Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 21, No. 1, 13~18(1997)

저온저장중 개갑인삼종자내의 생리활성물질 동정 및 변화

권우생[1] · 백남인[2] · 이정명[3]
[1]한국인삼연초연구원, [2]경희대학교 농학과, [3]경희대학교 원예학과
(1997년 3월 7일 접수)

Identification and Changes of Physiologically Active Substances During Chilling Storage of Dehisced Ginseng Seeds

Woo-Saeng Kwon[1], Nam-In Baek[1] and Jung-Myung Lee[3]
[1]*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea*
[2]*Dept. of Agriculture, Kyung Hee Univ., Suwon 449-701, Korea*
[3]*Dept. of Horticulture, Kyung Hee Univ., Suwon 449-701, Korea*
(Received March 7, 1997)

Abstract : Identification and changes of physiologically active substances during chilling storage of dehisced ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) seeds were analyzed using various preparatory separation methods and purification columns; Dowex 50W and silica gel columns. Seven components with Rf values of 0.20, 0.40, 0.58, 0.66, and 0.70 in solvent system, $CHCl_3$:MeOH=3:1 (v/v), Rf values of 0.63 and 0.74 in solvent system, $CHCl_3$:MeOH:H_2O=7:3:1 (v/v) were obtained through Dowex 50W and silica gel column chromatographies. Two components with Rf values of 0.20 and 0.63 in the all chilling treatments were detected in the extract obtained through both chromatographies, and only the former component was gradually increased till 4 weeks of chilling storage and then rapidly decreased from 8 to 16 weeks. UV spectra of Rf values of 0.66 and 0.56 were similar to that of cytokinin, but their physiological activities were not found. Rf values of 0.20 showed activity by radish cotyledon expansion bioassay. The component with Rf value of 0.20 was revealed to have a naphthalene in the proposed chemical structure by various NMR techniques.

Key words : ginseng seed, chilling storage, cytokinin, naphthalene, NMR

서 론

종자발아에 관여하는 요인은 여러가지가 있겠으나 그 중 하나는 호르몬으로 그 역할은 매우 중요하다 할 수 있다. 가장 직접적인 영향을 미치는 식물호르몬은 gibberellin (GA)과 abscisic acid (ABA)라 할 수 있으며, 이 호르몬간에는 종자의 휴면과 발아에 있어 가역적으로 작용하고 있음은 이미 잘 알려진 사실이다.[1] 또 다른 호르몬으로는 1966년 Letham[2]에 의해 처음으로 옥수수에서 분리, 동정된 cytokinin을 들 수 있으며, 그 후 이 물질은 종자나 싹의 휴면 및 종자발아와의 관계에서 다른 호르몬의 보완역할을 한다는 보고[1]도 있으나, 상추, 담배, 당근, 샐러리 등의 작물에서는 고온이나 암조건에 의해 유기된 발아억제가 cytokinin처리로 효과적으로 극복될 수 있음이 보고[3] 된 바 있다. 이외의 많은 연구에서 cytokinin은 종자발아에 영향을 주는 호르몬으로 확인되었다. 이같은 사실로 보아 내생 cytokinin은 종자발아와 밀접한 연관이 있다는 것을 알 수 있고, 이 사실을 더 구체적으로 증명해 주는 보고를 보면 종자발아시 종자 또는 배유축에서 생성된 cytokinin이 자엽으로 이동되면서,[4-6] 단백질의 생성에 관여하고,[5,7] 외부에서 처리되

는 cytokinin은 배유축에서 생성되는 cytokinin을 대체할 수 있음도 보고되었다.[8,9] 층적저장이나 저온처리와 같은 후숙을 요하는 종자에서 cytokinin을 비롯한 GA 및 ABA의 관계에 관하여 Paul 등[10]은 *Pinus taeda* 종자발아 과정에서 초기의 GA와 ABA 유사물질의 변화와 발아시 auxin 유사물질의 증가관계를 지적하였고, Brown과 van Staden[11]은 종피에 의해 휴면이 되는 *Protea compacta*와 *Leucadendron daphnoides*의 배휴면종자는 저온처리로 발아가 촉진되며 cytokinin의 함량증가를 지적하였다. 아울러 butanol soluble cytokinin의 증가는 유근신장 또는 자엽팽창을 촉진시켜서 휴면타파를 할 수 있음을 제시하였다. Lin과 Boe[12]는 자두종자의 발아억제물질은 종피에 많이 함유되어 있음을 밝혔다. Webb 등[13,14]은 단풍종자를 층적저장하였을 때 cytokinin, GA 및 ABA 유사물질간의 변화가 있으며, 이같은 변화는 층적저장 온도에 따라 달라짐을 보고하였다.

