

Cymbidium sp. Protocorm 의 묘조분화시 내생 Polyamine 함량의 변화

韓泰鎭·康榮燾*·金成鎬*
(한림대학 생물학과, *연세대학교 생물학과)

Change of Endogenous Polyamines During Shoot Differentiation in *Cymbidium* sp. Protocorms

Han, Tae-Jin, Young Hee Kang* and Sung Ho Kim*

(Department of Biology, Hallym University, Choonchun and *Department of Biology,
Yonsei University, Seoul)

ABSTRACT

Changes in polyamine titers during shoot differentiation in *Cymbidium* sp. (Jungfrau) protocorms were studied in order to investigate the mechanism of shoot differentiation by using auxin-inhibitors(PCIB, TIBA), hormones(GA₃, ABA, BA), and phenolic compounds (2,4-dichlorophenol, catechol). The shoot differentiation and propagation of protocorms were promoted by PCIB or 2,4-dichlorophenol, and the growth of differentiated shoot were promoted by TIBA or catechol. In BA-treated protocorms, white or brown protocorms were observed. Putrescine was the most abundant polyamine during the propagation and differentiation processes. As compared with putrescine, spermidine did not show significant changes and spermine was not detected at all. Putrescine titers decreased after a temporary increase, and then again increased in the presence of GA₃, ABA, 2,4-dichlorophenol, and then again increased in the presence of GA₃, ABA, 2,4-dichlorophenol, catechol, or PCIB. But, in BA-treated protocorms, putrescine level was much lower than spermidine.

서론

식물의 기관분화, 특히 묘조분화에 있어서 그 분화의 시작과 진행과정을 확인할 수 있는 정량적인 생화학적 지표는 아직 불분명하다. 비록 배지내 auxin 과 cytokinin 의 비가 기관분화를 조절한다는 견해(Skoog and Miller, 1957)가 있으나 hormone 에 의한 기관분화 조절기구는 잘 알려져 있지 않다.

Cymbidium 의 protocorm 은 hormone 처리없이 묘조분화가 가능하므로 protocorm 자체내에 묘조분화에 필요한 cytokinin 과 auxin 의 생리적 구배가 형성되어 있으

라 생각되는데 auxin-inhibitor 나 phenolic compound 를 이용하여 protocorm 내 유효 auxin 함량을 인위적으로 조절하거나 묘조분화에 영향을 미치는 hormone 등을 처리하여 protocorm 의 증식, 묘조분화 및 묘조성장을 촉진 또는 억제할 수 있게 되면 묘조의 분화와 억제에 따른 관련 물질들의 생리적 구배를 확인할 수 있을 것이며 이로써 묘조분화의 단서를 찾을 수 있을 것으로 기대된다.

Polyamine 은 세포의 성장과 발달에 관여하는 물질로 알려져 있으며 (Galston and Kaur-Sawhney, 1970; Smith, 1977) 담배 callus 의 증식 (Heimer *et al.*, 1979), crown gall-tumor 의 발달 (Bagni and Serafini-Francassini,

1979; Kulpa *et al.*, 1985) 및 당근의 배 형성 (Montague *et al.*, 1978; Fienberg *et al.*, 1984)에 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한 뿌리 (Friedman *et al.*, 1982)와 묘조 (Desai and Mehta, 1985) 형성에 관여하며, 도관 요소분화에도 관여하는 것으로 (Phillips *et al.*, 1987) 알려져 있다. 따라서 polyamine은 기관분화시의 중요한 물질 요인으로 추정하게 되는데 auxin과 cytokinin (Walker *et al.*, 1988), GA (Cohen and Kende, 1986), ABA (Palavan-Unsal *et al.*, 1984) 등의 hormone이 polyamine 합성에 관여하는 것으로 알려져 있다. 따라서 배지내 hormone의 변화에 따른 식물의 기관분화와 polyamine 함량과의 관계를 확인할 필요가 제기되며, 특히 auxin은 기관분화와 함께 polyamine 합성에도 관계가 깊으므로 이에 대한 연구가 필요하다.

