

煙草의 生育에 미치는 水分의 영향

金 南 源 · 尹 慶 恩 · 李 鎔 得

韓國人蔘煙草研究所 耕作研究室

The Effects of Water Status on the Growth in Nicotiana tabacum L. (var. Samsun).

Nam Won Kim, Kyong-Eun Yoon Park and Young Duk Lee.

Lab. of Cultivation

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Suweon, Korea.

(Received for Publication, August 27, 1982)

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effect of soil water potential on the growth and internal changes of stressed plants. The experimental imposition of soil water potential (ψ soil) were -0.1 to -0.2 , -0.2 to -0.5 , -0.5 to -3.0 , -3.0 to -10.0 bar respectively. During water stress all growth rates were depressed, and the most sensitive period to water stress was found to be 10 to 25 days after transplanting. The water potential of leaf was declined rapidly within 12 hours after with holding of water.

Nitrate reductase activity was decreased progressively as water deficit was built up in tobacco leaves, but the activity of alpha-amylase and suger contents were increased.

There were differences in peroxidase isozyme patterns between the control and water stressed plant. New isozymes started to appear as tobacco leaf water potential decreased.

緒 論

煙草(Nicotiana tabacum L.)는 他 作物 과는 달리 嗜好作物인 동시에 収藥作物이므로 좋은 잎을 많이 生産함이 중요하다. 일반적으로 植物体가 water stress를 받으면 가장 눈에 띄는 변화는 生長이 억제된다는 것이다. 生長의 억제는 두 가지 측면, 즉 세포분열과 세포증대의 억제에 의하여 生育이 저조해지며(1, 7, 8, 13, 20), 특히 연초의 경우 생육기간중의 토양수분 함량은 연초 잎의 총 수확량 뿐만 아니라 品質을 좌우하는 담배의 껍피에도 큰 영향을 끼친다(10, 15). 이와 같은 결과들은 수분부족에 따른 식물체의 내부적

인 대사변화에 기인되는 것으로 생각된다. water stress를 받은 식물체는 효소활성에도 영향을 받아 질산환원 효소, phenylalanin ammonia-lyase 活性을 저하시키며(2, 14, 15, 19), α -amylase, ribonuclease의 활성을 증가 시킨다는 보고가있다(2, 14, 28). 또한 water stress에 의하여 葉綠素 含量的 감소도 보고된바 있어(5, 6); 植物体의 정상적인 生育에 水分은 필수불가결한 것으로 설명되며 특히 연초의 収量과 品質에는 많은 영향을 미치므로, 외형적으로 쉽게 관찰할 수 있는 생육상황과 생육저해를 초래하는 요인을 究明코자 토양수분을 인위적으로 조절하여 생육상황을 관찰하고 water stress에 따른

연초작물의 생리적 반응을 고찰하였다. 생육기간 중 어느시기가 가장 water stress 에 반응이 민감하여 stress 정도에 따라 生育에 어느정도 영향을 주는가를 관찰하기 위하여 토양수분 정도를 토양 수분퍼텐셜(ψ_{soil} : soil water potential)로 차이를 두고 생육을 조사하였으며, 같은 ψ_{soil} 에

서도 식물체에 따라 받는 water stress 의 정도가 다르므로 효소활성은 그 잎의 수분퍼텐셜(ψ_{leaf} : leaf water potential)을 측정하여 ψ_{leaf} 에 따른 효소활성을 조사하였다.

实 験

实验材料

1980年 韓国人蔘煙草研究所 耕作部에서 채종한 *Nicotiana Tabacum L.* (var. Samsun)을 퇴비: 원야토: 모래를 3:2:1의 비율로 혼합한 토양에 파종하였다. 파종 1개월후에 4^{cm}×4^{cm}×4^{cm}의 polyethylene pot에 20일간 가식하여 얻은 묘를 實驗에 供試하였다. 供試土壤은 원야토: 퇴비를 4:1의 비율로 혼합하였으며 그 공시토양의 水分特性은 fig. 1과 같았으며 ψ_{soil} 은 석고block을 이용하였고 석고block의 Calibration curve는 fig. 2와 같았다.

