

冷濕積에 따른 은행나무種子內 生長調整物質의 變化*¹

李 景 宰*² · 任 慶 彬*²

Alteration of Endogenous Growth Substances in Cold-moist Stratified Seeds of *Ginkgo biloba* L.*¹

Kyong Jae Lee*², Kyong Bin Yim*²

This study has intended to disclose the change of some chemical compositions of Ginkgo seeds which were acquired the treatment of cold-moist-stratification after collection. As check sample, the room-stored seeds were used.

With the reasons that when the seeds not stratified were sown the delay of field germination has usually been resulted, the effectiveness of stratification in respect to alteration of chemical composition is to be investigated.

The increase and decrease of growth promoting and inhibiting substances were investigated by means of chromatography method followed by rice seedling test or wheat coleoptile straight-growth test.

The results obtained are summarized as follows;

1. In the untreated seeds, the zone of growth inhibitors on paper chromatograph were observed without regard to the tissue differences, embryo, endosperm and seedcoat.
2. Due to stratification, the amount of inhibitor has decreased in the embryo and seed coat, but growth promoters was decreased as compared with the check materials
3. The indications of results appear that each portion of the embryo, endosperm, and seedcoats of *Ginkgo biloba* L. contains the growth inhibitor taking part in germination dormancy.
4. It was presumed that hastening germination was influenced by decreasing of inhibitors in the embryo and seed coats rather than by increasing of promoters.
5. Gibberellin was detected at Rf 0.26 under the UV-lamp and the abscisic acid was detected at Rf 0.62, Rf 0.70, and Rf 0.78 and showed purple, gray, blue fluorescence respectively under the UV-lamp.

休眠期間이 긴 은행나무 種子의 冷濕積處理에 따른 生長促進物質과 生長抑制物質의 增減을 究明하기 위하여 本 研究을 遂行하고 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 無處理種子는 胚, 胚乳, 種皮의 各抽出物에서 生長抑制物質을 볼 수 있었으며, 特히 種皮에서 가장 顯著하게 나타났다.
2. 冷濕積處理種子의 胚와 種皮에서 生長抑制物質의 顯著한 減少가 있었으나, 生長促進物質은 胚部分에서 增加가 약간 나타났다.
3. 以上の 結果에서 은행나무 種子의 休眠에는 種皮, 胚, 胚乳의 各部分이 生長抑制物質이 存在하며 發芽에 關係하는 것으로 推測된다.
4. 은행나무 種子와 發芽促進과의 關係는 生長促進物質의 增加보다는, 胚와 種皮의 生長抑制物質의 減少에 影響된다고 推測된다.

*¹ Received for publication in June 4, 1978.

*² 서울대학교 農科大學 College of Agriculture, Seoul National University.

5. 生長促進物質인 Gibberellin은 紫外線螢光檢査燈檢定에서 Rf 0.26, 에서 나타났고, 生長抑制物質인 Abscisic acid는 Rf 0.62, Rf 0.70, Rf 0.78에서 各各 purple, gray, blue의 螢光色으로 나타났다.

緒 論

一般的으로 林木種子는 農作物種子와는 달리 休眠性 種子在 大部分으로, 이러한 休眠性種자를 그대로 養苗 施業을 할 때는 發芽에 긴 時間을 要하게 되어, 施業 効率が 依下하게 된다.

지금까지 이러한 休眠原因에 對해서는 많이 研究되어 왔는데 冷濕積으로서 種子內에 生化學的 變化가 惹起되어 發芽가 促進된다는 研究結果가 많고 이곳 은형 種자가 冷濕積處理에 해당하는 露天埋藏으로 發芽가 더 잘 된다는 것은 經驗으로서 또 試驗을 통해서 周知되어 있다.

本研究는 未熟胚(rudimentary embryo)의 현상을 가지고 있는 은형(*Ginkgo biloba* L.)種자를 冷濕積 處理에 따른 發芽에 관계하는 生長調整物質의 變化를 調査하여 報告하는 것이다.

研 究 史

植物의 各 組織과 器官의 生長과 分化에 영향을 주는 植物生長호르몬(plant growth hormone)은 크게 나누어 生長促進호르몬과 生長抑制호르몬으로 나눌 수 있는데 이곳 研究史에서는 研究對象이 되었던 生長促進호르몬인 Gibberellin과 生長抑制호르몬인 Abscisic acid로 나누어 살펴 보기로 한다.

Gibberellin은 Kurosawa(1926)가 Fungus의 一種인 *Gibberella fujikuroi*에 감염된 벼의 줄기, 잎의 生長이 비정상적으로 促進되는 질병을 研究하던중 發見하였고 그후 Yabuta와 Simiki(1938)가 結晶體로 분리하여 gibberellin A라 命名하였고, Brian(1955)이 gibberellic acid(GA)를 分離하였다.

Murakami,³¹⁾(1959)는 *Robinia pseudoacacia*, *Wisteria floribunda*, *Maackia amurensis*等 콩科植物 15種의 未成熟種子에서 GA와 auxin을 分離하였고, Hayashi¹⁷⁾(1962)는 potato tuber에서 GA를 分離하였고, Ogawa³⁶⁾(1965)는 *Prunus perosica*種子에서 開花한지 50日後에 GA₃가 最高濃度로 증가된다고 하였다.

또한 Krugman²²⁾(1967)은 *Pinus jeffreyi*, *Pinus ponderosa*, *Pinus lambertiara*는 種자가 成熟되어 가고, embryo가 發達되어감에 따라 GA濃度가 증가된다고 報告하였고, Banerjee¹⁾(1968)은 은형의 gametophytic cell

이 분열할 때 GA와 Cytokinin濃度가 가장 높아진다고 하였고, Murakami³²⁾(1968)는 벼, 나팔꽃의 뿌리에서, 고구마의 괴경에서, Bhalla⁴⁾(1970)는 watermelon(*Citrullus lanatus*)의 fruit에서 GA를 分離하였다.

Murakami³³⁾(1970)는 植物 75種에 對하여 GA₁, GA₃를 抽出하여, UV-lamp로 檢査하여 Rf 0.22에 fluorescent spots가 나타났다고 報告하였으며, Dunberg¹¹⁾(1974)는 *Picea abies* (L.) Karst 實生苗에서, Gibberellic acid, GA₁를 分離하였다.

또한 Mathur等²⁸⁾(1971)은 peach seed를 露天埋藏한 後에 GA₃와 GA₇의 濃度가 處理前보다 증가한다고 하였고, Lin等²⁵⁾(1972)은 *Prunus domestica* 種子에서 露天埋藏한지 90日後 Gibberellin-like物質이 증가되고, Abscisic acid(ABA)가 減少되어 發芽가 시작된다고 하였고 處理하지 않은 種자는 發芽가 되지 않는다고 報告하였다.

Abscisic acid(ABA)에 對한 것은 다음과 같다.

Hemberg¹⁸⁾(1949)가 potato tuber(*Solanum tuberosum*)의 芽에 inhibitor가 存在하며 休眠에 관여하여, 植物生長 hormone의 역할을 할 것이라고 假說을 세운후, Bennett와 Bonner³⁾(1953)가 tomato幼苗에서 inhibitor의 複合體를 分離하였고, Bennett-Clark와 Kefford²⁾(1953)가 植物生長抑制 hormone을 β -inhibitor complex라고 命名하였고, Phillips와 Wareing³⁸⁾(1958)은 *Acer pseudoplatanus*의 幼苗에서 β -inhibitor complex를 分離하였고, Eagles와 Warenig¹²⁾(1963)은 *Betula pubescens* 種子에서 抑制物質을 分離하여 dormin이라고, 命名하였고, Addicott³⁷⁾(1963)등이 어린 목화(의 열매와 잎의 分離를 일으키는 物質이 Abscisin II임을 發見하였다.

