

미토콘드리아 호흡활성 전이온도의 측정에 의한 벼 품종별 상대적 내냉성판정

정진·김희정

서울대학교 농과대학 농화학과

(1987년 10월 27일 수리)

Transition Temperature of Mitochondrial Respiratory Activity as an Index for Chilling Susceptivity of Varieties of Rice Plant

Jin Jung and Hee-Jung Kim

Department of Agricultural Chemistry, Seoul National University, Suwon, Korea

Abstract

The transition temperature of respiratory activity of mitochondria isolated from panicles of rice plant was measured with 41 varieties bred in Korea, which had been agronomically classified into five groups based on their relative cold-tolerance; S (strong cold-tolerance), S-M (moderate to strong cold-tolerance), M (moderate cold-tolerance), M-W (moderate to weak cold-tolerance) and W (weak cold-tolerance). The temperature was found to be 11.5~13.5°C for group S, 13.5~16°C for group S-M, 16~17°C for group M, 17~18°C for group M-W, and $\geq 18^\circ\text{C}$ for group W respectively with a few exceptions of minor deviation, demonstrating a close correlation between the transition temperature and the chilling susceptibility of a variety. This observation supports the suggestion that the transition temperature of respiratory activity of panicles be adopted as a reliable index for grading a rice variety as to its overall cold tolerance. Also studied is on the methodology for measurement of the transition temperature in the aspect of analytical biochemistry. In addition to the usual polarographic method, a spectrophotometric method which is based on the enzymatic assay of membrane-bound cytochrome C oxidase was examined. This enzyme was found previously and confirmed again in the present work to be a key factor governing the respiratory transition at least in plant mitochondria. The optical method was turned out to be very successful, although it was a little more complicate and time-consuming than the electrochemical method.

서론

저자들은 벼 품종별 상대적 내냉성정도를 지시하는 객관적 지표로서 미토콘드리아, 특히 유수로부터 분리한 미토콘드리아의 호흡활성전이온도를 이용할 수 있을 지도 모른다는 가능성을 제시한 바 있다.¹⁾

많은 품종들이 육성되고 있는 벼에 있어서, 새로 육성된 품종이 일반재배를 위해 보급되기 전에 재배 작물학적 특성과 함께 그 내냉성을 검정하는 것은 대단히 중요한 일이다.

모든 곡류작물에서와 마찬가지로 벼의 내냉성을 검정하는 간편한 방법—더욱 바람직스럽기는 실 현실적 방법—은 아직 확립된 것이 없다. 온도조절이 가능한 환경하에서 직접 작물을 재배하면서

냉해의 결과라고 해석할 만한 생장의 제반 저해현상들을 관찰하고 이를 종합적 평가하는 일이 일반적인 상대적 냉생성 검정방법이라 할 수 있다. 그러나 이와같은 관행의 방법도 그 응용에는 상당한 제한이 따른다. 수도작과 같이 파종에서부터 수확기까지 장기간이 요하는 규모 큰 재배실험을 조절된 환경하에서 실시한다는 일이 결코 용이할수 없기 때문이다. 현재로서는 강원도 춘천소재의 수도 냉생성 검정시험포장이 국제적으로 유명한 유일한 시설로 알려져 있으며, 이곳에서는 재배중 온도조절(저온처리)을 위하여 연중 약 17°C내외의 지하수를 이양후 20일째부터 계속하여 관수하는 방법을 택하고 있다. 이러한 방법은 비록 원시적이긴 하나 많은 품종에 대해 장기간 비교실험을 해야하는 수도작의 경우에 현실적으로 유일한 방법일지도 모른다. 그러나 그것이 안고 있는 실험수행상의 문제점, 이를 떠넘 지역적 제한성, 기상조건의 변화에 의한 재현성의 문제, 방대한 포장시설 및 그 관리를 위한 상당한 노동력 등을 고려하면 작물의 어떤 생화학적 특성을 냉생성의 지표로서 이용할 수 있는 간편한 냉생성 검정방법을 확립하는 것은 아마도 절실히 요구되는 일일 것이다.