処理方法

生育調査를 위하여 토양수분 처리는 供試土壤을 1/2000a의 wagner's pot에 12kg씩 充填하고 表土로 부터 15cm 깊이에 석고block를 설치한다음 fig. 1과 fig. 2에의하여 对照區는 이식후 10~60일까지 ψ_{soil} 이 -0.1~-0.2 bar가 되도록 하였으며 水分處理區는 처리기간을 10일~25일, 25일~40일, 40일~55일로 3 단계 두고, water stress는 각 단계별로 -0.2~-0.5bar, -0.5~-3.0bar, -3.0~-10bar로 하였다.

ψ_{leaf} 에 따른 효소활성을 조사하기 위하여 55^{cm}×35^{cm}×8^{cm}의 plastic 화분에 토양을 11kg씩 충전하고 화분 당 12株씩 이식하여 온도(30℃~26℃~18℃: 1일 8시간씩), 습도(70~80%), 풍속(0.5m/sec.)을 일정하게 유지한 인공기상실에서 자연광으로 재배하였다. 이식후 50일부터 조사時까지 정상 수분공급(对照區), 조사 12시간전(S-I), 24시간전(S-II), 36시간전(S-III), 48시간전(S-IV), 에 각각 수분 공급을 중단 하였다.

实验方法

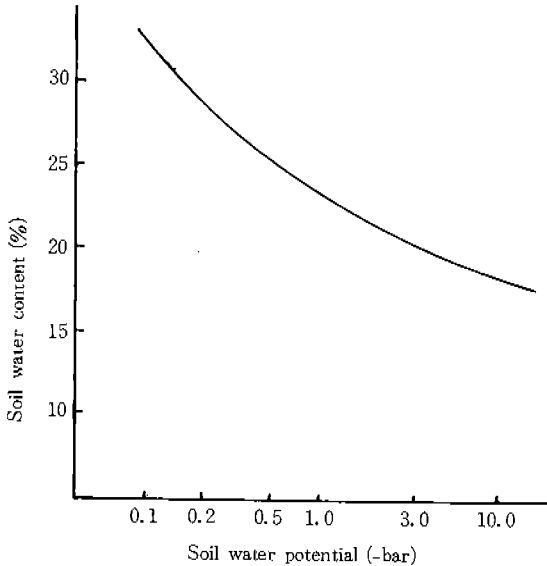


Fig. 1. Relationship between the soil water potential and the soil water content.

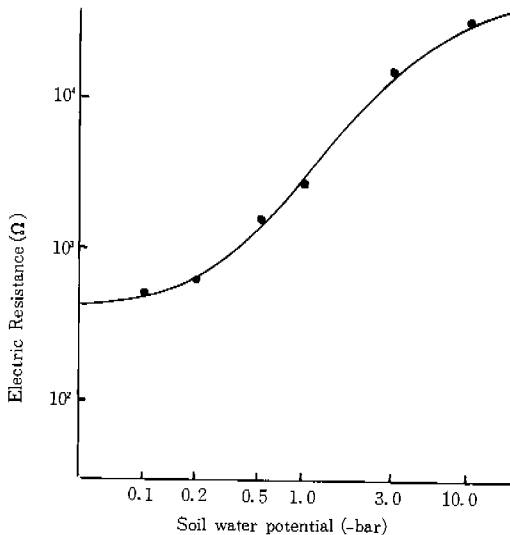


Fig. 2. Relationship between the soil water potential and the electric resistance.

(가) 生育調査.

2-(가)의 방법으로 처리한 연초의 성장을 이식후 10일부터 5 일 간격으로 조사하여 각 최종生, 乾葉 및 生, 乾根의 무게를 비교하였다.

(나). 잎 수분퍼텐셜 (ψ_{leaf})

2-(나)의 방법으로 처리한 연초잎을 이식 후 50일에, 배조구에서 S-IV區까지 上位葉 10매~15매를 동시에 시료로 채취하여 Shardakov 방법(3)에 의하여 $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 0.05M 간격으로 희석한 설탕용액에 3 시간 이상 담근후 측정하였다.

