

Chlorella 의 생장에 미치는 gibberellic acid 의 촉진 및 억제효과

蔡麟基 · 裴齊美 · *李永祿

(이화여자대학교 문리과대학 생물학과, *고려대학교 이공대학 생물학과)

Accelerated and restrained effects of gibberellic acid on the growth of *Chlorella*.

In Ki CHAI, Jae Mi BAE, and *Yung Nok LEE

(Dept. of Biology, College of Lib. Arts & Sciences, Ewha Women's University,

*Dept. of Biology, College of Science & Technology, Korea University)

ABSTRACT

This investigation was proceeded to define the effects of gibberellic acid on the growth of *Chlorella* by determining the contents of chlorophyll and changes in various components in *Chlorella* cells according to the concentration of treated-GA.

The growth of *Chlorella* was accelerated with relative low concentrations of GA (10, 40 ppm) and was restrained with relative high concentrations of GA (70, 100, 200 ppm).

The synthetic ability of chlorophyll of GA was inhibited generally in proportion to the concentration of treated-GA and the higher the concentration of GA was applied, the longer time was required in the restoration.

The contents of RNA, protein and soluble carbohydrate were increased and PCA-soluble amino acid and polysaccharide were decreased in all the GA-treated groups than the control. But there was not any remarkable differences in those cell components between the accelerated and restrained group.

Consequently, the effect on accelerated growth in relative low concentrations of GA is considered to be caused by the powerful effect on expansion growth of GA.

It is presumed that the effect of restrained growth in relative high concentrations of GA is due to the inhibitory effect on the chlorophyll synthesis.

緒 論

Gibberellic acid (GA)가 藻類의 성장 촉진 작용을 가진다는데 대해서 Kinoshita and Teramoto(1958)는 *Porphyra* 에서, Griffin (1958)은 *Euglena* 에서, Conrad 외 2인(1959)은 *Ulothrix* 에서 각기 관찰한바 있고 *Chlorella* 에 대해서는蔡 외 2인(1968)은 GA가 *Chlorella* 의 성장을 촉진시킨다고 하는 반면 Tamiya 외 2인(1962)은 GA가 *Chlorella* 의 성장 촉진에 효과가 없으며 오히려 세포의

왜소화를 초래한다고 발표한 바 있다.

한편 GA가 식물체의 chlorophyll 감소 효과를 가진다는 사실이 잘 알려져 있는데 이외에 Bradshaw and Edelman(1968)과 Pinfield (1968) 등은 GA가 세포내 炭水化合物 加水分解酵素의 活性을 높여서 reducing sugar의 함량을 증가시킨다고 하였고 Roychoudhury (1965)등은 GA가 RNA 합성의 촉진을, Kuraiishi and Muir(1965)등은 GA가 auxin 함량 증대를 유발한다고 각각 보고 하고 있다.

본 실험에서는 GA가 *Chlorella* 의 생장에

미치는 영향을 재검토 하는 한편 그 영향이 GA의 어떠한 작용에 기인하는가를 우선 *Chlorella*의 chlorophyll 함량 측정과 체물질 분석을 통하여 밝히고자 한 것이다.

실험을 지도해 주신 蔡麟基 지도 교수님과 고려대학교 이공대학 李永祿 교수님께 깊은 감사를 드리는 바이다.

材料 및 方法

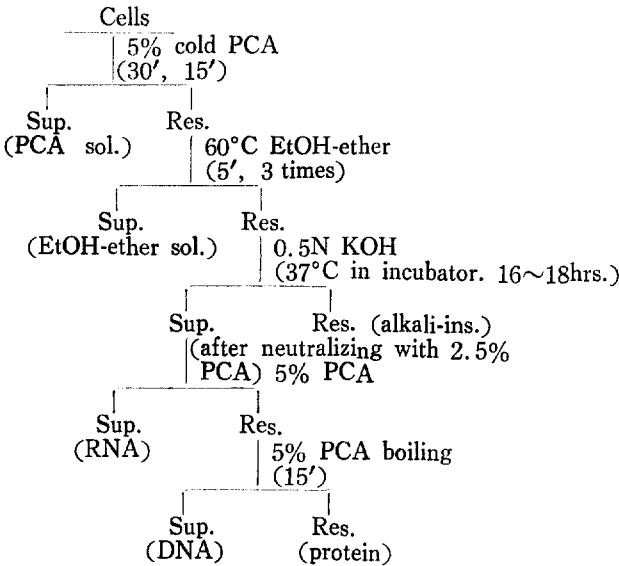
*Chlorella ellipsoidea*를 gibberellic acid를 첨가한 Tamiya 등(1953)의 M 4N 배지에 접종

하여 20~25°C, 10 klux 하에서 CO₂ enriched air로 bubbling 시키며 배양하되 GA 농도가 각각 0, 10, 40, 70, 100, 200 ppm이 되도록 하였다.

