

大·小麥에 있어서 低溫 및 水分不足에 依한 遊離 Proline의 蓄積

崔元烈* 돈아스피날**

全南大學校 農科大學* · 濠州아데라인드大學校 農科大學**

THE ACCUMULATION OF FREE PROLINE AT LOW TEMPERATURES AND WATER STRESS IN BARLEY AND WHEAT.

WON-YUL CHOI* AND DON ASPINALL**

* COLLEGE OF AGRICULTURE, CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY

** WAITE AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE, THE UNIVERSITY OF ADELAIDE, AUSTRALIA.

ABSTRACT

In order to find the physiology of responses and mechanisms of the accumulation of free proline at low temperatures and water stress, the temperature range, the effect of prolonged exposure to low temperatures, the light-dependence of proline accumulation in barley was significantly lower than in wheat. Proline accumulation at 5°C without water stress was shown to be light-dependent. Proline accumulation by water stress was not light-dependent at 20°C but at 5°C.

緒 言

Draper,⁶⁾ Pauli·Mitchell¹²⁾, Srivastava·Fowden¹⁷⁾, Trione²¹⁾은 植物이 低溫에 處하면 全遊離 amino酸이 顯著히 增加된다고 하였다. 또한 Benko²⁾, Thomson·Zalik²⁰⁾은 低溫에 依한 全遊離 amino酸의 增加는 主로 Imino-acid인 Proline의 蓄積이 主因이라고 하였다. Palfi et al¹⁰⁾, Singh et al¹⁵⁾은 葉의 水分能力(ψ_w , Water potential)의 減少即, 水分이 不足됨에 따라 植物葉의 遊離 Proline 含量이 增加된다고 하였다. 그러나 Chu et al⁴⁾은 低溫에 依한 Proline 蓄積은 葉의 ψ_w 의 減少의 同時物 結果는 아니며 오히려 低溫이 反應에 直接

的인 影響을 준듯하다고 하였다. Benko²⁾는 低溫에 依한 植物組織內的 Proline 蓄積은 冷害抵抗性과 有関하다 하였고 Ostapljuk²⁴⁾는 Proline의 蓄積量은 品種間에 差異가 있음을 示唆하였다.

그러나 이러한 反應生理에 對한 基礎的인 究明이 未洽하기에 本 研究는 大·小麥을 中心으로 數種의 植物에 對한 Proline 蓄積의 溫度範圍, 長期 低溫處理의 影響, 低溫과 水分不足에 依하여 光依存性 與否 및 種間, 種內的 變異를 알고자 함이다.

材料 및 方法

大麥(Hordeum-distichum L., CV. Prior)과 小麥(Triticum aestivum L., CV. Gabo)을 直徑 10cm인 plastic pot에 10日間 growth Chamber에서 生育시켜 材料植物로 使用하였다. 材料植物은 砂耕栽培로서 Hoagland 養分溶液을 1/2 濃度로 每日 給與하였으며 生育初 10日間은 日長 16時間(光度: 4.1mWcm⁻²)으로서 晝間 21±1°C, 夜間 14±1°C로 維持시켰다.

低溫處理는 生育初期의 生育環境에서 溫度만 낮은 低溫室에 全植物體를 옮기거나 低溫暗室에 옮겼고, 標準이 되는 植物은 初期의 生育條件을 變更없이 持續시켰다. 水分不足處理는 polyethylene

glycol (P. E. G) 溶液(分子量 6,000, osmotic potential -20bars)으로 水分不足을 誘發시켰다.

葉切片組織에 對한 實驗에서는 10日間 生育시킨 植物의 第一本葉을 1cm 길이로 切斷한 葉切片을 蒸溜水나 P. E. G. 溶液에서 浸漬浮游시켰다.

完全植物체로 處理한 葉이나 葉切片은 採取·平量한 直后 液化窒素에 浸漬하여 分析時까지 -20°C의 冷凍室에 保管하였다. proline 分析은 Troll & Lindsley²³⁾ 方法을 使用하였고 葉 ψ_w 은 25°C에서 Spanner psychrometer로 測定하였다. Proline 分析過程을 간추리면 蒸湯管에 1500mg 程度의 Permutit resin과 試料를 넣은 后 5 ml M. C. W. (methanol : Chloroform : Water, 12 : 5 : 3 容積比)를 넣어 glass homogenizer로 磨碎한 다음 5分間 遠心分離(r. p. m. 2000), 上澄液을 boiling tube에 옮겨 5 ml 氷酢酸과 5 ml Ninhydrin 染色劑를 넣어 水槽에서 正確히 45分間 끓여 室溫에서 식힌 다음 5 ml Toluene을 添加攪拌하여 30分間 精置, spectrophotomer로 520mm에서 測定하였다. 標準은 L-Proline을 使用하였다.