본 연구는 前報를 통해¹⁾ 제안하였듯이 벼유수 미토콘드리아의 호흡활성전이 온도를 냉생성 판정의 객관적 지표로 이용할 수 있음을 입증하기 위하여 관행의 방법으로 냉생성 판정이 이루어진 41품종을 택하여 수행되었다.

재료 및 방법

재 료

국내에서 육종된 벼종자 41품종은 서울대학교 농학과 허문회교수로 부터 분양받아, 본교 부속농장에서 1987년 4월 25일에 파종하고 동 6월 5일에 이양하여 일반적인 방법대로 재배하였다. 동 8월 1일부터 8월 25일까지에 걸쳐 각 품종별로 유수를 채취하고 미토콘드리아를 분리하여 시료로 사용하였다.

모든 유기 및 무기시약은 Ep 내지 GR grade였고 생화학적 시약은 Sigma제품들로서 정제없이 사용하였다.

방 법

본 연구를 위해서는 정제된 Submitochondrial particles(SMP)의 준비가 요구되지 않으므로 유수

로부터 분리한 미토콘드리아를 단순히 초음파처리(20초간 5회)하여 곧 호흡측정에 사용^{2,3)}하였다. 초음파처리는 기질로 사용한 NADH가 내막에 접촉할 수 있도록 하기 위하여 내막을 뒤집는 일이 필요하기 때문이다.

호흡활성은 자가제작한 polarograph를 사용하여 시료용액중 용존산소의 단위시간당 감소속도로서 측정하였으며 전압은 -0.4V(vs.SCE)로 고정하였고 실험과정 및 데이터의 처리는 前報³⁾에서와 같다. 각 온도별로 4회이상 호흡활성을 측정하여 Q test를 실시한 후에 평균치로서 해당온도에서의 호흡활성을 각각 나타내었다. 미토콘드리아의 호흡활성의 단위는 통상적으로 소모된 O₂ nmoles/min/mg protein로 표시하고 있으나 호흡활성전이 온도를 알아내기 위해서는 활성의 상대적 크기의 변화만을 측정하면 되므로 시료중의 단백질 함량을 구할 필요가 없었다.

미토콘드리아 내막에 결합되어 있는 cytochrome C oxidase의 활성은 Cyt. C(Fe²⁺)→Cyt. C(Fe³⁺)의 효소반응에 수반되는 550nm에서의 흡광도변화에 기초하여 측정하였다.^{4,5)} Cyt. C(Fe²⁺)는 구입한 Cyt. C(Sigma제품: 대부분 산화형이지만 일부 환원형이 혼합되어 있음)을 dithionite로 처리한 다음 Sephadex G-25 column으로 분리(Void volume에서 수거)하였다.^{4,5)}

미토콘드리아 호흡계의 NADH dehydrogenase 활성은 KCN첨가로서 O₂로의 전자흐름을 막은 다음 NADH를 전자공여기질로 그리고 DCIP를 전자수용기질로 하여 DCIP의 환원에 수반되는 600nm에서의 흡광도 감소속도에 기초하여 측정하였다.^{7,8)}

NADH-Cyt. C reductase의 활성은 역시 KCN 존재하에서 NADH를 전자공여기질로 그리고 Cyt. C(Fe³⁺)을 전자수용기질로 하여 Cyt. C(Fe³⁺)의 환원에 수반되는 550nm에서의 흡광도변화속도로서 측정하였다.^{9,10)}

결과 및 고찰

호흡활성 온도의존성의 반응속도론적 특성

Arrhenius plot를 이용하여 미토콘드리아의 호흡활성과 온도와의 상관관계를 도시할때 냉해발현 온도를 중심으로 한 5~25°C의 온도구간내에는 두 개의 반응 phase가 명확히 분리되었다. 두 반응 phase의 존재는 막의 물리적 상전이 즉, 액체결정

