

암조건에서 오이자엽의 녹화를 유기시키는 KC-6361 화합물의 작용기구

김진석 · 김태준 · 조광연*

Mechanism of the Cucumber Cotyledon Greening Induced by KC6361 in Darkness

Kim, J.S., T.J. Kim and K.Y. Cho*

ABSTRACT

This study was conducted to investigate how KC6361, a new type diphenylether compound inducing bleaching, increase the greening of cucumber cotyledon in darkness.

Protoporphyrin IX formation, reaccumulation rate of protochlorophyllide(Pchlde) in darkness after phototransformation and Shibata shift were not affected. Whereas, aminolevulinic acid (ALA), protochlorophyll and chlorophyll were increased, and especially protochlorophyll was significantly accumulated. When KC6361 and phytol were applied alone or in combination with ALA, the transformation from Pchlde into protochlorophyll was accelerated in darkness. These results suggest that the greening of the etiolated cucumber cotyledon treated with KC6361 seems to be caused by the accumulation of phytol or/and Geranylgeranylpyrophosphate and their increased esterification with Pchlde in darkness.

Key words : KC6361, greening in darkness, chlorophyll biosynthesis, action mechanism, cucumber cotyledon.

서 언

식물의 녹화과정은 광합성, 호흡, 생식, 분화, 발육과 더불어 생물계에 있어서 5가지의 주요한 생물현상중의 하나이다²²⁾. 녹화는 색소체 발달과 동시에 엽록소 생합성과정¹⁾이 가동됨으로써 이루어지는데 대부분의 식물은 이때 필수적으로 광을 요구한다. 만일 엽록소 형성단계에 이상이 생기면 결국 엽록소가 형성이 되지 못해 광합성을 하지 못할뿐만 아니라 엽록체가 파괴되어 결국 죽음에 이르게 될 것이다. 현재 이러한 기능을 가

진 여러 화합물들이 개발 또는 탐색되어 제조제로서 이용되고 있거나 대사과정의 연구를 위한 도구로서 사용되고 있다. 이들 중 gabaculine은 glutamate로부터 5-aminolevulinic acid 형성단계의 아미노기 전이효소를 저해함으로써²⁾, 디페닐에테르계, phthalimide 등은 protoporphyrinogen oxidase를 억제함으로써^{15,17,18)}, pyrazolate는 가수분해되어 생긴 활성본체인 DTP가 protoporphyrin IX(PPIX)에서 protochlorophyllide(Pchlde) 과정중의 Mg혼입을 억제하거나 이탈시킴으로써¹⁰⁾, 각각 제조력을 발휘하는 것으로 보고되고 있으며 기타 실용적으로 사

* 한국화학연구소 (Korea Research Institute of Chemical Technology)

<1994. 4. 12 접수>

용되고 있지 않지만 엽록소생합성과정의 조절제(modulator)로서 여러 화합물들이 소개되고 있다²²⁾. 조 등¹¹⁾은 새로운 디페닐에테르계에서 보였던 증상(회백색 고사)과는 달리 식물체의 백화를 유기시킬 뿐만아니라 암조건에서 오이의 녹화를 오히려 촉진시키는 화합물들이 발견되었다. 일반적으로 고등식물은 명조건에서만 녹화가 일어나는 것으로 알려지고 있지만 예외적으로 암조건에서 녹화가 유기되는 경우는 1)나자식물 또는 녹조류에서 보는 바와 같이⁶⁾ NADPH-dependent Pchlide oxidoreductase가 피자식물과는 달라 광이 없어도 녹화가 진행되는 경우, 2) 피식물일지라도 강광조건에서 자란 성식물의 경우⁹⁾, 3)담배세포배양시 환천농도가 낮을 경우⁸⁾, 4)화합물 처리의 경우 등에서 관찰된다. 각각의 경우에 따라 녹화 유기 기작이 다르겠지만 화합물 처리의 경우를 예를 들면, 엽록소 생합성의 전구물질인 5-aminolevulinic acid(ALA)를 외부로부터 공급하면 Pchlide가 축적되어 암조건에서의 녹화가 어느 정도 유기되는 것으로 보고되고 있다²²⁾.

KC6361도 전술한 바와 같이 암조건에서 오이의 녹화를 촉진시키는 능력이 있음을 예비실험을 통해 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 암조건에서의 녹화가 유기되는 원인을 파악하고 이들이 제초활성기작과 어떠한 관계를 가지는가를 알기 위해서 엽록소 생합성과정에 미치는 제반영향에 대한 실험을 중요 단계별로 조사하였다.

