

벼 뿌리細胞의 有絲分裂週期에 대한 培養溫도의 影響**

金裁喆* · 李勝峻* · 權晨煥* · 郭成熙*

Effect of Temperature on Mitotic Cycle of Rice Root Meristem Cells**

Jae Cheol Kim*, Seung Jun Lee*, Sung Whan Kwon* and Sung Hee Guak*

ABSTRACT : The mitotic cycle duration and component phase periods of rice (*Oryza sativa* L. 'Sumjinbyeo and Seokwangbyeo') root meristem cells at 15, 20, and 30°C were determined the use of tritiated thymidine. In this work, the time interval between the maxima of sequential mitotic appearances of marked cells was used to estimate the mitotic cycle duration (MCD) of rice. The MCD of rice of the cultivar 'Sumjinbyeo' and 'Seokwangbyeo' at 20, and 30°C was 12, and 20hr. respectively. But the MCD of 'Sumjinbyeo' and 'Seokwangbyeo' was 18 and 20hr. at 15°C, respectively. The MCD decreased with increasing temperature. The duration of component phase of rice cultivar 'Seokwangbyeo' were essentially the same ratio at 20°C and 30°C, but in 'Sumjinbyeo' cultivar the ratio of G₁ period was almost doubled while those of G₂ and M were decreased by almost two times at 20°C and 30°C.

Deoxyribonucleic acid (DNA), Ribonucleic acid (RNA), and protein synthesis were reduced with increasing temperature from 15°C to 30°C while the MCD was decreased. This result suggest that DNA, RNA and protein synthesis may not affect the MCD from 15°C to 30°C in rice.

이제까지 벼에서는 交雜育種에 의한 品種改良에 중점을 두어 왔으며 이 방법에 의한 優良品種育成은 어느정도 限界點에 이르른 것으로 인식되고 있다. 따라서 最近에는 遺傳工學과 같은 새로운 育種方法의 開發에 많은 노력이 경각되고 있는 實情이다. 一部에서는 藥培養이나 遺傳子 操作 등의 方法으로 新品種 育成에 관한 研究가 活潑하게 進行되고 있으며, 이의 성과를 위해서는 細胞學的 基礎研究의 도움이 필수적이다. 특히 遺傳子에 관한 一聯의 變異는 細胞週期에 일어나는 生化學的 研究에 의해 그 機作이 解明될 수 있다. 細胞週期에 관한 概念은 1953年 Howard와 Pelc⁹⁾에 의하여 提案된 移動·植物 分野에서 활발히 研究되어지고 있다. 細胞週期는 G₁, S, G₂ 및 M期의 4段階로 區分된다. 植物에 있어서 이러한 段階들은 植物 호르몬에 의하여 調節된다는 것이 많은 研究者들에 의해 報告되었으며 環境的인 要因들, 즉 生物, 化學物質, 營養, 酸素, 光, 溫度, 水分 및 物理的인 條件에 依해서도 影響을 받는 것으로 알려졌다.¹⁰⁾ 植物 호르몬 중

에 auxin은 G₁期에서 DNA複製에 必要한 酵素인 DNA-polymerase의 合成을 調節하는 것으로 알려져 있으며, cytokinin은 G₂期에서 M期로 進行되는데 중요한 役割을 하며 또한 단백질 合成에도 參與하는 호르몬으로 報告되어 있지만 아직도 異이 컸다.^{10,22)} 細胞가 分裂하기 위해서는 一聯의 先行條件들, 即 遺傳情報의 精確한 複製와 다른 構成要素들의 複製가 이루어져야 한다. 新生細胞가 다시 分裂하기 위해서는 成熟해야 되는데 이 過程은 間期에 이루어 진다.²³⁾ DNA, RNA, 그리고 단백질 合成은 細胞分裂의 先行要件들이다.²¹⁾ 벼에 대한 細胞學的 研究는 밀이나 옥수수에 비해 아직 초보 단계에 있으며 벼의 細胞週期에 관한 研究報告는 거의 되어 있지 않은 實情이다. 특히 우리나라의 氣候를 볼 때 벼는 生育中에 低溫과 雨害의 被害를 자주 입게 되므로 이러한 環境的인 stress에 強한 品種을 開發하기 위해서는 여러가지 災害要素가 벼의 生育에 어떻게 作用하여 被害를 입히는지를 多角的으로 研究하여 解決해야 되며 이러한 理由로 植物

* 全北大學校 (Chunbuk Nat'l. Univ., Jeonju 560-756, Korea)

** 이 論文은 1987年 文教部 自由應募課題學術研究助成費에 依하여 研究되었음. <'89. 10. 24. 接受>

의 生長과 分化의 基本要素인 細胞週期에 관한 基礎 研究가 必要不可決하다고 思料된다.

本 研究에서는 Japonica 型 벼와 통일형 벼에서 根端分裂組織의 細胞週期를 測定하고, 그 細胞週期에 미치는 溫度의 影響을 調査하며, 이에 相應하는 DNA, RNA, 그리고 단백질 合成이 細胞分裂에 어떻게 關係하고 있는가를 검토하므로써 벼의 耐冷性 品種 育成을 위한 基礎資料를 提供하고자 한다.