(다). 질산환원효소 활성

葉肉 부분을 직경 1cm로 punch한 葉片 10매를 0.1M phosphate buffer(PH7.5), 0.02M KNO_3 , 5%propanol로이룬 5ml의 배양액에 넣고 25°C 暗조건에서 3 시간 반응시켰다. 이 반응액 0.4ml에 1% sulfanilamide(in 3 M HCl)와 0.02% *v*-1-naphthyl-ethylene diamine hydrochloride를 각각 0.3ml씩 넣고 발색시킨후 약 20분후에 증류수 4 ml를 넣어 540mm에서 spectrophotometer로 optical density를 측정하여 NaNO_2 standard curve와 비교하였다(17).

(라) α -amylase 활성

시료 1g에 0.1 M phosphate buffer (PH7.5) 6 ml를 첨가하여 막자사발로 갈아서 10,000g로 30분간 원심분리하여 그 상정액을 효소추출물로 사용하였다. 이때 전분용액은 감자전분 150mg을 600mg의 KH_2PO_4 와 CaCl_2 가 200 μmol 이 되도록 넣고 증류수로 전량 100 ml를 만들어 끓인후 여과한 액을 사용하였다. 그리고 iodine solution은 6g의 KI와 600mg의 iodine을 증류수에 녹여 100ml를 만든 stock solution 1 ml를 0.05% HCl로 100ml되게 희석하여 사용하였다. 효소추출액 0.5 ml에 증류수를 넣어 1 ml가 되게 하여 전분용액 1 ml를 가하여 2분간 반응시켰다. 그리고 1 ml의 iodine solution으로 발색시킨후

5 ml의 증류수로 희석하여 620mm에서 spectrophotometer로 optical density를 측정하여 전분용액의 optical density와의 차이로 Unit를 산출하였다.

$$\alpha\text{-amylase unit} = (A \times V') / (T \times V)$$

여기서 A는 [(전분용액의 O.D) - (효소추출액의 O.D)]이며, V는 최초 효소추출액의 양(ml), T는 반응시간(min.), V는 O.D 측정시 사용한 효소추출액의 양(ml)이다(11)

(마). 糖含量.

시료 5g에 2% acetic acid를 첨가하여 막자사발로 갈아서 최종 100ml를 만들어 active carbon 5g을 넣어 왕복진탕기에서 120회전/분으로 30분간 진탕한후 여과한 액을 autoanalyzer로 자동분석하였다.

(바). Peroxidase isozyme Patterns

시료 1g에 3 ml의 0.1M Tris-HCl buffer (PH7.5)를 첨가하여 막자사발로 갈아서 10,000g로 30분간 원심분리하여 그 상정액을 효소추출물로 사용하였다.

gel 조제는 a) 1N- HCl 48ml, Tris 36.3g, TEMED 0.23ml, b) acrylamide 28g, Bis 0.735g, c) ammonium persulfate 0.14g을 각각 증류수에 넣어 100ml씩 되게 한 후 a : b : c를 1 : 1 : 2의 비율로 혼합하여 7%의 acrylamide gel을 만들었다. 전기영동조에는 Tris-borate buffer (PH8.9)를 사용하였으며 4°C 냉장고에서 5mA/tube의 정전압으로 영동시켰다. 발색은 benzidine 1g을 acetic acid 9ml에 녹인후 증류수를 첨가하여 50ml가 되게한 용액 10ml에 0.9% H_2O_2 10ml와 증류수 40ml를 혼합한 액에 gel을 넣어 Peroxidase band가 나타난후 5% acetic acid로 3차 세척하여(27) automatic computing densitometer (ACD-18: Gelman instrument Company)로 540mm에서 Pattern을 조사하였다.

