

Cymbidium sp.의 Protocorm 내 IAA 산화효소 활성변화가 묘조분화에 미치는 영향

韓 泰 鎭·康 榮 燾
(한림대학교 생물학과·연세대학교 생물학과)

Influence of Change in IAA-Oxidizing Enzyme Activities on Shoot Differentiation in *Cymbidium* sp. Protocorms

Han, Tae-Jin and Young Hee Kang

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

ABSTRACT

Physiological gradient of IAA-oxidizing enzyme activities was investigated in order to elucidate the mechanism of shoot differentiation in *Cymbidium* sp. ('Jungfrau') protocorms by using phenolic compounds (2,4-dichlorophenol, catechol), auxin-inhibitors (PCIB, TIBA), and hormones (GA_3 , ABA, BA). The activity of IAA oxidase was decreased in protocorms treated with catechol decreased the catalytic activity of IAA oxidase or TIBA but this enzyme activity was increased after a temporary decrease at initial stages in the presence of 2,4-dichlorophenol or PCIB. The activity of IAA oxidase in BA-treated protocorms (white and crown gall-like) was the highest of all. However, the catalytic activity of peroxidase increased after a temporary decrease at initial period. These results suggest that shoot differentiation and growth may be influenced by effective IAA levels in the protocorms causing IAA-oxidizing enzymes and phenolic compounds.

서 론

식물의 칼루스는 배지내 auxin에 대한 cytokinin 비의 상대값이 클 때 묘조가 분화되며 그 값이 작을 때는 뿌리가 분화되는데 (Skoog and Miller, 1957) *Cymbidium*의 protocorm도 그 분화 양상이 유사하여 (Arditti, 1979), 배지내 hormone 조절에 의하여 protocorm의 증식과 분화는 물론 완전한 식물체 재생도 가능하며 (Morel, 1960; Wimber, 1963) 각종 hormone의 처리에 의하여 protocorm의 증식, 묘조분화 및 생장이 영향을 받는다 (Fonnesbech, 1972). 식물조직에서의 뿌리나 묘조 등의 기관분화는 그 식물조직 자체의 hormone 함량조절이나 배지내 hormone 조성 등의 외부적 영향에 의한 조직내 유효

hormone 함량조절에 의한 것으로 추정된다. 따라서 식물체내 유효 IAA 함량조절은 식물의 여러 가지 생리 기능 특히 뿌리나 묘조 등의 기관분화에 중요한 영향을 미칠 것으로 생각되며 식물체내 IAA 함량조절은 IAA-oxidase나 peroxidase 등과 같은 IAA 산화효소와 밀접한 관련이 있으리라 생각된다.

IAA oxidase와 peroxidase는 식물체에 광범위하게 존재하는 IAA 분해효소로서 (Goldacre, 1951; Galston *et al.*, 1953) 특히 IAA oxidase는 peroxidase와 함께 IAA 산화에 관여하지만 peroxidase와 그 기능이 다른 것으로 알려져 있다 (Bryant and Lane, 1979; Sequeira and Mineo, 1966), IAA oxidase (Lee, 1972; Saleh, 1981)와 peroxidase (Hirsch and Fortune, 1984)는 hormone 등의

영향을 받지만 특히 그 산화에 따른 IAA 함량조절은 phenolic compound의 작용이 중요하다. Phenolic compound는 manganese ion과 함께 IAA oxidase 활성 조절 물질로 알려져 있다(Sondheimer and Griffin, 1959). 즉, 2,4-dichlorophenol, coumaric acid, ferulic acid 등의 mono-phenol은 IAA oxidase의 cofactor(Furuya *et al.*, 1962; Goren and Tomer, 1971)로 작용하고, catechol, caffeic acid, chlorogenic acid 등의 di-phenol은 inhibitor(Stonier *et al.*, 1970; Lee, 1977; Lee *et al.*, 1982)로 작용하여 IAA의 양을 조절함으로써 di-phenol은 생장을 촉진하는 반면, mono-phenol은 생장을 억제한다(Thimann *et al.*, 1962). 나팔꽃 줄기의 굴광성(Yoneda and Stonier, 1966)과 굴축성(Stonier and Yoneda, 1967) 현상도 자극에 따른 di-phenol계 물질의 줄기내 IAA protector 분포에 의해 형성된 IAA의 구배가 관여하는 것으로(Stonier and Yoneda, 1967; Stonier *et al.*, 1968, 1970) 미루어 유효 IAA 함량조절에 의하여 식물의 기관분화에도 이들 phenolic compound의 작용이 중요할 것으로 추측된다.

