

옥수수 중배측으로부터 분리한 원형질체에서 IAA와 Zeatin에 의한 세포질 Ca^{2+} 농도의 변화

宋 在 眞·金 明 苑*·康 榮 燾

(延世大學校 理科大學 生物學科, *文理大學 生物學科)

Changes of Cytosolic Ca^{2+} by IAA and Zeatin in Protoplasts Isolated from Maize Mesocotyl

Song, Jae Jin, Myeong Won Kim* and Young Hee Kang

(Department of Biology, Yonsei University, Seoul and

*Department of Biology, Yonsei University, Wonju)

ABSTRACT

Ca^{2+} is implicated as a second messenger in coupling various stimuli such as hormone, gravity and light. To determine whether or not plant hormones mobilize calcium with different action, we investigated the cytosolic Ca^{2+} changes by IAA and zeatin in the protoplasts isolated from elongating mesocotyl of maize. IAA increased the influx of Ca^{2+} due to the calcium channel opening, which was confirmed by using verapamil, calcium channel blocker. On the other hand, zeatin increased the cytosolic Ca^{2+} by promoting the efflux of Ca^{2+} derived from cellular organelles. These results suggest that different calcium flux induced by IAA and zeatin plays a role in appropriate response resulting in increase of cell elongation or repression of cell elongation.

서 론

Ca^{2+} 는 세포신장, 세포분열, 굴지성, 노화, 탈리 그리고 효소들의 분비 등 식물조직의 다양한 생리과정에 관여하는 것으로 알려져 있다(Marme, 1983). 특히 환경이나 인접 세포로부터 유래한 자극(빛, 중력, 호르몬 등)을 세포가 이해할 수 있는 세포내 언어로 변환·증폭시켜 적절한 반응이 일어나도록 조절하는 이차 전달자로서의 가능성이 증대되고 있다(Poovaiah *et al.*, 1987).

Resting condition 상태에서의 식물세포내의 Ca^{2+} 농도는 원형질막에서 Ca-ATPase에 의한 세포외로의 방출과, calcium channel을 통한 세포내로의 유입에 의하여 균형을 이루어 항상성을 유지하고 있는데(Sanders *et al.*, 1990), 세포질내의 Ca^{2+} 은 세포외 Ca^{2+} 의 농도인 10^{-3} M에 비하여 1,000배 이상 낮은 농도인 최대 10^{-6} M로 유지되므로 세포질에서 약간의 농도 변화로도 큰 변화를 유도할 수 있다(Marmé, 1989). 이러한 자극에 대한 반응으로 세포질내의 Ca^{2+} level의 증가는 일시적으로, 15-30초 안에 peak를

이루며 수분안에 steady state 수준으로 되돌아 간다(Morse *et al.*, 1989). 식물세포의 신장을 촉진하는 대표적인 호르몬인 auxin의 작용이 calcium antagonist들에 의하여 세포신장이 억제되는 결과들이 보고되어 있는데(Reddy *et al.*, 1988; Cunninghame and Hall, 1986), 이는 auxin의 작용이 calcium에 의존적임을 의미한다. 한편, 세포분열을 촉진시키는 호르몬인 cytokinin은 식물의 세포신장을 억제하는 것으로 알려져 있다(Kubowicz *et al.*, 1982). 이러한 호르몬의 자극은 세포내 Ca^{2+} 의 농도변화로 인지되는데, auxin은 세포질내 Ca^{2+} 농도를 감소시키며 cytokinin은 증가시킨다는 가능성을 Ca-ATPase의 활성화 측정 등을 통해서 간접적으로 제시하고 있다(Poovaiah and Reddy, 1987).

여기서는 서로 다른 작용을 나타내는 호르몬이 Ca^{2+} 을 매개한다고 할 때, 세포내 Ca^{2+} level에 어떤 변화를 주는지를 옥수수 조직으로부터 분리한 원형질체의 system을 이용해서 알아보고, 호르몬이라는 자극에 Ca^{2+} 이 이차 전달자로 작용할 수 있는 가능성을 살펴보고자 하였다.

