

## 低溫 處理한 벼 幼植物에서 炭水化物 代謝의 變化

洪 淳 福·權 寧 命

(서울대학교 生物學科)

### Alteration of Carbohydrate Metabolism in Rice Seedlings under Low Temperature

Hong, Soon Bok and Young Myung Kwon

(Department of Biology, Seoul National University, Seoul)

#### ABSTRACT

The contents of reducing sugar, sucrose, starch and fructose-2,6-bisphosphate (F-2,6-P<sub>2</sub>) in relation to the activities of amylase, invertase and fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase) were investigated from the leaves of rice (*Oryza sativa* L. cv. Samjin) seedlings grown at 4°C for 3 days. In the seedlings, the contents of reducing sugar and sucrose were increased, but soluble and insoluble starch were declined. Under this condition, amylase activity was increased, but acid invertase activity was declined and alkaline invertase activity was not changed. Cytosolic and stromal FBPase activities were increased. But F-2,6-P<sub>2</sub> content was declined. It seemed that the increase of reducing sugar content might be due to the increased activity of amylase and the increase of sucrose content might be related to the increased activity of cytosolic FBPase, reduced content of F-2,6-P<sub>2</sub> and reduced rate of hydrolysis of sucrose during the cold treatment. These results suggested that the changes in carbohydrate metabolim of rice seedlings under low temperature reflect one of the protection mechanism to the low temperature during the cold treatment.

#### 서 론

저온 처리한 식물에서 체내 탄수화물의 함량변화와 저온 저항성과의 관계에 대한 연구는 비교적 일찍부터 시작되어 왔다. 저온 저항성 식물이 저온에 적응할 때에는 탄수화물의 가수분해가 촉진되고 수용성 당 및 ATP의 함량이 증가되는 것으로 알려지고 있다(Green and Ratzlaff, 1975; Perras and Sarhan, 1984). 저온에서 이러한 당의 축적은 저온 경화가 일어나는 동안 체내에 필요한 에너지원으로 이용되기보다는 저온에 취약한 세포막을 보호하거나 세포의 삼투퍼텐셜을 효과적으로 조절하여 저온 저항성을 갖게 하는 것으로 해석하고 있다(Lineberger and Steponkus, 1980; Ackerson, 1981). 또한, 식물의 저온 감수성도 체내

탄수화물의 함량과 관련있는 것으로 알려져 있다(Purvis and Grierson, 1982; Tajima and Kabaki, 1981; Rikin *et al.*, 1981).

이와 더불어, 저온 적응과정에서 일어나는 당의 축적에 대한 효소학적 연구도 비교적 일찍부터 시작되었다. 저온에서 amylase 활성이 증가되고 이로 인하여 수용성 당의 함량이 증가된다하나 녹말의 분해경로는 아직 완전하게 밝혀지지 않는다고(Levitt, 1978; Steup, 1988). 또한, invertase의 활성 증가로 환원당의 함량이 증가되며(Roberts, 1978; Purvis and Rice, 1983), sucrose phosphate synthase와 sucrose synthase의 활성이 촉진되어 설탕의 함량이 증가되기도 한다(Calderon and Pontis, 1985; Salerno and Pontis, 1989). 한편, 저온에서 시토플 fructose-1,6-bisphosphatase가 fructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P<sub>2</sub>)와 AMP에 대한 친화도가 증가하기 때문에 활성이 저하하게 되는 데, 이것은 온도가 저하함에 따라 설탕 함성에 필요한 증

이 연구는 재단법인 서울대학교 발전기금이 지원한 대우학술 연구비로 이루어졌습니다.

간 대사물질들이 고농도로 유지됨으로써 보상된다(Stitt, 1990). 그러나, 저온에서는 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량이 저하되기 때문에 설탕이 축적된다는 보고가 있게되면서 탄수화물 대사에서 F-2,6-P<sub>2</sub>의 존재가 중요한 것으로 알려지게 되었다(Phelps and McDonald, 1989; Pollock *et al.*, 1989; Guy, 1990).