結 果

1. Proline 蓄積의 溫度範圍.

Chu et al¹⁾은 大麥(CV. Prior)과 黍(White icicle)는 5°C에서 蓄積을 하였으나 20°C에서는 蓄積하지 않았다고 하였다. 이 境遇에도 Proline 蓄積限界溫度를 明示하지 않았다. 그림 1과 같이 8°C 或은 그 以上の 溫度에서는 72時間이 經過하여도 全혀 蓄積하지 않았으나 4~6°C 範圍에서는 蓄積이 뚜렷하였고, 그 以下の 低溫일수록 蓄積이 急速하였다. 4~6°C의 低溫에서는 處理 72時間까지는 蓄積이 顯著하나 그 以後 120時間까지도 蓄積率의 增加는 없었다.

그림 1의 結果로 보면 어떤 一定溫度 以上이 되면 Proline 蓄積이 全혀 蓄積되는 嚴密한 限界溫度가 있다는 것을 보여주고 있다. 또한 Proline 蓄積 反應은 伸長과 密接하게 關聯을 맺고 있는데 여기에서 乾物重의 增加보다는 草長의 伸長과 比較한 것은 뚜렷한 對照를 보여주기 爲함이다. Proline이 많이 蓄積되는 5°C 範圍에서는 草長의 伸長은 거의 없었으나, 8°C 以上에서는 Proline 蓄積이 거의 없는 皮麥의 境遇 草長은 相當한 伸長을

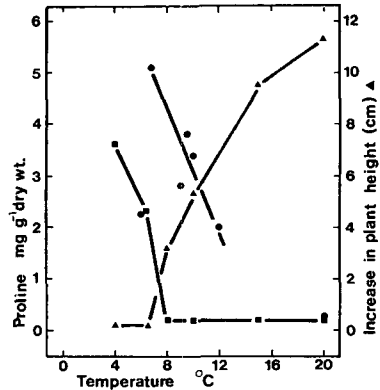


Figure 1. The free proline content of the leaves of barley (cv. Prior) and wheat (cv. Gabo) plants subjected to various temperatures for 72 hours. Barley, free proline content of first leaf, ■ wheat, free proline content of first leaf, ● Barley, plant height, ▲

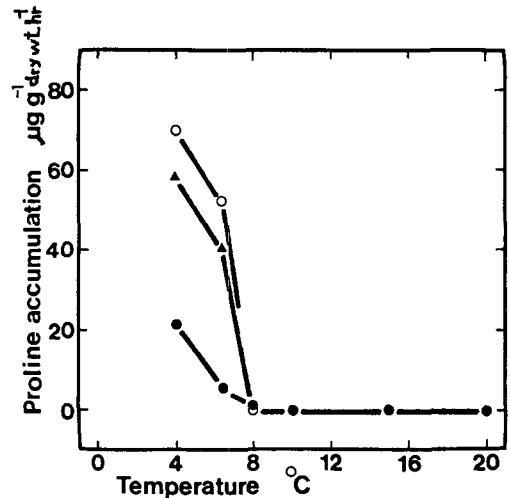


Figure 2. The rate of proline accumulation in the first leaf of barley (cv. Prior) subjected to various temperatures. ● 24 hrs, ○ 72-120 hrs.

나타냈다. 그러므로 伸長抑制溫度와 Proline을 蓄積하는 臨界溫度는 正確하게 一致하지는 않으나 거의 비슷하다고 보여진다. 다른 溫度에 依한 葉

ψ_w 의 어떤 변화에서도 축적은 되지 않았다. 表1과 같이 4~20°C 온도範圍에 의한 葉 ψ_w 은 多少差異가 있었고 Singh et al¹¹은 이 온도範圍內的 어느 온도에서도 ψ_w 은 -7 bars까지 내려가지 않으며 -7 bars의 ψ_w 은 20°C에서 皮麥의 Proline 축積의 上限 ψ_w 이라 하였다.

Table 1. Water potential (Ψ_w) of the first leaf of barley plants (CV. Prior) subjected to a range of low temperatures.

Time (days)	Temperature (°C)					
	20°C	15°C	10°C	8°C	6°C	4°C
	Ψ_w (-bars)					
0	3.5	3.7	3.4	3.7	3.7	3.5
1	3.7	3.7	3.7	3.9	4.1	4.2
3	3.6	3.9	3.8	4.1	4.3	4.7
5	4.2	3.6	4.2	4.3	4.7	4.9

小麥에 對한 많은 資料와 皮麥에 對한 小數의 資料가 있지만 이런 資料에서 供試된 品種에 있어서 그림 1과 같이 Proline 축積에 對한 最低溫度가 더 높다는 것을 보여준다. 小麥은 12°C 에서도 축積되는데 이 온도에서도 皮麥의 6.5°C와 같은 程度의 速度로 溫度反應이 相異하다.