상(liquid crystal 또는 ordered liquid phase)에서 고체고질상(solid gel phase 또는 disordered solid phase)로의 전이에 기인하는 것으로 해석되고 있다. 2, 11, 12)

그런데 비호흡활성의 Arrhenius plot에는 두가지 형태가 공존함을 관찰하였다. Fig. 1의 전형적인 예에서 보여주는 바와 같이, 두개의 반응 phase가 한 점에서 연결되어 전이온도가 확정되는 type (type 1이라 하자)과 두 phase가 완전히 분리되어 (즉 $\ln K$ 의 갑작스런 변화가 일어나) 한 점의 전이온도 대신 전이온도구간으로 나타나는 type (type 2라 하자)가 있었다. 이와같은 현상은 식물의 종류에 따라서 더러 관찰되는 일이지만^{13, 14)} 동일한 종의 여러 품종(Cultivar)들간에서는 보고된 일이 없다는 점에서 흥미있는 일이다. 前者의 경우는 첫번째 반응 phase와 두번째 phase간에는 활성화 에너지에 상당한 차이가 있음에도 불구하고 전이온도 직전과 직후의 온도에서 반응속도(따라서 호흡활성)들은 큰 차이가 없다. 그러나 type 2의 경우는 그들간에 상당히 큰 폭의 변화가 있을수 있다. 즉, 전이온도구간 바로 밑의 온도에서 호흡활성이 상대적으로 크게 그리고 갑작스럽게 저하된다.

저온에서 막의 상전이에 의한 미토콘드리아 호흡활성의 비정상적인 저하(즉 호흡활성의 저해)를 식물병해의 한 원인으로 보는 관점이 상당히 지지받고 있다는 점에서 볼때^{11, 12)}, 상대적으로 내냉성이 약한 품종들이 type 2에 속할지도 모른다는 기대를 가질수도 있다. 모든 공시품종들에 대한 호흡활성의 Arrhenius plot들을 검토한 결과 그것들은 품종별 내냉성과 무관한 것으로 나타났다. 이를테면 type 1에 속하는 품종들에는 '상풍', '치악', '복강', '동진', '남풍', '칠성' 등과 같이 내냉성이 강한 품종으로 부터 약한 품종까지 고르게 분포되어 있었다. Type 2에 속하는 품종들에서도 '설악', '대성', '영산', '농백', '대창', '삼강', '청청', '원풍'과 같이 역시 내냉성 강으로부터 약에 이르기까지 고른 분포를 보였다. 이러한 사실이 호흡활성의 저해가 냉해의 한 원인이 된다는 가설자체를 부인하는 근거자료로 쓰이지는 않는다. 왜냐하면, 전이온도 바로 밑의 온도에서는 물론 type 2가 보다 큰 활성화저해를 경험하게 되지만, 수°C정도이하에서는 두번째 phase의 활성화에너지(Ea)가 첫번째 phase의 Ea에 비하여 상대적으로 얼마만큼 증가했느냐에 따라서 활성화저해 정도가 실질적으로 결정되기 때문이다.