材料 및 方法

1. 試料의 調製

本 實驗에서 使用된 材料는 統一型品種 “서광벼” 와 Japonica 型 品種 “蟾津벼” 의 뿌리分裂組織이다. 種子의 發芽를 위해 24時間 물에 浸漬한 後, $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 種子發芽箱에서 暗狀態로 催芽시켰다. 약 2~3mm 程度 자란 뿌리를 選別하여 Hoagland 용액이 filter paper 가 적서질 程度로 添加된 petridish에 옮겨 $15 \pm 1^\circ\text{C}$, $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 그리고 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 溫度가 維持된 暗狀態의 生長箱에서 培養시켰다. 一定한 溫度에서 24時間 程度 培養시킨 幼苗들은 細胞週期를 測定하기 위하여 ^3H -thymidine (1.0 uCi/mL, sp. Act. 5 mCi/mM Buckinghamshire, England. Amersham) 이 含有된 溶液에 옮겨 30分間 pulsing 시킨 後에 다시 Hoagland 溶液에서 各기 定해진 溫度로 培養하였다.^{16,18)} 細胞週期中에 合成되는 DNA, RNA 그리고 단백질을 測定하기 위하여 DNA 前驅物質인 ^3H -thymidine, RNA 前驅物質인 ^3H -uridine (1.0 uCi/ml, sp. act. 30 mA/mM. Amersham) 그리고 protein 前驅物質인 ^{14}C -leucine (50 uA/mL, sp. act. 54 mCi/mM. Amersham) 을 各各의 溶液에 添加한 後에 벼의 幼苗를 옮겨 各各의 溫度에서 8時間 동안 培養하여 試料를 採取하였다.

2. 細胞週期 測定

培養中인 材料는 15°C 에서 44時間까지 2時間 間隔으로 採取하였고, 20°C 와 30°C 에서는 26時間까지 各各 6個씩 뿌리를 採取하였다. 採取된 모든 試料는 Carnoy 固定液 (glacial acetic acid : ethanol = 1 : 3) 으로 1時間동안 常溫에서 固定한 後에 試料를 蒸溜水로 洗滌하여 1N HCl 로 加水 分解시킨 後, Schiff's reagent 로 染色하였다.⁶⁾ 染色된 試料는 6% pectinase 로 軟化시킨 後에

gelatin으로 塗布된 slide glass 위에 squash 하여 顯微鏡으로 染色程度 및 染色體 狀態를 檢鏡하였다. 檢鏡된 slide 는 dry ice 위에 올려 놓아 얼게 한 뒤 cover glass 를 떼어내고 ethanol series ($95\% \rightarrow 70\% \rightarrow 50\% \rightarrow 30\%$) 를 거쳤다. Autoradiography 는 Kodak NTB Liquid Emulsion 을 使用하여 遂行하였다. Emulsion 으로 coating 하는 作業은 完全燈 아래서 行하였다. Ethanol series 를 거친 slide 는 蒸溜水가 들어있는 coplin jar 에 저장하여 暗室로 옮긴 다음 emulsion 으로 채워진 coplin jar 에서 각 slide 를 4~5 秒間 coating 시켰다. Coating 된 slide 는 test tube rack 에서 drain 시킨 다음 乾燥시켜서 光이 遮斷된 상자에서 24時間 保管하였다. 乾燥시킨 slide 는 검정 플라스틱 slide 상자에 넣어 알루미늄 호일로 包裝한 다음, 4°C 의 冷藏庫에 10日間 保存시켜 露出시켰다. 露出된 slide 를 現象하기 위해 Dektol developer (D-72) 에 담긴 다음 蒸溜水로 씻어 30% sodium thiosulfate 용액에 8分間 담근 後 15分間 수도물로 水洗하였다. 水洗된 slide 는 ethanol series ($30\% \rightarrow 50\% \rightarrow 70\% \rightarrow 95\% \rightarrow 100\%$) 를 거친 후 euparol 로 mounting 하여 檢鏡하였다.^{6,12)} ^3H -thymidin 을 使用한 Mitotic Cycle Duration (MCD) 測定은 Quastler 와 Sherman¹¹⁾ 의 方法에 따랐다. MCD는 ^3H -thymidine 이 S期에서 DNA 複製時에 label 되어 mi-

