

여러 자생식물의 내염성 정도 구명

심명선 · 김영재 · 이정희 · 신창호*
국립수목원 전시교육과

Salt Tolerance of Various Native Plants under Salt Stress

Myung Syun Shim, Young Jae Kim, Chung Hee Lee, and Chang Ho Shin*

Department of Horticulture and Education, Korea National Arboretum, Pocheon 487-821, Korea

Abstract. This study was carried out to investigate the plant growth and ion absorbance balance of various native plants affected by the NaCl concentration (0, 100, 200, 300 mM). *Carex blepharicarpa*, *Carex lenta*, *Carex matsumarae*, *Carex sendaica*, *Iris pseudacorus* L., *Sedum oryzifolium* Makino, *Sedum polytrichoides* Hemsl., and *Typha angustifolia* L. were used in this experiment. *Carex blepharicarpa*, *Carex lenta*, *Carex matsumarae*, and *Iris pseudacorus* L. were tolerant of salinity at the NaCl concentration of 200 mM. The root growth of *Carex sendaica* and *Typha angustifolia* L. was suppressed at the NaCl concentration of 100 mM, especially the root growth responded more sensitively than the upper growth to salinity. The K absorbance of *Carex sendaica* decreased according to the NaCl application, and the Na/K rate value was 3 at the NaCl concentration of 300 mM. The K, Ca, and Mg absorbance of *Typha angustifolia* L. decreased at the NaCl concentration of 200~300 mM, and the Na/K rate value was 0.8 at the NaCl concentration of 300 mM. The plant growth of *Sedum oryzifolium* Makino and *Sedum polytrichoides* Hemsl. was suppressed at the NaCl concentration of 100~200 mM. The K, Ca, and Mg absorbance of *Sedum oryzifolium* Makino decreased at the NaCl concentration of 200~300 mM, and *Sedum polytrichoides* Hemsl. was unaffected by the NaCl application. The Na/K value was 1 in both plants. Therefore, *Carex blepharicarpa*, *Carex lenta*, *Carex matsumarae*, and *Iris pseudacorus* L. were tolerant plants of salinity at the NaCl concentration of 200 mM considering the plant growth and ion absorbance balance. Especially, the *Carex* plants were expected to expanding use by the proven tolerance of salinity. The root growth of *Carex sendaica*, *Sedum oryzifolium* Makino, *Sedum polytrichoides* Hemsl., and *Typha angustifolia* L., was suppressed at the NaCl concentration of 100 mM, but there was no distinct tendency of ion absorbance in leaves according to the NaCl application.

Key words : *Carex* plants, *Iris pseudacorus*, *Sedum* plants, *Typha angustifolia*

서 론

식물에 대한 염 스트레스는 생장, 광합성, 단백질 합성, 에너지나 지방질대사 등 모든 중요한 과정에 영향을 주어 생장억제를 일으키지만, 염에 대한 치사농도, 생장감소율과 내성 레벨은 식물 종간에 차이가 있는 것으로 보고되었다(Parida와 Das, 2005). 염토지대의 녹화에 적합한 초종을 선발하기 위해 자생식물들을 대

상으로 많은 연구들이 이루어졌으나, 대부분이 국화과 식물들 위주로 수행되었다. 갯쑥부쟁이, 갯개미취, 갯파랭이, 왕갓쑥부쟁이, 오리새 등은 내염성이 우수한 초종, 눈개쑥부쟁이, 벌노랑이, 쑥부쟁이, 톱풀 등은 중정도의 초종, 벌개미취와 쟁꽃나무는 내염성이 약한 초종으로 보고되었다(Park 등, 2003). 다른 자생식물들에 대한 내염성 연구는 아직 많이 보고되어 있지 않은 실정이다.

토양 중에 Na과 Cl가 고농도로 존재하면 식물은 염 스트레스를 받으며, 염 스트레스는 독성, 수분포텐셜의 저하, 이온의 흡수 및 수송의 억제에 의한 불균형을

*Corresponding author: chshin95@forest.go.kr
Received November 14, 2012; Revised November 26, 2012;
Accepted November 28, 2012

여러 자생식물의 내염성 정도 구명

일으키며, 식물의 생산성 억제와 초기생장 감소를 가져온다(Munns와 Termaat, 1986). 게다가, 염 처리는 많은 식물에 Na와 Cl의 증가를 일으키고, Ca, K, Mg의 레벨을 감소시키며(Khan 등, 2000; Khan, 2001), 식물 생장에 부적절하게 Na/K, Na/Ca, Na/Mg비를 증가시킨다(Jeschke 등, 1987; Lacerda 등, 2003).