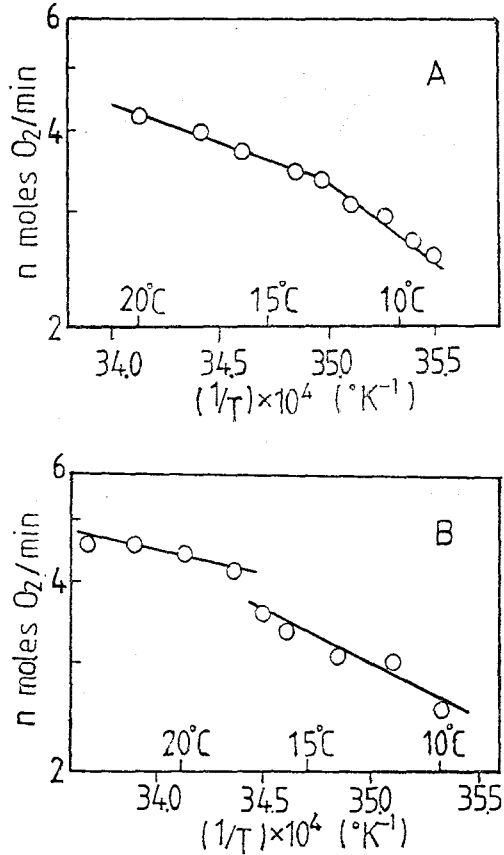


Fig. 1. Two typical examples of Arrhenius plot of mitochondrial respiratory activity(N-ADH oxidase activity): Mitochondria were prepared from rice panicles. A; Variety "Chiak" represents type 1. B; Variety "Taeback" represents type 2.

두번째 반응 phase의 증가된 Ea와 내냉성간에 어떤 관계가 있는지를 보기 위하여 역시 Arrhenius plot들로부터 Ea를 계산하여 보았다. 그러나 이들 양자간에는 어떤 상관성도 발견되지 않았다.

호흡활성의 전이온도와 내냉성

공시품종들의 미토콘드리아 호흡활성 전이온도를 측정하여, 이를 춘천 내냉성검정시험장에서 포강실험을 통해 얻은(냉수처리에 의한 생육상태 검정을 통해 판정한) 상대적 내냉성정도에 따라 분류한 group별로 정리하였다(Table 1).

이 결과에 의하면 몇가지 품종에서 보여주는 약간의 벗어남을 제외하고는 냉수처리에 의한 포장 시험을 통해 판정된 강내냉성 품종들은 호흡활성

Table 1. Transition temperature of mitochondrial respiratory activity of varieties of rice plant grouped based on the overall cold-tolerance

Group*	Variety and transition temperature (°C) in parenthesis
S (strong cold-tolerance)	<i>Sangpung</i> (11.5) <i>Hwaseong</i> (12.5) <i>Daeseong</i> (12.5) <i>Namyang</i> (12.5) <i>Odae</i> (12.8) <i>Chunma</i> (12.8) <i>Seolak</i> (12~13) <i>Baekyang</i> (13) <i>Chiak</i> (13) <i>Sobaek</i> (13.5)
S-M (strong to moderate cold-tolerance)	<i>Dobong</i> (13.5) <i>Bokgang</i> (13.5) <i>Nongbaek</i> (13.5~14.5) <i>Yeong Deok</i> (14~14.5) <i>Nongrim na Iho</i> (14.5~15.5) <i>Kwanak</i> (14~16) <i>Sinseonchal</i> (14.5~16) <i>Yeongsan</i> (15.5)
M (moderate cold-tolerance)	<i>Bonggang</i> (16) <i>Dongjin</i> (16) <i>Chucheong</i> (16) <i>Seomjin</i> (16~17) <i>Nakdong</i> (16.5) <i>Daechang</i> (16.4~17.5) <i>Palgeum</i> (17~18)
M-W (moderate to weak cold-tolerance)	<i>Kaya</i> (16~17) <i>Taebaek</i> (17~18) <i>Baekunchal</i> (17~18) <i>Pungsan</i> (17~18.4) <i>Samgang</i> (17~18)
W (weak cold-tolerance)	<i>Cheongcheong</i> (17~18) <i>Jungweon</i> (17.5) <i>Weonpung</i> (17~18.2) <i>Yongmun</i> (18) <i>Nampung</i> (18) <i>Singwang</i> (18) <i>Chilseong</i> (18) <i>Jangseong</i> (18.5) <i>Seogwang</i> (18.5~19) <i>Hangangchal</i> (18.5) <i>Baekyang</i> (19~20)

* The overall cold-tolerance was evaluated with observation of the growth characteristics of rice plants grown in field under continuous cold-water stress after transplant in Chuncheon, Korea. Refer to the reference¹⁵⁾

전이온도가 11~13.5°C, 강-중 품종들은 13.5°C ~16°C, 내냉성이 중으로 판정된 품종은 16~17°C, 중-약 품종들은 17~18°C, 그리고 약내냉성 품종들은 18°C 이상으로 나타났다. 앞에서 지적한 몇가지 예외는 중약으로 판정된 '가야'가 호흡활성전이온도에 의하면 중으로 분류될 것이며, 중으로 판정된 '팔금'은 중약으로, 그리고 약으로 판정된 '증원', '원풍', '청청'은 중약으로 분류될 것이다.