본 연구에서는 벼 유식물을 재료로 하여 저온 처리에 따른 체내 환원당, 설탕 및 녹말의 함량변화와 이와 관련된 일부 효소의 활성변화를 경시적으로 조사함으로써 설탕 함량 증가의 원인을 알아보고, F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량변화를 조사함으로써 저온에서 시트룰 FB Pase의 활성변화의 원인을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**효소 및 시약.** Invertase, amyloglucosidase, phosphoglucose isomerase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, aldolase, pyrophosphate, fructose-6-phosphate-1-phosphotransferase, triose phosphate isomerase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase, NADP, NADH, fructose-1,6-bisphosphate, fructose-2,6-bisphosphate 등은 Sigma에서 그리고 그 밖의 시약은 Merck, Junsei, Wako 등에서 구입하여 사용하였다.

**실험재료 및 배양조건.** 본 실험에 사용한 벼의 종자 (*Oryza sativa* L. cv. Samjin)는 4°C 암소에 보관하면서 재료로 사용하였다. 종자를 파종하기 전에 먼저 1%의 sodium hypochlorite 용액으로 살균하고, 멸균 증류수로 세척한 다음 28°C 배양실에서 48시간 동안 물에 침윤시켰다. 이와 같이 처리한 종자를 2점의 거르로 싼 플라스틱 격자가 깔려 있는 플라스틱 용기에 파종한 후, 알루미늄 호일로 싸 28°C 배양실에서 4일간 약발아 시켰다(Moon, 1989). 5일째에 알루미늄 호일을 제거하여 80  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 형광등으로 하루 16시간 씩 조사하고 동시에 배양액을 Hoagland 용액(1/4 strength)으로 교체하고 계속하여 4일간 배양하였다.

**저온처리.** 저온처리는 배양실에서 총 10일간 배양한 벼 유식물을 4°C로 유지되는 저온 배양실로 옮겨 동일한 광도와 광주기 하에서 3일 동안 배양하면서 벼 잎을 취하여 실험재료로 사용하였다.

**수용성 탄수화물과 비수용성 녹말의 추출 및 함량 측정.** 수용성 탄수화물의 추출은 Moon(1990)의 방법에 따라 실시하였으며, 비수용성 녹말의 추출은 Huber 등(1984)의 방법에 따라 실시하였다.

환원당 함량은 Somogyi-Nelson법으로 발색시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하고 포도당 표준곡선을 이용하여

산출하였다(Nelson, 1944). 설탕의 함량은 Bergmeyer와 Bernt(1974)의 방법으로 녹말의 함량은 Keppler와 Decker (1974)의 방법으로 측정하였으며, 반응결과 각각 유리된 전화당과 포도당은 Somogyi-Nelson법으로 측정하였으며, 설탕과 녹말의 함량은 포도당 표준곡선으로부터 산출하였다. 모든 실험은 3개의 replicate로 3회 반복하여 실시하였으며, 대표되는 것을 결과로 발표하였다.

**Amylase의 활성측정.** Amylase의 추출은 Lee(1989)의 방법으로 효소의 활성측정은 Bhullar 등(1985)의 방법으로 실시하였으며, 반응결과 유리된 환원당은 Somogyi-Nelson법으로 측정하고 포도당 표준곡선으로부터 효소의 활성을 산출하였다.

**Invertase의 활성측정.** Invertase의 추출 및 활성을 Claussen 등(1985)의 방법에 따라 측정하였는데, acid invertase는 pH 4.8의 sodium acetate 완충액(0.1 M)에서, alkaline invertase는 pH 7.5의 citrate-phosphate 완충액(0.1 M)에서 효소의 활성을 측정하였으며, 반응결과 유리된 전화당은 Somogyi-Nelson법으로 측정하였다.

**Fructose-1,6-bisphosphatase의 활성측정.** 시트룰 fructose-1,6-bisphosphatase(FBPase)와 스트로마 FBPase의 추출 및 활성은 Stitt 등(1982)의 방법에 따라 수행하였는데, 시트룰 FBPase는 4 mM의 MgCl<sub>2</sub>를 함유하는 pH 7.6의 Tris-HCl 완충액(0.1 M)에서, 스트로마 FBPase는 20 mM의 MgCl<sub>2</sub>를 함유하는 pH 8.1의 Tris-HCl 완충액(0.1 M)에서 효소의 활성을 측정하였다. 즉, 효소의 촉매반응으로 생성되는 fructose-6-phosphate가 phosphoglucose isomerase에 의하여 glucose-6-phosphate로 이성화되고 이것이 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 의하여 gluconate-phosphate로 변환될 때 일어나는 NADPH의 양적 증가를 340 nm에서의 흡광도 변화율로 측정하고, 이로부터 효소의 활성을 산출하였다. 모든 효소활성 측정은 3개의 replicate로 2회 반복하여 실시하였으며, 대표되는 것을 결과로 발표하였다.