2. 低溫에의 長期露出效果

皮麥을 20°C에서 10日間 生育시킨 後 供試植物의 半은 5°C에, 그리고 나머지 半은 20°C로 各各 維持시킨바, 20°C에 둔 植物의 第一本葉은 完全히 老衰하기까지 13日 밖에 生存하지 못하였는데 處理 7日까지는 遊離 Proline이 조금 增加(0日-235 $\mu\text{g g}^{-1}$ Dwt. ~ 7日-411 $\mu\text{g g}^{-1}$ Dwt.) 되었으나 그 以後에는 急減(13日-115 $\mu\text{g g}^{-1}$ Dwt.) 하였다. 그러나 그림 3의 低溫에 의한 蓄積量과 對比하여 보면 差異는 極히 적었다. 20°C와는 다르게 5°C에 둔 것은 29日째까지 生存하였고 이 期間中 老衰하지도 않고 Proline의 蓄積은 顯著하였다. 即, 低溫處理後 24時間은 蓄積이 微微하였으나 그 以後 11日째까지는 急增하였는데, 1~11日째 사이의 乾物 1g當 1日平均 Proline 蓄積量은 818 μg 程度였으나, 11日 以後에는 280 μg 로 減少하였다. 그러나 實驗이 終了되는 27日째까지 蓄積이 持續되었다. 29日째의 輕微한 減少는 統計的으로 有意성이 없었기에 葉生存時 蓄積의 커다란 減少는 없는 것으로

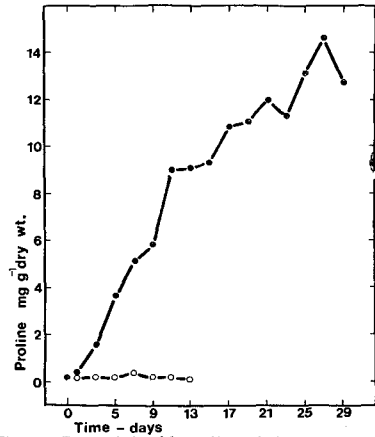


Figure 3. The accumulation of free proline in the first leaf of barley (cv. Prior) during prolonged exposure to low temperature. ● 5°C, ○ 20°C.

로 思料된다.

3. Proline 축積에 對한 光依存性.

Singh et al¹⁶은 皮麥葉切片을 20°C 蒸溜水에 浮游시켰을 때 初期에는 Proline 축積이 遲延되었으나 后期에 蓄積된 것은 滲透壓不足 때문이라고 하였다. 本實驗에서는 5°C 低溫暗所에 둔 皮麥葉切片의 Proline 축積與否를 알고 저 하였으나 結果는 좋지 않았다. 그림 4와 같이 完全植物體葉과 葉切片에 對한 光處理를 低溫條件下에서 한 結果 Proline 이 蓄積된 것으로 미루어 보아 低溫下에서의 Proline 축積은 光依存性임이 確實하다. 反而 5°C 低溫暗所에 둔 植物은 全히 Proline을 蓄積하지 않았다. 水分不足의 境遇와 同樣으로 葉切片 보다는 完全植物體葉에서 훨씬 많고 急速한 蓄積을 하였다. 그러나 低溫處理한 것은 72時間內에 最少限 10倍 程度의 蓄積을 하였으나 對照的으로 暗所에 둔 完全植物이나 切片한 葉은 遊離 Proline 濃度가 當初보다 계속 減少하였다.

5°C의 低溫暗所에서 Proline 축積이 되지않는 것이 Proline 生合性에 必要한 基質의 不足때문인가를 알기 爲하여 葉切片을 Sucrose(0.5M)나 glutamate(0.1M), 또는 Sucrose와 glutamate 混合

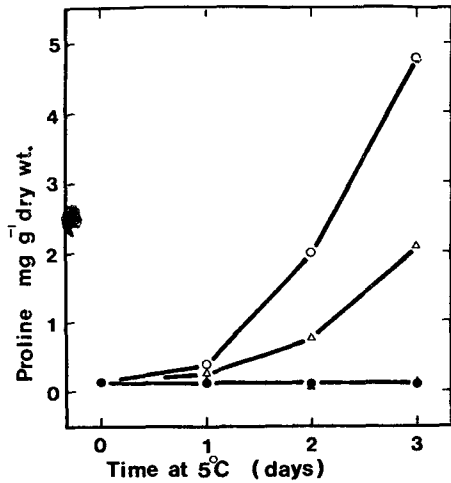


Figure 4. The effect of light (4.1 mW cm^{-2} fluorescent) on proline accumulation at 5°C in the first leaf of intact barley plants (cv. Prior) or in first leaf segments floating on distilled water. Light: \circ - Intact leaves, Δ - excised leaves. Dark: \bullet - Intact leaves, \blacktriangle - excised leaves.