Table 1의 결과는 '최소한 벼에 관한 한 품종별 상대적 내냉성을 결정하는 주인자는 미토콘드리아 막의 상전이온도이다'라는 결론을 도출하는 데 충분하다고 생각된다. 무작위로 선택한 41품종의 벼들에서 단 5개 품종만이 판정등급상 1단계의 미소한 벗어남이 있었다 하더라도 재배학적 방법에 의한(포장시험을 통한 성장특성의 조사에 입각한)등급화과정이 갖는 정량성의 한계를 고려한다면, 양자의 결과는 오히려 놀라울 정도로 잘 일치된다고 판단된다. 그리고 재배기간중 기상조건과 같은 환경요인의 변화에 따라서도 내냉성이 어느 정도의 영향을 받게 될 것이므로 현행의 포장검정방법으로서 내냉성을 세분하여 등급화하는 것은 무리가

있을 수 있다. 실제로 Table 1에 이용된 내냉성별 분류는 농촌진흥청 발행 '식량증산 기술지도 지침¹⁵⁾' 1986년도 판에 준하였으나 그이전에 발행된 기술지도지침 내지 시험사업연구 보고서¹⁶⁾등을 함께 검토하면 품종에 따라서는 판정된 등급이 약간의 차이가 있는 것을 발견하게 된다.

호흡활성의 전이온도는 세포의 생화학적 특성을 나타내는 물리적 단위를 갖는 수치이다. 따라서 Table 1의 결과는 내냉성이라고 하는 한 생리적 성질이 단위를 갖는 절대적 수치로서 수량화될 수 있음을 입증한 최초의 자료이다.

물론 호흡활성전이온도를 수치 그대로 내냉성의 척도로 이용한다면 재배상의 실무적 응용에 있어서는 어색할 것이다. 따라서 여기서 제안하고자하는 바는 강내냉성 품종의 호흡활성전이온도와 약내냉성품종의 호흡활성전이온도 사이의 온도구간을 적절히 분할하여 낮은 온도구간으로부터 1부터의 정수로서 등급화 시키자는 것이다. 예를들면 본 연구에서 공시된 품종들 중에서는 '상품'의 11.5°C와 '백양'의 19~20°C가 최저 및 최고치였다. 더 많은 품종들을 조사하면 특히 외국에서 재배되는 품종들까지를 넓게 망라하여 측정하였다면