Peroxidase에 의한 IAA 함량조절도 phenolic compound가 조절물질로 관여한다(Miller *et al.*, 1975; Mato *et al.*, 1988; Osswald *et al.*, 1988). Peroxidase는 기관의 원기형성과 함께 도관요소의 분화 및 lignin 합성(Mäder and Amberg-Fisher, 1982; Kay and Basile, 1987)에 관여하며 특히 뿌리 분화시 현저히 증가한다(Goff, 1975; Gregory, 1966; Moncousin and Gasper, 1983; Swarner *et al.*, 1986). 이처럼 phenolic compound는 IAA 산화효소에 관여하므로 auxin 억제제와 함께 식물체 내의 유효 IAA 함량 조절에 관여하리라 추측된다.

이에 따라 본 실험은 IAA oxidase와 peroxidase 등의 IAA 산화효소 활성에 영향을 미치는 phenolic compound 즉, cofactor인 mono-phenol의 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP)과 inhibitor인 di-phenol의 catechol 처리시의 IAA 산화효소의 활성 변화와 protocorm의 증식, 묘조분화 및 생장과의 관련성을 알아보려고 하였으며 또한 auxin-inhibitor(PCIB, TIBA)와 hormone(GA₃, ABA, BA)처리에 의한 protocorm의 증식, 묘조의 분화 및 생장과 IAA oxidase 활성변화와의 관련성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

Protocorm의 유기 및 배양. *Cymbidium* sp.의 품종 'Jungfrau'를 Lindemann 등(1970)의 방법을 변용하여 묘조의 정단조직을 적출, 1 μ M naphthalene acetic acid와 0.1 μ M benzyladenine(BA)으로 조성한 MS 고형배지로 인공환경 조절장치(Percival)에서 protocorm을 유기하여 배양, 증식시킨 다음(Churchill *et al.*, 1971), 10mm³ 정도 크기로 세절하여 MS 액체 기본배지로 25 \pm 1 $^{\circ}$ C, 120 rpm, 암소의 항온진탕 배양기(Kuk Je)에서 20일 간격으

로 3회 진탕 배양하여 hormone 전력을 없앤 후 실험 재료로 사용하였으며 각 처리구에 배양하는 경우에도 같은 크기로 세절하였다.

실험구의 설정. Phenolic compound, auxin-inhibitor 및 hormone에 의한 protocorm의 증식, 묘조분화 및 묘조생장과 protocorm내 IAA 산화효소와의 관련성을 알아보기 위하여 hormone이 첨가되지 않은 MS 액체 기본배지를 대조구로하여 IAA 산화효소 활성에 영향을 미치는 phenolic compound를 중심으로 auxin-inhibitor 처리구 및 hormone 처리구로 설정하였다. 각 처리물질의 첨가는 0.22 μ m 세균 여과기를 사용하였으며 25 \pm 1 $^{\circ}$ C, 120 rpm, 암소에서 진탕 배양하여 20일간 정기적으로 관찰하면서 5일 간격으로 수확, IAA 산화효소의 활성도변화를 조사하였다. 또한 각 처리물질의 농도는 예비 실험을 통하여 protocorm의 증식, 묘조분화 및 생장의 촉진과 억제기능에 적절한 농도를 정하여 실험목적에 적합하도록 설정하였다. 이에 따라 IAA 산화효소의 활성에 관여하는 phenolic compound 처리구는 10 μ M 2,4-dichlorophenol과 10 μ M catechol 처리구로 설정하여 peroxidase와 IAA-oxidase의 활성도 변화를 조사하였으며 auxin-inhibitor 처리구는 10 μ M PCIB와 1 μ M TIBA로, hormone 처리구는 100 μ M GA₃, 1 μ M ABA 및 10 μ M BA 처리구로 설정하였다. 형태변화는 hormone 처리구(Han *et al.*, 1988)와 auxin-inhibitor 처리구(Han *et al.*, 1990)는 보고하였으므로 본 부문에서는 2,4-dichlorophenol 처리구와 catechol 처리구 및 1 μ M ABA 처리구를 보고한다.

