

Gibberellic acid가 水稻의 Isozyme pattern에 미치는 影響

朴 元 穆 · 李 銘 世 · 孫 育 龍*

Effect of Gibberellic acid on Isozyme Pattern of Rice Plant

Park, W. M., Y. S. Lee and E. R. Son*

ABSTRACT

The present researches were carried out to investigate the effects of gibberellic acid on the appearance of isozyme patterns of esterase, phosphatase, amylase and peroxidase, also to investigate if there were any differences of the isozyme patterns among root, shoot and seeds of rice plants.

It was noticed that the isozyme patterns of the above tested enzymes were differ among the organs, root, shoot and seed. The GA treated plants showed difference of esterase patterns in root from Akibare and the difference in shoot and root from Yushin, phosphatase patterns in root from Akibare.

However, the GA did not affect isozyme patterns of amylase or peroxidase. The seed should be the suitable organ to study isozyme patterns for genetics or variety characterization of rice plant.

緒 言

電氣泳動에 의한 種 및 品種의 遺傳研究는 個體間의 遺傳因子가 다를 때 그의 產物인 同位酵素의 band의 類型을 比較하므로 可能하게 한다.

一般的으로 植物 遺傳研究에 導入되고 있는 酵素은 Peroxidase¹³, Esterase¹⁸, Phosphatase⁴, Amylase⁶, Alchol dehydrogenase¹⁴, Glutamate dehydrogenase⁵ 등이 많이 利用되고 있는데 同位酵素의 pattern은 同一植物이라 할지라도 採取된 部位나 植物이 자란 環境條件에 따라 달라진다는 報告가 있다.⁷

本 實驗에서는 水稻의 遺傳研究에 電氣泳動法을 導入함에 있어 基礎調査를 하기 위하여 水稻 組織內의 몇 가지 酵素が 部位別로 差異가 있는지 또한 生長調節劑인 gibberellic acid(이하 GA로 표시)를 處理함으로 같은 酵素의 同位酵素 pattern이 環境에 따라 변하는지를 調査하여 遺傳研究에 導入與否를 생각해

자 시도하였다. 水稻의 '아끼바레'와 '유신' 두 品種을 比較함에 있어 죽아종자, shoot, root 3 가지를 比較하였다.

Esterase, Phosphatase, Amylase 3 가지 酵素는 一般 homogenous gel 보다 分리가 잘되는 isoelectrofocusing 方法으로 調査하였고 Peroxidase는 slab gel을 利用하여 여러 試料를 同時に 容易하게 觀察할 수 있도록 하였다.

材料 및 方法

1. 植物材料

Japonica 系統인 '아끼바레'와 統一系統인 '유신' 두 品種을 本 實驗에 使用하였다. 種子를 대조구는 증류수에, GA처리구는 10^{-5} M GA용액에서 48 時間 동안 25°C의 烈온기에서 發芽시킨 後 1% Agar 배지에 옮겨 심어 9日間 길렀다. 이때 매일 1 ml의 증류수와 10^{-5} M GA용액을 각각 첨가하여 9日이

* 高麗大學校 農科大學

* College of Agriculture, Korea University,

지난後에는 묘를 뿌리와 지상부로 구분하여 生育調査를 测定하고 조효소 抽出에 使用하였다.

2. 試料採取

酵素採取部位는 침지 후 48時間 지난 최아種子와 9日間 자란 幼苗를 root와 shoot로 分離하여 각各 Tris-HCl buffer (0.1M pH 7.5)를 使用 유발로 마 쇄한 後 冷凍高速遠心分離機에서 12,000×g으로 30分間 遠心分離하여 上澄液을 電氣泳動材料로 取하였다.

3. 電氣泳動法

Isoelectrofocusing은 10cm × 0.5cm glass tube에 6% Acrylamide, 1% Servalyt (pH 2-11)를 使用하였다.¹¹⁾ 陰極 buffer는 過飽和된 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 陽極 buffer는 0.1% phosphoric acid를 使用하였다. 電流는 처음 100V에서 1時間 泳動시킨 後 200V에서 3時間 電氣泳動시켰다. Electrophoresis는 Pavis²⁾方法으로 7% slab gel을 使用하였다.