**Fructose-2,6-bisphosphate 함량의 측정.** Fructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P<sub>2</sub>)의 추출 및 함량측정은 Van Schaftingen(1985)의 방법에 따라 측정하였다. Spectrophotometer를 이용하여 F-2,6-P<sub>2</sub>에 의한 pyrophosphate; fructose-6-phosphate-1-phosphotransferase의 촉매반응으로 생성되는 F-1,6-P<sub>2</sub>가 aldolase에 의하여 glyceraldehyde-3-phosphate로 전환되고 이것이 triose phosphate isomerase에 의하여 dihydroxyacetone phosphate로 이성화된 다음 glycerol-3-phosphate dehydrogenase에 의하여 glycerol-3-phosphate로 전환될 때 일어나는 NAD의 양적 증가를 340 nm에서의 흡광도 변화율로 측정하고, F-2,6-P<sub>2</sub> 표준곡선을 이용하여 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량을 산출하였다.

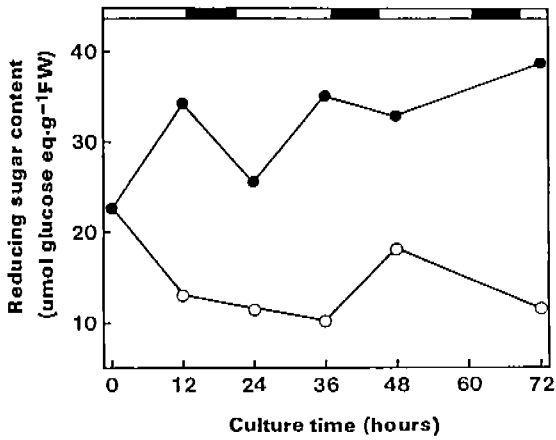


Fig. 1. Changes in the content of reducing sugar in the leaves of rice seedlings grown at 28°C (—○—) and 4°C (—●—). Dark bars indicate the 8-h dark period.

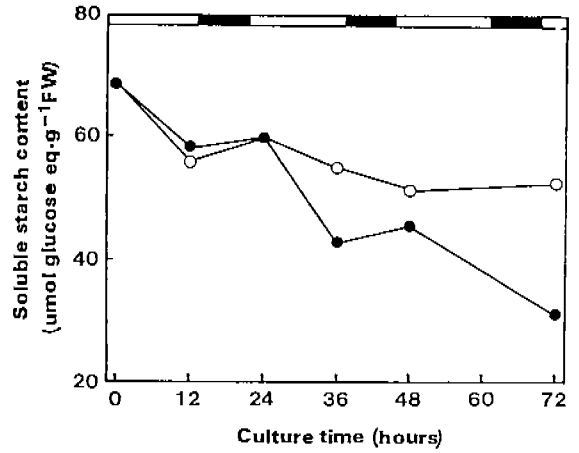


Fig. 3. Changes in the content of soluble starch in the leaves of rice seedlings grown at 28°C (—○—) and 4°C (—●—). Dark bars indicate the 8-h dark period.

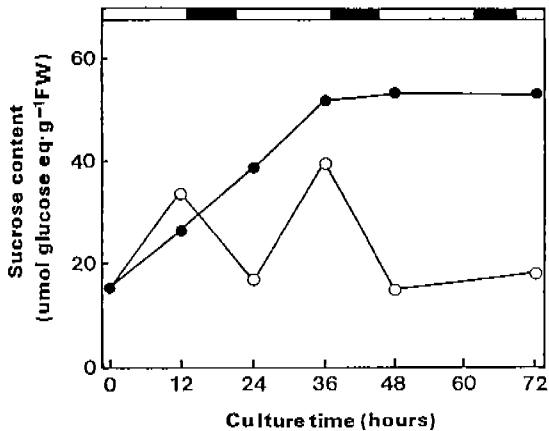


Fig. 2. Changes in the content of sucrose in the leaves of rice seedlings grown at 28°C (—○—) and 4°C (—●—). Dark bars indicate the 8-h dark period.