結果 및 考察

煙草 生育

토양수분이 연초생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 연초의 草長을 移植後 10일부터 60일까지 5일 간격으로 조사한 결과, 对照區에서는 전 생육기간을 볼때 1일 평균 1.49cm가 자랐으나 이식후 10일~25일에는 평균 2.00cm가 자라 이 시기가 연초의 최대영양생장기라 볼 수 있다. 토양 water stress 의 영향은 바로 이 최대영양생장기에서 가장 민감하였으며, 식물이 받는 효과는 stress 정도가 심할 수록 생육저해 정도가 커져 ψ_{soil} 이 $-0.2\text{bar} \sim -0.5\text{bar}$ 에서는 대조구보다 0.85% 생육이 저조하였고, 가장 stress 정도가 심한 ψ_{soil} 이 $-0.3 \sim -10.0\text{bar}$ 에서는 대조구 생육보다 16.78%가 저조하였다.

초장 뿐만 아니라 최종 수확량도 stress 정도에 따라 달라졌고 최대영양생장기인 이식후 10일~25일에 stress를 받은 처리구에서 가장 수량이 적었으며, stress가 심할수록 乾葉重/乾根重의 비율은 증가하였으나, 이식후 40~50일 처리구에서는 stress가 심할수록 乾葉重/乾根重

의 비율이 감소하였다. 이는 초기에 stress를 받은 처리구에서는 지상부가 water stress를 받은 영향을 회복할 수 있는 시기가 충분하였기 때문이라고 생각된다. 이와같은 결과는 Sepak hah 등 (22) 이 밀을 사용한 실험에서 ψ_{soil} 에 따른 乾物重을 비교한 바, 파종후 2주에 ψ_{soil} 이 $-0.3\text{bar} \sim -7.5\text{bar}$ 사이에서 water stress를 받음에 따라 地上部와 地下部の 乾物重의 비율이 감소한다 하였다. 이와같은 상이한 결과는 sepa-skah 등은 water stress 후 바로 조사하였으나 본 실험에서는 최종 수확기에 조사한 때문으로 생각된다. 그러나 stress 처리후 가장 빨리 조사한 이식후 40~50일 처리구는 Sepaskhah 등의 결과와 일치하고있다.

잎의 수분퍼텐셜 (ψ_{leaf} : Leaf water potential)

토양 수분공급 중단으로 잎이 받는 stress 정도를 조사하기 위하여 ψ_{leaf} 를 조사하였다. ψ_{leaf} 를 측정하기 위하여 조사 48시간 전부터 12시간 간격으로 수분공급을 중단한 결과, stress 기간

Table 1. Tobacco growth after water stress treatment.

Periods of treatment	Treatment	H ₁₀	H ₆₀	△H	△H				
					mean	10~25	25~40	40~45	55~60
10~60 days after transplanting	-bar								
	0.1~ 0.2	12.0	86.4	74.4	1.49	2.00	1.22	1.30	1.32
	0.2~ 0.5	15.0	83.7	68.7	1.37	1.72	1.05	1.55	0.78
10~25 "	0.5~ 3.0	15.3	81.2	6.99	1.32	1.40	1.03	1.34	1.82
	3.0~10.0	14.4	76.6	62.2	1.24	1.48	0.81	1.41	1.36
	0.2~ 0.5	15.0	80.3	65.3	1.31	1.95	1.11	0.85	1.32
35~40 "	0.5~ 3.0	15.1	87.2	72.1	1.44	1.82	1.16	1.40	1.28
	3.0~10.0	9.0	70.4	61.4	1.23	1.55	0.86	1.21	1.40
	0.2~ 0.5	15.1	79.4	64.6	1.29	1.75	0.91	1.07	1.74
40~50 "	0.5~ 3.0	14.5	89.3	75.3	1.51	2.09	1.03	1.37	1.74
	3.0~10.0	13.2	83.3	70.1	1.40	1.85	0.85	1.36	1.86

H₁₀ : Plant height at 10 days after transplanting (cm)

H₆₀ : " 60 " "

△H : H₆₀ - H₁₀ (cm)

