

보리 종자의 α -아밀라아제 활성에 미치는 Dimethipin의 영향

이 준 상

충북대학교 과학교육학부

(2006년 3월 8일 접수; 2007년 1월 16일 채택)

Effects of Dimethipin on α -amylase Activity of Barley Seeds

Joon-Sang Lee

Department of Biological Education, School of Science Education, College of Education,

Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

(Manuscript received 8 March, 2006; accepted 16 January, 2007)

Effects of dimethipin on α -amylase activity of barley seeds were investigated. In the treatments of 1 μ M and 10 μ M dimethipin, the indexes of germination were reduced to 17% and 24 % respectively. After seed germination, dimethipin was added to germinated seedlings and then the seedlings were kept to measure seedling length under illumination for 7 days. In control, the length of seedling was 5.7 cm, but in the treatments of 1 μ M dimethipin and 10 μ M dimethipin, seedling lengths were 5.5 cm and 1.2 cm respectively. In the relationship between dimethipin concentrations and α -amylase activities, there was a linear curve. The more dimethipin was added to the seeds, the more α -amylase activities were inhibited. In the treatments of 1 μ M dimethipin and 10 μ M dimethipin, α -amylase activities were reduced to 33% and 71% respectively. Dimethipin also inhibited α -amylase activities increased by gibberellin and the content of soluble protein. Therefore, it could be suggested that dimethipin might inhibit directly the activities of hydrolysis enzymes including α -amylase or the expression of α -amylase genes as germination and seedling growth were severely disturbed.

Key Words : α -Amylase, Barley seeds, Dimethipin, Gibberellin

1. 서 론

다세포 생물의 형태와 기능은 무수하게 존재하는 구성세포들 사이에 효율적인 소통이 없다면 불가능할 것이다. 식물에서 대사, 성장 그리고 형태 형성의 조절과 통합은 식물체의 한 부위에서 다른 부위로의 화학신호에 의존하는 경우가 많다¹⁾. 식물체 내의 소통을 증대하는 화학적 전달자는 호르몬이다. 노화를 촉진시키는 대표적인 식물호르몬에는 앱시스산과 에틸렌이 있다. 식물, 그 중 곡물과 과일의 노화 시기 조절은 상업적으로 매우 중요하다. 식물 호르몬 외에 노화와 관련된 물질로는 dimethipin (2,3-dihydro-5,6-dimethyl-1,4-dithin-1,1,4,4-tetraoxide)

이 있다.

Dimethipin은 수확기에 있는 벼, 해바라기의 수분 함량을 감소시키고, 감자덩굴을 건조시킴으로서 수확시기를 앞당기게 하여 수확률을 증가시키는 화합물이다. Dimethipin은 벼와 해바라기의 성숙과 자연적인 노화를 촉진시키며 포도, 성숙한 과수 및 천연 고무나무 등에서는 낙엽을 유도시키는데 사용되고 있다. 이와 같은 dimethipin의 생물학적 효과는 cellulase의 활성을 증가시켜 낙화와 낙엽을 유도하는 것과 관계가 있다고 보고되었다²⁾. Dimethipin과 비슷한 작용을 하는 호르몬으로 에틸렌이 있다. 에틸렌은 잎의 노화와 떨어 현상을 유도하며^{3,4)}, 사과, 토마토 및 바나나 등의 과일 성숙과 연관이 있는 것으로 보고되었다⁵⁾. 이러한 에틸렌의 생리적 효과는 옥신과 앱시스산과의 상호 연관 작용에 의해 일어나는 것으로 추측된다.

반면에 dimethipin은 단백질 합성을 억제하며,

Corresponding Author : Joon-Sang Lee, Department of Biological Education, School of Science Education, College of Education, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
Phone: +82-43-261-1730
E-mail: jslee0318@chungbuk.ac.kr

dimethipin에 의한 단백질 합성 억제는 생리 현상과 밀접하게 관련된 것으로 보고되었다⁶⁾. 또한 Hoagland⁷⁾는 강낭콩 배양액에 dimethipin을 처리하였을 때 자엽에서 nitrate reductase (NR) 활성은 변화가 없었으나 뿌리에서 크게 억제되었다고 발표하였으며, 이런 결과는 뿌리 내에 높은 dimethipin의 농도 때문인 것으로 추측하였다. 이와 같이 dimethipin 처리는 phenylalanine amonia lyase, NR 및 여러 가수분해 효소에 영향을 줌으로써 식물생장에 관여할 수 있다⁷⁾.