4. 發色法

電氣泳動이 끝난 後 gel을 꺼내어 觀察하고자 하는 酵素에 따라서 다음과 같이 發色하였다. 즉 Esterase는 發色液 (α -naphthyl acetate 30mg, Fast Blue RR salt 50mg, 0.1M Tris-HCl buffer pH 7.2 100mL)에 35°C에서 약 30分間 浸漬하여 發色시켰다.¹¹⁾ Phosphatase는 發色液 (α -naphthylphosphate 80mg, Gernet GBC salt 70mg, 0.1M Acetate buffer pH 5.0 100mL, 10% MgCl_2 6mL)에 37°C에서 약 30分間 發色시켰다. Amylase는 gel을 發色前에 1% starch 溶液에 1時間 동안 浸漬 後 發色液 (0.13% I_2 : 0.23% KI)에 약 5分間 發色시켰다. Peroxidase는 gel을 發色液 (Benzidine solution: 0.03% H_2O_2 : Water = 1:1:4)에 浸漬하여 band가 명확 할 때까지(약 2~3分) 發色시켰다.¹²⁾ 發色이 끝난 gel은 5% Acetic acid 溶液에 保存하였다.

結果 및 考察

1. GA가 Shoot와 Root의 生育에 미치는 영향
GA를 處理한 것과 증류수에서 生育된 Shoot와 Root의 生育程度를 比較하였다. 두 品種 모두 GA處理에서 Shoot의 生長은 현저히 促進되었으나 Root의 生長에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타

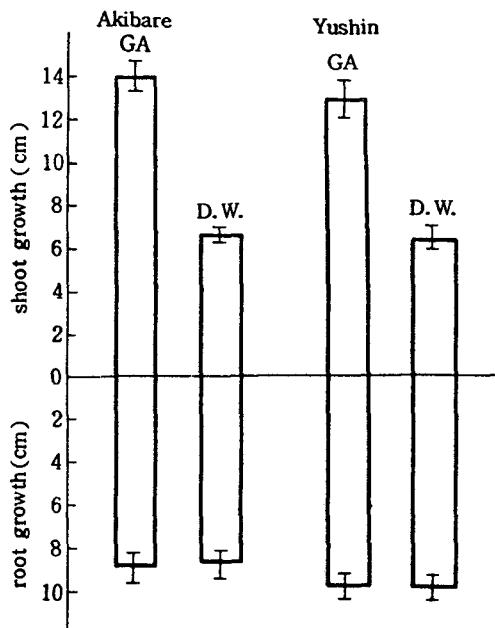


Fig. 1. Effect of GA on the growth of shoot and root of rice plant.

* GA : gibberellic acid treated
D. W. : distilled water, control

났다 (Fig. 1).

2. 組織部位別, 同位酵素 Pattern의 比較

‘아끼바리’, ‘유신’ 두 品種에서 種子, Shoot, Root의 Esterase, Phosphatase, Amylase의 同位酵素 Pattern을 Isoelectrofocusing을 利用하여 比較하였다.

‘아끼바리’에서 Esterase는 15個 (Fig. 2), Phosphatase는 12個 (Fig. 4), Amylase는 4個 (Fig. 6)의 band를 보였다. ‘유신’은 Esterase에서 13個 (Fig. 3), Phosphatase에서 9個 (Fig. 5), Amylase는 3個 (Fig. 7)의 band를 보였다.

組織部位別 同位酵素 Pattern의 比較는 band의 有無에 의해 Table 1과 Table 2에 표기하였다.

‘아끼바리’에서 Esterase는 1, 2, 5 번 band가 모든部位에 있었으며, 6, 9 번 band는 種子와 Shoot에서 볼 수 있었고 1-1, 4-1 band는 Shoot와 Root에서 볼 수 있었다. 4, 7, 10, 11, 12 번 band는 種子에만 있었으며 2-1, 3, 8 번 band는 Shoot에만 있었다. Phosphatase는 2, 4, 5, 6-1 번 band가 모든部位에 있었으며, 1, 3 번 band는 種子와 Shoot에서, 6 번 band는 Shoot와 Root에서 볼 수 있었다. 5-2, 7 번 band

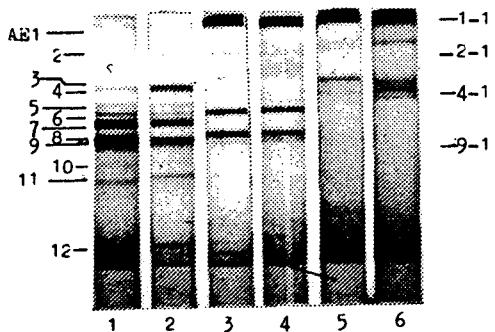


Fig. 2. PAGIF of esterase isozymes (pH 2-11) from different organs of the rice plant (c.v. Akibare) after GA. applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA,
5. Root in D.W., 6. Root in GA
*D.W. : distilled water
GA : gibberellic acid

