

Giberellic acid와 Absciscic acid가 大麥種子 및 鞘葉에서 核酸合成에 미치는 影響

徐 鎔 澤

全南大學校 農科大學 農化學科

(1978년 3월 18일 수리)

The Effect of Gibberellic and Absciscic Acids on The Synthesis of Ribonucleic Acid in Seeds and Coleoptiles of Barley

Seu, Yong Taik.

Dept. Agricultural Chemistry, College of Chun Nam National University

Kwang Ju, KOREA

(Received March 18, 1978)

SUMMARY

Barley embryoless half seeds were incubated in medium containing $10\mu\text{M}$ GA. Time course activity changes of α -amylase were studied in extract and medium separately by the addition of $0.1\mu\text{M}$, $5\mu\text{M}$ and $10\mu\text{M}$ ABA in midcourse incubation of 10 hours after GA treatment. MAK profiles of nucleic acids in embryoless half seeds were compared either with $10\mu\text{M}$ GA treatment or concomitant treatment with $10\mu\text{M}$ GA and $10\mu\text{M}$ ABA after 10 hours incubation. Time course changes of weight increase, chlorophyll, protein and RNA content in addition to RNase activity were studied in the presence of $10\mu\text{M}$ GA or $10\mu\text{M}$ ABA in barley coleoptile sections. After 20 hours incubation in the presence of plant hormones, MAK profiles of nucleic acids and relative distribution of polysome and monosome were investigated. The above results were summarized as follows.

- 1) The production of α -amylase by treatment with GA alone increased at a linear rate in the incubation period and the active secretion of α -amylase began from 18 hours incubation in embryoless half seeds.
- 2) On the contrary to the partial inhibition by addition of $0.1\mu\text{M}$ ABA, the production of α -amylase was completely inhibited by both $5\mu\text{M}$ and $10\mu\text{M}$ ABA within 4 hours. Regardless of concentration of GA, the addition of $5\mu\text{M}$ ABA in midcourse completely inhibited the production of α -amylase.
- 3) ABA treatment gave no effect on the secretion of α -amylase.
- 4) There were no differences in RNA fractions between GA treatment and concomitant treatment with GA and ABA in the barley embryoless half seeds.
- 5) While GA treatment increased the r-RNA fraction, ABA treatment decreased it and increased the s-RNA fraction in the coleoptile sections.

- *6) GA treatment increased RNA-DNA fraction but ABA treatment decreased it in the coleoptile sections.
- 7) While GA treatment suppressed RNase activity, ABA treatment increased it in the coleoptile sections.
- 8) GA treatment gave no great effect on the total RNA but ABA treatment remarkably diminished it in the coleoptile sections.
- 9) While GA treatment increased the growth and chlorophyll content, ABA treatment decreased them in the coleoptile sections.
- 10) GA treatment increased the protein synthesis and polysome formation but ABA treatment decreased them in the coleoptile sections.
- 11) The inhibition effect of ABA on polysome formation seemed to be resulted from the inhibition of r-RNA synthesis by ABA.

I. 緒 論

Abscicic acid (ABA)는 植物의 生長抑制, 落葉促進 및 種子의 發芽抑制等 植物의 老化現象에 關與하는 植物 hormone^{2, 54)}으로서 植物의 生理的 및 生化學的인 面에서 많은 研究의 對象이 되어 왔다. 1965年 Ohkuma⁶⁹⁾는 木花의 아래에서 天然 生長抑制物質을 分離하여 그 化學構造를 밝히고 이를 abscisin II 라 命名하였다. Eagle²⁸⁾은 長日條件下에서 生長한 벚나무 幼苗(betula)의 잎에 短日에서 자란 벚나무의 抽出液을 處理하여 休眠에 關여하는 植物 hormone을 dormin이라고 命名하였다.

한편 Cornforth²²⁾는 sycamore(platanus) 잎의 methanol 抽出液에서 分離한 dormin은 abscisin II 와 同一한 構造의 化合物임을 밝혔고 Tsukamoto¹⁰⁷⁾도 양과와 生長抑制物質이 abscin II 라고 하였으며, Ohkuma⁶⁹⁾ 및 Cornforth²²⁾ 등은 dormin 과 abscin II 의 名稱을 ABA로 통일하기로 合議하였고 Addicott²⁾에 依해서 最初로 ABA란 名稱이 使用되었다. ABA는 3개의 isoprene 單位로 構成된 sesquiterpene이며, Robinson⁷⁸⁾은 이의 合成初期가 gibberellic acid의 合成經路와 同一하게 mevalonate로부터 이루어진다고 하였으나 Addicott¹⁾는 ABA가 violaxanthin의 光分解 또는 生理的 酸化物이라고 하였다. Millborrow⁶⁵⁾에 依하면 ABA의 合成部位는 chloroplast이고 Ingersoll⁴³⁾은 木花에서 ABA의 移動速度는 時間當 20~30mm이며 McComb⁶²⁾은 완두의 幼苗에서 gibberellic acid₃ (GA)의 그것은 50mm程度라 하였다. Millborrow⁶⁵⁾ 및 Rudnicki⁷⁹⁾에 依하면 一般의으로 ABA의 含量이 種子보다 果肉에서 5~6배 많다고 하였고 So-

ndheimer⁸⁸⁾는 양물뿌레 나무의 種子를 低溫處理하면 ABA의 含量이 減少함을 밝혔고 Wright¹¹⁵⁾는 水分障礙가 ABA의 含量을 增加시킨다고 하였다.

Millborrow⁶⁴⁾는 GA 및 cytokinin에 依한 種子發芽 促進作用을 ABA가 阻害한다고 하였고, Leopold⁵⁹⁾는 auxin, GA 및 cytokinin에 依한 植物生長 促進作用을 ABA가 阻害한다고 하였다. Thomas¹⁰⁴⁾는 벚나무의 休眠이 ABA와 GA類間의 平衡에 依하여 調節된다고 하였고, Blaydes¹⁰⁾는 ABA가 귀리 鞘葉의 伸張을 阻害함과 同時에 RNA의 合成을 阻害한다고 하였다. Shih⁸⁴⁾는 고구마 塊莖에서 GA 處理는 RNA 및 DNA의 合成을 促進시키거나 ABA는 이들의 合成을 抑制시킨다고 하였고, Viller¹¹⁰⁾는 부평초(Lemna)에서 ABA 處理가 核酸合成 특히 DNA의 合成을 阻害시킨다고 하였다.

Walton¹¹¹⁾은 切取한 콩 胚軸部에서, 그리고 Wareing¹¹³⁾은 홍당무잎에서, ABA 處理는 r-RNA, t-RNA 및 DNA 內에의 P-32 incorporation을 強力히 阻害시킨다고 하였으나 Haber²⁹⁾는 GA에 依한 상치種子 發芽促進作用이 ABA에 依해 阻害되나 DNA의 合成에는 別 影響을 주지 않는다고 하였다. Chrispeels¹⁷⁾는 大麥 糊粉層에 GA 및 ABA 處理가 RNA 속으로 C-14 uridine은 incorporation 하는데에 別 影響을 주지 않는다고 하였으나 Chandra¹³⁾와 Varner¹⁰⁹⁾는 大麥 糊粉層에 對한 GA의 處理는 s-RNA로 核酸前驅物質의 incorporation을 促進시키나 ABA는 이를 抑制하며 GA에 依한 hydrolase의 增大는 RNA의 特異한 劃分의 合成과 關係되는데 ABA는 GA에 依한 이 核酸劃分의 合成을 阻害한다고 하였다.

Kahn⁴⁹⁾은 배(梨)胚芽에 GA 처리가 s-RNA, DNA, RNA 및 light r-RNA로의 P-32 incorporation을 촉진시키나 ABA는 이를 억제한다고 보고한 바 있다. ABA에 의한 핵산합성의沮害原因으로서 Pearson⁷⁵⁾은 ABA에 의한 chromatin의 활성抑制를 들고 있으나 Leshem^{55, 66)} 등은 RNase의 활성增大에 의한다고 하였다. Poulson⁷³⁾은 대麥 잎의 GA 처리는 chlorophyll, RNA 및蛋白質의 量을 增加시키나 ABA는 이들의 量을 減少시킨다고 하였고 GA나 ABA 처리는 monosome과 polysome의 相對의 分布에 큰 影響을 준다고 하였으며, Varner³¹⁾도 대麥 糊粉層에 GA 및 ABA를 處理하여 monosome과 polysome의 分布에서 Poulson⁷³⁾과 同一한 結果를 發表하였다. 그러나 Bonnafous¹²⁾는 대麥 鞘葉의 ABA 처리는 핵산의 合成 및 polysome의 形成에 影響을 주지 않는다고 하였고, Chen¹⁴⁾은 小麥胚芽에, 그리고 Pearson⁷⁶⁾은 小麥 잎에 ABA를 處理하여 Bonnafous¹²⁾와 同一한 結果를 發表하였다.

Walbolt¹¹²⁾는 콩 胚軸에 0.1 μ M 내지 10 μ M의 ABA를 處理하였을 때 10 μ M의 濃度에서 最高의 핵산合成沮害를 보였으며, 經時的인 핵산合成沮害는 ABA 處理 18時間에서 最大에 達한다고 하였으며, Walton¹¹¹⁾은 콩 胚軸에 ABA를 處理하였을 때 5時間 以內에서는 P-32의 incorporation에 影響을 주지 않으나 處理 時間을 12時間으로 延長하면 incorporation이 현저하게 沮害된다고 報告한 바 있다. ABA 및 GA 처리가 RNA 및 polysome의 形成에 影響을 준다는 Poulson⁷³⁾의 結果와 影響을 주지 않는다는 Bonnafous¹²⁾의 結果와는 서로 다른데, 이는 Poulson⁷³⁾이 ABA 處理 6時間 培養시킨데 對하여 Bonnafous¹⁴⁾는 5時間 培養시켰다. 種子에 GA 처리가 α -amylase나 RNase 등 加水分解酵素의 合成을 促進시키나 ABA는 이들의 合成을 抑制한다는 報文들이 있다. Chrispeels¹⁰⁾은 대麥 糊粉에 0.1 μ M GA를 處理하고 11時間 培養 後 5 μ M ABA를 첨가하였을 때 2~3時間 以內에 完全히 α -amylase의 生成을 沮害한다고 하여 5 μ M ABA가 GA에 依한 α -amylase 生成沮害의 限界濃度라 하였으며, 10 μ M GA와 5 μ M ABA를 同時에 첨가하여 培養하면 24時間後에 α -amylase 生成이 70% 以上 沮害된다고 하였다.