이상과 같이 dimethipin에 대한 연구는 노화와 관련하여 주로 이루어졌다. 식물 생장은 발아로부터 시작된다. 지베렐린은 발아를 유도하는 호르몬이다. 지베렐린은 보리 배에서 합성되어 호분층으로 확산되어 α -아밀라아제 및 다른 가수분해 효소를 합성 분비하게 유도한다. 이들 효소들에 의해 배유에 있는 녹말 및 여러 고분자가 저분자로 분해되면서 자라는 배로 수송되어 썩어 든다. 지베렐린을 처리하고 8시간 후 호분층에서 α -아밀라아제 분비가 촉진되기 시작되면서 2~3일 동안 그 효과가 유지되었다⁸⁾.

α -아밀라아제는 녹말을 대량의 6탄당과 이당류로 분해시킨다. 이들 용해성 수크로오스는 α -아밀라아제 합성에 영향을 주지 않고 지베렐린의 활성을 억제한다고 알려졌다⁹⁾. 호르몬에 의한 신호전달체계는 많은 연구가 이루어졌으나, 수크로오스에 의한 신호전달체계는 잘 알려져 있지 않았다. 수크로오스 신호전달체계는 transgenic tobacco의 rolC 프로모터¹⁰⁾, patatin 프로모터¹¹⁾ 그리고 사탕수수의 proton-sucrose symporter 활성을 조절한다고 발표되었다. Loreti 등¹²⁾은 수크로오스와 글루코오스가 보리 배의 α -아밀라아제 발현에 영향을 준다고 보고하였다. 식물에서 녹말은 두 종류, 즉 엽록체에 축적된 이동성 동화 녹말과 amyloplasts 내에 위치한 저장 녹말이 있다. 녹말의 분해는 주로 α -아밀라아제, β -아밀라아제와 starch phosphorylase에 의해 이루어진다¹³⁾. 발아하는 곡물에서 α -아밀라아제는 녹말을 분해하는 가장 풍부한 효소이다.

대표적 노화 촉진 호르몬인 에틸렌은 유식물 성장 초기에 삼중반응을 일으킨다. 에틸렌은 생장을 억제하는 것이 아니라 성장 패턴의 변화를 초래한다. 즉, 상배축 신장을 억제하고, 상배축을 수평으로 자라게 하며 줄기를 굵게 한다. 또 다른 특징으로는 발아 중 뿌리털의 발달을 촉진시킨다¹⁴⁾. 식물호르몬인 에틸렌과 달리 노화를 촉진시키는 것으로 알려진 dimethipin은 발아와 성장 초기의 역할에 대해 알려진 바가 없다. 스트레스 호르몬인 앱시스산은 지베렐린에 의해 합성과 분비의 촉진을 억제시키는 것으로 알려졌다¹⁵⁾. 앱시스산은 전형적인 성장 억제

호르몬이다. 따라서, 호르몬이 아니면서 노화와 관련된 dimethipin이 발아, 성장, α -아밀라아제 활성 및 기타 수용성 단백질 합성에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 식물 재료

크기가 일정한 보리 (*Hordeum vulgare* L.CV. Mooan) 종자를 선별한 후 1% NaCl 용액에 15분간 담그어 표면 살균하고, 증류수로 충분히 씻은 후 3일간 암소에서 발아시켰으며, 이를 거즈를 간 플라 스틱 용기 (12x12x11 cm)에 파종하여 수경 재배하였다. 배양 용액은 Hoagland (Sigma, U.K.) 용액을 사용하였으며, 14시간의 명기와 10시간의 암기, 25°C의 온도와 100 $\mu\text{mole m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (metal halides lamp)의 광도에서 재배하였다.

