P)はGomori法⁵⁾による比色定量法, カルシウム(Ca)およびカリ(K)は炎光分析法, また鉄(Fe), マンガン(Mn), 銅(Cu)および亜鉛(Zn)は原子吸光法によって定量した。また, 先端葉についてのみOserkowsky法⁶⁾によって, 活性Fe含量を定量した。なお, 障害樹についてはクロロシス葉を着生した徒長枝のみを採取し, 同様に処理して分析を行なった。

実験結果

(1) ナシ園土壌の分析結果

各ナシ園標準地点の土壌(以下正常土壌と略記す)とクロロシス土壌の0~30cm層, 合計36点の試料について, 置換性塩基含量および1 N酢安可溶性微量金属含量の平均値を第1表に示す。

これによって正常土壌とクロロシス土壌を比較すると, 微量金属中FeとCu含量にのみ有意差がみられクロロシス土壌はFe含量が少なく, Cu含量が多い。

クロロシスの発現がみられた果樹園はクロロシス土壌について, また, その他の果樹園は正常土壌について, それぞれ1 N酢安可溶性Fe含量の関係を第1図に示した。クロロシスは0~30cm層内のFe含量が50ppm以下, Cu含量が30ppm以上の場合に発現していることがわかる。

地質母材別に各土壌の重金属含量を示すと, 第2表のとおりである。これらのうち, 礫岩・砂岩質土壌には, 比較的腐朽が進み砕屑な角礫の混入が認められる。鳥取県地質図説明書⁷⁾によると, この礫は下位の河原火砕岩層に由来するもので, 安山岩が主体をなしている。また, 泥質源変成岩質土壌は地質母材が古く, 古生界に堆積し

第1表 土壌の塩基状態及び微量金属元素含量と果樹のクロロシス発現

土 壌	置 換 性 塩 基				1 N酢安 (pH 4.5) 可 溶			
	K	Mg	Ca	Ca ¹⁾	Fe	Mn	Cu	Zn
	me	me	me	%	ppm	ppm	ppm	ppm
正 常 土 壌	1.12	2.60	6.48	25.3	50.5	38.1	16.8	5.8
クロロシス土壌	1.39	3.21	6.52	33.5	28.5*	40.3	45.6**	8.6

1) 飽和度

*, **: 5%および1%の水準で正常土壌とクロロシス土壌の間に有意差あり。

第2表 ナシ園土壤(0~30cm)の1N酢安(pH 4.5)可溶性重金属元素含量(ppm)

土 壤	試料数	F e		M n		C u		Z n	
		範 囲	平均*	範 囲	平均	範 囲	平均	範 囲	平均
礫岩・砂岩質土壤	11	21.5~111.0	51.5 ^b	7.6~96.6	35.8 ^{ab}	2.4~125.0	54.9 ^b	1.7~15.6	8.0
安山岩質土壤	9	13.2~75.7	54.0 ^b	12.6~103.0	49.6 ^{bc}	2.1~58.8	20.3 ^a	1.3~16.6	8.4
花崗岩質土壤	9	18.6~62.5	29.8 ^a	16.4~70.8	40.2 ^b	25.5~82.5	45.6 ^b	3.3~7.3	4.8
泥質源変成岩質土壤	3	49.5~120.0	96.1 ^c	6.2~34.8	17.7 ^a	1.2~24.1	12.5 ^a		
泥岩質土壤	2	57.5~91.6	74.6	28.3~97.0	62.6	22.4~44.5	33.5		
火山灰土壤	2	35.0~61.7	48.4	6.9~16.1	11.5	1.8~9.6	4.8		

