

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.4.373

JCCT 2019-11-46

염생식물 섬갯장대(*Arabis stelleri* var. *japonica*)의 중금속 및 고염 농도 스트레스 상태에서 내성 연구

Studies on the tolerance of Halophyte *Arabis stelleri* under heavy metals and Salt stress condition

김동균*

Donggiun Kim*

요약 해양지역에서는 토양의 염 농도가 증가하고 내륙지역은 중금속 오염으로 식물의 피해가 따라서 증가한다. 내륙의 산업 발달 지역에서는 Co, Ni, Zn, 등 중금속이 축적되어 제거하거나, 내성을 갖은 식물의 유전자원 연구가 절실히 요구되고 있다. 앞의 두 가지 문제점은 공히 식물 뿌리에 스트레스를 야기하기에 가능성 있는 식물을 찾기에 과학자들이 많은 노력을 해오고 있다. 본 연구에서는 내염식물로 알려진 것으로 해안가 근처에서 채집 되어진 섬갯장대 (*Arabis stelleri* var. *japonica*)의 종자를 받아하여 사용하였다. 동일한 파이면서 모든 유전자가 밝혀졌고, 표본식물인 애기장대 종자를 실험재료로 사용하여 실험실 배양 조건 하에서 성장발육과 내성을 비교 연구하였다. 그 결과 250 μ M Nickel과 cobalt에서 3배 정도 내성을 나타내었고, 1mM 아연에서는 4배 이상의 내성을 섬갯장대에서 나타내었다. Na염에 대한 내성은 50mM 농도에서 20%이상 발육이 증가하여서 중금속과 염농도에 내성을 보였다. 세포내 기작을 연구하기 위한 준비로서 Na 이온의 체내 축적을 측정하였다. 그 결과 내성을 갖은 섬갯장대 경엽부에서 더욱 감소하는 결과를 보였다. 이는 축적하는 기작보다는 배출하는 유전자의 활성이 중요하다고 사료된다.

주요어 : 식물정화공정, 애기장대, 섬갯장대, 중금속 내성, 내염식물

Abstract In the marine area, the salt concentration in the soil increases, and the inland heavy metal pollution increases the damage of plants. In the inland industrial development area, researches on the genetic resources of plants together with the heavy metal accumulation of Co, Ni, Zn, and so on are required. Both of these problems have caused scientists to work hard to find plants that are likely to cause stress in plant roots. In this study, seeds of *Arabis stelleri* var. *japonica* collected near the shore were used for germination. The growth and development and tolerance of both *Arabis* and *Arabidopsis* seeds were investigated under laboratory culture conditions. As a result, *Arabis* showed resistance about 3 times in 250 mM nickel and cobalt, and more than 4 times in 1 mM zinc when compared to *Arabidopsis*. The tolerance of *Arabis* to Na salts increased by 20% or more at 50 mM concentration and *Arabis* was resistant to heavy metals and salt concentration. The accumulation of Na ions in the body was measured as a preparation for studying the intracellular mechanism. As a result, it showed a further decrease in resistance to ground water roots. It is considered that the activity of the exporting gene is important rather than the mechanism of accumulation.

Key words : phytoremediation, *Arabidopsis*, *Arabis*, heavy metal tolerance, Halophyte

*정회원, 신라대학교 생명과학과 교수
접수일: 2019년 9월 6일, 수정완료일자: 2019년 9월 30일
게재확정일자: 2019년 10월 4일

Received: September 6, 2019 / Revised: September 30, 2019

Accepted: October 4, 2019

*Corresponding Author: botanist@silla.ac.kr
Dept. of Life Science, Silla Univ, Korea

I. 서 론

나고야 의정서의 발효가 우리나라에게도 영향을 주게 되어서 우리생물자원의 다양한 발굴과 보존이 중요한 이슈로 떠오르고 있다. 이를 위해서 생물자원을 발굴하고 발굴된 것을 미래에 중요한 국가자원으로 여러 방면에 활용 할 수 있도록 특성을 파악하고 정보를 기록하는 것이 중요하다. 우리 산천에 많은 식물 자원도 이를 위해서 여러 방면에 활용하기 위해서 노력하고 있다. 특히 현대사회에서 산업화와 도시화로 인한 오염된 환경을 정화하기위해서 식물을 이용하여 오염물질들을 토양에서 제거하는 방법이며, 오염된 환경을 복구하기 위한 방법으로 식물정화공정은 오래 동안 활용되어 왔다[1,2]. 하지만 전 세계적으로 오염 물질을 제거하기 위해서 선별된 식물은 많지 않아 많은 연구자들이 탐구하고 있으며 발견된 식물에서는 유전자원을 활용하기 위해서 많은 투자를 하고 있다.

