

化學藥品와 低溫處理가 作物根端細胞의 Metaphase 出現頻도에 미치는 影響

서울대학교 農科大學

許 文 會 · 金 惠 英

The effect of chemicals and chilling treatments on the frequency of metaphase in root tips of some economic crops.

by. M.H. Huh and H.Y. Kim

Agricultural College of Seoul National University.

正確한 染色體의 數, 形態의 異常 等을 究明하기 爲하여 여러사람들이 細胞學的 研究를 하였다.

Tsunewaki와 Jenkins(1960)는 小麥의 Aneuploid analysis를 爲해서 低溫處理가 分裂細胞의 數, prophase, metaphase, anaphase의 出現頻도와 metaphase에서의 染色體의 길이 等에 미치는 影響을 研究하여 低溫處理가 metaphase의 數를 增加시키고 anaphase cell의 數를 減少시켰다고 發表하였다.

Evans와 Savage(1959)는 溫도의 增加에 對한 mitosis rate에 對하여 研究하였고 Evans와 Tonkinson(1959)은 colchicine과 8-hydroxyquinolin과 그 以外의 것을 利用하여 metaphase의 出現頻도에 關해서 研究했고, Wolff Luippold(1959), Bajer(1954), Evans, Neary와 Tonkinson(1957)등도 Colchicine과 그 外의 藥品을 使用하여 細胞學的 研究를 하였다. Makinen(1958)은 Acetic Acid와 Hydrogen peroxide의 利用이 分裂細胞의 數는 減少시키나 metaphase의 prophase에 對한 出現率을 增加시켰다고 發表하였고 McManus(1960)는 Kinetin, gibberellin等을 使用하므로 해서 分裂細胞의 數가 減少되었다고 했다.

本 實驗은 小麥, 大豆, 棉花, 大麥의 Karyotype analysis, Chromosome analysis를 하는 경우를 爲하여 染色體의 形態를 파괴하지 않고 metaphase의 出現頻도를 높이는 方法을 比較하고자 한 것이다.

實驗材料 및 方法

本 實驗에서 使用한 材料는 各 作物中 우리나라의 獎勵品種으로서 小麥(*Triticum aestivum* L.)은 長光, 大麥(*Hordeum sativum* Jessen)은 水原 18號, 棉花(*Gossypium hirsutum* L.)는 水原 一號, 大豆(*Glycine max* Merrill)는 忠北白을 各各 使用하였다.

本 實驗中 實驗 I은 1962年產 種子에 對하여 1962年

겨울에 施行되었고 實驗 II III IV는 1963年產 種子에 對하여 1963年 겨울에 施行된 것이다.

모든 材料는 恆溫器內($30 \pm 2^\circ\text{C}$)에서 petridish를 利用한 發芽床에서 發根시켜 處理되었으며 모든 處理는 午前 9時~12時에 始作되었다.

固定液은 Acetic Alcohol(1:3)을 使用하였고 染色은 Hematoxylin-iron-acetocarmine 混合液을 使用하여 Smear method를 썼다.

各 處理마다 10個 以上의 root-tip를 使用하였고 各 root tip 안에서 調査한 mitotic cell의 數는 한 slide에 나온 것을 모두 헤아린 것이므로 그 數가 一定치 않았다.

實驗 I : 小麥의 根端到 對한 低溫處理의 影響

〔實驗方法〕

小麥의 根端細胞分裂에 있어서 metaphase 出現頻도에 미치는 低溫處理의 影響과 低溫處理를 할 때 根端을 切斷하는 것과 하지 않는 것의 差異를 알아 보기 爲하여 恆溫器內($30^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$)의 petridish 發芽床에서 發根시켜 1~1.5cm 자란 것에 對하여 다음과 같은 處理를 했다.

T₁...發根된 것을 그대로 固定한 것.

T₂...種子根을 1cm 程度 길이로 切斷하여 固定한 것.

T₃...種子根을 切斷하여 低溫處理하고 固定한 것.

T₄...切斷하지 않은 채 低溫處理하고 固定한 것.

T₅...低溫處理를 하고 切斷하여 固定한 것.