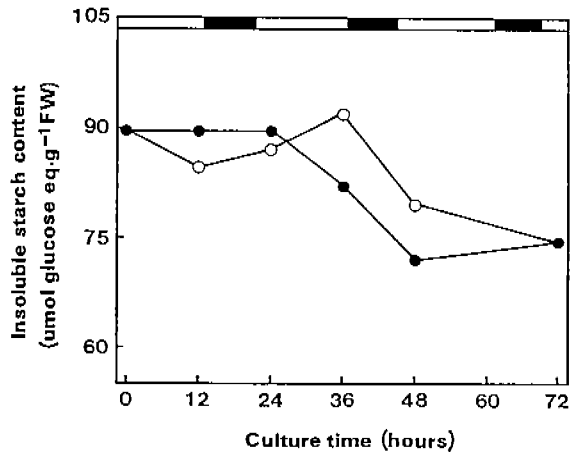


Fig. 4. Changes in the content of insoluble starch in the leaves of rice seedlings grown at 28°C (—○—) and 4°C (—●—). Dark bars indicate the 8-h dark period.

### 결과 및 고찰

**환원당과 설탕 및 녹말 함량의 변화.** 저온처리(4°C)에 따른 체내 탄수화물 성분의 변화를 조사하기 위하여 환원당, 설탕 및 녹말의 함량을 조사하였다. 환원당 함량은 28°C 처리구에서는 배양시간의 경과와 함께 지속적인 감소를 나타내어 처리기간 동안 약 50% 감소한 반면, 4°C 처리구의 경우에는 오히려 증가하여 약 1.7배까지 되었다(Fig. 1) 설탕은 28°C 처리구의 경우 24시간 주기로 변동되는 양상을 나타내어 광합성에 따른 영향을 받는 것으로 보였으나, 저온처리구에서는 처음 36시간까지는 그 함량이 증가하였으나 이 후에는 일정한 수준을 유지하여 2.5배까지 되었다

(Fig. 2).

환원 수용성 녹말은 28°C 처리구의 경우 처리기간 동안 함량 저하현상이 계속되어 약 30%의 저하가 일어났으며, 저온 처리구에서는 저하현상이 더욱 현저하여 약 50%의 저하가 일어났다(Fig. 3). 비수용성 녹말은 28°C 처리구의 경우 처리 36시간까지는 현저한 변화가 없었으나 이후에는 감소하는 경향을 보였으며, 저온처리구의 경우 역시 24시간까지는 일정한 함량을 유지하였으나 이후에는 감소하는 경향을 보여 저온처리에 따른 현저한 변화를 볼 수 없었다. 그러나 28°C 처리구의 경우 생장에 따른 상대적 함량의 감소라 해석될 수 있으나, 4°C 처리구의 경우 신장생장이 일어나지 않는 상태이므로 실제적인 함량 감소라 여겨진다

(Fig. 4). 이러한 결과는 저온에서 환원당과 설탕의 함량 증가가 녹말의 함량 감소와 함께 일어난다는 보고와도 일치한다(Sakai and Yoshida, 1968; Sauter, 1988). 따라서 저온에서 환원당과 설탕의 함량이 증가하는 것은 녹말 분해와 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한 저온 적응시 설탕 함량이 10배까지 증가될 수 있고, 저온 감수성인 벼 유식물에 외부에서 환원당을 처리할 경우 저온 손상이 감소된다는 보고와 견주어 볼 때, 설탕과 환원당의 함량이 증가한 것은 벼 유식물이 저온 손상을 일부나마 방지하려는 기작을 갖고 있음을 시사해주는 것으로 해석된다(Salerno and Pontis, 1989; Tajima and Kabaki, 1981).

**Amylase의 활성변화.** 저온에서 녹말함량의 감소와 amylase의 활성변화 사이의 관계를 조사하기 위하여 총 amylase의 활성변화를 조사하였다. 총 amylase의 활성은 저온처리 기간 동안 계속 증가하여 활성은 초기의 약 1.5 배까지 증가되었는데(Fig. 5), 이것은 *Eragrostis curvula*의 경우와 유사한 결과이다(Hillard, 1975; Levitt, 1978). 저온에서 amylase 및 phosphorylase a의 활성이 증가하는 것은 효소 양의 증가(Hillard, 1975) 또는 활성의 촉진(Levitt, 1978) 때문인 것으로 해석될 바 있으나, 저온에서 녹말의 분해 경로와 조절에 대해서는 아직 정확하게 알려져 있지 않다(Steup, 1988). 한편, phosphorylase a의 활성을 Bergmeyer(1974)의 방법으로 조사하였으나, 실험기간 동안 0.07-0.15  $\mu\text{mol glucose-1-phosphate produced}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  FW의 범위에서 뚜렷한 변화의 경향을 보이지 않았다(data not shown). 이러한 결과로부터 본 실험에서 나타나는 녹말 함량의 감소는 amylase의 활성 증가에 기인한 것으로 해석되며, 이로 인하여 수용성 당의 증가가 이루어졌을 것으로 해석되었다.