Anti-auxin인 4-chlorophenoxyisobutyric acid (PCIB)는 auxin의 작용억제제 (Moloney and Pilet, 1981)로 작용하고 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA)는 auxin의 막투과 억제제로 작용하여 (Martin *et al.*, 1987) 조직내의 IAA를 감소시키거나 축적시키므로 식물체내 유효 IAA 함량에 변화를 유발하게 된다. 또한 IAA 산화효소에 영향을 미치는 phenolic compound 즉 cofactor인 mono-phenol의 2,4-dichlorophenol (Goren and Tomer, 1971)과 inhibitor인 di-phenol의 catechol (Lee *et al.*, 1982)도 protocorm내 유효 IAA의 함량을 조절할 수 있을 것이다. 한편 protocorm의 전분합성에 영향을 주었던 GA_3 , ABA (Han *et al.*, 1988)는 protocorm의 증식과 묘조분화를 억제하고 cytokinin (Walker *et al.*, 1988)과 함께 polyamine 합성을 조절하므로 (Cohen and Kende, 1986; Palavan-Unsal *et al.*, 1984) protocorm의 증식과 묘조분화에 다른 polyamine 함량과의 관련성을 조사할 필요가 있다.

이에 따라 본 실험은 auxin-inhibitor (PCIB, TIBA)와 phenolic compound (2,4-dichlorophenol, catechol)를 처리하여 protocorm내 IAA나 IAA 산화효소에 작용하게 하여 protocorm내 유효 IAA 함량을 변화시키거나 GA_3 , ABA, BA 등의 hormone을 처리하여 이 때의 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조성장의 변화와 protocorm내 polyamine 함량변화와의 관련성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

Protocorm의 유기 및 배양. *Cymbidium*속의 Jungfrau를 Lindeman 등(1970)과 Churchill 등(1971)의 방법을 변용하여 $1\mu M$ naphthalene acetic acid와 $0.1\mu M$ benzyladenine으로 조성한 MS 고형배지에서 protocorm을 유기하여 증식시킨 다음, hormone이 첨가되지 않은 MS 액체기본배지로 $25\pm 1^\circ C$, 120 rpm, 암소의 진탕배양기에서 20일 간격으로 3회 진탕배양하여 hormone 전력을

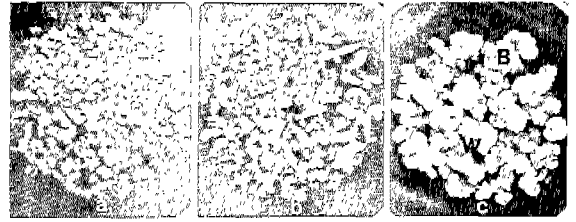


Fig. 1. Appearance of *Cymbidium* protocorms after 20 days in liquid culture in the dark, (a) $10\mu M$ PCIB-treated protocorms; (b) $1\mu M$ TIBA-treated protocorms; (c) $10\mu M$ BA-treated protocorms (W, White protocorms; B, Brown protocorms).

없앤 후, 실험재료로 사용하였다.

실험구의 설정. Auxin-inhibitor, phenolic compound 및 hormone에 의한 protocorm의 증식, 묘조분화 및 묘조성장과 protocorm내 polyamine 함량과 관련성을 알아보기 위하여 hormone이 첨가되지 않은 MS 액체 기본배지를 대조구로 하여 auxin-inhibitor 처리구, phenolic compound 처리구 및 hormone 처리구로 설정하였다. 각 처리물질의 첨가는 $0.22\mu m$ 세컨 여과기를 사용하였으며, $25\pm 1^\circ C$, 암소의 향은 진탕배양기에서 배양하였으며 각 실험과정은 필요한 경우 $4^\circ C$ 이하에서 수행하였다. 또한 각 처리구의 물질처리 농도는 예비실험을 통하여 protocorm의 증식, 묘조분화 및 성장의 촉진과 억제기능에 적절한 농도를 정하였다. 이에 따라 auxin-inhibitor 처리구는 $10\mu M$ PCIB 처리구와 $1\mu M$ TIBA 처리구로 설정하였으며, phenolic compound 처리구는 $10\mu M$ 2,4-dichlorophenol과 $10\mu M$ catechol로, hormone 처리구는 $100\mu M$ GA_3 , $1\mu M$ ABA 및 $10\mu M$ BA 처리구로 각각 설정하여 20일간 경시적으로 관찰하면서 5일 간격으로 수확하여 polyamine 함량변화를 조사하였다. 형태변화는 GA_3 처리구와 ABA 처리구에 대하여서는 보고한 바 있으므로 (Han *et al.*, 1988) 본 논문에서는 PCIB 처리구와 TIBA 및 BA 처리구를 보고하며 phenolic compound 처리구는 다음 본문에서 보고하기로 한다.

Polyamine의 추출과 정량. Polyamine의 추출과 정량은 Goren 등(1982)의 방법에 따라 Luminescence spectrophotometer (Perkin Elmer LS-5)로 형광 광도분 측정하여 polyamine 함량을 구하였다.