본 실험에서는 염토지대에 조경용 식재로 사용이 가능한지 알아보기 위해 여러 과에 속하는 자생식물의 염 스트레스에 대한 내염성 정도를 조사하였다. NaCl의 처리에 따른 식물의 생육반응과 이온흡수 특성을 파악하여, 여러 식물에 대한 내성 정도를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료로 여우꼬리사초(*Carex blepharicarpa*), 왕밀사초(*Carex matsumurae*), 줄사초(*Carex lenta*), 홍노줄사초(*Carex sendaica*), 노랑꽃창포(*Iris pseudacorus* L.), 애기부들(*Typha angustifolia* L.), 바위채송화(*Sedum polytrichoides* Hemsl.), 땅채송화(*Sedum oryzifolium* Makino) 등을 이용하였다. 각 식물들은 원예용 상토 [Sunshine Mix #4, Sungro, USA(perlite : peatmoss = 1 : 1, v/v)]로 채워진 10cm 화분에 2011년 7월 26일 정식 한 후, NaCl을 저면관수로 매주 처리하였다. 염농도는 0, 100, 200, 300mM로 처리해주었다. 처리

Table 1. Effects of NaCl on plant growth of various native plants.

Plant	Treatment (mM)	Fresh weight (g)		Dry weight (g)	
		Top	Root	Top	Root
<i>Carex blepharicarpa</i>	Control	33.80b	5.44a	7.70a	0.46a
	100	39.33a	7.22a	7.86a	0.35a
	200	43.25a	7.69a	7.32a	0.39a
	300	39.35a	6.06a	4.58b	0.33a
<i>Carex lenta</i>	Control	29.24b	5.62b	2.37a	0.31a
	100	30.25b	7.65ab	3.19a	0.32a
	200	31.73b	9.31a	3.70a	0.41a
	300	37.12a	8.79ab	3.65a	0.41a
<i>Carex matsumurae</i>	Control	34.11b	5.18b	5.45a	0.28b
	100	37.78b	7.37a	5.92a	0.39a
	200	45.02a	7.42a	4.82ab	0.30ab
	300	18.93c	4.84b	3.85b	0.25b
<i>Carex sendaica</i>	Control	25.95a	6.43a	1.77a	0.47a
	100	26.53a	2.37b	1.21b	0.16b
	200	25.81a	3.93b	1.47ab	0.17b
	300	4.88b	2.24b	1.27b	0.12b
<i>Iris pseudacorus</i> L.	Control	31.23b	13.33c	4.38a	1.55b
	100	33.36b	35.83ab	4.29ab	1.81ab
	200	36.47a	41.48a	3.87ab	2.28a
	300	15.81c	31.36b	3.45b	1.70ab
<i>Typha angustifolia</i> L.	Control	26.80a	7.13a	0.89a	0.28a
	100	26.28a	3.63b	0.48bc	0.16b
	200	26.93a	3.08b	0.35c	0.12b
	300	4.31b	3.98b	0.74ab	0.19ab
<i>Sedum polytrichoides</i> Hemsl.	Control	31.41b	1.17b	3.31a	0.04b
	100	31.12b	1.57a	1.84b	0.07a
	200	47.54a	0.53c	0.55c	0.03c
	300	30.46b	0.38c	0.52c	0.02c
<i>Sedum oryzifolium</i> Makino	Control	28.93a	1.21a	0.38a	0.02a
	100	33.75a	0.81ab	0.18b	0.01b
	200	36.22a	0.41bc	0.17b	0.01bc
	300	18.43b	0.24c	0.05b	0.01c

^aMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

4주 후 지상부 및 뿌리의 생체중과 건물중 등을 조사하였다.