재료 및 방법

공시화합물인 KC6361(3-(N,N-diethyl carbamoyl)-phenyl-4'-nitrophenylether)는 본 연구실에서 합성하였으며 대조약제로서 oxyfluorfen(a.i.70.3%), norflurazon(a.i.80.3%), clomazone(a.i.91%), 5-aminolevulinic acid(Sigma)를 이용하였다. 기타 phytol, protoporphyrin IX-Na, levulinic acid(LA) 등은 Sigma 사로부터 구입하였다.

1. ALA분석

하우스백다다기오이를 vermiculite에 파종하여 25°C 암조건에 5일동안 생육시킨 후 그 자엽을

이용하였다. KC6361 및 ALA 1mM을 levulinic acid 0.1M과 혼합처리 또는 단독처리 하였고 ALA 분석은 Granick 방법⁷⁾을 약간 변형시켜 수행하였다. 시료 1g을 0.6M TCA 5ml로 유발을 이용하여 같고 4°C, 13000rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액을 HPLC용 여과지(0.45 μ m)로 여과하였다. 여과액 2.5ml에 1.0M sodium acetate 0.5ml로 pH를 4.6으로 맞춘 다음 pentendione 0.05ml를 넣고 끓는 수조에서 10분간 끓인 다음 30분간 상온에 두어 식혔다. 그 용액 1ml를 Ehrlich's 시약 1ml와 15분간 실온에서 흔들면서 반응시킨 후 552nm에서의 흡광도를 측정하였다(W). 한편 나머지 pentendione과 끓인 용액 1ml에 0.5M Na₂HPO₄ 0.2ml와 1M NaOH 0.7ml를 첨가하여 pH7.0으로 조절한 후 diethyl ether 5ml로 층분리하고 수용액층 1ml를 취하여 위와 같이 반응시킨 다음 흡광도(Z)를 측정하였다. 교정된 ALA의 흡광도를 계산식(ALA=1.25(Z)-0.0625(W))에 의하여 구하고 ALA의 표준곡선을 통하여 그 함량을 조사하였다.

2. PPIX 분석

암조건(25°C)에 5일간 생육된 오이 자엽을 시험용액(oxyfluorfen 100 μ M, TOPE 200 μ M, KC6361 200 μ M) 5ml에 20쌍씩 치상하였다. 그 후 25°C 암조건에 16시간 두어 약제를 침투시킨 후 2시간 광조사(33-39 μ mol m⁻²s⁻¹ PAR)하였다. PPIX 추출 및 분석은 Duggan과 Gassman 방법³⁾을 약간 변형시켜 수행하였다. 오이 자엽을 acetone+0.1M NH₄OH(9:1 v/v) 20ml에 유발을 이용하여 마쇄시킨 후 14,000rpm에 10분간 원심분리하였다. 상정액을 등량의 n-hexane으로 1회 추출한 후 acetone층에 diethyl ether 2ml, 포화 NaCl 0.5ml, 0.5M NaH₂PO₄(pH2.5) 0.45ml를 넣어 2회 추출하였다. Na₂SO₄로 수분을 제거한 후 질소가스하에서 용매를 건조시킨 다음, methanol 5ml로 녹여 형광분광 광도계(Kontron, SFM 25)로 분석하였다. 분석은 PPIX-Na를 표준물질로 하여 25°C에서 Ex 400nm, Em 633nm의 상대적 세기로 정량하였다.

3. Pchl_{ide}와 엽록소의 시간별 축적(in vivo spectrophotometry)

KC6361 1.0mM 용액에 1일동안 치상된 오이 자엽을 이용하여 전 보고에서¹¹⁾ 기술된 바와 같은 방법으로 조사하였다.

4. Chlorophyllide(Chlide)의 엽록소로의 변환(Shibata shift)

KC6361 1mM 용액과 대조약제인 clomazone 0.5mM 용액에 25°C 암조건에서 5일 동안 키운 오이 자엽을 치상하여 25°C 암조건에 3일간 두었다. 이를 약한 녹색광하에서 취하여 in vivo spectrophotometric assay를 하였다⁵⁾. 즉 광노출 전에 scanning, 2분 광조사 후 scanning, 이후 암조건에 두면서 시간별로 scanning하여 A680에서 A670으로의 전환여부를 15°C에서 조사하였다.

5. Protochlorophyll(ide) 함량

KC6361 용액에 25°C 암조건에서 5일 동안 키운 오이 자엽을 치상하여 25°C 암조건에 배양하면서 시간별로 색소함량을 조사하였다. Protochlorophyll(ide)는 DMF로 추출하여 Moran 방법¹⁹⁾에 준하여 그 함량을 계산하였다.