결 과

형태변화. $10\mu M$ PCIB와 $1\mu M$ BA 처리가 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 외부형태변화를 경시적으로 관찰하였다 (Fig. 1).

PCIB 처리구는 protocorm의 증식과 묘조분화는 대조구 (Han *et al.*, 1988)나 TIBA 처리구에 비하여 제일 높았으

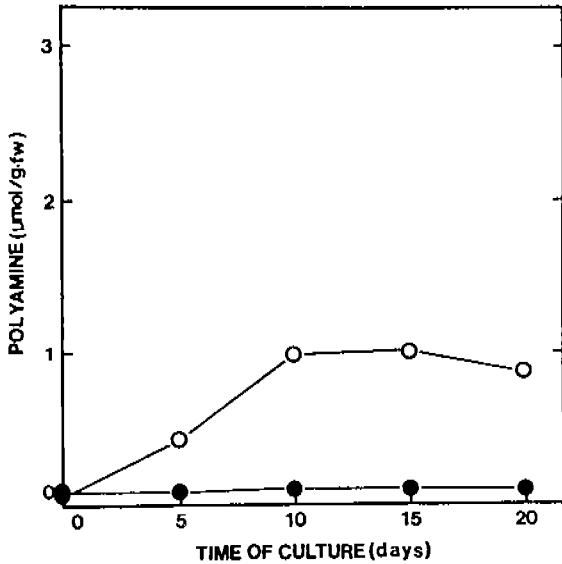


Fig. 2. Polyamine levels on control during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. Putrescine, O; Spermidine, ●.

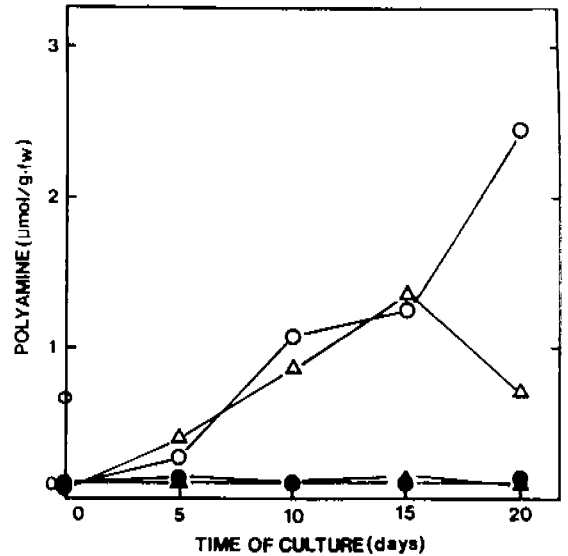


Fig. 3. Effects of 10 μM PCIB and 1 μM TIBA on polyamine levels during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. PCIB: Putrescine, O; Spermidine, ●; TIBA: Putrescine, Δ; Spermidine, ▲.

나 묘조성장은 가장 저조하였으며 protocorm의 크기는 매우 미소하였다(Fig. 1a). 반면 TIBA 처리구는 대조구에 비하여 protocorm의 증식과 묘조분화가 높았으며, 묘조의 성장은 가장 왕성하였다(Fig. 1b). 또한 BA 처리구는 대조구나 다른 실험구와는 달리 갈색(B)과 백색(W)의 두 protocorm 유형이 나타났다. 갈색의 protocorm의 경우는 다른 실험구의 protocorm의 경우와는 달리 반투명하고 증식된 protocorm이 날개로 분리되지 않아 protocorm 괴를 이루고 있으며 백색의 경우는 묘조분화나 성장 및 수적인 증식이 매우 낮고, 절편 각각의 양적인 증가만 나타나 crown gall과 유사한 형태로 변화되었다(Fig. 1c).

Polyamine 함량. Auxin-inhibitor, phenolic compound 및 hormone에 의한 protocorm 배양시의 polyamine 함량변화를 조사하였다.

Protocorm의 증식과 묘조분화 및 그 성장에 따른 polyamine 함량은 대조구와 함께 각 처리구에서 배양일 경과에 따라 많은 차이를 나타내었는데, 특히 putrescine은 그 함량이 매우 많고 함량변화가 큰 것에 반하여 spermidine은 극소하고 그 변화도 작아 전 실험구에서 0.07-0.11 μmol/g·fw 범위 내였으며 spermine은 확인되지 않았다. 대조구의 경우(Fig. 2) putrescine 함량은 배양 10일까지 크게 증가하여 배양 개시일의 0.06 μmol/g·fw에 비하여 100% 정도 증가하였으며 배양 15일까지 큰 변화가 없다가 감소경향을 나타내었다. 한편, spermidine은 배양 개시일의 0.07 μmol/g·fw 보다 다소 증가하였으나 그 이후는 큰 변화가 없었다.