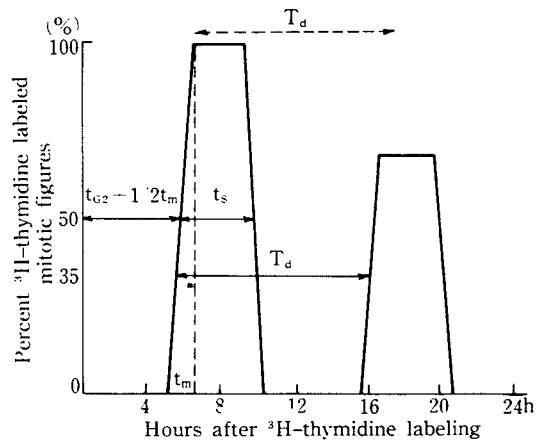


Fig. 1. Idealized curve showing the derivation of durations for all cycle phases excepts G_1 . The G_1 duration t_{G_1} is obtained by the difference $T_C - t_{G_2} - t_M - t_S$, where t_C = total cell cycle time, t_{G_2} = G_2 duration, and t_M = duration of mitosis.

tosis 때 染色體上에 나타나는데 label 된 細胞가 週期的으로 나타나는 樣相을 利用하여 測定한다. 一般的으로 MCD는 曲線上에 連續的으로 上昇하는 部分사이의 時間間隔이나 曲線上의 2개의 最高點을 連結한 時間間隔으로 定한다.⁴⁾ 各 phase의 期間測定은 ^3H -thymidine을 pulsing 시켰을 때 G_2 期에 있는 細胞들은 label 되지 않은 채 分裂되지만 S期와 一部 G_1 期에 있는 細胞들은 label 되어 分裂하게 된다. Label 된 metaphase 細胞들의 percent mitotic figures의 50% intercepts에 該當되는 上昇하는 部分과 下降하는 部分을 連結한 時間間隔이 S 및 $G_2 + M$ 의 期間測定에 利用되었고 G_1 期은 MCD에서 S期과 $G_2 + M$ 期의 合을 減算하여 求하였다⁴⁾ (Fig. 1).

3. DNA, RNA 및 Protein 測定

各各 동위원소가 處理된 60個의 뿌리를 採取하여 20개씩 3 group으로 나누어 2 mm의 길이로 根端을 잘라서 모았다. 試料를 10 ml homogenizer 에 넣고 5 ml의 cold 80% ethanol을 添加한 다음 磨碎한 後에 millipore filter (2.4 cm GF/C)를 부어서 여과한 다음에 다시 80%의 ethanol로 水洗하였다. DNA와 RNA를 測定하기 위하여 millipore filter를 3回 5 ml cold 5% trichloroacetic acid(TCA)로 씻고 연속해서 5 ml cold 95% ethanol과 cold absolute ethanol-diethyl ether (1:1), 그리고 diethyl ether로 各各 2回씩 水洗하였다. DNA 혹은 RNA가 含有된 filter는 대기중에 乾燥시켜서 liquid scintillating (L.C) 병에 넣은 다음 10 ml liquifluor을 채워서 liquid scintillation counter (Packard tri-Cabi 300c)로 測定하였다.^{1,6)} Protein을 測定하기 위하여 millipore filter를 5 ml의 cold 10% TCA, cold 5% TCA, cold 95% ethanol, cold absolute ethanol-diethylether (1:1) 그리고 diethyl ether로 各各 2回씩 水洗하였다. Protein이 含有된 filter는 대기중에 건조시켜 DNA와 同一한 方法으로 測定하였다.^{1,6)}

結 果

1. 벼의 細胞週期の 測定

Japonica型 品種인 섬진벼와 統一型 品種인 서광벼의 根端分裂組織을 材料로 15°C, 20°C 및 30

°C에서 DNA 前驅物質인 ^3H -thymidin을 使用하여 Mitotic Cycle Duration (MCD)을 各各 測定하였으며 各 MCD를 다시 phase別로도 測定하였다.

15°C에서 培養한 벼의 根端分裂組織들을 ^3H -thymidine 溶液에 pulsing 시킨 後 label 된 metaphase 細胞가 처음 나타나기 始作한 것은 섬진벼에서는 4時間, 서광벼에서는 5時間 後였다. 섬진벼에서 label 된 metaphase 細胞는 그 數가 時間이 經過함에 따라 增加하다가 16時間째에 最高點을 이룬뒤 下降하였다. 이어서 label 된 metaphase 細胞數는 28時間째에 最低點을 이룬뒤 다시 增加하여 34時間째에서 第二의 最高點을 이루고 다시 下降하였다 (Fig. 2).

서광벼에서 label 된 metaphase 細胞는 22時間째에 第一最高點 그리고 다시 42時間째에 第二最高點을 이루었다 (Fig. 3). 15°C에서 두 品種의 MCD를 求할 境遇, 35%의 intercepts를 使用하는 方法, 即 連續的으로 上昇하는 두 部分 사이의 時間間隔을 測定하는 方法과 두 最高點을 連結하여 MCD를 測定하는 方法⁴⁾이 있는데 벼의 境遇는 두번째 方法이 適合하다고 判斷되었다. 왜냐하면, 서광벼의 境遇는 Fig. 3에서 보여주는 바와 같이 第二의 最高點이 낮아 서로 上昇하는 部分이 共通的으로 35% intercepts에 걸리지 않았기 때문이다. 15°C에서 섬진벼와 서광벼의 MCD는 各各 18時間, 20時間으로 나타났다.