실험 후에는 염내 무기성분 함량을 측정하기 위해 잎을 채취하여 60°C에서 건조시킨 후 마쇄하였다. 마쇄한 잎 0.5g을 취한 후 sulfuric acid 1mL와 50% perchloric acid 10mL를 넣고 300°C에서 분해하였다. 분해액을 이용해 K, Ca, Mg, Cl 등을 원자흡광분광도계(Spectra AA 880, Varian)를 사용하여 측정하였다.

통계분석은 SAS system(Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)에 의해 Duncan's multiple range test 검정법으로 5% 수준에서 유의성을 검정하였다. 그래프 작업은 SigmaPlot(Ver 9.01, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA)을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 염처리에 따른 식물 생육

줄사초는 염처리에 따라 생체중 및 건물중의 변화가 보이지 않았으며, 여우꼬리사초, 왕밀사초, 홍노줄사초, 노랑꽃창포 등은 NaCl 300mM의 고농도에서 생육이 나빠지는 경향을 보였다(Table 1). 홍노줄사초는 뿌리 생체중 및 건물중이 NaCl 100mM의 농도에서 억제되는 것으로 조사되었다. 염 스트레스는 식물의 생장 저해를 가져오며, 식물의 잎, 줄기 및 뿌리의 생체중 및 건물중을 상당히 감소시킨다(Chartzoulakis와 Klapaki, 2000). 여러 식물에서 염처리에 따라 생체중 및 건물 중이 일시적으로 증가하였으나, 200mM 이상의 고농도에서는 생장이 다시 감소하는 것으로 보고되었다 (Khan, 2001; Kurban, 1999). 애기부들의 지상부는 NaCl 300mM의 고농도에서 그리고 지하부는 NaCl 100mM의 농도에서 생육이 저하되었다. 땅채송화와 바위채송화는 NaCl 100~200mM의 범위에서 지상부 및 지하부의 생육이 억제되었다. 사초과 식물들은 생육의 변화는 크게 보이지 않았으나, 줄사초 및 홍노줄사초는 염처리에 따라 잎들이 갈변되는 현상을 보였고, 왕밀사초 및 여우꼬리사초는 갈변정도가 약하게 나타났다 (Fig. 1). Agastian 등(2000)에 따르면, 잎의 클로로필과 총카로티노이드 농도는 염스트레스에 의해 감소하고, 식물체의 가장 오래된 잎은 장기간 염처리를 받으면 유황병이 발생하고 낙하를 시작하는 것으로 보고되었다.

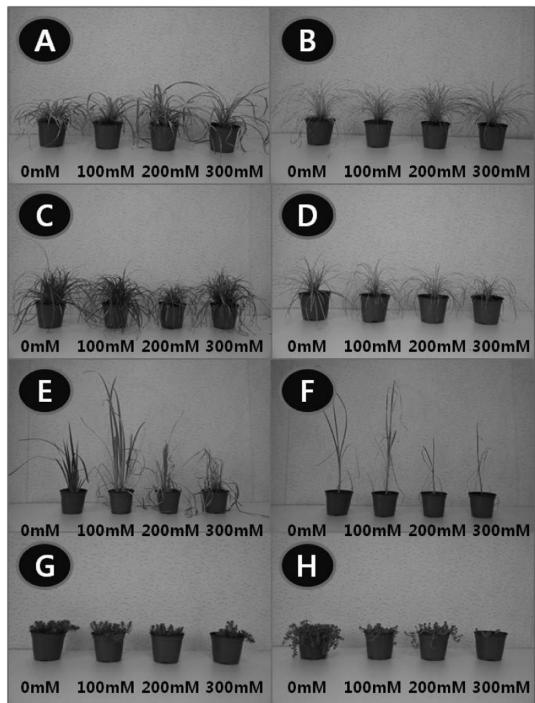


Fig. 1. Effects of NaCl concentration on plant growth of various native plants (A, *Carex blepharicarpa*; B, *Carex lenta*; C, *Carex matsumurae*; D, *Carex sendaiica*; E, *Iris pseudacorus* L.; F, *Typha angustifolia* L.; G, *Sedum polytrichoides* Hemsl.; H, *Sedum oryzifolium* Makino).