토양오염에 따른 문제는 농업 생산성과 생산물의오염에 영향을 주고 결국에 생명체의 건강에 직접적인 영향을 주기 때문에 중요한 문제이다. 오염토양을 복원하는 방법에는 여러 방법이 이용되고 있는 데 그 중에서 비 생물학적 방법으로 오염된 토양을 제거하는 방법은 비용과 효율성에서 오염 초기에 사용되었지만 상대적으로 국지적인 방법이었다. 다른 지역에 매립하는 방법은 지역 특이성을 고려해야하고 비용과 운반에 따른 오염발생이 따르기에 더욱 어렵다. 그리고 오염되지 않은 좋은 토양을 섞어서 오염물질 농도를 희석시키는 방법이 있다. 여러 복합적인 문제가 생길 경우에 비생물학적 방법은 유용하지 못하다. 생물학적 방법으로는 유익한 산업 미생물로 오염 물질을 분해 혹은 변환 시키는 방법 그리고 식물을 사용하여 오염원을 흡수하거나 분해하는 방법을 이용해왔다 [3].

또한 염분과 알칼리성 토양이 전 세계 경작지의 약 26 %이다. 토양에 증가하는 염을 제거하는 식물은 찾기 어렵고 고농도 염분에 내성을 갖은 식물을 찾아 유전자원을 활용하려는 경향이다. 이 또한 이용 목적에 따라 필요한 식물은 제한적이며, 또 가능성 있는 식물 중에서도 중간에 차이가 있으며 지역적 특이성도 존재한다. 결국, 가능성 있는 식물은 부족하고, 활용하고 있는 식물도 가끔적 유용한 자원을 확보하고 유전적 자원으로 활용하기 위해 여러 나라들이 경쟁적으로

연구 중이다. [4].

중금속을 제거하기 위해서는 여러 중금속을 축적하거나 단일 중금속을 축적하는 식물을 심어야 하는데 십자화과 냉이 종류가 잘 알려져 왔다.

우리 연구진은 대한민국에서 산업화가 잘된 지역, 특히 공업지역으로 오염 가능성 지역이면서 해안 지역에 자생하는 염생 식물종을 채집하고 유전자원을 확보 하려는 노력을 해왔다[5]. 본 연구에 실험재료로 여수광양지역의 해안지역에서 서식하는 종을 채집하여 기내배양상태를 확인하였다. 사용된 식물은 일년생 초본이면서 십자화과내에서 염생식물로 알려진 섬갯장대를 사용하여 중금속 내성과 환경 정화용 식물로 활용 가능한지를 확인하고, 고염내성을 생리학적 기질을 파악하고 적용하려는 실험이 선행 된 후에 오염지역에 활용가능성을 조사할 목적으로 실시한다.

II. 본 론

1. 재료 및 방법

1) 식물 재료 및 생장 방법

애기장대는 *Arabidopsis thaliana* Col-0 (CS6000)를 *Arabidopsis* Stock Center ABRC에서 주문하여 사용하였다. 섬갯장대는 전남여수해안가에서 채집후 실험실에서 키워 종자를 수확 후 실험재료로 사용하였다 (Fig1.). 애기장대 와 섬갯장대 종자를 멸균수로 세척하고 70% 에탄올로 1차 표면소독 후, 1% sodium hypochlorite 용액으로 20분간 담가 2차 표면소독을 하였다. 그리고 멸균수로 5회 반복하여 세척을 하였다. 소독한 종자는 MS (Murashige and Skoog) 기본배지위에 형광 빛에서 16시간 암 8시간의 광주기, 25C의 조건으로 발아시키고 1주일 자란 식물체를 plate assay 재료로 사용하였다[6].

2) 중금속 처리

식물체 처리실험은 미량원소가 첨가 된 배지에 동일한 분량을 첨가하여 동일한 환경 조건에서 2 주간 배양하여 변화 정도를 조사하였다. 이와 같은 실험을 위해 10개체 이상을 사용하였으며 3회 반복 실시하였다.