따라서 채종에서 발아까지 전술한 다른 식물종자보다 장기간의 후숙과 저온을 필요로 하는 인삼종자는 이 기간 동안 많은 생리활성물질의 변화가 있을 것으로 생각된다. 본 연구는 이런 많은 내생 호르몬 중 cytokinin을 분리동정하는 과정에서 cytokinin과는 다른 물질이 동정되어 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. Dowex 50W 및 silica gel column을 이용한 분리

인삼종자는 1993년에 채종한 것으로 90일간 모래층적으로 개갑이 완료된 종자를 4℃에서 0, 1, 2, 4, 8, 16주간 저온처리를 하였으며, 저온처리된 종자는 -72℃에 보관하여 16주 처리가 끝나고 1주일 후에 이들을 80% methanol 500 m*l*에 종자 50 g을 각각 믹서로 수분동안 갈아 Whatman 여과지 2번지로 여과하여 여액을 35~40℃에서 감압농축하였다. 완전히 농축된 잔유물을 125 m*l* 증류수에 녹여 Fig. 1과 같은 방법으로 분리하였다. Dowex 50W column을 3 N NH_4OH로 용출시켜 얻은 3 *l*를 감압농축하였고, 농축액이 50 m*l* 정도 되었을 때 농축 잔유물이 농축프라스크 기벽에 묻지 않도록 silica gel 5 g을 넣어 흡착농축하였다. Silica gel 60 (230~400 mesh, Merck) 75 g을 $CHCl_3$: MeOH=3:1 용매로 slurry하여 30×2.5 cm glass column을 만들고 흡착농축되어 건조된 silica gel을 유발에 분쇄하여 column에 주입하였다. 용출용매 $CHCl_3$: MeOH=3:1, $CHCl_3$: MeOH : H_2O=7:3:1 및 $CHCl_3$: MeOH : H_2O=6:4:1을 각각 600, 600, 150 m*l*를 연속으로 용출시켜 분획 분취기를 이용하여 시험관에 15 m*l* 씩 분취하였다. 분취한 용액은 Kieselgel 60 F_{254} TLC plate에 spotting하여 전개용매 $CHCl_3$: MeOH=3:1과 BuOH : acetic acid : H_2O=12:3:1로 전개하여 UV 254, 365 nm에 조사하여 같은 Rf치별로 모아 이를 농축 정량하였다. 각각의 처리에서 얻어진 2~3개의 분획물은 생물검정을 할 수 없을 정도의 미량인 관계로, 처리간의 정량을 마친 후 각각의 분획물은 처리에 관계없이 5개의 Rf치 별로 구분하여 무자엽신장 생물검정을 하였다. 이 물질들과 대조구로 사용한 *trans*-zeatin (*trans*-Z)을 methanol에 용해시켜 UV spectrophotometer (Hewlett Packard)로 190 nm에서 500 nm까지 scanning을 실시하였다. 분리된 물질은 저온처리에 관계없이 Rf치별로 모았으며, 모아진 물질중 NMR 분석이 가능한 정도의 양은 Rf치 0.20 밖에 없었다.

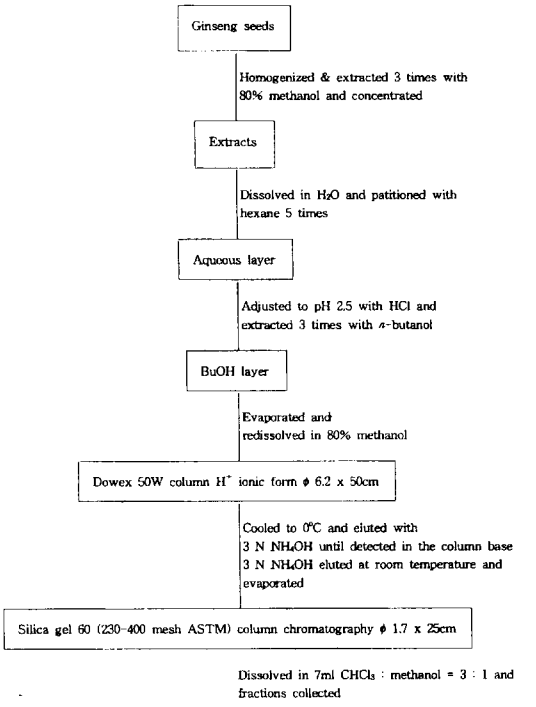


Fig. 1. Initial isolation of physiologically active component from ginseng seeds using Dowex 50W and silica gel 60 column.

