

藥用植物 抽出液이 우산이끼 自家營養培養細胞의 生存率, 葉綠素含量 및 光合成電子傳達 活性에 미치는 影響

鄭亨鎭* · 權純泰* · 金時戊**

Effects of Several Medicinal Plants Extract on Survival Rate, Chlorophyll Contents and Photosynthetic Electron Transport Activity of Liverwort Photoautotrophic Cultured Cell

Hyung Jin Jeoung* · Soon Tae Kwon* and Si Moo Kim**

ABSTRACT : The effects of allelochemicals from medicinal plants have been studied as photosynthetic inhibitor for photoautotrophic(PA) cultured cells. The extracts from 9 plant species were used for measuring the physiological effects on the liverwort cultured cell in following areas : germination inhibition, chlorophyll contents, hill activity, cell viability, photosynthetic oxygen evolution, and protein pattern changes on SDS PAGE.

Germination inhibitions were detected in all plant after treating with 10% extract. Especially, treatment with 10% extract from *Pulsatilla koreana* and *Aconitum carmichael* inhibited germinations completely. Chlorophyll formation was inhibited completely by treating PA cells with extract of *Pulsatilla koreana*, whose effect was similar to that of DCMU 10-3M, inhibitor for photosynthetic electron transfer. The treatment with extract from *Pulsatilla koreana* on PA cell showed the highest hill activity and the lowest cell viability among extracts studied. Oxygen releasing has been decreased down to 14-77% after treating with extracts from *Pinellia ternata*, *Araliacont inentaila*, *Pulsatilla koreana* and *Vitex rotundifolia*. Especially, 60 μ l of *Pulsatilla koreana* extract into 2ml mixture of PA cell inhibited oxygen release up to 50%. Protein bands on SDS-PAGE, 14kD, 31kD, 41kD, 53kD, and 73kD, were not detected after treating *Pulsatilla koreana* extract on PA cells.

Key word : Allelochemical, Medicinal plant, Photoautotrophic cell, Photosynthetic electron transport activity

자가영양 배양세포는 틸라나 구조의 발달과 재분화가 현저하며, 생중당 chlorophyll의 함량은 녹엽의 약 1/10 정도로 낮지만 기존의 배양세포에 비해 매우 높은 함량을 나타내고, 광화학계 활성화

은 녹엽의 1/2로 타세포에 비해 상당히 높다고 한다(1987, Sato).

제조체처럼 식물에 독성을 나타내는 화합물이 배양 세포에 미치는 영향에 관해서 많은 연구가 행

* 안동대학교 자연과학대학(College of Natural Sciences, Andong National Univ., Andong 760-749, Korea)

** 안동경안여자중학교(Kyungan girl middle school, Andong 760-210, Korea)

('94. 10. 21. 接受)

해지고 있는데, 대부분 식물체의 작용과 비교해서 논의되고 있다. 그 중 광합성 저해제는 종속영양 배양세포에 대해 대부분이 작용성이 없는 것으로 보고되고 있으며, Zilkah(1977) 등은 *Rumex obtusifolius*의 녹색 callus가 백색 callus에 비해 atrazine 등의 광합성 저해제에 감수성이 높고, 식물체에서 조사한 것과 유사한 반응을 나타낸다고 하였다. 우산이끼와 담배 자가영양배양세포중 우산이끼세포가 담배세포에 비하여 생장이 균일하여 광합성저해제 선발시 양호한 소재라 하였다(1993, 鄭). 이와 같은 일련의 연구는 우산이끼 자가영양 배양세포가 광합성 저해제 선발에 극히 양호한 소재라는 것을 나타내고 있다. 한편, allelochemicals를 이용하여 해충과 잡초의 생물학적 방제를 위한 제초제, 살충제 개발 등에 관한 많은 연구가 수행되어 왔다(Bowers and Nishida 1980, Bryant et al. 1983, Duke et al. 1987, Farnsworth 1977, Osborn et al. 1988, Putnam and Duke 1974, Wink 1987, 1988). 이러한 사실은 화학합성 방법으로 생산하기 어려운 물질들이 식물체에 의하여 생성될 수 있음을 시사해주고 있다.

조선 시대 초기부터 사약으로 사용되어 왔으며, 구충, 치통, 복통 등의 진통제로 알려지고, 동물에 심각한 독성을 지니고 있다고 알려진 약용식물의 경우 대부분 동물에 관한 작용성만 연구되어 왔을 뿐 식물에 대한 작용성은 연구가 아주 미미한 상태이며, 특히 광합성 억제에 대한 연구는 없다.