세포의 생장은 packed cell volume/liter medium으로, 세포의 chlorophyll 함량은 OD 660-540/ml cell/liter medium으로 측정하였다.

배양 7일 후 성장 촉진구와 성장 억제구를 설정하고 대조구, 촉진구, 억제구에서 각각 일정량의 세포를 수확하여 M/500 K₂SO₄ 용액으로 3회 씻은 후 Schmidt-Thannhauser

Table 1. Fractionation of various compounds in *Chlorella* cells



(1945)의 방법에 따라 PCA-soluble, EtOH-ether soluble, alkali-insoluble, RNA, DNA, protein 등 여러가지 구성 성분으로 분획하여 다음과 같이 정량하였다.

DNA 및 RNA량은 RNA 및 DNA fraction의 일부를 취하여 spectrophotometry로 OD 260mμ에서, PCA-soluble nucleotide는 Crane and Lipman(1953)의 방법에 따라 nucleotide를 charcoal에 흡착시킨 후 1N H₂SO₄를 가하여 boiling시켜 얻은 상층액을 OD 260mμ에서 각각 측정하였다.

Alkali-stable 및 alkali-labile protein량은 residual 및 RNA fraction의 일부를 취하여

micro Kjeldahl flask 내에서 5N H₂SO₄로 가수분해한 후 Troll and Cannan(1953)의 방법에 따라 ninhydrin으로 정색시켜 OD 570mμ에서 측정하였다.

탄수화물량은 anthrone method(Scott and Melvin, 1953)에 의하여, 가수분해된 PCA-soluble, EtOH-ether soluble, alkali-insoluble (PCA-insoluble, EtOH-ether insoluble) fraction을 anthrone으로 정색시켜 OD 625mμ에서 측정하였다.

각 fraction의 인산 화합물 함량은 Fiske-Subbarow(1925) 방법에 따라, 가수분해된 PCA-soluble, EtOH-ether soluble, RNA,

protein fraction 등을 eiconogen 으로 정색하고 OD 660 μ 에서 측정하였다.

實驗結果

1. GA가 *Chlorella*의 생장에 미치는 영향.

Chlorella 세포를 여러가지 농도의 GA 처리구에서 배양하고 배양중 매일 일정량의 세포를 수확하여 그 packed cell volume 을 측정 한 결과를 Table 2와 Fig. 1에 표시하였다.

Table 2. The packed cell volume of *Chlorella* cultured with various concentration of GA (unit: ml packed cell/l medium)

Conc. of GA(ppm)	0	2	3	4	5	6	7
0	0.03	0.60	1.07	2.60	2.70	4.50	6.60
10	0.03	0.46	1.03	2.20	3.70	5.10	7.10
40	0.03	0.72	1.00	2.10	2.90	5.60	8.20
70	0.03	0.41	0.90	2.30	3.10	4.90	5.80
100	0.03	0.10	0.25	0.50	1.70	2.20	4.60
200	0.03	0.06	0.14	0.20	1.00	2.05	3.38

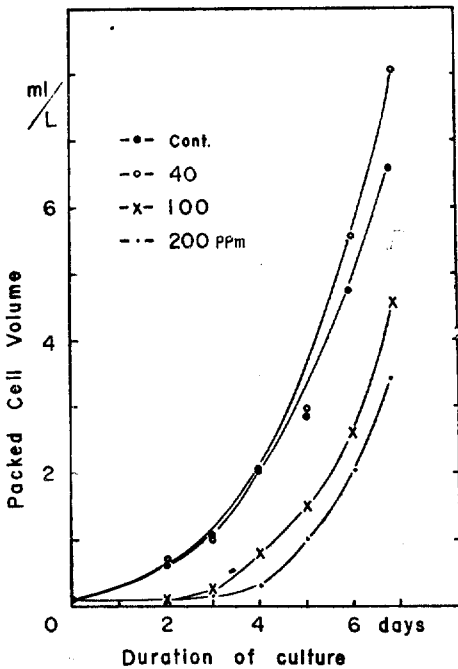


Fig. 1. Effects of GA on the packed cell volume of *Chlorella*.

Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같이 GA 처리에 의한 *Chlorella* 세포의 packed cell volume 은 GA 농도 10 ppm 및 40 ppm 처리구에

서 각각 증가를 보였는데 그 정도는 40 ppm 처리구에서 더욱 현저하였다. 그러나 70 ppm 이상의 처리구에서는 세포의 packed cell

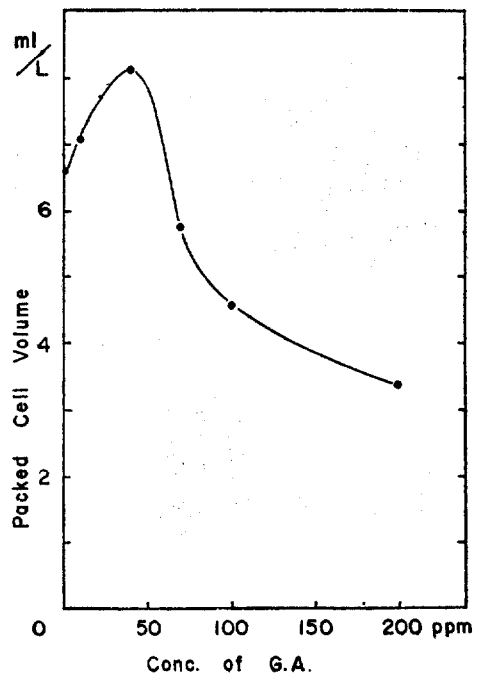


Fig. 2. Relation of the packed cell volume and concentration of GA after 7 days.

volume 이 모두 감소하였고 GA 농도가 높아짐에 따라 더욱 심한 감소를 보였다.

Fig. 2 는 7 일 간 배양한 *Chlorella* 세포의 packed cell volume 의 증감과 GA 농도와의 관계를 표시한 것이다. 저농도(10~40 ppm) 처리구에서는 세포의 생장이 약간 증가하였으나 70 ppm 이상의 고농도 처리구에서는 오히려 세포의 생장이 억제되었음을 알 수

있다.

2. GA 가 *Chlorella* 의 chlorophyll 형성에 미치는 영향.

각각 그 농도를 달리하는 GA 처리구에서의 배양 과정을 통한 *Chlorella* 세포의 optical density 의 변화와 chlorophyll 함량의 변화는 Table 3 과 Fig. 3, 4 에 표시한 바와 같다.

단위 배양액에 포함되어 있는 chlorophyll

Table 3. Changes in the OD 660, OD 540 and chlorophyll content (OD 660—540/ml cell/liter medium) during the culture

Con. of GA		Duration of culture(day)	0	1	2	3	4	5	6	7
			Control	OD 660	0.0130	0.0230	0.0600	0.1910	0.3620	0.4270
	OD 540	0.0100	0.0200	0.0500	0.1370	0.2690	0.3200	0.4700	0.5010	
	DOD	0.0208	—	0.0167	0.0505	0.0365	0.0404	0.0290	0.0241	
10 ppm	OD 660	0.0130	0.0200	0.0530	0.1120	0.2730	0.4400	0.6150	0.6650	
	OD 540	0.0100	0.0180	0.0450	0.0850	0.2010	0.3220	0.4800	0.4850	
	DOD	0.0208	—	0.0175	0.0261	0.0288	0.0317	0.0248	0.0266	
40 ppm	OD 660	0.0130	0.0200	0.0650	0.1380	0.3590	0.4120	0.6400	0.7280	
	OD 540	0.0100	0.0160	0.0550	0.1080	0.2650	0.3120	0.4900	0.5600	
	DOD	0.0208	—	0.0139	0.020	0.0448	0.0339	0.0268	0.0194	
70 ppm	OD 660	0.0130	0.0190	0.0460	0.0950	0.2380	0.3490	0.5400	0.6200	
	OD 540	0.0100	0.0150	0.0410	0.0820	0.1800	0.2530	0.4000	0.4630	
	DOD	0.0208	—	0.0097	0.0135	0.0250	0.0315	0.0287	0.0273	
100 ppm	OD 660	0.0130	0.0150	0.0300	0.048	0.1280	0.2690	0.5270	0.6000	
	OD 540	0.0100	0.0130	0.0310	0.0500	0.1180	0.2070	0.3800	0.4650	
	DOD	0.0208	—	-0.0076	-0.0079	0.0125	0.0302	0.0565	0.0273	
200 ppm	OD 660	0.0130	0.0120	0.0160	0.0130	0.0230	0.0650	0.1920	0.3800	
	OD 540	0.0100	0.0110	0.0170	0.0190	0.0350	0.0760	0.1600	0.2700	
	DOD	0.0208	—	-0.0076	-0.0430	-0.060	-0.0110	0.0156	0.0326	

※ DOD=OD 660—540m μ /PCV

량과 그의 체물질량은 OD 660m μ 과 OD 540m μ 에서 각각 측정하여 Fig. 3 에 표시하였다.