**Invertase의 활성변화.** 저온처리 기간 동안 환원당과 설탕 함량의 증가와 invertase의 활성변화 사이의 관계를 조사하기 위하여 acid invertase와 alkaline invertase의 활성변화를 조사한 결과, acid invertase의 활성은 저온처리 기간 동안에 약 30% 정도 감소하였으나, alkaline invertase의 활성은 뚜렷한 변화가 없었다(Fig. 5). 이러한 결과로부터 저온처리한 벼 유식물에서 설탕함량이 증가한 것은 acid invertase의 활성감소의 결과라 할 수 있으나, 환원당 함량의 증가는 invertase의 활성변화로 설명할 수 없었다. 이것은 저온 처리한 포도에서 acid invertase의 활성이 증가하여 환원당 함량이 증가한다는 보고와는 반대되는 현상이다(Purvis and Rice, 1983). 이것으로 보아 저온 처리한 벼 유식물에서 환원당 함량이 증가한 것은 invertase의 활성변화에 의한 것이라기보다는 amylase의 활성 증가(Fig. 5)에 기인한 것으로 해석함이 타당할 것 같다.

**Fructose-1,6-bisphosphatase의 활성변화.** 저온처

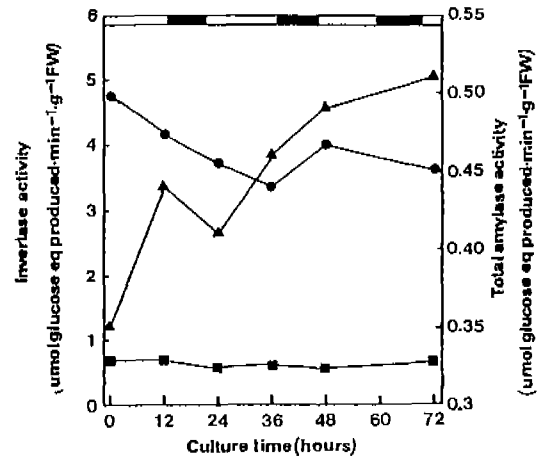


Fig. 5. Changes in the activities of total amylase (-▲-), acid invertase (-●-) and alkaline invertase (-■-) from the leaves of rice seedlings grown at 4°C. Dark bars indicate the 8-h dark period.

리한 벼 유식물에서 설탕함량의 증가와 sucrose phosphate synthase(PS) 및 sucrose synthase(SS)의 활성변화 사이의 관계를 조사하기 위하여 PS와 SS의 활성변화를 Sharma와 Bhatia(1980)의 방법으로 조사하였으나, 각각 0.1-0.4 그리고 2.9-4.9  $\mu\text{mol sucrose eq produced}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  FW의 범위에서 뚜렷한 변화의 경향을 보이지 않았다(data not shown). 따라서 저온에서 설탕함량 증가의 원인을 보다 자세히 알아보고자 설탕합성 경로에서 조절 기능을 갖는 시토플 fructose-1,6-bisphosphatase(FBPase)의 활성변화를 조사하였다. 시토플 FBPase는 저온처리 기간 동안 활성이 증가하는 경향을 보여 처리기간 동안 약 1.5 배까지 활성이 증가하였다(Fig. 6a). 이러한 결과는 저온에서 설탕함량의 증가와 설탕 분해능의 저하와 설탕합성능의 증가에 의하여 일어난다는 사실을 시사해 주는 것이다. 즉, PS와 SS의 활성증가는 일어나지 않았으나 시토플 FBPase의 활성증가로 gluconeogenesis가 보다 원활하게 진행되고 그 결과 PS와 SS의 기질량이 상대적으로 증가될 수 있어 결과적으로 설탕합성은 촉진될 수 있기 때문이다.

