

鹽濃度에 따른 보리 幼苗의 生理反應

이석영* · 김충수** · 조진웅** · 강윤규**

Physiological Response of Barley Seedlings to Salt Stress

Sok Young Lee*, Choong Soo Kim**, Jin Woong Cho** and Yun Gyu Kang**

ABSTRACT : The salt stress at seedling stage of barley was examined in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution. Among the physiological factors electric conductivity and sodium content of cell sap outflow solution were increased according to the increase of NaCl concentration in 1/2 Hoagland solution but the total protein content of root cell sap outflow solution was decreased. Changing pattern of amino acids content in plant was divided into 3 groups which were increased, decreased or unchanged by NaCl concentration in solution. In normal condition, sugar content in plant was higher than potassium or sodium but if NaCl was added more than 25mM in 1/2 Hoagland solution, sodium was the highest. Potassium content in shoot was decreased as 67% of control at 100mM of NaCl containing solution and in root it was decreased as 8%. Sum of the potassium and sodium content in shoot was seriously increased in accordant with NaCl concentration in culture solution, but in root it was gradually decreased. Chlorophyll content per g fresh weight and photosynthetic ability per cm² in first leaf were not affected by NaCl concentration of 1/2 Hoagland solution but root activity was slightly decreased compared to control.

Key words : Salt stress, Cell sap outflow, Electric conductivity

염에 의한 生育障害의 原因은 식물체의 생육배지에서 관여하는 염의 종류에 따라 크게 식물체내의 水分經濟에 따른 수분 문제와 흡수된 염의 농도가 높을 때 특히 문제가 되는 毒性 問題로 크게 나눌 수 있다^{5,13)}. 전자의 경우는 생육배지의 높은 염 농도가 생육배지의 滲透壓을 높게 하고 이로 인해 외부로부터 식물체 안으로의 수분의 이동을 억제하는데 이것은 식물체의 90% 이상을 차지하고 있는 수분의 함량을 감소시키는 결과를 초래하며 이로 인해 식물체의 모든 대사활동 - 光合成⁴⁾, 呼吸¹²⁾, 物質移動⁷⁾ 등 - 이 영향을 받게 되거나

하면 세포는 형태적으로 팽창이 어려워²⁾ 생장이 어렵게 된다. 본 실험에서는 보리를 NaCl이 함유된 배지에 성장시킬 경우에 문제가 되는 생리적 현상들 - 광합성 능력, 엽록소 함량, 식물체 세포액 유출량, 유출액중 蛋白質 含量 등 - 및 이들의 변화양상에 대하여 살펴보고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료는 무등쌀보리(*Hordeum vulgare* L.

* 農業科學技術院 (Agricultural Science and Technology Institute, RDA Suwon, 441-707, Korea)

** 忠南大學校 農科大學 (College of Agriculture Chungnam Nat'l Univ. Taejon, 305-764, Korea)

cv. Mudeungssalbori)로서 1/2 의 Hoagland 용액으로 30일간 水耕栽培하였다. 엽록소함량과 환원당은 Yoshida 등이 기술한 IRRI method에 의하여 추출하고 정량하였다¹⁶⁾. 식물체 추출액의 전기전도도는 지상부는 지름 3.5mm의 corkborer로 20절편씩을, 지하부는 5mm의 길이로 자른 0.1g의 시료를 5ml의 증류수에 넣은 후 4시간별로 여과하여 전기전도도계(TOA M-40s, Japan)로 측정하였다. 식물체 추출액중 단백질함량은 전기전도도 측정에 사용한 시료를 280nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준곡선작성에는 bovine serum albumin(BSA)을 이용하였다. Na 및 K함량은 原子吸光裝置(Baird Automic Ltd. Model Alpha 4)로 Na는 768.5nm에서, K는 766.5nm에서 측정하였다. 근활력은 0.5g의 시료를 triphenyl-tetrazolium chloride(TTC)를 이용하여 환원력을 측정하는 방법으로 2시간동안 반응시킨 후 479nm에서 흡광도를 측정하여 환산하였다. 아미노산 함량은 시료를 40℃의 drying oven에 7일간 말린 후 Willey-Mill에 40mesh /inch로 간 0.5g의 시료를 둥근 flask에 넣고 30℃에 30분간 치상후 0℃에 15분간 치상된 oxidation mixture (30% H₂O₂ 0.5ml, 88% HCOOH 4.5ml, phenol 25mg /sample)를 넣고 0℃, 실내온도에서 16시간 방치후 0.84g의 NaHSO₄·H₂O와 50mg의 phenol이 함유된 6N HCl을 50ml넣고 110℃에 23시간동안 진탕하고 7.5N NaOH로 pH가 2.2되도록 조정하여 구멍크기 0.22 μ m의 막으로 여과하여 아미노산분석기로 측정하였다. 엽면적은 Automic area meter(Hayashi Denko Co. LTD Japan model AAm-5)로, 광합성 능력은 LI-6200 Portable photosynthesis system (LiCOR USA)를 사용하였다.