2.2. 유식물의 발아 지수 및 생장의 측정

발아 측정은 3일 동안 발아된 종자의 갯수를 세어 Paleg 등¹⁶⁾의 방법에 따라 발아 지수를 산정하였으며¹⁶⁾, 생장률은 수경 재배 후에 24시간 간격으로 매번 3개의 시료를 가지고 2번 측정하였다.

2.3. α -아밀라아제 활성 및 수용성 단백질 함량 측정

발아 중인 종자에 dimethipin (Uniroyal, USA) 및 지베렐린 (GA₃, Sigma, U.K.)을 처리하고, cell free extract에 들어 있는 α -아밀라아제 활성을 측정하였다. 적절히 희석한 cell free extract 0.3 ml를 0.3 ml의 β -limit dextrin 용액과 함께 섞어서 30°C의 항온 수조에서 10분간 반응시킨 후 3 ml의 KI-I₂ 용액을 가하여 반응을 중지 발색시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아밀라아제의 활성 단위는 1분간 1개의 종자가 0.5 mg의 전분을 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다. β -limit dextrin 용액은 20 mM CaCl₂를 포함하는 1 mM Na-acetate 완충용액 (pH 4.8) 100 ml에 500 mg 용해성 전분을 넣고 β -아밀라아제 267 unit를 30°C에서 30분간 반응시켜 만들었다. KI-I₂ 용액은 KI 6g과 I₂ 0.6g을 증류수 100 ml에 녹여서 만든 stock 용액 0.3 ml을 0.05 N HCl 100 ml에 첨가하여 사용하였다¹⁷⁾.

Cell free extract의 가용성 단백질은 Lowery 등¹²⁾의 방법에 따라 BSA (bovine serum albumin: Sigma, u.k.)를 표준시약으로 측정하였다¹⁸⁾.

3. 결과 및 고찰

Fig. 1은 dimethipin이 보리종자의 발아에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 발아 측정은 3일 동안 발아

보리 종자의 α -아밀라아제 활성에 미치는 Dimethipin의 영향

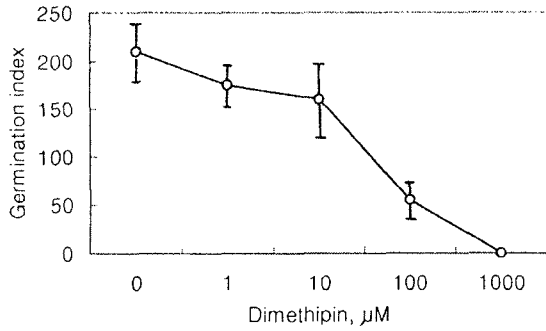
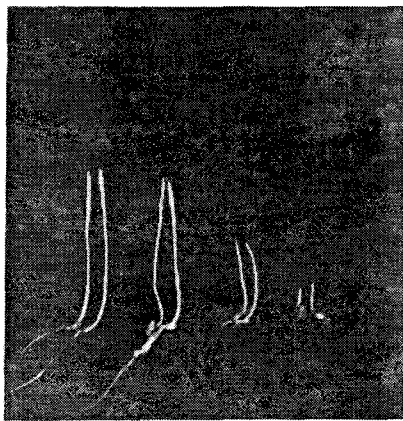


Fig. 1. Effects of dimethipin on germination of barley seeds. Each result is the mean (\pm s.e.m) of three replicate experiments.

된 종자의 개수를 세어 측정하였다. 1 μM 과 10 μM dimethipin 처리는 발아지수를 각각 17%와 24% 감소시켰다. 100 μM dimethipin 처리는 74% 감소시켰다. 보리 유식물의 성장도 dimethipin 처리에 의해 크게 억제되었다(Fig. 2). 1 μM dimethipin 처리 후 7일 후 보리 유식물은 대조구에 비해 15% 생장이 억제되었다. 10 μM dimethipin 처리는 67% 성장을 억제시켰다. Dimethipin은 노화 촉진에 관여하면서²⁾, 발아 및 성장 억제를 유도하였다. 식물성장 패턴 변화의 관찰은 가장 손쉬우면서 뚜렷하게 식물의 생리상태를 추측할 수 있는 기본적인 방법이다. 즉, 뿌리의 발달, 잎 모양, 색깔, 크기, 줄기의 크기와 굵기 등 전체적인 외형의 변화는 식물이 어떠한 상태에 있는지 가늠하는 중요한 척도로 이용할 수 있다. 10 μM dimethipin 처리된 유식물의 경우는 뿌리가 거의 발달되지 못했으며, 하나 내지 두개의 뿌리도 가



Con 1 μM 10 μM 100 μM

Fig. 2. Effects of dimethipin on length of shoot grown under light (100 $\mu\text{mole m}^{-2}\text{s}^{-1}$) for 7 days. Dimethipin was added after germination.