1) PCIB와 TICB의 영향. PCIB와 TIBA 처리시

의 polyamine 함량변화는 putrescine이 각 처리구에 비하여 현저하였으며 spermidine은 큰 변화가 없었다(Fig. 3). PCIB 처리구와 TIBA 처리구 모두에서 putrescine의 함량변화가 현저하였다. 즉 배양 15일까지는 그 증가양상이 서로 유사하여 PCIB 처리구는 약 21배, TIBA 처리구는 약 22배까지 급증하였으나, 그 이후에는 상이한 양상을 나타내어 PCIB 처리구의 경우 배양 20일에는 15일에 비하여 2배 정도 증가하였으며 TIBA 처리구에서는 2배 정도 감소하였다. 한편 spermidine은 전배양 과정을 통하여 거의 변화가 없었다.

2) 2,4-Dichlorophenol과 catechol의 영향. 2,4-Dichlorophenol과 catechol 처리시의 polyamine 함량변화는 putrescine이 spermidine보다 양적 변화가 컸으며, 특히 2,4-dichlorophenol 처리구에서 변화가 컸다(Fig. 4).

2,4-Dichlorophenol 처리구에서 putrescine 함량은 배양 10일까지 크게 증가하여 배양 개시일에 비하여 약 19배까지 증가하였으며 배양 15일에는 10일에 비하여 약 66% 감소하였다. Catechol 처리구에서의 putrescine 함량은 배양 5일에는 배양 개시일에 비하여 약 7배 증가한 후, 큰 변화가 없다가 15일에는 배양 10일에 비하여 다소 감소하였으며 배양 20일에는 두 처리구 모두 putrescine 함량이 증가하였는데, 2,4-dichlorophenol 처리구에서는 배양 15일에 비하여 약 3.4배로 크게 증가한데 비하여 catechol 처리구에서는 약 58%만 증가하였다. 한편 spermidine의 경우는 배양 개시일에 비하여 다소 증가하였고 2,4-dichlorophenol이 catechol에 비하여 약간 높았으나 대체로 서

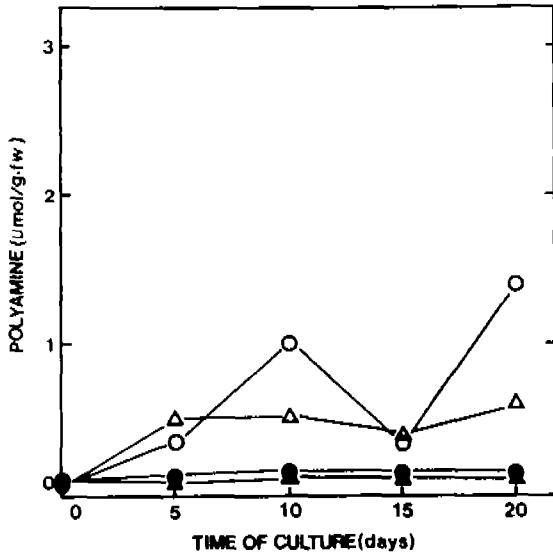


Fig. 4. Effects of $10\ \mu\text{M}$ DCP and $10\ \mu\text{M}$ catechol on polyamine levels during shoot differentiation in cultures *Cymbidium* protocorms. DCP: Putrescine, \circ ; Spermidine, \bullet ; Catechol: Putrescine, Δ ; Spermidine, \blacktriangle .

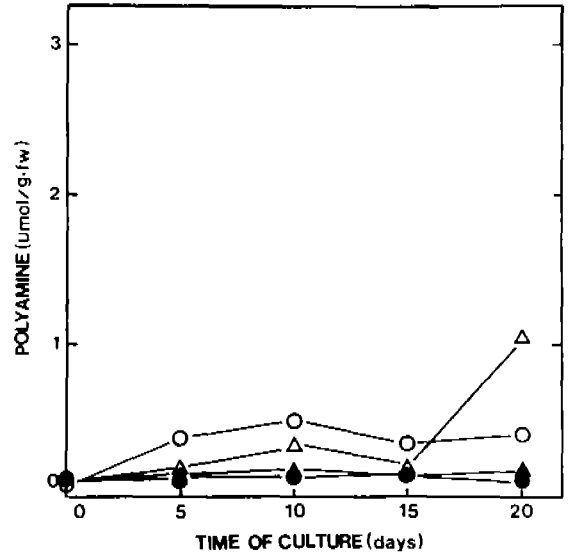


Fig. 5. Effects of $100\ \mu\text{M}$ GA_3 and $1\ \mu\text{M}$ ABA on polyamine levels during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. GA_3 : Putrescine, \circ ; Spermidine, \bullet ; ABA: Putrescine, Δ ; Spermidine, \blacktriangle .