著者는 Chrispeels¹⁰⁾의 0.1 μ M보다 더 高濃度인 10 μ M GA를 대麥 無胚芽半片種子에 첨가 培養 10時間後 0.1 μ M, 5 μ M, 10 μ M ABA를 各各 첨가

培養하여 α -amylase의 生成沮害過程과 GA 및 ABA 處理에 依한 핵酸劃分上의 差異를 살펴 보고자 하였으며, 대麥 鞘葉에 GA와 ABA를 處理하여 兩 hormone이 chlorophyll의 含量, 鞘葉 生體重의 增加, 總 RNA의 含量, RNase의 活性 및 蛋白質의 含量에 미치는 影響을 經時的으로 調査하여 ABA 및 GA의 作用機作을 解明하고 兩 hormone을 處理하여 20時間 培養後 核酸을 分割하고 polysome과 monosome의 相對의 分布를 比較 檢討하여 몇 가지 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

III. 實驗材料 및 方法

1. 材 料

(1) 無胚芽半片種子의 調製 및 培養

供試 대麥品種은 全南 農村振興院에서 分讓받은 세도하다가(*Hordeum Vulgare* Cultivar Sedohadaka)를 使用하였다. 種子를 長軸에 對하여 垂直으로 中央을 잘라 胚芽가 없는 半片種子의 尖端을 切斷하여 버린 無胚芽半片種子를 Chrispeels¹⁰⁾의 方法에 準하여 處理 培養하였다. 即 無胚芽半片種子를 1% NaOCl 溶液에 20分 沈漬 滅菌後 無菌水로 數回 洗滌하고 20% 水分을 含有한 加壓滅菌된 모래 속에 묻어 3日間 前培養시켰다. 50ml들이 三角 flask에 10 μ M GA와 20mM CaCl₂가 含有된 2 μ M 酢酸緩衝液(pH 4.8) 2ml와 無胚芽半片種子 10개 및 30 μ l의 chloramphenicol 溶液(0.5mg/ml)을 加하고 20°C에서 振盪培養시켰다. 培養開始 10時間後 培地의 ABA 濃度가 各各 0.15 및 10 μ M이 되도록 ABA 溶液 0.1ml씩을 加하고 振盪培養을 繼續하면서 4時間 間隔으로 20時間 동안 培地와 無胚芽半片種子別로 分離하고 이들을 α -amylase 活性 測定用 試料로 하였다. 核酸의 分割을 爲하여는 無胚芽半片種子의 前培養期間을 24時間으로 하였다. 20mM CaCl₂와 10 μ M GA를 2 μ M 酢酸緩衝液(pH 4.8) 20ml 및 10 μ M GA와 10 μ M ABA가 混合한 2 μ M 酢酸緩衝液(pH 4.8) 20ml를 100ml들이 三角 flask에 各各 加하고 無胚芽半片種子 100개 및 28 μ l의 chloramphenicol 溶液(0.5mg/ml)을 加하여 20°C에서 10時間振盪培養시킨 無胚芽半片種子를 核酸 分割用 試料로 하였다.

(2) 대麥 鞘葉의 調製 및 培養

대麥 種子는 無胚芽半片種子에서 使用한 것과 同一한 品種을 使用하였다.

種자를 水洗後 1% NaCl 水溶液에 20分間 담았다가 水洗後 1夜 蒸溜水에 沈漬하였다. 나무상자(90×60×8cm)에 vinyl膜을 깔고 蒸溜水로 洗滌된 모래를 두께로 2.5cm 均一하게 깔아 苗床으로 하였다. 種자를 均一하게 播種後 vinyl膜을 씌워 16~18°C의 暗所에서 7日間 放置하였다. 鞘長 2cm 程度의 鞘葉을 떼어내고 Stuber⁹⁷⁾의 方法에 따라 頂點下 3mm 部分을 切斷하여 버린 1.5~1.7 cm의 鞘葉을 使用하였다. 9cm petri dish에 10 μM ABA, 10 μM GA 및 對照區로서 滅菌水 5ml 씩을 各各 加하고 chloramphenicol 水溶液(0.5mg/ml) 70 μl 씩을 첨가한 후 여기에 鞘葉 500mg 씩을 浮游시키고 16~18°C의 暗所에서 放置하였다. 10 時間 間隔으로 30時間 동안 培養시켜 生體重, 蛋白質 및 chlorophyll 含量 測定用 試料로 하였다.

RNase의 活性 및 總 RNA의 量을 比較하기 위하여는 10 μM ABA, 10 μM GA 및 無菌水가 各各 5ml 씩 含有된 50ml 들이 三角 flask에 鞘葉 500mg 및 chloramphenicol 水溶液(0.5mg/ml) 70 μl 를 加하고 16~18°C의 暗所에서 5時間 間隔으로 30時間 振盪培養시킨 鞘葉을 使用하였다. 核酸의 成分比 調査用 試料은 10 μM ABA, 10 μM GA 및 無菌水 10ml가 各各 含有된 100ml 들이 三角 flask에 鞘葉 2g과 140 μl의 水溶液 chloramphenicol (0.5 mg/ml)을, 그리고 polysome 分劃用 試料은 100 ml 드리 三角 flask에 鞘葉 6g, chloramphenicol 水溶液(0.5mg/ml) 280 μl 및 10 μM ABA, 10 μM GA 및 無菌水 20ml 씩을 加하고 16~18°C의 暗所에서 20時間 振盪培養시켰다.

2. 方 法

(1) α-amylase 活性의 測定

酵素液의 調製 및 活性의 測定은 Chrispeels¹⁸⁾와 Shuster⁸⁵⁾의 方法에 準하였다. 所定時間培養後 培養液을 分離하고 無胚芽半片種자를 蒸溜水 1ml 다음 2.9ml의 順으로 洗滌하여 이를 培養液과 合하여 4°C에서 5000rpm으로 30分間 遠心分離한 後 上滲液을 -20°C에 保管하고 培地의 α-amylase 酵素液으로 하였다. 無胚芽半片種자는 4°C의 mortar에 옮기고 冷 0.2M NaCl 溶液 6ml 를 加하여 磨碎하고 上記와 同條件下에서 遠心分離하여 保管하고 抽出液의 α-amylase 酵素液으로 하였다. 150mg의 고무마 澱粉 및 600mg의 KH₂PO₄, 그리고 200 μM의 CaCl₂에 蒸溜水를 加하여 100ml로 定容한 後 1分間 沸騰하고 常溫으로 冷却시킨 後 2000rpm에서 10分間 遠心分離하여 上

滲液을 澱粉溶液으로 하였다. KI 6g과 요오드 600 mg을 100ml의 蒸溜水에 녹히고 이것을 0.05N-HCl로 1000倍 稀釋하여 요오드 溶液으로 하였다. 試驗管에 酵素液 0.2ml, 蒸溜水 0.8ml 및 澱粉溶液 1ml를 넣고 25°C에서 正確히 5分間 放置하였다. 요오드 溶液 1ml를 加하여 反應을 中止시키고 여기에 蒸溜水 5ml를 더 加한 후 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 波長 620 nm에서 吸光度를 測定하였다. 吸光度 0.1의 變化를 1 unit로 하였으며, 該當時間의 培地와 抽出液에서 各 unit의 合計를 總 α-amylase unit로 表示하였다.

(2) 無胚芽半片種자 및 鞘葉에서 methylated albumin kieselguhr(MAK) column chromatography用 核酸의 抽出

Bentonite의 精製는 Fraenkel-Conrat³⁴⁾의 方法으로, 그리고 核酸의 抽出은 SDS-phenol²⁰⁾法에 依하였다. 試料에 飽水 phenol 6ml 및 sodium dodecyl sulfate(SDS)와 bentonite가 各各 1% 및 0.5% 含有된 versene 緩衝液(pH 5.0:0.01M versene 0.1M sodium acetate, 0.1M sodium chloride) 3 ml를 加하여 mortar에서 磨碎하였다. 4°C에서 8000rpm으로 30分間 遠心分離하여 緩衝液層을 分取하고 phenol 層을 同 緩衝液 1.5ml로 再抽出하여 이를 緩衝液層에 合하였다. 緩衝液에 溶存하는 phenol을 除去시키기 위하여 無水 ether 15ml 씩으로 3回 抽出하여 버린 후 冷 95% ethanol 10ml 를 加하여 核酸을 沈澱시켰다. 核酸沈澱物에 SDS와 bentonite가 含有되지 않은 同 versene緩衝液 5ml를 加하여 核酸을 溶解시킨 후 冷 95% ethanol 10ml를 加하여 核酸을 再精製하였다.

(3) MAK column chromatography

市販의 hyflo-supercel(Johns-Manville Products Corp., New York) 100g을 IN NaOH 400ml, 蒸溜水, 400ml의 IN HCl溶液, 蒸溜水의 順으로 洗滌한 후 風乾시켰다. bovine serum albumin fraction V(Sigma Co製)의 methyl化 및 MAK column의 作成은 Mandell⁸¹⁾의 方法에 依하였다. 3개의 beaker (100ml 2개, 50ml 1개)에 前處理한 hyflo-supercel 8g(第1層用), 6g(第2層用), 1g(第3層用)을 各各 取하고 第1層用에 0.1M buffered saline [0.1M NaCl-0.05M 磷酸 buffer(Na₂HPO₄·12H₂O-KH₂PO₄) PH 6.7] 40ml, 第2 및 第3層用에는 0.4M buffered saline [0.4M NaCl-0.05M 磷酸 buffer(Na₂HPO₄·12H₂O-KH₂PO₄) PH 6.7] 40ml 및 10ml를 各各 넣어 교반하면서 沸騰할

때까지 加熱하고 室溫으로 冷却시킨다. 第1層用 beaker 1% methylated albumin에 水溶液 2.0ml 를 加하고 교반하면서 0.1M buffered saline 15ml 를 추가하였다.

Column(40×1.8cm)의 밑바닥에 脫脂綿을 깔고 第1層用의 全量을 column에 옮긴다. Cock를 열어 第1層上 5mm까지 流下시키고 다시 0.1M buffered saline 20ml를 column의 기벽을 따라 조심스럽게 加한후 水壓下에서 第層上 3mm까지 流下시켰다. 第2層用 beaker에 methylated albumin kieselguhr 현탁액 10ml를 加하여 교반하고 全量을 column의 第1層上에 옮긴다. 流下 및 洗滌은 第1層에서와 同一한 方法으로 行하였다. 第3層用의 內容物을 column의 第3層에 옮기고 0.4M buffered saline 100ml를 水壓下에서 第3層上 3mm까지 流下시켰다. 0.4M buffered saline 50ml에 核酸沈澱物을 溶解하여 全量을 column上에 注入하였다. 水壓下에서 2分間에 1.0ml의 流速으로 第3層上 2~3mm까지 流下시키고 다시 0.4M buffered saline 10ml

同 磷酸緩衝 3ml를 추가하고 column을 濃度勾配溶出裝置에 連結하였다. 流速速度는 時間當 20ml로 하였고 0.05M 磷酸緩衝液(PH 6.7)에서 NaCl 濃도가 0.4M부터 1.6M까지의 直線의 濃度勾配로 하였으며 tube 當 5ml씩 分劃하였다. 各 時刻는 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 波長 260nm에서 吸光度를 測定하였다.

(4) 韮葉 生體重의 測定

所定時間 培養 後 培養液을 버리고 濾紙로 韮葉表面의 水分을 吸收시킨 後 常法에 依하여 濕重을 測定하였다.

(5) Chlorophyll의 測定

Colquhoun²³⁾의 方法에 依하였다. 試料에 11ml의 80% ethanol을 加하고 cell homogenizer에서 10時間 磨碎하였다. 5000rpm에서 20分間 遠心分離하여 上澄液을 分離하고 沈澱에 80% ethanol 5ml를 加하여 80°C의 水槽에서 6分間 沸騰시킨후 다시 上澄液을 合하고 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 波長 665nm에서 吸光度를 測定하였다.

(6) 蛋白質의 定量

Chlorophyll을 抽出하여 버린 沈澱을 冷 20% TCA 溶液 5ml, 冷 80% ethanol 5ml 및 ether/ethanol/chloroform(2:2:1) 5ml 順으로 各 二回씩 洗滌하여 上澄液을 버리고 沈澱에 1N NaOH 溶液 6ml를 加하여 水浴上(80°C)에서 10分間 放置後

8000 rpm에서 20分間 遠心分離하여 蛋白質을 抽出하고 1N NaOH 溶液으로 上澄液을 2倍 稀釋하여 Lowry⁵⁰⁾의 方法에 따라 蛋白質을 定量하였다. 試驗管에 1ml의 colorimetric 溶液(100:2% Na₂C₂O₃ 0.1N NaOH 溶液 1:0.5% CuSO₄ 溶液 1:1% Rochelle 鹽溶液) 및 0.1ml의 上澄液을 加하고 35°C에서 15分間 放置하고 Fohlin 試藥 3倍稀釋液 0.1ml를 加하여 暗所에서 30分間 放置하였다. 蒸溜水를 加하여 5ml로 稀釋하고 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 750nm에서 吸光度를 測定하였으며, 標準曲線을 위한 蛋白質로는 bovine albumin fraction V를 使用하였다.

