

## Glycine betaine 엽면 처리가 토마토 유묘의 생육과 삼투조절물질 함량에 미치는 영향

강남준<sup>1\*</sup> · 권준국<sup>1</sup> · 이재한<sup>1</sup> · 박진면<sup>2</sup> · 이한철<sup>1</sup> · 최영하<sup>1</sup>

<sup>1</sup>원예연구소 시설원예시험장, <sup>2</sup>원예연구소 원예토양관리연구팀

### Effects of Foliar Application of Glycine Betaine on the Growth and Contents of Osmolyte in Tomato Seedling

Nam Jun Kang<sup>\*1</sup>, Joon Kook Kwon<sup>1</sup>, Jae Han Lee<sup>1</sup>, Jin Myeon Park<sup>2</sup>, Han Chul Rhee<sup>1</sup>, and Young Hah Choi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Protected Horticulture Experiment Station, NHRI, RDA, Busan 618-800, Korea

<sup>2</sup>Horticultural Soil Management Team, NHRI, RDA, Suwon 440-706, Korea

**Abstract.** Effects of exogenously foliar applied glycine betaine (GB) on the growth and contents of osmolyte in tomato seedling was investigated. Plants treated with exogenous glycine betaine induced better biomass production and plant height during chilling stress than the untreated plants. The total soluble sugar contents in GB foliar-applied plants lower than that of untreated plants 28 days after foliar application. Total water soluble protein contents in GB foliar-applied plants did not change 28 days after chilling stress. In untreated plant, it decreased rapidly in the beginning of chilling stress. Proline contents in untreated plants rapidly increased by the beginning of chilling stress, and then slightly decreased during the next 3 weeks. However proline contents in GB foliar-applied plants did not change during the 28 days chilling stress period. The results suggest that foliar application of GB is a effect methods to increase the chilling tolerance of tomato seedlings in protected cultivation system at low temperature season.

**Key words :** chilling stress, glycine betaine, proline, protein, tomato, water soluble sugar

\*Corresponding author

## 서 언

작물은 여러 가지 환경 스트레스에 대한 반응으로 체내에 삼투 조절 물질의 축적, 활성 산소종의 생성 및 세포막의 기능 변화 등 많은 생리적 변화가 일어나는 것으로 알려져 있다(Rajashekar, 2000). 저온과 수분 스트레스에 대한 방어 기작으로는 가용성 당 (Koster와 Lynch, 1992), proline(Claussen, 2005; Rudolph와 Crowe, 1985) 및 glycine betaine(Kishitani 등, 1994) 등과 같은 삼투 조절 물질의 축적에 관한 보고가 많다. 저온 하에서의 이러한 삼투 조절 물질은 세포질의 삼투압을 조절할 뿐만 아니라 단백질 등과 같은 세포질 구성 요소의 구조 또는 기능을 안정화하는데 큰 역할을 하는 것으로 알려져 있어 작물의 내 저온성 증진을 위한 실용화 가능성을 제시하고 있다

(Murata 등, 1992; Rhodes와 Hanson, 1993).

Glycine betaine(GB)은 많은 작물에서 생합성되는 수용성 아미노산 유도체로서 각종 환경 스트레스 하에서 축적되어 내성을 증진시키는 삼투 조절 물질로 알려져 있지만, 토마토, 감자 및 벼 등의 주요 작물에서는 축적되지 않는 것으로 알려져 있다(Gorham, 1995). 저온에 대한 식물의 방어기작으로 glycine betaine의 축적은 밀(Naidu 등, 1991), 귀리(Koster와 Lynch, 1992), 보리(Kishitani 등, 1994) 및 딸기(Rajashekar 등, 1999) 등에서 보고되었다. 또한 저온 스트레스에 대한 내성을 증진시키고 작물의 생산성을 높이고자 인위적으로 삼투 조절 물질을 처리하여 축적시키려는 시도가 많이 이루어졌는데(Makela 등, 1996a; Rajashekar 등, 1999; Xing과 Rajashekar, 1999), glycine betaine의 엽면 처리(Agboma 등 1997; Allard 등, 1998;

Rajashekar 등, 1999)가 저온에 대한 내성 증진에 효과적이라고 보고되었다. 그러나 겨울철 저온기에 재배되는 우리나라 주요 시설원예작물인 토마토에 대한 이러한 연구 결과가 거는 많지 않다.