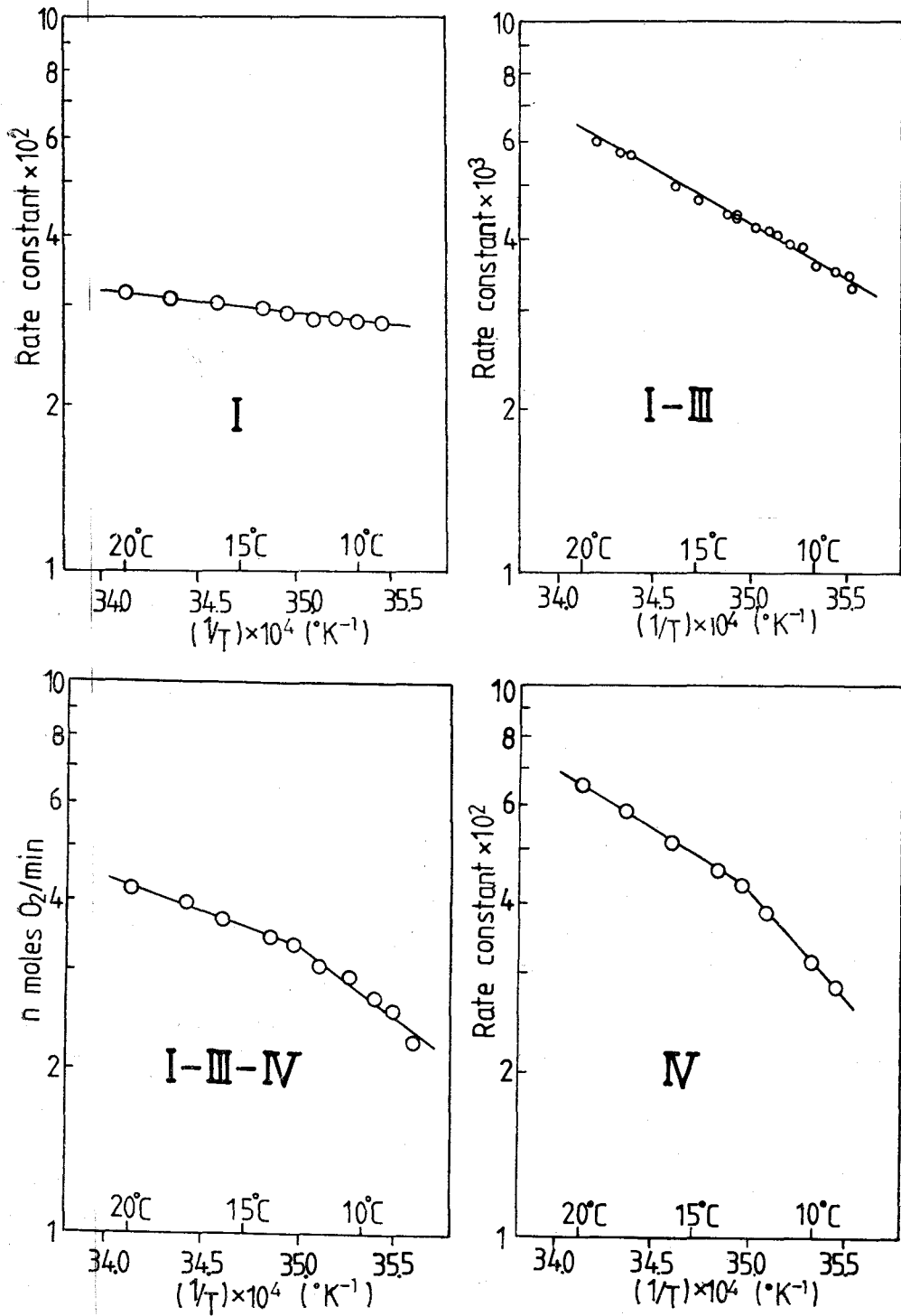


Fig. 2. Representative Arrhenius plots of mitochondrial electron transport enzymes: Mitochondria were prepared from panicles of rice variety "Chiak".

I-III-IV; NADH oxidase (Complexes I-III-IV)

I; NADH dehydrogenase (Complex I)

I-III; NADH-Cytochrome C reductase (Complex I-III)

IV; Cytochrome C oxidase (Complex IV)

그 온도범위가 넓어질 수도 있을 것이다. 그러나 재배학적인 응용을 위해서는 상대적인 비교로서 충분한 의미가 있으므로, 이를테면 12°C이하에는 1, 12~13°C에는 2, 13~14°C에는 3, 14~15°C에는 4, 15~16°C에는 5, 16~17°C에는 6, 17~18°C에는 7, 18~19°C에는 8, 그리고 19°C이상은 9를 각각 부여하여 9등급으로 나눌 수 있다. (실제로 매우 모호한 일이지만 국내 농업관계 연구소 내지 시험장에서는 주로 육안관찰에 의하여 유묘기 내냉성을 9등급으로 나누고 있다). 그러나 식물의 내냉성이 환경인자를 위시한 성장중의 여러가지 요인에 의해 변화될 수 있다고 가정할 때 세분화된 등급화는 무리한 일이다. 따라서 약 2°C간격으로 등급화시키는 것이 오히려 합리적일지도 모른다.