溶液中 20°C 暗所에서 2 時間半 동안 incubation 시킨 후 蒸溜水로 행구어 낸 후 5°C 의 暗所에 48 時間 동안 두었다. 이 實驗에서 水分不足이 5°C 의 低溫暗所에서 Proline이 蓄積되는가를 보기 위하여 P. E. G. 溶液 (-20bars) 에 葉切片을 incubation 시킨것이나 表 2 와 같이 sucrose나 glutamate 溶液에 pre-incubation 시킨것이나 P. E. G. 溶液에 incubation 시킨것이나, 共히 有意性있는 proline 은 蓄積되지 않았다. 故로 5°C 의 低溫暗所에서 蓄積이 거의 없는 것은 基質의 不足이나 缺乏때문은 아닌것 같다.

既히 얻어진 結果는 低溫暗所에서의 水分不足은 Proline 蓄積에 效果가 없다는 것을 暗示하고 있다. 實로 P. E. G. 溶液에 incubation된 葉切片의 Proline 濃度는 時間이 經過함에 따라 減少하는 傾向이었다. 이런 暗示를 具體的으로 究明코져 葉切片을 5°C 와 20°C 의 暗所에서 蒸溜水와 P. E. G 溶液에 incubation시켰다. 그림 5 와 같이 5°C 의 暗所에서는 두가지 어느 medium에서도 Proline은 蓄積되지 않았다. 그러나, 20°C 의 暗所에서 어느 medium에 incubation시킨 것이거나 共히 뚜렷한 蓄

Table 2. The influence of sucrose and glutamic acid on the free proline content of excised barley leaf lamina sections floated on water or polyethylene glycol solution (PEG, 20 bars) at 5°C in the dark. Leaf sections were incubated in the dark at 20°C for 2½ hours on solutions of sucrose, glutamic acid or both, were then rinsed and transferred to distilled water or PEG solution at 5°C in the dark for up to 48 hours. The initial proline content of the leaf sections was 210 ug g^{-1} dry wt.

Pretreatment	Incubation medium	4 hr	24 hr	48 hr
		Free proline content (ug g^{-1} dry wt)		
Sucrose (0.5 M)	H ₂ O	260	230	310
	PEG	160	110	70
Glutamate (0.1 M)	H ₂ O	150	180	140
	PEG	120	80	60
Sucrose(0.5 M) + Glutamate(0.1 M)	H ₂ O	210	210	190
	PEG	160	150	80
Least Significant Difference (P=0.05)		110	120	200

積을 하였다. Singh et al⁶이 指摘한바와 같이 蓄積率은 蒸溜水에서 보다 P. E. G 溶液에 incubation한 것이 훨씬 높았다. 小麦의 境遇에도 5°C 의 暗所에서는 없었으나 20°C 의 暗所에서는 Proline

蓄積이 되었다는 아주 類似한 資料들이 이 結果를 뒷받침 하여 주고있다. 皮麥葉切片을 蒸溜水와 P. E. G 溶液에 20°C 의 暗所에서 24 時間 浮游시킨 다음 50°C 의 暗所에 옮겨 다시 24 時間 浮游시킨 結

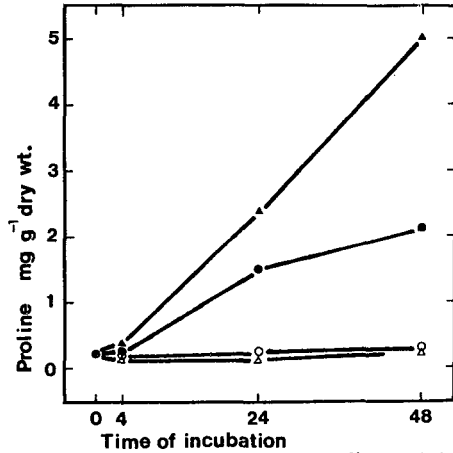


Figure 5. The effect of incubation temperature on proline accumulation in excised barley first leaf sections when floated on water or polyethylene glycol solution (osmotic potential -20 bars) in the dark. ● water, 20°C, ○ water, 5°C, ▲ PEG solution, 20°C, △ PEG solution, 5°C.