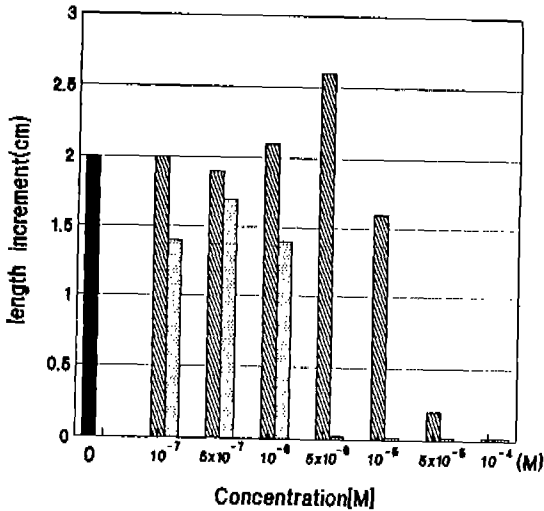


Fig. 1. Effect of IAA (▨) and zeatin (□) on the increment of maize elongating mesocotyl after 48 germination. Control is marked by a black bar (■).

재료 및 방법

실험재료 및 생육조건. 옥수수(*Zea mays* L.) 종자를 수돗물로 세척하고 약 18°C의 증류수에 8시간 동안 담가 두었다가 사각형 플라스틱접시(20×28×2 cm)에 증류수를 적신 휴지를 깔고 그 위에 종자를 고본 간격으로 심은 후에 다시 휴지로 덮고 증류수로 적시어 고정시켰다. 이 접시를 증류수가 들어 있는 사각용기(22×16×14 cm)에 정사지게 세운 후 28±1°C의 암실에서 받아시켰다. 신장중인 증배축을 실험재료로 사용하기 위해서 발아 후 일정간격으로 점을 찍어 표시한 후 시간이 경과함에 따라 점 사이의 간격이 늘어나는 부위를 신장중인 증배축으로 하였다.

IAA와 zeatin의 처리농도 결정. 옥수수 증배축의 길이신장을 최대로 증가시키는 IAA의 농도와 이와는 반대로 길이신장을 가장 억제시키는 zeatin의 농도를 결정하기 위하여 솜을 깔아 놓은 유리병에 증류수만을 처리한 대조구와 IAA와 zeatin의 농도를 각각 10⁻⁷, 5×10⁻⁷, 10⁻⁶, 5×10⁻⁶, 10⁻⁵, 5×10⁻⁵, 10⁻⁴M로 처리한 후 종자를 발아시켰다. 발아 후 48 시간이 경과하였을 때의 증배축의 길이신장을 대조구와 비교하였다(Fig. 1).

원형질체의 분리와 순화. 옥수수의 증배엽을 너비가 0.5 mm되게 잘게 잘라 얻은 조직 2g을 효소용액(0.4 M sorbitol, 1 mM CaCl₂, 5 mM Mes, 2% cellulase, 1% mace-rozyme, pH 5.8) 10 ml에 넣은 후 38°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 분리된 원형질체는 지름이 120 μm인 stainless mesh로 여과시켜 얻은 여과액을 다시 지름이 40 μm인 mesh로 여과시켜, mesh 위에 걸러진 원형질체를 반응용

액(0.8 M sorbitol, 1 mM CaCl₂, 5 mM Mes, 1 mM KCl, 1 mM MgSO₄, pH 5.8)으로 여러 번 씻어주면서 원형질체의 밀도가 5×10⁴개/ml이 되게 하였다. 원형질체의 생존률 검사는 0.5% Evans blue 용액을 사용하여 확인하였다.

원형질체로의 Quin-2/AM loading. Quin-2/AM(tetraacetoxymethyl ester of Quin-2)을 5×10⁴개/ml의 원형질체가 들어 있는 배지에 loading시켜 Quin-2/AM의 농도가 100 μM이 되게 하였다. 30분 동안 상온에서 방치한 후 40 μm mesh로 거른 다음 반응 용액으로 세번 씻어주었다.

세포내로 들어간 Quin-2의 농도 결정. 원형질체(5×10⁴개) 안으로 흡수된 전체 Quin-2(methoxyquinolinebis(o-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid)의 양은 Quin-2의 농도에 의존적인 excitation 360 nm : emission 492 nm에서 이미 알고 있는 Quin-2의 농도를 사용하여 정량하였으며, ocular micrometer를 이용하여 원형질체의 크기를 측정하여, 1 ml 안에 들어 있는 원형질체의 전체 부피를 계산하여 세포내로 들어간 Quin-2 농도를 결정하였다.