늘고 말라 유식물의 생장이 제대로 이루어질 수 없었다. Dimethipin에 의한 발아 및 성장 억제는 보리 종자 발아와 초기 유식물의 성장을 돕는 신호전달 체계를 맡고 있는 지베렐린 (GA_3)과 α -아밀라아제 활성에 영향을 주기 때문으로 사료되었다. 따라서 dimethipin이 α -아밀라아제와 지베렐린의 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

발아와 초기 유식물 성장 동안에 배젖의 저장된 영양분인 녹말과 단백질은 α -아밀라아제 외에도 β -아밀라아제 및 다양한 종류의 가수분해 효소에 의해 수크로오스, 말토오스, 아미노산 및 기타 다양한 생성물로 분해된다¹⁾. Dimethipin이 기타 가수분해 효소의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 간접적으로 용해성 단백질 함량을 측정하였다.

Fig. 3은 dimethipin이 보리 종자의 발아 시간에 따라 α -아밀라아제 활성에 미치는 영향을 나타낸 것이다. Dimethipin 처리 시간이 지남에 따라 α -아밀라아제 활성에 미치는 영향이 뚜렷해졌다. 10 μM dimethipin을 처리하고 72시간이 지난 후 α -아밀라아제 활성이 33% 감소하였다. 100 μM dimethipin을 처리한 경우는 α -아밀라아제 활성이 71% 억제되었다. 발아는 종자에서 생장의 시작을 의미한다. 휴면 상태에 있는 종자는 물질대사가 시작됨에 따라 깨어난다. 발아는 발아에 필요한 여러 조건이 갖추어졌을 때 시작된다. Dimethipin에 의한 α -아밀라아제 활성 억제는 정상적인 발아를 저해하는 여러 요인 중 하나로 볼 수 있다.

발아의 초기단계에서 지베렐린은 보리 배에서 합

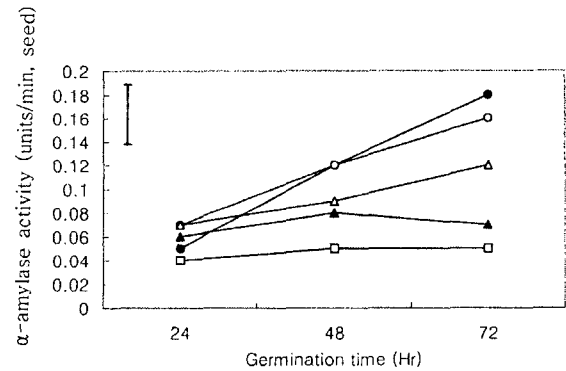


Fig. 3. Effects of dimethipin on α -amylase activity during barley seed germination. Each result is the mean (\pm s.e.m) of three replicate experiments and the bar in the figure represents the maximum standard error. Closed circles, control; open circles, 1 μM ; open triangles, 10 μM ; closed triangles, 100 μM ; open squares, 1 mM dimethipin.