로 유사하였다.

3) GA_3 와 ABA의 영향. GA_3 와 ABA 처리시의 polyamine 함량변화는 대조구와 마찬가지로 putrescine은 양적인 변화가 큰 반면, spermidine은 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 5). GA_3 처리구와 ABA 처리구의 putrescine의 함량변화는 대체로 유사하였는데, 배양 개시일에 비하여 배양 10일에 GA_3 처리구는 약 8배 증가하였고 ABA 처리구는 약 5배 증가하였다. 배양 15일에는 다소 감소하였으며 배양 20일에는 다시 증가하여 GA_3 처리구가 소폭 증가한 것에 반하여 ABA 처리구는 배양 15일에 비하여 약 5.6배 급증하였다. Spermidine은 두 처리구 모두 그 함량은 적었으나 ABA 처리구가 GA_3 처리구에 비하여 비교적 변화폭이 컸다.

4) BA의 영향. BA 처리구의 경우는 백색 protocorm과 갈색 protocorm으로 각각 나누어 조사하였는데, 백색 protocorm의 경우 putrescine이 배양 5일에 배양 개시일에 비하여 약 3.5배 증가하고 배양 10일에는 다소 감소한 후 급감한데 반하여 갈색 protocorm의 경우는 배양 5일에 약 6.7배 증가한 후 서서히 감소하였다. Spermidine 함량은 다른 처리구와 큰 차이를 나타내어 백색 protocorm의 경우 다소 증가하여 배양 15일에 약 3배 증가한 후 다시 감소하였으나 갈색 protocorm의 경우는 전 과정에서 확인되지 않았다(Fig. 6).

고찰

Protocorm의 묘조분화 기구를 규명하기 위하여 묘조분

화시 polyamine 함량의 생리적 구배의 특징을 auxin-inhibitor나 phenolic compound 및 hormone을 중심으로 조사하였다.

Protocorm의 증식과 묘조분화는 PCIB 처리구에서 왕성하였으며(Fig. 1a) 분화된 묘조의 성장은 TIBA 처리구에서 왕성하였는데(Fig. 1b), 이것은 auxin에 의한 묘조분화의 억제와 TIBA에 의하여 회복된다는 Cassells(1979)의 실험결과와 유사하며, 암처리에 의한 묘조억제가 부분적으로 회복되었다는 결과(Cassells *et al.*, 1982)와도 상응한다.

대체적인 putrescine 함량은 PCIB 처리구와 TIBA 처리구가 월등히 많았고, 그 다음이 ABA 처리구, GA_3 처리구, catechol 처리구, 2,4-dichlorophenol 처리구 순이었다. Putrescine의 함량변화 양상은 대조구(Fig. 2)와 TIBA 처리구(Fig. 3)에서 증가 후 감소하였는데, 이는 묘조나 뿌리 분화시의 전형적인 변화양상이다(Desai and Metha, 1985). 그러나 phenolic compound 처리구(Fig. 4)와 GA_3 및 ABA 처리구(Fig. 5)에서는 증가 후 감소하다가 다시 증가하는 차이를 나타내었는데(Fig. 4, 5), 이러한 putrescine의 변화양상은 protocorm 배양에 따른 형태적 변화를 고려할 때 배양 중반까지 두 처리구에서 putrescine이 증가한 것은 protocorm의 증식과 묘조분화에 의한 것으로 추정된다. 또한 배양 후기의 putrescine의 증가와 감소는 PCIB 처리구와 TIBA 처리구에서 전형적인 대조를 나타내었다(Fig. 3). PCIB 처리구는 묘조성장이 억제되고 소형의 protocorm 증식과 묘조분화가 활발하여