20°C에서는 ^3H -thymidine으로 label 된 metaphase 細胞가 두 品種 共히 1時間째부터 나타나기 始作하여 서서히 그 細胞數가 增加하였으며 섬진벼에서는 ^3H -thymidine으로 pulsing한 後, 6時

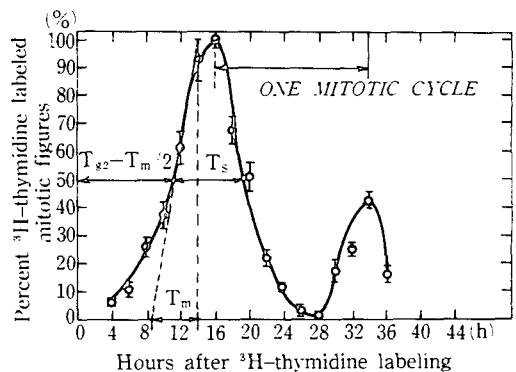


Fig. 2. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Simjin') root meristem as measured with ^3H -thymidine at 15°C.

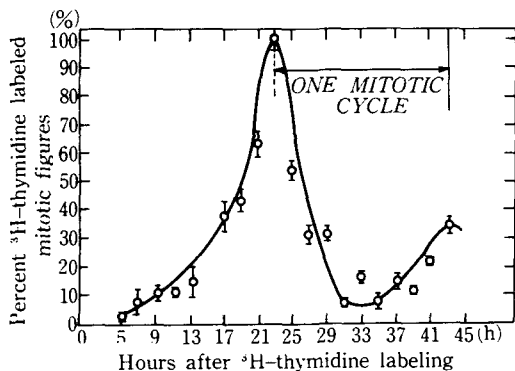


Fig. 3. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Seokwang') root meristem as measured with ^3H -thymidine at 15°C .

間歇에 最高點을 이룬뒤에 그 數가 減少하다가 12 時間째에 最低點을 이루었고 다시 增加하여 18 時間 째에 第二의 最高點을 나타낸 뒤 다시 減少하였다 (Fig. 4). 서광벼에서는 섬진벼보다 2時間 늦은 8 時間 째에 最高點을 이루었고 第二의 最高點도 2時間 늦은 20 時間 째에 나타났다 (Fig. 5). 20°C 에서 도 15°C 에서와 마찬가지로 同一한 理由로 두 最高點을 利用하여 MCD를 測定한 結果 두 品種 共히 12 時間으로 나타났다.

30°C 에서는 ^3H -thymidine을 label 시킨 後, 섬진벼에서 1時間 째부터 label 된 metaphase 細胞 數가 15°C 와 20°C 에 比較하여 많이 나타났으며 2 時間 째에 最高點을 이루었다. 6時間 째에 最低點을 보여 주었고 8 時間 째에 第二의 最高點을 이루었다 (Fig. 6). 서광벼에서도 1時間 째부터 label 된 metaphase 細胞가 나타나기 시작하여 2時間 째부터는 그 數가 急激하게 增加하여 4時間 째에 最高點을 나

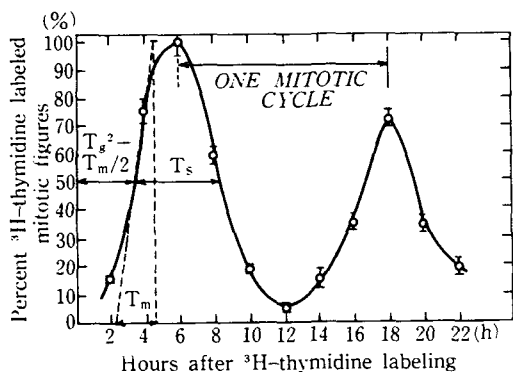


Fig. 4. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Sumjin') root meristem as measured with ^3H -thymidine at 20°C .

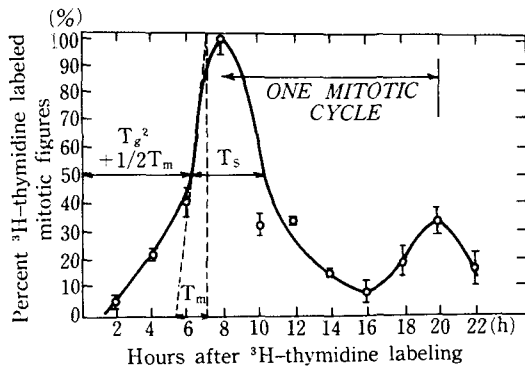


Fig. 5. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Seokwang') root meristem as measured with ^3H -thymidine at 20°C .

타냈다. 이어서 label 된 metaphase 細胞數가 急激하게 減少되어 7時間 째에는 最低點을 이룬 뒤, 前時間보다 약간 느리게 增加하다가 10 時間 째에 第二의 最高點을 이루고 다시 서서히 下降하는 傾向을 보였다 (Fig. 7). 30°C 境遇도 두 品種 共通의 으로 MCD가 6 時間으로 測定되었으므로 35% intercepts를 使用하는 方法도 適用할 수 있었다.