토마토는 일반적으로 저온에 강한 작물로 알려져 있지만, 남부지방을 중심으로 이루어지고 있는 저온기 무가운 시설재배의 경우, 야간 저온은 초기 생육에 큰 영향을 미침으로써 수량 감소와 품질 저하의 주된 원인이 되고 있다. 따라서 본 실험은 glycine betaine의 엽면 처리에 따른 토마토 유묘의 생리적 변화 양상을 분석하여 저온기 재배 토마토의 초기 생육을 촉진시키기 위한 기초 자료를 얻고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험재료 및 glycine betaine 처리

시험 재료는 토마토(*Lycopersicon esculentum* L.) 서건(사까다 종묘) 품종을 버미큘라이트에 파종하여 발아시킨 후에 직경이 15cm인 비닐 포트에 정식한 다음 낮과 밤을 각각 12시간의 일장과 20/25°C(밤/낮)의 기온으로 조절된 온실에서 관리하였다. 처리내용은 증류수 처리를 대조구로 하여 glycine betaine 5, 25 및 50mM 처리구를 두었다. 처리방법은 glycine betaine 용액에 계면활성제인 Tween-20을 0.1ml·L<sup>-1</sup> 첨가하여 본 엽이 3매가 된 토마토 묘에 주당 약 10ml을 기준으로 엽면처리하였다. 엽면처리한 토마토 묘는 초기 6시간 동안은 체내 흡수를 촉진시키기 위하여 10°C에서 관리하고 그 후에 5/25°C(밤/낮)의 기온과 12시간의 일장 및 200μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>의 광도로 조절된 식물생장상에서 28일간 재배하였다. 분석용 시료는 처리 후 7일 간격으로 잎을 채취하여 증류수로 세척한 다음에 사용하였다.

### 2. 탄수화물 분석

탄수화물은 Somogyi 방법(Nelson, 1944)으로 분석하였는데, 가용성 당은 건물 50mg을 80% 에탄올(v/v)로 85°C의 수조에서 30분간 추출한 후 15분간 15,000 rpm으로 원심 분리하여 추출하였다. 추출액은 anthrone 반응 시약(150mg·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, w/v)으로 80°C에서 7분 30초간 반응시킨 후 630nm에서 정량하여 glucose 상당량으로 표시하였다. 전분은 가용성 당을 추출한 후

에탄올을 휘발시킨 잔존물에 증류수를 가하여 100°C에서 가용화시킨 다음, 증류수와 같은 양의 9.2N HClO<sub>4</sub>를 첨가하여 30분간 분해시킨 후 15분간 원심 분리하여 추출하였다. 원심 분리한 상정액을 이용하여 위와 같은 방법으로 가용성 당을 측정하였다.

### 3. 단백질 및 아미노산 분석

수용성 단백질과 유리 아미노산은 pH가 8.0으로 조절된 100mM Tris 완충용액으로 추출하였는데, 막자사발을 이용하여 시료 1g당 3ml의 완충용액으로 마쇄한 후 4°C에서 30분간 원심분리시켰다. 원심분리 후 상정액을 회수하여 단백질과 유리 아미노산을 정량하기 위한 시료로 사용하였다. 단백질 함량은 albumin bovine을 표준단백질로 사용하여 Bradford 방법(1976)으로 590nm에서 정량하였고 아미노산 함량은 L-leucine을 표준 아미노산으로 하여 Yemm과 Cocking의 방법(1955)으로 570nm에서 정량하였다.