그러나 지금까지 보고된 결과들을 보면, 저온에서 시토플 FBPase는 기질 친화도가 감소하며 억제제인 F-2,6-P<sub>2</sub>와 AMP에 대한 친화도가 증가하여(Stitt, 1990), *in vivo*에서 이 효소가 불활성화될 가능성이 있기 때문에(Weeden and Buchanan, 1983) 저온에서 설탕 합성 속도가 저하된다는 견해와 이 효소의 억제제인 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량이 저온에서 감소하기 때문(Phelps and McDonald, 1989; Pollock *et al.*, 1989)에 저온에서 당의 축적이 용이해진다는 견해가

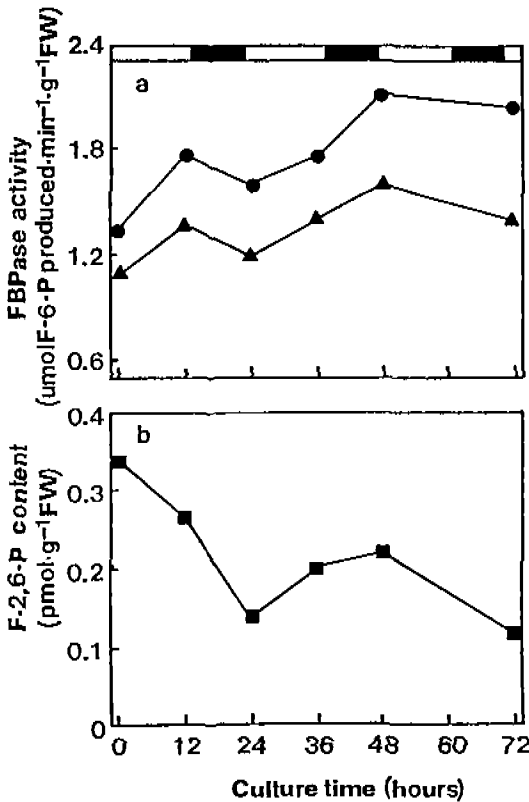


Fig. 6. Changes in the activity of FBPase (a) and content of F-2,6-P<sub>2</sub> (b) from the leaves of rice seedlings grown at 4°C. Cytosolic FBPase (●—), stromal FBPase (▲—), F-2,6-P<sub>2</sub> (■—). Dark bars indicate the 8-h dark period.

(Guy, 1990) 상충하고 있다. 이러한 관점에서 볼 때, 저온처리한 벼 유식물에서 시토플 FBPase의 활성이 증가한 것은 체내의 F-2,6-P<sub>2</sub> 함량 변화와 관련이 있는 것으로 해석된다.

한편 스트로마 FBPase의 활성변화의 결과는 저온처리 기간 동안 시토플 FBPase의 경우와 유사하게 활성이 증가하는 경향을 나타내어 약 1.5배까지 증가하였다(Fig. 6a). 이러한 결과는 스트로마에서도 녹말합성이 촉진될 수 있음을 시사해주는 것으로 실제 높은 광도의 저온에서 녹말의 함량이 증가될 수 있다는 보고와 연계될 수 있는 것으로 해석될 수 있다(Pollock and Chatterton, 1988, Stitt *et al.*, 1987). 그러나 본 실험에서는 녹말의 함량이 소폭으로 감소하였으며(Figs. 3 and 4), 이것은 탄소흐름이 녹말합성 쪽보다 분해쪽이 더 빨랐기 때문인 것으로 사료된다.

**Fructose-2,6-bisphosphate의 함량변화.** 시토플 FBPase의 활성증가의 원인을 구명하기 위하여 저온처리 기간 중, fructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P<sub>2</sub>)의 함량변화를 조사

하였다. F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량은 저온처리시 계속 저하하여 약 30% 수준까지 이르렀다(Fig. 6b). 이러한 결과는 *Capsicum annum*과 *Lolium temulentum*에서 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량이 저온에서 감소하는 경향이 있다는 보고와도 유사하다(Phelps and McDonald, 1989; Pollock *et al.*, 1989; Stitt *et al.*, 1987). 이러한 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량감소는 fructose-2,6-bisphosphatase의 활성이 증가되었기 때문인 것으로 추정되며, 그 결과 gluconeogenesis와 당의 축적이 용이해진 것으로 해석된다(Guy, 1990). 따라서 저온에서 시토플 FBPase의 활성이 증가된 것은 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량감소가 원인 중의 하나인 것으로 해석된다(MacDonald and Buchanan, 1987).