3) Na 농도처리

MS (Murashige and Skoog) 기본배지를 250 ml 용기의 삼각 플라스크에 200 ml 씩 분주하고 NaCl을 농도별로 넣어 주고 분주한 petri dish위에 발아된 종자를 옮겨 심고 측정하였다. 이와 같은 방법을 총 5회 반복하여 실험 하였다.

4) 생중량 및 식물체내 NaCl 측정

NaCl 각 농도별 petri dish에 3개 씩 접종한 무균 발아 된 애기장대와 섬갯장대를 접종 1주 후 각각의 뿌리를 제거한다. 그리고 줄기와 잎 부분에 남아 있는 수분을 제거 한 후 저울로 각각 3개씩 따로 생중량(fresh weight)를 측정하였다. 그 후 냉동보관을 하였다. 냉동 보관 된 식물체는 식물체내의 NaCl 농도 정량분석을 위해 신라대학교 내 위치한 마린바이오 센터에서 ICP(Inductively Coupled Plasma) 정량 분석기를 사용하여 측정하였다.

2. 결과 및 고찰

1) 섬갯장대의 기내 배양

야생상태의 종자를 채집하여 식물배양실 조건에서 성장시켜 생육단계를 비교하는 과정은 신중하고 의미 있는 일이다. 야생형이 배양조건에 맞지 않아 간혹 채집한 씨앗이 포장에 파종 했을 때 발아율, 생존율, 성장률이 잘 맞지 않아 비교형 실험과 정밀한 실험에 사용되지 못하는 경우가 있기 때문이다. 우리가 채집한 섬갯장대는 발아율과 생존율 및 성장률이 뛰어나고 비교식물인 애기장대와 모든 면에서 일치하여서 실험실내에서 생리적 실험에 부족함이 없었다(Fig.1).

2) Ni 배지에서 배양

중금속 내성을 확인하기 위하여 발아 된지 1주일이 지난 식물체를 건강한 표본으로 비교대상인 애기장대와 크기는 다르지만 개체군끼리 유사한 식물체를 3개씩 선택된 배지위에서 배양하였다. 2주 후에 식물체들의 상태를 확인하고 무게를 측정하였다. 중금속의 저 농도에서 고농도로 변화를 주는 상태에서 비교하였다(data 생략). 니켈배지에서 성장한 애기장대는 200 uM에서 비교대상 애기장대와 성장이 달랐으며 250uM에서는 외부구조가 더 이상 성장실험이 불가능할 정도 차이가 났다(Fig 2A). 2주후 성장률은 애기장대(50%)가 섬갯장대(45%) 보다 5%정도 크지만 실제 생육 상태와 성장에

는 비교 할 수 없을 정도 차이가 났다(Fig.2B). 애기장대는 성장을 정지하고 사멸상태로 가고 섬갯장대는 계속성장하고 500uM에서도 성장하였다. 이런 결과는 섬갯장대는 니켈이온에 내성을 갖고 생육환경에 적응하고 있다고 사료된다.



그림 1. 야생형의 섬갯장대(A)와 파종 후 MS media 배양병 내의 섬갯장대(B) 식물들

Figure 1. Wild-type of *Arabis stelleri* var. *japonica* on soil (A) and on MS medium after sowing (B)

3) Co 배지에서 배양

미량 원소 중에 하나이지만 동전의 양면처럼 적은 경우에는 필수영양소이지만 식물체내에 많은 경우 독극물로 변할 수 있는 코발트의 중금속 내성을 확인하기 위하여 발아 된지 1주일 지난 식물체를 건강한 표본을 비교 대상인 애기장대와 위 실험과 동일하게 저농도에서 고농도까지 배양하였다. 2주 후에 식물체들의 상태를 확인하고 무게를 측정하였다. 코발트 함유한 배지에서 기내배양 된 섬갯장대는 200 uM 비교대상 애기장대와 성장이 달랐으며 250uM에서는 외부구조가 더 이상 성장실험이 불가능할 정도 차이가 났다(Fig. 3A). 2주 후 성장률은 섬갯장대(80%)가 애기장대(30%) 보다 3배 이상 차이가 날 뿐만 아니라 실제 생육 상태와 성장에는 비교 할 수 없을 정도 차이가 났다(Fig. 3B). 애기장대는 성장을 정지하고 사멸상태로 가고 섬갯장대는 계속성장하고 500uM에서도 잘 성장하였다.