세포내 Ca²⁺의 농도 변화 측정. 세포내 Ca²⁺의 농도변화 측정은 형광염색물질인 Quin-2를 사용하여 파장 비율법으로 calcium을 정량하였다(Cobbold and Rink, 1987). 막투과도가 높은 acetoxymethylester 형태의 Quin-2(Quin-2/AM)를 사용하여 일단 세포막을 통과하여 세포안으로 들어가게 한 후 세포질내의 esterase에 의하여 다시 Quin-2 형태로 전환시켜 Quin-2가 Ca²⁺과 1:1로 특이하게 결합하면 형광도가 높아지는 원리를 이용하였다(Tsien et al., 1982). Ca²⁺ 수준의 측정은 emission 파장은 492 nm로 고정시킨 채 excitation 파장을 변경시키면서 340 nm와 360 nm에서 측정된 형광도의 비율로 결정하였으며(Kruskal et al., 1984), 호르몬 처리 후 30초 간격으로 형광도 비율의 변화를 조사하였다. Exciation 파장이 340 nm일 때의 형광도는 Ca²⁺ 농도에 의존적이나, 360 nm에서의 형광도는 Ca²⁺ 농도에 독립적이므로 두 파장에서의 형광도 비율의 변화는 Ca²⁺ 농도 변화와 관련 있다(Kruskal et al., 1984).

결과 및 고찰

신장중인 옥수수의 증배축으로부터 분리한 원형질체를 실험재료로 하여 신장중인 증배축의 세포신장을 최대로 촉진시키는 IAA와 최대로 억제시키는 zeatin의 농도인 10⁻⁵ M을 각각 처리하였다. 그리고 340 nm와 360 nm에서의 형광도 비율로 세포내 Ca²⁺의 변화를 조사하였다.

옥수수의 증배축으로부터 분리한 원형질체의 크기는 대략 80±10 μm로 나타났으며, Quin-2/AM을 loading한 후 씻어준 후에도, Evans blue로 측정된 원형질체의 생존율은 약 90%로 유지되었다. Gilroy 등(1990)에 의하면 Quin-2/AM의 형태로는 원형질체내로의 흡수가 미약하며, 설사

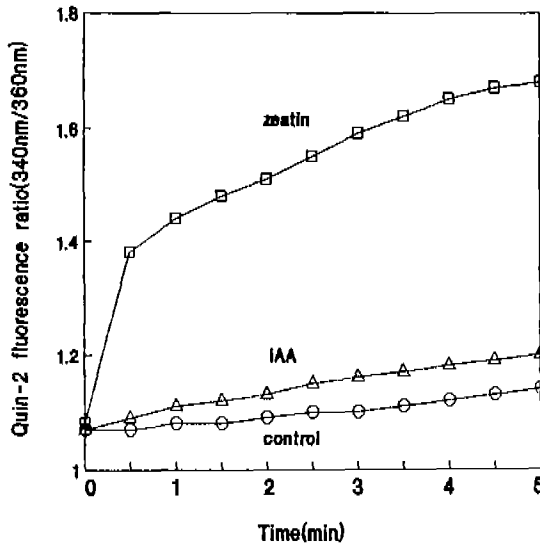


Fig. 2. Effect of IAA and zeatin (10^{-5} M) on the Quin-2 fluorescence ratio (340/360 nm) of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Ca²⁺ concentration of incubation medium is 1 mM.

흡수된 Quin-2/AM도 낮은 esterase 활성 때문에 사용이 어렵다고 보고되었으나, 본 실험에서는 5×10^4 개의 옥수수 원형질체안으로 흡수된 전체 Quin-2의 양은 약 11 μ mole 이었으며, 이 양은 0.82 mM의 농도에 해당한다. 이 농도는 calcium이 1 mM 이상의 농도로 유지되는 것으로 보이는 액포에서는 이미 Quin-2가 Ca²⁺과 모두 결합하여 포화된 것으로 보이며, 설령 포화되지 않았더라도 액포에 포함되어 있는 중금속 이온과 액포의 낮은 pH는 액포에서의 Quin-2 형광도를 저하시킨다(Gilroy *et al.*, 1990). 또한 endoplasmic reticulum이나 미토콘드리아 그리고 리소조움 등 다른 세포소기관으로는 Quin-2가 흡수되지 않는다고 알려져 있으므로(Tsien *et al.*, 1984), 형광도 비율의 변화는 세포질 내에 있는 free Quin-2가 세포질로 이동된 새로운 Ca²⁺과의 결합에 의한 것이라고 생각할 수 있다.