2. 생물검정

생물검정은 식물호르몬류중에서 cytokinin류의 활성검정에 많이 사용하고 있는 무자엽신장 정도에 따른 생물검정방법[15]으로 공시품종은 '신진주무'로 하였다. 무종자는 사용하기 전에 무수 ethanol에 30초 적신 후 1% sodium hypochlorite 용액에 20분 소독한 후 멸균수로 깨끗이 씻어서 플라스틱 용기에 여과지를 깔고 증류수를 충분히 적신 후에 파종하였다. 파종용기는 25℃ 암흑상태에서 72시간 생육시킨 후 녹색광 하에서 엽병이 완전히 제거된 자엽만을 채취하여 petridish에 여과지를 깔고 5 ml의 완충용액에 추출과정에서 분리한 물질을 적정농도에 준하는 희석용액을 첨가한 후 절단된 자엽중 균일한 것으로 10매를 골라 치상하였다. 치상된 petridish는 polyethylene 필름으로 덮어 이를 25℃, 2500lux 정도의 생육형광등이 연속조명되는 환경에 72시간 동안 배양한 후 대조구(완충용액)의 중량증가분에 대하여 상대적인 증가 정도로써 효과를 비교 평가하였으며, 모든 처리는 3반복으로 행하였다.

결과 및 고찰

1. Dowex 50W과 silica gel column을 이용한 분리

n-Butanol 추출물을 Fig. 1과 같은 방법에 의해 Dowex-50W glass column을 통과시키고 다양한 용매로 silica gel glass column을 통과한 용출액을 15 ml 씩 분취하였으며, 이 분취물을 TLC하여 Rf치별로 포집하여 정량한 결과는 Table 1과 같다.

저온처리기간에 따른 물질의 변화가 보였는데, 용출용매 $CHCl_3$: MeOH=3:1을 흘렸을 시 용출되는 물질은 저온처리기간이 길어지면서 Rf치가 높아지는 즉 극성이 낮은 물질이 증가함을 보였다. 저온 무처리에서는 Rf치 0.58과 0.40치에서 각각 24.8 μg, 5.5 μg이 검출되었으며, 1주 처리에서는 Rf 0.58에서 10.6 μg이 검출되고 Rf 0.40에서는 검출된 물질이 없었고, 저온 2, 4, 8주 처리에서는 무처리와 1주 처리보다 극성이 낮은 쪽으로 이동하였음을, 16주 처리에서는 무처리, 1, 2, 4 및 8주 저온처리에서 검출되었던 Rf 0.40, 0.58, 0.66 물질은 검출되지 않았으며 모든 처리에서 검출물중 극성이 가장 낮은 Rf 0.70인 물질 7.5 μg이 검출되었다. 모든 처리에서 검출된 Rf치 0.20을 보인 물질은 양적인 차이는 있지만 저온 2주와 4주 처리에서 거의 비슷한 11 μg을 정도로 가장 많이 검출되었다. 용출용매 $CHCl_3$: MeOH : H_2O=7:3:1로 용출하였을 시는 다시 극성이 낮은 물질이 검출되었는데 이는 $CHCl_3$: MeOH=3:1 용출용매를 흘렸을 시는 silica gel에 흡착되어 있다. 물을 첨가한 용매상에서 용출된 것으로 보며, Rf치 0.74를 보인 이 물질은 저온 무처리에서 4주 처리까지는 조사되었으나 포집할 만한 양은 4주 처리에서 극미량인 1.0 μg 만을 모았고, 모든 처리에서 Rf 0.63을 보인 물질이 검출되었는데 이는 UV 365 nm에서도 상당히 겹쳐 조사되었고, 양적인 차이는 있으나 저온 2주 처리를 제외하고는 6~9 μg 정도의 양을 보였다 (Table 1). UV 356 nm에서만 조사된 기타 다른 물질도 검출되었으나 극미량이어서 정량하지 않았다. 전반적으로 저온처리기간이 길어지면서 Rf치 0.40에서 0.70까지 높아지는 경향을 보였는데, 인삼종자는 저온처리 16주 정도면 거의 최아를 하거나 발아가 진행되는 것으로 보아 이 물질은 종자발아와 관련되어 일어 나는 것으로 추정된다.