### 4. Proline 분석

Proline은 생체 0.5g을 10ml의 3% sulfosalicylic acid 용액으로 마쇄한 후 20분간 15,000rpm으로 원심분리 하였다. 원심 분리한 상정액 2ml에 acid ninhydrin (2ml)과 빙초산(2ml)을 혼합하여 100°C의 항온 수조에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응물은 냉각시킨 후 4ml의 톨루엔을 첨가하여 완전히 혼합한 후 분리된 상정액을 이용하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다(Bates, 1973).

## 결과 및 고찰

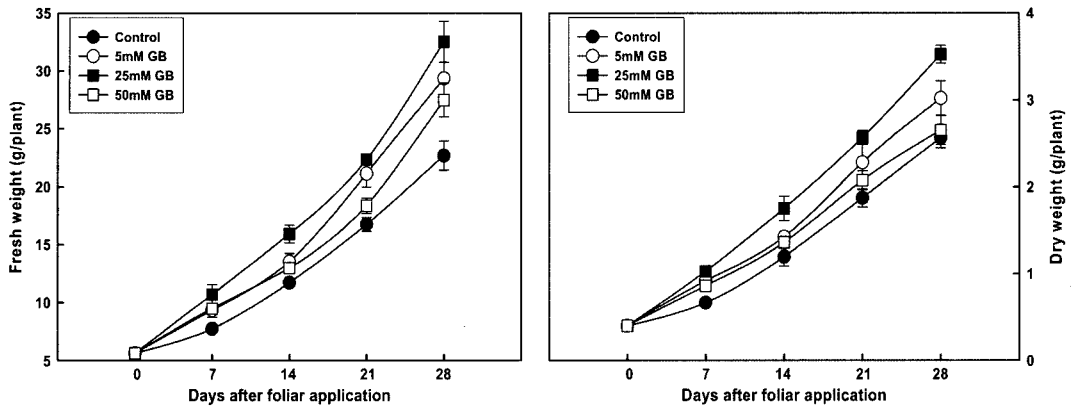
### 1. Glycine betaine(GB) 엽면처리가 토마토 유묘의 생육에 미치는 효과

GB를 엽면 처리한 후 야간에 28일간 저온 처리한 토마토 유묘의 초장은 Table 1과 같다. GB를 처리한 토마토 묘의 초장은 대조구에 비해 전반적으로 높은 경향을 보였는데, GB 25mM 처리 후 28일째의 초장은 33.0cm로 대조구에 비해 32% 증가하였고 5mM와 50mM 처리에서는 각각 15%와 11% 증가하였다.

Fig. 1은 GB를 처리한 후 시기별 생체중과 건물중 변화양상을 분석한 결과로 처리 후 일수가 경과할수록 처리 간에 뚜렷한 차이를 보였다. GB를 처리한 구는

**Table 1.** Effect of foliar application of glycine betaine on plant height of tomato seedlings. Tomato seedlings were treated with chilling stress at 5/25°C (night/day) with 12 hour photoperiod with 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  of light intensity for 28 days after foliar application of glycine betaine.

Days after treatment	0 mM	5 mM	25 mM	50 mM
0	10.5±1.1	10.5±1.1	10.5±1.1	10.5±1.1
7	13.2±0.8	16.2±0.8	17.7±0.3	17.0±0.5
14	16.2±0.7	19.3±1.3	20.8±1.1	18.0±0.5
21	21.7±2.1	24.7±1.5	27.3±1.5	23.4±2.0
28	25.0±2.8	28.7±1.5	33.0±2.0	27.7±1.5



**Fig. 1.** Changes in fresh and dry weight of tomato seedlings during chilling stress. Tomato seedlings were treated with chilling stress at 5/25°C (night/day) with 12 hour photoperiod with 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  of light intensity for 28 days after foliar application of glycine betaine.