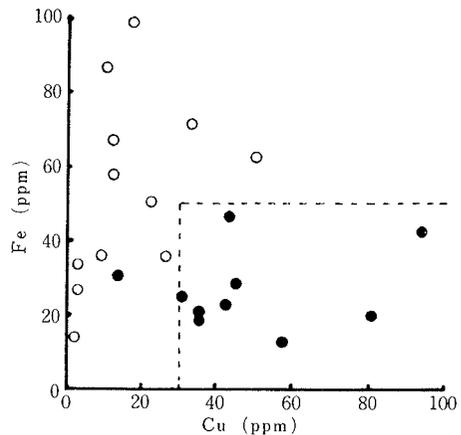
* 異種文字間に有意差あり。

たものの一部で、三郡変成岩類とよばれている泥質起源の黒色千枚岩に由来するものである。

第2表によると、Fe含量はとくに花崗岩質土壤で少なく、泥質源変成岩質土壤で多い。Mn含量は火山灰土壤、泥質源変成岩質土壤で少なく、安山岩質土壤、泥岩質土壤で多い。また、Cu含量をみると、火山灰土壤、泥質源変成岩質土壤、安山岩質土壤で少なく、その他の土壤で多い。とくに礫岩・砂岩質土壤では、100ppmを超える値を示すものがある。

各種土壤を開園後の年数にしたがって、20年ごとにグループ分けし、それぞれの0~30cm層におけるFe、MnおよびCu含量を示すと第3表のとおりである。

総平均値でみれば、Fe含量には開園後の年数による変化がみられておらず、Cu含量が年数の増大とともに増大している。Mn含量は20年までの土壤に比べると、40~60年の土壤は大きな値を示している。しかし、0~10、



第1図 クロロシ土壤のFeおよびCu含量 (●印はクロロシ土壤)

第3表 開園後の年数とFe、MnおよびCu含量の変化(ppm)

土 壤	F e			M n			C u		
	3~20	21~40	41~60	3~20	21~40	41~60	3~20	21~40	41~60
礫岩・砂岩質土壤	30.2	—	56.4	21.6	—	38.9	2.7	—	66.5
安山岩質土壤	26.3	54.4	64.9	15.7	47.8	68.2	8.8	14.4	29.7
花崗岩質土壤	—	35.1	22.5	—	6.4	34.5	—	25.5	41.8
泥質源変成岩質土壤	96.5	—	95.6	19.4	—	15.0	7.6	—	20.0
火山灰土壤	61.7	35.0	—	6.9	11.5	—	1.8	9.6	—
総平均*	58.0	50.0	56.5	18.9 ^a	33.2	46.3 ^b	5.9 ^a	20.3 ^b	53.2 ^c

* 異種文字間に有意差あり。

20~30および40~50cmの3層について、土壌の種類を考慮せずに熱塩酸可溶性のMnおよびCu含量を示した第4表によると、Mn含量の年数あるいは土層の深さによる差は明確でない。この点、Cu含量をみると、年数40年以上の果樹園で上位層ほど集積量が多くなっているのが注目される。

(2) 枝葉の無機組成

土壌と同時に採取した枝葉の無機組成を第5表に示す。

基部葉におけるN含有率の場合を除き、正常なものとクロロシスを呈したものの間には、先端部、基部あるいは枝、葉のいずれであるかを問わず、Mn含有率のみに有意差が認められ、クロロシス葉を生じた徒長枝のマンガ

第4表 熱塩酸可溶性MnおよびCu含量の深さによる変化

土層の深さ (cm)	Mn (%)		Cu (ppm)		
	3~20年	41~60年	3~20年	21~40年	41~60年
0~10	0.113	0.125	67.2	162.1	301.1 ***
20~30	0.109	0.138	44.8	71.3	149.9 ***
40~50	0.111	0.134	33.5	58.5	81.3 ***

*** : 0.1%の水準で二層間に有意差あり。

第5表 枝葉の無機組成 (徒長枝)