Table 1. Weight of seed components distributed different Rf zone on silica gel TLC

Duration of chilling (wks)	Weight of seed component (μg/50 g seed)						
	Solvent system (v/v)						
	$CHCl_3$: MeOH=3:1					$CHCl_3$: MeOH : H_2O=7:3:1	
	Rf value					Rf value	
	0.70	0.66	0.58	0.40	0.20	0.74	0.63
0	-	-	24.8	5.5	8.1	-	6.3
1	-	-	10.6	-	7.2	-	8.6
2	-	9.7	-	-	11.0	-	1.8
4	-	8.3	-	-	11.7	1.0	7.0
8	-	6.4	-	-	1.2	-	9.1
16	7.5	-	-	-	4.7	-	7.7

2. Rf치별 UV spectrophotometer scanning 및 생물검정

여기에서 분획된 5개의 물질과 대비구 *trans*-Z을 methanol에 용해시켜 UV spectrophotometer에 scanning한 흡광도 (Fig. 2)는 Rf치 별로 다른 경향을 보였고, 공통적으로 210 nm에서 최대 흡광도를 보였는데 이는 용매에 의한 흡광도 값으로 여겨진다. 대비로 사용한 *trans*-Z은 260~280 nm에서 최대 흡광도를 보였고, Rf 0.70 분획물은 266 nm에서 아주 미미한 극대 값을, Rf 0.66과 Rf 0.58은 260 nm 정도에서, Rf 0.40은 250 nm에서, Rf 0.20은 290 nm에서

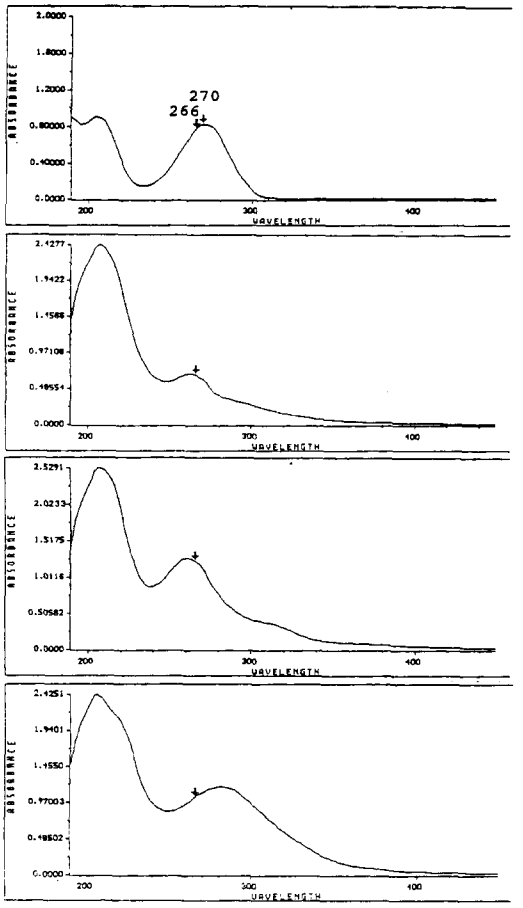


Fig. 2. UV spectra of methanol solution containing the ginseng seed components in different Rf zone of the TLC plate. Initial methanol extract was purified with Dowex 50W glass column. Arrow indicates position of 266 nm (A: *trans*-Z, B: Rf 0.66, C: Rf 0.56, D: Rf 0.20).

흡수극대를 보였다. Rf 0.58 분획물은 310 nm에서 shoulder를 보였다. UV spectra 상으로는 Rf치 0.66과 0.56이 대조구로 사용한 *trans*-Z과 비슷한 경향을 보였다.