대조구에 비해 생체중과 건물중의 증가량이 많았으며 GB 처리농도별 생육은 25mM 처리에서 가장 좋았는데, 대조구에 비해 생체중은 43%, 건물중은 38% 증가하였다. 그러나 50mM 처리에서는 생체중과 건물중이 5mM 처리보다 낮은 경향을 보였는데, 이러한 결과는 높은 농도의 GB 처리는 세포질 내 삼투압을 지나치게 증가시켜 생육에 역효과를 보인다는 Heuer(2003)의 보고와 일치하였다. GB는 수용성 아미노산 유도체로서 저온뿐만 아니라 각종 스트레스 하에서 작물 체내에 생합성되어 축적됨으로써 세포질의 삼투압을 조절하여 스트레스에 대한 내성을 증진시키는 것으로 알려져 있다(Kishitani 등, 1994). GB 처리에 따른 내저온성 증진은 딸기 2mM(Rajashekar 등, 1999), 순무 50mM 및 완두의 200mM(Makela 등, 1996a) 처리에서 각각 효과적인 것으로 보고되어 작물에 따라 처리 농도는 상당히 광범위하였는데, 본 시험에서 저온에 대한 토마토 유묘의 내성 증진을 위한 적정 처리 농도는 25mM임을 알 수 있었다. 야간 저온 스트레스

하에서 GB를 처리할 경우 대조구보다 토마토 유묘의 생육이 좋았던 것은 딸기에서의 저온에 대한 내성증진(Rajashekar 등, 1999)이나 완두와 순무의 상대생장률이 증가(Makela 등, 1996a)된다는 보고와도 일치하였다. 따라서 저온기 시설토마토 재배 시 야간 저온에 의한 장애를 극복하고 초기 생육을 촉진시킬 수 있는 방법으로서 GB 엽면 처리의 이용 가능성을 시사해 주었다.

## 2. GB 엽면 처리 후 시기별 탄수화물 변화 양상

GB 처리에 따른 가용성 당과 전분 함량 변화를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 가용성 당 함량은 대조구인 증류수 처리에 비해 GB 엽면 처리구에서 낮았는데, GB 처리 농도가 높을수록 낮은 경향을 보였다. 처리 후 28일째에 있어서 대조구의 가용성 당 함량은 건물 1g당 41.1mg에 비해 5, 25 및 50mM 처리에서는 각각 13, 23 및 31% 정도 낮았다. 그러나 대조구의 전분 함량은 건물 1g 당 108.9mg에 비해 5mM

**Table 2.** Effects of foliar application of glycine betaine on the soluble sugar and starch contents in the leaves of tomato. Tomato seedlings were chilling stressed at 5/25 (night/day) with 12 hour photoperiod with 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  of light intensity for 28 days after foliar application of glycine betaine.

Days after treatment	Soluble sugar (mg glu·eq·g <sup>-1</sup> DW)				Starch (mg glu·eq·g <sup>-1</sup> DW)			
	0 mM	5 mM	25 mM	50 mM	0 mM	5 mM	25 mM	50 mM
0	11.8±2.1	11.8±2.1	11.8±2.1	11.8±2.1	16.2±4.5	16.2±4.5	16.2±4.5	16.2±4.5
7	21.8±7.4	16.4±4.0	17.3±3.9	17.9±5.4	20.7±4.9	17.8±2.8	18.1±3.4	20.4±5.8
14	37.8±9.6	35.6±4.5	31.3±4.6	30.9±2.2	40.3±6.8	90.2±7.2	82.9±32.8	61.9±15.6
21	37.7±6.5	34.5±3.6	32.0±3.7	30.0±4.7	74.9±13.1	123.1±21.6	133.7±16.6	85.3±33.4
28	41.1±8.1	35.8±4.0	31.5±3.2	28.4±8.7	108.9±20.4	146.5±5.4	147.3±18.6	129.9±29.4