Peroxidase 활성도 측정. Peroxidase의 추출과 반응액 조제는 Omran(1980)의 방법을 수정하여 사용하였으며 효소활성 측정은 Chance와 Maehly(1955)의 방법을 사용하였다. Protocorm 신선 중 500mg에 0.2M K-phosphate 완충용액(pH7.0) 3ml를 넣어 homogenizer로 마쇄하여 고속원심분리기로 27,000 \times g, 20분간, 0-4 $^{\circ}$ C에서 원심분리하여 상정액을 조효소액으로 사용하였다. 반응액은 80mM K-phosphate 완충용액(pH7.0)에 0.7mM guaiacol 및 0.0312mM H₂O₂를 포함하도록 조제하였다. 효소활성 측정은 5 μ l 효소용액을 기질 2ml를 혼합하여 25 $^{\circ}$ C에서 incubation 시키면서 470nm에서의 흡광도 증가율을 측정하여 효소활성을 구하였다.

IAA oxidase 활성도 측정. IAA oxidase의 추출과 기질조제 및 활성측정은 Mato 등(1985)의 방법을 수정하여 사용하였다. Protocorm 신선 중 500mg에 0.02M K-phosphate 완충용액(pH6.1) 3ml를 넣어 homogenizer로 마쇄한 후, 고속원심분리기로 20,000 \times g, 20분간, 0-4 $^{\circ}$ C에서 원심분리하여 상정액을 조효소액으로 사용하였다. 반응액은 0.02M K-phosphate 완충용액(pH6.1)에 0.5mM indole-3-acetic acid, 0.05mM 2,4-dichlorophenol 및 0.05mM MnCl₂·4H₂O를 포함하도록 조제하였으며 Salkowski 용액은 Pilet와 Chollet(1970)의 방법에 따라 0.5M FeCl₃를 포함하는 35% perchloric acid로 조제하였

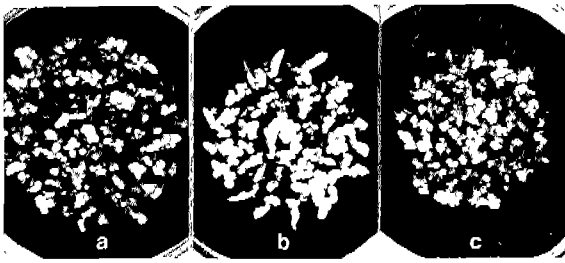


Fig. 1. Appearance of *Cymbidium* protocorms after 20 days on phenolic compound treatments in the dark. (a), 10 μ M 2,4-dichlorophenol-treated protocorms; (b), 10 μ M catechol-treated protocorms; (c), 10 μ M ABA-treated protocorms.

다. 효소활성 측정은 효소용액 0.2ml에 반응액 3ml를 혼합하여 30°C, 암소에서 1시간 동안 incubation시켜 그 중 0.2ml에 2ml Salkowski 용액을 가하여 다시 30°C, 암소에서 1시간 동안 develop시킨 후, 530nm에서 흡광도를 측정, IAA 분해 정도로 효소활성을 구하였다.

단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법으로 측정하였다.

결 과

형태변화. 10 μ M 2,4-dichlorophenol과 10 μ M catechol이 protocorm의 증식과 묘조분화 및 묘조생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 외부 형태변화를 경시적으로 관찰하였다(Fig.1). 새로운 protocorm은 protocorm 절제 부위에서 형성되어 배양일 경과에 따라 protocorm의 중앙 부위에서 묘조원기가 형성되어 분화성장하였다. 2,4-dichlorophenol 처리구(Fig.1a)는 대조구(Han *et al.*, 1988)에 비하여 protocorm의 증식과 묘조분화는 왕성하였으나 묘조의 생장은 저조하였으며, catechol 처리구(Fig.1b)는 묘조생장은 왕성하였으나 protocorm의 증식과 묘조분화는 대조구보다 저조하였다. 한편 ABA 처리구(Fig.1c)는 전반적으로 저조하였다.