또한 Conforth⁸⁾(1965)등은 비즘나무에서 분리한 dormin을 Abscisin II라고 命名하였으며, 이와같은 dormin과 Abscisin II는 現在에는 Abscisic acid(ABA)라 부른다.

Walker⁴⁷⁾(1957)는 peach buds에서 growth inhibitor를 分離하였고, Shibaoka⁴⁴⁾(1957)는 Helianthus에서 growth inhibitor를 分離하여, UV-lamp 檢定結果 blue의 螢光色이 나타났다고 하였고, Robinson⁴⁰⁾(1963)은 *Acer pseudoplatanus*의 苗木에서 광주기가 짧아지면 inhibitor의 生産量이 증가되어 dormancy를 일으킨다고 하였고, Rf 0.6~0.8에서 inhibitor를 發見하여 다른 研究者들의 inhibitor β 와 同一하다고 報告하였으며, Ryugo⁴¹⁾(1969)는 Prunus속의 endocarp에서 發芽를 저

해하는 Abscisic acid를 分離하였고, Ramsay³⁰⁾(1970)는 apricot bud에서 展開溶媒를 여러가지로 使用하여, 展開溶媒別 ABA의 Rf值를 추적하였다.

Jenkins等²⁰⁾(1972)은 *Pinus radiata*의 幼莖에서 ABA를 分離하였고, Shibakusa^{42,43)}(1972, 1973)은 *Abies sachalinensis* 일에서 ABA와 休眠期와의 關係를 報告하였고, Feucht等¹³⁾(1974)은 *Prunus avium* shoot에서 각각 ABA를 분리하였으며, Hatano等¹⁶⁾(1974)은 *Sciadopitys verticillata*種子에서 ABA를 분리하여, UV-lamp로 檢査하여 Rf 0.62에서 greenish yellow, Rf 0.70에서 yellow의 螢光色이 검출되었다고 報告하였다.

Lipe等²⁶⁾(1966)은 peach seed의 研究를 통해 露天埋藏以後 6주가 지나면, 種皮의 ABA가 減少되어 發芽가 시작된다고 하였으며, Kim²¹⁾(1966)은 잣나무種子에서 inhibitor는 胚, 胚乳, 種皮에서 存在하나, 種皮部分에서 가장 현저하였으며, 種皮部分의 發芽抑制物質이 減少되고, 胚 및 胚乳部分의 生長促進物質이 生成되어, 發芽促進作用이 生長抑制作用을 이겼을 때 發芽過程에 들어간다고 하였다.

Sondheimer⁴⁵⁾(1968)等은 *Fraxinus americana*는 seedcoat와 pericarp에 ABA가 있으나, seed의 ABA가 發芽에 관여하며, ABA는 露天埋藏이 끝나면 減少되어 發芽로 들어간다고 하였고, Martin等²⁷⁾(1969)은 *Juglans regia*의 kernel에 들어있는 ABA는 露天埋藏시작한지 8주후에 減少된다고 하였으며, Webb等⁴⁰⁾(1972)은 *Acer pseudoplatanus* seed에서 Rf 0.6~0.8과 Rf 0.9에서 ABA를 분리하였고, 露天埋藏後 ABA濃도가 減少된다고 報告하였다.

Diaz等¹⁰⁾(1972)은 peach seed에서 inhibitor가 ABA임을 闡명하고, 露天埋藏 12주後에 inhibitor가 減少되어 發芽率이 현저히 증가된다고 하였고, 魏等⁵¹⁾(1975)은 宋木種子를 濕層處理하면 種子內 胚肉에 있어서 生長促進物質은 增加하고, 生長抑制物質은 減少하여 發芽를 促進한다고 하였고, 種皮에 있어서는 生長促進物質의 變化는 거의 없고 生長抑制物質의 量이 減少되어 發芽가 促進되었다고 報告하였다.

以上 列擧한 研究內容을 綜合檢討할 때 休眠性種子를 一定期間 露天埋藏을 하고 나면, GA 量이 增加되고, ABA의 量이 減少되어 發芽가 促進되거나, 또는 gibberellin量의 增加, 또는 inhibitor量의 減少로 發芽가 促進되며, 特히 種皮와 發芽관계는 促進物質보다 抑制物質의 消失에 影響됨이 크고, 胚 및 胚乳는 生長促進物質의 增加로 發芽가 促進된다는 事實을 파악할 수가 있다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

本 實驗에서 使用된 은행나무(*Ginkgo biloba* L.)種子是 京畿道 龍仁郡 慕賢面 陵原里所在 慕賢國民學校 校庭에 植栽된 樹令 30年, 胸高直徑 25cm, 樹高 18m인 樹木에서 1976年 10月 17日에 採種하여, 10月 29日에 果肉을 除去한 다음, 11月 1日까지 陰乾하였던 것을 水原市 西屯洞 서울大學校 農科大學 苗圃場에 露天埋藏하였다가 1977年 3月 31日에 꺼내어, 冷藏庫에서 $-15^{\circ}\sim-18^{\circ}\text{C}$ 로 미리 24時間 保管後 成分分析을 實施하였다.

한편 對照를 위하여, 1976年 10月 17日에 같이 採種하여 果肉을 除去한 後, 陰乾하여, 1977年 3月 31日까지 室內貯藏하였다가 別途로 分析하였다.

그리고 供試材料는 部位別로 다음과 같이 細分하였다. 生長調整物質의 抽出에서는 ① 種皮 ② 胚 ③ 胚乳로 나누었으며, gibberellin-like物質과 生長抑制物質의 抽出에서는 種子를 部位別로 細分하지 않고, 그대로 使用하였다.

2. 實驗方法

가. 實驗 I. 生長調整物質의 抽出과 分離.

(1) 生長調整物質의 抽出.

은행種子內의 生長調整物質은 Ogawa²⁶⁾方法에 依하여 抽出하였다. 즉 處理가 끝난 種子를 즉시 $-15^{\circ}\sim-18^{\circ}\text{C}$ 의 冷藏庫에 24時間 冷凍시킨 후 種子를 種皮, 胚, 胚乳의 部位別로 나누어 試料 20g을 取하여 迅速히 磨碎하여 各部位別로 80% ethanol 100ml로 24時間씩 3회에 걸쳐 72時間동안 抽出後 濾過하였다.

이 ethanol抽出液을 眞空回轉蒸溜器로 35°C 以下에서 濃縮한 후 2ml의 無水 ethanol에 溶解하여, paper chromatography에 올릴때까지 冷藏庫에 保管하였다.

(2) 生長調整物質의 paper chromatography에 依한 分離.

生長調整物質의 分離를 위하여 paper chromatography의 一次上昇展開法을 使用하였다. 濾紙는 Whatman No. 1을 $2\times 29\text{cm}$ 로 使用하였고, 冷藏庫에 保管中이던 抽出液 100入(1cc=1000入)을 下端 3cm되는 原點에서 올렸다.