성되어 호분층으로 확산되어 α -아밀라아제 및 다른 가수분해 효소를 합성분비하게 유도한다. 지베렐린 처리는 α -아밀라아제 및 α -아밀라아제 mRNA 합성을 촉진시켰다¹⁹. 지베렐린의 합성 및 활성은 종자 발아의 시작을 좌우한다. Fig. 4는 발아 중인 종자에 지베렐린을 처리한 후 α -아밀라아제 활성을 살펴본 것이다. 10 μ M 지베렐린 처리는 α -아밀라아제를 33% 활성화 시켰으며 그 이상의 농도에서도 비슷한 활성 촉진을 유도하였다. 지베렐린에 의한 α -아밀라아제 활성은 일반적인 반응이므로, 지베렐린 처리 실험은 본 실험이 제대로 작동되는지를 확인할 수 있었다. 지베렐린 처리는 8 시간의 지연 효과를 보인 후 α -아밀라아제의 합성과 분비를 지속하는 것으로 보고되었다⁸. Fig. 4는 지베렐린을 처리하고 2 일 후에 α -아밀라아제 활성을 측정하는 것이다. 지베렐린 처리 효과는 3일간 지속되는 것으로 알려졌다⁸.

Fig. 5는 10 μ M 지베렐린을 100 μ M dimethipin과

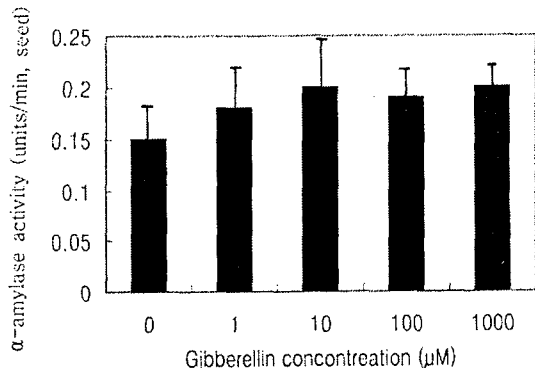


Fig. 4. Effects of gibberellin on α -amylase activity at 3 days after germination. Each result is the mean (\pm s.e.m) of three replicate experiments.

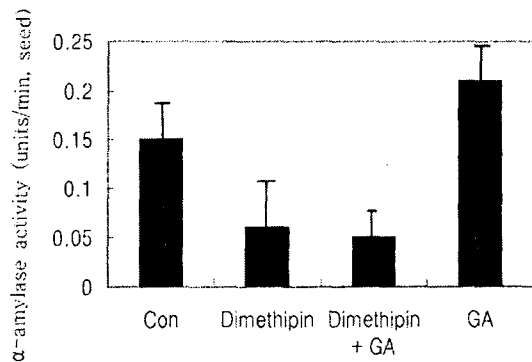


Fig. 5. Effects of dimethipin (100 μ M) + gibberellin (10 μ M) on α -amylase activity at 3 days after germination. Each result is the mean (\pm s.e.m) of three replicate experiments.

함께 처리했을 때 α -아밀라아제 활성을 나타낸 것이다. 지베렐린에 의한 α -아밀라아제 활성은 함께 처리한 dimethipin에 의해서 67% 억제되었다. Dimethipin을 단독 처리한 경우는 α -아밀라아제 활성이 40% 억제되었다. 따라서 dimethipin은 지베렐린의 효과를 저해하였다. 그러나 dimethipin에 의한 지베렐린 효과의 억제는 dimethipin이 α -아밀라아제 활성을 억제하기 때문에 나타난 효과인지 또는 α -아밀라아제 활성의 억제 외에도 지베렐린의 작용을 저해하는지는 알 수 없었다.

Fig. 6은 dimethipin이 발아하는 종자에서 시간에 따라 합성되는 수용성 단백질 함량에 미치는 영향을 나타낸 것이다. Dimethipin이 α -아밀라아제 활성을 억제한 것과 비슷한 양상을 보여주었다. Dimethipin에 의한 수용성 단백질 함량의 감소는 발아 초기 가수분해 효소를 비롯한 다양한 단백질 합성과 관련된 유전자 발현의 억제를 의미한다. 수크로오스에 의한 신호전달체계는 다양한 식물에서 발표되었다⁹⁻¹². Loreti 등¹²은 수크로오스와 포도당이 α -아밀라아제 유전자 발현을 억제한다고 보고하였다¹². 이는 α -아밀라아제에 의해서 녹말로부터 분해된 수크로오스와 포도당이 α -아밀라아제 활성을 조절하는 신호로 작용한다는 것을 의미한다. 이는 기존의 지베렐린에 의한 α -아밀라아제 합성과 더불어 α -아밀라아제가 다른 요인에 의해서도 α -아밀라아제 유전자 발현 및 활성이 조절된다고 볼 수 있다. 에틸렌이 유식물의 생장을 억제하기 보다는 성장 패턴의 변화를 야기한 것과는 달리 dimethipin은 발아와 성장 자체를 억제시켰다.