따라서 본 실험에서는 光合成電子傳達에 대해서 민감한 반응을 나타내는 우산이끼 자가영양배양세포를 이용하여 우리나라에 널리 자생하면서 死藥으로 알려지고, 인축에 독성을 갖고 있다고 알려진 9종의 藥用植物의 추출액으로부터 광합성을 저해시키는 생리 활성물질의 존재 여부를 탐색하고자 본 실험을 수행하였다.

材料 및 方法

가. 식물재료

반하(*Pinellia ternata*), 천남성(*Arisaema amurense*), 독활(*Aralia continentalis*), 백두옹(*Pulsatilla koreana*), 위령선(*Clematis chinensis*), 초오(*Aconitum carmichael*), 만형자(*Vitex rotundifolia*), 부자(*Aconitum triphyllum*), 고삼(*Sophora flavescens*)의 뿌리를 경북 안동시 소재 약재 상에서 구입하여 건조기에서 40°C, 72시간 건조 후

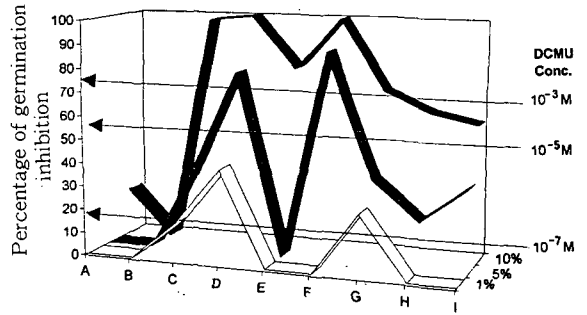


Fig. 1. Percentage of germination inhibition of lettuce seeds as affected aqueous extracts of 9 species plants.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurense*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmichael*, G: *Vitex rotundifolia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

100 mesh 체로 분쇄한 후 시료로 사용하였다. 분쇄한 시료 10g을 증류수와 70% MeOH 100ml로 각각 mess up시켜 25°C에서 24, 48, 72시간 추출, 여과, 농축한 여액을 다시 증류수를 가하여 100ml로 mess up시킨 것을 10%로 하고 이를 1/2 및 1/10로 희석하여 5% 및 1% 시료로 사용하였다.

나. 우산이끼 자가영양(PA) 세포의 배양

우산이끼(*Marchantia polymorpha* L.) PA세포는 Yamada(1988)에 의해 선발되어진 세포로서 유전공학연구소 식물세포생물학연구소로부터 1991년 2월에 분양 받았다. PA세포는 two tier flask를 이용해서 윗 부분에 casaminic acid (1g/l), glutamin (200mg/l), 2,4-D (1mg/l)를 함유한 B5 및 M51(vitamines and micronutrients)배지 70ml을 넣고, 아래 부분에 1-2% CO₂가 유지되도록 2M KHCO₃/K₂CO₃ buffer solution으로 CO₂를 공급하고(Husemann and Barz 1977), 26°C 10,000 Lux에서, reciprocal shaker(100rpm)로 배양하였으며, 계대 배양은 20일 간격으로 0.5g/300ml씩 치상하였다.

다. 종자발아

검정 식물인 상추(*Lactuca sativa*) 종자 50립이 치상된 샐레에 추출액 15ml씩을 처리하여 25°C 광상 상태에서 둔 후 6일째 발아율을 조사하였다.

라. 엽록체의 분리

엽맥을 제거한 시금치(*Spinacia oleracea*)엽에 생체중 4배의 조제액(0.4M Sucrose, 10mM MgCl₂, 10mM NaCl, 50mM Tricine, NaOH buffer, pH 7.8)을 가해서 homogenizer로 10초간 마쇄한 후 이를 鄭(1993)의 방법에 따라 엽록체를 얻은 후 chlorophyll 함량이 약 10μg/ml 되도록 상기의 조제액으로 현탁시킨 후 dry ice위에 떨어뜨려 액체 질소 중에 보관하여 사용하였다.

마. 분리된 엽록체에서의 DCIP 광환원의 측정

광계II의 전자 전달 활성은 spectrophotometer를 사용하여 鄭(1993)의 방법에 의해 조사하였다.

바. 자가영양세포를 이용한 검정

plastic microtiter dishes (8.5cmx12.5cm, 24 wells, Greiner, Nurtigen, FRG)를 이용하여 well 당 1.5ml 우산이끼 배양 세포를 넣고 0.42 μm membrane filter로 무균 여과한 10% 추출액을 100 μl, 200μl, 300μl씩 넣어 광하에서 350rpm, 7일간 진탕 배양 후 다음을 조사하였다.

1) chlorophyll 함량 : 처리된 현탁 세포를 아세톤으로 추출한 후 652nm의 흡광계로 측정하였다.