試料	要素含有率										
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn		
先端部	葉	正 常	%			ppm					
		クロロシス	2.18	0.16	1.33	1.39	0.46	66.4	122.6 **	19.9	36.9
	枝	正 常	2.27	0.14	1.59	1.38	0.45	77.7	231.2	26.0	36.8
		クロロシス	1.00	0.16	0.78	0.64	0.18	46.6	19.9 ***	21.1	32.1
基部	葉	正 常	1.04	0.15	0.73	0.74	0.16	45.0	31.4	20.5	24.6
		クロロシス	2.09	0.13	1.53	1.46	0.33	78.5	89.5 *	23.6	33.7
	枝	正 常	2.17	0.12	1.68	1.19	0.27	80.3	158.9	28.7	25.9
		クロロシス	0.59	0.12	0.72	0.44	0.11	40.9	14.4 **	16.6	25.9
	枝	正 常	0.66	0.10	0.66	0.46	0.08	39.5	21.2 ***	17.4	19.5
		クロロシス									

*, **, *** : 5%, 1%, 0.1%の水準で正常試料とクロロシス試料の間に有意差あり。

第6表 Ca及び微量重金属元素の土壌中含量と葉中含量の関係

要素	相 関 係 数 (r)	
	先端葉	基部葉
Ca ¹⁾	- 0.119	- 0.162
Mn	0.051	- 0.144
Fe	- 0.021	- 0.471 *
Cu	0.640 **	0.658 ***
Zn	0.062	- 0.387

1) Caは飽和度。

*, **, *** : 5%, 1%, 0.1%の有意水準。

ン含有率が高くなる傾向を示している。また、葉中Fe含有率はクロロシス葉でむしろ高い場合があり、このクロロシスが単純な鉄欠乏でないことを示している。

土壌中のCa飽和度、1N酢安可溶性Fe、Mn、CuおよびZn含量と、それぞれこれら要素の葉中含量率との相関係数を求めて、第6表に示した。

これによると、基部葉のFeを除き、Cuのみに正の高い相関が認められる。このことから、第5表でみられたクロロシス葉中の高いMn含有率は、Mn以外の土壌的要因に負っていることが考えられる。

第1表では、クロロシス土壌が正常土壌よりCu含量の高いことが認められるので、土壌中の1N酢安可溶性Cu含量と、葉中のCa、Fe、MnおよびZn含有率との相関を求めて、第7表に示した。

第7表 土壤中Cu含量と葉中Ca, Fe, MnおよびZn含有率の関係

要素	土壤中Cu含量 の範囲 (ppm)	相関係数 (r)	
		先端葉	基部葉
Mn	0~60	0.642**	0.697**
Ca	20~60	-0.604*	-0.606*
Fe	30~60	-0.772**	-0.639*
Zn	30~60	-0.281	0.321

*, **: 5%, 1%の有意水準。

これによると、先端葉、基部葉ともにMnでは正の相関、またCaおよびFeでは、それぞれ土壤中Cu含量が20および30ppm以上になると、負の相関が認められるようになる。

これらの結果から、葉中のCa, FeおよびMn含有率は土壤中のCu濃度の影きょうを受けており、一般的には、土壤の銅集積量がある量以上に増大すると、葉中のMn含有率は増大し、CaやFe含有率は減少する傾向を指摘することができる。

(3) クロロシス葉の重金属含有率

先端葉について、全Feおよび活性Fe含有率の平均値を第8表に示した。

第8表 先端葉の全Feおよび活性Fe含量(平均値)

葉の状況	1) ¹⁾ 全Fe		2) ²⁾ 活性Fe	
	Fe (ppm)	Fe/N (×10 ⁻³)	Fe (ppm)	Fe/N (×10 ⁻³)
正常葉	66.4	3.48	57.5	2.76
クロロシス葉	77.7	3.43	44.3	1.94