줄사초, 왕밀사초, 여우꼬리사초, 노랑꽃창포 등은 NaCl 200mM의 고농도에서도 잘 견디는 초종으로 판단되었다. 홍노줄사초, 애기부들 등은 지하부 생육이 NaCl 100mM의 농도에서 저하되어, 뿌리가 염처리에 더 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. Kim 등 (2010)도 부위별로 염처리에 따른 이온흡수량의 변화가 달라, 배추 잎에서는 100mM NaCl 처리에서 K, Ca, Mg의 농도가 대조구보다 약 40% 감소했으나, 뿌리에서는 50mM NaCl 처리에서 19~38% 감소한다고 보고하였다. 땅채송화 및 바위채송화 등도 NaCl 100~200mM의 범위에서 지상부 및 지하부의 생육이 모두 영향을 받는 것으로 나타났다.

2. 염처리에 따른 염내 무기이온 함량 변화

염처리에 따라 모든 사초과 식물들에서 염내 Na과 Cl 함량이 증가하였다(Fig. 2, Fig. 3., Fig. 4, Fig. 5). 줄사초, 여우꼬리사초, 왕밀사초 등은 NaCl의 농도

여러 자생식물의 내염성 정도 구명

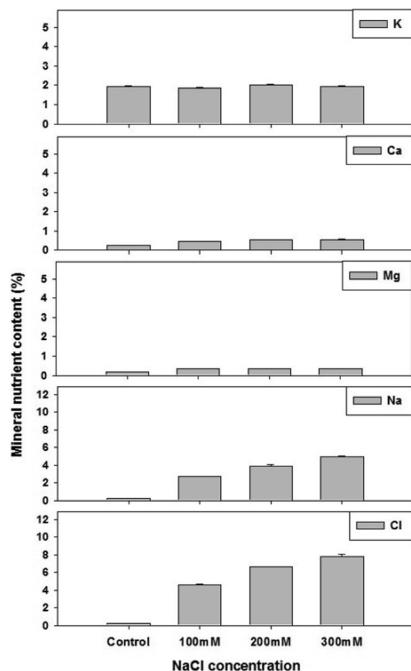


Fig. 2. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Carex blepharicarpa*. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

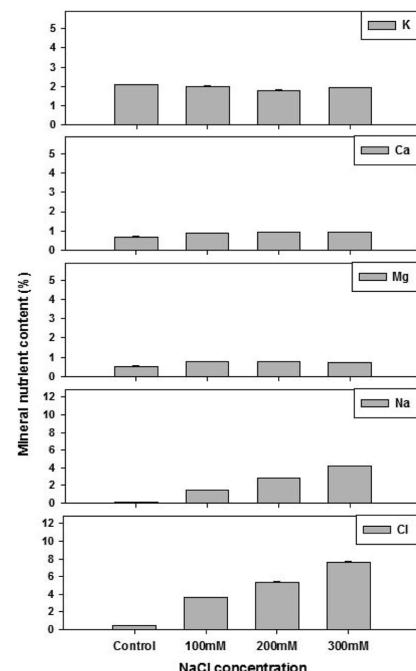


Fig. 3. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Carex lenta*. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

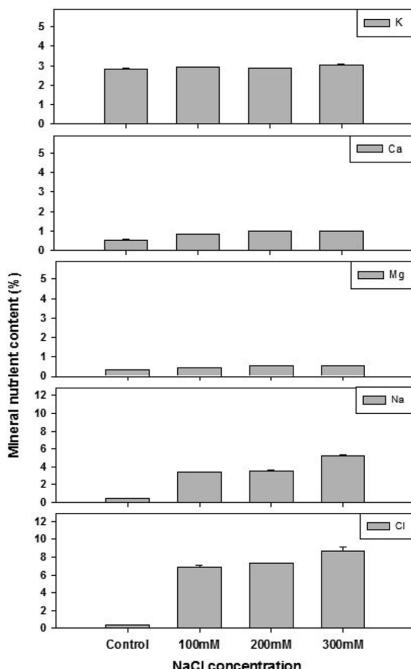


Fig. 4. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Carex matsumurae*. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