2) 세포 생존율(% cell survival) : 10% 추출액을 상기와 같이 PA세포에 처리 후 7일간 배양한 후 TTC염색법(2.4% 2,3,5-Triphenyltetrazolium chl-oride in sodium phosphate buffer(0.05M, pH7.5)에 의해 생존 세포로부터 생성된 formazan을 95% ethanol로 추출(60°C, 1hr.)한 후 485nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 환산하였다.

3) 광계I의 전자 전달의 활성 측정 : oxygen electrode를 사용하여 PA세포가 포함된 산소 전극의 반응 용액을 1ml로 하여 약용식물의 증류수 및 MeOH로 24시간 추출한 10% 용액 50μl, 100μl, 150μl, 300μl, 450μl을 주입하여 각 추출물의 억제 효과를 조사하였다.

사. 생존 세포의 단백질 패턴

SDS-전기 영동 : SDS-PAGE (Sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)는 Laemmli(1970)의 방법에 의하여 실시하였다. 전기 영동상에 사용된 재료는 식물의 추출액 10%, 150μl를 1.5ml의 PA세포가 치상된 microtiter dish에 처리하여 26°C 10,000 Lux, reciprocal shak-

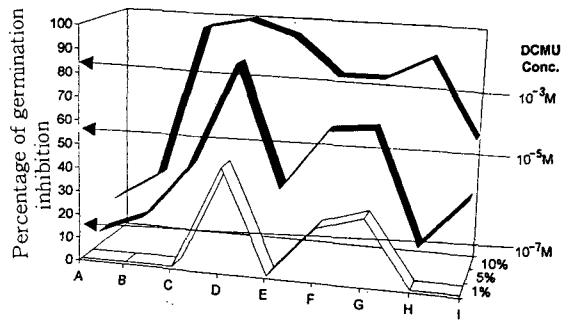


Fig. 2. Percentage of germination inhibition of lettuce seeds as affected MeOH extracts of 9 species plants.

A: *Pinellia ternata*, B: *Arisaema amurense*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifoia* H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

er(100rpm)에서 24시간 배양 처리한 후 액체 질소에 저장하여 사용하였다. 저장된 시료100mg을 단백질 추출 완충액(0.0625M Tris-HCl pH 6.8, 5% 2-mercaptoethanol, 4% glycerol, 3% SDS) 2ml로 마쇄한 후 이를 1시간 진탕시켰다.

이를 multi-heating block에서 4분간(95-100°C)가열 처리하여 원심분리(10,000rpm, 5min, 4°C)한 상등액을 3% SDS가 포함된 stacking gel과 9-14% gradient running gel에서 15mA로 상온에서 5-7시간 동안 전개시켜 0.1% coomassie brilliant blue R250(25°C, 3hr)에서 염색시키고 탈색 용액(95% ethanol:5% acetic acid=1:4, 5% ace-tic acid)에 넣어 단백질 전기 영동상을 비교하였다.

結果 및 考察

1. 抽出液이 상추 種子發芽에 미치는 影響

生藥劑 및 毒草로 알려진 9종의 藥用植物을 72시간 동안 蒸溜水 및 70% MeOH로 抽出하여, 상추 種子의 발아에 미치는 영향을 DCMU 약제와 비교 조사하였다(Fig. 1, 2). 水溶 抽出液에 비하여 70% MeOH 抽出液 처리가 發芽抑制 정도가 더 높았다.

특히 백두옹, 초오의 10% 추출물 처리시 종자 발아가 100% 억제되었는데 이는 DCMU 10⁻³M의 發芽抑制率 효과와 동일한 것이었다. 위령선의 경