低溫處理는 種子根을 切斷하지 않은 것은 petridish發芽床을 $0 \sim 2^\circ\text{C}$ 의 冷藏庫에 24時間 放置하고 種子根을 切斷한 것은 口徑 0.5cm vial에 切斷根을 넣고 水道물 數滴을 加하여 乾燥를 防止하면서 冷藏庫에 24時間 放置하였다.

〔實驗結果〕

두가지의 低溫處理方法 (根端을 種子에 附着시켜 처

리한 것과 切斷하여 處理한 것)과 두 가지의 固定方法(根端을 種子에 附着시켜 固定한 것과 切斷하여 固定한 것)에 따른 mitotic cell의 數와 그 중 metaphase를 나타내고 있는 細胞의 數가 table 1에 提示되어 있다.

各 處理의 各 root tip에서 구하여진 metaphase의 頻度を arcsin transformation 하고 이를 分析하여 各 處理間의 比較를 하였다.

Table 1과 Table 2에 나타난 바와 같이 固定方法과 低溫處理方法에는 關係없이 低溫處理한 것과 하지않는 것과의 差異는 크게 나타났다. 低溫處理한 것은 metaphase cell이 mitotic cell의 40% 이상을 차지하나 低溫處理를 안한 것은 metaphase cell의 數가 mitotic cell의 10% 以下 밖에 안된다.

反面에 處理方法 即 뿌리를 種子에 附着시킨 것과 切斷한 것 間의 差는 認定되지 않았으며 低溫處理 前後의 切斷도 差가 없었다.

Table 1. Metaphase frequency in the root tips of wheat.

Treatment	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
No of roots observed	10	10	11	13	14
No of total mitotic cells (a)	565	391	385	638	486
No of total metaphase cells (b)	29	36	185	316	204
% of metaphase cells to total mitotic cells ($\frac{b}{a}$)	5.13	9.21	48.05	49.53	41.98

T₁...Root tips attached to seeds were killed.
 T₂...Root tips detached from seeds were killed.
 T₃...Detached root tips were treated in cold and then killed.
 T₄...Attached root tips were treated in cold and then killed.
 T₅...Attached root tips were treated in cold and then detached before killed.

Table 3. Frequency of mitotic cells in the root tips of soybean.

Treatments	Check	Oxquinoline				Colchicine				Chilling
		0.03 %		0.1 %		0.2 %		1.0 %		
		2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	
No of roots observed	10	10	10	10	8	10	10	10	10	10
No of mitotic cells (a)	567	439	350	78	19	1687	2169	1599	1575	492
No of metaphase cells (b)	289	402	344	65	17	1617	2147	1470	1538	315
% of ($\frac{b}{a}$)	50.97	91.57	98.29	83.33	89.47	95.85	98.99	91.93	97.65	64.02
No of anaphase and telophase cells (c)	73	14	2	4	0	0	0	0	0	9
% of ($\frac{c}{a}$)	12.87	3.19	0.57	5.13	0	0	0	0	0	1.83

Table 2. Effects of different cold treatments and different fixation methods on the frequency of methphase with root tips of wheats.

Comparison	Average frequency (%)	Difference (%)
T ₁₊₂ :T ₃₊₄₊₅ (I)	7.13 : 46.52	39.39 ※※
T ₁ : T ₂ (II)	5.13 : 9.21	4.08
T ₃ : T ₄₊₅ (III)	48.05 : 47.76	2.29
T ₄ : T ₅ (IV)	49.53 : 41.98	7.55

※※...Significant at 1% level.

I...Comparison between cold treated and not cold treated.
 II...Comparison between root tips attached and detached from seeds before killed.
 III...Comparison between root tips were attached and detached from seeds before cold treated.
 IV...Comparison between root tips attached and detached from seeds after cold treatment.

實驗 II : 大豆의 根端에 對한 低溫과 化學藥品 處理의 影響

(實驗 方法)

恒溫器內(30°C±2°C)의 petridish 發芽床에서 發根시킨 大豆의 種子根을 切斷하여 24時間 低溫處理(앞에서 說明한 바와 같음), 8-Hydro-Oxyquinolin 處理(0.03%와 0.1%에 各各 2時間 및 10時間 浸漬) 및 Colchicine處理(0.2%와 1%에 各各 2時間 및 10時間 浸漬)를 하여 對照區와 比較하였다.