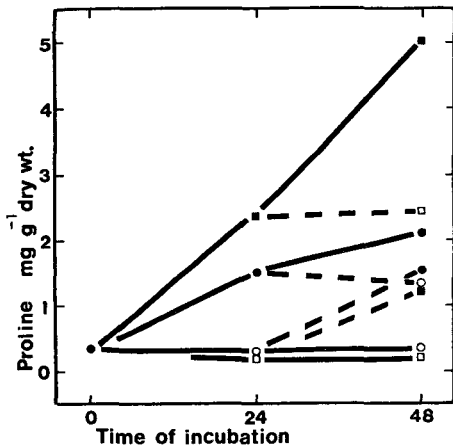


Figure 6. The effect of incubation temperature on proline accumulation in excised barley first leaf sections when floated on water or polyethylene glycol solution (osmotic potential -20 bars) in the dark. Sections were floated at 5°C or 20°C for the initial 24 hours when half the remaining cultures were transferred to the alternate temperature for a further 24 hours. ● water, 20°C, ○ water, 5°C, ■ PEG solution, 20°C, □ PEG solution, 5°C.

果 Proline 蓄積이 곧 中止되었다는 것을 그림 6에서 보여준다. 어느 medium에 浮游시키든지 보다 높은 溫度에서 蓄積된 Proline 의 減少는 없었다. 處理順序를 前과 다르게 하면 即 葉切片을 5°C에 浮游시킨 後 20°C에 옮겨주면 處理直後·24時間内に Proline 蓄積됨을 볼 수 있었다.

葉切片이 20°C에서 水分不足에 依하여 Proline 이 蓄積될 때 光이 必須的이 아니라는 事實에 對한 確證을 얻기 爲하여, 20°C의 暗所에서 水分不足 反應에 對하여 完全植物體로서 遂行된 結果를 보면 처음 24時間 동안은 水分不足에 依하여 蓄積이 되었으나 그 以後에는 減少되었다. 그러므로 水分不足에 依한 Proline 蓄積은 光低存性이 아니다. 勿論 48時間以後의 濃度減少는 前驅物質에 該當할 수 있는 炭水化合物의 漸進的인 不足과 呼吸作用中 Proline의 再利用에 起因한 것. 같다.

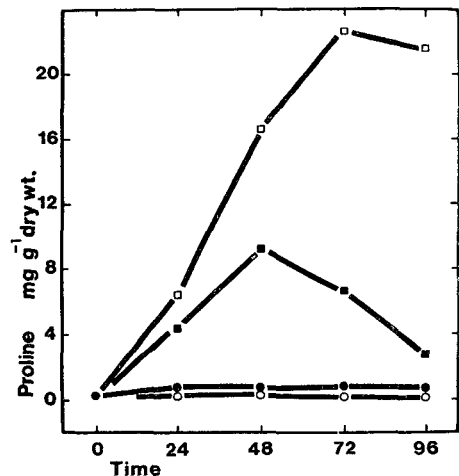


Figure 7. The effect of light (4.1 mW cm⁻² fluorescent) on proline accumulation in the first leaf of intact barley plants at 20°C. ○ no water stress, light, ● no water stress, dark, □ water stress (-20 bar osmotic potential PEG in rooting medium), light, ■ water stress, dark.

4. 低溫에 依한 Proline 蓄積의 遺傳的差異

溫帶 및 亞熱帶植物을 포함하여 14種에 對한 低溫에 依한 Proline의 蓄積程度를 調査하였다. 植物의 種에 따라 20°C 또는 30°C에서 本葉 3~4枚 展開時까지 生育시킨 後 5日동안 10°C의 低溫에 옮겨 놓았다. 試料採取는 低溫處理直前과 直後에 하

였으며 Proline 함량과 葉 ψ_w 을 測定하였다. 表 3 과 같이 處理前에 比하여 處理直 후에 Proline은 顯著하게 增加하였고 葉의 ψ_w 은 大體로 減少하였다. 特히 *Stylosanthesis humilis*, *Gossypium hirsutum*, *Pharbitis nil*, *Lens esculenta*, *Chloris gayana* 및 *Nicotiana glutinosa*는 ψ_w 이 크게 減少하였고 Pr-

oline 蓄積은 *Nicotiana glutinosa*는 葉 ψ_w 의 減少가 隨伴되면서 Proline이 顯著히 增加하였으나 *Brassica napus*는 低溫에서 葉 ψ_w 이 조금 增加되면서 Proline은 무려 10배나 增加하였다. 種間의 Proline 蓄積은 어느 程度의 差異를 보였다. 低溫에 依한 種內의 Proline 蓄積의 變異範圍를

Table 3. Free proline content and water potential (Ψ_w) of the leaves of a number of species growing at a high temperature (20° or 30°) or following 5 days growth at 10°.