효소의 활성변화. 배양일 경과에 따른 protocorm내 peroxidase와 IAA oxidase 활성에 미치는 2,4-dichlorophenol과 catechol의 영향을 조사하였으며 PCB와 TIBA 및 GA₃와 ABA 처리구는 IAA oxidase의 활성변화를 조사하였다.

1) Phenolic compound의 영향. 배양일 경과에 따른 대조구와 두 phenolic compound 처리구의 peroxidase 활성변화는 서로 유사한 양상을 나타내어 대조구는 배양 20일에는 실험구에 비하여 다소 증가한 것에 비하여 각 실험구 모두 대체로 다소 감소 경향을 나타내었으나(Fig.2), IAA oxidase의 활성변화는 배양 10일까지는 2,4-dichlorophenol 처리구와 catechol 처리구가 유사하여 대조구에 비하여 활성이 크게 감소하였으며 배양 15일 이후에는 대

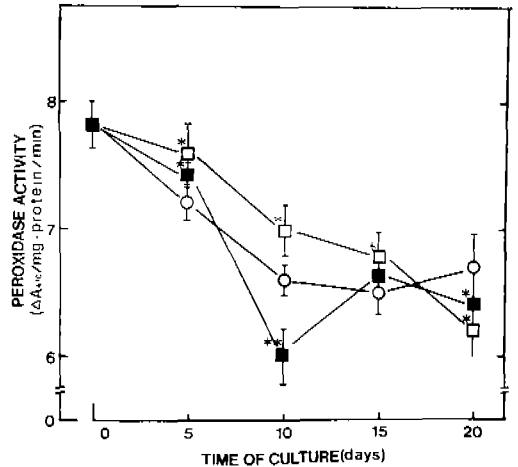


Fig. 2. Effects of phenolic compounds on peroxidase activities during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. Control, ○; 10 μ M 2,4-dichlorophenol, □; 10 μ M catechol, ■. Data are expressed as mean \pm SE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

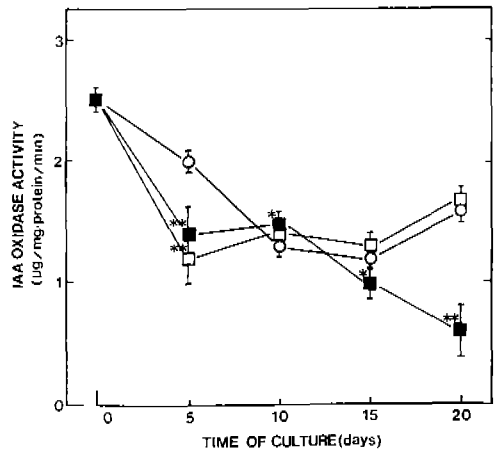


Fig. 3. Effects of phenolic compounds on IAA-oxidase activities during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. Control, ○; 10 μ M 2,4-dichlorophenol, □; 10 μ M catechol, ■. Data are expressed as mean \pm SE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

조구와 2,4-dichlorophenol 처리구는 효소활성이 다소 증가한 것에 반하여 catechol 처리구는 대조구에 비하여 약 63% 급감하였다(Fig.3).

2) Auxin-inhibitor와 hormone의 영향. Auxin-inhibitor와 hormone에 의한 IAA oxidase의 활성변화를 조사하였다(Fig.4). PCB와 TIBA 처리구의 IAA oxidase의 활성변화는 배양 5일에 TIBA 처리구의 경우는 대조구와 유사하였으나 PCB 처리구는 대조구에 비하여 15% 감소하였으며, 배양 20일에는 대조구에 비하여

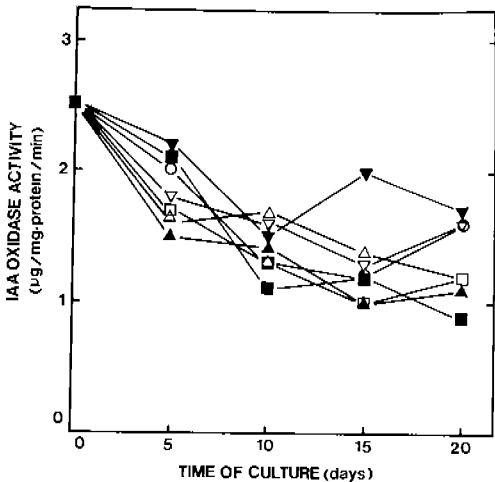


Fig. 4. Effects of auxin-inhibitors and hormones on IAA oxidase activities during shoot differentiation in cultured *Cymbidium* protocorms. Control, ○; 10 µM PCIB, □; 1 µM TIBA, ■; 100 µM GA₃, ▲; 10 µM ABA, △; 10 µM BA (brown, ▽; white, ▽).