原點에서 20cm까지 展開를 하였고, 展開室로는 250 ml 硝子 Cylinder를 使用하였고, 飽和時間은 5時間, 展開所要時間은 6~11時間이었으며, 25°C 로 暗黑下에 두

있다. 20cm까지展開시킨濾紙는乾燥後使用하였고, 展開溶媒는 Isopropanol:28% ammonia: water(40:5:5v/v)를使用하였다.

(3) 生長調整物質의 生物檢定.

Paper chromatography에依하여分離된生長調整物質의特性을 rice seedling test에依하여生物檢定을實施하였다. 벼種子는 早生統一(Early Tongil: Suweon 213-E417-B-1)을使用하였다.

充實한 벼種자를 골라 30°C, 85%濕度, 100W의 백열등 아래서 定溫器속에서發芽를시켰다. 64時間後 벼의 葉鞘가 2mm정도 자랐을 때 伸長試驗에使用하였다.

展開乾燥한 chromatogram을 Rf별로 10等分하여, 各切片을 Rf值에 따라 2% Sucrose 2ml가 들어 있는 vial (직경 2.5cm, 높이 4cm)에 넣어 10時間동안 放置하여分離된物質이 溶出되게 하였다.

벼의 子葉鞘길이를 最小單位 1/20mm인 verniercaliper로 測定한후, vial에 여지(No. 6)을 깔고 rice seedling을 每 vial當 10개를 넣고, 30°C, 100W의 백열등下的 定溫器內에서 72時間동안 放置後, 子葉鞘伸長量을 1/20mm까지 測定하여, control을 100으로 하고, 促進部分과 抑制된部分의 百分率을 내어 histogram을 作成하였다.

對照區로서는 抽出物質이 感染되지 않은部分인 chromatogram上的 spot原點以下の濾紙切片 2cm을使用하였다.

生物檢定試驗은 3回反復하여 그結果中에서 異常 異常值(過大值와 過小值)를 버리고 平均하여 本實驗의結果로 使用하였다.

나. 實驗 II. Gibberellin-like substances의 抽出과 分離.

(1) Gibberellin-like substances 의 抽出

本實驗은 Ramsay³⁹⁾方法에依하여 抽出하였다. -15°C~-18°C의 冷藏庫에 保管中이던 種子 20g을 取하여 mortar로 迅速히 磨碎하여 80%로 methanol 200ml 24時間씩, 3회에 걸쳐 72時間동안 抽出後 濾過하였다.

그뒤 methanol 抽出液을 (1) 眞空回轉蒸溜器로 35°C以下에서 濃縮하여 남은 水分層을 -20°C에서 24時間동안 放置한 후, 1N H₂SO₄로 P.H. 3.0으로 調節한후 (2) ethyl acetate 一倍量으로 4回 抽出한 후 ether層과 水溶液層으로 分離하고, (3) ethyl acetate層만을 5% NaHCO₃ 一倍量으로 4回抽出하여 中性 ethylacetate層과 알칼티 ethyl acetate層으로 分離하여 (4) ethyl acetate層을 1N H₂SO₄로 P.H. 3.0으로 調節하여 diethyl ether 一倍量으로 4회에 걸쳐 抽出하여 (5) Ether層과

水溶液層을 分離하여 n-butanol 水溶液層을 一倍量으로 4回 抽出하여 (6) n-butanol層과 水溶液層을 分離하여 n-butanol 抽出液을 40°C以下에서 眞空回轉蒸溜器로 濃縮하여 (7) 2ml의 無水 methanol에 溶解하여 paper chromatography에 올릴때까지 冷藏庫에 保管하였다.

(2) Gibberellin-like substances의 paper chromatography에 의한 分離.

分離方法은 生長調整物質의 paper chromatography에 의한 分離方法과 동일하게 하였고, 展開溶媒는 3가지를 使用했다.

(가) Isopropanol: 28% ammonia: water(40:5:5v/v)

(나) n-Butanol: 28% ammonia:water(33:8:8v/v)

(다) n-Butanol: acetic acid: water(29:7:14v/v)

(3) Gibberellin-like substances의 檢定.

呈色反應을 보기 위하여 TLC法을 行하였다. TLC法은 Stahl⁴⁶⁾의 方法에依하여 silica gel G를 입힌 carrier plate를 上方으로 一次 展開하였으며, sandwich式 chamber를 使用하였다. 飽和時間은 2時間으로 하고, 展開所要時間은 2-4時間이었으며, 25°C 暗黑下에 두었다.

展開溶媒는 benzene: acetic acid: water(8:3:5v/v)로 使用하였고, 物質의 檢定은 展開가 끝난 plate를 乾燥시킨후 ethanol: conc. sulphuric acid(95:5 v/v)를 분무하여 주고, 110°C에서 5分間 가열시킨 다음, 紫外線螢光檢査燈(2537Å)으로 實施하였다. 대조로서 gibberellin을 使用하였다.

(4) Gibberellin-like substance의 生物檢定

Paper chromatography에依하여分離된物質의特性을 前述한 生長調整物質의 生物檢定과 같이 rice seedling test 方法으로 實施하였다.

다. 實驗 III. Growth inhibitor substances의 抽出과 分離.

(1) 本實驗은 Cornforth³⁹⁾方法에依하여 抽出하였다 -15°C~-18°C로 保管中이던 種자를 500gram 取하여 迅速히 磨碎하여 80% methanol 1l로 室溫에서 24時間동안 抽出, 濾過한후, methanol 抽出液을 35°C以下에서 濃縮 약 180ml정도 남은 水分層을 1N-HCl로 P.H. 3.5로 調節하고 diethyl ether 100ml로 4번 抽出하여 水溶液層과 ether層으로 分離한 후, ether層을 2% NaHCO₃ 75ml로 4回 抽出하여 bicarbonate層과 ether層으로 分離하여, ether層을 濃縮하여 남은 gum상태의 物質을 0.25N Na OH 100ml에 녹여, 40%lead acetate용액을 600ml가량으로 침전지 없어질 때까지 處理, 濾過한 후 1N HCl로 P.H. 3.5로 調節한후 diethyl ether 100ml로 4回 抽出한 후 濃縮, 80% methanol 5ml에 溶解한

후 冷蔵庫에 保管하였다.

(2) Growth inhibitor substances paper chromatography에 의한 分離.

分離方法은 生長調整物質의 paper chromatography에 의한 分離方法과 同一하게 하였다.

展開溶媒는 5가지를 使用하였다.

- (가) Isopropanol: water(80 : 20v/v)
- (나) Benzene: acetic acid: water(8 : 3 : 5v/v)
- (다) Ethanol: water: 28% ammonia(4 : 5 : 1v/v)
- (라) n-Butanol: 28% ammonia(500 : 1v/v)
- (마) n-Butanol: acetic acid: water(4 : 4 : 1v/v)

(3) Growth inhibitor substances의 分離

Growth inhibitor substances를 抽出하기 위하여 調製한 抽出液에 對하여 paper chromatography方法과 rice seedling test를 實施한바 Rf 0.5~0.8에서 뚜렷한 生長抑制效果가 나타나 이를 分離하기 위해 Rf 0.5~0.8의 抑制物質을 多量分離하고 다시 80% methanol에 依하여 溶出, 濃縮하여 TLC法에 依하여 展開하였고, TLC法은 Gibberellin-like substances의 檢定과 同一하게 行하였다.

展開溶媒는 n-propanol: n-butanol: 28% ammonia: water(6 : 2 : 1 : 2 v/v)로 使用하였고, 物質의 檢定은 展開가 끝난 plate를 乾燥한후, ethanol: sulphuric acid(95 : 5v/v)를 분무하고, 120°C에서 10分間 가열시킨 다음, 紫外線螢光檢査燈(2537Å)으로 檢定을 하였다.