호흡활성전이온도 측정을 위한 방법론적 고찰

공시된 모든 품종들의 호흡활성전이온도의 측정은 이미 기술한 바 있듯이 적하수는 전극을 이용한 polarographic technique을 채택²⁾하여 이루어진 것이었다. 이 방법은 분석화학적 측면에서 여러가지 장점을 갖고 있다. 이를테면 미토콘드리아 시료의 전처리나 실질적으로 필요없고, 측정과정이 빠르고 조작이 단순하며, 데이터의 처리가 간단하다는 점 등이다. 아울러 저렴한 가격으로 쉽게 기기제작을 할 수 있다는 현실적인 장점도 있다. 그러나 한가지의 방법만을 이용하는 것보다는 제 2의 방법으로도 측정할 수 있다면 그것은 측정치의 신빙성을 높히는 데 상당히 기여하게 될 것이다. 단 제 2의 방법이 대단히 복잡하거나 혹은 시간적, 경제적으로 고가의 방법이 아닐때에 한해서이다.

본 연구실에서는 오이 열매와 벼의 Shoot로부터 얻은 미토콘드리아의 경우에 분광학적 방법으로 비교적 간단하게 호흡활성전이온도를 측정할바 있다.^{17,18)} 즉, 미토콘드리아 호흡계 사슬의 마지막 효소 Complex인 Cyt. C oxidase(Complex IV)의 효소활성에 대한 Arrhenius plot로부터 호흡활성전이온도를 얻을 수 있었다. 이는 최소한 오이 열매 및 벼 Shoot의 미토콘드리아의 경우에 NADH로부터 O₂에 이르는 전자전달계(호흡계)에서 membrane의 상전이에 수반되어 일어나는 호흡활성의 전이를 결정하는 효소 Complex가 Cyt. C oxidase라는 사실을 발견하고¹⁷⁾ 이에 근거한 것이었다.

우선 유수에서 분리한 미토콘드리아의 호흡활성

Table 2. Transition temperature of the enzymatic activity of the membrane-bound cytochrome C oxidase in mitochondria prepared from panicles of rice plants

Variety	transition temperature(°C)
<i>Hwaseong</i>	12.7
<i>Chiak</i>	13.2
<i>Nongbaek</i>	13.5~14.5
<i>Yeongsan</i>	15.3
<i>Seomjin</i>	16~17
<i>Nakdong</i>	16.4
<i>Taebaek</i>	17~18
<i>Samgang</i>	17~18
<i>Jungweon</i>	17.5
<i>Nampung</i>	18.1

전이기도 Cyt. C oxidase의 활성전이에 의해 결정되는지를 확인해 보았다. 그 결과는 기대했던 대로 Complex IV (Cyt. C oxidase)가 역시 호흡활성전이에 결정적인 역할을 하고 있는 것으로 밝혀졌다. Fig. 2에서 볼 수 있듯이 Complex I (NADH dehydrogenase)과 Complex I-III (NADH-Cyt. C reductase)는 그 효소활성이 Arrhenius plot상에 활성전이를 지시하는 불연속점이 보이지 않는데 반해 Complex IV에서는 그점이 나타났을 뿐 아니라 전체 호흡계 즉 Complex I-III-IV (NADH reductase)의 호흡활성전이온도와 실질적으로 정확하게 일치되었으며 양자의 속도론적인 특성도 유사하였다.

따라서 유수의 미토콘드리아에서도 호흡활성전이온도의 측정을 위하여 spectrophotometric method가 응용될 수 있음을 확인하였으며, Table 2의 결과가 이를 입증한다. 내냉성 정도에 따라서 10품종을 임의로 선택하여 측정된 Cyt. C oxidase(막에 결합된 효소)의 활성전이온도는 Table 2에 있는 동일품종의 호흡활성전이온도와 잘 일치하였다.