6. Pchl_{ide}와 Protochlorophyll(Pchl)의 분리 및 정량

KC6361 1mM 용액에 40쌍씩 치상하여 25°C 암조건에 24시간 둔 재료를 일정량(1.35g) 취하여 암실에서 acetone+0.1M NH₄OH(9:1 v/v) 20ml로 갈고 14,000rpm에 10분동안 원심분리한 후 상정액 모두를 20ml n-hexane으로 분획하였다. 하층을 다시 n-hexane으로 재추출한 후 acetone층과 n-hexane층을 각각 모으면 acetone층에는 Pchl_{ide}가, n-hexane층에는 Pchl이 함유되어 있다²³⁾. 이를 정량하기 위하여 Pchl_{ide}는 Ex 440, Em 630, Pchl은 Ex 435, Em 626의 조건에서 상대적 세기를 구하였다¹³⁾.

결과 및 고찰

KC6361은 암조건에서 오이의 녹화를 촉진시

키는데 이는 어떤 이유에서 일까? 그 원인을 파악하고 이들이 제조활성기작과 어떠한 관계를 가지는지를 알기위하여 엽록소 생합성과정에 미치는 제반영향에 대한 실험을 중요 단계별로 조사하였다.

엽록소생합성의 첫단계인 glutamate-ALA형성 과정에 미치는 영향을 알기위하여, 형성된 ALA가 그 이후의 과정으로 진행되지 못하도록 LA를 처리²¹⁾한 다음 체내에 축적되는 ALA함량을 분석하였다. 그 결과 KC6361이 처리될 경우 미약하지만 어느정도 ALA가 축적되는 경향이였다(그림 1).

ALA로부터 PPIX까지의 과정에 미치는 영향을 조사하기 위하여 PPIX을 분석한 결과, protoporphyrinogen oxidase 저해제로 알려진

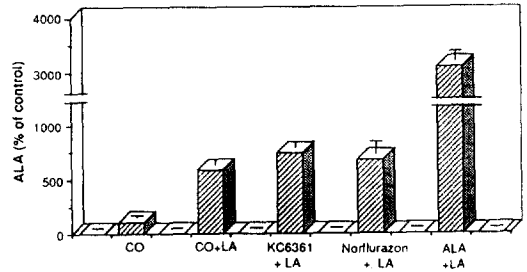


Fig. 1. Effect of KC6361 and norflurazon on the ALA accumulation in cucumber cotyledon under the dark condition at 25°C. Vertical bars are standard deviations. The concentrations of LA, KC6361, norflurazon and ALA were 100, 1, 1, and 1mM, respectively. CO: Control, LA: Levulinic acid, ALA: 5-aminolevulinic acid

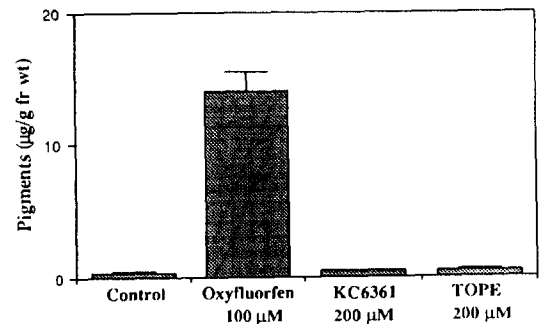


Fig. 2. Effect of KC6361 on the protoporphyrin IX contents of cucumber cotyledon. Vertical bars are standard deviations.

oxyfluorfen은^{16,27} PPIX함량을 현저히 증가시켰으나 KC6361은 영향이 없었다(그림 2).

이후의 Pchl(ide) 및 Chlorophyll(Chl) 함량을 조사하기 위하여 DMF로 색소를 추출하여 정량한 결과, ALA 1mM 처리하였을 때 암조건에서 증가된 성분은 Chl a, Chl b, Pchl(ide)가 각각 1.6, 1.9, 3.5배로서 Pchl(ide)가 가장 높았다. Norflurazon 1mM 처리에서는 Chl a, Chl b, Pchl(ide)의 증가정도가 각각 1.9, 1.5, 1.2배였으며, KC6361 1mM 처리에서는 1.7, 1.6, 1.7배 정도였다(표 1). 따라서 ALA처리에서는 Pchl(ide)증가가 가장 높았고 norflurazon 및 KC6361 처리시에도 Chl a 또는 Pchl(ide)의 증가가 높은 경향이였다. 그러나 생체중당 함량에 있어서는 Pchl(ide)함량이 엽록소함량보다 6-12배 많았으므로 화합물처리에 의해 암조건에서 축적되는 성분은 주로 Pchl(ide)인 것으로 생각된다.