1 mM의 Ca²⁺을 포함하는 원형질체가 들어 있는 배지에 IAA를 처리하였을 때에는 형광도 비율이 증가하였다. 반면에 zeatin을 처리하였을 때에는 초기 30초 동안에 형광도 비율이 급격하게 증가하였으며, 그 이후에도 지속적으로 증가하였다(Fig. 2). 여기서 형광도 비율의 증가는 세포내 Ca²⁺의 증가를 의미하는데 이러한 상이한 kinetics는 두 호르몬에 대한 Ca²⁺의 반응 양상이 다르게 일어나고 있다는 것을 시사한다. 호르몬에 의한 세포질내 Ca²⁺ 농도의 변화가 외부 배지의 Ca²⁺ 농도에 의존적인지를 알아보기 위하여 배지내의 Ca²⁺ 농도를 10 mM로 증가시킨 후 살펴보면 형광도 비율 자체의 증가가 두 호르몬 모두에서

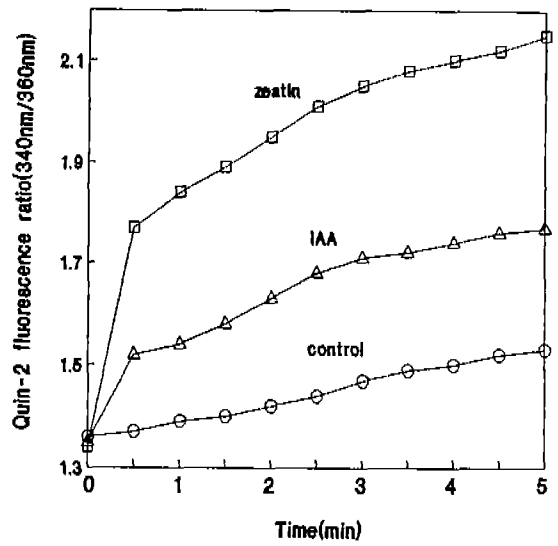


Fig. 3. Effect of IAA and zeatin (10^{-5} M) on the Quin-2 fluorescence ratio (340/360 nm) of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Ca²⁺ concentration of incubation medium is 10 mM.

일어났다. 즉 1 mM의 Ca²⁺ 배지에서는 호르몬 처리전의 형광도 비율이 1.07 정도였으나, 10 mM의 Ca²⁺ 배지에서는 호르몬 처리전의 형광도 비율이 1.36 정도로 증가하였다(Fig. 3). 호르몬 처리전의 형광도 비율이 1 mM의 Ca²⁺ 배지에 비하여 10 mM의 Ca²⁺ 배지에서 보다 증가한 것은 고농도의 Ca²⁺에 의해 세포안으로의 유입이 증가된 상태를 유지하고 있었기 때문으로 보인다. Zeatin의 경우 10 mM의 Ca²⁺ 배지에 의한 호르몬 처리전의 형광도 비율의 증가분이 호르몬 처리 후에도 계속 유지되었다. 즉, 형광도 비율 자체만 증가하였을 뿐 1 mM CaCl₂ 배지에서와 거의 유사한 양상을 보였다(Fig. 3). 이것은 zeatin에 의한 초기형광도 증가는 외부배지내의 Ca²⁺ 농도와는 무관하다는 것을 의미한다. 만약 zeatin 처리에 의해 증가한 Ca²⁺이 세포의 소기관에서 유래한 것이라면, Ca²⁺이 없는 배지에서도 zeatin에 의한 Ca²⁺ 농도의 증가가 일어날 것이다. 그 결과 zeatin 처리에 의한 세포질내 Ca²⁺ 농도의 증가는 외부에서 처리한 Ca²⁺ 농도가 1 mM일 때와 거의 그 양상이 유사하였다(Fig. 4). 이는 zeatin에 의한 초기 Ca²⁺의 급격한 증가는 세포내 유래의 Ca²⁺으로, 세포 소기관으로부터 방출한 것임을 뒷받침해 준다. Cytokinin의 작용에 세포의 Ca²⁺이 관여하지 않는다는 증거는 대두에서의 세포분열에 La³⁺, D600 그리고 verapamil 같은 calcium channel blocker의 억제 효과가 없었다는 데서도 찾아볼 수 있다(Hanke *et al.*, 1990). 이러한 결과는 cytokinin의 작용이 세포내 유래의 Ca²⁺에 매개된다고 보여지며, 1 mM의 Ca²⁺ 배지