Table 2. The influence of soil water potential on leaf and root weights, and on the ratios of leaf to root dry

Periods of treatment	Treatment	Leaf			Root			L. Dwt / R. Dwt
		Fresh wt.	Dry wt.	ratio	Fresh wt.	Dry wt.	ratio	
10~60 days after transplanting	-bar							
	0.1~ 0.2	485.56	89.53	18.44	125.75	23.41	18.62	3.82
	0.2~ 0.5	385.79	79.36	20.57	118.63	21.52	18.14	3.69
10~25 "	0.5~ 3.0	404.38	78.39	19.38	113.55	20.13	17.73	3.89
	3.0~10.0	397.35	78.43	19.73	107.75	19.82	18.39	4.26
	0.2~ 0.5	393.93	78.70	19.98	133.58	25.26	18.91	3.12
25~40 "	0.5~ 3.0	465.27	86.93	18.68	118.48	22.11	18.56	3.93
	3.0~10.0	395.74	73.26	18.51	115.73	19.16	16.56	3.82
	0.2~ 0.5	435.12	81.35	18.70	113.28	19.96	17.62	4.08
40~55 "	0.5~ 3.0	449.13	90.64	20.18	135.37	24.84	18.39	3.64
	3.0~10.0	327.72	50.32	15.35	104.13	21.00	20.17	2.40

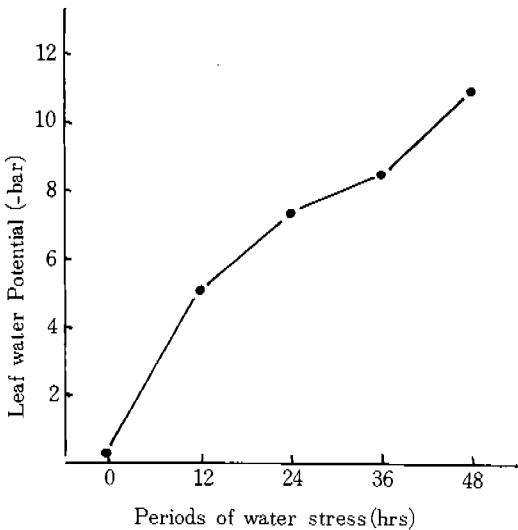


Fig. 3. Changes in leaf water potential affected by different periods of water stress.

이 연장될 수록 ψ_{leaf} 는 감소되어 대조구에서 -0.2bar를 나타내던 것이 48시간 수분공급을 중단한 S-IV에서는 -11.01bar를 나타내었다. (Fig 3).

이와같은 결과는 담배를 심은 pot의 높이가 8cm이고, 담배를 재배한 인공기상실의 환경조건

의 온도는 30°C~26°C~18°C (1일 8시간씩 3단계로 조절), 습도가 70~80%, 풍속이 0.5m/sec. 이었으므로 48시간 이내에 쉽게 ψ_{leaf} 이 -11.01bar에 달하였다고 생각된다. 이와같은 실험은 他植物에서도 연구되었는데 식물에 따라 잎이 받는 stress 정도는 다른 것으로 나타났다. 해바라기 잎을 thermocouple psychrometer로 측정할 결과 48시간 후에 약 -8bar로 되었으며(9), 포도를 pressure chamber로 측정할 결과 -6.5bar(18), 옥수수는 -5bar로 나타나(4), 연초와는 차이가 있었다. 따라서 처리방법이나 측정방법에서 차이는 있겠으나 연초는 타 식물보다 경미한 water stress에서 조직내의 수분변화가 심하게 나타난다고 볼 수 있다.