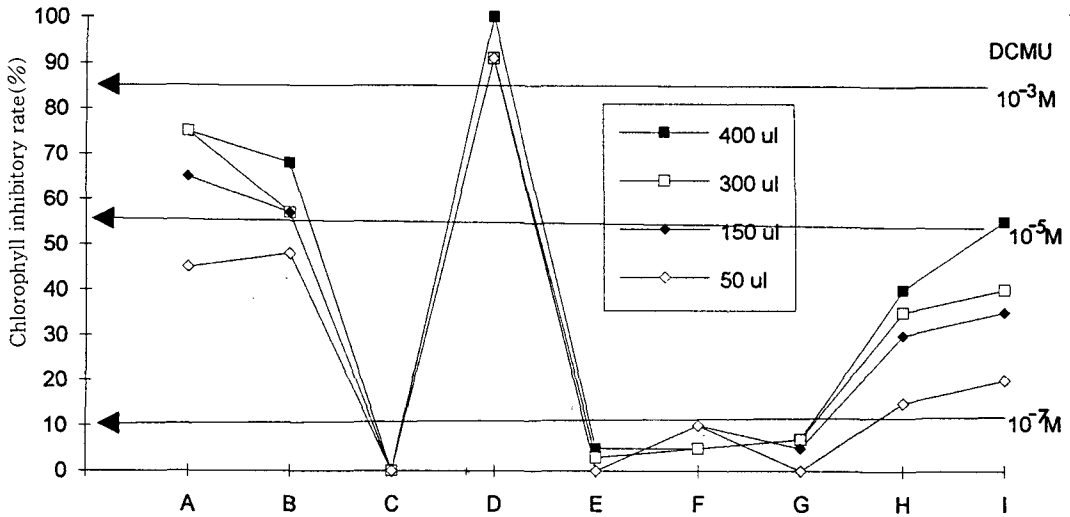


Fig. 3. Effect of aqueous extracts from medicinal plants on chlorophyll inhibitory rate of liverwort PA cells using microtiter dishes.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurens*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifoia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

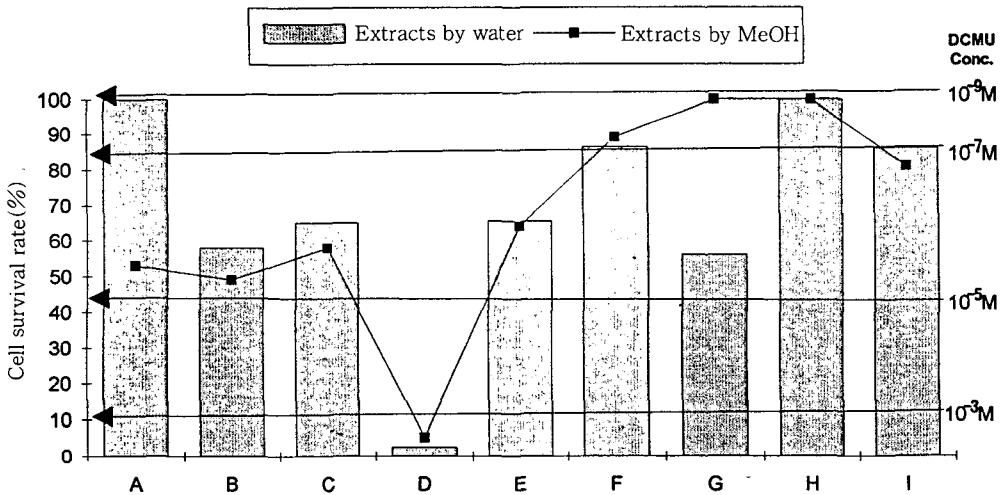


Fig. 4. Effect of water Meoh extracts from medical plants on survival of liverwort PA cells using microtiter dishes.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurens*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifoia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

우 추출액의 농도를 5%에서 10%로 증가 처리시 종자발아 억제는 0%에서 78%로 높아졌다. MeOH추출물의 경우 공시 재료 모두 상추종자 발아를 억제 시켰으며, 농도를 높게 처리할수록 발아억제 정도가 높았으며 백두옹의 경우 10% 추출

물 처리시 100%의 높은 발아억제 효과를 나타내었고, 1% 처리시에도 44%의 높은 억제율을 나타내었다. Rice등(1981)은 식물의 추출액 농도별로 종자의 발아억제 정도가 틀려진다고 하였으며, Elakovich 와 Wooten(1991)은 Phytotoxin을 방