(4) Growth inhibitor의 生物檢定

Paper chromatography에 의하여 分離된 物質의 生物學의 特性을 調查하기 위해 wheat coleoptile straight-growth test를 Nitsch³⁵⁾方法에 依하여 實施하였고, 品種으로 長光을 使用하였다.

充實한 밀種子를 골라, usplun 0.1%溶液으로 消毒한 후, 室溫에서 2時間동안 물에 浸漬한 후, petri dish內에 播種, 25°C의 暗所에서 發芽를 시켰다. coleoptile 길이 가 약 3cm가 될때까지 生長시킨 후, 生長點部分의 끝 3mm를 除去한 후, 그 直下部 3mm를 잘라내어 試料로 하였다. 또한 展開乾燥된 chromatogram의 Rf值別 切片에 따라 sucrose 2% 水溶液 2ml씩 들어있는 vial에 각각 넣어 分離된 物質이 溶出되게 하였다.

잘라낸 3mm크기의 切片을 各 vial당 10개씩 넣어 25°C의 暗所에서 20時間동안 生長시킨 다음, coleoptile 길이를 測定하였다.

한편 對照區 抽出物質이 感染되지 않은 部分인 chromatogram上的 spotting line 밑部分을 使用하였고, chromatogram의 展開 및 生物檢定은 5反復을 實施하여 그 結果中에서 심한 異常值를 버리고 平均하여 本

實驗의 結果로 使用하였다.

結 果

種子 各部位別로 區分한 試料를 1977年 4月 6日~ 6月 20日 사이에 抽出, paper chromatography에 依한 分離, 生長物質의 檢定, 그리고 生物檢定을 한 結果는 다음과 같다.

1. 實驗 I. 生長調整物質의 變化

胚, 胚乳, 種皮에서 抽出한 生長調整物質의 露天埋藏에 따른 變化를 調查하기 위하여 rice seedling test를 한 結果는 다음과 같다.

Fig. 1(A, B)에서 나타나듯이, 胚抽出物은 Rf 0.3~0.7 사이에 生長抑制帶가 나타났으며, 뚜렷한 生長促進帶는 볼 수 없었다. 또한 無處理種子胚(A도)에서는 Rf 0.3~0.7사이에서 強力한 生長抑制帶가 나타났고, 處理種子胚(B도)에서는 이 生長抑制帶가 현저하게 減少되었고, 生長促進帶는 無處理種子胚에서는 뚜렷하게 보

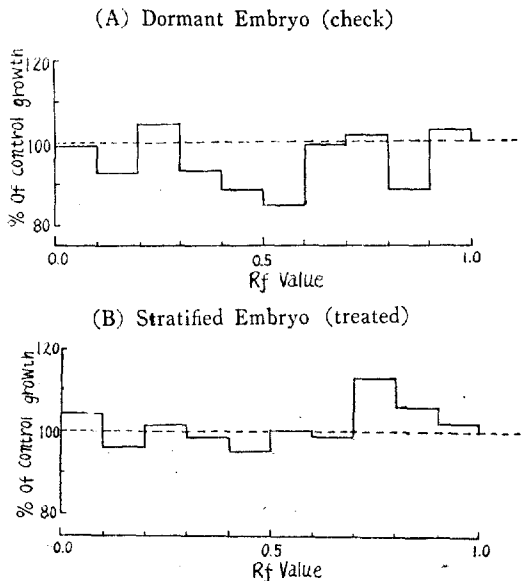


Fig. 1. Histogram of plant growth regulator in dormant(A) and stratified embryo(B) of Ginkgo seeds determined by rice seedling test.

이지 않으나, 處理種子胚에서는 Rf 0.7~0.8에서 增加되어 나타났다. 特히 Rf 0.8~0.9區間에 있어서 無處理와 處理胚間의 抑制와 促進이 크게 對照의으로 나타나 있는 것을 지적할 수 있고, Rf 0.1~0.2間에 있어서는 抑制帶로서의 성격이 그대로 남아있다.

Fig. 2는 胚乳抽出生長調整物質의 變化이다. 無處理

와 處理에 相關할 것 없이 Rf 0.7까지는 恒常 抑制의 效果를 나타내고 있고, Rf 0.7以上이 되면 갑작스럽게 促進帶로 變하고 있음을 지적할 수 있다. 그중 Rf 0.4~0.6間은 特히 심한 抑制이 보이고 있다. 그리고 處理의 效果가 生物檢定으로써는 거의 確認될

수 없는 것이 胚乳抽出物의 경우라 할 수 있다. 따라서 胚乳는 은행나무 種子發芽에 處理의 效果없이 抑制의 役割을 하는 것으로 나타나고 있다.

Fig. 3. 은행皮抽出物의 生物檢定反應의 變化인 대체로 Rf 0.3~0.9사이에서 걸쳐 넓은 領域에서 현저한 生長抑制帶를 볼 수 있으며, 無處理의 경우 Rf 0.9~1.0間을 除外하고서는 促進帶는 거의 볼 수가 없었다. 種子가 處理되면 生長抑制帶가 대체로 그대로 남아 있게 되는 傾向에는 差異가 없으나, 抑制效果의 強度가 크게 줄어들고 있는 것을 지적할 수 있다. 특히 Rf 0.0~0.1의 領域에 있어서는 抑制의 效果가 種子處理으로써 促進의 效果帶로 바뀌고 있는 것을 말할 수 있다

2. 實驗 II. Gibberellin-like Substances의 分離

은행 種子에서 抽出한 Gibberellin-like Substances의 分離를 위하여 rice seedling test와 TLC에 依하여 分離 檢定하였다.

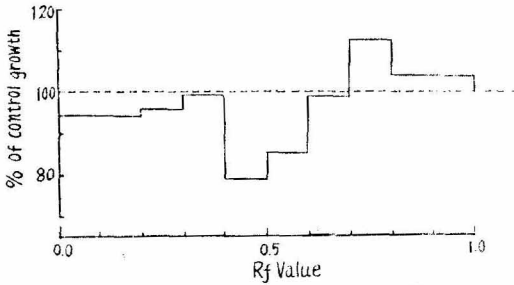
(가) Gibberellin-like Substance의 檢定

은행 種子에서 抽出한 液을 TLC에 올려 紫外線螢光 檢査燈을 使用하여 檢定하였으며, 이때 2537Å의 파장을 使用하였다. Fig. 7에서 보이듯이 抽出液은 Rf 0.26에서 아주 희미하게 褐色反應을 보였고, 대조로 展開시킨 GA는 Rf 0.28~0.30에서 fluorescent spots를 보였다.