한편 KC6361이 Pchl(ide)의 축적속도를 증가시키는지의 여부를 알기 위하여 광조사후 A648의 증가정도를 조사해 보았다. 초기에는 증가속도가 무처리에 비해 약간 높은 경향이던 세번째의 주기에서는 거의 같았다(그림 3).

Shibata shift에 미치는 영향을 조사한 결과는

Table 1. Effect of KC6361 and norflurazon on Pchl(ide) and chlorophyll biosynthesis under the dark condition at 25°C.

Chemicals	Conc. (mM)	Chla	Chlb	Pchl(ide)
- $\mu\text{g/g}$ fresh weight -				
Control	0	0.94	1.79	17.47
ALA	0.001	1.02	2.10	17.81
	0.01	1.32	2.27	19.68
	0.1	1.39	2.61	26.55
	1.0	1.48	3.46	61.83
Norflurazon	0.001	1.16	1.75	17.57
	0.01	1.07	1.19	17.55
	0.1	1.29	2.35	17.58
	1.0	1.80	2.74	20.13
KC6361	0.001	1.05	1.83	16.62
	0.01	1.21	1.79	19.45
	0.1	1.59	2.83	29.36
	1.0	1.48	2.73	30.29

Pigments were extracted from the treated cucumber cotyledons with DMF

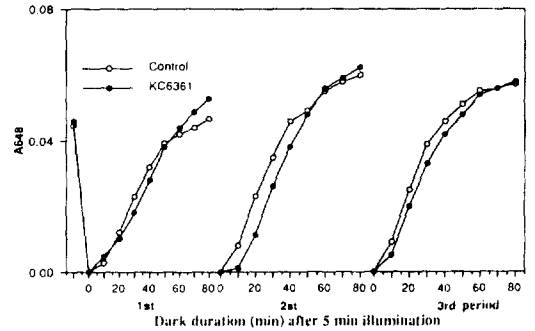


Fig. 3. Kinetics of protochlorophyllide accumulation in cucumber cotyledon by *in vivo* spectrophotometry. Protochlorophyllide accumulation was measured at 670nm after the conversion of protochlorophyllide into chlorophyllide by illumination.

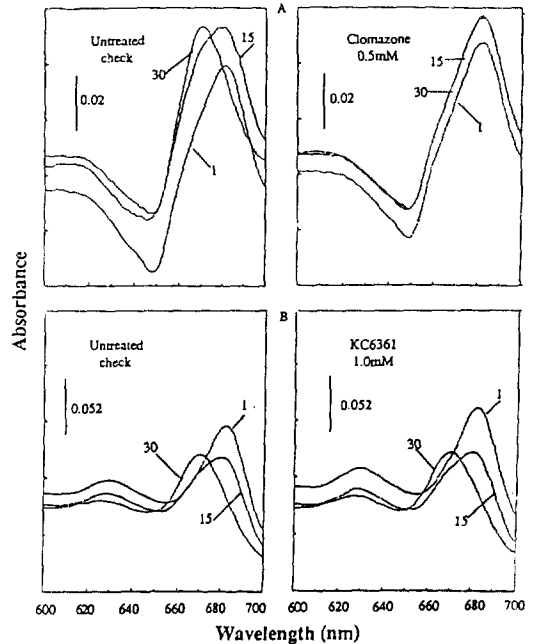


Fig. 4. Shibata shift kinetics of difference spectra measured with reference to that before light exposure in clomazone-treated (A) and KC6361-treated (B) cucumber cotyledons.

Numbers are dark durations (min.) after the phototransformation of Pchl(ide) through illuminating for one minute.

그림 4와 같다. 축적된 Pchl(ide)(A648)에 광을 조사하면 Chl(ide)(A680)로 되며 이는 시간이 지남에 따라 엽록소(A670)로 변환된다. 이를 Shibata shift라 하는데, Geranylgeranylpyro-

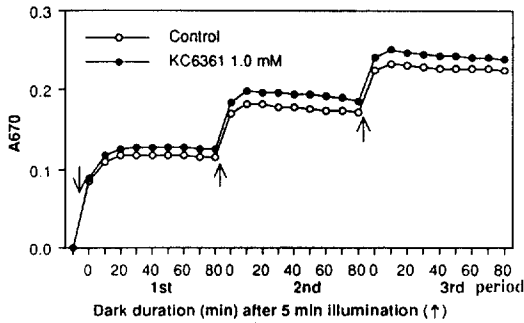


Fig. 5. Kinetics of chlorophyll (ide) accumulation in cucumber cotyledon by *in vivo* spectrophotometry. Chlorophyll accumulation was measured at 670nm after the conversion of protochlorophyllide into chlorophyllide by illumination.