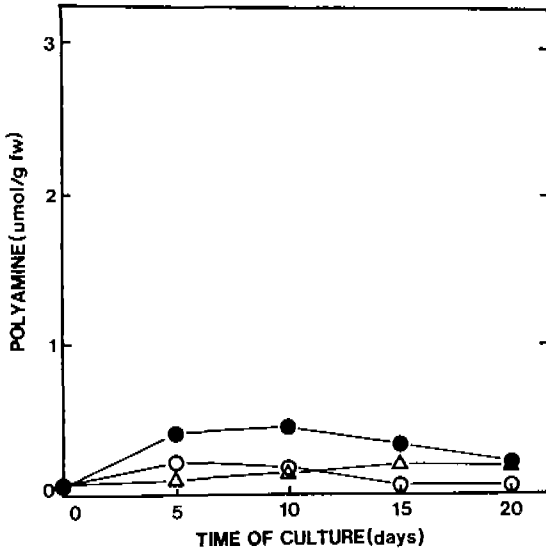


Fig. 6. Effects of 10 μ M BA on polyamine levels during cultured *Cymbidium* protocorms. Brown: Putrescine, ○; White: Putrescine, ●; Spermidine, △.

(Fig. 1a) 배양 후기에 putrescine 함량이 급증한데 반하여, TIBA 처리구는 protocorm의 증식, 묘조분화와 함께 묘조의 성장이 활발하였는데 (Fig. 1b), 이는 PCIB 처리구와는 달리 putrescine 함량 감소와 관련이 있는 것으로 사료된다 (Fig. 3). BA 처리구는 다른 실험구와는 달리 백색 protocorm 군 (W)과 갈색 protocorm 군 (B)으로 대별되었는데 (Fig. 1c), putrescine은 비교적 protocorm 증식이 많은 갈색 protocorm 군에서 많았으나 spermidine은 백색 protocorm 군의 경우 다른 처리구에서와는 달리 증가경향을 나타내었고 갈색의 protocorm 군에서는 전과정에서 확인되지 않았다 (Fig. 6).

Polyamine은 묘조나 뿌리 분화시에는 증가하고 (Desai and Mehta, 1985), 도관요소 분화시에는 감소하나 (Phillips *et al.*, 1987), 직접 묘조나 뿌리의 분화를 유발하는 것으로는 생각되지는 않는다. 왜냐하면 polyamine 합성저해제인 bis-(guanylhydrazone) (MGBG)은 auxin에 의한 묘조분화 억제를 polyamine과는 달리 부분적이기는 하나 회복시켰으며 (Kaur-Sawhney *et al.*, 1988; Tiburcio *et al.*, 1987), dicyclohexylammoniumsulfate (DCHA), difluoromethylarginine (DFMA) 등의 polyamine 합성저해제들도 auxin 처리하에서 meristematic center의 수를 급증시켰다. 이처럼 polyamine은 세포분열이 활발한 모든 부위에서 그 함량이 높으며 묘조나 뿌리분화에 관계없이 유사한 양상을 나타내므로 (Desai and Metha, 1985), polyamine의 함량이 묘조분화나 뿌리분화를 직접 조절한다고 보기는 어렵다. 또한 뿌리형성에 있어서 spermidine

Table 1. Putrescine/spermidine ratios during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms

Compounds	Put/Spd ratio (%)				
	0	5	10 (days)	15	20
Control	0.86	5.86	11.13	12.50	10.50
PCIB	—	3.50	15.19	17.57	31.00
TIBA	—	5.57	12.00	16.75	9.86
DCP	—	4.25	11.22	3.78	15.56
Catechol	—	7.14	6.38	4.75	7.50
GA ₃	—	5.00	5.88	4.00	5.25
ABA	—	1.89	2.91	1.78	9.55
BA	—	2.23	1.17	0.03	0.05

에 대한 putrescine의 함량비 (Friedman *et al.*, 1982)가 중요한 의미를 지는데 본 실험의 경우 protocorm의 증식과 묘조분화가 활발한 경우 그 비가 큰 것으로 나타나 (Table 1), 뿌리의 형성이나 발아 (Walker *et al.*, 1988) 및 protocorm의 증식과 묘조분화시 모두 그 비가 큰 것은 polyamine의 비가 특정기관의 분화에 의한 것이라기 보다는 기관분화나 세포분열시의 보편적인 현상일 가능성이 있으며 특히 뿌리형성시 (Jarvis *et al.*, 1983)나 뿌리 형성층에서는 그 비가 감소한다는 상이한 보고 (Schwartz *et al.*, 1986)도 있으므로 이에 대한 논의는 더 많은 연구를 필요로 한다.

