

사과 종자 발아에 미치는 기계적 상처, 자엽제거 및 영양분의 영향

최필선 · 이영진 · 유영범 · 최명석

Effects of mechanical Injury, cotyledon elimination and nutrition for the germination of apple seeds (*Malus pilmila* var. *domestica*)

Pil Son Choi · Young Jin Lee · Young Beob Yu · Myung Suk Choi

Received: 11 October 2019 / Revised: 23 October 2019 / Accepted: 23 October 2019

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract When dehulled apple seeds (*Malus pilmila* var. *domestica*) were induced to germinate, the rate of germination, which was increased by piercing both the radicle and cotyledon, was related to the site of injury. Also, the germination rates of an embryo with $3/4$ cotyledon ($3/4$ CE), embryo with $1/2$ cotyledon ($1/2$ CE), embryo with $1/4$ cotyledon ($1/4$ CE), and embryo without cotyledon (NCE) gradually decreased compared to an embryo with a normal cotyledon, but it significantly recovered on the agar media containing MS solution and/or 80 mg/L gibberellin (GA_3) as nutrition. The results show that the germination of the embryo was inhibited by the partial removal of cotyledon and also demonstrated that the rate of germination could be significantly increased by adding GA_3 (80 mg/L) and/or MS medium.

Keywords Apple seed, Cotyledon injury, Cotyledon elimination, Germination, Gibberellin (GA_3), MS solution

P. S. Choi (✉)
남부대학교 한방제약개발학과
(Department of Oriental Pharmaceutical Development, Nambu University, Gwangju 62271, Korea)
e-mail: cps6546@hanmail.net

Y. J. Lee · Y. B. Yu
남부대학교 응급구조학과
(Department of Emergency Medical Rescue, Nambu University, Gwangju 62271, Korea)

M. S. Choi (✉)
경상대학교 농업생명과학대학 환경산림과학부
(Division of Environmental Forest Science, Gyeongsang National University, Jinju, 52828, The Republic of Korea,)
e-mail: mschoi@gnu.ac.kr

서론

종자 발아는 수분 흡수를 통해 종피, 배유, 자엽, 배축 그리고 다른 기관 등에 저장된 단백질과 콜로이드를 수화시켜 배로 이동한 후 효소 활성화를 통해 ATP를 생산하여 세포분열을 촉진함으로써 이루어진다(George et al. 1987; Mettler and Beevers 1980; Nishimura and Beevers 1981; Rapp and Randall 1980). 발아는 배의 유근이 성장하여 종피를 뚫고 신장 하였을 때를 기준으로 하며(Atwood 1914), 유근 초기 생장은 세포의 신장과 세포분열에 의해 이루어진다고 보고된 바 있다(Obrucheva and Antipova 1985; Raju et al. 1988; Walker et al. 1985).

종자 발아는 여러 가지 요인에 의해 결정된다. 배의 기계적인 상처는 산소공급을 촉진하여 발아율을 증가시키기도 하지만(Atwood 1914; Hsiao and Quick 1984; Jacquot 1966; Mcintyre and Hsiao 1985; Raju et al. 1986), 기계적 상처부위에 lanolin 처리를 통하여 산소공급을 차단시킬 경우 발아율에 큰 영향이 없음을 보여주어 종자 발아에 산소가 중요한 요인이 아님을 보고한 경우도 있다(Hay 1962; Hsiao et al. 1983). 또한 종자 발아에 있어서 식물호르몬과 자엽의 중요성에 대한 연구도 보고 되었는데(Wareing et al. 1973), 특히 GA_3 의 종자 휴면 타파 효과(Hsiao 1979)와 배의 초기 성장에서 영양원으로 자엽과 megagametophyte(자성배우체)의 중요성(Webb 1982) 등을 보고하기도 하였다. 특히 전나무 배의 초기생장에서 영양원으로써 자성 배우체가 중요한 역할이 밝혀진 이후(Murashige 1978; Raghavan 1966, 1980), *Pinus radiata* 배 배양을 통해 인공종자 생산을 위한 기초 연구를 진행하기도 하였다(Teasdale and Buxton 1986). 그러나 체세포배는 일반종자에 비해서 종피와 배유가 없고, 접합자배에 비하여 미숙한 자엽 발달로 인한 낮은 발아율 때문에(Ara et al. 2000; Paul et al. 1994) 체세포배를 이용한 인공종자화 연구를 위해서는