phosphate(GGPP)나 phytol 생합성을 억제시켜 Chlide가 에스테르화 되는 것을 저해한다고 알려진 clomazone의 경우는 보고⁴⁾된 것처럼 Shibata shift가 일어나지 않았다. 그러나 KC6361의 경우는 이 과정을 억제하거나 또는 전환량을 증가시키는 등의 영향은 관찰되지 않았다.

한편 광을 짧게 조사한 후 암조건에서의 엽록소 축적정도를 비교하였는데, 무처리에 비해서 KC6361처리에서 약간 높은 경향을 보여(그림 5) KC6361은 엽록소형성의 초기단계보다는 후기단계에 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

이상의 엽록소 생합성과정에 미치는 영향을 조사한 제반 실험결과를 종합하여 볼 때 KC6361은 초기단계의 ALA와 후기단계의 Pchl(ide) 및 엽록소의 축적을 약간 증가시켰을 뿐 기타 중간과정에는 거의 영향이 없었다.

엽록소 생합성과정은 단일과정이 아니라 여러 과정이 복잡하게 얽혀져 있는 것으로 보고되고 있다²²⁾. 특히 후기단계에서는 엽록소 생합성과정이 크게 두 경로(Pchl_{ide}-Chl_{ide}-Chl a 또는 Pchl_{ide}-Pchl-Chl a)로 나뉘어 있다고 한다¹⁴⁾. 지금까지의 실험은 생합성의 보편적인 과정으로써 광을 조사했을 때의 변환과정(Pchl_{ide}-Chl_{ide}-Chl a)에 근거를 두고 조사한 결과들이다. 그러나 암조건에서의 녹화는 이와는 다른 과정을 거치게 될지도 모르므로 Pchl_{ide}-Pchl-Chl a로의 변환도 조사되어야 할 것이다. 왜냐하면 암조건에서 증가된 주요성분은 Pchl(ide)였기 때

Table 2. Effect of KC6361 on the Pchl_{ide} and Pchl biosynthesis of cucumber cotyledon under the dark condition at 25°C.

Chemicals	Conc.	Pchl _{ide} *	Pchl.*
- Relative fluorescence intensity -			
Control		41.2(100.0)	8.0(100.0)
KC6361	1.0mM	56.2(136.4)	16.1(201.3)
ALA	1.0mM	100.3(243.4)	12.1(151.3)

* Pchl_{ide} : Ex 440 nm, Em 630 nm,

Pchl. : Ex 435 nm, Em 626 nm

문이다. 이를 위해서는 Pchl_{ide}와 Pchl의 분리 및 그 축적여부가 먼저 조사되어야 하는 바, Rebeiz 등²³⁾ 방법에 준하여 Pchl_{ide}와 Pchl을 분리하고 형광분광분석으로 그 축적정도를 비교하였다. 그 결과 ALA처리에서는 보고된 바와 같이^{13,22)} Pchl보다 Pchl_{ide}의 축적이 많았지만 KC6361은 오히려 Pchl의 축적이 많았다(표 2). 이는 암조건에서의 녹화 유기과정이 ALA와 다름을 시사해주는 것으로서, ALA의 경우는 생합성과정의 중간물질 함량을 증가시키지는 않았으므로 다음 두가지의 원인을 즉 1)Pchl_{ide}가 phytylation되어 Pchl로 변환되는데 관여하는 효소의 활성을 증가시켰던지, 2)phytol을 축적시켜 phytylation을 증가시켰던지 하는 원인을 가정할 수 있을 것이다.

전 보고에서 KC6361에 의해 phytofluene- β -carotene의 과정이 억제되며, 유묘의 생장이 증가되었던 결과에 근거를 둔다면 phytoene 및 phytofluene 축적 뿐만 아니라 GGPP 또는 phytol의 축적도 가정할 수 있다. 실제 phytoene dehydrogenase 저해제인 norflurazon은 GGPP를 축적시키는 것으로 보고되고 있다^{24,25,26)}. 만일 그렇다면 phytol을 외부에서 공급할 때에도 Pchl의 축적이 더욱 증대되어야 하며 이러한 현상은 ALA, KC6361, 기타 화합물과의 혼합처리에서도 관찰되어야 할 것이다. 따라서 위의 가정들 중에서 두번째의 것이 더욱 관련이 있을 것으로 생각되어 phytol과의 혼합처리 후 Pchl_{ide} 및 Pchl의 함량변화를 추적하여 보았다.