Species	High temperature		Low temperature (10°C)	
	Ψ_w (-bar)	Proline (mg g ⁻¹ bry wt)	Ψ_w (-bar)	Proline (mg g ⁻¹ dry wt)
	30°C			
<i>Gossypium hirsutum</i> (cv. Delta Pine, Smooth Leaf)	1.3	0.3	14.8	1.0
<i>Stylosanthes humilis</i> (Townsville Stylo)	5.1	0.4	18.6	0.7
<i>Helianthus annuus</i> (Sunflower)	3.3	0.1	2.9	0.6
<i>Chloris gayana</i> (Rhodes grass)	10.2	0.2	11.8	0.8
<i>Nicotiana glutinosa</i>	1.5	0.2	7.6	3.3
	20°C			
<i>Raphanus raphanistrum</i> (cv. Long Scarlet)	1.4	0.3	3.1	1.4
<i>Pisum sativum</i> (cv. Maori King)	1.9	0.7	4.8	0.8
<i>Pharbitis nil</i> (cv. Violet)	4.5	0.1	7.0	0.3
<i>Lens esculentum</i> (Lentil)	4.4	0.3	9.1	0.8
<i>Cucumis sativus</i> (cv. Marketeer, Heinz Gherkin, Bishop Apple)	2.9 1.6 1.8	0.1 0.1 0.1	4.3 5.8 3.2	0.6 0.7 0.4
<i>Brassica napus</i> (Rape)	5.6	0.2	2.8	2.0
<i>Trifolium subterraneum</i> (cv. Yarloop, Dinninup, Bacchus Marsh)	3.7 2.2 0.5	0.2 0.4 0.2	5.9 4.7 3.7	0.3 0.6 0.2
<i>Lactuca sativa</i> (cv. Great Lakes)	5.2	0.2	4.3	0.4
<i>Lolium rigidum</i> (Wimmera ryegrass)	4.8	0.3	5.6	1.4

보기 爲하여 皮麥 10品種을 調査하였다. Singh et al¹⁷은 水分不足에 依한 品種間의 蓄積에 差異가 있음을 認定하고 있다. 表 4 와 같이 低溫에 依한

品種間의 Proline 蓄積能力의 差異가 分明하기는 하지만, 水分不足에 依한 差異만큼 크지는 않았 다. 그리고 低溫에 依한 品種間蓄積傾向과 水分不

Table 4. Chilling stress and proline accumulation in the first leaves of 10 varieties of barley. Plants were transferred from 20°C to 5°C five days before sampling

Cultivar	Proline (mg g ⁻¹ Dwt.)			
	5°C	20°C	Water stress (Singh et al ¹⁴ .)	Origin
Arivat	7.8	0.3	12.9	U. S. A.
B. R. 1239	7.4	0.3	14.1	Canada
Bankuti Korai	5.7	0.3	24.1	Hungary
Maraini	5.5	0.4	9.1	Italy
Proctor	5.2	0.3	9.0	U. K.
Excelsior	5.1	0.3	18.5	Central Asia
Princess	5.1	0.4	13.3	Sweden
CI. 3576	5.0	0.3	11.1	Egypt
Prior A	4.7	0.3	15.7	Australia
Velvon II	3.4	0.3	12.3	U. S. A.

수에 의한 축적과는 반듯이 相應한 傾向은 아니었다.

考 察

低溫에 의한 Proline 축적에 대한 報告^{1,4,22} 들은 大概 5°C 또는 그 以後의 一定溫度와 關聯된 것이다. 그림 1과 같이 皮麥의 Proline 축적의 最高限界溫度는 6~8°C 사이였고, 小麥은 12°C 程度였다. 이러한 最高限界溫度는 Proline 축적이 全 amino acid-pool에 있어서 溫度에 의한 連續的 變化의 結果라기 보다는 오히려 一聯의 特異한 代謝的 異變이라 할 수 있다. 그러므로 低溫과 水分不足으로 因한 Proline 축적機作이 서로 類似한데 그 理由는 Boggess et al³ 과 Stewart et al⁹에 依하면 Proline 酸化의 抑制와 그 生合成의 增進이라 볼 수 있다.

그림 1과 같이 伸張中止溫度와 Proline 축적始作溫度는 大端히 密接한 相應關係이며 Chu et al⁴과 Singh et al⁵이 指摘하였듯이 Proline 축적은 生育 阻害條件에 副應한다는 普遍性이 尙當하다고 본다. 그러나 Chu et al⁴에 依한 Proline 濃도가 높으면 生育이 中止되고, 植物의 老衰와 크게 關聯되며 葉의 代謝作用의 分解的인 變化의 結果라는 것은 타당성이 缺如한 것 같다. 實로 그림 3과 같이 5°C에 長期로 露出시킨 皮麥第1本葉의 Proline 축적이 完만한 것은 葉老衰遲延과 關聯이 조

금은 있을 수는 있으나 20°C에 둔 葉은 Proline 축적이 없고 단지 13日 生存하였으나 5°C에는 축적이 되면서 29日 生存하였다는 것으로 미루어 볼 수 있다. 勿論葉老衰後期에 蓄積質分解에 依하여 放出되기도 하며 그림 5와 같이 葉切片의 老衰期間에 蓄積된다. 그러나 低溫과 水分不足에 依한 축적은 同一한 機作은 아니라 할 수 있다. 水分不足이 없는 20°C에 栽培한 것은 그림 3과 같이 잎이 노쇠하더라도 Proline 축적은 없었다. 이 期間 동안에 蛋白質로 부터 Proline이 生길수도 있겠으나 即時 体内의 어느 곳으로 轉流·再利用될 수 있겠다.