한편 본 실험의 결과 대체로 protocorm의 증식과 묘조분화가 활발하고 묘조성장이 억제된 경우 putrescine의 함량이 증가한 반면, 묘조성장이 촉진된 반면 protocorm 증식과 묘조분화가 억제된 경우는 감소하는 경향을 나타내었다. 일반적으로 ABA (Palavan-Unsal *et al.*, 1984)는 polyamine 합성을 억제하는 반면 auxin과 cytokinin (Walker *et al.*, 1988) 및 GA (Cohen and Kende, 1986)는 polyamine 합성을 촉진하므로 이러한 protocorm의 변화는 단순히 처리 hormone의 직접적인 작용이라고 보기는 어려우며 특히 묘조분화에는 auxin과 cytokinin의 함량비가 중요하므로 protocorm 배양시 putrescine 함량의 변화는 각 처리물질의 직접적인 영향이라기 보다는 이러한 물질처리에 따른 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조성장의 결과인 것으로 사료된다. 특히 auxin-inhibitor 처리구 (Fig. 3)와 phenolic compound 처리구 (Fig. 4)에서 이러한 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조성장과 putrescine 함량변화와의 관계를 나타내 주는데 이것은 이러한 물질들의 처리에 의한 protocorm내 유효 IAA 함량 변화와 무관하지 않으리라 추정되며 식물체내 이 유효 IAA의 함량을 인위적으로 조절할 수 있으면 식물의 묘조분화를 용이하게 조절할 수 있을 것으로 기대된다.

이상의 실험결과와 추론을 통하여 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조성장은 protocorm내 유효 auxin과

cytokinin의 함량비에 의하여 조절되며 그 결과로 인하여 polyamine 등의 물질들의 생리적 구배가 형성되어 묘조분화에 관여하리가 추정되며 이 때 polyamine은 묘조나 뿌리의 어느 특정기관의 분화를 조절하였다기 보다는 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조의 성장결과이었다고 추정할 수 있다.

적 요

*Cymbidium*속 Jungfrau의 protocorm 묘조분화 기구를 구명하기 위하여 auxin-inhibitor(PCIB, TIBA), phenolic compound(2,4-dichlorophenol, catechol) 및 hormone(GA₃, ABA, BA)에 의한 묘조분화에 따른 protocorm 내 polyamine 함량변화를 조사하였다.

PCIB 처리구와 2,4-dichlorophenol 처리구에서 protocorm 증식과 묘조분화가 왕성하였으며 TIBA 처리구와 catechol 처리구는 묘조성장이 왕성하였다. BA 처리구는 백색 protocorm 군과 갈색 protocorm 군으로 구분되었다. Polyamine 함량은 putrescine이 다량인데 비하여 spermidine은 소량이었으며 spermine은 확인되지 않았다. Putrescine은 각 처리구에서 증가 후 감소하였으나 PCIB, 2,4-dichlorophenol, catechol, GA₃ 및 ABA 처리구에서는 배양 후기에 다시 증가하였으며 BA 처리구에서는 spermidine 함량이 갈색 protocorm 군에서 전 실험구를 통하여 가장 많았다.