(나) Gibberellin-like Substance의 生物檢定

Paper chromatography의 展開溶媒로서 3가지를 使用하였고, 各 展開紙에 나타난 生物檢定の 結果는 다음과 같다 Fig.4는 展開溶媒 isopropanol:28% ammonia:water(8:1:1 V/V)에 대한 것인데 Rf 0.0~0.3, Rf 0.6~0.7 Rf 0.9~1.0에서 促進帶를 보이고, Rf 0.3~0.6間의 抑制가 잘 인정된다. Fig.5는 展開溶媒 n-butanol:28% ammonia:water(4:1:1 V/V)에 대한 것인데 Rf 0.3~0.4, Rf 0.6~0.8에서 促進帶를 보이고, Rf 0.5~0.6사이에서 있어서는 Fig. 4와 동일하게 연결히 抑

(A) Dormant Endosperm (check)



(B) Stratified Endosperm (treated)

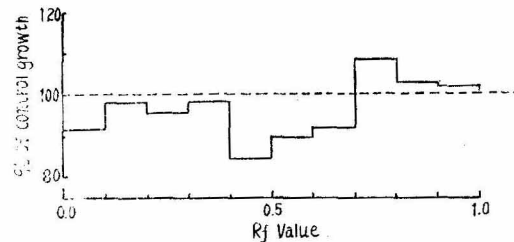
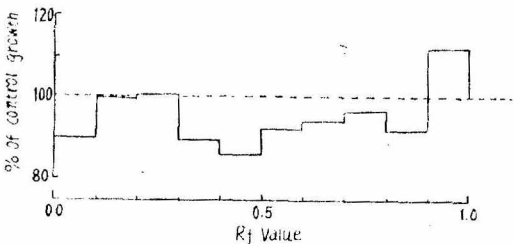


Fig. 2. Histogram of plant growth regulator in dormant (A) and stratified endosperm (B) of Ginkgo seeds determined by rice seedling test.

(A) Dormant Seed Coat (check)



(B) Stratified Seed Coat (treated)

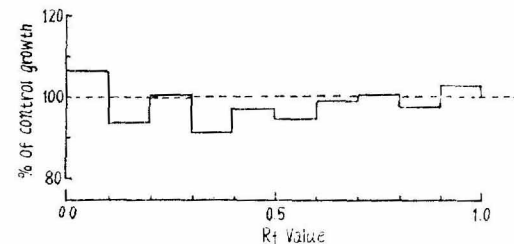
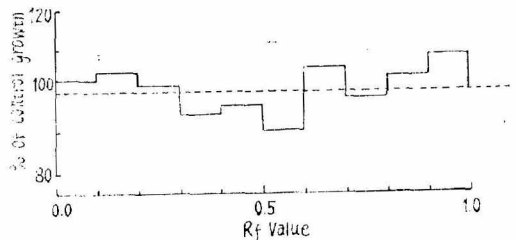
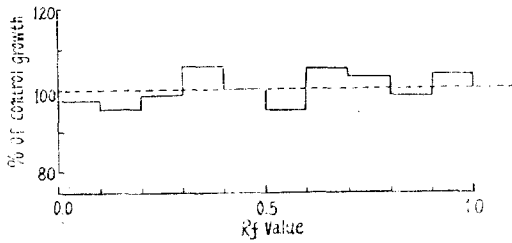


Fig. 3. Histogram of plant growth regulator in dormant (A) and stratified seed coat (B) of Ginkgo seeds determined by rice seedling test.



Isopropanol:28% ammonia:water (8:1:1V/V)
Fig. 4. Histogram of gibberellin-like substances of Ginkgo seeds by rice seedling test.

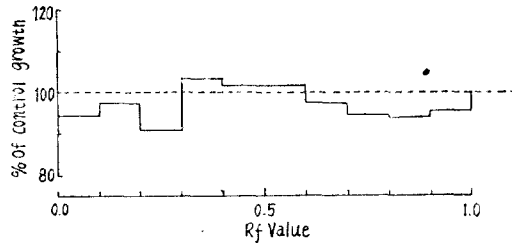


n-Butanol:28% ammonia:water(4:1:1 V/V)

Fig. 5. Histogram of gibberellin-like substances of Ginkgo seeds by rice seedling test.

制帶의 성격을 固定하고 있다.

Fig. 6은 展開溶媒 n-butanol:acetic acid:water(4:1:2 V/V)에 대한 것인데, Rf 0.3~0.6에서 促進帶가 나타나고 있고, Rf 0.0~0.3의 抑制效果는 Rf 0.6~1.0의 領域에 對한 그것보다 더 強하게 나타나고 있다.



n-Butanol:acetic acid:water (4:1:2 V/V)

Fig. 6. Histogram of Gibberellin-like substances of Ginkgo seeds by rice seedling test.

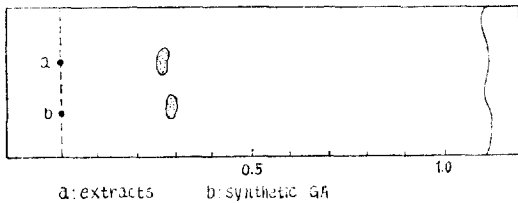


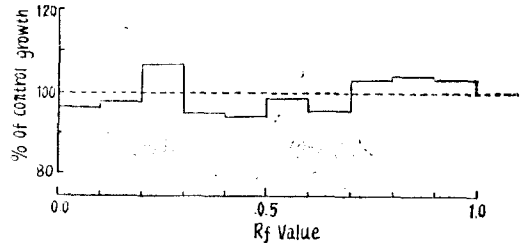
Fig. 7. Gibberellin-like substances zone in Ginkgo seeds seperated by Thin-layer Chromatography

3. 實驗 III. Growth inhibitor Substances의 分離

은행 種子에서 抽出한 growth inhibitor substances 抑制 또는 生物反應을 보기 위하여 wheat coleoptile straight-growth test를 實施한 結果는 다음과 같다.

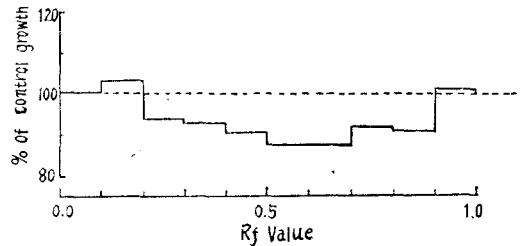
(가) Growth inhibitor Substances의 檢定

은행 種子에서 抽出한 液을 paper chromatography로 分離하고 이에 대한 生物 檢定의 結果를 보면 Rf 0.5~0.8에서 強한 抑制效果를 나타내고 있어서 이 部分 만을 chromatogram에서 溶出하여, 濃縮하여 TLC에 올려 UV-fluo.를 使用하여 檢定하였으며, 2537Å의 파



Isopropanol:water (80:20V/V)

Fig. 8. Histogram of growth inhibitor substances of Ginkgo seeds by wheat coleoptile test.



Benzene:acetic acid:water (8:3:5V/V)

Fig. 9. Histogram of growth inhibitor substances of Ginkgo seeds by wheat coleoptile test.

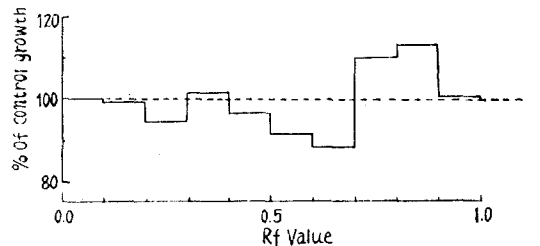
장을 使用한 結果 Fig.13에에서 나타나듯이 Rf 0.62, Rf 0.70, Rf 0.78에서 세가지 spot를 관찰할 수 있었 고, 螢光色은 各各 purple, gray,blue였다.

(나) Growth inhibitor Substances의 生物檢定

Growth inhibitor Substance의 抽出物을 paper chromatography에 올려서, 展開溶媒 5種類로 나타난 生物檢定結果는 다음과 같다.

Fig. 8은 展開溶媒를 isopropanol water(80:20%)로 使用한 것으로 Rf 0.0~0.2, Rf 0.3~0.7에서 生長抑制帶 가 보이고 있다.