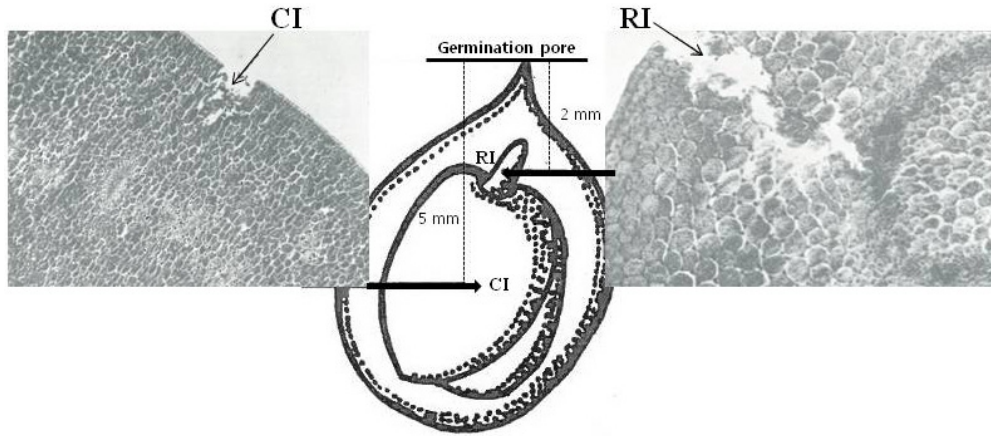


Fig. 1 Diagram of the apple embryo with mechanical injury by needle and histological observation of radicle and cotyledon injury; RI: radicle injury (2 mm); CI: cotyledon injury (5 mm)

먼저 접합자배의 발아에 대한 기초학술적 연구가 반드시 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식물 종자의 초기 성장 및 발아과정에서 주요 영양공급원 역할을 하는 자엽의 영향을 이해하기 위하여 무배유 종자이고 자엽이 잘 발달된 사과접합자 배를 이용하여 자엽의 기계적 상처, 자엽의 부분적 제거 및 제거된 사과 배에 영양분 처리에 의한 발아율을 조사하여 종자발아과정에서 수분과 산소, 자엽의 역할 및 영양분의 영향을 이해하고자 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 발아기준

본 실험에 사용된 재료는 사과(*Malus pulmila* var, *domestica*) 종자를 15년생 사과나무로부터 채취 하였다. 휴면을 타파하기 위하여 4°C 냉장고에 3주간 보관한 후 생중량이 55.00 ~ 60.00 mg 종자를 선별하여 재료로 사용하였다. 발아기준은 일반종자에서는 종피를 뚫고 나왔을 때 그리고 종피가 제거된 배의 경우 한천배지에서 유근이 1.0 cm 이상 신장하였을 때 발아 된 것으로 판단하였다.

실험방법

기계적 상처

생중량 55.00 - 60.00 mg의 후지 사과 종자를 선택하여 발아구로부터 2 mm 부위(radicle Injury, RI)와 5 mm 부위(cotyledon Injury, CI)를 바늘로 상처를 주었다. 대조구로서는 상처 없는 종자(normal Seed, NS)를 사용하였다. 발아율에 대한 기계적 상처 효과를 알아보기 위하여 상처를 주지 않은 종자와 발아구로부터 2 mm부위(radicle injury, RI)와 5 mm 부위에(cotyledon

injury, CI) (Fig. 1) 각각 상처를 준 종자를 직경 9 cm의 페트리 디쉬에 filter paper를 깔고 증류수 5 mL을 넣은 다음 6일 동안 배양하면서 발아율을 조사하였다. 또한 기계적 상처에 의한 산소 공급의 효과를 조사하기 위해서 증류수 용액(50 mL H₂O)과 0.6% 과산화수소용액(0.6% H₂O₂, 증류수 49 ml+30% H₂O 1 mL)에서 동일 조건으로 발아율을 측정하였다. 사과 종자는 20개씩 사용하여 24±1°C에서 1900 μmol photons m⁻² s⁻¹로 18시간 광주기의 조건에서 3회 반복 실험 하였다.