따라서 호흡활성 전이온도의 측정을 위해서 전기화학적 방법이나 상기한 분광학적 방법이나 어떤 것을 택하여도 동일한 결과를 기대할 수 있으므로 그것은 연구자의 선택에 달렸다. 다만 부연하고자 하는 바는 분광학적 방법이 이 경우에는는 전기화학적 방법보다 실험과정과 데이터 처리에 있어서 좀 더 복잡하고 시간이 걸린다는 점이다.

사 의

본연구를 위하여 모든 품종의 벼종자를 분양해 주신 본대학 허문회교수님과 포장재배에서부터 이 연구가 끝날때까지 열심히 도와준 연구실원들, 한창균, 이정원, 조문재군들에게 감사의 마음을 전합니다.

초 록

생육기간동안 냉수처리하는 포장시험(작물시험장 시험사업)을 통해 재배학적방법으로 상대적 내냉성정도가 판정되어 있는 벼 41품종을 재배하여 그 유수로부터 분리한 미토콘드리아의 호흡활성 전이온도를 측정하였다.

강내냉성으로 분류된 품종들은 11.5~13.5°C의 상대적으로 낮은 활성전이온도를 보였으며 내냉성이 약한 품종들일수록 그 온도가 높아졌다. 작물시험장의 내냉성 판정등급(강, 중강, 중, 중약 및 약)에 따라 그룹별로 해당품종들의 호흡활성 전이온도를 배열하면 그 순서는 그룹별로 내냉성이 약해지는 순서와 일치하였다. 이 결과는 유수미토콘드리아의 호흡활성 전이온도가 전반적 내냉성(overall cold-tolerance) 판정의 객관적 지표가 된다는 사실을 강하게 시사하고 있다.

호흡활성 전이온도의 간편한 측정을 위한 방법론을 분석생화학적 측면에서 검토하였다. 본연구에서 주로 이용한 polarographic method 이외에도 막에 결합된 cytochrome C oxidase가 호흡활성 및 그 전이온도를 결정한다는 발견에 입각하여 이 효소의 온도에 따른 활성변화를 spectrophotometric method로 측정하므로써 미토콘드리아 호흡계 전체의 활성전이온도를 측정할 수 있음도 확인하였다.

참 고 문 헌

- 정진, 이상기, 인만진 : 서울대학교 농학연구, 10(1-1) : 51(1985)
- 정진, 박상규 : 서울대학교 농학연구, 9(1-1) : 75(1984)
- 정진, 박상규, 이상기, 김세호 : 한국농화학회지, 28(4), 271(1985)
- L. Smith; Methods Biochem. Anal., 2, 427 (1955)
- T. Yonetani, S.R. Gisela: J. Biol. Chem., 240(8), 3392(1965)
- W.S. Caughey, W.J. Wallace, J.A. Volpe and S. Yoshikawa, in "The Enzymes" (P.D. Boyer, ed.), Vol. 13, pp.294(1976)
- L. Ernster and C.P. Lee, Ann. Rev. Biochem., 33 : 729(1964)
- T.P. Singer, Meth. Biochem. Anal., 22 : 151 (1974)
- Y. Hatefi and J.S. Pieske, Meth. Enz., 10 : 225(1967)
- S. Yamaki and I. Uritani, Plant Physio., 51 : 883(1973)
- J.M. Lyons, Ann. Rev. Plant Physiol., 24 : 445(1973)
- J.M. Lyons, J.K. Raison, and P.L. Stponkus, in "Low temperature stress in crop plant" (J.M. Lyons, D. Graham, and J.K. Raison, ed.), pp.1~24(1979)
- J.M. Lyons and J.K. Raison, Plant Physio., 45, 386(1970)
- J.K. Raison, J.M. Lyons and W.W. Thomson, Plant Physio., 142, 83(1975)
- 농촌진흥청 : 식량증산기술지도지침, 13~14(1986)
- 예종두, 김동진, 김종호, 최현옥 : 시험연구보고서(작시), 646(1981)
- 정진, 김세호 : 서울대학교 농학연구, 11(1-1) 13(1986)
- 김세호 : 서울대학교 석사학위논문 (1986)

1. 정진, 이상기, 인만진 : 서울대학교 농학연구,