4) Zn 배지에서 배양

아연은 미량 원소 중에 하나이며 다소 많은 양이 함유된 토양에도 식물은 보통 잘 견디지만 많은 노출에 될 경우 다른 중금속처럼 식물체내에 많이 유입 되어 독극물로 변할 수 있다. 아연의 중금속 내성을 확인하기 위하여 발아 된지 1주일 지난 식물체를 건강한 표본을 비교 대상인 애기장대와 위 실험과 동일하게 저농도

에서 고농도까지 배양하였다. 2주후에 식물체들의 상태를 확인하고 무게를 측정하였다. 아연 함유한 배지에서 기내배양 된 섬갯장대는 1 mM 비교대상 애기장대와 성장이 달랐으며 외부구조가 더 이상 성장실험이 불가능할 정도 차이가 났다(Fig. 4A). 2주후 성장률은 섬갯장대와 애기장대가 변화가 없었다. 실제 생육 상태와 성장에는 비교 할 수 없을 정도 차이가 났다(Fig. 4B). 애기장대는 사멸상태로 가고 섬갯장대는 계속 건강한 상태이지만 성장은 정지하였다.

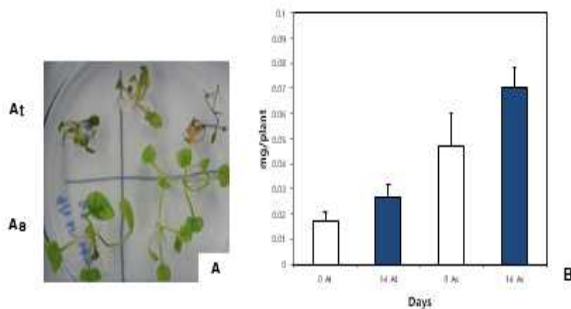


그림 2. 250 uM Ni 함유 media에서 2주 동안 성장한 애기장대 (At)와 섬갯장대 (As)의 plate assay
Figure 2. (A) Plate assay of *Arabidopsis thaliana* (At) and *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 250 uM Ni containing media for 2 weeks, (B)Comparing the first and after two weeks weight of the *Arabidopsis thaliana* (At) and the *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 250 uM Ni-containing media

5) Na 배지에서 배양

Na이온은 대량 원소 중에 하나이며 다소 많은 양이 함유된 토양에도 식물은 보통 잘 견디지만 많은 농도에 노출에 될 경우 다른 원소처럼 식물체내에 많이 유입 되어 성장과 생육에 치명적 영향을 줄 수 있다. Na이온의 내성을 확인하기 위하여 발아 된지 1주일 지난 식물체를 건강한 표본을 비교 대상인 애기장대와 위 실험과 동일하게 배양하였다. 4주 후에 식물체들의 상태를 확인하고 무게를 측정하였다. Na 함유한 배지에서 기내배양 된 애기장대와 섬갯장대는 생육상태는 50mM 까지 4주 동안 생육은 별문제가 되지 않았다.(Fig. 5A). 하지만 4주 후 성장률은 섬갯장대와 애기장대가 변화가 상당히 다르게 나타났다. 애기장대는 시작할 때 식물군에서 염을 첨가하지 않은 후 4주 배양했을 경우 400%, 20mM 염 첨가 배지에서는 600% 성장했지만 50mM염 첨가배지

에서는 단지 17%만 성장률을 보였다 이는 표준편자를 통해볼 때 전혀 성장하지 않은 것을 알 수 있다(Fig. 5B). 20mM 염 첨가는 성장에 필요한 적정농도라고 사료 되고 50mM 이상일 경우에는 실제 사멸 되어가서 더 이상 생육실험을 할 필요가 없었다. 반면에 섬갯장대는 시작할 때 식물군에서 염을 첨가하지 않은 후 4주 배양했을 경우 300%, 20mM 염 첨가 배지에서는 350% , 50mM염 첨가배지에서는 404%로 점진적 성장률을 계속 보였다(Fig. 5C).