참 고 문 헌

- Bagni, N. and D. Serafini-Fracassini. 1979. Polyamines and plant tumors. *Ital. J. Biochem.* **28**: 392-394.
- Cassels, A.C. 1979. The effect of 2,3,5-triodobenzoic acid on caulogenesis in callus cultures of tomato and *Pelargonium*. *Physiol. Plant.* **46**: 159-164.
- Cassels, A.C., R.D. Long and D.M.A. Mousdale. 1982. Endogenous IAA and morphogenesis in tobacco petiole cultures. *Physiol. Plant.* **56**: 507-512.
- Churchill, M.E., J. Arditti and E.A. Ball. 1971. Clonal propagation of orchids from leaf tips. *Am. Orchid Soc. Bull.* **40**: 109-113.
- Cohen, E. and H. Kende. 1986. Effect of submergence ethylene and gibberlin on polyamines and their biosynthetic enzymes in deep water-rice internodes, *Planta* **169**: 489-504.
- Desai, H.V. and A.R. Mehta, 1985. Changes in polyamine levels during shoot formation, and callus induction in cultured *Passiflora* leaf discs. *J. Plant Physiol.* **119**: 45-53.
- Fienberg, A.A., J.H. Choi, W.P. Lubich and Z.R. Sung. 1984. Development regulation of polyamine metabolism in growth and differentiation of carrot culture. *Planta* **162**: 532-539.
- Friedman, R., A. Altman and U. Bachrach. 1982. Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. I. Effects of exogenous compounds and changes in endogenous polyamine content. *Plant Physiol.* **70**: 844-848.
- Galston, A.W. and R. Kaur-Sawhney. 1970. Polyamines and plant cells. *What's New in Plant Physiol.* **11**: 5-8.
- Goren, R., E. Tomer. 1971. Effects of seselin and coumarin on growth, indole-acetic acid oxidase, and peroxidase, with special reference to cucumber radicles. *Plant Physiol.* **47**: 312-316.
- Han, T.-J. Y.H. Kang and E.S. Kim. 1988. Effects of GA₃ and ABA on endogenous starch content during shoot differentiation in *Cymbidium* sp. protocorms. *Kor. J. Bot.* **31**(4): 249-258.
- Heimer, Y.M., Y. Mizrahi and U. Bachrach. 1979. Ornithine decarboxylase activity in rapidly proliferating plant cells. *FEBS Letters* **104**: 146-148.
- Jarvis, B.C., P.R.M. Shannon and S. Yasimin. 1983. Involvement of polyamines with adventitious root development in stem cuttings of mung bean. *Plant Cell Physiol.* **24**(4): 677-683.
- Kaur-Sawhney, R., N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1984. Induction of differentiation in tissue cultures by inhibitors of polyamine biosynthesis. *Plant Physiol.* **75**(Suppl.): 15 (abstr. 79).
- Kulpa, J.M., A.G. Galsky, P. Lipetz and R. Stephens. 1985. Polyamine and crown gall tumor growth. *Plant Cell Reports* **4**: 81-83.
- Lee, T.T., A.N. Starratt and J.J. Jevniker. 1982. Regulation of enzymic oxidation of indole-3-acetic acid by phenols: structure-activity relationships *Phytochemistry.* **21**: 517-523.
- Lindemann, E.G.P., J.E. Gunckel and O.W. Davidson. 1970. Meristem culture of *Cattleya*. *Am. Orchid Soc. Bull.* **39**: 1002-1004.
- Martin, H.V., R. Beffa and P. Pilet. 1987. A comparison between 3,5-diiodo-4-hydroxybenzoic acid and 2,3,5-triodobenzoic acid. II. Effects on uptake and efflux of IAA in maize roots. *Physiol. Plant.* **71**: 37-43.
- Moloney, M.M. and P.E. Pilet. 1981. Auxin binding in roots: a comparison between maize roots and coleoptile. *Planta* **153**: 147-152.
- Montague, M.J., J.W. Koppinbrink and E.G. Jaworski. 1978. Polyamine metabolism in embryogenic cells of *Daucus carota*. I. Changes in intracellular content and rates of synthesis. *Plant Physiol.* **62**: 430-433.
- Palavan-Unsal, N.R. Goren and A.W. Galston. 1984. Effects of some growth regulator on polyamine biosynthetic enzyme in etiolated pea seedlings. *Plant Cell Physiol.* **25**: 541-546.
- Phillins, R., M.C. Press and A. Eason. 1987. Polyamines in

- relation to cell division and xylogenesis in cultured explants of *Helianthus tuberosus*: Lack of evidence for growth-regulatory action. *J. Exp. Bot.* **38**(186): 164-172.
- Schwartz, M., A. Altman, Y. Cohen and T. Arzee. 1986. Localization of ornithine decarboxylase and changes in polyamine content in root meristems of *Zea mays*. *Physiol. Plant.* **67**: 485-492.
- Sethi, U., A. Basu and S. Guha-Mukherjee. 1988. Control of cell proliferation and differentiation by regulating polyamine biosynthesis in cultures of *Brassica* and its correlation with glyoxalase-I activity. *Plant Science* **56**: 167-175.
- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **11**: 118-131.
- Smith, T.A. 1977. Recent advances in the biochemistry of plant amines. In *Progress in Phytochemistry*, Vol. 4, Reinhold, L., J.B. Harborne and T. Swain (eds.), pp. 27-81. Pergamon Press, Oxford.
- Tiburcio, A.F., R. Kaur-Sawhney and A.W. Galston. 1987. Effect of polyamine biosynthetic inhibitors on alkaloids and organogenesis in tobacco callus cultures. *Plant cell, Tissue Organ Culture* **9**: 11-120.
- Walker, M.A., D.R. Robert and E.B. Dumbroff. 1988. Effects of cytokinin and light on polyamines during the greening response of cucumber cotyledons. *Plant Cell Physiol.* **29**: 201-205.

(1990, 2, 20 接受)