PCIB 처리구는 25%, TIBA 처리구는 44% 급감하였다. GA₃와 ABA 처리시의 IAA oxidase의 활성변화는 배양 5 일에는 대조구에 비하여 각각 25% 및 20% 감소하였으나 배양 10 일과 15 일에는 GA₃ 처리구는 대조구와 유사한 반면 ABA 처리구는 대조구에 비하여 각각 31% 및 17% 증가하였으며 배양 20 일에는 각각 31% 및 25% 감소하였다. 한편 BA 처리시의 IAA oxidase 활성변화는 protocorm 괴를 이루고 있는 갈색 protocorm의 경우 대조구와 그 변화양상이 유사하였으나 비정상적으로 비후된 백색 protocorm의 경우는 대조구에 비하여 대체로 높았으며 특히 배양 15 일에는 67% 급증하였다.

고찰

Cymbidium sp.의 protocorm은 hormone 처리없이 묘조분화가 가능한데 이는 묘조분화를 위한 자체 조절기구가 있음을 의미하며 역시 cytokinin과 auxin에 의한 조절이 기본일 것으로 추측된다. 그러나 protocorm은 각종 hormone의 영향을 받는 것(Fonnesbech, 1972)을 고려할 때 이러한 protocorm 내부의 묘조형성 기구를 임의 조정할 수 있을 것으로 기대된다. 이에 따라 본 실험은 IAA 산화효소에 영향을 미치는 phenolic compound를 이용하여 protocorm 내 유효 IAA 함량을 조절, IAA 산화효소 활성의 생리적 구배에 따른 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 성장과의 관련성을 조사하였으며 또한 auxin-inhibitor와 hormone 처리시 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 성장과 IAA oxidase 활성과의 관련성을 조사하였다.

Peroxidase와 IAA oxidase의 생리적 구배는 protocorm의 증식, 묘조의 분화 및 성장의 차이로 나타났는데 protocorm의 증식과 묘조분화는 2,4-dichlorophenol 처리구(Fig. 1a)에서 가장 왕성하였으며 분화된 묘조의 생장은 catechol 처리구에서 왕성하였다(Fig. 1b). 한편 ABA 처리구(Fig. 1c)는 대조구(Han *et al.*, 1988)에 비하여 대체로 저조하였다.

Peroxidase의 활성 증가는 뿌리분화의 지표로 삼기도 하는데(Moncousin and Gasper, 1983), 뿌리분화시 peroxidase 활성이 지속적 증가 후 감소하는 것(Druart *et al.*, 1982; Epstein and Lavee, 1984)과는 반대로 본 실험에서는 대조구와 두 phenolic compound 처리구에서 대체로 감소하는 경향을 나타내었는데(Fig. 2), 이는 묘조의 분화 및 생장시 일시적 증가 후 지속적으로 감소한다는 결과(Swancker *et al.*, 1986; von Arnold and Gronroos, 1986)와는 유사한 양상이기는 하나 phenolic compound가 peroxidase 활성변화에 크게 영향을 준 것으로는 생각되지 않는다.