UV 254 nm에서 Rf치로 나눠진 물질 중 용출용매 $CHCl_3$: MeOH=3:1 에서 용출되고 UV 365 nm와 겹쳐서 조사되지 않은 Rf치 0.70, 0.66, 0.58, 0.40. 0.20 부분만을 가지고 무자엽신장 생물검정을 하였던 바 그 결과는 Table 2와 같다.

완전히 농축된 Rf치별 추출액을 대비구인 zeatin 처리농도에 기준하여 치상을 한 결과, zeatin 처리구는 처리농도 0.01~1.0 ppm 까지는 처리농도 증가와 함께 무자엽중이 현저히 증가[16]하였고, 10 ppm 처리에서는 증가가 둔화되었다. 모든 Rf치별 추출액 처리구는 증류수 처리구보다는 증가하는 경향을 보였고, 대비구인 zeatin 처리농도에서 만큼의 증가는 아닐지라도 처리농도가 증가할수록 증가하였으며, Rf치 0.40과 0.20에서 현저한 증가를 보였으며 각각의 물질 10.0 ppm에서 128 mg과 121 mg으로 82.8%와 72.8%의 현저한 증가를 보였다. Rf치 0.70, 0.66, 0.58에서는 증류수구에 비해 약간의 증가는 있었으나, 농도증가와 함께 뚜렷한 증가효과는 없었다. Rf치 0.40과 0.20의 10.0 ppm 처리구는 zeatin의 가장 낮은 처리농도인 0.01 ppm 처리와 비슷한 증가를 보였다. 이러한 물질중에는 Rf치 0.66과 0.56은 대조구로 사용한 zeatin의 UV spectra 양상과 비슷한 경향을 보였었으나 무자엽신장 생물검정에서는 활성이 없는 것으로 나타나 이 물질은 cytokinin류는 아닌 것으로 판단된다. 종자 추출물에서 무자엽신장에 가장 효과가 있었던 Rf 0.40과 0.20은 UV spectra로

Table 2. Effect of seed extract with various low temperature treatment on radish cotyledon expansion bioassay

Rf values	Concentration (ppm)	Invreased cotyledon weight (mg)
Control	0.0	70±1.7[z]
0.70	0.1	78±1.1
	1.0	79±1.4
	10.0	89±2.1
0.66	0.1	83±1.4
	1.0	70±1.0
	10.0	97±4.5
0.58	0.1	88±3.3
	1.0	86±1.0
	10.0	89±1.8
0.40	0.1	76±3.1
	1.0	77±3.0
	10.0	128±5.7
0.20	0.1	70±3.4
	1.0	110±4.4
	10.0	121±2.9
Zeatin	0.01	123±9.2
	0.1	146±3.0
	1.0	188±3.1
	10.0	184±2.5

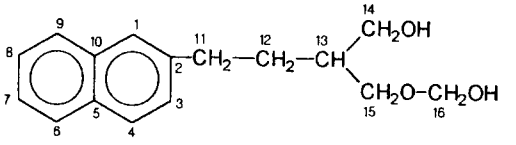
[z] Standard error

보아 cytokinin류는 아닌 것으로 생각되나, 이 물질도 무자엽신장에 효과가 있는 것으로 보아 비슷한 유형의 물질이거나 무자엽신장에 효과가 있는 새로운 물질일 가능성도 배제하지 못할 것으로 생각한다.

3. NMR을 이용한 Rf 0.2 물질 구조

Rf치 0.2를 보인 물질을 PTLC한 후 분리하여 ^{13}C-NMR 분석을 하였던 바 그 결과는 다음과 같다. ^{13}C-NMR (100 MHz, D_2O, Table 3) spectrum에 있어서 110 ppm 에서 140 ppm 사이에서 관측된 10개의 signal로부터 방향족 환이 존재함을 추정할 수 있었으며, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Spectrum (DEPT)를 측정한 결과 7개가 doublet 이고 3개가 singlet signal 인 것이 판명되어 일치환된 naphthalene 구조를 갖고 있는 것으로 추정되었다. 또한 δ 74.4 (t), 65.4 (t), 63.3 (t) 의 signal로부터 3개의 hydroxyl methylene이 존재함을 알 수 있었으며, 그 외에 1개의 methine 탄소 (δ 58.0, d) 및 2개의 methylene 탄소 (δ 39.7, t; 29.5, t)의 존재도 확인되었다.