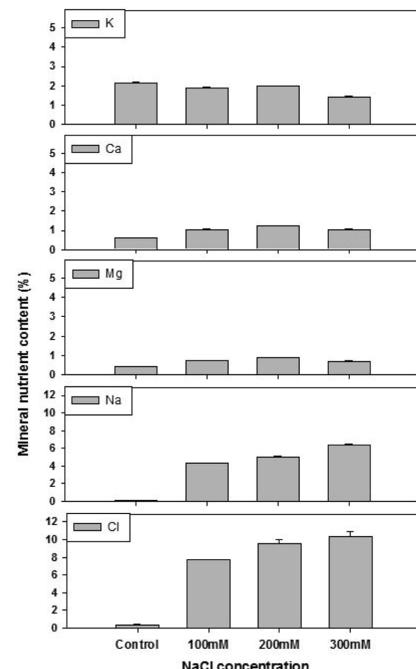


Fig. 5. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Carex sendaica*. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

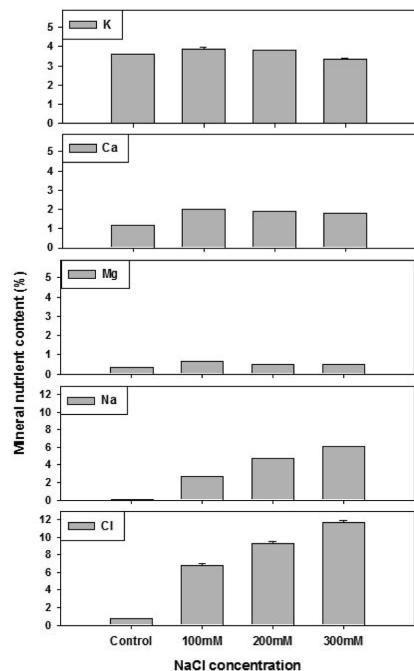


Fig. 6. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Iris pseudacorus* L. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

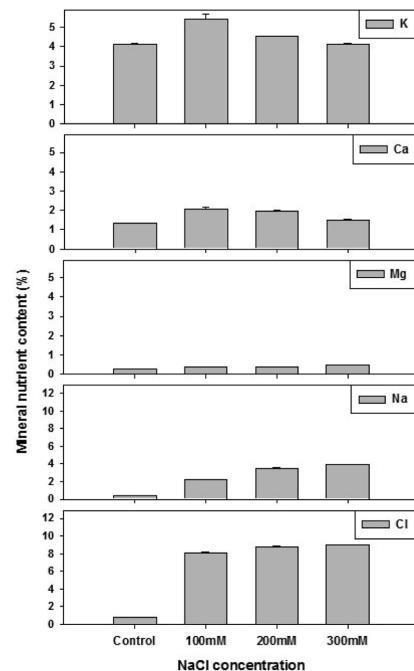


Fig. 7. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Typha angustifolia* L. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

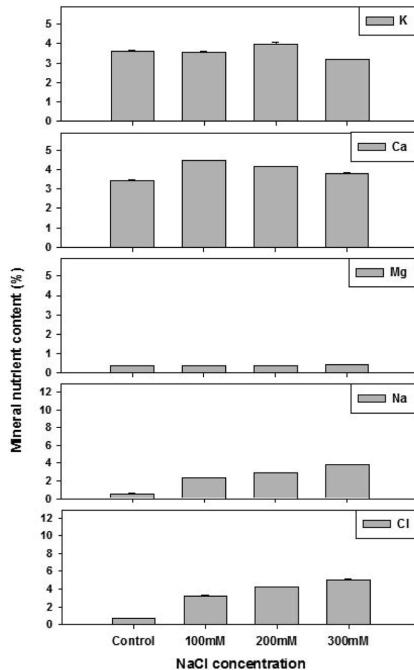


Fig. 8. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Sedum oryzifolium* Makino. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

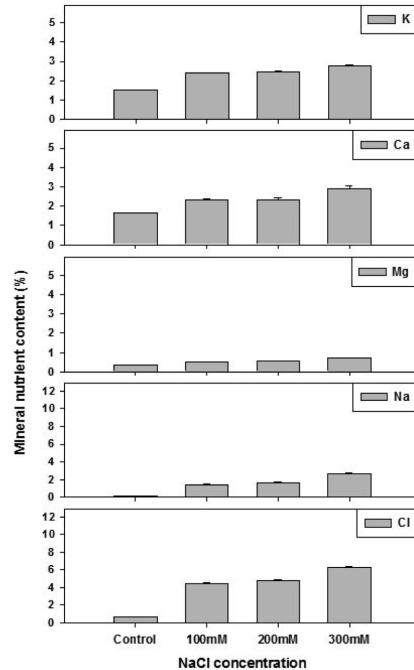


Fig. 9. Effects of NaCl concentration on mineral nutrient content in leaves of *Sedum polytrichoides* Hemsl. Vertical bars indicate \pm S.D. of means ($n = 5$).