以上の 結果로 미루어 볼 때 벼의 MCD 測定은 label 된 metaphase 細胞가 pulsing 後 時間이 경과함에 따라 나타나는 數로 그려진 曲線上의 2 개의 peak를 連結한 時間間隔을 定하는 것이 適合한 것으로 推料된다. 30°C , 20°C 및 15°C 에서 測定된 섬진벼와 서광벼의 MCD를 다시 Gould가 提示한 model로 各各의 phase別 期間을 定한 結果는 Table 1과 2에 나타난 바와 같다. Gould의 model로 20°C 와 30°C 의 MCD를 各 phase別로 測定할 수 있었으나 15°C 에서는 label 된 meta-

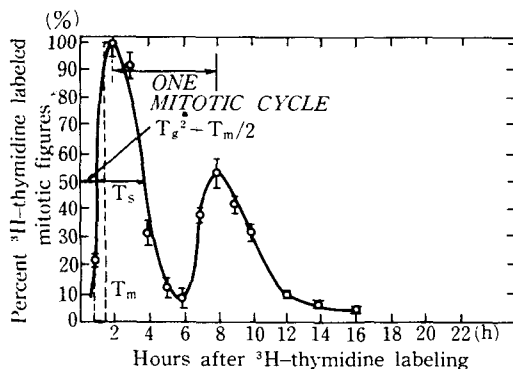


Fig. 6. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Sumjin') root meristem as measured with ^3H -thymidine at 30°C .

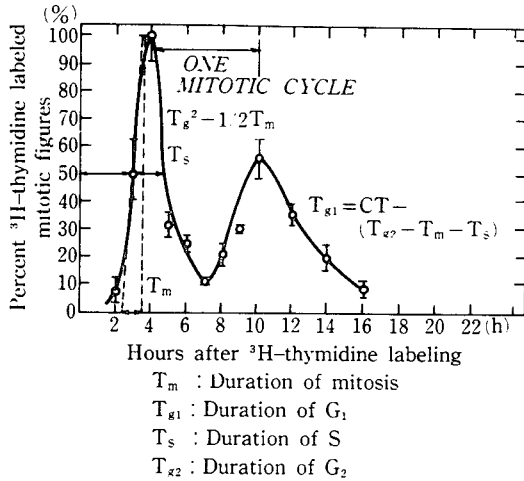


Fig. 7. The mitotic cycle duration of rice (*Oryza sativa* L. 'Seokwang') root meristem as measured with ³H-thymidine at 30°C.

phase 세포의 出現이 20°C에 比較하여 섬진벼에서는 3時間, 서광벼에서는 4時間 지연되어 phase 期間 測定이 어려웠다. 이와같이 지연현상이 低溫에 依한 物質吸收가 느린 理由인지 또는 物質代謝에 依한 것이 主要原因인지는 앞으로 더 검토되어야 할 것으로 생각된다. 20°C에서 30°C로 培養溫度가 上昇함에 따라 섬진벼에서는 各 phase의 相對的인 期間이 달라진 반면에 서광벼에서는 各 phase의 期間이 거의 一律的으로 짧아졌다. 溫度가 上昇함에 따라 섬진벼에서 G₁과 S phase의 期間은 增加하였으나 G₂와 M phase의 期間은 相對的으로 짧아졌다. 그러나 서광벼에서는 各 phase가 거의 一律的으로 짧아지며 그 相對的인 期間도 별로 달라지지 않았음을 볼 수 있다. 이러한 反應의 差異는 品種固有의 特性으로 생각된다.

Lopez-saez 등⁸⁾과 Gozalez-Fernández 등³⁾이 양파의 뿌리로 溫度에 대한 細胞週期の 反應을 觀察한 結果는 서광벼의 結果와 一致하는 傾向을 보였다. 그러나 섬진벼의 경우는 Burholt와 Van't Hof²⁾

Table 1. Duration of mitotic cycle and component phases in rice (*Oryza sativa* L. 'Sumjin') root tips at various temperature.

Phase	Mean duration (H)		
	15°C	20°C	30°C
G ₁		2.0	1.8
S		4.4	2.6
G ₂		3.2	0.6
M		2.4	0.8
T (Cycle)	18.0	12.0	6.0

Table 2. Duration of mitotic cycle and component phases in rice (*Oryza sativa* L. 'Seokwang') root tips at various temperature.