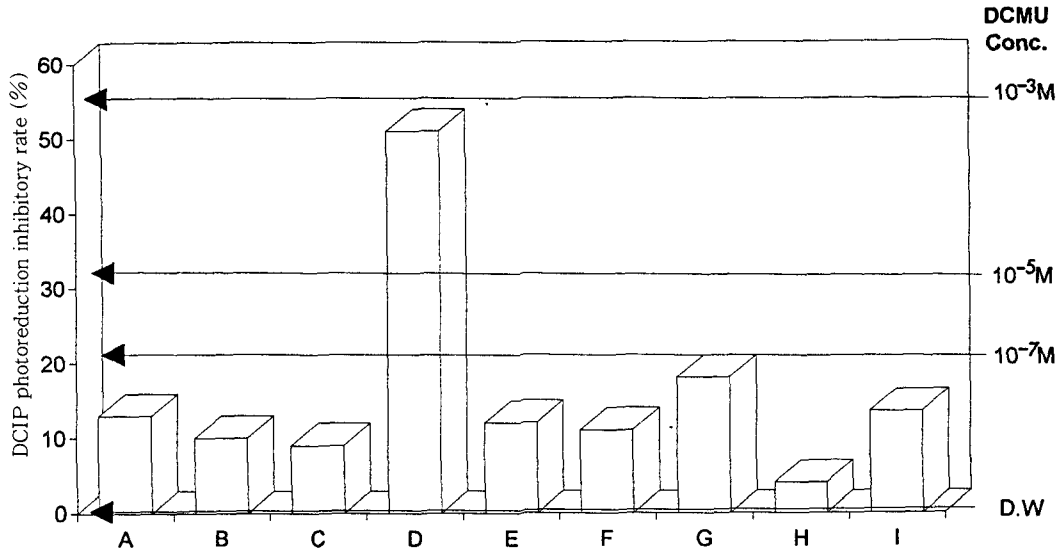


Fig. 5. The inhibitory of treatment with 10% aqueous extracts of plants on DCIP photoreduction rate in isolated spinach chloroplasts.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurense*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifolia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

출하는 식물은 다른 식물의 종자발아를 억제시킨다고 하였다.

2. 추출액이 광합성에 미치는 영향

Plastic microtiter dishes(8.5cm × 12.5cm, 24 wells)를 이용하여 well당 1.5ml의 우산이끼 배양 세포에 증류수 및 MeOH 70%로 24시간 추출한 10%액을 50-450 μ l를 넣어 5일간 배양하여 엽록소 생성 억제 정도를 조사해 본 결과(Fig. 3), 독활과 만형자의 추출액은 처리농도에 관계없이 엽록소 생성을 억제하지 않았다.

반하, 위령선, 고삼의 경우는 처리 농도간에 엽록소 억제 정도의 차이가 크게 나타났으며, 특히 백두옹 증류수 추출물 50 μ l 처리시 100%의 높은 엽록소 생성 억제율을 나타내었다. (Data미수록)

Fig. 3과 동일한 실험 방법으로 처리한 후 각 처리별 세포의 생존력을 조사해 본 결과(Fig 4), 천남성, 독활, 부자는 56-65%의 다소 낮은 생존율을 나타내었으며, 특히 백두옹의 경우 2.5%로 생존한 세포는 거의 없었다. 70% MeOH 추출물 처리시는 천남성과 부자의 경우 증류수 추출물 처리시보다 엽록소 억제정도가 높게 나타났으나 타 공시 종들은 비슷하였다. 백두옹 추출물 처리가 가장 높은 억제율을 나타내었다.

그림 2와 동일한 실험 방법으로 처리한 후 각 처리별 세포의 생존력을 조사해 본 결과(Table 6), 천남성, 독활, 부자는 56-65%의 다소 낮은 생존율을 나타내었으며, 특히 백두옹의 경우 2.5%로 생존한 세포는 거의 없었다. 반하, 천남성, 독활의 경우 MeOH 추출물 처리가 증류수 추출물 처리시보다 낮은 생존율을 나타내었고 백두옹의 경우 5.2%의 매우 낮은 생존율을 나타내었다.

백두옹 증류수 추출물 10% 처리시 세포생존율 2.5%는 DCMU 10⁻³M보다 높은 세포 생존 억제를 나타낸 것이었다.

지금까지에서 분리된 엽록체를 이용하여 약용식물의 증류수 추출물이 광계II에서 전자전달 활성화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 추출물 처리시 DCIP 광환원율을 조사해 본 결과(Fig. 5) 공시된 전 처리에서 DCIP 광환원이 억제 되었다.

처리하지 않은 엽록체에서 DCIP 환원율의 활성도가 100%일 때 분리된 엽록체에 부자, 천남성 증류수 추출액(10%) 첨가시 낮은 환원 억제율을 나타내었으나, 백두옹과 만형자 추출물은 46%, 21%의 높은 환원억제율을 나타내었다.

지금까지 광합성 저해제를 발견하는 데는 분리된 틸라코이드를 사용하여 힐반응억제 여부를 지표로 이용하였는데(Kwak et al, 1988) 본 실험에