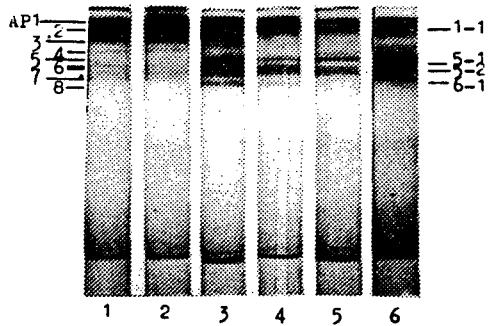


Fig. 4. PAGIF of phosphatase isozymes (pH 4-9) from different organs of the rice plant (c.v. Akibre) after GA. applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA,
5. Root in D.W., 6. Root in GA
*D.W. : distilled water
GA : gibberellic acid

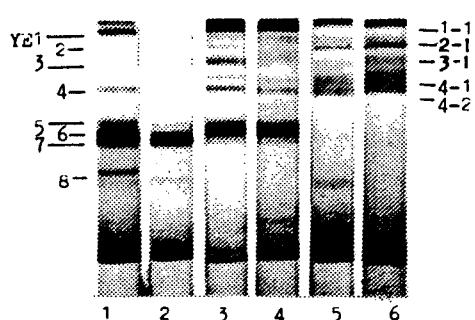


Fig. 3. PAGIF of esterase isozymes (pH 2-11) from different organs of the rice plant (c.v. Yushin) after GA. applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA., 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA.,
5. Root in D.W., 6. Root in GA.
* D.W. : distilled water
GA. : gibberellic acid

는 種子에서, 8번 band는 Shoot에서, 5-1번 band는 Root에서만 볼 수 있었다. Amylase는 種子에서 3, 4번의 double band를 볼 수 있었고, Shoot는 2, 3번의 double band와 1번 band를 보였고, Root에서는 2, 3번의 double band만 있었다.

‘유신’에서 Esterase는 4번 band만이 모든 部位

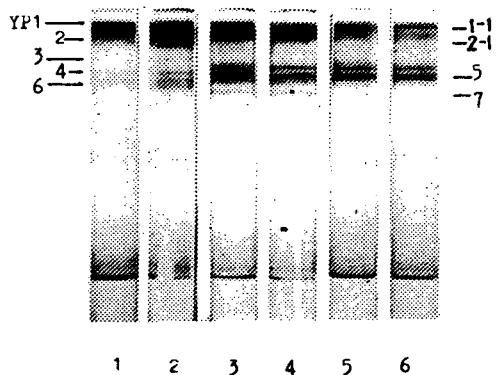


Fig. 5. PAGIF of phosphatase isozymes (pH 4-9) from different organs of the rice plant (c.v. Yushin) after GA. applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA., 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA.,
5. Root in D.W., 6. Root in GA.
* D.W. : distilled water
GA. : gibberellic acid

에 있었으며, 1, 5, 6, 7번 band는 種子와 Shoot에서, 1-1, 2-2, 3, 4-1번 band는 Shoot와 Root에서 볼 수 있었다. 그리고 8번 band는 種子에서, 4-2번 band는 Root에서만 볼 수 있었다. Phosphatase는 1, 2, 4번 band가 모든 部位에서 보였으며 5번 band는 種

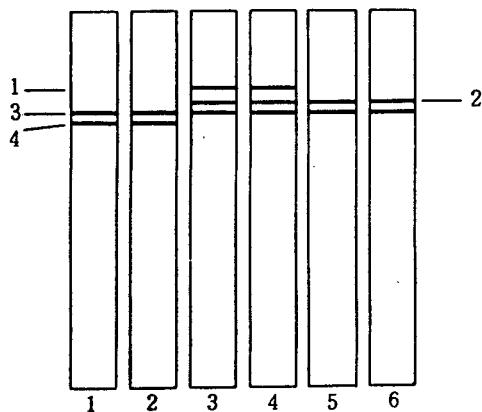


Fig. 6. PAGIF of amylase isozymes (pH 4-9) from different organs of the rice plant (c.v. Akibare) after GA applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA, 5. Root in D.W., 6. Root in GA
* D.W. : distilled water
GA : gibberellic acid