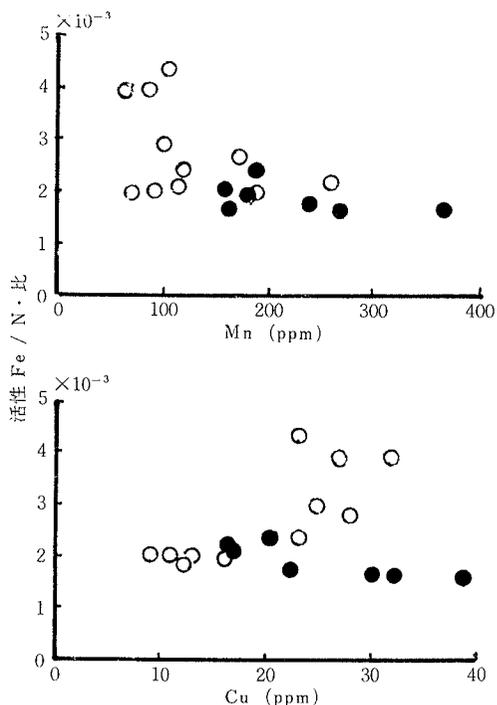
1) 全Fe, 2) 1N, HCl抽出法による。

*: 5%の水準で正常葉とクロロシス葉の間に有意差あり。

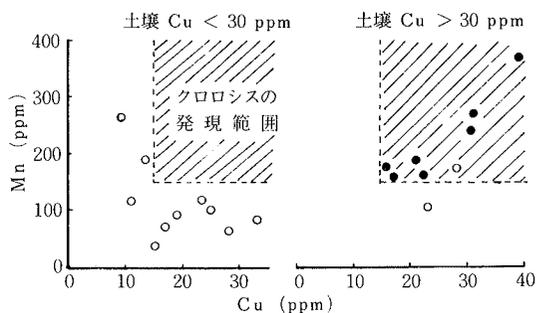
クロロシス葉の全Feおよび活性Fe含有率、あるいは、Fe/N・比は正常葉との間に有意差を示さない。しかし、活性Fe/N・比は明らかにクロロシス葉が小さな値を示す。

葉中のMn含有率あるいはCu含有率と活性Fe/N・比の関係を第2図に示した。

クロロシスは葉中の活性Fe/N・比が 2.5×10^{-3} 以下の



第2図 先端葉中のMnおよびCu含有率と活性Fe/N・比の関係(●印はクロロシス葉)



第3図 クロロシス葉のMnおよびCu含有率の範囲(●印はクロロシス葉)

の場合に発現しているが、この場合のMnおよびCuの含有率をみると、それぞれ150および15ppmが下限値になっている。

土壤中の1N酢安可溶性Cu含量によって試料を二分し、それぞれについて、葉中のMn含有率とCu含有率の関係をみると、土壤中Cuが30ppm以下では、Cuが15ppm以上であってもMnは150ppm以下にとどまっている。そして、土壤Cuが30ppm以上になると、葉中Cu含有率の増加につれて、Mn含有率も150ppm以上に増加する傾向がある。

これらの結果から、クロロシスに対する一義的な土壌要因として、根圏土壤に集積した過剰のCuを挙げるができるであろう。

考 察

鳥取県の東部地域22ヶ所のナシ園から採取した土壌、および枝葉の分析結果から、果樹根圏土壤中の1 N酢安可溶性FeおよびCu含量が、それぞれ50ppm以下および30 ppm以上の果樹園で、徒長枝にクロロシス葉を生じていること、そしてクロロシス葉は緑葉に比べて、MnとCu含有率がともに高くなっていることが明らかになった。