이러한 결과들을 종합해 보면, 벼 유식물을 저온 처리할 경우 환원당의 함량증가는 amylase의 활성증가에 의하여 녹말의 가수분해능이 증가되었기 때문이며, 설탕 함량의 증가는 acid invertase의 활성감소에 의한 설탕 분해능의 저하와 그리고 시토플 FBPase의 활성증가와 이의 억제제인 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량 감소에 기인한 것으로 해석된다. 이와 같이 환원당과 설탕의 함량이 증가하고 녹말의 함량이 감소한 것은 벼 유식물의 저온 손상을 일부나마 방지하는 대사 변화라 해석된다.

### 적 요

저온 처리(4°C)가 벼(*Oryza sativa* L. cv. Samjin) 유식물 인의 환원당, 설탕, 녹말 및 fructose-2,6-bisphosphate(F-2,6-P<sub>2</sub>)의 함량에 미치는 영향을 조사하였으며, 이와 관련있는 amylase, invertase 및 fructose-1,6-bisphosphatase(FBPase)의 활성변화를 중심으로 3일 동안 측정하였다. 3일 동안 저온처리한 벼 유식물에서의 환원당과 설탕의 함량은 증가하였고, 수용성 녹말과 비수용성 녹말의 함량은 감소하였다. 한편, amylase의 활성은 증가하였고 acid invertase의 활성은 감소하였으며, alkaline invertase의 활성은 변화가 없었다. 스트로마 및 시토플 FBPase의 활성은 증가하였으며, 이에 부합되는 것으로 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량이 감소하였다. 그러므로, 저온처리로 환원당의 함량이 증가한 것은 녹말 분해능의 증가에 기인한 것으로 사료되며, 설탕의 함량이 증가한 것은 설탕 분해능의 저하와 F-2,6-P<sub>2</sub>의 함량감소에 따른 시토플 FBPase의 활성증가에 기인한 것으로 해석된다. 또한 저온에 의한 이러한 탄수화물 대사의 변화는 벼 유식물의 저온 손상을 일부나마 방지하려는 기작이라 해석된다.

### 참 고 문 헌

Ackerson, R.C. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress II. Leaf carbohydrate status in relation to osmotic adjustment. *Plant Physiol.* 67: 479-483.