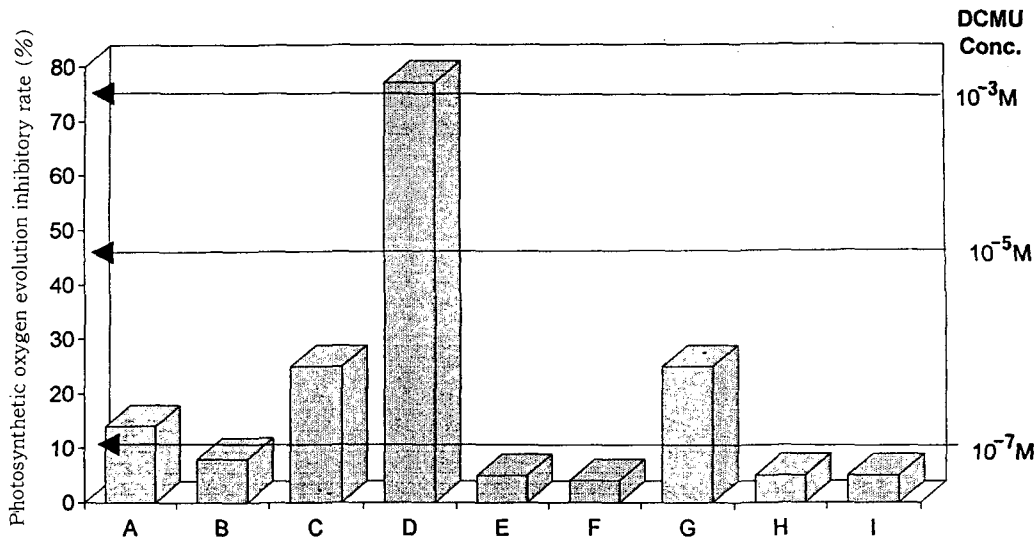


Fig. 6. Effect of aqueous extracts 100 μ l from medicinal species on photosynthetic oxygen evolution of liverwort PA cells.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurens*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifoia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

서 각 추출물의 DCIP 광환원 억제율을 조사해 본 결과 백두옹 추출물이 가장 높은 억제율을 나타내었다(Fig. 5). 이는 상기 PA세포를 이용한 엽록소 생성실험 결과와 같은 경향을 나타내고 있어 백두옹 추출물 내에는 광합성 저해 물질이 존재함을 알 수 있었으며, 백두옹 10% 추출액은 광합성 저해제인 DCMU 10⁻³M 정도에 상응하는 높은 DCIP 광환원 억제를 나타내었다.

광합성 산소 발생 억제 효과를 조사하기 위하여 추출물 100 μ l를 처리하여 PA세포의 산소발생 억제정도를 나타낸 것이 그림 6이다. 천남성, 위령선, 초오, 고삼 등은 5% 이하의 낮은 억제율을 나타내었으나 반하, 독활, 만형자, 백두옹은 산소발생을 14-77% 억제하였다. 특히 백두옹 10% 추출물 처리는 DCMU 10⁻⁴M 처리와 비슷한 광합성 산소 발생 억제를 나타내었다.

가장 높은 광합성 산소발생 억제효과가 있는 백두옹이 광계 I의 전자전달 활성에 미치는 영향을 농도별로 측정하기 위하여 2ml의 PA세포를 사용하여 산소 전극으로 광합성 산소발생 억제율을 측정된 결과(Fig. 7), 농도를 40 μ l 이상으로 증가시키는 경우 PS I의 전자전달 활성이 현저히 감소되었다.

백두옹의 10% 추출물 60 μ l 처리시 광계I의 활

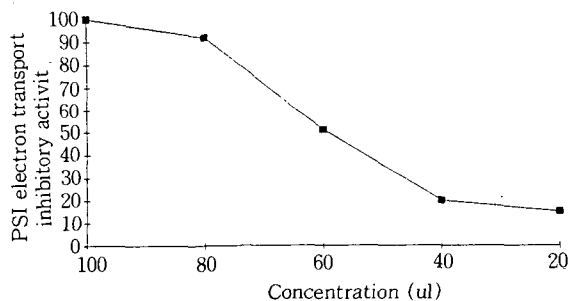


Fig. 7. Effects of extracts concentration from *Pulsatilla koreana* on PSI electron activity in photoautotrophic cultured cell. The activity was measured as O₂ uptake.

A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurens*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifoia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

성도는 50%로 낮아졌다.

광합성에서 전자전달 단계는 아직 전적으로 이해되지 못하고 있으나, 연속적으로 이어진 광화학 반응으로 수행된다. 첫째, NADP⁺에 전자를 전달하여 NADPH로 환원시키는 광계 I(PS I)이고 둘

適 要

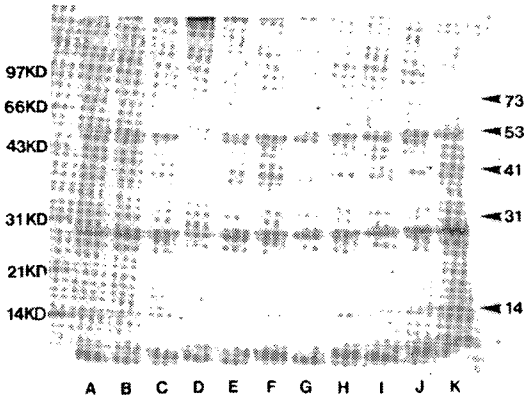


Fig. 8. Polypeptide bands separated by SDS PAGE from liverwort PA cells treated with aqueous extracts of plants. A: *Pinellia ternate*, B: *Arisaema amurense*, C: *Aralia continentalis*, D: *Pulsatilla koreana*, E: *Clematis chinensis*, F: *Aconitum carmishaeal*, G: *Vitex rotundifolia*, H: *Aconitum triphyllum*, I: *Sophora flavescens*.