酵素活性

이상에서와 같이 토양수분의 조절은 연초 생육에 미치는 영향이 대단히 크며 최대영양생장기에 water stress를 주면 생육이 저해됨을 확인하게 되었다. 이러한 외적 현상을 초래하는 기구를 조사하기 위하여 광합성에 많은 영향을 주는 질소 대사에 중요한 효소인 질산환원효소(nitrate reductase)의 활성을 일차적으로 조사하였다. 질산

환원효소의 활성은 효소가 질산을 아질산으로 환원시킨 정도를 아질산의 양을 측정함으로써 알 수가 있는데 Fig. 4에서 보는 바와 같이 water stress를 받지 않은 잎에서 추출한 액은 효소활성이 높아 11.2 $\mu\text{mol/g.fwt/br}$ 의 아질산이 생성되었지만 -11.01 bar 区에서는 4.6 μmol 로 대조구보다 59.1%의 활성이 떨어졌으며 활성의 감소는 S-II 区의 -7.4 bar와 S-III 区의 -8.61 bar 사이에서 39.2%의 급격한 감소를 나타냈다(Fig. 4).

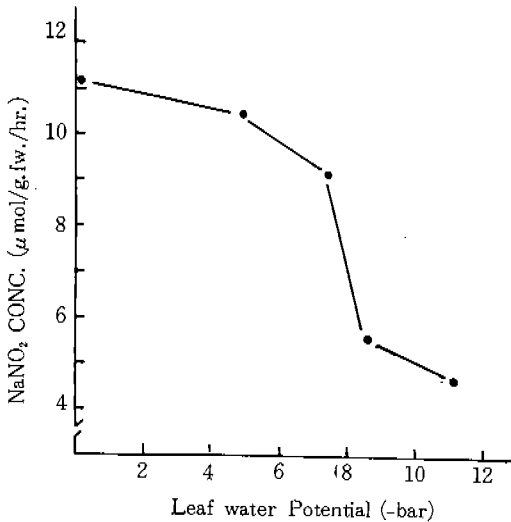


Fig. 4. The effect of leaf water potential on nitrate reductase activities in tobacco leaves (var. Samsun).

질산환원효소의 활성에 관한 연구는 1965년 최초로 Mattas等(19)이 어린 옥수수잎에 수분과 熱을 동시에 stress 주었을 때 2일간은 활성이 급격히 감소하나 3일 부터는 감소율이 줄었다하였고, Huffaker等(15)은 보리와 옥수수에서 water stress를 단독으로 처리하면 활성이 더욱 감소하여 1일만에 20% 활성이 감소한다는 보고가 있어 본 실험과 일치하고 있다. 따라서 water stress를 받은 연초식물의 생육의 저조는 부분적으로나마 질산환원효소의 활성 저하의 영향을 받는 것으로 생각된다.

광합성의 산물인 전분은 식물체의 대사과정중 cellulose와 같은 고분자 물질의 합성에 이용되거나 또는 단당류로 분해되어 energy를 생성하

는 부분으로 쓰여진다. 여기서는 water stress를 받은 연초식물에서 전분의 대사를 알아보기 위하여 전분을 당으로 가수분해하는 α -amylase의 활성과 당 함량을 비교하였는데 그 결과 water stress를 받을수록 α -amylase의 활성은 증가하여 대조구인 leaf이 -0.2 bar에서 경미한 stress를 받은 -5 bar 정도까지는 효소활성이 서서히 증가하였지만 그 이상의 water stress에서는 급격한 활성 증가를 나타내었다. 또한 당 함량도 대조구에서 -5 bar까지는 증가를 하지 않았으나 α -amylase 활성이 증가한 -5 bar에서 부터는 당 함량이 급격히 증가를 하였다(Fig. 5).

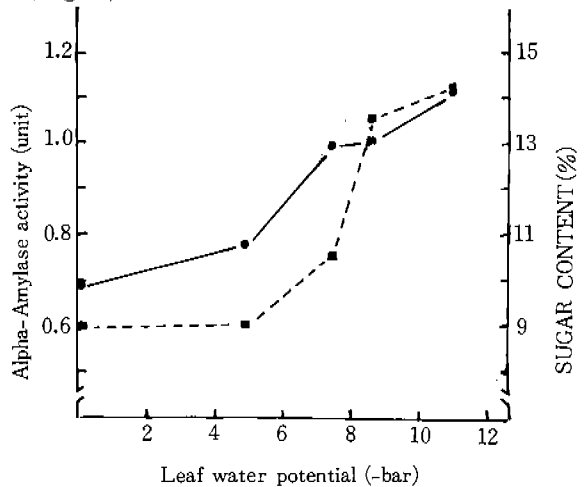


Fig. 5. The effect of leaf water potential on alpha-amylase activities and sugar content in tobacco leaves (var. Samsun). : alpha-amylase activities (●-●), sugar content (□-□).