Fig.9는 展開溶媒를 benzene:acetic acid:water(8:3:5 V/V)로 使用한 것으로 Rf 0.2~0.9에서 生長抑制帶 를 보이고 있고, 特히 Rf 0.5~0.7에서 현저하게 生長

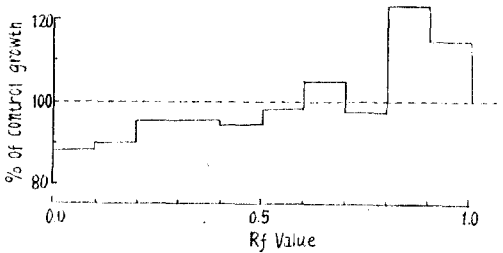


Ethanol:water:28% ammonia (4:5:1 V/V)

Fig. 10. Histogram of growth inhibitor substances of Ginkgo seeds by wheat coleoptile test.

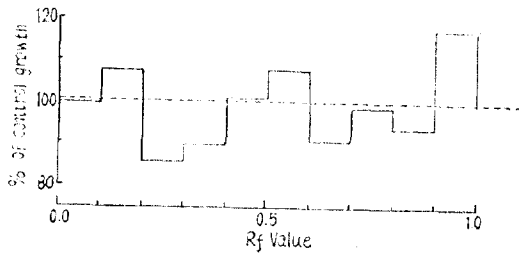
抑制帶를 보이고 있다.

Fig. 10은 展開溶媒를 ethanol:water:28% ammonia (4:5:1 V/V)로 使用한 것으로, Rf 0.2~0.3, Rf 0.4~0.7에서 生長抑制帶를 보이고 있고, 特히 Rf 0.6~0.7에서 顯저한 生長抑制帶를 보이고 있다.



n-Butanol:28% ammonia (500:1 V/V)

Fig. 11. Histogram of growth inhibitor substances of Ginkgo seeds by wheat coleoptile test.



n-Butanol:acetic acid:water (4:4:1 V/V)

Fig. 12. Histogram of growth inhibitor substance of Ginkgo seeds by wheat coleoptile test.

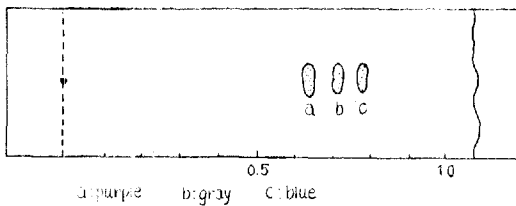


Fig. 13. Growth inhibitor zone in Ginkgo seeds separated by thin-layer chromatography

Fig.11은 抽出溶媒를 n-butanol:28% ammonia(500:1 V/V)로 使用한 것으로 Rf 0.0~0.6, Rf 0.7~0.8에서 生長抑制帶를 보이고 있고, 特히 Rf 0.0~0.2에서 顯저한 生長抑制帶를 보이고 있다.

Fig. 12는 抽出溶媒를 n-butanol:acetic acid:water (4:4:1 V/V)로 使用한 것으로 Rf 0.2~0.4, Rf 0.6~0.9에서 生長抑制帶를 볼 수 있었고, 特히 Rf 0.2~0.4에서 顯저한 生長抑制帶를 보이고 있다.

考 察

1. 生長促進物質과 生長抑制物質.

Eagles等¹²⁾은 低溫處理한 자작나무種子에서 促進物質의 含量은 一定하였으나, 抑制物質이 減少되었다고 하였고 Lipe와 Crane²⁹⁾은 Lovell peach種子에 關한 實驗結果에서 露天埋藏以後 6주가 지나면, 種皮의 ABA가 減少되어 發芽가 시작된다고 하였다.

Kim²³⁾은 자작나무 種子의 露天埋藏에 對한 研究結果에서 發芽抑制物質은 種皮가 顯저하며, 發芽와의 關係는 種皮部分의 發芽抑制物質의 減少와 胚 및 胚乳部分의 生長促進物質의 生成으로 發芽過程에 들어 간다고 하였다.

魏等⁵¹⁾은 朱木種子를 濕層處理하면 種子內·胚乳에 있어서 生長促進物質은 增加되고, 生長抑制物質은 減少되고 種皮에서는 抑制物質의 消失과 發芽와 關係가 있다고 報告하였다.

本 實驗에서는 胚部分에서는 冷濕積후에 Rf 0.7~0.8 사이에 生長促進物質이 약간 增加되었고, Rf 0.3~0.7 사이의 生長抑制物質이 급격히 減少되었고, 胚乳部分에서는 處理後에 生長促進物質의 增加는 없었고, 生長抑制物質이 Rf 0.4~0.7사이에서 약간 減少되었고, 種皮部分에서는 生長促進物質의 增加는 없었고 生長抑制物質은 Rf 0.3~0.9에서 顯저하게 減少되었다.

이상으로 보아 은행種子에서는 胚部分에서만 生長促進物質의 增加가 있었을 뿐, 胚乳나 種皮에서는 없었고 生長抑制物質의 消失이 胚와 種皮에서 完연히 나타났고 胚乳部分에서는 약간 減少되었다.

이러한 現象을 發芽와의 關係를 살펴보면 은행種子는 冷濕積이 끝난 후 種皮와 胚의 生長抑制物質 減少로 發芽過程으로 들어 간다고 推測할 수 있고, 또한 生長促進物質의 增減과 發芽와의 關係를 볼 수가 있다.

이는 前述한 Eagles等¹²⁾ Kim²¹⁾, 魏等⁵¹⁾의 實驗結果와 一致하였고, Lipe等²⁶⁾은 Peach seed에서, Sondheimer⁴⁵⁾ 등은 *Fraxinus americana*種子에서, Martin等²⁷⁾은 *Juglans regia*의 Kernel에서, webb等⁴⁰⁾은 *Acer pseudoplatanus*種子에서, Pia^z等¹⁰⁾은 peach seed에서 露天埋藏이 끝난 후 ABA濃도가 減少되어 休眠이 打破되어 發芽가 促進된다고 發表한 實驗結果는 本 實驗結果와 一致하였다.

2. Gibberellin-like substances의 分析

展開溶媒를 3種類를 使用하였던바 histogram上에 나타난 이 物質의 量을 보면 미량이 은행種子에 存在한

다고 생각할 수 있는데, 이것은 앞에서도 밝혔듯이 은행種子是 露天埋藏이 끝나더라도 GA가 거의 增加되지 않았다고 볼 수 있고, GA는 주로 Rf 0.0~0.4, Rf에 0.5~0.8서 나타났다.

Murakami³¹⁾는 *Robinia pseudoacacia*, *Wisteria floribunda*, *Maackia amurensis* 등의 未成熟種子에서 Rf 0.1~0.2, Rf 0.7~0.8에서 GA를 分離하였고, Ogawa³⁶⁾는 *Prunus persica*種子에서 Rf 0.46~0.53에서 分離하였고, Banerjee¹⁾는 *Ginkgo biloba*의 gametophytic cell의 분열時에 Rf 0.1~0.2에서 GA를 分離하였고 Bhall⁴⁾는 *Citrullus lanatus*의 fruits에서 Rf 0.0~0.4사이에서 GA를 抽出하였는데, 이런 實驗結果는 本 實驗結果와 一致하였다.