Table 3. ^{13}C-(100 MHz) and ^{1}H-NMR (400 MHz) data of the compound isolated from ginseng seeds (D_2O)



Proposed Chemical Structure of Rf 0. Compound

No of C	δ_C	δ_H
1	127.8 (d)	7.30 (s)
2, 5, 10	139.2 (s)	
	129.5 (s)	
	110.6 (s)	
3, 4	121.3 (d)	7.72 (d, J=8.0 Hz)
	114.8 (d)	7.52 (d, J=8.0 Hz)
6, 9	131.9 (d)	7.31 (dd, J=7.6, 7.6 Hz)
	132.2 (d)	7.28 (dd, J=7.6, 7.6 Hz)
7, 8	124.9 (d)	7.42 (dd, J=7.6, 7.6 Hz)
	122.3 (d)	7.19 (dd, J=7.6, 7.6 Hz)
11	29.5 (t)	0.96 (t, J=5.0 Hz)
12	39.7 (t)	1.70 (m), 1.97 (m)
13	58.0 (d)	3.08 (m)
14, 15	65.4 (t)	3.75 (dd, J=3.4, 9.4 Hz)
		3.65 (dd, J=3.4, 9.4 Hz)
	63.3 (t)	3.46 (dd, J=3.4, 15.0 Hz)
		3.65 (dd, J=3.4, 15.0 Hz)
16	74.4 (t)	4.02 (br, s), 3.93 (br. s)

^{1}H-NMR (400 MHz, D_2O, Table 3) spectrum에 있어서도 7.17~7.74 ppm에서 관측된 7개의 naphthalene 유래의 signal들이 singlet이 1개, doublet이 4개, doublet-doublet이 2개로 관측됨에 따라서 일치환된 위치는 그림에서 제시된 예상구조에서 나타난 바와 같이 2번 위치인 것으로 추정되었다. 또한 말단 methyl signal이 관측되지 않았고, 대신에 0.96 ppm에서 triplet으로 관측된 methylene signal로부터 naphthalene 환에 직접 치환되어 있는 11번 탄소 및 수소를 확인할 수 있었다. 이어서 ^{1}H-^{1}H COSY (Correlation Spectroscopy)을 이용하여, H-11로부터 H-12 (1.70, m; 1.97, m) 및 H-13 (3.08, m) signal과 3개의 hydroxy methylene signal을 동정하였다. 이상의 NMR 결과를 종합하여 이 물질의 화학구조를 아래와 같이 추정하였다. 이 물질은 cytokinin류는 아니며, 구조상으로는 auxin류의 naphthalene-acetic acid (NAA)에 가까운 물질[17]이나, 이의 보고[15]에 의하면 auxin류는 무자엽 신장효과가 없는 것으로 보고하였다. 그러나 본 시험에서는 무자엽신장에 어느 정도의 효과가 있는 것으로 나타난 이 물질은 auxin류일 가능성 또한 배제할 수 없을 것으로 보아, 앞으로 GC-MS와 같은 기기로 좀더 확인을 하여야 할 것으로 생각한다. 여기에서 사용한 Dowex 50W 수지는 강산성으로 물질분해 특히 화학적으로 불안정한 cytokinin 류의 불활성화 내지는 분해가 수반될 수도 있다고 한다. Tegley 등은[18] crown-gall 배양조직으로부터 cytokinin을 분리하는데 양이온교환 수지 (Dowex 50W $^{+}$H form)를 사용하였던 바 이 수지는 zeatin riboside를 가수분해시킴을 보고하였고, Vreman과 Corse도[19] Dowex 50W 는 cytokinin류와 친화력이 강력하여 물 (pH 2.5)이나 70% EtOH 로 용출시키면 거의 검출되지 않았으며, 1 N NH_4OH를 사용하였을 때 cytokinin종류에 따라 회수율은 달랐지만 그 범위는 50~80% 정도밖에 안됨을 보고하였고, van Onckelen과 Verbeek은[20] 같은 수지에서 3 N NH_4OH로 용출하여 100% 회수율을 보고하였는데 이는 용출용매의 농도차이에 있거나, 검출방법의 차이에 기인 한 것으로 보이며, Vreman과 Corse는[19] cytokinin 분리에 약산성 양이온 교환수지 Duolite CS-101에 용출용매 70% (v/v) ethanol이나 70%

(v/v) ethanol 1 N NH_4OH를 사용하였을 때 95% 이상이 회수됨을 보고하였다. 이와 같이 강산성 수지는 조건에 따라 분리하고자 하는 물질을 변화시키는 점 등으로 근래에 와서는 cytokinin류 분리수지로 의문이 제기되고 있는 것으로 보아 분리수지로는 약간의 문제는 있는 것으로 생각된다.