(實驗 結果)

Table 3에 各 處理間에 나타난 mitosis와 그 중에서 metaphase cell의 頻度, 그리고 metaphase 以後의 時期인 anaphase 및 telophase cell을 合한 頻度를 表示하였다. 各 處理에서 구하여진 metaphase의 頻度を arcsin transformation하고 이를 分析하여 各 處理間의 比較를 한 것이 Table 4이다.

Table 4. Effect of chemicals and chilling on the frequency of metaphase for the mitotic cells in root-tips of soy bean.

Comparison		Average frequency (%)	Difference(%)
Chemicals	check:chill	50.97 : 64.02	13.05 ※※
	chill:col	64.02 : 96.11	32.09 ※※
	oxy:col	90.67 : 96.11	5.44
Oxyquinolin	0.03 : 0.1	94.93 : 86.4	8.53
	2hrs:10hrs(0.03)	91.57 : 98.29	6.72 ※※
	2hrs:10hrs(0.1)	83.33 : 89.47	6.14 ※※
Colchicine	0.2:1.0	97.41 : 94.84	2.57 ※
	2hrs:10hrs(0.2)	95.85 : 98.99	3.14
	2hrs:10hrs(1.0)	91.93 : 97.65	5.72 ※※

※ Significant at 5% level.

※※ " " 1% "

Table 3과 4에 나타난 바와 같이 Oxyquinolin과 Colchicine 간의 차는 별로 없었으나 無處理와 低溫處理間에 차이가 나타났고 특히 Colchicine과 低溫處理間에 큰 차이가 나타났다.

即 大豆에서는 低溫處理가 無處理보다 藥品處理가 低溫處理보다 metaphase의 頻度を 높이는 데 有效하였다. Oxyquinolin을 處理한 것중 處理時間을 相關치 않고 濃度 即 0.03%와 0.1%를 比較 해 보면 metaphase 出現 頻度の 차를 認定할 만한 程度가 못되었으나 處理時間을 比較해 볼 때 0.03%와 0.1%의 處理에서 모두 2時間 處理한 것보다 10時間 處理한 것이 metaphase 出現 頻도가 컸다.

그러나 10時間 處理한 것이 metaphase 出現頻도는 컸

으나 全體 mitosis cell의 數가 적고 따라서 metaphase cell의 數도 적다.

即 2時間 處理한 것이 metaphase의 出現頻도는 적으나 10時間 處理한 것에서 보다 더 많은 數의 metaphase cell의 數를 觀察할 수 있었다.

濃도에 있어서도 高濃度인 0.1%處理를 한 것이 0.03% 處理한 것과 metaphase cell의 出現頻度에서는 그 차를 認定할 수 없었으나 實際 mitotic cell의 數에 차이가 있으므로 0.03% 處理한 것에서 훨씬 많은 數의 Metaphase cell을 觀察할 수 있었다.

이에 依하여 보면 Oxyquinolin은 處理時間이 길수록, 또 그 濃도가 높을수록 細胞의 mitosis를 막는 作用을 하는 것으로 生覺된다.

Colchicine을 處理한 것 중에는 0.2% 處理한 것이 0.1% 處理한 것보다 2時間보다는 10時間 處理한 것에서 더 많은 metaphase cell의 出現도를 나타내었다.

實驗 III 棉花의 根端에 對한 低溫과 化學藥品處理의 影響

(實驗 方法)

棉花에 對한 處理方法和 時間도 大豆에서와 같은 方法, 같은 時間으로 하였다.

(實驗 結果)

Table 5는 各 處理에서 나타난 mitotic cell과 그 中에서 metaphase cell의 出現頻度, metaphase 以後의 時期인 anaphase와 telophase cell을 合한 頻도를 나타낸다. 實驗結果의 分析도 大豆에서와 마찬가지로 arcsin transformation 하여 分析하고 比較를 하였다.

Table 5. Frequency of mitotic cells in the root-tips of upland cotton.