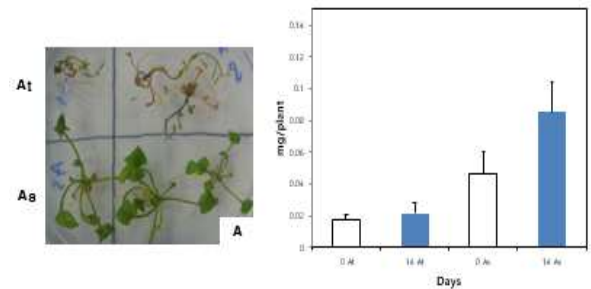


그림 3. 250 uM Co 함유 media에서 2주 동안 성장한 애기장대 (At)와 섬갯장대 (As)의 plate assay
Figure 3. (A) Plate assay of *Arabidopsis thaliana* (At) and *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 250 uM Co containing media for 2 weeks, (B)Comparing the first and after two weeks weight of the *Arabidopsis thaliana* (At) and the *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 250 uM Co containing media

NaCl 100 mM에서 애기장대는 30일째 줄기생장과 뿌리생장을 보였고 섬갯장대는 줄기생장과 뿌리생장을 보였다. NaCl 100mM에서 애기장대는 생장이 거의 일어나지 않았고 섬갯장대는 30일째 NaCl 50 mM과 큰 차이가 없는 뿌리생장을 보였다(data 무의미 생략). 섬갯장대도 NaCl 농도가 증가할수록 생장이 증가율은 조금 작은 폭으로 증가하지만 점진적으로 증가 하였다. NaCl 50 mM에서부터는 애기장대 보다 더 높은 성장률을 보여 섬갯장대가 염내성이 더 강하다는 것을 알 수 있었다. 애기장대와 섬갯장대에서 4 이온의 저항성 실험을 실시하였다. MS media에 Co(코발트), Zn(아연), Ni(니켈)을 여러 농도에서 plate assay를 수행하였다 (Figs 2-4, 3). 섬갯장대 식물체는 3종류의 중금속에 저항성을 나타내었으며, 식물 성장에서 애기장대와 비교도 안 될 정도로 더 잘 자랐다. 이 결과들은 중금속의 스트레스로 잘 자라지 못하는 Col-0 애기장대 식물에 비해서 저항성을 보임을 입증한다. 실제 자연상태에서

중금속 내성을 보이면서 중금속 과축적종인 냉이종류에서 보인결과와 유사하다. 그리고 애기장대에 금속 전달유전자(MTP_1)를 과발현 시킨 형질전환체를 만든 후 동일한 실험을 본 연구자가 실시했을 경우와 섬갯장대의 결과와 아주 유사한 결과가 도출되었다 [7, 8].

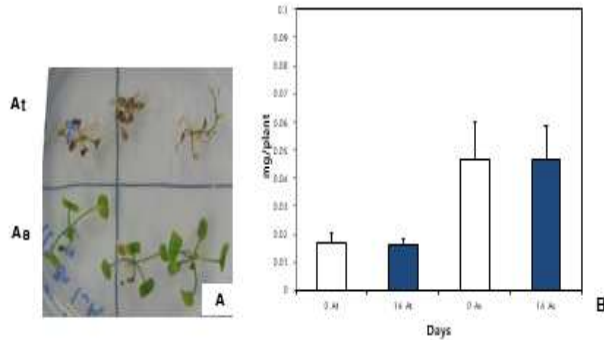


그림 4. 1 mM Zn 함유 media에서 2주 동안 성장한 애기장대 (At) 와 섬갯장대 (As)의 plate assay
 Figure 4.(A) Plate assay of *Arabidopsis thaliana* (At) and *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 1 mM Zn containing media for 2 weeks, (B) Comparing the first and after two weeks weight of the *Arabidopsis thaliana* (At) and the *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 1 mM Zn-containing media

이 결과는 MTP_1 유전자는 애기장대나 섬갯장대에 둘 다 엑포에 위치하여 중금속을 축적하는 결과라고 볼 수 있다 [9]. MTP family 유전자의 특성에 관한연구와 연결시켜 섬갯장대 유전자연구를 확대해 응용한다면 식물 정화공정을 효율화 시켜 토양오염을 방지할 가능성이 있는 유전자원이 될 수 있을 것으로 사료된다.