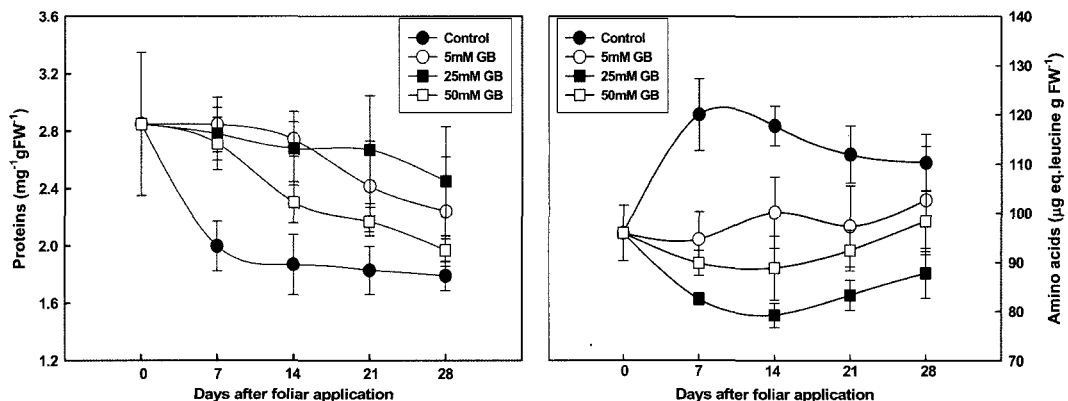
와 25mM GB 처리에서는 약 35%, 50mM GB 처리에서는 20% 증가하였다. 이러한 결과는 저온 스트레스 하에서 가용성 당은 생장을 위한 에너지원으로서 이용되기 보다는 체 내에 축적되어 삼투조절물질로서 역할을 하는 것으로 보고되었는데(Koster와 Lynch, 1992; Perras와 Sarham, 1984), 대조구와 GB 처리구 간의 가용성 당 함량 차이는 저온에 대한 반응양상과 밀접한 관계가 있음을 시사해 주고 있다. 또한 GB 처리 시 가용성 당 함량은 낮은 반면 전분 함량이 높은 본 시험의 결과는 GB를 처리하면 24시간 이내에 식물체 내에 전류되어 3주 이상 잔류하면서 광합성은 증가시키고 광호흡은 억제시킨다는 Makela 등(1996b)의 보고와 간접적으로 일치하는 경향을 보였다.

### 3. GB 엽면 처리 후 시기별 질소화합물 변화 양상

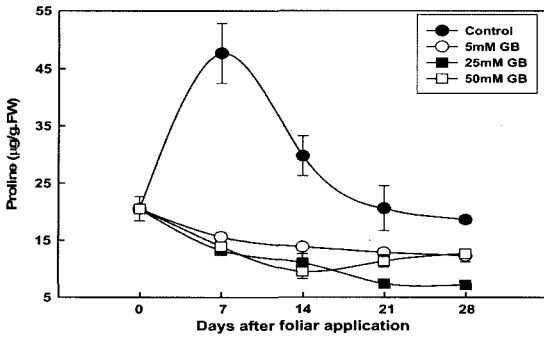
GB 처리에 따른 시기별 수용성 단백질과 유리 아미노산 함량 변화는 Fig. 2와 같다. 대조구의 수용성 단

백질 함량은 저온 처리 후 초기에 급격하게 감소한 후 7일 이후로는 큰 변화가 없었다. 그러나 GB 처리 구에서는 초기에는 큰 변화가 없다가 서서히 감소하는 경향을 보였는데, 처리 농도에 따라 감소시기가 다르게 나타나 50mM 처리에서는 7일 이후에, 5mM 처리에서는 14일 이후에, 25mM 처리에서는 21일 이후에 각각 감소하는 경향을 보여 저온하에서 GB 처리 농도에 따른 삼투조절제로서의 역할을 잘 반영해 주었다.

저온 스트레스에 의한 세포질의 삼투압 변화는 단백질과 같은 세포질 구성요소의 구조뿐만 아니라 기능을 변화시켜 생육에 필요한 여러 가지 대사작용을 교란시키는 요인으로 작용하지만, GB와 같은 삼투조절 물질의 축적은 이러한 세포질 구성요소의 구조와 기능을 안정화시키는데 큰 역할을 하는 것으로 보고되었다(Chen 등, 2000; Gorham, 1995; Rhodes와 Hanson, 1993). 저온 처리에 따른 토마토 유묘의 체내 단백질과 유리 아미노산 함량 변화는 저온 스트레스 하에서



**Fig. 2.** Changes in water soluble protein and free amino acid contents in the leaves of foliar applied with glycine betaine. Tomato seedlings were chilling-stressed at 5/25°C (night/day) with 12 hour photoperiod with 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  of light intensity for 28 days after foliar application of glycine betaine.