IAA oxidase는 peroxidase와 마찬가지로 뿌리분화시 그 활성이 증가한다고 보고되어 있으나(Druart *et al.*, 1982; Gus'kov *et al.*, 1985; Mato *et al.*, 1985; Mato and Vieitez, 1986), 묘조분화와 IAA oxidase에 관한 구체적인 논의는 거의 없다. Phenolic compound에 의한 IAA oxidase의 활성은 배양 초기에 2,4-dichlorophenol과 catechol 처리구 모두 대조구에 비하여 현저히 낮았으나 배양 후기에는 2,4-dichlorophenol 처리구가 대조구와 유사한 반면 catechol 처리구는 현저히 감소하여(Fig. 3) catechol이 peroxidase 활성에는 영향을 미치지 못하였으나 IAA oxidase 활성에는 크게 영향을 미치어 묘조의 분화와 생장을 크게 촉진한 것(Fig. 1b)으로 추측된다. 한편 auxin-inhibitor와 hormone 처리구의 경우(Fig. 4) 대체로 대조구와 유사한 양상을 나타내어 이들 auxin-inhibitor나 hormone이 IAA oxidase 활성에 거의 영향을 주지 못하였으나 이들 처리가 형태적 변화를 유발하였으므로 IAA oxidase 활성과는 무관한 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 생장기구가 있음을 의미하는 것으로 사료된다. BA 처리시 갈색 protocorm의 경우는 IAA oxidase 활성변화가 대조구와 유사하였으나 crown gall 형태의 백색 protocorm(Fig. 1c)은 배양 15일 이후 IAA oxidase 활성이 매우 높았는데 protocorm이 crown gall 형태로 변화된 것은 높은 IAA oxidase 활성에 의하여 식물체내 유효 IAA 함량이 감소되고 상대적인 cytokinin 함량이 증가되어 비정상적으로 비후되었을 것으로 추측된다.

Gus'kov 등(1985)은 뿌리분화시 IAA oxidase도 peroxidase와 마찬가지로 그 활성이 증가한다고 하였으며 특히 Mato와 Vietez(1986)의 호도 유식물의 묘조를 이용한 뿌리형성실험에서 묘조를 상하로 양분하여 auxin을 처리할 경우 상부 묘조의 하단에서는 뿌리분화가 활발하고 IAA oxidase의 활성은 증가 후 감소한 반면 하부 묘조에

서는 뿌리분화가 낮고 IAA oxidase의 활성은 모두 감소 후 증가하였는데 이것은 묘조분화와 뿌리분화가 IAA oxidase 또는 peroxidase 활성변화에 의한 식물조직내 유효 auxin의 함량과 관계있음을 간접적으로 나타내는 것이다. 따라서 이러한 사실과 비견하여 볼 때 본 실험결과와 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 생장에 따른 IAA oxidase 활성은 대체로 지속적인 감소 후 증가 혹은 감소추세가 둔화되는 양상을 나타내므로 뿌리의 분화와는 역시 반대 양상인 것을 알 수 있다. 특히 protocorm의 증식과 묘조분화가 왕성한 2,4-dichlorophenol 처리구에서 IAA oxidase의 활성이 대조구와 유사하였던 것에 비하여 분화된 묘조의 생장이 왕성한 catechol 처리구에서는 급속히 감소한 것이 특징인데 이것은 auxin-inhibitor와 hormone 처리시에서도 같은 현상으로 나타난다. 즉 protocorm의 증식과 묘조분화가 주로 나타났던 PCIB 및 ABA와 BA 처리시의 갈색 protocorm에서는 배양 후기의 IAA oxidase 활성이 대조구 및 2,4-dichlorophenol 처리구와 유사한 것에 비하여 묘조의 생장이 현저하였던 TIBA 및 GA₃ 처리구에서는 catechol 처리구와 유사하여 대조구와는 달리 IAA oxidase 활성이 대체로 낮은 것이 특징인데 (Fig. 4)이로써 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 생장은 IAA oxidase의 활성변화와 관련이 있음을 알 수 있다. 한편 Epstein과 Lavee(1984), Kervers 등(1982)은 auxin 처리에 의한 뿌리분화시 peroxidase와 IAA oxidase의 활성이 감소한다고 하였으며, 특히 Epstein과 Lavee(1984)는 이 때 뿌리분화 촉진을 위해 처리한 auxin은 뿌리분화에 직접 작용하는 것이 아니라 peroxidase나 IAA oxidase의 활성 증가에 의하여 분해된 auxin의 보충에 의한 간접적 작용 결과일 것이라고 하였는데 protocorm의 묘조분화도 IAA oxidase나 peroxidase 등의 활성을 조절하여 protocorm내 유효 auxin의 상대비를 감소시킴으로써 가능할 수 있을 것으로 사료된다.