UV-fluorescence 로 生長促進物質을 檢定하였던바 Rf 0.26에서 fluorescent spot가, 대조 GA도 Rf 0.28~0.30에서 나타난 것으로 보아 이것은 GA라고 볼 수 있겠고, Murakami³¹⁾의 被子植物의 抽出物 UV-fluorescence 로 檢定하였던바 Rf 0.22에서 spot가 나타났다고 한 것을 미루어 보아, 本 實驗과 一致한다고 볼 수 있겠다.

3. Growth inhibitor substance의 分離

展開溶媒를 5種類로 使用하였고, histogram上에 나타난 inhibitor 物質量을 보면 GA보다 훨씬 많이 나타나는 것으로 보아 前述한 바와 같이 inhibitor가 은행種子の 發芽와 關係가 깊다고 볼 수 있겠다.

Bennet-Clark²⁾이 Rf 0.7에서 β -inhibitor를 抽出한以後 Shibaoka⁴⁴⁾은 *Helianthus*잎에서 Rf 0.60~0.72, Rf 0.74~0.83, Rf 0.88~0.94사이에서 ABA를 分離하였고, Walker⁴⁷⁾은 peach buds에서 Rf 0.53에서 growth inhibitor를 分離하였고, Webb⁴⁸⁾은 *Acer pseud-platanus*種子에서 Rf 0.6~0.8과 Rf 0.9에서, Shibaoka⁴²⁾는 *Abies sachalinensis*잎에서 Rf 0.6~0.8에서 ABA를 分離하였다.

本 實驗의 結果를 살펴보면 Rf 0.3~0.7 Rf 0.5~0.9에서 抑制帶가 나타났는데, 이는 前述한 實驗結果와 一致한다. 특히 Ramsay³⁹⁾의 apricot bud에서 抽出한 ABA를 分離할때 使用한 展開溶媒中에서 4種類가 本 實驗에서 使用한 溶媒와 一致한데, 이것을 比較하면 다음과 같다.

Ramsay의 實驗結果에서 isopropanol:water(80:20V/V)에서는 Rf 0.4~0.9, benzene:acetic acid:water(8:3:5V/V)에서는 0.5~1.0, n-butanol:ammonia(500:1V/V)에서는 Rf 0.0~0.4, n-butanol:acetic acid:water(4:4:1%)에서는 Rf 0.4, Rf 0.7에서 각각 ABA를 分離하였고, 本 實驗結果에서에서는 isopropanol:water

(80:20V/V)에서는 Rf 0.2~0.9, n-butanol:ammonia(500:1V/V)에서는 Rf 0.0~0.6, n-butanol:acetic acid:water(4:4:1 V/V)에서 Rf 0.2~0.4, Rf 0.6~0.9에서 inhibitor를 分離하였는데, 이것은 Ramsay 結果와 거의 一致하고 있다.

生長抑制物質은 UV-fluorescence로 檢定한 기존研究結果를 살펴보면, Hatano¹⁶⁾은 *Sciadopitys verticillata*種子에서 Rf 0.62에서 greenish yellow, Rf 0.70은 yellow로, Shibaoka⁴³⁾는 *Abies sachalinensis*잎에서는 Rf 0.70에서 yellow로 Shibaoka⁴⁴⁾은 *Helianthus*잎에서는 Rf 0.70에서는 yellow Rf 0.63~0.72, Rf 0.77~0.83에서 각각 blue로, Hong¹⁹⁾은 *pinus rigida* stem에서는 Rf 0.47, Rf 0.54에서 각각 pink-yellow로 魏⁵¹⁾은 朱木種子에서 Rf 0.52에서 yellow로, Rf 0.70에서 blue로 Rf 0.83에서 gray로 螢光色이 나타났다고 報告하였다.

本 實驗의 結果에서 보면 Rf 0.62에서 purple로, Rf 0.70에서 gray로 Rf 0.78에서 blue로 나타났는데, 이것은 前述한 研究結果와 一致하는 것으로 보아, ABA이라고 推測할 수 있다.

結 論

은행나무 種子를 冷濕積한 後, 種子內 各 部位別의 生長調整物質의 變化를 調査하였던 바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 은행나무 種子의 休眠에 關係하는 生長抑制物質은 胚에서는 Rf 0.3~0.7, 胚乳에서는 Rf 0.0~0.7, 種皮에서는 Rf 0.3~0.9에서 存在하였는데, 種皮에서 가장 顯著하게 하였다.

2. 處理後, 胚, 種皮에서는 生長抑制物質이 減少되었고, 生長促進物質의 增加는 胚部分 Rf 0.7~0.8에서 나타났다.

3. 以上の 結果로 은행나무 種子에서는 生長促進物質의 增加보다는 生長抑制物質의 減少로 發芽過程에 들어간다고 推測할 수 있다.

4. 生長促進物質의 rice seedling test를 實施한 結果 展開溶媒 isopropanol:28% ammonia:water(8:1:1 V/V)에서는 Rf 0.0~0.3, Rf 0.6~0.7, Rf 0.9~1.0에서, n-butanol:28% ammonia:water(4:1:1 V/V)에서는 Rf 0.3~0.4, Rf 0.6~0.8에서, n-butanol:acetic acid:water(4:1:2V/V)에서는 Rf 0.3~0.6에서 各各 促進帶를 보였다.

5. 生長抑制物質의 wheat coleoptile straight-growth test를 實施한 結果, 展開溶媒 isopropanol:water(80:20

V/V)에서는 Rf 0.0~0.2, Rf 0.3~0.7에서 benzene: acetic acid:water (8:3:5V/V)에서는 Rf 0.5~0.7에서 Ethanol:water:28% ammonia(4:5:1 V/V)에서는, Rf 0.6~0.7에서, n-butanol:28% ammonia(500:1 V/V)에서는 Rf 0.0~0.2, n-butanol:acetic acid:water(4:4:1 V/V)에서는 Rf 0.2~0.4에서 各各 抑制帶를 보였다.

6. 生長促進物質로써는 Gibberellin이 檢定되었는데, Rf 0.26에지 거의 미량으로 동정되었고, 生長抑制物質로써는 Abscisic acid로 推定되었으며, 紫外線螢光檢査燈으로 檢定한 結果 Rf 0.62, Rf 0.70, Rf 0.78에서 各各 purple, gray, blue의 螢光色으로 나타났다.