Phase	Mean duration (H)		
	15°C	20°C	30°C
G ₁		3.0	1.5
S		3.0	1.5
G ₂		3.5	2.0
M		2.5	1.0
T (Cycle)	20	12.0	6.0

의 研究報告와 비슷한 傾向을 보였다. 그들은 해바라기 뿌리로 溫度에 따른 細胞週期和 뿌리 生長反應에 對하여 研究하였는데 이는 溫度가 變함에 따라 G₂와 M期의 相對的 期間은 일정한 반면, 溫度가 上昇함으로 MCD가 단축될 때 S期의 相對的 期間은 增加하고 G₁ 期間은 減少하였다고 報告한 것을 比較하여 볼 때 溫度의 變化에 따라서 細胞期間中の 各 phase의 反應이 다르다는 것을 暗示하고 있다. 또한 30°C, 20°C 그리고 15°C의 培養條件에서 얻어진 섬진벼와 서광벼의 各相의 MCD를 比較하여 보면 30°C에서 20°C로 溫度가 10°C 變할 때 MCD는 倍로 增加하였는데 이것은 벼의 生長에 필요한 物質代謝作用이 一般的으로 適用되는 Q₁₀의 概念과 一致하는 것으로 생각된다. 한편 20°C에서 15°C로 5°C 變하는 境遇도 MCD가 거의 倍로 지연되었는데 이는 벼의 生育溫度가 거의 最低點에 가까워져서 物質代謝作用이 급격하게 減少되었기 때문이 아닌가 생각된다.

2. DNA, RNA와 protein 測定

細胞가 分裂하기 위해서는 一定의 要求條件들이 이루어져야 된다. 즉 細胞의 遺傳情報가 正確하게 複製됨과 아울러 다른 構成要素들도 複製되어야 한다. DNA, RNA 그리고 protein 合成은 細胞分裂의 先行條件들이다. 이들의 合成도중에 外部要因에 依하여 干涉받게 되면 細胞週期는 영향을 받게 된다.¹³⁾ 溫度가 벼의 細胞週期에 어떻게 영향을 미치는가를 究明하기 위하여 그 主要原因의 하나로 생각되는 DNA, RNA 및 protein 合成을 調査하였다. Table 3이 보여주는 바와 같이 15°C에서 30°C로 溫度가 上昇함에 따라 DNA 合成이 섬진벼와 서광벼에서 各各 減少하는 추세였다. RNA 合成에서는 섬진벼와 서광벼 共히 溫度가 上昇함에 따라 減少하는 추세가 더욱 현저하였다. Protein 合成은 섬

Table 3. ^3H -thymidine incorporation into DNA, ^3H -uridine into RNA, and ^{14}C -leucine into protein as CPM per 20 rice root tips to various temperature for 8 hour incubation.

Varieties	Temperature	CPM/20 root tips		
		DNA	RNA	Protein
	15°C	20728	30799	26784
	20°C	24586	14693	10394
	30°C	15031	5967	5070
	15°C	22547	40781	27423
	20°C	18003	9081	19331
	30°C	10684	3775	4359

진벼와 서광벼에서 RNA 합성과 비슷한 추세로 감소하였다. 一般적으로 溫度가 上昇함에 따라 植物體內的 生化學的 作用이 上昇하는 것으로 알려져 있으며 모든 合成度 增加되는 것으로 받아들여지고 있다. 그러나 本 實驗에서 보여준 結果는 豫想과는 反對였다. 이러한 結果에 대하여는 2 가지 觀點에서 검토되어야 할 것이다.

첫째는 15°C와 30°C 범위에서 DNA, RNA 및 protein 合成량은 비슷하지만 溫度가 上昇함에 따라 代謝作用이 增加되어 合成량이 더 많이 消耗되는 것은 아닌가?

둘째는 溫度가 下降함에 따라 溫度 stress에 適應하기 위하여 더 많은 protein을 合成하는 것은 아닌가 생각된다.

考 察

Japonica 型 品種인 섬진벼와 統一型 品種인 광벼의 細胞週期를 測定하였으며 이들 品種이 溫度의 變化에 따른 細胞週期の 變化를 調査하였고 DNA, RNA 및 protein 合成관계도 검토하였다.

아직까지 벼의 細胞週期에 관한 研究報告가 없는 실정으로 본 실험에서는 細胞週期를 測定할 境遇에 一般적으로 사용되는 35% intercepts 測定法과 두 最高點을 連結하여 測定하는 方法을 使用하였다. 15°C에서 섬진벼는 두 方法을 使用할 수 있었으나 MCD가 3時間의 差를 보였으며 서광벼에서는 最高點 測定法만이 가능하였고 MCD는 20時間으로 測定되었다. 20°C에서도 15°C에서와 같이 最高點 測定法만이 共通으로 使用될 수 있었으며 MCD가 12時間이었다. 단 섬진벼에서는 두 方法에 의한 MCD時間差는 1時間이었다. 30°C에서는 두 品種 共히 두 方法을 使用할 수 있었으며 MCD時間差도