결과 및 고찰

보리잎 추출액의 전기전도도는 표 1에서 보는 바와 같이 수경액에 NaCl을 공급하지 않은 구에 비하여 NaCl을 공급한 구에서 현저하게 높았다. 또한 電氣傳導度는 시료의 침지시간이 경과함에

따라 점진적으로 높아졌는데 이는 식물체가 수분 스트레스나 동해를 받을 경우 체액의 유출이 단시간에 급격히 이루어졌던 것과 비교해 볼 때 중요한 의미를 갖는다고 할 수 있다.¹⁾

즉 한발이나 동결에 의한 스트레스의 경우 세포액은 침지후 단시간에 많은 양이 유출되어 막의 변화를 물리적인 손상으로 추측할 수 있었던 반면⁹⁾ NaCl에 의해 스트레스를 받을 경우 시간이 경과함에 따라 細胞液의 유출이 서서히 이루어지는 것은 Iraki¹⁰⁾ 등이 보고한 결과와 비교해 볼 때 막의 물리적인 손상이나 변화가 아니라 구조적, 화학적 변화로 추측할 수 있다. 체액의 유출에 대한 이러한 경향은 뿌리의 경우에도 동일하였다. 특히 배지의 염분농도가 100mM일 때는 수경액에 NaCl을 처리하지 않은 구에 비하여 침지후 4시간에는 5배의 유출량을, 24시간에는 7배의 유출량을 보여 수경액중의 NaCl 농도증가에 따른 체액 유출량의 변화 정도가 뿌리에서 심한 것으로 나타났으며 수경액의 NaCl 농도가 100mM 정도로 높을 경우 한발이나 동결에 의한 스트레스의 경우와 마찬가지로 뿌리에서는 증류수에 침지 4시간 후에도 체액의 유출이 심한 것으로 나타났다. 유출액의 전기전도도값 중 Na이 차지하는 부분을 알기 위해 동종의 시료로부터 Na의 함량을 측정한 결과는 잎의 경우 Na의 함량변화양상이 유출액의 전기전도도 값에서 보이는 변화의 양상과 유사하여 잎유출액의 전기전도도는 Na의 영향이 큼을 알 수 있다. 뿌리유출액중 Na의 함량은 잎과는 약간 다른 양상을 보였다. 먼저 배지에 NaCl을 공급하지 않은 구의 경우 잎에서는 Na의 유출량이 많지 않았던데 비하여 뿌리의 경우는 잎보다는 14~20배 많았으나 배지에 공급한 염분농도의 변화 정도에 따른 Na 유출량의 증가 정도는 잎에 비하여 심하지 않았다(표 1).

보리잎 유출액중 蛋白質含量은 전기전도도값의 변화 정도와 양상이 비교적 유사하였는데 침지시간이 경과함에 따라 유출되는 단백질의 함량은 증가하는 경향이었고 배지의 염분농도가 증가함에 따라 증가하였는데 침지후 24시간에 측정된 결과는 배지에 염분을 처리하지 않은 구에 비하여 100mM NaCl을 처리할 경우 약 3배, 75mM 처리

Table 1. Electric conductivity(μS) and sodium content(ppm) of cell sap outflow solution in barley seedlings cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