**Fig. 3.** Changes in proline levels in the leaves of foliar applied with glycine betaine. Tomato seedlings were chilling-stressed at 5/25°C (night/day) with 12 hour photoperiod with 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  of light intensity for 28 days after foliar application of glycine betaine.

단백질이 변성되어 상대적으로 유리 아미노산 함량이 증가한다는 Hahn과 Walbot(1989)의 결과와도 일치하였는데, 본 시험에서 GB 처리구의 시기별 단백질과 아미노산 함량의 변화량이 적은 것은 인위적으로 엽면 처리한 GB가 체내에 전류되어 세포질의 삼투압을 조절함으로써 저온에 대한 내성을 증진시켰기 때문으로 사료되었다.

#### 4. GB 엽면 처리 후 시기별 proline 변화 양상

Proline의 축적 양상은 대조구와 GB 처리구 간에 뚜렷한 차이를 보였다(Fig. 3). 대조구에서는 저온 처리와 동시에 급격하게 증가한 후 서서히 감소하는 경향을 보였지만, 전반적으로 GB 처리구보다는 높은 경향을 보였다. 그러나 GB 처리농도에 따른 토마토 유묘의 proline 함량은 생육시기에 관계없이 생체 1g당 20mg 이하로 큰 차이가 없었다.

Proline은 각종 스트레스 하에서 축적되어 삼투조절 물질로서의 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 본 실험의 결과에서도 야간 저온처리와 더불어 proline 축적량이 급격하게 증가하여 저온(Koster와 Lynch, 1992), 수분(Aspinall과 Paley, 1981) 및 염(Storey와 Wyn Jones, 1977) 등의 스트레스 하에서 축적 된다는 보고와 일치하였다. 초기에 급격하게 증가한 후 처리 기간이 경과할수록 축적량이 서서히 감소한 것은 저온 순화에 따른 것으로 판단된다. 그러나 GB 처리구에서는 proline 함량에 큰 변화가 없었는데, 이는 외부에서 처리한 GB가 체내에 전류되어 세포질의 삼투압을 조

절하는 물질로서의 역할을 하였기 때문인 것으로 사료된다.

## 적 요

토마토 유묘의 생육에 미치는 glycine betaine의 엽면처리 효과를 분석한 결과, 초장이나 건물중 등의 생육이 대조구인 증류수 처리에 비해 촉진되는 경향을 보였으며 25mM glycine betaine 처리가 가장 좋았다. 저온스트레스 하에서 삼투조절 역할을 하는 가용성 당과 proline의 축적량이 증류수 처리에 비해 glycine betaine 처리에서 낮은 경향을 보여 외부에서 엽면 처리한 glycine betaine이 삼투조절 역할을 한 것으로 판단되었으며 이러한 결과는 수용성 단백질과 유리 아미노산의 축적 양상에서도 잘 반영되었다. 이상의 결과로 보아 glycine betaine의 엽면 처리는 저온기 시설 토마토 재배 시 야간 저온장해를 극복할 수 있는 방법으로서 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