없었다. 以上の 結果를 綜合하여 볼 때 벼의 MCD 測定은 두 最高點을 連結하여 測定하는 方法을 使用하는 것이 適合한 것으로 보인다. Van't Hof¹⁷⁾는 6種의 植物의 MCD를 測定하였으며 植物의 種에 따라 적합한 測定方法을 擇하는 것이 有利하다고 報告하였다. Fig. 1은 Gould⁴⁾가 두 方法을 要約한 model이다. 溫度가 上昇함에 따라 MCD가 減少한다는 것이 一般적으로 받아들여지고 있다.¹⁰⁾ 15°C에서 20°C로 上昇함에 따라 섬진벼는 67%, 서광벼는 60%로 MCD가 짧아졌고 다시 20°C에서 30°C로 上昇함에 따라 두 品種 共히 MCD가 倍로 짧아졌다. 이 結果는 溫度가 10°C 上昇함에 따라 植物體內的 化學反應이 倍가 된다는 Q_{10} 概念과도 一致하였다. 溫度에 따른 Japonica型 品種과 統一型 品種間의 MCD는 20°C와 30°C에서는 두 品種이 同一하였으나 15°C에서 各各 18時間, 20時間으로 다르게 나타났다. 이러한 사실은 Japonica型 품종인 섬진벼가 통일형 품종인 서광벼에 비하여 低溫에 강하다는 것을 입증해 주는 것으로 보여진다 (Table 1, Table 2). MCD의 各 phase 測定은 Gould⁴⁾ model에 따랐다. 20°C와 30°C에서는 섬진벼와 서광벼 共히 各各 phase 期間을 測定할 수 있으나 15°C에서는 G_2 期에 該當되는 部分이 너무 길어지는 傾向으로, Gould의 model로는 測定이 不可能하여 여기에 대한 研究가 必要하다고 思料된다. 서광벼에서는 20°C에서 30°C로 溫度가 上昇함에 따라 各 phase의 期間이 거의 一律적으로 짧아졌으며 그 相對的인 期間도 거의 달라지지 않았음을 알 수 있다 (Table 2). 이는 Lopez-Saez 등⁸⁾과 Gonzalez-Fernández 등⁹⁾이 양과의 뿌리로 溫度에 對한 細胞週期の 反應을 觀察한 바와 一致하는 結果였다. 그러나 섬진벼에서는 20°C에서 30°C로 上昇함에 따라 G_1 의 MCD 相對的 期間은 約 倍로 길어지는 반면에, G_2 와 M期的 相對的 期間은 約 倍로 짧아졌다. Burbolt와 Van't Hof²⁾는 해바라기 溫度의 變化에 MCD의 各 phase 期間도 달라진다고 報告한 바 있다. 以上の 結果와 研究報告를 根據로 생각하여 볼 때 溫度의 變化에 따른 各 phase의 反應은 植物의 種類 및 品種에 따라 差異가 있다고 思料된다.

DNA, RNA 및 protein 合成이 溫度가 下降함에 따라 增加하는 趨勢이었다. 이러한 現象의 原因은 2가지 類型으로 나누어 생각할 수 있을 것이다. 첫째는 絶對 合成量의 增加이고, 둘째는 絶對 合成량

은 비슷하나 消耗量이 減少하는 경우이다. 溫度가 下降함에 따라 아미노산을 합성하는 feedback control 機作的 感應度가 鈍化되어 아미노산을 過剩生産한다는 報告⁷⁾와 溫度가 낮아지면 低溫에 適應하기 위하여 protein 濃度を 增加시킨다는 報告⁹⁾는 溫度가 下降함에 따라 protein 合成이 增加하게 될 可能性을 提示하여 주고 있다. 본 실험에서 溫度가 30°C에서 15°C로 下降함에 따라 MCD가 約 3~3.3 倍나 遲延된 반면 protein 量은 5~6 倍가 增加하였다. 細胞가 分裂한 後에 成熟하는데는 많은 有機物이 소요되는 것을 考慮해 보면 15°C에서 30°C間의 溫度에서 合成量은 비슷하나 消耗量의 差로 인한 結果로도 推定할 수 있다. 어쨌든 여기에 대한 具體的인 原因究明의 研究가 必要하다고 생각된다. DNA, RNA 및 protein 合成이 抑制되면 細胞分裂이 抑制되고 分裂하는 細胞는 G₁ 期나 G₂ 期에서 靜止되는 것으로 알려져 있다.^{19,21)}

벼의 경우에는 溫度가 낮을 때 細胞週期가 遲延되었어도 DNA, RNA 및 protein 合成이 增加된 것으로 보아 植物體內的 物質代謝가 細胞分裂에 깊이 관련된 것으로 思料된다.

摘 要

本 研究는 Japonica 型 品種인 섬진벼와 統一型 品種인 서광벼의 細胞週期를 測定하고 溫度의 下降에 따른 細胞週期の 遲延을 測定하여 品種間의 差異가 있는지를 調査하였다. 또한 細胞週期를 phase 別로 期間을 測定하고 溫度의 變化에 따른 各 phase 期間變化로 調査하였다. 아울러 DNA, RNA 및 protein 合成量도 測定하여 細胞週期和 어떠한 관련성이 있는지를 調査하였는데 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 섬진벼와 서광벼의 細胞週期는 30°C에서 6 時間, 20°C에서 12 時間으로 同一하였으나 15°C에서는 섬진벼 18 時間, 서광벼 20 時間으로 나타났으므로 보아 Japonica 型 品種인 섬진벼가 통일형 품종인 서광벼에 비하여 冷害에 강한 것으로 나타났다.