KC6361과 phytol을 혼합처리한 결과는 그림 6과 같다. Phytol 단독처리에 의해서도 KC6361처리에서와 같이 Pchl이 무처리보다 2배정도 축적되었고, KC6361과 phytol과의 혼합처리할 경

우는 Pchl_{ide}에는 영향이 없었으나 Pchl의 함량은 각각을 단독으로 처리하였을 때보다 더욱 증가되었다. 이는 KC6361이 phytol을 외부에서 공급할 때와 같은 효과를 보여 주는 것으로서, 만일 KC6361이 phytol을 축적시켜 Pchl을 증가시켰다면 ALA와 KC6361을 혼합처리할 경우에도 ALA+phytol 처리와 똑같은 경향이 보여져야 될 것이다. 그림 7은 ALA와 phytol, ALA와 KC6361의 혼합처리 결과로서 ALA를 단독 처리할 경우 Pchl_{ide}의 축적이 Pchl 축적보다 많았으나 여기에 phytol을 같이 처리할 경우는 오히려 Pchl 축적이 현저하였다. 이는 축적된 Pchl_{ide}가 외부에서 공급된 phytol과 결합되어 Pchl로 전환되었음을 의미한다고 볼 수 있다. 한편 ALA+KC6361 처리시에도 ALA+phytol 처리와 동일하게 Pchl이 증가되었다. 결국 KC6361은 위의 가정대로 phytol을 축적시킴으로써 암조건에서의 녹화를 유기시키는 것으로 생

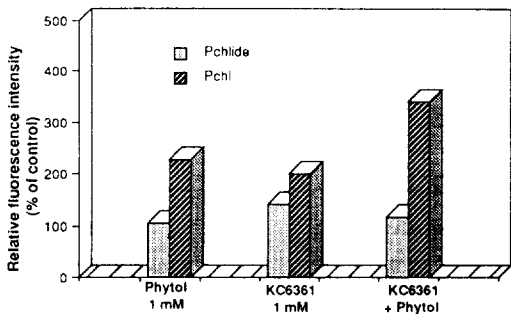


Fig. 6. Effect of mixture treatment of phytol and KC6361 on the conversion of protochlorophyllide into protochlorophyll.

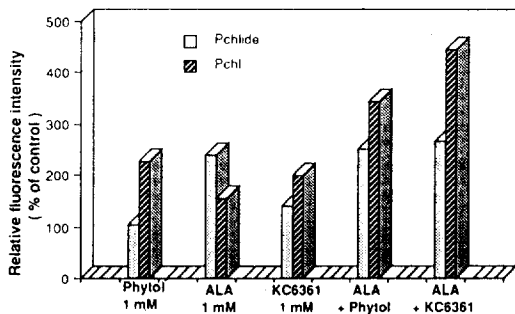


Fig. 7. Effect of mixture treatments of phytol, ALA and KC6361 on the conversion of protochlorophyllide into protochlorophyll.

각된다. 따라서 이는 색소대사의 새로운 조절제(modulator)일 가능성이 크며 엽록소와 carotenoid 생합성과정의 상호관계를 연구하는데 훌륭한 재료가 될 수 있을 것으로 보인다.

한편 이들의 결과로 보아 KC6361처리에 의하여 ALA가 증가되었던 결과(그림 1)는 다음과 같이 해석될 수 있을 것 같다. 즉 암조건에서 형성된 Pchl_{ide}는 KC6361처리로 인해 Pchl로 전환되고 상대적으로 낮아진 Pchl_{ide} 수준은 feedback regulation에 의해²⁰⁾ ALA synthetase를 활성화시키며 이로 인해 ALA가 증가된 것으로 보여진다. 그런데 위의 과정이 신속히 진행되었다면 많은 양의 Pchl(ide)가 축적되어야 할 것이나, ALA처리에서보다도 Pchl(ide) 축적량이 낮았고 Pchl_{ide}의 축적속도를 실험한 in vivo spectrophotometric assay에서도 처리간 차이가 크지 않았던 것으로 보아 이 과정의 진행속도가 매우 완만한 것으로 여겨진다.