Division	NaCl concentration(mM)	Soaking time(hr)									
		4	8	12	16	24	4	8	12	16	24
	 μSppm.....				
Leaf	0	10.3	10.8	10.6	10.6	11.0	0.10	0.10	0.11	0.10	0.10
	25	20.3	25.0	27.0	30.6	33.0	0.48	1.26	1.26	1.26	2.82
	50	27.0	32.3	34.6	35.3	39.6	0.48	2.04	2.43	2.43	3.21
	75	29.6	33.0	36.6	38.3	46.6	2.82	3.21	3.61	4.39	7.52
	100	31.0	38.3	42.6	45.5	59.0	5.95	6.74	8.69	9.09	9.48
Root	0	20.0	20.3	21.0	21.0	21.0	1.40	1.65	1.65	1.65	2.04
	25	33.0	34.0	37.0	39.8	45.3	2.43	5.17	4.78	5.17	5.56
	50	32.6	48.6	53.3	64.3	82.3	2.04	4.00	5.56	5.17	5.56
	75	52.3	55.3	61.6	65.6	85.6	2.43	4.00	5.17	6.74	6.74
	100	101	103	113	128	144	2.04	4.78	6.74	7.91	10.99

할 경우 약 2배정도 함량의 증가를 보였다. 뿌리의 유출액은 잎과는 달리 침지후 4시간에 측정된 단백질의 함량이 수경액에 NaCl을 공급하지 않은 구에서 20.9ppm으로 침지시간이 지속될 경우, 유출액중 단백질함량이 증가하는 것은 전기전도도 값이나 Na함량과 같은 변화 양상이었던데 비해, 수경액의 NaCl 농도가 높아질 경우 유출액으로부터 측정된 단백질의 함량은 약간 감소하는 경향이 었다(표 2).

식물체의 삼투압조절에 관여하는 물질은 이온 으로는 Na, K, Cl 등이 있고 유기물로는 당이 있

으며 그 외에도 다양한 양쪽성의 용질이 있다^{11,14)}. 식물체의 건물중 Na 함량은 수경액에 NaCl을 처 리하지 않은 구에서 건물중의 0.6% 정도로서 Na, K, 당을 합한 양의 11%였는데 배지의 NaCl 농도가 증가함에 따라 증가하여 100mM에서 생 장한 경우에 식물체 건물중의 11.6%로서 세가지 요소의 86.2%를 차지하였다. K의 경우 NaCl을 처리하지 않은 구에서는 건물중의 2.05% 로서 세 요소합의 36.7%에 해당하였으나 배지의 NaCl 농도가 높아짐에 따라 감소하기 시작하여 100mM 인 경우에는 0.75%로서 전체중 5.6%로 감소하였

Table 2. Total protein content(ppm) of cell sap outflow solution of barley seedling cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

Division	NaCl concentration(mM)	Soaking time(hr)				
		4	8	12	16	24
Leaf	0	11.0	10.3	10.4	13.0	13.8
	25	11.1	13.5	15.6	16.4	21.0
	50	10.8	19.9	20.4	20.8	26.0
	75	13.0	20.2	24.2	25.0	27.9
	100	18.8	32.2	32.2	32.2	39.1
Root	0	20.9	25.2	33.5	36.1	40.3
	25	20.5	26.3	31.7	32.6	37.0
	50	19.4	25.1	33.3	33.2	36.4
	75	20.4	25.8	33.0	33.0	36.2
	100	12.7	26.9	30.5	31.0	33.1

다. 糖의 경우 K와 비슷한 변화의 양상을 보여 염분을 공급하지 않은 배지에서는 건물중의 2.8%로서 세 요소합의 51.4%를 차지하였으나 배지의 염분농도가 증가함에 따라 감소의 경향을 보여 배지의 염분농도가 100mM일 경우에는 건물중의 1.1%로서 8.2%로 감소하였다. 또한 Na, K, 당을 합할 경우 NaCl을 처리하지 않은 경우에는 건물중의 5.45% 였으나 염분농도가 높아져 배지의 염분농도가 100mM일 경우에는 13.45%로 높아짐을 볼 수 있다(표 3).