2. 細胞週期로부터 測定된 各 phase 別 期間은 섬진벼가 20°C에서 T_{G1} = 2.0, T_S = 4.4, T_{G2} = 3.2 그리고 T_M = 2.4 時間이었고, 30°C에서 T_{G1} = 1.8, T_S = 2.6, T_{G2} = 0.6 그리고 T_M = 0.8 時間이었다. 서광벼에서는 20°C에서 T_{G1} = 3.0, T_S = 3.0, T_{G2}

= 3.5 그리고 T_M = 2.5 時間이었고 30°C에서 T_{G1} = 1.5, T_S = 1.5, T_{G2} = 2.0 그리고 T_M = 1.0 時間이었다. 20°C에서 30°C로 培養溫度가 上昇함에 따라 섬진벼에서는 20°C에 비하여 30°C에서 G₁ 期는 길어졌고 G₂ 期와 M期는 짧아졌다. 그러나 서광벼에서는 各 phase의 相對的 期間이 거의 일정한 比率이었다.

3. DNA, RNA 및 protein 合成은 溫度가 下降함에 따라 增加하는 경향이였다.

引 用 文 獻

1. Albright, E.B., T.S. Nowak, Jr. and M.N. Munro. 1978. Assessment of counting efficiencies of labeled protein and macromolecules in filter disk assays. *Anal. Biochem.* 91: 258-263.
2. Burholt, D.R. and J. Van't Hof. 1971. Quantitative thermal induced changes in growth and cell population kinetice of *Helianthus* roots. *Amer. J. Bot.* 58: 386-393.
3. Gonzalez-Fernandez, A., G. Gimenez-Martin and C. de la Torre. 1971 a. The duration of the interphase periods at different temperatures in root tip cells. *Cytobiologie* 3: 367-371.
4. Gould, A., R. 1984. Cell cycle analysis by coventional methods, in cell culture ed. Vasil, I.K. Academic Press, New York. pp. 753-764.
5. Howard, A. and S.R. Pelc 1953. Synthetic of deoxyribonucleic in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity suppl.* 6: 261-273.
6. Kim, J.C. 1983. The mode of action of CGA82725 and DOWCO453. Ph.D. dissertation. Ohio state Univ. Columbus, OHIO.
7. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York. pp.23-53.
8. Lopez-Saez, J.F., G. Gimenez-Martin, and A. Gonzalez-Fernandez. 1966. Duration of the cell division cycle and its dependence on temperature. *z. zellforschung und Mikroskopische Anatomic* 75: 591-600.
9. Lyons, J.M. and D.J.K. Raison. 1979. Low

- temperature stresses in crop plants Academic Press, New York, pp.463-472.
10. Nishinari, N. and K. Syono 1980. Identification of cytokinins associated with mitosis in synchronously cultured tobacco cells. *Plant & Cell Physi.* 21(3) : 383-393.
 11. Quastler, H. and F.G. Sherman 1959. Cell population kinetics in the intestinal epithelium of mouse. *Exp. Cell research* 17 : 420.
 12. Rogers, A.W. 1979. Techniques of autoradiography. Elsevier North-Holland Biochemical press.
 13. Rost, T.L. and D.E. Bayer 1976. Cell cycle population kinetics of pea root tip meristems treated with prophan. *Weed Sci.* 24(1) : 81-87.
 14. Rost, T.L. and E.M. Gifford, Jr. 1977. Mechanisms and control of cell division. Dowden, Hutchinson & Ross Inc. Pennsylvania.
 15. Tsunoda, S. and N. Takahashi 1984. Biology of rice. Japan Scientific Soc. press, Tokyo.
 16. Van't Hof, J. and H.K. Ying 1964. Simultaneous marking of cells in two different segments of the mitotic cycle. *Nature* 202-981.
 17. Van't Hof, J. 1965. Relationships Between Mitotic cycle duration, S period duration and the Average rate of DNA synthesis in the Root meristem cells of several plants. *Exp. Cell Res.* 39 : 48-58.
 18. _____. 1968. Experimental procedures for measuring cell population kinetics parameters in plant root meristems, in *methods in cell physiology prescott. D. ed. V3 : 95-117.*
 19. Van't Hof, J. and C.J. Kovacs 1972. Mitotic cycle regulation in the meristem of cultured roots : The principle control point hypothesis. *Ad. exp. medi. & biology* 18 : 15-32.
 20. Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips 1981. Growth & differentiation in plants. Pergamon press, New York.
 21. Webster, P.L. and J. Van't Hof. 1970. DNA synthesis and mitosis in meristem : Requirements for RNA and Protein synthesis *Amer. J. Bot.* 57 : 130-139.
 22. Yeoman, M.M. 1976. Cell division in higher plants. Academic press, New York.