이상의 실험결과들을 종합하여 볼 때 KC6361이 암조건에서 녹화를 유기시키는 기작은 다음과 같다고 생각된다(그림 8). 즉 KC6361에 의해 phytoene or/and phytofluenedehydrogenase가 억제되면 phytoene 및 phytofluene은 물론 GGPP 또는 phytol도 일부 축적되고 축적된 phytol은 암조건에서 Pchl_{ide}와 에스테르화되어 Pchl의 축적을 야기시킨다. 반면에 순간적으로

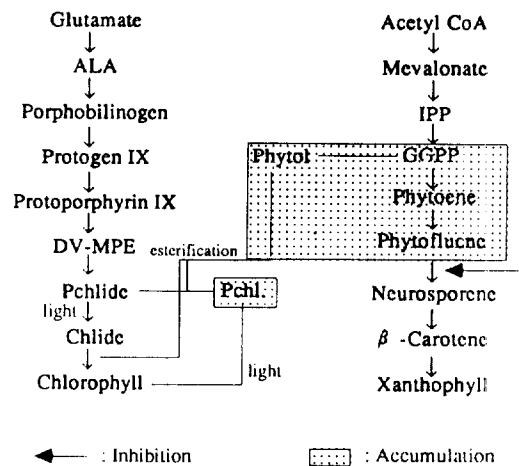


Fig. 8. Possible mechanism of the greening stimulation of cucumber cotyledons induced by KC6361 in darkness.

낮아진 Pchlide는 feedback regulation을 통해서 ALA의 생성을 자극하는데 이러한 과정은 완전하지만 연속적으로 계속 진행되어 결국 암조건에서 녹화가 유지되었던 것으로 해석된다. 보다 세부적인 것은 더욱 연구가 필요하다. 아울러 이와 같이 carotenoid 생합성을 억제하면서 암조건에서의 녹화를 유지시키는 화합물은 제조작용에 있어서 조건에 따라 그 활성을 증폭시킬 가능성이 있는 것으로 추정된다¹²⁾. 왜냐하면 낮은 광도하에서는 광산화가 거의 일어나지 않기 때문에 오히려 녹화가 증가되는 것으로 나타날지 모르나, 높은 광도하에서는 carotene함량의 감소로 인하여 활성산소 소거능력이 저하되고 더불어 축적된 protochlorophyll 또는 chlorophyll은 여기 에너지의 전환이 원활히 이루어지지 않아 자기분해되거나 또는 활성산소의 발생을 더욱 촉진시킬 것이기 때문이다.

적 요

새로 합성된 KC6361화합물은 기존 디페닐에테르계 화합물에서 보였던 증상(회백색)과는 달리 식물체의 백화를 유지시킬 뿐만아니라 암조건에서 녹화를 유지시키는 생리현상을 가지는 바 본 연구에서는 암조건에서 녹화가 유지되었던 원인을 규명하고자 실험하였다.

1. KC6361은 암조건에서 PPIX의 축적, 광전환 후 Pchlide의 재축적 정도, Shibata shift 등에는 영향이 없었던 반면, ALA, Pchl, Chl은 증가되었으며 이중 Pchl의 축적이 현저하였다.
2. KC6361 또는 phytol을 단독처리하거나 KC6361, phytol, ALA 상호간 혼합처리하였을 때 Pchlide의 Pchl로의 전환이 촉진되었던 것으로 보아 KC6361에 의한 암조건에서 녹화는 phytol이 일부 축적되어 이들이 Pchlide와 에스테르화되었기 때문으로 보였다.

참 고 문 헌

1. 조광연·김영섭·김범태·민용기·전근숙·김진석·구석진·홍경식·황인택. 1991. 디페닐에테르 유도체 및 그의 제조방법. 한국물질특허 91-1435(출원번호 88-6135). 대한민국 특허청.
2. Corriveau, J.L. and S.I. Beale. 1986. Influence of gabaculine on growth, chlorophyll synthesis, and δ -aminolevulinic acid synthase activity in *Euglena gracilis*. Plant Sci. 45 : 9-17.
3. Duggan, J. and M.L. Gassman. 1974. Induction of porphyrin synthesis in etiolated bean leaves by chelators of iron. Plant Physiol. 53 : 206-215.
4. Duke, S.O. and W.H. Kenyon. 1986. Effect of dimethazone(FMC 57020) on chloroplast development. II. Pigment synthesis and photosynthetic function in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. Pestic. Biochem. Physiol. 25 : 11-18.
5. Duke, S.O., J.L. Wickliff, K.C. Vaughn and R.N. Paul. 1982. Tentoxin does not cause chlorosis in greening mung bean leaves by inhibiting photophosphorylation. Physiol. Plant. 56 : 387-398.
6. Goodwin, T.W. and E.I. Mercer. 1983. Introduction to plant biochemistry(2nd Ed.). Pergamon Press.
7. Granick, S. 1966. Induction in vitro of the synthesis of δ -aminolevulinic synthetase in chemical porphyria : A response to certain drugs, sex hormones and foreign chemicals. J. Biol. Chem. 241 : 1359-1375.
8. Ikegami, I., A. Kamiya and E. Hase. 1984. Dark formation of chlorophyll in cultured tobacco cells. Plant and Cell Physiol. 24(2) : 343-348.
9. Kasemir, H. and H. Mohr. 1981. The involvement of phytochrome in controlling chlorophyll and 5-aminolevulinic acid formation in a gymnosperm seedling (*Pinus sylvestris*). Planta 152 : 369-373. 6-10
10. Kawakuro, K., M. Shindo and T. Konots-