지베렐린의 적정농도

사과종자발아에 GA₃의 적정농도를 스크리닝하기 위하여 0, 20, 50, 80, 120, 200 mg/L용액을 페트리디쉬(Φ 9 cm)에 각각 5 mL를 넣고, 농도당 사과종자 20개씩 사용하여 3회 반복 수행하였으며, 배양조건은 24±1°C에서 1900 μmol photons m⁻² s⁻¹로 18시 광주기 조건에서 진행하였다.

자엽제거와 영양분 처리

발아율에 자엽의 제거가 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 종자를 70% 에탄올로 1분간 소독 후 1% sodium hypochloite용액으로 15분간 표면 살균 후 멸균수로 3 ~ 5회 수세하였다. 무균작업대에서 종피를 제거한 후 정상배(WCE), 자엽을 1/4제거한 배(3/4CE), 1/2제거한 배(1/2CE), 3/4제거한 배(1/4CE), 완전히 제거한배(NCE)로 나누어(Fig. 2) 각 배지에서 배양하면서 발아율을 측정하였다. 각 배지는 0.7% 한천 단독배지(Agar), 3% sucrose와 MS용액이 포함된 한천배지(Agar + MS), 가장 적정한 GA₃농도로 조사된 80 mg/L가 포함된 한천배지(Agar + GA₃) 그리고 3% sucrose, MS기본용액 및 80 mg/L GA₃가 포함된 한천배지(Agar + MS + GA₃) 를 사용하였으며, 25 mm × 50 mm의 시험관에 5 mL씩 넣고 고압멸균기로 멸균시킨 후 발아배지로 사용하였다. 각 처리구당 20개의 종자를 3회 반복시험 하였으며, 배양 조건은 24±1°C, 1900 μmol photons m⁻² s⁻¹ 18시간 광주기로 진행하였다.

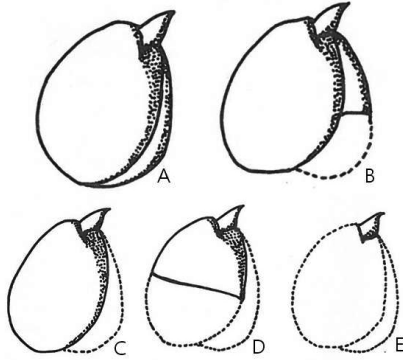


Fig. 2 Diagram of the removal of the cotyledon in the dehulled apple seeds. A) Embryo with whole cotyledon (WCE) as the control B) Embryo with $\frac{3}{4}$ cotyledon ($\frac{3}{4}$ CE) C) Embryo with $\frac{1}{2}$ cotyledon ($\frac{1}{2}$ CE) D) Embryo with $\frac{1}{4}$ cotyledon ($\frac{1}{4}$ CE) E) Embryo without cotyledon (NCE)