Treatments	Check	8-Hydro-Oxyquinolin				Colchicine				Chilling (24hrs)
		0.03%		0.1%		0.2%		1.0%		
		2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	
No of roots observed	10	10	10	9	10	10	10	10	10	10
No of mitotic cells(a)	727	133	221	132	370	906	1817	541	1394	174
No of metaphase cells(b)	290	98	198	72	115	824	1795	441	1373	84
% of metaphase cells ($\frac{b}{a}$)	38.89	73.68	89.59	54.55	31.08	90.95	93.64	81.52	98.49	48.28
No of anaphase telophase cells (c)	93	7	0	9	10	0	39	0	0	22
% of anaphase telophase cells ($\frac{c}{a}$)	12.79	5.26	0	6.82	2.70	0	2.03	0	0	12.64

Table 5와 6에 나타난 바와 같이 低溫處理는 無處理보다 Oxyquinolin은 低溫處理보다 Colchicine은 Oxyqui-

nolin 處理보다 metaphase의 出現도가 컸다. 그러나 實際 mitotic cell과 metaphase cell의 數는 Oxyquinolin

Table 6. Effect of chemicals and chilling on the frequency of metaphase for the mitotic cells in root-tips of Upland cotton.

Comparison		Average frequency	Difference(%)
Chemicals	check:chill	39.89 : 48.28	8.39 ※※
	check:oxyq	39.89 : 62.23	22.34 ※※
	oxyq: col	62.23 : 91.15	28.92 ※※
Oxyquinolin	0.03: 0.1	81.14 : 42.82	38.32 ※※
	2hrs:10hrs(0.03)	73.68 : 89.59	15.91
	2hrs:10hrs (0.1)	54.55 : 31.08	23.47 ※※
Colchicin	0.2:1.0	92.30 : 90.01	2.29
	2hrs:10hrs (0.2)	90.95 : 93.64	2.69
	2hrs:10hrs (1.0)	81.52 : 98.49	16.97 ※※

※※...Significant at 1% level.

處理한 것과 低溫處理한 것은 無處理에 比해서 그 數가 적었다.

Oxyquinolin 處理한 것 중에는 0.03%가 0.1% 處理한 것보다 metaphase의 出現頻도가 크게 나왔다. 그리고 0.03%에서는 2時間보다 10時間에서 많았는데 0.1% 處理에서는 이와 反對로 2時間 處理한 것이 10時間 處理한 것보다 큰 metaphase의 出現頻도를 가졌다.

Table 5와 6에서 보던 Colchicine에 있어서는 處理濃

Table 7. Frequency of mitotic cells in the root-tips of barley.

Treatment	Check	8-Hydroxyquinolin				colchicine				chilling	
		0.03%		0.1%		0.2%		1.0%		24hrs	12hrs
		2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs	2hrs	10hrs		
No of roots observed	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
No of mitotic cells (a)	1167	881	1204	563	1337	2248	679	2190	962	840	675
No of metaphase cells (b)	157	128	179	109	121	1161	373	1256	464	89	360
% of metaphase cells ($\frac{b}{a}$)	13.45	14.53	14.87	19.36	9.05	51.65	54.93	57.35	48.23	10.60	53.33
No of anaphase telophase cells(c)	187	18	6	1	12	2	200	4	272	46	15
% of anaphase telo. C. ($\frac{c}{a}$)	16.02	2.04	0.50	0.18	0.90	0.10	29.46	0.18	28.69	5.48	2.22

있어서 無處理와 差異가 없었다. 그러나 Oxyquinolin 處理한 것은 染色體의 收縮이 적당하여 數를 세기도 쉽고 그 形態에도 변화가 없었다.

Colchicine 處理는 大豆나 棉花와 마찬가지로 metaphase cell의 出現頻도가 다른 處理에 比해 높았고 그 收縮도 大端히 甚하였다.

Oxyquinolin 處理한 것 중에는 0.1% 濃도에 2時間 處理한 것이 가장 效果가 컸고 Colchicine 處理한 것 중에서는 1.0%에 2時間 處理한 것이 效果가 컸으나

度間에 metaphase 出現頻도에는 別差가 없었으나 處理時間에 있어서 2時間보다 10時間 處理한 것이 mitotic cell의 數도 많았고 metaphase cell의 出現頻도도 컸다. 그리고 10時間 處理한 것은 無處理보다 mitotic cell의 數가 훨씬 많았다.