(7) RNase 活性의 測定

Dalby²⁴⁾의 方法에 依하였다. 韮葉에 冷 0.5M KCl 0.05M Tris-HCl 緩衝液(PH 7.5) 20ml를 加하여 冷却된 mortar에서 마쇄 抽出하였다. 試驗管에 酵素液 1ml, 0.1M sodium citrate緩衝液(PH 5.4) 1ml 및 0.4% 酵母 RNA 溶液 0.5ml를 넣고 37°C의 恒溫水槽에서 25分間 正確히 振盪培養後 0.75% uranyl acetate 含有 25% perchloric acid 溶液 0.5ml를 加하여 遠心分離시켜 上澄液을 15倍 稀釋하고 260nm의 波長에서 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 吸光度를 測定하였다.

(8) 總 RNA의 測定

Ogur와 Rosen⁶³⁾의 方法에 依하였다. 韮葉에 冷 70% ethanol 10ml를 加하고 4°C의 mortar에서 磨碎하고 4°C에서 4000rpm으로 20分間 遠心分離하였다. 沈澱에 冷 0.1% perchloric acid 含有 70% ethanol 10ml를 加하여 현탁시키고 同 條件下에서 再遠心分離시켰다. 沈澱을 ethanol-ether(3:1) 5ml로 현탁 水浴上에서 3分間 沸騰시키고 4°C-8000rpm에서 30分間 遠心分離하는 操作을 2回 反復하였다. 沈澱에 冷 0.2N perchloric acid 溶液 5ml를 加하여 4°C 8000rpm에서 40分間 遠心分離시키는 操作을 2回 反復後 沈澱에 1N perchloric acid 溶液 5ml를 加하여 4°C에서 18時間 放置하였다. 4°C에서 8000rpm으로 40分間 遠心分離하고 다시 沈澱을 同量의 1N perchloric acid 溶液으로 洗滌하여 上澄液을 合하고 Shimadzu製 MPS-600을 使用하여 260 nm의 波長에서 吸光度를 測定하였다.

(9) Polysome의 抽出 및 分劃

本 實驗에 使用된 sucrose(和光製:1級試藥)는 Solymsy⁸⁷⁾의 方法에 依하여 diethylpyrocarbonate로 RNase의 活性을 除去시켰고 polysome의 抽

출은 Breen¹¹⁾의 방법에依하였다.

韌葉을 -20°C 로 冷凍시킨 後 -20°C 로 冷却된 mortar에서 粉末化하였다. 0°C 로 加溫하고 8ml의 冷Tris-HCl 緩衝液(PH 8.0 50mM Tris-HCl: 0.25 M sucrose, 0.4M KCl, 20mM magnesium acetate, 5mM mercaptoethanol)을 加하여 현탁시키고 二重 gauze로 濾過한 後 3ml의 同 緩衝液으로 沈澱을 洗滌하여 濾液에 合하였다. 濾液 10ml에 deoxycholate 3mg을 加하여 2°C 에서 $12,000\times g$ 로 10分間 遠心分離하였다. 3개의 5ml들이 cellulose nitrate tube에 各各 下記 現탁 緩衝液에 녹인 1.8 M sucrose 溶液 2ml씩을 加하고 그 위에 同 現탁 緩衝液에 녹인 0.5M sucrose 溶液 2ml씩을 조심스럽게 重層하여 不連續 二層의 sucrose 濃度 勾配液를 만들었다. 不連續 sucrose 濃度 勾配液上에 polysome 抽出液 1ml씩을 重層하고 Hitachi 65P automatic preparative ultra centrifuge의 RPS 65T rotor를 使用하여 4°C 에서 $140,000\times g$ 로 150分間 遠心分離시켰다. 上澄液을 吸入 除去後 現탁 緩衝液(50mM Tris-HCl, PH7.8, 0.20M KCl, 10mM magnesium acetate) 2ml를 써서 3개의 polysome沈澱物을 合하여 現탁시켰다.

Polysome의 分割을 위한 sucrose의 直線的 濃度 勾配는 Davies²⁵⁾의 方法에 依하였다. sucrose는 現탁 緩衝液에 溶解시켰으며 15ml드리 cellulose nitrate tube에 ml當 500mg, 375mg, 250mg 및 125mg을 녹인 sucrose 溶液을 2ml, 4ml, 4ml 및 2ml의 順으로 液層間에 교란이 일어나지 않도록 조심스럽게 重層하고 4°C 에서 24時間 平衡시켰다. Sucrose의 直線的 濃度 勾配液上에 polysome 現탁液을 重層하고 Hitachi 65P automatic preparative ultra centrifuge RPS 25-3 rotor를 使用하여 4°C 에서 $95,000\times g$ 로 150分間 遠心分離하였다. 遠心分離管의 底面까지 直徑 2mm의 teflon tube를 내리고 siphone을 利用하여 試驗管에 11滴씩 分取한 後 蒸溜水 2ml씩을 加하고 Shimadzu製 double beam spectrophotometer UV-200을 使用하여 254nm의 波長에서 吸光度를 測定하였다.

III. 結果 및 考察

1. ABA 및 GA 處理가 大麥 無胚芽半片種子에서 α -amylase 生成에 미치는 影響

$10\mu\text{M}$ GA를 含有한 培地에서 無胚芽半片種子가 生成하는 α -amylase의 消長과 GA 處理培養中

$0.1\mu\text{M}$, $5\mu\text{M}$ 및 $10\mu\text{M}$ ABA 첨가에 依한 α -amylase 生成의 經時的인 消長을 Fig. 1에 그리고 A, BA 濃度別 總 α -amylase 生成量으로 환산한 結果는 Fig. 2와 같다.

GA 單獨 處理區에서 보던 培養 10時間에 培地와 抽出液에서 다같이 α -amylase의 活性을 보였고 培養 10時間부터 24時間까지의 調査에서 總 α -amylase 活性은 經時的으로 볼 때 直線的인 率로 增大되었다. 培地와 抽出液別로 보던 抽出液에서는 培養 10時間부터 18時間까지는 그 活性이 急激히 增大 되다가 그 後 緩慢하여진다 反하여 培地에서는 培養 14時間부터 계속적으로 增大되는데 이는 無胚芽半片種子의 糊粉層에서 生成된 α -amylase가 培養 14時間부터 活潑히 培地로 分泌되는 結果로 생각된다. (Fig. 1)

Onckelen⁷⁰⁾과 Tanaka⁹⁹⁾는 大麥 無胚芽半片種子에서 GA 處理는 8~10時間後에 α -amylase의 活性이 나타난다고 하였고 Chrispeels¹⁸⁾는 大麥에서 分離한 糊粉層에 $1\mu\text{M}$ GA를 處理培養하면 培養 8時間부터 24時間까지 直線的인 率로 總 α -amylase의 活性이 增大된다고 한 結果를 本 實驗의 結果와 比較할 때 GA의 濃도가 α -amylase의 初期生成時期 및 經時的인 消長에는 큰 影響을 주지 않은 것으로 생각된다. Chrispeels¹⁸⁾는 抽出液에서 α -amylase의 活性이 培養 12時間부터 緩慢하여진다고 報告하였다. 그러나 本 實驗에서는 培養 18時間 以後부터 α -amylase의 緩慢한 活性을 보여 Chrispeels¹⁸⁾의 結果와 相異한데 이러한 差異는 試料의 調製方法이 다르기 때문으로 여겨 지는데 本 實驗에서는 糊粉層만을 分離하지 않았기 때문에 α -amylase의 基質인 澱粉의 影響, 物理的인 α -amylase의 分泌障碍 때문에 培地內로 α -amylase의 分泌가 늦어지지 않았는가 생각된다.

本 實驗에서 培養 26時間 後 總 α -amylase의 活性을 比較하면 GA 單獨處理區의 136 unit에 대하여 $0.1\mu\text{M}$ ABA 첨가 區에서는 96unit로서 約 30%의 α -amylase 生成을 沮害시켰고 $5\mu\text{M}$ 및 $10\mu\text{M}$ ABA 첨가區에서는 各各 43 및 44 unit로서 이 兩區間에는 別 差異없이 約 67%를 沮害시켰다. (Fig. 2) ABA 處理에 依한 酵素生成의 沮害過程을 經時的으로 보던 $0.1\mu\text{M}$ ABA 첨가區에서는 ABA 첨가 4時間 以內부터 계속적으로 α -amylase의 生成을 部分的으로 減少시켰다. 한편으로 $5\mu\text{M}$ 및 $10\mu\text{M}$ ABA 첨가區에서는 ABA 첨가 4時間 以內에 완전히 α -amylase의 生成이 沮害되었다.

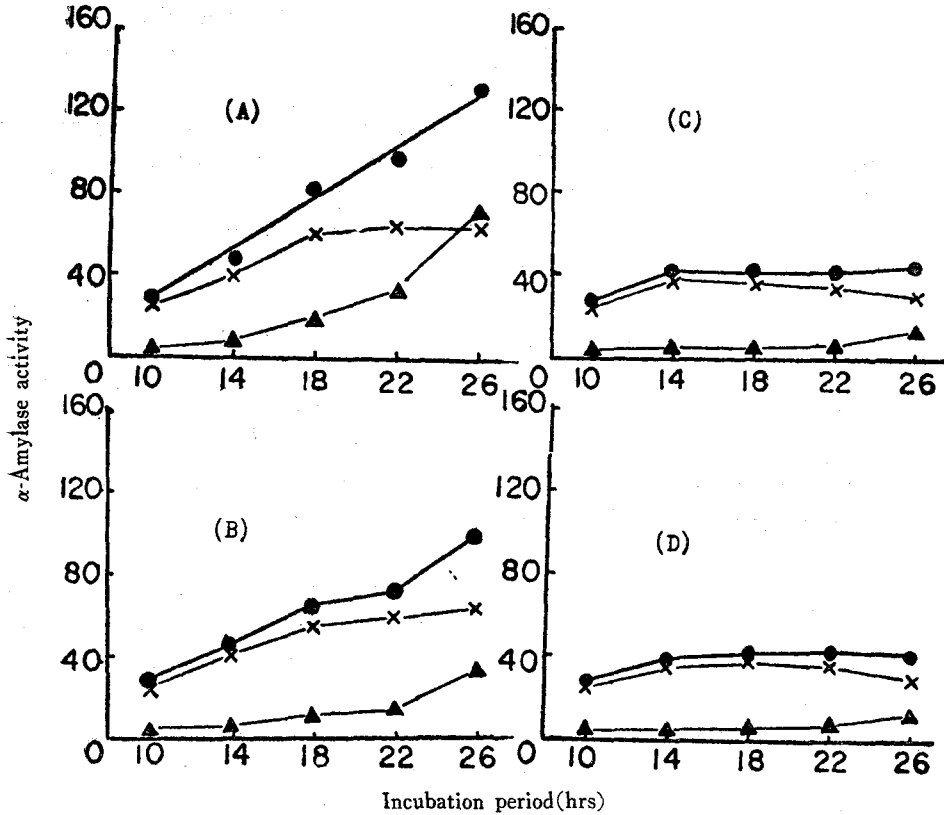


Fig. 1. Time course change of α -amylase activity of barley embryoless half seeds in the presence of GA or ABA

ABA was added after 10 hours incubation in 10 μ M GA.

(A) 10 μ M GA (B) 0.1 μ M ABA (C) 5 μ M ABA (D) 10 μ M ABA

●—● total α -amylase activity ×—× in extract ▲—▲ in medium

(Fig. 1)

Chrispeels⁴⁹⁾는 0.1 μ M GA 및 0.05 μ M GA 처리培養 11시간에 각각 5 μ M ABA 및 10 μ M ABA를 첨가하였을 때 ABA 첨가 2~3 시간 후에 완전히 α -amylase의 생성이 억제된다고 보고하였기 때문에 GA 처리培養中 ABA 첨가에 의한 α -amylase의 생성阻害는 GA의 농도에 관계없이 5 μ M ABA 처리로서 4시간 이내에 완전히 α -amylase의 생성을阻害하는 것으로 생각된다.