GA 처리 농도가 증가함에 따라 chlorophyll 함량과 그 이외의 체물질 함량이 감소하여 그 packed cell volume 의 변화와 상응되는 결과를 나타내었다. 그러나 GA 처리농도 40 ppm 구에서는 그 packed cell volume 이 대조구보다 증가하고 있음에도 불구하고 배양 2~5 일 사이에는 오히려 대조구 보다 chlorophyll 함량이 낮은 경향을 보여주고 있다.

Fig. 4 는 OD 660—540m μ /ml cell/liter medium 을 표시한 것으로 각 실험구의 단위 *Chlorella* cell 당 chlorophyll 함량을 비교한 것이다.

우선 대조구에서는 배양 초기에 chlorophyll 함량이 다소 감소를 보이다가 증가하기 시작하여 제 3 일에 정점을 이루고 그 후 다시 서서히 감소하여 가는데 대해서 GA 처리구에서는 GA 처리농도에 대체로 비례하여 감소하였으며 감소정도는 농도가 짊을수록 심하였다.

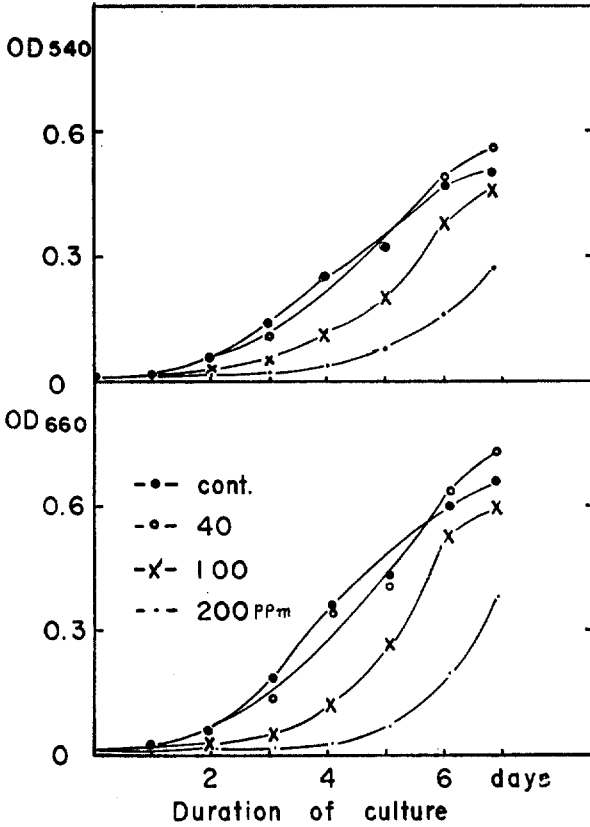


Fig. 3. Changes in the OD 660mμ and OD 540mμ during the culture.

이들 GA 처리구의 chlorophyll 합성능의 회복은 저농도 일수록 빨라서 대조구에서 배양 제 3 일째에 극대(極大)에 이르는데 대하여 GA 처리 40 ppm 구에서는 제 4 일째, 100 ppm 구에서는 제 6 일째였고, 200 ppm 구는 제

Table 4. Changes in the relative amounts of UV absorbing materials

Fraction	Con. of GA (ppm)	용적 (ml)	OD 260mμ	OD/ml
PCA-sol. (nucleotide)	Cont.	15.4	0.209	6.437
	40	15.8	0.183	5.783
	100	15.5	0.146	5.146
RNA	Cont.	18.8	11.610	436.536
	40	19.0	11.606	441.009
	100	19.4	13.650	529.820
DNA	Cont.	3.8	12.425	94.480
	40	3.6	10.075	72.540
	100	3.8	10.750	61.700

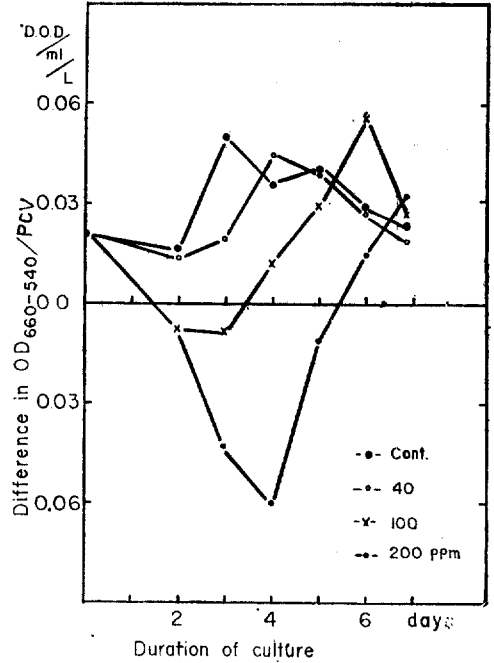


Fig. 4. Changes in the relative amounts of *Chlorophyll* (OD 660-540mμ/packed cell volume/l medium).