여러 자생식물의 내염성 정도 구명

가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 유지되거나 증가하는 경향을 보였으나, 홍노줄사초는 K의 흡수량이 감소되는 것이 특징이였다. NaCl 300mM의 농도의 경우 사초 종류별 Na/K 비율은 여우꼬리사초 2.5, 줄사초 2, 왕밀사초 1.7, 홍노줄사초 3으로 조사되었다. 홍노줄사초의 K 흡수량이 염처리에 따라 가장 억제된 것으로 나타났다. K는 염 스트레스하에서, 막의 완전성 유지, 삼투스트레스 조절, K/Na 선택성에 영향 등 중요한 역할을 하고(Cramer 등, 1987; Mansfield 등, 1990; Rengel, 1992), 고농도의 염 흡수는 특히 K의 흡수와 경합하여 K결핍을 유도하는 것으로 보고되었다(Fox와 Guerinot, 1998). 노랑꽃창포와 애기부들은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 각각 2 및 0.8로 조사되었다(Fig. 6, Fig. 7). 일반적으로 식물이 염토지대에 놓이게 되면 Na의 흡수량은 증가하고 K와 Ca는 감소하는 것으로 보고된다(Ashraf과 Orooj, 2006). 바위채송화는 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, 땅채송화는 염농도에 따라 흡수량이 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Fig. 8, Fig. 9). 바위채송화 및 땅채송화의 Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 1로 조사되었다.

줄사초, 여우꼬리사초, 왕밀사초 등은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 유지되거나 증가하는 경향을 보였다. 홍노줄사초만 K의 흡수량이 감소되었고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 3으로 다른 종보다 높은 경향을 보였다. 노랑꽃창포, 애기부들, 바위채송화 등은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, 땅채송화는 염농도에 따라 흡수량이 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 1~2로 조사되었다.

줄사초, 왕밀사초, 여우꼬리사초, 노랑꽃창포 등은 NaCl 200mM의 고농도에서도 잘 견디는 초종으로 판단되었다. 줄사초, 여우꼬리사초, 왕밀사초 등은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 유지되거나 증가하는 경향을 보였고, 노랑꽃창포는 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하였다. 홍노

줄사초, 애기부들 등은 지하부 생육이 NaCl 100mM의 농도에서 저하되어, 지상부다 뿐만 아니라 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 홍노줄사초는 K의 흡수량이 감소되었고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 3으로 다른 종보다 높은 경향을 보였다. 애기부들은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 0.8로 조사되었다. 땅채송화 및 바위채송화 등도 NaCl 100~200mM의 범위에서 지상부 및 지하부의 생육이 영향을 받는 것으로 나타났다. 바위채송화는 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, 땅채송화는 염농도에 따라 흡수량이 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 모두 1로 조사되었다. 홍노줄사초, 애기부들, 바위채송화, 땅채송화 등은 NaCl 100mM의 농도에서도 뿐만 아니라 생육이 저하되었으나, 염처리에 따른 잎의 이온흡수특성은 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

적 요

본 실험에서는 염토지대에 조경용 식재로 사용이 가능한지 알아보기 위해 여러 과에 속하는 자생식물의 염 스트레스에 대한 내염성 정도를 조사하였다. NaCl의 처리에 따른 식물의 생육반응과 이온흡수 특성도 평가하여, 여러 식물에 대한 내성 정도를 구명하고자 하였다. 실험재료로 노랑꽃창포, 밀사초, 여우꼬리사초, 줄사초, 홍노줄사초, 애기부들, 바위 및 땅채송화 등을 이용하였다. 염농도는 0, 100, 200, 300mM로 처리해 주었다. 처리 4주 후 지상부 및 뿐만 아니라 생체중 · 건물 중, 잎내 무기이온 함량 등을 조사하였다. 줄사초, 왕밀사초, 여우꼬리사초, 노랑꽃창포 등은 NaCl 200mM의 고농도에서도 잘 견디는 초종으로 판단되었다. 홍노줄사초, 애기부들 등은 지하부 생육이 NaCl 100mM의 농도에서 저하되어, 지상부다 뿐만 아니라 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 홍노줄사초는 K의 흡수량이 감소되었고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 3으로 다른 종보다 높은 경향을 보였다. 애기부들은 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였

고, Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 0.8로 조사되었다. 땅채송화 및 바위채송화 등도 NaCl 100~200mM의 범위에서 지상부 및 지하부의 생육이 영향을 받는 것으로 나타났다. 바위채송화는 NaCl의 농도가 증가됨에 따라 K, Ca, Mg의 흡수량이 일시 증가하다가 200mM의 농도부터 감소하는 경향을 보였고, 땅채송화는 염농도에 따라 흡수량이 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Na/K의 비율은 300mM의 농도에서 모두 1로 조사되었다. 그러므로, 여우꼬리사초, 왕밀사초, 줄사초, 노랑꽃창포 등을 식물의 생육 및 이온흡수 특성을 고려할 때 NaCl 200mM의 고농도에서도 잘 견디는 초종으로 판단되었고, 특히 사초과 식물들의 내염성이 겹증되어 앞으로 많이 활용될 수 있으리라 사료되었다. 홍노줄사초, 애기부들, 바위채송화, 땅채송화 등은 NaCl 100mM의 농도에서도 뿌리의 생육이 저하되었으며, 염처리에 따른 잎의 이온흡수특성은 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

주제어 : 노랑꽃창포, 돌나물속 식물, 사초속 식물, 애기부들

사 사

본 논문은 2012년 국립수목원 전시교육과 '전시원 식물도입 및 활용과 조성에 관한 연구' 과제중 박사후 연구원 계약과제 지원으로 수행된 것입니다.

인 용 문 헌

- Agastian, P., S.J. Kingsley, and M. Vivekanandan. 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica* 38: 287-290.
- Ashraf, M. and A. Orooj. 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain. *J. Arid. Environ.* 64:209-220.
- Chartzoulakis, K. and G. Klapaki. 2000. Response of two green house pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hort.* 86:247-260.
- Cramer, G.R., J. Lynch, A. Lauchli, and V.S. Polito. 1987. Influx of Na, K and Ca into roots of salt-stressed cotton seedlings. *Plant Physiol.* 83:510-516.
- Fox, T.C. and M.L. Guerinot. 1998. Molecular biology of cation transport in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:669-696.
- Jeschke, W.D., J.S. Pate, and C.A. Atkins. 1987. Partitioning of K, Na, Mg, and Ca through xylem and phloem component organs and nodulated white lupin under mild salinity. *J. Plant Physiol.* 128:77-93.
- Khan, M.A. 2001. Experimental assessment of salinity tolerance of *Ceriops tagal* seedlings and sapling from the Indus delta, Pakistan. *Aquat. Bot.* 70:259-268.
- Khan, M.A., I.A. Ungar, and A.M. Showalter. 2000. Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte *Haloxylon recurvum*. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31:2763-2774.
- Kim, J.S., I.S. Shim, and M.J. Kim. 2010. Physiological response of Chinese cabbage to salt stress. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:343-352.
- Kurban, H., H. Saneoka, K. Nehira, R. Adilla, G.S. Premachandra, and K. Fujita. 1999. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). *Soil Sci. Plant Nutr.* 45:851-862.
- Lacerda, C.F., J. Cambraia, M.A. Cano, H.A. Ruiz, and J.T. Prisco. 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49: 107-120.
- Mansfield, T.A., A.M. Hetherington, and C.J. Atkinson. 1990. Some aspects of stomatal physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41:55-75.
- Munns, R. and A. Termaat. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* 13:143-160.
- Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol. Saf.* 60:324-349.
- Park, H.R., H.H. Jeong, S.M. Lee, C.H. Lee, and K.S. Kim. 2003. Selection of salt-tolerant native plants for revegetation in saline area. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 21(Suppl.):76.
- Rangel, Z. 1992. The role of calcium in salt toxicity. *Plant Cell Environ.* 15:625-632.