培地와 抽出液別로 α -amylase의 活性消長을 比較하면 0.1 μ M ABA 첨가區의 培地와 抽出液에서는 多같이 GA 單獨處理區의 그들에 比하여 緩慢한 增大를 보였으나 5 μ M 및 10 μ M ABA 첨가區에서는 培養 14時間부터 抽出液에서 α -amylase의 活性이 經時的으로 各각 減少하는 傾向을 보이거나 別 差異가 없었고 이들의 培地에서는 經時的

으로 微量 α -amylase의 活性增大가 관찰되었다. (Fig. 1) Jones⁴⁸⁾와 Lidman⁵⁷⁾은 小麥 및 大麥의 糊粉層에 ABA 및 cycloheximide의 處理가 無機ion의 分泌를 抑制시킨다 하였고 Chrispeels⁴⁹⁾는 大麥 糊粉層에 cycloheximide의 處理가 α -amylase의 生成 및 分泌를 抑制시킨다고 하였다. 그러나 本 實驗에서 ABA 處理區의 培地에서 α -amylase의 活性減少는 ABA에 依한 α -amylase의 生成阻害에 依한 結果며 本質的으로 ABA가 α -amylase의 分泌에는 影響을 주지 않은 것으로 생각된다.

2. ABA 및 GA 處理가 大麥 無胚芽半片種子에서 核酸分劃의 成分比에 미치는 影響

GA 및 ABA에 處理된 無胚芽半片種子로부터 核酸⁵⁰⁾을 抽出하여 MAK column chromatography로 分劃하여 本 結果 이들 hormone處理로서 核酸分劃上 別 差異가 없었다. (Fig. 3, Table. 1)

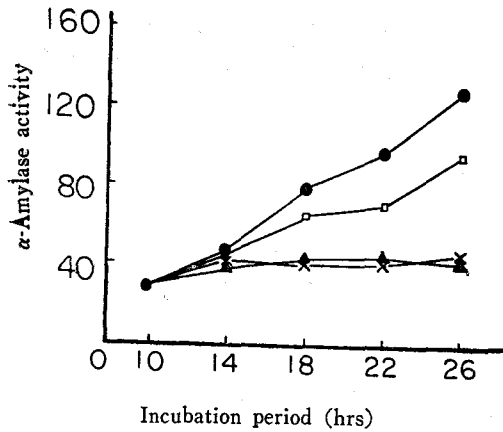


Fig. 2. Time course study of total α -amylase activity of barley embryoless half seeds in the presence of GA or ABA. ABA was added after 10 hours incubation in 10 μ M GA. Activity was measured in medium and in extract. Total unit indicates the sum of these 2 values.
 ●—●—● 10 μ M GA
 □—□—□ 0.1 μ M ABA
 ▲—▲—▲ 5 μ M ABA
 ×—×—× 10 μ M ABA

Kahn⁴⁹⁾은 배(梨) 胚芽에 GA를 處理하여 核酸을 MAK column chromatography로 分割한 結果 GA가 s-RNA DNA-RNA 및 light r-RNA로 P-32의 incorporation을 促進시키나 ABA는 이를 抑制한다고 하였다. Onckelen⁷⁰⁾은 澱粉 密度 勾配

沈降法으로 核酸을 分割한 結果 大麥 無胚芽半片 種子에 GA 處理한 것은 全 RNA 部位로 P-32의 incorporation을 促進시킨다고 하였으며 Zwar¹¹⁶⁾은 acrylamide gel 電氣泳動法으로 核酸을 分割하여 본 結果 大麥 糊粉層에 GA 處理는 4s부터 14s RNA 部位로 均一하게 核酸 前驅物質의 incorporation을 促進시키나 ABA는 이를 抑制한다고 하였고 Chandra¹⁸⁾와 Varner¹⁰⁹⁾는 大麥 糊粉層에 對한 GA의 處理는 s-RNA로 核酸前驅物質의 incorporation을 促進시키나 ABA는 이를 抑制한다고 하였다. Chrispeels¹⁹⁾은 大麥 無胚芽半片 種子를 3 日間 水分을 含有한 모래 속에 前培養시킨 後 GA 및 ABA를 處理하여 核酸을 MAK column chromatography로 分割하여 260 nm의 吸光度를 測定하여 본 結果 核酸分割上에 差異가 無다고 報告한 바 있다.

Onckelen⁷⁰⁾은 大麥 無胚芽半片 種子에서 GA 處理로서 核酸合成이 일어나자 GA處理 12時間 後에는 이의 合成이 저지되는데 있는 RNase의 活性增大에 依한다고 하였고 Chrispeels¹⁸⁾는 大麥 無胚芽半片 種子의 前培養 期間에도 徐徐히 RNase의 活性이 增大된다고 報告하였기 때문에 本 實驗에서는 前培養 期間中에 增大하는 RNase의 活性을 줄이기 위하여 Chrispeels¹⁹⁾보다 前培養 期間을 短縮시켜 1日로 하였으나 이들 hormone 處理 區間에 核酸分割上의 差異를 볼 수 없었다. 이와 같이 本 實驗의 結果는 GA 및 ABA가 核酸

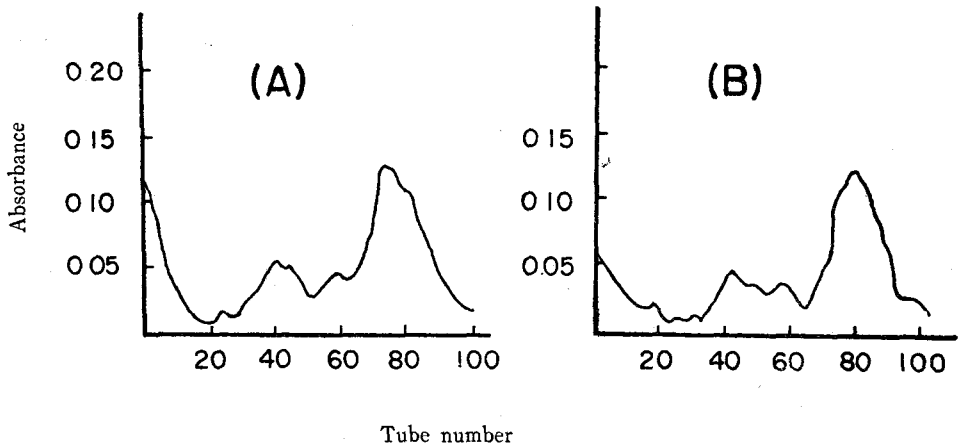


Fig. 3. MAK profiles of nucleic acids of barley embryoless half seeds incubated for 10 hours in the presence of GA or ABA
 (A) 10 μ M GA
 (B) 10 μ M GA + 10 μ M ABA

Table 1. The ratio of RNA component to total RNA

Treatment	Ratio of RNA component(%)		
	s-RNA	DNA-RNA	r-RNA
GA	21.2	7.0	71.8
GA+ABA	21.5	7.1	71.4

의 分割合成에 影響을 준다는 Chandra¹³⁾와 기타 報告^{49, 109)}와는 다른데 Onckelen⁷⁰⁾은 GA가 全 RNA의 合成을 促進시킨다고 하였고 Zwar¹¹⁶⁾은 GA에 依한 核酸의 增加는 全核酸의 1% 以內라고 報告한 바 있기 때문에 本實驗에서 GA 處理區와 GA 및 ABA 混合處理區 間에 分割上 差異를 볼 수 없는 原因은 GA에 依해서 微量으로 增大된 核酸의 增加가 各分割上에 均一하게 分布되기 때문으로 생각된다.

3. ABA 및 GA 處理가 大麥 鞘葉에서 核酸分割의 成分비에 미치는 影響

10 μ M ABA 및 10 μ M GA를 處理 20時間 培養後 核酸의 거동에 對한 GA 및 ABA의 影響을 無處理區와 比較하여 Fig. 4에 그리고 核酸分割의 成分비는 Table 2에 表示하였다.

r-RNA의 含量을 比較하면 無處理區에서는 63.6

Table 2. The ratio of RNA component to total RNA

Treatment	Ratio of RNA component(%)		
	s-RNA	DNA-RNA	r-RNA
Control	22.7	13.7	63.6
GA	18.9	14.8	66.3
ABA	30.5	12.5	57.0

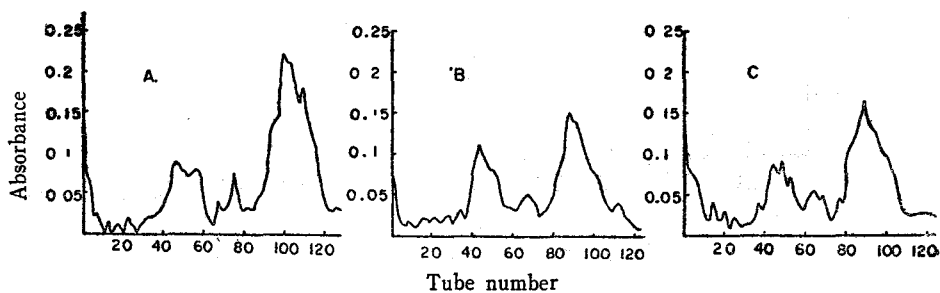


Fig. 4. MAK profiles of nucleic acids of barley coleoptiles incubated in the presence of GA or ABA for 20 hours
(A) 10 μ M GA (B) 10 μ M ABA (C) water

%인데 GA 處理區에서는 66.3%로서 GA 處理는 r-RNA의 含量을 增加시키나 ABA 處理區에서는 57%로서 ABA 處理는 이를 減少시킨 結果를 보였다.

그러나 s-RNA의 劃分에서는 無處理區의 22.7%에 對하여 GA 및 ABA 處理區에서는 各各 18.9% 및 30.5%로서 GA 處理는 s-RNA 劃分の 成分比를 減少시켰으나 ABA 處理는 현저히 이를 增大시켰다. 한편 DNA-RNA 劃分에서는 無處理區, GA 處理區 및 ABA 處理區에서 各各 그 含有比가 13.7%, 14.8% 및 12.5%로서 이들 三區 間에 큰 差異는 없었으나 無處理區에 比하여 GA 處理는 多少 이 劃分이 增加된 反面 ABA 處理는 이를 減少시킨 傾向을 보였다. Clows²¹⁾에 依하면 正常的 植物의 細胞에서 總核酸의 75~80%가 r-RNA라고 하였고 Jo⁴⁶⁾는 小麥 鞘葉을 물에 6時間 培養 後에는 s-RNA의 成分比가 11.5%라고 한 이들의 實驗結果와 比較하여 볼 때 本實驗의 無處理區에서 r-RNA 成分比는 減少된 反面 s-RNA의 成分比는 현저히 增加된 現象을 보였는데 이는 培養時間의 差異에 依한 것으로 생각된다.

Cherry¹⁶⁾는 낙화생의 子葉에서 發芽 12日까지는 RNA의 各 劃分 成分比 間에 變化를 보이지 않으나 그 以後부터 r-RNA 및 m-RNA의 成分은 減少하나 s-RNA 劃分은 增加하는데 이는 RNase의 活性增大와 關係되며 s-RNA 劃分에 r-RNA 및 m-RNA의 分解物이 包含될 수 있다고 報告한 바 있기 때문에 培養期間에 增加된 RNase의 活性 때문에 r-RNA 劃分の 減少 및 s-RNA 劃分の 增加가 일어난 것으로 추측된다. Poulson⁷³⁾은 大麥葉에 ABA의 處理는 p-32의 incorporation을 沮害하나 核酸의 劃分成分比間에는 差異를 주지 않은

다고 하였으나 Kahn⁴⁰⁾은 배(梨) 胚芽에 ABA 處理는 p-32의 incorporation에 있어서 分割間에 差異를 준다고 하였고 Walton¹¹¹⁾은 콩 胚軸에 ABA 處理는 r-RNA로 p-32의 incorporation을 阻害한다고 하였다.