**주제어 :** 가용성 당, glycine betaine, 단백질, 저온스트레스, proline, 토마토

## 인용 문헌

1. Agboma, P.C., M.G.K. Jones, P. Peltonen-Sainio, H. Rita, and E. Pehu. 1997. Exogenous glycinebetaine enhances grain yield of maize, sorghum and wheat grown under two supplementary watering regimes. *J. Agron. Crop Sci.* 178:29-37.
2. Allard, F., M. Houde, M. Krol, A. Ivanov, N.P.A. Huner, and F. Sarhan. 1998. Betaine improves freezing tolerance in wheat. *Plant Cell Physiol.* 39:1194-1202.
3. Aspinall, D. and L.G. Paley. 1981. Proline accumulation: Physiological aspects, p. 206-242. In: L.G. Paley and D. Aspinall (eds.). *The physiology and biochemical of drought resistance in plants.* Academic Press, New York, NY, USA.
4. Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205-207.
5. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
6. Chen, W.P., P.H. Li, and T.H.H. Chen. 2000. Glycine betaine increases chilling tolerance and reduces chill-

- ing-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant, Cell and Environment, 23:609-618.
7. Claussen, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Science, 168:241-248.
  8. Gorham, J. 1995. Betaines in higher plants-biosynthesis and role in stress metabolism, p. 172-203. In: R.M. Wallsgrove (ed.). Amino acids and their derivatives in higher plants. University Press, Cambridge, UK.
  9. Hahn, M. and V. Walbot. 1989. Effects of cold-treatment on protein synthesis and mRNA levels in rice leaves. Plant Physiol. 91:930-938.
  10. Heuer, B. 2003. Influence of exogenous application of proline and glycine betaine on growth of salt-stressed tomato plants. Plant Science 165:693-699.
  11. Kishitani, S., K. Watanabe, S. Yasuda, K. Arakawa, and T. Takabe. 1994. Accumulation of glycine betaine during cold acclimation and freezing tolerance in leaves of winter and spring barley plants. Plant Cell Environ. 17:89-95.
  12. Koster, K.L. and D.V. Lynch. 1992. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puma rye. Plant Physiol. 98:108-113.
  13. Makela, P., J. Mantila, R. Hinkkanen, E. Pehu, and P. Peltonen-Sainio. 1996a. Effect of foliar application of glycine betaine on stress tolerance, growth, and yield of spring cereals and summer turnip rape in Finland. J. Agron. Crop Sci. 176:223-234.
  14. Makela, P., P. Peltonen-Sainio, K. Jokinen, P. Pehu, H. Setälä, R. Hinkkanen, and S. Somersalo. 1996b. Uptake and translocation of foliar-applied glycinebetaine in crop plants. Plant Science 121:221-230.
  15. Murata, M., P.S. Mohanty, H. Hayashi, and G.C. Papa-georgiou. 1992. Glycine betaine stabilizes the association of extrinsic proteins with the photosynthetic oxygen-evolving complex. FEBS Lett. 296:187-189.
  16. Naidu, B.P., L.G. Paley, D. Aspinall, A.C. Jennings, and G.P. Jones. 1991. Amino acid and glycine betaine accumulation in cold-stressed wheat seedlings. Phytochemistry 30:407-409.
  17. Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153:375-380.
  18. Perras, M. and F. Sarham. 1984. Energy state of spring and winter wheat during cold hardening. Soluble sugars and adenine nucleotides. Physiol. Plant. 60:129-132.
  19. Rajashekar, C.B. 2000. Cold response and freezing tolerance in plants, p. 321-341. In: R.E. Wilkinson (ed.). Plant-environment interactions. Marcel Dekker Press, New York, NY, USA.
  20. Rajashekar, C.B., H. Zhou, K.B. Marcum, and O. Prakash. 1999. Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants. Plant Sci. 148:175-183.
  21. Rhodes, D. and A.D. Hanson. 1993. Quarternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44: 357-384.
  22. Rudolph, A.S. and J.H. Crowe. 1985. Membrane stabilization during freezing: The role of two natural cryoprotectants, trehalose and proline. Cryobiology 22: 367-377.
  23. Storey, R. and R.G. Wyn Jones. 1977. Quaternary ammonium compounds in plants in relation to salt resistance. Phytochemistry 16:447-453.
  24. Xing, W. and C.B. Rajashekar. 1999. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycine betaine. Plant Sci. 148:185-195.
  25. Yemm, E.W. and E.C. Cocking. 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. Analyst. 80:209-264.