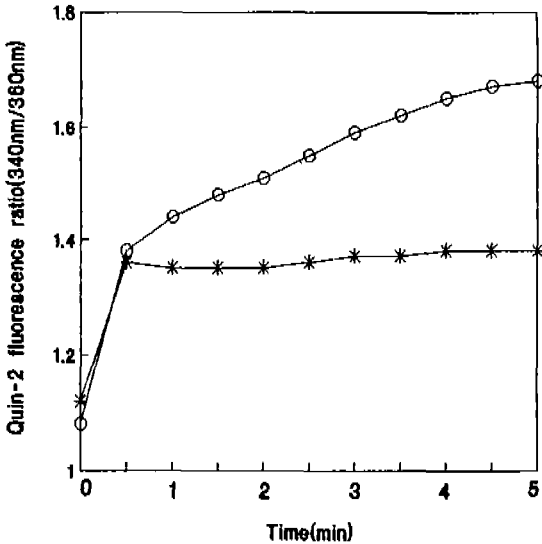


Fig. 4. Effect of zeatin (10^{-5} M) on the Quin-2 fluorescence ratio (340/360 nm) of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Incubation medium is free of Ca^{2+} (*), which was compared with 1 mM Ca^{2+} of control (○).

에서 zeatin처리 후 30초 이후의 형광도 비율의 증가는 단순히 세포의 유래 Ca^{2+} 의 확산현상 혹은 Ca^{2+} channel을 통한 유입의 결과로 추정된다.

Zeatin이 세포내 소기관내 calcium 방출을 유도한다면, 세포내 소기관으로부터 calcium 방출을 일으키는 inositol trisphosphate(IP_3)를 매개하여 일어나는지를 알아보기 위하여 $20 \mu M$ 의 IP_3 를 처리하였다. 그러나, 처리 후 형광도 비율의 증가가 곧바로 크게 나타날 것으로 예상했던 것과는 달리, 지속적인 증가양상을 보였다(Fig. 5). 이러한 결과는 IP_3 가 옥수수 원형질막을 손쉽게 투과할 수 없기 때문인 것으로 보인다(Rincon *et al.*, 1987).

Auxin에 의해서는 세포질내 Ca^{2+} 의 농도를 감소시키는 방향으로 작용하는 것으로 보이며(Poovaiah and Reddy, 1987), 그 주된 기작으로 원형질막에 위치한 Ca-ATPase (calcium pump)의 활성을 증가시켜 Ca^{2+} 의 방출을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Scherer, 1981; Kubowicz *et al.*, 1982). 그러나, 여기서 사용한 calcium probe인 Quin-2는 분리상수(Kd)가 115 nM로 매우 낮을 때 이것은 calcium과의 친화력이 매우 높음을 의미하고, 그 결과 일단 결합한 Quin-2-calcium 복합체는 다시 분리가 되는 것이 어렵기 때문에 calcium 농도에 의존적인 340 nm에서의 형광도 값의 감소는 나타나지 않으므로 그 결과 형광도 값의 감소는 일어나지 않게 된다. 이러한 Quin-2의 결점으로 auxin에 의한 세포막 밖으로의 유출이 세포막안으로의 유입 그리고 세