土壌中の可溶性(1 N酢安, pH 4.5)微量重金属含量と、葉中のこれら金属含有率との相互関係をみると、Cuについてのみ有意相関が認められている。MnおよびFeについては、関谷ら⁷⁾および青葉ら⁸⁾のミカン園における場合と同様、有意な相関が認められない。しかし、土壌中のCu含量と葉中のMn含有率の間には正の有意相関があり、クロロシス葉の高いMn含有率が土壌中に高濃度に集積したCuの影きょうを受けた結果であることが示唆される。葉中のFe含有率も土壌中Cuの影きょうを受けており、可溶性Cuが30ppmを超えると低下する傾向がみられる。しかしながら、この葉中Fe含有率の低下がクロロシスの発現に対して直接的に結び付かず、クロロシスの発現には葉中の活性Fe/N・比が問題となっているように考えられる。クロロシス葉の活性Fe/N・比は 2.5×10^{-3} 以下と低く(第8表)、またCuおよびMn含有率もともに高いこと(第5表)から、このクロロシスは単純な鉄欠乏によるというより、むしろ葉内におけるFeの活性低下によるものであり、この低下はCu、Mnなどの過剰吸収によって誘発されていると考えられる。この点は、Cu集積土壌を供試して土耕試験されたナシ苗木で、クロロシス葉のFe含有率が緑葉より高い場合でも、葉面に硫酸第一鉄溶液をスプレーすると、緑色が回復する事実³⁾からも理解される。

クロロシス葉のMn含有率の下限値は150ppm(第3図)であったが、これ以上にMn含有率が增大し、且つクロロシスが発現するためには、土壌中に30ppm以上の可溶性Cuの集積していることが1つの条件になっている。前報³⁾の砂耕試験(培養液掛け流し法)の結果によると、高濃度のCuを与えて生じたクロロシス葉は正常葉(緑葉)に比べて、0.1%の有意水準でMnおよびCu含有率が高くなっているが、第9表に示したごとく、正常葉をみても、Cu供給濃度が高くなると、葉中Mn含有率の増大する傾向がある。

この結果からも、根圏土壤におけるCuの過剰集積が

第9表 Cu供給濃度が緑葉のFe、MnおよびCu含有率に及ぼす影きょう

Cu 供給濃度 (ppm)	含 有 率 (ppm)			
	Fe	Fe/N	Mn	Cu
20	154.0	6.4	61.5	8.8
40	136.2	5.4	80.0	8.3
LSD (5%)	30.0	1.3	17.5	0.9

葉中のMn含有率を高める要件の1つとなることが明らかである。

このような土壌中のCuについて、調査園のうちから5ヶ所の果樹園をえらび、熱塩酸分析の結果から標準地点の1 m²当り、深さ50cmまでの集積量を試算すると、第10表に示すようになる。

これによると、30年以上を経た果樹園は20年までのものに比べて、Cuの集積増は10a当り50~100kgに達していると推定される。ボルドー液用として、年間10a当り10~15kgの硫酸銅(Cuとして2.5~3.75kg)が使用されていたとすれば、過去20年間の連年使用でCu総量は10a当り50~75kg、また30年間の使用で75~112.5kgとなる。これらの値は第10表に試算した結果に十分匹敵する値である。

結果の表示を省略したが、調査園の下層土は酸性化の進んだものが多く、全調査地点の70%以上は土壌pH(H₂O)が4.5以下であった。ナシ園土壌のCu溶解度²⁾はpHが5.0以下になると急激に増大するので、Cu集積果樹園におけるクロロシスの発現は、顕在化した酸性障害の1つと見做すこともできる。したがって、Cu集積量の多い果樹園では下層土の酸度矯正が急務である。とくに、Fe含量の少ない花崗岩質土壌では格別の配慮が必要であろう。

従来、類似のナシ葉クロロシスについて、Ca欠乏あるいは葉中Ca/K・比のアンバランスが原因をなしている場合が報告^{9,10)}されている。本研究の場合、クロロシス葉と正常葉の間にCa含有率の有意差が認められていないが、土壌中のCu含量が20ppm以上になると、葉中のCa含有率が低下する傾向がみられた。培地中のCu濃度が増加すると、枝葉のCa含有率が低下することは、前報³⁾の砂耕試験の結果においても認められているので、土壌の酸度矯正

第10表 1 m² 当り深さ50cmまでの土層中に集積したCu量 (g)