제, 광수로는 엽록소에 의해 빛 에너지를 흡수하여 이 에너지에 의해 광화학 반응 중심에서 물을 산화하여 전자와 산소 분자를 형성하는 광계 II(PS II)이다. 반하, 독활, 백두옹이 14-77%의 산소 발생을 억제하였으며, 특히 백두옹 추출물 처리시 광합성 전자전달 저해제인 DCMU-4M 처리와 동일한 높은 억제율을 나타내었는데, 이는 phytotoxin 물질들은 광합성의 PS II 단계에서 전자전달 활성을 억제시킨다는 보고(Van Assche and Clijsters, 1986)로 미루어 보아 백두옹 내에는 전자전달을 억제시키는 물질이 존재한다고 생각한다.

3. 추출액이 단백질 합성에 미치는 영향

각 식물의 증류수 추출액(10%) 150 μ l를 PA세포 1.5ml에 처리하여 24시간 배양 시킨후 SDS PAGE를 이용하여 단백질의 변화를 조사한 결과는 그림 8과 같다.

백두옹 추출액처리하는 여타의 식물 추출액 처리(A,B,C,E,F,G,H,I), 증류수 처리(J), DCMU 10⁻⁴M 처리(K)에 비하여 73KD, 53KD, 41KD, 31KD, 14KD 부위에서 밴드가 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 독성 물질이 식물의 단백질 합성을 저해시킨다는 보고(Krylov 1970, Van Sumere et al., 1971)와 일치하였다.

약용 식물의 추출액이 자가영양배양세포의 광합성 전자전달계에 미치는 영향을 조사하기 위해 9종의 약용식물 추출액으로부터 종자발아, PA세포의 엽록소 억제정도, DCIP의 환원율, 세포 생존율, 광계 I의 전자전달활성, 단백질에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 식물의 추출액을 농도별로 처리하였을 때 10% 처리시 전 식물체에서 상추의 발아억제 현상을 나타내었고, 특히 백두옹과 초오 추출물 10% 처리시는 100% 억제를 나타내었다.
2. 백두옹의 증류수 및 MeOH 추출액을 PA세포에 처리한 경우 엽록소의 생성을 100% 억제하였다. 이는 광합성 전자전달 저해제로 알려진 DCMU 10⁻³M 처리와 동일한 억제 효과였다.
3. PA세포에 추출물 처리시 백두옹이 힐반응 억제가 가장 컸으며, 세포 생존력은 가장 낮았다.
4. 광합성 산소발생은 반하, 독활, 백두옹, 만형자 추출액 처리시 14-77% 억제되었고, 특히 PA세포 2ml 반응액에 백두옹 추출물 60 μ l 처리시 50% 산소발생 억제를 나타내었다.
5. 추출액을 PA 세포에 처리한 후 단백질을 추출하여 SDS-PAGE를 이용하여 조사한 결과 대조구에 비하여 백두옹 추출물 10% 처리에서 14KD, 31KD, 41KD, 53KD, 73KD의 밴드가 나타나지 않았다.

引用文獻

1. Allan, E. J. and W. Fowler. 1985. Biologically active plant secondary metabolites perspectives for the future, chemistry and industry, pp.408-410.
2. Alssadawi, S.I. and E.L.Rice. 1982. Allelopathic effect of *polygonum aviculare* L. isolation, characterization and activities of phytotoxines. J.Chem.Ecology 8:1011-1028.
3. Bowers, W.S. and R. Nishida : 1980, Juvocimenes: Potent Juvenile hormone mimics from sweet basil. Science 209:1030-1032.