Colchine을 處理한 것은 anaphase와 telophase cell의 數가 없거나 極히 적고 metaphase cell의 出現頻도는 매우 컸다.

實驗 IV 大麥의 根端에 對한 低溫과 化學藥品 處理의 影響

〔實驗 方法〕

모든 處理方法이 大豆에서와 같았으나 다만 低溫處理 時間에 있어서 12時間과 24時間의 두가지 區分을 두었다.

이것은 大豆와 棉花에서의 24時間 低溫處理가 너무 長時間이 아니었던가 生覺된 때문이다.

〔實驗 結果〕

Table 7과 8에서 보는 바와 같이 低溫處理한 것이 無處理에 比하여 效果가 대단히 컸으나 Oxyquinolin處理한 것은 大豆와 棉花와는 달리 metaphase 出現頻도에

Colchicine의 處理內에서는 濃도와 時間 사이에 別差가 없었다.

低溫處理에 있어서는 大豆, 棉花, 小麥과는 달리 24時間區에서는 metaphase의 出現頻도가 오히려 無處理보다도 적었으나 12時間 處理한 것은 그 頻도가 매우 컸다. 이는 作物마다 細胞分裂에 對한 低溫의 影響이 다를을 意味하는 것이며 作物에 따라 最適低溫과 最適處理時間이 檢討되어야 할 것으로 生覺된다.

Oxyquinolin의 例를 보면 化學藥品의 影響도 다르게

Table 8. Effect of chemicals and chilling on the frequency of metaphase for the mitotic cells in root-tips of barley.

Comparison		Average frequency (%)	Differeny (%)
Chemicals	check:chill	13.45 : 31.97	18.52 **
	check:oxyq	13.45 : 14.45	1.00
	oxyq:col	14.45 : 53.04	38.59 **
Oxyq-inolin	2hrs: 10hrs(0.03)	14.53 : 14.87	0.34
	2hrs: 10hrs(0.1)	19.36 : 9.05	10.31 **
	0.03: 01(2hrs)	14.53 : 19.36	4.83 *
Colchicine	2hrs: 10hrs(0.2)	51.65 : 54.93	3.28
	2hrs: 10hrs(0.1)	57.35 : 48.23	9.12
	10hrs(0.2) : 2hrs(1.0)	54.93 : 57.35	2.42
Chilling	24hrs:12hrs	10.60 : 53.33	42.73 **

*.....Significant at 5% level.

**..... = = 1% level.

나타나는 것을 알 수 있다.

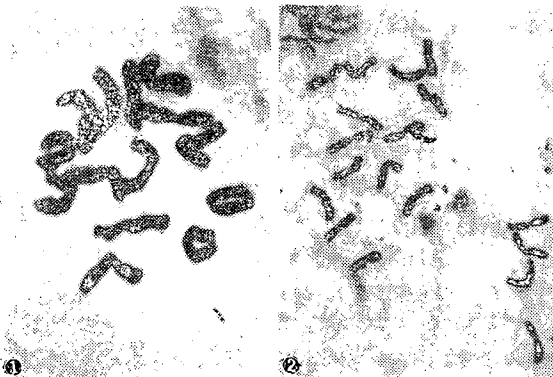
考 察

低溫處理는 네 作物에서 보는 바와 같이 metaphase의 出現頻度를 높여주었고 處理方法 固定方法에 있어서는 뿌리를 種子에 附着시킨 것이나 種子에서 切斷시킨 것이나 別 差異가 없다.

이러한 點은 材料를 大量 取扱할 경우에 藥品의 節約 뿐만 아니라 器具使用의 便宜를 爲해서도 有效하게 應用될 수 있을 것이다.

處理時間에 對한 影響은 大麥에서 보는 바와 같이 作物에 따라 다르게 나타나는 것으로 生覺되므로 資料에 따라서 미리 檢討해 둘 必要를 느낀다.

Showing morphological changes of chromosomes in root tips of barley [$2n=14$] according treatments.



① non-treated as check.