결과 및 고찰

기계적 상처와 산소공급 효과

상처를 받은 종자부위 특성을 살펴보면 사과종자는 무배유 종자로서 발아 시 발아조절의 역할을 하는 종피 안에 자엽과 배병, 근단, 배축으로 구성되어 있으며, 자엽이나 근단부위의 내부 조직은 표피, 유조직, 전형성층으로 구성되어 있었다. 기계적 상처는 자엽부위 5 mm에 상처를 준 재료에서는 표피를 지나 유조직 부위까지 상처를 주었으며, 발아구로부터 2 mm에 상처를 준 재료에서는 유조직을 지나 관다발 조직까지 상처를 받는 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 기계적 상처를 받은 종자(CI, RI)와 받지 않은 종자(NS)를 filter paper, 0.6%과산화수소 용액(H_2O_2) 및 증류수(H_2O)에서 발아율을 측정된 결과, 상처를 받지 않은 종자(NS)의 경우 산소공급이 원활한 filter paper에서 약 55.12%의 발아율을 보였지만 증류수나 0.6%과산화수소용액(H_2O_2)에서는 각각 7.42%와 16.33%로 낮아지는 것으로 나타났다. 반면 발아구로부터 5 mm부위에 상처를 준 종자(CI)의 경우 filter paper에서 80.42%의 발아율을 그리고 증류수와 0.6% 과산화수소(H_2O_2)용액에서는 각각 15.55%와 27.47%로 약간 증가되는 것으로 나타났고, 발아구로부터 2 mm부위에 상처를 준 종자(RI)의 경우 filter paper에서는 87.23%, 증류수에서 28.24% 그리고 0.6%과산화수소용액(H_2O_2)에서 55.38%로 측정되어 더욱 증가되는 것

으로 나타났다(Table 1). 이와 같이 사과 종자의 발아율은 산소의 공급이 원활히 이루어지는 filter paper에서 가장 높은 것으로 나타났고, 상대적으로 산소공급이 어려운 증류수나 과산화수소 용액 조건에서는 낮아지는 것으로 나타났다. 그러나 종자에 기계적 상처는 상처를 받지 않은 종자에 비하여 발아율이 증가된 것으로 관찰되었고, 이는 산소공급이 원활하지 않은 조건에서 산소와 수분 공급을 촉진시켜 발아율을 증가시킨 것으로 판단할 수 있었다.

물은 종자발아에 있어서 필수적인 외부 요인 중 하나로서 세포벽을 통해 세포내로 흡수되어 대사과정을 활성화 시킬 뿐 아니라 세포분열을 촉진시켜 발아를 유도하기 때문에 (Ching 1966) 유근 초기 성장에서 종자 안으로 물 흡수는 다른 어떤 요인보다 중요하다 할 수 있다(Hsiao et al. 1983). 기계적 상처는 물 흡수율을 증가시켜 발아율에 영향을 줄 수 있으며, 상처의 위치와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있고(Hsiao et al. 1983), 특히 *Avena fatua*종자에서 뿌리와 scutellum발달에 미치는 기계적 상처 효과를 연구한 결과 근단분열조직에 가깝게 상처를 받은 것은 상처를 받지 않은 경우나 발아구로부터 멀리 받은 경우보다 물 흡수와 산소호흡을 촉진시켜 종자내에서 물질대사와 세포분열이 더 빨리 일어나게 되고, 이는 발아시간이 빨라지고 발아율도 높아진다고 보고하였다(Raju et al. 1986). 또한 귀리종자에 상처를 주었을 경우 배 발달과 성장과정 동안에 산소 공급을 원활하게 하여 발아율을 증가시켰다는 연구 결과들(Hsiao and Quick 1984; Raju et al. 1988)과 본 연구 결과는 일치하고 있는 것으로 나타났다. 따라서 이러한 연구 결과를 종합하여 볼 때 정상종자에 비해 기계적 상처를 받은 종자는 상처부위의 수분흡수와 원활한 산소공급이 이루어져 배 안에 저장된 영양분들이 여러 대사과정을 활성화시켰을 뿐 아니라 근단분열 세포의 분열을 촉진시켜 발아를 촉진시킨 것으로 판단된다.

지베렐린의 적정농도, 자엽제거 및 영양분처리

사과종자 발아에 적정한 지베렐린의 농도를 조사하기 위하여 0, 20, 50, 80, 120, 200 mg/L로 처리한 결과 각각 55.12%, 72.58%, 69.77%, 88.32%, 35.15%, 33.24%의 발아율을 보여준 사과 종자의 발아에는 80 mg/L GA_3 농도가 가장 적정한 것으로 나타났고, 80 mg/L 이상의 농도에서는 오히려 억제현상을 나타내었다(Table 2). 따라서 부분적으로 자엽을 제거한

Table 1 Germination rates of apple seeds in response to injury on wet filter paper, in solution of 0.6% H_2O_2 , and in solution of 0.6% H_2O after 6 days