요 약

저온처리기간에 따른 개갑인삼종자내 생리활성물질의 분리 및 동정을 하기 위해 몇 가지 용매와 Dowex 50W 및 silica gel column을 이용하여 분리하였고, 분리정제된 추출물의 활성검정을 위한 생물검정은 무자엽신장도로 추정하였던 바, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

Dowex 50W column과 silica gel column을 통과한 용출물의 TLC에서 Rf는 0.20~0.70 범위를 보인 7개의 물질이 검출되었으며, 이 물질 중 Rf치 0.66과 0.58을 나타낸 물질의 UV spectra 양상이 대조구로 사용한 *trans*-zeatin과 비슷한 경향을 보였으나 무자엽 생물검정에서는 대조구와 같은 활성을 보이지 않았다. 저온 무처리 종자에서 보인 Rf치 0.58을 나타낸 물질은 저온처리기간이 길어질수록 Rf치도 점점 커졌으며, 저온 16주 처리구에서는 가장 높은 Rf치 0.70으로 나타났다. 모든 처리에서 Rf치 0.20과 0.63을 보인 물질이 검출되었다. Rf치별 무자엽신장을 이용한 생검에서 Rf치 0.20과 0.40의 경우가 뚜렷한 활성이 있는 것으로 나타났으며, Rf 0.20의 물질을 더 정제한 후 NMR 분석을 하였던 바 cytokinin류와는 다른 naphthalene 구조를 가진 물질로 추정되었다.

인 용 문 헌

1. Khan, A. A. : *Science* **171** (3974), 853 (1971).
2. Letham, D. S. : *Life Sci.* **5**, 551 (1966).
3. 이정명 : 경희대학교 식자연 연구논문집 **10**, 15 (1989).
4. Nandi, S. K., Palni, L. M. S., Letham, D. S., and Knypl, J. S. : *J. Expl. Bot.* **39**, 1649 (1988).
5. Revilla, M. E., Martin, L., Nicolas, G., Legaz, M. E., and Villalebos, N. : *J. Plant Physiol.* **132**, 223 (1988).
6. van Onckelen, Caubergs, H. A. R., and Degreef, J. A. : *Plant Cell Physiol.* **18**, 1029 (1977).
7. Morohashi, Y. : *Physiol. Plant.* **56**, 189 (1982).
8. Ilan, I. and Gepstein, S. : *Israel. J. Bot.* **29**, 193 (1981).
9. Pino, E., Martin, L., Guerra, H., Nicolas, G., and Villalobos, N. : *J. Plant Physiol.* **137**, 425 (1991).
10. Paul, K. B., Patel, C. S., and Biswas, P. K. : *Physiol. Plant.* **28**, 530 (1973).
11. Brown, N. A. C. and van Staden, J. : *Phyiol. Plant.* **28**, 388 (1973).
12. Lin, C. F. and Boe, A. A. : *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **97**(1), 41 (1972).
13. Webb, D. P., van Staden, J., and Wareing P. F. : *J. Exp. Botany* **24**, 105 (1973a).
14. Webb, D. P., van Staden, J., and Wareing, P. F. : *J. Exp. Botany* **24**, 741 (1973b).
15. 이정명 : 한국작물학회지 (생장조절연구 별책) **1**, 4 (1989).
16. 허윤찬, 설종희, 민병훈, 이정명 : 경희대학교 식자연 연구론문집 **10**, 36 (1989).
17. Robert, J. W. : *Plant growth substances in agriculture*, H. W. Freeman and Company, Sanfrancisco, p.69 (1972).
18. Tegley, J. R., Witham, F. H., and Krasnuk, M. : *Plant Physiol.* **47**, 581 (1971).
19. Vreman, H. J. and Corse, J. : *Physiol. Plant* **35**, 333 (1975).
20. van Onckelen, H. A. and Verbeek, R. : *Phytochemistry* **11**, 848 (1972).