② chilling 12hrs



③ chilling 24hrs.



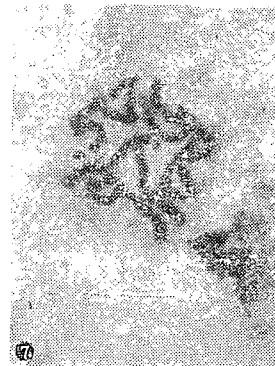
④ Soaked 2hrs in 0.03% 8-hydroxyquinoline.



⑤ Soaked 10hrs in 0.03% 8-Hydro-oxyquinoline.



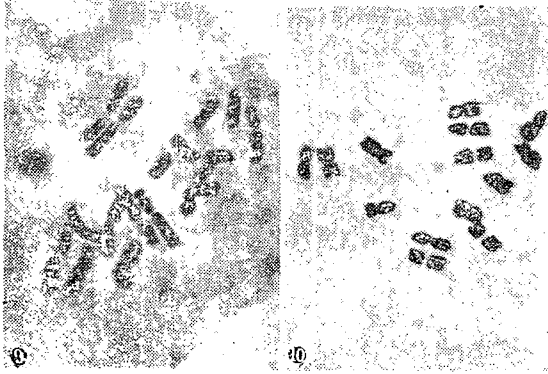
⑥ Soaked 2hrs in 0.1% 8-Hydro-oxyquinoline.



⑦ Soaked 10hrs in 0.1% 8-Hydro-oxyquinoline.

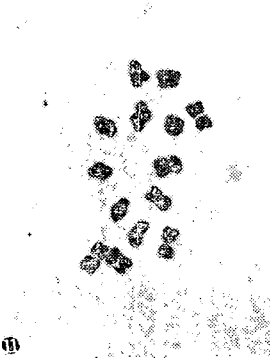


⑧ Soaked 2hrs in 0.2% Colchicine



⑨ Soaked 10hrs. in 0.2% colchicine,

⑩ Soaked in 1.0% colchicine.



⑪ Soaked 10hrs in 1.0% colchicine.

化學藥品 處理에 있어 Colchicine은 대개의 作物에서 metaphase의 出現頻度を 높여주며 染色體를 收縮시킨다. 그러나 Colchicine은 그 濃度와 時間에 注意하지 않으면 染色體가 過度히 收縮되어 形態를 分析하기 곤란할 경우가 생기며 Colchicine은 紡錘糸의 作用을 막음으로 (Evans, Neary &

Tonkinsen 1957) 그 濃度와 時間이 지나치면 染色體가 倍加되기 쉽다. Oxyquinolin 處理는 metaphase의 出現頻도에 對해서는 作物에 따라 差가 있으나 대체로 染色體의 收縮이 적당히 되므로 大麥과 같은 染色體가 긴 作物에서는 metaphase의 出現頻도는 적어도 그 効用價値가 있을 것으로 生覺된다.

metaphase cell 出現頻도에 對해 實驗한 作物中 Oxyquinolin의 効果는 大豆가 가장 크고 다음이 棉花이고

大麥에서는 Oxyquinolin의 効果가 나타나지 않았다.

이와같이 세가지 處理 即 低溫處理 Colchicine 處理 8-Hydroxyquinolin 處理를 比較해 볼때 低溫處理가 metaphase의 出現頻도 높여주고 染色體도 적당히 收縮시키므로 (Tsunewaki and Jenkins 1960) 作物에 따라 最適溫도와 處理時間을 調査하여 두기만 하면 가장 安全하게 使用할 수 있을 것 같다.

摘 要

小麥, 大豆, 棉花 및 大麥의 根端에 대하여 低溫(0°C ~ 2°C)에 24 또는 12時間 8-Hydroxyquinolin (0.03과 0.1%에서 2時間 또는 10時間) 및 Colchicine (0.2%와 1.0%에서 2 또는 10時間) 處理를 하고 mitotic cell의 數와 이에 對한 metaphase의 出現頻도를 檢討하였다.