Na과 K의 함량에서 배지에 NaCl을 처리하지 않은 경우 Na의 함량은 뿌리에 많았고 K은 잎에 많았으며 이 두 요소의 합은 잎과 뿌리에서 거의 비슷하였다. 그러나 배지의 NaCl 농도가 높아짐에 따라 Na이나 K은 모두 잎의 함량이 뿌리의 함량에 비하여 상당히 높음을 알 수 있으며 뿌리에 대한 잎의 함량비율이 배지의 NaCl 농도의 증가에 따라 높아지는 것은 식물체의 K함량의 증가에 의해서가 아니라 배지의 NaCl 농도 증가에 따른 뿌리의 급격한 K의 감소로 인한 것으로서 배지의 NaCl 농도가 높은 경우 보리의 뿌리에서 심한 스

트레스를 받음으로 인하여 K의 감소를 초래하는 결과를 가져왔다고 생각한다(표 4).

식물체의 단백질 구성원인 아미노산함량 변화는 크게 3군으로 구분되었다. 잎의 경우 배지의 NaCl 농도 증가에 따라 뚜렷한 증가의 경향이 있는 아미노산(Cys, Asp), 이와 반대의 것(Thr, Ser, Glu, Pro, His, Lys), 생육량이 가장 많았던 25mM구에서는 함량이 증가하였으나 배지의 염농도가 증가함에 따라 감소하는 아미노산(Gly, Ala, Val, Ile, Leu)과 phenylalanine의 경우와 같이 배지의 염농도가 25mM까지는 검출되었으나 그 이후의 농도에서는 검출되지 않는 경우도 있었다. 뿌리의 염농도 증가에 따른 아미노산함량 변화양상은 지상부의 경우와 같이 배지의 염농도가 증가함에 따라 뚜렷한 증가의 경향이 있는 아미노산(His, Lys, Leu, Pro)과 배지의 염농도 증가에 따라 함량이 증가하는 아미노산(Asp, Ser, Glu, Gly, Ala, Val)과 큰 변화의 경향이 없는 cysteine, 그리고 어느 농도에서도 전혀 검출되지 않는 phenylalanine이 있었다. 이러한 결과로 볼 때 식물체가 염분을 함유한 배지에서 생육되면

Table 3. Sodium, potassium and sugar content of barley shoot cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

NaCl conc. (mM)	Content(% dry weight)			
	Sodium	Potassium	Sugar	Total
0	0.60(11.0)*	2.05(37.6)	2.80(51.4)	5.45(100)
25	3.35(43.9)	2.05(26.9)	2.23(29.2)	7.63(100)
50	6.10(63.2)	1.62(16.8)	1.93(20.0)	9.65(100)
75	8.30(75.2)	1.27(11.5)	1.47(13.3)	11.04(100)
100	11.60(86.2)	0.75(5.6)	1.10(8.2)	13.45(100)

* Presents percent of total

Table 4. Sodium and potassium content(% dry weight) of barley seedling cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

NaCl concentration(mM)	Shoot(S)			Root(R)			S/R		
	Na	K	Na+K	Na	K	Na+K	Na	K	Na+K
0	0.60	2.05	2.65	1.38	1.22	2.60	0.43	1.68	1.02
25	3.35	2.05	5.40	1.55	0.78	2.33	2.16	2.63	2.32
50	6.10	1.62	7.72	1.55	0.35	1.90	3.94	4.63	4.06
75	8.30	1.27	9.57	1.60	0.23	1.83	5.19	5.52	5.23
100	11.60	0.75	12.35	1.71	0.10	1.81	6.78	7.50	6.82

단백질이 소실 또는 감소되는 경우와 증가되는 경우가 있는데 이는 스트레스에 대한 방어단백질의 생성 및 기존 단백질의 스트레스에 의한 소실에 의한다고 할 수 있는 바 이들의 결과는 Singh (1985) 등이 토마토의 NaCl 스트레스반응 실험 시 얻은 결과와 일치한다고 할 수 있다. 또한 많은 실험에서 고찰된 바 있는 proline의 경우 본 실험에서 배지의 염분농도가 증가함에 따라 잎에서는 감소의 경향을 보였으나 뿌리에서는 염농도의 증가에 따라, 특히 높은 염농도의 배지에 식물체를 생육시킬 경우에 검출됨으로서 이 물질이 직접적으로 염분 스트레스에 증가하는 물질인지 아니면 스트레스에 대해 방어적으로 작용하는 단백질 구성원인지는 확실치 않으나 배지의 염농도가 증가함에 따라 증가되는 물질임을 알 수 있다(표 5).