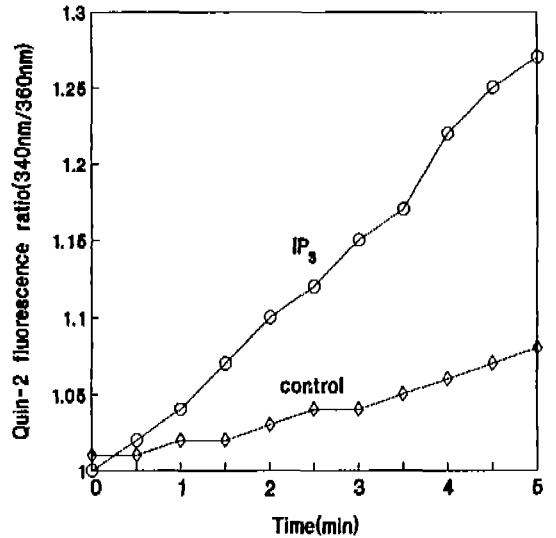


Fig. 5. Effect of IP_3 ($20 \mu M$) on the Quin-2 fluorescence ratio (340/360 nm) of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Incubation medium is free of Ca^{2+} .

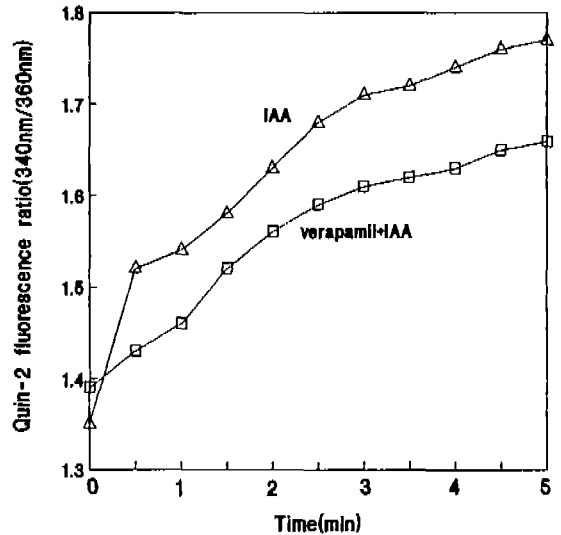


Fig. 6. Effect of IAA (10^{-5} M) after verapamil treatment (10^{-5} M) on the Quin-2 fluorescence ratio of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Ca^{2+} concentration of incubation medium is 10 mM.

포소기관으로부터의 유출의 함보다 많더라도 실제로 나타나는 형광도 비율은 세포질내의 Ca^{2+} 의 증가로만 나타나게 된다. 여기에서도 1 mM의 Ca^{2+} 배지에 비하여 10 mM의 Ca^{2+} 배지에서 IAA 처리시 초기 형광도 비율의 증가가

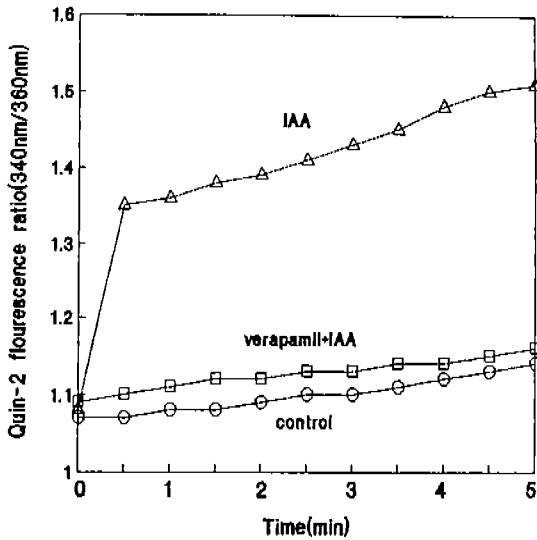


Fig. 7. Effect of IAA (10⁻⁴ M) after verapamil treatment (10⁻⁵ M) on the Quin-2 fluorescence ratio of maize mesocotyl protoplasts made from elongating mesocotyl. Ca²⁺ concentration of incubation medium is 1 mM.