深 さ (cm)	火山灰土壤	安山岩質土壤	礫岩・砂岩質土壤	礫岩・砂岩質土壤	花崗岩質土壤
	8 年	21 年	36 年	46 年	50 年
0~10	5.6	4.3	34.0	66.6	35.7
10~20	4.0	3.5	22.9	34.4	34.0
20~30	4.5	3.3	10.3	17.4	10.9
30~40	4.3	4.0	5.7	9.1	7.7
40~50	2.4	3.5	5.6	3.5	7.0
合計量	20.8	18.6	78.6	131.0	95.3

が不十分であると、果樹のCa栄養の面からも問題が生ずる可能性がある。この点、上記の報告例⁹⁾と照らし合わせると相通ずるものがあり、肥培管理上留意すべき事項と考えられる。

なお、土壤中の可溶性Cu含量と鉛 (Pb) 含量の関係についても、表示を省略したが、両者の間には高い有意相関 ($r = 0.852^{***}$) が得られている。一般的に云えば、Pbの集積量はCu量の約30%に相当している。このPbが殺虫剤として使用された亜砒酸塩、あるいは砒酸塩に由来するとすれば、当然のことながら、古い果樹園の土壌中にはかなりの量の砒素 (As) 集積があるものと予想される。CuのほかさらにPb, Asなどの影きょうを考えると、古い果樹園でみられるクロロシスは、単純な酸性障害といった問題ですまされなくなる。今後、土壌生態系についても詳細な検討を進めて、抜本的な対策を講ずる必要がある。

要 約

8月中・下旬に、鳥取県東部地域22ヶ所のナシ園 (二十世紀) 土壌 (36点) 中の微量金属元素含量と枝葉の無機組成を調査し、クロロシスの発現に及ぼす土壌中Cuの影きょうについて考察を試みた。

得られた結果はつぎのとおりである。

(1) 徒長枝先端葉にクロロシスを発現した果樹園の根圏土層 (0~30cm) 中の、1 N酢安 (pH 4.5) 可溶性FeおよびCu含量は、それぞれ50ppm以下、および30ppm以上であった。

(2) 土壌中の可溶性Cu含量は 1.8~ 125.0ppmであったが、開園後40年以上を経た果樹園で、上位層ほど多くなっている。

(3) 土壌中の微量金属含量と葉中のこれら金属含有率との相互関係をみると、Cuについてのみ高い有意相関が認められた。

(4) 土壌中のCu含量が20~30ppm以上に増大すると、葉中のCaおよびFe含有率は減少し、Mn含有率は増大する傾向がみられた。

(5) クロロシス葉は正常葉に比べて、活性Fe/N・比が低く、CuおよびMn含有率はともに高かった。

(6) 土壌中の可溶性Cu含量が30ppm以上の場合に、葉中のCuおよびMn含有率は、それぞれクロロシス発現の下限値である15および 150ppmを超える値を示した。

文 献

- 1) 長井武雄・古賀英明：鳥大農研報, 27 34 (1975)
- 2) 長井武雄・山内益夫：鳥大農研報, 27 42 (1975)
- 3) 長井武雄：鳥大農研報, 28 10 (1976)
- 4) 鳥取県企画室：鳥取県地質図説明書, 鳥取 (1966) pp. 3~40
- 5) 高橋泰常：生化学領域における光電比色法 各論2, 関根隆光ら編, 南江堂, 東京 (1958) p.13
- 6) Oserkowsky, J. : *Plant Physiol.*, 8 449 (1933)
- 7) 関谷宏三・青葉幸二：果樹試報, A2 77 (1975)
- 8) 青葉幸二・関谷宏三：果樹試報, A3 17 (1976)
- 9) 山根忠昭・松浦一人・山路健・小豆沢芹：島根農試研究報告, 11 52 (1973)
- 10) Lindner, R. C. and C. P. Harley : *Plant Physiol.*, 19 420 (1944)