- Bergmeyer, H.U. 1974. Phosphorylase a. *In*, Methods of Enzymatic Analysis, H.U. Bergmeyer (ed.). Vol. 1, Academic, New York. pp. 505-507.
- Bergmeyer, H.U. and E. Bernt. 1974. Sucrose. *In*, Methods of Enzymatic Analysis, H.U. Bergmeyer (ed.). Vol. 3, Academic, New York. pp. 1176-1179.
- Bhullar, S.S., R. Singh, J.S. Sital and I.S. Bharia. 1985. Conversion of sucrose to starch in the developing *Pennisetum typhoides* grain. *Physiol. Plant.* **63**: 393-398.
- Calderon, P. and H.G. Pontis. 1985. Increase of sucrose synthase activity in wheat plants after a chilling shock. *Plant Sci.* **42**: 173-176.
- Claussen, W., B.R. Lovrys and J.S. Hawker. 1985. Comparative investigation on the distribution of sucrose synthase activity and invertase activity within growing, mature and old leaves of some C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plant species. *Physiol. Plant.* **65**: 275-280.
- Green, D.G. and C.D. Ratzlaff. 1975. An apparent relationship of soluble sugars with hardness in winter wheat varieties. *Can. J. Bot.* **53**: 2198-2201.
- Guy, C.L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: Role of protein metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* **41**: 187-223.
- Hillard, J.H. 1975. *Eragrostis curvula*: Influence of low temperatures on starch accumulation amyolytic activity and growth. *Crop Sci.* **15**: 293-294.
- Huber, S.C., T.W. Ruffy and P.S. Kerr. 1984. Effect of photoperiod on photosynthate partitioning and diurnal rhythms in sucrose phosphate synthase activity in leaves of soybean (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Physiol.* **75**: 1080-1084.
- Kepler, D. and K. Decker. 1974. Glycogen determination with amylo-glucosidase. *In*, Methods of Enzymatic Analysis, H.U. Bergmeyer (ed.). Vol. 3, Academic, New York. pp. 1127-1131.
- Lee, B.S. 1989. Physiological effect of dimethipin on the growth of barley seedlings. Ph.D. thesis. Seoul Nat'l University, Seoul, Korea.
- Levitt, J. 1978. An overview of freezing injury and survival, and its interrelationships to other stresses. *In*, Plant Cold Hardiness and Freezing Stress, P.H. Li and A. Sakai (eds.). Academic, New York. pp. 3-15.
- Lineberger, R.D. and P.L. Steponkus. 1980. Cryoprotection by glucose and raffinose to chloroplast thylakoids. *Plant Physiol.* **65**: 298-304.
- MacDonald, F.D. and B.B. Buchanan. 1987. Carbon dioxide assimilation. *In*, New Comprehensive Biochemistry, A. Neuberger and L.L.M. Van Beenen (eds.). Vol. 15, Elsevier, New York. pp. 175-197.
- Moon, B.Y. 1989. Physiological characteristics of rice seedlings under low temperature. Ph.D. thesis. Seoul Nat'l University, Seoul, Korea.
- Nelson, M.F. 1944. A photometric adaptation of the Smogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* **153**: 375-380.
- Perras, M. and F. Sarhan. 1984. Energy state of spring and winter wheat during cold hardening. Soluble sugars and adenine nucleotides. *Physiol. Plant.* **60**: 129-132.
- Phelps, D.C. and R.E. McDonald. 1989. Changes in fructose 2,6-bisphosphate levels in green pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit in response to temperature. *Plant Physiol.* **90**: 458-462.
- Pollock, C.J. and N.J. Chatterton. 1988. Fructans. *In*, The Biochemistry of Plants, P.K. Stumpf and E.E. Conn (eds.). Vol. 14, Academic, New York. pp. 109-141.
- Pollock, C.J., A.J. Cairns, B.E. Collins and R.P. Walker. 1989. Direct effects of low temperature upon components of fructan metabolism in leaves of *Lolium temulentum* L. *J. Plant Physiol.* **134**: 203-208.
- Purvis, A.C. and W. Grierson. 1982. Accumulation of reducing sugar and resistance of grapefruit peel to chilling injury as related to winter temperature. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **107**: 139-142.
- Purvis, A.C. and J.D. Rice. 1983. Low temperature induction of invertase activity in grapefruit flavedo tissue. *Phytochemistry* **22**: 831-834.
- Rikin, A., C. Gitler and D. Atsmon. 1981. Chilling injury in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): Light requirement for the reduction of injury and for the protective effect of abscisic acid. *Plant Cell Physiol.* **22**: 453-460.
- Roberts, D.W.A. 1978. Changes in the proportions of two forms of invertase associated with the cold acclimation of wheat. *Can. J. Bot.* **57**: 413-419.
- Sakai, A. and S. Yoshida. 1968. The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. *Cryobiology* **5**: 160-174.
- Salerno, G.L. and H.G. Pontis. 1989. Raffinose synthesis in *Chlorella vulgaris* cultures after a cold shock. *Plant Physiol.* **89**: 648-651.
- Sauter, J.J. 1988. Temperature-induced changes in starch and sugars in the stem of *Populus × canadensis (robusta)*. *J. Plant Physiol.* **132**: 608-612.
- Sharma, K.P. and I.S. Bhatia. 1980. Sucrose metabolism in *Sorghum vulgare* at ripening. *Physiol. Plant.* **48**: 470-476.
- Steup, M. 1988. Starch degradation. *In*, The Biochemistry of Plants, P.K. Stumpf and E.E. Conn (eds.). Academic, New York. pp. 255-296.
- Stitt, M. 1990. Fructose-2,6-bisphosphate as a regulatory molecule in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol Plant. Mol. Biol.* **41**: 153-185.
- Stitt, M., G. Mieskes, H.-D. Söling and H.W. Heldt. 1982. In a possible role of fructose-2,6-bisphosphate in regulating photosynthetic metabolism in leaves. *FEBS Lett.* **145**: 217-222.

- Stitt, M., S. Huber and P. Kerr. 1987. Control of photosynthetic sucrose formation. *In*, The Biochemistry of Plants, M.D. Hatch and N.K. Boardman (eds.). Vol. 10, Academic, New York. pp. 391-392.
- Tajima, K. and N. Kabaki. 1981. Effect of sugars and several growth regulator on the chilling injury of rice seedlings. *Japan J. Crop Sci.* **50**: 411-412.
- Van Schaftigen, E. 1985. D-Fructose-2,6-bisphosphate. *In*, Methods of Enzymatic Analysis, H.U. Bergmeyer (eds.). Vol. 6, Verlag Chemie, Weinheim. pp. 335-341.
- Weeden, N.F. and B.B. Buchanan. 1983. Leaf cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase. A potential target site in low temperature stress. *Plant Physiol.* **72**: 259-261.

(Received February 20, 1991)