1. 低溫處理는 모든 作物에 對하여 mitotic cell의 數와 metaphase의 出現頻도를 현저히 增加시켰다. 低溫의 程度와 處理時間은 作爲에 따라 달라 本試驗에서는 小麥을 除外한 他作物에서는 最適溫도와 時間은 試驗된 時間보다도 짧은 範圍 以內에 있는 것으로 生覺된다.

2. 8-Hydroxyquinolin의 効果도 作物에 따라 다르나 0.03% 2時間 程度의 處理에서는 大體로 metaphase의 頻도를 增加시키나 mitotic cell의 數를 減少시키는 경향이 있다.

3. Colchicine은 mitotic cell의 增加 및 metaphase 頻度 增加에 恒常 有效하였으며 利用에 있어서는 他處理에 比하여 같거나 優秀하였다.

4. 本試驗에서의 各種 處理는 染色體를 收縮시켰는데 그 程度가 가장 甚한 것은 Colchicine이었고 그 다음이 8-Hydroxyquinolin 및 低溫處理의 順이었다.

5. 材料에 따라 適當한 溫도와 處理時間이 檢討된 다음 低溫處理가 有效하게 適用될 수 있는 可能性이 論議되었다.

SUMMARY

Root tips of wheat, soybean, cotton and barley were treated with cold temperature (12 or 24 hrs in 0°C or 2°C), 8-Hydroxyquinolin (2 or 10 hrs in 0.03 or 0.1%) and colchicine (2 or 10 hrs in 0.2 or 1.0%), and the frequency of metaphase were observed. The results were summarized as follows;

1. Chilling the seminal roots before or after secting from the seed significantly increased the number of mitotic cells and the rate of metaphase cells to mitotic cells. The optimal duration of chilling seemed to be differ depending on the kinds of plant and 24 hours to be too long except wheat so far examined here.
2. 8-Hydroxyquinolin treatment, about 2 hours in 0.03%, increased the rate of metaphase cells. The higher concentration and the longer treatment of this chemical caused the lower frequency of mitotic cells generally.

3. Colchicine treatment, 2 to 10 hrs in 0.2 to 1.0%, increased the frequency of mitotic cells and the rate of metaphase cells. Colchicine treatment was same or superior than any other treatments on the increase of metaphase cells.
4. All the treatments examined here caused chromosome contraction with most serious in colchicine following by 8-Hydroxyquinolin and chilling.
5. The feasibility of general application of chilling under the check of proper temperature and proper duration depending on the kinds of crops were discussed.

Literature Cited

1. Bajer, J. Change of length and volume of mitotic chromosomes in living cells. *Hereditas*. 45:579-596 1959.
2. Bowen, C.C. and G.B. Wilson. A comparison of the effects of several antimitotic agents. *J. Heredity*. 45:3-9. 1954.
3. Evans, H.J., G.J., Neary, and S.M. Tonkinson. The use of colchicine as an indicator of mitotic rate in broad bean root meristem. *J. Genet.* 55:487-502. 1957.
4. Evans, H.J. and J.R.K. Savage. The effect of temperature on mitosis and on the action of colchicine in root meristem cells of *Vicia faba*. *Exp. Cell. Res.* 18:51-61. P.B.A. 30: Abst. 86.
5. Evans, H.J. and S.M. Tonkinson. A paradoxical effect of aeration on the accumulation of root-tip metaphase cells by spindle inhibitors. *Exp. Cell Res.* 17:262-271. P.B.A. 29: Abst. 3472.
6. Makinen, Y. The effect of acetic acid and hydrogen peroxide on mitotic frequency in *Allium cepa*. *Nucleus*, Calcutta 1:131-152. 1958. P.B.A. 29: Abst. 1248. 1959.
7. McManus, M.A. Certain mitotic effects of kinetic, gibberellic acid, indoleacetic acid, and maleic hydrazide on the root of *Allium cepa*. *Nature*, 185:44-45. 1960.
8. Tsunewaki, K and B.C. Jenkins. A comparative study of various methods of root-tip preparation in screening wheat aneuploid *Cytologia* 25:373-380. 1960.
9. Wolff, S. and H.E. Luippold. Obtaining large number of metaphase in barley root-tips. *Stain Tech.* 31:201-205. 1956. P.B.A. 27; Abst. 1141. 1957.