한편 Jo⁴⁶⁾와 Leshem⁵⁶⁾ 등은 ABA 處理에 의한 s-RNA 成分比의 增加 및 r-RNA 成分比의 減少는 ABA에 의한 RNase의 活性增大와 關係된다고 하였다. 本 實驗에서도 ABA 處理로서 RNase의 活性增大가 뚜렷하여 (Fig. 5) ABA 處理에 의한 s-RNA 劃分의 增加 및 r-RNA 劃分의 減少는 RNase의 活性과 關係된 것으로 생각된다. Poulson⁷³⁾은 GA 處理가 全核酸劃分으로 p-32의 incorporation을 促進시킨다고 하였고 Johri⁴⁵⁾는 난장이 완두의 苗에 GA 處理는 全核酸의 合成을 增大시키나 특히 DNA-RNA 劃分의 合成을 促進시킨다고 하였고, Nitsan⁸⁷⁾은 lentil 豆에 GA 處理는 r-RNA 및 DNA의 合成을 促進시킨다고 하였다. 本 實驗에서도 GA 處理가 無處理區 및 ABA 處理區에 比하여 r-RNA 및 DNA-RNA 劃分에서 더 높은 成分比를 보여 줌으로서 Johri⁴⁵⁾, Nitsan⁸⁷⁾, 그리고 Shih⁸⁴⁾ 등과 一致된 結果를 얻었다. 그러나 r-RNA의 成分比는 66.3%로서 正常植物의 組織에서 r-RNA의 成分比가 75~80%라는 clows²¹⁾의 報告值에도 未達한데 이는 經時的으로 多少 增大된 RNase의 活性에 基因한 것으로 생각된다. (Fig. 5.)

Kahn⁴⁰⁾, Overbeek⁷¹⁾ 및 Walton¹¹¹⁾ 등은 ABA가 DNA-RNA 分割合成을 阻害한다고 하였으나 Haber³⁰⁾는 ABA가 상치 種子의 發芽를 促進시키나 DNA의 合成에는 影響을 주지 않는다고 報告한 바 있다. Cherry¹⁵⁾는 낙화생 子葉의 DNA-RNA는 25%의 RNA와 75%의 DNA로 構成된다고 하였고, Hayashi⁴¹⁾는 DNA-RNA의 混成體가 DNA의 遺傳的인 정보를 transcription 하는 中間體라고 하였으며, Kahn⁴⁰⁾은 GA가 DNA-RNA의 混成過程을 통하여 template RNA의 形成을 유도하나 ABA는 이를 抑制한다고 하였는데 ABA에 의한 DNA-RNA 劃分의 減少는 ABA 處理에 의한 RNase의 增加된 活性 때문에 RNA 部分이 分解를 받아 DNA-RNA 劃分의 減少가 招來되지 않았는가 생각된다.

4. ABA 및 GA 處理가 大麥鞘葉에서 RNase의 活性에 미치는 影響

10 μ M ABA 및 10 μ M GA를 處理 培養하면서

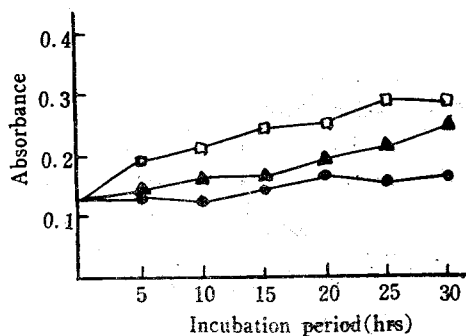


Fig. 5. Effect of GA or ABA on RNase activity during incubation of barley coleoptiles
 —●—●— 10 μ M GA
 —□—□— 10 μ M ABA
 —▲—▲— water

5時間 간격으로 30時間 동안 RNase 活性의 消長을 經時的으로 調査하여 그 結果를 Fig. 5에 表示하였다.

無處理區에 보면 經時的으로 RNase의 活性이 漸增하는 現象을 보였다. 無處理區에 比하여 ABA 處理區에서는 培養 5時間부터 差異를 보여 30時間까지 계속해서 더 높은 RNase의 活性을 보여 줌으로서 大麥鞘葉에 ABA處理는 RNase의 活性을 增大시킨 結果를 보였다. 한편으로 GA 處理區에서는 經時的으로 RNase의 活性이 약간 增大하는 傾向이었으나 無處理區에 比하여는 계속적으로 낮은 RNase의 活性을 보여 줌으로서 大麥鞘葉에 GA 處理는 RNase의 活性을 減少시킨 結果를 보였다. Leo⁵²⁾는 仙芽 잎에, Srivastava⁹⁰⁾는 大麥 잎에, 그리고 Jo⁴⁶⁾는 小麥의 鞘葉에 ABA의 處理가 RNase의 活性을 增大시킨다고 報告한 바 있다. RNase 活性의 變化는 細胞의 水分含量과 密接히 關係되어 Dove²⁷⁾와 Tvorus¹⁰⁸⁾는 細胞의 水分不足이 RNase의 活性을 增大시킨다고 하였다. Cytokinins는 RNase의 活性을 抑制시키나 ABA는 이의 活性을 促進시키며 cytokinins는 氣孔을 열어 주나 ABA는 이를 閉鎖시킴으로서 이들이 植物의 水分調節에 關係한다는 報告가 있다.^{52,55,58,66,89,6,101)}

Wright¹¹⁵⁾는 萎凋期間中 ABA의 含量은 急激히 增加하나 cytokinins의 含量은 減少한다고 하였고, Arad³⁾는 正常의 水分을 含有한 小麥 잎에 ABA 處理는 RNase의 活性을 增大시키나 萎凋 앞에서 이의 反對現象을 보이는데 이는 萎凋狀態

下에서는 細胞內의 水分含量的 變化가 RNase 活性에 對한 hormone의 調整 작용을 變化시키기 때문이라고 하였다. Srivastava⁹³⁾는 大麥 잎을 물에 培養시켰을 때 RNase의 活性에는 變化가 없다고 하여 本實驗의 無處理區에서와 다른 結果를 發表하였다. 그러나 Spencer⁹⁰⁾와 Srivastava⁹⁶⁾는 大麥 잎이나 사과 잎을 물에 培養시키면 RNase의 活性이 漸增하며, 이러한 RNase의 活性增大가 老化過程에서 볼 수 있는 RNA의 減少와 密接히 關係된다고 하였다. Chrispeels¹⁰⁾와 Paleg⁷⁴⁾는 大麥의 內胚芽에 GA의 處理가 α -amylase, RNase 등의 酵素合成을 促進시킨다고 하였고, 本實驗의 無胚芽半片種子에 GA의 處理에서도 α -amylase의 生成이 促進됨을 確認하였으나(Fig. 1) 大麥 鞘葉에 GA의 處理는 오히려 RNase의 活性을 減少시킨 結果를 보였는데 이와 GA 같이 處理에 依한 酵素活性의 差異는 供試 組織의 相異에서 온 結果로 생각된다. Glasziou³⁶⁾는 澱糖수수 줄기 組織에 GA 處理는 invertase나 peroxidase의 生成을 阻害한다고 하였고, Sacher⁸⁰⁾와 Srivastava^{93,96)} 등은 kinetin이 RNase의 活性을 抑制한다고 하였는데 大麥 鞘葉에 GA 處理는 kinetin의 作用과 同一하게 RNase의 活性을 抑制하는 것으로 생각된다.

5. ABA 및 GA 處理가 大麥 鞘葉에서 RNA의 含量에 미치는 影響

大麥 鞘葉에 10 μ M ABA 및 10 μ M GA를 處理하고 5時間 間隔으로 30時間 동안 振盪培養하면서 調査한 結果는 Fig. 6과 같다. RNA 含量의 消長을 보면 GA 處理區 ABA 處理區에서 各같이 培養開始 以後經時的으로 漸減하는 現象을 보였다. 그러나 無處理區에 比하여 GA 處理區에서는 經時的으로 緩慢한 RNA의 減少를 보였으나 ABA 處理區 및 無處理區에서는 培養 5時間에 큰 RNA의 減少를 보였으며, 培養 全過程을 通하여 無處理區에 比하여 GA 處理區에서는 높은 吸光度를 보여 주었으나 ABA 處理區에는 낮은 吸光度를 보여 줌으로서 大麥 鞘葉에 GA 處理는 RNA의 合成을 促進시키나 ABA는 이의 合成을 抑制하는 結果를 보여 주었다.

植物組織의 切斷은 核酸代謝에 變化를 惹起시켜 오이의 胚軸¹¹⁴⁾, 옥수수의 中莖¹¹⁴⁾, 녹두의 莖片³²⁾, 콩의 胚軸⁵¹⁾, 木花의 子葉⁴⁾ 등의 組織을 물에 培養시키면 培養過程에서 核酸의 經時的인 減少가 일어나며 切斷된 組織의 培養 中에 일어

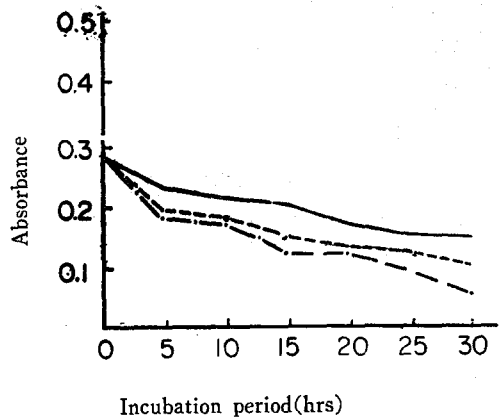


Fig. 6. Effect of GA or ABA on RNA content during incubation of barley coleoptiles
 — 10 μ M GA
 - - - 10 μ M ABA
 water

나는 核酸減少의 原因으로서 Shannon⁸¹⁾은 RNase의 活性增大를, 그리고 Silberger⁸⁶⁾와 Sugiura⁹⁸⁾는 養分의 결핍을 理由로 들고 있다. 本實驗의 Fig. 5.에서 보면 大麥 鞘葉을 물에 培養시켰을 때 RNase의 活性이 漸增하였기 때문에 無處理區에서 核酸의 經時的인 減少는 RNase의 作用에 依한 것으로 생각된다.

ABA 및 GA 處理가 核酸代謝에 影響을 미쳐 ABA는 RNA의 合成을 阻害하나 GA는 이의 合成을 促進시킨다는 結果에 對하여 많은 報文이 있다. Jo⁴⁶⁾는 小麥의 鞘葉에 Pearson⁷⁵⁾은 콩당무의 胚軸에, Leshem⁵⁸⁾은 담배에, Blaydes¹⁰⁾는 귀리의 鞘葉에, Shihi⁸⁴⁾는 高구마의 塊莖에 ABA를 處理하면 RNA의 合成이 抑制된다고 하였으며, Poulson⁷³⁾은 大麥葉에, Shihi⁸⁴⁾는 高구마의 塊莖에, Johri⁴⁵⁾는 南장이 녹두의 細胞核에 GA의 處理는 RNA의 合成을 進시킨다고 하였다. 그러나 Bonnafous¹²⁾는 大麥 鞘葉에, 그리고 Chen¹⁴⁾은 小麥 胚芽에, Pearson⁷⁶⁾은 小麥 잎에 ABA를 處理하였을 때 ABA가 RNA의 合成에는 影響을 주지 않는다고 報告한 바 있다.

本實驗의 無處理區에 比하여 GA 處理區에서는 經時的으로 더 높은 RNA의 吸光度를 보임으로서 大麥 잎에 GA의 處理가 核酸의 分解를 促進시킨다는 Nakamura¹⁰³⁾의 結果와는 相異하나 GA가 RNA의 合成을 促進시킨다는 Pearson⁷⁵⁾과 기타의 報告^{45,73,84)}와는 같은 경향이였다. 한편 Beevers⁷⁾와 Delvin²⁶⁾은 GA가 잎의 老化를 지연

시키는 작용이 있는데 이는 GA에 의한 핵산 및蛋白質의合成能 때문이라고 하였으며, Jarvis⁴⁴⁾와 Johri⁴⁵⁾는 GA가 RNA polymerase의 활성을增大시키므로써 RNA의合成을促進시킨다고 하였다. 本實驗의 GA處理區에서는 無處理區에比하여緩慢한 RNA의減少를 보였는데 이런現象은 切取한 콩의胚軸⁵¹⁾ 및 귀리의鞘葉⁴⁰⁾에 IAA處理에서도 볼 수 있으며, IAA가 RNase의 활성을抑制시킨다는報文^{46,60)}이 있기 때문에 RNA의合成과 RNase의活性과는密接히關係됨을 알 수 있다. 本實驗의 Fig. 5에서 보던 GA處理에依해서 RNase의活性이減少되는結果를 보여 GA에 의한核酸의合成促進은 RNase의活性抑制와도密接히關係되는 것으로 생각된다.