- uze, 1979. A mechanism of chlorosis caused by 1,3-dimethyl-4-(12,4-dichlorobenzoyl)-5-hydroxypyrazole, a herbicidal compound. *Plant Physiol.* 64 : 1974-779.
11. 김진석·김태준·조광연·변종영. 1990. Oxyfluorfen 및 oxadizon이 엽록소생합성 과정에 미치는 영향. *한잡초지* 10(1) : 13-21.
 12. Knox, J.P. and A.D. Dodge. 1985. Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry*. 24 : 889-896.
 13. Kotzabasis, K., M.P. Schuring and H. Senger. 1989. Occurrence of protochlorophyll and its phototransformation to chlorophyll in mutant C-24' of *Scenedesmus obliquus*. *Physiol. Plant.* 75 : 221-226.
 14. Kotzabasis, K. and H. Senger. 1989. Biosynthesis of chlorophyll b in pigment mutant C-24' of *Scenedesmus obliquus*. *Physiol. Plant.* 76 : 474-478.
 15. Matringe, M., D. Chair and R. Scalla. 1990. Effects of peroxidizing herbicides on protoporphyrin IX levels in nonchlorophyllous soybean cell culture. *Pestic. Biochem. Physiol.* 36 : 300-307.
 16. Matringe, M., J-M. abadro, P. Labbe and R. Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target for diphenyl ether herbicides. *Biochem. J.* 260 : 231-235.
 17. Matringe, M., J-M. Cabadro, P. Labbe and R. Scalla. 1989. Protoporphyrinogen oxidase inhibition by three peroxidizing herbicides : Oxadiazon, LS 82556 and M & B 39279. *FEBS Lett.* 245 : 35.
 18. Mito, N., R. Sato, M. Miyakado, H. Oshio and S. Tanaka. 1991. In vitro mode of action of N-phenylimide photobleaching herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 40 : 128-135.
 19. Mullet, J.E. 1988. Chloroplast development and gene expression. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 39 : 475-502.
 20. Nandi, D.L. and D. Shemin. 1967. δ -Aminolevulinic acid dehydratase of *Rhodospseudomonas spheroides*. III. Mechanism of porphobilinogen synthesis. *J. Biol. Chem.* 243 : 1236-1242.
 21. Rebeiz, C.A., A. Montazer-Zouhoor, J. M. Mayasich, B.C. Tripathy, S.M. Wu and C.C. Rebeiz. 1988. Photodynamic herbicides : Recent developments and molecular basis of selectivity. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 6 : 385-434.
 22. Rebeiz, C.A., J.R. Mattheis, B.B. Smith, C.C. Rebeiz and D.F. Dayton. 1975. Chloroplast biogenesis ; Biosynthesis and accumulation of protochlorophyll by isolated etioplasts and developing chloroplasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 171 : 549-567.
 23. Wilkinson, R.E.. 1985. Carotenogenic inhibition by norflurazon in wheat. *Pestic. Biochem. Physiol.* 23 : 379-377.
 24. Wilkinson, R.E.. 1987. 2-Chloro-N,N-di-2-propyleneacetamide reversal of carotenogenic inhibition by low concentrations of norflurazon. *Pestic. Biochem. Physiol.* 29 : 146-151.
 25. Wilkinson, R.E.. 1989. EPTC-reversed carotenogenic inhibition by norflurazon. *Pestic. Biochem. Physiol.* 33 : 257-263.
 26. Witkowski, D. A. and B.P. Halling. 1989. Inhibition of plant protoporphyrinogen oxidase by the herbicide acifluorfen-methyl. *Plant Physiol.* 90 : 1239-1242.