5°C의 低溫에 依한 Proline 축적은 低溫自体에 對한 反應이거나 低溫에 依한 多小間의 葉 Ψ_w 의 減少이든간에 光에 對한 依存性임에 틀림없는 것 같다. 反面 20°C의 高溫에서의 水分不足時의 蓄積은 光에 對한 依存性은 없었다. 5°C에서의 光合成率은 極히 적고 더구나 使用한 光度는 높지도 않은 것이다. 때문에 光合成的으로 誘導된 炭水化合物인 前驅物質은 Proline 축적의 光依存性에 重要한 몫을 할 수는 없다. 이것은 供給된 糖이나 더욱 直接的인 前驅物質인 glutamate에 對한 反應이 없고 葉切片을 20°C의 暗所에서 5°C의 暗所로 옮겼을 때 바로 蓄積하는 機作에 關與하고, 20°C에서 生成된 Proline이 5°C의 暗所에 浮游시키는 동안 減少되지 않았으므로 20°C에서는 光이 關與하지 않는 것으로 본다.

低温에 대한 反應을 보면 Apple², lolium perenne⁶, picea glauca⁷, ryé embryo²⁰ 및 wheat^{20, 21}은 0℃에 가까운 溫度에서 Proline이 蓄積되었다. 表 3과 같이 10℃ 程度의 溫度에서 蓄積하는 것은 遜하지는 않으며 pharbitis nil, cucumis sativus 그리고 Lactuca sativa는 거의 蓄積을 蓄積했으나, Nicotiana glutinosa와 Brassica napus는 10℃에서도 急速하게 蓄積한 例도 있다. 또한 耐冷性이 弱한 植物은 Proline을 蓄積할 程度의 葉 ψ_w 이 減少할지라도 蓄積能力이 地理的인 分布와 10℃의 低温에 대한 冷害의 感応도와 密接한 關係가 있다고 보기는 아직 어렵기는 하지만 어느 程度는 有關係한 것으로 思料된다.

表 4와 같이 皮麥의 5℃에서의 Proline 蓄積은 品種間에 2倍 以上の 差異가 있었고 ostapejuk²⁴의 몇가지 品種에 대한 調査結果와 一致하고 있다.

摘 要

大·小麥에 대한 遊離 Proline 蓄積의 溫度範圍, 長期低温處理의 影響, 低温과 水分不足에 있어서 光依存性의 與否 및 數種의 植物에 대한 種間 및 種內的 變異 등 一聯의 反應生理와 蓄積機作에 대한 實驗結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 大麥은 8℃나 그 以下の 溫度에서 蓄積되거나 小麥은 12℃나 그 以下の 溫度에서 Proline을 蓄積하였다.
2. 大·小麥에 있어서 伸長抑制溫度와 Proline을 蓄積하기 始作하는 溫度는 거의 一致하였다.
3. 葉切片을 5℃의 低温에 둔 것은 29日 生存하였으며 그 동안 Proline을 蓄積하였으나 20°C에 둔 것은 13日 밖에 生存하지 못하였으며 그 동안 蓄積은 없었다.
4. 完全植物體葉과 葉切片 共히 5℃의 低温에서의 蓄積은 光依存性이었다.
5. 光依存性은 Proline의 生合成을 위한 前驅物質의 給與로는 代替될 수 없었다.
6. 水分不足에 의한 Proline 蓄積은 20℃에서는 光依存性이 아니었으나 5℃에서는 光依存性이었다.
7. 低温과 水分不足에 대한 種間 및 種內的 蓄積變異는 높은 變異였다. 그러나 水分不足이

低温에 대한 變異보다 높았다.

8. 低温과 水分不足에 의한 Proline 蓄積의 機作은 相當히 相異한 것 같다.