7 일째에도 회복을 계속하고 있는 중이었다.

3. GA가 *Chlorella* 세포의 화학적 조성에 미치는 영향.

GA 처리구에 있어서의 세포의 RNA 함량은 대조구에 비하여, 성장 촉진구와 성장 억제구에서 다 같이 증가하였으나 DNA 함량은 약간 감소하였다(Table 4, Fig. 5).

GA 처리구에 있어서의 세포의 단백질 함량은 대조구에 비하여 성장 촉진구와 성장 억제구에서 다 같이 증가하였고 PCA-soluble amino acid 함량은 감소하였다(Table 5, Fig. 6).

세포의 탄수화물 함량은 다당류는 처리구에서 대조구에 비하여 감소를 보였으나 가용성 탄수화물 처리구에서 오히려 증가를 보였다(Table 6, Fig. 7).

인산 화합물 함량은 처리구에서 다소 감소한 것 같았으나 큰 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 8).

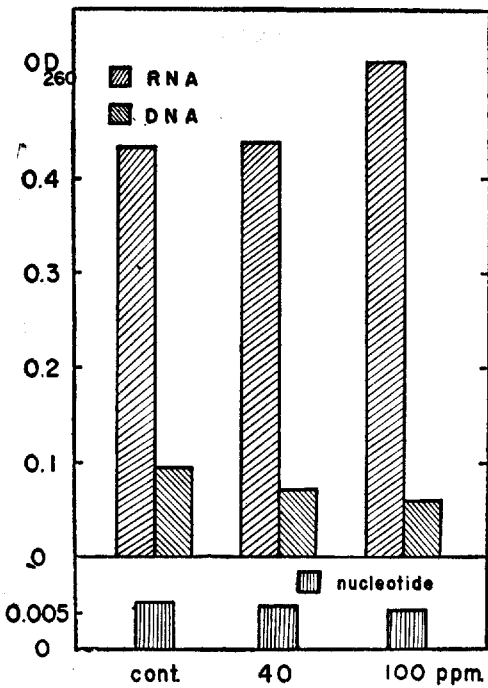


Fig. 5. Changes in the relative amounts of UV absorbing materials in the control group, accelerated (40 ppm) and restrained (100 ppm) growth group in *Chlorella* after 7 day of the culture.

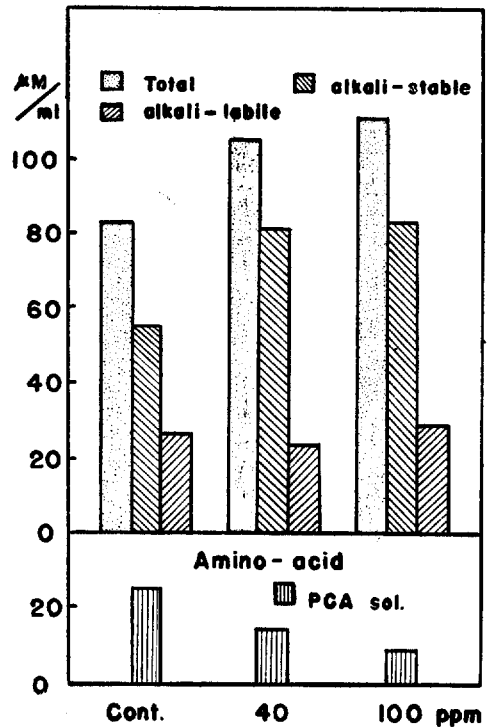


Fig. 6. Changes in the amounts of protein in the control, accelerated (40 ppm) and restrained (100 ppm) growth group after 7 day of the culture in *Chlorella*.

Table 5. Changes in the amounts of protein

Fraction	Con. of GA (ppm)	volume (ml)	OD 570	Total $\mu\text{M/ml}$
PCA-sol. (amino acid)	Cont.	15.4	0.180	26.18
	40	15.8	0.109	14.22
	100	15.5	0.058	9.61
Alkali-labile	Cont.	18.8	0.294	27.26
	40	19.0	0.254	24.04
	100	19.4	0.293	28.71
Alkali-stable	Cont.	11.1	0.250	55.50
	40	17.1	0.240	81.39
	100	18.8	0.223	82.72
Total	Cont.	—	—	82.76
	40	—	—	105.43
	100	—	—	111.43