4. Bryant, J.P., D. Wieland, P.B. Reichardt, V.E. Lewis, and M.C. McCarthy. 1983. Pinosylvin methyl ether deters snowshoe hare feeding green alder. *Science* 222:1023-1025.
5. Chunhe, X., L.C. Blair, S M.D. Rogers, Govindjee, and J.M. Widholam. 1988. Characteristics of five new photoautotrophic suspension cultures including two *Amaranthus* species and a cotton strain growing on ambient CO₂ levels. *Plant physiol.* 88: 1297-1320.
6. Corcoran, M.R., T.A. Geissman, and B.O. Phinney. 1972. Tannins as gibberellin antagonists. *Plant physiol.* 49:323-330.
7. Del Moral, R. 1972. On the variability of chlorogenic acid concentration. *Oecologia.* 9:289-300.
8. Duke, S.O., K. C. Vaughn, E.D. Croon, Jr., and H.N. Elsohly. 1987. Artemisin, a constituents of annual wormwood(*Artemisia annua*) is a selective phytotoxin. *Weed Sci.* 35: 499-505.
9. Einhellig, F.A. and J.A. Rasmussen. 1973. Allelopathic effects of *Rumex Crispus* on *Amaranthus retroflexus* grain sorghum and field corn. *Amer. Mid. Nat.* 90:79-86.
10. Elakovich, S.D and J.W.Wooten. 1991. Allelopathic potential of Nuphorlutea(L) and Sm(Nymphaeaceae). *J. Chem. Ecd.* 17:707-714.
11. Farnsworth, N.R. 1977. The current importance of plants as a source of drug, in D.S. Seigler(ed). *Crop Resources.* Academic Press, New York. pp.61-73.
12. Husemann, W. and W. Barz. 1977. Photoautotrophic growth and photosynthesis in cell suspension cultures of *Chenophodium rubrum* .*Physiol. Plant.* 40: 77-81.
13. Jeoung, H.J. 1993. A simple screening method for photosynthetic electron transport inhibitors using photoautotrophic cultured cells.*Kor.J.Crop Sci.* 38(3):245-252.
14. Jutta Thiemann, Arnold Nieswandt, and Wolfgang Barz. 1989. A microtest system for the serial assay of phytotoxic compounds using photoautotrophic cell suspension cultures of *chenopodium rubrum*. *Plant cell report* 8: 399-402.
15. Krylov, Y. V. 1970. Influence of potatoes on an apple tree and its photosynthesis. In "Physiological-Biochemical Basis of Plant Interactions in Phytocenoses" (A. M. Grodzinsky. ed.), Naukova Dumka, Kiev.(In Russian, English Summary). Vol. I, 1:128-134.
16. Kwak, S.S., K. Ichinose, S. Yoshida, N. Takabashi, N. Sato, and Y. Yamada. 1988. Photoautotrophic cells as a screening system for herbicide inhibiting PET. Abstract, Annual meeting of the society for chemical regulation of plants(Sendai Japan) p. 90.
17. Laemmli, U.K. 1970. Cleavages of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*227:680-685.
18. 李一球, 張秉旭. 1970. 국화의 기지성과 이에 미치는 생장물질의 영향에 관한 연구. *건국학술지* 9:199-214.
19. Lodhi, M.A.K. 1976, Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a low land forest in controlling the productivity and pattern of herbaceous growth. *Amer. J.Bot.* 63:1-8.
20. Lodhi, M. A. K. and K. T. Killingbeck. 1981. Effects of pine produced chemicals on selected understory species in a *pinus ponderosa* community.
21. Ohta, Y., K. Katoh, and K. Miyake. 1977. Establishment and growth characteristics of cell suspension culture of *marchantia polymorpha* L. with high chlorophyll content . *Planta* 136: 229-232
22. Osborn, T.C., D.C. Alexander, S.S.M. Sun, C. Cardona, and F.A. Bliss. 1988. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science* 240:207-210.
23. Putnam, A. R. and W.B. Duke. 1974. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. *Science* 185:37-372.

24. Rice, E.L., C. Y. Lin., and C. Y. Huong. 1981. Effects of decomposing rice straw on growth of and nitrogen fixation by *Rhizobium*. *J. Chem. Ecol.* 7:333-344.
25. Sato, F., Asada, K., and Yamada, Y. 1989. Photoautotrophy and the photosynthetic potential of chlorophyllous cells in mixotrophic culture. *Plant cell physiol.* 20: 193-200.
26. Sato, F., Takeda, S., and Yamada, Y. 1987. A comparison of effects of several herbicide on photoautotrophic, photomixotrophic and heterotrophic cultured tobacco cells and seedlings. *Plant cell reports* 6: 401-404.
27. Van Assche, E. and H. Clijsters. 1986. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentrations of zinc: effects on electron transport and photophosphorylation, *Physiol. Plant.*, 66:712-721.
28. Van Sumere, C. F., J. Cottenie, J. de Greef, and J. Kint. 1971. Biochemical studies in relation to the possible germination regulatory role of naturally occurring coumarin and phenolics. *Recent Adv. Phytochem.* 4:165-221.
29. Wink, M. 1988. Plant breeding: Importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor. Appl. Gen.* 75:225-233.
30. Yamada, Y. 1988. Photoautotrophic cells as a screening system for herbicide inhibiting PET. Abstract, Annual meeting of the society for chemical regulation of plants (Sendai, Japan) p. 90.
31. Zilkah, S Bocion, P.F., and Gressel, J. 1977. *Plant & Cell Physiol.*, 18, 657-670.