이에 따라 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 생장은 phenolic compound에 의한 protocorm내 유효 IAA 함량조절에 의하여 cytokinin에 대한 auxin의 비가 적정수준으로 조절됨으로써 hormone의 구배가 먼저 형성된 다음 그 결과로하여 protocorm의 증식과 묘조의 분화 및 묘조생장이 조절될 것으로 사료된다.

적 요

Cymbidium sp. 품종 'Jungfrau'의 protocorm 묘조분화 기구를 규명하기 위하여 phenolic compound(2,4-dichlorophenol, catechol) 처리시의 peroxidase와 IAA oxidase 활성을 조사하였으며 또한 auxin-inhibitor(PCIB, TIBA)와 hormone(GA₃, ABA, BA) 처리에 의한 protocorm 묘조분화시의 IAA oxidase의 생리적 구배를 조사하였다. IAA oxidase의 구배는 catechol, TIBA 및

GA₃ 처리구 등, 묘조의 생장이 활발한 처리구에서는 IAA oxidase 활성이 계속 감소하였으나, protocorm 증식과 묘조분화가 왕성한 2,4-dichlorophenol, PCIB 처리구에서는 배양 후기에 다시 증가하였으며 BA 처리구의 경우 crown gall 형태의 백색 protocorm은 IAA oxidase 활성이 대체로 감소하였다. 한편 peroxidase 활성은 대체로 감소하였다. 이상의 결과에서 protocorm의 증식 및 묘조의 분화와 생장은 특히 phenolic compound에 의한 protocorm내 유효 auxin 함량조절과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- Arditti, J. 1979. Aspects of the physiology of orchids. In: Advances in Botanical Research, H.W. Woolhouse (ed.), Vol. 7, Academic Press, New York. pp. 421-655.
- Bryant, S.D. and F.E. Lane. 1979. Indole-3-acetic acid oxidase from peas. I. Occurrence and distribution of peroxidative and nonperoxidative forms. *Plant Physiol.* **63**: 696-699.
- Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymol.* **2**: 764-775.
- Churchill, M.E., J. Arditti and E.A. Ball. 1971. Clonal propagation of orchids from leaf tips. *Am. Orchid Soc. Bull.* **40**: 109-113.
- Druart, P., C. Kervers, P. Boxus and T. Gasper. 1982. *In vitro* promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. *Z. Pflanzenphysiol.* **108**: 429-436.
- Epstein, E. and S. Lavee. 1984. Conversion of indole-3-butyric acid to indole-3-acetic acid by cutting of grapevine and olive. *Plant and Cell Physiol.* **25**: 697-703.
- Fonnesbech, M. 1972. Growth hormone and Propagation of *Cymbidium in vitro*. *Physiol. Plant.* **27**: 310-316.
- Furuya, M., A.W. Galston and R.B. Stowe. 1962. Isolation from peas of cofactors and inhibitors of indole-3-acetic acid oxidase. *Nature* **193**: 456.
- Galston, A.W., J. Bonner and R.S. Baker. 1953. Flavoprotein and peroxidase as components of the indoleacetic acid oxidase system of peas. *Arch. Biochem. Biophys.* **42**: 456-470.
- Goldacre, P.L. 1951. Hydrogen peroxide in the enzymic oxidation of heteroauxin. *Aust. J. Sci. Res. B.* **4**: 293-302.
- Goren, R. and 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.
- Gregory, R.P.E. 1966. A rapid assay for peroxidase activity. *Biochem. J.* **101**: 582-583.
- Gus'kov, A.V., V.A. Zemskaya, G.B. Agalarzade, Z.B. Kalibernnya and L.M. Chernikova. 1985. Changes of auxin oxidase activity in bean cuttings taking root under the