Table 6. Changes in the amounts of carbohydrate

Fraction	Con. of GA (ppm)	volume (ml)	OD 625	μM	total $\mu\text{M/ml}$
PCA-sol.	Cont.	15.4	0.040	0.078	11.94
	40	15.8	0.028	0.060	9.48
	100	15.5	0.072	0.122	18.91
EtOH-ether sol.	Cont.	12.8	0.128	0.225	28.80
	40	12.3	0.148	0.260	31.98
	100	12.3	0.172	0.287	35.30
Alkali-insol.	Cont.	12.9	0.420	0.640	82.56
	40	12.9	0.260	0.410	52.89
	100	13.2	0.360	0.554	63.13
Total	Cont.	—	—	—	123.29
	40	—	—	—	94.35
	100	—	—	—	117.33

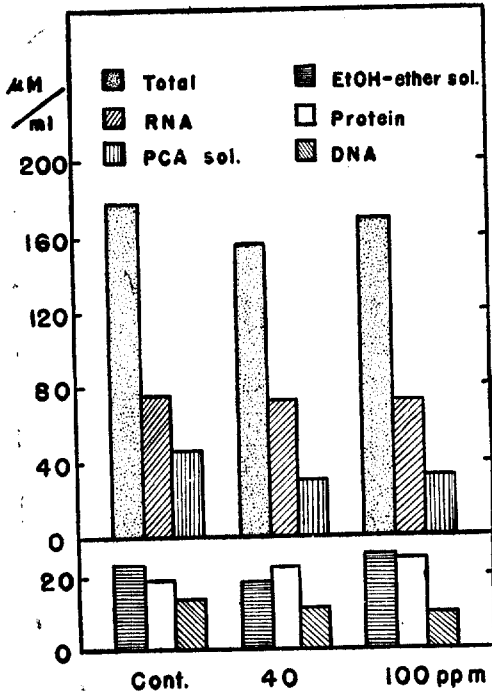


Fig. 7. Changes in the amounts of carbohydrate in the control, accelerated (40 ppm) and restrained (100 ppm) growth group after 7 day of the culture in *Chlorella*.

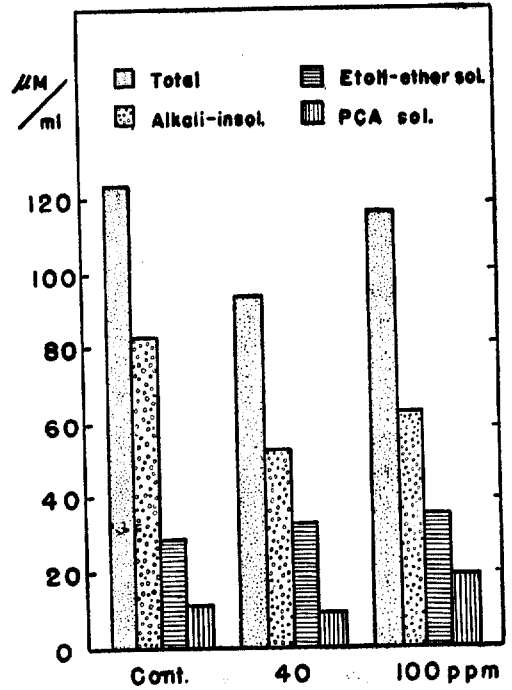


Fig. 8. Changes in the amounts of phosphate in the control, accelerated (40 ppm) and restrained (100 ppm) growth group after 7 day of the culture in *Chlorella*.

考察 및 結論

이상의 실험결과를 고찰하여 보건데 gibberellic acid 처리에 의한 *Chlorella*의 배양에 있어서 비교적 저농도의 GA 처리구에서는 *Chlorella*의 생장이 촉진되어 그 packed cell volume의 증대를 나타내었으나 고농도의 GA 처리구에서는 생장이 억제되어 그 packed cell volume의 감소를 나타 내었다.

한편 GA에 의한 *Chlorella*의 chlorophyll 함량 변동을 살펴전데 GA는 *Chlorophyll* 형성에 억제적으로 작용하여 저농도에서는 물론, 그 농도가 높아질에 대체로 비례하여 단위세포당 chlorophyll 함량의 감소를 초래하였다. 그러나 그 억제 효과는 처리 초기에 심하였다가 차츰 해제되었는데 저농도 일수록 chlorophyll 형성능의 회복에 소요되

는 시간이 빨랐다.

이에 이르러 특히 주목되는 것은 저농도의 GA 처리에서 chlorophyll 형성은 억제되고 있는데 그 packed cell volume은 증가하여 생장이 촉진되고 있음을 나타내고 있는 점이다. 이것은 결국 chlorophyll 형성의 억제 효과마저 능가하는 어떤 요인에 의하여 성장 촉진이 이루어졌음을 짐작하게 하는 것이다.