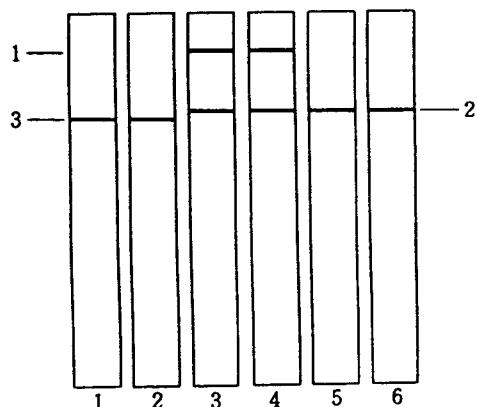


Fig. 7. PAGIF of amylase isozymes (pH 4-9) from different organs of the rice plant (c.v. Yushin) after GA applications.
Anode on top. 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA, 5. Root in D.W., 6. Root in GA
* D.W. : distilled water
GA : gibberellic acid

과 Shoot에서, 3번 band는 Shoot와 Root에서 볼 수 있었다. 그리고 1-1, 7번 band는 Shoot에서, 2-1, 6번 band는 種子에서만 볼 수 있었다. Amylase는 種子는 3번 band만, Shoot는 1, 2번 band를, Root는 2번 band만 볼 수 있었다.

組織部位別 Esterase의 同位酵素 Pattern을 比較할 때 ‘아끼바레’에서는 種子에서 1번 band가 single band로 나타났으나 Shoot와 Root에서는 activity가 높은 1번과 1-1번의 double band로 나타났고 種子에서 7, 9번 band, Shoot에서는 6, 8번 band가 activity가 높게 특징적인 形態를 보였다. ‘유신’에서는 種子에서 6번과 7번의 double band와 Shoot에서 5번과 6번의 double band가 activity가 높게 나타나며 특징적인 形態를 보였다. Phosphatase의 同位酵素 Pattern은 두 品種 모두 각各 組織部位間 비슷한 形態를 보였으나 ‘아끼바레’에서 Shoot의 8번 band, ‘유신’에서 Shoot의 7번 band는 특징적인 band로 볼 수 있었다. Amylase의 同位酵素 Pattern은 두 品種 모두 Shoot에서만 다른 部位와 差異가 있어 ‘아끼바레’의 1번 band와 ‘유신’의 1번 band는 각各 Shoot의 특징적인 band로 볼 수 있었다.

3. GA가 同位酵素 Pattern에 미치는 영향

生長調節劑인 GA를 處理하였을 때 同位酵素 Pattern에 영향을 줄 수 있는지를 究明하기 위해 각 組織部位別로 同位酵素의 Pattern을 比較하였다. 두 品種에서 GA를 處理했을 때 組織部位別 각 同位酵素의 Pattern은 Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7에서 볼 수 있으며 部位別 同位酵素에 있어서 GA를 處理했을 때 同位酵素形態의 比較는 band의 位置와 有無에 의해 Table 1, 2에 표기하였다.

Esterase의 同位酵素에 있어서 ‘아끼바레’는 種子와 Shoot에서는 Pattern이 같았으나 Root에서 差異가 있었는데 대조구인 증류수를 處理했을 경우 3번 band가 뚜렷하게 보였으나 GA를 處理했을 때 4번 band로 나타났으며 4-1번 band가 뚜렷하게 보였다. ‘유신’은 대조구의 경우 Shoot와 Root에서 3번 band를 볼 수 있었으나 GA를 處理했을 경우에는 3-1번 band로 나타났다.

Phosphatase의 同位酵素에 있어서 ‘아끼바레’는 種子와 Shoot에서는 變化가 없었으나 Root에서 變化를 보여 대조구의 경우 5번과 5-1번의 double band로 보였으나 GA處理에서는 5번과 5-2번의 double band로 나타났다. ‘유신’에서는 變化를 볼 수 없었다.

Amylase의 同位酵素 Pattern은 두 品種 모두 GA를 處理했을 경우에도 變化가 없었다.

Peroxidase의 同位酵素 Pattern은 7% polyacrylamide slab gel을 使用하여 比較하기에는 용이하였으나 focusing에 比해 band의 分離가 잘 되지 않았다.