ABA處理區에서는 無處理區에比하여 낮은 RNA의吸光度를 보여 줌으로써 ABA가核酸의合成에影響을 주지 않은다는 Bonnafous¹²⁾와 기타報告^{14,36)}와는 달리 ABA가 RNA의合成을阻害한다는報告^{10,56,75,84)}와 같은 경향이였다. 以上과 같이 ABA에 의한 RNA의合成阻害與否에對하여는意見이一致되지 않은데 Bonnafous¹²⁾는 ABA를處理하여 5時間培養시켰고, Poulson⁷³⁾은 6時間培養시켰기 때문에 이러한培養期間의差異 때문에相異한結果가招來되지 않았는가도 생각된다. 그러나 本實驗에서 보던 ABA處理 5時間以內에 RNA의合成阻害가 관찰되었고 小麥鞘葉에 ABA를處理하면 3時間以內에 RNA의合成阻害가 이루어진다는 Jo⁴⁶⁾의報告도 있기 때문에 ABA에 의한 RNA의合成阻害는培養時間에關係없이 이루어진 것으로 생각된다. ABA에 의한核酸合成의阻害原因으로서 Srivastava^{72,96)} 등은增加된 RNase 활성을 Pearson⁷⁵⁾은 ABA에 의한 chromatin의活性抑制를 들고 있다. Godfrey³⁷⁾는 Petunia 花粉管的成熟過程中 RNase의增大는 RNA의合成을中止시킨다고報告하였으며, 本實驗에서도 ABA處理에依하여 RNase의活性增大가 뚜렷하였기 때문에 (Fig. 5) ABA에 의한 RNA의合成阻害原因은 ABA에依하여增大된 RNase의活性에基因한 것으로 생각된다.

6. ABA 및 GA處理가 大麥鞘葉의生育에 미치는影響

10 μ M ABA 및 10 μ M GA를處理하여 10時間間隔으로 30時間 동안濕重量的增減을調査하여 얻은結果는 Fig. 7과 같다. 全般的인傾向을 보던 無處理區에比하여 GA處理區에서는生長이促

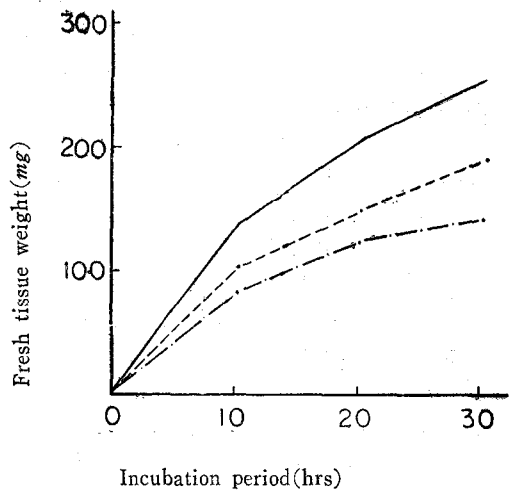


Fig. 7. Fresh weight increase of barley coleoptiles during incubation in the presence of GA or ABA

— 10 μ M GA
 - - - 10 μ M ABA
 water

進되었으나 ABA處理區에서는抑制되었는데 이를經時的으로 보던培養 10時間까지는 GA, ABA 및 無處理區에서 다같이 큰要量的增加率을 보였으나 그以後增加率이多少緩慢하여졌다. 그러나全培養過程에서 無處理區에比하여 GA處理區는 더 높은重要的增加値를 보임에對하여 ABA處理區에서는 이보다 낮은 값을 보여 줌으로써 GA의處理는 大麥鞘葉의生育을促進시키나 ABA의處理는 이를緩和시킨結果를 보였다. ABA가水稻中莖의生育을促進시킨다는 Takahashi¹⁰²⁾의報告 및 GA가 大麥 잎의生長을抑制시킨다는 Teruko¹⁰³⁾의報告가 있으나 GA가 완두의生長을促進시키나 ABA는 이를抑制한다는 Wareing¹¹³⁾의結果, 귀리의節間에 GA處理가生長을促進한다는 Jones⁴⁷⁾의結果 및 發芽中の콩胚軸에 ABA處理가重量의增加를減少시킨다는 Walton¹¹¹⁾과 Walbolt¹¹²⁾ 등의結果와 같이 大麥鞘葉에 GA를處理하면生育을促進시키나 ABA의處理는 이를緩和시키는 것으로 생각된다. GA에 의한生長促進作用으로서 Sachs³¹⁾와 기타報告⁶⁾는 GA에 의한細胞分裂의促進을, 그리고 Haber³⁸⁾는細胞分裂를同伴하지 않은細胞의伸張促進作用을 들고 있으며, Thomas¹⁰⁴⁾는 ABA가細胞의伸張 및分裂를抑制한다고 하였고, Key⁶⁰⁾는細胞의伸張을 위하여는 반드시核酸 및蛋白質

質의 合成이 必要하다고 하였다. 本 研究에서 보면 AG 및 ABA가 核酸, 蛋白質의 合成에 影響을 주었는데 (Fig. 6, Table 3) 이러한 影響이 細胞 分裂 및 伸張에 相異한 變化를 줌으로서 GA는 大麥 鞘葉의 生育을 促進시키나 ABA는 이를 緩和시킨 것으로 생각한다.

7. ABA 및 GA 處理가 大麥 鞘葉에서 chlorophyll의 含量에 미치는 影響

10 μ M ABA 및 10 μ M GA를 處理하여 經時的으로 chlorophyll의 含量을 調査하여 얻은 結果는 Fig. 8과 같다. 培養期間中 經時的으로 chlorophyll의 含量은 全般的으로 減少하는 傾向을 보였으며 ABA는 chlorophyll의 減少를 促進시켰으나 GA는 이의 減少를 緩和시켰는데 이는 이들 hormone이 chlorophyll의 合成에 影響을 주기 때문으로 생각되며, 本 實驗의 結果는 ABA가 chlorophyll의 合成을 阻害하거나 GA는 이의 合成을 促進시킨다는 Beevers⁸⁾와 기타의 報告^{20, 73)}와 비슷한 傾向이었다.

Hudock⁴²⁾는 chlorophyll의 合成은 蛋白質의 合成과 關係되어 蛋白質 合成의 阻害劑인 chloramphenicol의 處理가 chlorophyll의 含量을 減少시킨다고 하였고, Bogorad⁹⁾는 RNA 合成의 阻害劑인 actinomycin D의 處理가 chlorophyll의 合成의 阻害한다고 報告하였다.

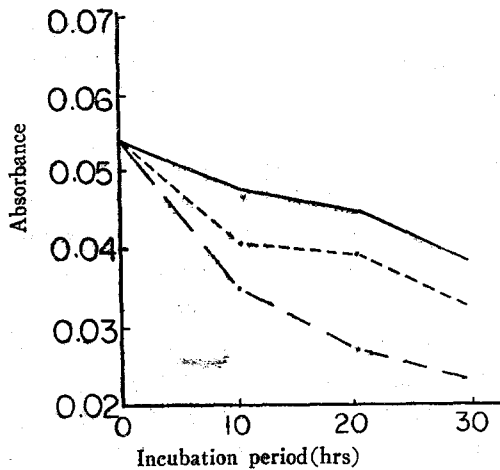


Fig. 8. Effect of GA or ABA on the chlorophyll content during incubation of barley coleoptiles
 — 10 μ M GA
 - - - 10 μ M ABA
 water

Table 3. Effect of GA or ABA on the protein contents of coleoptiles

Incubation period (hrs)	Protein content*		
	GA	Water	ABA
0	5.22 \pm 0.04**	5.22 \pm 0.04	5.22 \pm 0.04
10	6.26 \pm 0.13	5.27 \pm 0.04	5.06 \pm 0.04
20	5.66 \pm 0.03	4.95 \pm 0.07	4.49 \pm 0.08
30	5.20 \pm 0.11	4.60 \pm 0.03	4.38 \pm 0.04

* mg/500mg of coleoptile

** mean standard deviation

本 實驗에서 chlorophyll의 含量에 있어서 ABA에 의한 減少 및 GA에 의한 이의 增加現象은 이들 hormone이 核酸 및 蛋白質의 合成에 影響을 줌으로써 (Fig. 6, Table 3) 結果적으로 hormone들이 chlorophyll의 含量에 變化를 준 것으로 생각된다.

8. ABA 및 GA 處理가 大麥 鞘葉에서 蛋白質 含量에 미치는 影響

10 μ M GA 및 10 μ M ABA를 處理하여 10時間 間隔으로 30時間 동안 蛋白質 含量의 經時的인 消長을 無處理區의 그것과 比較하여 그 結果를 Table 3에 表示하였다. 培養 10時間부터 이들 hormone 處理區間에 差異를 보여 無處理區에 比하여 ABA 處理區에서는 蛋白質 含量의 減少를 보였으나 GA 處理區에서는 이것이 增大되었다. Poulson⁷⁸⁾은 大麥 잎에, 그리고 Colquhoun²⁸⁾은 콩당무 잎에 GA 處理는 蛋白質의 合成을 促進시키나, ABA 處理는 이를 阻害시킨다고 하여 本 實驗에서의 비슷한 結果였다.

그러나 Poulson⁷⁸⁾은 培養 20時間의 調査에서 無處理區, GA 處理區 및 ABA 處理區의 蛋白質 絕對 含量이 切取直後의 組織에서보다 增加된다고 하였으나 本 實驗에서는 無處理區 및 ABA 處理區에서 培養中 蛋白質 含量에서 經時的으로 계속적인 減少를 보여 줌으로써 Poulson⁷⁸⁾의 結果와는 多少 相異하다. 한편 GA 處理區에서는 培養 10時間까지 增加되다가 그後 減少하는 傾向이 있었으나 培養 30時間까지도 切取 直後의 組織에서 蛋白質의 含量과는 別 差異가 없었다.

Bonnafous¹²⁾는 大麥 鞘葉에 ABA를 處理하던 5時間 以內에 蛋白質 合成 前驅物質의 incorporation이 阻害를 받는다고 하였고, Walton¹¹¹⁾은 콩 胚軸에 ABA 處理는 2時間 以內에 C-14 leucine

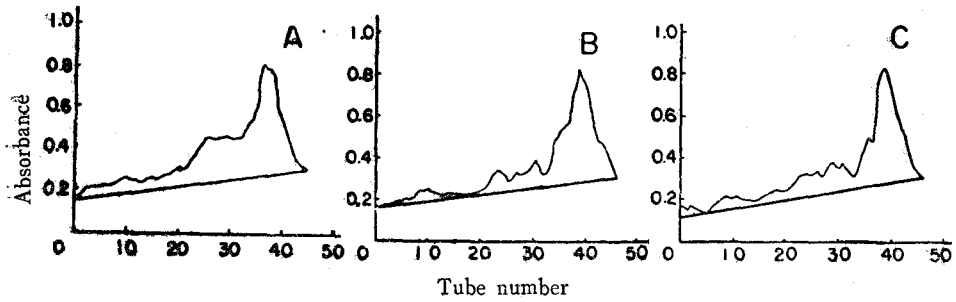


Fig. 9. Sucrose density gradient profiles of ribosome preparations from barley coleoptiles incubated for 20 hours in the presence of GA or ABA

(A) 10 μ M GA (B) 10 μ M ABA (C) water

의 incorporation이 22%까지沮害를 받는다고 하였다. 한편 Srivastava⁹⁵⁾는 切取한綠色 잎을 물에浮遊시키면 바로老化的現象이 일어나蛋白質의減少가 일어난다고 하였으나 Flechter³³⁾는 민들레 잎의老化的過程에 GA處理는蛋白質의減少가緩和되는데 이는 GA에依한蛋白質의合成能 때문이라고報告한 바 있다. 本實驗에서도無處理區에比하여 GA處理에依한蛋白質含量的增加 및 ABA處理에依한 이含量的減少는 ABA에依한蛋白質의合成沮害 및 GA에依한合成促進作用에依한 것으로 생각된다.