LITERATURE CITED

- Banerjee, S. N. 1968. Changes in the amounts of gibberellin-like and cytokinin-like substances in developing seeds of *Ginkgo biloba* L. Bot. Mag. Tokyo. 81:67-73
- Bennet-Clark, T. A. and N. P. Kefford. 1953. Chromatography of the growth substances in plant extracts. Nature 171:645-647.
- Bennett, E. L and J. Bonner. 1953. Isolation of plant growth inhibitors from *Thamnosma montana*. Amer. Jour. 40:29-33.
- Bhalla, P. R. 1970. Changes in endogenous gibberellins in the maturing fruits of watermelon. Bot. Mag. Tokyo. 83:349-357
- Bird, H. L., Jr. and C. T. Rugh. 1957. A paper Chromatographic separation of gibberellic acid and gibberellin A. Plant physiol. 32:45-56.
- Chen, S. S. C. and J. E. Varner. 1970. Respiration and protein synthesis in dormant and after-ripened seeds of *Avena fatua*. Plant physiol. 46:108-112.
- Coombe, B. G., D. Cohen and L. G. Paleg. 1967. Barley endosperm bioassay for gibberellins. 2. Application of the method. Plant physiol. 42:113-119.
- Cornforth, J. W., B. V. Milborrow, G. Ryback, and P. F. Wareing. 1965. Chemistry and physiology of "dormin" in sycamore. Identity of sycamore "dormin" with "abscisin 2" Nature. 205:1269-1272.
- Devlin, R. M. 1965. Plant physiology. D. anV Nostrand Co. 411-520.
- Diaz, D. H. and G. C. Martin. 1972. Peach and dormancy in relation to endogenous inhibitors and applied growth substances. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97(5):651-654.
- Dunberg, A. 1974. Occurrence of gibberellin-like substances in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) and their possible relation to growth and flowering. Studia Forestalia Suecica Nr 111:62 pp.
- Eagles, C. F. and P. F. Wareing. 1963. Experimental induction of dormancy in *Betula pubescens*. Nature 199:874-875.
- Feucht, W., W. Z. Khan and P. Daniel. 1974. Abscisic acid in Prunus trees: Isolation and the effect on growth of excised shoot tissue. physiol. plant. 32:247-252.
- Hancock, C. R., H. W. B. Barlow, and H. J. Lacey. 1964. The east malling coleoptile straight growth test method. J. exp. Botany 15(43):166-176.
- Hatano, K. 1956. A trial to paper chromatography J. Jap. For. Soc. 38(11):425-427.
- Hatano, K. and M. Miyazaki. 1974. Growth inhibitors of conifer seeds. Sciadin in *Sciadopitys verticillata* seed. J. Jap. For. Soc. 56(8):252-287.
- Hayashi, F. and L. Rappaport. 1962. Gibberellin-like activity of neutral and acidic substances in the potato tuber. Nature. 195:617-618
- Hemberg, T. 1949. Significance of growth-inhibiting substances and auxin for the rest-period of the potato tuber. Physiol. plant. 2:24-36.
- Hong, S. O. 1969. Endogenous growth substances affecting rooting of cuttings of pines. Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea. 7:1:33.
- Jenkins, P. A., and K. R. Shepherd. 1972. Identification of abscisic acid in young stems of *Pinus radiata*. New Phytol. 71:501-511.
- Kim, Y.K. 1966. Studies on the growth regulators in seeds of *Pinus koraiensis* in regulation to dormancy and germination. Korea Univ. These Collec. 3:7-34.
- Krugman, S. L. 1967. A gibberellin-like substance in immature pine seed. Forest science. 13(1):29-37.
- Lenton, J. R., V. M. Perry, and P. F. Saunders.

1971. The identification and quantitative analysis of abscisic acid in plant extracts by gas-liquid chromatography. *Planta* 96:271-280.
24. Leopold, A. C. and P. E. Kriedemann. 1975. Plant growth and development. McGraw-Hill, Inc. 137-248.
25. Lin, C. F., and A. A. Boe. 1972. Effects of some endogenous and exogenous growth regulators on plum seed dormancy. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* 97 (1):41-44.
26. Lipe, W. N. and J. C. Crane. 1966. Dormancy regulation in peach seeds. *Science*. 153:541-542.
27. Martin, G. C., H. Forde, and M. I. R. Mason. 1969. Changes in endogenous growth substances in the embryo of *Juglans regia* during stratification. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94:13-17.
28. Mashizume, H. 1965. Detection of auxins and inhibitors in the pine seeds and seedles by the pine hypocotyl test. *J. Jap. For. Soc.* 47(12):421-425.
29. Mathur, D. D., G. A. Couvillon, H. M. Vines, and C. H. Hendershott. 1971. Stratification effects on endogenous gibberellic acid in peach seeds. *Hortscience* 6:538-539.
30. Miyamoto, T., W. E. Tolbert and E. H. Everson. 1961. Germination inhibitors related to dormancy in wheat seeds. *Plant physiol.* Vol. 36:739-746.
31. Murakami, Y. 1959. A paper chromatographic survey of gibberellins and auxins in immature seeds of Leguminous plants. *Bot. Mag. Tokyo.* 72(848)-36-43.
32. Murakami, Y. 1968. Gibberellin-like substances in roots of *Oryza sativa*, *Pharbitis nil*, and *Ipomoea batatas*, and the site of their synthesis in the plant. *Bot. Mag. Tokyo.* 81:334-343.
33. Murakami, Y. 1970. A survey of gibberellins in shoot of Angiosperms by rice seedling test. *Bot. Mag. Tokyo.* 83:312-324.
34. Nitsch, C. and J. P. Nitsch. 1959. An artifact in chromatography of indole auxins. *Plant. physiol.* 34:450-454.
35. Nitsch, J. P. and C. Nitsch. 1955. The separation of natural plant growth substances by paper chromatography. *Beitr. Biol. Pfl.* 31:387-408.
36. Ogawa, Y. 1965. Changes in the content of gibberellin-like substances in the seed of *Prunus persica*. *Bot. Mag.* 78:412-416.
37. Ohkuma, K., J. L. Lyon, and F. T. Addicott. 1963. Abscisin2, an abscission-accelerating substance from young cotton fruit. *Science*. 142:1592-1593.
38. Phillips, I. D. J., and P. F. Wareing. 1958. Studies in dormancy of sycamore. I. Seasonal changes in the growth substance content of the shoot. *J. Exp. Bot* 9:350-364.
39. Ramsay, J. and G. C. Martin. 1970. Isolation and identification of a growth inhibitor in spur buds of apricot. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95(5):574-577.
40. Robinson, P. M., P. F. Wareing and T. H. Thomas. 1963. Isolation of inhibitors varying with photoperiod in *Acer pseudoplatanus*. *Nature* 199:875-876.
41. Ryugo, K. 1969. Abscisic acid, a component of the betainhibitor complex in the *Prunus* endocarp. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94:5-8.
42. Shibakusa, R. 1972. Growth inhibitors in leaf ves of *Abies sachalinensis* in the dormant period(1). *J. Jap. For. Soc.* 54(6):199-206.
43. Shinakusa, R. 1973. Growth inhibitors in leaves of *Abies sachalinensis* in the dormant period(2). *J. Jap. For. Soc.* 55(3):91-94.
44. Shibaoka, H. and H. Imaseki. 1957. Identification of growth inhibitors in *Helianthus* leaves. *Bot. Mag. Tokyo.* Vol. 70:362-369.
45. Sondheimer, E., D. S. Tzou, and E. C. Galson. 1968. Abscisic acid levels and seed dormancy. *Plant physiol.* 43:1443-1447.
46. Stahl, E. 1973. Thin-layer Chromatography, a laboratory handbook. Springer-verlag, Berlin, 471-493.
47. Walker, D. R., C. H. Hendershott and G. W. Snedecor. 1957. A statistical evaluation of a growth substance bioassay method using extracts of dormant peach buds. *Plant physiol.* 33:162-166.
48. Weaver, R. J. 1962. Plant growth substances in agriculture. W. H. Freeman and Company. 594 pp.
49. Webb, D. P. and P. F. Wareing. 1972. Seed dormancy in *Acer*: endogenous germination inhibitors

- and dormancy in *Acer pseudoplatanus*. *Planta*. 104:115-125.
50. Yim, K. B. 1962. physiological studies on rooting of pitch pine (*Pinus rigida*) cuttings. *Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea*. 2:22-56.
51. 魏鎭·高大植·韓哲洙, 1975. 層積處理에 의한 朱木種子의 含有成分의 變化. *韓林誌*. 28:21-30.