많이 일어난 것을 볼 수 있었다(Fig. 3). 10 mM의 CaCl₂ 반응용액에서 나타나는 초기 형광도 비율의 증가양상은 IAA의 작용이 calcium channel을 열리게 하거나 혹은 단순히 확산 현상이 확대되어 나타난 결과일 것이다. 그래서 IAA에 의한 Ca²⁺ level 증가가 calcium channel과 관련있는지를 알아보기 위하여 calcium channel blocker인 verapamil을 10 mM CaCl₂가 들어 있는 용액에 전처리한 후 IAA를 처리한 결과 10 mM의 CaCl₂ 반응용액에서 나타나는 초기 형광도 비율의 증가가 현저히 둔화되었음을 볼 수 있었다(Fig. 6). 한편, Fig. 1에서 보듯이 10⁻⁴ M의 IAA를 처리하면 길이생장이 억제되는데 이 농도의 IAA에 의해서는 세포질내의 Ca²⁺ level이 어떻게 변화하는지를 알아보았다. 그 결과 1 mM의 Ca²⁺ 배지에서 10⁻⁴ M의 IAA를 처리하면 같은 농도의 Ca²⁺ 배지에 zeatin을 처리한 경우와 유사한 양상의 초기 형광도 증가를 보였다(Fig. 7). 이러한 초기 형광도 비율의 증가도 calcium channel과 관련있는지를 알아보기 위하여 verapamil을 1 mM CaCl₂가 들어 있는 용액에 전처리한 후 10⁻⁴ M의 IAA를 처리한 결과 대조구 수준의 형광도 비율로 감소하였다. 즉, IAA에 의한 작용 중의 하나는 calcium channel의 opening을 유도하는 것으로 생각되며(Hasenstein and Evans, 1986), 길이생장을 촉진시키는 농도의 IAA와 억제시키는 농도의 IAA가 보여주는 상이한 세포질내의 Ca²⁺ 수준의 변화는 Ca²⁺ 이 서로 다른 자극에 상응하는 적절한 반응을 유도하는 이차전달자로서의 가능성을 더욱 뒷받침한다고 생각된다.

이상의 결과로부터 IAA는 calcium channel의 opening을 유도하여 Ca²⁺의 유입을 증가시켰으며, zeatin은 세포내 소기관으로부터의 Ca²⁺ 방출을 촉진하였다. 그리고 이러한 작용은 호르몬 처리 후 30초 이내에 일어나는 반응으로 보이며, Morse 등(1989)이 제시하였듯이 이차 전달자로서의 Ca²⁺의 조건에 부합된다. 단지, Quin-2 방법으로는 세포질내의 Ca²⁺ 농도가 감소되는 과정을 측정하는 것이 어려우므로 수분내에 원래의 Ca²⁺ 농도로 되돌아가는지는 알 수 없었다.

옥수수 신장 중인 조직에서 두 호르몬의 작용이 서로 다른 calcium의 흐름을 보여줌으로써, 세포가 그에 상응한 언어로 이해하여, 세포신장을 증가시키거나 혹은 억제시키는 방향으로 세포가 반응할 것이라는 생각을 가능하게 한다. 그러나, 보다 정확한 이차 전달자로서의 Ca²⁺을 이해하기 위해서는 세포내 Ca²⁺을 세포외로의 방출 및 세포소기관으로 유입하게 하여 세포내 Ca²⁺ level을 낮추어 주는 calcium-ATPase의 작용에 대한 연구가 요구된다. 그 래야만 호르몬이라는 자극에 대한 반응으로서의 Ca²⁺의 전체적인 움직임을 알 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

옥수수의 신장 중인 종배축으로부터 분리한 원형질체를 가지고 IAA와 zeatin에 의한 세포질의 Ca²⁺ 농도 변화를 조사하였다. Calcium channel blocker인 verapamil을 사용하여, 세포질내의 Ca²⁺ 농도 변화를 살펴본 결과 IAA는 calcium channel의 opening을 유도하여 Ca²⁺의 유입을 증가시켰다. 한편, zeatin은 calcium channel에 작용하여 Ca²⁺의 유입을 증가시키는 것 같지는 않으며, 단지 세포내 소기관으로부터의 Ca²⁺ 방출을 촉진하는 것으로 보인다. 이렇게 옥수수의 신장 중인 조직에서 상반되는 작용을 나타내는 두 호르몬의 작용이 서로 다른 calcium의 흐름을 보여줌으로써, 세포가 그에 상응한 언어로 이해하여, 세포신장을 증가시키거나 혹은 억제시키는 방향으로 세포가 반응할 것이라는 생각을 가능하게 한다.