Table 1. Distribution of isozyme bands on PAGIF from different organs of rice variety - Akibare)

Isozyme	Band No.	Seed	Seed GA	Shoot	Shoot GA	Root	Root GA
Esterase	1	+	+	+	+	+	+
	1-1	-	-	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
	2-1	-	-	+	+	-	-
	3	-	-	+	+	+	-
	4	+	+	-	-	-	+
	4-1	-	-	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	-	-
	7	+	+	-	-	-	-
Phosphatase	8	-	-	+	+	-	-
	9	+	+	+	+	-	-
	10	+	+	-	-	-	-
	11	+	+	-	-	-	-
	12	+	+	-	-	-	-
	1	+	+	+	+	-	-
	1-1	-	-	-	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	-	-
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	+	+
	5-1	-	-	-	-	+	-
Amylase	5-2	+	+	-	-	-	+
	6	-	-	+	+	+	+
	6-1	+	+	+	+	+	+
	7	+	+	-	-	-	-
	8	-	-	+	+	-	-
	1	-	-	+	+	-	-
	2	-	-	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+

+ : presence, - : absence

다. ‘아기바레’에서는 14개, ‘유신’에서는 15개의 band가 있었다(Fig. 8, 9). 두 품종 모두 種子에서는 比較的 activity가 낮은 3개의 band만 있었다. 두 품종 모두 Shoot 와 Root 의 Pattern은 비슷하였으나 ‘아기바레’에서는 2, 3, 9번 band의 activity와 5, 6, 13번 band의 有無에 의해 差異를 볼 수 있었고, ‘유신’에서도 2, 3, 10번 band의 activity와 5, 7, 9, 12, 15번 band의 有無에 의해 差異를 볼 수 있었다.

GA를 處理했을 경우 두 품종 모두 세 부위에서 각각 대조구와 똑같은 Pattern을 보여 GA가 Peroxidase의 同位酶素 Pattern에는 變化를 가져다 주지 못하는 것으로 보인다.

同一한 個體에서 組織과 生長段階에 따른 同位酶

Table 2. Distribution of isozyme bands on PAGIF from different organs of rice variety - Yushin.

Isozyme	Band No.	Seed	Seed GA	Shoot	Shoot GA	Root	Root GA
Esterase	1	+	+	+	+	-	-
	1-1	-	-	+	+	+	+
	2	-	-	+	+	+	+
	2-1	-	-	+	+	+	+
	3	-	-	+	-	+	-
	3-1	-	-	-	+	-	+
	4	+	+	+	+	+	+
	4-1	-	-	+	+	+	+
	4-2	-	-	-	-	+	+
	5	+	+	+	+	-	-
Phosphatase	6	+	+	+	+	-	-
	7	+	+	+	+	-	-
	8	+	+	-	-	-	-
	1	+	+	+	+	+	+
	1-1	-	-	+	+	-	-
	2	+	+	+	+	+	+
	2-1	+	+	-	-	-	-
Amylase	3	-	-	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+
	5	+	+	+	+	-	-
	6	+	+	-	-	-	-
	7	-	-	+	+	-	-

+ : presence, - : absence

素 pattern의 變化에 對한 報告는 Beckman과 Johnson¹⁾이 *Drosophila*에서 esterase의 同位酶素는 生長段階에 따라 새로운 同位酶素가 生成된다고 하였으며, Scandalios¹⁵⁾와 Efron³⁾은 옥수수에서 組織에 따라 同位酶素 pattern은 각각 다르다 하였으며 이와 같은 研究는 主로 peroxidase에서 이루어졌다. 또한 Siegel과 Galston¹⁷⁾은 *Pisum sativum*에서 peroxidase의 同位酶素 pattern이 組織에 따라 band의 有無와 intensity가 다르다 하였으며同一한 組織이라 해도 生長時間에 따라 새로운 同位酶素의 生成과 소멸이 이루어진다고 하였다.

本 實驗에서는 벼의 組織에 따른 同位酶素 pattern은 Esterase, Phosphatase, Amylase, Peroxidase에서 모두 달랐으며 특히 Esterase에서 두 품종 모두 種子와 Shoot의 差異가 뚜렷하였으며 Phosphatase와 Amylase의 同位酶素 pattern은 Shoot에서 뚜렷한 pattern을 보였다. Peroxidase는 Shoot와 Root에서 activity가 높았다.