식물체의 葉綠素含量은 배지의 NaCl 농도가 증가함에 따라 약간 증가의 경향을 보였다. 그런데 이것은 형태적인 측면에서 관찰하였던 바와 같이 배지에 NaCl을 공급할 경우 엽록소 함량의 실질적인 증가가 일어나는 것이 아니라 엽면적의 감소와 葉組織(細胞)의 크기 감소가 단위면적 엽록소

함량을 많게 하는 결과를 가져왔다고 할 수 있다¹³⁾. 이 결과는 Choi¹³⁾가 한 실험에서 수분 스트레스에 의해 엽록소함량이 감소하였다고 한 결과와는 상이함을 보이고 있어 염분 스트레스와 수분 스트레스는 식물체의 適應機構 중 다른 면이 있지 않나 사료된다. 즉 수분 스트레스의 경우에는 엽록체의 구조가 뒤틀린다든지, 파손 등이 일어나는데 반하여 75mM의 NaCl을 함유한 수경액에서 재배할 경우에도 유묘기에는 엽록체의 수나 구조 변화는 일어나지 않음은 좋은 예라고 할 수 있다¹³⁾. 또한 단위면적당 광합성 능력은 엽록소의 함량이나 구조의 변화와 마찬가지로 염분농도의 증가나 감소에 의하여 변하지 않는 양상을 보여 본 실험결과 염분 스트레스에 의해 광합성 능력 자체는 큰 영향이 없었고 근활력 또한 75mM 정도의 NaCl용액까지는 크게 감소하지 않았다(표 6). 이 결과와 식물체의 당함량과의 관계를 볼 때 광합성 능력이 큰 차이가 없었음에도 식물체내의 당함량이 적었던 것은 식물체가 고농도의 NaCl을 함유한 배지에서 성장될 경우 식물체의 기능 유지에 많은 energy를 소모하는 것이 주된 원인으로 생각하는 바이다.

Table 5. Amino acids content of barley seedling cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

Amino acids	Shoot				Root			
	0	25	50	75	0	25	50	75
Alanine	0.293	0.335	0.129	0.164	0.148	0.203	0.175	0.199
Aspartic acid	0.082	0.153	0.285	0.616	0.134	0.590	0.319	0.298
Cysteine	0.115	0.182	0.194	0.281	0.123	0.108	0.105	0.123
Glutamic acid	0.728	0.491	0.317	0.377	0.356	0.932	0.450	0.403
Glycine	0.236	0.265	0.120	0.119	0.112	0.123	0.146	0.174
Histidine	0.581	0.438	0.339	0.310	0.607	0.651	1.302	1.357
Isoleucine	0.210	0.216	0.165	0.115	0.093	0.134	0.119	0.131
Leucine	0.364	0.373	0.257	0.215	0.226	0.229	0.239	0.253
Lysine	1.132	0.488	0.254	0.237	0.365	0.705	1.589	2.349
Phenylalanine	0.309	0.276	ND*	ND	ND	ND	ND	ND
Proline	0.114	0.107	0.071	0.051	SD**	SD	0.079	0.082
Serine	0.235	0.219	0.114	0.122	0.098	0.131	0.124	0.123
Threonine	0.230	0.225	0.115	0.141	0.298	0.127	0.127	0.146
Valine	0.330	0.359	0.147	0.207	0.176	0.196	0.200	0.178
Total	4.959	4.127	2.407	2.955	2.736	4.129	4.974	5.806

* Means none detected and ** means slightly detected

Table 6. Chlorophyll content, Photosynthetic ability and Root activity of barley seedlings cultured for 30days in different concentrations of NaCl containing 1/2 Hoagland solution

NaCl conc. (mM)	Chlorophyll content (mg /g F.W.)	Photosynthetic ability ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{sec}$)	Root activity (mg formsan/g D.W.)
0	1.93	5.32	0.32
25	2.14	5.23	0.50
50	2.33	5.26	0.53
75	2.35	5.24	0.39
100	2.38	5.13	0.25