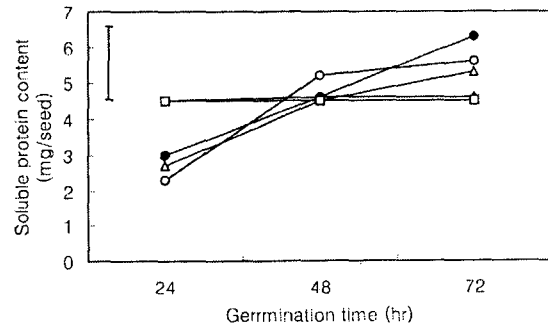


Fig. 6. Effects of dimethipin on soluble protein content during barley seed germination. Each result is the mean (\pm s.e.m) of three replicate experiments and the bar in the figure represents the maximum standard error. Closed circles, control; open circles, 1 μ M; closed triangles, 10 μ M; open triangles, 100 μ M; closed squares, 1 mM dimethipin.

위 결과들로부터 dimethipin은 발아 초기의 대사 활동에 영향을 주며 그 결과 발아 및 생장이 억제된 것으로 보인다.

4. 결 론

식물에서 발아율은 매우 중요하다. 발아율에 따라 생태계에서 식물 종의 생존율이 우점도 지수와 생태적 지위에 영향을 주기 때문이다. 농업에서 종자의 발아는 농작물의 생산량과 직접 연관된다. 따라서 어떠한 종류의 화학 물질이나 호르몬이 종자 발아에 영향을 주는지 조사하는 것은 중요하다. 인위적인 필요에 따라 발아율의 조절이 필요할 수도 있기 때문이다. 본 실험에서는 dimethipin이 발아, 생장, α -아밀라아제 활성화 및 기타 수용성 단백질 합성에 미치는 영향을 조사하였다. 1 μM 과 10 μM dimethipin 처리는 발아지수를 각각 17%와 24% 감소시켰다. 100 μM dimethipin 처리는 74% 감소시켰다. 이는 dimethipin 농도에 따라 보리 종자의 발아율을 조절할 수 있다는 것을 의미한다. 발아의 억제는 생장에 필수적인 기본적인 화학적 대사가 저해된다는 것의 의미한다. 따라서 dimethipin이 보리 유식물의 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 보리 종자의 발아율과 유사하게 dimethipin 처리는 보리 유식물의 생장을 억제되었다. 1 μM dimethipin 처리 후 7일 후 보리 유식물은 대조구에 비해 15% 생장이 억제되었다. 10 μM dimethipin 처리는 67% 생장을 억제시켰다. Dimethipin이 발아와 생장을 억제시켰는데 어떠한 메카니즘으로 영향을 주는지 조사하기 위해 발아와 초기 생장에 지베렐린 호르몬과 α -아밀라아제가 미치는 영향을 조사하였다. Dimethipin 처리 시간이 지남에 따라 α -아밀라아제 활성화에 미치는 영향이 뚜렷해졌다. 10 μM dimethipin을 처리하고 72시간이 지난 후 α -아밀라아제 활성이 33% 감소하였다. 100 μM dimethipin을 처리한 경우는 α -아밀라아제 활성이 71% 억제되었다. 10 μM 지베렐린 처리는 α -아밀라아제를 33% 활성화 시켰으며 그 이상의 농도에서도 비슷한 활성 촉진을 유도하였다. 지베렐린에 의한 α -아밀라아제 활성화는 함께 처리한 dimethipin에 의해서 67% 억제되었다. Dimethipin을 단독 처리한 경우는 α -아밀라아제 활성이 40% 억제되었다. 따라서 dimethipin은 지베렐린의 효과를 저해하였다. Dimethipin이 수용성 단백질 합성에 미치는 영향은 α -아밀라아제 활성을 억제한 것과 비슷한 양상을 보여주었다. 보리 종자의 호분층에서 지베렐린에 의한 신호전달 메카니즘은 비교적 잘 연구되었다. 발아와 초기 유식물 성장 동안 배유에 저장된 영양분은 α -아밀라아제 및 다양한