Explants	Germination rate of apple seeds (%) ¹		
	Filter paper	H_2O_2	H_2O
Control	55.12 ± 0.24	16.33 ± 6.30	7.42 ± 0.75
Cotyledon injury	80.42 ± 2.55	27.47 ± 3.75	15.55 ± 2.15
Radicle injury	87.23 ± 2.16	55.38 ± 5.24	28.24 ± 4.26

¹Each value represents the mean ± standard error of at least three replicates

Table 2 The effects of GA₃ concentration on the germination rate of apple seeds on filter paper after 6 days

GA ₃ concentration (mg/L)	Germination rate (%) ¹
0.0	55.12 ± 0.24
20	72.58 ± 3.75
50	69.77 ± 2.88
80	88.32 ± 4.12
120	35.15 ± 4.32
200	33.24 ± 3.85

¹Each value represents the mean ± standard error of at least three replicates

Table 3 The frequency (%) of root growth length (>1 cm) from an embryo with whole cotyledon (WCE), embryo with ³/₄ cotyledon (³/₄ CE), embryo with ¹/₂ cotyledon (¹/₂ CE), embryo with ¹/₄ cotyledon (¹/₄ CE), embryo without cotyledon (NCE) on the agar media containing MS solution and/or GA₃

Types of dehulled embryos with	Frequency of root growth of embryos (%) ¹			
	Agar	Agar + MS	Agar + GA ₃	Agar + MS + GA ₃
whole cotyledon (WCE)	100	100	100	100
³ / ₄ cotyledon (³ / ₄ CE)	100	100	100	100
¹ / ₂ cotyledon (¹ / ₂ CE)	88.53 ± 2.34	100	100	100
¹ / ₄ cotyledon (¹ / ₄ CE)	61.12 ± 5.92	74.98 ± 5.19	82.35 ± 4.16	96.25 ± 6.61
No cotyledon (NCE)	37.56 ± 3.95	49.84 ± 2.58	75.41 ± 7.18	87.93 ± 4.62

¹Each value represents the mean ± standard error of at least three replicates

사과 배의 발아 실험에 80 mg/L GA₃ 농도를 사용하였다.

또한 종자의 발아에 있어서 외부환경 즉 물리적, 화학적 요인도 중요하지만 영양원으로서 이용되는 배유나 자엽 조직도 뿌리초기 생장에 중요하다 할 수 있다. 사과종자의 경우 발아 및 발아직후의 물질대사의 장소가 되는 자엽이 배유의 역할을 하게 된다. 이와 같이 발아율에 미치는 자엽의 영향을 조사하기 위하여 자엽을 ¹/₄ 제거한 배(³/₄CE), ¹/₂ 제거한 배(¹/₂CE), ³/₄ 제거한 배(¹/₄CE), 완전히 제거한 배(NCE)로 나누어 한천배지에서 조사한 결과, 자엽을 정상적으로 갖고 있는(WCE) 배와 ¹/₄제거한 배(³/₄CE)는 100%의 발아율을 보였으나, ¹/₂자엽을 제거한 배(¹/₂CE)에서는 88.53%, ³/₄제거한 배(¹/₄CE)에서는 61.12% 그리고 완전히 제거된 배(NCE)에서는 37.56%로 나타났다(Table 3). 이와 같이 발아율은 자엽의 양에 따라 달라져 배의 생장에 매우 중요한 역할을 하고 있음을 보여주었다.

또한 사과 배에서 자엽 제거에 따라 낮아진 발아율이 영양분과 호르몬 처리시 어느 정도 회복되는지 알아보기 위하여 0.7% 한천배지와 3% sucrose가 포함된 MS용액, 가장 적정농도로 조사된 80 mg/L GA₃를 각각 단독 또는 혼용 처리하여 정상종자(WCE)와 자엽을 ¹/₄ 제거한 배(³/₄CE), ¹/₂ 제거한 배(¹/₂CE), ³/₄ 제거한 배(¹/₄CE), 완전히 제거한 배(NCE)로 나누어 조사한 결과, 정상 배(WCE)와 자엽을 ¹/₄제거한 배(³/₄CE)의 경우 모든 처리구에서 100% 발아율, 즉 유근의 생장이 1 cm 이상 생장을 보여주었다. 그리고 ¹/₂제거한 배(¹/₂CE)의 경우 한천배지에 영양분과 호르몬 단독 또는 혼용 처리하였을 때