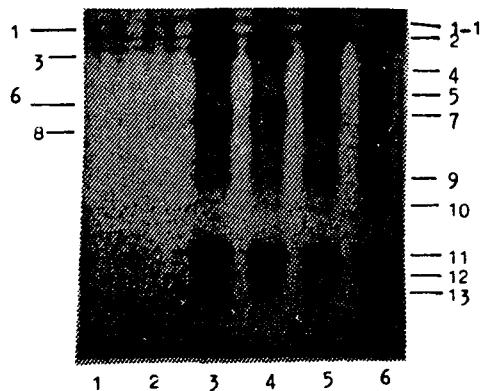


Fig. 8. Peroxidase isozyme patterns, on 7% polyacrylamide slab gel, from different organs of the rice plant (c.v. Akibare) after GA applications. Cathode on top.
 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Root in D.W., 4. Root in GA, 5. Shoot in D.W., 6. Shoot in D.W.
 * D.W. : distilled water
 GA : gibberellic acid

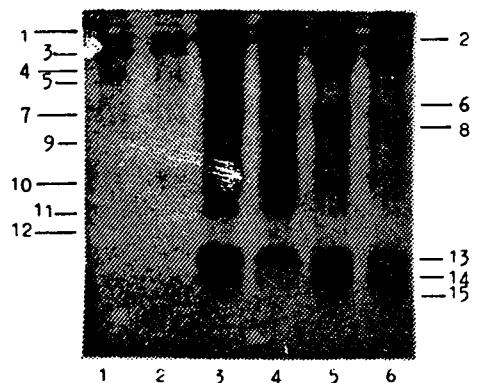


Fig. 9. Peroxidase isozyme patterns, on 7% polyacrylamide slab gel, from different organs of the rice plant (c.v. Yushin) after GA applications. Cathode on top.
 1. Seed in D.W., 2. Seed in GA, 3. Shoot in D.W., 4. Shoot in GA, 5. Root in D.W., 6. Root in GA
 * D.W. : distilled water
 GA : gibberellic acid

또한 同位酵素 pattern은同一한 組織이라 할지라도 外部環境條件에 영향을 받아 빛의 有無에 의해 變化가 오며⁷⁾ Wayne 등¹⁹⁾은 Barley 의 embryo는 H₂O와 D₂O에 處理했을 때 peroxidase의 pattern이 달라진다고 하였으며, GA를 處理했을 경우 peroxidase의 activity에 變化를 가져다 준다는 報告가 있다.^{8,9,15)} 또한 IAA를 處理할 경우 peroxidase에서 特定한 band의 손실을 가져다 준다는 報告도 있다.¹⁰⁾

本 實驗에 나타난 結果는 GA를 處理하였을 경우 種子에서는 모든 酵素이同一한 pattern을 보였으나 Shoot와 Root에서 酵素에 따라 變化가 있었으나 다른 報告에서 많이 나타나는 peroxidase와 amylase의 pattern은 모든 部位에서 變化가 없었다. 이러한 結果는 GA處理가 種子에서는 저장단백질의 利用을 促進시킬지는 몰라도 同位酵素에는 變化를 가져다주지 못하는 것으로 보인다.

이상의 結果에서 電氣泳動方法은 植物研究에 있어서 여러가지 面에 利用되고 있으나 遺傳研究나 分類學的研究 등에서는同一한 組織을 利用하고同一한 環境條件 및同一한 生長段階에서 이루어져야 하겠다. 또한 同位酵素 pattern이 다를 경우 遺傳因子에 의해 나타나는 특이한 形態인지 혹은 組織의 특이한 形態인지를 밝히는 것은 매우 重要하다 생각된다.

植物의 遺傳 및 分類에서는 모든 試驗個體가 生理적으로同一한 條件에 놓고 同位酵素 pattern을 조사하는 것이 이상적이나 일단 植物이 生育을 하게 되면 주위환경에 영향을 받게 되며 그렇게 되면 경우에 따라서는 同位酵素 pattern에 영향을 주게 된다.⁷⁾ 그러므로 環境의 영향을 최소로 감소시키려면 發芽前 조종자를 使用하는 것이 바람직하겠다.

概要

本 實驗은 水稻의 遺傳研究에 電氣泳動法을 導入함에 있어 基礎調査를 하기 위하여 水稻 組織內의 몇 가지 酵素이 部位別로 差異가 있는지 또한 生長調節劑인 GA를 處理함으로 같은 酵素의 同位酵素 pattern이 變하는지 '아끼바리'와 '유신' 두 品種을 使用 調査하였다. 그 結果는 다음과 같았다.