실제 GA가 식물의 expansion growth를 촉진시켜 주고 있음은 잘 알려져 있는 사실인데 이와 같은 작용은 Philips *et al.* (1959)이나 Kuraishi and Muir(1962) 등의 연구에 의하면 GA에 의한 식물체내의 auxin 함량 증가에 기인한다고 하며 Key and Ingle(1964)과 Masuda(1966)에 의하면 auxin은 cell elongation을 유발할 뿐 아니라 protein 합성을

부수하는 RNA 합성을 촉진시킨다고 하였다. 더 나아가 Masuda, (1966 II)와 Masuda and Tanimoto (1967)는 auxin에 의해 증진된 RNA 합성이 결국 cell wall을 relaxation시킬 것이라고 하였고 Masuda and Yanagishima (1964, 1965)는 GA로 처리된 세포로부터 추출된 RNA fraction이 cell elongation의 원인이 되는 것이라고 추측하였다.

그런데 Nanda and Dhindsa(1968)는 starch 함량과 식물체의 extention growth에 대한 GA₃의 영향을 논하는 가운데서 GA₃ 처리에 의하여 증가된 soluble carbohydrates가 cell sap의 osmotic pressure를 높여서 water uptake와 turgor를 증가시켜 결국 extention growth를 촉진하는 것 같다고 피력하였다.

Chlorella cell의 화학적 조성을 분석한 분실험의 결과를 살피건대 GA 처리구에서는 대조구보다 RNA와 protein 함량이 증가하였고 DNA, PCA-soluble nucleotide 함량이 감소하였는데 GA가 직접 간접으로 RNA 및 protein의 대사에 관여하고 있다는 報文들과 부합되는 결과라고 하겠다.

또한 탄수화물 함량에 있어서는 가용성 탄

수화물은 대조구보다 GA 처리구에서 증가하였고 다당류는 감소하였는데 이것도 위의 Nanda 등의 言及은 勿論, GA가 탄수화물에 대한 hydrolase의 activity를 높여서 reducing sugar의 함량을 증가시킨다는 Briggs(1963)와 Varner(1964) 등의 보고에 견주어 보아 쉽게 수광될 수 있는 일이다. 그러나 체물질 분석에서 개개의 물질에 따라서는 增減을 보였으나 전체적으로 보아 *Chlorella*의 성장 촉진과 억제물 가를할 만한 화학적 조성의 변동은 찾아볼 수 없었다.

따라서, GA 저농도 처리구에서는 GA에 의한 chlorophyll 합성 억제 효과가 弱하여 그로 인한 성장 장애를 GA에 의한 cell elongation 효과가 능가하고 있기 때문에 결과적으로 *Chlorella*의 성장 촉진이 초래된 것으로 보인다.

그러나 GA 고농도 처리구에서는 GA에 의한 chlorophyll 합성 억제 효과가 甚하여 그로 인한 성장 장애가 보다 커서 cell elongation 효과가 있었더라도 결과적으로 성장 억제의 효과를 나타낸 것이라고 생각된다.

摘 要

GA 처리 농도에 따른 *Chlorella*의 성장 촉진 및 억제효과의 원인을 규명코저 GA의 농도에 따른 *Chlorella*의 성장, chlorophyll 형성능, 체물질 조성 등을 알아 보았다.

비교적 저농도의 GA 처리구(10, 40 ppm)에서는 *Chlorella*의 생장이 촉진되었고 그 이상의 농도(70, 100, 200 ppm)에서는 억제 되었다.

Chlorophyll의 형성능은 GA 처리 농도에 대체로 비례하여 저해되었다가 점차 회복되었으며 회복에 소요된 기간은 농도가 높을 수록 길었다.

체물질 분석의 결과 GA 처리구에서 자란 세포는 다 같이 정상적으로 자란 세포에 비하여 RNA, protein 및 가용성 탄수화물의 함량이 증가하였고 游離 아미노산과 다당류의 함량은 감소하였다. 그러나 성장 촉진구와 억제구간에 뚜렷한 체물질 함량차는 없었다.

따라서 비교적 저농도의 GA 처리에서의 성장 촉진효과는 GA에 의한 expansion growth와 그에 따른 물질 대사의 촉진이 GA에 의한 chlorophyll 형성 억제효과를 능가한 때문인 것 같고 비교적 고농도의 GA 처리에서의 성장 억제효과는 GA에 의한 chlorophyll 형성 억제작용이 컸기 때문인 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Bradshaw, M.J. and J. Edelman, 1968. Enzyme formation in higher plant tissue; The production of a gibberellin preceeding invertase synthesis in aged tissue. *J. Exp. Bot.*, 87-93.