引用 文 獻

1. Barrs, H. D. 1965 Comparison of water potentials in leaves as measured by two types of thermocouple psychrometer. Aust. J. Biol. Sci. 18: 36-52
2. Benko, B. 1968. The content of some amino acids in young apple shoots in relation to frost resistance. — Biologia Pl. 11: 334-337.
3. Boggess, S.F., Stewart, C.R., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1976. Effect of water stress on proline synthesis from radioactive precursors. — Plant Physiol. 58: 398-401.
4. Chu, T. M., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1974. Stress metabolism. VI. Temperature stress and the accumulation of proline in barley and radish. — Aust. J. Plant Physiol. 1: 87-97.
5. Chu, T. M., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1976. Stress metabolism. VII. Salinity and proline accumulation in barley. — Aust. J. Plant Physiol. 3: 3: 219-228.
6. Draper, S. R. 1972. Amino acid changes associated with low temperature treatment of Lolium perenne. — Phytochem. 11: 639-641.
7. Durzan, D. J. 1968. Nitrogen metabolism of Picea glauca I. Seasonal changes of free amino acids in buds, shoot apices and the metabolism of uniformly labeled ¹⁴C-L-arginine by buds during the onset of dormancy. Can. J. Bot. 46: 909-919.
8. Jones, R.A.D. and Weinberger, P. 1970. Changes in proteins, free amino acids and amides accompanying imbibition and vernalization of wheat grains. — Can. J. Bot. 48: 1947-1956.
9. Levitt, J. 1972. Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press, New York.
10. Palfi, G., Bito, M. and Palfi, Z. 1973. Free proline and water deficit in plant tissues. — Fiziol. Rast. 20: 233-238.
11. Parker, J. 1958. Changes in sugars and nitrogenous compounds of tree barks from summer to

- winter. — *Naturwiss.* 45 : 139.
12. Pauli, A. W. and Mitchell, H. L. 1960. Changes in certain nitrogenous constituents of wheat as related to cold hardiness. *Plant Physiol.* 25 : 539-542.
 13. Singh, T. N. 1970. Water Stress and Amino Acid Metabolism in Cereals.— Ph. D. thesis, University of Adelaide.
 14. Singh, T.N., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1972. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley : a potential metabolic measure of drought resistance. — *Nature New Biol.* 236 : 188-190.
 15. Singh, T. N., Aspinall, D., Paleg, L. G. and Bogges, S. F. 1973a. Stress metabolism II Changes in proline concentration in excised plant tissues. — *Aust. J. biol. Sci.* 26 : 57-63.
 16. Singh, T. N., Paleg, L. G. and Aspinall, D. 1973b. Stress metabolism I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress.— *Aust. J. biol. Sci.* 26 : 45-56.
 17. Singh, T. N., Paleg, L. G. and Aspinall, D. 1973c. Stress metabolism. III. Variations in response to water deficit in the barley plant. — *Aust. J. biol. Sci.* 26 : 65-76.
 18. Srivastava, G. C. and Fowden, L. 1972. The effect of growth temperature on enzyme and amino acid levels in wheat plants. — *J. exp. Bot.* 23 : 921-929.
 19. Stewart, C. R., Aspinall, D. and Paleg, L. G. 1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. — *Plant Physiol.* 59 : 930-932.
 20. Thomson, L. W. and Zalik, S. 1974. Free amino acids in rye seeding embryos during vernalization. *Can. J. Plant Sci.* 54 : 35-42.
 21. Trione, E. J. 1966. Metabolic changes associated with vernalization of wheat I. Carbohydrate and nitrogen patterns. — *Plant Physiol.* 41:277-281.
 22. Trione, E. J., Young, L. and Yamamoto, M. 1966. Free amino acid changes associated with vernalization of wheat. *Phytochem.* 6:85-91.
 23. Troll, W. and Lindsley, J. 1955. A photometric method for the determination of proline. *J. biol. Chem.* 215:655-660.
 24. Ostapljuk, E. D. 1967. About the physiological characters of frost resistance of winter barley. — *Rost iustojeivost rastenij. SVyp.* 3, Naukova dumka, Kijev. 1967.

SUMMARY

This experiment was carried out to find the physiology of responses and mechanisms of the accumulation of free proline at low temperatures and water stress ; the temperature range for accumulation, the effect of prolonged exposure to low temperatures, the light-dependence of accumulation in barley and wheat, and the variation of inter- and intra-species.

1. In barley proline accumulated at 8°C and lower temperatures, and in wheat proline accumulated at 12°C and lower temperatures.

2. The threshold temperatures for cessation of elongation and proline accumulation in barley and wheat were nearly identical.

3. In barley, the first leaves transferred at 5°C survived for 29 days and continued to accumulate proline throughout this period. But the first leaves maintained at 20°C survived for 13 days only and accumulated no proline.

4. Proline accumulation of intact plants and excised leaf sections maintained at 5°C was shown to be light-dependent.

5. The light requirements for proline accumulation could not be replaced by supplying leaf segments with precursors of proline biosynthesis.

6. proline accumulation in response to water stress was not light-dependent 20°C but at 5°C.

7. The variation of inter- and intra-species in proline accumulation at low temperatures and water stress was considerably great

8. The mechanisms of proline accumulation at low temperatures and water stress were significantly different.