6) 세포내 Na 축적량 측정

여러 농도의 NaCl 이 첨가된 배지에서 성장한 섬갯장대 식물체 내의 NaCl 농도를 ICP로 측정한 결과 애기장대는 배지의 NaCl 농도가 높을수록 식물체 내의 NaCl 농도도 급격하게 증가 하였다. 반면 섬갯장대는 배지의 NaCl 농도가 높을수록 약간 증가 하였으나 NaCl 농도 별 차이는 거의 나타나지 않았다(Fig. 6). 따라서 본 실험 결과 NaCl이 첨가된 배지에서 성장한 애기장대는 식물체 내에 NaCl을 축적하고, 섬갯장대는 식물체 내에서 NaCl을 배출하는 것으로 판단된다[10, 11]. 애기장대 연구에서 고염환경에 내성을 갖은 좋은 특별한유전자 SOS 1(Salt Overly Sensitive1)이 발현이 잘된다고 보고되었으며 이 유전자의 단백질은 Na efflux로 체외로

배출에 담당하는 기능이 있음이 주장되었다[12]. 그리고 SOS 1 과 연관관계가 있는 유전자 기능이 연구되고 있다. 섬갯장대는 유전자에 대한연구가 전무인 상태이기 때문에 그리고 연구 가능성 있는 내염식물이어서 추후 이와 관련한 분자생물학적인 후속실험인 섬갯장대의 SOS 1 유전자 발현 실험과 섬갯장대 조직 내 SOS 1 단백질 탐색 등을 더 연구할 필요가 있을 것으로 생각 된다. 또 중금속내성과 내염 특이성을 고루 갖춘 토속 유전자원으로 가능성이 있다고 사료된다.

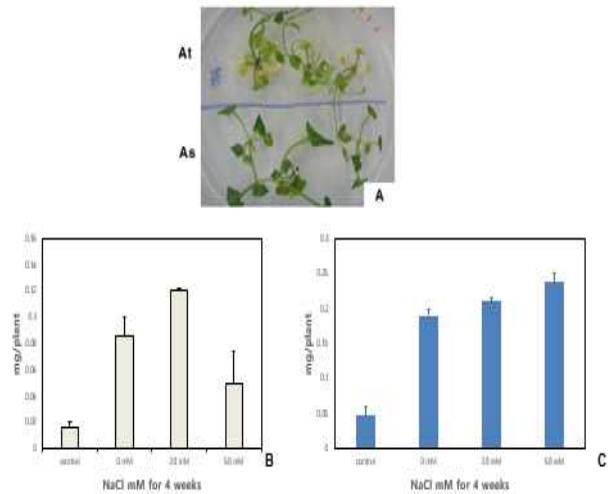


그림 5. 0-50 mM NaCl 함유 media에서 4주 동안 성장한 애기장대 (At) 개체 당 체중을 처음과 4주 후를 비교
 Figure 5. (A) Plate assay of *Arabidopsis thaliana* (At) and *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) grown on 50 mM Na containing media for 2 weeks, (B) Weights of the *Arabidopsis thaliana* (At) individuals grown for 4 weeks on media containing 0 to 50 mM NaCl were compared between the first and fourth weeks, (C) Weighed *Arabis stelleri* var. *japonica* (As) individuals grown for 4 weeks in 0-50 mM NaCl-containing media for the first 4 weeks.

III. 결론

점진적 환경변화와 산업의 급속한 발전으로 토질 변화는 해양지역과 내륙 지역차이가 없을 정도 위험 정도가 나날이 심각해지고 있다. 농경지 나트륨 이온의 수치가 높아지고 있는 추세이며 향후 식량 수급에 중요한 요인으로 야기할 가능성이 매우 높은 실정이기 때문에 염에 대한 내성이 강한 식물을 연구해야 한다. 내륙의 산업발달지역에서는 중금속이 축적되어 제거하거나, 내성을 갖은 식물의 유전자원 연구가 절실히 요구되고

있다.나고야의정서 발효 국가로서 적극적으로 우리 식물 자원 발굴에 노력의 일환으로 내염 식물로 알려진 것으로 해안가 근처에서 채집 되어진 섬갯장대 종자를 받아하여 사용하였다. 표본식물인 애기장대 종자를 실험재료로 사용하여 실험실 배양 조건하에서 성장 발육과 내성을 비교 연구하였다. 그 결과 250 uM Ni과 Co에서 3배 정도 내성을 나타내었고,1mM 아연에서는 4배 이상의 내성을 섬갯장대에서 나타내었다. Na염에 대한 내성은 50mM 농도에서 20%이상 발육이 증가 하여서 중금속과 염농도에 내성을 보였다. 세포내 기작을 연구하기 위한 준비로서 Na 이온의 체내축적을 측정하였다. 그 결과 내성을 갖은 섬갯장대 경엽부에서 더욱 감소하는 결과를 보였다. 이는 축적하는 기작보다는 배출하는 유전자의 활성이 중요하다고 사료된다.