2. Briggs, D. E., 1963. Biochemistry of barley germination; Action of gibberellic acid on barley endosperm. *J. Inst. Brewing*, **69**, 13—19.
3. Chai, I. K., P. Chin and Y. H. Lee, 1968. Effect of gibberellic acid on the rates of respiration and photosynthesis in *Chlorella*. *J. Kor. Res. Inst. for Better Living*, **1**, 41—46.
4. Conrad, H., P. Saltman and R. Eppley, 1959. Effects of auxin and gibberellic acid on growth of *Ulothrix*. *Nature*, **184**, 556—557.
5. Crane, R. K. and F. Lipman, 1953. The effects of arsenate on ascorbic phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, **201**, 235—243.
6. Fiske, C. H. and Y. Subbarow, 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375.
7. Griffin, D. N., 1958. The effect of gibberellic acid upon *Euglena*. *Proc. Oklahoma Acad. Sci.*, **38**, 14—15.
8. Key, J. L. and J. Ingle, 1964. Requirement for the synthesis of DNA like RNA for growth of excised tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **52**, 1382—1388.
9. Kinoshita, S. and K. Teramoto, 1958. On the efficiency of gibberellin on the growth of *Phorphyra*. *Fron. Bull. Japan Soc. Phycol.*, **6**, 85—88.
10. Kuraishi, S. and R. M. Muir, 1962. Increase in diffusible auxin after treatment with gibberellin. *Science*, **137**, 760—761.
11. _____ and R. M. Muir, 1965. The relationship of gibberellic acid and auxin in plant growth. *Plant & Cell Physiol.*, **15**, 61—69.
12. Masuda, Y., 1966. Auxin-induced growth of tuber tissue of *Jerusalem artichoke* II. The relation of protein and nucleic acid metabolism. *Plant & Cell Physiol.*, **7**, 75—91.
13. _____, 1966. Auxin-induced growth of tuber tissue of *Jerusalem artichoke* III. Effect of actinomycin D on auxin-induced expansion growth and RNA synthesis. *Plant & Cell Physiol.*, **7**, 573—581.
14. _____ and E. Tanimoto, 1967. Effect of auxin and antiauxin on the growth and RNA synthesis of etiolated pea internodes. *Plant & Cell Physiol.*, **8**, 459—465.
15. _____ and N. Yanagishima, 1964. RNA functional in auxin action of expanding tuber tissue of *Jerusalem artichoke*. *Plant & Cell Physiol.*, **5**, 329—332.
16. _____ and N. Yanagishima, 1965. Further studies on RNA functional in auxin action. *Plant & Cell Physiol.*, **6**, 17—23.
17. Nakamura, T., T. Yamada and N. Takahashi, 1966. Effect of gibberellic acid on the growth of the plumular hook section of etiolated pea seedling. *Bot. Mag. Tokyo*, **79**, 404—413.
18. Nanda, K. K. and R. S. Dhindsa, 1968. Effect of gibberellic acid on starch content of soybean (*Glycine max* L.) and its correlation with extension growth. *Plant & Cell Physiol.*, **9**, 423—432.
19. Philips, I. D. J., A. J. Veitos and H. Cutler, 1959. The influence of gibberellic acid upon the endogenous growth substances of the Alaska pea. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **20**, 111—120.
20. Pinfield, N. J., 1968. The effects of gibberellin on the metabolism of ethanol-soluble constituents in the cotyledons of hazel seeds (*Corylus avellana* L.) 1960. *J. Exp. Bot.*, **452**—459.
21. Roychoudhury, R. and S.P. Sem, 1965. The effect of gibberellic acid on nucleic acid and metabolism in coconut milk nuclei. *Plant & Cell Physiol.*, **6**.
22. Schmidt, G., S. J. Thannhauser, 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoprotein in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **161**, 83—89.
23. Scott, T. A. and E. H. Meliven, 1953. *Anal. Chem.*, **25**, 1650. Methods in carbohydrate chemistry, Vol. 1. (Whistler R.L. et al. ed.) 1962. Academic Press INC. p. 490.
24. Tamiya, H., K. Shibata, T. Sasa, T. Iwamura and Y. Morimura, 1953. Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 600, 76.

25. _____, Y. Morimura and M. Yokota, 1962. Effects of various antimetalites upon the life of *Chlorella*. *Archiv. für Microbiologie*, 421 4—16.
26. Troll, W. and R. K. Cannan, 1953. A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino acid and imino acids. *J. Biol. Chem.*, 200, 803—811.
27. Varner, J.E., 1964. Gibberellic acid controlled synthesis of α -amylase in barley endosperm. *Plant Physiol.*, 39, 413—415.