이와같은 실험은 강냉이를 재료로한 실험에서 water stress를 받으면 당 함량은 증가하고 전분의 함량은 감소하며 α -amylase의 활성이 증가한다는 보고(14, 24)와 일치하고 있어 광합성에서 얻어진 전분은 water stress를 받으면 생육을 증진시키는 생합성 과정보다 water stress에 대항할 수 있는 energy 생성 쪽으로 이용되어 생육면에 많이 기여하지 못하는 것으로 생각된다.

Peroxidase isozyme pattern

Peroxidase는 복합분자 형태를 갖춘 효소로 세

포의 성장과 분화(12), 병원성에 대한 저항성(23)과 관계가 깊으며 상처등과 같은 식물체내의 stress가 생길때 급격히 증가한다고 한다(25) 이와같은 환경조건에 따라 효소활성이 늘어날 뿐 아니라 同位酵素형태도 변화가 있어 효소활성의 지수(index)로 쓴다(21). 그러나 water stress를 받은 식물체의 peroxidase에 대한 조사가 아직은 없어 이를 조사하였다. 즉 전기 영동법을 이용하여 동위 효소형을 비교한 결과, 대조구에서는 peroxidase band는 2개로 나타났으나 water stress를 받으면 동위 효소형이 다르게 나타났으며 stress가 심해 갈수록 새로운 동위효소가 나타나 48시간 수분공급을 중단한 S-IV区에서는 4개로 나타났다(fig. 6).

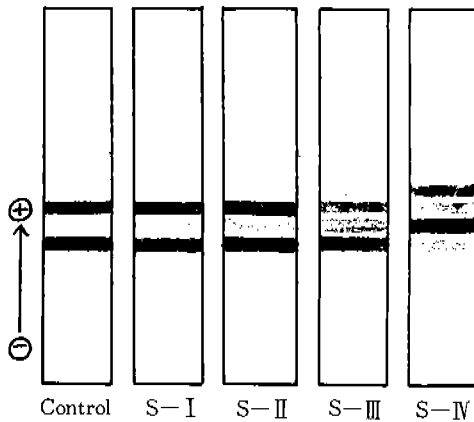


Fig. 6. Peroxidase isozyme patterns of water stressed tobaccoleaves (var. Samsun).

또한, densitometer로 gel을 scanning하여 보면 대조구에서는 Rf 0.43과 0.59에서 peak이 나타났는데 stress를 받아가면서 Rf 0.49에서 peak가 새로이 나타나기 시작하여 S-IV区에서는 Rf 0.49에서 가장 높은 peak가 나타났을 뿐 아니라 대조구에서 나타나지 않았던 Rf 0.36에서 peak가 새로이 나타났다(fig. 7).

따라서 water stress에 대한 peroxidase와의 관계가 아직은 보고된바 없으나 peroxidase와 ethylene 생성 및 IAA (indole acetic acid)와 p-phenol류의 산화에 관여할 것이라는 이론이 있어

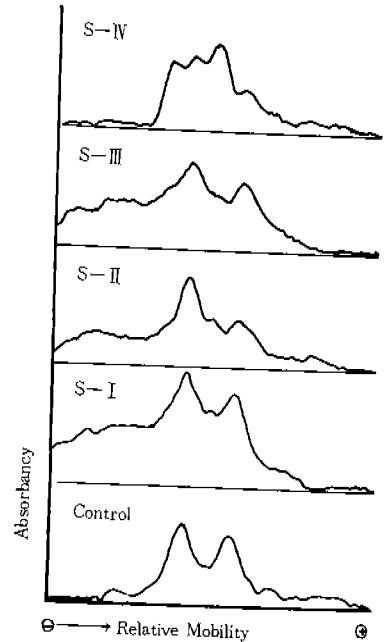


Fig. 7. Densitometric recordings of peroxidase isozyme patterns of water stressed tobacco leaves (var. Samsun).