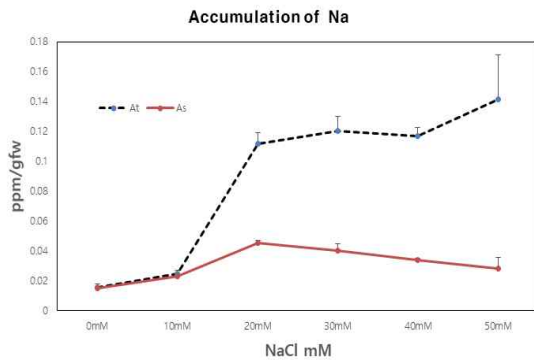


그림 6. 0 -50 mM NaCl 함유 배지에서 1주 동안 성장한 애기장대와 섬갯장대 개체당 경엽부의 Na 농도를 비교
Figure 6. Comparing the Na concentration within the shoot of *Arabidopsis thaliana* (---At) and of *Arabis stelleri* var. *japonica* (—As) grown in media containing 0 - 50 mM NaCl for 1 week.

References

[1]. Etim, E.E. Phytoremediation and Its Mechanisms: Int. J. Env. Bio. 2(3):120-136, 2012.
 [2]. Zhu, J. K. Plant salt tolerance. TRENDS in Plant Science Vol.6 No.2, 2001.
 [3]. Baker, A.J. Accumulators and excluders—strategies in the response of plants to heavy metals. J. Plant Nutr. 3:643- 654, 1981.
 [4]. Kim, D., Gustin, J. L., Lahner, B., Persns, M. W., Baek, D., Yun, D. J. and D. E. Salt. The plant CDF family member TgMTP1 from the Ni/Zn hyperaccumulator *Thlaspi goeingense*

acts to enhance efflux of Zn at the plasma membrane when expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Plant J. 39, 237-251. 2004.
 [5]. Jung Y, Park J, Choi Y, Yang JG, Kim D, Kim BG, Roh K, Lee DH, Auh CK, Lee S Expression analysis of proline metabolism-related genes from halophyte *Arabis stelleri* under osmotic stress conditions. J. Integr. Plant Biol. 52(10), 891 - 903. 2010
 [6]. Weigel, D., Glazebrook, J. *Arabidopsis* A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2002.
 [7]. Kim, D. Studies on nickel uptake in transgenic *Arabidopsis thaliana* introduced with TgMTP1 gene encoding metal tolerance protein. J. Plant Biotechnol 42:409 - 413, 2015.
 [8]. Kim, D, Overexpression of the Metal Transport Protein1 gene (MTP1) in *Arabidopsis* Increased tolerance by expression site, The Journal of the Convergence on Culture Technology, Vol.5(3), pp.327-332, 2019
 [9]. Kobae, Y., Uemura, T., Sato, M.H., Ohnishi, M., Mimura, T., Nakagawa, T., Maeshima, T.M. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. Plant Cell Phys. 45:1749-1758, 2004.
 [10]. Wang, Z.I. ,Li, P.H., Fredricksen,M., Gong,Z. Kim,C.S., Bohnert,H.J., Zhu, J.K., Bressan,R. A., Hasegawa,P.M. and H. Zhang. Expressed sequence tags from *Thellungiella halophila*, a new model to study plant salt-tolerance. Plant Science 23:609-616, 2004.
 [11]. Volkov, V., B. Wang, P.J. Dominy, W. Fricke and A. Amtmann. *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, possesses effective mechanisms to discriminate between potassium and sodium. Plant, Cell and environment 27:1-14, 2003.
 [12]. Britto DT, Kronzucker HJ. Sodium efflux in plant roots: what do we really know? J Plant Physiol. 15:186-187:1-12. Aug 2015.