- influence of IAA and 2,4-D. *Fiziologiya Rastenii* 32(6): 1137-1144.
- 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* spp. protocorms. *Korean J. Bot.* 31(4): 249-258.
- Han, T.-J., Y.H. Kang and S.H. Kim. 1990. Change of endogenous polyamines during shoot differentiation in *Cymbidium* sp. protocorms. *Korean J. Bot.* 33(1): 41-48.
- Kay, L.E. and D.V. Basile. 1987. Specific peroxidase isozymes are correlated with organogenesis. *Plant Physiol.* 84: 99-105.
- Kevers, C., M. Coumans, W. de Greef, M. Hofingef and T. Gasper. 1982. Habituation in sugarbeet callus: auxin content, auxin protectors, peroxidase pattern and inhibitors. *Plant Physiol.* 51: 281-286.
- Lee, T.T. 1977. Role of phenolic inhibitors in peroxidase-mediated degradation of indole-3-acetic acid. *Plant Physiol.* 59: 372-375.
- Lee, T.T., A.N. Starratt and J.J. Jevnikar. 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.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Mäder, M. and V. Amberg-Fisher. 1982. Role of peroxidase in lignification of tobacco cells. I. Oxidation of nicotinamide adenine dinucleotide and formation of hydrogen peroxide by cell wall peroxidase. *Plant Physiol.* 70: 1128-1131.
- Mato, M.C., M.L. Rua and E. Ferro. 1988. Changes in levels of peroxidase and phenolics during root formation in *Vitis* cultured *in vitro*. *Physiol. Plant.* 72: 84-88.
- Mato, M.C., A. Vazquez and M.D.V. Gesto. 1985. Treatment of been cuttings by chestnut extracts during root modifies their IAA-oxidase activity. *Plant Physiol.* 65: 63-66.
- Mato, M.C. and A.M. Vieitez. 1986. Changes in auxin protectors and IAA oxidases during the rooting of chestnut shoots *in vitro*. *Physiol. Plant.* 66: 491-494.
- Miller, R.W., J.C. Sirois and H. Morita. 1975. The reaction of coumarins with horseradish peroxidase. *Plant Physiol.* 55: 35-41.
- Moncousin, C. and T. Gasper. 1983. Peroxidase as a marker for rooting improvement of *Cynara scolymus* L. cultured *in vitro*. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 178: 263-271.
- Morel, G.M. 1960. Producing virus-free *Cymbidiums*. *Am. Orchid Soc. Bull.* 29: 495-508.
- Omran, R.G. 1980. Peroxidase levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiol.* 65: 407-408.
- Osswald, W.F., W. Schutz and E.F. Elstner. 1988. Indole-3-acetic acid oxidation crocin bleaching by horseradish peroxidase. *Plant Physiol.* 86: 1310-1314.
- Pilet, P.E. and R. Chollet. 1970. Sur le dosage colorimétrique de l'acide β -indolylacétique. *C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D.* 271: 1675-1678.
- Sequeira, L. and L. Mineo. 1966. Partial purification and kinetics of indole-acetic acid oxidase from tobacco roots. *Plant Physiol.* 41: 1200-1208.
- 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.
- Sondheimer, E. and D.H. Griffin. 1959. Activation and inhibition of indole-acetic acid oxidase activity from peas. *Science* 131: 672.
- Stonier, T., R.W. Singer and H. Yang. 1970. Studies on auxin protectors. IX. Inactivation of certain protectors by polyphenol oxidase. *Plant Physiol.* 46: 454-457.
- Stonier, T. and Y. Yoneda. 1967. Stem internode elongation in the Japanese morning glory in relation to an inhibitor system of auxin destruction. *Physiol. Plant.* 20: 13-19.
- Stonier, T., Y. Yoneda and F.R. Rodriguez-Tormes. 1968. Studies on auxin protectors. V. On the mechanism of IAA protection by protector-I of the Japanese morning glory. *Plant Physiol.* 43: 1141-1145.
- Swarker, P.L., S.P. Bohra and N. Chandra. 1986. Biochemical changes during growth and differentiation of the callus of *Solanum surattense*. *J. Plant Physiol.* 126: 75-81.
- Thimann, K.V., M. Tomaszewski and W.L. Porter. 1962. Growth promoting activity of caffeic acid. *Nature* 193: 1203.
- von Arnold, S. and R. Gronroos. 1986. Anatomical changes and peroxidase activity after cytokinin treatments inducing adventitious bud formation on embryos of *Picea abies*. *Bot. Gaz.* 147(4): 425-431.
- Wimber, D.E. 1963. Clonal multiplication of *Cymbidium* through culture of shoot meristems. *Cymbidium Soc. News* 20(4): 7-10.
- Yoneda, Y. and T. Stonier. 1966. Elongation of stem internode in Japanese morning glory in relation to auxin destruction. *Physiol. Plant.* 19: 977-981.