가수분해 효소에 의해 분해되며, 용해된 당, 아미노산 및 다른 산물들은 배로 수송된다. Dimethipin은 이러한 초기의 발생과정에 영향을 줌으로써 발아와 생장을 억제한 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Taiz L, Zeiger E, 2003, Plant physiology., The Benjamin/Cummings Publishing Co., California USA. 690pp.
- 2) Ames R. B., Blem A. R., Pryzbylek J. M., Walz A. W., Jaction D, 1982, Dimethipin: A unique plant maturity regulator for rice and sunflower, Proc. Crop Protection Conf., 2, 563-568.
- 3) Morgan P. W., 1984, Is ethylene the natural regulator of abscission? In: Ethylene: Biochemical, Physiological and Applied Aspects. Fuchs Y. and E. Chaluitz (ED), Martinus Nijhoff, Hague, 231-140pp.
- 4) Zacarius L., Reid M. S., 1990, Role of growth regulators in the scenscence of *Arabidopsis thaliana* leaves, Physiol. Plant, 80, 549-554.
- 5) Burg S. P., Burg E. A., 1965, Relationship between ethylene production in apples, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 45, 335-344.
- 6) Keng J. P., Metzger J. D., 1984, Modification of dimethipin action by light, Plant Growth Regul., 3, 141-156.
- 7) Hoagland R. E., 1984, Dimethipin effects on soybean seedings growth and metabolism, Plant Cell Physiol., 25(3), 397-405.
- 8) Varner J. E., Chandra G. R., 1964, Hormonal control of enzyme synthesis in barley endosperm, proc. Natl. Acad. Sci. USA, 52, 100-106.
- 9) Perata P., Matsukura C., Vernieri P., Yamaguchi J, 1997, Sugar repression of a gibberellin-dependent signaling pathway in barley embryos, Plant Cell, 9, 2197-2208.
- 10) Yokoyama R., Hirose T., Fujii N., Aspuria E. T., Kato A., Uchimiya H., 1994, The rol C promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants, Mol. Gen. Genet., 244, 15-22.
- 11) Jefferson R., Goldsbrough A., Bevan M., 1990, Transcriptional regulation of patatin-1 gene in potato, Plant Mol. Biol., 14, 995-1006.

- 12) Loreti E., Alpi A., Perata P., 2000, glucose and disaccharide-sensing mechanisms modulate the expression of α -amylase in Barley embryos, *Plant Physiol.*, 123, 939-948.
- 13) Chen M. H., Huang L. F., Li H. M., Chen Y. R., Yu S. M., 2004, Signal peptide-dependent targeting of a rice α -amylase and cargo proteins to plastids and extracellular compartments of plant cells, *Plant Physiol.*, 135, 1367-1377.
- 14) Abeles F. B., Morgan P. W., Saltveit M. E., 1992, *Ethylene in plant physiology*, 2nd ed. Academic Press, Sandiago.
- 15) Ritchie S., McCubbin A., Genevieve A., Kao T. H., Gilroy S., 1999, The sensitivity of barley aleurone tissue to gibberellin is heterogeneous and may be spatially determined, *Plant Physiol.*, 120, 361-370.
- 16) Paleg L. G., Coombe B. G., Buttrose M. S., 1962, Physiological effects of gibberellic acid, *Plant Physiol.*, 37, 798-803.
- 17) Jun B. O., Koh S. C., Kwon Y. M., 1983, Canavanine effects on the amylase activity and protein content in barley half seed, *Kor. J. Bot.*, 26, 173-180.
- 18) Lowry O. B., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randell R. J., 1951, Protein measurement with the folin phenol reagents, *J. Biol. Chem.*, 113, 265-275.
- 19) Higgins T. J. V., Zwar J. A., Jacobsen J. V., 1976, Gibberellic acid enhances the level of translatable mRNA for α -amylase in barley aleurone layers, *Nature*, 260, 166-169.