한천 단독배지에서 보여 주었던 88.53%의 발아율이 100%까지 회복될 수 있음을 보여주었다. ³/₄제거한 배(¹/₄CE)의 경우 한천 단독배지의 61.12% 발아율이 Agar + MS배지에서 74.98%, Agar + GA₃배지에서 82.35% 그리고 Agar + MS + GA₃배지에서 96.25%로 점차 증가되었고, 또한 자엽을 완전히 제거한 배(NCE)의 경우에도 한천 단독배지에서의 낮은 발아율(37.56%) 이 Agar + MS배지에서 49.84%, Agar + GA₃배지에서 75.41% 그리고 Agar + MS + GA₃배지에서 87.93%로 증가되어 전체적으로 자엽 제거에 의해 낮아진 발아율이 상당히 회복되는 것으로 나타났다(Table 3). 이와 같이 사과 배의 발아는 자엽의 양과 비례하는 것으로 나타났고, 자엽 제거에 의해 낮아진 발아율은 영양분과 호르몬 처리에 의해 상당히 회복될 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 연구 결과는 *Zamia floridana*의 1차 및 2차근의 생장에 쌍자엽 식물에서 자엽 역할을 하는 megagametophyte가 매우 중요한 역할을 하고 있다는 주장과 유사하며(Webb 1982), 전나무 배 배양에서 적정 농도의 자성 배유체 추출물이 배의 생장에 매우 효과적 이다는 연구결과(Mapes and Zaerr 1981) 와도 일치한다.

이와 같이 위의 연구 결과를 종합하여 볼 때 사과 종자의 발아에는 물의 원활한 흡수와 산소공급을 촉진하는 기계적 상처에 의해 중요한 영향을 받은 것으로 나타났으며, 특히 종자의 초기 발아에서 영양원으로 작용하는 자엽의 양은 발아율을 결정하는 매우 중요한 요인임이 확인 되었다. 또한 자엽 제거에 의해 낮아진 발아율은 영양분 공급과 호르몬 처리에 의해 상당히 회복될 수 있음을 보여주었고, 이는 식물

의 배양과정에서 흔히 나타나는 자엽의 발달이 없거나 미숙하게 발달되는 체세포배의 식물체 재분화 연구에 적용할 수 있을 것으로 판단되며, 향후 체세포배의 인공종자 산업화 연구에도 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

유근과 자엽 부위에 기계적 상처를 준 사과종자의 발아율을 측정하였을 때 상처를 받지 않은 종자에 비하여 발아율이 증가되었으며, 상처부위와 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났다. 또한 $3/4$ 자엽 부위를 갖는 배($3/4$ CE), $1/2$ 자엽 부위를 갖는 배($1/2$ CE), $1/4$ 자엽 부위를 갖는 배($1/4$ CE) 그리고 자엽을 완전히 제거한 배(NCE)의 발아율은 정상적인 자엽을 갖는 배에 비해 감소하였으며, 감소된 발아율은 영양분으로서 MS용액과 적정 농도의 호르몬, 즉 GA_3 가 단독 혹은 혼용 첨가된 한천배지에서 증가되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 자엽 제거에 의해 사과의 발아율이 감소되며, 그 감소된 발아율은 GA_3 (80 mg/L)와 MS용액에 의해 상당히 회복됨을 보여 주었다.

사 사

본 논문은 남부대학교 연구년 지원프로그램(2018-2 교원연구년제과과교원선정안내)기간 동안 이루어진 것이다.