1. Isoelectrofocusing에 의한 種子, Shoot, Root의 Esterase, Phosphatase, Amylase 同位酵素 pattern은 두 品種 모두 組織部位別로 다른 pattern을 보였다.

2. 7% polyacrylamide slab gel electrophoresis에 의한 Peroxidase 同位酵素 pattern도 두 品種 모두 組織部位別로 다른 pattern을 보였다.

3. GA(10^{-5} M)을 處理했을 경우 Esterase同位酵素 pattern은 '아끼바레'의 root와 '유신'의 shoot, root에서 대조구와 差異가 있었으며 Phosphatase의 同位酵素 pattern은 '아끼바레'의 root에서 差異가 있었다. Amylase와 Peroxidase의 同位酵素 pattern은 대조구와 GA處理間에 差異가 없었다.

引 用 文 献

1. Beckman, L., and F. M. Johnson(1964) Variations in larval alkaline phosphatase controlled by Aph alleles in *Drosophila Melanogaster*. *Genetics* 49:829-835.
2. Davis, B. J.(1964) Disc electrophoresis-II Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy Sciences* 121:434-443.
3. Efron, Y.(1970) Tissue specific variation in the isozyme pattern of the Ap_1 acid phosphatase in Maize. *Genetics* 65:575-583.
4. Hildebrand, D. F., J. H. Orf, and T. Hymowitz (1980) Inheritance of an acid phosphatase and its linkage with the kunitz trypsin inhibitor in seed protein of Soybeans. *Crop Science* 20: 83-85.
5. Lees, E. M., and D. T. Dennis(1981) Glutamate dehydrogenase in developing endosperm, chloroplasts, and roots of Caster Bean. *Plant Physiol.* 68:827-830.
6. Marchylo, B. A., L. J. Lacroix, and J. E. Kruger (1981) α -Amylase synthesis in wheat kernels as influenced by the seed coat. *Plant Physiol.* 67:89-91.
7. McCown, B. H., T. C. Hall, and G. E. Beck (1969) Plant leaf and stem proteins. II. Isozymes and environmental change. *Plant Physiol.* 44:210-216.
8. McCune, D.(1960) Effect of gibberellins on peroxidase activity and growth. Doctoral dissertation. Yale University.
9. McCune, D.(1960) Multiple peroxidase in corn. In : Multiple molecular forms of enzymes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 94:723-730.
10. Ockerse, R., B. Z. Siegel and A. W. Galston (1966) Hormone induced repression of a peroxidase isozyme in plant tissue. *Science* 151:452-453.
11. Park, W. M., and H. Stegemann(1979) Rice protein patterns. Comparison by various PAGE-techniques. *Z. Acker-u. Pflanzenbau* 148:446-454.
12. Park, W. M., Y. H. Ko, Y. J. Yoo and J. Y. Lee(1982) The change of peroxidase activity in soybean seed followed by infection with *Cercospora kikuchii*. *The Korean Journal of Plant Protection* 21:23-26.
13. Quiros, C. F.(1980) Identification of alfalfa plants by enzyme electrophoresis. *Crop Science* 20:262-264.
14. Roose, M. L., and L. D. Gottlieb(1979) Alcohol dehydrogenase in the diploid plant *Stephanomeria exigua* (Compositae): Gene duplication, mode of inheritance and linkage. *Genetics* 95:171-186.
15. Scandalios, J. G.(1967) Genetic control of ADH-isozymes in maize. *Biochem. Genetics* 1:1-19.
16. Siegel, S. M.(1966) The biochemistry of lignin formation. *Physiol. Plantarum* 8:30-32.
17. Siegel, B. Z., and A. W. Galston(1967) The isoperoxidases of *Pisum sativum*. *Plant Physiol.* 42:221-226.
18. Villamil, C. B., R. W. Duell, D. E. Fairbrothers, and J. Sadowski(1982) Isoelectric focusing of esterase for Fine Fescue identification. *Crop Science* 22:786-793.
19. Wayne, A., J. V. Jacobsen, J. G. Scandalios, and J. E. Varner(1970) Deuterium oxide as a density label of peroxidases in germinating barley embryos. *Plant Physiol.* 45:148-152.