9. ABA 및 GA處理가 大麥鞘葉에서 monosome과 polysome의 相對的 分布에 미치는 影響

10 μ M ABA 및 10 μ M GA를處理하여 20時間培養後에 調査한 monosome polysome과의 分形形態는 Fig. 9에表示하였다.

無處理區에서는 254 nm에서吸光物質의 42%가 polysome에該當되었으나 GA 및 ABA處理區에서는各各 58% 및 30%로서無處理區에比하여 GA處理는 polysome의含量을 16%增加시켰으나 ABA處理區에서는 이를 12%減少시킨結果를 보였다.

Breen¹¹⁾에依하면 切取한直後의 大麥 잎에서 polysome의含有比는 75~80%라고報告하였으며 Poulson⁷³⁾은 大麥葉에 15 μ M GA 및 40 μ M ABA를 6時間處理하였을 때無處理區 GA處理區 및 ABA處理區에서 polysome의含有比는各各 45%, 66% 및 34%라고하였다. 이들의結果를本實驗의結果와比較하여 보면無處理區에서는 Breen¹¹⁾의結果보다 33~38% 더減少시켰으며, Poulson⁷³⁾의結果보다는無處理區, GA處理區, ABA處理區에서各各 3%, 8%, 4%가 더減少

된結果를 보였다.

이와 같이 Breen¹¹⁾과 Poulson⁷³⁾ 및 本實驗의無處理區間에 polysome의含有比에서相異한結果를 보이고 있는데 이는培養時間의差異에서은結果로 생각되며, Show⁸³⁾와 기타報告^{94,105)}는 切取組織을 물에培養시키면 polysome의減少가 일어난다고하였다. 本實驗의 GA處理區에서는無處理區보다 polysome의含有比를 16%增加시켰기에比하여 ABA處理區에서는 이를 12%減少시켰기 때문에 大麥鞘葉에 GA處理는 polysome의合成을促進시키나 ABA處理는 이의合成을抑制시킨 것으로 생각된다.

Bonnafoos¹²⁾는 大麥鞘葉에서, Chen¹⁴⁾은 小麥胚芽에, Pearson⁷⁶⁾은 小麥 잎에 ABA의處理가 polysome의形成에影響을 주지 않는다고하였으나 Evins³⁰⁾는 大麥糊粉層에서, 그리고 Poulson⁷³⁾은 大麥 잎에서 GA處理는 polysome의形成을促進시키나 ABA處理는 이를抑制한다고報告한 바 있다. GA 및 ABA가 polysome의形成에影響을 준原因으로서 Evins³⁰⁾는 ABA 및 GA가 endoplasmic reticulum의合成에 주는影響을 들고 있고 Poulson⁷³⁾은 이들 hormone이 m-RNA의利用性을減少 또는增加시키기 때문이라고하였다. Trewavas¹⁰⁶⁾는老化的 잎에서 ribosome 또는 r-RNA의含量이蛋白質의合成率을調整하는데 植物 hormone은 r-RNA의合成을調節한다고하였고 Srivastava^{91,92)} 등은 切取研莖 잎에 kinetin의處理는 RNase의活性抑制 및 heavy RNA의分解抑制가 polysome을維持하여蛋白質의合成을維持한다고하였다. 本實驗에서 GA處理는 RNase의活性을抑制시켰기에反하여 ABA處理는 현저히 이를增大시켰으며 RNase의活性이 r-RNA의合成에 크게影響을 준結果를 보였기 때문에

(Fig. 5 Fig.4) GA 및 ABA 處理에 따른 polysome 含有比의 增減은 이들 hormone이 r-RNA의 合成 促進 및 이의 合成阻害에 影響을 주었기 때문에 結果的으로 polysome의 形成이 影響을 받은 것으로 생각된다.

IV. 結 論

以上の 結果를 綜合的으로 檢討하면 大麥 無胚芽半片種子에 GA를 處理하여 10時間 培養後 0.1 μ M ABA 첨가는 α -amylase의 生成을 部分的으로 阻害시켰으나 5 μ M ABA 및 10 μ M ABA의 첨가는 다같이 ABA 첨가 4時間 以內에 完全히 α -amylase의 生成을 阻害시켰기 때문에 이를 Chrispeels¹⁹⁾의 結果와 比較할 때 大麥의 無胚芽半片種子에서나 分離한 糊粉層에 GA 處理 培養中 5 μ M ABA의 첨가는 GA의 濃度에 關係없이 完全히 α -amylase의 生成을 阻害하는 것으로 생각되며, ABA가 糊粉層에서 生成된 α -amylase의 分泌에는 別影響을 주지 않은 것으로 생각된다.

ABA가 GA에 依한 α -amylase의 生成을 阻害하는 原因으로서 Chrispeels¹⁸⁾는 ABA에 依한 RNA의 特異한 分割合成阻害 可能性을 들고 있고, Onckelen⁷⁰⁾은 大麥 種子에서 RNA의 合成은 RNase의 活性增大에 따라서 減少된다고 하였기 때문에 前培養期間中 自然的으로 增大하는 RNase의 生成을 減少시키기 위하여 Chrispeels¹⁸⁾보다 前培養期間을 短縮시켜 1日間 前培養시킨 後 hormone을 處理하고 10時間 培養시킨 後 MAK column chromatography로 分割하여 260 nm에서 吸光度를 測定하여 본 結果 10 μ M GA 處理區와 10 μ M GA 및 10 μ M ABA 混合液 處理區間에 分割上에 差異를 볼 수 없었다. (Fig. 3)

이는 GA에 依해서 增加된 微量의 核酸合成이 全 劃分에서 均一하게 이루어지기 때문으로 생각된다. 그러나 大麥 鞘葉에서는 hormone 處理區間에 劃分の 成分比에서 뚜렷한 差異를 보여 GA 處理는 r-RNA 劃分の 成分化를 增加시켰으나 ABA 處理區에서는 r-RNA 劃分の 成分比가 減少된 反面 s-RNA 劃分の 成分比는 增加시켰다. 이는 GA 處理에 依한 RNase의 活性抑制 및 ABA 處理에 依한 이의 活性增大에 依한 것으로 ABA 處理區에서 s-RNA 劃分 成分比의 增加는 RNase의 活性增大 때문에 r-RNA의 分解物이 s-RNA 劃分 속 에 蓄積된 結果로 생각된다. (Fig. 4, Fig. 5)

한편 GA 處理는 DNA-RNA 劃分の 成分比를

增加시켰으나 ABA 處理는 이를 減少시켰는데, ABA 處理에 依한 이의 減少는 ABA에 依해서 增加된 RNase의 活性 때문에 RNA 部分이 分解를 받아 結果的으로 DNA-RNA 劃分の 減少가 招來된 것으로 여겨진다. hormone 處理에 依한 總 RNA의 含量을 經時的으로 보면, ABA 處理區에 比하여 GA 處理區에서는 緩慢한 減少를 보였고, hormone 處理 5時間 以內에 無處理區의 RNA 含量과 差異를 보였으며, GA에 依한 RNA의 合成 促進 및 ABA에 依한 이의 合成抑制는 RNase의 活性에 주는 hormone의 作用과 密接히 關係된 것으로 생각된다. GA 處理는 鞘葉의 生育과 chlorophyll의 合成을 促進시키나 ABA 處理는 이들을 減少시켰는데 (Fig. 7, Fig. 8) 이는 hormone이 核酸 및 蛋白質 合成에 相異한 影響을 주기 때문으로 생각된다. (Fig. 6, Table 3) Burka⁵⁾와 Rich⁷¹⁾는 polysome의 合成이 蛋白質 合成에서 基本이 된다고 하였고, Giles³⁶⁾는 Lupine의 生長은 polysome의 含量에 比例한다고 하였다. 本 實驗에서도 GA 處理는 polysome의 形成을 促進시켰으나 ABA 處理는 이를 減少시켰는데 (Fig. 9) 이는 GA 및 ABA가 polysome의 合成에 基本이 되는 r-RNA의 合成에 相異한 影響을 준 結果로 생각된다.

V. 要 約

大麥 無胚芽半片種子에 10 μ M GA를 處理하여 培養 10時間에 培地에서 ABA의 濃度가 各各 0.1 μ M, 5 μ M 및 10 μ M이 되도록 ABA 溶液을 첨가하여 α -amylase 生成의 消長을 그리고 10 μ M GA와 10 μ M ABA 混合液을 處理하여 10時間 培養後 核酸의 거동을 10 μ M GA處理區의 그것과 比較하였다.

大麥 鞘葉에 10 μ M GA와 10 μ M ABA를 處理하여 鞘葉의 生育, chlorophyll, RNase의 活性, 蛋白質 및 總 RNA 含量의 消長을 處理區의 그들과 比較하였고 이들 hormone 處理 20時間 培養後 核酸의 거동 및 polysome과 monosome의 相對的 分布를 調査하여 몇 가지 結論을 얻었으며 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1) GA 處理에 依한 總 α -amylase의 生成은 時間의 經過에 따라 直線的으로 增加하였으며 α -amylase의 分泌는 培養 18時間부터 活潑하였다.

2) 0.1 μ M ABA 첨가는 α -amylase의 生成을 部分的으로 阻害시켰으나 5 μ M 및 10 μ M ABA 첨가는 다같이 첨가 4時間 後에 完全히 α -amylase의

生成을 阻害시켰으며, 培養過程中 5 μ M ABA 첨가는 GA의 濃도에 關係없이 完全히 α -amylase의 生成을 阻害시켰다.

3) ABA는 無胚芽半片種子에서 α -amylase의 分泌에 別 影響을 주지 않았다.

4) 無胚芽半片種子에서 GA 單獨 處理區와 GA-ABA 處理區間에 核酸의 分割에서 別 異가 없었다.

5) 韮葉에서 GA의 處理는 r-RNA 劃分을 增加시킨 反面 ABA 處理는 r-RNA 劃分을 減少시키고 同時에 s-RNA 劃分을 增加시켰는權 이는 이들 hormone이 RNase의 活性에 相異한 影響을 준 것으로 보였다.

6) 韮葉에서 ABA 處理는 RNA-DNA 劃分の 成比例를 減少시켰다.

7) 韮葉에서 GA 處理는 RNase의 活性을 減少시켰으나 ABA 處理는 이의 活性을 增大시켰다.

8) 韮葉에서 GA 處理는 總 RNA에 큰 影響을 주지 않았으나 ABA 處理는 이를 현저히 減少시켰다.

9) 韮葉에 있어서 GA 處理는 韮葉의 生長 및 chlorophyll의 含量을 增加시켰으나 ABA 處理는 이들을 減少시켰다.

10) 韮葉에서 GA 處理는 蛋白質 및 polysome의 形成을 促進시켰으나 ABA 處理는 이들을 減少시켰다.

11) ABA 處理는 polysome의 形成이 阻害되는 까닭은 ABA가 r-RNA의 合成을 阻害하는 것으로 보였다.