(26) IAA의 산화는 식물생육을 억제하는 중요한 요인이 아닌가하며 phenol류의 산화물 축적은 또한 식물체내에 생육저해 물질이 될 가능성도 있으며 이들이 연초의 대사에 변화를 초래하는 또다른 원인이 되지 않을까 생각된다.

참 고 문 헌

1. Acevedo, E., T. C. Hsiao and D. W. Henderson. Plant physiol. 48 : 631-636. (1971).
2. Bardzik, J.M., H. V. Marsh, Jr. and T. R. Havis. Plant physiol. 47 : 828-831. (1971)
3. Barrs, H.D. "Water Deficits and plant Growth". Vol 1, I. T. Kozlowski, Ed., Academic press. N.Y. 235-358. (1968).
4. Beardsell, M.F. and D. Cohen. Plant physiol. 56 : 207-212. (1975).
5. Bengtson, C., S.O. Falk and S. Larsson. Physiol. Plant. 41 : 149-154. (1977).

6. Bourque, D.P. and A.W. Naylor. *Plant Physiol.* 47 : 591-594. (1971).
7. Boyer, J.S. *Plant Physiol.* 43 : 1056-1062. (1968).
8. ————— *Plant Physiol.* 46 : 233-235. (1970).
8. ————— *Plant Physiol.* 47 : 816-820. (1971).
10. Clough, B.F. and F.L. Milthorpe. *Aust. J. Plant Physiol.* 2 : 291-300. (1975).
11. Filner, P. and J.E. Varner. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 58 : 1520-1526. (1967).
12. Galston, A.W. and L.Y. Dalberg. *Amer. J. Botany.* 40 : 373-380. (1954).
13. Giles, K.L., M.F. Besrdsell and D. Cohen. *Plant Physiol.* 54 : 208-212. (1974).
14. Hsiao, T.C. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24 : 519-574 (1973).
15. Huffaker, R.C., T. Radin, G.E. Kleinkoph and E.L. Cox. *Crop Sci.* 10 : 471-474. (1970).
16. Hukuzumi, T., T. Tsukamura and J. Hara. *岡山試報.* 30 : 85-92. (1971).
17. Jaworski, E.G. *Bioche. and Biophys. Res. Comm.* 43. 8 : 1274-1279 (1971).
18. Loveys, B.R. and P.E. Kriedemann. *Physiol. Plant.* 28 : 476-479. (1973).
19. Mattas, R. E. and A.W.W. Pauli. *Crop Sci.* 5 : 181-184. (1965).
20. Momen, N.N., R.E. Carlson, R.H. Shaw and O. Arjmand. *Agro. J.* 71 : 86-90. (1979).
21. Naveh, D., S. Mizrahi and I.J. Kopelman. *J. Agri. Food Chem.* 29 : 36-38. (1981).
22. Sepaskhah, A.R. and L. Boersma. *Agro. J.* 71 : 746-752. (1979).
23. Stahmann, M.A., D.M. Demorest. "Fungal Pathogenicity and the Plant's Response". Byrde, R.J. W., C.D. Cutting, Ed., London New York, Academic Press. 405-422. (1973).
24. Stewart, C.R. *Plant Physiol.* 48 : 792-794 (1971).
25. Uritani, I. *Ann. Rev. Physiopathol.* 9 : 211-234. (1971).
26. Wheeler, H. "Plant pathogenesis". Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 65-67. (1975).
27. William, B.J. "Methods in Enzymology". P. C. Sideny and N.C. Kaplan, Ed., Vol. 7. Academic Press., N.Y. and London. (1971).
28. Wilson, A.M. *Plant Physiol.* 48 : 541-546. (1971).