참 고 문 헌

Cobbold, P.H. and T.J. Rink. 1987. Fluorescence and bioluminescence measurement of cytoplasmic free calcium. *Biochem. J.* **248**: 313-328.
 Cunninghame, M.E. and J.L. Hall. 1986. The effect of calcium antagonists and inhibitors of secretory process on auxin-induced elongation and fine structure of *Pisum sativum* stem segments. *Protoplasma* **133**: 149-159.
 Gilroy, S., W.A. Hughes and A.J. Trewavas. 1989. A comparison between Quin-2 and Aequorin as indicators of cytoplasmic calcium levels in higher plant cell protoplast.

- Plant Physiol.* **90**: 482-491.
- Hanke, D.E., H. Davies, M. Biffen, R.J.A. Connett and T.C. Freathy. 1990. Cytokinin mode of action-Problems and Perspectives. In, *Plant Growth Substances*, R.P. Pharis and S.B. Rood (eds). Springer-Verlag Press, Berlin pp. 161-172.
- Hasenstein, K.H. and M.L. Evans. 1986. Calcium dependence of rapid auxin action in maize roots. *Plant Physiol.* **81**: 439-443.
- Kruskal, B.A., C.H. Keith and F.R. Maxfield. 1984. Thyrotropin-releasing hormone-induced changes in intracellular Ca^{2+} measured microspectrofluorometry on individual quin2-loaded cells. *J. Cell. Biol.* **99**: 1167-1172.
- Kubowicz, B.D., L.N. Vanderhoff and J.B. Hanson. 1982. ATP-dependent calcium transport in plasmalemma preparations from soybean hypocotyls. *Plant Physiol.* **69**: 187-191.
- Marmé, D.P.D. 1983. Role of Ca^{2+} and calmodulin in plants. In, *Calcium and Cell Functions*, W.Y. Cheung (ed.). Vol. 4. Academic Press, New York. pp.263-311.
- Marmé, D.P.D. 1989. The role of calcium and calmodulin in signal transduction. In, *Second Messengers in Plant Growth and Development*, W.F. Boss and D.J. Morre (eds.). Vol. 6. Alan R. Liss Press, New York. pp. 57-80.
- Morse, M.J., R.L. Satter, R.C. Crain and G.G. Coté. 1989. Signal transduction and phosphatidylinositol turnover in plants. *What's New in Plant Physiology.* **76**: 118-121.
- Poovaiah, B.W. and A.S.N. Reddy. 1987. Calcium messenger system in plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* **6**: 47-103.
- Poovaiah, B.W., A.S.N. Reddy and J.J. McFadden. 1987. Calcium messenger system: Role of protein phosphorylation and inositol bisphospholipids. *Physiol. Plant.* **69**: 569-573.
- Reddy, A.S.N., T. Koshiba, A. Theologis and B.W. Poovaiah. 1988. The effect of calcium antagonists on auxin-induced elongation and on the expression of two auxin-regulated genes in pea epicotyls. *Plant Cell Physiol.* **29**: 1165-1170.
- Rincon, M. and W.F. Boss. 1987. Myo-Inositol trisphosphate mobilizes calcium from fusogenic carrot (*Daucus carota* L.) protoplasts. *Plant Physiol.* **83**: 395-398.
- Sanders, D., A.J. Miller, S. Blackford, J.M. Brosnan and E. Johannes. 1990. Cytosolic free calcium homeostasis in plants. *Curr. Topics Plant Biochem. Physiol.* **9**: 20-37.
- Scherer, G.T.E. 1981. Auxin-stimulated ATPase in membrane fractions from pumpkin hypocotyls (*Cucurbita maxima* L.). *Planta* **151**: 434-438.
- Tsien, R.Y., T. Pozzan and T.J. Rink. 1982. Calcium homeostasis in intact lymphocytes: Cytosoplasmic free calcium monitored with a new, intracellularly trapped fluorescent indicator. *J. Biol. Chem.* **94**: 325-334.
- Tsien, R.Y., T. Pozzan and T.J. Rink. 1984. Measuring and manipulating cytosolic Ca^{2+} with trapped indicators. *Trends Biochem. Sci.* **9**: 263-265.

(1991. 8. 3 接受)