VI. 參考文獻

1. Addicott, F. T., Ohkuma, K., Smith, O. E. and Thiessen, W. E. (1966): *Advan. Chem.* 53:97.
2. Addicott, F.T. and Lyon, J.L.(1969): *Ann. Pev. Plant Physiol.* 20:139.
3. Arad, S., Mizrahi, Y. and Richmond, A.E. (1973): *Plant Physiol.* 52:510.
4. Basler, E. and Nakazawa, K.(1961): *Botan. Gaz.* 122:228.
5. Burka, E.R. and Marks, P.A. (1964): *J. Mol. Biol.* 9: 439.
6. Bronman, C. H., Addicott, F.T. and Spurr, A.R. (1966): *Plant Physiol.* 41: 871.
7. Beevers, L. (1966): *Ibid* 41: 1074.
8. Beevers, L. (1998): *Biochemistry and physiology of plant growth substances.* p. 1417—1435 (F. Wighteman and G. Setterfield. eds). Ottawa Runge Press, Ottawa.
9. Bogorad, L. (1967): *Plant growth and Development* p. 9. (A Carl. Leopold and Paul E. Kriedman. eds). McGraw-Hill Book Co.
10. Blydes, D. F. (1971): *Plant Physiol.* 47 suppl. p. 23.
11. Breen, M.D. Whithead, E.I. and Kenefick, D.G. (1972): *Plant Physiol.* 48: 733.
12. Bonnafous, J.C., Mouseron-canet, M. and Olive, J.L. (1973): *Biochem. Biophys. Acta* 312: 165.
13. Chandra, J.E. and Johr, M.M. (1968): *Biochemistry and Physiology of plant growth substances.* p. 793—814. (F. Whiteman and G. Setterfield. eds). Runge Press, Ottawa.
14. Chen, D. and Osborne, D.J. (1970): *Nature* 226: 1157.
15. Cherry, J. H. (1964): *Science* 146: 1066.
16. Cherry, J.H. Chroboczek, H., Walter, J.G. Carpenter and Richmond, A. (1965:) *Plant Physiol.* 40: 582.
17. Chrispeels, M. J. and Varner, J.E. (1966): *Nature* 212: 1066.
18. Chrispeels, M.J. and Varner, J.E. (1967): *Plant Physiol.* 42: 398.
19. Chrispeels, M.J. and Varner, J.E. *Ibid* 42: 1008.
20. Click, R.E. and Hackett, D.P. (1966): *Biochem. Biophys. Acta* 129: 74.
21. Clows, F.A.L. and Juniper, B.E.(1968): *Plant Cells* p. 112. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
22. Cornforth, J.W., Millborrow, B.V. and Ryback, G. (1965): *Nature* 205: 1269.
23. Colguhoun, A.J. and Hillman, J.R. (1972): *Planta* 105: 213.
24. Dalby, A. and Davies, I. I. (1967): *Science* 155: 1573.
25. Davies, E., Larkins, B.A. and Knight, R.H. (1972): *Plant Physiol.* 50: 581.
26. Delvin, R.L. (1975): *Plant Physiology* p. 493. D. Van Nostrand Co.

27. Dove, L.D. (1967): *Plant Physiol.* **42**; 1176
28. Eagles, C.F. and Wareing, P.F. (1964): *Physiol. Plant.* **17**; 697.
29. El-Antably, H.M., H., Wareing, P.F. and Hillman, T. (1967): *Planta* **73**; 74.
30. Evins, W.H. and Varner, J.E. (1971): *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **68**; 1631.
31. Evins, W.H. and Varner, J.E. (1972): *Plant Physiol.* **49**; 348.
32. Fan, D.F. and Machlan, G.A. (1966): *Can. J. Bot.* **44**; 1025.
33. Flechter, R.A. and Osborne, D.J. (1965): *Nature* **207**; 1176.
34. Fraenkel-Conrat, H., Singer, B. and Tsugita, A. (1961): *Virology* **14**; 1329. Cited in 核酸の分離, 定量法 p. 120—121, 水野重樹著 東京大學出版社.
35. Glasziou, K.T., Gayler, K.R. and Waldron, J.C. (1968): Biochemistry and physiology of plant growth substances p. 443—442. (F. Whiteman and G. Setterfield. eds). Runge Press, Ottawa.
36. Giles, K. W. and Meyers, A. (1964): *Biochem. Biophys. Acta* **87**; 460.
37. Godfrey, C.A. and Linsken, H.F. (1968): *Planta* **80**; 185.
38. Haber, A.H., Foard, D.E. and Perdue, S.W. (1969): *Plant Physiol.* **44**; 463.
39. Haber, A.H. and Luippold, H.J. (1960): *Am. J. Bot.* **47**; 140.
40. Hamilton, T.H., Moore, R.J., Rumsey, A. F., Means, A.R. and Shrank, A.R. (1965): *Nature* **208**; 1180.
41. Hayashi, A. and Spiegelman, S. (1961): *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **47**; 1564.
42. Hudock, G. A., Mcleod, G.C., Moraukooa-Kiely, J. and Leving, L.P. (1964): *Plant Physiol.* **39**; 898.
43. Ingersoll, R.B. and Smith, O.E. (1970): *Ibid* **43**; 1734.
44. Jarvis, B.C., Frankland, B. and Cherry, J. H. (1968): *Ibid* **43**; 1734.
45. Johri, M.M. and Varner, J.E. (1968): *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **59** (1); 269.
46. Jo, D.H. and Lee, C.Y. (1972): *J. Korean Agri. Chem. Soc.* **15**; 181.
47. Jones, R.A. and Kaufman, P.B. (1971): *Physiol. Plant.* **25**; 198.
48. Jones, R.L. (1973): *Ibid* **52**; 303.
49. Kahn, A.A. and Heit, C.E. (1969): *Biochem. J.* **113**; 707.
50. Key, J.L. (1964): *Plant Physiol.* **39**; 365.
51. Key, J.L. and Hanson, J.B. (1961): *Ibid* **36**; 145.
52. Leo, P. O. and Sacher, J.B. (1970): *Ibid* **46**; 806.
53. Leopold, A.C. (1971): *Ibid* **48**; 537.
54. Le Page-Digivry, M.T. (1970): *C.R. Acad. Sci. Seri.* p. 271.
55. Leshem, Y. (1972): *Physiol. Plant.* **24**; 85.
56. Leshem, Y. and Schwarz, L. 1972: *Ibid* **26**; 328.
57. Lidman, D.L., Colbourne, A.J., Doig, R.J. and Varty, K. (1973): Plant Growth Substances. p. 626—632. Proceedings of the 8th International Conference on Plant growth substance held in Tokyo, Japan, Aug., 26—Sept. 1, 1973. Hirokawa Pub. Co. Ins. Tokyo. (1974).
58. Little, C.H.A. and Edit, D.C. (1968); *Nature* **220**; 498.
59. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951): *J. Biol. Chem.* **193**; 265.
60. Maciejewska-Potapczykowa, W. (1959): *Nature* **184**; 557.
61. Mandell, J.D. and Hershey, A.D. (1960): *Anal. Biochem.* **1**; 66.
62. McComb, A.J. (1964): *Ann. Bot.* **28**; 669.
63. Millborrow, B.V. (1969): *Sci. Prog. London* **57**; 533.
64. Millborrow, B.V. (1974): *Ann Rev. Plant Physiol.* **25**; 285.
65. Millborrow, B.V. (1974): *Phytochem.* **13**; 131.
66. Mizrahi, Y. and Richmond, A.E. (1972): *Aust. J. Biol. Sci.* **25**; 437.
67. Nitsan, J. and Lang, A. (1966): *Plant Physiol.* **41**; 965.
68. Ogur, M. and Rosen, G. (1950): *Arch.*

- Biochem Biophys.* 25; 125, Cited in 核酸の一般的分離, 定量法 p. 56-58. 東京大學出版社.
69. Ohkuma, K., Lyon, J.L., Addicott, F.T. and Smith, O.E. (1963): *Science* 142; 1592.
70. Onckelen, V. (1974): *Plant Physiol.* 53; 562.
71. Overbeek, V., Lofflor, J.E. and Mason, M. Z. (1967): *Science* 156; 1497.
72. Pilet, P.E. (1970): *J. Exp. Bot.* 21; 446.
73. Poulson, R. and Beevers, L. (1972): *Plant Physiol.* 46; 782.
74. Paleg, L. (1961): *Ibid* 36; 829.
75. Pearson, A. and Wareing, P.F. (1969): *Nature* 221; 672.
76. Pearson, A. and Wareing, P.F. (1970): *Planta* 93; 309.
77. Rich, A., Warner, J.W. and Goodman, H. M. (1963): *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* XXV II I; 269.
78. Robinson, D.R. and Ryback, G. (1969): *Biochem. J.* 113; 825.
79. Rudnicki, R., Machnik, J. and Pieniazek, J. (1970): *Sci Lett. Copernicus Univ, Tolun (Poland)* 23; 43.
80. Sacher, J.A. (1965): *Am. J. Bot.* 52 8; 841.
81. Sachs, R.M., Bretz, H. and Long, A. (1958): *Exp. Cell Res.* 18; 230.
82. Shannon, J.C., Hanson, J.R. and Wilson, C. M. (1964): *Plant Physiol.* 39; 804.
83. Show, M. and Spiegelman, S. (1961): *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 47; 1564.
84. Shihi, C.Y. and Rappaport, L. (1970): *Plant Physiol.* 45; 38.
85. Shuster, L. and Gifford, R.H. (1962): *Arch. Biochem. Biophys.* 96; 534.
86. Silberger, J. and Skoog, F. (1953): *Science* 118; 443.
87. Solymosy, F., Fedorcsak, I., Gulyas, A., Farkas, G.L. and Ehrenberg, K. (1968): *Europ. J. Biochem.* 5; 520.
88. So9ndheimer, E., Tzou, D.S. and Galson, E. C. (1968): *Plant Physiol.* 43; 1443.
89. Sodeck, L. and Wright, S. T. C. (1969): *Phytochem.* 8; 1629.
90. Spencer, P.W. and Titus, J.S. (1972): *Plant Physiol.* 49; 746.
91. Srivastava, B.I.S. (1965): *Arch. Biochem. Biophys.* 110; 97.
92. Srivastava, B.I.S. and Ware, G. (1965): *Plant Physiol.* (in press).
93. Srivastava, B.I.S. and Ware, G. (1965): *Plant Physiol.* 40; 62.
94. Srivastava, B.I.S. and Arglebe J. (1967): *Ibid* 42; 1497.
95. Srivastava, B.I.S. and Arglebe J. (1967): *Rev. Cytol. in press. Cited in Plant Physiol.* 42; 1497. By Srivastava, B.I.S. and C. Argelbe.
96. Srivastava, B.I.S. (1968): *Biochem. Biophys. Acta* 169; 534.
98. Sugiura, M., Umemura, K. and Dota, Y. 1962: *Physiol. Plant.* 15; 457.
99. Tanaka, Y. and Akazawa, T. (1970): *Plant Physiol.* 46; 586.
100. Taylor, H.F. and Burden, R.S. (1970): *Phytochem.* 9; 2217.
101. Tal, M. and Inber, D. (1971): *Plant Physiol.* 47; 849.
102. Takahashi, K. (1972): *Nature New Biol.* 238; 92.
103. Teruko, N. and Takahashi, N. (1968): *Bot. Mag. (Tokyo).* 81 (957); 127.
104. Thomas, T. H., Wareing, P.F. and Robinson, P.M. (1965): *Nature* 156; 1635.
105. Travis, R.L., Anderson, J.M. and Key, J. L. (1973): *Plant Physiol.* 52; 608.
106. Trewavas, A. (1968): *Progr. Phytochem.* 1; 113.
107. Tsukamoto, Y., Fujita, M., Inaba, T. and Asahira, T. (1969): *Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.* 24.
108. Tvorus, E. K. (1970): *Fiziologia Rastenii* 17; 787.
109. Varner, J.E. (1964): *Plant Physiol.* 39; 413.
110. Viller, T.A. (1968): *Planta* 82; 312.
111. Walton, D.C., Soofi, G.S. and Sondheimer, E. (1970): *Plant Physiol.* 45; 37.
112. Walbolt, V., Clutter, M. and Sussex, I.

- (1975): *Ibid.* 56: 570.
113. Wareing, P. F., Good, J. and Manuel, J. (1968): Biochemistry and physiology of plant growth substances P. 1561—1579. (F. Whiteman and G. Setterfield eds). Runge Press, Ottawa.
114. West, S.H., Hanson, J.B. and Key, J.L (1960): *Weeds* 8:333.
115. Wright, S.T.C. and Hiron, R.W.P. (1969) *Nature* 224: 719.
116. Zwar, J.A. and Jacobson, T.V. (1972) *Plant Physiol.* 49:1000.