References

- Ara H, Jaiswal U, Jaiswal V (2000) Synthetic seed: prospects and limitation. *Curr Sci* 78:1438-1444
- Atwood WM (1914) A physiological study of the germination of *Avena fatua*. *Bot Gaz* 57:386-414
- Ching TM (1966.) Compositional changes of *Douglas Fir* seeds during germination. *Plant Physiol* 41:1313-1319
- George EF, Puttock DJM, George HJ (1987) Macronutrient composition, ionic composition, micronutrient composition. In *Plant Culture Media* (George EF, ED) Vol 1 pp 297-454
- Hay JR (1962) Experiments on the mechanism of induced dormancy in wild oats, *Avena fatua* L. *Can J Bot* 40:191-202
- Hsiao AI (1979) The effect of sodium hypochlorite and gibberellic acid on seed dormancy and germination of wild oats (*Avena fatua*). *Can J Bot* 57:1729-1734
- Hsiao AI, Quick WA (1984) Actions of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide on seed dormancy and germination of wild oats, *Avena fatua* L. *Weed Res* Vol 24:411-419
- Hsiao AI, McIntyre GI, Hanes JA (1983) Seed dormancy in *Avena fatua*. I. induction of germination by mechanical injury. *Bot Gaz* 144(2):217-222
- Jacquot C (1966) Plant tissue and exised organ culture and their significance in forest research. *J Inst Wood Sci* 16:22-34
- Mapes MO, Zaerr JB (1981) The effect of the female gametophyte on the growth of cultured *Douglas-fir* embryos. *Ann Bot* 48:577-582
- Mcintyre GI, Hsiao AI (1985) Seed dormancy in *Avena fatua*. II. evidence of embryo water content as a limiting factor. *Bot Gaz* 146(3):347-352
- Mettler IJ, Beevers H (1980) Oxidation of NADH in glyoxysomes by a malate aspartate shuttle. *Plant Physiol* 66:555-560
- Murashige T (1978) The impact of plant tissue culture on industry and agriculture. In *frontiers of plant tissue culture 1978* (Thope T, ED), the International association for plant tissue culture 1978, Calgary, Canada, pp 15-26
- Nishimura M, Beevers H (1981) Isoenzymes of sugar phosphate metabolism in endosperm of germinating castor beans. *Plant Physiol* 67:1255-1258
- Obrucheva NV, Antipova OV (1985) Level of hydration in bean seeds permitting preparation for elongation during germination. *Fiziologiya Rast* 32:932-941
- Paul H, Belaizi M, Sangwan-Norreel BS (1994) Somatic embryogenesis in apple. *J Plant Physiol* 143:78-86
- Raghavann V (1966) Nutrition, growth and morphogenesis on plant embryos. *Biol Rev* 41:1-58
- Raghavan V (1980) Embryo culture. In *perspectives in plant cell and tissue culture* (Vasil IK, ED). *Int Rev Cytol Suppl* 11B. pp 209-240
- Raju MVS, Hsiao AI, McIntyre GI (1986) Seed dormancy in *Avena fatua*. III. the effect of mechanical injury on the growth and development of the root and scutellum. *Bot Gaz* 147 (4):443-452
- Raju MVS, Walther A, Quick WA (1988) Growth and development of embryo parts during the germination of caryopses of the wild oat (*Avena fatua* L.). *Vot Mag Tokyo* 101:9-23
- Rapp BJ, Randall DD (1980) Pyruvate dehydrogenase complex from germinating castor bean endosperm. *Plant Physiol* 65:314-318
- Teasdale RD, Buxton PA (1986) Culture of *Pinus radiata* embryos with reference to artificial seed production. *Aus New Zealand J Fores Sci* 16 (3):387-391
- Walker MA, Roberts DR, Ching YS, Dumbroff EB (1985) A requirement for polyamines during the cell division phase of radicle emergence in seeds of *Acer sacchari*. *Plant Cell Physiol* 26 (5):967-871
- Wareing PE, Hvan SV, Webb DP (1973) Endogenous hormones in the control of seed dormancy. In *seed ecology* (Heidecker W, ED) pp 145-168
- Webb DT (1982) Importance of the megagametophyte and cotyledons for root growth of *Zamia floridana* DC. embryos in vitro. *Z Pflanzenphysiol* 106:37-42