적 요

NaCl이 함유된 배지에서 보리가 자랄 경우 문제가 되는 생리적 현상들 - 광합성 능력, 엽록소 함량, 식물체의 체액 유출량, 유출액 중 蛋白質 含量 등 - 및 이들의 변화양상에 대하여 살펴본 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 세포유출액의 전기전도도나 Na함량은 수경액의 NaCl 함량이 높아짐에 따라 증가하였으며 세포액 유출양상으로 볼 때 NaCl에 의한害는 건조나 동결에 의한害와는 다른 양상을 보여 유출되는 속도가 완만하였다.
2. 葉綠素 含量, 광합성 능력은 수경액의 NaCl 농도에 의해 직접적으로 영향받지 않았으나 배지의 NaCl 농도가 높을 경우 根活力은 무처리구에 비해 약간 감소하였다.
3. 아미노산 함량은 염해에 의해 증가, 감소, 변화가 없는 군 등 3군으로 나눌 수 있었으나 잎과 뿌리의 변화양상은 일치하지 않았다.
4. 식물체의 건물중 K, Na, 당함량은 NaCl을 처리하지 않은 경우는 당이, NaCl의 농도가 100mM인 경우 Na이 가장 높았다.
5. 배지의 NaCl 함량이 높아짐에 따라 잎에서는 Na의 함량이 증가하였으나 뿌리에서는 거의 일정한 수준을 유지하였으며 K의 경우 배지의 Na함량이 높아짐에 따라 지상부 K함량 감소는 약 63%이었던데 비해 뿌리에서는 92%였으며 Na과 K을 합한 양은 수경액의 NaCl 함량이 높아짐에 따라 잎에서는 현저하게 증가하였으나 뿌리에서는 완만한 감소를 보였다.

인용문헌

1. Bernstein, L. and H. E. Hayward. 1958. Physiology of salt tolerance. Ann. Rev. Plant Physiol. 9:25-46.
2. Carpita, N. C. 1985. Tensile strength of cell walls of living cells. Plant Physiol 79:485-488.
3. Choi, W. Y. 1985. Physiological response of winter barley(*Hordeum vulgare* L.) to drought and salt stress at seedling and reproductive stages. Seoul Nat'l Univ. PhD Thesis.
4. Critchley, C. 1982. Stimulation of photosynthetic electron transport in a salt tolerant plant by higher chloride concentrations. Nature. 298:483-485.
5. Eaton, F. M. 1942. Toxicity and accumulation of chloride and sulfate salts in plants. J. Agric. Res. 64:357-399.
6. Fry, K. E. 1970. Some factors affecting the hill reaction activity in cotton chloroplasts. Plant Physiol. 45:465-469.
7. Goas, G., M. Goas and F. Larhe. 1982. Accumulation of free proline and glycine betaine in *Aster tripolium* subjected to a saline shock; A kinetic study related to light period. Plant Physiol. 55:383-388.
8. Greenway, H. and R. Munns. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes.

- Ann. Rev. Plant Physiol. 31:149-190.
9. Hinch, D. K., R. Hofner, K. B. Schuab, U. Heber and J. M. Schmitt. 1987. Membrane rupture is the common cause of damage to chloroplast in leaves injured by freezing or excessive wilting. *Plant Physiol.* 83:251-253.
 10. Iraki, N. M., S. Narendra, R. A. Bressan and N. C. Carpita. 1989. Cell walls of tobacco cells and changes in composition associated with reduced growth upon adaptation to water and saline stress *Plant Physiol.* 91:48-53.
 11. Kim, C. S. 1992. Physiological mechanism of halophytes. *Crop Experiment Station Symposium* 17:100-123.
 12. 김충수. 1990. Saline stress하에서 광합성 및 호흡. *韓作誌* 35:362-369.
 13. 이석영, 김충수. 1995. 보리 幼苗의 鹽濃度에 따른 細胞의 形態反應. *韓作誌*, 40(4):481-486
 14. Manetas, Y., Y. Petropoulou and G. Karabourniotis. 1986. Compatible solutes and their effects on phosphoenolpyruvate carboxylase of C₄-halophytes. *Plant Cell Environ.* 9:145-151.
 15. Singh, N. K., A. K. Handa, P. M. Hasegawa and R. A. Bressan. 1985. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiol.* 79:126-137.
 16. Yoshida S., D. Forno, J. H. Cock and K. A. Gomez. 1972. *Labortary manual for physiological studies of rice*. 2nd edition. IRRI.